



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Metales pesados como identificador químico del origen de mezcales usando electrodos modificados con polímeros conductores

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. David García Bassoco

Dr. Bernardo Antonio Frontana Uribe
Instituto de Química

Ciudad de México, noviembre 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Metales pesados como identificador químico del origen de
mezcales usando electrodos modificados con polímeros
conductores

T E S I S
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

Q. David García Bassoco



Ciudad de México, noviembre 2023



AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCYT por la beca de maestría otorgada con número de CVU 1140194.

Al Dr. Bernardo Frontana por su tiempo y apoyo para la realización de este proyecto.

Al Dr. Arturo de Jesús Mendoza por sus valiosos comentarios en la sección de electroquímica que abonaron tanto a este proyecto.

Al Dr. Ernesto Rivera por el tiempo y la dedicación hacia la sección de polímeros conductores.

Al Dr. Alberto Rojas por sus observaciones y comentarios que hicieron de este trabajo una tesis destacada en el campo de la electroquímica analítica.

A la Dra. Patricia Guadarrama por enriquecer mi trabajo con sus observaciones y comentarios enfocados en los polímeros.

A mis compañeros del cubículo de caracterizaciones electroquímicas de CCIQS, a la Dra. Alejandra Nava por su apoyo durante todo mi proceso de desarrollo del proyecto, a Humberto, a Sara y a Ismael por hacernos más llevaderos los días. A Erick por sus contribuciones y las dudas resueltas durante mi estancia en Toluca.

Al proyecto PAPIIT IV 20022 “Electrodos basados en compuestos novedosos de bismuto para su uso en electroquímica y fotoelectroquímica” por el financiamiento otorgado.

ÍNDICE

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	3
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES.....	5
El mezcal y la denominación de origen	5
Análisis convencional de cationes metálicos	11
Fundamentos de electroquímica	12
Voltamperometría de redisuolución anódica.....	15
Espectroscopia de impedancia electroquímica.....	19
Validación de métodos analíticos	22
Polímeros conductores	24
JUSTIFICACIÓN.....	27
HIPÓTESIS.....	28
OBJETIVOS.....	28
METODOLOGÍA	29
Electrosíntesis del polímero conductor	29
Caracterización electroquímica y superficial del electrodo modificado	30
Condiciones experimentales para la cuantificación de Pb^{2+} , Cd^{2+} y Cu^{2+}	31
Validación de un método electroquímico para cuantificar Pb^{2+} , Cd^{2+} y Cu^{2+}	34
EQUIPO, MATERIALES Y REACTIVOS.....	35
Equipo.....	35
Materiales	36
Reactivos y soluciones.....	36
Preparación de disoluciones	36



RESULTADOS.....	38
Electrosíntesis de Poli-etilen-(3,4)-dioxitiofeno	38
Caracterización electroquímica y superficial del electrodo modificado	40
Material verificado	45
Determinación de parámetros asociados a validación analítica	47
Análisis de muestras comerciales	57
CONCLUSIONES	65
Anexo A. Construcción de diagramas logarítmicos y de fracción molar para Pb^{2+} , Cu^{2+} y Cd^{2+} en medio acuoso.....	66
Anexo B. Verificación de material volumétrico.....	80
Anexo C. Informe de calibración de balanza.	83
Anexo D. Resultados de análisis por espectroscopia de absorción atómica	84
BIBLIOGRAFÍA.....	86



SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
VC	Voltamperometría cíclica
VOC	Voltamperometría de onda cuadrada
EIE	Espectroscopia de impedancia electroquímica
Z'	Impedancia real [Ohm]
Z''	Impedancia imaginaria [Ohm]
Z _w	Impedancia de Warburg [Ohm]
ET	Electrodo de trabajo
ER	Electrodo de referencia
EA	Electrodo auxiliar
E _i	Potencial inicial
E _f	Potencial final
E _λ	Potencial de inversión
ΔE _{pl}	Diferencia de potencial de pulso
ΔE	Diferencia de potencial
ΔE _p	Diferencia de potencial de pico
E _{pa}	Potencial de pico anódico
E _{pc}	Potencial de pico catódico
E _{1/2}	Potencial de media onda
ES	Electrolito soporte
E	Potencial [V]
i	Corriente [A]
Redox	Reacción de óxido reducción
D ⁰	Coefficiente de difusión [cm ² ·s ⁻¹]
t	Tiempo [s]
k _s	Constante heterogénea estándar [cm·s ⁻¹]
°C	Grados Celsius
Hz	Hertz
M	Concentración molar [mol·L ⁻¹]
mmol	Milimol
PCA	Potencial de Circuito Abierto
v	Velocidad de barrido [V·s ⁻¹]

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
α	Coefficiente de transferencia
β _n ^{OH⁻}	Constante de complejación global de la enésima especie en función de OH ⁻
β _n ^{H⁺}	Constante de complejación global de la enésima especie en función de H ⁺
ω	Frecuencia angular [Hz]
Ω	Ohms



INTRODUCCIÓN

El mezcal, bebida que es mundialmente reconocida por su sabor y su aporte cultural a México. Ha sido objeto de diversas investigación en los últimos años debido a sus múltiples formas de producción y de ellas se deriva su clasificación.

Este trabajo está enfocado en el mezcal artesanal el cual se procesa con la menor cantidad de instrumental industrializado, dando oportunidad a la contaminación a partir de múltiples vías, por ejemplo: el suelo donde se planta el agave, el agua con la que se lleva a cabo el riego o la que se usa en el paso final del procesamiento del mezcal o en los instrumentos utilizados. Entre los contaminantes que son de interés son los metales pesados, en concreto el cadmio, el plomo y el cobre.

Mediante la modificación de electrodos, se ha permitido mejorar las capacidades que estos tienen como sensores electroquímicos, enfocado al análisis de metales pesados mediante voltamperometría de redisolución anódica. El modificador de electrodo utilizado es un polímero conductor, el cual ha demostrado mantener la capacidad conductora del material e inclusive aumentarla y lograr el sensado de metales pesados en otras matrices.

Mediante experimentos de validación analítica se buscó establecer la viabilidad del método para realizar la cuantificación. Sin embargo, se observaron dificultades en la matriz polimérica, esto es debido a que la carga necesaria para polarizar la interfase obstaculiza la debida cuantificación del analito de interés, debido a sus propiedades pseudocapacitivas. Por otra parte, el electrodo sin modificación de carbón vítreo es más preciso ante la cuantificación con esta técnica electroquímica, sus límites de detección se encuentran alrededor de 0.02 ppm.

Los polímeros conductores son campo fértil de investigación para las aplicaciones analíticas, las cuales no deben estar limitadas al análisis de metales pesados, con motivo en sus propiedades de modificación de superficie pueden ser aplicadas a más analitos.



ANTECEDENTES

El mezcal y la denominación de origen

El mezcal es una bebida alcohólica que se obtiene a partir del corazón de maguey, también conocido como “piña”^[1], su proceso de elaboración consta de tres pasos, los cuales son: un proceso de cocción artesanal (en hornos de piedra, generalmente), el proceso de fermentación y para concluir, se destila obteniendo como producto final el mezcal.

Esta bebida es muy distintiva, debido a que, el grado etanólico puede ir desde 36 % hasta 55 % v/v, según la NOM-199-SCFI-2017[†]. Para la determinación de la denominación de origen, es necesario que la bebida sea proveniente de: Oaxaca, Durango, Guerrero, San Luis Potosí, Zacatecas, Guanajuato, Tamaulipas, Michoacán, Puebla, Aguascalientes, Morelos, Sinaloa y el Estado de México, pero también que cumpla con los requisitos de siembra, mantenimiento, cosecha y tratamiento del agave para su posterior producción de mezcal ^{[2] [3]}.

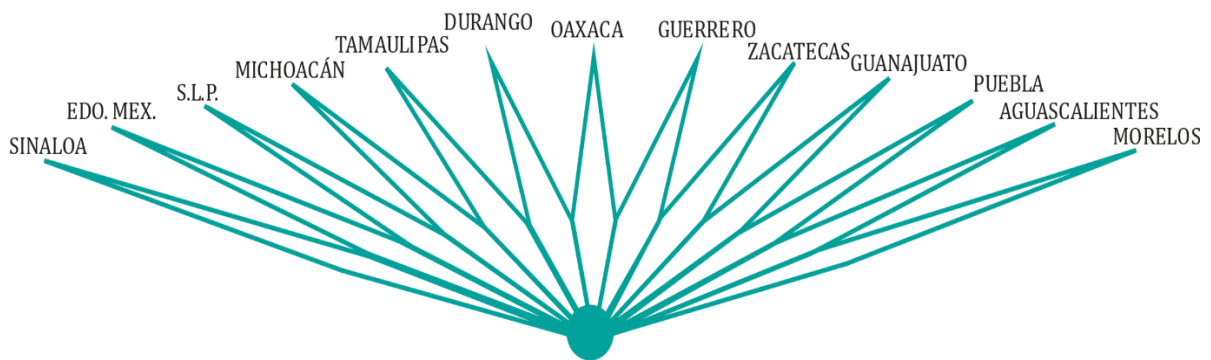


Figura 1. Estados que actualmente cumplen con los requisitos para la denominación de origen del mezcal*.

[†] Secretaría de Economía (30 de octubre de 2017) NORMA OFICIAL MEXICANA BEBIDAS ALCOHÓLICAS-DENOMINACIÓN, ESPECIFICACIONES FÍSICOQUÍMICAS, INFORMACIÓN COMERCIAL Y MÉTODOS DE PRUEBA.

https://www.dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5502882

* Adaptada de COMERCAM (imagen), por Consejo Mexicano de Regulación de la Calidad del Mezcal A.C., 2022 (<https://comercam-dom.org.mx/>)



El término agave, que proviene del griego *agavos* y significa magnifico o ilustre y fue acuñado por el naturalista sueco Carl von Linneo en su obra *Species Plantarum* en 1753, con el objetivo de reunir bajo un mismo género a las 273 especies de magueyes existentes alrededor del mundo, de las cuales 150 son nativas de México. El tiempo de floración (maduración de la planta previo a su reproducción) varía entre cinco y setenta años, esto debido a la especie, donde las flores pueden llegar a medir hasta doce metros de altura. La importancia del proceso de floración es relevante, debido a que los agaves florecen una vez y posterior a esto muere.

Dentro de la riqueza de especies existentes de agave, se puede utilizar todo agave que sea cultivado y cosechado en las zonas geográficas que comprendan el territorio de la denominación de origen, de acuerdo a los lineamientos establecidos.

Mediante múltiples investigaciones se han determinado algunos de los componentes del mezcal, causantes de sus características propiedades organolépticas, entre los que se encuentran: terpenos, alcoholes, ésteres, fenoles y furanos (Tabla 1)^[4].

Tabla 1. Algunos de los compuestos presentes en el mezcal y el sabor/olor producido.

Compuesto	Sabor/olor producido
Cariofileno	Madera
α -Terpineol	Aceite
Farnesol	Floral
d-limoneno	Lima
β -ciclocitral	Menta
1-butanol	Vino
3-metil-1-butanol	Malta
Butanoato de etilo	Frutal
Acetato de isoamilo	Plátano
Butildecanoato	Whiskey
Guaiacol	Humo
Eugenol	Clavo
Furfural	Paja
Acetil furano	Bálsamo
5-metilfurano	Caramelo



Según la NOM-070-SCFI-2016* los contaminantes metálicos que logran ser detectados son el plomo y el arsénico, con alto nivel de toxicidad que presenta ante la ingesta humana^[5] ^[6]. La contaminación por metales pesados en el mezcal puede provenir de distintas fuentes, ya sea por el uso de agua contaminada, el crecimiento de la planta en suelo que se encuentra contaminado o por contaminación de los materiales utilizados desde su preparación.

Ha quedado en evidencia lo común que es el vertido de aguas residuales (industriales o municipales) en los causes hídricos, eso con un nulo tratamiento previo ^[7]. Como consecuencia de estas prácticas la calidad del agua disponible se ve disminuida, y esto a su vez, implica una disminución notable en la calidad del agua, ya sea contaminando la flora adyacente al cause hídrico o directamente a los seres vivos que consumen el agua. Los efectos nocivos que se pueden presentar en los seres humanos cuando se exceden los límites de exposición permisibles establecidos por la SEMARNAT y por la OMS (Tabla 2). Se hacen especial énfasis los siguientes cationes metálicos ya que son los que se estudiaron a lo largo de este trabajo.

Tabla 2. Concentración permisible de metales pesados en el agua.

Metal	Límite permisible [mg•L ⁻¹]		Efecto a la salud
	SEMARNAT	OMS	
Cadmio	0.200	0.003	Daños irreversibles desde bajas concentraciones: daño pulmonar, trastornos renales y hepáticos, daño óseo e hipertensión ^[8] ^[9]
Plomo	0.200	0.010	Mutaciones genéticas, anemia, daño cerebral, deficiencia mental, anorexia, daño al sistema renal y circulatorio ^[10] ^[11]
Cobre	4.000	2.000	Anemia, dermatitis alérgica, daño hepático, renal, irritación estomacal e intestinal ^[12] ^[13]

* Secretaría de Economía (4 de marzo de 2016) NORMA OFICIAL MEXICANA BEBIDAS ALCOHÓLICAS-MEZCAL-ESPECIFICACIONES.

https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/6437/seeco11_C/seeco11_C.html



La presencia de contaminantes metálicos en las fuentes hídricas se da en su forma iónica lo cual implica que la flora crezca, a su vez, contaminada. Esta es la fuente principal de la posible contaminación del mezcal, que las piñas utilizadas han tenido biodisponible los cationes metálicos. Esta clase de contaminante no puede ser removida durante los pasos requeridos en el procesamiento de mezcal, en cualquiera de sus variantes: mezcal, mezcal artesanal o mezcal ancestral (Tabla 3). A pesar de que cada una de estas variantes de mezcal se fabrica con materiales distintos, si comparten materia prima contaminada, toda la producción sufrirá de lo mismo.

Dentro del proceso general de la producción de mezcal se encuentra la cosecha de las piñas de agave por parte de los jimadores, en donde se retiran todas las hojas o pencas y se transportan, respetando su forma, a los hornos donde se llevará a cabo su cocción. La cocción se implementa con el fin de hidrolizar los azúcares presentes en el agave crudo, con ayuda del medio ácido presente en la misma planta. Como parte del proceso de hidrólisis se varía mucho la cantidad de calor proporcionado por el horno, por la cantidad de humedad, tamaño y forma final de las piñas al entrar a la cocción, estas variables influirán en el tiempo total de procesamiento. Al finalizar la cocción se dejan reposar hasta que se encuentran a temperatura ambiente y se procede a la molienda de todas las piñas cocidas, esto con el objetivo de extraer la mayor cantidad de jugo almacenado en el interior de estas. La molienda puede ser realizada en diversas formas y con diferentes molinos; ya sean los mecánicos que funcionan a partir de un motor mecánico o de aquellos que funcionan a partir de la fuerza de un animal. El proceso se lleva a cabo de manera cuidadosa, ya que si se presiona demasiado se corre el riesgo de aumentar la cantidad de metanol dentro del mezcal al final del proceso. Al tener todo el extracto de las piñas cocidas, se procede a la fermentación, donde las azúcares terminan su proceso de transformación en etanol. Dentro de las variedades de mezcal artesanal y ancestral se realiza la fermentación con parte del bagazo (residuos de la molienda de las piñas), este proceso es el punto crítico de la producción de mezcal, ya que se deben tener condiciones controladas de humedad y temperatura para que la fermentación proceda de manera adecuada y concluya de la forma esperada. La fermentación completa puede llevarse a cabo desde unos cuantos días, hasta varias semanas.



Al terminar el proceso de fermentación, se procede a la destilación del producto, por medio de alambiques de barro, cobre o de acero inoxidable (en la industria más especializada) en los cuales el proceso se lleva a cabo mediante hogueras alimentadas con leña o con el mismo bagazo restante de los procedimientos anteriores.

Tabla 3. Comparación entre los procesos de producción según el tipo de mezcal ^[14]

Proceso	Mezcal	Mezcal artesanal	Mezcal ancestral
Cocción	Hornos de pozo, mampostería o clave	Horno de pozo o elevados de mampostería	Hornos de pozo
Molienda	Tahoma, molino egipcio, tren de molinos	Mazo, tahoma, trapiche, desgarradora	Mazo, tahoma, molino egipcio
Fermentación	Tanques de acero inoxidable	Piletas de mampostería, recipientes de madera o barro	Agujeros de piedra, pileras de mampostería, recipientes de madera o barro
Destilación	Alambique, destilador continuo con columna de cobre o acero inoxidable	Fuego directo en alambiques de caldera de cobre u olla de barro y montera de barro, madera, cobre o acero inoxidable.	Fuego directo en olla de barro y montera de barro o madera.

Dentro de los materiales utilizados en la producción del mezcal artesanal se destacan el horno de mampostería, los recipientes de madera y los alambiques de barro o cobre, utilizados en la cocción, fermentación y destilación, respectivamente ya que dentro de estos materiales se logran encontrar contaminaciones de metales pesados que contaminan el producto final.

El mezcal ha tomado relevancia a nivel mundial por sus propiedades organolépticas tan peculiares, esto ha desatado una ola de gran producción en todo el país, esto según el Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal A.C. (COMERCAM) que, en su análisis estadístico de 2023, se menciona que en el 2022 la producción creció un 74.89% con respecto a lo producido en el 2021. Si bien este aumento no es constante

en los años anteriores, si se ha mostrado un crecimiento sostenido, por lo menos, desde el 2011 (Figura 2), en donde arriba del 75% de la producción total de mezcal es adjudicado al estado de Oaxaca, manteniendo el incremento de la producción, teniendo su punto más alto en 2015 con una contribución del 97.30% de la producción total nacional.

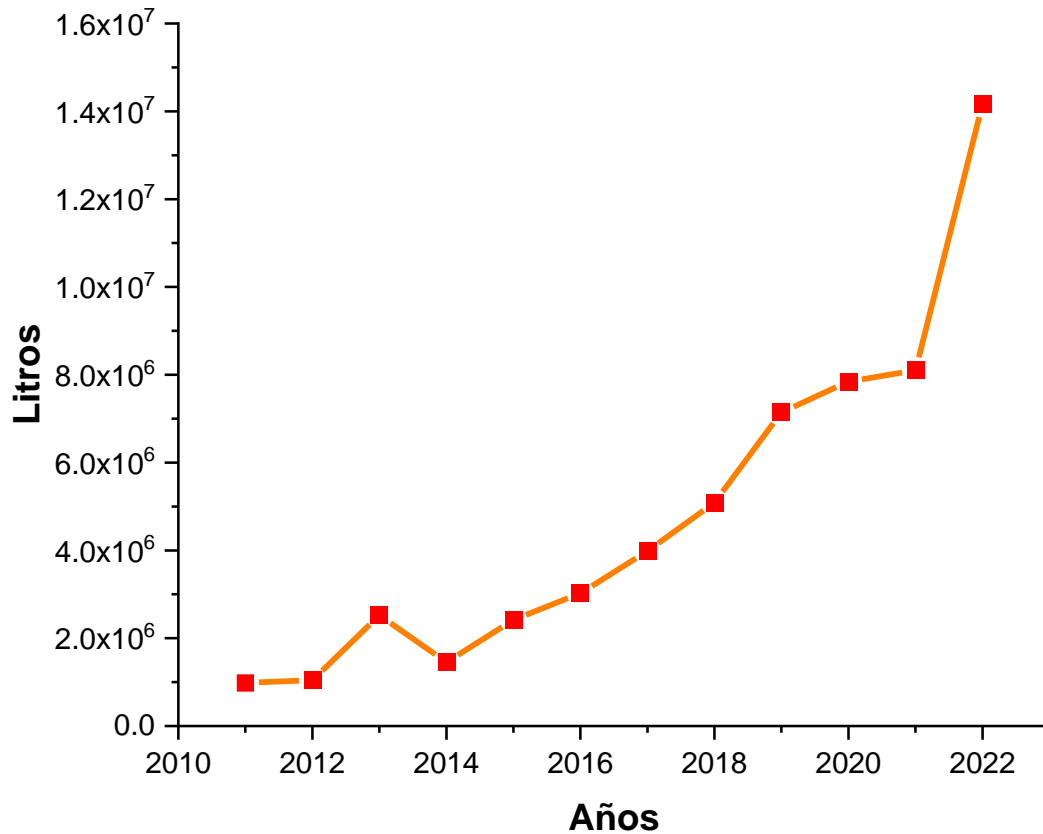


Figura 2. Producción de mezcal por año ^[15]



Análisis convencional de cationes metálicos

Los iones metálicos son especies que están presentes en muchos materiales utilizados en la industria alimentaria, por lo tanto, se debe monitorear su presencia y las consecuencias de su consumo, ya que no son inocuos estando en el interior del organismo humano. Por eso, las metodologías utilizadas para la determinación de los iones metálicos más comunes se hace mediante absorción atómica^[16] ^[17].

El costo económico que implica realizar el análisis mediante absorción atómica es muy alto; considerando los equipos, su mantenimiento, su operación, los reactivos y consumibles necesarios para su uso. Por esto se han contemplado las técnicas electroquímicas de redisolución ya que estas han mostrado ser más económicas y poseen una sensibilidad equivalente a la absorción atómica, abarcando un amplio abanico de valores de concentración de detección, desde cientos de partes por millón (ppm) y hasta partes por billón (ppb)^[18]. Tomando en cuenta que la preparación de las muestras para ser ingresadas a los equipos de absorción atómica están basadas en digestiones muy agresivas, lo cual aumenta la probabilidad de generar interferentes espectroscópicos que puedan modificar las lecturas del equipo. El proceso de digestión varía según la muestra, así como el tiempo de procesamiento, lo cual aumenta, de manera significativa el tiempo de análisis de una muestra^[19].

Si bien, los análisis mediante absorción atómica están destinados a la determinación de cada elemento por separado, se ha innovado en la cuantificación polimetálica para disminuir la cantidad de residuos generados^[20].

Las investigaciones relacionadas están enfocadas en llevar a cabo una química más amigable con el medio ambiente, ya que al realizar los experimentos de absorción atómica se obtienen múltiples residuos, como son los vapores de los disolventes utilizados para nebulizar la muestra, así como el CO y CO₂ resultantes de la combustión llevada a cabo al atomizar la muestra.

Fundamentos de electroquímica

La técnica propuesta para llevar a cabo la determinación efectiva de estos cationes metálicos es la voltamperometría por redisolución anódica (ASV por sus siglas en inglés) ya que ésta se basa en la pre-concentración del analito en la superficie del electrodo de trabajo. Dicha técnica es una combinación de dos técnicas electroquímicas; la cronoamperometría (aplicación de un pulso de potencial durante un tiempo definido) que va a concentrar el analito en la superficie del electrodo de trabajo, seguido de un tiempo de relajación que antecede una técnica voltamperométrica (lineal, normal de pulsos, diferencial de pulsos o de onda cuadrada) que va a redissolver dicho analito del electrodo a la disolución de trabajo^{[21] [22]}.

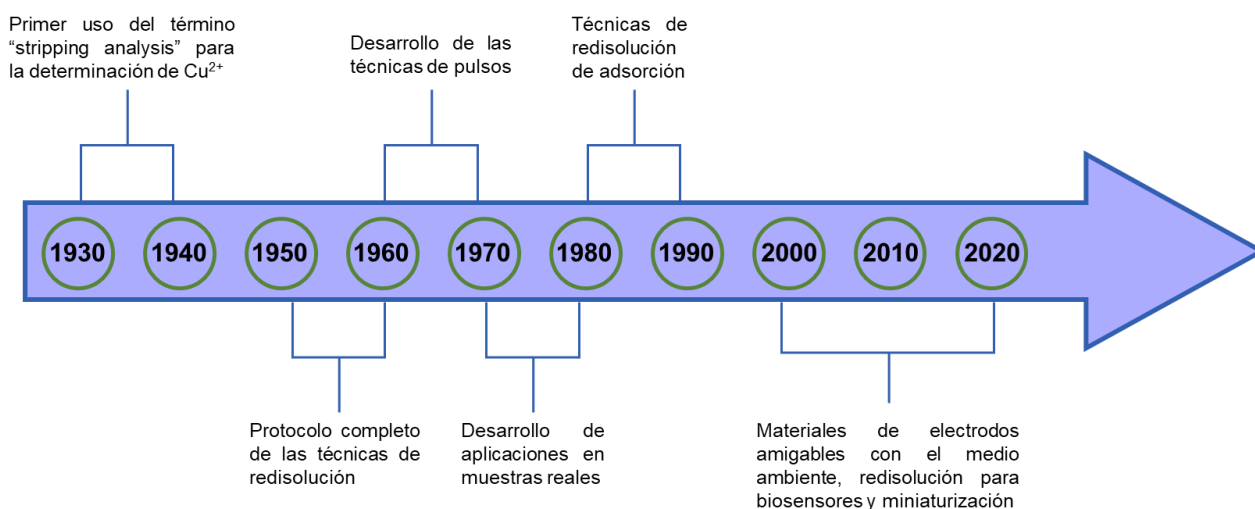


Figura 3. Evolución de las técnicas de redisolución a través del tiempo.

Los primeros registros de las técnicas de redisolución se dieron a inicios de la década de los 1930's, cuando el Profesor Zbinden logró determinar Cu^{2+} en una disolución cuando depositó el cobre en su forma reducida (Cu^0) en la superficie de un electrodo de platino^[23]. Al revertir la polaridad de los dos electrodos presentes, disolvió el cobre metálico y cuantificó la cantidad de corriente requerida para disolver el depósito. En las décadas posteriores se avanzó con el uso de las técnicas de redisolución; en su investigación, desarrollo y aplicación a muestras reales. El inconveniente en este periodo



de tiempo, está relacionado al uso del mercurio como electrodo de trabajo para el análisis electroquímico, por ello al inicio de los 2000 se comenzó a implementar la investigación en materiales novedosos que fueran amigables con el medio ambiente pero que no perdieran la capacidad de análisis presentada por el mercurio^[24] (Figura 3). En este contexto los nuevos materiales como las nanopartículas, capas delgadas (de bismuto o antimonio) o polímeros conductores tienen un rol importante en los nuevos desarrollos en el análisis electroquímico.

Cuando se realiza el análisis por voltamperometría de redisolución se utiliza una relación matemática en la cual la corriente del pico de redisolución es directamente proporcional al tiempo de depósito y a la concentración del analito:

$$i_p = K t_{dep} C \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde

i_p = Corriente de pico [A]

k = Constante arbitraria

t_{dep} = Tiempo de depósito [segundos]

C = Concentración [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]

La ecuación 1 tiene la ventaja que no es necesario utilizar los modelos matemáticos correspondientes a cada técnica voltamperométrica, atribuido a la linealidad de que presenta la proporcionalidad. No es necesario conocer datos que comúnmente deben ser conocidos, como el área del electrodo, el coeficiente de difusión, velocidad de barrido, entre otros. Esos datos característicos para cada analito se encuentran contenidos en la constante arbitraria, por ello la simplificación de la técnica la vuelve más útil con respecto a otras basadas en electroquímica.

El avance de los métodos analíticos enfocados en la cuantificación de cationes metálicos ha avanzado sustancialmente en las últimas tres décadas, pero durante la época actual se requiere de metodologías más sencillas, menor costo y tamaños de muestra más pequeños. Ante este panorama se presenta una oportunidad para las técnicas de redisolución, las cuales se pueden adecuar al analito, la matriz, el electrodo de trabajo

(electrodo sensor) etcétera, entre las que se destacan la voltamperometría de redisolución de adsorción, la catódica y la anódica (Figura 4).

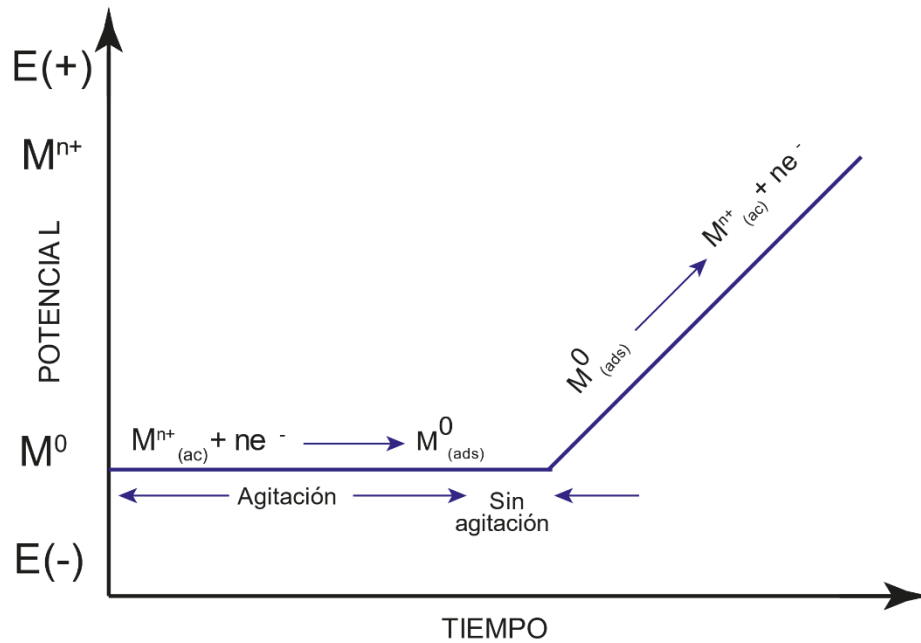


Figura 4. Esquema del programa de perturbación de la técnica de redisolución.

