

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ESCUELA DE POSTGRADO

MAESTRÍA EN QUÍMICA DEL MEDIO AMBIENTE



“DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE UN OPTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE PLOMO(II) Y MERCURIO(II) EN SOLUCIÓN, AREQUIPA – 2016”

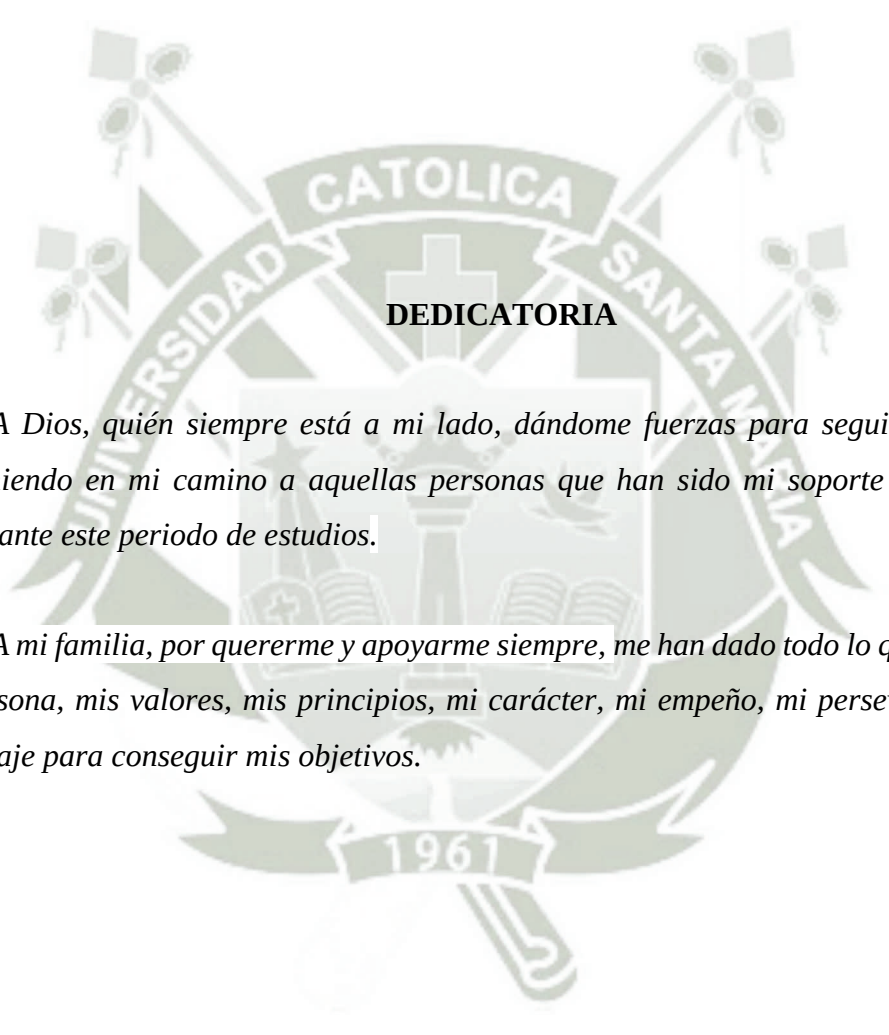
**Tesis presentada por el Bachiller:
Mayron Antonio Candia Puma**

**Para optar el Grado Académico de:
Maestro en Química del Medio Ambiente**

**Asesor:
José Antonio Villanueva Salas, PhD**

AREQUIPA – PERÚ

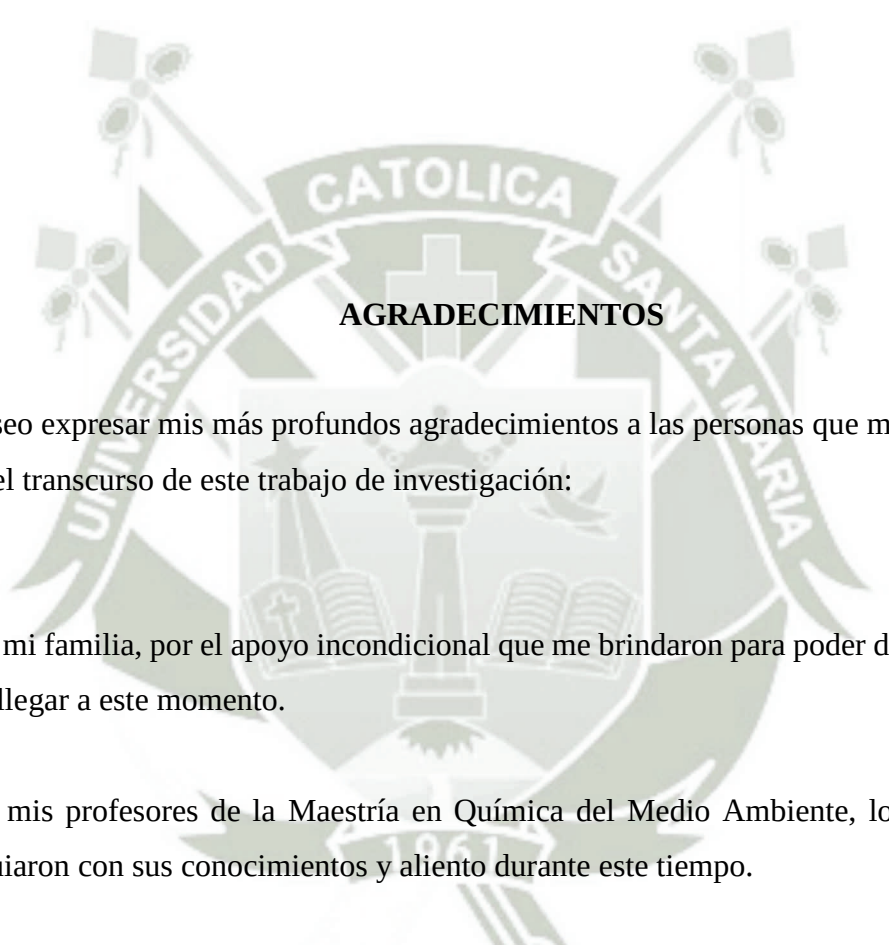
2016



DEDICATORIA

A Dios, quién siempre está a mi lado, dándome fuerzas para seguir adelante y poniendo en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante este periodo de estudios.

A mi familia, por quererme y apoyarme siempre, me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.



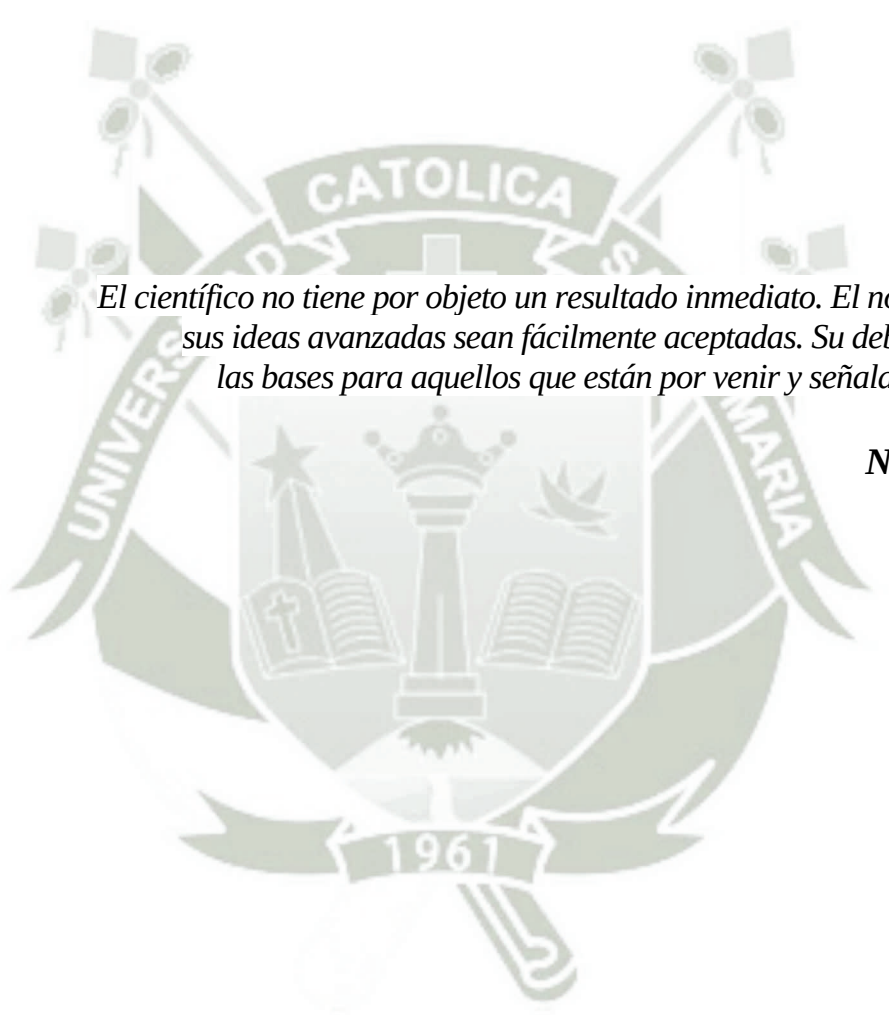
AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis más profundos agradecimientos a las personas que me apoyaron en el transcurso de este trabajo de investigación:

A mi familia, por el apoyo incondicional que me brindaron para poder desarrollarme y llegar a este momento.

A mis profesores de la Maestría en Química del Medio Ambiente, los cuales me guiaron con sus conocimientos y aliento durante este tiempo.

A la Universidad Católica de Santa María; Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica - CONCYTEC y al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico e Innovación Tecnológica – FONDECYT, por el apoyo brindado a través del Convenio de Gestión N° 016-2013-FONDECYT.



El científico no tiene por objeto un resultado inmediato. El no espera que sus ideas avanzadas sean fácilmente aceptadas. Su deber es sentar las bases para aquellos que están por venir y señalar el camino.

Nikola Tesla

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN	5
HIPÓTESIS.....	7
OBJETIVOS	8
CAPÍTULO I.....	9
MARCO CONCEPTUAL	9
1. Sensor	9
1.1. Optodo.....	10
1.1.1. Definición de Optodo.....	10
1.1.2. Principio de funcionamiento de los optodos.....	11
1.1.2.1. Absorción	14
1.1.3. Tipos de Optodos	14
1.1.3.1. Optodos de superficie (surface optodes).....	15
1.1.3.2. Optodos de matriz tridimensional (bulk optodes).....	15
1.1.4. Componentes de la membrana del optodo.....	16
1.1.4.1. Ionóforo.....	16
1.1.4.2. Cromoionóforo.....	17
1.1.4.2.1. Ditizona	17
1.1.4.3. Matriz	18
1.1.4.3.1. Policloruro de Vinilo (PVC).....	19
1.1.4.4. Plastificante	19
1.1.5. Instrumentación de los optodos	20
1.1.5.1. Fuente de luz	20
1.1.5.1.1. Diodo Emisor de Luz – Rojo, Verde y Azul (Led RGB).....	21
1.1.5.2. Fotodetector.....	21
1.1.5.2.1. Resistor Dependiente de la Luz (LDR)	22
1.1.5.3. Transductor	22
2. Metales Pesados.....	23
2.1. Plomo	24
2.1.1. Plomo en el ambiente.....	24
2.1.2. Toxicidad por plomo.....	25
2.1.3. Lineamientos de exposición al plomo	26
2.2. Mercurio.....	27
2.2.1. Mercurio en el ambiente	28
2.2.2. Toxicidad por mercurio	28
2.2.3. Lineamientos de exposición al mercurio	29
3. ICP-OES	29
CAPÍTULO II	31
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
1. Materiales y Equipos	31
1.1. Reactivos.....	31
1.2. Materiales.....	32
1.3. Equipos	32
2. Metodología.....	33
2.1. Diseño del optodo	33
2.1.1. Diseño de los circuitos electrónicos.....	33
2.1.2. Diseño del modelo	33
2.2. Construcción del optodo	33

2.2.1. Construcción de los circuitos electrónicos.....	33
2.2.2. Construcción del cuerpo	34
2.2.3. Ensamblado y acoplamiento	34
2.2.4. Preparación de la membrana	34
2.3. Evaluación del optodo.....	34
2.3.1. Características espectrales de la membrana.....	34
2.3.2. Ajuste de la λ emitida por la fuente de luz.....	35
2.3.3. Efecto del pH	35
2.3.4. Tiempo de respuesta	35
2.3.5. Rango dinámico	36
2.3.6. Límite de detección.....	36
2.3.7. Límite de saturación.....	36
2.3.8. Repetibilidad y Reproducibilidad	36
2.3.9. Estabilidad a corto plazo.....	36
2.3.10. Selectividad.....	37
2.3.11. Tiempo de vida	37
2.3.12. Regeneración	37
2.3.13. Comparación con un método estándar (ICP-OES)	37
CAPÍTULO III.....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
1. Diseño del optodo.....	38
1.1. Diseño de los circuitos electrónicos	38
1.2. Diseño del modelo	40
2. Construcción del optodo	41
2.1. Construcción de los circuitos electrónicos	41
2.2. Construcción del cuerpo	42
2.3. Ensamblado y acoplamiento.....	43
2.4. Preparación de la membrana.....	44
3. Evaluación del optodo	45
3.1. Características espectrales de la membrana.....	45
3.2. Longitud de onda emitida por la fuente de luz	47
3.3. Procedimiento y principio de medición	48
3.4. Efecto del pH.....	49
3.5. Tiempo de respuesta	51
3.6. Rango dinámico.....	52
3.7. Límite de detección	52
3.8. Límite de saturación	53
3.9. Repetibilidad y Reproducibilidad.....	55
3.10. Estabilidad a corto plazo.....	56
3.11. Tiempo de vida	58
3.12. Regeneración	60
3.13. Selectividad	62
3.14. Comparación con un método estándar (ICP-OES).....	63
CONCLUSIONES	65
SUGERENCIAS	66
BIBLIOGRAFÍA	67
ANEXOS	77

RESUMEN

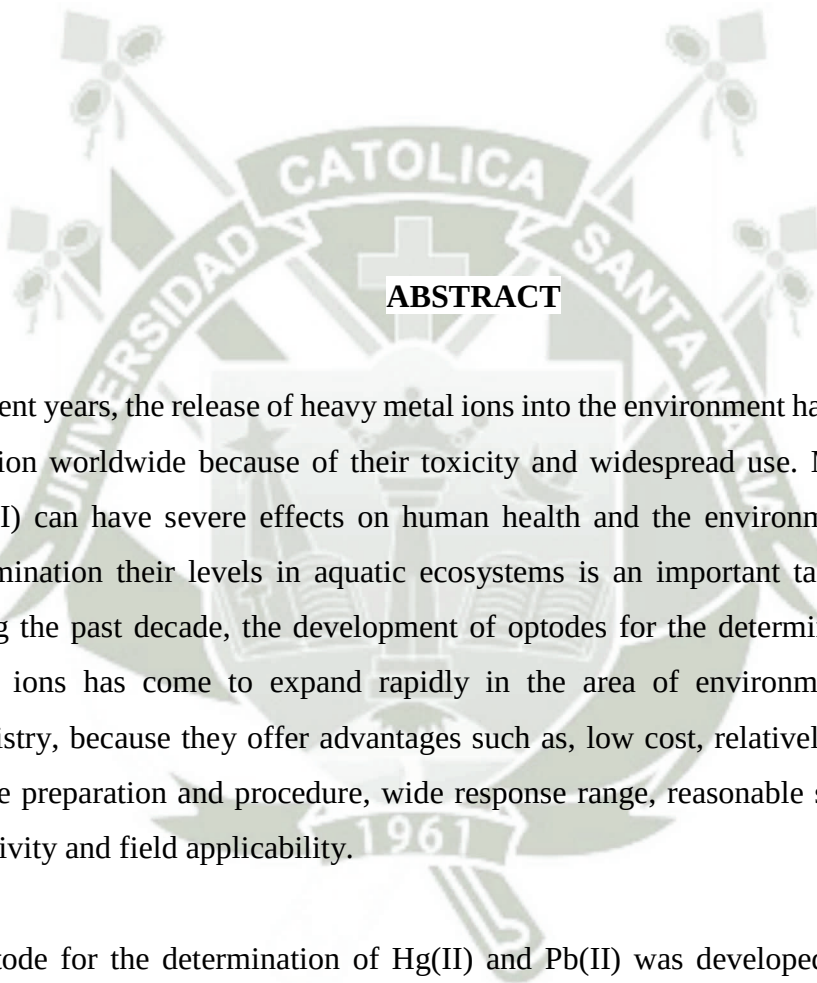
En los últimos años, la liberación de iones de metales pesados en el medio ambiente ha atraído gran atención en todo el mundo debido a su toxicidad y su amplio uso. El mercurio(II) y plomo(II) pueden tener efectos graves sobre la salud humana y el medio ambiente. Por lo tanto, la determinación periódica de sus niveles en los ecosistemas acuáticos es una tarea importante. Como resultado, durante la década pasada, el desarrollo de optodos para la determinación de iones de metales pesados ha llegado a expandirse rápidamente en el área de la química analítica medioambiental, ya que ofrecen ventajas tales como un bajo costo, respuesta relativamente rápida, preparación y procedimiento simples, rango de respuesta amplio, selectividad razonable, sensibilidad alta y aplicabilidad en campo.

Un optodo para la determinación de Hg(II) y Pb(II) fue desarrollado en la presente investigación. El optodo estuvo basado en la interacción de Hg(II) y Pb(II) con la ditizona (Dz) inmovilizada en una membrana de PVC. Estas membranas fueron colocadas en un dispositivo que utilizó como fuente de luz y detector, un LED RGB y una resistencia dependiente de la luz (LDR), respectivamente. Por otro lado, el optodo fue acoplado a un registrador de datos de alta resolución (ADC-16 Pico® Technology), que a su vez estuvo conectado a un computador portátil vía USB. Este registrador de

datos se usó junto al programa informático PicoLog Recorder, ambos permitieron reconocer, registrar y visualizar los cambios de voltaje (mV) producidos por el optodo en el proceso de determinación del Hg(II) y Pb(II).

Los parámetros que afectan la respuesta del optodo como, pH, estabilidad a corto plazo, tiempo de vida, reproducibilidad y repetibilidad fueron estudiados. La selectividad del optodo fue estudiada en presencia de varios iones metálicos. El optodo ha mostrado rangos dinámicos lineales de 0.10-3.25 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (5.0×10^{-7} – 1.6×10^{-5} mol L⁻¹) y 0.08-3.50 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (3.6×10^{-7} – 1.7×10^{-5} mol L⁻¹), límites de detección de 0.018 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (9.0×10^{-8} mol L⁻¹) y 0.012 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (6.0×10^{-8} mol L⁻¹), tiempos de respuesta de 10-13 y 9-13 min; para Hg(II) y Pb(II), respectivamente. El optodo pudo ser regenerado satisfactoriamente una sola vez, mediante tratamiento con una solución de yoduro 0.01 mol L⁻¹, esto fue necesario una vez que la membrana del optodo se saturó.

El desempeño del optodo fue evaluado, mediante la comparación del optodo propuesto con un método estándar (ICP-OES). Para lo cual, Hg(II) y Pb(II) fueron determinados en muestras reales de agua. Los resultados obtenidos demostraron que no existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos métodos.



ABSTRACT

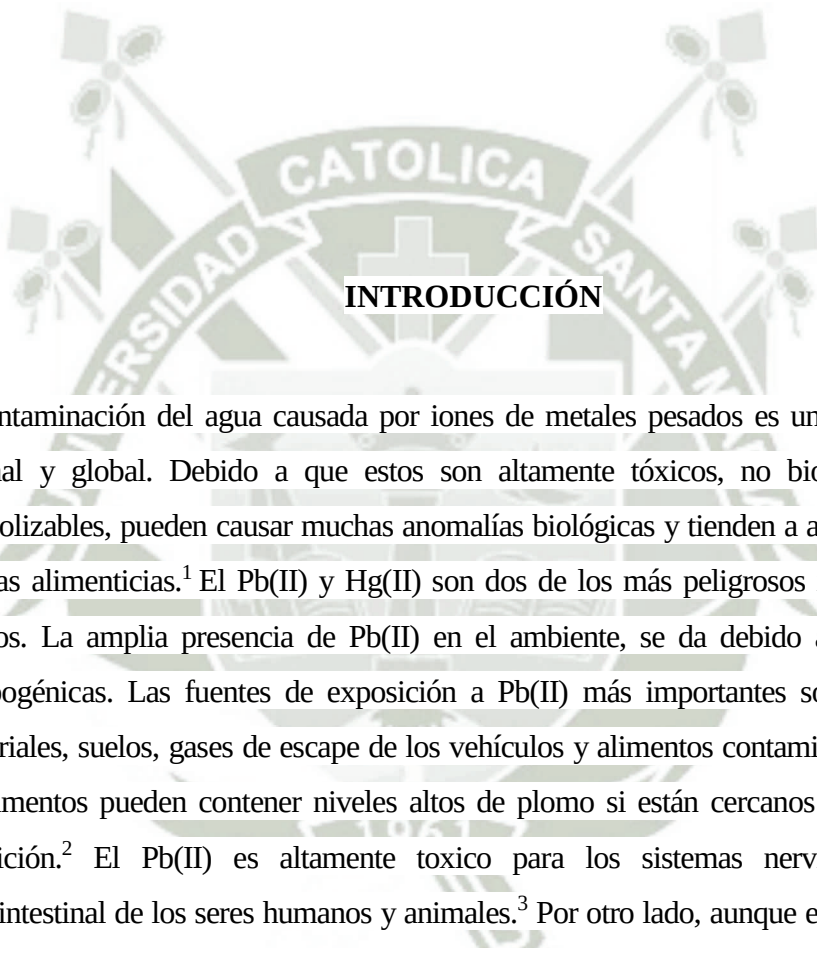
In recent years, the release of heavy metal ions into the environment has attracted great attention worldwide because of their toxicity and widespread use. Mercury(II) and lead(II) can have severe effects on human health and the environment. Therefore, determination their levels in aquatic ecosystems is an important task. As a result, during the past decade, the development of optodes for the determination of heavy metal ions has come to expand rapidly in the area of environmental analytical chemistry, because they offer advantages such as, low cost, relatively fast response, simple preparation and procedure, wide response range, reasonable selectivity, high sensitivity and field applicability.

A optode for the determination of Hg(II) and Pb(II) was developed in the present investigation. The optode was based on the interaction of Hg (II) and Pb(II) with dithizone (Dz) immobilized on a PVC membrane. These membranes were placed in a device used as light source and detector, a RGB LED and dependent light resistance (LDR), respectively. On the other hand, optode was coupled a data recorder high resolution (ADC-16 Pico® Technology), which in turn was connected to a laptop via USB. This data recorder was used next to PicoLog Recorder software, both allowed to

recognize, record and display changes voltage (mV) produced by the optode in the process of determining the Hg(II) and Pb(II).

Parameters affecting the optode response such as, pH, short-term stability, lifetime, reproducibility and repeatability were studied. The selectivity of the optode was studied in the presence of several metal ions. The optode had displayed linear dynamic range of 0.10-3.25 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (5.0×10^{-7} – 1.6×10^{-5} mol L⁻¹) and 0.08-3.50 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (3.6×10^{-7} – 1.7×10^{-5} mol L⁻¹), limits of detection of 0.018 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (9.0×10^{-8} mol L⁻¹) and 0.012 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (6.0×10^{-8} mol L⁻¹), response times of 10-13 and 9-13 min; for Hg(II) and Pb(II), respectively. The optode could be regenerated successfully one time, after treating with 0.01 mol L⁻¹ iodide solution. This was required once optode membrane was saturated.

The optode performance was evaluated, through comparing of the optode proposed with a standard method (ICP-OES). For which, Hg(II) and Pb(II) was determined in real water samples. The results showed that not exist statistically significant difference between both methods.



INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua causada por iones de metales pesados es un problema local, regional y global. Debido a que estos son altamente tóxicos, no biodegradables, no metabolizables, pueden causar muchas anomalías biológicas y tienden a acumularse en las cadenas alimenticias.¹ El Pb(II) y Hg(II) son dos de los más peligrosos iones de metales pesados. La amplia presencia de Pb(II) en el ambiente, se da debido a las actividades antropogénicas. Las fuentes de exposición a Pb(II) más importantes son las emisiones industriales, suelos, gases de escape de los vehículos y alimentos contaminados. El agua y los alimentos pueden contener niveles altos de plomo si están cercanos a una fuente de exposición.² El Pb(II) es altamente tóxico para los sistemas nervioso, inmune y gastrointestinal de los seres humanos y animales.³ Por otro lado, aunque el Hg(II) no es un elemento químico abundante en la naturaleza, su presencia ha aumentado como resultado de muchas aplicaciones industriales y agrícolas. Debido a su alta toxicidad y bioacumulación en la cadena alimenticia, el monitoreo de Hg(II) en aguas naturales es muy importante.² El Hg(II) puede causar daño al cerebro, los riñones y al sistema inmunológico.³ Debido a la toxicidad elevada de estos iones de metales pesados en el agua, los estándares de calidad ambiental de agua (A3) para Hg y Pb recomendados por Ministerio del Ambiente del Perú son 0.002 y 0.05 mg. L⁻¹, respectivamente.⁴

Existen varios métodos por los cuales se puede detectar estos metales pesados. Estos métodos incluyen a la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), espectrometría de emisión óptica con plasma inductivamente acoplado (ICP-OES), espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado (ICP-AES), espectroscopia de absorción atómica de flama (FAAS), espectrometría de fluorescencia atómica (AFS), análisis de activación por neutrones (NAA) y voltamperometría.⁵ Sin embargo, estos métodos requieren equipos sofisticados y caros, procedimientos complicados y personal calificado. Adicionalmente, estos no son adecuados para salir del laboratorio o monitorear en campo.⁶

Un optodo es un sensor óptico-químico, que está basado en la interacción del analito con la interfaz sensible, esta interacción produce información química manifestada en forma óptica, que es traducida en una señal analíticamente útil, generalmente de dominio eléctrico. Además, la determinación de iones de metales pesados por medio de diferentes optodos ha ido incrementándose desde hace aproximadamente tres décadas.⁷⁻⁹ Esto es debido a ventajas tales como su fácil fabricación, tamaño reducido, bajo costo, sensibilidad razonable, sensibilidad alta y aplicabilidad en campo.¹⁰

La ditizona (Dz) posee grupos azo y sulfhidrilos, los cuales pueden formar complejos estables con muchos iones metálicos bajo condiciones apropiadas. Su inespecificidad hacia diferentes iones metálicos es una desventaja, que se ha visto reducida mediante el control del pH. La formación de complejos con Hg(II) y Pb(II), se ve favorecida a pH 1-4 y 4.5-8.5 respectivamente.¹¹ Debido a todas estas características, la Dz ha sido usada como cromóforo en la elaboración de membranas de optodos.¹²⁻¹⁴

El presente trabajo de investigación reporta el diseño, construcción y evaluación de un optodo para la determinación de Pb(II) y Hg(II) en solución, el cual estuvo basado en la inmovilización de Dz en una membrana de PVC. El dispositivo propuesto, consta de un resistor dependiente de la luz (LDR) como detector, LED RGB como fuente de luz y un cuerpo de poliamida. Además, este dispositivo está acoplado a un registrador de datos y a un software de adquisición de datos. En conjunto el presente optodo fue aplicado satisfactoriamente para la determinación de Pb(II) y Hg(II) en solución.

HIPÓTESIS

Dado que la ditizona puede formar complejos con el Hg(II) y Pb(II) a diferentes condiciones de pH, es probable que, esta pueda ser usada como interfaz sensible de un optodo, mediante su inmovilización en una membrana de PVC, que sirva para la determinación de Hg(II) y Pb(II) en solución con ventajas sobre métodos convencionales.

OBJETIVOS

- Diseñar y construir un optodo basado en la inmovilización de ditizona en una membrana de PVC, que responda a Pb(II) y Hg(II) en solución.
- Evaluar si dicha respuesta es analíticamente aceptable para la determinación de estos elementos en solución, según los factores que puedan intervenir en el proceso.
- Comparar dicha respuesta con un método estándar (ICP-OES).

CAPÍTULO I

MARCO CONCEPTUAL

1. Sensor

La palabra sensor viene del latín “sentire”, que significa “percibir”, originado en 1350-1400.¹⁵ Se denomina sensor al dispositivo analítico capaz de responder en continuo, in situ, en tiempo real y de modo reversible a los cambios producidos en un parámetro físico o en la concentración de una especie química.¹⁶

El diagrama esquemático de un sensor se representa en la Fig. 1. Un sensor está compuesto por dos componentes principales: una interfaz sensible y un transductor. La interfaz sensible es capaz de interactuar con un mensurando objetivo y causar un cambio en el funcionamiento del transductor. Afectado por este cambio, el transductor produce una señal, que se traduce en información legible por un sistema de adquisición de datos.¹⁵

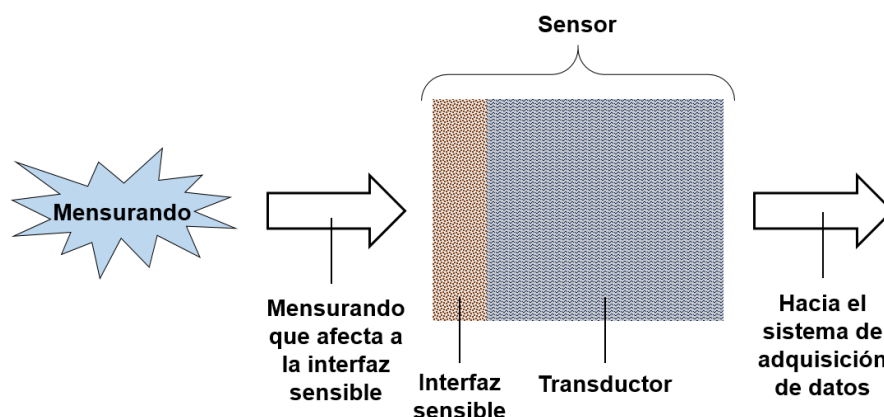


Fig. 1 Diagrama esquemático de un sensor ¹⁵

Los sensores pueden ser utilizados para medir o detectar una amplia variedad de mensurandos físicos, químicos y biológicos, incluyendo proteínas, bacterias, productos químicos, gases, intensidad de la luz, movimiento, posición, sonido y muchos otros.¹⁷

Un sensor debe ser sensible a su mensurando objetivo, e insensible a cualquier otra magnitud de entrada, la cual podría afectar su rendimiento. Como una regla universal, los sensores deben proporcionar fiabilidad, exactitud, precisión, estabilidad, generalmente detección de bajo precio.¹⁸

1.1. Optodo

1.1.1. Definición de Optodo

Un optodo es un sensor óptico-químico, que está basado en la interacción del analito y la interfaz sensible, la cual produce información química manifestada en forma óptica, que es traducida en una señal analíticamente útil, generalmente de dominio eléctrico.

Las aplicaciones de los optodos han aumentado rápidamente en las últimas tres décadas. Inicialmente estos sensores óptico-químicos han sido denominados de dos

formas: “optrodo” basado en el nombre más antiguo de “electrodo” y el nombre “optodo”, derivado de “óptico”.¹⁹ Este último ha sido utilizado con mayor frecuencia.

En los optodos, la interfaz sensible consiste en colorantes reactivos inmovilizados en matrices orgánicas o inorgánicas.¹⁶ La interacción de estos reactivos con el analito provoca un cambio en el comportamiento de la absorbancia,²⁰ fluorescencia²¹ o reflectancia²² de la interfaz sensible, aplicada en la determinación de diversos analitos, por ejemplo, iones metálicos.^{9, 23-28} En otras palabras, el indicador actúa como un transductor para especies químicas que no pueden ser determinadas directamente por medios ópticos.

Los optodos presentan las siguientes ventajas: tamaño reducido, bajo costo, simplicidad, no necesitan soluciones de referencia, selectividad razonable, sensibilidad alta y son aplicables en campo.^{29, 30}

1.1.2. Principio de funcionamiento de los optodos

La operación fundamental de un optodo consiste en tres pasos principales: la interacción entre la interfaz sensible y el analito, por medio de cualquiera de los diferentes mecanismos que son esquematizados en la Fig. 2; la detección y la transducción de cualquier variación física o química causada por las reacciones de reconocimiento; y el procesamiento de señales, incluyendo la adquisición de los resultados.

El funcionamiento de los optodos se basa en la preconcentración del analito en un sustrato sólido (membrana) que produce un cambio en la propiedad óptica del sustrato sólido que es proporcional a la concentración de analito.³¹ La medición de la variación de la propiedad óptica (absorción, reflectancia, luminiscencia, fluorescencia, centelleo, índice de refracción, etc.) de la fase sólida puede ser utilizada para la detección y cuantificación del analito objetivo.³²

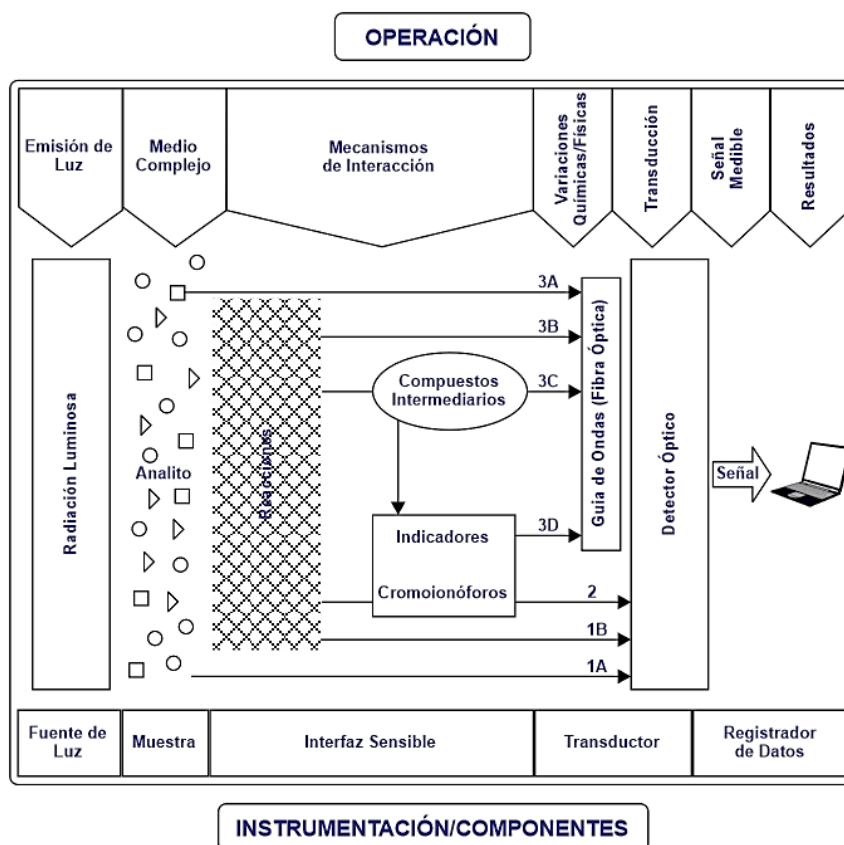


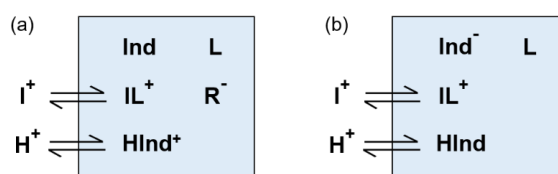
Fig. 2 Mecanismos de interacción química, componentes básicos de la instrumentación de un optodo y su funcionamiento. Mecanismos: medición directa de compuestos químicos que exhiben propiedades espectroscópicas (1A) y la medición de luz originada desde una reacción química o biológica en un fenómeno de quimioluminiscencia o bioluminiscencia (1B); optodos basados en la interacción de indicadores y cromoionóforos con la luz, los cuales son inmovilizados en un soporte (2); y optodos que modifican las propiedades físicas o químicas intrínsecas de una guía de ondas (índice de refracción, fase, etc.) como consecuencia de la presencia del analito (3A), una interfaz sensible (3B), un analito intermedio (3C) o un indicador (3D).³³

En las membranas de optodos, el método más común se basa en un intercambio de iones entre una fase hidrófoba que contiene un cromoionóforo selectivo, capaz de unirse al ion metálico de una solución acuosa, que cambia de color o fluorescencia

debido a la liberación de protones cuando ión metálico es captado y este cambio es proporcional a su concentración.³⁴ La difusión de los cationes y el desequilibrio de la carga en la membrana causa que el cromoióforo libere H^+ y su color cambie en la forma desprotonada.³⁵

En la Fig. 3 se muestra los mecanismos de acción en membranas de optodos. En el caso de intercambio catiónico (a) El uso de un indicador neutro necesita una compensación de carga y una fase de transferencia por los sitios aniónicos. (b) Si el indicador esta negativamente cargado, tanto H^+ y IL^+ compiten por una compensación de carga del indicador, dependiendo del pK_a y el pH de la solución acuosa. En el caso de una extracción iónica (c) Se da una extracción directa del analito por medio del ionóforo, por otro lado, el indicador capta H^+ para mantener la neutralidad de la membrana.³⁶

Intercambio Catiónico



Extracción iónica

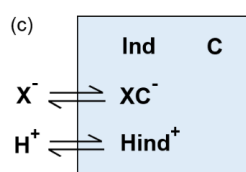


Fig. 3 Diagramas de los mecanismos de acción en membranas de optodos. (a,b) Membranas de intercambio catiónico que incorporan un ionóforo selectivo para cationes eléctricamente neutral, L, ya sea con un indicador básico (neutral), Ind, y sitios lipofílicos aniónicos, R^- (a), o con un indicador ácido (cargado negativamente), Ind⁻ (b); (c) Membranas de extracción iónica que incorporan un ionóforo selectivo para aniones eléctricamente neutral, C, y un indicador básico, Ind.³⁶

La respuesta del optodo depende de la manera en la cual el analito interacciona con el transductor químico. Por ejemplo, un reactivo (R) reacciona con un analito (A) formando un producto (AR). Entonces, ya sea R o AR, usualmente presenta absorción o luminiscencia, y por lo tanto pueden ser medidos ópticamente. El reactivo empleado es generalmente selectivo, produciendo un cambio óptico distinto para determinado analito. Durante la reacción química, el reactivo R es consumido y, por lo tanto, la absorbancia o luminiscencia decrece, o la formación del producto AR aumenta la absorbancia o luminiscencia. De cualquier manera, el cambio en la propiedad óptica de R o AR puede estar relacionada con su concentración y, a su vez, relacionada con la concentración del analito A causando cambios en la propiedad óptica medida.³⁷

1.1.2.1. Absorción

La absorción de energía óptica da lugar a transiciones en los estados de energía electrónico, vibracional y/o rotacional, de los átomos y moléculas, y sólo se produce si la diferencia en los estados de energía implicados coincide exactamente con la energía de excitación de los fotones. La radiación visible y ultravioleta induce excitación electrónica, la radiación infrarroja promueve la excitación vibracional, y la radiación de microondas da lugar a las transiciones rotacionales.

La absorción conduce a una disminución de la potencia de la radiación a medida que pasa a través de la muestra. Por lo tanto, después de encontrar un número de especies absorbentes, un haz de luz de intensidad inicial (I_0) será transmitida por la muestra con una intensidad reducida (I). Debe saberse que sólo las frecuencias que son absorbidas serán atenuadas, y todas las otras frecuencias pasarán a través sin pérdida de potencia. La disminución de la intensidad de la luz es determinada por el número de especies absorbentes en la trayectoria de luz, y esta relaciona con la concentración.³⁸

1.1.3. Tipos de Optodos

Los optodos se pueden clasificar según la disposición de los reactivos ópticamente activos, como se representa en la Fig. 4.

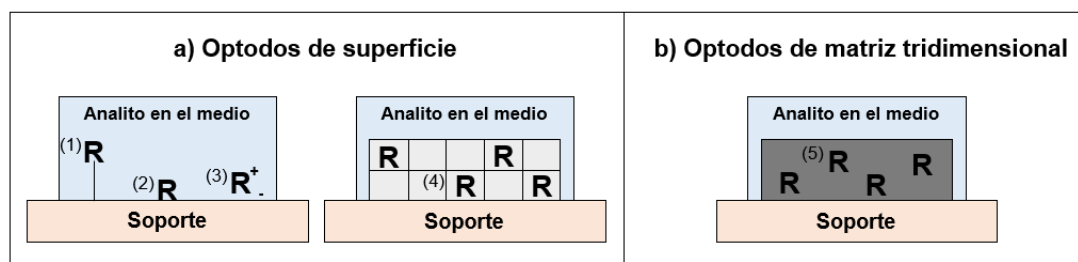


Fig. 4 Representación esquemática de optodos según la disposición de los reactivos ópticamente activos. **a** Optodos de superficie: reactivos están directamente inmovilizados sobre un soporte mediante (1) enlaces covalentes, (2) adsorción, (3) interacciones electrostáticas o (4) atrapados en una matriz porosa. **b** Optodos de matriz tridimensional: (5) reactivos son disueltos en un plastificante.³⁹

1.1.3.1. Optodos de superficie (surface optodes)

Su característica principal es que los reactivos ópticamente activos son inmovilizados sobre la superficie de un componente óptico (guía de ondas, placa metálica, vidrio, prisma, etc.) o en una matriz porosa de manera que están en contacto directo con el analito de la muestra. Esta inmovilización puede ser llevada a cabo por medio de enlaces covalentes;⁴⁰ por interacciones mecánicas, tales como adsorción física;⁴¹ por atrapamiento físico o por interacciones electrostáticas.⁴² La respuesta a un analito determinado viene dada por los equilibrios que se establecen en la interfaz del soporte con la dilución. Estos, a su vez, están controlados por las leyes de difusión de Fick y por las condiciones de adsorción.⁴³

1.1.3.2. Optodos de matriz tridimensional (bulk optodes)

Los reactivos están disueltos en una fase orgánica, que es impregnada en una matriz polimérica inerte, formando así, la membrana de detección de los optodos de matriz tridimensional, y su señal se basa en los cambios de concentración dentro de la matriz.⁴⁴

Estos optodos siguen mecanismos de intercambio iónico entre la membrana y la solución acuosa. La entrada del analito provoca un cambio en las propiedades ópticas de un elemento disuelto en la membrana (cromoionóforo). Por otra parte, la selectividad es gobernada por los coeficientes de distribución de iones entre ambas fases y por las constantes de formación de complejos dentro de la membrana. La principal ventaja de la utilización de este enfoque es que la respuesta no es afectada por la fuerza iónica de la solución.⁴⁵

1.1.4. Componentes de la membrana del optodo

La membrana del optodo, es la interfaz sensible de un optodo, es la parte que proporciona selectividad hacia un analito. Además, determina otros parámetros analíticos como la sensibilidad, tiempo de vida y el intervalo de trabajo. Básicamente está compuesta por un ionóforo o cromoionóforo, un cromóforo (en el caso de que el ionóforo no posea propiedades ópticas), una matriz polimérica y un plastificante.⁴⁶

1.1.4.1. Ionóforo

Los ionóforos o portadores de iones son agentes complejantes lipofílicos capaces de unirse reversiblemente a iones. Se denominan portadores de iones debido a que catalizan el transporte iónico a través de membranas hidrofóbicas, aumentando la permeabilidad de estas. Pueden ser especies cargadas (ionóforos cargados) o neutras (ionóforos neutros).⁴⁷

En una membrana de optodo, y en general en membranas selectivas a iones, la función del ionóforo es esencial: consiste en reconocer al analito selectivamente y transportarlo al interior de la membrana. Con esta finalidad, los requisitos que ha de cumplir un ionóforo son: una alta lipofilicidad, alta selectividad respecto al analito, presentar constantes de formación del complejo analito-ionóforo apropiadas y unirse al analito reversiblemente.⁴⁸

1.1.4.2. Cromoionóforo

Los cromoionóforos son transportadores de iones capaces de presentar cambios en sus propiedades ópticas al interactuar con el analito. Su estructura química incluye una zona de reconocimiento enlazada a un grupo cromóforo.⁴⁹ Un grupo cromóforo es una región molecular donde la diferencia energética entre dos orbitales moleculares cae dentro del espectro visible, la cual es responsable de su color. Normalmente se trata de un sistema π conjugado. Cuando el analito es reconocido, este sistema electrónico π se ve modificado, lo que provoca un cambio en las propiedades espectrales (absorción UV-Vis del cromoionóforo). En definitiva, este es un proceso de traducción, donde la información química se transforma en una señal óptica.⁴⁶

Las características de un cromoionóforo son las mismas que las descritas para un ionóforo (apartado 2.1.1.4.1.) además, este debe presentar una gran variación en sus propiedades ópticas por la interacción con el analito, tener coeficientes de extinción molar altos y ser específicos para un analito determinado. Por otra parte, deben ser fotoquímicamente estables para ser aplicados en situaciones reales, haciendo viable el desarrollo de dispositivos simples, robustos y de bajo costo.⁵⁰ Una gran variedad de cromoionóforos que cumplen la totalidad o parte de las características mencionadas han sido utilizados.⁵¹⁻⁵³

1.1.4.2.1. Ditizona

El reactivo analítico ditizona (también conocida como 1,5-difeniltiocarbazona o 3-tio-1,5-difenilformazán), fue sintetizada por primera en 1878 por Emil Fischer a partir del disulfuro de carbono y la fenilhidrazina.⁵⁴ La ditizona es insoluble en soluciones acuosas a $\text{pH} < 7$, pero si es soluble en medio alcalino. Las dos formas tautoméricas ceto y enol coexisten en solventes orgánicos.⁵⁵

La ditizona contiene grupos azo y tiol, los cuales pueden formar complejos estables con muchos iones metálicos bajo condiciones adecuadas, como se muestra en la Fig. 5. Además, se usa ampliamente en métodos de extracción.¹⁴ El empleo de ditizona

como quelante en procedimientos de extracción líquido-líquido de iones metálicos, donde los analitos se separaron de manera eficiente de la matriz ha sido reportado.⁵⁶

La principal desventaja de la ditizona es su inespecificidad hacia diferentes iones metálicos. Esta desventaja se ha visto reducida mediante el control del pH. La formación de complejos con mercurio(II) y plomo(II), se ve favorecida a pH 1-4 y 4.5-8.5 respectivamente.¹¹ Debido a todas estas características, la ditizona ha sido usada como cromoionóforo en la elaboración de membranas de optodos.^{12, 13, 57}

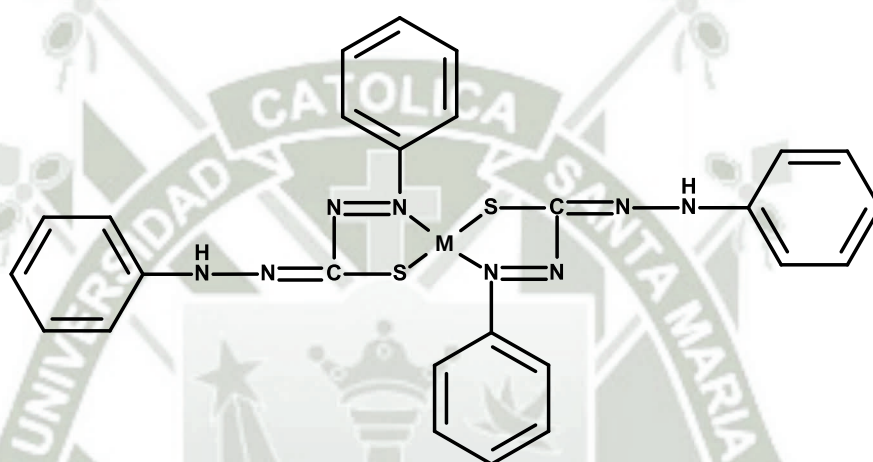


Fig. 5 Estructura del complejo de ditizona con Hg (II) y Pb (II), M es Hg (II) o Pb (II) ⁵⁵

1.1.4.3. Matriz

La matriz es el medio donde están inmovilizados, ocluidos o disueltos los reactivos responsables de la respuesta química selectiva de un optodo (ionóforo, cromoionóforo y aditivos). Se encarga de conferir a la fase reactiva las propiedades físicas adecuadas, como la estabilidad mecánica y la elasticidad, además de una relativamente alta movilidad de sus componentes.⁴⁶

Estas matrices están formadas por polímeros reticulados, polímeros plastificados o superficies activadas orgánicas e inorgánicas. Estos deben cumplir con las siguientes funciones básicas: actuar como una interfaz líquido-sólido o gas-sólido y, si la

radiación pasa a través de ellos permitir la transmisión de la señal, en otras palabras, deben ser materiales ópticamente transparentes. Por otro lado, estas deben permanecer inertes mientras se producen las reacciones químicas que están involucradas en el proceso de reconocimiento. Además, la matriz algunas veces juega el rol de mejorar la selectividad y regula la transferencia de carga.⁵⁸

La inmovilización de reactivos de detección sobre las matrices es un paso importante en el desarrollo de los optodos. La inmovilización química sobre una matriz apropiada,⁵⁹ la adsorción en la superficie de la matriz⁶⁰ y el atrapamiento físico en matrices poliméricas,¹⁰ son estrategias comúnmente aplicadas; entre ellas la última es la más utilizada.

