



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

MAESTRÍA EN QUÍMICA

TESIS

DESARROLLO DE UN SENSOR ELECTROQUÍMICO  
PARA LA CUANTIFICACIÓN DE BISFENOL A

Para obtener el grado de  
Maestra en Química

PRESENTA

Ing. Begoña Aguilar Pérez

Director

Dr. Carlos Andrés Galán Vidal

Comité tutorial

Dr. Giaan Arturo Álvarez Romero

Dr. Luis Humberto Mendoza Huizar

Dra. Silvia Nieto Velázquez

Mineral de la Reforma, Hgo., México, Julio 2024



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

School of Engineering and Applied Sciences

Área Académica de Química

Department of Chemistry

Número de control: ICBI-AAQ/710/2024

Asunto: Autorización de impresión

**Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado**  
**Directora de Administración Escolar**  
**Presente.**

El Comité Tutorial de la **Tesis de Maestría** titulada **"DESARROLLO DE UN SENSOR ELECTROQUÍMICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE BISFENOL A"**, realizada por la sustentante **Begoña Aguilar Pérez** con **número de cuenta 277078** perteneciente al programa de **Maestría en Química**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

### AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que el sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

**Atentamente**

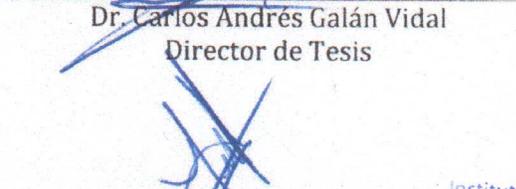
**"Amor, Orden y Progreso"**

**Mineral de la Reforma, Hidalgo a 12 de junio de 2024**

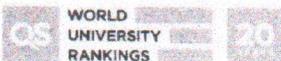
El Comité Tutorial

  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
Dr. Carlos Andrés Galán Vidal  
Director de Tesis

  
Dr. Gian Arturo Alvarez Romero

  
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería  
Área Académica de Química  
Dr. Luis Humberto Mendoza Huizar

  
Dra. Silvia Nieto Velázquez



Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184  
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 40088, 40087

aaq\_icbi@uaeh.edu.mx, nandrade@uaeh.edu.mx

uaeh.edu.mx



Este proyecto de investigación se realizó en el laboratorio 1 del Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH).

Esta investigación se realizó gracias al apoyo del Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCYT), el Programa para el Desarrollo Profesional Docente (PRODEP) así como de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

La Ing. en Nanotecnología Begoña Aguilar Pérez agradece extensamente al CONAHCYT la beca para realizar estudios de Maestría 826675.

Parte de este trabajo fue presentado en modalidad oral en los siguientes eventos académicos:

- XXXV Congreso Nacional de Química Analítica, bajo el título: “*Cuantificación de bisfenol A mediante un electrodo modificado de carbón vítreo con óxido de grafeno, óxidos metálicos y  $\beta$ -ciclodextrina electropolimerizada*”. Celebrado en Los Mochis, Sinaloa, México; del 16 al 20 de octubre de 2023.
- XXXVIII Congreso de la Sociedad Mexicana de Electroquímica y el 16<sup>th</sup> Meeting of the Mexican Section of the Electrochemical Society, bajo el título: “*Desarrollo de un sensor electroquímico para la cuantificación de bisfenol A*”. Celebrado en Puebla, Puebla; del 18 al 22 de septiembre de 2023.

# Agradecimientos

*Agradezco a mis padres, Inés y Clara, por hacerme creer en mí misma. Su apoyo durante todos estos años ha sido la razón más importante para seguir adelante.*

*Agradezco a mis hermanas, Karina y Diana, por su compañía, aun a la distancia, y sus consejos. Son mi ejemplo a seguir.*

*Agradezco a mi novio, Miguel, por confiar más en mí que yo misma. Sin tu apoyo en los momentos más difíciles no habría llegado tan lejos.*

*Agradezco a Samuel y Lía, por ser los soles de mi universo.*

*Agradezco a Chili, por su amor incondicional y su compañía.*

*Agradezco a mis amigos y compañeros de laboratorio, Angélica, Enoch, Jorge, Raybel y Sandra, por sus consejos y alentarme a no rendirme. Han hecho este camino más ameno.*

*Agradezco a mi asesor de tesis, el Dr. Carlos Andrés Galán Vidal, por su paciencia, apoyo y enseñanzas brindadas.*

*Agradezco a mi comité tutorial, el Dr. Giaan Arturo Álvarez Romero, el Dr. Luis Humberto Mendoza Huizar y la Dra. Silvia Nieto Velázquez por su tiempo y permitirme aprender de ellos.*

*Agradezco al Dr. José Antonio Rodríguez Ávila, por su apoyo y amistad durante esta etapa.*

# ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	vi
RESUMEN .....	vii
I. ANTECEDENTES .....	1
1.1 Disruptores endócrinos .....	1
1.2 Generalidades del bisfenol A .....	2
1.2.1 Usos del bisfenol A .....	2
1.2.2 Efectos del bisfenol A sobre la salud .....	3
1.2.3 Normatividad referente al uso del bisfenol A .....	3
1.3 Metodologías reportadas para la cuantificación del bisfenol A.....	4
1.3.1 Sensores electroquímicos para cuantificar bisfenol A .....	5
1.3.2 Materiales usados para la modificación de electrodos .....	6
1.3.3 Sensores electroquímicos reportados para la cuantificación de bisfenol A .....	8
1.4 Objetivos .....	11
1.4.1 Objetivo general.....	11
1.4.2 Objetivos específicos.....	11
II. METODOLOGÍA .....	12
2.1 Reactivos e instrumentación .....	12
2.2 Caracterización del bisfenol A sobre el electrodo de carbón vítreo.....	12
2.3 Elaboración de los electrodos modificados .....	12
2.3.1 Electrodo 1: modificación con Nafion (N).....	13
2.3.2 Electrodo 2: modificación con $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -c).....	13
2.3.3 Electrodo 3: modificación con óxido de grafeno sintetizado (OGs)....	14
2.3.4 Electrodo 4: modificación con óxido de grafeno comercial (OGc) .....	14
2.3.5 Electrodo 5: modificación con Nafion y $\beta$ -ciclodextrina (N/ $\beta$ -c) .....	14
2.3.6 Electrodo 6: modificación con Nafion y óxido de grafeno sintetizado (N/OGs).....	15
2.3.7 Electrodo 7: modificación con $\beta$ -ciclodextrina y óxido de grafeno sintetizado ( $\beta$ -c/OGs) .....	15
2.3.8 Electrodo 8: modificación con $\beta$ -ciclodextrina y óxido de grafeno comercial ( $\beta$ -c/OGc) .....	15
2.3.9 Electrodo 9: modificación con Nafion, $\beta$ -ciclodextrina y óxido de grafeno sintetizado (N/ $\beta$ -c/OGs).....	15

2.3.10	Electrodo 10: modificación con Cu/Zn (CuZn).....	16
2.3.11	Electrodo 11: modificación con $\beta$ -ciclodextrina, óxido de grafeno comercial y Cu/Zn ( $\beta$ -c/OGc/CuZn).....	16
2.4	Caracterización electroquímica del bisfenol A sobre los electrodos modificados.....	16
2.5	Estudio de pasivación sobre los electrodos modificados con las mejores características.....	16
2.6	Optimización y caracterización del electrodo con las mejores características.....	16
2.7	Obtención de los parámetros analíticos del sensor y validación del método analítico.....	17
2.8	Aplicación del método analítico en muestras reales.....	17
III.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
3.1	Caracterización electroquímica del bisfenol A sobre el electrodo de carbón vítreo.....	18
3.2	Modificación del electrodo de carbón vítreo.....	20
3.3	Caracterización electroquímica del bisfenol A sobre los electrodos modificados.....	22
3.4	Estudio de la concentración de BPA como factor en la pasivación del electrodo.....	29
3.5.1	Evaluación del tiempo de preconcentración.....	33
3.5.2	Evaluación de recuperación de la señal.....	34
3.5.3	Evaluación mediante curvas de calibrado.....	35
3.6	Optimización del electrodo con las mejores características.....	38
3.6.2	Influencia del pH.....	39
3.6.3	Optimización de los parámetros instrumentales.....	41
3.6.4	Optimización del proceso de construcción del sensor.....	42
3.6.5	Caracterización del sensor por microscopía óptica.....	44
3.6.6	Validación de la metodología analítica.....	47
3.6.7	Análisis de muestras reales.....	49
IV.	CONCLUSIÓN.....	51
V.	PERSPECTIVAS DE PROYECTO.....	51
VI.	REFERENCIAS.....	52

## ABREVIATURAS

<b>Nomenclatura</b>	<b>Descripción</b>
BPA	Bisfenol A
FDA	Food and Drug Administration of the United States
EFSA	European Food Safety Authority
VC	Voltamperometría cíclica
VDP	Voltamperometría diferencial de pulsos
PBS	Solución reguladora de pH de fosfatos
BR	Solución reguladora de pH Britton-Robinson
N	Nafion
$\beta$ -c	$\beta$ -ciclodextrina
OGs	Óxido de grafeno sintetizado
OGc	Óxido de grafeno comercial
CuZn	Partículas de cobre y zinc
LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
%RSD	Coefficiente de desviación estándar relativa
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada

## RESUMEN

El bisfenol A (BPA) es un compuesto químico que se usa en la elaboración de productos a base de policarbonato, como envases de alimentos, biberones y botellas de agua. Debido a su alta toxicidad se han desarrollado métodos analíticos alternativos para cuantificar la concentración de BPA a niveles traza, entre las que destacan las técnicas electroquímicas; sin embargo, el BPA tiende a polimerizarse, lo que provoca la pasivación de los sensores electroquímicos. Debido a lo anterior, surge la necesidad de modificar los electrodos con materiales que permitan mejorar sus características y evitar la pasivación.

En este trabajo se desarrolló un sensor electroquímico por medio de la modificación de un electrodo de carbón vítreo con  $\beta$ -ciclodextrina electropolimerizada el cual mostró un mejor compromiso entre sensibilidad, estabilidad y resistencia a la pasivación que otros electrodos fabricados con diferentes nanomateriales catalíticos. Estas características superiores permitieron la elaboración de una curva de calibrado en el intervalo de concentraciones de 0.042-0.521  $\mu\text{M}$  con un límite de detección y cuantificación de 12 y 42 nM respectivamente, valores que son competitivos frente a diferentes trabajos reportados en la literatura. Con la metodología desarrollada se llevó a cabo de forma exitosa la cuantificación de BPA en diferentes muestras reales de manera rápida, sencilla y económica.

# I. ANTECEDENTES

## 1.1 Disruptores endócrinos

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, un disruptor endocrino es una sustancia o mezcla exógena que altera las funciones del sistema endocrino y causa efectos adversos para la salud en un organismo, su descendencia o población (Kürzinger et al., 2022). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos establece que un disruptor endocrino es un agente que interfiere con la síntesis, secreción, transporte, unión o eliminación de hormonas naturales presentes en el organismo y que son responsables de regular la homeostasis, la reproducción, el desarrollo o el comportamiento (Arias et al., 2020).

Organizaciones como la Sociedad Endocrina, la Comisión Europea y la Agencia Europea del Medio Ambiente, han demostrado el impacto de los disruptores endocrinos sobre la salud humana y diversas especies animales. Los efectos de los disruptores endocrinos son especialmente dañinos cuando la exposición ocurre durante edades clave en desarrollo, como la etapa fetal y la pubertad, lo que afecta el desarrollo tanto de humanos como de animales, causando efectos mayormente irreversibles y perceptibles hasta la edad adulta (Kürzinger et al., 2022).

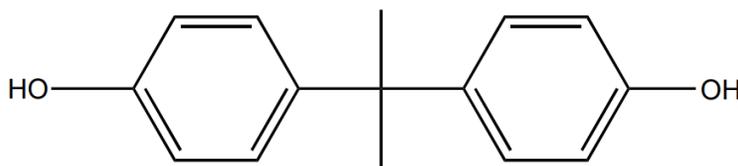
Las enfermedades relacionadas con desordenes endócrinos han aumentado en los últimos años. Alrededor de ochocientos compuestos químicos son capaces de ocupar receptores hormonales, interfiriendo en la síntesis y conversión de hormonas. Algunos disruptores endocrinos pueden actuar directamente sobre los receptores hormonales, mimetizando hormonas, mientras que otros lo hacen sobre proteínas que controlan el suministro hormonal (Kürzinger et al., 2022).

Entre las especies químicas que actúan como disruptores endocrinos se encuentran compuestos naturales como los fitoestrógenos, al igual que compuestos utilizados en diferentes industrias como bifenilos policlorados, dioxinas, pesticidas organoclorados, fungicidas, productos farmacéuticos, metales pesados, además de plastificantes como el BPA (Arias et al., 2020).

Particularmente, el BPA despunta como uno de los disruptores endócrinos de mayor interés debido a que se utiliza para la elaboración de diversos productos de uso cotidiano, lo que maximiza la exposición para el ser humano (Banaderakhshan et al., 2022).

## 1.2 Generalidades del bisfenol A

Bisfenol A, BPA por su nombre en inglés (bisphenol A), es el nombre común para el 4'4-isopropilidenodifenol, conocido también como 2,2-bis(4-hidroxifenil)propano, con peso molecular de  $228.29 \text{ g mol}^{-1}$ , cuya estructura química ( $\text{OH}-\text{Ar}-(\text{CH}_3)_2-\text{Ar}-\text{OH}$ ) se presenta en la **Figura 1**. Este compuesto se nombró después de la reacción de condensación mediante la cual se puede formar dos (bis) moléculas de fenol con una de acetona (A) (Gooch, 2010).



**Figura 1.** Estructura del BPA (4'4-isopropilidenodifenol).

El BPA es una sustancia sólida cristalina de color blanco con olor fenólico suave en condiciones ambientales (Ma et al., 2019). El punto de fusión del BPA es de 153 a 159 °C y su punto de ebullición es de 220 °C y presenta  $\text{pK}_a$  en 9.8. Posee adecuada solubilidad en grasas, soluciones alcalinas, alcohol y acetona, pero baja en agua (Luttrell & Baird, 2014; Ma et al., 2019; Kuramitz et al., 2001).

### 1.2.1 Usos del bisfenol A

El BPA, desde su síntesis en 1891, se utiliza en procesos industriales, principalmente en la fabricación de recipientes plásticos de policarbonato, resinas epoxi y otros materiales poliméricos.

Los plásticos de policarbonato poseen excelentes propiedades físicas y químicas (resistencia mecánica y dureza, estabilidad térmica y resistencia frente a ácidos y aceites) lo que los convierte en materiales atractivos para la elaboración de envases de alimentos y bebidas, como botellas, biberones, empaques de productos cosméticos, utensilios de cocina, dispositivos médicos, juguetes y vasos. Por otra parte, la resina epoxi se emplea para producir revestimientos del interior de latas de alimentos; además, el BPA se emplea como estabilizador y antioxidante en la producción de plásticos de cloruro de polivinilo y como componente en la producción de selladores dentales y papel térmico (Ma et al., 2019; Tamayo Cabarcas et al., 2022).

Debido a que el BPA posee la capacidad de lixiviarse y filtrarse de los recipientes hacia los alimentos, puede ser fácilmente ingerido. Esta migración aumenta cuando los recipientes se someten a altas temperaturas o se exponen a soluciones ácidas o alcalinas (Luttrell & Baird, 2014). A pesar de que la ingesta es la principal forma de exposición en humanos, también puede ser absorbido por vía transdérmica o puede ser inhalado (Bosch et al., 2016; Tamayo Cabarcas et al., 2022).

Cada año se producen más de tres millones de toneladas de BPA a nivel mundial, de las cuales cerca de cien toneladas son liberadas al medio ambiente. Diversos estudios han detectado BPA en diferentes matrices como el suelo, cuerpos hídricos y aire (Bosch et al., 2016; Gounden et al., 2019).

### **1.2.2 Efectos del bisfenol A sobre la salud**

Se ha demostrado que el BPA actúa como disruptor endocrino, ya que interactúa con receptores hormonales como el receptor de estrógenos, de andrógenos y de la hormona tiroidea (Ma et al., 2019). Entre las afecciones de salud cuya aparición se ha ligado a la actividad disruptiva del BPA destacan trastornos hepáticos, tiroideos, obesidad, resistencia a la insulina y aumento de la susceptibilidad a la diabetes (Bosch et al., 2016).

Autores como Maćczak y colaboradores, en 2017, han comprobado la presencia del BPA en el cuerpo humano, específicamente en orina, sangre y sudor (Maćczak et al., 2017; Bosch et al., 2016). El BPA suele pasar al torrente sanguíneo a través de la vía oral, siendo su absorción inmediata (5-20 min) y con una biodisponibilidad superior al 70% (Mas et al., 2017). En exámenes controlados, se ha encontrado que al administrar dosis de BPA en humanos más del 95% de la dosis ingerida se absorbe de forma rápida y eficiente desde el tracto intestinal (Dekant & Völkel, 2008).

### **1.2.3 Normatividad referente al uso del bisfenol A**

Debido a la creciente preocupación en torno a los efectos que el BPA provoca sobre el cuerpo humano, diversos países han implementado medidas regulatorias para limitar su uso. Canadá fue el primer país en prohibir la importación y la venta de biberones que contienen BPA, en el año 2008; así mismo, en el mismo año, Francia suspendió el uso de BPA en todos los contenedores que estuvieran en contacto con alimentos (Willhite & Daston, 2019). En 2011 la FDA (Food and Drug Administration of the United States) y la EFSA (European Food Safety Authority) establecieron la dosis diaria de ingesta tolerable en 50 µg de BPA por kg de peso corporal al día, lo que corresponde a una ingesta “segura” de BPA de 3.5 mg por

día para una persona promedio con peso de 70 kg; de igual forma, se estableció el límite de migración específica de BPA en  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  (Regulación (UE) N° 10/2011) (Krivohlavek et al., 2023).

Cabe destacar que el límite de migración específica es un parámetro que garantiza que el material en contacto con los alimentos no conlleva un riesgo para la salud y se define como la cantidad máxima permitida de una sustancia en los alimentos o bebidas proveniente de los recipientes que los contienen (Regulación (UE) N° 10/2011). Los fabricantes de recipientes alimentarios deben respetar esos límites aun en las peores condiciones previsibles, por lo que se debe evaluar de conformidad con los ensayos correspondientes (Regulación (UE) N° 10/2011).

En 2012, Estados Unidos suspendió el uso de todas las resinas de policarbonato usadas en biberones así como en vasos a pruebas de derrames y, al siguiente año, se prohibió el uso de resinas epoxi con BPA como revestimientos en envases para fórmulas infantiles (Willhite & Daston, 2019).

A pesar de que en muchas regiones se han tomado medidas para disminuir la exposición al BPA, en la mayoría de los países en vía de desarrollo no existen regulaciones referentes a su uso, tal es el caso de México, donde se ha encontrado evidencia de la presencia de BPA en la población y en productos ampliamente comercializados (Mandel et al., 2019). Una de las limitantes, en cuanto a recursos tecnológicos, es la escasa capacidad analítica de los laboratorios del país, ya que solamente unos pocos están certificados para la medición de contaminantes ambientales, lo que impide que puedan ser utilizados como base técnica confiable para la toma de decisiones que puedan llevar a regulaciones referentes al BPA, así como de muchos otros contaminantes emergentes (Mandel et al., 2019).

### **1.3 Metodologías reportadas para la cuantificación del bisfenol A**

El desarrollo de nuevos métodos para la detección en concentraciones traza del BPA se ha convertido en una materia importante de estudio debido a la necesidad de mantener controlada la exposición ante este compuesto (Ben Messaoud et al., 2017). Las técnicas cromatográficas, como la cromatografía de líquidos de alta resolución y la cromatografía de gases, son métodos exactos, precisos y robustos que facilitan la detección de BPA en diferentes matrices; no obstante, en términos generales necesitan instrumentos costosos y pretratamientos de muestra complicados (Deng et al., 2014).

Alternativamente, se han desarrollado otros métodos, como el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) (Kim et al., 2007). Este posee alta sensibilidad y bajos límites de detección. No obstante, su uso presenta varias desventajas debido a que los materiales biológicos utilizados son inestables, se

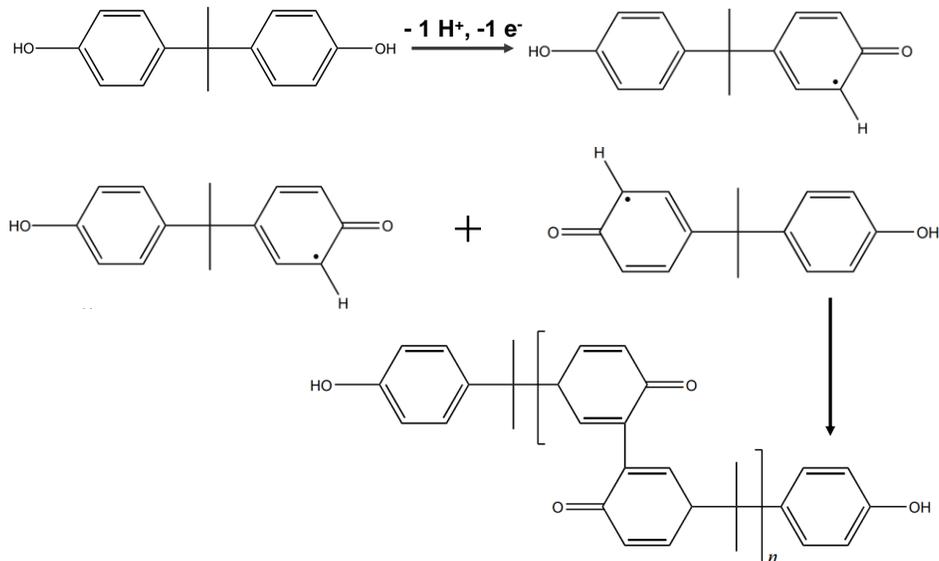
requieren pasos complicados con varias etapas, el equipo es costoso y se necesitan anticuerpos específicos de animales sacrificados o proteínas obtenidas por técnicas recombinantes (Yin et al., 2009; J. Li et al., 2011).

Por otra parte, se han desarrollado metodologías de detección electroquímica, las cuales presentan ventajas en relación a las técnicas anteriormente mencionadas, ya que poseen mayor rapidez, bajo costo, alta sensibilidad, operación simple, buena selectividad y detección en tiempo real con posibilidad de realizar análisis *in situ*; por todo esto, recientemente las técnicas electroquímicas se han convertido en métodos atractivos para la determinación de BPA (Eftekhari et al., 2021) .

### **1.3.1 Sensores electroquímicos para cuantificar bisfenol A**

Las moléculas de BPA son electroquímicamente activas debido a la oxidación de los grupos hidroxilos, por lo que es posible su cuantificación mediante sensores electroquímicos. Sin embargo, la determinación del BPA utilizando electrodos convencionales presenta dificultades debido al alto potencial necesario para oxidar la molécula, lo que incrementa la corriente de fondo y disminuye la sensibilidad. Lo anterior representa un problema, ya que es necesaria la cuantificación del analito en concentraciones traza (Cosio et al., 2017). Para superar este inconveniente es necesario utilizar materiales para el desarrollo de sensores electroquímicos que presenten un gran número de sitios activos, buena estabilidad, actividad catalítica, así como alta conductividad (de Sá et al., 2020; Fan et al., 2012).