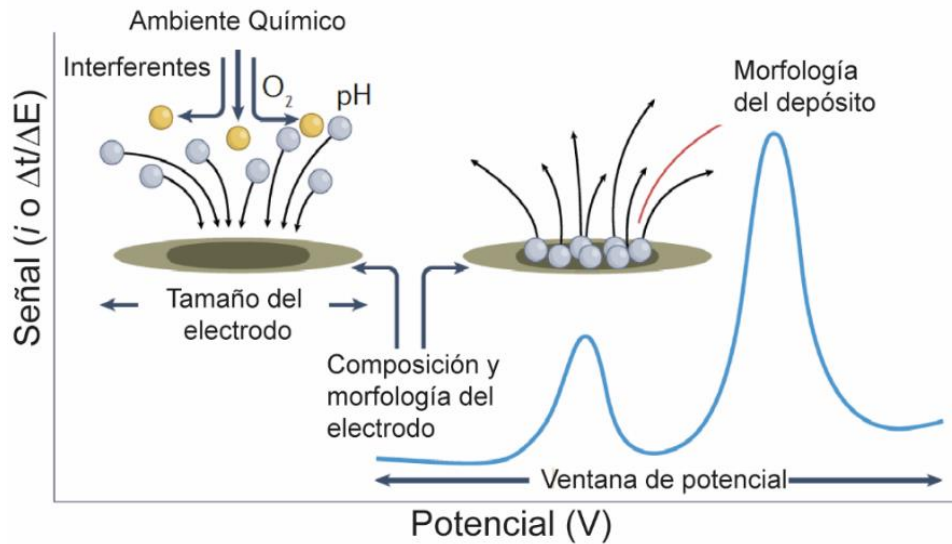


Figura 5. Variables que pueden afectar a la técnica de redisolución*

* Adaptado de Electrochemical Stripping Analysis (p. 4) por C. Ariño, C. Banks, A. Bobrowsky, R. Crapnell, A. Economou, A. Królicka, C. Pérez-Rafols, D. Soulis & J. Wang, 2022, *Nature Reviews*, 2 (62)



De acuerdo con la perturbación externa que se imponga será la respuesta que el sistema dará y con la cual se podrán determinar múltiples características de éste. Las técnicas mencionadas se clasifican basados en la perturbación que realizan ya sea; imposición de potencial o imposición de corriente, de ellas se derivan las técnicas de pulsos o de barrido, esto se explica mejor mediante el siguiente diagrama:

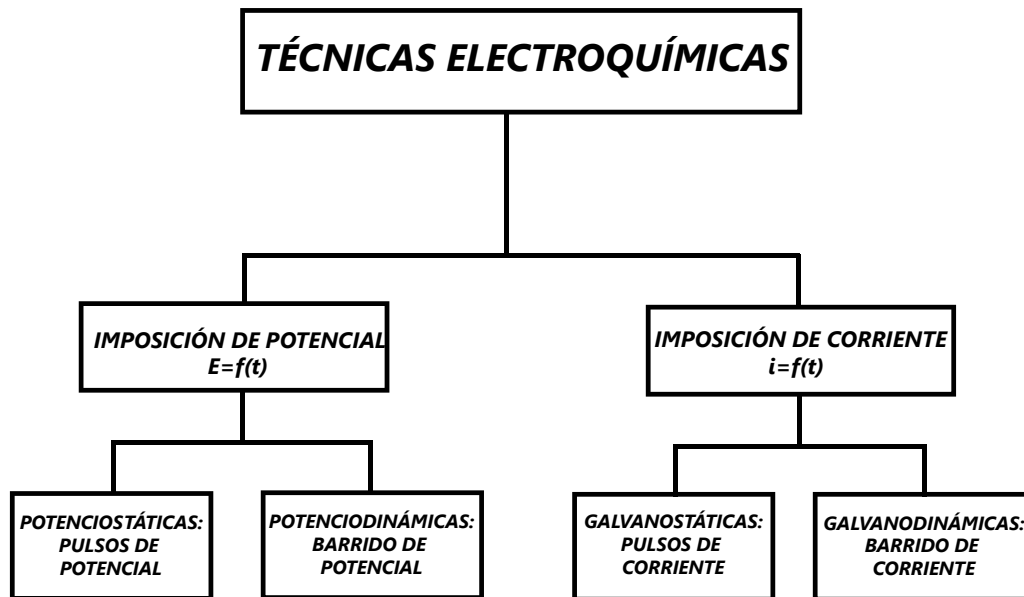


Figura 6. Clasificación de técnicas electroquímicas^[25]

Voltamperometría de redisolución anódica

La técnica de pre-concentración utilizada en las técnicas de redisolución está basada en la cronoamperometría, la cual es una técnica fundamental para el estudio de las superficies y con esto el estudio de los perfiles de concentración del analito desde el seno de la disolución hasta la interfase del electrodo^{[26] [27]}. La particularidad de las técnicas de redisolución está basada en el programa de perturbación, en el cual se aplica agitación durante el periodo de depósito del analito en el electrodo de trabajo. Se interrumpe la agitación al final del periodo de depósito y se procede al periodo de relajación, en el cual la disolución y el electrodo se estabilizan y dan paso a la técnica voltamperométrica de análisis, la cual (puede o no) estar controlada mediante difusión

pura, como ejemplo se encuentran la voltamperometría lineal (controlada por difusión pura) y la voltamperometría de disco rotatorio (controlada por difusión hidrodinámica).

El tipo de perturbación que presenta esta técnica consta (Figura 7), al inicio, de la imposición de un potencial fijo (E_1) en el cual no hay reacción electroquímica de la especie bajo análisis, posteriormente el potencial se lleva a un nuevo potencial fijo (E_2), en el cual ya se llevó a cabo la transferencia electrónica, este potencial se mantiene constante durante un determinado tiempo (τ) hasta que se regresa al potencial de partida (E_1). Por este tipo de perturbación es también conocida como cronoamperometría de doble pulso. La respuesta está determinada por una gráfica $i = f(t)$. Para este caso particular la corriente resultante contiene tres componentes: corriente capacitiva, faradaica y fenómenos de adsorción.

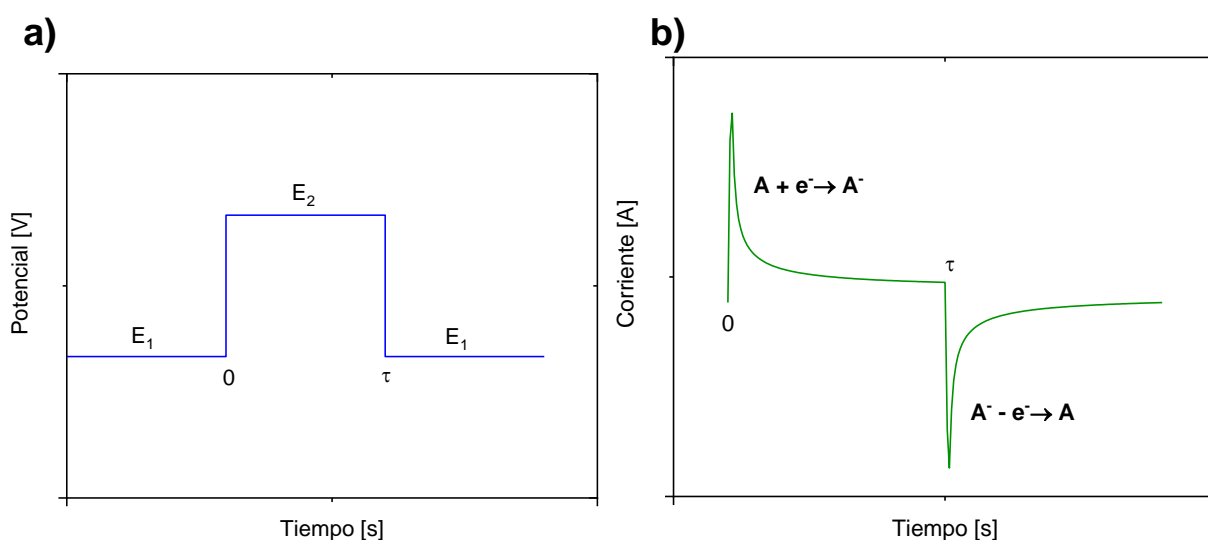


Figura 7. a) Programa de perturbación para cronoamperometría de doble pulso, τ = tiempo de pulso. b) Ejemplo de cronoamperograma de doble pulso para la especie A que realiza solo una transferencia electrónica.

Por otra parte, la voltamperometría de onda cuadrada (SWV por sus siglas en inglés) ha demostrado ser una de las técnicas potenciostáticas más poderosas, basado en su capacidad para reducir el aporte de la corriente capacitiva drásticamente y así dejar solamente a la corriente faradaica [28] [29] [30] [31], debido a que en esta técnica confluyen las mejores capacidades de otras técnicas, como lo es la supresión del fondo y alta



sensibilidad que proporciona la voltamperometría diferencial de pulsos (DPV por sus siglas en inglés), la capacidad diagnóstica de la voltamperometría normal de pulsos (NPV por sus siglas en inglés) y su capacidad para interrogar productos directamente de la voltamperometría de pulsos reversibles (RPV por sus siglas en inglés). La supresión de la señal de fondo y del aporte capacitivo se obtiene debido a que el electrodo de trabajo pasa por una serie de ciclos durante la medición, en los cuales no se lleva a cabo la renovación de la doble capa eléctrica, que es la responsable de la corriente capacitiva.

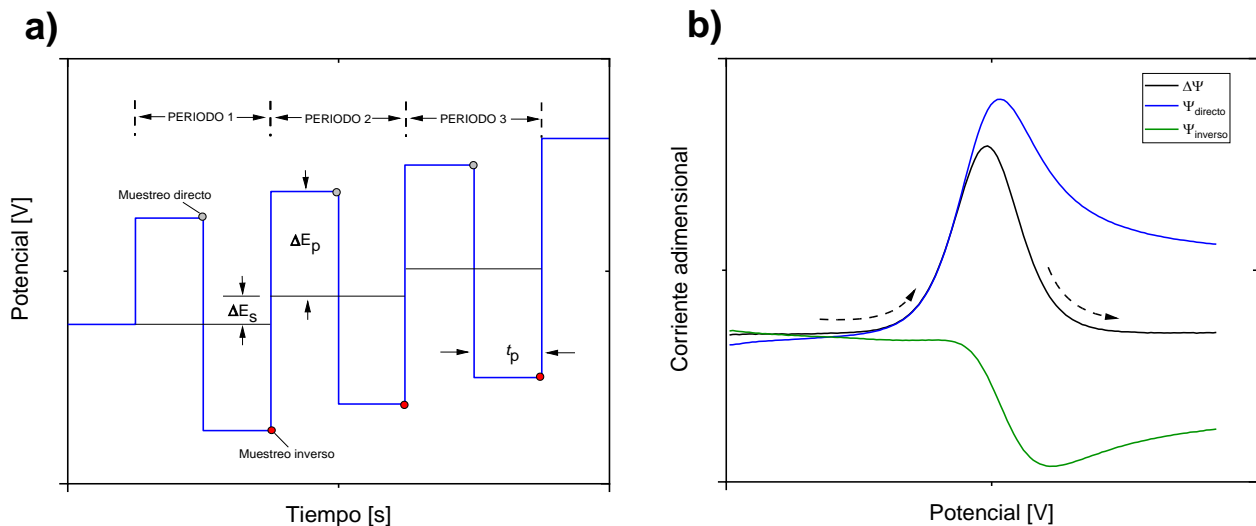


Figura 8. a) Programa de perturbación correspondiente a la VOC. b) Voltamperograma de onda cuadrada con ambas contribuciones, línea azul corriente directa, línea verde corriente inversa y línea negra diferencia de ambas corrientes.

Si bien la voltamperometría de onda cuadrada puede verse como un caso especial de la voltamperometría diferencial de pulsos, en el caso de la onda cuadrada se imponen pulsos simétricos bipolares superpuestos en una perturbación del tipo escalera o “staircase”. El muestreo de la corriente en la perturbación se toma en dos puntos de cada ciclo, al final de cada pulso; donde la corriente observada al final del primer pulso o pulso directo se le denomina corriente directa (no confundir con los circuitos de corriente directa y corriente alterna), mientras que la corriente observada en el pulso aplicado en dirección opuesta es llamada corriente inversa. La “delta” de la corriente o Δi es la diferencia entre la corriente directa y la inversa. Derivado de esto es que los



voltamperogramas de onda cuadrada son un conjunto de tres gráficos; corriente directa (i_d), corriente inversa (i_i) y diferencia de la corriente (Δi).

Al realizar el análisis matemático riguroso, se llega a la conclusión que es más adecuado analizar los pulsos por separado, en lugar de tomar los ciclos completos, por ello se establece la adimensionalidad de la corriente mediante la normalización con la corriente de Cottrell en función del tiempo de pulso (t_p), un factor derivado de la NPV (se utiliza debido a que SWV deriva directamente de la NPV). El valor de corriente adimensional resultante está definido como Ψ y este es aplicado para la corriente directa, la inversa y la diferencial, de ahí se derivan $\Psi_{directa}$, $\Psi_{inversa}$ y $\Delta\Psi$ respectivamente (Figura 8 b)^[32] ^[33].

Esta metodología se lleva a cabo para la determinación de concentraciones muy pequeñas, que rondan las partes por millón (ppm), en electrodos modificados de carbón vítreo con nanotubos de carbono, pero esta opción es sumamente costosa. Por sus características los electrodos de trabajo pueden ser reemplazados por platino, oro^[34], antimonio^[35] o bismuto^[36], esto por su alta estabilidad en disolución. Para poder adaptarse a la vanguardia analítica se ha optado por trabajar con polímeros conductores, estos se utilizan para modificar la superficie del electrodo de trabajo y así favorecer la pre-concentración y tener una mejor resolución de las señales atribuibles a cada analito, lo que traerá un análisis más robusto y confiable^[37].

Los electrodos más comúnmente utilizados para los experimentos de voltamperometría son; platino, carbón vítreo, oro y bismuto, dependiendo de la necesidad de análisis se ocupa cualquiera de éstos, ya sean modificados o no. La modificación actual más común se lleva a cabo con nanotubos de carbono, ya sea como tinta catalizadora, como una superficie aumentada del electrodo, entre otros, esta modificación ha sido utilizada para experimentos de redisolución^[38] ^[39].

El perfil de metales presentes se podría usar como un marcador de origen permitiendo dar una evidencia del origen de un mezcal, con lo que se podría tener una prueba de la autenticidad de este licor de origen mexicano. Los marcadores químicos se usan para determinar las variedades de uva en vino tinto^[40] ^[41]. De esta manera el perfil de metales podría ser usado para evitar la falsificación de mezcales y contribuir a validar la denominación de origen del mezcal.



Espectroscopia de impedancia electroquímica

La electroquímica “tradicional” está basada en circuitos DC (corriente directa) a causa de su sencillez y a que están presentes en la mayoría de los dispositivos electrónicos usados hoy en día. Por otro lado, los circuitos AC (corriente alterna) poseen características que les permiten obtener diferente información de un sistema electroquímico.

Contrastando un circuito DC y un circuito AC se obtienen grandes diferencias entre las que incluyen:

- Dirección y polaridad del potencial eléctrico
- Capacidad de interrupción de corriente
- La integración de otros componentes electrónicos

Es por estas diferencias que las técnicas electroquímicas basadas en corriente alterna son utilizadas en distintos campos de investigación, tales como la conversión y el almacenamiento de energía^[42], la corrosión^[43], sensores^[44] y biosensores^[45]. La electroquímica puede explicar muchos fenómenos (transporte de masa, adsorción y transferencias de carga), a pesar ser procesos que se llevan a cabo en diferente escala (macro y microscópicamente hablando) y cinéticas^[46]. En específico, la característica que se pretende analizar en este trabajo el comportamiento dieléctrico en la superficie de los electrodos utilizados, el carbón vítreo sin modificación y el modificado con poli(3,4-etilendioxitiofeno) (PEDOT), el cual se comporta como un electrodo poroso^[47].

Las medidas de impedancia son reducidas a una resistencia representada en el plano matemático de números imaginarios, si bien es una reducción simplista, es cierto que la ley de Ohm sigue rigiendo estos sistemas (Ecuación 2). En donde el “fasor” es un número complejo que representa el ángulo y la fase de una señal sinusoidal, en este caso el fasor del potencial eléctrico y el de la corriente se encuentran desfasados o en este caso el fasor de la corriente se encuentra retrasado con respecto al del potencial eléctrico.

$$\mathbf{Z}(\omega) = \frac{\tilde{V}(\omega)}{\tilde{I}(\omega)} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde

$Z(\omega) = \text{Impedancia en función de la frecuencia angular}$
 $\tilde{V}(\omega) = \text{Fasor del potencial eléctrico}$
 $\tilde{I}(\omega) = \text{Fasor de corriente}$

La impedancia en función de la frecuencia angular (ω), es un número complejo cuya parte real (Z') es la resistencia en función de la frecuencia y la parte imaginaria es la reactancia en función de la resistencia (Z''). Para entender el aporte de cada componente, se tiene que definirlos por separado, mientras que la resistencia es la oposición que ofrece un material ante la circulación de una corriente eléctrica, la reactancia es la oposición que ofrece un componente o un circuito ante la circulación de una corriente alterna. La reactancia depende directamente de la frecuencia de la corriente alterna aplicada, por otro lado, la resistencia no lo está^[48].

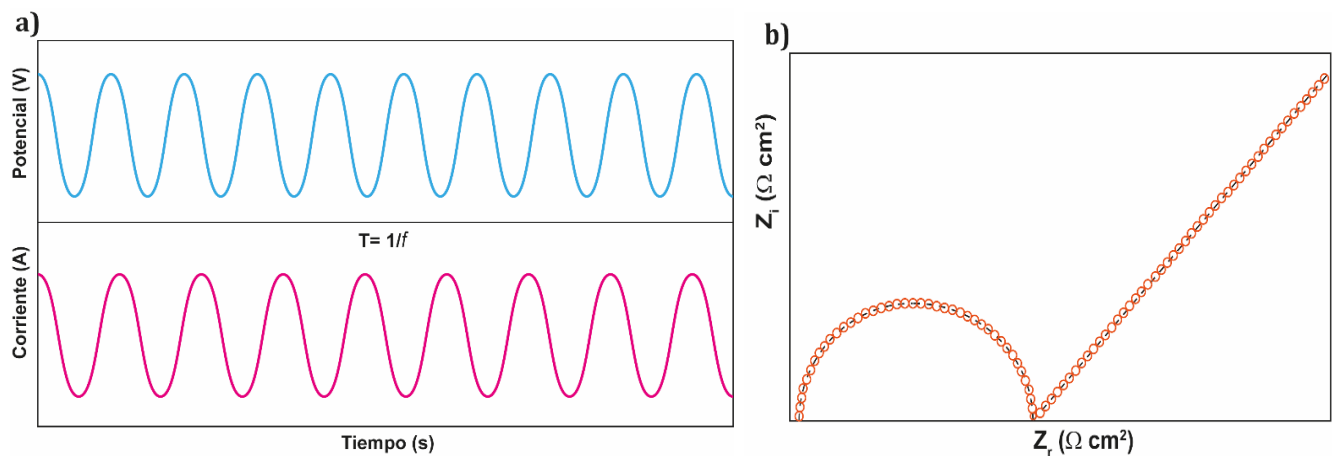


Figura 9. a) Programa de perturbación para la EIE en sus contribuciones de potencial y corriente alterna. b) Gráfico de Nyquist para un circuito clásico según un circuito de Randles.

Los resultados obtenidos son representados en un gráfico de impedancia real en función de la impedancia imaginaria ($Z' = f(Z'')$), al cual se le llama gráfico de Nyquist (Figura 9 b), a partir del cual se puede extraer información valiosa para el análisis del sistema en cuestión.

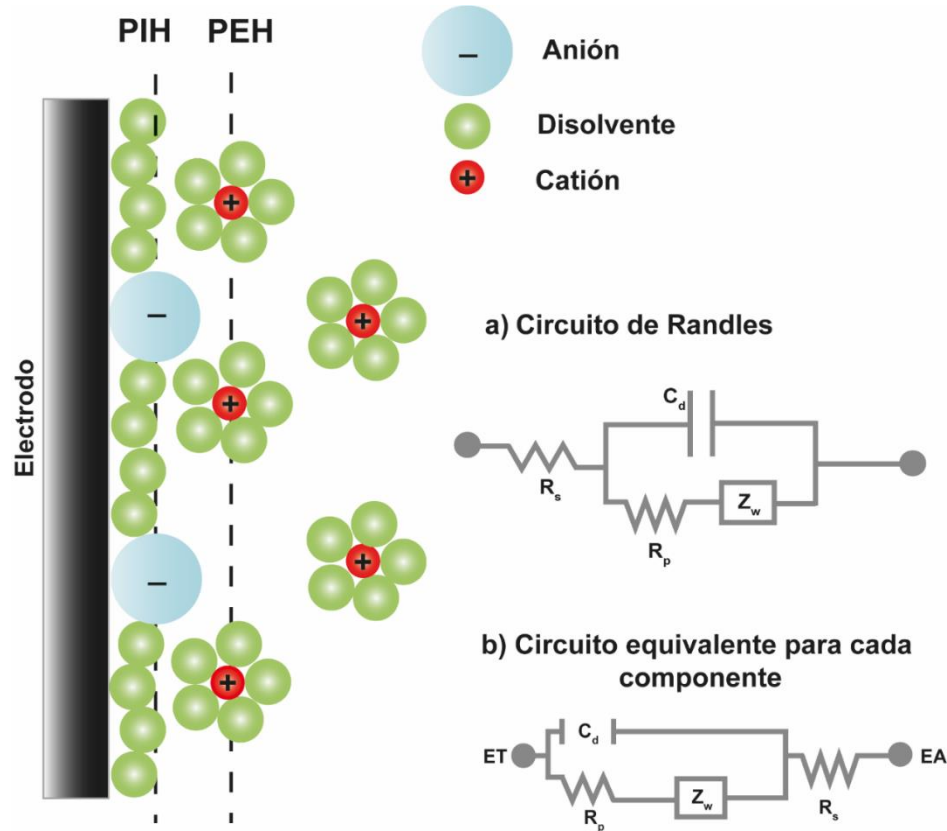


Figura 10. Modelo de doble capa eléctrica según Helmholtz donde los aniones son adsorbidos. Inserto a) Circuito de Randles descrito para una celda electroquímica. b) Circuito equivalente para el sistema de adsorción descrito. Abreviaciones: **PIH** = Plano Interno de Helmholtz, **PEH** = Plano Externo de Helmholtz, **C_d** = Capacitor de la doble capa, **ET** = Electrodo de trabajo, **EA** = Electrodo Auxiliar, **R_p** = Resistencia a la polarización, **R_s** = Resistencia a la solución, **Z_w** = Impedancia de Warburg*.

Los experimentos de espectroscopia de impedancia electroquímica son muy buenas herramientas para explicar los fenómenos en la interfase electrodo-electrolito (Figura 10), como parámetros relacionados al seno de la disolución^{[49][50]}. Históricamente los circuitos equivalentes fueron planteados meramente análogos, sin tomar en consideración las reacciones electroquímicas que se llevan a cabo en la interfase electrodo/electrolito, de ahí es que se deriva la diferencia entre los dos circuitos presentados en la Figura 10, mientras que el circuito de Randles describe un comportamiento ideal, los componentes están colocados de mayor a menor frecuencia, esto quiere decir que, en la parte de la izquierda se encuentran los componentes de alta

* Adaptado de *Electrochemical Impedance Spectroscopy* (p. 208), por C. Byong-Yong y P. Su-Moon, **2010**, Annual Review of Analytical Chemistry, (3). 207 – 229



frecuencia como la resistencia de la disolución (R_s) y del lado izquierdo aquellas que son de menores frecuencias como la impedancia de Warburg (Z_w). Por otra parte, el circuito que describe el sistema presentado está en una configuración distinta debido al aporte del fenómeno adsorptivo, esto causa que los componentes tengan un comportamiento diferente a lo presentado en un circuito de Randles en donde el sistema establecido es meramente ideal. La importancia de la impedancia de los electrodos de trabajo está íntimamente relacionado a la transferencia de carga y la polarización de dicha interfase durante los procesos electroquímicos.

Validación de métodos analíticos

Basados en lo establecido por la Organización Internacional de Estandarización (ISO por sus siglas en inglés) la validación analítica es “la comparación de un estudio entre métodos, generalmente llevado a cabo por un laboratorio”^[51]. Esto nos indica la forma más básica en la cual debe llevarse a cabo una validación de esta clase.

Estos estudios se aplican cuando, en caso de tener un problema analítico específico, se espera aplicar un nuevo método y se debe verificar los parámetros de desempeño de dicho método, aunque no está limitado a esta circunstancia. Durante todo el desarrollo de la validación analítica se tiene que trabajar con material y equipamiento que cuente con las especificaciones y certificados de calibración pertinentes, con el objetivo de que el método a evaluar sea completamente válido.

Basados en lo establecido por la Eurachem; organización europea dedicada al establecimiento de la trazabilidad química a nivel internacional y promoción de las buenas prácticas, se deben evaluar los siguientes parámetros para realizar una validación de método:

Identificación del analito

Los métodos analíticos están basados en la medición de una señal o una característica establecida por el analito de interés que puede ser aislado o no. En caso de que no se encuentre aislada se debe realizar la confirmación de que la señal otorgada por el equipo/método es la del analito. Esta confirmación de la señal indicará que el tratamiento



de la muestra y/o el método es selectivo para dicho analito, al igual que la nula interferencia de otras especies presentes en la matriz bajo análisis.

Selectividad

Este parámetro está definido como la medida en que el método puede ser usado para determinar analitos particulares en mezclas o en matrices sin interferentes de otros componentes de comportamiento similar.

La selectividad suele ser investigada mediante su capacidad de medir el analito de interés en muestras a las cuales se les ha introducido deliberadamente especies que (se creen) pueden actuar como interferentes.

Límite de detección y límite de cuantificación

El límite de detección está definido como la concentración neta mínima detectable. Este parámetro puede ser fácilmente confundido con el límite de detección del equipo, ya que este se basa en el valor mínimo que puede detectar el equipo mediante la señal determinada, que estaría relacionada a su sensibilidad. El límite de cuantificación es la cantidad mínima que puede ser medida con aceptable confiabilidad.

Intervalo de trabajo

Es el intervalo en donde el método provee resultados con una incertidumbre aceptable. El límite inferior del rango del trabajo es el límite de detección, el límite superior es establecido como la concentración en donde se encuentran anomalías significativas en la respuesta analítica.

Sensibilidad analítica

Es el cambio de la respuesta del instrumento que corresponde con el cambio de la propiedad medida del analito. El uso de la palabra “analítica” es utilizado para evitar confusiones con la sensibilidad diagnóstica, la cual es utilizada en laboratorios clínicos.

Recuperación

Dado que el analito puede estar presente en diferentes formas y no todas estas son de interés el método puede ser diseñado para el análisis específico. De este modo se debe evaluar la eficiencia del método para lograr determinar que el método puede analizar la totalidad del analito presente.



En el presente trabajo se desarrolla la metodología a seguir para lograr llevar a cabo este análisis en mezcal, mediante la modificación de la superficie del electrodo de trabajo con polímero conductor.

Polímeros conductores

Según la IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, por sus siglas en inglés) un polímero conductor es un polímero orgánico que presenta comportamiento de conductividad eléctrica. Los polímeros conductores o π conjugados comenzaron su investigación en la Universidad de Pensilvania en 1977^[52], cuando se publicó la conducción eléctrica del acetileno dopado. Han sido de un interés tan especial que se ha dedicado un premio Nobel en el año 2000, otorgado a Heeger, MacDiarmid y Shirakawa, debido a la conducción de los polímeros. En ese periodo de 23 años se realizaron múltiples investigaciones en la industria y en la academia, lo cual desencadenó en el descubrimiento del PEDOT en 1988 por parte de Bayer® en Alemania, caracterizado por su alto nivel de conductividad, facilidad de procesamiento y su estabilidad^[53]. Dentro del campo de estudio de los polímeros conductores se establecieron múltiples formas de polimerización, y la propuesta del mecanismo correspondiente. El comportamiento conductor de los materiales está basado en su conductividad eléctrica, el cual puede clasificarlos a su vez como aislantes, semiconductores o conductores (Figura 11). Son muy conocidos los aislantes eléctricos, ya que muchos polímeros cumplen esta definición, también materiales como el diamante, el papel, la madera, entre otros, su valor de conductividad eléctrica se encuentra entre 10^{-9} y 10^{-20} S/cm, siendo el cuarzo el material con menor conductividad. Los materiales semiconductores, se encuentran en la frontera entre los conductores y los aislantes, su valor de conductividad se encuentra entre 10^{-8} y 10^0 S/cm, entre estos materiales se encuentran el cadmio, el boro, el aluminio, entre otros. Los materiales que son completamente conductores son los metálicos, que se sabe tienen una baja resistencia a la corriente eléctrica, esto causa que su conductividad sea alta, entre 10^1 y 10^6 S/cm. Entre estos materiales se encuentran la mayoría de los elementos metálicos; cobre, hierro, bismuto, etc.

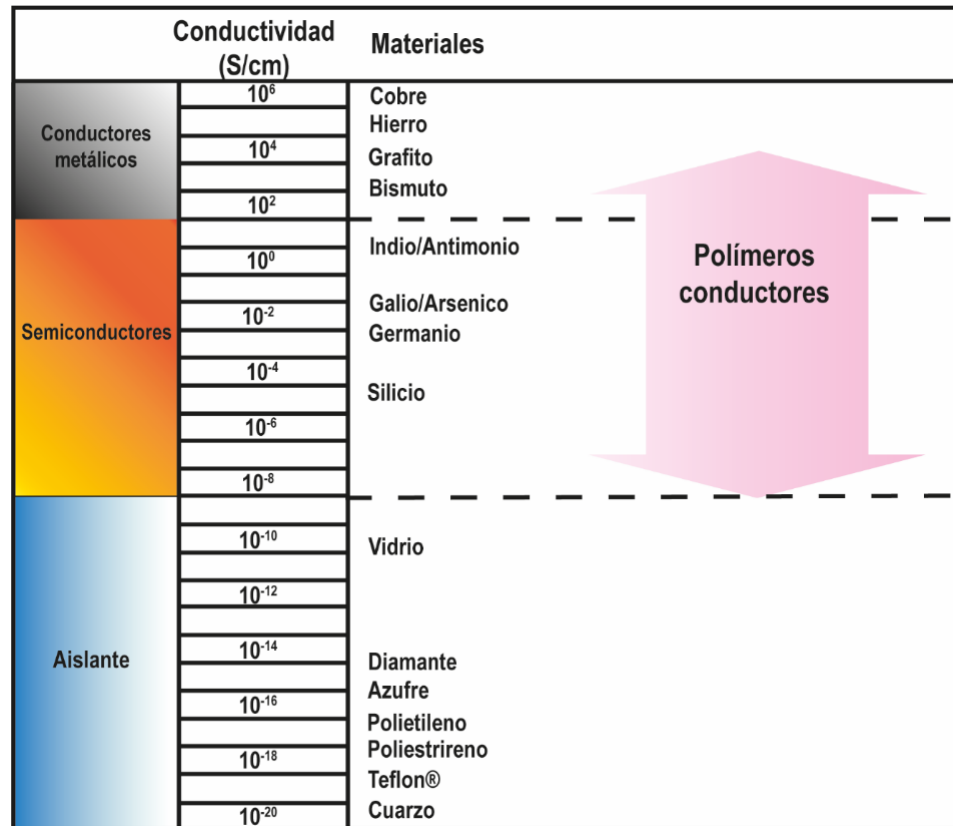


Figura 11. Conductividad eléctrica de diferentes materiales[‡]

Los polímeros conductores tienen un lugar especial en la escala, ya que pueden comportarse como semiconductores y como conductores, debido a esto las posibles aplicaciones son múltiples.