La elección de la matriz es regida por parámetros tales como: la permeabilidad hacia el analito, la estabilidad mecánica y la capacidad para inmovilizar el cromóforo.³¹ Entre los polímeros más usados como matrices en los optodos tenemos: PVC, poliuretanos blandos, siliconas, cloruro de polivinilideno, polisiloxanos, Nafion[®], etc.

1.1.4.3.1. Policloruro de Vinilo (PVC)

El PVC es el polímero más utilizado como matriz en los optodos. Sus principales ventajas son el costo relativamente bajo, buenas propiedades mecánicas y su docilidad a la plastificación.⁶¹

El PVC tiene una temperatura de transición vítrea (T_g) alrededor de 85°C, haciéndose necesaria la adición de un plastificante, ya que los polímeros aptos para ser usados en matrices sensoras deben tener una T_g por debajo de aproximadamente 25 °C.⁴⁸ El PVC presenta las características requeridas para la matriz de un optodo (apartado 2.1.1.4.3.).

1.1.4.4. Plastificante

El plastificante o disolvente mediador es un disolvente orgánico de alto punto de ebullición e inmiscible en agua, cuya función en las membranas de optodos es la formación de una solución homogénea y estable en la que se encuentran disueltos el

resto de los componentes y, de esta forma, junto con el polímero, dotan a la membrana de una estructura. Los plastificantes incrementan el flujo y la termoplasticidad de los polímeros, mediante la disminución de su viscosidad y su T_g .⁶²

El plastificante debe presentar las siguientes características: debe ser químicamente inerte, lipofílico y debe asegurar la movilidad de sus constituyentes. La lipofilicidad y la constante dieléctrica son dos de los parámetros que definen a un plastificante. Además, el plastificante tiene la capacidad de modular la selectividad, el intervalo de respuesta y el tiempo de vida de las membranas, debido al efecto sobre la respuesta iónica que tienen algunas de sus propiedades (polaridad, capacidad coordinante y formación de pares iónicos).⁶³

Los plastificantes más usados en las membranas de optodos son: los adipatos, sebacatos, ftalatos y nitroaromáticos.⁴⁶

1.1.5. Instrumentación de los optodos

En cuanto a la instrumentación requerida, usualmente componentes ópticos activos y pasivos son empleados; sin embargo, su complejidad puede variar de acuerdo con los objetivos propuestos. Entre las partes principales se pueden distinguir: a la fuente de luz, el detector y el transductor.

1.1.5.1. Fuente de luz

Una fuente de luz es cualquier objeto que puede emitir la parte visible de la radiación electromagnética (400 – 700 nm).⁶⁴ Esta luz emitida interactúa con el transductor químico, esta interacción resulta en una modulación de la señal óptica, y la luz modulada, que está codificada con información química, es guiada a un sistema de medición de luz (detector).

La fuente de luz debe ser capaz de proporcionar una radiación intensa y estable. Varios tipos de fuentes de luz han sido empleados en optodos tales como lámparas

incandescentes, láseres de gas, diodos emisores de luz (LEDs) y láseres de semiconductores de inyección.³⁸

1.1.5.1.1. Diodo Emisor de Luz – Rojo, Verde y Azul (Led RGB)

Los Leds son dispositivos bipolares y polarizados, de unión p-n, que emiten luz cuando están conectados a una fuente de poder de corriente continua en un solo sentido. Son fuentes en miniatura de alta intensidad de radiación monocromática, producen una luz con un ancho de banda espectral de 40 – 50 nm.⁶⁵

El Led RGB trabaja con el sistema RGB, el cual consiste en la mezcla aditiva de los tres colores primarios (rojo, verde y azul), que pueden generar un amplio rango de colores,⁶⁶ Las longitudes de onda de sus colores primarios: azul, verde y rojo son: 465, 525 y 640 nm, respectivamente, por medio de su mezcla se puede obtener todo el espectro visible.⁶⁷

El material que se usa para elaborar estos dispositivos es el nitruro de galio-indio (InGaN) para el color azul, el InGaN sobre un zafiro para el color verde y el fosfuro de aluminio-galio-indio (AlGaInP) sobre arseniuro de galio (GaAs) para el color rojo.⁶⁸

1.1.5.2. Fotodetector

El sistema de fotodetección es esencialmente un dispositivo de recuento de fotones, donde las señales ópticas son convertidas en señales eléctricas, que pueden ser fácilmente amplificadas por medios electrónicos.⁶⁹

El fotodetector debe poseer una adecuada sensibilidad a la longitud de onda de medición, debe generar una cantidad mínima de ruido a la señal transmitida y debe responder rápidamente a las variaciones en intensidad de la luz incidente. Varios tipos de fotodetectores han sido incorporados en optodos. Estos incluyen tubos fotomultiplicadores, fotodiodos positivos intrínsecos negativos (PIN), fototransistores

y fotorresistencias. Dependiendo del dispositivo de medición y los principios ópticos empleados, la señal óptica medida puede ser absorbancia, reflectancia, luminiscencia, fluorescencia o la dispersión.³⁸

1.1.5.2.1. Resistor Dependiente de la Luz (LDR)

El LDR también es conocido como fotoconductor. Este dispositivo utiliza materiales cuya resistencia óhmica varía con el grado de irradiancia. Estos dispositivos emplean al sulfuro de cadmio (CdS) y seleniuro de cadmio (CdSe), debido a que exhiben un comportamiento fotoconductor y son de bajo costo.⁶⁹

La resistencia de este tipo de componentes varía en función de la luz que recibe en su superficie. Así, cuando están en oscuridad su resistencia es alta y cuando reciben luz su resistencia disminuye considerablemente. Esto se produce porque, directamente debajo de la banda de conducción del material fotoconductor hay un nivel donador y por encima de la banda de valencia hay un nivel aceptor. En la oscuridad, los electrones y los huecos en cada nivel están casi aglomerados en su lugar, resultando en una alta resistencia del LDR. Cuando la luz ilumina el material fotoconductor, los fotones son absorbidos, provocando una energía añadida en la banda de valencia, ocasionando que los electrones vayan hacia la banda de conducción, creando huecos libres en la banda de valencia, incrementando la conductividad del LDR.⁷⁰

Por otro lado, como se explica en el párrafo anterior, cuando el LDR recibe luz su resistencia es baja, pero esto también depende del circuito que se use, pudiéndose dar lo contrario, cuando el LDR recibe luz su resistencia es alta.⁷¹

1.1.5.3. Transductor

Un transductor es un componente que convierte una forma de energía en otra, esta conversión es una característica esencial que gobierna el proceso de detección. Existen diferentes tipos de transductores: térmicos, electromagnéticos, químicos, etc.¹⁵

En un optodo, existen dos transductores: el cromoionóforo y el fotodetector, el primero permite la conversión de la energía química en energía luminosa, y el segundo produce la conversión de la energía luminosa en energía eléctrica.⁶⁹

El transductor químico por lo general consiste en reactivo(s) inmovilizado(s) que son específicos para el analito y a menudo son capaces de medir niveles traza del analito.³⁸ La traducción química esta normalmente basada en el equilibrio establecido durante la reacción química entre el analito y el transductor químico.

2. Metales Pesados

El término “metal pesado” se refiere a cualquier elemento metal o metaloide que tiene una densidad igual o superior a 5 g. cm^{-3} cuando está en forma elemental, cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos) y es tóxico a bajas concentraciones. Esta definición incluye al mercurio (Hg), cadmio (Cd), arsénico (As), cromo (Cr), talio (Tl), zinc (Zn), níquel (Ni), cobre (Cu) y plomo (Pb).⁷²

Los metales pesados existen normalmente en la corteza terrestre y son encontrados en suelo, rocas, sedimentos, agua y microorganismos a concentraciones naturales. Sin embargo, su liberación antropogénica puede dar lugar a altas concentraciones de estos metales pesados en el ambiente. Como los metales pesados no pueden ser degradados o destruidos, persisten en el ambiente.⁷³

La toxicidad de los metales pesados depende de su forma molecular y su especiación en solución. Sus formas iónicas libres son las formas más tóxicas para la biota.⁷⁴ Aunque los metales pesados de forma individual exhiben signos específicos de su toxicidad, los siguientes han sido reportados como signos generales asociados con el envenenamiento por Cd, Pb, As, Hg, Zn, Cu y Al: desordenes gastrointestinales, diarrea, estomatitis, hemoglobinuria, ataxia, parálisis, vómitos, convulsiones, depresión, etc. La naturaleza de los efectos podría ser tóxica (aguda, crónica o subcrónica), neurotóxica, carcinogénica, mutagénica o teratogénica.⁷⁵

2.1. Plomo

El plomo (Pb) es un metal pesado con un color gris azulino que se encuentra de forma natural en la corteza terrestre. Sin embargo, rara vez se encuentra en forma natural como un metal, por lo general se encuentra combinado con dos o más elementos para formar compuestos de Pb como la Galena (PbS), Cerusita (PbCO₃) y Anglesita (PbSO₄). Estos compuestos de Pb comprenden 0,002% de la corteza terrestre.⁷⁶ El Pb tiene un peso atómico de 207.2 g. mol⁻¹ y una densidad de 11.34 g. cm⁻³. Tiene un punto de fusión de 327.46 °C y un punto de ebullición de 1749 °C. Perteneció al Grupo IVA en el sistema de elementos y se encuentra en tres estados de oxidación principales 0, II y IV. En la mayoría de sus compuestos inorgánicos, el Pb está en estado de oxidación de II. Con excepción del nitrato y acetato, las demás sales de Pb(II) son insolubles en agua.⁷⁷

2.1.1. Plomo en el ambiente

Este metal ha sido utilizado por los seres humanos durante miles de años y está muy extendido hoy en día, puede provenir de operaciones de minería, tratamiento de metales, fabricación de equipos eléctricos y quema de combustibles fósiles. Se encuentra en productos como: pinturas y pigmentos, baterías, pesticidas, tubos, pesas, municiones, cubiertas de cables, y dispositivos de protección contra la radiación.⁷⁸ El rango de concentración de descarga de plomo (II) es de 5-66 mg. L⁻¹ para la industria de las baterías, 0.02-2.5 mg. L⁻¹ para la industria minera y 125-150 mg. L⁻¹ para la industria petrolera.⁷⁹

Las principales fuentes de plomo en el agua potable son la corrosión de las cañerías en el hogar; y la erosión de depósitos naturales. Las casas antiguas tienen más probabilidades de tener tuberías, accesorios y soldadura con plomo. El plomo entra en el agua a través del contacto con la fontanería. El plomo se filtra en el agua a través de la corrosión, debido a una disolución o desgaste de metales causada por una reacción química entre el agua y la plomería. La cantidad de plomo en el agua también depende de los tipos y cantidades de minerales en el agua, el tiempo que el agua se queda en

las tuberías, la cantidad de desgaste en las tuberías, la acidez del agua y la temperatura.⁸⁰

A pesar de que las principales fuentes de exposición al plomo son la ingestión de partículas de pintura y la inhalación de polvo, la EPA estima que del 10 al 20 por ciento de la exposición humana al plomo puede provenir de plomo en el agua potable. En condiciones normales el plomo no reacciona con el agua. Sin embargo, cuando este entra en contacto con aire húmedo su reactividad con el agua aumenta. Cuando el oxígeno y el agua están presentes, el plomo metálico es convertido a hidróxido de plomo ($\text{Pb}(\text{OH})_2$).

El plomo orgánico se aplica en la producción de petróleo, y los compuestos de plomo inorgánico se aplican en la producción de baterías y pinturas. El plomo se utiliza para la fabricación de pantallas televisión y ordenadores. El tetraetilo de plomo se aplica como aditivo en combustibles. Estos compuestos orgánicos de plomo se convierten rápidamente a compuestos inorgánicos de plomo, y terminan en el agua, incluso a veces en el agua potable.⁸¹ El plomo no es tan tóxico para los organismos marinos como el mercurio o cadmio. Por lo general, los valores cercanos 0.1 mg. L^{-1} se indican como el umbral donde los efectos adversos se hacen evidentes.⁸²

El plomo es persistente en el ambiente y se acumula en los suelos y sedimentos a través de la deposición desde: el aire, la descarga directa de efluentes a los cuerpos de agua, la minería y la erosión. Los ecosistemas cercanos a las fuentes puntuales de plomo demuestran una amplia gama de efectos adversos, incluyendo: pérdida en biodiversidad, cambios en la composición de la comunidad, disminución de las tasas de crecimiento y reproducción en plantas y animales, y efectos neurológicos en los vertebrados.⁷⁷

2.1.2. Toxicidad por plomo

En adultos la toxicidad aguda por Pb se manifiesta con dolor abdominal, constipación, vómitos, anorexia e hiperirritabilidad, en niveles de Pb en sangre en un rango de $60\text{--}100 \text{ } \mu\text{g. dL}^{-1}$. La parálisis nerviosa se da a niveles mayores de Pb en

sangre ($90\text{--}120\text{ }\mu\text{g. dL}^{-1}$); mientras que los signos de encefalopatía (coma, convulsiones y vómitos explosivos) se ponen en manifiesto solo en niveles de Pb en sangre mayores a $120\text{ }\mu\text{g. dL}^{-1}$.⁸³ La neuropatía periférica precede a los síntomas neurológicos de la toxicidad por Pb, y ocurre a niveles de Pb en sangre de aproximadamente $50\text{--}60\text{ }\mu\text{g. dL}^{-1}$.⁸⁴

Los niños que sufren toxicidad aguda por Pb manifiestan síntomas como letargia, convulsiones, anorexia, vómitos, coma y encefalopatía. Ciertos signos son síntomas del trastorno de hiperactividad con déficit de atención (THDA) como la mayor distracción y la incapacidad para inhibir las respuestas del comportamiento inapropiado observado tanto en niños como en animales expuestos a Pb. El Pb puede dañar varios sistemas en el organismo (Ej. renal, hematopoyético y esquelético), pero el sistema nervioso central (SNC) es el blanco principal.

El envenenamiento que se produce por el Pb se le denomina saturnismo, plumbosis o plumbemia. Niveles de Pb en sangre mayores a $90\text{ }\mu\text{g. dL}^{-1}$ pueden causar una encefalopatía hemorrágica con edema severo y una alta mortalidad. Esto es en parte debido a la habilidad de este metal de interrumpir la integridad de las células capilares endoteliales de la barrera hematoencefálica, comprometiendo sus funciones.⁸⁰

Lo más común es la exposición a niveles bajos de Pb, dependiendo de la dosis se observa una disminución en las funciones intelectuales en niños expuestos al Pb durante la primera infancia.⁸⁵ Este sutil efecto sobre los circuitos neuronales se manifiesta como anomalías en el aprendizaje y el comportamiento, las cuales pueden estar acompañadas de convulsiones recurrentes y retardo mental. La hiperactividad y déficit de atención también han sido reportadas. Aunque no se ha observado ninguna evidencia de lesión cerebral a este nivel de exposición, el déficit neurológico sufrido puede ser permanente.⁸⁶

2.1.3. Lineamientos de exposición al plomo

El centro de control de enfermedades de los Estados Unidos ha revisado los niveles permisibles de Pb en sangre varias veces a lo largo de los años. El rango de referencia

fue originalmente establecido en $60 \mu\text{g. dL}^{-1}$ (1971), y fue continuamente reduciéndose a $40 \mu\text{g. dL}^{-1}$ (1975), $30 \mu\text{g. dL}^{-1}$ (1978), $25 \mu\text{g. dL}^{-1}$ (1985), $10 \mu\text{g. dL}^{-1}$ (1991) y finalmente en $5 \mu\text{g. dL}^{-1}$ (2012).⁸⁷

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido que los niveles mínimos de Pb en la sangre, a los cuales no se observa un efecto sobre la salud de las personas $5 \mu\text{g. dL}^{-1}$, y que sobre esta base la OMS recomienda, un nivel de concentración de Pb en el aire de $0.5 \mu\text{g. m}^{-3}$ y en el agua $10 \mu\text{g. L}^{-1}$ anual.⁸⁸ El nivel permisible de plomo en el agua potable es de $0,05 \text{ mg. L}^{-1}$ según el Ministerio del Ambiente del Perú.⁴

2.2. Mercurio

El mercurio (Hg) es el único metal pesado que es líquido a temperatura ambiente (25°C). El mercurio se encuentra naturalmente en el medio ambiente y existe en varias formas. Las formas naturales más comunes de mercurio son: el mercurio metálico, sulfuro de mercurio (cinabrio), cloruro de mercurio y metilmercurio. Algunos microorganismos (bacterias y hongos) y procesos naturales pueden cambiar al mercurio en el medio ambiente de una forma a otra. El compuesto de mercurio orgánico más común que los microorganismos y procesos naturales generan a partir de otras formas es el metilmercurio.⁸⁹ El Hg tiene un peso atómico de $200.59 \text{ g. mol}^{-1}$ y una densidad de 13.60 g. cm^{-3} . Tiene un punto de fusión de -38.9°C y un punto de ebullición de 356.6°C . Pertenece al Grupo IIB en el sistema de elementos y se encuentra en tres estados de oxidación principales 0, I y II.⁹⁰ Los siguientes compuestos de mercurio se encuentran con mayor frecuencia en condiciones ambientales: HgCl , Hg(OH) y HgS ; el ion de metilmercurio (HgCH_3^+) y sus compuestos de cloruro de metilmercurio (CH_3HgCl) e hidróxido de metilmercurio (CH_3HgOH); y en pequeñas fracciones, otros organomercúricos (por ejemplo, dimetilmercurio y fenilmercurio). El metilmercurio se forma cuando el mercurio entra en el suelo o en los sedimentos, y actúa sobre los microorganismos anaerobios. La solubilidad de los compuestos de mercurio varía desde insignificante (HgS) a muy soluble ($\text{Hg(NO}_3)_2$).⁹¹ El Hg(II), es la principal forma de Hg en medios acuáticos.⁹²

2.2.1. Mercurio en el ambiente

Históricamente, el mercurio y sus compuestos se han utilizado con fines industriales, medicinales, y cosméticos. Los usos modernos del mercurio incluyen la producción de cloro-álcali, en dispositivos de cableado y switches, dispositivos de medición y control, iluminación, preservantes, desinfectantes y trabajo dental.⁹³

Los vertidos urbanos, los materiales agrícolas, la minería, la combustión y los vertidos industriales son las principales fuentes antropogénicas de contaminación de Hg en el medio ambiente.⁹⁴ El mercurio experimenta transformaciones físicas, químicas y biológicas en el medio ambiente, siendo las principales: (a) el transporte de Hg(0) través de la atmósfera, su oxidación fotoquímica a Hg(II) y posterior deposición en los suelos, lagos, ríos y el mar; (b) la metilación de Hg(II) por acción bacteriana en hábitats anóxicos, provoca su absorción por organismos acuáticos y acumulación en la cadena alimenticia, resultando en altas concentraciones de mercurio en peces y la exposición crónica en seres humanos.⁹⁵ La contaminación por Hg puede ser mucho más amplia que la observada para otros metales pesados debido a su transporte atmosférico⁹⁶ o por su biomagnificación en la cadena alimentaria, alcanzando a peces y seres humanos.⁹⁷

Las formas iónicas del mercurio son fuertemente adsorbidas por los suelos y sedimentos, y se desorben lentamente. La mayoría de los iones de mercurio son adsorbidos por la materia orgánica en los suelos ácidos. Cuando la materia orgánica no está presente, el mercurio se vuelve relativamente más móvil en suelos ácidos y puede evaporarse a la atmósfera o lixivarse a aguas subterráneas.⁹⁷

2.2.2. Toxicidad por mercurio

El mercurio, y particularmente la forma de metilmercurio orgánico, es una neurotoxina potente capaz de perjudicar el desarrollo neurológico en fetos y niños pequeños, además de dañar el sistema nervioso central de los adultos. La exposición al mercurio inorgánico puede dañar el tracto gastrointestinal, el sistema nervioso, y los riñones.⁹⁸

El envenenamiento que se produce por el Hg se le denomina hidrargirismo o mercurialismo. Los síntomas de envenenamiento por mercurio son principalmente trastornos neuronales, pero también se producen daños en el sistema cardiovascular, huesos, etc.⁹⁹ A niveles altos de exposición a Hg se produce cambios en la personalidad, aumento de la excitabilidad, pérdida de memoria, insomnio, etc.¹⁰⁰

La toxicidad del mercurio depende fuertemente de su estado redox.¹⁰¹ La forma más tóxica del mercurio es el Hg(II) altamente reactivo, que se une al aminoácido cisteína en la proteínas. En contraste, el peligro de mercurio elemental Hg(0) y los compuestos organomercuriales radica en sus rutas de transporte.¹⁰² El vapor de mercurio es fácilmente inhalado, entra en el torrente sanguíneo, a los pulmones y por lo tanto se distribuye por todo el cuerpo. Dentro de las células, se oxida a Hg(II). La toxicidad de metilmercurio (MeHg^+) o dimetilmercurio (Me_2Hg) es causada por su capacidad de penetrar las membranas en pocos segundos y también por atravesar la barrera hematoencefálica.⁹⁸

2.2.3. Lineamientos de exposición al mercurio

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido que los niveles mínimos de Pb en la sangre, a los cuales no se observa un efecto sobre la salud de las personas $10 \mu\text{g. L}^{-1}$, y en orina de $20 \mu\text{g. L}^{-1}$, que sobre esta base la OMS recomienda, un nivel de concentración de Hg en el aire de $1 \mu\text{g. m}^{-3}$ y en el agua $1 \mu\text{g. L}^{-1}$ anual.¹⁰³

El nivel permisible de plomo en el agua potable es de 0.002 mg. L^{-1} según el Ministerio del Ambiente del Perú.⁴

3. Espectrometría de emisión óptica con plasma inductivamente acoplado (ICP-OES)

La espectroscopia atómica se basa en la medida de la radiación electromagnética que es absorbida o emitida por los átomos de una muestra. Estas técnicas son comúnmente usadas en el análisis de elementos traza, la muestra es descompuesta por energía térmica, dando lugar a átomos en fase gas.¹⁰⁴

El plasma inductivamente acoplado (ICP) es un gas altamente ionizado, que contiene electrones energéticos, iones y átomos. A pesar de la alta cantidad de iones y electrones es macroscópicamente neutral. El plasma es sostenido por un suministro continuo de energía a través de una inducción electromagnética, o un acoplamiento inductivo, a un gas circundante.¹⁰⁵ El gas usado mayormente para la generación de plasma es el argón, el cual circula por una serie de tubos concéntricos, que constituyen la antorcha. Al final de la misma se encuentra una bobina de inducción, alimentada por un generador de alta frecuencia. Las temperaturas en el ICP son muy elevadas ($4.000-10.000^{\circ}\text{K}$) y son suficientes para disociar las combinaciones químicas estables, incluso los óxidos refractarios, eliminándose las interferencias químicas. Estos plasmas pueden estar o no en equilibrio termodinámico.

