



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

LICENCIATURA EN QUÍMICA

TESIS

Desarrollo de una metodología electroanalítica verde basada en un sensor no enzimático enriquecido con MOF Cu-BTC para la determinación de aflatoxina B1

Para obtener el título de

LICENCIADO EN QUÍMICA

P R E S E N T A

Angel Fernando Ochoa Garfias

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Giaan Arturo Álvarez Romero

Mineral de la Reforma, Hgo., México, 2025



Mineral de la Reforma, Hgo., a 24 de marzo de 2025

Número de control: ICBI-D/443/2025

Asunto: Autorización de impresión.

MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

Con fundamento en lo dispuesto en el Título Tercero, Capítulo I, Artículo 18 Fracción IV; Título Quinto, Capítulo II, Capítulo V, Artículo 51 Fracción IX del Estatuto General de nuestra Institución, por este medio le comunico que el Jurado asignado al Egresado de la Licenciatura en Química **Ángel Fernando Ochoa Garfias**, quien presenta el trabajo de titulación "**Desarrollo de una metodología electroanalítica verde basada en un sensor no enzimático enriquecido con MOF Cu-BTC para la determinación de aflatoxina B1**", después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, firman de conformidad los integrantes del Jurado:

Presidente: Dr. Carlos Andrés Galán Vidal

Secretario: Dr. Luis Humberto Mendoza Huizar

Vocal: Dr. Giaan Arturo Álvarez Romero

Suplente: Dra. Irma Pérez Silva

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"

Mtro. Gabriel Vergara Rodríguez
Director del ICBI



GVR/YCC

Ciudad del Conocimiento. Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184
Teléfono: 771 71 720 00 Ext. 40001
direccion_icbi@uaeh.edu.mx,
vergarar@uaeh.edu.mx



El presente trabajo se realizó en el laboratorio 2 del Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y contó con el apoyo de una beca otorgada por el Proyecto de Ciencia Básica 2017-2018 de CONAHCyT con clave A1-S-8057 titulado: “Estudio y desarrollo de metodologías electroquímicas verdes como alternativas amables con el medio ambiente para la cuantificación y control de aflatoxina B1 en alimentos”.

Parte de los resultados del presente trabajo se presentaron en el XXXVI Congreso Nacional de Química Analítica y XXVI Simposio Estudiantil celebrado en la Universidad Autónoma del Estado de México del 12 al 16 de agosto de 2024, con el trabajo titulado: “Estudio y desarrollo de una metodología electroquímica verde para la cuantificación y control de aflatoxina B1 en alimentos”.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías, por la beca otorgada para realizar la presente tesis.

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por brindarme sus instalaciones para la elaboración de este proyecto.

A mi asesor, Dr. Giaan Arturo Álvarez Romero, por confiar en mí y darme un espacio en su laboratorio, por su tiempo y por haberme motivado a superar cada obstáculo que surgió durante este proyecto.

A mis padres, Víctor Hugo Ochoa Ramírez y María Esmeralda Garfias Baca, gracias por caminar a mi lado durante esta etapa universitaria y por regalarme, cada día, su amor incondicional, su apoyo firme y su confianza infinita. Esta tesis también les pertenece, pues es el reflejo de todo lo que han sembrado en mí a lo largo de mi vida.

A mi hermana, Karla Paola Ochoa Garfias, por ser una compañera de vida y fuente constante de inspiración, alegría y motivación para ser siempre la mejor versión de mí mismo.

Índice general.

Introducción.....	14
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	17
1.1 Antecedentes.	18
1.2 Aflatoxinas.	18
1.2.1 Generalidades.....	18
1.2.2 Propiedades físicas y químicas.....	18
1.2.3 Toxicidad e importancia.	20
1.2.4 Límites máximos permisibles de aflatoxinas.....	21
1.2.5 Estabilidad y persistencia.	21
1.3 Técnicas analíticas oficiales para cuantificar aflatoxina B1.....	21
1.3.1 Métodos cromatográficos.....	22
1.3.2 Métodos espectroscópicos.	24
1.3.3 Métodos inmunoquímicos.	25
1.4 Técnicas electroquímicas para cuantificar aflatoxina B1.....	28
1.4.1 Celda electroquímica.	29
1.4.2 Voltamperometría cíclica (CV).	31
1.4.3 Cinética de reacción y proceso de transporte de materia en la superficie del electrodo.	32
1.4.3.1 El fenómeno de difusión y la ecuación de Randles-Sevcik.....	32
1.4.3.2 Adsorción en procesos electroquímicos.	33
1.4.4 Voltamperometría diferencial de pulsos (DPV).	33
1.5 Electrodo de pasta de carbono.....	34
1.6 Sensores electroquímicos.....	34
1.6.1 Biosensores utilizados en la determinación de AFB1.	35
1.6.2 Electrodo de pasta de carbono modificados.	35
1.6.3 Sensores no enzimáticos utilizados en la determinación de AFB1.	37
1.6.4 Estructuras MOF como modificante.....	38
1.7 Justificación.....	39
1.8 Objetivo general.....	40
1.9 Objetivos específicos.	40

CAPÍTULO 2. MARCO METODOLÓGICO.....	41
2.1 Reactivos.....	42
2.2 Sistema electroquímico.....	42
2.3 Preparación del estándar de 5,7-dimetoxicumarina (DMC) en medio acuoso.	43
2.4 Preparación del electrodo de pasta de carbono modificado con MOF Cu-BTC.	43
2.5 Efecto de la composición del electrodo.....	45
2.6 Efecto del pH del electrolito soporte.....	45
2.7 Efecto del potencial impuesto.	46
2.8 Caracterización electroquímica de la DMC usando el EPC modificado.	46
2.9 Estudio del área electroactiva del EPC blanco y modificado.	46
2.10 Estudio de los procesos de difusión y adsorción sobre la superficie del electrodo de trabajo.	46
2.11 Caracterización del método analítico.	47
2.12 Estudio de repetibilidad.....	48
2.13 Estudio de reproducibilidad.....	49
2.14 Determinación de los parámetros analíticos.	49
2.14.1 Determinación de la sensibilidad analítica.	49
2.14.2 Determinación del límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ).....	49
2.15 Análisis de muestras reales.	50
2.15.1 Arroz.	50
2.15.2 Leche.	51
2.16 Cuantificación de AFB1 en muestras reales.	51
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	52
3.1 Mecanismo de respuesta del método propuesto.....	53
3.2 Optimización del porcentaje de MOF Cu-BTC en electrodos de pasta de carbono.	54
3.3 Optimización del pH del electrolito soporte.	55
3.4 Optimización del potencial de la cronoamperometría.	57
3.5 Caracterización electroquímica de la AFB1 usando el EPC modificado.	58

3.5.1 Área electroactiva del electrodo blanco y modificado.	58
3.5.2 Estudio de los procesos electroquímicos sobre la superficie del electrodo de trabajo.	60
3.6 Repetibilidad y reproducibilidad.	61
3.7 Optimización de la técnica de voltamperometría diferencial de pulso.	62
3.8 Caracterización analítica del método propuesto.	63
3.9 Análisis en muestras reales.	64
CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	66
4.1 Conclusiones.....	67
4.2 Perspectivas.....	67
Referencias.	68

Índice de tablas.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de las aflatoxinas.	19
Tabla 2. EPC modificados.....	36
Tabla 3. Proporción de grafito y MOF Cu-BTC.....	45
Tabla 4. Variables del diseño de experimentos Box-Behnken.	47
Tabla 5. Combinaciones del diseño de experimentos Box-Behnken.....	47
Tabla 6. Valores de intensidad de pico (ip) para el EPC modificado a diferentes concentraciones de DMC.	54
Tabla 7. Valores de intensidad de pico (ip) para los diferentes porcentajes de modificante en el EPC.....	55
Tabla 8. Valores de intensidad de pico (ip) obtenidos en soluciones $3 \mu\text{gL}^{-1}$ de DMC a pH 6, 7, 8 con sus respectivos blancos.	56
Tabla 9. Parámetros analíticos de la metodología propuesta.....	63
Tabla 10. Metodologías electroquímicas empleadas en la determinación de AFB1.	64
Tabla 11. Concentraciones promedio (n=3) de DMC y porcentajes de recuperación obtenidos por calibración directa.....	65

Índice de figuras.