El fenómeno de la conducción eléctrica en los polímeros conductores se explica a partir de, como una de sus nomenclaturas lo indica, la conjugación de los electrones π que presenta la molécula^[54]. Estando presentes en los dobles enlaces y proporcionando la capacidad de la conjugación o de formar estructuras resonantes, las cuales son capaces de permitir el paso de electrones a través de la estructura del polímero.

Esta propiedad da lugar a su uso como modificador de electrodos para el análisis electroquímico y su aprovechamiento para los métodos electroanalíticos. La modificación de electrodos se realiza para aumentar propiedades como la selectividad, la especificidad, la sensibilidad entre otros^{[55][56]}, para muchos tipos de analitos:

[‡] Adaptado de *PEDOT: Principles and Applications of Intrinsically Conductive Polymer* (p. 3), por A. Elschener, S. Kirchmeyer, W. Lovenich, U. Merker y K. Reuter, 2011, CRC Press



contaminantes orgánicos, inorgánicos, biomoléculas o macromoléculas. El mecanismo mediante el cual se realiza el sensado del analito se logra mediante el seguimiento de alguna propiedad electroquímica como: potencial, corriente, conductividad/resistencia, impedancia o número de electrones intercambiados^[57].

A partir de este modelo de seguimiento se establecen los compuestos que pueden ser sensados: analitos o subproductos que sean susceptibles de una reacción redox^[58]. En el presente trabajo se explora el sensado de algunos cationes metálicos, los cuales son modelos de lo que se busca en los compuestos analizados por electroquímica, debido a la claridad de las señales que son capaces de generar.



JUSTIFICACIÓN

La presencia de cationes metálicos, como por ejemplo Al^{3+} , Cd^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , $\text{Fe}^{2+/3+}$, Pb^{2+} , Mg^{2+} , $\text{Mn}^{3+/5+/7+}$, Ni^{2+} , K^+ , Na^+ y Zn^{2+} en bebidas alcohólicas (banacora, mezcal, tequila, raicilla, sotol entre otros) es común y puede tener efectos nocivos en el organismo humano. Estos cationes metálicos logran llegar a las bebidas desde múltiples vías, por ejemplo, los equipos utilizados durante el proceso, el embotellado, el almacenamiento, el añejamiento o inclusive la adulteración. En uno de estos procesos se caracteriza la presencia de cobre por parte del alambique en el cual se realiza la destilación de la bebida alcohólica. En la NOM-070-SCFI-2016^[59] se menciona la cantidad máxima de metales como el plomo o el arsénico que puede ser detectado como 0.5 mg/L o de cobre de 2 mg/L.

La cuantificación de esta clase de contaminantes metálicos se realiza mediante técnicas espectroscópicas, como la espectroscopia de absorción atómica de flama y de horno de grafito, en donde se puede realizar la detección de metales alcalinos, alcalinotérreos y algunos metales de transición a nivel de traza y de ultra traza. El obstáculo que presentan estas técnicas es que se requiere de equipos sofisticados, reactivos costosos y tiempos de análisis prolongados. A causa de esto el desarrollo de nuevas metodologías analíticas se vuelve fundamental para minimizar los costos de operación y la optimización del tiempo de análisis requerido.



HIPÓTESIS

El electrodo modificado con el polímero conductor (PEDOT) aumentará el área activa del electrodo de trabajo y contribuirá a un incremento del desempeño analítico con un análisis electroquímico por redisolución más confiable y con mejor límite de detección de los iones metálicos, Cu^{2+} , Cd^{2+} y Pb^{2+} en muestras de mezcal artesanal.

OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERALES

- Determinar la eficacia de los electrodos modificados en el análisis de Cd^{2+} , Pb^{2+} y Cu^{2+} en comparación con electrodos sin modificación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Optimizar las condiciones necesarias para la electropolimerización de EDOT y activación de la superficie polimerizada.
- Determinar los parámetros necesarios para llevar a cabo el análisis de los iones metálicos en la matriz alcohólica empleando un electrodo de carbón vítreo y un electrodo de carbón vítreo modificado con PEDOT.
- Determinar los parámetros analíticos derivados de una validación metodológica en ambos electrodos.
- Determinar la concentración de dichos iones metálicos en muestras comerciales de mezcal artesanal comparando los electrodos empleados y la metodología establecida por la NOM.



METODOLOGÍA

Electrosíntesis del polímero conductor

En la celda de electropolimerización estuvo rellena de una disolución de LiClO_4 0.1 M que será utilizado como electrolito soporte, acetonitrilo anhidro y el monómero que será utilizado (5 mM)^[60]. El acetonitrilo fue extraído con ayuda de un sistema de cánulas y N_2 de alta pureza, para evitar el ingreso de atmósfera que pueda contener moléculas de agua, el almacenamiento se realizó en matraces que contaban con malla molecular de 4 Å para mantener el disolvente en condiciones anhidras. El sistema utilizado es de tres electrodos: un electrodo de carbón-vítreo (electrodo de trabajo), un electrodo de Ag/AgNO_3 (electrodo de referencia) y un alambre de tungsteno de una pureza de 99.95% (electrodo auxiliar). El electrodo de trabajo debe ser previamente limpiado a profundidad para garantizar la polimerización efectiva en la superficie del electrodo y minimizar las contaminaciones. Los experimentos electroquímicos de polimerización se realizaron bajo una atmósfera inerte de N_2 . El monómero que fue empleado es el etilen-3,4-dioxitiofeno (Figura 12).

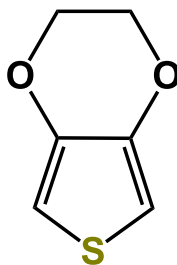


Figura 12. Estructura del etilen-3,4-dioxitiofeno (EDOT).

El proceso de electropolimerización se llevó a cabo mediante voltamperometría cíclica, método ampliamente reportado^[61] ^[62], en un potencióstato/galvanostato BAS 100B acoplado a una computadora con el software BAS 100W. La ventana de potencial utilizada fue de -1.0 hasta 1.65 V vs Ag/Ag^+ durante 6 ciclos a una velocidad de barrido de 25 mV/s. El barrido de potencial inició desde el potencial de circuito abierto (PCA) y los potenciales de inversión (E_λ) fueron 1.65 V vs Ag/Ag^+ para el barrido anódico y -1.0 V



vs Ag/Ag^+ para el barrido catódico. La disolución para realizar la polimerización fue de EDOT 5 mM con LiClO_4 0.1 M como electrolito soporte en acetonitrilo anhidro y manteniendo una atmósfera inerte de nitrógeno constantemente a una temperatura de 25 °C por medio de un recirculador de temperatura.

Caracterización electroquímica y superficial del electrodo modificado

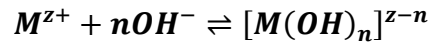
Se realizaron experimentos de voltamperometría cíclica en el medio de trabajo propuesto; mezcla de etanol – agua en una proporción 1:1 con perclorato de litio a una concentración de 0.1 mol/L como electrolito soporte. El objetivo es determinar el comportamiento del electrodo modificado en la ventana de potencial en la cual se encuentran presentes las señales correspondientes a los analitos bajo estudio. Dentro de los estudios electroquímicos se realizó la determinación de los parámetros eléctricos asociados al electrodo modificado, mediante espectroscopia de impedancia electroquímica, con su respectivo ajuste computacional y comparación con el electrodo sin modificación (carbón-vítreo). Los experimentos se llevaron a cabo con el potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT302N con un electrodo auxiliar de tungsteno de 99.95% de pureza, un electrodo de referencia de Ag/AgCl y el electrodo de trabajo se varió entre el electrodo modificado con PEDOT y aquel sin modificación. Los experimentos se llevaron a cabo desde 100 kHz a 0.1 Hz aplicando un potencial de corriente directa asociado al potencial de circuito abierto para cada electrodo y una amplitud de pulso de 10 mV. La caracterización superficial se llevó a cabo mediante experimentos de Microscopia Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FE-SEM por sus siglas en inglés) con diferentes magnificaciones para observar la calidad de la superficie analizada con mayor detalle.



Condiciones experimentales para la cuantificación de Pb^{2+} , Cd^{2+} y

Cu^{2+}

Se realizaron los diagramas logarítmicos de zonas de predominio de especies para cada uno de los iones metálicos bajo estudio, en función del pH, dando seguimiento a la complejación de los iones metálicos con hidróxidos [63] [64] [65], como se muestra en la reacción siguiente:



A partir de dichos diagramas se decidió realizar el análisis en $pH = 5$, ya que en dicho pH se mantienen “libres” todos los iones metálicos seleccionados para este estudio en la matriz de trabajo. Los diagramas se trazaron a concentración del analito de 0.1 mM, debido que esta concentración está aproximada al límite de 10 ppm para cada analito bajo estudio.

El procedimiento mediante el cual se realizaron los diagramas está explicado en el anexo A.

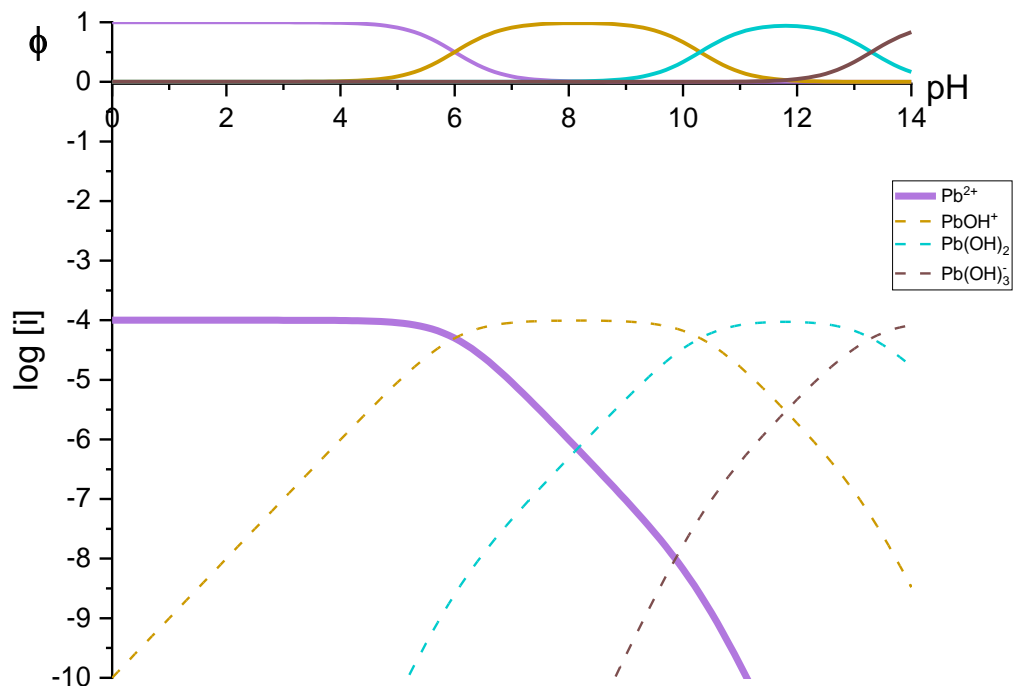


Figura 13. Diagrama logarítmico acoplado al diagrama de fracción molar del proceso de complejación de $[Pb^{2+}] = 0.1 \text{ mM}$ con OH^{-} .

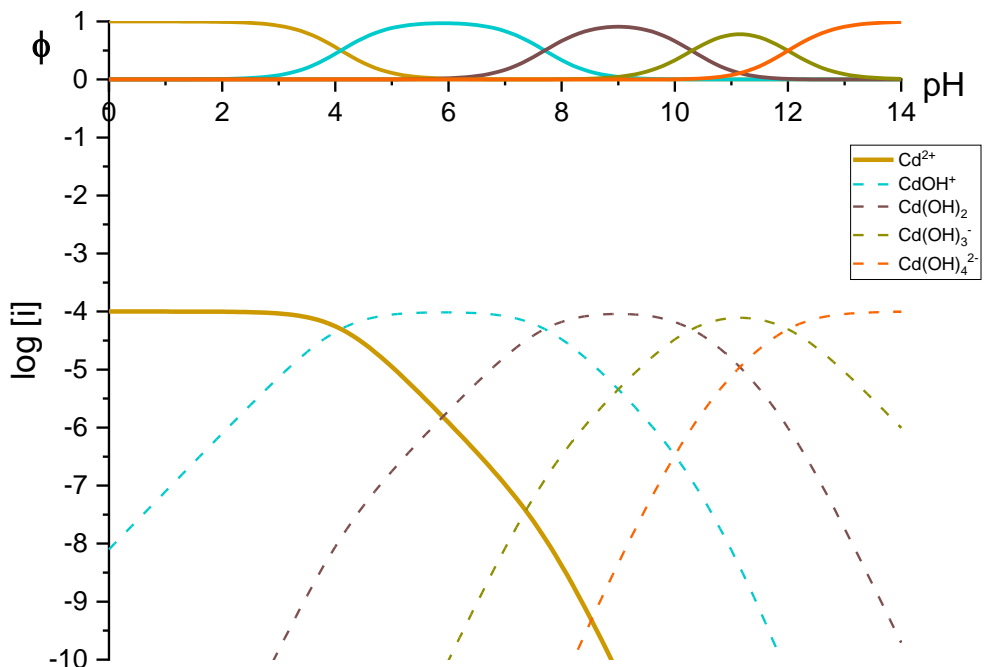


Figura 14. Diagrama logarítmico acoplado al diagrama de fracción molar del proceso de complejación de $[\text{Cd}^{2+}] = 0.1 \text{ mM}$ con OH^- .

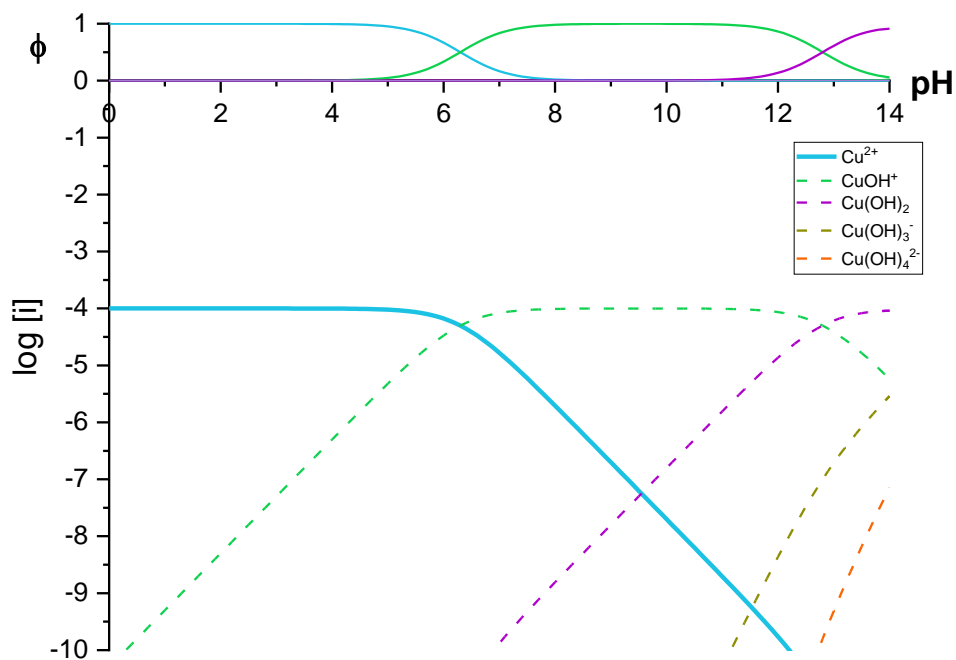


Figura 15. Diagrama logarítmico acoplado al diagrama de fracción molar del proceso de complejación de $[\text{Cu}^{2+}] = 0.1 \text{ mM}$ con OH^- .



A partir de los diagramas correspondientes para Pb^{2+} (Figura 13) y para Cu^{2+} (Figura 15) se observa que en $\text{pH} = 5$ se cuenta con los cationes en su estado “libre” para poder realizar el análisis sin interferentes insolubles. Por otra parte, en el diagrama correspondiente al Cd^{2+} (Figura 14) se observa que en $\text{pH} = 5$ ya se encuentra formado el primer complejo hidróxido y se comienza con la formación del segundo complejo hidróxido, el cual es una especie insoluble. El comportamiento del Cd^{2+} es indicativo de la acidez del catión en el medio acuoso, para confirmar la hipótesis en donde todos los cationes metálicos se encuentran en disolución en el medio de trabajo al pH propuesto, se realizaron las consideraciones pertinentes para un diagrama corregido.

Se tomó en cuenta la solubilidad condicional (S') de cada uno de los analitos en función de pH , por parte de sus complejos hidróxido insolubles y se construyó un nuevo diagrama logarítmico $\log[i] = f(\text{pH})$ únicamente para observar el comportamiento de los cationes metálicos en función del pH (Figura 16).

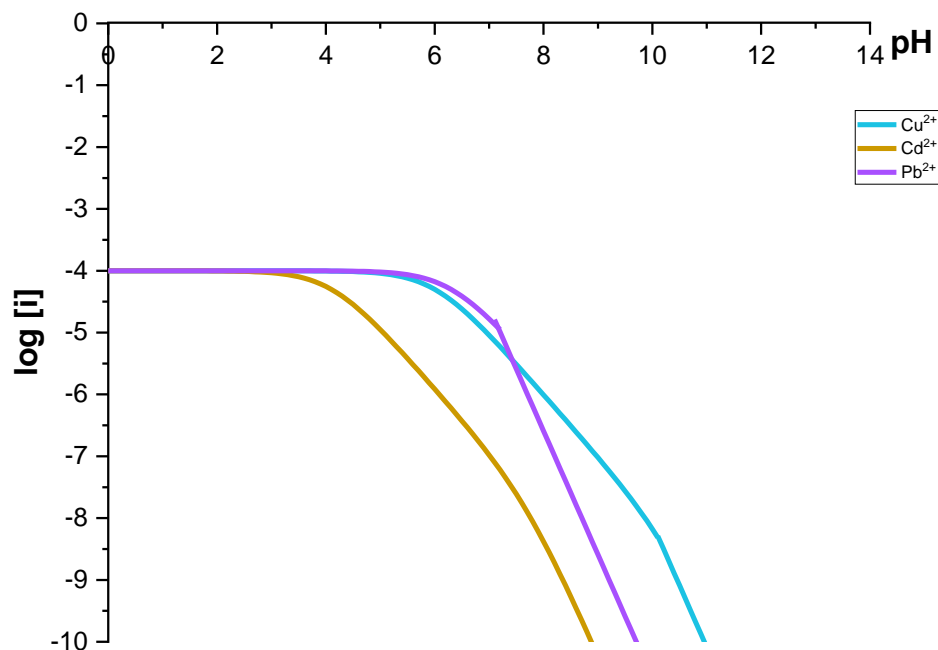


Figura 16. Diagrama logarítmico corregido por solubilidad condicional del proceso de complejación de $[\text{Cu}^{2+}]$, $[\text{Cd}^{2+}]$ y $[\text{Pb}^{2+}] = 0.1 \text{ mM}$ con OH^-

A partir del diagrama presentado en la Figura 16, se observa que a las concentraciones de trabajo a $\text{pH} = 5$ se mantienen el Cu^{2+} y el Pb^{2+} en disolución, por otra parte, para el



Cd^{2+} comienza a predominar su especiación como CdOH^+ . Este fenómeno puede presentar inconveniencias en análisis “convencionales” debido a que la especie puede presentar interferencias en la señal producida por el analito. En el caso del análisis electroquímico, se espera una nula contribución del OH^- debido a que el proceso de análisis se lleva a cabo mediante transferencias electrónicas centradas en el catión metálico.

A pesar de contar con un medio mixto (una mezcla de disolventes), solo se ha reportado^[66] que Cu^{2+} forma un complejo con etanol, que forma sales de coordinación de fórmula $[\text{Cu}(\text{EtOH})_6(\text{ClO}_4)_2]$. Como se puede observar en la fórmula, cuenta con la presencia del anión perclorato, el cual fue utilizado como electrolito soporte durante el análisis. Este compuesto de coordinación no cuenta con constantes de complejación que hicieran posible tomarlo en cuenta para un análisis teórico más exhaustivo. Las condiciones de amortiguamiento de pH establecidas en este trabajo se encuentran referenciadas en agua, debido a las propiedades del etanol y su comportamiento con los analitos bajo estudio.

Validación de un método electroquímico para cuantificar Pb^{2+} , Cd^{2+} y Cu^{2+}

Posterior a la determinación de parámetros electroquímicos óptimos se establecieron los parámetros analíticos necesarios para realizar la validación del método analítico relacionado con los electrodos modificados, entre estos parámetros se encuentran los siguientes^[67]:

a) Reproducibilidad

Se determinó a partir de una concentración estándar para cada catión metálico realizando, al menos, 10 repeticiones del experimento. Todo bajo las mismas condiciones para las diferentes soluciones muestra. A partir de estos datos se determina la desviación estándar para cada serie de experimentos.

b) Límite de detección

Se construyó una curva de calibración para cada uno de los metales y a partir de la pendiente de cada una y de la desviación estándar de los datos utilizados.



c) Límite de cuantificación

Se determina a partir del límite de detección, mediante la literatura reportada con respecto a los datos del límite de detección.

d) Sensibilidad

A partir de la pendiente obtenida de la regresión lineal de la curva de calibración realizada en la determinación del límite de detección.

e) Linealidad

Se determinó de, al menos, 5 diferentes concentraciones estándar de cada ión metálico, realizando (por lo menos) 3 repeticiones de cada experimento. A partir de estos datos se realizó la gráfica de la respuesta en función de la concentración del analito. Se aumentó la concentración del analito para observar el comportamiento lineal completo.

EQUIPO, MATERIALES Y REACTIVOS

Equipo

Se realizaron los experimentos con un potenciostato BAS, modelo 100B, conectada a una computadora que tiene el software BAS 100W. Los electrodos en los que se realizó el depósito del PEDOT fueron de la marca CH Instruments de 0.5 cm de diámetro, los cuales fueron utilizados como electrodos de trabajo, el electrodo de referencia fue de plata cloruro de plata (Ag/AgCl en KCl 3M) de la marca Metrohm y como electrodo auxiliar, se empleó un alambre de tungsteno de 10 cm de longitud (99.95%), esto en una celda enchaquetada de tipo corazón de 10 mL. Los reactivos necesarios para preparar las disoluciones fueron pesados en una balanza analítica OHAUS modelo EP214C. Los experimentos fueron realizados a temperatura controlada mediante un baño recirculador de temperatura. La caracterización eléctrica (espectroscopia de impedancia electroquímica) fue realizada en un potenciostato/galvanostato Metrohm Autolab PGSTAT302N con el software NOVA 2.1.



Materiales

Se prepararon las disoluciones en matraces volumétricos (clase A) de 25, 50 y 100 mL a los cuales se les realizó la verificación de calibración (la metodología se encuentra explicada en el Anexo 2). Se almacenaron las disoluciones en matraces Erlenmeyer de 25 mL y se realizaron las adiciones de las alícuotas mediante pipetas volumétricas (clase A) de 5 y 10 mL y micropipetas de volumen variable de la marca Gibson.

Reactivos y soluciones

Nitrato de plomo (99.995% Aldrich), sulfato de cobre pentahidratado (99.95% Aldrich), sulfato de cadmio (99.995% Aldrich), acetato de sodio (reactivo ACS, >99%), ácido acético (reactivo ACS 99.7%), etanol absoluto (Tecsiquim), agua desionizada MiliQ (8M Ω).

Preparación de disoluciones

Solución buffer de acetatos de pH=5

Se pesaron 1.025 g de acetato de sodio, se tomó una alícuota de 0.37 mL para llevarlos al enrase en un matraz de 250 mL.

Solución de medio hidroalcohólico.

A un matraz volumétrico de 250 mL se agregaron 0.260 g de perclorato de litio, se agregaron 125 mL del buffer de acetatos y 125 mL de etanol absoluto hasta el enrase.

Solución estándar de cadmio 50 ppm.

A un matraz volumétrico de 50 mL se le agregaron 4.63 mg de sulfato de cadmio y se disolvió con solución de medio hidroalcohólico. Se llevó al enrase con esta misma disolución.

Solución estándar de plomo 50 ppm.

A un matraz volumétrico de 50 mL se le agregaron 3.96 mg de nitrato de plomo y se disolvió con solución de medio hidroalcohólico. Se llevó al enrase con esta misma disolución.

Solución estándar de cobre 50 ppm

A un matraz volumétrico de 50 mL se le agregaron 50 ppm se le agregaron 9.82 mg de sulfato de cobre pentahidratado y se disolvió con solución de medio hidroalcohólico. Se llevó al enrase con esta misma disolución.

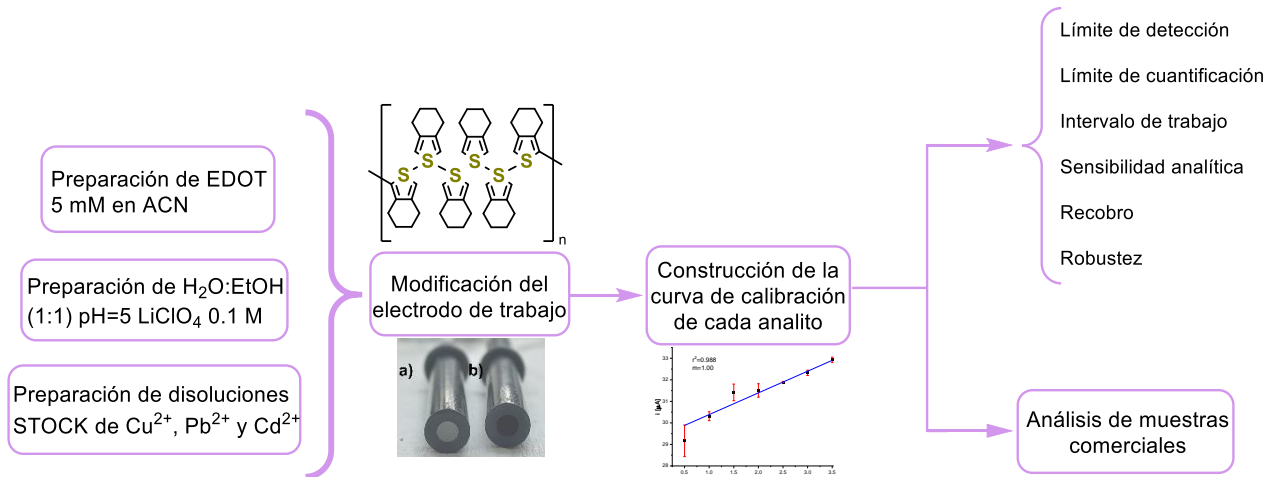


Figura 17. Resumen de la metodología. Insertos: Estructura del PEDOT, Comparación de los electrodos previo y posterior a la polimerización, curva de calibración correspondiente para el Cu²⁺ en el electrodo modificado y botellas de los mezcales obtenidos comercialmente

RESULTADOS

Electrosíntesis de Poli-etilen-(3,4)-dioxitiofeno

Basados en el voltamperograma de caracterización del monómero (etilen-(3,4)-dioxitiofeno) se realizó la electrosíntesis del polímero conductor. Mediante experimentos de voltamperometría cíclica, se lleva a cabo un mecanismo de polimerización del tipo radicalario, este se caracteriza por llevarse a cabo en tres pasos; iniciación, propagación y terminación.

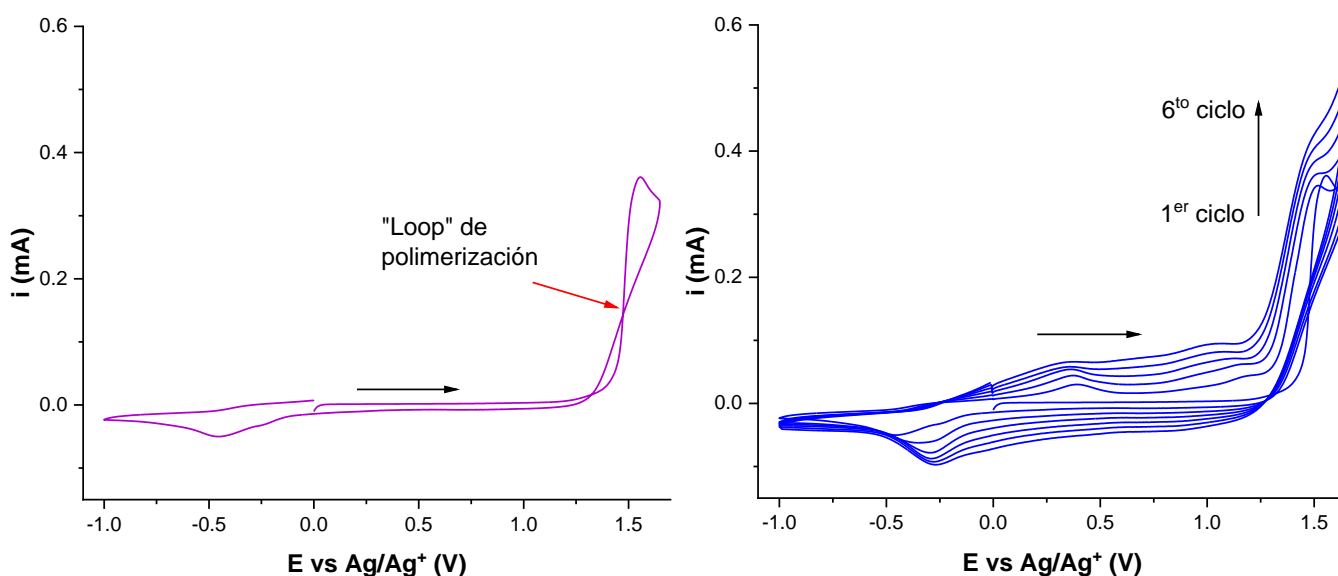


Figura 18. a) Primer ciclo de polimerización de EDOT por voltamperometría cíclica en $LiClO_4$ 0.1 mol/L como electrolito soporte en ACN en un arreglo clásico de tres electrodos: ET = Carbón vítreo, ER = Ag/Ag^+ y EA = alambre de tungsteno. b) Polimerización de EDOT (6 ciclos consecutivos).