En principio, es necesario iniciar la ionización del gas utilizando un medio auxiliar, la chispa Tesla que luego se mantiene por la corriente de alta frecuencia que fluye a través de la bobina de inducción. El efecto es la aparición de un campo magnético, cuyas líneas de fuerza se orientan axialmente a la bobina, e induce a los iones y electrones a moverse en órbitas circulares, creando corrientes eléctricas, que a causa del efecto Joule ocasionan un calentamiento de los gases, alcanzándose temperaturas de hasta 10.000°K , y proporcionan la continuidad del plasma.¹⁰⁶

En el extremo de la antorcha aparece, debido a los átomos ionizados, una especie de "llama" que, se observa durante todo el proceso de ensayo. Como consecuencia de este diseño de la antorcha, las zonas axiales son relativamente frías, si se comparan con las circundantes y es, por tanto, a través de ellas por donde se inyectan las muestras dentro de la fuente de excitación y atomización, en forma de aerosol.¹⁰⁷

En la espectroscopia de emisión la muestra está sujeta a una temperatura lo suficientemente alta para disociar la matriz en átomos o iones, y causar su excitación electrónica por colisión. Los átomos o iones excitados pasan desde el estado excitado al estado fundamental por la colisión con otras partículas o por la radiación emitida. La diferencia energética entre los dos estados de energía y, por lo tanto, la longitud de onda de la radiación emitida, es característica para cada elemento.¹⁰⁶

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materiales y Equipos

1.1. Reactivos

Todos los reactivos usados en este trabajo fueron de grado analítico. Se utilizó policloruro de vinilo (PVC) de alto peso molecular y 2-nitrofenil-octil-eter (NPOE) de la casa Sigma-Aldrich. Además, tetrahidrofurano (THF) y ditizona (Dz) de la casa Merck. Los cuales fueron utilizados para la elaboración de la membrana del optodo.

Las soluciones estándar de Pb(II), Hg(II), Ag(I), K(I), Li(I), Na(II), Ca(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Mg(II), Mn(II), Ni(II), Zn(II), Al(III), Fe(III) y Cr(III) de aproximadamente 1000 mg. L⁻¹ de la casa Merck, fueron utilizadas para la preparación de las diferentes soluciones con las que se evaluó la membrana. Además, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), cianuro de potasio, ioduro de potasio, bromuro de potasio y cloruro férrico fueron adquiridos de la casa Merck.

El buffer Britton-Robinson fue preparado de ácido bórico/ácido fosfórico/ácido cítrico (0.01 mol L^{-1} cada uno). El pH final fue ajustado por la adición de 0.2 mol L^{-1} de hidróxido de sodio. Agua ultrapura fue usada para la preparación de todas las soluciones.

1.2. Materiales

El diodo emisor de luz-RGB (LED RGB); resistencia dependiente de la luz (LDR); reguladores de voltaje de 5V (IC-7805); condensadores cerámicos de $0.1 \mu\text{F}$; potenciómetros de $50 \text{ k}\Omega$; resistencias de 220, 1000 y 15000Ω ; transistor (2N2222) y placas de cobre, se utilizaron para la construcción de los circuitos electrónicos del optodo.

Por otro lado, en la construcción del cuerpo del optodo se utilizó un tubo de poliamida y un sellador de silicona transparente. Todos los componentes fueron obtenidos del medio local.

1.3. Equipos

El optodo construido se acoplo a un registrador de datos de alta resolución (ADC-16 Pico® Technology), a una batería recargable de 12 V y a una computadora portátil con el programa informático PicoLog Recorder.

Las características espectrales fueron llevadas a cabo en un espectrofotómetro Cary-60 UV-Vis (Agilent Technologies) y un espectrofotómetro USB4000 (Agilent Optics) fue usado para ajustar la λ emitida por la fuente de luz (LED RGB). Un pH-metro 827 (Metrohm) fue usado, después de la calibración con buffers estándar Merck, para las determinaciones de pH. Un sistema de purificación de agua EasyPure II (Barnstead) fue usado para la preparación de agua ultrapura. Además, un agitador magnético MSH-300i (BioSan) fue utilizado para homogenizar las soluciones que estuvieron en contacto con el optodo.

2. Metodología

2.1. Diseño del optodo

2.1.1. Diseño de los circuitos electrónicos

Los circuitos electrónicos, tanto la fuente de luz (Led RGB) como el detector (LDR), fueron diseñados mediante los programas: LiveWire Professional Edition y PCB wizard 4.0.

2.1.2. Diseño del modelo

El modelo del optodo fue diseñado basándose en el esquema mostrado en la Fig. 6. Para lo cual el programa CorelDraw X7 fue empleado.

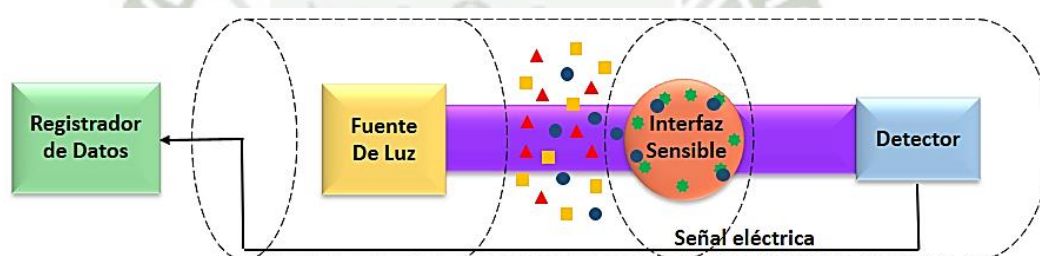


Fig. 6 Esquema de un optodo

2.2. Construcción del optodo

2.2.1. Construcción de los circuitos electrónicos

Los diseños de los circuitos electrónicos fueron impresos en una placa de cobre mediante la técnica de transferencia térmica, para lo cual se imprimió el diseño del circuito de modo invertido en un papel termotransferible, luego este se colocó cara a cara con la placa de cobre y por medio del calor de una plancha se impregnó la tinta en la placa de cobre. Seguidamente, se sumergió esta placa con una solución caliente de cloruro férrico, la cual disolvió al cobre que no estuvo cubierto con tinta. A

continuación, se procedió a perforar los orificios por los cuales entraron los componentes. Finalmente, los componentes fueron ensamblados en la placa elaborada.¹⁰⁸

2.2.2. Construcción del cuerpo

Para la construcción del cuerpo del optodo se utilizó poliamida, la cual ha sido utilizada para la construcción de otros sensores,¹⁰⁹ debido a que es un material muy dúctil y duro, de gran resistencia a productos químicos, a deformación térmica y a la corrosión. Se empleó el diseño previamente elaborado.

2.2.3. Ensamblado y acoplamiento

Las placas de los circuitos electrónicos fueron ensambladas en el cuerpo del optodo y se hicieron las conexiones con la fuente de poder, el registrador de datos y la computadora portátil, seguidamente se procedió a cerrar herméticamente el optodo.

2.2.4. Preparación de la membrana

La preparación de la membrana del optodo, se realizó a partir de una mezcla de: policloruro de vinilo (matriz), 2-nitrofenil octil éter (plastificante), ditizona (cromoionóforo) y tetrahidrofurano (disolvente).^{110, 111} Se buscó las cantidades adecuadas de cada componente para obtener una apropiada respuesta para Hg(II) y Pb(II) en solución. Una vez preparada esta mezcla se colocó una cantidad de la misma en el optodo, y se esperó que se evapore el solvente.

2.3. Evaluación del optodo

2.3.1. Características espectrales de la membrana

La membrana se colocó en un soporte de vidrio y se situó dentro de una celda de cuarzo como se muestra en la Fig. 7, a continuación, se colocó 3 mL de agua ultrapura, para luego añadir diferentes cantidades del ión metálico (Hg(II) y Pb (II)) a diferentes

condiciones de pH. El espectro de absorción fue medido en cada uno de estas adiciones, lo que permitirá determinar la λ de máxima absorbancia del complejo.¹¹²

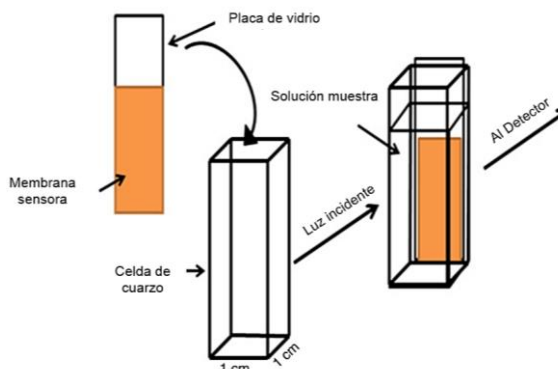


Fig. 7 Sistema de medición de absorbancia en la membrana del optodo⁵²

2.3.2. Ajuste de la λ emitida por la fuente de luz

La λ emitida por la fuente de luz (Led RGB) del optodo, fue ajustada a la λ de máxima absorbancia del complejo Dz-Hg(II) y Dz-Pb(II), mediante el detector de un espectrofotómetro.

2.3.3. Efecto del pH

Se estudió el efecto del pH, con el fin de buscar el pH óptimo al cual la ditizona, que estuvo inmovilizada en la membrana de PVC, forme complejos estables con el Hg(II) y Pb(II). Para regular el pH del medio se utilizó el buffer Britton-Robinson, que estuvo compuesto de ácido fosfórico, ácido bórico, y ácido acético (0.010 mol L^{-1}), además, mediante una solución de NaOH (0.2 mol L^{-1}) se ajustó el pH final del este buffer. El rango de pH de 1.0 – 7.0 fue utilizado.^{14, 113, 114}

2.3.4. Tiempo de respuesta

El tiempo de respuesta se define como el tiempo necesario para alcanzar el 95% de la señal final del optodo.^{29, 112, 115} Este fue evaluado usando cuatro diferentes concentraciones de Hg(II) o Pb(II) bajo condiciones experimentales.

2.3.5. Rango dinámico

El rango dinámico es el rango de concentración al cual el optodo responde de forma lineal, con un R^2 por encima de 0.995.^{10, 35, 57} Este fue estudiado mediante la adición gradual de Hg(II) o Pb(II)) bajo condiciones experimentales.

2.3.6. Límite de detección

El límite de detección (LOD) de un optodo, es definido como la concentración de analito que proporciona una señal igual al blanco más tres veces su desviación estándar.^{14, 116}

2.3.7. Límite de saturación

El límite de saturación (LOS) de un optodo, es definido como la concentración del analito a la cual la respuesta comienza a curvarse, debido a que la Dz, presente en la membrana de PVC, estuvo acomplejada completamente con el Hg(II) o Pb(II) bajo condiciones experimentales.¹¹⁷

2.3.8. Repetibilidad y Reproducibilidad

La repetibilidad y reproducibilidad del optodo fueron evaluadas realizando 12 determinaciones con determinadas concentraciones de Hg(II) o Pb(II), bajo condiciones experimentales, con 12 diferentes membranas (3 días, y cada día con 4 membranas).^{35, 112, 118} La prueba ANOVA fue usada para evaluar si existe diferencia entre los resultados.

2.3.9. Estabilidad a corto plazo

Se estudió la estabilidad a corto plazo del optodo, para lo cual se precedió a medir una determinada concentración de Hg(II) o Pb(II), bajo condiciones experimentales, cada 30 minutos durante un periodo de 4 horas (n=8). Se determinó si existe diferencia significativa durante este periodo.^{27, 115, 119}

2.3.10. Selectividad

La selectividad del optodo fue probada, mediante la determinación de Hg(II) o Pb(II) en presencia de otros metales interferentes Ag(I), K(I), Li(I), Na(II), Ca(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Mg(II), Mn(II), Ni(II), Zn(II), Al(III), Fe(III) y Cr(III). Se evaluó el error relativo que provocó la presencia de estos interferentes, el cual fue reconocido como el nivel de tolerancia del optodo.^{44, 56, 57}

2.3.11. Tiempo de vida

El tiempo de vida del optodo se evaluó durante un periodo de 96 horas. El optodo fue expuesto a diferentes condiciones ambientales. Posteriormente, se procedió a medir la respuesta a determinada concentración de Hg(II) o Pb(II), bajo condiciones experimentales. La respuesta obtenida se comparó con la respuesta de una membrana fresca.^{57, 114, 120}

2.3.12. Regeneración

Una vez que la membrana entró en contacto con Hg(II) o Pb(II), esta debió ser regenerada. Se probó al SCN⁻, Br⁻, I⁻ y EDTA como reactivos regeneradores. Seguidamente, se escogió al reactivo que proporcione una mejor respuesta. Entonces, se determinó el tiempo de regeneración y cuantas veces puede ser regenerada una misma membrana.^{113, 115, 119}

2.3.13. Comparación con un método estándar (ICP-OES)

El optodo fue aplicado para determinar Hg(II) y Pb(II) en muestras reales de agua. Además, el contenido de Hg(II) y Pb(II) también fue determinado por el método estándar ICP-OES. Para comparar ambos métodos, la prueba de t-Student con un nivel de confianza del 95% fue usada.^{35, 112}

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente capítulo se reportarán y discutirán los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, en el cual se diseñó, construyó y evaluó un optodo basado en la inmovilización de ditizona en una membrana de PVC, que respondió a Pb(II) y Hg(II) en solución.

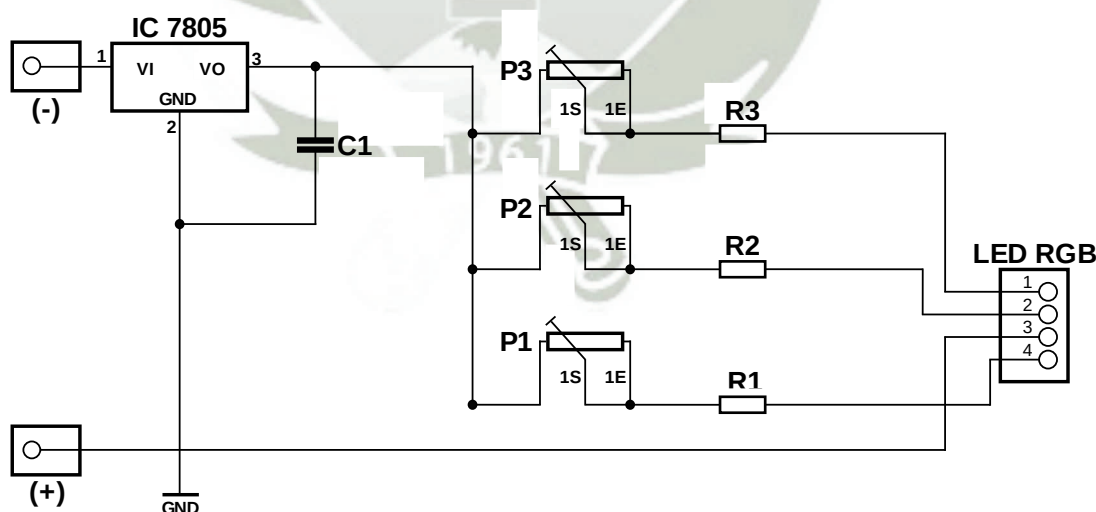
1. Diseño del optodo

1.1. Diseño de los circuitos electrónicos

Dos componentes principales forman parte de la instrumentación de un optodo, la fuente de luz y el detector. Diversos autores han reportado el uso de diferentes tipos de fuente de luz, entre ellas los diodos emisores de luz (LEDs), debido a su simplicidad y bajo costo.^{112, 121-123} Además, existe un tipo de LED llamado RGB, cuya característica principal es emitir longitudes de onda de colores primarios: azul, verde y rojo, que por medio de su mezcla se puede obtener todo el espectro visible, este tipo

de LED aún no ha sido reportado como fuente de luz en un optodo. Por otro lado, el uso de resistores dependientes de la luz (LDRs) como fotodetectores también han sido reportados.^{112, 122-124} Debido a estos antecedentes se procedió al diseño del circuito electrónico, de la fuente de luz y el detector, usando como componentes principales un LED RGB y un LDR, respectivamente.

El programa informático LiveWire Professional Edition ha sido utilizado para diseñar los circuitos electrónicos, los cuales están representados en la Fig. 1.1 En cuanto a la fuente de luz, el LED RGB estuvo acompañado de un regulador de voltaje de 5 V (IC-7805), un condensador cerámico de 0.1 μF (C1) el cual sirvió para desacoplar el circuito integrado, tres potenciómetros de 50 k Ω (P1, P2 y P3) usados para controlar la intensidad de corriente que fue hacia los terminales del LED RGB, tres resistencias de 220 Ω (R1, R2 y R3) que evitaron que la intensidad de corriente exceda la capacidad del LED RGB. Por otro lado, el detector (LDR) está acompañado de un transistor (2N2222) cuya finalidad fue la amplificación lineal y la conmutación del circuito, un condensador cerámico de 0.1 μF (C2) con la misma función antes mencionada, un LED secundario donde se midió el cambio de voltaje, tres resistencias de 15000, 1000 y 220 Ω (R4, R5 y R6) que sirvieron para controlar la intensidad de corriente que fue hacia los demás componentes.



a

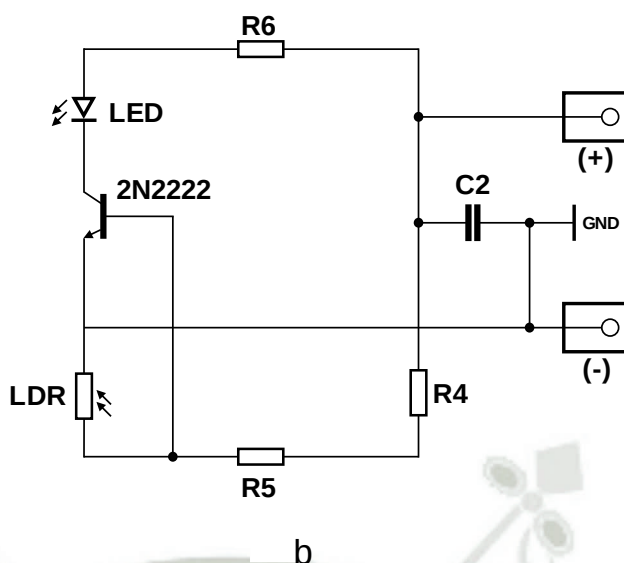


Fig. 1.1 Diseño de los circuitos electrónicos. a) Fuente de luz, b) Detector

Los diseños de los circuitos electrónicos fueron exportados al programa informático PCB wizard 4.0, con el fin de obtener los diseños de los circuitos impresos, los cuales se muestran en la Fig. 1.2. Estos se utilizaron para elaborar las placas electrónicas de la fuente de luz y el detector.

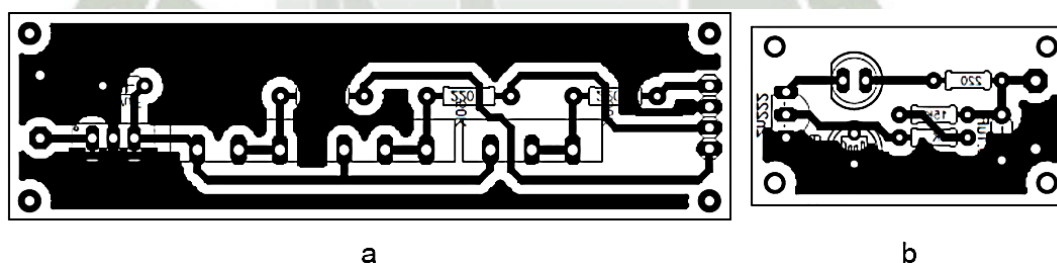


Fig. 1.2 Diseño de los circuitos impresos. a) Fuente de luz, b) Detector

1.2. Diseño del modelo

Existen diversos autores que han desarrollado diferentes modelos de optodos.¹²⁵⁻¹²⁸ Teniendo en cuenta estos modelos se hizo un diseño del optodo, el cual se muestra en la Fig. 1.3, donde la distribución de los componentes se realizó de forma adecuada para su correcto funcionamiento. La fuente de luz se colocó en la parte superior con sus respectivos orificios para la salida de los potenciómetros y el LED RGB, seguidamente se colocó un puerto de acceso de la muestra y en la parte inferior se colocó el detector con orificios para la salida del

LED secundario y el LDR. Tanto, el LED RGB y el LDR se colocaron uno en frente del otro. La membrana del optodo se ubicó en un soporte de vidrio que está por encima de del LDR. Todos los cables conectores salieron por un orificio de la parte superior. Este diseño se realizó mediante el programa informático CorelDraw X7.

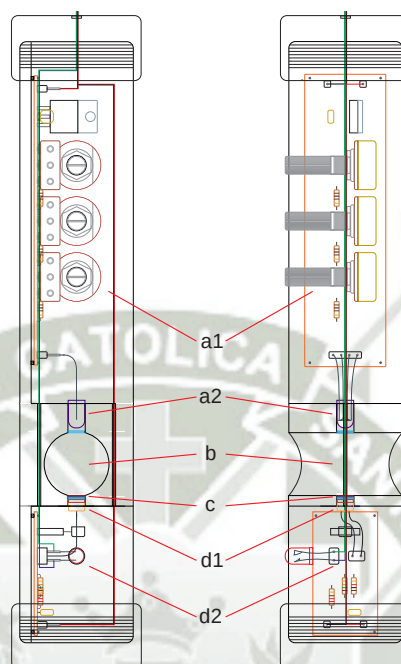


Fig. 1.3 Diseño del modelo de optodo. a) Fuente de luz: a1 Potenciómetros, a2 LED RGB; b) Puerto de acceso de la muestra; c) Membrana; d) Detector: d1 LDR, d2 LED secundario.

2. Construcción del optodo

2.1. Construcción de los circuitos electrónicos

Una de las técnicas más usadas en el ámbito electrónico a microescala, para la construcción de circuitos electrónicos, es la transferencia térmica,¹⁰⁸ La ejecución de esta técnica se realizó mediante la impresión de los diseños de los circuitos impresos (Fig. 1.2) en un papel termo-transferible (PTT), usando una impresora láser (usa tóner). Seguidamente, se cortó unas placas de cobre a la medida de los circuitos impresos y fueron lavadas. Luego, se colocó el PTT impreso sobre las placas de cobre y por encima una hoja de papel bond. A continuación, se usó una plancha eléctrica a

temperatura máxima para adherir el PTT a la placa de cobre, se dejó enfriar y se sumergió la misma en agua fría durante cinco minutos. Inmediatamente, se retiró suavemente el PTT de la placa de cobre. Una vez que estos diseños de los circuitos impresos estuvieron adheridos a las placas de cobre, estas fueron colocadas en un recipiente con cloruro férrico 40% p/v. La reacción que se produjo fue:



Donde el cloruro férrico permitió oxidar solo al cobre metálico que no estuvo cubierto por el tóner, este tóner está compuesto de polímeros y óxido de hierro por lo cual no fue oxidado por el cloruro férrico, protegiendo al cobre metálico que había cubierto. El cloruro de cobre (II) que se forma presenta una alta solubilidad en agua, debido a esto se desprende fácilmente de la placa. Una vez, que todo el cobre sobrante fue retirado, se sacaron las placas del recipiente y se retiró el tóner con acetona. Luego, se perforó los orificios por los cuales ingresaron las terminales de los componentes. Finalmente, se ensamblaron todos los componentes en las placas elaboradas. En la Fig. 2.1 se muestran los circuitos electrónicos finalizados.