Aunado al problema anterior, se ha observado que la oxidación de la molécula de BPA genera radicales fenoxi los cuales participan en una polimerización por radicales libres a través de los enlaces C-O, C-C y/o O-O. El polímero no conductor de BPA generado bloquea los sitios activos del electrodo lo que conlleva a una disminución de la sensibilidad y a la pasivación de los sensores (Wang et al., 2018). El mecanismo de polimerización mayormente aceptado se expone en la **Figura 2** (Szekeres et al., 2019).



**Figura 2.** Mecanismo de polimerización del BPA adaptado de Szekeres et al., (2019).

Para abordar estas problemáticas es necesario aplicar estrategias que minimicen la pasivación sin comprometer la sensibilidad analítica, por lo cual el estudio de diferentes materiales modificantes resulta primordial para desarrollar sensores eficaces en la cuantificación de BPA (Wang et al., 2018).

### 1.3.2 Materiales usados para la modificación de electrodos

#### 1.3.2.1 Electrodos modificados con nanomateriales de carbono

Los nanomateriales reciben su nombre debido a que al menos una de sus dimensiones se encuentra entre 1 a 100 nm. Pueden ser constituidos de cerámicos, metales, polímeros, o una combinación de estos. Entre los nanomateriales se incluyen agregados atómicos (clusters), partículas de hasta 100 nm de diámetro (nanopartículas), fibras con diámetros inferiores a 100 nm (nanofibras), láminas delgadas de espesor inferior a 100 nm, nanoporos, nanocristales, nanotubos y materiales compuestos que contengan alguno de estos elementos (Mendoza, 2003).

Los nanomateriales de carbono, en especial, se han utilizado para la modificación de electrodos con buenos resultados, de acuerdo con lo reportado por diversos investigadores (Mohammadzadeh et al., 2020). Entre los nanomateriales a base de carbono, se encuentra el grafeno, el cual es una hoja bidimensional de átomos de carbono unidos mediante hibridación  $\text{sp}^2$ . Este material posee amplia

área específica, alta conductividad térmica y eléctrica, gran resistencia mecánica, además de bajo costo de producción (L. Zhou et al., 2014).

### **1.3.2.2 *Modificación de electrodos con partículas metálicas***

En investigaciones recientes se ha llevado a cabo la modificación de electrodos con diferentes partículas metálicas, especialmente con metales de transición como el cobre o el zinc. El creciente número de trabajos utilizando estos materiales se debe a sus propiedades eléctricas y catalíticas, que permiten obtener sensores electroquímicos con mejor sensibilidad, debido al aumento de sitios electroactivos (Ulubay, 2019). Asimismo, estas estructuras metálicas pueden depositarse fácilmente de forma electroquímica o por adsorción, lo que facilita la fabricación de los sensores (Antoniazzi et al., 2018).

### **1.3.2.3 *Electrodos modificados con $\beta$ -ciclodextrina***

Otro tipo de materiales que pueden utilizarse para la modificación de electrodos son los polímeros, ya que ofrecen diversas ventajas, como permeabilidad a las especies electroactivas, facilidad de modificar sus características mediante distintas técnicas y, además, pueden depositarse sobre diferentes sustratos (Z. L. Zhou et al., 2009); la  $\beta$ -ciclodextrina, en particular, presenta características atractivas para esta aplicación.

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos constituidos por un número variable de unidades de glucopiranosas unidas a través de enlace  $\alpha$ -1,4 (Daza et al., 2015). Las ciclodextrinas más importantes son las formadas por entre seis y ocho unidades de glucosa, denominadas  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ - ciclodextrina. Estos compuestos presentan una estructura en forma de cono hueco, cuya cavidad posee carácter hidrófobo y apolar, mientras que el exterior es altamente hidrófilo. Esta propiedad estructural facilita la solubilidad de la  $\beta$ -ciclodextrina en soluciones acuosas y permite que interacciones anfitrión-huésped se lleven a cabo con otros compuestos (Daza et al., 2015; Shen & Wang, 2009).

La modificación de electrodos con  $\beta$ -ciclodextrina ha llamado la atención debido a su potencial aplicación en la generación de electrodos selectivos (J. Qin et al., 2018). En la literatura se encuentran trabajos donde se han modificado electrodos con nanomateriales de carbono, como nanotubos de carbono y grafeno, previamente funcionalizados con  $\beta$ -ciclodextrina, lo que mejoró la sensibilidad para la detección de BPA debido al gran área superficial efectiva de los nanotubos, así como la formación de complejos de inclusión entre la  $\beta$ -ciclodextrina y el BPA (Ali et al., 2020; Alam & Deen, 2020).

Por otra parte, los electrodos modificados con polímeros de  $\beta$ -ciclodextrina presentan una mejora en sus características como el aumento de la sensibilidad, al existir un gran número de unidades de  $\beta$ -ciclodextrina para formar interacciones anfitrión-huésped, así como una mejora en la selectividad, debido a que el polímero formado sobre la superficie del electrodo evita la adsorción de interferentes (X. Li et al., 2017).

#### **1.3.2.4 Electroodos modificados con Nafion**

El Nafion es un ionómero polianiónico perfluorosulfonado derivado del teflón que ofrece excelente estabilidad química, buena biocompatibilidad, estructura de red microscópica y carga negativa (Z. L. Zhou et al., 2009). Este material ha sido utilizado para diversas aplicaciones electroquímicas como membrana de intercambio iónico debido a su habilidad de incorporar iones cargados positivamente y repeler iones negativos debido a la presencia de sitios cargados negativamente dentro de su estructura (Gerhardt et al., 1984).

Asimismo, se han desarrollado diferentes sensores electroquímicos, tal es el caso de Britto y colaboradores que, en 1996, desarrollaron un sensor a base de Nafion y nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) para cuantificar dopamina, con el cual se mejoró la señal de la corriente de oxidación y, así mismo, la reacción de oxidación de la dopamina se volvió más reversible (Britto et al., 1996). Por otra parte, Liu y colaboradores, en 2019, utilizaron Nafion, la enzima tirosinasa y nanopartículas de Biochar, para la determinación de BPA de forma exitosa, ya que consiguieron un límite de cuantificación bajo mientras que el potencial de oxidación del BPA disminuyó (Liu et al., 2019). De igual forma, se ha reportado su uso para otros analitos como fenol, paratión, doxazosina, estradiol, etcétera (Tsai et al., 2004; Wong et al., 2019).

#### **1.3.3 Sensores electroquímicos reportados para la cuantificación de bisfenol A**

Se han desarrollado diversas investigaciones encaminadas a buscar el método óptimo para la cuantificación de BPA. En la **Tabla 1** se enlistan algunas de las técnicas representativas encontradas en la literatura. Para la construcción de estos sensores se utilizaron diversos electrodos de trabajo, entre los cuales se encuentran electrodos serigrafiados, electrodos de diamante, de oro, de pasta de carbono y electrodos de carbón vítreo, entre otros. Asimismo, la cuantificación se llevó a cabo utilizando diferentes técnicas electroquímicas y bajo diferentes condiciones.

También se reportan en la **Tabla 1** los materiales modificantes, así como la aplicación de dichos sensores en la determinación de BPA en muestras reales (envases de comida, biberones, botellas de agua, aguas residuales, agua mineral, agua de río, leche, jugo de naranja, orina, sangre, saliva, etcétera).

**Tabla 1.** Ejemplos de métodos electroquímicos para la detección y cuantificación de BPA reportados en la literatura.

Ref.	Intervalo lineal ( $\mu\text{M}$ )	Límite de detección (nM)	Método	Sensor electroquímico	Aplicación en muestras
J. Li et al., (2011).	0.01– 10	5.0	VL	Electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono de pared múltiple carboxilados.	Empaques de alimentos.
Gao et al., (2012).	0.0108 - 18.5	1.0	Amperometría	Electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono de pared simple/ $\beta$ -ciclodextrina conjugada.	Biberones, botellas de agua.
Cosio et al., (2017).	0.004– 0.1	3.0	Amperometría	Electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con grupos hidroxilo.	Agua contenida en botellas de plástico y biberones.
Ntsendwana et al., (2012).	0.05–1.0	46.0	VDP	Electrodo de carbón vítreo modificado con grafeno.	Agua mineral, botellas de plástico.
Rather & De Wael, (2013).	0.074– 0.23	3.0	VOC	Electrodo de carbón vítreo modificado con fullerenos.	Agua residual.
L. Zhou et al., (2014).	0.01–10.0	5.0	VDP	Electrodo de carbón vítreo modificado con membrana nanocompuesta de nanopartículas de oro y grafeno.	Leche líquida y leche en polvo.
Y. Li et al., (2017).	1.0– 80.0	540.0	VDP	Electrodo de carbón vítreo modificado con grafeno reducido con óxido-plata/poli-L-lisina.	Agua para beber.

Deiminiat et al., (2017).	0.0001 – 0.01	0.05	VOC	Electrodo de oro modificado con película nanocompuesta con nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con nanopartículas de oro.	Agua Mineral, jugo de naranja y leche.
Yu et al., (2017).	0.005– 20.0	1.0	VDP	Electrodo de carbón vítreo modificado con nanopartículas de oro depositadas sobre nanotubos de carbono de pared múltiple.	Agua de río, recipientes de comida.
Kunene et al., (2020).	0.5– 2.99	6.0	VDP	Electrodo serigrafiado de carbón modificado con nanotubos de pared múltiple funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc dopadas con plata, donde se inmovilizó la enzima lacasa.	Botellas de plástico
Freitas et al., (2020).	0.438 - 219.019	131.0	VOC	Electrodo de diamante dopado con boro (BDD) pretratado catódicamente.	Agua mineral, de lago y agua de grifo.
Baghayeri et al., (2018).	0.0001–0.008	0.03	VDP	Electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono de pared múltiple/ $CuFe_2O_4$ .	Botellas de agua y biberones.
Baghbamidi, (2022).	0.08 – 300	20.0	VC	Electrodo de grafito modificado con grafeno dopado con nitrógeno.	Pasta de tomate, salsa de chile y botellas de agua.

**VL:** Voltamperometría de barrido lineal. **VDP:** Voltametría diferencial de pulsos. **VC:** Voltametría cíclica. **VOC:** Voltametría de onda cuadrada.

A pesar de que los sensores mostrados presentan buenos parámetros analíticos, en ningún trabajo de los presentados se aborda el problema de la pasivación de los electrodos. Lo anterior abre una ventana de oportunidad para realizar investigaciones referentes a este tema utilizando materiales de diferente naturaleza con la finalidad de desarrollar un sensor electroquímico que presente buenas características analíticas, que evite la pasivación en la mayor medida posible y, por ende, permita obtener una metodología eficaz para la cuantificación de BPA.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo general**

Desarrollar un sensor electroquímico basado en un electrodo de carbón vítreo modificado con diversos materiales para inhibir su pasivación y lograr la cuantificación eficiente de bisfenol A en muestras de recipientes de plástico y biberones.

### **1.4.2 Objetivos específicos**

- 1) Caracterizar las propiedades electroquímicas del bisfenol A sobre un electrodo de carbón vítreo.
- 2) Establecer las mejores condiciones para modificar la superficie de un electrodo de carbón vítreo con diversos agentes modificantes.
- 3) Caracterizar el comportamiento electroquímico de bisfenol A sobre los electrodos modificados para posteriormente elegir el dispositivo con las mejores características.
- 4) Optimizar la respuesta hacia la cuantificación de bisfenol A del electrodo seleccionado mediante diseños de experimentos.
- 5) Establecer los parámetros analíticos del sensor optimizado mediante el análisis estadístico de curvas de calibración.
- 6) Aplicar el sensor electroquímico desarrollado en el análisis de bisfenol A en muestras reales.

## II. METODOLOGÍA

### 2.1 Reactivos e instrumentación

Todos los reactivos que se utilizaron fueron de grado analítico y las soluciones se prepararon con agua desionizada con resistividad 18.2 M $\Omega$ . cm (Millipore). Los estudios electroquímicos se llevaron a cabo en un potenciostato-galvanostato Autolab PGSTAT 302N (Metrohm) conectado a un ordenador y controlado mediante el software Nova 2.0. La celda electroquímica se integró por tres electrodos, el de trabajo (carbón vítreo o carbón vítreo modificado), un contraelectrodo (platino) y un electrodo de pseudo-referencia de Ag/Cl, conformado por un electrodo sólido de Ag y un electrolito soporte con una concentración de cloruros de 0.05 M.

El secado de muestras y de electrodos a temperatura constante se llevó a cabo en una incubadora Boekel modelo "132000".

La caracterización por microscopía óptica se realizó utilizando un microscopio digital portátil RoHS modelo AD106 con 50X. De igual forma se utilizó un microscopio de alta resolución de mano ProScope HR con 400X.

### 2.2 Caracterización del bisfenol A sobre el electrodo de carbón vítreo

Se caracterizó el comportamiento electroquímico del BPA mediante voltamperometría cíclica en soluciones 100  $\mu$ M de BPA tanto en solución reguladora de pH de fosfatos (pH 7.0, 0.05 M) con KCl (0.05M) (PBS) como en solución reguladora de pH Britton-Robinson (pH 7.0, 0.05 M) con KCl (0.05M) (BR). Se realizaron 20 ciclos consecutivos en sentido anódico con velocidad de barrido de 100 mV s<sup>-1</sup> en la ventana de potencial de 0.0 a 1.2 V, partiendo del potencial de corriente nula.

### 2.3 Elaboración de los electrodos modificados

Antes de cada modificación, el electrodo se pulió con suspensión de alúmina al 1 % con tamaño de partícula de 3  $\mu$ m hasta obtener una superficie con terminado de espejo y, posteriormente, se sometió a baño ultrasónico durante 5 minutos en metanol. Se realizaron 11 modificaciones a partir de diferentes combinaciones de los agentes modificantes, como se muestra en la **Tabla 2** y la preparación de cada electrodo se describe en las secciones siguientes.

**Tabla 2.** Modificaciones realizadas al electrodo de carbón vítreo con los diferentes agentes modificantes.

Número de electrodo	Nomenclatura	Agentes modificantes utilizados				
		Nafion	$\beta$ -ciclodextrina	Óxido de grafeno (sintetizado)	Óxido de grafeno (comercial)	Partículas de Cu/Zn
1	N	X				
2	$\beta$ -c		X			
3	OGs			X		
4	OGc				X	
5	N/ $\beta$ -c	X	X			
6	N/OGs	X		X		
7	$\beta$ -c/OGs		X	X		
8	$\beta$ -c/OGc		X		X	
9	N/ $\beta$ -c/OGs	X	X	X		
10	CuZn					X
11	$\beta$ -c/OGc/CuZn		X		X	X

**N:** Nafion.  **$\beta$ -c:**  $\beta$ -ciclodextrina. **OGs:** Óxido de grafeno sintetizado. **OGc:** Óxido de grafeno comercial. **CuZn:** Partículas de cobre y zinc.

### 2.3.1 Electrodo 1: modificación con Nafion (N)

Para realizar la modificación del electrodo con Nafion se preparó una solución de Nafion al 1.0% v/v en agua desionizada (Nafion® resina perfluorada, solución al 5% p/v en alcoholes alifáticos inferiores y agua, adquirida de Sigma-Aldrich). Después, se depositó una gota de 5.0  $\mu$ L con una micropipeta sobre la superficie limpia del electrodo (Zhou et al., 2009). El electrodo se dejó secar durante 30 min a 45 °C.

### 2.3.2 Electrodo 2: modificación con $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -c)

En este caso se realizó la modificación del electrodo de trabajo con un polímero de  $\beta$ -ciclodextrina obtenido mediante electropolimerización, para lo cual se preparó una solución 6.0 mM de  $\beta$ -ciclodextrina en solución reguladora de pH de fosfatos (pH 5.0, 0.05 M). Posteriormente se realizaron 5 ciclos en sentido anódico mediante voltamperometría cíclica en la ventana de -2.0 a 2.2 V con velocidad de barrido de 100  $\text{mV s}^{-1}$  en la solución de  $\beta$ -ciclodextrina previamente preparada (Pereira et al., 2019). El electrodo obtenido con la  $\beta$ -ciclodextrina electropolimerizada se almacenó para su posterior uso.

### 2.3.3 Electrodo 3: modificación con óxido de grafeno sintetizado (OGs)

Antes de llevar a cabo la modificación del electrodo se realizó la síntesis del óxido de grafeno siguiendo la metodología modificada de Hummer's propuesta por Zaidi en 2017, utilizando agentes altamente oxidantes. En primer lugar, se vertieron 23 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%) en un vaso de precipitados de 100 mL para posteriormente agregar 1 g de grafito. La mezcla resultante se mantuvo en agitación constante y a temperatura ambiente por 24 h. Pasado este tiempo, se agregaron a la mezcla 100 mg de NaNO<sub>3</sub> mientras la mezcla se mantenía en agitación y en baño de hielo (5°C). Pasados 30 min se agregaron, poco a poco, 3.0 g de KMnO<sub>4</sub>. A continuación, se retiró el baño de hielo y la solución se calentó hasta los 35-40 °C manteniendo la agitación por 30 min más para después agregar 46 mL de agua desionizada. Para detener la reacción, la mezcla se vertió en un vaso de precipitados de 500 mL que contenía 140 mL de agua y 10 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%. Acto seguido se procedió a centrifugar la mezcla obtenida a 2, 000 rpm. El precipitado color negro se enjuagó con HCl al 10 % y, posteriormente, con agua desionizada. El óxido de grafeno sintetizado se mantuvo durante 72 horas a 60 °C para su secado (Zaidi, 2017). El producto obtenido se pulverizó en un mortero y, a partir de él, se preparó una suspensión de 1.0 mg mL<sup>-1</sup> en agua desionizada. Posteriormente, se tomaron 5.0 µL de dicha suspensión para depositarlos sobre la superficie limpia del electrodo, el cual se dejó secar a 45 °C durante 30 min.

### 2.3.4 Electrodo 4: modificación con óxido de grafeno comercial (OGc)

El óxido de grafeno utilizado se obtuvo de Sigma-Aldrich con 15-20 hojas de espesor con un porcentaje de oxidación del 4-10% en los bordes. Se preparó una suspensión de 1.0 mg mL<sup>-1</sup> en agua desionizada y se tomaron 5.0 µL para depositarlos sobre la superficie limpia del electrodo, el cual se dejó secar a 45 °C durante una hora (Ntsendwana et al., 2012). El electrodo se enjuagó suavemente con agua desionizada y se almacenó para su posterior uso.

### 2.3.5 Electrodo 5: modificación con Nafion y β-ciclodextrina (N/β-c)

En primer lugar, se procedió con la electropolimerización de la β-ciclodextrina bajo los parámetros descritos en la **sección 2.3.2**. Tras depositar la β-ciclodextrina, el electrodo se enjuagó suavemente y se dejó secar. A continuación, se procedió a colocar una gota de 5.0 µL de una solución de Nafion al 1.0% sobre la superficie del electrodo y se dejó secar a 45 °C por 30 min. Una vez obtenido el sensor, éste se almacenó para su posterior uso.

### **2.3.6 Electrodo 6: modificación con Nafion y óxido de grafeno sintetizado (N/OGs)**

Se preparó una suspensión de  $1.0 \text{ mg mL}^{-1}$  de óxido de grafeno sintetizado (según la **sección 2.3.3**) en solución de Nafion al 1.0% v/v con agua desionizada. Una vez limpio el electrodo, se depositó una gota de  $5.0 \mu\text{L}$  de la suspensión sobre su superficie y se dejó secar a  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 30 min. El sensor obtenido se almacenó para su posterior uso.

### **2.3.7 Electrodo 7: modificación con $\beta$ -ciclodextrina y óxido de grafeno sintetizado ( $\beta$ -c/OGs)**

Se depositó una gota de  $5.0 \mu\text{L}$  de suspensión del óxido de grafeno sintetizado en agua desionizada ( $1.0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) (según la **sección 2.3.3**) sobre la superficie del electrodo de carbón vítreo limpio y se dejó secar por 30 min a  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ . Posteriormente, se procedió a realizar la electropolimerización de la  $\beta$ -ciclodextrina sobre el electrodo modificado según las condiciones especificadas en la **sección 2.3.2**.

### **2.3.8 Electrodo 8: modificación con $\beta$ -ciclodextrina y óxido de grafeno comercial ( $\beta$ -c/OGc)**

Se depositó una gota de  $5.0 \mu\text{L}$  de suspensión óxido de grafeno comercial en agua desionizada ( $1.0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) sobre la superficie del electrodo con la  $\beta$ -ciclodextrina y se dejó secar por 30 min a  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ . Posteriormente, se electropolimerizó la  $\beta$ -ciclodextrina sobre el electrodo de carbón vítreo limpio según las condiciones especificadas en la **sección 2.3.2**.

### **2.3.9 Electrodo 9: modificación con Nafion, $\beta$ -ciclodextrina y óxido de grafeno sintetizado (N/ $\beta$ -c/OGs)**

Se depositó una gota de  $5.0 \mu\text{L}$  de suspensión de  $1.0 \text{ mg mL}^{-1}$  del óxido de grafeno sintetizado en solución de Nafion al 1.0% sobre la superficie del electrodo y se dejó secar a  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  por 30 min. Por último, se electropolimerizó la  $\beta$ -ciclodextrina sobre el electrodo modificado con Nafion y óxido de grafeno bajo los parámetros de la **sección 2.3.2**.

### **2.3.10 Electrodo 10: modificación con Cu/Zn (CuZn)**

En este caso, se preparó una solución de  $\text{CuSO}_4$  y  $\text{ZnSO}_4$  1.0 mM en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0.1 M) y, a continuación, se procedió a electrodepositar partículas de Cu y Zn sobre el electrodo de carbón vítreo en condiciones potenciostáticas aplicando un potencial de -1.4 V durante 60 s mediante cronoamperometría.

### **2.3.11 Electrodo 11: modificación con $\beta$ -ciclodextrina, óxido de grafeno comercial y Cu/Zn ( $\beta$ -c/OGc/CuZn)**

Se depositó una gota de 5.0  $\mu\text{L}$  de una suspensión de 1.0 mg  $\text{mL}^{-1}$  en agua desionizada de óxido de grafeno comercial sobre el electrodo limpio y se dejó secar durante media hora a 45 °C. Posteriormente, se electrodepositaron partículas de Cu y Zn (**sección 2.3.10**) y se electropolimerizó la  $\beta$ -ciclodextrina según la metodología descrita en la sección **2.3.2**.

## **2.4 Caracterización electroquímica del bisfenol A sobre los electrodos modificados**

El estudio del comportamiento de BPA sobre los diferentes electrodos modificados se realizó mediante voltamperometría cíclica con una solución 100  $\mu\text{M}$  de BPA en PBS a temperatura ambiente en el rango de potencial de 0 a 1.0 V en sentido anódico con velocidad de barrido de 100  $\text{mV s}^{-1}$ , a partir del potencial de corriente nula. Se realizaron 20 ciclos consecutivos en cada caso.