En el caso de EDOT, la iniciación se lleva a cabo en la superficie del electrodo en donde el monómero se oxida a un radical catión centrado en el átomo de azufre, la propagación ocurre cuando se comienzan a polimerizar los monómeros; al formar dímeros, se estabilizan a través de su desprotonación y a partir de ahí se continúa la polimerización para formar los oligómeros^[68]. Como proceso secundario, los aniones de ClO_4^- ingresa en la cadena del polímero como un dopante para lograr un equilibrio de carga^{[69][70]}. Al



final, la terminación ocurre cuando se deja de aplicar una diferencia de potencial eléctrico (Figura 19).

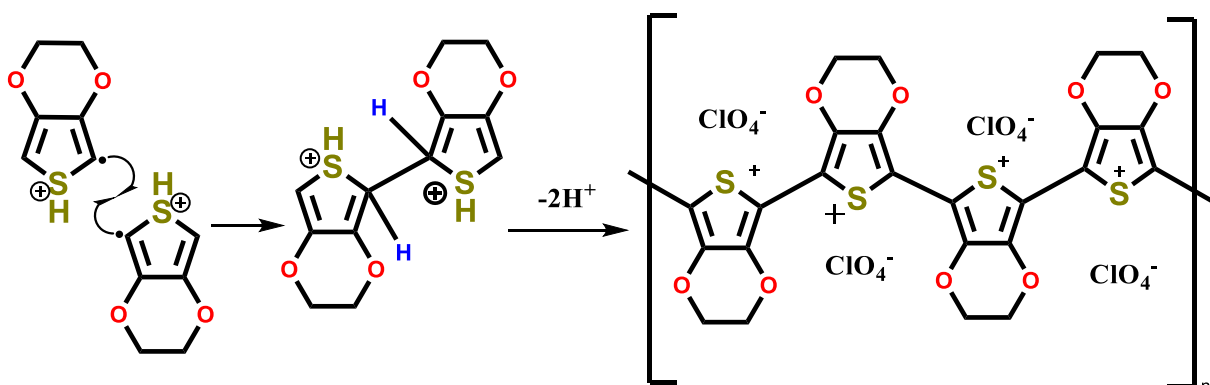


Figura 19. Proceso de polimerización para el 3,4-etilendioxitiofeno (EDOT) posterior a la formación de los radicales catión en la superficie del electrodo de trabajo mediante un barrido de potencial anódico en un medio aprótico polar.

Con base en los experimentos de voltamperometría cíclica (Figura 18a), se determinó que la polimerización fue efectiva debido a la evidencia del “loop” o nucleación de polimerización observado en el primer ciclo, en donde el trazo en dirección catódica cruza el trazo realizado en dirección catódica en un $E \sim 1.5 \text{ V vs Ag/Ag}^+$.

Como resultado de una polimerización efectiva; dígame física y electroquímicamente estable, se obtuvo una película de polímero conductor (Figura 20b) que no muestra crecimientos dendríticos fuera del área del carbón-vítreo. En comparación con el electrodo de carbón-vítreo se observa la diferencia de un electrodo sin (Figura 20a) y con modificación.

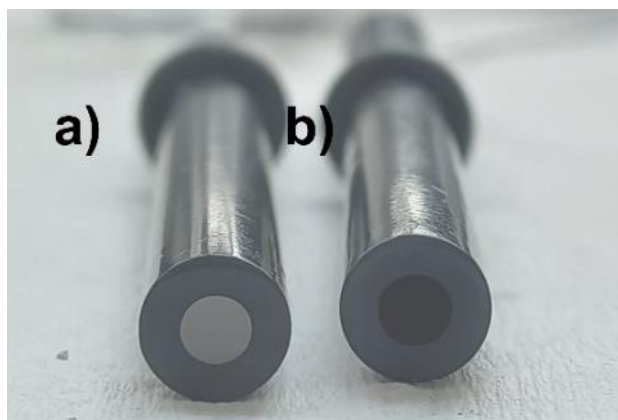


Figura 20. a) Comparación de electrodos previo y b) posterior a la polimerización del PEDOT.

Caracterización electroquímica y superficial del electrodo modificado

A partir de los experimentos de voltamperometría cíclica del electrodo modificado en en EtOH:H₂O (1:1) a pH = 5 con LiClO₄ 0.1 M como electrolito soporte, es una corriente capacitiva alta y por la forma que toma el voltamperograma, se establece un comportamiento de pseudocapacitor^[71] en donde las especies electroactivas, tiene asociada un aporte faradaico, por lo tanto, el comportamiento es similar a un capacitor pero de naturaleza faradaica. Esto se explica a partir de la carga de la película del polímero conductor depositada en el electrodo de trabajo. Al realizar el barrido de potencial en dirección anódica, se comienza a polarizar la superficie del electrodo, el cual se comporta como un capacitor, al polarizarse se forma la doble capa eléctrica del electrodo, que tiene un aporte faradaico sumado al capacitivo.

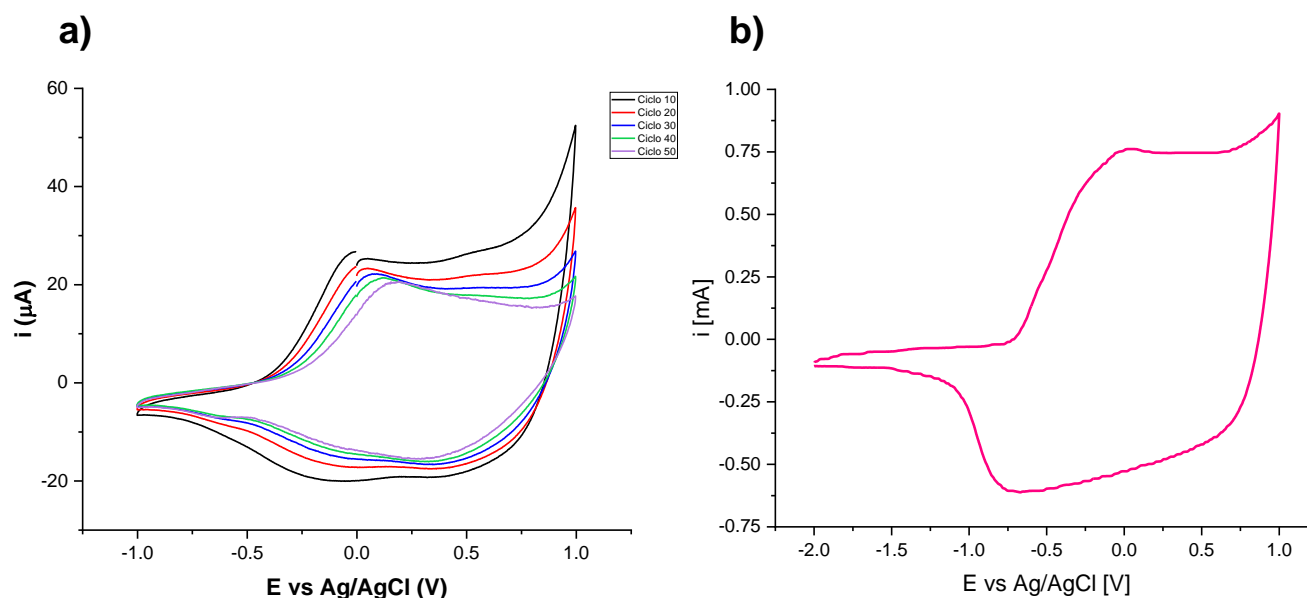


Figura 21. a) Voltamperometría cíclica del electrodo modificado con PEDOT en EtOH:H₂O (1:1) a pH = 5 con LiClO₄ 0.1 mol/L como electrolito soporte en un arreglo clásico de tres electrodos: ET = Carbón-vítreo:PEDOT, ER = Ag/Ag⁺ y EA = alambre de tungsteno para diferentes ciclos de carga y descarga. b) Voltamperometría cíclica del electrodo modificado en un ciclo 50

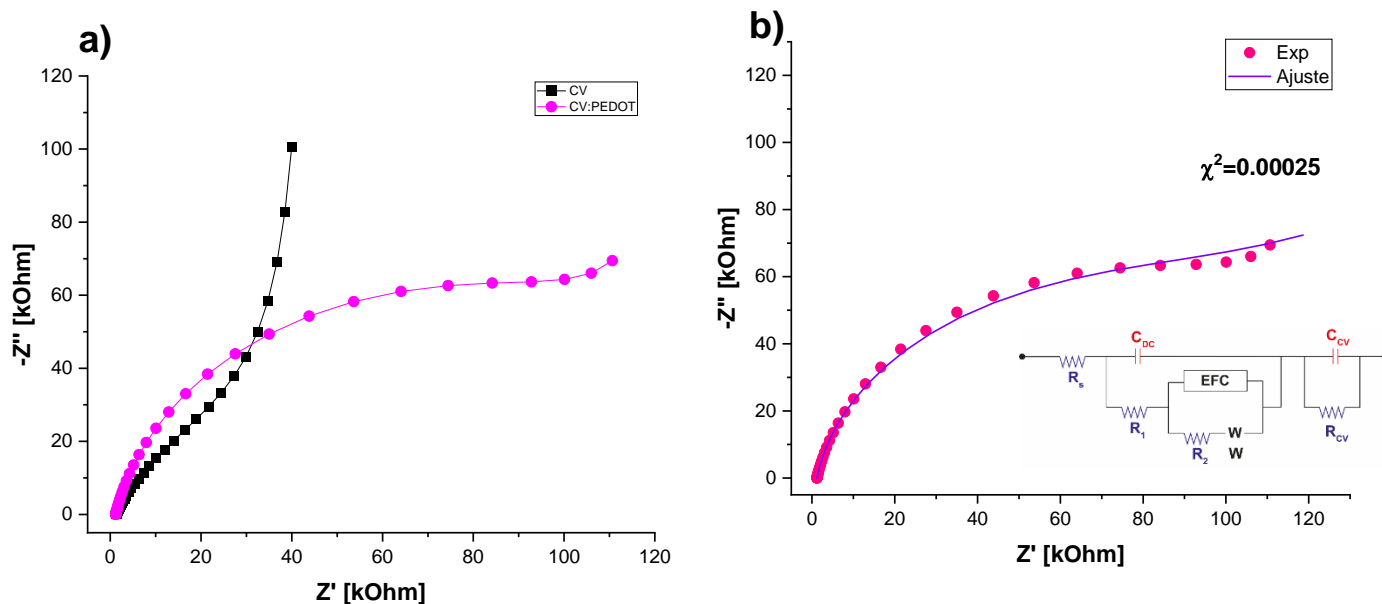


Figura 22. a) Gráficos de Nyquist para electrodo de carbón vítreo (CV) sin modificación y electrodo modificado con PEDOT (CV:PEDOT). $E_{DC} = PCA$, $f = 0.1 - 100$ kHz, $\Delta E = 10$ mV. b) Gráfico de Nyquist de CV:PEDOT con el ajuste matemático correspondiente al circuito equivalente propuesto.

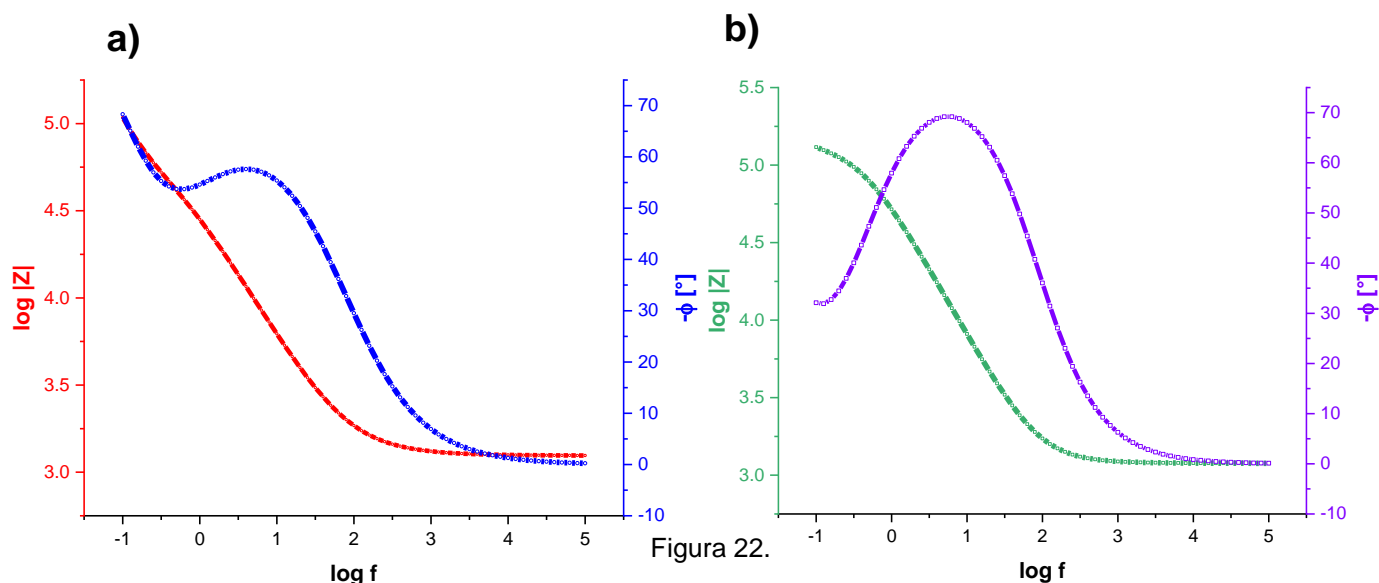


Figura 23. Gráficos de Bode, correspondientes a: a) electrodo sin modificación y b) el electrodo con modificación de PEDOT

Los diagramas de Bode se describen a partir de tres zonas; la zona de alta ($\log f > 4$), media ($2 < \log f < 4$) y bajas frecuencias ($\log f < 2$)^[72], en las cuales se puede describir el



comportamiento de la interfase del electrodo con el electrolito. En la zona de altas frecuencias se puede observar el comportamiento asociado a la resistencia del electrodo de trabajo, que es el componente que presenta la menor impedancia en comparación con el capacitor. Esto debido a que la impedancia de los capacitores depende inversamente de la frecuencia^[73]. Por otro lado, en la zona de altas frecuencias la impedancia de los capacitores es imperceptible

A partir de los experimentos de espectroscopia de impedancia se pueden establecer circuitos equivalentes que expliquen el comportamiento de la doble capa eléctrica del electrodo con y sin la modificación. Los circuitos equivalentes se construyeron basados en lo reportado previamente^{[74] [75]}. Con ayuda del software NOVA 2.1 se realizó el ajuste matemático para el circuito equivalente presentado (Figura 22 b inserto).

El circuito descrito para el electrodo modificado con PEDOT, fácilmente puede ser explicado en tres secciones; el electrolito, el PEDOT y el electrodo de carbón vítreo. Dentro de los componentes descritos en el circuito equivalente se encuentra R_s el cual es la resistencia del electrolito con el electrodo, seguido de un capacitor, C_{DC} que describe la doble capa eléctrica y R_1 , una resistencia que describe la transferencia de carga entre el polímero conductor y el electrolito, estos componentes están configurados en paralelo.

El elemento de fase constante (EFC) está modelado en paralelo con R_2 y W , las cuales describen la resistencia de la película de PEDOT y de la difusión de los iones en el electrolito respectivamente. Ya que a partir de las imágenes de FE-SEM se observó que la superficie del electrodo modificado es porosa, se estableció que en el circuito equivalente correspondiente debe de estar presente un EFC^{[76] [77]}, en donde n debe estar definido entre los valores $0.5 < n < 1.0$ (Tabla 4). El elemento de fase constante también se encuentra definido como un descriptor universal dieléctrico^[78], por ellos el comportamiento resultante del electrodo modificado con una película de PEDOT muestra un comportamiento capacitivo ($n = 0.89$). Por otra parte el comportamiento del electrodo de carbón vítreo sigue la tendencia de un elemento difusivo ($n = 0.59$), también conocido como módulo de Warburg^[79]. Por último, están descritos (en paralelo) la capacitancia del



electrodo de carbón vítreo (C_{CV}) y la resistencia del electrodo (R_{CV})^[80]. El circuito equivalente sigue la nomenclatura $[R(C[R(Q[RW]))])(CR)]$.

Tabla 4. Parámetros de cada componente asociado al circuito equivalente propuesto para cada electrodo de trabajo.

Parámetro	Electrodo	
	CV	CV:PEDOT
R_s [Ohm]	1280.5	104.92
C_{DC} [$F \cdot cm^{-2}$]	7.95×10^{-7}	3.037×10^{-11}
R_1 [Ohm]		2400.6
EFC [$S \cdot s^{-n} \cdot cm^{-2}$]	1.13×10^{-5}	3.02×10^{-6}
n	0.5963	0.8987
R_2 [Ohm]		1.069×10^5
W [$S \cdot s^{-0.5} \cdot cm^{-2}$]		1.83×10^{-5}
C_{CV} [$F \cdot cm^{-2}$]		4.250×10^{-11}
R_{CV} [Ohm]	214.33	3498.3

A partir de los datos obtenidos de los experimentos de impedancia, se puede establecer que el electrodo de carbón vítreo aumentó su resistencia de manera importante cuando se encuentra modificado, esto corresponde a lo observado al realizar experimentos voltamperométricos, basado en la pendiente de la corriente observada (Figura 21 b), donde el aporte capacitivo es muy alto.

Por otra parte, la capacitancia de la doble capa eléctrica entre el electrodo de carbón vítreo y el modificado se ve reducida en, por lo menos, 4 órdenes de magnitud, mientras que el elemento de fase constante varía en un orden de magnitud, lo cual nos indica que se encuentra adsorbido efectivamente el polímero conductor, esto confirmado por el diagrama de Bode (Figura 23 b).

A partir de los experimentos de voltamperometría cíclica se obtuvieron películas de PEDOT adheridas a la superficie del electrodo, las cuales fueron analizadas mediante FE-SEM, con electrones secundarios, esto con la finalidad de observar la superficie de dicha película y realizar la comparación con el electrodo libre de modificaciones. En las

imágenes se observa la película de PEDOT que se adhirió al electrodo mediante cúmulos de polímero, los cuales tienen un efecto rugoso en el electrodo de carbón vítreo. La superficie del electrodo de carbón vítreo posterior a un proceso de pulido (Figura 24 c y d) se muestra una superficie con pocas imperfecciones que son atribuibles a partículas de alúmina o de polvo que quedaron adheridos.

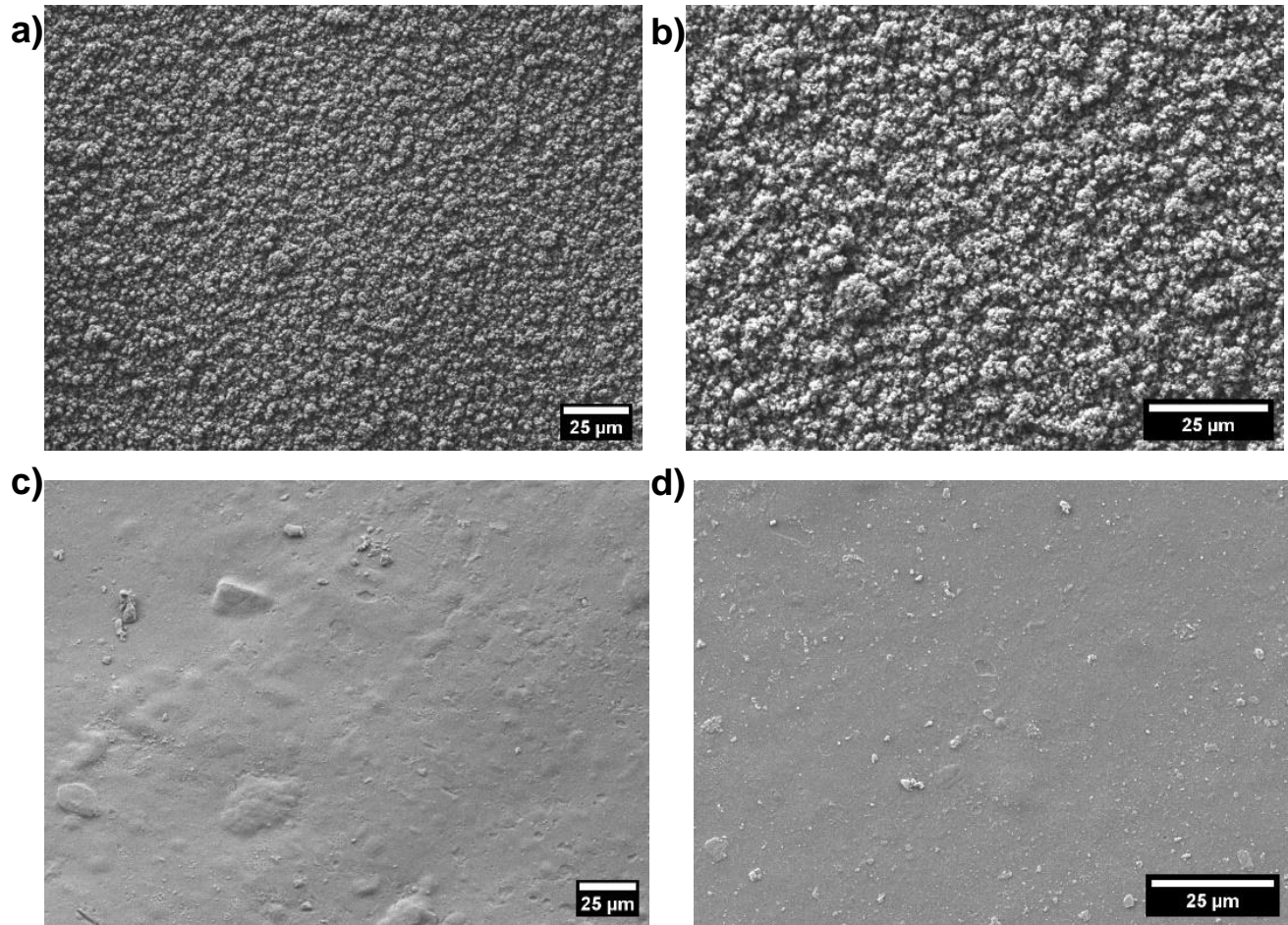


Figura 24. Imágenes de FE-SEM con electrones secundarios de: PEDOT a) 500 aumentos y b) 1000 aumentos y de Carbón-vítreo c) 500 aumentos y d) 1000 aumentos.

Con ayuda del software imageJ[®] se realizó el análisis de dimensión fractal para la superficie del electrodo modificado, lo cual se realiza con este por la rugosidad/porosidad que presenta. El análisis de dimensión fractal se realizó a partir de la técnica del “box counting”, en donde a partir de un gráfico logarítmico de $\log M = f(\log N)$ en donde M es el tamaño de los cúmulos y N es la cantidad de dichos cúmulos



(Figura 19). El valor absoluto de la pendiente nos dará como resultado el valor de la dimensión fractal correspondiente a la imagen analizada.

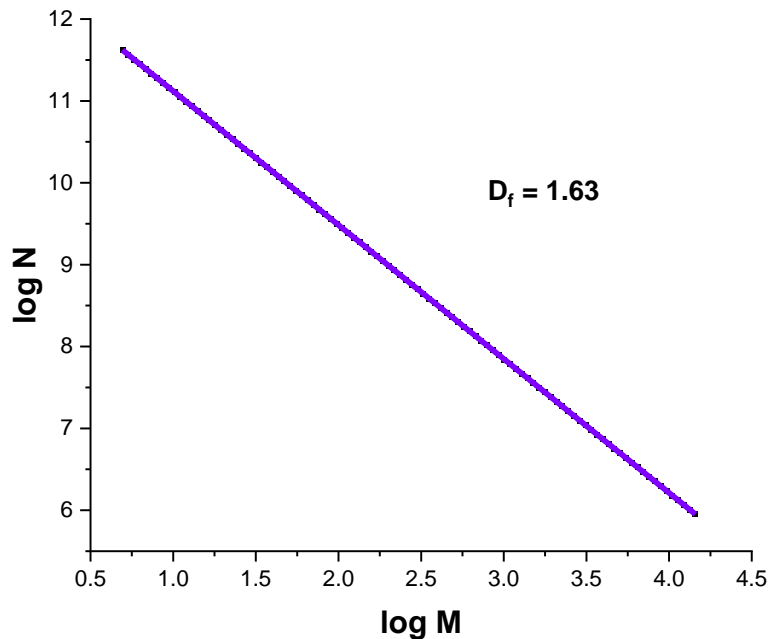


Figura 25. Análisis de dimensión fractal de carbón vítreo y de PEDOT a partir de imágenes de FE-SEM de electrones secundarios.

A partir de los resultados de dimensión fractal se estableció que la superficie más rugosa es la que contiene el PEDOT. Este resultado indica que la superficie real es mayor a la geométrica, si bien el polímero es conductor no todos los cúmulos formados en la superficie del electrodo de trabajo serán conductoras, por lo tanto, solo se tiene un aumento en el área real del electrodo, no del área electroactiva. Esto es de importancia porque el fenómeno con el cual se realiza el análisis se lleva a cabo en la superficie del electrodo y al tener una mayor cantidad de cavidades, entonces se aprovechará esta propiedad.

Material verificado

Los resultados de la verificación del material volumétrico se presentan a continuación en la tabla 2. La incertidumbre reportada se establece con una $k=2$, una confianza del 95%.



Tabla 5. Resultados de verificación de material volumétrico utilizado

Material	Volumen real [mL]	Incertidumbre $k=2$ [mL]
Matraz volumétrico 25 mL A	24.92	0.44
Matraz volumétrico 25 mL B	24.97	0.39
Matraz volumétrico 25 mL C	24.98	0.38
Matraz volumétrico 25 mL D	24.95	0.38
Matraz volumétrico 25 mL E	24.99	0.44
Matraz volumétrico 50 mL A	49.93	0.79
Matraz volumétrico 50 mL B	49.96	0.77
Matraz volumétrico 50 mL C	49.85	0.89
Matraz volumétrico 100 mL	99.85	1.78

La explicación del cómo se realizó la verificación del material volumétrico se encuentra en el anexo B y el informe de calibración de la balanza utilizada para el desarrollo de este trabajo, está incluido en el anexo C.



Determinación de parámetros asociados a validación analítica

La identificación de los analitos de interés se realizó mediante voltamperometría cíclica (en dirección catódica) para cada analito en una concentración de 25 ppm en el medio hidroalcohólico.

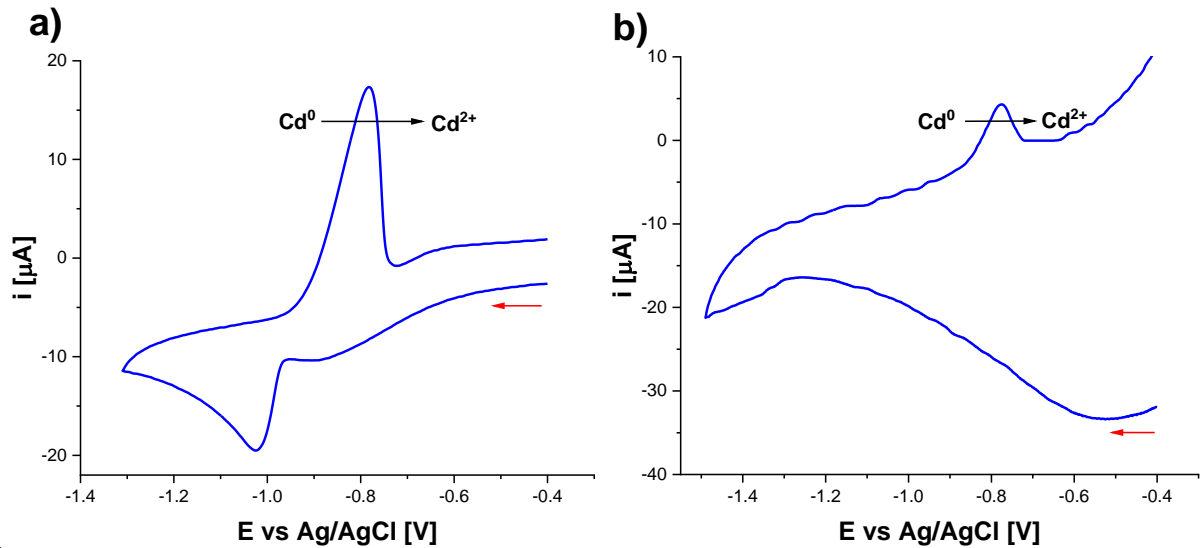


Figura 26. Voltamperometría cíclica de Cd^{2+} en medio hidroalcohólico (1:1) a $v = 0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ en a) Electrodo de Carbón Vítreo como electrodo de trabajo y b) Electrodo modificado con PEDOT como electrodo de trabajo, electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia y un alambre de tungsteno como electrodo auxiliar.