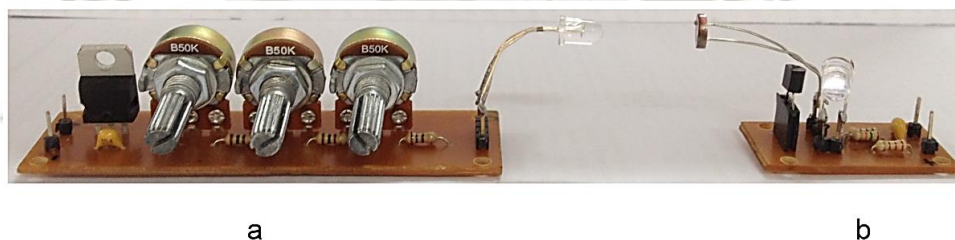


Fig. 2.1 Circuitos electrónicos. a) Fuente de Luz, b) Detector

2.2. Construcción del cuerpo

Existen antecedentes de trabajos realizados, donde se usó a la poliamida (nylon) para la elaboración del cuerpo de diferentes dispositivos,^{109, 129} debido a que, es un material muy dúctil y duro; químicamente inerte; de gran resistencia a productos químicos, a deformación térmica y a la corrosión.¹³⁰ Tomando en cuenta esta información, se construyó el cuerpo del optodo usando como material un tubo de poliamida, este material fue moldeado mediante un torno y un taladro, para lo cual se usó el diseño de modelo del optodo realizado previamente (Fig. 1.3). El cuerpo del optodo construido mostró un buen acabado superficial. Este se muestra en la Fig. 2.2.

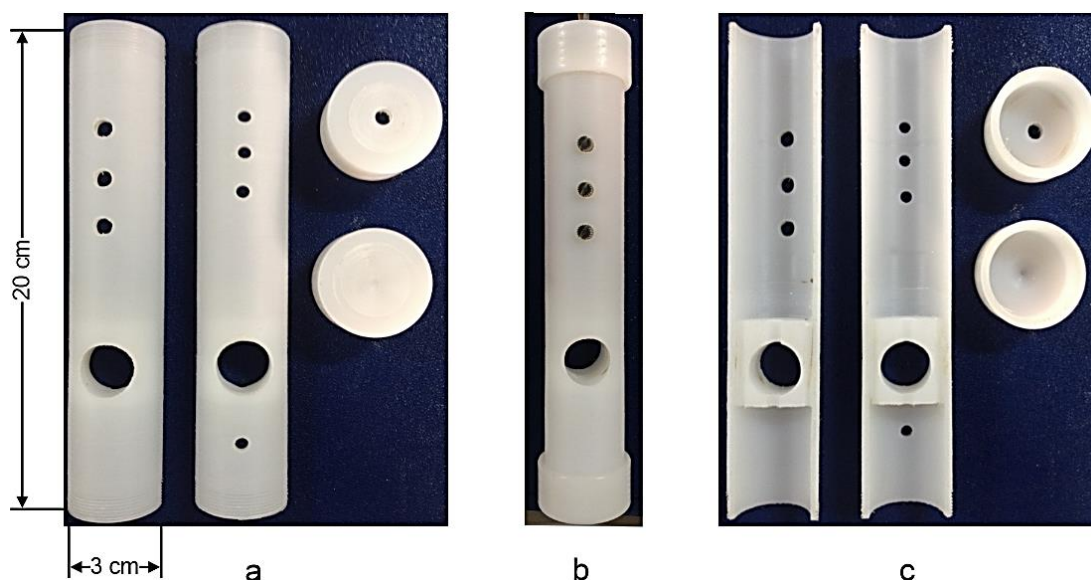


Fig. 2.2 Cuerpo del optodo. a) Cara externa, b) Cuerpo del optodo armado, c) Cara interna

2.3. Ensamblado y acoplamiento

Con los circuitos electrónicos y el cuerpo del optodo ya construidos, se procedió al ensamblaje. Para lo cual se hicieron las conexiones del dispositivo, luego se colocó los circuitos electrónicos en su posición dentro del cuerpo del optodo, los cables conectores fueron sacados por un orificio ubicado en la parte superior del mismo y unos soportes de vidrio fueron puestos por encima de la salida del LED RGB y el LDR. Finalmente, el optodo fue cerrado herméticamente usando silicona acética. Este pegamento ha sido usado para sellar otros dispositivos,^{112, 123} debido a sus características como: estabilidad a temperaturas altas, gran adherencia, impermeabilidad e inercia química.¹³¹

Una batería recargable de 12V fue utilizada como fuente de energía para el optodo. Por otro lado, este fue acoplado a un registrador de datos de alta resolución (ADC-16 Pico® Technology), para lo cual, se estableció una conexión entre las terminales del diodo secundario y los canales 1 y 5 del registrador de datos, que a su vez fue conectado a través de su puerto serial RS-232, mediante un cable convertidor USB, a una computadora portátil. Este registrador de datos se usó junto al programa informático PicoLog Recorder, ambos permitieron reconocer, registrar y visualizar los

cambios de voltaje (mV) producidos por el optodo en el proceso de determinación del Hg(II) y Pb(II). El dispositivo ensamblado y acoplado se muestra en la Fig. 2.3. En la mayoría de investigaciones que han sido reportadas, el acoplamiento del optodo fue con un espectrofotómetro,^{20, 115, 132} un amplificador de señal¹³³ y otros se conectaron directamente con el programa informático de la computadora^{121, 134}. Aún no se han reportado optodos acoplados a registradores de datos, como el que es mostrado en la presente investigación.

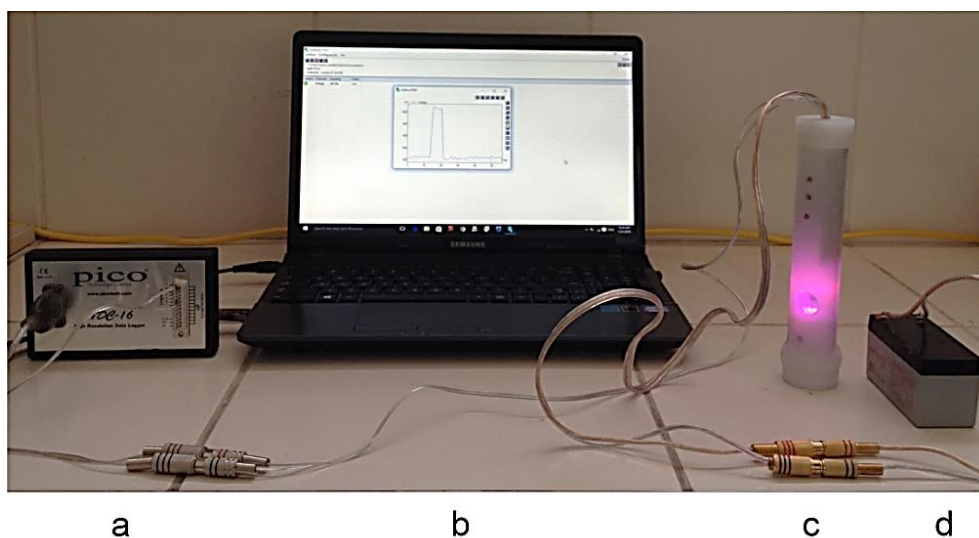


Fig. 2.3 Optodo acoplado. a) Registrador de datos, b) Computadora portátil, c) Optodo, d) Batería

2.4. Preparación de la membrana

La preparación de la membrana fue realizada de acuerdo a los métodos empleados en investigaciones previamente reportadas para diferentes metales. En las cuales usaron como componentes de la membrana al policloruro de vinilo (matriz), 2-nitrofenil octil éter (plastificante), ditizona (cromoionóforo) y tetrahidrofurano (disolvente).^{110, 111, 135-137}

Se probó diferentes cantidades de los componentes antes mencionados. La mezcla que obtuvo una mejor apariencia fue: 10 mg de policloruro de vinilo, 20 μ L de 2-nitrofenil octil éter y 2.25 mg de ditizona, los cuales fueron colocados en un tubo de vidrio

sumergido en un baño de hielo. Esta mezcla fue homogenizada mediante un agitador magnético durante 1 minuto, luego fue disuelta en 250 μL de tetrahidrofurano y homogenizada durante 10 minutos. Entonces, 20 μL de esta mezcla fue depositada sobre el soporte de vidrio del dispositivo construido. Después de 10-15 minutos, el disolvente fue evaporado al ambiente, a una temperatura aproximada de 25 $^{\circ}\text{C}$. En la Fig. 2.4 se muestra la membrana que fue preparada.



Fig. 2.4 Membrana del optodo

3. Evaluación del optodo

3.1. Características espectrales de la membrana

La membrana se colocó en un soporte de vidrio, el cual fue situado en una celda de cuarzo. Luego se añadió 3 mL de agua ultrapura (blanco) a determinado pH (2.0 y 5.0). Para determinar el espectro de absorción se utilizó un espectrofotómetro Cary 60 UV-VIS (Agilent Technologies). Seguidamente, se agregó diferentes cantidades de Hg(II) o Pb(II) a diferentes condiciones de pH de 2.0 y 5.0, respectivamente, cada ion metálico de forma separada.

El espectro de absorción de la ditizona inmovilizada en la membrana de PVC, mostró dos longitudes de onda de máxima absorbancia a 440 y 590 nm, tanto para pH 2.0 y 5.0. La aparición de estas dos λ se debió a que la Dz presenta dos formas tautoméricas en solución, donde las λ de 440 y 590 nm corresponden a la forma enol y ceto,

respectivamente.^{138, 139} Como se muestra en la Fig. 3.1 y Fig. 3.2, la formación de los complejos de Dz con Hg(II) y Pb(II) provocó una disminución de la absorbancia a 440 nm, con el aumento de la concentración de ambos metales de forma proporcional. Sin embargo, a 590 nm no se mostró una disminución de la absorbancia proporcional con estos iones metálicos. Un comportamiento similar ha sido observado en los complejos de Dz con Hg(II) y Pb(II) en otros tipos de membranas de optodos.^{60, 140}

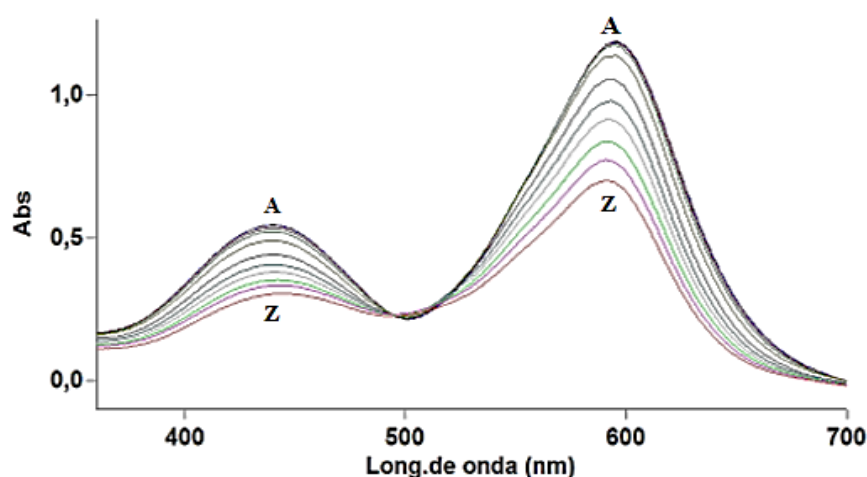


Fig. 3.1 Espectro de absorción de la membrana de Dz en respuesta a Hg(II) en el rango de $0.1\text{--}5\ \mu\text{g. mL}^{-1}$ a pH 2. (A-Z muestra el incremento de la concentración de Hg(II))

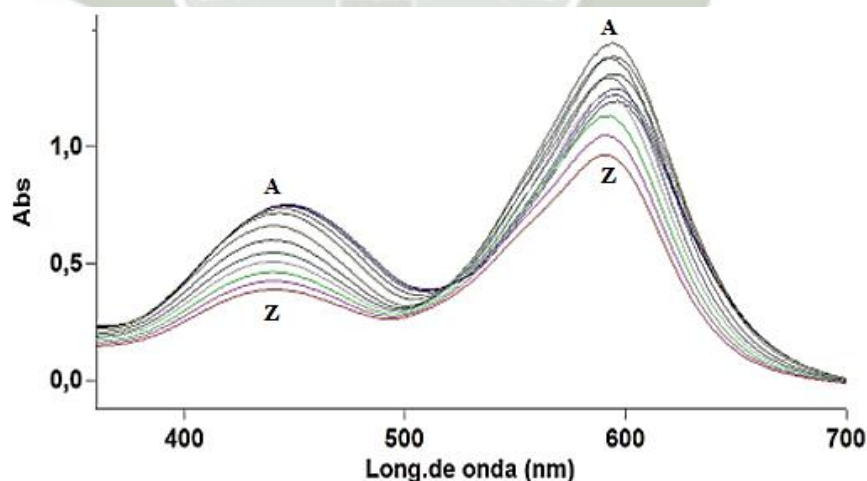


Fig. 3.2 Espectro de absorción de la membrana de Dz en respuesta a Pb(II) en el rango de $0.1\text{--}5\ \mu\text{g. mL}^{-1}$ a pH 5. (A-Z muestra el incremento de la concentración de Pb(II))

3.2. Longitud de onda emitida por la fuente de luz

El LED RGB trabaja con el sistema RGB, el cual consiste en la mezcla aditiva de los tres colores primarios (rojo, verde y azul), que pueden generar un amplio rango de colores.⁶⁶ Teniendo en cuenta la λ de máxima absorbancia del complejo Dz-Hg(II) y Dz-Pb(II), la cual fue de 440 nm, se buscó la λ que emitió la fuente de luz (LED RGB). Para lo cual, la fuente de luz del optodo se conectó al detector de un espectrofotómetro USB4000 (Ocean Optics). Entonces, mediante los potenciómetros de la fuente de luz se intentó ajustar la λ a 440 nm, pero como se muestra en la Fig. 3.3 no se produjo una mezcla de los colores. Esto podría ser debido a que el LED RGB presenta un sistema diferenciado para cada color, que no permite su adición adecuada a lo largo de su trayecto, por lo que cada color fue captado de forma aislada por el detector. Debido a esta limitación del LED RGB, se utilizó la λ más cercana que fue de 460 nm. Además, la intensidad de luz que llegó al detector en presencia de la membrana fue regulada, con el fin de obtener una repuesta inicial de aproximadamente 1000 mV. La Fig. 3.3 muestra el espectro de emisión del LED RGB, se observan dos picos que representan a la luz azul (460 nm) y la luz roja (630 nm), de forma aislada. Se han reportado estudios similares en los que usan espectrofotómetros para medir la λ que emite un LED.^{141, 142}

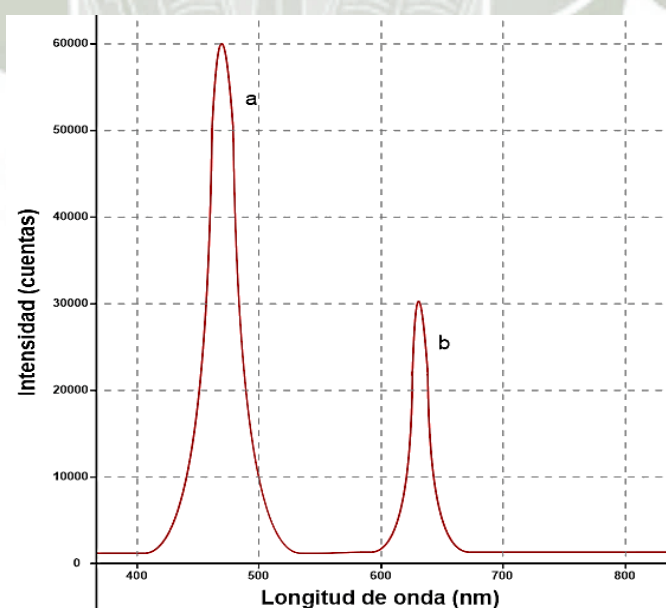


Fig. 3.3 Espectro de emisión de la fuente de luz.

a) Luz azul (460 nm), b) Luz roja (630 nm)

3.3. Procedimiento y principio de medición

Una vez que la membrana fue colocada en el soporte de vidrio del optodo y la fuente de luz fue ajustada. El optodo fue introducido en un contenedor con agua ultrapura (blanco), la cual fue ajustada a un pH determinado con el buffer Britton-Robinson 0.010 mol L^{-1} , este sistema se mantuvo en agitación constante. Se ejecutó el programa informático PicoLog Recorder, el optodo fue encendido y se verificó que la respuesta para el blanco estuviera adecuadamente ajustada a 1000 mV. A continuación, se agregó determinadas cantidades de los iones metálicos en investigación y se midió el cambio de voltaje a un tiempo dado. El contenido de Hg(II) o Pb(II) en la muestra fue entonces calculado a partir de la comparación de estos dos valores obtenidos. Todas las mediciones fueron llevadas a cabo por triplicado.

El principio de medición del optodo presentado en esta investigación, se basa en la preconcentración del analito en un sustrato sólido (membrana) que produce un cambio en una propiedad óptica del sustrato sólido que es proporcional a la concentración de analito.³¹ Cuando el Hg(II) o Pb(II) estuvieron en contacto con la membrana de Dz, provocaron un cambio en la absorbancia, la cual fue disminuyendo proporcionalmente con el aumento de la concentración de estos iones metálicos. Entonces, la disminución de la absorción de la membrana del optodo condujo a un aumento de la intensidad de luz.³⁸ Este cambio en la intensidad de luz es reconocido por el detector (LDR), a mayor intensidad de luz recibida por el detector, su resistencia fue mayor. El detector estuvo conectado a un LED secundario. Por lo tanto, cuando la resistencia aumento, la intensidad de corriente y el voltaje relacionados con el LED secundario disminuyeron. Este cambio en el voltaje fue reconocido por el registrador de datos y el programa informático. En síntesis, en el optodo propuesto la concentración de Hg(II) o Pb(II) fue inversamente proporcional al voltaje.

Existen investigaciones donde el principio de medición de sus optodos fue similar al expuesto en este trabajo. La diferencia con estas investigaciones es que usaron al detector (LDR) en un circuito diferente, en el cual al recibir mayor intensidad de luz su resistencia disminuía.^{112, 122, 123} Por el contrario, en la presente investigación, cuando

el detector (LDR) recibió mayor intensidad de luz la resistencia aumento. Esto es debido, a que en el circuito se colocó al LDR en paralelo con la tensión base-emisor del transistor (Fig. 1.1), lo que produjo este efecto inverso.⁷¹

3.4. Efecto del pH

Las características de respuesta del optodo tales como sensibilidad, selectividad, rango dinámico, tiempo de respuesta y límite de detección dependen del pH.^{143, 144} Además, la Dz forma complejos estables con diferentes iones metálicos a diferentes condiciones de pH.¹¹ El efecto del pH fue estudiado evaluando la respuesta del optodo a $1 \mu\text{g. mL}^{-1}$ de Hg(II) o Pb(II), usando buffer Britton-Robinson en un rango de pH de 1-7. Se estableció este rango de pH, debido a que la Dz es insoluble en soluciones acuosas a $\text{pH} < 7$.⁵⁵ La influencia del pH sobre la respuesta del optodo propuesto es ilustrada en las Fig. 3.4 y 3.5, para Hg(II) y Pb(II), respectivamente.

Como se muestra en la Fig. 3.4, mientras el pH de la solución fue aumentando, la respuesta del optodo fue decreciendo. El optodo respondió de manera constante a valores de $\text{pH} < 2$ para el Hg(II) en solución. Probablemente debido, a que la protonación de los átomos de nitrógeno y sulfuro de la Dz, especialmente estos últimos forman grupos tiol con los que el Hg(II) es muy afín.¹⁴⁵ Por lo tanto, el pH 2 fue seleccionado para los siguientes estudios. Otras investigaciones, las cuales usaron a la Dz como cromoionóforo en la membrana de un optodo, reportaron un resultado similar, estableciendo que el pH extremadamente ácido favorece la formación del complejo de Hg(II).^{14, 140}

En la Fig. 3.5 se muestra, que la respuesta del optodo fue aumentado proporcionalmente con el incremento del pH de la solución, hasta el pH 5, donde por encima de este comenzó a decaer de nuevo, para el Pb(II) en solución. Posiblemente debido, a la protonación de los átomos de nitrógeno y sulfuro, que podría haber reducido las interacciones donador-aceptor entre la Dz y el Pb(II). Además, la reducción de la respuesta del optodo a $\text{pH} > 5$, probablemente fue causada por el comienzo en la formación de complejos hidroxilo del Pb(II).¹⁴⁶ Entonces, en los

experimentos subsecuentes, el pH 5 fue usado para la determinación de Pb(II) en solución. Por otro lado, investigaciones reportadas, donde se usaron a la Dz, muestran un resultado análogo, estableciendo que el pH 5 favorece la formación del complejo de Pb(II).^{140, 147}

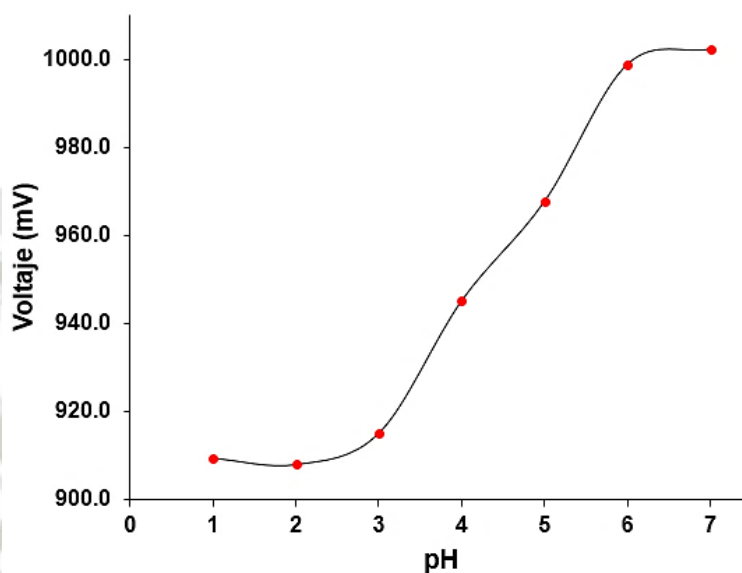


Fig. 3.4 Efecto del pH sobre la respuesta del optodo propuesto en presencia de $1 \mu\text{g. mL}^{-1}$ de Hg(II)

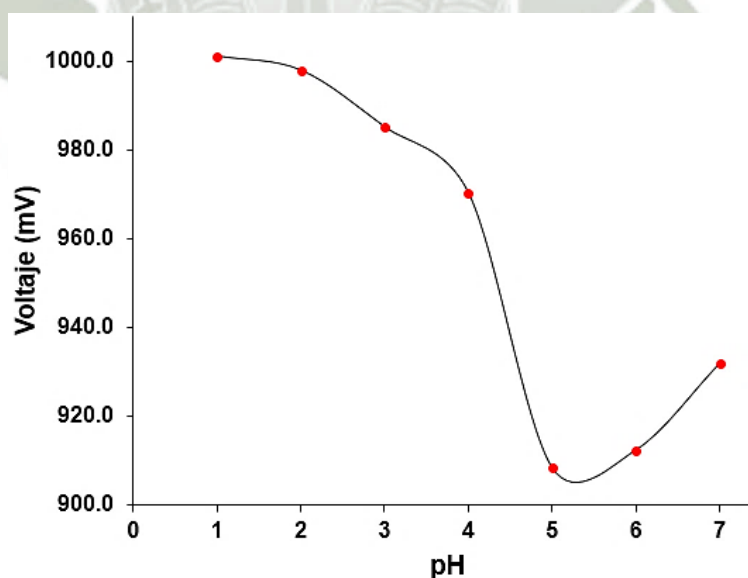


Fig. 3.5 Efecto del pH sobre la respuesta del optodo propuesto en presencia de $1 \mu\text{g. mL}^{-1}$ de Pb(II)