## **2.5 Estudio de pasivación sobre los electrodos modificados con las mejores características**

Una vez elegidos los electrodos con que presentaron la mejor sensibilidad y estabilidad en las señales analíticas, se procedió a realizar un estudio de pasivación utilizando diferentes tiempos de preconcentración por medio de voltamperometría diferencial de pulsos. Posteriormente, se realizó una segunda etapa de este estudio mediante la construcción de curvas de calibrado donde se evaluó la linealidad, sensibilidad y reproducibilidad de cada sensor.

## **2.6 Optimización y caracterización del electrodo con las mejores características**

Con la finalidad de optimizar la respuesta del sensor elegido con las mejores características, por medio de un diseño Taguchi  $L_9 2^3$ , se eligieron las condiciones

óptimas para llevar a cabo la construcción del electrodo. De igual forma, se realizó una optimización univariable de los parámetros utilizados durante la técnica de voltamperometría diferencial de pulsos, utilizada para llevar a cabo la cuantificación. Asimismo, se evaluó el pH del medio, el solvente y la influencia del oxígeno sobre el sistema.

## **2.7 Obtención de los parámetros analíticos del sensor y validación del método analítico**

Según los parámetros establecidos por la IUPAC se reportaron los parámetros analíticos del sensor optimizado. La sensibilidad se reportó como la pendiente de la recta de la curva de calibrado obtenida por el método de mínimos cuadrados. Para obtener el límite de detección se calculó la desviación estándar de la recta de calibrado, se multiplicó por tres y se dividió sobre la pendiente ( $LOD=3S_{y/x}/b$ ). El límite de cuantificación se calculó como diez veces el valor de la desviación estándar de la recta de calibrado dividido sobre la pendiente ( $LOD=10S_{y/x}/b$ ). El intervalo lineal se reportó desde el límite de cuantificación hasta la concentración máxima donde la señal analítica correspondía de forma lineal con la concentración del analito.

La reproducibilidad y repetibilidad se calcularon midiendo tres diferentes concentraciones de BPA por triplicado y calculando las sensibilidades de tres sensores preparados de forma independiente el mismo día (repetibilidad) y en distintos días (reproducibilidad). A partir de los datos obtenidos se calcularon las desviaciones estándar relativas (%RSD) de cada parámetro evaluado.

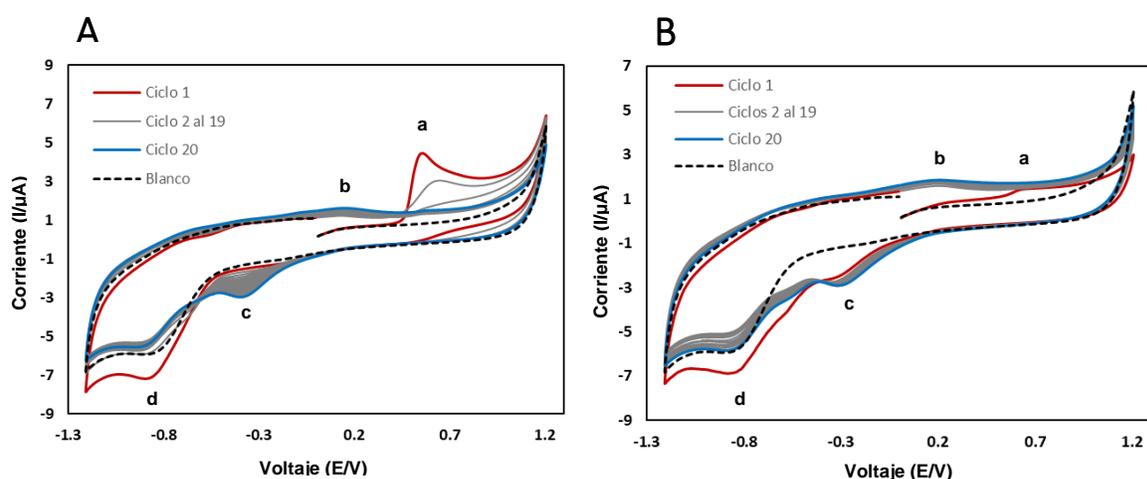
## **2.8 Aplicación del método analítico en muestras reales**

Se recolectaron en diferentes mercados de la región recipientes reutilizables para agua y para alimentos, biberones y un garrafón de agua de capacidad de 20 L. Se eligieron recipientes con el número de clasificación 7 (elaborados con policarbonato), así como recipientes sin número de clasificación especificado. Para cada caso, se pesó 1.0 g de muestra y se lavó con agua para retirar residuos. Posteriormente, la muestra se depositó en un recipiente de vidrio con 30 mL de una solución de etanol en agua desionizada al 20% v/v y se mantuvo a 60°C durante 10 días (Reglamento (UE) N° 10/2011). Pasado este tiempo, se procedió a realizar la determinación del BPA lixiviado de la muestra con el método desarrollado (Gao et al., 2012).

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Caracterización electroquímica del bisfenol A sobre el electrodo de carbón vítreo

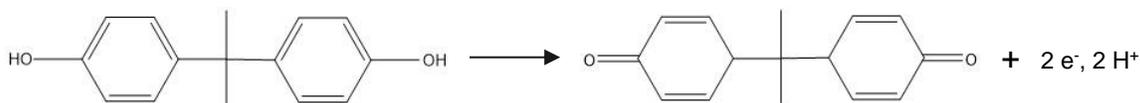
Se llevó a cabo un estudio mediante voltamperometría cíclica utilizando un electrodo de carbón vítreo sin modificar en PBS. Se realizaron 20 ciclos consecutivos en una ventana de potencial de -1.2 a 1.2 V, con velocidad de barrido de  $100 \text{ mVs}^{-1}$ , a una solución de BPA  $100 \mu\text{M}$ , partiendo de potencial de corriente nula. El voltamperograma correspondiente se muestra en la **Figura 3-A**.



**Figura 3.** Voltamperometría cíclica aplicada a una solución de BPA  $100 \mu\text{M}$  en PBS a  $100 \text{ mVs}^{-1}$  partiendo de potencial de corriente nula en sentido anódico, 20 ciclos consecutivos (A) y en una solución de PBS sin BPA después de lavar el electrodo (B).

En el primer ciclo se observa un pico definido en  $0.57 \text{ V}$  (pico **a**) correspondiente al proceso de oxidación no reversible del BPA (**Figura 3-A**). Esta señal, en los siguientes ciclos, se recorre a valores de potencial más positivos y la intensidad de corriente disminuye hasta desaparecer. Lo anterior se atribuye a la pasivación del electrodo debido a la formación de una película aislante de polímero formado por la oxidación del BPA (Chauke et al., 2010). El mecanismo de oxidación del BPA propuesto en diferentes fuentes se aprecia en la **Figura 4** (Koyun et al., 2019; Mohammadzadeh Jahani et al., 2020). Por otra parte, se observa, a partir del segundo ciclo, la formación un pico anódico en  $0.14 \text{ V}$  (pico **b**) y un pico catódico en  $-0.39 \text{ V}$  (pico **c**) cuyas intensidades aumentan de manera directa con los ciclos realizados. Estas señales pueden atribuirse a la oxidación y reducción del polímero del BPA, como se ha reportado previamente en la literatura (Szekeres et al., 2019).

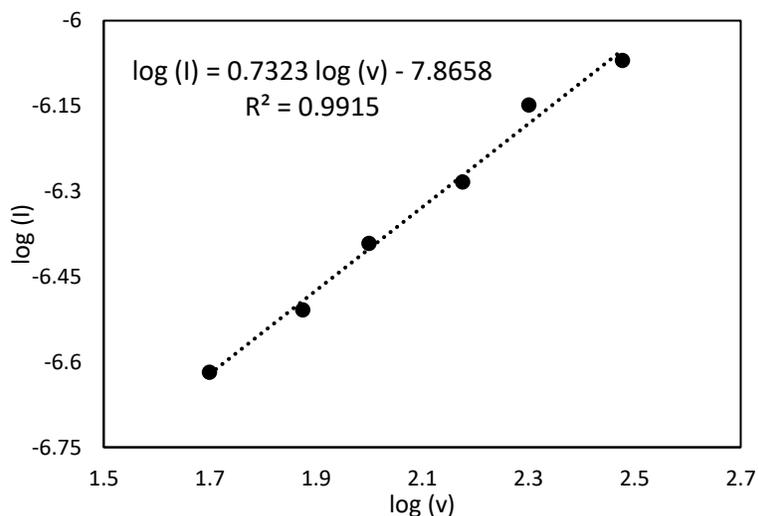
La señal de reducción observada en -0.9 V (pico **d**) corresponde a la reducción del oxígeno disuelto en la solución.



**Figura 4.** Mecanismo de oxidación del BPA adaptado de Szekeres et al., 2019.

Con la finalidad de confirmar la pasivación del sensor, una vez terminados los 20 ciclos, se enjuagó el electrodo con agua desionizada y se sumergió en una solución de PBS sin analito en la cual se realizaron 20 ciclos más bajo las mismas condiciones (**Figura 3-B**). El voltamperograma muestra solamente el par de picos en 0.14 V y -0.39 V, atribuidos a la oxidación y reducción del polímero de BPA formado (picos **b** y **c**, respectivamente). Asimismo, se observa una pequeña señal en 0.57 V en el primer ciclo (pico **a**), que corresponde a la oxidación del analito remanente en la red polimérica, indicativo de su adsorción sobre la superficie del electrodo (S. C. B. Oliveira et al., 2007).

Adicionalmente, se realizó un estudio a diferentes velocidades de barrido con una solución de BPA 5.0  $\mu\text{M}$  en PBS en el rango de velocidades de 50 a 300  $\text{mV s}^{-1}$  (**Figura 5**).



**Figura 5.** Logaritmo de los picos máximos de corriente contra el logaritmo de la velocidad de barrido para una solución de BPA 5  $\mu\text{M}$  en PBS.

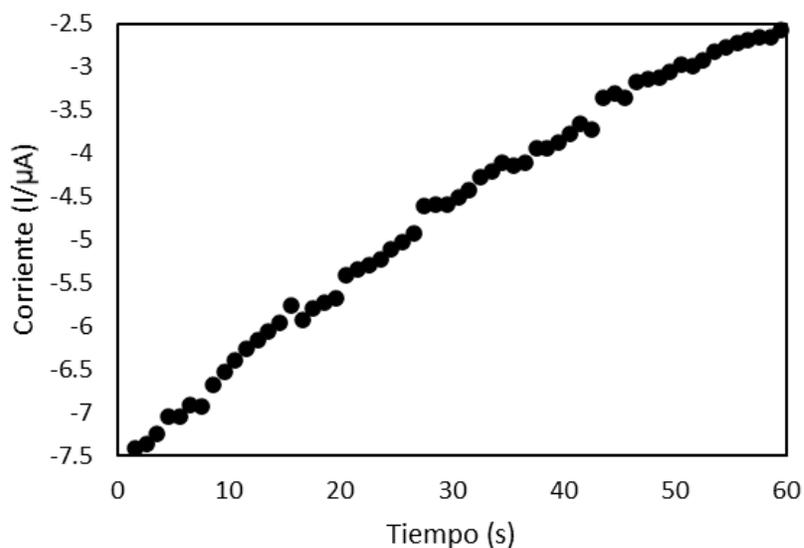
Al graficar el logaritmo de la corriente contra el logaritmo de la velocidad de barrido (**Figura 5**) se obtuvo una relación lineal con una pendiente de 0.73, lejana a los valores teóricos de 0.5 y 1.0, indicativos para procesos típicos controlados por difusión y adsorción, respectivamente, lo cual indica la contribución simultánea de ambos fenómenos en el proceso de oxidación del analito sobre el electrodo (Pamuk et al., 2013).

Con la finalidad de estudiar si el cambio de solución reguladora de pH tiene influencia sobre la pasivación del electrodo, se realizó la caracterización electroquímica del BPA utilizando una solución BR mediante voltamperometría cíclica. Al analizar los voltamperogramas, se observó la pasivación de la señal de oxidación del analito y la adsorción del polímero sobre la superficie del electrodo, al igual que en el estudio realizado con PBS.

Debido a que no se observaron diferencias significativas utilizando PBS y BR en cuanto a la intensidad de las señales y a la pasivación del electrodo, se utilizó la solución PBS para los experimentos subsecuentes. Cabe destacar que esta solución posee una composición más simple y amortigua el intervalo de pH durante el electroanálisis del BPA (Najafi et al., 2014; Kunene et al., 2020; Rather & De Wael, 2013).

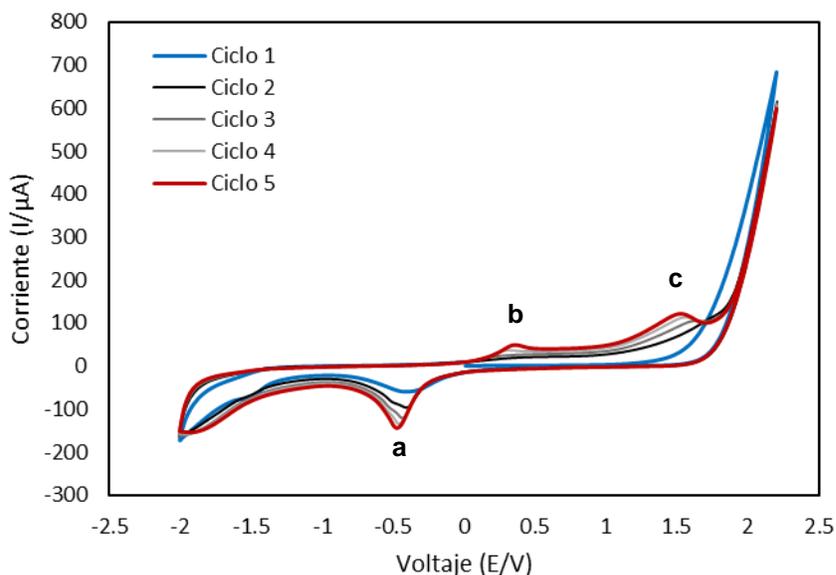
### **3.2 Modificación del electrodo de carbón vítreo**

La modificación del electrodo de carbón vítreo con Nafion se llevó a cabo por medio de la deposición de una gota de solución y dejando secar a temperatura controlada. Una vez seco el electrodo, fue posible observar una película transparente. En el caso de la modificación con óxido de grafeno el proceso fue similar, se depositó una gota de suspensión de este nanomaterial y se dejó secar, tras lo cual, se observó la deposición de las partículas de forma homogénea sobre toda la superficie del electrodo. Por otra parte, el cronoamperograma correspondiente a la deposición de Cu/Zn (**Figura 6**) exhibe un aumento de corriente durante el tiempo de aplicación del pulso de potencial, lo que se atribuye a la formación y el crecimiento de los núcleos metálicos (Henni et al., 2019). Con lo anterior se confirma la deposición exitosa de los metales sobre el disco del electrodo.



**Figura 6.** Cronoamperograma realizado a una solución de  $\text{CuSO}_4$  y  $\text{ZnSO}_4$  1.0 mM en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1 M imponiendo un potencial de -1.4 V durante 60 s utilizando un electrodo de carbón vítreo.

El voltamperograma correspondiente a la electropolimerización de la  $\beta$ -ciclodextrina sobre el electrodo de carbón vítreo se presenta en la **Figura 7**.



**Figura 7.** Voltamperograma cíclico de la electropolimerización de la  $\beta$ -ciclodextrina sobre el electrodo de carbón vítreo a partir de una solución de  $\beta$ -ciclodextrina 6 mM en solución buffer de fosfatos de pH 5.0 (0.05 M) a  $100 \text{ mVs}^{-1}$ . Sentido anódico partiendo de potencial de corriente nula.

En el primer barrido no se muestran picos anódicos, sin embargo, al realizar el barrido catódico, se presenta una señal de reducción alrededor de -0.4 V (pico **a**), misma que va aumentando de intensidad, así como desplazándose hacia potenciales más negativos en los ciclos siguientes. Esta señal, conforme a reportes de la literatura, está relacionada directamente con el éxito de la formación del polímero de  $\beta$ -ciclodextrina (Pereira et al., 2019). De igual forma se observa, a partir del segundo ciclo, la formación de un pico anódico en 0.3 V y uno más en 1.5 V (picos **b** y **c**, respectivamente). Lo anterior indica que, en el primer ciclo, al no obtener señales, las unidades de  $\beta$ -ciclodextrina comienzan a oxidarse sobre la superficie del electrodo y la polimerización inicia a partir de los siguientes barridos. De igual forma, debido a que los picos catódicos y anódicos presentes siguen aumentando de intensidad, se infiere que el polímero sigue en crecimiento y no ha alcanzado el grosor máximo.

### **3.3 Caracterización electroquímica del bisfenol A sobre los electrodos modificados**

Los electrodos modificados se sometieron a un estudio mediante voltamperometría cíclica para caracterizar el comportamiento electroquímico del BPA. Se realizaron 20 ciclos consecutivos a una solución 100  $\mu$ M de BPA en PBS. En la **Tabla 3** se enlistan los valores de altura de pico del primer ciclo, así como el potencial de oxidación obtenido para cada electrodo. De igual forma, se calculó el porcentaje de la intensidad de corriente remanente en el ciclo 20, tomando la intensidad del ciclo 1 como el 100%. En las **Figuras 8** a la **19**, se muestran los voltamperogramas correspondientes a cada electrodo (**A**), así como una gráfica de estabilidad de la señal en porcentaje por ciclo (**B**), construida a partir de los valores de corriente máxima netos, comparados con el blanco.

Se puede apreciar, en el ciclo 1 de todos los voltamperogramas, un pico anódico definido correspondiente al proceso no reversible de oxidación del BPA (pico **a**), no obstante, en el ciclo 2 se observa una caída considerable de la intensidad de la señal. Lo anterior confirma que todos los electrodos sufren la pasivación generada por la deposición de la película de polímero de BPA formada sobre su superficie; sin embargo, existe una mejora en la sensibilidad de los sensores modificados, ya que 8 de los 11 electrodos preparados mostraron intensidades de corrientes mayores que el electrodo sin modificar.

**Tabla 3.** Corrientes máximas y potenciales obtenidos para las señales de oxidación del BPA sobre los diferentes electrodos modificados.

Número de electrodo	Nomenclatura	Corrientes máximas de oxidación ( $\mu\text{A}$ ) Ciclo 1	Potencial de oxidación (V) Ciclo 1	Intensidad remanente en el ciclo 20 (%)
	No modificado	4.06	0.543	0.0
<b>1</b>	N	0.39	0.614	35.9
<b>2</b>	$\beta$ -c	22.85	0.523	7.1
<b>3</b>	OGs	27.84	0.503	4.6
<b>4</b>	OGc	28.3	0.594	3.3
<b>5</b>	N/ $\beta$ -c	3.42	0.584	0.6
<b>6</b>	N/OGs	4.72	0.614	0.1
<b>7</b>	$\beta$ -c/OGs	24.17	0.574	3.4
<b>8</b>	$\beta$ -c/OGc	68.41	0.574	0.6
<b>9</b>	N/ $\beta$ -c/OGs	25.82	0.543	3.2
<b>10</b>	CuZn	2.89	0.634	0.7
<b>11</b>	$\beta$ -c/OGc/CuZn	62.09	0.584	2.4

**N:** Nafion.  **$\beta$ -c:**  $\beta$ -ciclodextrina. **OGs:** Óxido de grafeno sintetizado. **OGc:** Óxido de grafeno comercial. **CuZn:** Partículas de cobre y zinc.

A partir de los electrodos modificados con Nafion [**Electrodo 1 (N)**, **5 (N/ $\beta$ -c)** y **6 (N/OGs)**] se obtuvieron las alturas de pico menores en comparación con los demás electrodos, asimismo, el **Electrodo 9 (N/ $\beta$ -c/OGs)** a pesar de presentar una corriente alta, fue menor que la obtenida con el **Electrodo 3 (OGs)**, sintetizado solamente a partir del óxido de grafeno. Lo anterior puede deberse a que la deposición de la capa de un polímero no conductor sobre la superficie del electrodo impide la transferencia rápida de electrones, lo que se traduce en una señal de corriente menor. Para el caso del **Electrodo 1 (N)** se aprecia que en el ciclo 20 se conserva un 35% de la señal original, sin embargo, presenta una sensibilidad menor que el electrodo sin modificar, lo que dificulta su aplicación para la cuantificación del analito en concentraciones traza.

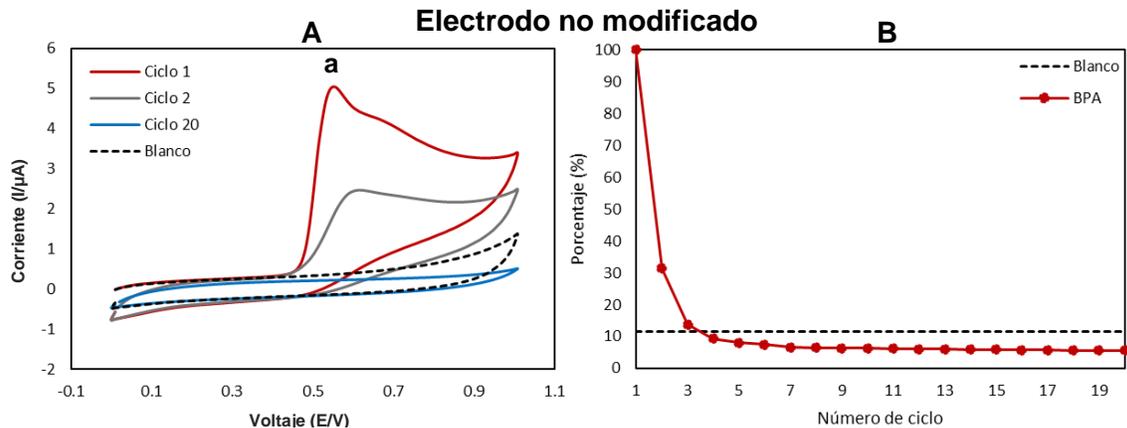
El **Electrodo 2 ( $\beta$ -c)** modificado con  $\beta$ -ciclodextrina, mostró una mayor sensibilidad que el electrodo sin modificar debido a los complejos de inclusión formados entre la  $\beta$ -ciclodextrina y las moléculas de BPA que favorecen la interacción entre el analito y el electrodo, facilitando la transferencia de electrones, como se ha descrito en la literatura (Qin et al., 2016). Asimismo, según la gráfica de estabilidad de señal se observa que este electrodo presentó una señal más estable a diferencia de los demás electrodos ya que en el ciclo 20 se obtuvo una señal por

arriba del valor del blanco y, además, conservó un 7% de la señal original, lo cual puede deberse a las interacciones formadas entre el polímero y las moléculas de BPA, que estabilizan los radicales formados durante el proceso de oxidación mitigando la formación del polímero del BPA.