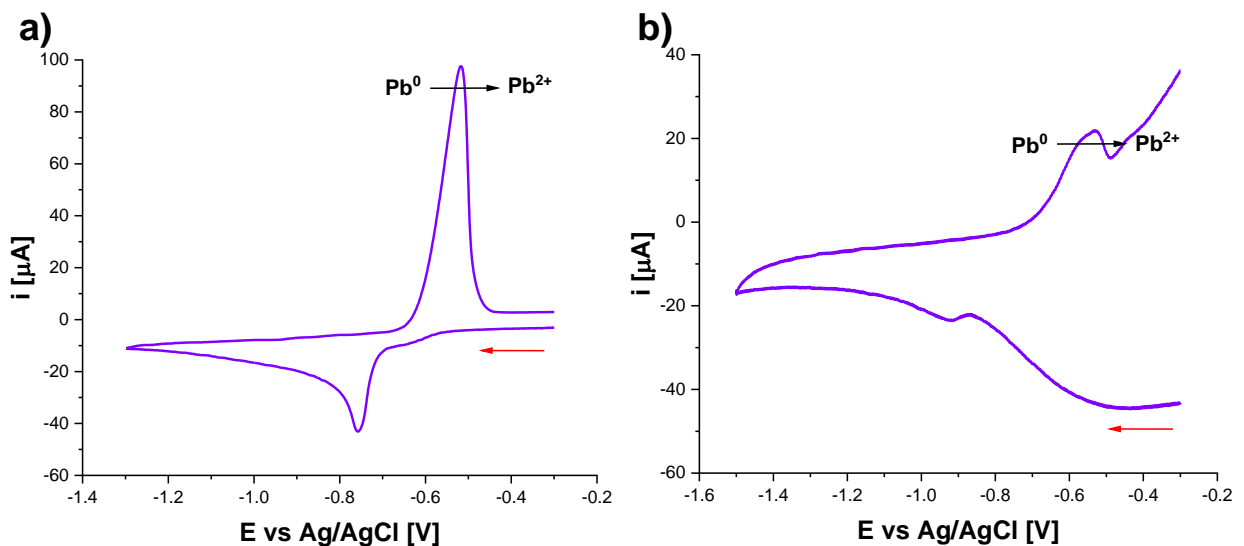


Figura 27. Voltamperometría cíclica de Pb^{2+} en medio hidroalcohólico (1:1) a $v = 0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ en a) Electrodo de Carbón Vítreo como electrodo de trabajo y b) Electrodo modificado con PEDOT como electrodo de trabajo, electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia y un alambre de tungsteno como electrodo auxiliar.

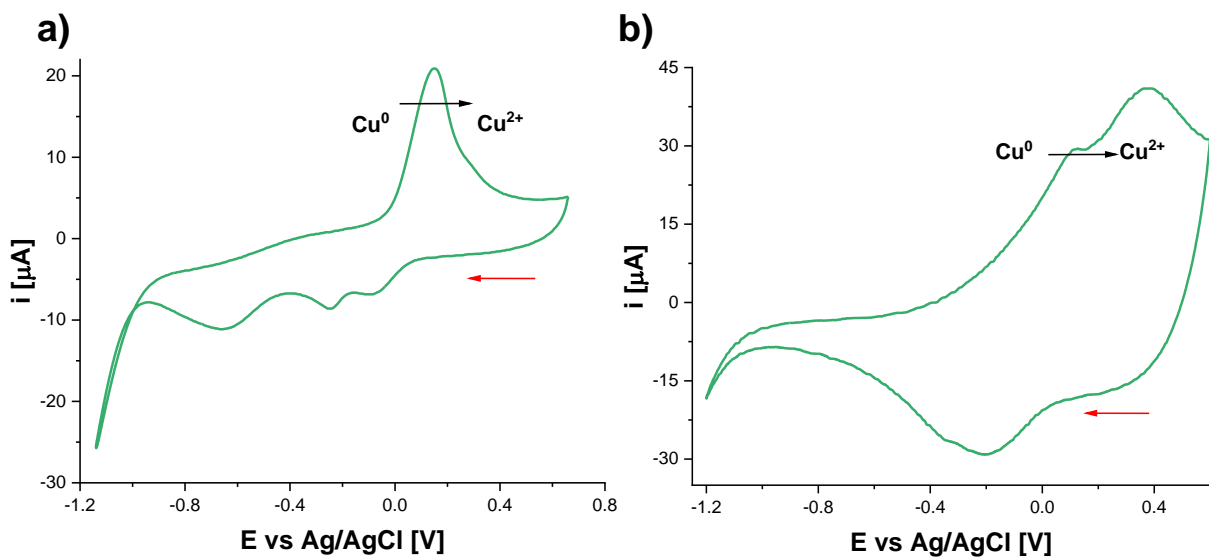


Figura 28. Voltamperometría cíclica de Cu^{2+} en medio hidroalcohólico (1:1) a $v = 0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ en a) Electrodo de Carbón Vítreo como electrodo de trabajo y b) Electrodo modificado con PEDOT como electrodo de trabajo, electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia y un alambre de tungsteno como electrodo auxiliar.

A partir de las voltamperogramas se identificó el potencial de oxidación y reducción con base en los potenciales de pico anódico (E_{pa}) y catódico (E_{pc}) respectivamente de cada uno de los analitos, con los cuales se establecieron los potenciales de trabajo; el potencial de depósito y el barrido de potencial oxidativo para observar cada uno de los analitos (Tabla 6). En cada uno de los experimentos se puede ver claramente el proceso catódico en el cual se reduce el catión M^{n+} a M^0 y se adsorbe a la superficie del electrodo, la correspondencia de las señales se confirmó al compararlas entre sí para observar si existe un traslape de señales entre sí (Figura 29), debido a que las magnitudes de corriente son muy distintas entre sí, se normalizaron los voltamperogramas para lograr una comparación efectiva entre ellas. Por otra parte, en el proceso anódico se observa que hay una oxidación, pero se encuentra una diferencia notable con el electrodo modificado con PEDOT, debido al efecto del electrodo. Relacionado a este fenómeno, en la detección del plomo se observa la diferencia sustancial entre el electrodo de carbón vítreo y el PEDOT, ya que en el electrodo modificado se ve un ensanchamiento de la señal, lo cual puede ser un indicativo de que la transferencia de dos electrones en un solo paso fue una transferencia de cinética más



lenta y hasta podría ser un atisbo de dos señales (una transferencia de un electrón para cada una)^[81].

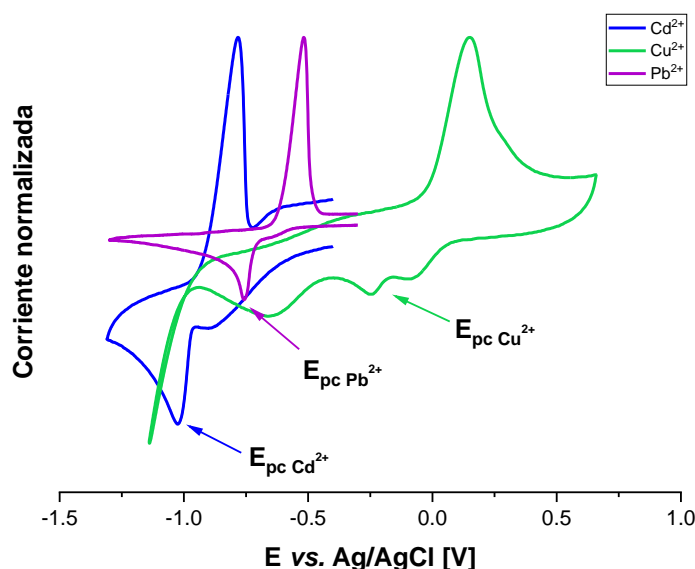


Figura 29. Comparativo de voltamperogramas cíclicos en medio hidroalcohólico (1:1) a $v = 0.05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ en a) Electrodo de Carbón Vítreo como electrodo de trabajo, electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia y un alambre de tungsteno como electrodo auxiliar. $i_{\text{norm}} = i/i_{\text{pa}}$

Tabla 6. Potenciales de análisis para cada metal en cada electrodo de trabajo

Analito	Potencial de pico anódico [V]	
	CV	CV:PEDOT
Cd ²⁺	-0.783 V	-0.787 V
Pb ²⁺	-0.503 V	-0.510 V
Cu ²⁺	-0.061 V	-0.075 V

Se realizó la curva de calibración para todos los analitos presentes en la matriz problema (mezcal) y se determinaron los parámetros analíticos e incertidumbres asociadas a esta medición. El potencial de acumulación se estableció en -1.3 V vs Ag/AgCl porque se pretende realizar la acumulación de todo el analito presente en la matriz. El tiempo de acumulación se estableció en 300 segundos, debido a que fue el tiempo óptimo de acumulación tomando en cuenta la cuantificación de los tres analitos de manera simultánea.

Se construyeron las curvas de calibración correspondientes a los tres analitos de análisis, en ambos electrodos, las concentraciones de trabajo variaron basado en el analito. Teniendo en cuenta que la concentración referida en la NOM es de 0.5 ppm para Pb^{2+} y Cd^{2+} , y de 2 ppm para Cu^{2+} . El rango de trabajo para los experimentos fue de 0.1 a 1.5 ppm para Cd^{2+} y Pb^{2+} , mientras que para Cu^{2+} fue de 0.5 a 3.5 ppm.

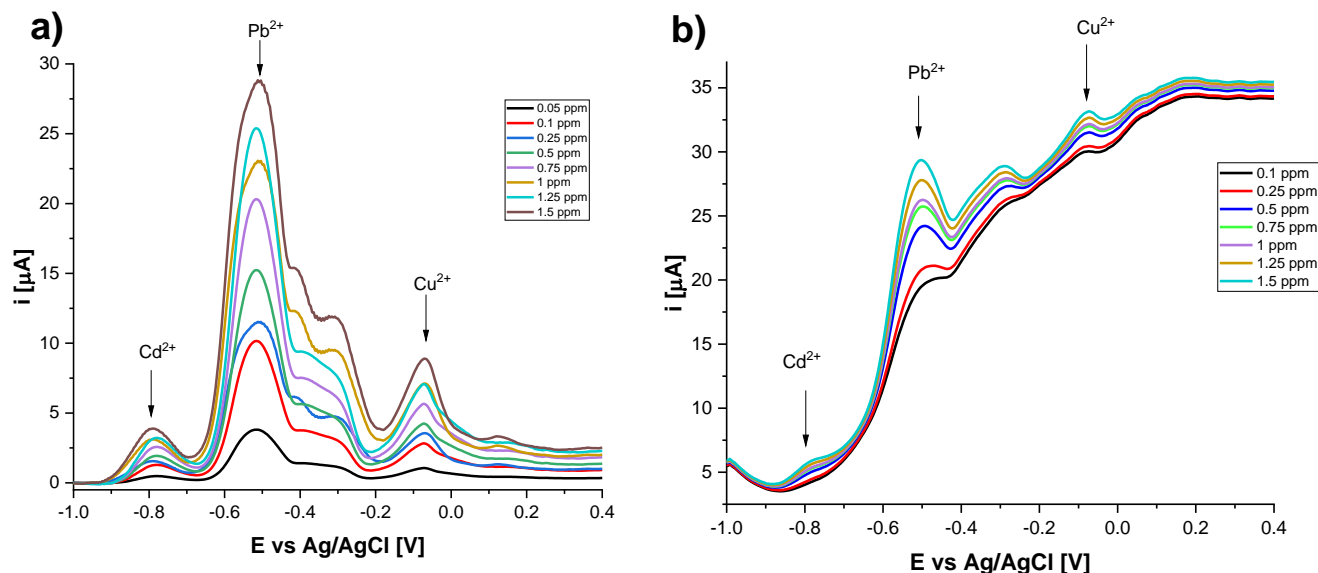


Figura 30. Voltamperogramas de redisolución anódica de onda cuadrada de los Cd^{2+} , Pb^{2+} y Cu^{2+} en medio hidroalcohólico ($\text{EtOH}:\text{H}_2\text{O}$ 1:1) a $\text{pH} = 5$ (buffer de acetatos) a) Carbón vítreo y b) electrodo modificado con PEDOT $\Delta i = f(E)$

Los voltamperogramas de onda cuadrada de redisolución anódica correspondientes a las curvas de calibración (Figura 30) muestran las tres señales principales de interés para la cuantificación de los analitos. Hay dos señales observables en potenciales $\sim -0.3\text{V}$ la primera atribuible a la oxidación del Pb^0 y la segunda a un proceso de oxidación del Cu^0 , esto en el electrodo de carbón vítreo, por otra parte, en el electrodo modificado la primera señal desaparece. En los experimentos realizados con el electrodo modificado se observa una pendiente mayor en el voltamperograma, esto debido a la carga del polímero necesaria para llevar a cabo los procesos faradaicos en su superficie. De ahí que las señales de transferencia electrónica de cada uno de los analitos se observen con una misma tendencia de crecimiento de corriente, independiente de la



concentración. A pesar de que la concentración de Cu^{2+} es más grande en contraste con Cd^{2+} y Pb^{2+} , el aumento de la magnitud de la corriente en el voltamperograma con el electrodo modificado con PEDOT es muchísimo menor, esto es debido a la influencia del coeficiente de difusión^[82] de complejos de cobre formados en la disolución. La señal de corriente correspondiente al electrodo modificado con PEDOT presenta un aumento de pendiente significativo, en comparación con el carbón-vítreo desnudo. Este comportamiento es debido a la carga del polímero, la cual actúa como un pseudocapacitor, si bien el objetivo de la voltamperometría de onda cuadrada es reducir la corriente capacitiva a niveles mínimos, el polímero muestra un aporte faradaico dentro de la carga de la doble capa eléctrica como se explicó en los resultados de espectroscopía de impedancia electroquímica.

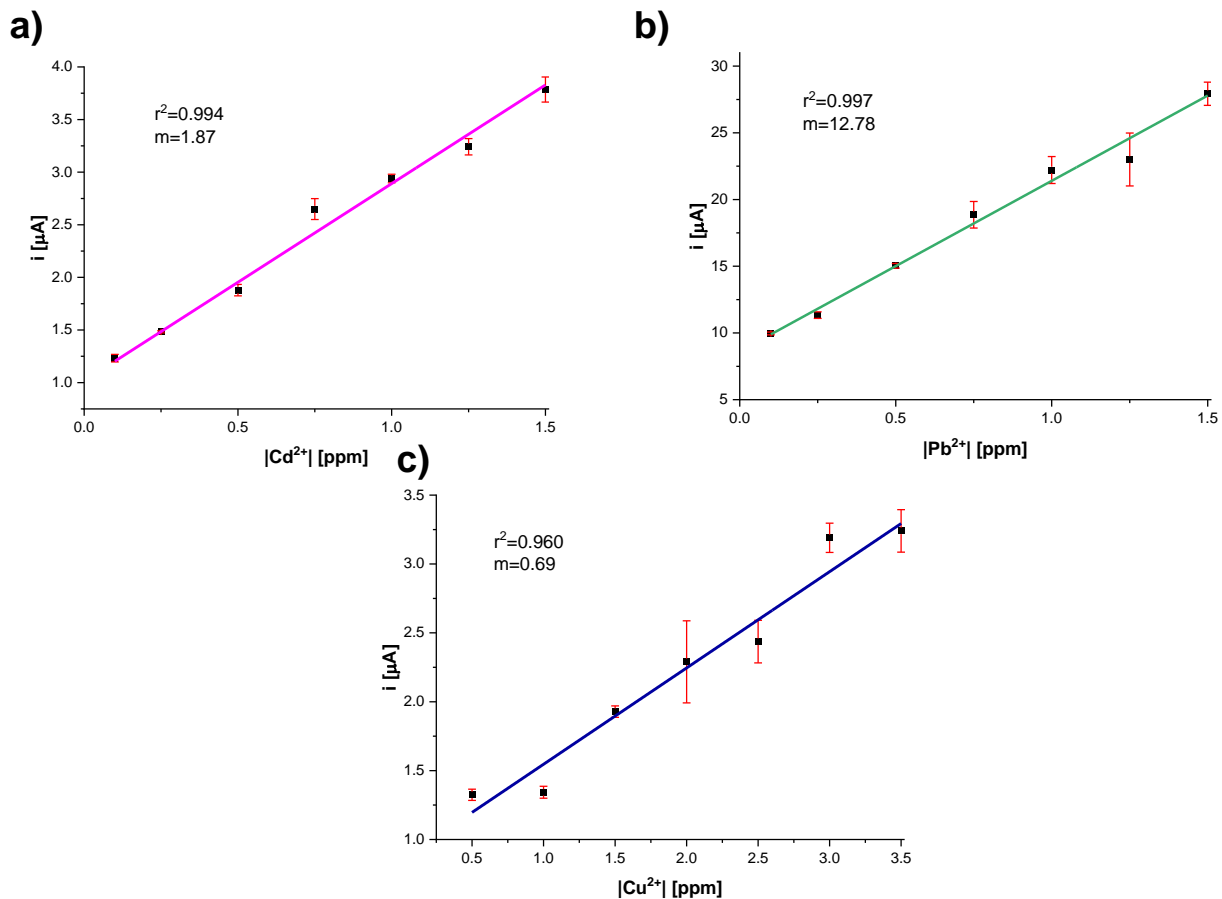


Figura 31. Curvas de calibración para a) cadmio, b) plomo y c) cobre en el electrodo de carbón vítreo ($n=3$ para cada punto de la curva). Inserto. Linealidad y pendiente para cada curva de calibración.

Las curvas de calibración realizadas en electrodo de carbón vítreo sin modificación (Figura 28) muestran buenas linealidades, a excepción de la cuantificación de cobre ($r^2 = 0.960$). Las repeticiones realizadas para estas curvas de calibración fueron de tres para cada uno de los puntos.

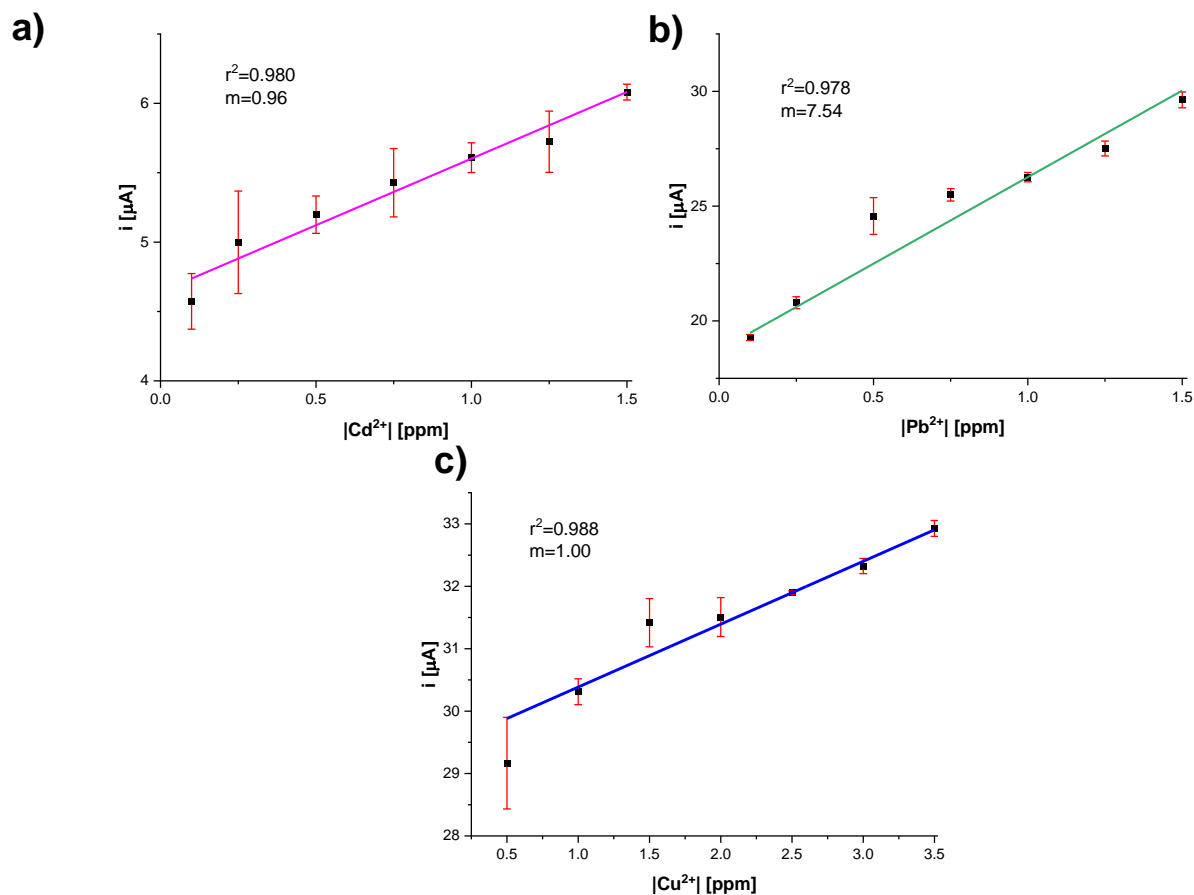


Figura 32. Curvas de calibración para a) cadmio, b) plomo y c) cobre en el electrodo de carbón vítreo modificado con PEDOT ($n=3$ para cada punto de la curva). Inserto. Linealidad para cada curva de calibración.

Las curvas de calibración de cada uno de los analitos realizada con el electrodo modificado con PEDOT (Figura 29) pierden linealidad, en comparación con el electrodo de carbón vítreo, esto aunado a que el error asociado a cada uno de los puntos de la curva se incrementa. La repetibilidad del método con los electrodos modificados con PEDOT se ven afectados debido a su comportamiento electroquímico, como la pseudocapacitancia que no muestra ser una propiedad que pueda ser aprovechada en el análisis realizado.



Hay múltiples formas de realizar el cálculo de los límites de cuantificación y detección, en donde el más destacado es a partir de la medida de la desviación estándar de la señal “blanco” o “señal de ruido”^[83].

A partir de los datos de regresión lineal se hizo la determinación del límite de detección (Ecuación 4) y de cuantificación (Ecuación 5) para el análisis realizado con el electrodo de carbón vítreo, esto a partir de las siguientes ecuaciones:

$$L_{DD} = \frac{y_{blanco} + 3.3 \cdot S_{y/x}}{m} \quad \text{Ecuación 4}$$

$$L_{DC} = \frac{y_{blanco} + 10 \cdot S_{y/x}}{m} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde

L_{DD} = Límite de detección

L_{DC} = Límite de cuantificación

$S_{y/x}$ = Desviación estándar de los datos

m = Pendiente de la ecuación de regresión lineal

y_{blanco} = Respuesta de la señal de blanco del equipo

En el presente trabajo se realizó esta metodología debido a que los dos sistemas (electrodo de carbón vítreo y electrodo modificado con PEDOT) son estadísticamente homocedásticos, lo cual se define como la constancia de los errores en cada punto de la curva de calibración^[84], esto corroborado a partir de los gráficos de residuales resultantes del análisis ANOVA (Figura 30).

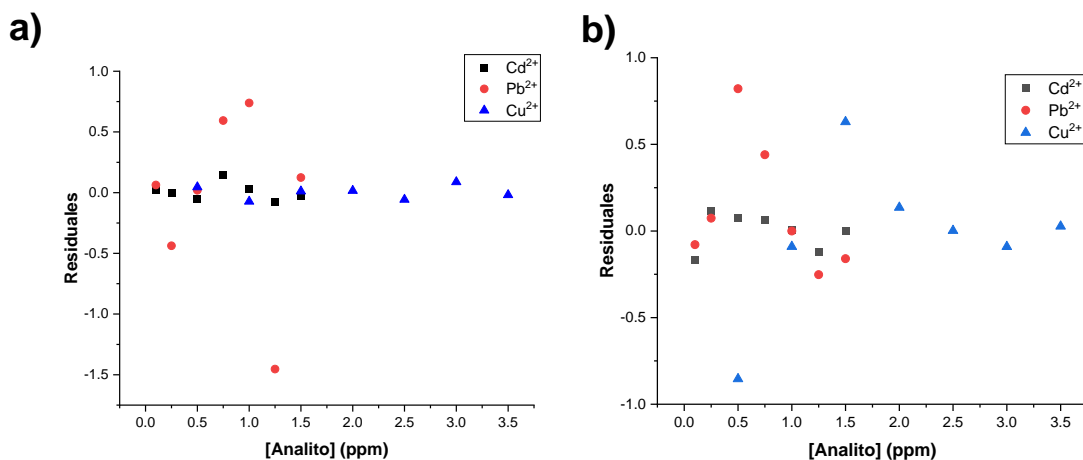


Figura 33. Análisis de residuales para confirmación de comportamiento homocedástico para a) electrodo de carbón vítreo y b) electrodo modificado con PEDOT.

Tabla 7. Límites de detección y de cuantificación.

Analito	Límite de detección [ppm]		Límite de cuantificación [ppm]	
	CV	CV:PEDOT	CV	CV:PEDOT
Cd ²⁺	0.037 ± 0.002	0.182 ± 0.005	0.113 ± 0.002	0.567 ± 0.005
Pb ²⁺	0.027 ± 0.003	0.198 ± 0.013	0.083 ± 0.003	0.602 ± 0.013
Cu ²⁺	0.193 ± 0.008	0.226 ± 0.028	0.585 ± 0.008	0.685 ± 0.028

Nota. Incertidumbre calculada con k=2

Los límites de detección y de cuantificación con cada uno de los electrodos se obtuvo con su incertidumbre asociada (Tabla 7), dando como resultado que el electrodo modificado con PEDOT puede realizar la cuantificación a partir de concentraciones más elevadas que el electrodo de carbón vítreo sin modificación. Por otra parte, la detección se puede realizar con menos cantidad de analito, en los tres casos.

Los valores de sensibilidad para la determinación de cada uno de los analitos de interés se determinan a partir del valor de la pendiente de cada curva de calibración.

Tabla 8. Sensibilidad del método para cada uno de los analitos.

Analito	CV	CV:PEDOT
Cd ²⁺	1.87	0.96
Pb ²⁺	12.78	7.54
Cu ²⁺	0.69	1.00

A partir de los datos obtenidos de sensibilidad (Tabla 8), la detección de los iones de plomo es mucho más sensible que la realizada con cadmio o cobre, esto se ve confirmado con la intensidad de la corriente que nos resulta al realizar adiciones de iones plomo. A mayor valor de pendiente, se obtiene una mayor sensibilidad.

Se realizó el análisis mediante ANOVA (análisis de varianza), esto para determinar la precisión y la repetibilidad del método, los gráficos de residuales en función de la concentración pueden dar información sobre la linealidad, ya que el coeficiente de correlación no es necesariamente la única evidencia de la linealidad de una curva de



calibración. El análisis mediante residuales da como resultado gráficas de puntos aleatorios que no deben presentar una tendencia en específico.

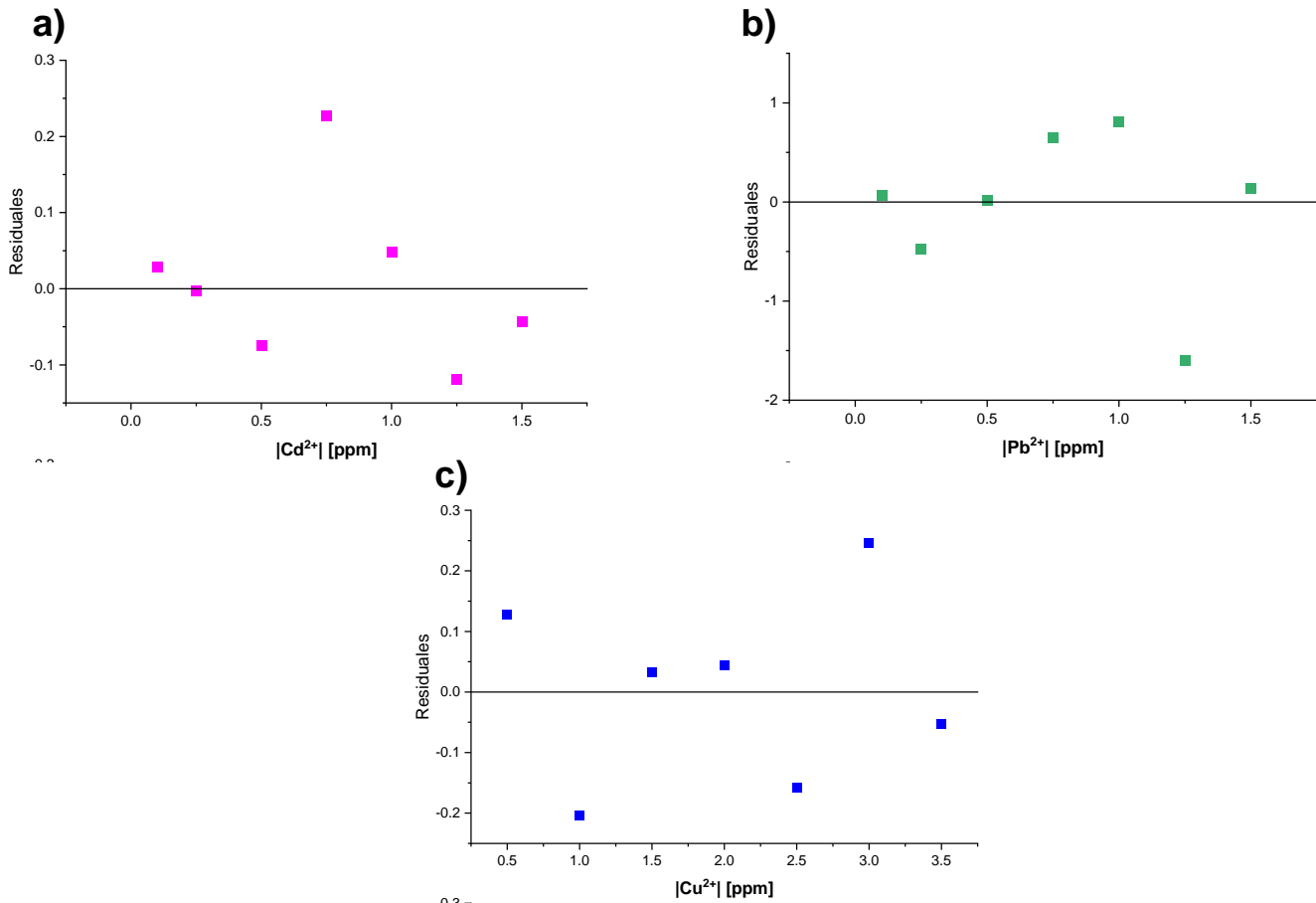


Figura 34. Gráficos de residuales, derivados del análisis mediante ANOVA para cada una de las curvas de calibración a) cadmio, b) plomo y c) cobre, realizadas con el electrodo de carbón vítreo.