Figura 1. Esquema típico de una celda electroquímica.....	29
Figura 2. Partes de un electrodo de pasta de carbono.....	34
Figura 3. Estructura del MOF Cu-BTC.	39
Figura 4. Estructura molecular de AFB1 y DMC.....	43
Figura 5. Proceso de elaboración del EPC modificado.	44
Figura 6. Proceso de elaboración del EPC sin modificar.....	44
Figura 7. Pretratamiento de la muestra de arroz.....	50
Figura 8. Pretratamiento de la muestra de leche.....	51
Figura 9. Voltamperogramas DPV para el EPC sin modificar en una solución 3 μgL^{-1} de DMC a pH 7 con su respectivo blanco.	53
Figura 10. Voltamperogramas DPV para el EPC modificado en una solución 1.5 y 2 μgL^{-1} de DMC a pH 7 con su respectivo blanco.	54
Figura 11. Voltamperogramas DPV obtenidos en soluciones 3 μgL^{-1} de DMC a pH 6, 7, 8 con sus respectivos blancos.....	56
Figura 12. Diagrama Lineal de Zonas de Predominio de Cu(II) con OH^-	57
Figura 13. Diferencia de la intensidad de pico (ip) después de la optimización en 3 ppb de DMC y blanco.....	57
Figura 14. Relación entre la intensidad de pico (ip) vs la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($v^{1/2}$) para el EPC blanco.....	59
Figura 15. Relación entre la intensidad de pico (ip) vs la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($v^{1/2}$) para el EPC modificado.	59
Figura 16. Relación entre la intensidad de pico (ip) vs la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($v^{1/2}$) para el EPC modificado con 3 μgL^{-1} de DMC a pH 7... 60	60
Figura 17. Relación entre log intensidad de pico (ip) vs log raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($v^{1/2}$) para el EPC modificado con 3 μgL^{-1} de DMC a pH 7.. 61	61
Figura 18. Gráficas de contorno.....	62
Figura 19. Curva de calibración con la metodología optimizada.	63

Abreviaturas, acrónimos y símbolos.

%DER	Porcentaje de desviación estándar relativa
°C	Grados Celsius
μA	Microamperios
μg	Microgramo
A	Amperes
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AFB1	Aflatoxina B1
AFB2	Aflatoxina B2
AFG1	Aflatoxina G1
AFG2	Aflatoxina G2
AFM1	Aflatoxina M1
AFM2	Aflatoxina M2
AOAC	Asociación de Químicos Agrícolas Oficiales (del inglés Association of Official Agricultural Chemists)
CV	Voltamperometría cíclica (del inglés Cyclic Voltammetry)
DAD	Detector de arreglo de diodos (del inglés Diode Array Detector)
DMC	5,7-dimetoxicumarina
DPV	Voltamperometría diferencial de pulsos (del inglés Differential Pulse Voltammetry)
E	Potencial

ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (del inglés Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)
ECD	Detector de captura de electrones (del inglés Electron Capture Detector)
EPC	Electrodo de pasta de carbono
FID	Detector de ionización de flama (del inglés Flame Ionization Detector)
g	Gramo
GC	Cromatografía de gases (del inglés Gas Chromatography)
HNO₃	Ácido nítrico
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución (del inglés High Performance Liquid Chromatography)
LC	Cromatografía líquida (del inglés Liquid Chromatography)
LMP	Límite máximo permisible
LOD	Límite de detección (del inglés Limit of Detection)
LOQ	Límite de cuantificación (del inglés Limit of Quantification)
M	Molar
mL	Mililitros
MOF	Armazón metal-orgánico (del inglés Metal–Organic Framework)
MS	Espectrómetro de masas (del inglés Mass Spectrometer).
mV	Milivolts
n	Número de muestras
NaOH	Hidróxido de sodio
pH	Potencial de hidrógeno

RIA	Radioinmunoensayo (del inglés RadioImmunoAssay)
SPE	Extracción en fase sólida (del inglés Solid Phase Extraction)
TLC	Cromatografía en capa fina (del inglés Thin Layer Chromatography)
UV	Ultravioleta

Introducción

En este trabajo se presenta el desarrollo y optimización de un sensor electroquímico no enzimático basado en un electrodo de pasta de carbono modificado con el armazón metal-orgánico benceno-1,3,5-tricarboxilato de cobre (MOF Cu-BTC) para la detección y cuantificación de aflatoxina B1 (AFB1) en muestras de arroz y leche.

El primer capítulo contiene una revisión exhaustiva de las micotoxinas, en particular, de las aflatoxinas, describiendo su estructura, propiedades físicas y químicas, toxicidad e impacto sobre la salud pública. También se discuten los límites máximos permisibles establecidos, la estabilidad y la persistencia de la AFB1 en diversos entornos. Además, se abordan las técnicas analíticas convencionales para la cuantificación de aflatoxinas, destacando la creciente importancia de las técnicas electroquímicas debido a su bajo costo, alta sensibilidad y facilidad para la miniaturización.

En el segundo capítulo se describe la metodología experimental empleada. Los electrodos de pasta de carbono (EPC) fueron modificados mediante la incorporación de MOF Cu-BTC, con el objetivo de mejorar su área superficial activa y su sensibilidad electroquímica. También se propusieron diferentes estudios con el fin de determinar las condiciones óptimas para la detección de AFB1.

El tercer capítulo presenta los resultados de la caracterización de la metodología, obteniendo excelentes valores en parámetros como repetibilidad, reproducibilidad, límites de detección y de cuantificación; así como los resultados obtenidos de la cuantificación de AFB1 en muestras reales de arroz y leche, utilizando la metodología optimizada.

Finalmente, en el cuarto capítulo se exponen las conclusiones de este estudio, destacando la integración del MOF Cu-BTC en electrodos de pasta de carbono como una estrategia efectiva para mejorar la sensibilidad y selectividad en la detección de AFB1.

La seguridad alimentaria es un tema de preocupación creciente en todo el mundo, ya que la presencia de contaminantes y micotoxinas en los alimentos puede tener graves consecuencias para la salud humana. Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos de bajo peso molecular producidos por diferentes tipos de hongos a través de un proceso llamado esporulación cuando existen condiciones ideales de temperatura y humedad (Trombete et al., 2013).

Las aflatoxinas son micotoxinas producidas por los hongos *Aspergillus flavus* (del tipo B1 y B2) y *Aspergillus parasiticus* (del tipo B1, B2, G1 y G2); estos hongos son considerados termotolerantes y microterofílicos (Bogantes et al., 2004). Todas las aflatoxinas son reconocidas por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) como agentes hepatotóxicos y cancerígenos para los humanos (grupo 1A). La aflatoxina B1 (AFB1) se estudia ampliamente debido a que tiene la mayor actividad carcinogénica, pues las enzimas del citocromo en el hígado pueden metabolizar la AFB1 en un epóxido que puede unirse a proteínas y causar aflatoxicosis, o unirse al ADN e inducir carcinoma hepatocelular. Por lo tanto, su determinación y control son esenciales para garantizar la calidad y seguridad de los alimentos que se consumen diariamente (Wu y Khlangwiset, 2010).

Existen diferentes metodologías para la cuantificación de AFB1 que muestran alta sensibilidad: métodos cromatográficos, inmunoquímicos y sensores específicos. Por desgracia, estas técnicas requieren de una preparación exhaustiva de la muestra, instrumentos costosos, un tiempo de análisis considerable y utilizan sustancias químicas tóxicas.