3.5. Tiempo de respuesta

Una característica analítica importante de un optodo es su tiempo de respuesta. El cual se define como el tiempo necesario para alcanzar el 95% de la señal final del optodo.¹¹⁹ Este depende del espesor de la membrana, la composición de membrana, la actividad del analito y el pH.¹⁴⁸

Las Fig. 3.6 y 3.7 muestran el tiempo de respuesta del optodo propuesto, utilizando diferentes concentraciones de Hg(II) o Pb(II) en solución. En este trabajo, el optodo alcanzó el 95% de la señal final a 10-13 y 9-13 minutos, para Hg(II) y Pb(II), respectivamente. Este rango de tiempo dependió de la concentración de estos iones metálicos. A altas concentraciones de estos iones metálicos, se dio una respuesta más rápida del optodo. A bajas concentraciones un mayor tiempo de respuesta ha sido producido por el optodo. Esto es debido al hecho de que el tiempo de respuesta de la membrana del optodo está regida por tres procesos: (1) La difusión en la membrana (2) La velocidad de formación de complejos entre los iones metálicos y la Dz y (3) La velocidad de disociación complejo.¹⁴⁹

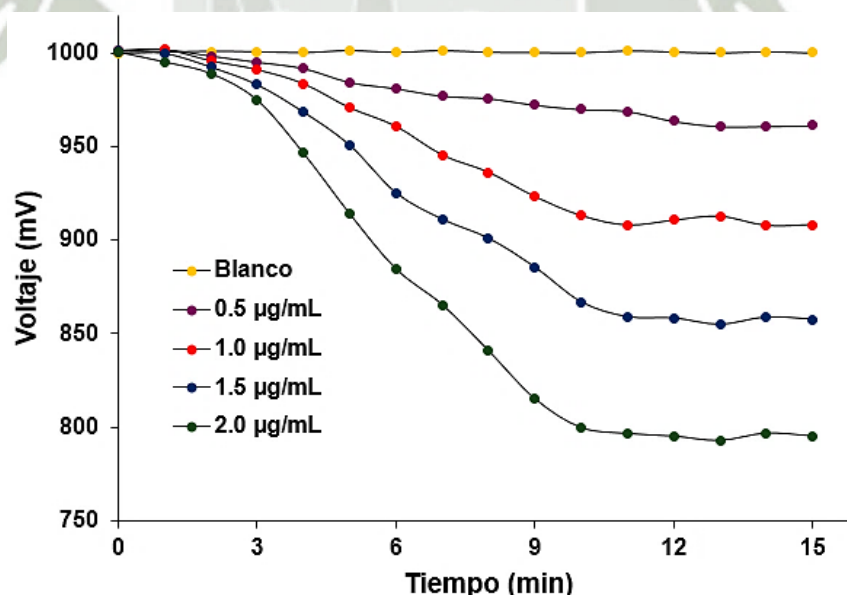


Fig. 3.6 Tiempo de respuesta del optodo propuesto a diferentes concentraciones de Hg(II) a pH 2

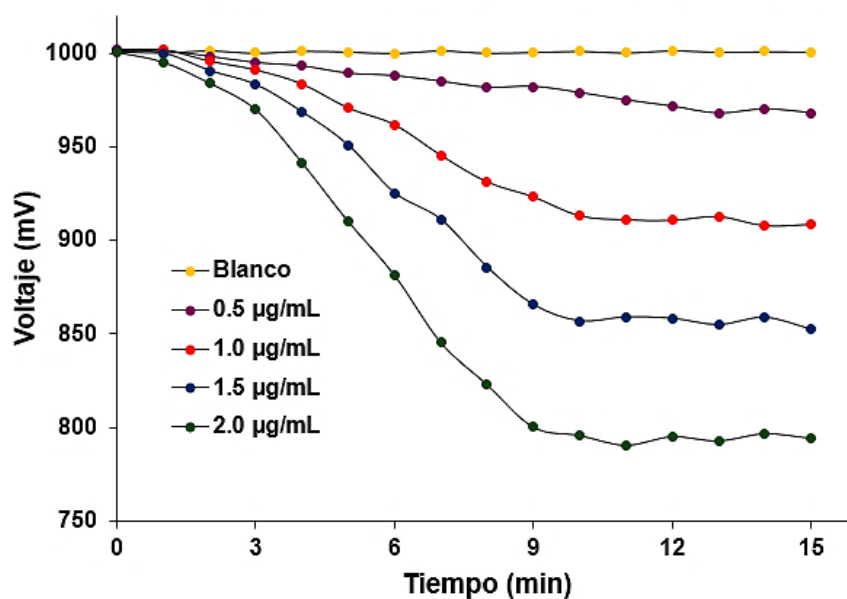


Fig. 3.7 Tiempo de respuesta del optodo propuesto a diferentes concentraciones de Pb(II) a pH 5

3.6. Rango dinámico

El rango dinámico se define como el rango de concentraciones que con precisión puede ser cuantificado.¹⁵⁰ Por lo tanto, al cual el optodo responde de forma lineal, con un R^2 por encima de 0.995.¹⁵¹ Las Fig. 3.8 y 3.9 muestran las señales de voltaje del optodo a varias concentraciones en un rango de 0-4.0 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ para ambos iones metálicos en investigación. Como puede verse, el gráfico del voltaje (mV) frente a la concentración de Hg(II) o Pb(II) ($\mu\text{g. mL}^{-1}$), exhibe un rango lineal entre 0.10-3.25 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (5.0×10^{-7} – 1.6×10^{-5} mol L^{-1}) y 0.08-3.50 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (3.6×10^{-7} – 1.7×10^{-5} mol L^{-1}), para Hg(II) y Pb(II), respectivamente. La ecuación de regresión: para el Hg(II) fue $y = -115.44 x + 1021.1$ ($R^2 = 0.9959$) y para el Pb(II) fue $y = -112.90 x + 1017.8$ ($R^2 = 0.9951$). Como se muestra en la Tabla 1, el rango dinámico del optodo propuesto es apropiado en comparación con otros optodos.

3.7. Límite de detección

El límite de detección (LOD) de un optodo, es definido como el nivel más bajo de concentración del analito que puede ser determinado y que es estadísticamente diferente

a un blanco analítico.¹⁵² Este puede ser calculado encontrando la concentración del analito que proporciona una señal igual al blanco y añadiendo tres veces su desviación estándar.^{14, 116} Los LOD encontrados fueron $0.018 \mu\text{g. mL}^{-1}$ ($9.0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) y $0.012 \mu\text{g. mL}^{-1}$ ($6.0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) para Hg(II) y Pb(II), respectivamente. El límite de detección obtenido se encontró a un nivel adecuado, en comparación con otros optodos reportados, como se resume en la Tabla 1.

3.8. Límite de saturación

El límite de saturación (LOS) de un optodo, se refiere a la concentración del analito a la cual la respuesta comienza a curvarse, debido a que la Dz, presente en la membrana de PVC, esta acomplejada completamente con el Hg(II) o Pb(II).⁶⁰ El LOS hallado para Hg(II) fue de $3.50 \mu\text{g. mL}^{-1}$ ($1.7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) y para Pb(II) fue $3.75 \mu\text{g. mL}^{-1}$ ($1.8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Se han reportado investigaciones donde el LOS se encuentra en un rango de 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-4} .^{14, 27, 153} El LOS encontrado para cada ion metálico en la presente investigación se encuentra dentro de este rango.

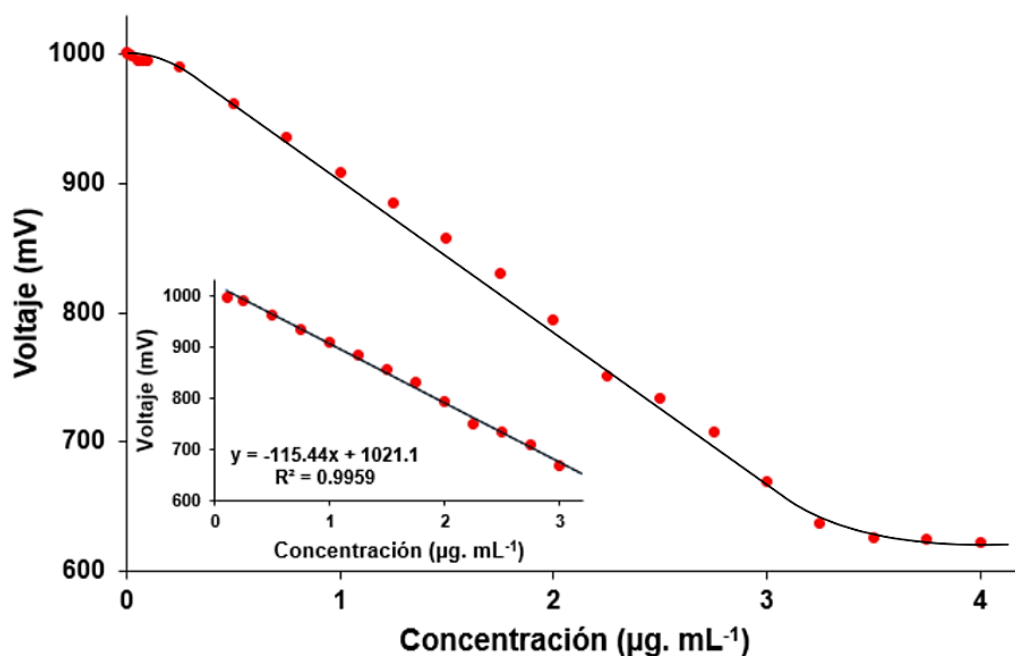


Fig. 3.8 La respuesta del optodo vs concentraciones de Hg(II) en el rango de $0\text{-}4.0 \mu\text{g. mL}^{-1}$ a pH 2

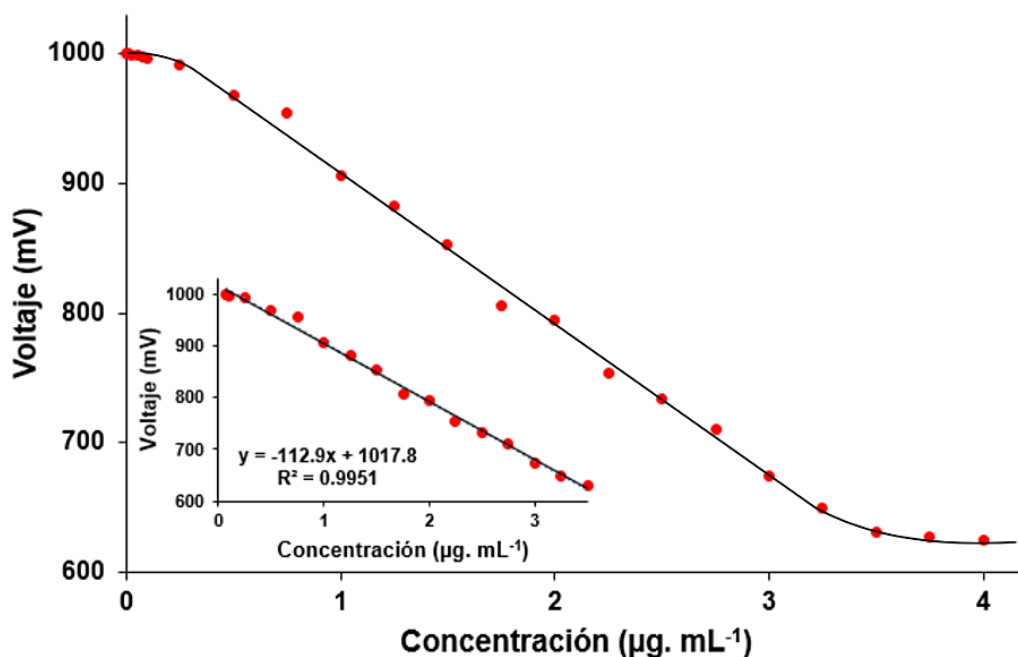


Fig. 3.9 La respuesta del optodo vs concentraciones de Pb(II) en el rango de 0-4.0 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ a pH 5

Tabla 1. Comparación de las características de rendimiento de optodos reportados recientemente con el optodo propuesto para la determinación de Hg(II) y Pb(II)

Ionóforo	Ion metálico determinado	T. Rpta. (min)	Rango Dinámico (mol L^{-1})	LOD (mol L^{-1})	Ref.
Tiazolina	Hg(II)	10	2.0×10^{-10} – 1.5×10^{-5}	5.0×10^{-11}	(148)
Tritil-picolinamida	Hg(II)	5-10	5.0×10^{-7} – 5.0×10^{-4}	5.0×10^{-7}	(34)
Índigo de carmín	Hg(II)	8-10	2.4×10^{-5} – 4.7×10^{-4}	7.2×10^{-6}	(154)
Ditizona	Hg(II)	3-9.3	7.5×10^{-7} – 9.7×10^{-6}	1.0×10^{-7}	(14)
Ditizona	Hg(II)	25	1.1×10^{-8} – 2.0×10^{-6}	2.0×10^{-9}	(140)
Ditizona	Hg(II)	10-13	5.0×10^{-7} – 1.6×10^{-5}	9.0×10^{-8}	Este trabajo
Galocianina	Pb(II)	1	4.8×10^{-7} – 4.8×10^{-3}	3.6×10^{-7}	(155)
Arsenazo III	Pb(II)	3	9.6×10^{-7} – 1.0×10^{-5}	4.8×10^{-8}	(143)
Difenilcarbazona	Pb(II)	1.5-3	6.9×10^{-6} – 1.1×10^{-2}	6.5×10^{-6}	(35)
Ditizona	Pb(II)	11-15	2.4×10^{-6} – 2.6×10^{-5}	7.2×10^{-7}	(147)
Ditizona	Pb(II)	28	1.2×10^{-8} – 2.4×10^{-6}	4.0×10^{-9}	(140)
Ditizona	Pb(II)	9-13	3.6×10^{-7} – 1.7×10^{-5}	6.0×10^{-8}	Este trabajo

3.9. Repetibilidad y Reproducibilidad

La repetibilidad y reproducibilidad del optodo fueron evaluadas realizando 12 determinaciones con 1 ug. mL^{-1} de Hg(II) o Pb(II) con 12 diferentes membranas del optodo (3 días, y cada día con 4 membranas). La prueba de ANOVA fue usada para evaluar si existe diferencia entre los resultados. Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 2-5. Estos mostraron que el F_{crit} en común para las membranas preparadas en diferentes días fue 4.26 y los F_{cal} fueron 0.43 y 0.66, para Hg(II) y Pb(II), respectivamente. Además, los F_{crit} en común para las membranas preparadas el mismo día fue 4.26 y los F_{cal} fueron 1.69 y 1.10, correspondientemente para Hg(II) y Pb(II). Por lo tanto, la prueba ANOVA mostró que no existe diferencia significativa entre las membranas preparadas en diferentes días y el mismo día. Entonces, podemos afirmar que el optodo propuesto tuvo una repetibilidad y reproducibilidad adecuadas.

Tabla 2. Prueba de ANOVA para membranas del optodo preparadas diferentes días en respuesta a 1 ug. mL^{-1} de Hg(II)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F	Prob.	Valor crítico para F
Entre grupos	1.29	2	0.65	0.43	0.66	4.26
Dentro de los grupos	13.48	9	1.50			
Total	14.77	11				

Tabla 3. Prueba de ANOVA para membranas del optodo preparadas el mismo día en respuesta a 1 ug. mL^{-1} de Hg(II)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F	Prob.	Valor crítico para F
Entre grupos	0.42	2	0.21	1.69	0.24	4.26
Dentro de los grupos	1.12	9	0.12			
Total	1.54	11				

Tabla 4. Prueba de ANOVA para membranas del optodo preparadas diferentes días en respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Pb(II)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F	Prob.	Valor crítico para F
Entre grupos	1.14	2	0.57	0.66	0.54	4.26
Dentro de los grupos	7.78	9	0.86			
Total	8.93	11				

Tabla 5. Prueba de ANOVA para membranas del optodo preparadas el mismo día en respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Pb(II)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F	Prob.	Valor crítico para F
Entre grupos	1.75	2	0.88	1.10	0.37	4.26
Dentro de los grupos	7.15	9	0.79			
Total	8.90	11				

3.10. Estabilidad a corto plazo

La estabilidad a corto plazo del optodo fue estudiada, para lo cual se precedió a medir la respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Hg(II) o Pb(II), bajo condiciones experimentales, cada 30 minutos durante un periodo de 4 horas (n=8). La prueba de ANOVA fue usada para evaluar si existe diferencia entre cada tiempo. Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 6-9. La prueba de ANOVA mostró que existe diferencia significativa entre los distintos tiempos, en respuesta a ambos iones metálicos en estudio. Debido a esto, se realizó la prueba LSD que indicó que hasta las 2 horas el optodo es estable, tanto en respuesta al Hg(II) como al Pb(II). Según investigaciones reportadas, los optodos cuyas membranas usaron como matriz al PVC muestran una estabilidad a corto plazo de 2-5 horas.^{27, 115, 118}. Además, la inestabilidad mostrada por encima de las dos horas podría deberse a que el complejo Dz-ion metálico se está degradando, posiblemente por la luz.¹⁵⁶

Tabla 6. Prueba de ANOVA para diferentes tiempos
en respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Hg(II) del optodo propuesto

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F	Prob.	Valor crítico para F
Entre grupos	13.96	7	1.99	18.63	1.40x10 ⁻⁶	2.66
Dentro de los grupos	1.71	16	0.11			
Total	15.67	23				

Tabla 7. Prueba de LSD para los diferentes tiempos
en respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Hg(II) del optodo propuesto

Tiempo	Cuenta	Promedio	Grupos homogéneos
30	3	908.13	X
60	3	908.16	X
90	3	908.40	X
120	3	908.51	X
150	3	909.13	X
180	3	909.60	X
210	3	909.68	X
240	3	910.33	X

Tabla 8. Prueba de ANOVA para diferentes tiempos
en respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Pb(II) del optodo propuesto

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F	Prob.	Valor crítico para F
Entre grupos	9.86	7.00	1.41	45.68	2.12x10 ⁻⁹	2.66
Dentro de los grupos	0.49	16.00	0.03			
Total	15.67	23				

Tabla 9. Prueba de LSD para los diferentes tiempos
en respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Pb(II) del optodo propuesto

Tiempo	Cuenta	Promedio	Grupos homogéneos
30	3	905.52	X
60	3	905.56	X
90	3	905.67	X
120	3	905.73	X
150	3	906.50	X
180	3	906.67	X
210	3	907.01	X
240	3	907.20	X

3.11. Tiempo de vida

El tiempo de vida del optodo fue probado sobre un periodo de 96 horas. En el cual, el optodo fue expuesto a diferentes condiciones ambientales: luz-aire, oscuridad-aire, luz-agua y oscuridad-agua. Posteriormente, se precedió a medir la respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Hg(II) o Pb(II), bajo condiciones experimentales. La prueba de ANOVA fue usada para evaluar si existió diferencia significativa entre el optodo expuesto a diferentes condiciones ambientales y el optodo cuando uso una membrana fresca. Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 10-13. La prueba de ANOVA mostró que el F_{crit} en común fue 3.48 y los F_{cal} fueron 34.31 y 39.44, para Hg(II) y Pb(II), respetivamente. Por lo tanto, se encontró que existe diferencia significativa entre las distintas condiciones ambientales a las que se expuso el optodo. Por consiguiente, se realizó la prueba LSD que indicó que el optodo cuando estuvo expuesto a la luz sufrió un cambio estadísticamente significativo en su respuesta al Hg(II) y al Pb(II). Esto posiblemente se debe a que la ditizona, que estuvo inmovilizada en la membrana de PVC, sufrió una alteración al estar expuesta a la luz de forma prolongada. Existen investigaciones que reportan que la ditizona al estar expuesta a la luz es oxidada formando el compuesto difeniltiocarbodiazona, que no reacciona con lo iones metálicos.^{156, 157}

Tabla 10. Prueba de ANOVA para diferentes condiciones ambientales en respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Hg(II) del optodo propuesto

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F	Prob.	Valor crítico para F
Entre grupos	13.82	4	3.45	34.31	8.17x10 ⁻⁶	3.48
Dentro de los grupos	1.01	10	0.10			
Total	14.82	14				

Tabla 11. Prueba de LSD para diferentes condiciones ambientales en respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Hg(II) del optodo propuesto

Condiciones ambientales	Cuenta	Promedio	Grupos homogéneos
Fresco	3	908.47	X
Oscuridad-Aire	3	908.41	X
Oscuridad-Agua	3	908.62	X
Luz-Aire	3	910.37	X
Luz-Agua	3	910.54	X

Tabla 12. Prueba de ANOVA para diferentes condiciones ambientales en respuesta a 1 ug. mL⁻¹ de Pb(II) del optodo propuesto

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F	Prob.	Valor crítico para F
Entre grupos	15.78	4	3.94	39.44	4.29x10 ⁻⁶	3.48
Dentro de los grupos	1.00	10	0.10			
Total	16.78	14				

Tabla 13. Prueba de LSD para diferentes condiciones ambientales en respuesta a 1 ug. mL^{-1} de Pb(II) del optodo propuesto

Condiciones ambientales	Cuenta	Promedio	Grupos homogéneos
Fresco	3	905.56	X
Oscuridad-Aire	3	905.50	X
Oscuridad-Agua	3	905.37	X
Luz-Aire	3	907.61	X
Luz-Agua	3	907.52	X

3.12. Regeneración

La regeneración es una característica importante para un optodo. Una vez que el optodo fue expuesto a 2 ug. mL^{-1} de Hg(II) o Pb(II), su señal cambio. Por lo tanto, se usó diferentes reactivos para recuperar la señal del optodo a su estado inicial. Reactivos como SCN^- , Br^- , I^- y EDTA fueron estudiados como agentes regeneradores. Entonces, se encontró que el SCN^- , Br^- y EDTA no dieron resultados adecuados para este estudio, donde el mejor resultado se obtuvo mediante la aplicación de I^- . El cual dio un tiempo de regeneración del optodo entre 18-20 min y 17-20 min, para Hg(II) y Pb(II), respectivamente. Seguidamente, se procedió a poner en contacto el optodo regenerado con 2 ug. mL^{-1} de Hg(II) o Pb(II), bajo condiciones experimentales, donde se observó que la respuesta fue similar a la de un optodo que tuvo una membrana recién preparada para ambos casos. Después de una segunda regeneración del optodo, la señal inicial del optodo alcanzó un 87.4% y 91.7% (para Hg(II) y Pb(II), respectivamente), en comparación con la de un optodo que tuvo una membrana recién preparada. Por lo tanto, el optodo solo pudo ser regenerado de manera adecuada una vez. Las Fig. 3.10 y 3.11 muestran la respuesta del optodo a 2 ug. mL^{-1} de Hg(II) o Pb(II) y seguidamente el proceso de regeneración aplicando al I^- . Diferentes estudios reportados demuestran que la regeneración de optodos usando al I^- ha sido factible,^{14, 158} como es reafirmado en la presente investigación. Probablemente, esto se debe a que el I^- presenta constantes de formación de complejos con Hg(II) y Pb(II) relativamente altas¹⁵⁹, y un tamaño menor que el EDTA, lo que podría facilitar la extracción de estos iones metálicos que fueron concentrados en la membrana del optodo.