Los gráficos de residuales de ANOVA relacionados para la curva de calibración de Cd²⁺ (Figura 31a), nos da como resultado un punto atípico, pero una buena distribución de los puntos residuales, la cual se traduce en una buena linealidad, algo similar ocurre con la curva de calibración de Pb²⁺ (Figura 31b), también con un punto atípico. Por otro lado, en el análisis de residuales correspondiente al Cu²⁺ (Figura 31c), nos indica que, a pesar de la linealidad observada a partir del coeficiente de correlación, la linealidad de dicha curva no es la óptima, teniendo más de dos puntos atípicos.

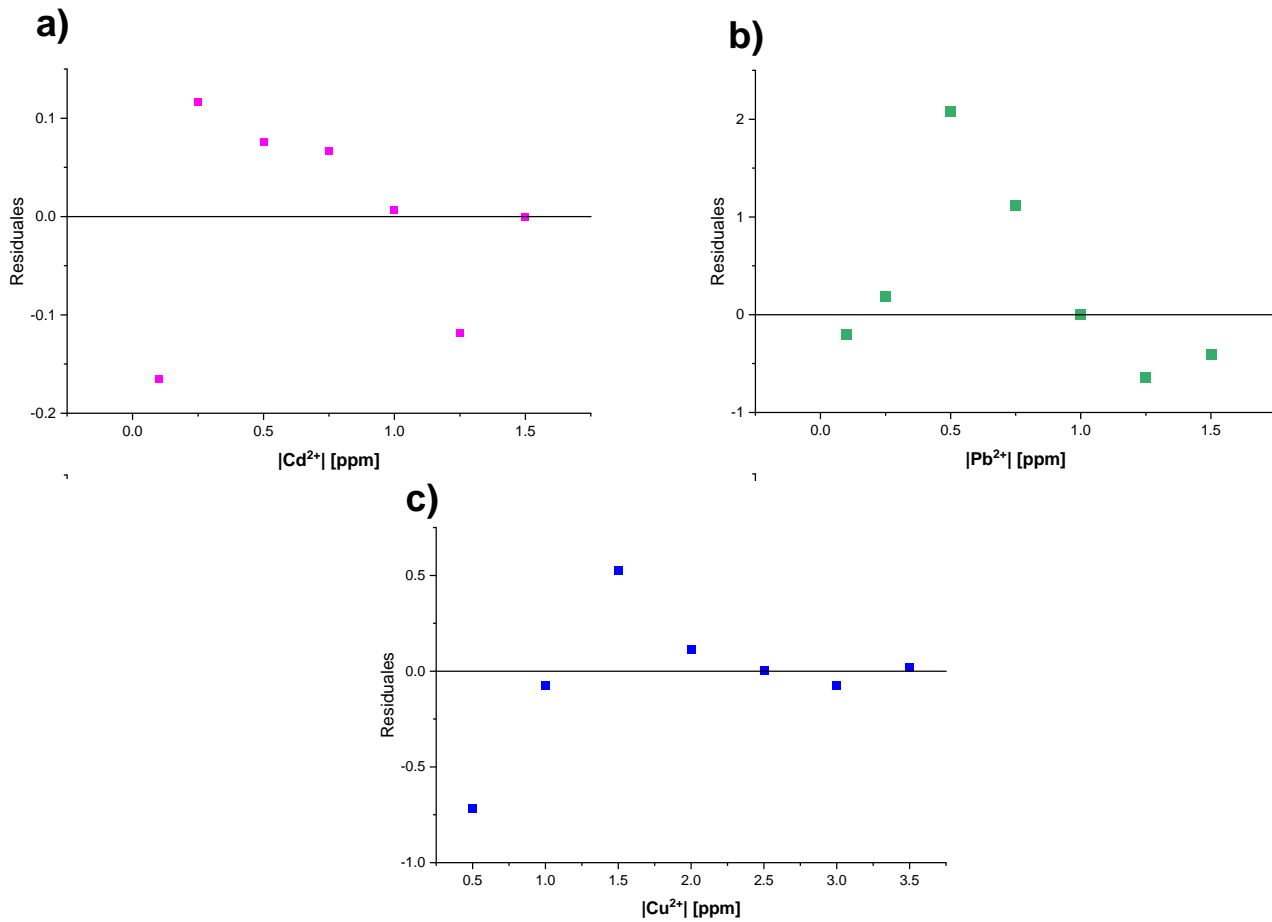


Figura 35. Gráficos de residuales, derivados del análisis mediante ANOVA para cada una de las curvas de calibración a) cadmio, b) plomo y c) cobre, realizadas con el electrodo modificado con PEDOT.

Los gráficos residuales de ANOVA relacionados a las curvas de calibración realizados con el electrodo modificado con PEDOT presentan un comportamiento distinto. En este caso, los dos puntos atípicos presentados en la curva de calibración relacionada al Cd²⁺, representa a una buena linealidad en el rango de trabajo utilizado, nuevamente el comportamiento de la curva relacionada al Pb²⁺, está relacionada con el comportamiento del Cd²⁺, debido a que también tiene dos puntos atípicos. En el análisis de residuales correspondiente a la curva de calibración de Cu²⁺, la tendencia mejora, a diferencia de los resultados obtenidos en carbón vítreo, la linealidad es mejor en el electrodo modificado con PEDOT.



Los resultados del recuperación para cada uno de los analitos, se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\%R = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde

C₁ = Concentración de la muestra fortificada [ppm]

C₂ = Concentración de la muestra sin fortificar [ppm]

C₃ = Concentración de la fortificación [ppm]

La robustez del método fue analizada a partir de tres muestras fortificadas para cada uno de los analitos de interés, realizado para cada uno de los electrodos utilizados.

Tabla 9. Porcentaje de recuperación para cada uno de los analitos en cada electrodo de trabajo utilizado.

Analito	Recuperación [%]	
	CV	CV:PEDOT
Cd ²⁺	109	98
Pb ²⁺	112	113
Cu ²⁺	106	126

Con base en los datos de recuperación para cada analito, se determinó que el electrodo modificado con PEDOT es extremadamente sensible ante el aumento de concentración de Pb²⁺ y Cu²⁺. Por otra parte, la recuperación de Cd²⁺ en ambos electrodos indica una sensibilidad adecuada, lo cual repercute directamente en la cuantificación de Cd²⁺ en la matriz de trabajo. Esta respuesta se encuentra asociada al comportamiento pseudocapacitivo del electrodo modificado con PEDOT, porque está dotado de una alta sensibilidad^[85] causada por la carga de la doble capa eléctrica, proceso que es explicado con mayor profundidad en el análisis de Nyquist.

Análisis de muestras comerciales

Las muestras analizadas fueron obtenidas mediante productores artesanales de tres localidades distintas:

- Estado de México, Tenancingo de Degollado
- Oaxaca, Huajuapán de León
- Guerrero, Tixtla de Guerrero

Las botellas de mezcal fueron obtenidas mediante compra directa de productores de cada una de las regiones, se escogieron estas regiones debido a la promoción que tienen en regiones turísticas fuera de sus estados de origen, con el objetivo de obtener el producto tal cual es comercializado a los turistas.

a)



b)



c)



Figura 36. Botellas de mezcal artesanal obtenidas en a) Estado de México b) Oaxaca y c) Guerrero.

La preparación de la muestra se realizó con base en lo establecido por el grupo de trabajo, realizando la toma de una alícuota para llevar a cabo una dilución 1:10, diluyendo la muestra en $\text{H}_2\text{O}:\text{EtOH}$ (1:1) con LiClO_4 0.01 mol L^{-1} .

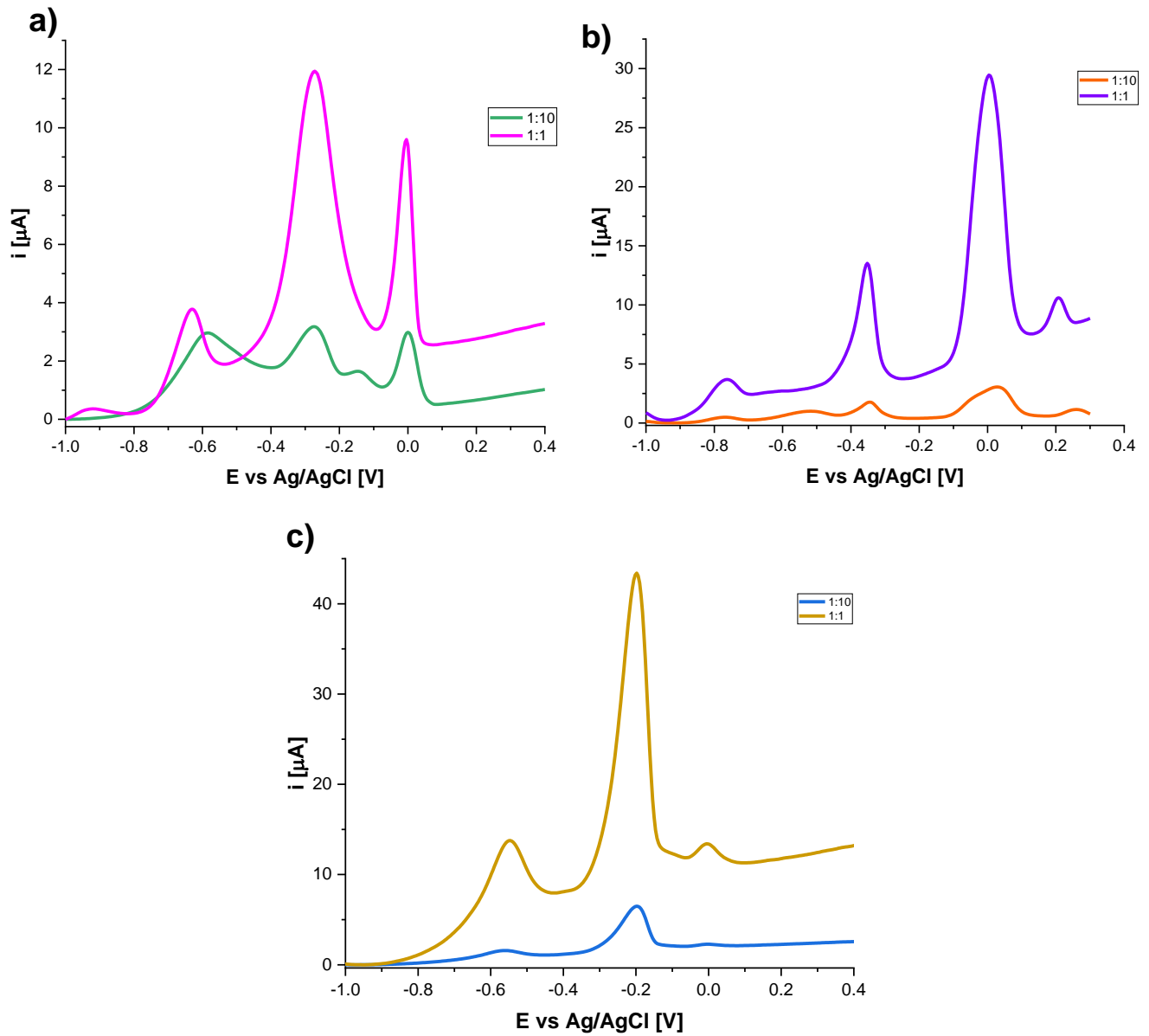


Figura 37. Gráficos de voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada realizado con electrodo de carbón vítreo a diferentes diluciones de las muestras de mezcal de: a) Estado de México, b) Oaxaca y c) Guerrero.

A partir de los análisis realizados para las tres muestras a diferentes diluciones, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 10. Corriente de pico de SWASV para el electrodo de carbón vítreo

Metal (Dilución)	Corriente [μ A]		
	Edo México	Oaxaca	Guerrero
Cd ²⁺ (1:10)	2.99	3.68*	N.D.
Pb ²⁺ (1:1)	11.95	13.60	13.86
Cu ²⁺ (1:10)	2.96	3.28	2.26

ND: No Detectable

A partir de las ecuaciones resultantes de cada curva de calibración, se realiza el cálculo apropiado, realizando la corrección por el factor de concentración (la operación contraria a la dilución) correspondiente para cada uno de los analitos. Con base en las ecuaciones y en la ley de propagación de la incertidumbre, se obtuvieron los siguientes resultados para la cuantificación de los metales pesados en cada una de las muestras comerciales:

Tabla 11. Resultados del análisis de las muestras comerciales

Analito	Concentración [ppm]		
	Edo México	Oaxaca	Guerrero
Cd ²⁺	10.526 \pm 0.003	2.841 \pm 0.003	N.D.
Pb ²⁺	0.521 \pm 0.005	0.779 \pm 0.005	0.820 \pm 0.005
Cu ²⁺	30.226 \pm 0.016	34.804 \pm 0.016	20.211 \pm 0.016

ND: No Detectable

Posteriormente se realizó el análisis con los electrodos modificados con PEDOT bajo las mismas condiciones, debido al comportamiento de la matriz bajo análisis (efectos de dilución para la comodidad del análisis)

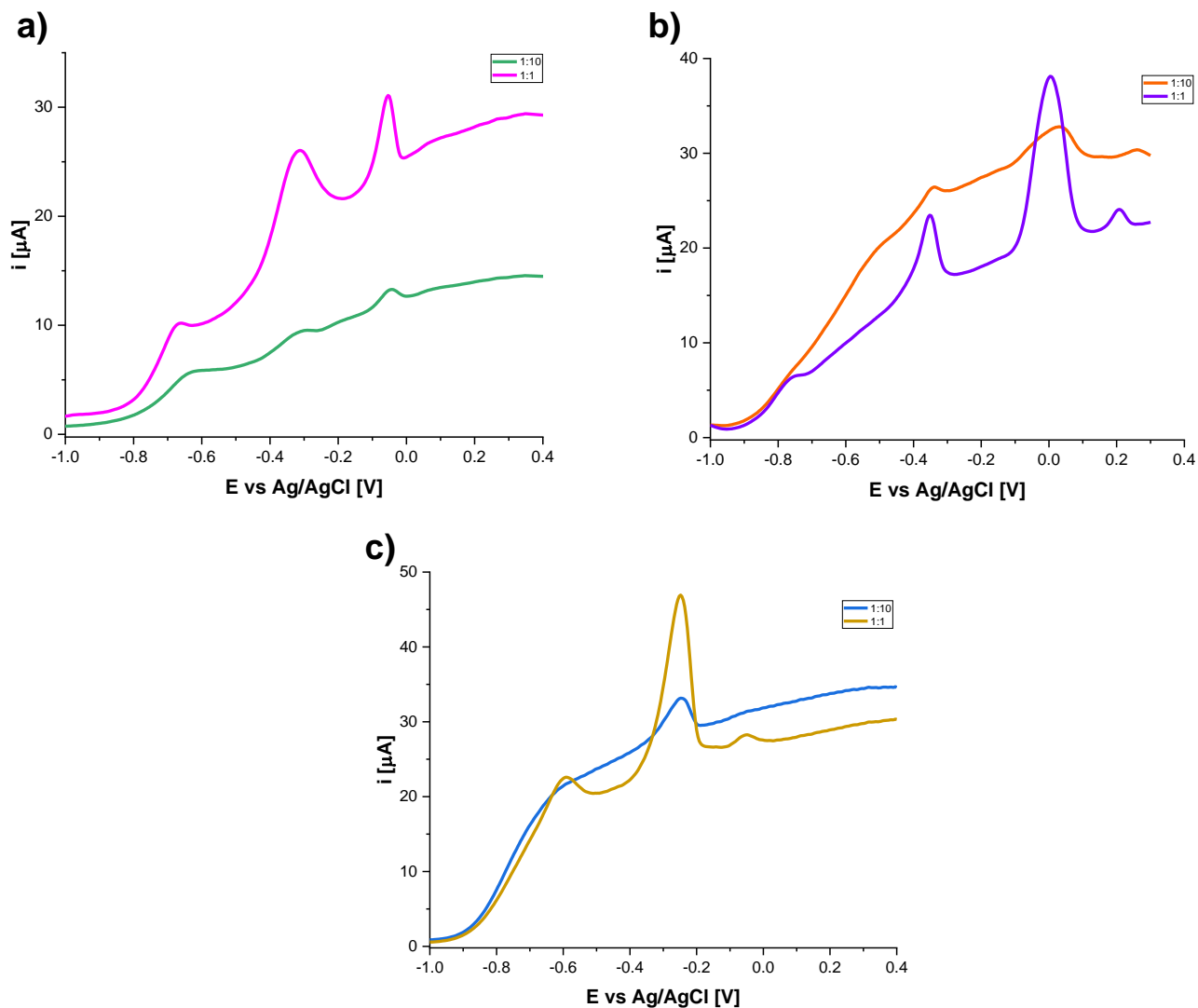


Figura 38. Gráficos de voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada realizado con electrodo modificado con PEDOT a diferentes diluciones de las muestras de mezcal de: a) Estado de México, b) Oaxaca y c) Guerrero.

Tabla 12. Corriente de pico de SWASV para el electrodo de carbón vítreo modificado con PEDOT

Metal (Dilución)	Corriente [μA]		
	Edo México	Oaxaca	Guerrero
Cd^{2+} (1:10)	5.79	4.85	N.D.
Pb^{2+} (1:1)	26.02	23.59	22.72
Cu^{2+} (1:10)	31.19*	32.69	31.29

ND: No Detectable, *: Dilución distinta

A partir de las ecuaciones resultantes de cada curva de calibración, se realiza el cálculo apropiado, realizando la corrección por el factor de dilución correspondiente para cada uno de los analitos. Con base en las ecuaciones y en la ley de propagación de la incertidumbre, se obtuvieron los siguientes resultados para la cuantificación de los metales pesados en cada una de las muestras comerciales:

Tabla 13. Resultados del análisis de las muestras comerciales

Analito	Concentración [ppm]		
	Edo México	Oaxaca	Guerrero
Cd ²⁺	12.001±0.031	2.192±0.031	N.D.
Pb ²⁺	1.936±0.024	1.293±0.024	1.060±0.024
Cu ²⁺	3.618±0.019	32.989±0.019	18.997±0.019

ND: No Detectable

A partir de los resultados obtenidos mediante ambos electrodos se puede observar con detalle el efecto de la modificación del electrodo, debido a que cómo se trata de un polímero conductor, requiere de un sobrepotencial para realizar la polarización de la interfase electrolito-electrodo, esto impacta directamente en su capacidad como sensor.

Con ayuda de este método se pudo observar que las tres muestras comerciales mantienen niveles peligrosamente elevados de los analitos sensados, estos resultados se contraponen directamente con lo establecido en la NOM para la producción de mezcal artesanal. Si bien es posible realizar análisis mediante el polímero conductor, el grosor (la cantidad de polímero conductor depositado) es también responsable de este comportamiento. No es posible establecer condiciones para el uso de menos polímero conductor, debido a que la película no se mantiene estable, en otras palabras, se desprende fácilmente e inclusive al retirarlo de la disolución la película se queda flotando en la superficie de dicha disolución.



Las muestras fueron analizadas mediante absorción atómica realizados por un laboratorio externo (Anexo D) y se compararon los resultados obtenidos por los dos electrodos modificados y el método aprobado por la NOM, absorción atómica.

Tabla 14. Comparativo de resultados de concentración de cada metal pesado analizado*

Analito	Carbón vítreo			CV:PEDOT			Absorción Atómica		
	Edo Méx	Oaxaca	Guerrero	Edo Méx	Oaxaca	Guerrero	Edo Méx	Oaxaca	Guerrero
Cd ²⁺	10.526	2.841	N.D.	12.001	2.192	N.D.	<0.1	<0.1	<0.1
Pb ²⁺	0.521	0.779	0.820	1.936	1.293	1.060	<0.1	<0.1	<0.1
Cu ²⁺	30.226	34.804	20.211	3.618	32.989	18.997	0.522	7.0	2.45

*Concentración en partes por millón (ppm)

La relevancia de establecer protocolos de detección y cuantificación queda de manifiesto, la variabilidad de los datos presentados en la tabla 14 nos da una clara perspectiva de este hecho. Dónde las técnicas analíticas, a juzgar por los valores obtenidos mediante absorción atómica, requieren la asociación de procesos que permitan establecer un protocolo estandarizado para el control de calidad y la seguridad alimentaria.

RESUMEN DE RESULTADOS



Figura 39. Resumen de resultados de la modificación del electrodo, una curva de calibración representativa, y resultados para cada mezcal analizado según su estado de procedencia.



CONCLUSIONES

Los electrodos modificados no mostraron una mayor mejoría en la actividad de sensado de los metales pesados con respecto al electrodo modificado con carbón vítreo sin modificación, basado en los resultados de sensibilidad y cuantificación.

Las condiciones experimentales establecidas demostraron ser adecuadas para llevar a cabo la cuantificación debido a que no se requieren digestiones o pretratamiento de la muestra para ser analizada, lo cual vuelve atractiva la metodología para compararla con la NOM.

Los mezcales analizados mediante voltamperometría de redisolución anódica contienen cantidades peligrosamente altas de metales pesados en su contenido, los cuales pueden causar irreversible en los individuos que consuman dichas bebidas.



Anexo A. Construcción de diagramas logarítmicos y de fracción molar para Pb^{2+} , Cu^{2+} y Cd^{2+} en medio acuoso.

El tratamiento matemático que describe el comportamiento de complejación con respecto al pH se encuentra reportado ampliamente^[86], a continuación se realiza el análisis para los analitos bajo estudio.

Plomo (Pb^{2+})

Se establecen la concentración del ion plomo:

$$[Pb^{2+}] = 1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

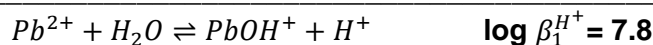
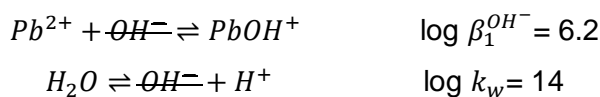
Las constantes globales de complejación del Pb^{2+} con OH^- según Martell *et. al.* son las siguientes:

$$\log \beta_1^{OH^-} = 6.2$$

$$\log \beta_2^{OH^-} = 16.3$$

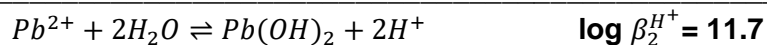
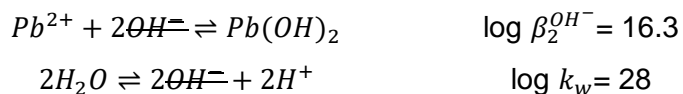
$$\log \beta_3^{OH^-} = 29.6$$

Se establece el equilibrio de la complejación del Pb^{2+} a partir de la autoprotólisis del agua para establecer la constante global de cada proceso en función del pH.



$$\beta_1^{H^+} = \frac{[PbOH^+][H^+]}{[Pb^{2+}]} = 10^{7.8}$$

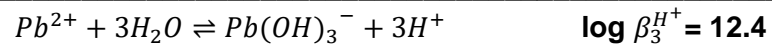
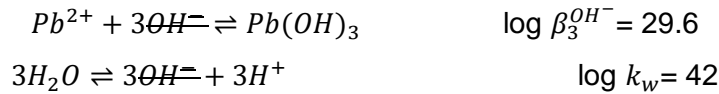
Ahora para el equilibrio de la segunda complejación



$$\beta_2^{H^+} = \frac{[Pb(OH)_2][H^+]^2}{[Pb^{2+}]} = 10^{11.7}$$



Y ahora para la tercer complejación



$$\beta_3^{H^+} = \frac{[Pb(OH)_3^-][Pb^{2+}]^3}{[Pb^{2+}]} = 10^{12.4}$$

Ahora que tenemos las constantes de complejación globales en función del pH, podemos establecer las ecuaciones matemáticas que describen el comportamiento de las reacciones de interés. Primero establecemos α de cada especie

$$\alpha_{Pb^{2+}} = 1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}$$

$$\alpha_{PbOH^+} = \frac{10^{pH - \log \beta_1^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}$$

$$\alpha_{Pb(OH)_2} = \frac{10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}$$

$$\alpha_{Pb(OH)_3^-} = \frac{10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}$$

Para obtener el diagrama logarítmico, establecemos la ecuación matemática para cada especie:

$$\log[Pb^{2+}] = \log [Pb^{2+}] - \log \left(1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} \right)$$

$$\log[PbOH^+] = \log [Pb^{2+}] + \log \left(\frac{10^{pH - \log \beta_1^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}} \right)$$

$$\log[Pb(OH)_2] = \log [Pb^{2+}] + \log \left(\frac{10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}} \right)$$

$$\log[Pb(OH)_3^-] = \log [Pb^{2+}] + \log \left(\frac{10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}} \right)$$

A partir de estas ecuaciones obtenemos el diagrama siguiente:

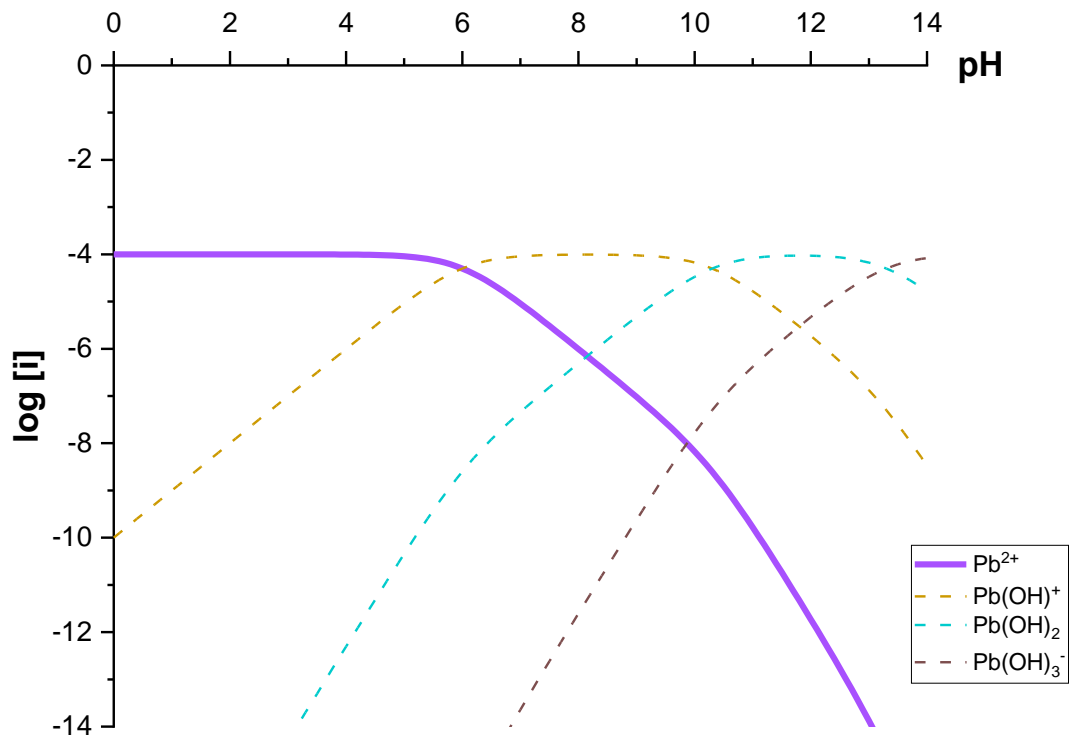


Figura A 1. Diagrama logarítmico de predominio de especies para los complejos con hidróxido de Pb²⁺.

Para finalizar, establecemos la ecuación de ϕ para cada una de las especies (a partir de las ecuaciones de α) y así obtener el diagrama de fracción molar:

$$\varphi_{Pb^{2+}} = \frac{1}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}$$

$$\varphi_{PbOH^+} = \frac{10^{pH - \log \beta_1^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}$$



$$\varphi_{Pb(OH)_2} = \frac{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}{10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}}}$$

$$\varphi_{Pb(OH)_3^-} = \frac{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}{10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}$$

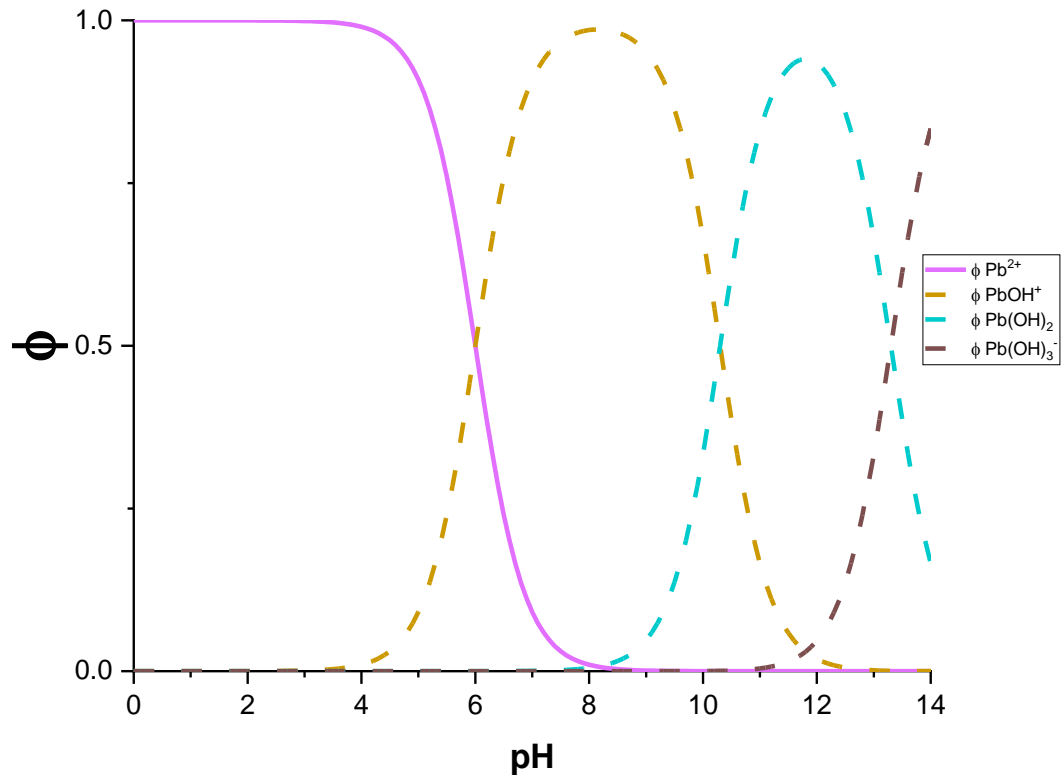


Figura A 2. Diagrama de fracción molar para cada especie de Pb²⁺



Cobre (Cu²⁺)

Se establecen la concentración del ion cobre:

$$[\text{Cu}^{2+}] = 1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

Las constantes globales de complejación del Cu²⁺ con OH⁻ según Ringbom son las siguientes:

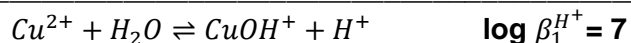
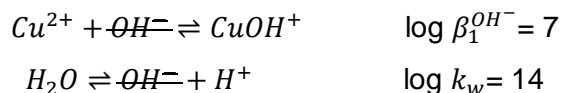
$$\log \beta_1^{\text{OH}^-} = 7$$

$$\log \beta_2^{\text{OH}^-} = 20.6$$

$$\log \beta_3^{\text{OH}^-} = 37.1$$

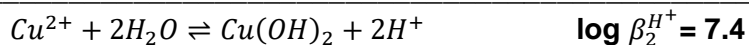
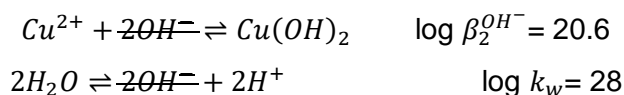
$$\log \beta_4^{\text{OH}^-} = 56.1$$

Se establece el equilibrio de la complejación del Cu²⁺ a partir de la autoprotólisis del agua para establecer la constante global de cada proceso en función del pH.