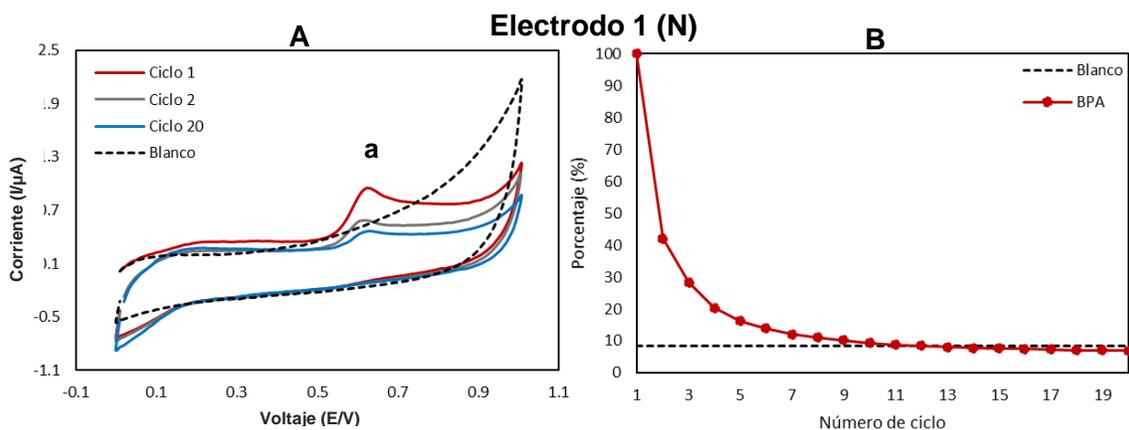
Los electrodos modificados con óxido de grafeno sintetizado y comercial [**Electrodo 3 (OGs)** y **4 (OGc)**] obtuvieron señales de oxidación similares con una intensidad de corriente aproximadamente 6 veces mayor que el electrodo sin modificar. Este aumento en la corriente se atribuye a la alta conductividad eléctrica y las propiedades catalíticas del óxido de grafeno (Ntsewona et al., 2012). Sin embargo, a pesar de la alta sensibilidad obtenida por estos sensores, la señal pierde intensidad de forma considerable, hasta obtener valores por debajo de la línea base del blanco, como se observa en las gráficas de estabilidad. Este comportamiento se aprecia en todos electrodos modificados con óxido de grafeno [**Electrodo 7 ( $\beta$ -c/OGs)**, **8 ( $\beta$ -c/OGc)** y **11 ( $\beta$ -c/OGc/CuZn)**] y puede asociarse con la disminución del área electroactiva del electrodo debido a una mayor deposición de la película polimérica aislante del BPA. Asimismo, al no observarse diferencias considerables en las corrientes de oxidación entre los electrodos preparados con el óxido de grafeno sintetizado y el comercial, debido a practicidad, se optó por utilizar el óxido de grafeno comercial para los experimentos siguientes.

La corriente obtenida con el electrodo con partículas de Cu/Zn electrodepositadas [**Electrodo 10 (CuZn)**] fue similar al resultado del electrodo sin modificar, debido a que, en ausencia de un material estabilizador con mayor área superficial, estas partículas son difícilmente retenidas sobre la superficie del electrodo de carbón vítreo (Ulubay, 2019). Por el contrario, el **Electrodo 11 ( $\beta$ -c/OGc/CuZn)**, preparado con  $\beta$ -ciclodextrina, óxido de grafeno y partículas de Cu/Zn electrodepositadas, mostró una de las corrientes de oxidación mayores de todos los electrodos modificados. Lo anterior puede atribuirse a una deposición exitosa de las partículas de Cu/Zn sobre el óxido de grafeno, como se ha observado en otros trabajos, donde la presencia de estas estructuras metálicas acelera la transferencia electrónica (Ulubay, 2019). Así mismo, este comportamiento se puede relacionar a un efecto sinérgico entre los tres materiales.

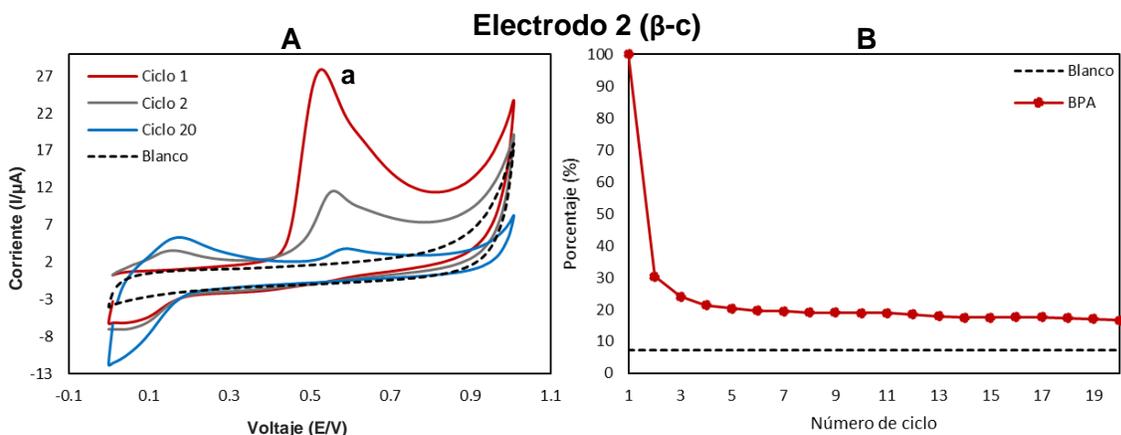
Debido a la alta sensibilidad que presentaron, los electrodos que se eligieron para la siguiente etapa del estudio son los electrodos construidos con óxido de grafeno comercial [**Electrodo 4 (OGc)**, **8 ( $\beta$ -c/OGc)** y **11 ( $\beta$ -c/OGc/CuZn)**]. Por otra parte, el electrodo con  $\beta$ -ciclodextrina, **Electrodo 2 ( $\beta$ -c)**, se eligió debido a que presentó la mejor relación entre sensibilidad y estabilidad, ya que conservó un 7% de su señal original mientras que la señal analítica obtenida fue 5.6 veces mayor que el electrodo sin modificar.



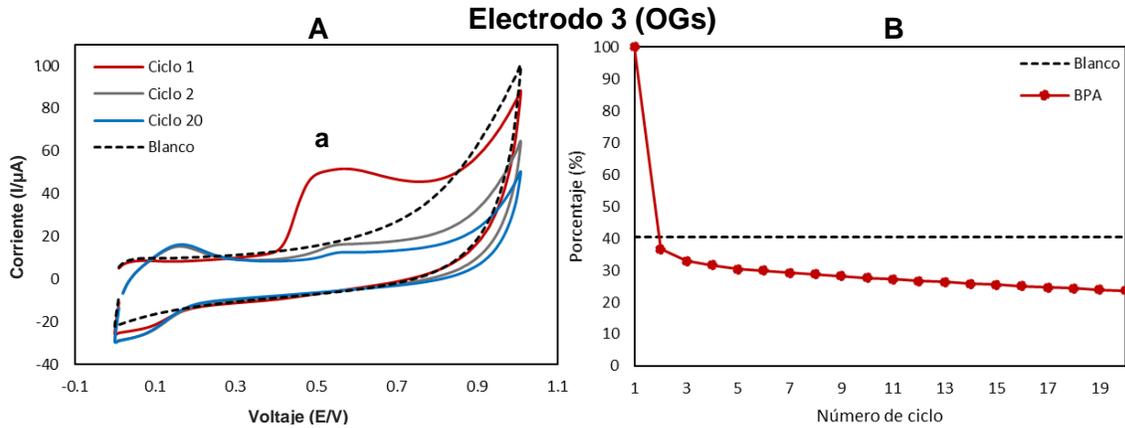
**Figura 8.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA 100  $\mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo de potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo no modificado.



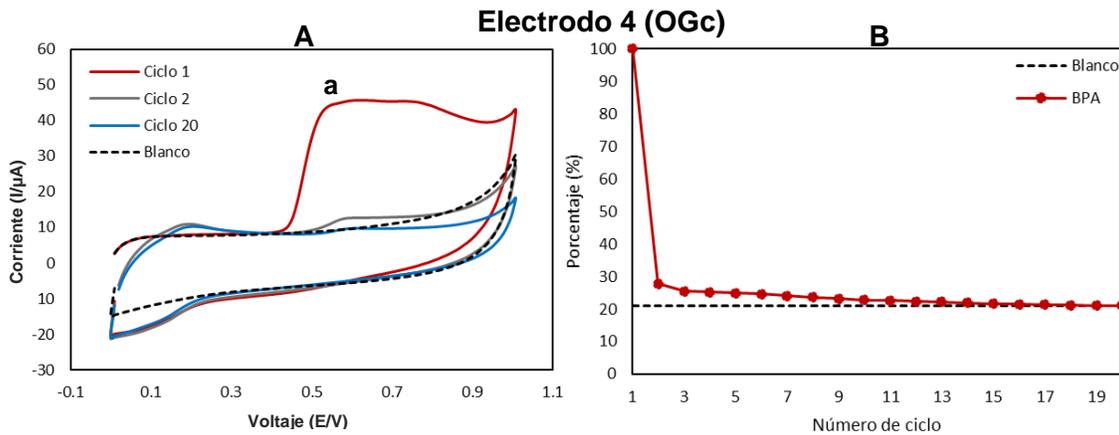
**Figura 9.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA 100  $\mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos partiendo de potencial de corriente nula, 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo de potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con Nafion.



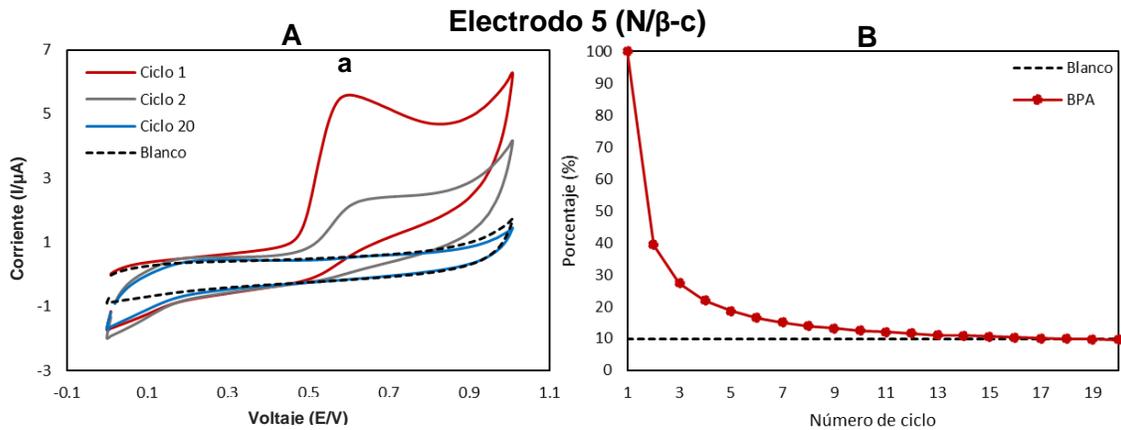
**Figura 10.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA 100  $\mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con  $\beta$ -ciclodextrina.



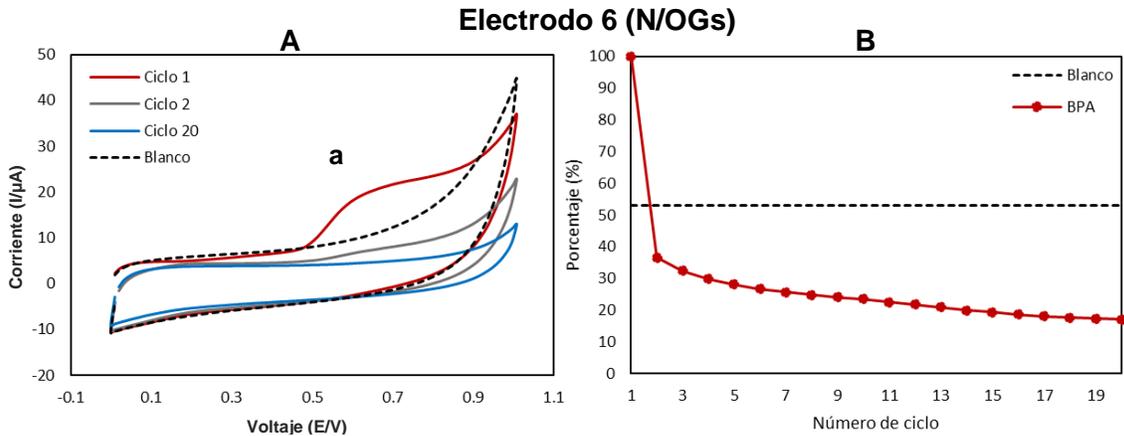
**Figura 11.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA 100  $\mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con óxido de grafeno sintetizado.



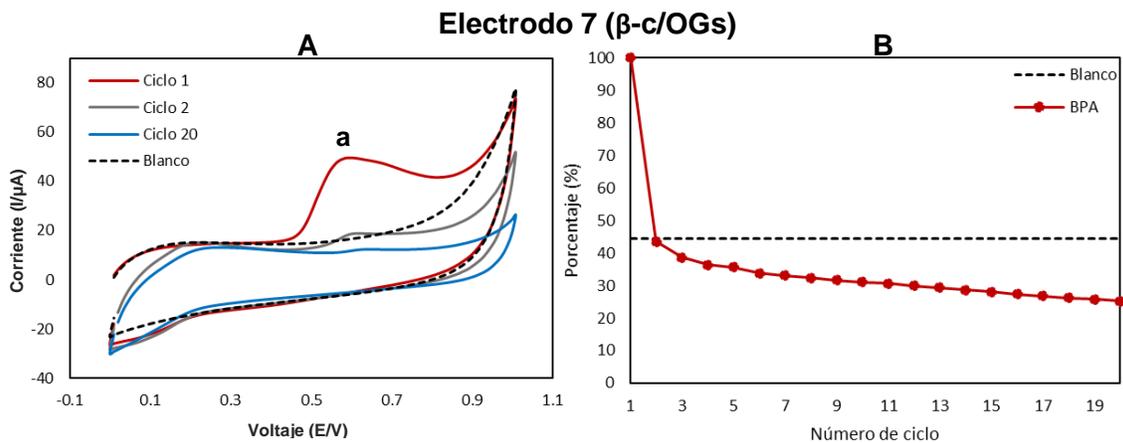
**Figura 12.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA 100  $\mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con óxido de grafeno comercial.



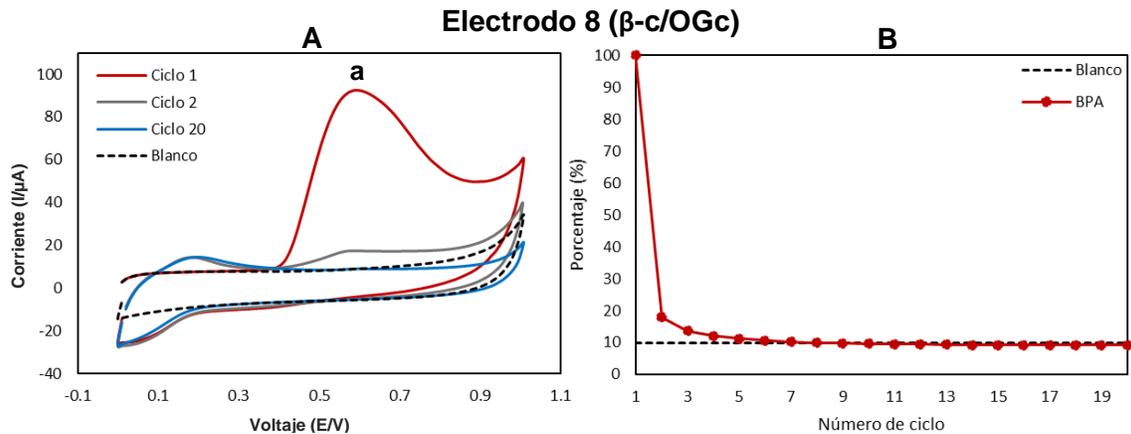
**Figura 13.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA 100  $\mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con Nafion y  $\beta$ -ciclodextrina.



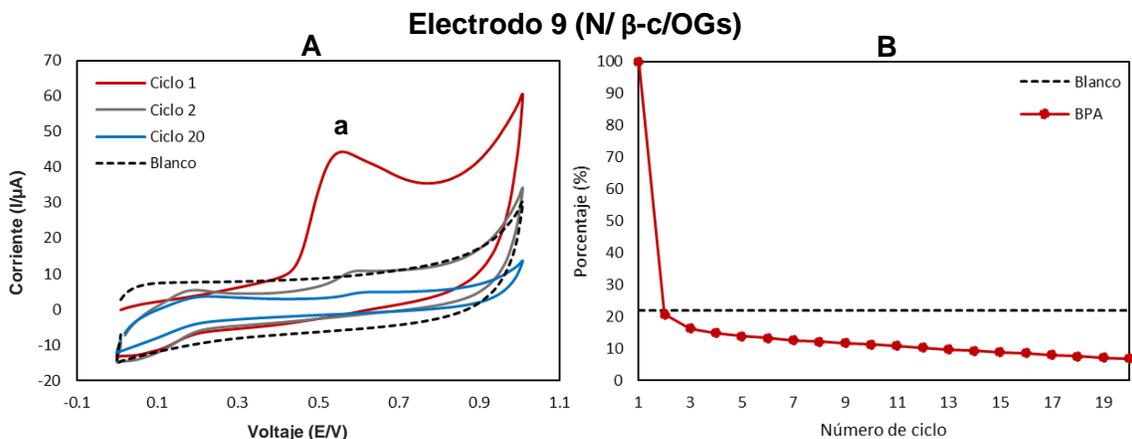
**Figura 14.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA  $100 \mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con Nafion y óxido de grafeno sintetizado.



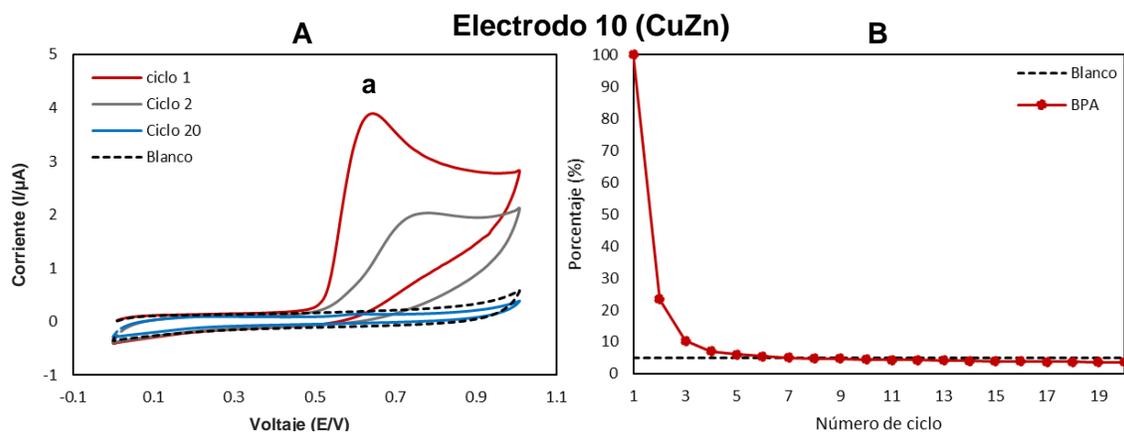
**Figura 15.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA  $100 \mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con  $\beta$ -ciclodextrina y óxido de grafeno sintetizado.



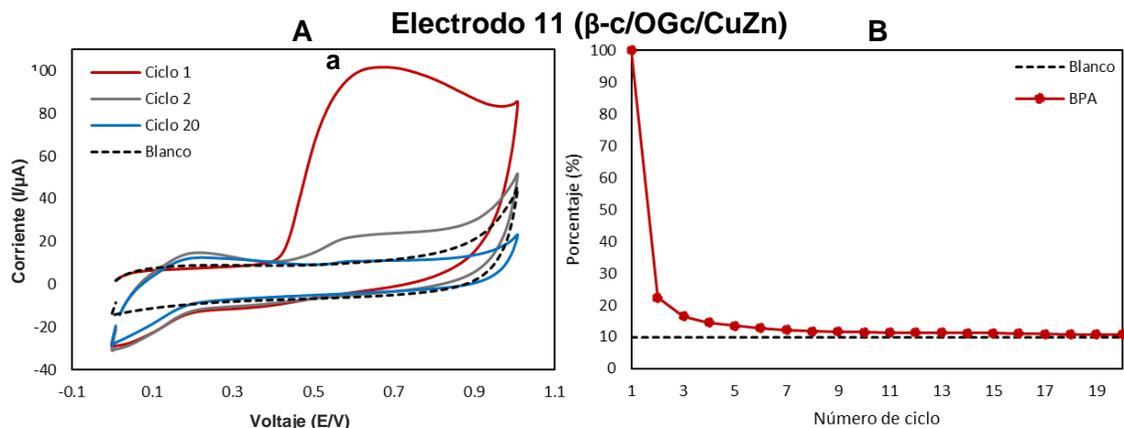
**Figura 16.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA  $100 \mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con  $\beta$ -ciclodextrina y óxido de grafeno comercial.



**Figura 17.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA  $100 \mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con Nafion,  $\beta$ -ciclodextrina y óxido de grafeno sintetizado.



**Figura 18.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA  $100 \mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con partículas de Cu/Zn electrodepositadas.

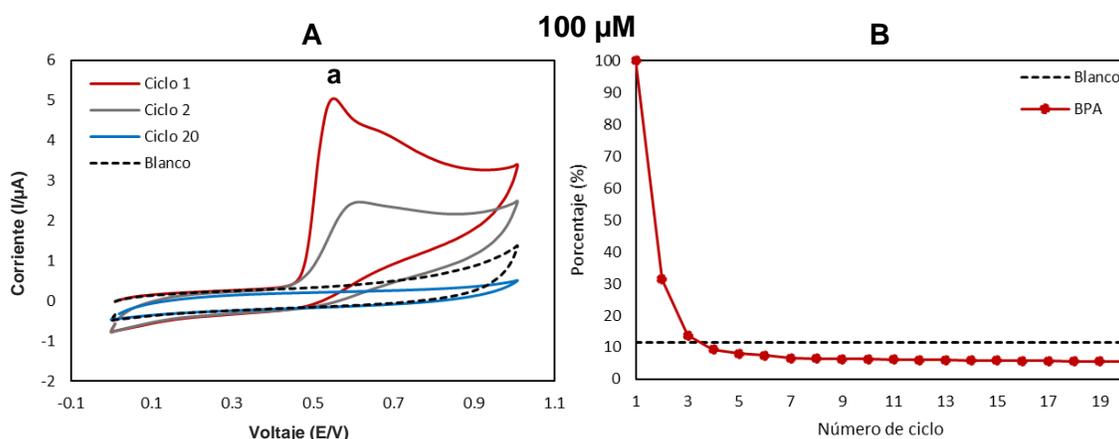


**Figura 19.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA  $100 \mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con  $\beta$ -ciclodextrina, óxido de grafeno comercial, y partículas de Cu/Zn electrodepositadas.