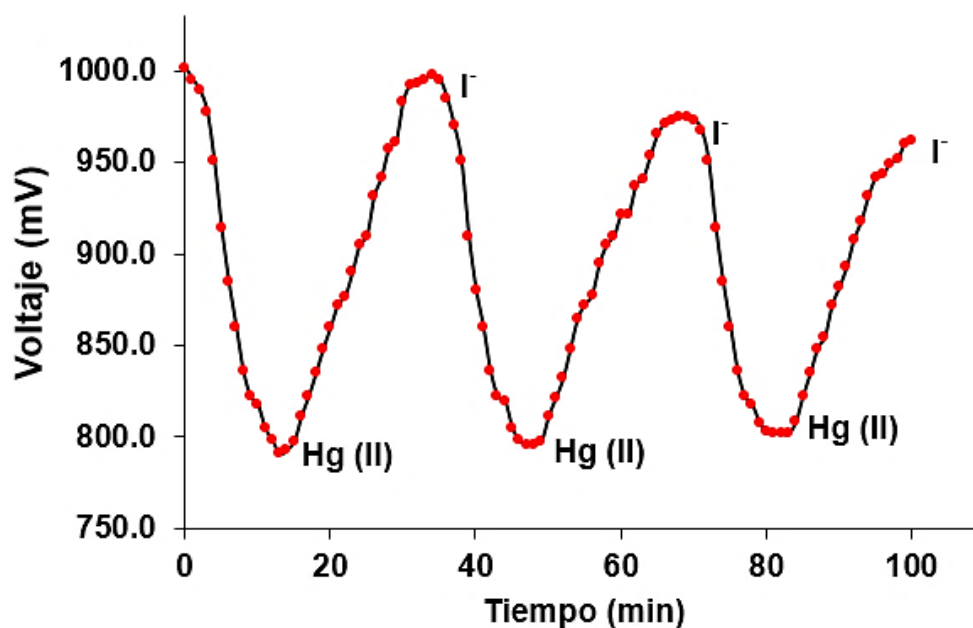


Fig. 3.10 Respuesta del optodo a $2 \mu\text{g. mL}^{-1}$ de Hg(II) a pH 2 y regeneración con $0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ I}^-$.

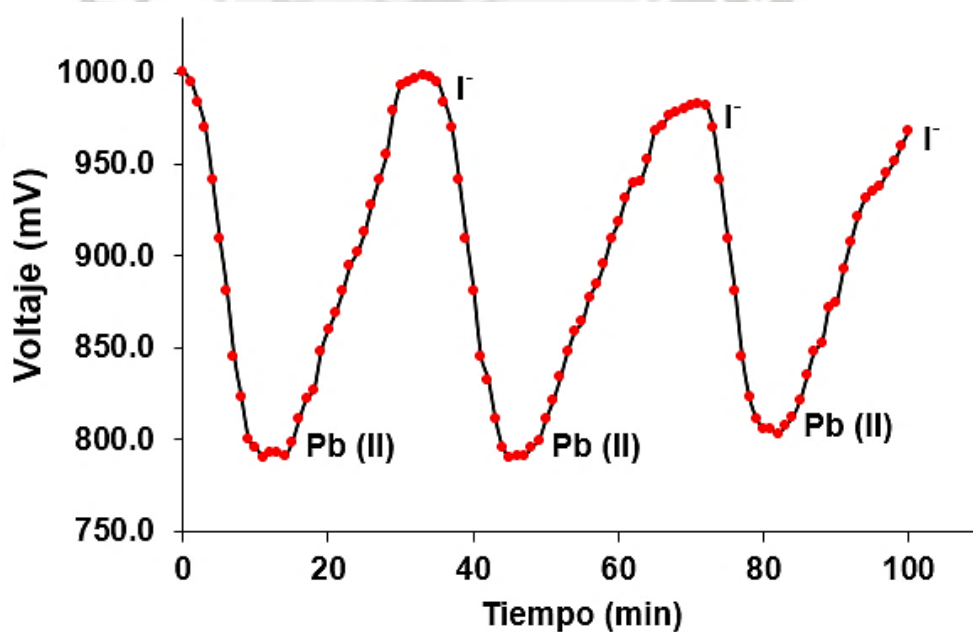


Fig. 3.11 Respuesta del optodo a $2 \mu\text{g. mL}^{-1}$ de Pb(II) a pH 5 y regeneración con $0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ I}^-$.

3.13. Selectividad

La selectividad del optodo, que refleja la respuesta relativa del optodo hacia el analito en presencia de posibles interferentes, es quizá la característica más importante de un optodo. La selectividad del optodo fue probada, mediante la determinación de $1 \mu\text{g. mL}^{-1}$ de Hg(II) o Pb(II) en presencia de otros iones metálicos interferentes, los cuales fueron Ag(I), K(I), Li(I), Na(II), Ca(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Mg(II), Mn(II), Ni(II), Zn(II), Al(III), Fe(III) y Cr(III) a una concentración de $3 \mu\text{g. mL}^{-1}$. Se definió al error relativo como:

$$\text{ER\%} = [(V - V_0)/V_0] * 100 \quad (2)$$

Donde V_0 corresponde al rango de voltaje registrado en respuesta al Hg(II) o Pb(II) y V es el rango voltaje registrado al añadir los iones metálicos interferentes. Los resultados de los estudios de selectividad se resumen en la Fig. 3.12 y 3.13. Los errores relativos de los iones interferentes inferiores a 6 y 5% (para Hg(II) y Pb(II), respectivamente), son reconocidos como los niveles tolerancia del optodo. Distintos estudios sobre optodos reportan niveles de tolerancia entre 5 y 6%.^{28, 44, 56, 57} Por lo tanto, el optodo propuesto exhibió una buena selectividad hacia el Hg(II) y Pb(II) con respecto a otros iones metálicos interferentes haciendo que el uso optodo sea factible para aplicaciones prácticas.

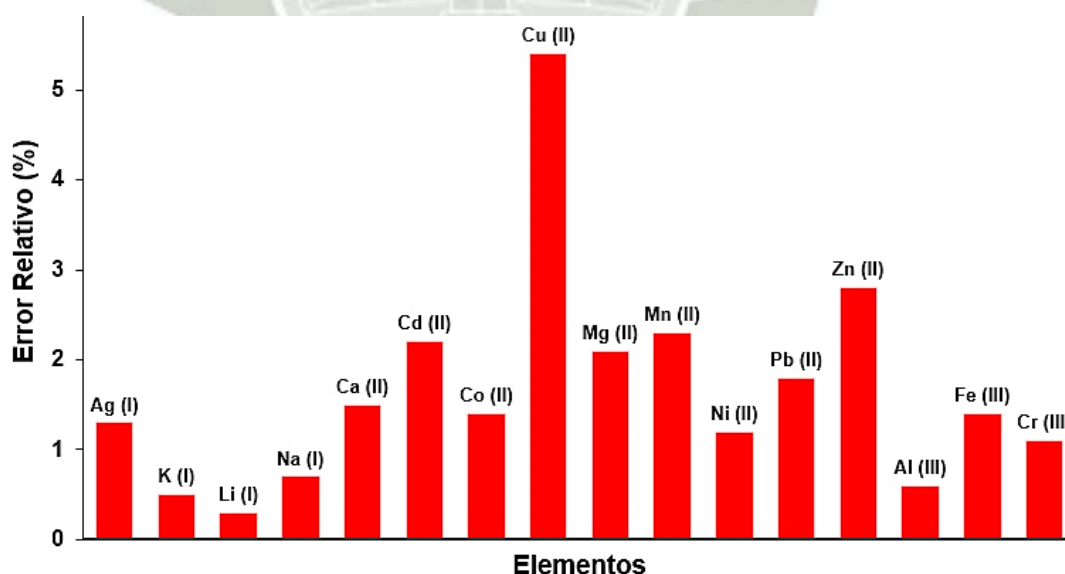


Fig. 3.12 Efecto de los iones metálicos interferentes ($3 \mu\text{g. mL}^{-1}$) sobre la determinación de Hg(II) ($1 \mu\text{g. mL}^{-1}$) usando el optodo propuesto a pH 2

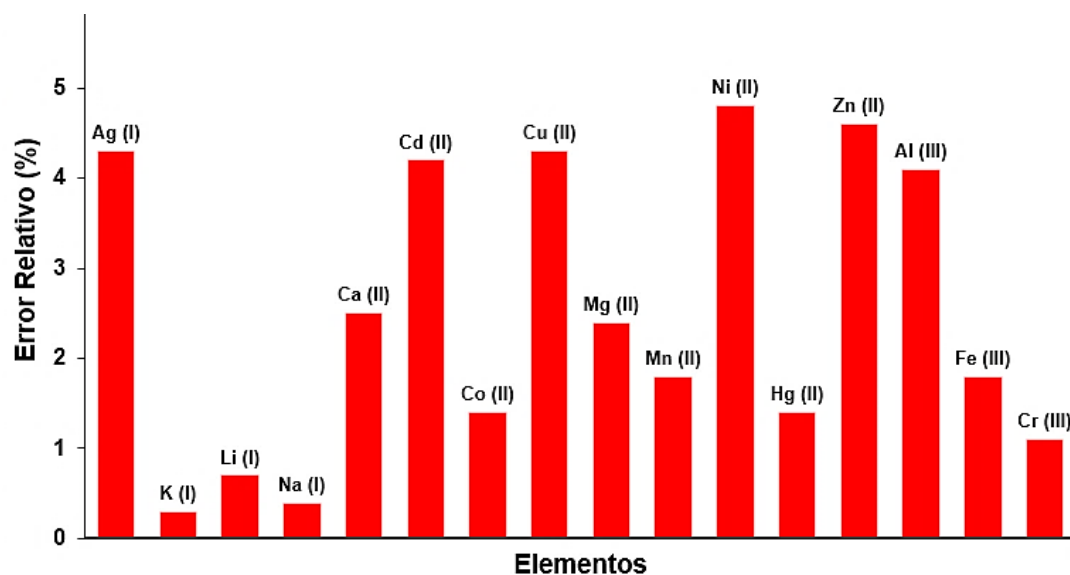


Fig. 3.13 Efecto de los iones metálicos interferentes ($3 \mu\text{g. mL}^{-1}$) sobre la determinación de Pb(II) ($1 \mu\text{g. mL}^{-1}$) usando el optodo propuesto a pH 5

3.14. Comparación con un método estándar (ICP-OES)

Se evaluó la capacidad del optodo propuesto para determinar Hg(II) y Pb(II) en una muestra real. La concentración de estos iones metálicos fue medida en agua de grifo. Las muestras fueron recolectadas usando una técnica usual, se conservaron por acidificación con HNO_3 y se almacenaron en frascos de polietileno. Cada muestra fue analizada por triplicado usando el optodo propuesto y la espectrometría de emisión óptica con plasma inductivamente acoplado (ICP-OES) como método estándar. Los resultados son mostrados en las Tablas 14 y 15. Se empleó la prueba t-Student para evaluar los resultados obtenidos. Esta prueba demostró que no existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos métodos. Existen investigaciones previas donde se reportó la comparación de diferentes optodos con métodos estándar, en las cuales no hubo diferencia significativa entre ambos métodos.^{113, 160, 161} Al igual que en estas investigaciones, el optodo propuesto en el presente trabajo muestra que puede ser aplicado satisfactoriamente para la determinación de Hg(II) y Pb(II) en muestras de agua.

Tabla 14. Comparación del optodo propuesto y el método estándar ICP-OES en la determinación de Hg(II) en muestras de agua

Muestra	Hg(II) añadido ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)	Hg(II) encontrado		Prueba t ($t_{0.05,4} = 2.78$)
		Optodo propuesto	ICP-OES	
	-	< límite de detección	< límite de detección	-
Agua de grifo	0.1000	0.1050 $\pm$ 0.0016	0.1030 $\pm$ 0.0007	2.01
	0.5000	0.5036 $\pm$ 0.0015	0.5012 $\pm$ 0.0009	2.37
	1.0000	1.0052 $\pm$ 0.0024	1.0016 $\pm$ 0.0010	2.40

Tabla 15. Comparación del optodo propuesto y el método estándar ICP-OES en la determinación de Pb(II) en muestras de agua

Muestra	Pb(II) añadido ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)	Pb(II) encontrado		Prueba t ($t_{0.05,4} = 2.78$)
		Optodo propuesto	ICP-OES	
	-	< límite de detección	< límite de detección	-
Agua de grifo	0.1000	0.1050 $\pm$ 0.0025	0.1022 $\pm$ 0.0004	2.14
	0.5000	0.5043 $\pm$ 0.0023	0.5011 $\pm$ 0.0005	2.31
	1.0000	1.0048 $\pm$ 0.0015	1.0028 $\pm$ 0.0013	1.59

CONCLUSIONES

- Se diseñó y construyó el optodo basado en la inmovilización de ditizona en una membrana de PVC, cuya instrumentación fue económicamente viable y estuvo constituida por una fuente de luz (LED RGB) y un detector (LDR), que a su vez estuvo acoplado a un registrador de datos de alta resolución.
- El optodo dio una respuesta analíticamente aceptable para la determinación de Hg(II) y Pb(II) en solución. Este presentó un rango dinámico lineal y un límite de detección adecuados; un tiempo de respuesta relativamente rápido; una respuesta reproducible y una repetibilidad apropiada; una estabilidad a corto plazo aceptable; un tiempo de vida prolongado en la oscuridad; una buena selectividad para Hg(II) y Pb(II), dependiendo del pH y logró ser regenerado.
- No existe diferencia significativa para la determinación de Hg(II) y Pb(II) en muestras de agua con el optodo propuesto en comparación con el método estándar (ICP-OES).

SUGERENCIAS

- Probar el mismo dispositivo con otras interfaces sensibles para la determinación de distintos contaminantes.
- Establecer la factibilidad de la producción del optodo a nivel comercial.
- Experimentar la aplicación práctica del optodo propuesto, en el monitoreo medio ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

1. Zhu Y, Zheng Y, Wang W, Wang A. Highly efficient adsorption of Hg (II) and Pb (II) onto chitosan-based granular adsorbent containing thiourea groups. *Journal of Water Process Engineering*. 2015;7:218-26.
2. Afkhami A, Bagheri H, Khoshshafar H, Saber-Tehrani M, Tabatabaee M, Shirzadmehr A. Simultaneous trace-levels determination of Hg (II) and Pb (II) ions in various samples using a modified carbon paste electrode based on multi-walled carbon nanotubes and a new synthesized Schiff base. *Analytica chimica acta*. 2012;746:98-106.
3. Zhou Y, Li Y-S, Meng X-Y, Zhang Y-Y, Yang L, Zhang J-H, et al. Development of an immunochromatographic strip and its application in the simultaneous determination of Hg (II), Cd (II) and Pb (II). *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2013;183:303-9.
4. Ministerio del Ambiente P. Decreto Supremo N 002-2008-MINAM. Política Nacional del Ambiente. 2008.
5. March G, Nguyen TD, Piro B. Modified electrodes used for electrochemical detection of metal ions in environmental analysis. *Biosensors*. 2015;5(2):241-75.
6. Mafa PJ, Idris AO, Mabuba N, Arotiba OA. Electrochemical co-detection of As (III), Hg (II) and Pb (II) on a bismuth modified exfoliated graphite electrode. *Talanta*. 2016;153:99-106.
7. Thakur N, Kumar SA, Kumar KA, Pandey AK, Kumar SD, Reddy A. Development of a visual optode sensor for onsite determination of Hg (II). *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2015;211:346-53.
8. Bualom C, Ngeontae W, Nitiyanontakit S, Ngamukot P, Imyim A, Tuntulani T, et al. Bulk optode sensors for batch and flow-through determinations of lead ion in water samples. *Talanta*. 2010;82(2):660-7.
9. Scindia Y, Pandey A, Reddy A, Manohar S. Chemically selective membrane optode for Cr (VI) determination in aqueous samples. *Analytica chimica acta*. 2004;515(2):311-21.
10. Suah FBM, Ahmad M, Heng LY. A novel polymer inclusion membranes based optode for sensitive determination of Al 3+ ions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2015;144:81-7.
11. Biefeld L, Patrick T. Extraction of Metals from Aqueous Solutions with Dithizon. Lead. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*. 1942;14(3):275-8.
12. Hassan AK. Chemical sensor for determination of mercury in contaminated water. *Modern Chemistry & Applications*. 2013;2013.
13. de Oliveira WA, Narayanaswamy R. A flow-cell optosensor for lead based on immobilized dithizone. *Talanta*. 1992;39(11):1499-503.
14. Safavi A, Bagheri M. Design and characteristics of a mercury (II) optode based on immobilization of dithizone on a triacetylcellulose membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2004;99(2):608-12.
15. Kalantar-Zadeh K. *Sensors: an introductory course*: Springer Science & Business Media; 2013.
16. Wolfbeis OS. Analytical chemistry with optical sensors. *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie*. 1986;325(4):387-92.
17. McGrath MJ, Scanail CN. *Sensor Technologies: Healthcare, Wellness and Environmental Applications*: Apress; 2013.

18. Taylor HR. Data acquisition for sensor systems: Springer Science & Business Media; 1997.
19. Spichiger-Keller UE. Optical sensors, optodes. *Chemical Sensors and Biosensors for Medical and Biological Applications*. 1998:259-319.
20. García S, Albero I, Ortuño JA, Sánchez-Pedreño C, Expósito R. Flow-through bulk optode for the spectrophotometric determination of perchlorate. *Microchimica Acta*. 2003;143(1):59-63.
21. Shamsipur M, Poursaberi T, Karami AR, Hosseini M, Momeni A, Alizadeh N, et al. Development of a new fluorimetric bulk optode membrane based on 2, 5-thiophenylbis (5-tert-butyl-1, 3-benzexazole) for nickel (II) ions. *Analytica chimica acta*. 2004;501(1):55-60.
22. Kuswandi B, Vaughan AA, Narayanaswamy R. Simple regression model using an optode for the simultaneous determination of zinc and cadmium mixtures in aqueous samples. *Analytical sciences*. 2001;17(1):181-6.
23. Alizadeh N, Moemeni A, Shamsipur M. Poly(vinyl chloride)-membrane ion-selective bulk optode based on 1,10-dibenzyl-1,10-diaza-18-crown-6 and 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol for Cu²⁺ and Pb²⁺ ions. *Analytica Chimica Acta*. 2002;464(2):187-96.
24. Chau LK, Porter MD. Optical sensor for calcium: Performance, structure, and reactivity of calcichrome immobilized at an anionic polymer film. *Analytical Chemistry*. 1990;62(18):1964-71.
25. Ganjali MR, Hosseini M, Karimi A, Haji-Hashemi H, Salavati-Niasari M, Norouzi P. Holmium (III)-selective fluorimetric optode based on N, N-bis (salicylidene)-naphthylene-1, 8-diamine as a neutral fluorogenic ionophore. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2014;121:224-9.
26. Li L. The Development of Ionophore-Selective Based optical chemical sensors for the determination of heavy metal ions in aqueous environments: Dublin City University; 2010.
27. Safavi A, Sadeghi M. A PVC-membrane bulk optode for gallium (III) ion determination. *Talanta*. 2007;71(1):339-43.
28. Yari A, Gholivand MB, Rahhedayat F. Development and characterization of a new nickel (II) ion selective optode based on 2-amino-1-cyclopentene-dithiocarboxylic acid. *Measurement*. 2011;44(9):1691-6.
29. Chan WH, Yang RH, Wang KM. Development of a mercury ion-selective optical sensor based on fluorescence quenching of 5, 10, 15, 20-tetraphenylporphyrin. *Analytica Chimica Acta*. 2001;444(2):261-9.
30. Zhang X-B, Guo C-C, Li Z-Z, Shen G-L, Yu R-Q. An optical fiber chemical sensor for mercury ions based on a porphyrin dimer. *Analytical chemistry*. 2002;74(4):821-5.
31. Kalyan Y, Pandey A, Bhagat P, Acharya R, Natarajan V, Naidu G, et al. Membrane optode for mercury (II) determination in aqueous samples. *Journal of hazardous materials*. 2009;166(1):377-82.
32. Hulanicki A, Glab S, Ingman F. Chemical sensors: definitions and classification. *Pure and Applied Chemistry*. 1991;63(9):1247-50.
33. Boisdé G, Harmer A. Chemical and biochemical sensing with optical fibers and waveguides (eds) Artech House. London; 1995.

34. Kuswandi B, Dam HH, Reinhoudt DN, Verboom W. Development of a disposable mercury ion-selective optode based on trityl-picolinamide as ionophore. *Analytica chimica acta*. 2007;591(2):208-13.
35. Ensafi AA, Fouladgar M. Development a simple PVC membrane bulk optode for determination of lead ions in water samples. *Sensor Letters*. 2009;7(2):177-84.
36. Spichiger-Keller UE. Ion-and substrate-selective optode membranes and optical detection modes. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 1997;38(1):68-77.
37. Seitz WR, Sepaniak MJ. Chemical sensors based on immobilized indicators and fiber optics. 1988.
38. Narayanaswamy R. Tutorial review—Optical chemical sensors: transduction and signal processing. *Analyst*. 1993;118(4):317-22.
39. Puyol M, Villuendas F, Domínguez C, Cadarso V, Llobera A, Salinas I, et al. *Frontiers in Chemical Sensors: Novel Principles and Techniques*. Springer-Verlag: Heidelberg, Germany; 2005.
40. Wang Y, Bobbitt DR. Binding characteristics of avidin and surface immobilized octylbiotin: implications for the development of dynamically modified optical fiber sensors. *Analytica chimica acta*. 1994;298(1):105-12.
41. Kawabata Y, Kamichika T, Imasaka T, Ishibashi N. Ion-selective optrode using hexadecyl-acridine orange attached on poly (vinyl chloride) membrane. *Analytical Chemistry*. 1990;62(18):2054-5.
42. Zhujun Z, Seitz WR. A fluorescence sensor for quantifying pH in the range from 6.5 to 8.5. *Analytica chimica acta*. 1984;160:47-55.
43. Oesch U, Simon W. Lifetime of neutral carrier based ion-selective liquid-membrane electrodes. *Analytical Chemistry*. 1980;52(4):692-700.
44. Aziz AAA, Seda SH, Mohammed SF. Design of a highly sensitive and selective bulk optode based on fluorescence enhancement of N, N'-bis-(1-hydroxyphenylimine) 2, 2'-pyridil Schiff base: Monitoring of zinc (II) ion in real samples and DFT calculation. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2016;223:566-75.
45. Rosatzin T, Holy P, Seiler K, Rusterholz B, Simon W. Immobilization of components in polymer membrane-based calcium-selective bulk optodes. *Analytical Chemistry*. 2002;64(18):2029-35.
46. Rivera Sarrate L, Puyol Bosch M, Alonso Chamarro J. *Desarrollos de sensores optoquímicos minituarizados basados en medidas de fluorescencia y el uso de fluoroionóforos VIS-NIR*: Universitat Autònoma de Barcelona; 2010.
47. Painter GR, Pressman BC. Dynamic aspects of ionophore mediated membrane transport. *Host Guest Complex Chemistry II*: Springer; 1982. p. 83-110.
48. Mikhelson KN. Ionophore-Based ISEs. *Ion-Selective Electrodes*: Springer; 2013. p. 51-95.
49. van der Veen NJ, Egberink RJ, Engbersen JF, Reinhoudt DN. *Selective Optode Membranes for Heavy Metal Ion Detection*. *Sensor Technology in the Netherlands: State of the Art*: Springer; 1998. p. 107-10.
50. Bühlmann P, Pretsch E, Bakker E. Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 2. Ionophores for Potentiometric and Optical Sensors. *Chemical Reviews*. 1998;98(4):1593-688.
51. Chen H, Gal Y-S, Kim S-H, Choi H-J, Oh M-C, Lee J, et al. Potassium ion sensing using a self-assembled calix [4] crown monolayer by surface plasmon resonance. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2008;133(2):577-81.