La búsqueda de métodos más sostenibles y respetuosos con el medio ambiente ha llevado al desarrollo de enfoques electroquímicos verdes que buscan minimizar el uso de sustancias químicas tóxicas y reducir los desechos generados durante el análisis. En este sentido, las metodologías electroquímicas son ideales para la cuantificación de trazas y ofrecen ventajas como una alta sensibilidad, selectividad y rapidez en el análisis. Las técnicas voltamperométricas son métodos electroquímicos basados en medir la corriente eléctrica entre dos electrodos a

través de un electrolito cuando se varía el potencial eléctrico aplicado (Kounaves, 1997).

Los EPC son ampliamente utilizados debido a que permiten la incorporación de materiales modificantes de una manera sencilla, mejorando así las propiedades electroquímicas del sensor. Aunado a esto, incorporar un MOF aporta una alta área superficial, lo que lo convierte en un material con sitios activos específicos para la detección de analitos. A diferencia de los sensores enzimáticos, los EPC son más estables y menos sensibles a las condiciones ambientales.

En este trabajo se presenta el desarrollo de una metodología voltamperométrica en medio acuoso para la determinación y cuantificación de AFB1 por cronoamperometría seguida de voltamperometría diferencial de pulsos empleando electrodos de pasta de carbono modificados con un MOF de cobre.

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

1.1 Antecedentes.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos de bajo peso molecular producidos por diferentes tipos de hongos a través de un proceso llamado esporulación, cuando existen condiciones ideales de temperatura y humedad.

La contaminación de alimentos por micotoxinas puede ocurrir tanto en la fase agrícola como en el almacenamiento y procesamiento. Representan un problema de salud pública debido a su alta toxicidad y estabilidad a los procesos industriales (Trombete et al., 2013).

Las micotoxinas fueron estudiadas por primera vez en 1960 debido a un brote de enfermedades hepáticas en pavos en Inglaterra. Los investigadores asociaron este hecho con la contaminación de la harina de maní que se utilizaba para alimentar a los pavos. Tiempo más tarde, un caso similar se presentó en Kenia causando la muerte de varios patos, mientras que algunos criaderos en Estados Unidos y Europa reportaron casos de carcinoma hepatocelular en truchas (Bogantes et al., 2004).

1.2 Aflatoxinas.

1.2.1 Generalidades.

Las aflatoxinas son micotoxinas producidas por los hongos *Aspergillus flavus* (tipo B1 y B2) y *Aspergillus parasiticus* (tipo B1, B2, G1 y G2); estos hongos son considerados termotolerantes y microterofílicos (Bogantes et al., 2004).

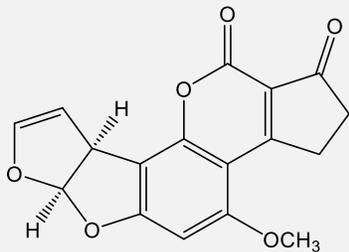
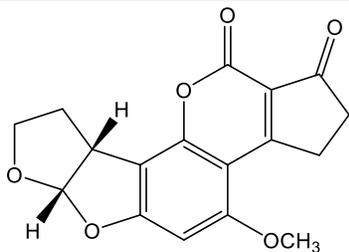
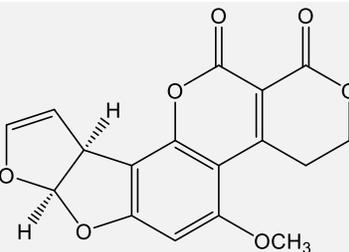
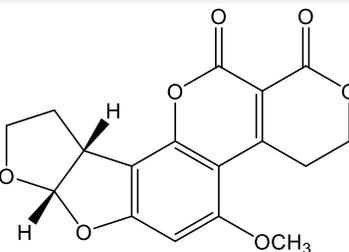
Las temperaturas de crecimiento mínima, óptima y máxima para *Aspergillus flavus* son 6-8 °C, 36-38 °C y 44-46 °C, respectivamente. Por otro lado, para que se produzcan las aflatoxinas, las temperaturas mínima, óptima y máxima son 12 °C, 27-30 °C y 40-42 °C, respectivamente.

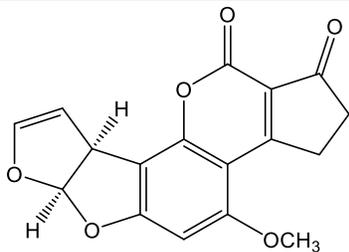
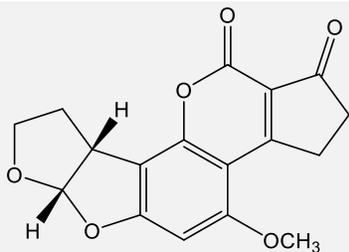
1.2.2 Propiedades físicas y químicas.

Las aflatoxinas B y G derivan de productos agrícolas mientras que las aflatoxinas M son aquellas encontradas en la leche de mamíferos después de metabolizar las toxinas anteriores en su hígado; normalmente entre el 0.3 y 6.2% de AFB1

consumida se metaboliza en AFM1 (Abrehame et al., 2023). Las aflatoxinas B1 y B2 emiten fluorescencia azul y las aflatoxinas G1 y G2 emiten fluorescencia de color verde bajo luz UV a 365 nm. La AFB1 pura es cristalina, de color blanco pálido a amarillo, inodora y soluble en disolventes orgánicos como cloroformo, metanol, acetonitrilo y acetona (tabla 1) (Mousavi Khaneghah et al., 2018).

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de las aflatoxinas.

Aflatoxina	Fórmula molecular	Peso molecular	Punto de fusión (°C)	Estructura
B1	$C_{16}H_{12}O_6$	312	268-269	
B2	$C_{17}H_{14}O_6$	314	286-289	
G1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	244-246	
G2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	237-240	

Aflatoxina	Fórmula molecular	Peso molecular	Punto de fusión (°C)	Estructura
M1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299	
M2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293	

1.2.3 Toxicidad e importancia.

La toxicidad se refiere al nivel en que una sustancia resulta dañina o capa de provocar una lesión. Esta característica está influenciada por factores como la dosis, el tiempo y la vía de exposición, además de la forma, la estructura química de la sustancia y las particularidades de cada individuo (ATSDR, 2019).

Las aflatoxinas son consideradas potenciales agentes cancerígenos naturales y son reconocidas por la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer como agentes hepatotóxicos y cancerígenos para los humanos (grupo 1A), capaz de inducir cáncer de hígado, cirrosis hepática y reducir la resistencia inmune, causando brotes de hepatitis tipo B. Además, la exposición a las aflatoxinas también se asocia con trastornos en el crecimiento de los niños (Wu y Khlangwiset, 2010).

La AFB1 es ampliamente estudiada debido a que tiene la mayor actividad carcinogénica. Las enzimas del citocromo en el hígado pueden metabolizar la AFB1 en un epóxido, que puede unirse a proteínas y causar toxicidad aguda (aflatoxicosis), o se une al ADN e induce carcinoma hepatocelular que es una forma de cáncer de hígado. La aflatoxicosis se asocia con dosis extremadamente altas de

AFB1, mientras que el carcinoma hepatocelular es el resultado de la exposición crónica y se presenta con mayor frecuencia en personas con hepatitis tipo B (Wu y Khlangwiset, 2010).

1.2.4 Límites máximos permisibles de aflatoxinas.

Los límites para el contenido de aflatoxinas están muy cerca de los límites de detección de las metodologías analíticas debido a que se sabe que no existe nivel inocuo para el ser humano, de tal modo que la norma de la FDA dicta que el límite máximo permisible (LMP) en alimentos es de 20 µg/kg de aflatoxinas totales. De manera general, el LMP de aflatoxinas totales en el trigo para consumo humano corresponde a 5 µg/kg en países como Turquía, Chile, Brasil y la Unión Europea, mientras que el valor más alto es de 30 µg/kg y corresponde a India (Bogantes et al., 2004; Trombete et al., 2013). En México la NOM-188-SSA1-2002 dicta que los cereales no deben exceder de 20 µg/kg de aflatoxinas totales (Secretaría de Gobernación, 2002).