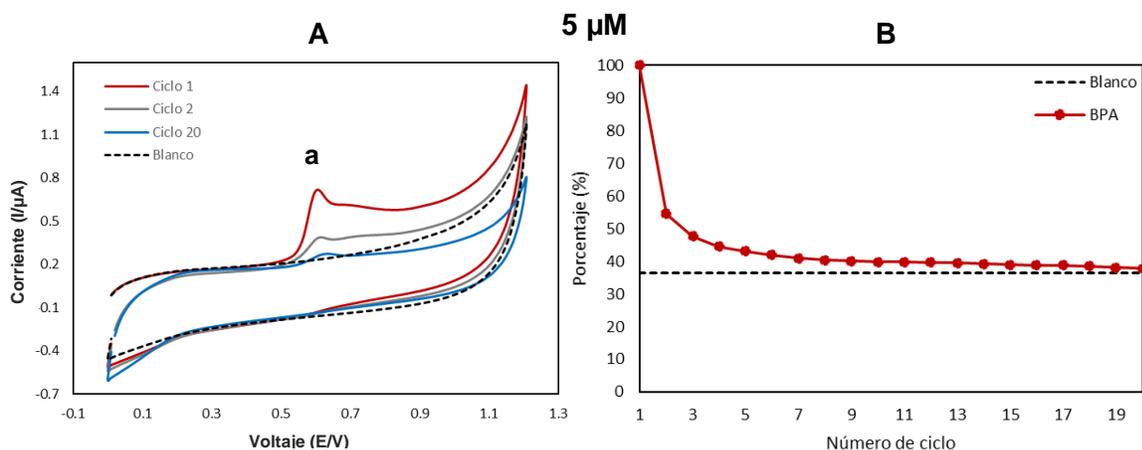
### 3.4 Estudio de la concentración de BPA como factor en la pasivación del electrodo

Dado que se ha reportado en la literatura una relación directa entre la concentración del analito y la pasivación del electrodo (Ghanam et al., 2017), se realizó un estudio utilizando diferentes concentraciones de BPA: 100, 5 y 1  $\mu\text{M}$ , las cuales se han utilizado para el estudio del analito en la literatura (Mohammadzadeh Jahani et al., 2020; Ben Messaoud et al., 2017; Ghanam et al., 2017). Se corrieron 20 ciclos consecutivos mediante VC en solución PBS sobre un electrodo de carbón vítreo sin modificar. Posteriormente, se realizó el mismo experimento utilizando VDP con la finalidad de estudiar la pasivación del electrodo con ambas técnicas electroquímicas. Los voltamperogramas obtenidos para cada concentración se muestran en las figuras siguientes (A) y, a partir de estos, se elaboró una gráfica de estabilidad de la señal en porcentaje por ciclo (B), construida a partir de los valores de corriente máxima netos, comparados con el blanco.

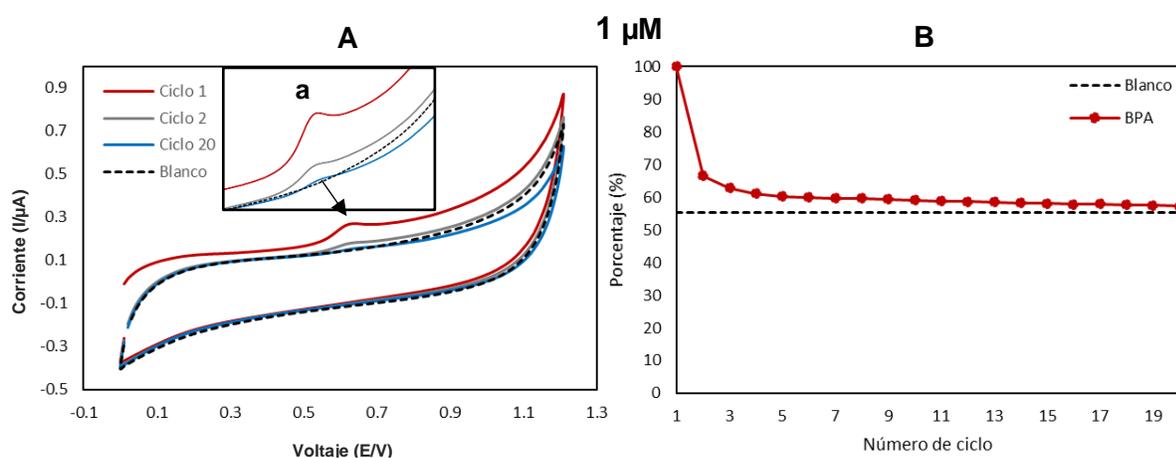
La **Figura 20** corresponde a los resultados obtenidos mediante VC para la concentración de BPA de 100  $\mu\text{M}$  donde se observa que el pico de oxidación del analito disminuye al aumentar los ciclos del voltamperograma (pico a), hasta que a partir del ciclo 4, desaparece la señal analítica y se obtiene un valor de corriente neta por debajo del blanco. Por otra parte, al utilizar una concentración de BPA de 5  $\mu\text{M}$  (**Figura 21**), el pico de oxidación no desaparece totalmente durante los 20 ciclos (pico a), aunque sufre una disminución considerable. Caso similar se observa en la **Figura 22** al utilizar una concentración de 1  $\mu\text{M}$ , donde la señal permanece por arriba del valor del blanco (pico a).



**Figura 20.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA 100  $\mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo sin modificar.

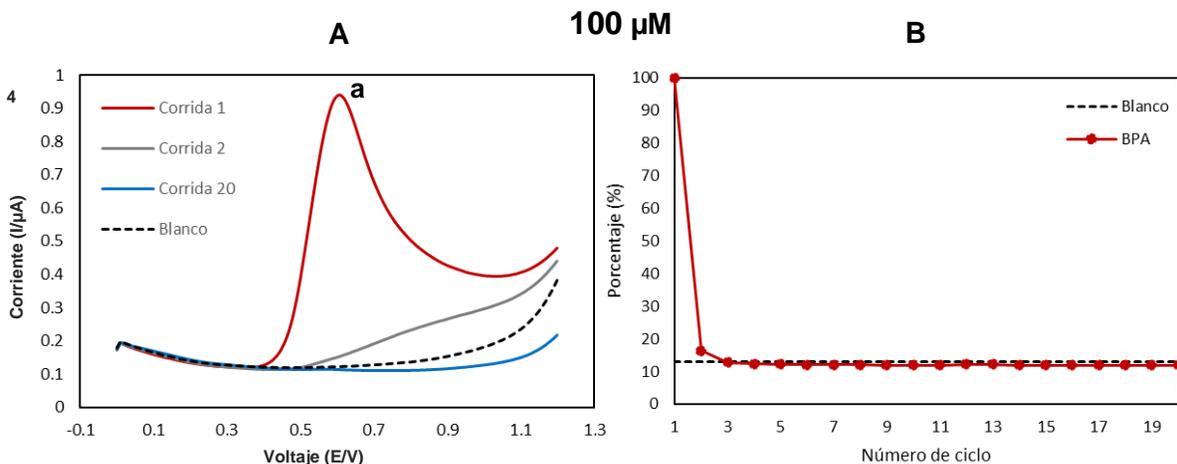


**Figura 21.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA 5.0 μM en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo sin modificar.

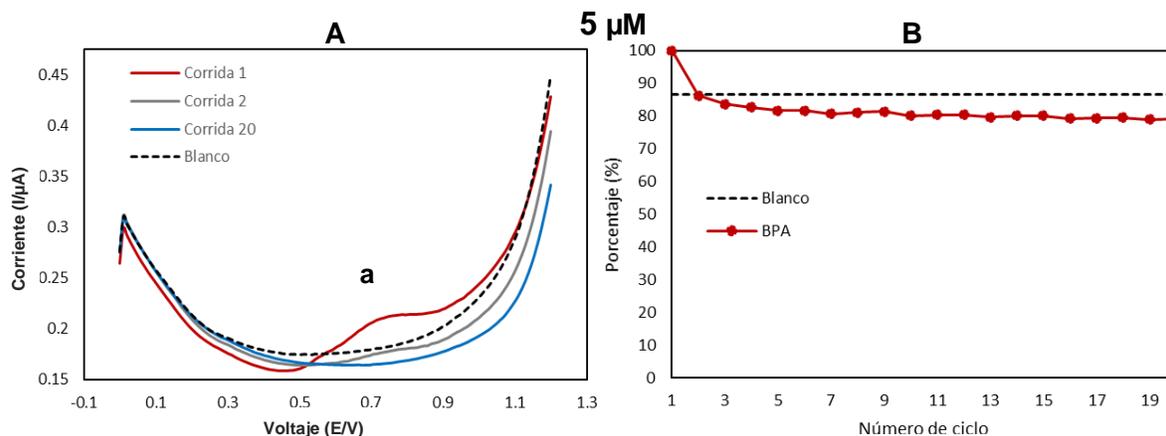


**Figura 22.** Voltamperometría cíclica de una solución de BPA 1.0 μM en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo sin modificar.

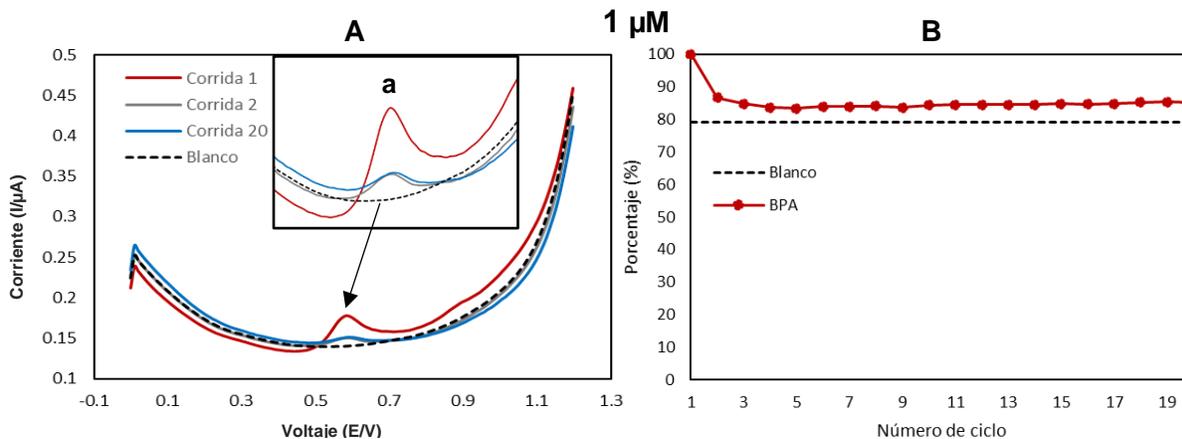
En la **Figura 23** se aprecia el voltamperograma obtenido con VDP a partir de una solución de BPA 100 μM. En la corrida 1 se presenta el pico definido del proceso de oxidación del analito (pico **a**), no obstante, en el segundo ciclo disminuye más del 80% de intensidad y, para la corrida 20, la señal desaparece completamente. Comportamiento similar se observa para la concentración de analito de 5 μM (**Figura 24**), donde la altura del pico de oxidación (pico **a**) disminuye para la segunda corrida considerablemente y en la corrida 20 el valor de corriente se encuentra por debajo del blanco. Por el contrario, al utilizar la concentración de 1 μM a partir de la corrida 2 se obtiene una señal constante superior al valor del blanco (pico **a**) (**Figura 25**).



**Figura 23.** Voltamperometría diferencial de pulsos para una solución de BPA 100  $\mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo sin modificar.



**Figura 24.** Voltamperometría diferencial de pulsos para una solución de BPA 5  $\mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo sin modificar.



**Figura 25.** Voltamperometría diferencial de pulsos para una solución de BPA 1  $\mu\text{M}$  en PBS (A), 20 ciclos consecutivos en sentido anódico, partiendo del potencial de corriente nula, y gráfica de intensidades de corriente máxima para cada ciclo (B) obtenidas con un electrodo de carbón vítreo sin modificar.

La información correspondiente a los experimentos realizados se recopila en la **Tabla 4**. Se reporta el valor la intensidad de corriente del ciclo 1 y el porcentaje de señal retenida después de veinte ciclos. Se puede observar una tendencia en los resultados de ambas técnicas donde se retiene un mayor porcentaje de la señal inicial al disminuir la concentración del BPA, lo que se asocia a una menor pasivación del electrodo. Este comportamiento es congruente con los resultados observados en la literatura, para BPA y para otros compuestos fenólicos, donde se ha demostrado que al aumentar la concentración del analito incrementa la producción del material polimérico responsable de la pasivación de los electrodos (Ghanam et al., 2017; Yang et al., 2013; Yi et al., 2001; Gattrell et al., 1993).

**Tabla 4.** Corrientes máximas y potenciales obtenidos para las señales de oxidación del BPA sobre un electrodo de carbón vítreo sin modificar utilizando diferentes concentraciones.

Técnica electroquímica	Concentración BPA ( $\mu\text{M}$ )	Intensidad de corriente ciclo 1 ( $\mu\text{A}$ )	Intensidad remanente en el ciclo 20 (%)
VC	100	3.51	0
	5	0.40	10
	1	0.05	13
VDP	100	0.73	0
	5	0.03	0
	1	0.01	17

**VC:** Voltamperometría cíclica. **VDP:** Voltamperometría diferencial de pulsos.

Los resultados presentados en la **Tabla 4** demuestran que la técnica electroquímica de análisis tiene efecto también sobre la pasivación del electrodo, ya que, con la concentración más baja estudiada, se retuvo un mayor porcentaje de señal utilizando VDP (17%) que con VC (13%), así como una señal más estable a partir del ciclo 2 (**Figura 22-B** y **25-B**). Se ha demostrado en trabajos anteriores que las técnicas voltamperométricas de pulsos permiten obtener señales reproducibles para la detección de compuestos fenólicos debido a que minimizan la adsorción sobre los electrodos debido al cambio en la polaridad del electrodo (Lu et al., 2002; Chem & Umversuy, 1981).

### 3.5 Estudio sobre los electrodos modificados con las mejores características

#### 3.5.1 Evaluación del tiempo de preconcentración

Debido a que la oxidación de BPA sobre el electrodo de carbón vítreo es un proceso controlado por difusión y adsorción (§ 3.1) es posible preconcentrar la cantidad de analito sobre la superficie del electrodo para mejorar la respuesta electroquímica de los electrodos modificados.

Los electrodos utilizados para este estudio fueron los elegidos con las mejores características de la **Sección 3.3**. Se agitó durante 1, 10 y 15 minutos una solución de BPA 1  $\mu\text{M}$  y, posteriormente, se realizó un voltamperograma utilizando VDP. Las figuras siguientes corresponden a los resultados obtenidos para cada electrodo y en la **Tabla 5** se enlistan las intensidades de corriente de pico, así como el aumento de corriente entre los 10 y 15 minutos, tomando la corriente de 10 minutos como el 100%.

**Tabla 5.** Valores de las corrientes máximas obtenidos para las señales de oxidación del BPA utilizando diferentes tiempos de preconcentración.

Electrodo	Nomenclatura	Intensidad de corriente ( $\mu\text{A}$ )			Diferencia entre 10 y 15 minutos (%)
		1 min de agitación	10 min de agitación	15 min de agitación	
	<b>No modificado</b>	0.01	0.03	0.06	200
<b>2</b>	$\beta\text{-c}$	0.33	0.59	0.65	10
<b>4</b>	OGc	-	4.74	6.77	43
<b>8</b>	$\beta\text{-c/OGc}$	0.21	1.05	1.43	36
<b>11</b>	$\beta\text{-c/OGc/CuZn}$	-	0.87	1.12	29

$\beta\text{-c}$ :  $\beta$ -ciclodextrina. **OGc**: Óxido de grafeno comercial. **CuZn**: Partículas de cobre y zinc.

En todos los casos existe un incremento de la señal analítica respecto del tiempo, debido a que la agitación de la solución facilita la convección de las moléculas de BPA lo que incrementa la concentración interfacial sobre la superficie del electrodo (Alam & Deen, 2020). De igual forma se observa que el **Electrodo 4 (OGc)** y el **Electrodo 11 ( $\beta\text{-c/OGc/CuZn}$ )** no presentan señal al agitar durante un minuto, a diferencia del **Electrodo 2 ( $\beta\text{-c}$ )** y el **Electrodo 8 ( $\beta\text{-c/OGc}$ )**, lo que puede atribuirse a que el BPA necesita un mayor periodo de tiempo para adsorberse sobre el óxido de grafeno, mientras que la formación de complejos de inclusión de la  $\beta$ -ciclodextrina y el analito se lleva a cabo de forma rápida.

Asimismo, se aprecia que el electrodo con  $\beta$ -ciclodextrina presenta un cambio de solo el 10% entre la corriente obtenida con 10 y 15 minutos de agitación, lo que

sugiere la saturación de la mayoría de los sitios activos por las moléculas de BPA debido a la formación de los complejos.

Ya que la corriente incrementó de forma considerable al agitar durante 10 y 15 minutos en todos los casos, ambos tiempos de preconcentración se eligieron para la siguiente etapa del estudio.

### 3.5.2 Evaluación de recuperación de la señal

Para la elección del electrodo con las mejores características antipasivación, se realizó un estudio de estabilidad de la señal analítica. Los electrodos evaluados fueron los electrodos modificados con  $\beta$ -ciclodextrina y óxido de grafeno. Para cada caso, una solución de BPA 1  $\mu$ M se mantuvo en agitación durante 10 o 15 minutos antes de realizar un voltamperograma por VDP, este proceso se repitió durante 5 ciclos utilizando la misma solución. En la **Tabla 6** se muestra la intensidad de corriente remanente en el ciclo 5, tomando la intensidad del ciclo 1 como el 100%.

**Tabla 6.** Porcentajes de recuperación de la señal agitando por 10 o 15 minutos antes de cada ciclo.

Electrodo	Nomenclatura	Intensidad de corriente remanente en el ciclo 5 (%)		
		Sin agitación	10 min de agitación	15 min de agitación
	No modificado	14	88	88
2	$\beta$ -c	0	60	59
4	OGc	0	78	77
8	$\beta$ -c/OGc	0	65	53
11	$\beta$ -c/OGc/CuZn	0	64	53

$\beta$ -c:  $\beta$ -ciclodextrina. OGc: Óxido de grafeno comercial. CuZn: Partículas de cobre y zinc.

Los resultados obtenidos para todos los electrodos muestran que al someterse a agitación entre cada ciclo los porcentajes de corriente remanente son mayores que al realizar las corridas consecutivas. Esto puede deberse a la desorción parcial de las moléculas del polímero aislante responsables de la pasivación del sensor, lo que demostraría que es posible recuperar el área electroactiva perdida por la saturación de los sitios activos de los electrodos (Javaid et al., 2021).

El electrodo que obtuvo los mayores porcentajes de corriente remanente fue el electrodo no modificado, lo que se atribuye a la menor área específica del carbón vítreo respecto a los materiales modificantes. Este resultado concuerda con la literatura, donde se ha observado que la naturaleza del electrodo afecta la pasivación del mismo debido a las propiedades fisicoquímicas del material, como

hidrofobicidad y tamaño de partícula (Ghanam et al., 2017). En este sentido, los materiales modificantes le confieren al electrodo mayor área electroactiva, como se ha reportado en la literatura (Ulubay Karabiberoğlu, 2019; Zhang et al., 2013), por lo cual, presentan un menor porcentaje de corriente remanente debido a que se favorece la polimerización del BPA y, por tanto, la pasivación.

En la mayoría de los electrodos los porcentajes de corriente remanentes fueron mayores al agitar durante 10 minutos, en consecuencia, se eligió este tiempo de agitación para continuar con los siguientes experimentos.

Considerando que no existieron diferencias notables entre los porcentajes de los **electrodos 8 ( $\beta$ -c/OGc)** y **11 ( $\beta$ -c/CuZn/OGc)**, este último se descartó para las etapas siguientes, ya que los resultados obtenidos se atribuyeron únicamente al óxido de grafeno y a la  $\beta$ -ciclodextrina, y no a las partículas de Cu/Zn.

### 3.5.3 Evaluación mediante curvas de calibrado

Se construyeron curvas de calibrado en el intervalo de concentración que permite cuantificar el límite de migración específica del BPA ( $0.219 \mu\text{M}$ ) (§ 1.2.3) con cada uno de los electrodos seleccionados en la etapa anterior. Se realizaron adiciones sucesivas del analito y para cada una se realizó una medida por VDP agitando por 10 min antes de cada medición. Cada curva se realizó por triplicado y se calcularon las ecuaciones de regresión, coeficiente de determinación ( $R^2$ ) así como el coeficiente de desviación estándar relativa (%RSD) de la sensibilidad de cada sensor. La **Tabla 7** resume los resultados obtenidos y en la **Figura 26** se presentan las curvas de calibrado.

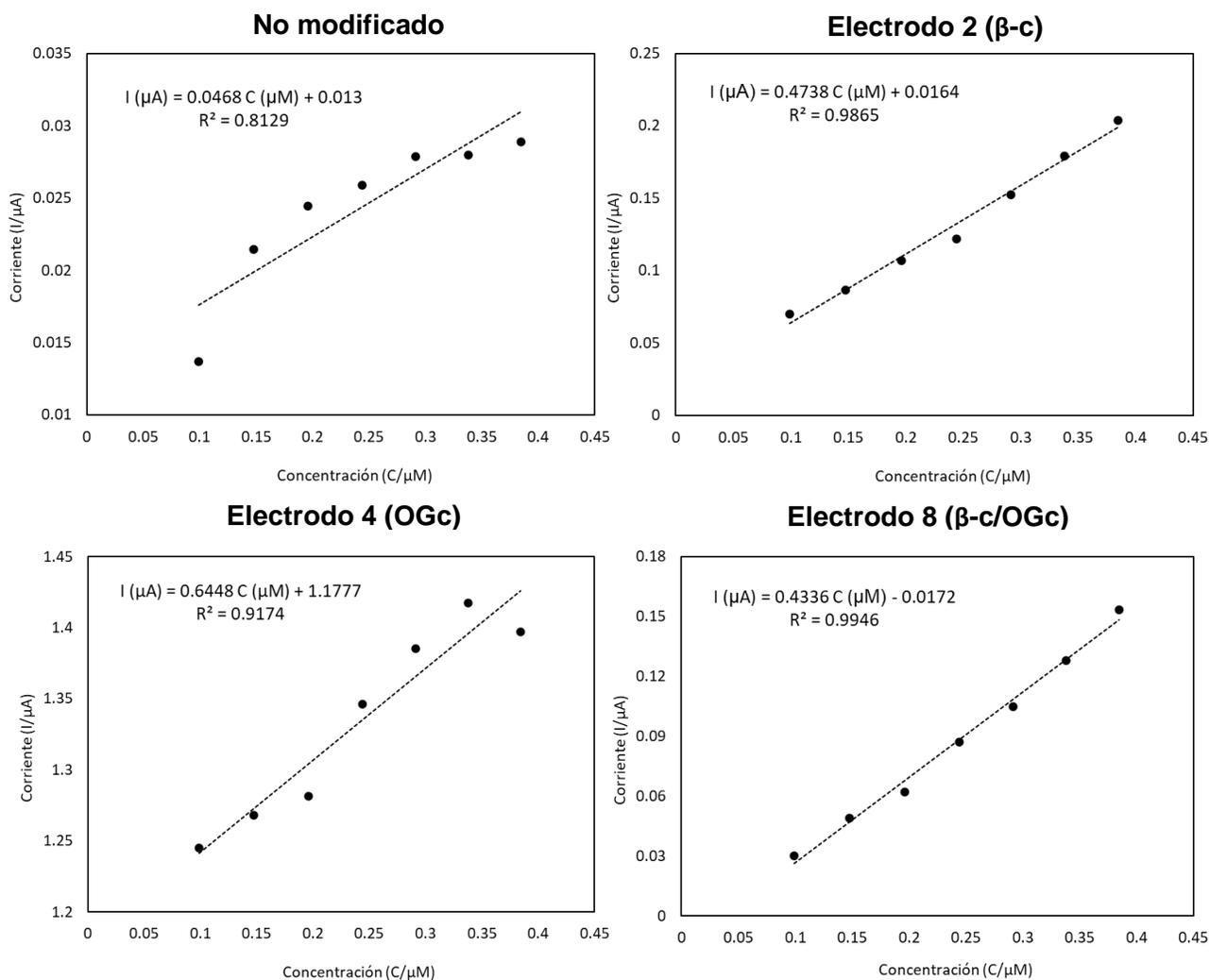
**Tabla 7.** *Parámetros analíticos de las curvas de calibrado obtenidas con un electrodo de carbón vítreo sin modificar y modificado.*

Electrodo	Nomenclatura	Sensibilidad ( $\mu\text{M } \mu\text{A}^{-1}$ )	$R^2$	%RSD (n=3)
	No modificado	0.04	0.81	49.5
<b>2</b>	$\beta$ -c	0.43	0.99	4.3
<b>4</b>	OGc	0.64	0.91	78.2
<b>8</b>	$\beta$ -c/OGc	0.47	0.98	16.2

$\beta$ -c:  $\beta$ -ciclodextrina. **OGc**: Óxido de grafeno comercial. **CuZn**: Partículas de cobre y zinc.