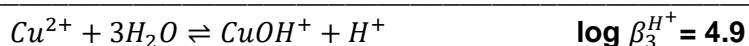
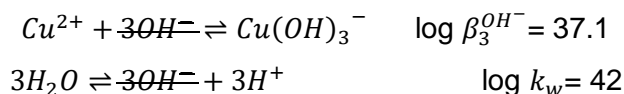
$$\beta_1^{\text{H}^+} = \frac{[\text{CuOH}^+][\text{H}^+]}{[\text{Cu}^{2+}]} = 10^7$$

Ahora para la segunda reacción de complejación



$$\beta_2^{\text{H}^+} = \frac{[\text{Cu}(\text{OH})_2][\text{H}^+]^2}{[\text{Cu}^{2+}]} = 10^{7.4}$$

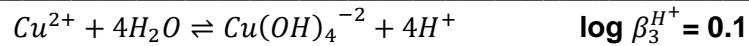
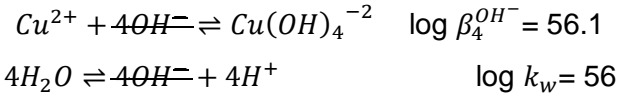
Ahora para la tercer reacción de complejación





$$\beta_3^{H^+} = \frac{[CuOH^+][H^+]}{[Cu^{2+}]} = 10^7$$

Ahora para la cuarta reacción de complejación



$$\beta_3^{H^+} = \frac{[CuOH^+][H^+]}{[Cu^{2+}]} = 10^{0.1}$$

Ahora que tenemos las constantes de complejación globales en función del pH, podemos establecer las ecuaciones matemáticas que describen el comportamiento de las reacciones de interés. Primero establecemos α de cada especie

$$\alpha_{Cu^{2+}} = 1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}$$

$$\alpha_{CuOH^+} = \frac{10^{pH - \log \beta_1^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}$$

$$\alpha_{Cu(OH)_2} = \frac{10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}$$

$$\alpha_{Cu(OH)_3^-} = \frac{10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}$$

$$\alpha_{Cu(OH)_4^{-2}} = \frac{10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}$$

Para obtener el diagrama logarítmico, establecemos la ecuación matemática para cada especie:

$$\log[Cu^{2+}] = \log [Cu^{2+}] - \log \left(1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}} \right)$$

$$\log[\text{CuOH}^+] = \log[\text{Cu}^{2+}] + \log \left(\frac{10^{pH - \log \beta_1^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}} \right)$$

$$\log[\text{Cu}(\text{OH})_2] = \log[\text{Cu}^{2+}] + \log \left(\frac{10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}} \right)$$

$$\log[\text{Cu}(\text{OH})_3^-] = \log[\text{Cu}^{2+}] + \log \left(\frac{10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}} \right)$$

$$\log[\text{Cu}(\text{OH})_4^{-2}] = \log[\text{Cu}^{2+}] + \log \left(\frac{10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}} \right)$$

A partir de las ecuaciones anteriores obtenemos el siguiente diagrama:

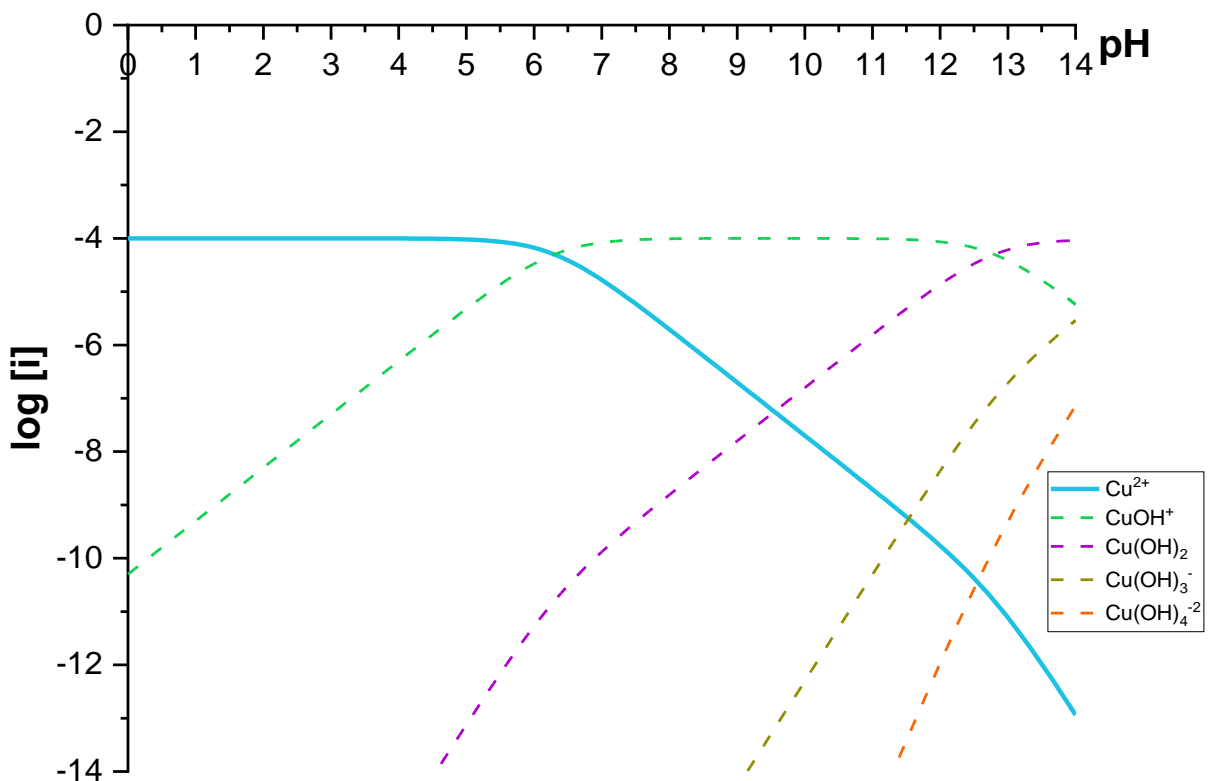


Figura A 3. Diagrama logarítmico de predominio de especies para los complejos con hidróxido de Cu^{2+} .

Para finalizar, establecemos la ecuación de ϕ para cada una de las especies (a partir de las ecuaciones de α) y así obtener el diagrama de fracción molar:



$$\varphi_{Cu^{2+}} = \frac{1}{1 + 10^{pH - \log\beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log\beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log\beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log\beta_4^{H^+}}}$$
$$\varphi_{CuOH^+} = \frac{1 + 10^{pH - \log\beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log\beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log\beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log\beta_4^{H^+}}}{10^{pH - \log\beta_1^{H^+}}}$$
$$\varphi_{Cu(OH)_2} = \frac{1 + 10^{pH - \log\beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log\beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log\beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log\beta_4^{H^+}}}{10^{2pH - \log\beta_2^{H^+}}}$$
$$\varphi_{Cu(OH)_3^-} = \frac{1 + 10^{pH - \log\beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log\beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log\beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log\beta_4^{H^+}}}{10^{3pH - \log\beta_3^{H^+}}}$$
$$\varphi_{Cu(OH)_4^{2-}} = \frac{1 + 10^{pH - \log\beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log\beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log\beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log\beta_4^{H^+}}}{10^{4pH - \log\beta_4^{H^+}}}$$

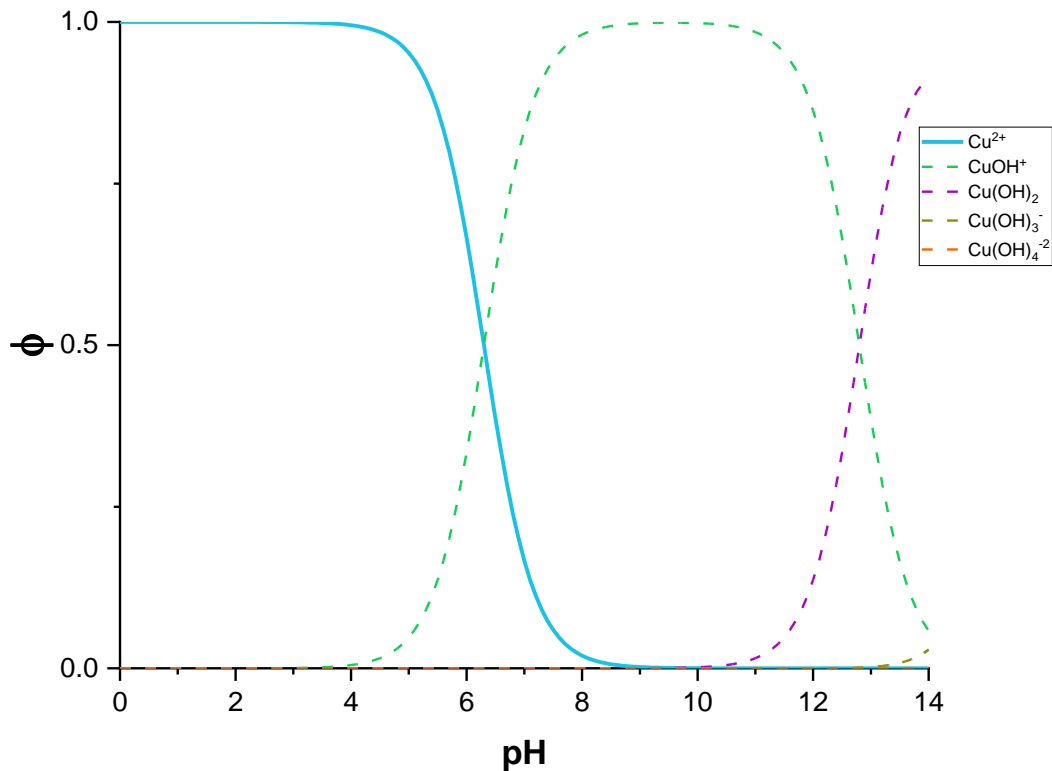


Figura A 4. Diagrama de fracción molar para cada especie de Cu^{2+}



Cadmio (Cd²⁺)

Se establecen la concentración del ion cadmio:

$$[\text{Cd}^{2+}] = 1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

Las constantes globales de complejación del Cd²⁺ con OH⁻ según Martell et al son las siguientes:

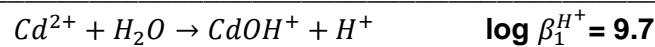
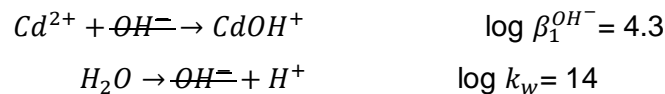
$$\log \beta_1^{\text{OH}^-} = 4.3$$

$$\log \beta_2^{\text{OH}^-} = 7.7$$

$$\log \beta_3^{\text{OH}^-} = 10.3$$

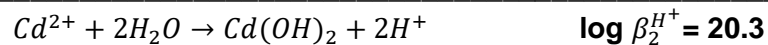
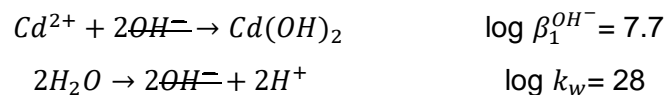
$$\log \beta_4^{\text{OH}^-} = 12$$

Se establece el equilibrio de la complejación del Cd²⁺ a partir de la autoprotólisis del agua para establecer la constante global de cada proceso en función del pH.



$$\beta_1^{\text{H}^+} = \frac{[\text{CdOH}^+][\text{H}^+]}{[\text{Cd}^{2+}]} = 10^{9.7}$$

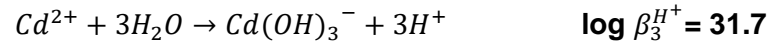
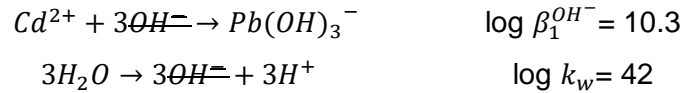
Ahora para el equilibrio de la segunda complejación



$$\beta_2^{\text{H}^+} = \frac{[\text{Cd}(\text{OH})_2][\text{H}^+]^2}{[\text{Cd}^{2+}]} = 10^{20.3}$$

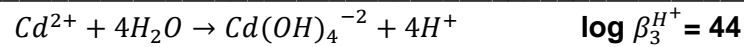
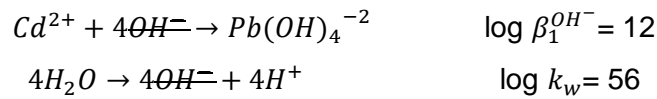


Ahora para la tercer complejación



$$\beta_3^{H^+} = \frac{[Cd(OH)_3^-][H^+]^3}{[Cd^{2+}]} = 10^{28.7}$$

Y ahora para la cuarta complejación



$$\beta_4^{H^+} = \frac{[Cd(OH)_4^{-2}][H^+]^4}{[Cd^{2+}]} = 10^{44}$$

Ahora que tenemos las constantes de complejación globales en función del pH, podemos establecer las ecuaciones matemáticas que describen el comportamiento de las reacciones de interés. Primero establecemos α de cada especie

$$\alpha_{Cd^{2+}} = 1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}$$

$$\alpha_{CdOH^+} = \frac{10^{pH - \log \beta_1^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}$$

$$\alpha_{Cd(OH)_2} = \frac{10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}$$

$$\alpha_{Cd(OH)_3^-} = \frac{10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}$$

$$\alpha_{Cd(OH)_4^{-2}} = \frac{10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}$$

Para obtener el diagrama logarítmico, establecemos la ecuación matemática para cada especie:

$$\log[Cd^{2+}] = \log[Cd^{2+}] - \log \left(1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}} \right)$$

$$\log[CdOH^+] = \log [Cd^{2+}] - \log \left(\frac{10^{pH - \log \beta_1^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}} \right)$$

$$\log[Cd(OH)_2] = \log [Cd^{2+}] - \log \left(\frac{10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}} \right)$$

$$\log[Cd(OH)_3^-] = \log [Cd^{2+}] - \log \left(\frac{10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}} \right)$$

$$\log[Cd(OH)_4^{2-}] = \log [Cd^{2+}] - \log \left(\frac{10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}} \right)$$

A partir de estas ecuaciones obtenemos el diagrama siguiente:

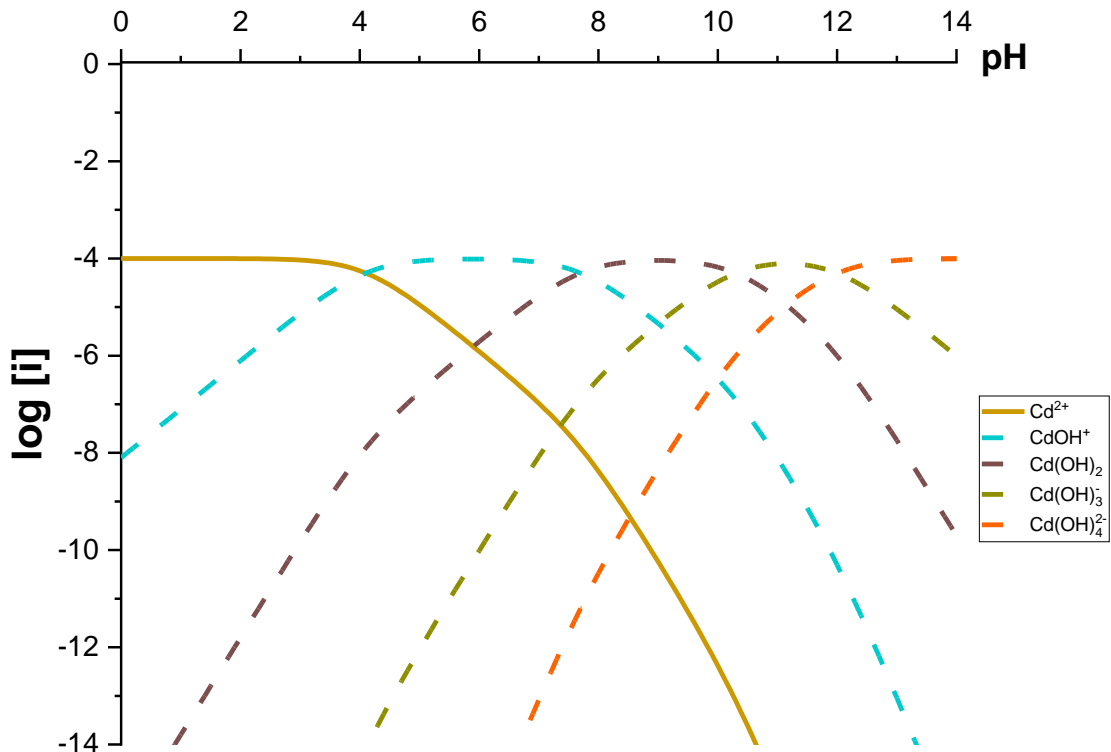


Figura A 5. Diagrama logarítmico de predominio de especies para los complejos con hidróxido de Cd^{2+} .



Para finalizar, establecemos la ecuación de ϕ para cada una de las especies (a partir de las ecuaciones de α) y así obtener el diagrama de fracción molar:

$$\phi_{Cd^{2+}} = \frac{1}{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}$$

$$\phi_{CdOH^+} = \frac{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}{10^{pH - \log \beta_1^{H^+}}}$$

$$\phi_{Cd(OH)_2} = \frac{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}{10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}}}$$

$$\phi_{Cd(OH)_3^-} = \frac{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}{10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}}}$$

$$\phi_{Cd(OH)_4^{2-}} = \frac{1 + 10^{pH - \log \beta_1^{H^+}} + 10^{2pH - \log \beta_2^{H^+}} + 10^{3pH - \log \beta_3^{H^+}} + 10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}{10^{4pH - \log \beta_4^{H^+}}}$$

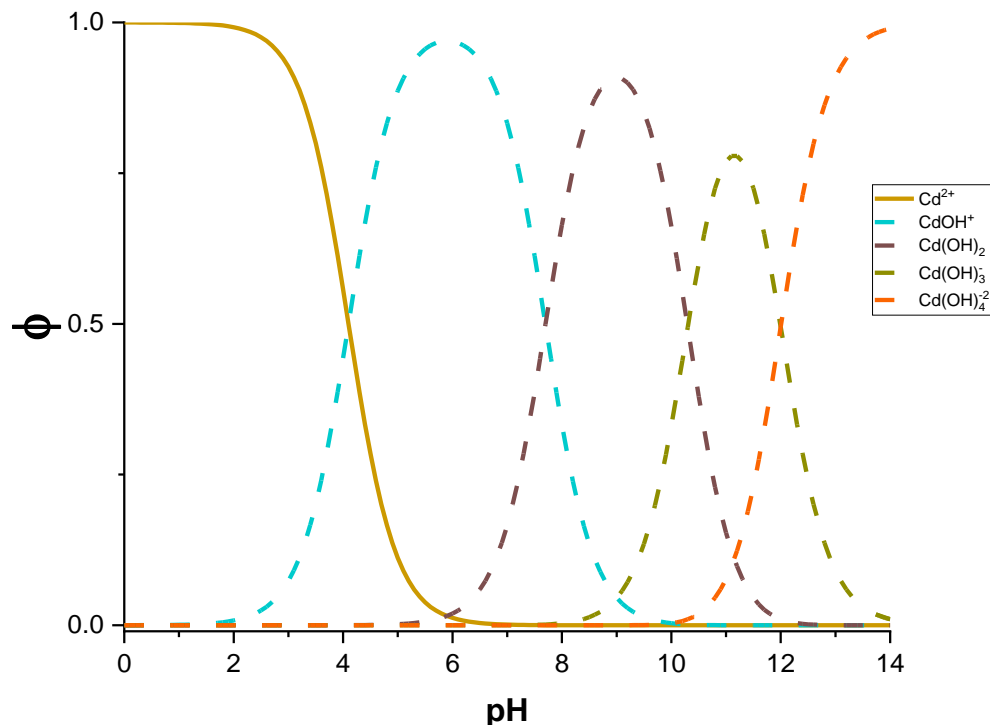
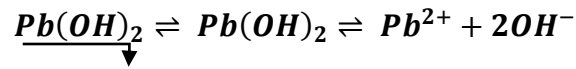


Figura A 6. Diagrama de fracción molar para cada especie de Cd^{2+}



A partir de los equilibrios de solubilidad de cada uno de los productos insolubles, se proponen las ecuaciones complementarias de solubilidad condicional (S') en función del pH ($S' = f(\text{pH})$).



Se propone la constante de equilibrio correspondiente, que es definida como constante de solubilidad (k_s)

$$k_s = k_{eq} = [\text{Pb}^{2+}][\text{OH}^-]^2$$

Es bien sabido que $k_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-]$, este recurso es utilizado para dejar la constante de equilibrio en función de la concentración de H^+

$$k_s = [\text{Pb}^{2+}] \left[\frac{k_w}{[\text{H}^+]} \right]^2$$

Se linealiza aplicando logaritmo a toda la ecuación

$$\log k_s = \log[\text{Pb}^{2+}] + 2(\log k_w - \log[\text{H}^+])$$

La concentración de plomo ($[\text{Pb}^{2+}]$) se define como S para simplificar el cálculo y se despeja $\log S$

$$\log S = \log k_s - 2(\log k_w - \log[\text{H}^+])$$

Aplicando los siguientes conceptos:

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+] \qquad \text{pk}_w = -\log k_w$$

Reordenando la ecuación de $\log S = f(\text{pH})$

$$\log S = \log k_s - 2\text{pH} + \text{pk}_w$$

A partir de esta ecuación se traza una línea recta para cada analito, realizando la sustitución de los valores de $\log k_s$ respectivo para cada complejo insoluble, datos obtenidos mediante Ringbom *et al.*

$$\log k_{s[\text{Cu(OH)}_2]} = -18.59$$

$$\log k_{s[\text{Cd(OH)}_2]} = -14.12$$



$$\log k_{s[Pb(OH)_2]} = -14.84$$

Se acoplan los tres comportamientos en una misma gráfica para realizar la comparación y determinar las condiciones experimentales de trabajo

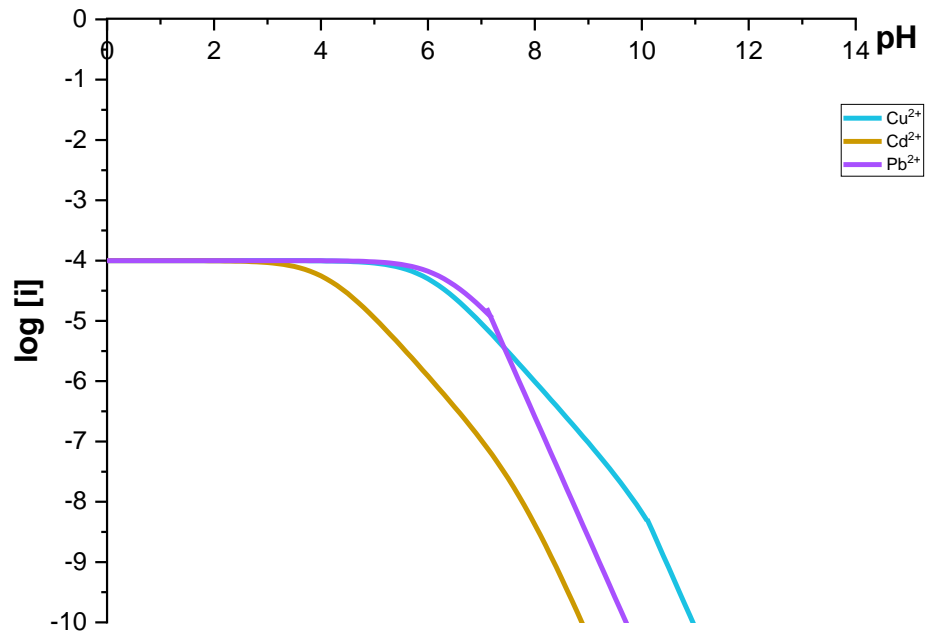


Figura A 7. Diagrama logarítmico de predominio de especies para Cu²⁺, Cd²⁺ y Pb²⁺ a una concentración 1x10⁻⁴ mol•L⁻¹ corregido por solubilidad.



Anexo B. Verificación de material volumétrico.

La verificación del material volumétrico (matraces volumétricos) se realizó con base en el procedimiento establecido por el CENAM^[87] en donde la verificación del material volumétrico está realizada a una temperatura de 20 °C, se toma en consideración la densidad del agua a la temperatura de calibración. La verificación se realiza mediante la diferencia de masas, el matraz lleno y el matraz vacío con ayuda de una balanza analítica que cuente con certificado de calibración, esto con el objetivo de realizar una carta de trazabilidad de nuestro instrumental.

Para comenzar con los cálculos necesarios, se debe determinar el volumen de agua real contenida en cada matraz, con base en la siguiente ecuación:

$$V_{20} = (M_c - M_b) \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_B} \right) \left(1 - \frac{\rho_A}{\rho_B} \right) (1 - \alpha(T_A - 20)) \quad \text{Ecuación 1C}$$

En donde:

$V_{20} = \text{Volumen real a } 20 \text{ }^\circ\text{C} [\text{cm}^3]$

$M_c = \text{Masa del matraz con agua [g]}$

$M_b = \text{Masa del matraz vacío [g]}$

$\rho_A = \text{Densidad del agua utilizada} \left[\frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \right]$

$\rho_a = \text{Densidad del aire a condiciones del laboratorio} \left[\frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \right]$

$\rho_B = \text{Densidad de las pesas de la balanza} \left[8000 \frac{\text{kg}}{\text{cm}^3} \right]$

$\alpha = \text{Coeficiente de expansión cúbica del borosilicato} [1 \times 10^{-5} \text{ K}^{-1}]$

$T_A = \text{Temperatura del agua durante la calibración [}^\circ\text{C]}$

Para que los resultados sean lo más precisos posibles se realiza la determinación de la densidad del agua utilizada y del aire en las condiciones de trabajo experimentales con base en lo establecido por el CENAM^[88]:



$$\rho_a = \frac{0.34848p - 0.009h_r \exp^{0.061t}}{273.15+t}$$

Ecuación 2C

Donde

$$\rho_a = \text{Densidad del aire} \left[\frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right]$$

$$p = \text{Presión barométrica} [\text{hPa}]$$

$$h_r = \text{Humedad relativa del aire} [\%]$$

$$t = \text{Temperatura del aire} [^\circ\text{C}]$$

El valor extraído de las condiciones medioambientales para la calibración fue de **0.001216 g/cm³**

Por otra parte el valor de la densidad del agua debe ser calculado bajo las condiciones de trabajo según lo reportado por CENAM^[89]:

$$\rho_A = \left\{ a_5 \left[1 - \frac{(t+a_1)^2(t+a_2)}{a_3(t+a_4)} \right] + C_{ad} \right\} \cdot F_c$$

Ecuación 3C

Donde:

$$t = \text{Temperatura del agua} [^\circ\text{C}]$$

$$a_1 = -3.983035 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$a_2 = 301.797 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$a_3 = 522528.9 \text{ } ^\circ\text{C}^2$$

$$a_4 = 69.34881 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$a_5 = 999.972 \text{ kg/m}^3$$

$$F_c = \text{Factor de compresibilidad}$$

A su vez el factor compresibilidad está calculado mediante la siguiente ecuación:

$$F_c = [1 + (K_0 + K_1t + K_2t^2)(p - p_0)]$$

Ecuación 4C

$$p = \text{Presión atmosférica} [\text{Pa}]$$

$$p_0 = 101325 \text{ Pa}$$

$$K_0 = 50.74 \times 10^{-11} \text{ Pa}^{-1}$$

$$K_1 = -0.326 \times 10^{-11} \text{ Pa}^{-1}$$

$$K_2 = 0.00416 \times 10^{-11} \text{ Pa}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-2}$$



Los resultados de las mediciones realizadas se recolectaron en la siguiente tabla

Número de Medición	Masa del matraz vacío [g]	Masa del matraz lleno [g]	Masa del agua [g]
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

El modelo matemático para calcular la incertidumbre de cada contribución se muestra a continuación:

$$u_c^2(V_{20^\circ C}) = \left[\left(\frac{\partial V_{20^\circ C}}{\partial M_{b+agua}} \right)^2 u_c^2(M_{b+agua}) + \left(\frac{\partial V_{20^\circ C}}{\partial M_b} \right)^2 u_c^2(M_b) + \left(\frac{\partial V_{20^\circ C}}{\partial \rho_{agua}} \right)^2 u_c^2(\rho_{agua}) + \left(\frac{\partial V_{20^\circ C}}{\partial \rho_{aire}} \right)^2 u_c^2(\rho_{aire}) + \left(\frac{\partial V_{20^\circ C}}{\partial t_{agua}} \right)^2 u_c^2(t_{agua}) + \left(\frac{\partial V_{20^\circ C}}{\partial \alpha} \right)^2 u_c^2(\alpha) + \left(\frac{\partial V_{20^\circ C}}{\partial \rho_{pesas}} \right)^2 u_c^2(\rho_{pesas}) \right]$$

Ecuación 5C

Este modelo esta simplificado en función de la ley de propagación de la incertidumbre, pero al terminar el cálculo se obtiene solamente la incertidumbre combinada estándar, para obtener la incertidumbre expandida, el resultado se multiplica por 2, el cual es el factor de cobertura para un nivel de confianza del 95%. Los resultados obtenidos se muestran en el apartado de material verificado.