1.2.5 Estabilidad y persistencia.

Las aflatoxinas son muy estables a temperaturas superiores a 100 °C, por lo que los procesos de pasteurización, tostado y horneado no son capaces de lograr la descomposición de estas micotoxinas en los alimentos (Mousavi Khaneghah et al., 2018).

Se han realizado diversos estudios en los que se han aislado aflatoxinas en leche y productos lácteos, cereales, café, frutas secas como higos y pasas, diferentes especias, cacahuates, almendras, pistaches y nueces (Abrehame et al., 2023).

1.3 Técnicas analíticas oficiales para cuantificar aflatoxina B1.

Para llevar a cabo la detección y cuantificación de aflatoxinas en alimentos es necesario implementar una metodología de extracción eficiente que se complemente con una técnica de limpieza. Las aflatoxinas son solubles en solventes próticos polares como metanol, acetona, cloroformo y acetonitrilo. Por lo tanto, en

el proceso de extracción se emplean estos solventes mezclados con agua en diferentes proporciones (Wacoo et al., 2014).

1.3.1 Métodos cromatográficos.

1. Cromatografía en capa fina (TLC).

La TLC es una de las técnicas de separación más empleadas en el análisis de aflatoxinas, pues se utiliza en laboratorios de todo el mundo para el análisis y control de calidad de alimentos. Esta técnica consiste en una fase estacionaria de sílice, alúmina o celulosa inmovilizada en un material inerte llamado matriz, que puede estar hecho de vidrio o plástico. La fase móvil empleada es una mezcla de metanol, acetonitrilo y agua.

La TLC tiene excelente sensibilidad, se ha utilizado en el análisis de aflatoxinas reportando niveles de 1-20 ppb. A pesar de que esta técnica puede detectar varios tipos de micotoxinas en una sola muestra, carece de precisión debido a los errores que pueden cometerse durante la aplicación de la muestra y el revelado e interpretación de la placa (Wacoo et al., 2014; Espinosa et al., 2011).

2. Cromatografía líquida (LC).

La LC ofrece buena sensibilidad, versatilidad y condiciones de ionización suaves que posibilita determinar la masa molecular de moléculas biológicas sin alterar su estructura. Esta técnica suele acoplarse a detectores de fluorescencia (FLD), absorción UV y detección amperométrica con derivatización pre o postcolumna. Los procesos de extracción de aflatoxinas previo al análisis por LC consisten en la extracción en fase sólida (SPE) usando diferentes materiales absorbentes (Espinosa et al., 2011).

3. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

La HPLC es la técnica más popular en la separación y determinación de compuestos orgánicos. Esta técnica utiliza una fase estacionada dentro de un tubo de vidrio o plástico y una fase móvil que es un disolvente orgánico y que fluye a través del adsorbente sólido.

En el caso de las aflatoxinas, se pueden utilizar detectores programables, como el detector fluorescente (FLC), el detector ultravioleta (UV) o el detector de arreglo de diodos (DAD). Las aflatoxinas generalmente se separan y determinan por HPLC de fase inversa. Se han informado límites de detección bajos que rondan 0.1 ng/kg, aunque una desventaja de usar HPLC es la necesidad de purificar la muestra empleando columnas de inmunoafinidad, además del uso de solventes orgánicos no amigables con el medio ambiente. En ocasiones es necesaria la derivatización química cuando se desea analizar aflatoxina B1 y G1 con el objetivo de mejorar la sensibilidad, ya que la fluorescencia natural de estas especies no es lo suficientemente alta para alcanzar el límite de detección requerido con el FLC. Las reacciones de derivatización de aflatoxinas pueden llevarse a cabo con ácido trifluoroacético, radiación UV o halógenos como bromo o yodo.

En HPLC puede acoplarse a un espectrómetro de masas para evitar procesos de derivatización, aunque dicha modificación aumenta el volumen y costo del análisis (Wacoo et al., 2014).

4. Cromatografía de gases (GC).

En la GC la fase móvil es un gas portador y la fase estacionaria consta de partículas sólidas inertes que se recubren con una capa de líquido que están contenidas en un tubo largo de acero inoxidable o vidrio llamado columna, dicho tubo se mantiene a una temperatura adecuada durante el análisis.

Cuando se logra la separación, la detección de los productos se lleva a cabo empleando un detector de ionización de flama (FID) o un detector de captura de electrones (ECD) y un espectrómetro de masas (MS). Cabe destacar que, debido a su naturaleza no volátil, las aflatoxinas requieren de un proceso de derivatización química para ser detectadas (Wacoo et al., 2014).

1.3.2 Métodos espectroscópicos.

1. *Espectrometría de fluorescencia.*

La fluorescencia permite la caracterización y análisis de moléculas que emiten energía en longitudes de onda específicas, esto ha facilitado el análisis de aflatoxinas en granos y maní. Todas las aflatoxinas tienen el máximo de absorción alrededor de los 360 nm, pero la emisión (fluorescencia) de la AFB1 ocurre aproximadamente en 425 nm (Wacoo et al., 2014; Espinosa et al., 2011).

Esta metodología permite cuantificar aflatoxinas de 5 a 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en menos de 5 minutos, aunque en ocasiones es necesaria la derivatización química para mejorar la fluorescencia de las especies químicas. El límite de detección es un poco mayor a 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, por lo que no cumple con el estándar europeo y no se analizan muestras que se exportan a ese continente (Wacoo et al., 2014).

2. *Espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR).*

La espectroscopía infrarroja se basa en las vibraciones moleculares tras la irradiación con radiación infrarroja, básicamente consiste en medir la absorbancia de la muestra cuando se expone a un rayo de luz cuya longitud de onda varía en el rango del infrarrojo cercano. Esta técnica no destructiva posee ventajas como una operación rápida y fácil, exactitud y precisión; así como la posibilidad de determinar parámetros fisicoquímicos a partir del espectro obtenido.

En 2009 Tripathi y Mishra cuantificaron AFB1 en Chile en polvo. Se tomaron lecturas en el rango de 6900.3–4998.8 cm^{-1} y 4902.3–3999.8 cm^{-1} , excluyendo las bandas de absorción características del agua entre 5155 y 7000 cm^{-1} (Wacoo et al., 2014; Espinosa et al., 2011).

1.3.3 Métodos inmunoquímicos.

1. Radioinmunoensayo (RIA).

El radioinmunoensayo se basa en el principio de unión competitiva entre un antígeno marcado radiactivamente y un antígeno no radiactivo; el marcado compite con el no radiactivo por un número fijo de anticuerpos.

Langone y van Vunakis reportaron el uso de esta técnica en fase sólida para la determinación de AFB1 en maní logrando un límite de detección de 1 µg/kg. La principal ventaja del RIA es la capacidad de realizar análisis simultáneos con altos niveles de sensibilidad y selectividad.

Existen desventajas que limitan el uso del RIA, por ejemplo: requiere de un antígeno en estado puro, se usa un isótopo radiactivo como marcador que puede provocar problemas de salud y tiene problemas asociados con el almacenamiento y la eliminación de los desechos (Wacoo et al., 2014).

2. Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

A raíz de los peligros para la salud relacionados con el uso del RIA, se optó por buscar una técnica más segura reemplazando la señal radiactiva por una que no lo fuera, logrando marcar los antígenos con enzimas en lugar de isótopos.

El principio de los inmunoensayos enzimáticos es el mismo que el de otros métodos inmunoquímicos; se basan en la especificidad de los anticuerpos por los antígenos y la sensibilidad del ensayo aumenta marcando los anticuerpos con una enzima que pueda analizarse de manera sencilla usando sustratos específicos.

La técnica ELISA se utiliza en la detección de aflatoxinas empleando varios kits disponibles en el mercado, en donde la mayoría de estos kits utilizan las enzimas peroxidasa de rábano picante (HRP) y fosfatasa alcalina (AP) como especies marcadoras.