Se puede observar que el electrodo no modificado presentó una sensibilidad menor que los demás electrodos. De igual forma, utilizando este electrodo, se obtuvo una baja linealidad y reproducibilidad.

Al modificar el electrodo con óxido de grafeno [**Electrodo 4 (OGc)**] la sensibilidad aumentó 16 veces, no obstante, la linealidad no mostró mejora mientras que la reproducibilidad fue la menor de todos los electrodos evaluados. Este comportamiento puede estar ligado a la relación existente entre pasivación y la concentración del analito, es decir, ya que el óxido de grafeno presenta una alta conductividad eléctrica y comportamiento catalítico, promueve la oxidación electroquímica de una mayor cantidad de BPA lo que produce, a su vez, mayor cantidad de polímero aislante. Esto, aunado a la alta área superficial de las hojas de grafeno, promueve que el electrodo se pasive con mayor rapidez y que requiera mayor tiempo de agitación para recuperar el área electroactiva original del electrodo.



**Figura 26.** Curvas de calibrado obtenidas con el electrodo sin modificar, modificado con β-ciclodextrina (Electrodo 2), modificado con óxido de grafeno (Electrodo 4) y modificado con óxido de grafeno y β-ciclodextrina (Electrodo 8).

En cuanto a los sensores fabricados con  $\beta$ -ciclodextrina [**Electrodo 2 ( $\beta$ -c)** y **8 ( $\beta$ -c/OGc)**], a pesar de mostrar menor sensibilidad, obtuvieron buena linealidad, así como bajos coeficientes de %RSD. Este comportamiento se puede atribuir a la influencia que presenta la capa del polímero de  $\beta$ -ciclodextrina sobre la pasivación del electrodo. Se ha reportado que los recubrimientos con polímeros disminuyen la pasivación de los electrodos sin comprometer la señal analítica (Lu et al., 2002; Wheeler & Heineman, 1990; Poon & McCreery, 1987). Asimismo, algunos autores han demostrado que los polímeros que forman interacciones anfitrión-huésped pueden influir en la cantidad de productos de oxidación formados que conducen a la pasivación del electrodo (Wheeler & Heineman, 1990; Annibale et al., 1999; H. Zhou et al., 2022). Este comportamiento puede explicarse debido a que las estructuras moleculares, responsables de la formación de los complejos de inclusión, interfieren en la recombinación de los radicales y dímeros formados durante la oxidación del analito, lo que impide la subsecuente formación del polímero pasivante.

Con la finalidad de elegir entre los electrodos construidos con  $\beta$ -ciclodextrina [**Electrodo 2 ( $\beta$ -c)** y **8 ( $\beta$ -c/OGc)**] se compararon las sensibilidades por medio de una prueba estadística  $t$  para comparación de pendientes, tras lo cual se puede afirmar con el 95% de confianza que la diferencia entre las pendientes no es significativa ( $t_{\text{calculada}}$  (0.74) <  $t_{\text{crítica}}$  (2.17) con 12 grados de libertad).

En vista de los resultados obtenidos, el **Electrodo 2 ( $\beta$ -c)**, modificado con  $\beta$ -ciclodextrina, se seleccionó como el sensor con el mejor comportamiento antipasivación y simple modificación respecto a los demás electrodos. Cabe señalar que, a pesar de que no es el electrodo que exhibe la mayor sensibilidad, es posible alcanzar el límite de migración específica requerido. En las siguientes etapas del proyecto, este sensor se sometió a un proceso de optimización con el objetivo de mejorar su respuesta analítica.

### 3.6 Optimización del electrodo con las mejores características

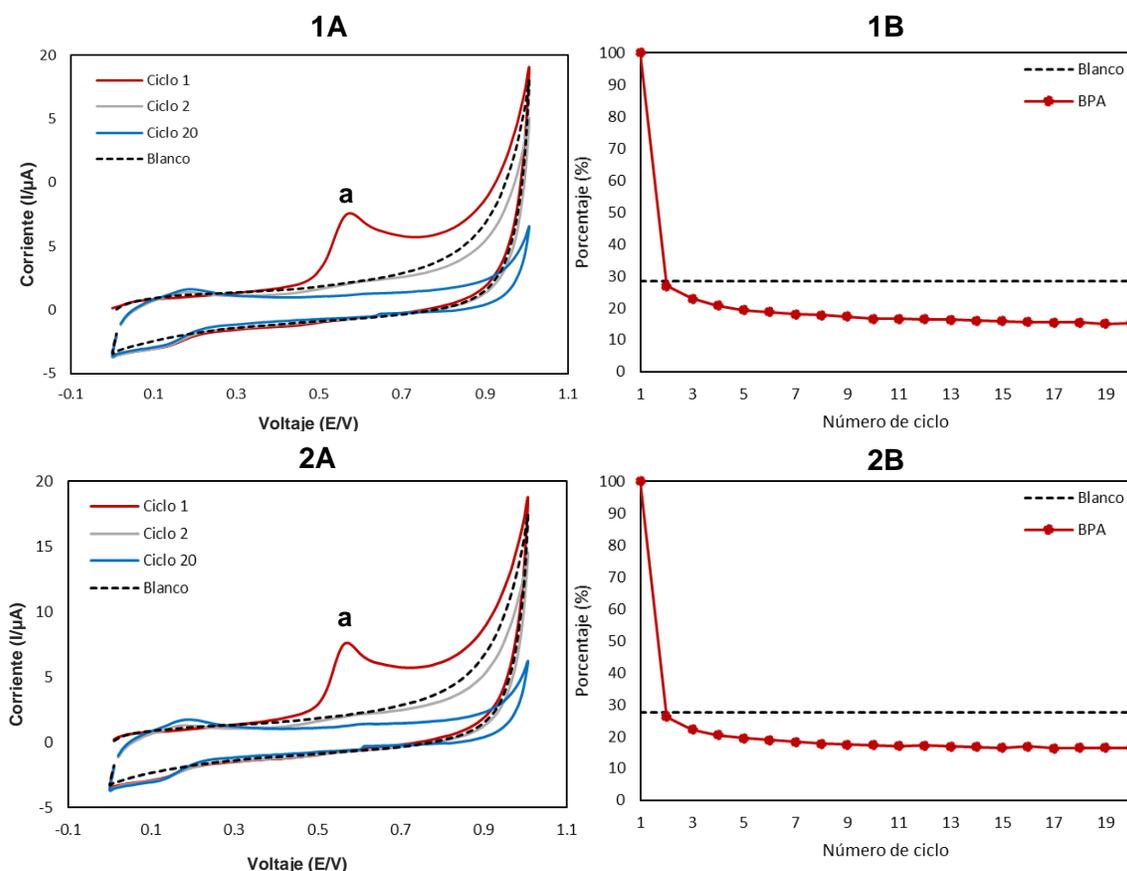
#### 3.6.1 Influencia del oxígeno

Con la finalidad de averiguar si la presencia de oxígeno (O<sub>2</sub>) en el sistema, debido a su carácter electrofílico, influye sobre la pasivación del electrodo modificado con β-ciclodextrina, se llevó a cabo un estudio burbujeando nitrógeno (N<sub>2</sub>) dentro de la celda electroquímica durante 10 minutos. Pasado este tiempo, se realizaron 20 ciclos consecutivos mediante voltamperometría cíclica a una solución de BPA 5 μM. En la **Tabla 8** se muestran los valores de corriente y potencial obtenidos bajo una atmósfera con aire o nitrógeno y en la **Figura 27** se presentan los voltamperogramas y las gráficas de estabilidad de la señal en porcentaje.

**Tabla 8.** Valores de la corriente de pico y potenciales de pico obtenidos con un electrodo modificado con β-ciclodextrina bajo una atmósfera de aire y nitrógeno.

Material modificador	O <sub>2</sub>		N <sub>2</sub>	
	Intensidad de corriente (μA)	Potencial (V)	Intensidad de corriente (μA)	Potencial (V)
β-ciclodextrina	4.130	0.574	4.134	0.563

En la **Tabla 8** y en los voltamperogramas (**Figura 27-1A** y **2A**) se puede observar que no existen diferencias significativas en cuanto al valor de la intensidad de corriente de los picos de oxidación del analito al utilizar una atmósfera inerte (pico **a**). Asimismo, en las gráficas de estabilidad, se observó el mismo comportamiento en ambos casos, donde a partir del segundo ciclo, los porcentajes obtenidos son menores al valor del blanco y, para el ciclo 20, el porcentaje de corriente remanente es menor al 20% (**Figura 27-1B** y **2B**). Esto demuestra que el oxígeno no influye en la estabilización de los radicales libres formados durante el proceso de oxidación del BPA, responsables de la polimerización del analito, por lo cual, los experimentos siguientes se realizaron en una atmósfera sin desplazar al oxígeno del medio, como los experimentos anteriores.



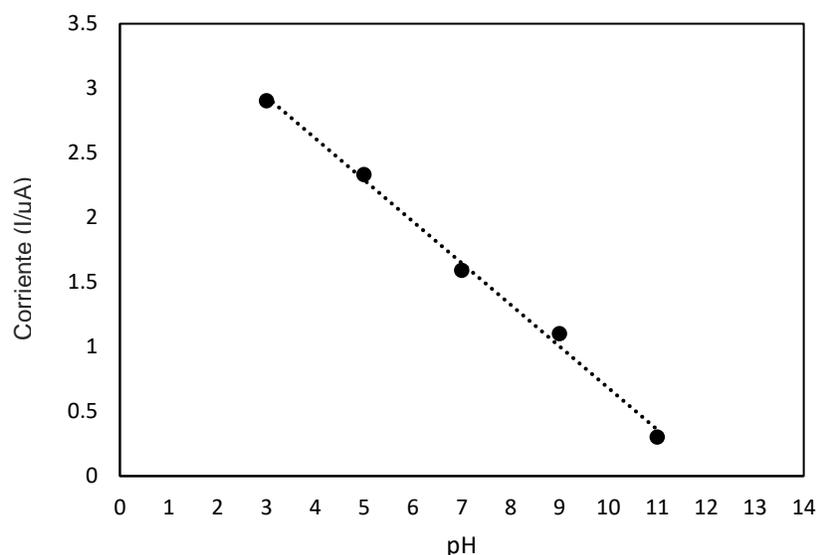
**Figura 26.** Voltamperogramas cíclicos (A) y gráficas de estabilidad de corriente (B) obtenidos con un electrodo modificado con  $\beta$ -ciclodextrina bajo una atmósfera de aire (1) y nitrógeno (2).

### 3.6.2 Influencia del pH

Se caracterizó el comportamiento del electrodo de carbón vítreo modificado con  $\beta$ -ciclodextrina a diferentes valores de pH. Para cada caso se preparó una solución de fosfatos 0.05 M con KCl 0.05 M y se agregó NaOH o HCl para ajustar al pH deseado. Se analizó un rango de pH de 3 hasta 11. Se graficó la relación pH contra corriente (**Figura 28**) así como pH contra potencial de oxidación (**Figura 29**).

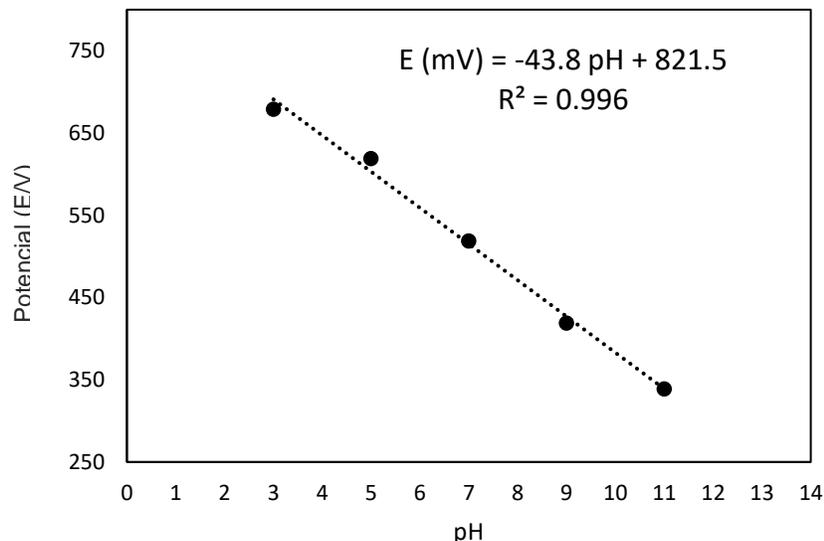
En la **Figura 28** se puede observar que al aumentar el valor de pH se obtienen corrientes de oxidación menores. Este comportamiento demuestra que el pH es un factor determinante en la adsorción de las moléculas de BPA dentro de la cavidad hidrofóbica de la  $\beta$ -ciclodextrina ya que, en condiciones básicas, el BPA se encuentra desprotonado ( $pK_a=9.8$ ), lo que desfavorece la interacción entre los grupos hidroxilo del BPA y la  $\beta$ -ciclodextrina y, por tanto, la formación de los complejos de inclusión (Ragavan & Rastogi, 2017; Lee & Kwak, 2018). A pesar de

que el valor más alto de señal analítica fue el obtenido a pH 3.0, los siguientes experimentos se realizarán a pH neutro, como se realizaron los experimentos anteriores, debido a que en este trabajo se pretende analizar muestras acuosas con la mínima preparación. Sin embargo, la evaluación en medio ácido puede formar parte de las perspectivas del proyecto a largo plazo.



**Figura 28.** Intensidades de corriente obtenidas utilizando una solución BPA 1  $\mu$ M en PBS a diferentes valores de pH.

Debido a que el proceso de oxidación del BPA se lleva a cabo mediante la transferencia de protones provenientes de los grupos hidroxilo de la molécula, existe una relación entre el pH y el potencial de oxidación (Arvand & Hemmati, 2017). Se observa, en la **Figura 29**, que el potencial de oxidación aumenta al disminuir el pH, comportamiento típico del proceso de oxidación de fenoles (Nunes da Silva et al., 2021). Esta relación obedece a una ecuación lineal con una pendiente de  $-44.0$  mV por unidad de pH, valor que sugiere que el proceso de oxidación del BPA sobre el electrodo modificado involucra una razón de protones/electrones intercambiados de  $1.5/2$ , lo cual se atribuye a la formación de dímeros, como se ha reportado para otros compuestos fenólicos (Mazloum-Ardakani et al., 2009; Petrova et al., 1990).



**Figura 29.** Potenciales de oxidación obtenidos utilizando una solución BPA 1  $\mu\text{M}$  en PBS a diferentes valores de pH.

### 3.6.3 Optimización de los parámetros instrumentales

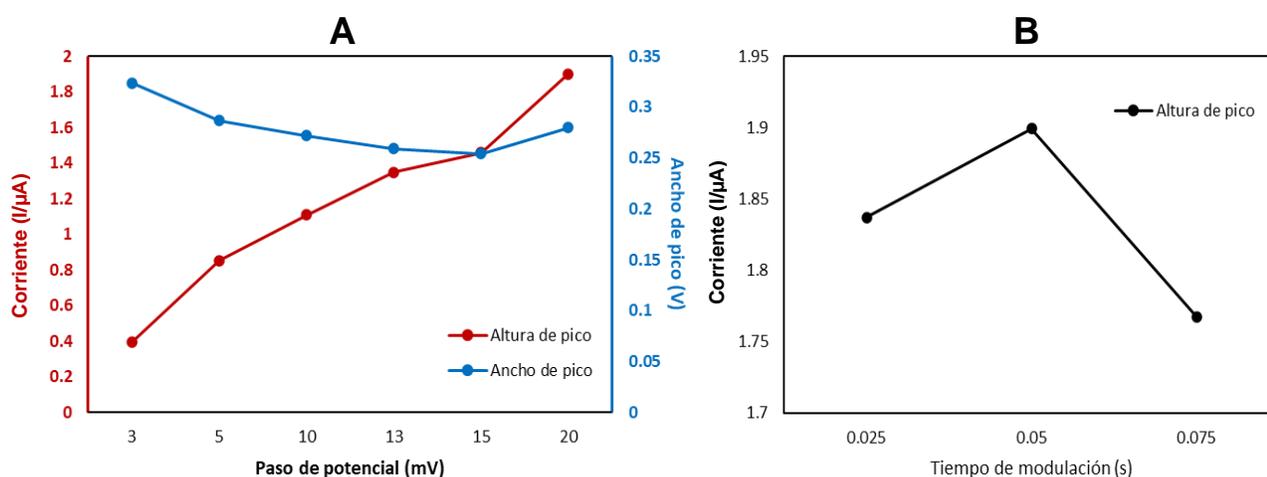
Se realizó una optimización univariable de los parámetros instrumentales utilizados durante los análisis de VDP con la finalidad de aumentar la señal analítica del sensor con  $\beta$ -ciclodextrina. Los parámetros evaluados fueron el paso de potencial y el tiempo de modulación, como se enlista en la **Tabla 9**. El paso de potencial se relaciona con la velocidad de barrido y afecta la altura y ancho de los picos, mientras que el tiempo de modulación representa el tiempo durante el cual se mantiene el pulso y permite la separación entre la corriente capacitiva y la corriente faradaica, con lo cual afecta de forma directa en la intensidad de las señales (Espinoza & Alvarado, 2012).

**Tabla 9.** Optimización univariable de los parámetros utilizados durante la voltamperometría diferencial de pulsos.

Experimento	Amplitud de modulación (mV)	Tiempo de modulación (s)	Intervalo de tiempo (s)	Paso de potencial (mV)
1	25	0.050	0.1	3.0
2	25	0.050	0.1	5.0
3	25	0.050	0.1	10.0
4	25	0.050	0.1	13.0
5	25	0.050	0.1	15.0

<b>6</b>	25	0.050	0.1	20.0
<b>7</b>	25	0.025	0.1	20.0
<b>8</b>	25	0.075	0.1	20.0

En la **Figura 30** se presentan los resultados obtenidos al modificar el paso de potencial (**Experimentos 1-6**). Se grafica la altura de pico en  $\mu\text{A}$ , así como el ancho de la base del pico en V. Al aumentar el paso de potencial se observa que el ancho de la base del pico disminuye mientras que la altura de la señal aumenta en todo el intervalo estudiado, obteniendo la mayor señal al utilizar un paso de potencial de 20 mV. Utilizando este valor, se analizó el comportamiento de la señal al modificar el tiempo de modulación (**Experimentos 6-8**), tras lo cual, se eligió el valor de 0.05 s como el valor óptimo para obtener señales más definidas (**Figura 30-B**). Debido a esto, las condiciones del **Experimento 6** se eligieron para llevar a cabo la siguiente etapa de optimización.



**Figura 30.** Respuesta obtenida al modificar el paso de potencial (A) y el tiempo de modulación (B) mediante el análisis de voltamperometría diferencial de pulsos.

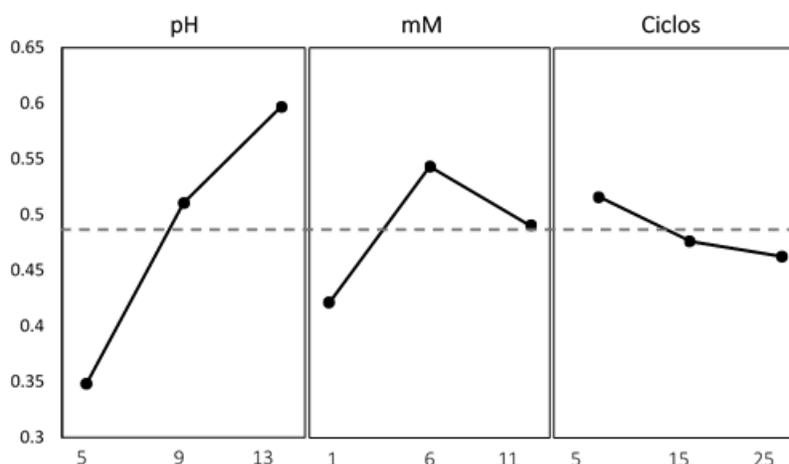
### 3.6.4 Optimización del proceso de construcción del sensor

Se realizó un diseño de Taguchi L9 ( $3^3$ ) con la finalidad de aumentar la sensibilidad del electrodo al evaluar los factores que intervienen en la construcción del sensor. Los factores que se estudiaron fueron el pH de electropolimerización, la concentración de la solución precursora de  $\beta$ -ciclodextrina y el número de ciclos durante la electropolimerización, mientras que los niveles se eligieron con base en una revisión bibliográfica previa (Pereira et al., 2019; Karim-nezhad et al., 2023; Q. Qin et al., 2016). En la tabla siguiente se muestra el diseño y la respuesta obtenida para cada experimento.

**Tabla 10.** Diseño de Taguchi para el proceso de construcción del sensor.

Experimento	pH	Concentración $\beta$ -ciclodextrina (mM)	Ciclos	Sensibilidad ( $\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$ )
1	5	1	5	0.27
2	5	6	15	0.40
3	5	11	25	0.37
4	9	1	15	0.48
5	9	6	25	0.47
6	9	11	5	0.55
7	13	1	25	0.51
8	13	6	5	0.78
9	13	11	15	0.55

Al analizar el diseño se obtuvo la siguiente gráfica de efectos principales para medias (**Figura 31**), donde se observa que el factor con la mayor influencia sobre el sistema es el pH, mientras que el número de ciclos es el factor menos significativo, lo cual se respalda con los valores del estadístico Delta (**Tabla 11**). Asimismo, se determinaron los niveles bajo en los cuales se obtiene la mayor variable de salida, condiciones que corresponden a un valor de pH de 13.0, una concentración de monómero de 6 mM y 5 ciclos de electropolimerización.