Anexo C. Informe de calibración de balanza.

METROLOGICAL COM IN TEC SERVICES, S.C.

8403 4953 / 5349 4977 / 5242 2489 / 5349 4923 / 70487290 / Zacatecas XH, Cal. Paredón, Del. Aguascalientes, C.P. 62960 México, CD.MEX.

Certificado de calibración número: COM-22-IC-01311 **Hoja 1 de 5**
Number of calibration report **COM-PT-BZ**
Version **Versión 5.5**

Certificado de calibración

ISO/IEC 17025:2017 Acreditación No. 71790 P1/A Calibration of Weight Instrument

Datos del cliente
Customer data
Cliente: Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM
Customer (CQIQS UAEMex-UNAM)
Dirección: Carretera Toluca Atlacomulco km 14.5, C.P. 50200, Toluca, Estado de México.
Address

Datos del Instrumento
Instrument data
Instrumento: Balanza **Modelo:** EP214C
Instrument **Model**
Marca: Ohaus **Número de Identificación:** 02224109
Manufacturer **User id**
Número de serie: K219112743753 **Ubicación:** Laboratorio
Serial number **Location**
Contacto: Dr. Bernardo A. Frontana Iribre
Contact
Correo electrónico: bafronta@unam.mx **Teléfono:** 7222766610
Email **Phone**

Fecha
Date
Fecha de calibración: 2022-06-03
Calibration date
Fecha de emisión: 2022-06-14
Date of issue

Calibró
Calibrated by
L.Q. Ignacio K. Sánchez Resenda
Téc. Metrología

Autorizó
Authorized by
Q.R.P. Edgardo Lorenzo Cruz
Ing. Metrología

De la aprobación de Metrological COM IN TEC Services, S. C., se le debe reproducir este certificado de calibración, excepto cuando se reproduce en su totalidad, esto proporcione la seguridad de que por ser de este certificado no se sacan de contexto.

ACREDITACIÓN ISO/IEC 17025:2017
FERRY JOHNSON LABORATORY / CALIBRATION ACCREDITATION - 7191

www.comintec.com.mx
Calle de la Ciencia #1, Colonia Santa Fe, San Juan de los Ríos, C.P. 621 000, Zacatecas, México

METROLOGICAL COM IN TEC SERVICES, S.C.

8403 4953 / 5349 4977 / 5242 2489 / 5349 4923 / 70487290 / Zacatecas XH, Cal. Paredón, Del. Aguascalientes, C.P. 62960 México, CD.MEX.

Certificado de calibración número: COM-22-IC-01311 **Hoja 2 de 5**
Number of calibration report **COM-PT-BZ**
Version **Versión 5.5**

Condiciones ambientales de calibración
Environmental conditions of calibration
Temperatura inicial: 21.6 °C **Temperatura final:** 21.6 °C
Initial temperature **Final temperature**
Humedad relativa inicial: 26 %RH **Humedad relativa final:** 26 %RH
Initial relative humidity **Final relative humidity**
Método utilizado: Comparación directa de escudo **Presión barométrica:** 740 hPa
Used procedure "Calibración de equipos para pesar" COM-PT-BZ **Barometric pressure**

Lugar de calibración: Instalaciones de Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM
Calibration place Sustentable UAEM-UNAM

Especificaciones del instrumento
Instrument's specification

Alcance máximo:	210	g
División mínima:	0.00	g
Descripción del ítem:	Balanza en buenas condiciones de uso y calibración	

Patrón utilizado
Used standards
Descripción: Juego de pesas clasificación E2 (1 mg a 500 g)
Description

Número de Identificación: COM-EP-127, COM-EP-128
User id

Informe(s) de calibración no.: CCN0786.M/2021, CCN0785.M/2021
Number of calibration report expedido por INSCO de México, S.A. de CV

Trazabilidad: Prototipo nacional no. 21, guardado por el Centro Nacional de Metrología (CENAM)
Traceability

De la aprobación de Metrological COM IN TEC Services, S. C., se le debe reproducir este certificado de calibración, excepto cuando se reproduce en su totalidad, esto proporcione la seguridad de que por ser de este certificado no se sacan de contexto.

ACREDITACIÓN ISO/IEC 17025:2017
FERRY JOHNSON LABORATORY / CALIBRATION ACCREDITATION - 7191

www.comintec.com.mx
Calle de la Ciencia #1, Colonia Santa Fe, San Juan de los Ríos, C.P. 621 000, Zacatecas, México

METROLOGICAL COM IN TEC SERVICES, S.C.

8403 4953 / 5349 4977 / 5242 2489 / 5349 4923 / 70487290 / Zacatecas XH, Cal. Paredón, Del. Aguascalientes, C.P. 62960 México, CD.MEX.

Certificado de calibración número: COM-22-IC-01311 **Hoja 3 de 5**
Number of calibration report **COM-PT-BZ**
Version **Versión 5.5**

Resultados de la calibración
Calibration results

Tabla 1. Resultados obtenidos en la prueba de repetibilidad.

Carga	Número de repeticiones	Desviación estándar de lecturas	Unidad
100	5	0.00000	g
200	5	0.00000	g

Tabla 2. Resultados de error de indicación

Carga	Valor obtenido	Masa convencional	Error	Incertidumbre (k=2)
0	0	0	0	0
20	20.00000	20.00001	0.00001	0.00017
40	40.00000	40.00001	0.00001	0.00026
60	59.99990	60.00000	0.00010	0.00024
80	79.99980	80.00001	0.00021	0.00037
100	100.00000	99.99999	-0.00001	0.00025
120	119.99990	120.00000	0.00010	0.00039
140	140.00000	140.00000	0.00000	0.00050
160	159.99990	159.99999	0.00009	0.00047
180	179.99990	180.00000	0.00010	0.00066
200	200.00000	200.00000	0.00000	0.00085
210	210.00020	210.00000	-0.00020	0.00059

Tabla 3. Resultados de la prueba de excentricidad.

Carga	100	g
Posición	Centro (1)	2
Valor	0.00000	0.00000
	3	4
	0.00000	0.00000
	5	0.00000

Tipos de platos 1 2 3 4) Otro

De la aprobación de Metrological COM IN TEC Services, S. C., se le debe reproducir este certificado de calibración, excepto cuando se reproduce en su totalidad, esto proporcione la seguridad de que por ser de este certificado no se sacan de contexto.

ACREDITACIÓN ISO/IEC 17025:2017
FERRY JOHNSON LABORATORY / CALIBRATION ACCREDITATION - 7191

www.comintec.com.mx
Calle de la Ciencia #1, Colonia Santa Fe, San Juan de los Ríos, C.P. 621 000, Zacatecas, México

METROLOGICAL COM IN TEC SERVICES, S.C.

8403 4953 / 5349 4977 / 5242 2489 / 5349 4923 / 70487290 / Zacatecas XH, Cal. Paredón, Del. Aguascalientes, C.P. 62960 México, CD.MEX.

Certificado de calibración número: COM-22-IC-01311 **Hoja 4 de 5**
Number of calibration report **COM-PT-BZ**
Version **Versión 5.5**

Gráfico de error con sus incertidumbres asociadas. Unidades (g)

Fig. 1 Gráfico de error con sus incertidumbres asociadas. Unidades (g)

Tempo de estabilización de la indicación 5.06 segundos, con una carga del 50% de su capacidad máxima

De la aprobación de Metrological COM IN TEC Services, S. C., se le debe reproducir este certificado de calibración, excepto cuando se reproduce en su totalidad, esto proporcione la seguridad de que por ser de este certificado no se sacan de contexto.

ACREDITACIÓN ISO/IEC 17025:2017
FERRY JOHNSON LABORATORY / CALIBRATION ACCREDITATION - 7191

www.comintec.com.mx
Calle de la Ciencia #1, Colonia Santa Fe, San Juan de los Ríos, C.P. 621 000, Zacatecas, México



Anexo D. Resultados de análisis por espectroscopia de absorción atómica Estado de México, Tenancingo de Degollado

Universidad Autónoma del Estado de México
UAEM Facultad de Química

Coordinación de Servicios 025072

INFORME DE ENSAYOS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AMBIENTAL

Página: 1/1
Folio: 23-0481
Fecha de emisión: 05/JUN/2023

DATOS DEL CLIENTE
NOMBRE: DR. BERNARDO A. FRONTANA URIBE
DIRECCIÓN: CENTRO CONJUNTO EN QUÍMICA SUSTENTABLE UAEM-UNAM
ATENCIÓN A: DR. BERNARDO A. FRONTANA URIBE

DATOS DE LA MUESTRA: PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE
DESCRIPCIÓN: ALIMENTO
IDENTIFICACIÓN: MEZCAL MUESTRA A

DATOS DEL MUESTREO: PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE
MONITOR: CLIENTE
LUGAR:
FECHA:

FECHA DE RECEPCIÓN: 13 DE JUNIO DE 2023

PARÁMETROS	RESULTADOS	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES	UNIDADES	REFERENCIA	FECHA DE ANÁLISIS
CADMIO	<0,1	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230704
COBRE	0,522	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230628
PLOMO	<0,1	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230704
ZINC	<0,1	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230704

OBSERVACIONES: Los ensayos se ejecutaron en la muestra con las características de su recepción.

REVISÓ Y APROBÓ:
Q. BERNARDO A. SALAZAR MAYA
CED. PROF. 630890
JEFE DE DEPARTAMENTO

ESTE INFORME CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LOS RESULTADOS DE LA MUESTRA SOMETIDA A PRUEBA Y QUEDA PROHIBIDA LA ALTERACIÓN O REPRODUCCIÓN PARCIAL DEL PRESENTE INFORME SIN AUTORIZACIÓN PREVIA DE LA COORDINACIÓN.

FMT-0022-6 cmo

Paseo Calles Esq. Paseo Toluca. Tel.: (01-722) 2-17-41-20 Toluca, Edo. de Méx.
E-mail: fgservicio@yahoo.com.mx - servicio_qlm@uaemex.mx

Oaxaca, Huajuapán de León

Universidad Autónoma del Estado de México
UAEM Facultad de Química

Coordinación de Servicios 025073

INFORME DE ENSAYOS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AMBIENTAL

Página: 1/1
Folio: 23-0482
Fecha de emisión: 05/JUN/2023

DATOS DEL CLIENTE
NOMBRE: DR. BERNARDO A. FRONTANA URIBE
DIRECCIÓN: CENTRO CONJUNTO EN QUÍMICA SUSTENTABLE UAEM-UNAM
ATENCIÓN A: DR. BERNARDO A. FRONTANA URIBE

DATOS DE LA MUESTRA: PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE
DESCRIPCIÓN: ALIMENTO
IDENTIFICACIÓN: MEZCAL MUESTRA B

DATOS DEL MUESTREO: PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE
MONITOR: CLIENTE
LUGAR:
FECHA:

FECHA DE RECEPCIÓN: 13 DE JUNIO DE 2023

PARÁMETROS	RESULTADOS	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES	UNIDADES	REFERENCIA	FECHA DE ANÁLISIS
CADMIO	<0,1	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230704
COBRE	7,0	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230628
PLOMO	<0,1	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230704
ZINC	<0,1	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230704

OBSERVACIONES: Los ensayos se ejecutaron en la muestra con las características de su recepción.

REVISÓ Y APROBÓ:
Q. BERNARDO A. SALAZAR MAYA
CED. PROF. 630890
JEFE DE DEPARTAMENTO

ESTE INFORME CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LOS RESULTADOS DE LA MUESTRA SOMETIDA A PRUEBA Y QUEDA PROHIBIDA LA ALTERACIÓN O REPRODUCCIÓN PARCIAL DEL PRESENTE INFORME SIN AUTORIZACIÓN PREVIA DE LA COORDINACIÓN.

FMT-0022-6 cmo

Paseo Calles Esq. Paseo Toluca. Tel.: (01-722) 2-17-41-20 Toluca, Edo. de Méx.
E-mail: fgservicio@yahoo.com.mx - servicio_qlm@uaemex.mx



Guerrero, Tixtla de Guerrero

025974
Coordinación de Servicios

Universidad Autónoma del Estado de México
UAEM
Facultad de Química

INFORME DE ENSAYOS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AMBIENTAL

Página: 1/1
Folio: 23-0483
Fecha de emisión: 05Jun2023

DATOS DEL CLIENTE
NOMBRE: DR. BERNARDO A. FRONTANA URIBE
DIRECCIÓN: CENTRO CONJUNTO EN QUÍMICA SUSTENTABLE UAEM-UNAM
ATENCIÓN A: DR. BERNARDO A. FRONTANA URIBE

DATOS DE LA MUESTRA: PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE
DESCRIPCIÓN: ALIMENTO
IDENTIFICACIÓN: MEXCAL MUESTRA C

DATOS DEL MUESTREO: PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE
MONITOR: CLIENTE
LUGAR: _____
FECHA: _____

FECHA DE RECEPCIÓN: 13 DE JUNIO DE 2023

PARÁMETROS	RESULTADOS	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES	UNIDADES	REFERENCIA	FECHA DE ANÁLISIS
CADMIO	<0,1	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230704
COBRE	2,45	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230628
PLOMO	<0,1	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230704
ZINC	<0,1	No disponible	mg/L	Absorción atómica	20230704

OBSERVACIONES: Los ensayos se ejecutaron en la muestra con las características de su recepción.

REVISÓ Y APROBÓ

D. SERGIO A. SALAZAR MAYA
CED. PROF. 000980
JEFE DE DEPARTAMENTO

ESTE INFORME CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LOS RESULTADOS DE LA MUESTRA SOMETIDA A PRUEBA Y QUEDA PROHIBIDA LA ALTERACIÓN O REPRODUCCIÓN PARCIAL DEL PRESENTE INFORME SIN AUTORIZACIÓN PREVIA DE LA COORDINACIÓN.

FMT-0022-6 csmo

Paseo Cuadrón Esq. Paseo Toluca Tel.: (01-722) 2-17-41-20. Tehuacan, Edo. de Méx.
E-mail: fgservicio@yahoo.com.mx servicios_quimica@uaemex.mx



BIBLIOGRAFÍA

- [1] Esparza-Ibarra, E. L., Violante-González, J., Monks, S., Iñiguez, J., Araujo-Andrade, C., Rössel-Kipping, E., **(2015)**, *Estudios en Biodiversidad*,
- [2] Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal (5 de junio del 2023)
<https://comercam-dom.org.mx/>
- [3] Norma Oficial Mexicana NOM-070-SCFI-2016, Bebidas alcohólicas-Mezcales-especificaciones (5 de junio del 2023)
https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/6437/seeco11_C/seeco11_C.html
- [4] García Barron, S. E. (2012) Efecto de la región de procedencia del Agave y las condiciones de fermentación sobre el perfil aromático de mezcal [Tesis de Maestría, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco]
<https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/429>
- [5] Mudgal, V., Madaan, N., Mugdal, A., Singh, R. B. & Mishra, S. **(2010)**, *The Open Nutrition Journal*, 3, 94 – 99
- [6] Mahurpawar, M. **(2015)**, *International Journal of Research Granthaalayah*, 1, 1 – 7.
- [7] SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). **(2008)** Programa Nacional hídrico 2007 – 2012 (CONAGUA) p 163
- [8] Schoeters, G., Hond, E., Zuurbier, M., Naginiene, R., Van Den Hazel, P., Stilianakis, N., Ronchetti, R. & Koppe, J. G. **(2008)** *Acta Paediatrica*, 95, 50-54.
- [9] Nordberg, G., Herber, R. & Alessio, L. **(1992)** IARC Scientific Publications, 469
- [10] Naseem, R. & Tahir, S. S. **(2001)** *Water Research*, 35(16), 3982-3986
- [11] Volesky, B. **(2007)** *Water Research*, 41, 4017-4029
- [12] Abbas, S., Ismail, I., Mostafa, T. & Sulaymon, A. **(2014)** *Journal of Chemical Science and Technology*, 3, 74-102
- [13] Pellerá, F., Giannis, A., Kalderis, D., Anastasiadou, K., Stegmann, R., Wang, J. Y. & Gidarakos, E. **(2012)** *Journal of Environmental Management*, 96(1), 35-42



- [14] Arellano-Plaza, M., Paez-Lerma, J., Soto-Cruz, N., Kirchmayr, M. & Mathis, A. **(2022)**, *Frontiers in sustainable foods systems*, 6, 1 – 16
- [15] Consejo Mexicano Regulador de la Calidad de Mezcal, A. C. **(2023)** *Informe estadístico 2023*, https://comercam-dom.org.mx/wp-content/uploads/2023/05/INFORME-2023_PUBLICO.pdf
- [16] D. Harris, *Quantitative chemical analysis*, 7th Edition **(2007)**, Ed. W. H. Freeman and Company.
- [17] Norma Mexicana NMX-V-050-NORMEX-2010, Diario Oficial de la Federación, 20 de enero de 2011.
- [18] Ferreira, S., Bezerra, M., Santos, A., dos Santos, W., Novaes, C., Oliveira, O., Oliveira, M. & García, R., **(2018)** *Trends in Analytical Chemistry*, 100, 1 – 6
- [19] Salin, E. & Ingle, D., **(1978)** *Analytical chemistry*, 50 (13), 1745 – 1752
- [20] Ozbek, N. & Ozcan, M. **(2016)** *Talanta*, 148, 17 – 21
- [21] Bard, A. & Faulkner, A. **(2022)** Bulk Electrolysis en *Electrochemical methods: Fundamentals and applications* (3th Edition, 489 – 537) Ed. John Wiley & sons
- [22] Copeland, T. R. & Skogerboe, R. K. **(1974)**, *Analytical Chemistry*, 46 (14) 1257 – 1268
- [23] Zbinden, C. **(1931)** *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 13, 35–40
- [24] Ariño, C., Banks, C., Bobrowsky, A., Crapnell, R., Economou, A., Królicka, A., Pérez-Rafols, C., Soulis D. & Wang, J., **(2022)** *Nature Reviews*, 2 (62) 1 – 18
- [25] Batley, G. E. Florence, T. M. **(1974)**, *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interface Electrochemistry*, 55 (1), 23 – 43
- [26] González Rodríguez X. **(2007)**, *Estudio de glutatión reductasa por voltamperometría de barrido triangular de potencial con formación de enlaces RS-Hg en sistemas microelectroanalíticos* [Tesis de licenciatura en Universidad Nacional Autónoma de México] <http://132.248.9.195/pd2007/0619685/Index.html> Texto completo.



- [27] Rezaei, B. & Irannejad, N. **(2019)** Electrochemical detection techniques in biosensor applications en A. Ensafi *Electrochemical biosensors*, 11 – 43
- [28] Franklin, R., Martin, S., Strong, T. & Brown, R. **(2016)** *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*, 1 – 30
- [29] Osteryoung, J. & Osteryoung, R. **(1985)** *Analytical Chemistry*, 57 (1) 101 – 110
- [30] Hoyos-Arbeláez, J., Vázquez, M. & Contreras-Calderon, J. **(2017)**, *Food Chemistry*, 15, 1371 – 1381
- [31] Simoes, F. & Xavier, M. **(2017)** *Nanoscience & Applications*, 155 – 178
- [32] O'Dea, J., Osteryoung, J. & Osteryoung, R. **(1983)** *Journal of Physical Chemistry*, 87 (20) 3911 – 3918
- [33] Bard, A. & Faulkner, A. **(2022)** Polarography, Pulse Voltammetry, and Square-Wave Voltammetry en *Electrochemical methods: Fundamentals and applications* (3th Edition, 355 – 388) Ed. John Wiley & sons
- [34] Dai, X., Nekrassova, O., Hyde, M. & Compton, G. **(2004)**, *Analytical Chemistry*, 76 (19) 5924 – 5929
- [35] Bocevar, S., Svancara, I., Ogorevc, B. & Vytras, K. **(2007)** *Analytical Chemistry*, 79, 8639 – 8643
- [36] Altunkaynak, Y., Önal, G. & Levent, A. **(2021)** *Turkish Journal of Chemistry*, 45, 775 - 787
- [37] Schiewe, J., Oldham, K., Myland, J., Bond, A., Vicente-Beckett, V. & Fletcher, S. **(1997)** *Analytical Chemistry*, 69, 2673 – 2681
- [38] Ibañez, J., Rincón, M., Gutierrez-Granados, S., Chahma, M., Jaramillo-Quintero, O. & Frontana-Uribe, B. A. **(2018)** *Chemical Reviews*, Vol. 118, 4731 – 4816
- [39] Aragay, G., Pons, J. & Merkoi, A. **(2011)** *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 21, 4326 – 4331
- [40] Salinas, G., Ibañez, J., Vasquez-Medrano, R. & Frontana-Uribe, B. A., **(2018)** *Journal of Electrochemical Science & Technology*, Vol. 9 (4), 276 – 281



- [41] Fabani, M., Ravera, M. & Wunderlin, D. **(2013)** *Food chemistry*, Vol. 141 (2), 1055 – 1062
- [42] Deleebeeck, L. & Veltze, S. **(2020)** *International Journal of Energy Research* Vol. 44, 7158–7182
- [43] Bredar, A. R. C., Chown, A. L., Burton, A. R. & Farnum, B. H. **(2020)** *ACS Appl. Energy Materials*, Vol 3, 66 – 98
- [44] Sacco, A. **(2017)** *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, Vol 79, 814–829
- [45] Bahadir, E. B. & Sezgintürk, M. K. A. **(2016)** *Artificial Cells Nanomedicine Biotechnology* Vol 44, 1, 248–262
- [46] Wang, S., Zhang, J., Gharbi, O., Vivier, V., Gao, M. & Orazem, M. E. **(2021)** *Nature Reviews Methods Primers*, Vol. 1(1) 1 – 21
- [47] Macdonald, D., **(2006)** *Electrochimica Acta*, Vol 51, 8, 1376 – 1388
- [48] Bard, A. & Faulkner, A. **(2022)** *Electrochemical Impedance Spectroscopy and ac Voltammetry en Electrochemical methods: Fundamentals and applications* (3th Edition, 355 – 388) Ed. John Wiley & sons
- [49] Macdonald, J. & Johnson, W. **(2005)**, *Fundamentals of Impedance Spectroscopy* en Barsoukov & Macdonald, *Impedance Spectroscopy Theory, Experiment, and Applications* (1 – 26), John Wiley & Sons, Inc.
- [50] Raistrick, I., Franceschetti, D. & Macdonald, J. **(2005)**, *Theory* en Barsoukov & Macdonald *Impedance Spectroscopy Theory, Experiment, and Applications* (27 – 128), John Wiley & Sons, Inc.
- [51] Taverniers, I., De Loose, M. & Van Bockstaele, E. **(2004)** *Trends in Analytical Chemistry*, Vol 23 (8) 535 – 552
- [52] Chiang, C. K., Fincher, C. R., Park, Y. W., Heeger, A. J., Shirakawa, H., Louis, E. J. Gau, S. C. & McDiarmid, A. G. **(1977)** *Physical Review Letters*, 39,1098–1101
- [53] Elschener, A., Kirchmeyer, S., Lovenivh, W. & Merker, U. **(2011)** *The Discovery and Development of Conducting Polymers* en PEDOT: Principles and Applications of an Intrinsically Conductive Polymer (pp 1 – 20) CRC Press



- [54] Wade, L. G. & Simek, J. W. **(2023)** *Conjugated Systems, Orbital Symmetry, and Ultraviolet Spectroscopy* en *Organic Chemistry* (pp 770 – 819) Pearson education
- [55] Dzulkurnain, N. A., Mokhtar, M., Rashid, J. I. A., Knight, V. F., Yunus, W. M. Z. W., Ong, K. K., Kasim, N. A. M. & Noor, S. A. M. **(2021)** *Polymers*, 13, 2728, 1 – 22
- [56] Lakard, B. **(2020)** *Applied Science*, 10, 6614, 1 – 24
- [57] Bashir, S., Ramesh, S., Ramesh, K., Numan, A. & Iqbal, J. **(2019)** *Conducting Polymer Composites in Electrochemical Sensors* en *Vikas Mittal Conducting Polymers Composites*, Central West Publishing
- [58] Bersier, P. M., Howell, J. & Brunlett, C. **(1994)** *The Analyst*, Vol. 119 (2), 219 – 232
- [59] Norma oficial mexicana. NOM-070-SCFI-2016. Diario oficial de la federación. Bebidas alcohólicas. Mezcal. Especificaciones.
- [60] Salinas Sánchez G. **(2018)** *Electrodos modificados con polímeros conductores de la familia de los 3,4-alcoxitiófenos para su aplicación como sensores de iones metálicos por medio de voltamperometría de redisolución anódica* [Tesis de doctorado en Universidad Nacional Autónoma de México] <http://132.248.9.195/ptd2018/febrero/0770929/Index.html> |y Texto completo
- [61] Sotzing, G., Reynolds, J. & Steel, P. **(1997)** *Advanced Materials*, 9 (10) 795 – 798
- [62] Castagnola, V., Bayon, C., Descamps, E. & Bergaud, C. **(2014)** *Synthetic Metals*, 189, 7 – 16
- [63] A. Ringbom **(1963)** *Formación de complejos en química analítica*, Editorial Alhambra, S.A.
- [64] Baeza A. **(2004)** *Serie de problemas: Complejos hidróxidos metálicos y acidez-precipitación* [archivo PDF]
- [65] Martell, A., Smith R., **(1976)** *Critical Stability Constants Volume 4: Inorganic Complexes*, Springer Science.
- [66] Van Leeuwen **(1976)** Van Leeuwen, *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas*, 86(3), 247–253.



- [67] Ren, M., Zhou, H., & Zhai, H. **(2021)** *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 32(8), 10078 – 10088
- [68] B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, (2nd ed. 2014).
- [69] Azman, H.N. Lim & Y. Sulaiman **(2020)** *Materials & Design*, Vol 186, 1 – 20
- [70] Pandey, G., Rastogi, A. **(2013)** *Electrochimica Acta*, Vol 87, 158 – 168
- [71] Schoetz, T., Gordon, L. W., Ivanov, S., Bund, A., Mandler, D., Messinger, R. J. **(2022)**, *Electrochimica Acta*, Vol 412, 1 – 16
- [72] Ribeiro, D., Abrantes, J. **(2016)** *Construction al building materials*, Vol 111, 98 – 104
- [73] Gimsa, J., Wachner, D. **(1998)** *Biophysical Journal*, Vol 75, 1107 – 1116
- [74] Loveday, D., Peterson, P., Rodgers, B. **(2004)** *JCT Coastings Tech*, 46 – 52
- [75] Yang, H. Y., Han, D., Kim, J., Kim, Y. H., Bae, J. H. **(2022)** *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Vol 922, 1 – 8
- [76] Rammelt, U., Reinhard, G. **(1990)** *Electrochimica Acta*, Vol 35 (6), 1045 – 1049
- [77] Murat, A. & Sarac, A. S. **(2011)** *Polymer Plastics Technology & Engineering* 50 (11), 1130 – 1148
- [78] Fouda, M., Allagui, A., Elwakil, A. S., Das, S., Psychalinos C., Radwan, A. G. **(2020)** *International Journal of Electronics and Comunications (AEU)*, Vol 117, 1 – 4
- [79] Cebeci, F., Saezer, E. & Sarac, A. S. **(2009)** *Electrochimica Acta* Vol. 54 (26), 6354 – 6360
- [80] Holm, S., Holm, T. & Martinsen, Ø., **(2021)** *PLoS ONE* Vol. 16 (3), 1 – 13
- [81] Ascensao, C., Ciriaco, L., Pacheco, M. J., Lopes, A. **(2011)** *Portugaliae Electrochimica Acta*, Vol 29, 5, 349 – 359
- [82] Olmos, J. M., Molina, A., Laborda, E., Martinez-Ortiz, F. **(2015)** *Electrochimica Acta*, Vol 176, 1044 – 1053



- [83] González, O. Alonso, M. (2020) Chapter 6. Validation of bioanalytical chromatographic method for the quantification of drugs in biological fluids en Handbook of Analytical Separations (1st ed., Vol. 7, pp 115 – 134) Elsevier
- [84] Danzer, K., Currie, L. A., (1998) *Pure & Applied Chemistry*, Vol 70 (4) 993 – 1014
- [84] Carabali, M. Torres, W. (2021) *ECS Transactions*, Vol. 100 (1) 3 – 12
- [85] Lai, Q., Zhang, Y., Chen, W., Liu, Z. (2023) *Sensors and Actuator: B- Chemical*, Vol 381 133469
- [85] Rojas-Hernández, A., Rodríguez-Luna, N., Ramírez-Silva, M. T. & Moya-Hernández, R. (2012) *Distribution Diagrams and Graphical Methods to Determine or to Use the Stoichiometric Coefficients of Acid-Base and Complexation Reactions* en Alesso Innocenti *Stoichiometry and Research - The Importance of Quantity in Biomedicine*, IntechOpen
- [86] Trujillo Juarez S. y Arias Romero R. (2002) *Incertidumbre en la calibración de un matraz volumétrico* [archivo PDF]
- [87] Peña Pérez L. M. y Becerra Santiago L. O. (2010) *Impacto de la nueva fórmula de la densidad del Aire CIPM-2007* [archivo PDF]
- [88] Centeno, L. M., Burgos, L. C. & Becerra, L. O. (2004) *Determinación de la densidad del agua tipo I ASTM utilizada en CENAM con patrones sólidos de densidad* [Archivo PDF]