A pesar de que ELISA es considerada una técnica lenta porque requiere múltiples pasos de lavado, posee varias ventajas que la hacen atractiva: la prueba se puede

realizar en plataformas de ensayo de 96 pozos para analizar varias muestras de forma simultánea, los kits ELISA son accesibles y asequibles y no existen peligros para la salud al utilizar enzimas como marcadores (Wacoo et al., 2014).

3. Dispositivos de flujo lateral (Immunodipsticks).

Las tiras reactivas inmunes (immunodipsticks) son ensayos inmunocromatográficos. El principio de los dispositivos de flujo lateral se basa en usar reacciones de antígeno-anticuerpo altamente sensibles y selectivas para una detección rápida del analito de interés. Estos dispositivos se conforman de una membrana porosa para asegurar el flujo, una almohadilla de muestra que favorece el contacto entre la muestra líquida y la membrana, y un respaldo rígido que sirve como soporte para el dispositivo.

Los dispositivos de flujo lateral pueden usarse fácilmente y detectan rápidamente aflatoxinas in situ, se han observado tiempos de análisis de 10-12 minutos con límites de detección dentro del marco establecido por la Comisión Europea (CE). Delmulle y colaboradores desarrollaron un dispositivo de flujo lateral para la detección de AFB1 con un tiempo de análisis de 5 minutos y un límite de detección de 5 µg/kg. Por otro lado, Ho y Wauchope desarrollaron un método inmunocromatográfico basado en la competencia entre liposomas, el análisis para AFB1 demoraba menos de 12 minutos y detectaba 18 ng (Wacoo et al., 2014).

4. Inmunosensores.

Los inmunosensores son biosensores que utilizan un antígeno o anticuerpo como componente de reconocimiento biológico acoplado a un transductor de señal como el grafito, el oro y el carbono. Se pueden clasificar de acuerdo con el tipo de transductor utilizado.

- Microbalanzas piezoeléctricas de cristal de cuarzo (QCMs).

Se emplean en la detección directa de antígenos. El cristal de cuarzo piezoeléctrico se basa en los cambios de masa en la superficie del electrodo cuando un antígeno interactúa con un anticuerpo afín inmovilizado en la superficie del cristal de cuarzo. Como el cambio de masa es proporcional a la concentración del complejo antígeno-

anticuerpo, el método permite la detección y posterior cuantificación del complejo inmune.

Se ha empleado satisfactoriamente en la detección de AFB1 en diferentes condiciones experimentales, aunque su uso puede ser un desafío debido al tamaño tan pequeño de las micotoxinas. Por ejemplo, Spinella et al. recubrieron ambos lados del sensor QCM con electrodos de oro y se llevó a cabo la detección mediante la inmovilización del anticuerpo DSP-anti-AFLAB1; el sensor detectó concentraciones en el rango de 0.5 a 10 ppb. Por otro lado, Jin et al. desarrollaron un sensor QCM utilizado en muestras de leche contaminadas artificialmente en un rango de concentración de 0.01 a 10 ng/mL (Wacoo et al., 2014).

- Inmunosensores ópticos.

La resonancia de plasmones superficiales (SPR) es uno de los Inmunosensores ópticos desarrollados para el análisis de aflatoxinas. La SPR se fundamenta en la medición de los cambios en el índice de refracción que se producen por la unión del analito a su socio bioespecífico inmovilizado en la superficie del sensor (Wacoo et al., 2014).

- Inmunosensores electroquímicos.

Los Inmunosensores electroquímicos son dispositivos que utilizan anticuerpos incorporados en una capa de biorreconocimiento para producir señales electroactivas detectables por transductores que generan señales medibles. La señal se genera en forma de potencial cuando los iones se unen a la membrana de detección, posteriormente se mide la diferencia de potencial recordando que existe una relación logarítmica entre la diferencia de potencial y la concentración.

La medición de la señal electroquímica también puede llevarse a cabo por medio de técnicas como voltamperometría de pulso diferencial, voltamperometría cíclica, cronoamperometría, espectroscopia de impedancia electroquímica o voltamperometría de barrido lineal.

La mayoría de inmunosensores electroquímicos usados en el análisis de aflatoxinas implican la inmovilización de anticuerpos en la superficie del electrodo. Generalmente se usan enzimas como componente biológico activo para generar señales, pero Masoomi et al. desarrolló un sensor no enzimático mediante la modificación de electrodos de carbón vítreo con quitosano, nanopartículas de Au, antiaflatoxina B1 y un núcleo magnético de Fe_3O_4 con una cubierta de oro funcionalizada con un compuesto orgánico y marcada con AFB1. Masoomi logró un rango de detección de 0.6 a 110 ng/mL y un límite de detección de 0.2 ng/mL.

Siguiendo la ruta de los inmunosensores electroquímicos no enzimáticos, Linting et al. desarrollaron otro sensor mediante la modificación de un electrodo de oro al cual se le realizó la electrodeposición de óxido de grafeno y nanopartículas de Au, alcanzando un intervalo de detección de 0.32 a 3.2 pmol y un límite de detección de 1 fmol (Wacoo et al., 2014).

1.4 Técnicas electroquímicas para cuantificar aflatoxina B1.

Las técnicas voltamperométricas son métodos electroquímicos que se basan en medir la corriente eléctrica entre dos electrodos a través de un electrolito cuando se varía el potencial eléctrico aplicado. El gráfico que resulta de estas mediciones es conocido como voltamperograma y muestra la relación entre potencial aplicado a la celda y la corriente eléctrica medida.

Todas las técnicas voltamperométricas involucran la aplicación de un potencial (E) a un electrodo y el monitoreo de la corriente resultante (i) que fluye a través de las celdas electroquímicas. En algunos casos se varía el potencial aplicado o se controla la corriente durante un periodo de tiempo (t).

Estas técnicas se consideran como activas porque el potencial aplicado ejerce un cambio en la concentración de una especie electroactiva en la superficie de un electrodo al reducirla u oxidarla electroquímicamente. Entre las ventajas de las diferentes técnicas voltamperométricas destaca su alta sensibilidad con un rango de concentración lineal de 10^{-12} a 10^{-1} M, una gran cantidad de solventes y electrolitos, un amplio rango de temperaturas, tiempos de análisis cortos,

determinación simultánea de varios analitos y capacidad de determinar parámetros cinéticos.

La corriente es una medida cuantitativa de qué tan rápido se reduce u oxida una especie en la superficie del electrodo. El valor real de la corriente puede verse afectado por la concentración de las especies redox, el área electroactiva, la forma y el material del electrodo, y la resistencia de la solución

El arreglo experimental de un sistema moderno para voltamperometría involucra un potencióstato, una computadora y la celda electroquímica. El potencióstato se encarga de aplicar un potencial conocido y monitorear la corriente, los más utilizados en la actualidad se ensamblan a partir de amplificadores operacionales de circuito integrado discretos y otros módulos digitales. Por otro lado, la celda electroquímica consiste en un solvente que contiene el analito, un electrolito y tres electrodos (Kounaves, 1997).

1.4.1 Celda electroquímica.

En las técnicas voltamperométricas se emplea una celda electroquímica (figura 1) constituida por tres electrodos sumergidos en una disolución conocida como electrolito soporte que puede o no contener al analito.