52. Echabaane M, Rouis A, Bonnamour I, Ouada HB. Characterization of an azocalix [4] arene-based optical sensor for Europium (III) ions. *Materials Science and Engineering: C*. 2012;32(5):1218-21.
53. O'Neill S, Conway S, Twellmeyer J, Egan O, Nolan K, Diamond D. Ion-selective optode membranes using 9-(4-diethylamino-2-octadecanoatestyryl)-acridine acidochromic dye. *Analytica chimica acta*. 1999;398(1):1-11.
54. Hutton AT. Studies on the existence of a tautomeric equilibrium in solutions of the analytical reagent dithizone. *Polyhedron*. 1987;6(1):13-23.
55. Marczenko Z, Balcerzak M. Separation, preconcentration and spectrophotometry in inorganic analysis: Elsevier; 2000.
56. Yu H-M, Song H, Chen M-L. Dithizone immobilized silica gel on-line preconcentration of trace copper with detection by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*. 2011;85(1):625-30.
57. Tavallali H, Daneashian S. Design and characteristics of tin (II) optode based on immobilization of dithizone on a triacetylcellulose membrane and its application in canned foods. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*. 2009;140(10):1149-54.
58. Seiler K, Simon W. Theoretical aspects of bulk optode membranes. *Analytica chimica acta*. 1992;266(1):73-87.
59. Glenn SJ, Cullum BM, Nair RB, Nivens DA, Murphy CJ, Angel SM. Lifetime-based fiber-optic water sensor using a luminescent complex in a lithium-treated Nafion™ membrane. *Analytica Chimica Acta*. 2001;448(1):1-8.
60. Safavi A, Bagheri M. Design of a copper (II) optode based on immobilization of dithizone on a triacetylcellulose membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2005;107(1):53-8.
61. Li Z, Li X, Rothmaier M, Harrison DJ. Comparison of numerical modeling of water uptake in poly (vinyl chloride)-based ion-selective membranes with experiment. *Analytical Chemistry*. 1996;68(10):1726-34.
62. Štěpek J, Daoust H. Plasticizers. *Additives for Plastics*: Springer; 1983. p. 7-33.
63. Kutz M. *Applied plastics engineering handbook: processing and materials*: William Andrew; 2011.
64. Manutchehr-Danai M. *Dictionary of gems and gemology*: Springer Science & Business Media; 2013.
65. Pode R, Diouf B. *Solar lighting*: Springer Science & Business Media; 2011.
66. Chen J, Cranton W, Fihn M. *Handbook of visual display technology*: Springer Berlin; 2012.
67. Shrestha R, Hardeberg JY. How Are LED Illumination Based Multispectral Imaging Systems Influenced by Different Factors? *Image and Signal Processing*: Springer; 2014. p. 61-71.
68. Li SS. *Semiconductor physical electronics*: Springer Science & Business Media; 2012.
69. Burke MW. *Image acquisition: handbook of machine vision engineering*: Springer Science & Business Media; 2012.
70. Fraden J. *Light Detectors. Handbook of Modern Sensors: Physics, Designs, and Applications*. New York, NY: Springer New York; 2010. p. 461-501.
71. Martínez-Gea J, Villar-Martínez M, Martínez-Asís J, Manjón-Cabeza F. *Tecnología*: Mad; 2003.

72. Gautam RK, Sharma SK, Mahiya S, Chattopadhyaya MC. Contamination of heavy metals in aquatic media: transport, toxicity and technologies for remediation. 2014.
73. Mohammed AS, Kapri A, Goel R. Heavy Metal Pollution: Source, Impact, and Remedies. In: Khan SM, Zaidi A, Goel R, Musarrat J, editors. Biomanagement of Metal-Contaminated Soils. Dordrecht: Springer Netherlands; 2011. p. 1-28.
74. Kong I-C, Bitton G, Koopman B, Jung K-H. Heavy Metal Toxicity Testing in Environmental Samples. In: Ware GW, editor. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Continuation of Residue Reviews. New York, NY: Springer New York; 1995. p. 119-47.
75. Duruibe J, Ogwuegbu M, Egwurugwu J. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. International Journal of Physical Sciences. 2007;2(5):112-8.
76. Morales C, Ruiz K. Determinación de la capacidad de remoción de cadmio, plomo y níquel por hongos de la podredumbre blanca inmovilizados. Trabajo de grado (Microbiología Industrial) Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Bogotá, DC Colombia. 2008.
77. Moore JW, Ramamoorthy S. Lead. Heavy Metals in Natural Waters: Applied Monitoring and Impact Assessment. New York, NY: Springer New York; 1984. p. 100-24.
78. Pehlivan E, Altun T, Cetin S, Bhanger MI. Lead sorption by waste biomass of hazelnut and almond shell. Journal of hazardous materials. 2009;167(1):1203-8.
79. Taşar Ş, Kaya F, Özer A. Biosorption of lead (II) ions from aqueous solution by peanut shells: Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies. Journal of Environmental Chemical Engineering. 2014;2(2):1018-26.
80. ATSDR U. Toxicological Profile for lead. US Department of Health and Human Services. 2007;1:582.
81. Kessel I, O'Connor JT. Lead in Drinking Water. Getting the Lead Out: The Complete Resource on How to Prevent and Cope with Lead Poisoning. Boston, MA: Springer US; 1997. p. 141-52.
82. Gerlach SA. Marine pollution: diagnosis and therapy: Springer Science & Business Media; 2013.
83. White RF, Diamond R, Proctor S, Morey C, Hu H. Residual cognitive deficits 50 years after lead poisoning during childhood. British journal of industrial medicine. 1993;50(7):613-22.
84. Godwin HA. The biological chemistry of lead. Current opinion in chemical biology. 2001;5(2):223-7.
85. Needleman HL, Schell A, Bellinger D, Leviton A, Allred EN. The long-term effects of exposure to low doses of lead in childhood: an 11-year follow-up report. New England journal of medicine. 1990;322(2):83-8.
86. Betharia S, Maher TJ. Neurobehavioral effects of lead and manganese individually and in combination in developmentally exposed rats. NeuroToxicology. 2012;33(5):1117-27.
87. Han Z, Bi X, Li Z, Yang W, Wang L, Yang H, et al. Occurrence, speciation and bioaccessibility of lead in Chinese rural household dust and the associated health risk to children. Atmospheric Environment. 2012;46:65-70.
88. WHO. Exposure to lead: a major public health concern. Geneva: World Health Organization. 2010.

89. ATSDR U. Toxicological profile for mercury. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, US Department of Health and Human Services. 1999.
90. Moore JW, Ramamoorthy S. Mercury. Heavy Metals in Natural Waters: Applied Monitoring and Impact Assessment. New York, NY: Springer New York; 1984. p. 125-60.
91. Adriano DC. Mercury. Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. New York, NY: Springer New York; 2001. p. 411-58.
92. Jackson TA. Mercury in aquatic ecosystems. In: Langston WJ, Bebianno MJ, editors. Metal Metabolism in Aquatic Environments. Boston, MA: Springer US; 1998. p. 77-158.
93. Rodríguez O, Padilla I, Tayibi H, López-Delgado A. Concerns on liquid mercury and mercury-containing wastes: A review of the treatment technologies for the safe storage. Journal of environmental management. 2012;101:197-205.
94. Clarkson T, Marsh D. Mercury toxicity in man. Clinical, biochemical, and nutritional aspects of trace elements/editor, AS Prasad. 1982.
95. Wiener JG, Krabbenhoft DP, Heinz GH, Scheuhammer AM. Ecotoxicology of mercury. Handbook of ecotoxicology. 2003;2:409-63.
96. Fitzgerald WF, Engstrom DR, Mason RP, Nater EA. The case for atmospheric mercury contamination in remote areas. Environmental Science & Technology. 1998;32(1):1-7.
97. Mason R, Reinfelder J, Morel F. Bioconcentration of mercury and methylmercury. Water Air Soil Poll. 1996;80:915-21.
98. Gad SC, Pham T. Mercury A2 - Wexler, Philip. Encyclopedia of Toxicology (Third Edition). Oxford: Academic Press; 2014. p. 207-10.
99. Sigel A, Sigel H. Metal Ions in Biological Systems: Volume 34: Mercury and its Effects on Environment and Biology: CRC Press; 1997.
100. Berlin M, Zalups RK, Fowler BA. Chapter 46 - Mercury A2 - Nordberg, Gunnar F. Nordberg Bruce A. Fowler Monica. Handbook on the Toxicology of Metals (Fourth Edition). San Diego: Academic Press; 2015. p. 1013-75.
101. Clarkson TW. Mercury: major issues in environmental health. Environmental Health Perspectives. 1993;100:31.
102. Miretzky P, Cirelli AF. Hg (II) removal from water by chitosan and chitosan derivatives: a review. Journal of hazardous materials. 2009;167(1):10-23.
103. WHO. Mercury: environmental aspects. Geneva: World Health Organization. 1989.
104. Olesik JW. Elemental Analysis Using ICP-OES and ICP/MS. Analytical Chemistry. 1991;63(1):12A-21A.
105. Reed TB. Induction-Coupled Plasma Torch. Journal of Applied Physics. 1961;32(5):821-4.
106. Silva N, Gregoire DC. Inductively coupled plasma optical emission and mass spectrometry. In: Alfassi ZB, editor. Instrumental Multi-Element Chemical Analysis. Dordrecht: Springer Netherlands; 1998. p. 151-200.
107. de Rojas MIS, de Luxán MP, Rojas MF. La espectrometría de emisión con fuente de plasma de acoplamiento inductivo. Materiales de construcción. 1986(202):31-48.

108. Salas R, Pérez J, Ramírez J. Técnicas de diseño, desarrollo y montaje de circuitos impresos. Universidad de los Andes. Venezuela; 2007.
109. Raatikainen P, Kassamakov I, Kakanakov R, Luukkala M. Fiber-optic liquid-level sensor. *Sensors and Actuators A: Physical*. 1997;58(2):93-7.
110. Abbaspour A, Izadyar A. Highly selective electrode for Nickel (II) ion based on 1.5-diphenylthiocarbazone (dithizone). *Microchemical journal*. 2001;69(1):7-11.
111. Gupta V, Jain A, Maheshwari G. A new Zn ²⁺ selective potentiometric sensor based on dithizone in PVC membranes. *Chemia analityczna*. 2006;51(6):889.
112. Sorouraddin M-H, Saadati M, Aghaei A. An optode membrane for determination of gold using a simple light-emitting diode-based device. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*. 2011;142(5):439-45.
113. Firooz AR, Ensafi AA, Hajyani Z. A highly sensitive and selective bulk optode based on dithiacyclooctadecane derivative incorporating chromoionophore V for determination of ultra trace amount of Hg (II). *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2013;177:710-6.
114. Tavallali H, Yazdandoust M. Design and Evaluation of a Mercury (II) Optode Based on Immobilization of 1-(2-Pyridylazo)-2-Naphthol on a Triacetylcellulose Membrane and Determination in Various Samples. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*. 2008;3(3):284-97.
115. Ling L, Zhao Y, Du J, Xiao D. An optical sensor for mercuric ion based on immobilization of Rhodamine B derivative in PVC membrane. *Talanta*. 2012;91:65-71.
116. Kuswandi B, Verboom W. Optical fiber chemical sensing of Hg (II) ions in aqueous samples using a microfluidic device containing a selective tripodal chromoionophore-PVC film. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2011;157(2):438-43.
117. Ensafi AA, Far AK, Meghdadi S. Highly selective optical-sensing film for lead (II) determination in water samples. *Journal of hazardous materials*. 2009;172(2):1069-75.
118. Abdel Aziz AA, Seda SH. Detection of trace amounts of Hg²⁺ in different real samples based on immobilization of novel unsymmetrical tetradentate Schiff base within PVC membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2014;197:155-63.
119. Hashemi P, Hosseini M, Zargoosh K, Alizadeh K. High sensitive optode for selective determination of Ni ²⁺ based on the covalently immobilized thionine in agarose membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2011;153(1):24-8.
120. Ensafi A, Fouladgar M. Development of a spectrophotometric optode for the determination of Hg (II). *Sensors Journal, IEEE*. 2008;8(4):347-53.
121. O'Toole M, Diamond D. Absorbance based light emitting diode optical sensors and sensing devices. *Sensors*. 2008;8(4):2453-79.
122. Sorouraddin M, Saadati M. Determination of copper in urine and water samples using a simple led-based colorimeter. *Journal of Analytical Chemistry*. 2010;65(4):423-8.
123. Sorouraddin M, Saadati M, Samadi A. A simple and cheap device for colorimetric determination of serum iron. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 2010;57(1):56-61.
124. Lau KT, Shepherd R, Diamond D, Diamond D. Solid state pH sensor based on light emitting diodes (LED) as detector platform. *Sensors*. 2006;6(8):848-59.

- 125.Kuswandi B, Narayanaswamy R. Selective pool optode for mercury ion sensing in aqueous solution. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2001;74(1):131-7.
- 126.Fischer JP, Koop-Jakobsen K. The multi fiber optode (MufO): A novel system for simultaneous analysis of multiple fiber optic oxygen sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2012;168:354-9.
- 127.Hauser PC, Perisset PM, Tan SS, Simon W. Optode for bulk-response membranes. *Analytical Chemistry*. 1990;62(18):1919-23.
- 128.Bamsey M, Berinstain A, Dixon M. Development of a potassium-selective optode for hydroponic nutrient solution monitoring. *Analytica Chimica Acta*. 2012;737:72-82.
- 129.Pontallier J-Y. A cheap quantum sensor using a gallium arsenide photodiode. *Functional Ecology*. 1990:591-6.
- 130.McKeen LW. 6 - Polyamides (Nylons). *The Effect of Creep and Other Time Related Factors on Plastics and Elastomers (Third Edition)*. Boston: William Andrew Publishing; 2015. p. 247-320.
- 131.Hussey B, Wilson J. *Silicone Adhesives. Structural Adhesives: Directory and Databook*. Boston, MA: Springer US; 1996. p. 299-321.
- 132.Hashemi P, Abolghasemi MM. Preparation of a novel optical sensor for low pH values using agarose membranes as support. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2006;115(1):49-53.
- 133.Puyol M, del Valle M, Garcés I, Villuendas F, Domínguez C, Alonso J. Integrated waveguide absorbance optode for chemical sensing. *Analytical Chemistry*. 1999;71(22):5037-44.
- 134.Maclin AQ, Kim MD, Dergunov SA, Pinkhassik E, Lindner E. Small-Volume pH Sensing with a Capillary Optode Utilizing Dye-Loaded Porous Nanocapsules in a Hydrogel Matrix. *Electroanalysis*. 2015;27(3):733-44.
- 135.Othman M, Othman A, Zuki H. Dithizone modified silver electrode for the determination of metal ions in aqueous solution. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 2016;20(1):197-204.
- 136.Quinto E, Rodriguez N. An Optical Sensor for Lead Based on Immobilized Dithizone. *Philippine Journal of Science*. 1999;128(4):353-6.
- 137.Elsalamouny AR, Elreefy SA-E, Aly AM. Coated Wire Lead Ion Selective Electrode Based on Dithizone. *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry*. 2012;4(2):178-85.
- 138.Irving H, Hutton A. Studies with dithizone: Part 35. A new look at the structure of dithizone in solution. *Analytica Chimica Acta*. 1982;141:311-9.
- 139.Spěváček V, Spěváčková V. Electron spectra and structure of dithizone and its ions. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*. 1976;38(7):1299-301.
- 140.Zargoosh K, Babadi FF. Highly selective and sensitive optical sensor for determination of Pb 2+ and Hg 2+ ions based on the covalent immobilization of dithizone on agarose membrane. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2015;137:105-10.
- 141.Young R, editor. *LED measurement instrumentation*. CIE Advanced LED Seminar; 2001.
- 142.Qu X, Wong SC, Tse CK, editors. *Color control system for RGB LED light sources using junction temperature measurement*. Industrial Electronics Society, 2007 IECON 2007 33rd Annual Conference of the IEEE; 2007: IEEE.

143. Yanaz Z, Filik H, Apak R. Development of an optical fibre reflectance sensor for lead detection based on immobilised arsenazo III. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2010;147(1):15-22.
144. Bakker E, Bühlmann P, Pretsch E. Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 1. General Characteristics. *Chemical Reviews*. 1997;97(8):3083-132.
145. Merrifield JD, Davids WG, MacRae JD, Amirbahman A. Uptake of mercury by thiol-grafted chitosan gel beads. *Water Research*. 2004;38(13):3132-8.
146. Rizk NM, Abbas SS, Hamza SM, Hamza SM, Abd EL-Karem YM. Thiopental and phenytoin as novel ionophores for potentiometric determination of lead (II) ions. *Sensors*. 2009;9(3):1860-75.
147. Tavallali H, Dorostghoal L. Design and Evaluation of a Lead (II) Optical Sensor Based on Immobilization of Dithizone on Triacetylcellulose Membrane. 2014.
148. Amini MK, Khezri B, Firooz AR. Development of a highly sensitive and selective optical chemical sensor for batch and flow-through determination of mercury ion. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2008;131(2):470-8.
149. Kuswandi B, Narayanaswamy R. Characterisation of a Hg (II) ion optrode based on Nafion®-1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol composite thin films. *J Environ Monit*. 1999;1(1):109-14.
150. Ganten D, Ruckpaul K. Dynamic Range. *Encyclopedic Reference of Genomics and Proteomics in Molecular Medicine*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2006. p. 479-80.
151. Cádiz-Carrasco MG, García-Alegría AM. Validación de un método analítico para la determinación de fósforo por espectrofotometría ultravioleta-visible. *Biotecnia*. 2015;17(1):32-9.
152. Long GL, Winefordner JD. Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition. *Analytical Chemistry*. 1983;55(7):712A-24A.
153. Safavi A, Sadeghi M. Design and evaluation of a thorium (IV) selective optode. *Analytica chimica acta*. 2006;567(2):184-8.
154. Tavallali H, Shaabanpur E, Vahdati P. A highly selective optode for determination of Hg (II) by a modified immobilization of indigo carmine on a triacetylcellulose membrane. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2012;89:216-21.
155. Yusof NA, Ahmad M. A flow cell optosensor for lead based on immobilized gallocynin in chitosan membrane. *Talanta*. 2002;58(3):459-66.
156. Pino F, Perez D. *Análisis de elementos-traza por espectrofotometría de absorción molecular ultravioleta-visible*: Universidad de Sevilla; 1983.
157. Mariños F, Mercedes B. Diseño y validación de un método de análisis por espectrofotometría UV-VIS para Cinc (11) y mercurio en muestras acuosas. 2011.
158. Ensafi AA, Fouladgar M. A sensitive and selective bulk optode for determination of Hg (II) based on hexathiacyclooctadecane and chromoionophore V. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2009;136(2):326-31.
159. Ringbom A, Montuenga C. *Formación de complejos en química analítica*: Alhambra Madrid; 1979.
160. Firooz AR, Ensafi AA, Karimi K, Sharghi H. Development of a specific and highly sensitive optical chemical sensor for determination of Hg (II) based on a new synthesized ionophore. *Materials Science and Engineering: C*. 2013;33(7):4167-72.

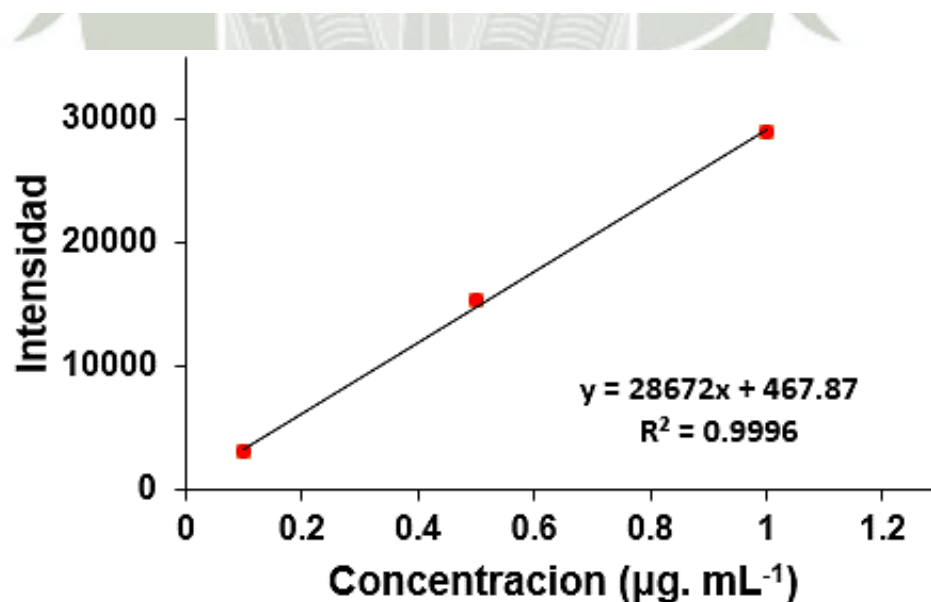
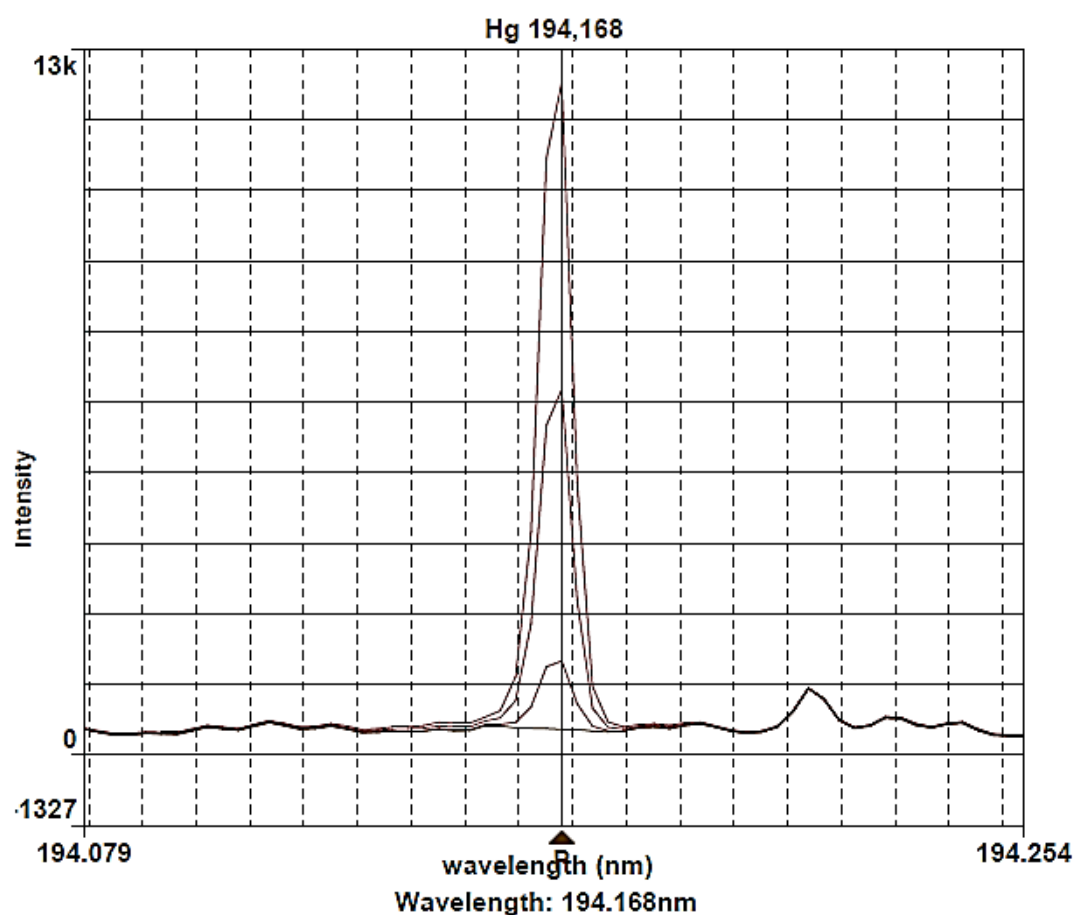
161. Yari A, Papi F. Highly selective sensing of mercury (II) by development and characterization of a PVC-based optical sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2009;138(2):467-73.





ANEXOS

Anexo 1. Curva calibración del Hg(II) por el método estándar (ICP-OES)



Anexo 2. Curva calibración del Pb(II) por el método estándar (ICP-OES)