**Figura 31.** Gráfica de efectos principales para medias del diseño experimental Taguchi.

El pH al que se obtuvo una mejor respuesta es a pH 13, lo cual puede deberse a que en medio básico existe la desprotonación de tres grupos hidroxilo de la  $\beta$ -

ciclodextrina, ya que su  $pK_a$  es 12.2, por lo cual, es posible que la electropolimerización se favorezca en medio básico (Oliveira et al., 2018). En este sentido, una electropolimerización exitosa se asocia a la generación de más sitios electroactivos, lo que genera una mayor señal analítica (Pereira et al., 2019).

Por otra parte, la concentración del monómero de  $\beta$ -ciclodextrina óptima fue de 6 mM. En la literatura se reporta que a concentraciones altas existe una mejor adsorción del polímero sobre el electrodo además de un crecimiento rápido de la película polimérica. En vista de lo anterior, es posible que con una concentración de 1 mM la película sea más delgada e irregular, mientras que con una concentración de 11 mM exista una saturación de los sitios activos, y por tanto, una disminución en la corriente (Oliveira et al., 2018).

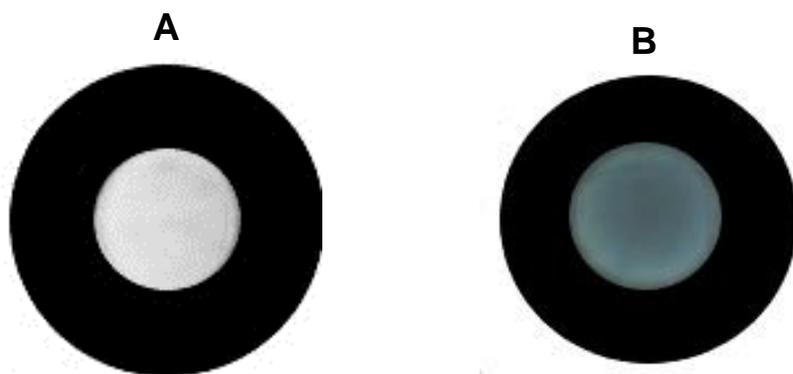
**Tabla 11.** Valores del estadístico delta para cada factor.

Factor	Estadístico Delta
pH	0.2487
Concentración de $\beta$ -ciclodextrina	0.1218
Ciclos de electropolimerización	0.0533

Según la literatura, el número de ciclos de la electropolimerización se relaciona directamente con el grosor de la película, ya que durante cada ciclo se oxida cierta cantidad de monómero y se deposita sobre el electrodo. Debido a esto, se infiere que con un número mayor a 5 ciclos incrementa la resistencia eléctrica de la película, reduciendo la sensibilidad del sensor (Oliveira et al., 2018).

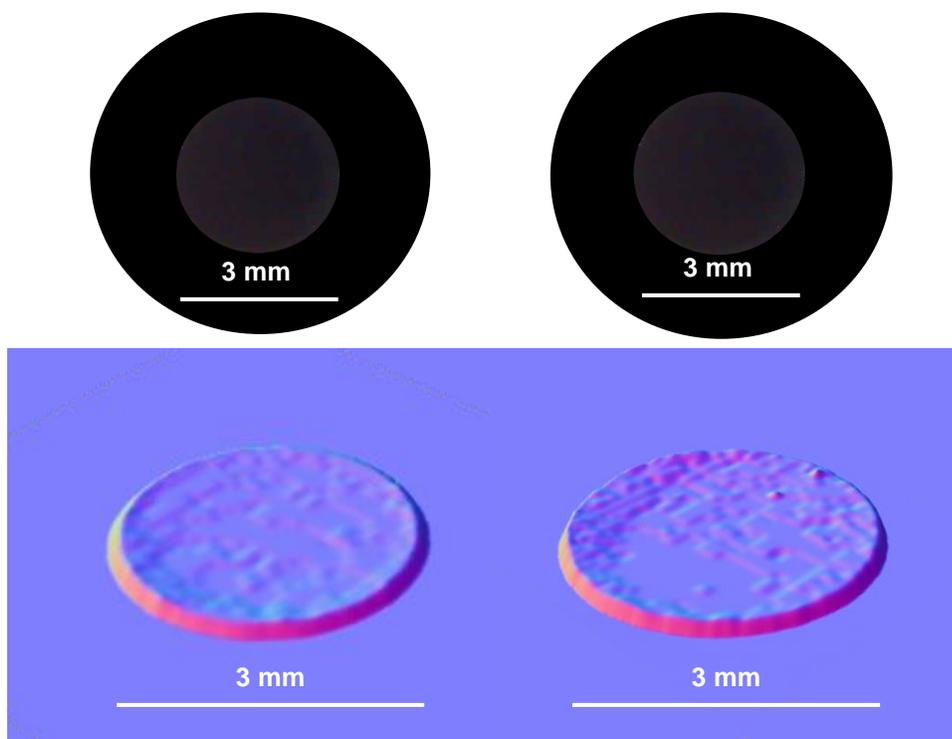
### 3.6.5 Caracterización del sensor por microscopía óptica

Con la finalidad de caracterizar la morfología del electrodo modificado se llevó a cabo una caracterización por microscopía óptica. La **Figura 32** muestra las imágenes tomadas del electrodo sin modificar (A) y modificado con  $\beta$ -ciclodextrina (B) con la cámara de un teléfono inteligente. En la foto correspondiente al electrodo sin modificar (**Figura 32-A**) se observa la tonalidad característica al electrodo de carbón vítreo pulido con terminado de espejo, mientras que al observar la **Figura 32-B** es posible apreciar un cambio en la apariencia del electrodo a simple vista, ya que al depositar el polímero de  $\beta$ -ciclodextrina adquiere una tonalidad azul y un borde irregular.



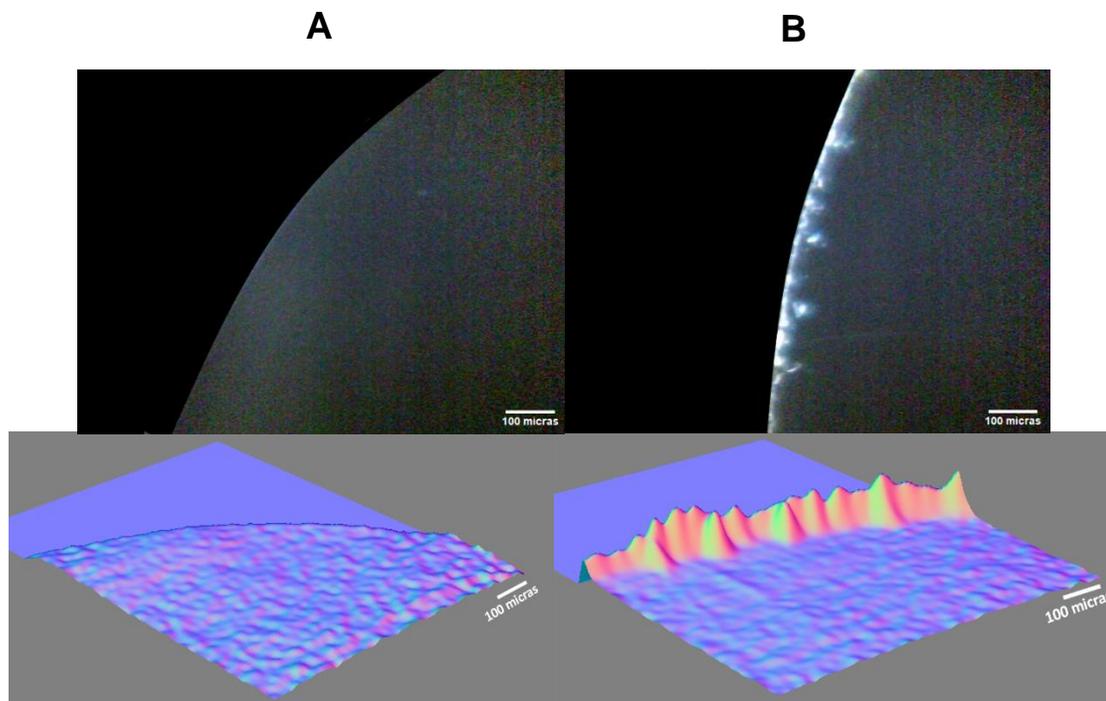
**Figura 32.** Imágenes del electrodo de carbón vítreo sin modificar (A) y modificado con  $\beta$ -ciclodextrina (B) tomadas con un teléfono inteligente.

Se procedió a tomar imágenes con un microscopio óptico de mano a 50X del electrodo sin modificar (**Figura 33-A**) y modificado (**Figura 33-B**) (arriba). De igual forma, se graficaron sus representaciones en 3D con ayuda del software “ImageJ” (abajo) (Rasband, 2023). A pesar de que no se observa diferencias en la coloración en estas micrografías es posible observar un cambio en su morfología, ya que al modificar el electrodo se aprecia una superficie más rugosa y constante sobre toda la superficie del electrodo, lo que se atribuye a una deposición del polímero de  $\beta$ -ciclodextrina.



**Figura 33.** Imágenes del electrodo de carbón vítreo sin modificar (A) y modificado con  $\beta$ -ciclodextrina (B) tomadas con un microscopio óptico de mano a 50X (arriba) y sus representaciones en 3D (abajo).

A continuación, se procedió con la toma de imágenes con el microscopio óptico de mano a 400X del electrodo sin modificar (**Figura 34-A**) y modificado (**Figura 34-B**) (arriba). Se muestran también sus representaciones en 3D (abajo). En este caso es posible apreciar de forma más clara el borde irregular al modificar al electrodo, lo que se debe a la deposición del polímero que se hace más evidente en el perímetro del disco de carbón vítreo debido a una electroactividad mayor en esta área.

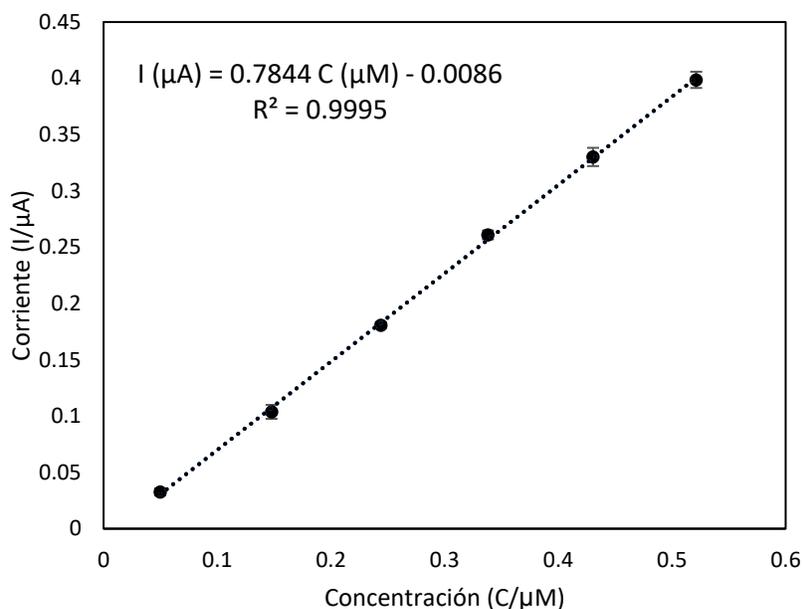


**Figura 34.** Imágenes del electrodo de carbón vítreo sin modificar (A) y modificado con  $\beta$ -ciclodextrina (B) tomadas con un microscopio óptico de mano a 400X (arriba) y sus representaciones en 3D (abajo).

De acuerdo a la información brindada por las diferentes imágenes es posible confirmar la modificación del electrodo con el polímero de  $\beta$ -ciclodextrina. Sin embargo, una perspectiva del proyecto es la caracterización del sensor con microscopía electrónica de barrido, lo que podrá proporcionar información concluyente respecto a sus características morfológicas.

### 3.6.6 Validación de la metodología analítica

Bajo los parámetros optimizados se construyó una curva de calibración y, mediante el método de mínimos cuadrados, se calcularon los parámetros de regresión. La gráfica correspondiente se muestra en la **Figura 31**, mientras que los parámetros analíticos se enlistan en la **Tabla 12**.



**Figura 35.** Curva de calibrado construida al graficar la señal analítica obtenida por VDP a diferentes concentraciones de BPA utilizando el electrodo construido bajo los parámetros optimizados.

**Tabla 12.** Parámetros analíticos calculados para la curva de calibrado.

Parámetro	Valor calculado
Sensibilidad (b)	$0.7844 \pm 0.0233 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$
Ordenada al origen (a)	$-0.0086 \pm 0.0077$
Coeficiente de determinación ( $R^2$ )	0.9998
Desviación de la recta ( $S_{y/x}$ )	0.0033
Desviación estándar de la ordenada ( $S_a$ )	0.0028
Desviación estándar de la pendiente ( $S_b$ )	0.0084
Límite de detección ( $3S_{y/x}/b$ )	0.0127 $\mu\text{M}$
Límite de cuantificación ( $10S_{y/x}/b$ )	0.0422 $\mu\text{M}$
Intervalo lineal	0.0422-0.5213 $\mu\text{M}$

Puede observarse que el límite de cuantificación obtenido es suficiente para cuantificar el límite migración específica establecido por la FDA y la EFSA correspondiente a 0.2190  $\mu\text{M}$ . Asimismo, la sensibilidad del sensor fabricado corresponde a 17 veces la sensibilidad del electrodo sin modificar. En cuanto al límite de detección alcanzado es competitivo con los reportados en otros trabajos en la literatura donde utilizan uno o más materiales modificantes con propiedades catalíticas (**Tabla 13**), como los nanotubos de carbono de pared múltiple, grafeno o nanopartículas metálicas. Cabe resaltar que estos resultados se obtuvieron utilizando solamente un material modificante y a través de una metodología sencilla, rápida y económica.

**Tabla 13.** Comparación de los parámetros analíticos obtenidos respecto a otros trabajos reportados en la literatura.

Referencia	Sensor electroquímico	Intervalo lineal	Límite de detección
Ntsendwana et al., 2012.	GCE modificado con grafeno	0.05 – 1.00 $\mu\text{M}$	46.9 nM
Mohammadzadeh Jahani et al., 2020.	SPE modificado con NPs de $\text{Fe}_3\text{O}_4$	0.03 – 700 $\mu\text{M}$	10 nM
Ben Messaoud et al., 2017.	GCE modificado con MWCNT y NPs de oro	0.01 – 0.70 $\mu\text{M}$	4.0 nM
Tan et al., 2016.	GCE modificado con MIP de polipirrol y puntos cuánticos de grafeno	0.10 – 50 $\mu\text{M}$	40 nM
Kunene et al., 2020.	CSPE modificado con MWCNT, NPs de Ag-ZnO y enzima lacasa	0.50 – 2.99 $\mu\text{M}$	6.0 nM
Liu et al., 2019.	GCE modificado con NPs de biochar, Nafion y enzima tirosinasa	0.02 – 10 $\mu\text{M}$	3.2 nM
Wang et al., 2018.	GCE modificado con MWCNT	2.00 – 30 $\mu\text{M}$	500 nM
<b>Este trabajo</b>	GCE modificado con $\beta$ -ciclodextrina electropolimerizada	0.04-0.52 $\mu\text{M}$	12.7 nM

**GCE:** Electrodo de carbón vítreo. **NPs:** Nanopartículas. **SPE:** Electrodo serigrafado. **CSPE:** Electrodo de carbón serigrafado. **MWCNT:** Nanotubos de carbono de pared múltiple. **MIP:** Polímero molecularmente impreso.

La estabilidad del sensor se evaluó a través de la construcción de tres sensores preparados en días diferentes (reproducibilidad), y el mismo día (repetibilidad), a partir de los cuales se obtuvo la señal de oxidación de tres

concentraciones distintas, así como su sensibilidad. En la **Tabla 14** se observa que, en todos los casos, los porcentajes de desviación estándar relativa son menores al 10%, lo que la posiciona como una metodología reproducible y repetible.

**Tabla 14.** Valores de desviación estándar relativa para los parámetros evaluados.

	Parámetro o concentración evaluados	%RSD (n=3)
<b>Reproducibilidad</b>	Sensibilidad	4.75
	49 nM	8.95
	243 nM	7.51
	521 nM	5.13
<b>Repetibilidad</b>	Sensibilidad	4.23
	49 nM	5.61
	243 nM	0.93
	521 nM	2.20

### 3.6.7 Análisis de muestras reales

Para comprobar la eficacia del sensor desarrollado se llevó a cabo la determinación de BPA en muestras reales. Se recolectaron en diferentes establecimientos de la ciudad botellas reutilizables destinadas al almacenamiento de agua, recipientes para el almacenamiento de alimentos, biberones, así como un garrafón de agua de capacidad de 20 L. Los números de clasificación para cada muestra se observan en la **Tabla 15**.

Se realizaron ensayos de migración específica utilizando recipientes para agua o alimentos (Reglamento (UE) N° 10/2011). Para cada caso, se recolectó 1.0 g de muestra con ayuda de unas tijeras, se lavó con agua corriente y jabón y se enjuagó con agua desionizada. Posteriormente, la muestra se introdujo en un recipiente de vidrio con 30 mL de una solución de etanol en agua desionizada al 20% v/v que funcionó como simulante alimentario (Gao et al., 2012). Los frascos con las muestras se mantuvieron en una incubadora a 60 °C por 10 días. Estas condiciones del ensayo cubren todos los periodos de almacenamiento prolongado superiores a seis meses, a temperatura ambiente o inferior, incluido el calentamiento hasta 70 °C durante máximo 2 horas, o el calentamiento hasta 100 °C durante un máximo de 15 minutos, según el Reglamento (UE) N° 10/2011 de la Comisión Europea sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos (Reglamento (UE) N° 10/2011).

Pasado el tiempo requerido para el ensayo de migración, la muestra se sometió a secado a temperatura ambiente durante 12 h, con la finalidad de evaporar el etanol. Pasado este tiempo se realizó la cuantificación con el sensor mediante el método de adición patrón. Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 15.** Resultados obtenidos al analizar muestras reales con el sensor modificado.

No. De muestra	Tipo de recipiente	Número de clasificación	Concentración de BPA encontrada	
			$\mu\text{M}$	$\mu\text{g L}^{-1}$
1	Recipiente para alimentos	No especificado	$0.47 \pm 0.07$	$107.75 \pm 15.52$
2	Botella para agua	No especificado	$138.14 \pm 0.02$	$31, 535.52 \pm 5.25$
3	Botella para agua	7 (policarbonato)	$5.41 \pm 0.04$	$1, 233.91 \pm 8.90$
4	Biberón	No especificado	$0.18 \pm 0.08$	$39.95 \pm 17.10$
5	Biberón	7 (policarbonato)	$0.52 \pm 0.02$	$118.48 \pm 5.25$
6	Garrafón de agua	7 (policarbonato)	$0.38 \pm 0.11$	$86.29 \pm 24.43$

Al analizar las muestras en todos los casos se corroboró la presencia de BPA por arriba del límite de cuantificación. Cabe destacar que cinco de las seis muestras presentaron concentraciones sobre el límite de migración específica ( $0.219 \mu\text{M}$  o  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) establecido por la FDA y la EFSA. Estos resultados demuestran que el sensor desarrollado puede aplicarse de forma exitosa en la determinación de BPA en muestras reales.

## **IV. CONCLUSIÓN**

A lo largo del trabajo realizado en esta tesis se obtuvo información valiosa respecto a los factores que influyen en la pasivación de los electrodos debido a la electropolimerización del BPA durante su cuantificación electroquímica. Se observó que la concentración del analito afecta de forma directa sobre este fenómeno, ya que al utilizar concentraciones bajas es posible obtener señales más estables. Además, se concluyó que al utilizar voltamperomería diferencial de pulsos la pasivación del electrodo fue menor, a diferencia de los resultados obtenidos con voltamperometría cíclica.

De todos los sensores desarrollados el electrodo modificado con un polímero de  $\beta$ -ciclodextrina depositado por medios electroquímicos presentó la mejor relación entre pasivación, sensibilidad, reproducibilidad y linealidad en comparación con los demás electrodos. Estas características superiores se atribuyen a una deposición uniforme del polímero de  $\beta$ -ciclodextrina sobre el electrodo y a la formación de los complejos de inclusión del BPA con las unidades de la  $\beta$ -ciclodextrina.

Se evaluaron diferentes factores con la finalidad de aumentar la sensibilidad del sensor desarrollado y, bajo estas condiciones óptimas, se realizó de forma exitosa la cuantificación de BPA en muestras reales. Asimismo, se evaluó la reproducibilidad y la repetibilidad, con lo que se demostró que el método desarrollado es preciso.

## **V. PERSPECTIVAS DE PROYECTO**

Como perspectiva del proyecto se propone la caracterización del sensor desarrollado con técnicas de microscopía electrónica para ampliar el conocimiento acerca de la morfología del polímero depositado.

No obstante que se sume no existan interferentes en las muestras analizadas, se plantea la evaluación de interferencias con la finalidad de analizar otro tipo de muestras reales como alimentos, muestras biológicas o de agua residual.

Es importante también realizar la validación del método comparando los resultados obtenidos contra un método establecido, como cromatografía de líquidos acoplada con UV-Visible.