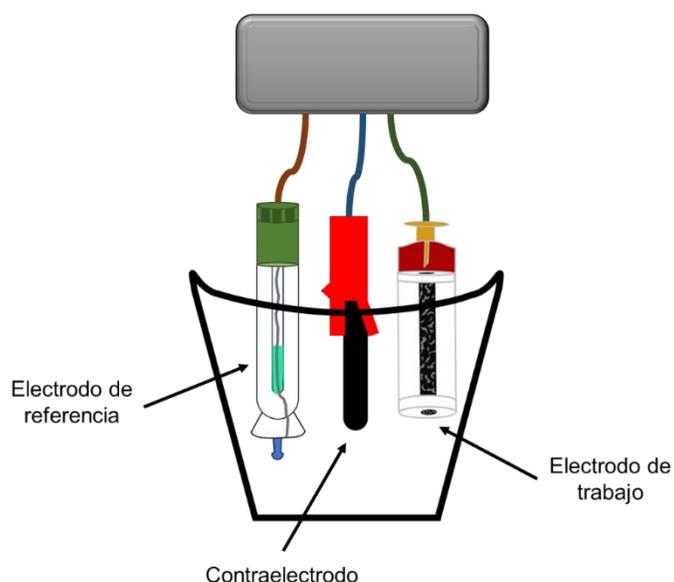


Figura 1. Esquema típico de una celda electroquímica.

El material de la celda debe ser inerte y no electroactivo, pudiendo ser de vidrio, teflón o polietileno (Kounaves, 1997). Los electrodos que conforman una celda electroquímica son los siguientes:

1. Electrodo de referencia.

En la mayoría de las mediciones electroquímicas, es fundamental mantener uno de los electrodos a un potencial constante para asegurar la estabilidad y reproducibilidad del sistema. Para lograr esto, se emplea el electrodo de referencia, cuya función es proporcionar un potencial fijo y conocido.

El electrodo de hidrógeno es el estándar fundamental, pero es difícil de utilizar, por lo que se prefieren los electrodos de referencia secundarios. Dichos electrodos secundarios deben cumplir con las siguientes características: debe proporcionar una semirreacción reversible que siga la ley de Nernst, debe ser química y electroquímicamente reversible, el potencial debe permanecer casi constante (electrodo no polarizable) y el coeficiente térmico de potencial debe ser pequeño.

De manera general, los electrodos secundarios son electrodos de segundo tipo, es decir, electrodos metálicos acoplados a un equilibrio de solubilidad de una sal que contenga dicho metal y una solución electrolítica que contiene una concentración fija del anión de la sal metálica insoluble. Comúnmente se utiliza el electrodo de Ag/AgCl, sustituyendo así el electrodo de calomel por su impacto ambiental (Scholz et al., 2010; Kounaves, 1997).

2. Contraelectrodo.

Su función principal es cerrar el circuito. No debe participar en la reacción química, por lo tanto, se selecciona un material químicamente inerte, pero con área superficial alta, como gasa de platino o grafito (Scholz et al., 2010).

3. Electrodo de trabajo.

El electrodo de trabajo es aquel donde, cuando se aplica un potencial eléctrico, se produce una reacción redox que genera corriente eléctrica que posteriormente

puede ser medida y cuantificada. Los electrodos más utilizados son los de disco, los cuales pueden estar hechos de Pt, Au, grafito, carbón vítreo, etc.

1.4.2 Voltamperometría cíclica (CV).

La voltamperometría cíclica es una técnica que se basa en variar el potencial aplicado en un electrodo de trabajo tanto en dirección directa como inversa (a cierta velocidad de barrido) mientras se monitorea la corriente (Kounaves, 1997). Los parámetros medidos en CV son el potencial de pico anódico y catódico, la corriente de pico anódica y catódica y los potenciales de pico medio (Farghaly et al., 2014; Riberi, 2019).

El sistema más común para llevar a cabo voltamperometría cíclica consiste en una celda electroquímica con tres electrodos: contraelectrodo o electrodo auxiliar (AE), electrodo de referencia (RE) y electrodo de trabajo (WE). Todos los electrodos se sumergen en un medio comúnmente electrolítico y se conectan a un potencióstato que permite controlar la diferencia de potencial entre el electrodo de referencia y el de trabajo con una mínima interferencia (resistencia) (Scholz et al., 2010; Scholz, 2015).

La CV es ampliamente utilizada debido a que permite obtener información sobre el comportamiento termodinámico de procesos redox, la cinética de reacciones de transferencia electrónica heterogénea y de procesos de adsorción o reacciones químicas acopladas (Riberi, 2019). Puede aplicarse en el análisis de sólidos y soluciones, sistemas con y sin electrolito soporte agregado, emulsiones y suspensiones, soluciones congeladas, polímeros, membranas y sistemas líquido-líquido; así como sistemas biológicos como enzimas o cultivos de bacterias. Sin embargo, una limitación importante de este tipo de voltamperometría es la baja resolución respecto a la información estructural, por lo tanto, es recomendable acoplar la CV con métodos espectroscópicos (Scholz et al., 2010).

1.4.3 Cinética de reacción y proceso de transporte de materia en la superficie del electrodo.

La voltamperometría cíclica es una técnica clave que permite de manera rápida tener una idea de la cinética de las reacciones electroquímicas que ocurren en la superficie del electrodo de trabajo. De esta forma, un proceso rápido no estará controlado por la transferencia de carga (proceso reversible) y es fácilmente identificable cuando los potenciales de pico no cambian al variar la velocidad de barrido de potencial. Cuando el sistema está controlado por la transferencia de carga (proceso irreversible o quasirreversible), el potencial de pico se desplazará al variar la velocidad de barrido.

1.4.3.1 El fenómeno de difusión y la ecuación de Randles-Sevcik.

Para un proceso electroquímico donde el transporte de materia es sólo difusional, la raíz cuadrada de la velocidad de barrido es directamente proporcional a las intensidades de corriente de pico (Riberi, 2019), presentando un comportamiento lineal al ser graficadas. Este comportamiento se fundamenta en la ecuación de Randles-Sevcik (ecuación 1):

$$i_p = (2.69 \times 10^5)n^{3/2}AD_0^{1/2}C_0^*v^{1/2} \quad \text{Ecuación 1}$$

donde i_p es la corriente de pico, n es el número de electrones transferidos en la reacción, A es el área del electrodo, D_0 es el coeficiente de difusión, C_0 es la concentración de la especie electroactiva y v es la velocidad de barrido (Bard y Faulkner, 2001).

La difusión puede definirse como el fenómeno en el que las partículas se mueven de una región de mayor potencial electroquímico a una de menor potencial electroquímico. En la electroquímica es crucial determinar que el movimiento de materia es sólo difusional y no está influenciado por otros tipos de transporte como la migración o la convección.

Cuando un sistema electroquímico es controlado por difusión, el gráfico de la intensidad de corriente vs la raíz cuadrada de la velocidad de barrido debe mostrar una tendencia lineal.

1.4.3.2 Adsorción en procesos electroquímicos.

La adsorción es el fenómeno por el cual las moléculas o iones del electrolito soporte se adhieren a la superficie del electrodo de trabajo. En ocasiones, la adsorción de la especie electroactiva en la superficie del electrodo resulta un paso determinante para su transformación; en este caso se espera una relación proporcional lineal entre la corriente de pico y la velocidad de barrido.

Para evaluar la importancia de la adsorción en un proceso electroquímico, se evalúa la relación lineal entre el log de la intensidad de corriente y el log de la velocidad de barrido. Así, cuando una reacción es está regida sólo por la difusión de la especie electroactiva hacia la superficie del electrodo, se tendrá una pendiente de 0.5 (ecuación 1); mientras que cuando el proceso de adsorción se hace el más importante, la pendiente tomará el valor de 1. Para valores intermedios, se tendrá que ambos, difusión y adsorción, son determinantes, aunque dependiendo su tendencia (hacia 0.5 o a 1) se puede decir que uno de los dos es más importante que el otro.

1.4.4 Voltamperometría diferencial de pulsos (DPV).

Las técnicas voltamperométricas de pulso se caracterizan por una sucesión de pasos de potencial y sus límites de detección rondan valores de 10^{-7} M, por lo que son ampliamente utilizadas en el análisis cuantitativo de trazas (Escarpa et al., 2015).