## VI. REFERENCIAS

1. Alam, A. U., & Deen, M. J. (2020). Bisphenol A electrochemical sensor using graphene oxide and  $\beta$ -cyclodextrin-functionalized multi-walled carbon nanotubes. *Analytical Chemistry*, 92(7), 5532–5539. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00402>
2. Ali, M. Y., Alam, A. U., & Howlader, M. M. R. (2020). Fabrication of highly sensitive bisphenol A electrochemical sensor amplified with chemically modified multiwall carbon nanotubes and  $\beta$ -cyclodextrin. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 320(May), 128319. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128319>
3. Annibale, A. D., Regoli, R., Sangiorgio, P., & Ferri, T. (1999). Preparation and electrochemical characterization of a  $\beta$ -cyclodextrin-based chemically modified electrode. *Electroanalysis*, 7, 505–510. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4109\(199906\)11:7<505::AID-ELAN505>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4109(199906)11:7<505::AID-ELAN505>3.0.CO;2-J)
4. Antoniazzi, C., de Lima, C. A., Marangoni, R., Spinelli, A., & de Castro, E. G. (2018). Voltammetric determination of 17 $\beta$ -estradiol in human urine and buttermilk samples using a simple copper(II) oxide-modified carbon paste electrode. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 22(5), 1373–1383. <https://doi.org/10.1007/s10008-017-3690-4>
5. Arvand, M., & Hemmati, S. (2017). Analytical methodology for the electro-catalytic determination of estradiol and progesterone based on graphene quantum dots and poly (sulfosalicylic acid) co-modified electrode. *Talanta*, 174(April), 243–255. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.05.083>
6. Arias, M. P., Castro-Feijóo, L., Conde, J. B., & Rodríguez, P. C. (2020). Una revisión sobre los disruptores endocrinos y su posible impacto sobre la salud de los humanos *Revista Española de Endocrinología Pediátrica*, 11(2), 33–53. <https://doi.org/10.3266/RevEspEndocrinolPediatr.pre2020.Nov.619>
7. Baghayeri, M., Ansari, R., Nodehi, M., Razavipanah, I., & Veisi, H. (2018). Voltammetric aptasensor for bisphenol A based on the use of a MWCNT/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@gold nanocomposite. *Microchimica Acta*, 185(7), 0–8. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2838-y>
8. Baghbamidi, S. E. (2022). Sensitive electrochemical detection of bisphenol A at screen-printed graphite electrode modified with nitrogen-doped graphene sheets. *Journal of Electrochemical Science and Engineering*, 12(1), 37–45. <https://doi.org/10.5599/jese.1103>
9. Banaderakhshan, R., Kemp, P., Breul, L., Steinbichl, P., Hartmann, C., & Fürhacker, M. (2022). Bisphenol A and its alternatives in Austrian thermal paper receipts, and the migration from reusable plastic drinking bottles into water and artificial saliva using UHPLC-MS/MS. *Chemosphere*, 286(P3), 131842. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131842>
10. Ben Messaoud, N., Ghica, M. E., Dridi, C., Ben Ali, M., & Brett, C. M. A. (2017). Electrochemical sensor based on multiwalled carbon nanotube and gold nanoparticle modified electrode for the sensitive detection of bisphenol A. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 253, 513–522. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.06.160>

11. Bosch, R. J., Quiroga, B., Muñoz-Moreno, C., Olea-Herrero, N., Arenas, M. I., González-Santander, M., Reventún, P., Zaragoza, C., de Arriba, G., & Saura, M. (2016). El bisfenol A: un factor ambiental implicado en el daño nefrovascular. *Nefrología*, 36(1), 5–9. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2015.08.007>
12. Chauke, V., Matemadombo, F., & Nyokong, T. (2010). Remarkable sensitivity for detection of bisphenol A on a gold electrode modified with nickel tetraamino phthalocyanine containing Ni-O-Ni bridges. *Journal of Hazardous Materials*, 178(1–3), 180–186. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.01.061>
13. Comisión Europea, Reglamentosobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos, (UE) N° 10/2011 (14 de enero de 2011). Diario Oficial de la Unión Europea.
14. Cosio, M. S., Pellicanò, A., Brunetti, B., & Fuenmayor, C. A. (2017). A simple hydroxylated multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode for rapid amperometric detection of bisphenol A. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 246, 673–679. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.02.104>
15. Das, M., & Shim, K. H. (2011). Review on gold nanoparticles and their applications. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 3 (4), 193–205. <https://doi.org/10.1007/s13530-011-0109-y>
16. Daza, J. I., Brandão, P. F. de B., & Burgos, A. E. (2015). Preparación y caracterización de compuestos de inclusión entre Rh(III), Ni(II), 2-acetil piridina tiosemicarbazonas y  $\beta$ -ciclodextrina. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 39(152), 328. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.204>
17. Deiminiat, B., Rounaghi, G. H., Arbab-Zavar, M. H., & Razavipanah, I. (2017). A novel electrochemical aptasensor based on f-MWCNTs/AuNPs nanocomposite for label-free detection of bisphenol A. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 242, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.11.041>
18. Dekant, W., & Völkel, W. (2008). Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: Methods, results and assessment of environmental exposures. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 228(1), 114–134. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.12.008>
19. Deng, P., Xu, Z., & Kuang, Y. (2014). Electrochemical determination of bisphenol A in plastic bottled drinking water and canned beverages using a molecularly imprinted chitosan-graphene composite film modified electrode. *Food Chemistry*, 157, 490–497. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.074>
20. de Sá, A. C., Barbosa, S. C., Raymundo-Pereira, P. A., Wilson, D., Shimizu, F. M., Raposo, M., & Oliveira, O. N. (2020). Flexible carbon electrodes for electrochemical detection of bisphenol-a, hydroquinone and catechol in water samples. *Chemosensors*, 8(4), 1–11. <https://doi.org/10.3390/chemosensors8040103>
21. Eftekhari, A., Dalili, M., Karimi, Z., Rouhani, S., Hasanzadeh, A., Rostamnia, S., Khaksar, S., Idris, A. O., Karimi-Maleh, H., Yola, M. L., & Msagati, T. A. M. (2021). Sensitive and selective electrochemical detection of bisphenol A based on SBA-15 like Cu-PMO modified glassy carbon electrode. *Food Chemistry*, 358(March), 129763. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129763>
22. Espinoza, E. R., & Alvarado, A. L. (2012). Desarrollo y validación de un método voltamperométrico para determinar estaño total en agua. *Revista Internacional de*

- Contaminación Ambiental*, 28(1), 61–72. [https://doi.org/Recuperado en 23 de junio de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992012000100006&lng=es&tlng=es](https://doi.org/Recuperado%20en%2023%20de%20junio%20de%202024%2C%20de%20http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992012000100006&lng=es&tlng=es).
23. Fan, H., Li, Y., Wu, D., Ma, H., Mao, K., Fan, D., Du, B., Li, H., & Wei, Q. (2012). Electrochemical bisphenol A sensor based on N-doped graphene sheets. *Analytica Chimica Acta*, 711, 24–28. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.10.051>
  24. Freitas, J. M., Wachter, N., & Rocha-Filho, R. C. (2020). Determination of bisphenol S, simultaneously to bisphenol A in different water matrices or solely in electrolyzed solutions, using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Talanta*, 217(April), 121041. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121041>
  25. Gao, Y., Cao, Y., Yang, D., Luo, X., Tang, Y., & Li, H. (2012). Sensitivity and selectivity determination of bisphenol A using SWCNT-CD conjugate modified glassy carbon electrode. *Journal of Hazardous Materials*, 199–200, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.10.066>
  26. Gattrell, M., & Kirk, D. W. (1993). A Study of Electrode Passivation during Aqueous Phenol Electrolysis. *Journal of The Electrochemical Society*, 140(4), 903–911. <https://doi.org/10.1149/1.2056225>
  27. Gerhardt, G. A., Arvin, F., Nagy, G., Moghaddam, B., & Adams, R. N. (1984). Nation-coated electrodes with high selectivity for CNS electrochemistry Current. *Brain Research*, 290, 390–395. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)90963-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90963-6)
  28. Ghanam, A., Lahcen, A. A., & Amine, A. (2017). Electroanalytical determination of Bisphenol A: Investigation of electrode surface fouling using various carbon materials. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 789, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.02.026>
  29. Gooch, J. W. (2010). Encyclopedic Dictionary of Polymers, Volume 1. 2010, 867.
  30. Gounden, V., Zain Warasally, M., Magwai, T., Naidoo, R., & Chuturgoon, A. (2019). A pilot study: Bisphenol-A and Bisphenol-A glucuronide levels in mother and child pairs in a South African population. *Reproductive Toxicology*, 89(July), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2019.07.008>
  31. Heindel, J. J., Jobling, S., Kidd, K. A., & Zoeller, R. T. (2012). State of the science of endocrine disrupting chemicals. World Health Organization.
  32. Henni, A., Harfouche, N., Karar, A., Zerrouki, D., Perrin, F. X., & Rosei, F. (2019). Synthesis of graphene-ZnO nanocomposites by a one-step electrochemical deposition for efficient photocatalytic degradation of organic pollutant. *Solid State Sciences*, 98, 106039. <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2019.106039>
  33. Javaid, S., Lee, J., Sofianos, M. V., Douglas-Moore, Z., Arrigan, D. W. M., & Silvester, D. S. (2021). Zinc Oxide Nanoparticles as Antifouling Materials for the Electrochemical Detection of Methylparaben. *ChemElectroChem*, 8(1), 187–194. <https://doi.org/10.1002/celec.202001487>
  34. Kim, A., Li, C., Jin, C., Woo, K., Lee, S., Shon, K., Gyu, N., Kim, D., Kang, S., Shim, Y., & Park, J. (2007). A sensitive and reliable quantification method for Bisphenol A based on modified competitive ELISA method. *Chemosphere*, 68, 1204–1209. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.01.079>
  34. Karim-Nezhad, G., Mahmoudi, T., Bayat, S., & Khorablou, Z. (2023). Electropolymerized  $\beta$ -cyclodextrin as an Efficient Recognition Element Toward a

- Highly Sensitive Electrochemical Sensor for Sumatriptan. *Analytical and Bioanalytical Chemistry Research*, 10(4), 375–385. <https://doi.org/10.22036/ABCR.2023.378742.1867>
35. Koyun, O., Gorduk, S., Gencten, M., & Sahin, Y. (2019). A novel copper(II) phthalocyanine-modified multiwalled carbon nanotube-based electrode for sensitive electrochemical detection of bisphenol A. *New Journal of Chemistry*, 43(1), 85–92. <https://doi.org/10.1039/c8nj03721c>
  36. Krivohlavek, A., Mikulec, N., Budeč, M., Barušić, L., Bošnjir, J., Šikić, S., Jakasa, I., Begović, T., Janda, R., & Vitale, K. (2023). Migration of BPA from food packaging and household products on the croatian market. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(4). <https://doi.org/10.3390/ijerph20042877>
  37. Kunene, K., Sabela, M., Kanchi, S., & Bisetty, K. (2020). High performance electrochemical biosensor for bisphenol A using screen printed electrodes modified with multiwalled carbon nanotubes functionalized with silver-doped zinc oxide. *Waste and Biomass Valorization*, 11(3), 1085–1096. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0505-5>
  38. Kuramitz, H., Nakata, Y., Kawasaki, M., & Tanaka, S. (2001). Electrochemical oxidation of bisphenol A. Application to the removal of bisphenol A using a carbon fiber electrode. *Chemosphere*, 45(1), 37–43. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00032-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00032-7)
  39. Lee, J. H., & Kwak, S. (2018). Rapid Adsorption of Bisphenol A from Wastewater by  $\beta$ -Cyclodextrin-Functionalized Mesoporous Magnetic Clusters 1. *Applied Surface Science*, 467–468, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.10.054>
  40. Li, J., Kuang, D., Feng, Y., Zhang, F., & Liu, M. (2011). Voltammetric determination of bisphenol A in food package by a glassy carbon electrode modified with carboxylated multi-walled carbon nanotubes. *Microchimica Acta*, 172(3–4), 379–386. <https://doi.org/10.1007/s00604-010-0512-0>
  41. Li, X., Li, J., Liu, Y., Zhang, X., & Chen, J. (2017). A sensitive electrochemical immunosensor for prion detection based on poly- $\beta$ -cyclodextrin/gold nanoparticles/glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 250, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.101>
  42. Li, Y., Wang, H., Yan, B., & Zhang, H. (2017). An electrochemical sensor for the determination of bisphenol A using glassy carbon electrode modified with reduced graphene oxide-silver/poly-L-lysine nanocomposites. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 805(July), 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.10.022>
  43. Liu, Y., Yao, L., He, L., Liu, N., & Piao, Y. (2019). Electrochemical enzyme biosensor bearing biochar nanoparticle as signal enhancer for bisphenol a detection in water. *Sensors (Switzerland)*, 19(7). <https://doi.org/10.3390/s19071619>
  44. Lu, W., Wallace, G. G., & Imisides, M. D. (2002). Development of conducting polymer modified electrodes for the detection of phenol. *Electroanalysis*, 14(59), 325–332. [https://doi.org/10.1002/1521-4109\(200203\)14:5<325::AID-ELAN325>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1521-4109(200203)14:5<325::AID-ELAN325>3.0.CO;2-9)
  45. Luttrell, W. E., & Baird, B. A. (2014). Bisphenol A. *Journal of Chemical Health and Safety*, 21(5), 22–24. <https://doi.org/10.1016/j.jchas.2014.07.011>

46. Ma, Y., Liu, H., Wu, J., Yuan, L., Wang, Y., Du, X., Wang, R., Marwa, P. W., Petlulu, P., Chen, X., & Zhang, H. (2019). The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environmental Research*, 176(April). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108575>
47. Maćczak, A., Cyrkler, M., Bukowska, B., & Michałowicz, J. (2017). Bisphenol A, bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF induce different oxidative stress and damage in human red blood cells (in vitro study). *Toxicology in Vitro*, 41, 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.02.018>
48. Mandel, N. D., Gamboa-Loira, B., Cebrián, M. E., Mérida-Ortega, Á., & López-Carrillo, L. (2019). Challenges to regulate products containing bisphenol A: Implications for policy. *Salud Pública de México*, 61(5), 692–697. <https://doi.org/10.21149/10411>
49. Mas, S., Egido, J., & González-Parra, E. (2017). Importancia del bisfenol A, una toxina urémica de origen exógeno, en el paciente en hemodiálisis. *Nefrología*, 37(3), 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2017.01.011>
50. Mazloum-Ardakani, M., Rajabi, H., & Bietollahi, H. (2009). Electrocatalytic oxidation of Cysteine by indigo carmine modified glassy carbon electrode. *Journal of the Argentine Chemical Society*, 97(2), 106–115.
51. Mendoza, D. (2003). Nanomateriales: nuevas propiedades a menores dimensiones. *Ciencia*, 23–29.
52. Mohammadzadeh Jahani, P., Beitollahi, H., Tajik, S., & Tashakkorian, H. (2020). Selective electrochemical determination of bisphenol A via a Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs derivative-modified graphite screen-printed electrode. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 100(11), 1209–1225. <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1651299>
53. Najafi, M., Khalilzadeh, M. A., & Karimi, H. (2014). A new strategy for determination of bisphenol A in the presence of Sudan using a ZnO/CNTs/ionic liquid paste electrode in food samples. *Food Chemistry*, 158, 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.082>
54. Ntsendwana, B., Mamba, B. B., Sampath, S., & Arotiba, O. A. (2012). Electrochemical detection of bisphenol a using graphene-modified glassy carbon electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 7(4), 3501–3512. [http://dx.doi.org/10.1016/S1452-3981\(23\)13972-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1452-3981(23)13972-1)
55. Nunes da Silva, D., Leijoto de Oliveira, H., Borges, K. B., & Pereira, A. C. (2021). Sensitive determination of 17β-Estradiol using a magneto sensor based on magnetic molecularly imprinted polymer. *Electroanalysis*, 33(2), 506–514. <https://doi.org/10.1002/elan.202060223>
56. Oliveira, A. E. F., Bettio, G. B., & Pereira, A. C. (2018). Optimization of an electrochemical sensor for determination of imidacloprid based on β-cyclodextrin electropolymerization on glassy carbon electrode. *Electroanalysis*, 30(9), 1929–1937. <https://doi.org/10.1002/elan.201800235>
57. Oliveira, S. C. B., Diculescu, V. C., Palleschi, G., Compagnone, D., & Oliveira-Brett, A. M. (2007). Electrochemical oxidation of ochratoxin A at a glassy carbon electrode and in situ evaluation of the interaction with deoxyribonucleic acid using an

- electrochemical deoxyribonucleic acid-biosensor. *Analytica Chimica Acta*, 588(2), 283–291. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.02.029>
58. Pamuk, D., Taşdemir, I. H., Ece, A., Canel, E., & Kiliç, E. (2013). Redox pathways of aliskiren based on experimental and computational approach and its voltammetric determination. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 24(8), 1276–1286. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20130162>
59. Pang, Y. H., Huang, Y. Y., Wang, L., Shen, X. F., & Wang, Y. Y. (2020). Determination of bisphenol A and bisphenol S by a covalent organic framework electrochemical sensor. *Environmental Pollution*, 263, 114616. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114616>
60. Pereira, A. C., Oliveira, A. E. F., & Bettio, G. B. (2019).  $\beta$ -Cyclodextrin electropolymerization: mechanism, electrochemical behavior, and optimization. *Chemical Papers*, 73(7), 1795–1804. <https://doi.org/10.1007/s11696-019-00732-x>
61. Petrova, S. A., Kolodyazhny, M. V., & Ksenzhek, O. S. (1990). Electrochemical properties of some naturally occurring quinones. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 277(1–2), 189–196. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(90\)85101-A](https://doi.org/10.1016/0022-0728(90)85101-A)
62. Poon, M., & McCreery, R. L. (1987). Repetitive in Situ Renewal and Activation of Carbon and Platinum Electrodes: Applications to Pulse Voltammetry. *Analytical Chemistry*, 59(13), 1615–1620. <https://doi.org/10.1021/ac00140a008>
- Qin, J., Shen, J., Xu, X., Yuan, Y., He, G., & Chen, H. (2018). A glassy carbon electrode modified with nitrogen-doped reduced graphene oxide and melamine for ultra-sensitive voltammetric determination of bisphenol A. *Microchimica Acta*, 185(10), 4–11. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2998-9>
63. Qin, Q., Bai, X., & Hua, Z. (2016). Electropolymerization of a conductive  $\beta$ -cyclodextrin polymer on reduced graphene oxide modified screen-printed electrode for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 782, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.10.004>
64. Ragavan, K. V., & Rastogi, N. K. (2017).  $\beta$ -Cyclodextrin capped graphene-magnetite nanocomposite for selective adsorption of bisphenol-A. *Carbohydrate Polymers*, 168, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.045>
65. Rasband, W., (2023). 1.54f (30 de junio de 2023 (11 meses y 23 días)) [Software] Disponible en Institutos Nacionales de Salud: <https://imagej.net/ij/>
66. Rather, J. A., & De Wael, K. (2013). Fullerene-C60 sensor for ultra-high sensitive detection of bisphenol-A and its treatment by green technology. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 176, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.08.081>
67. Shen, Q., & Wang, X. (2009). Simultaneous determination of adenine, guanine and thymine based on  $\beta$ -cyclodextrin/MWNTs modified electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 632(1–2), 149–153. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2009.04.009>
68. Štulík, K., & Pacáková, V. (1981). Electrochemical detection techniques in high-performance liquid chromatography. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 129(1–2), 1–24. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(81\)80002-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(81)80002-2)

69. Szekeres, K. J., Fekete, Ujvári, M., Vesztergom, S., Kondratiev, V. V., & Láng, G. G. (2019). Some Observations on the Electrochemical Reactions of Bisphenol A on Polycrystalline Gold in Contact with 0.1 M Aqueous NaClO<sub>4</sub> Solution. *Russian Journal of Electrochemistry*, 55(11), 1127–1135. <https://doi.org/10.1134/S1023193519110132>
70. Tamayo Cabarcas, F., Agaméz Fuentes, J., Aparicio Marengo, D., & Márquez Lázaro, J. (2022). Bisfenol a y efectos de disrupción endocrina en humanos y animales: Revisión sistemática. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13(2), 175–200. <https://doi.org/10.22490/21456453.4691>
71. Tan, F., Cong, L., Li, X., Zhao, Q., Zhao, H., Quan, X., & Chen, J. (2016). An electrochemical sensor based on molecularly imprinted polypyrrole/graphene quantum dots composite for detection of bisphenol A in water samples. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 233, 599–606. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.04.146>
72. Tsai, Y. C., Chen, J. M., Li, S. C., & Marken, F. (2004). Electroanalytical thin film electrodes based on a Nafion<sup>TM</sup> - Multi-walled carbon nanotube composite. *Electrochemistry Communications*, 6(9), 917–922. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2004.07.003>
73. Ulubay Karabiberoglu, Ş. (2019). Sensitive voltammetric determination of bisphenol a based on a glassy carbon electrode modified with copper oxide-zinc oxide decorated on graphene oxide. *Electroanalysis*, 31(1), 91–102. <https://doi.org/10.1002/elan.201800415>
74. Wang, X., Li, M., Wu, M., Shi, Y., Yang, J., Shan, J., & Liu, L. (2018). Simultaneous determination of bisphenol A and bisphenol S using multi-walled carbon nanotubes modified electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 13(12), 11906–11922. <https://doi.org/10.20964/2018.12.80>
75. Wheeler, S., Cury, L., & Heineman, W. (1990). Fouling-resistant polymer-modified graphite electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 237, 141–148. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)83911-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)83911-2)
- Willhite, C. C., & Daston, G. P. (2019). Bisphenol exposure, hazard and regulation. *Toxicology*, 425(July), 10–12. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2019.152243>
76. Wong, A., Martin, A., Luiz, E., Fatibello-filho, O., Del, M., & Taboada, P. (2019). Voltammetric determination of 17β-estradiol in different matrices using a screen-printed sensor modified with CuPc, Printex 6L carbon and Nafion film. *Microchemical Journal*, 147(February), 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.03.052>
77. Wu, S., Huang, F., Lan, X., Wang, X., Wang, J., & Meng, C. (2013). Sensors and Actuators B: Chemical Electrochemically reduced graphene oxide and Nafion nanocomposite for ultralow potential detection of organophosphate pesticide. *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 177, 724–729. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.11.069>
78. Yang, X., Kirsch, J., Fergus, J., & Simonian, A. (2013). Modeling analysis of electrode fouling during electrolysis of phenolic compounds. *Electrochimica Acta*, 94, 259–268. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.01.019>
79. Yi, H., Wu, K., Hu, S., & Cui, D. (2001). Adsorption stripping voltammetry of phenol at Nafion-modified glassy carbon electrode in the presence of surfactants. *Talanta*, 55(6), 1205–1210. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00531-8](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00531-8)

80. Yin, H., Zhou, Y., & Ai, S. (2009). Preparation and characteristic of cobalt phthalocyanine modified carbon paste electrode for bisphenol A detection. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 626(1–2), 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2008.11.004>
81. Yu, H., Feng, X., Chen, X. X., Qiao, J. L., Gao, X. L., Xu, N., & Gao, L. J. (2017). Electrochemical determination of bisphenol a on a glassy carbon electrode modified with gold nanoparticles loaded on reduced graphene oxide-multi walled carbon nanotubes composite. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 45(5), 713–720. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(17\)61014-4](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(17)61014-4)
82. Zaidi, S. A. (2017). Facile and efficient electrochemical enantiomer recognition of phenylalanine using  $\beta$ -Cyclodextrin immobilized on reduced graphene oxide. *Biosensors and Bioelectronics*, 94(April), 714–718. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.03.069>
83. Zhang, F., Gu, S., Ding, Y., Zhang, Z., & Li, L. (2013). A novel sensor based on electropolymerization of  $\beta$ -cyclodextrin and l-arginine on carbon paste electrode for determination of fluoroquinolones. *Analytica Chimica Acta*, 770, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.01.052>
84. Zhou, H., Ding, Y., Su, R., Lu, D., Tang, H., & Xi, F. (2022). Silica Nanochannel Array Film Supported by  $\beta$ -Cyclodextrin-Functionalized Graphene Modified Gold Film Electrode for Sensitive and Direct Electroanalysis of Acetaminophen. *Frontiers in Chemistry*, 9(January), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.812086>
85. Zhou, L., Wang, J., Li, D., & Li, Y. (2014). An electrochemical aptasensor based on gold nanoparticles dotted graphene modified glassy carbon electrode for label-free detection of bisphenol A in milk samples. *Food Chemistry*, 162, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.058>
86. Zhou, Z. L., Kang, T. F., Zhang, Y., & Cheng, S. Y. (2009). Electrochemical sensor for formaldehyde based on Pt-Pd nanoparticles and a Nafion-modified glassy carbon electrode. *Microchimica Acta*, 164(1–2), 133–138. <https://doi.org/10.1007/s00604-008-0046-x>