En la DPV cada pulso de potencial es fijo, de pequeña amplitud (10-100 mV), y se superpone a un potencial base que cambia lentamente. Consiste en aplicar un pulso de voltaje y se mide la corriente resultante, posteriormente el voltaje regresa a su valor inicial y se vuelve a medir la corriente resultante (Farghaly et al., 2014; Kounaves, 1997)

Una ventaja importante de la DPV es que permite distinguir corrientes faradaicas de las no faradaicas, esto es útil cuando se analizan varias especies simultáneamente porque incrementa la sensibilidad (Hernández, 2017).

1.5 Electrodo de pasta de carbono.

Los electrodos de pasta de carbono consisten en una mezcla preparada a partir de polvo de grafito y un aglutinante que sea inmisible en agua y no conductor. Los EPC tienen una amplia aplicación debido a su bajo costo y posibilidad de miniaturización, fácil preparación y renovación de su superficie y facilidad de incorporar diferentes sustancias químicas para modificar la mezcla y otorgarle propiedades fisicoquímicas que determinen su comportamiento frente a diferentes analitos (Nossol y Zarbin, 2008).

Las partes elementales de un EPC constan de una superficie de contacto renovable, un tubo de polipropileno en donde se empaqueta la mezcla de grafito y aglutinante (aceite mineral) y un contacto (figura 2).

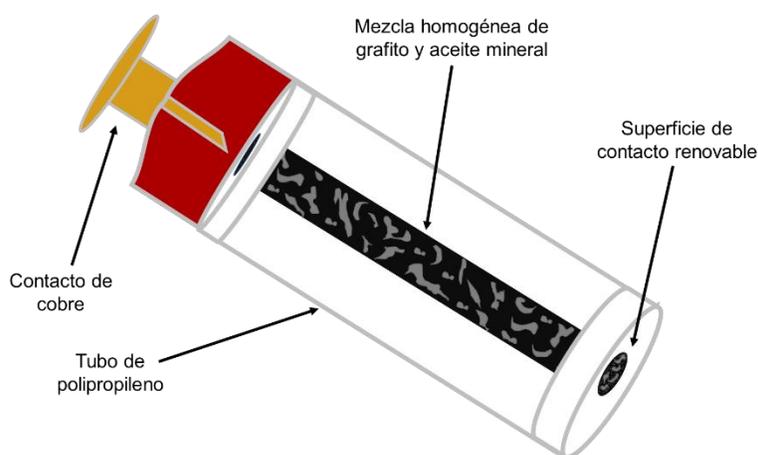


Figura 2. Partes de un electrodo de pasta de carbono.

1.6 Sensores electroquímicos.

Un sensor químico está constituido por un receptor y un transductor. El receptor es la parte del sensor que interactúa directamente con el analito para obtener una señal, la cual no siempre es directamente interpretable, por lo que el transductor convierte esa señal en una respuesta legible y cuantificable. En la actualidad, los

sensores electroquímicos son ampliamente utilizados debido a su alta sensibilidad, bajo costo de fabricación y capacidad de detectar concentraciones extremadamente bajas de analitos, llegando hasta el rango de picomolar.

Estos sensores se basan en la medición de propiedades eléctricas que cambian en presencia del analito, tales como el potencial eléctrico, la corriente o la conductancia. Pueden clasificarse en sensores potenciométricos amperométricos y conductimétricos (Baranwal et al., 2022).

1.6.1 Biosensores utilizados en la determinación de AFB1.

Evtugyn y colaboradores diseñaron un aptasensor electroquímico basado en un electrodo de carbón vítreo modificado con el colorante rojo neutro electropolimerizado y ligantes de policarboxilato, a través de los cuales se formó un enlace covalente con los aptámeros de ADN para llevar a cabo la detección de AFB1. Este sensor fue estudiado mediante CV y espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) obteniendo límites de detección de 0.1 y 0.05 nM, respectivamente (Beitollahi, 2020).

Los biosensores son altamente selectivos, pero presentan ciertas desventajas debido a que emplean materiales biológicos como enzimas y anticuerpos. Entre las limitaciones se encuentran la estabilidad del material biológico frente a las condiciones ambientales (temperatura, pH, humedad, entre otros), los costos elevados de producción y la pérdida de actividad biológica.

1.6.2 Electroodos de pasta de carbono modificados.

Los EPC modificados consisten en una mezcla de grafito, aglutinante y modificante; la cantidad del modificante en la mezcla oscila entre el 10 y 30% (Švancara et al., 2001). La razón principal para modificar este tipo de electrodos es obtener un sensor con propiedades predefinidas. Se han empleado diversos materiales para la modificación de EPC (tabla 2), entre los que se encuentran:

- Nanotubos de carbono (CNTs) y óxido de grafeno reducido (rGO).
- Óxidos metálicos.

- Nanopartículas metálicas.
- Estructuras MOF.
- Polímeros de impresión molecular (MIPs).

Tabla 2. EPC modificados.

Modificante	Molécula analizada	Sensibilidad	LOD	Referencia
Ta ₂ O ₅	Ácido úrico	-	0.5937x10 ⁻⁸ M	(Rajendrachari et al., 2023)
MOF Ce-BTC	Ketoconazol	0.1342 μAμM ⁻¹	0.04 μM	(Tajik et al., 2023)
Fe-MOF/g-C ₃ N ₅	Arsénico (As ³⁺)	4.24μAμg ⁻¹ L	0.013 μgL ⁻¹	(Ramezani et al., 2024)
TAB	Mercurio (Hg ²⁺)	-	8.8 nM	(Yang, 2024)
Fe ₃ O ₄ -NPs	Molnupiravir	4591μAmM ⁻¹ cm ⁻²	0.05MμM	(Vural et al., 2023)
V ₂ O ₅	Paracetamol	1.93μAμMcm ⁻²	0.06 μM	(Nagles et al., 2024)
GQD/CuCo ₂ O ₄	Dopamina	33.0 mAmM ⁻¹	0.004 μM	(Madadi et al., 2025)
[Cd(TMPP)]	BPA	-	13.5 pM	(Jemmeli et al., 2020)
Cu-MOF	Glucosa	-	0.11 μM	(Wu et al., 2020)

1.6.3 Sensores no enzimáticos utilizados en la determinación de AFB1.

Los sensores no enzimáticos destacan por su mayor estabilidad y vida útil, además de operar en condiciones extremas de pH y temperatura, en comparación a los biosensores. Estos sensores emplean nanomateriales o polímeros conductores para mejorar la sensibilidad y selectividad en la detección del analito.

En 2019 Jahangiri–Dehaghani y colaboradores desarrollaron un sensor electroquímico para la determinación de AFB1 mediante EIS basado en nanopartículas de platino en un electrodo de carbón vítreo modificado con MOF MIL-101(Fe), obteniendo un rango lineal de 0.01 a 80 ng/mL y un límite de detección de 0.002 ng/mL (Jahangiri–Dehaghani et al., 2020)

En 2021 Hernández-Hernández y colaboradores emplearon voltamperometría diferencial de pulsos para la cuantificación de AFB1 basada en electrodos de carbón vítreo modificados con una película de bismuto obteniendo límites de detección y cuantificación de 11.2 ng/L y 37.3 ng/L, respectivamente (Hernández-Hernández et al., 2021)

Recientemente Franco-Guzmán y colaboradores llevaron a cabo la determinación directa de AFB1 mediante voltamperometría de onda cuadrada utilizando un electrodo de carbón vítreo modificado con una película de bismuto y nanopartículas de oro, mostrando un intervalo lineal de 19.01 a 100 ng/L, límite de detección de 5.71 ng/L y sensibilidad de 0.033 μ Ang/L (Franco-Guzmán et al., 2024).

Por otro lado, Hernández-García y colaboradores desarrollaron un sensor electroquímico basado en un polímero de impresión molecular (MIP) y electrodo de pasta de carbono para la determinación voltamperométrica de AFB1. Dicho sensor presentó una respuesta lineal en el rango de 20.8 a 80 ng/L y un límite de detección de 2.31 ng/L, y fue probado en muestras de maíz y trigo detectando AFB1 en concentraciones de 0.0147 y 0.0138 μ g/L, respectivamente (Hernández-García et al., 2024).

1.6.4 Estructuras MOF como modificante.

Los armazones metal-orgánicos, también conocidos como polímeros de coordinación porosos, son redes de coordinación poliméricas que se forman mediante síntesis reticular a partir de ligantes orgánicos y nodos inorgánicos que forman redes 2D o 3D. Los ligantes son aquellas moléculas orgánicas que tienen grupos funcionales adecuados para enlazarse a átomos metálicos, mientras que los nodos son la parte metálica de la estructura y pueden ser átomos o cúmulos.

Omar Yaghi es considerado pionero dentro de la química reticular por separar el término “polímeros de coordinación” de las estructuras metal-orgánicas. En 1999 su grupo de investigación logró sintetizar y caracterizar el primer MOF conocido como MOF-5 que estaba compuesto por cobre y ligantes de ácido tereftálico.

Los arreglos tridimensionales hacen posible que los MOF sean materiales altamente porosos, pues tienen cavidades vacías en la red cristalina con diámetros de 3 a 20 Å y su área superficial es mayor a 7000 m²/g. Los MOF también tienen volúmenes de espacio vacío grandes y bajas densidades, lo que favorece obtener estructuras sólidas con una relación superficie-peso y robustez alta (Villegas et al., 2021).

La síntesis de MOFs está relacionada con factores como el tiempo y la temperatura de reacción, el solvente utilizado y la naturaleza química de los ligantes orgánicos y nodos inorgánicos. Generalmente la síntesis se lleva a cabo en fase líquida mezclando soluciones del ligante y la sal metálica eligiendo un solvente adecuado considerando solubilidad y potencial redox y llevando la reacción a reflujo. En la actualidad se han desarrollado métodos de síntesis alternativos, entre los que destacan los métodos mecanoquímicos, electroquímicos, microondas y sonoquímicos, pues son métodos económicos, rápidos y se obtienen productos con menos impurezas (Raptopoulou, 2021).

Además de que este tipo de compuestos poseen alta estabilidad química y térmica, es posible llevar a cabo un ajuste estructural controlado que permite funcionalizarlos para que logren satisfacer necesidades específicas. Por tal motivo, los MOF son especies prometedoras para el almacenaje de gases, procesos de

separación/purificación, detección molecular, administración de fármacos, sensores químicos y catálisis heterogénea (Villegas et al., 2021).

1.7 Justificación.

La contaminación de alimentos por aflatoxina B1 representa un gran riesgo para la salud pública debido a su potencial carcinogénico y toxicidad. Por tal motivo, es de vital importancia desarrollar metodologías eficientes y sensibles para la detección y control de esta micotoxina con el fin de mejorar la seguridad alimentaria.

Se han reportado diferentes metodologías para la detección cuantitativa de AFB1 que muestran una alta sensibilidad, por desgracia, estas técnicas requieren una preparación extensa de la muestra, instrumentos costosos y consumen mucho tiempo. En este sentido, las técnicas electroanalíticas ofrecen ventajas como una alta sensibilidad, selectividad y rapidez en el análisis y son ideales para la cuantificación de trazas.

Se propone el uso de técnicas voltamperométricas en conjunto con un sensor basado en un MOF (figura 3) para la cuantificación de AFB1 en muestras de alimentos. El MOF tiene alta porosidad, que se traduce en una alta capacidad de adsorción de analitos, brindando una mejora en la sensibilidad y selectividad de sensores.

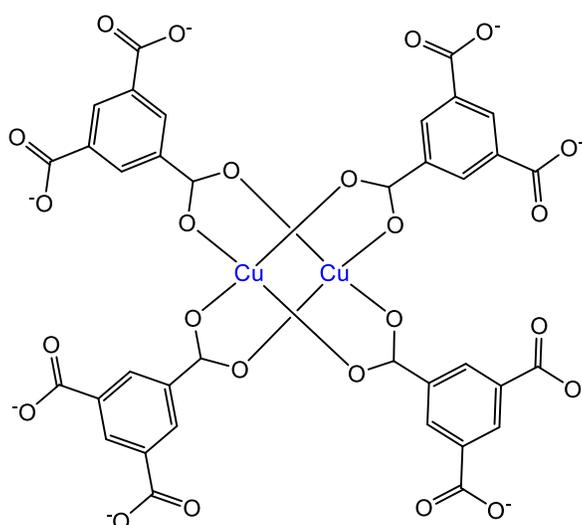


Figura 3. Estructura del MOF Cu-BTC.

Además, el transductor será un electrodo de pasta de carbono que permite la modificación sencilla y no destructiva de su matriz. El uso de este tipo de electrodos permite reducir el impacto ambiental, ya que se trata de un material renovable y de bajo costo. De tal modo que, la implementación de esta metodología no solo nos permitirá generar una detección precisa de AFB1, sino que también contribuirá a la protección del medio ambiente, pues en la medida de lo posible se reduce el uso de reactivos tóxicos y la generación de residuos químicos.

1.8 Objetivo general.

Desarrollo de una metodología voltamperométrica verde en medio acuoso mediante el uso de un MOF de cobre y electrodos de pasta de carbono para el análisis cuantitativo de aflatoxina B1 en muestras de alimentos.

1.9 Objetivos específicos.

1. Preparar electrodos de pasta de carbono modificados con el MOF de cobre, optimizando las proporciones de mezcla para maximizar la señal electroanalítica.
2. Optimizar el medio y la técnica voltamperométrica para obtener una señal electroanalítica óptima en el análisis cuantitativo de AFB1.
3. Caracterizar la metodología propuesta a partir de parámetros analíticos como límites de detección y cuantificación, sensibilidad, reproducibilidad y selectividad.
4. Analizar el contenido de AFB1 en muestras reales.

CAPÍTULO 2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Reactivos.

Se emplearon reactivos químicos comerciales de grado analítico.

La construcción de los electrodos de pasta de carbono se realizó mezclando grafito en polvo (tamaño de partícula de $<20 \mu\text{m}$), aceite mineral y benceno-1,3,5-tricarboxilato de cobre (MOF Cu-BTC) como modificante. El electrolito soporte fue preparado y ajustado con ácido acético (pureza $\geq 99.7\%$), ácido bórico (pureza $\geq 99.5\%$), ácido fosfórico (pureza $\geq 85\%$) e hidróxido de sodio (pureza $\geq 98\%$); la 5,7-dimetoxicumarina (DMC) fue utilizada como analito dummie. Todos estos reactivos fueron adquiridos en Sigma-Aldrich.

Para el pretratamiento de la muestra de arroz se empleó metanol (pureza 99.9%) marca J.T.Baker y para la muestra de leche se empleó ácido nítrico (pureza 68-70%) marca Meyer. El desarrollo experimental se llevó a cabo a temperatura ambiente usando agua desionizada con una resistividad de $18.2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$.

2.2 Sistema electroquímico.

En los experimentos electroquímicos se usó un sistema de tres electrodos: Metrohm Ag/AgCl saturado con KCl 3 M como electrodo de referencia, una barra de grafito de alta pureza como contraelectrodo y un electrodo de pasta de carbono modificado con el MOF Cu-BTC como electrodo de trabajo.

El electrolito soporte consistió en un buffer Britton-Robinson 0.1 M. Para la optimización del medio de trabajo se ajustó el valor de pH en el intervalo de 4 a 8, empleando una solución de NaOH concentrada.

En las mediciones voltamperométricas se usa un potencióstato/galvanostato marca Metrohm, modelo Autolab PGSTAT302N. Para medir el pH de las diferentes soluciones se utilizó un potenciómetro marca HANNA, modelo HI 4222.

2.3 Preparación del estándar de 5,7-dimetoxicumarina (DMC) en medio acuoso.

Durante toda la metodología se empleó DMC en lugar de aflatoxina B1. La DMC tiene un comportamiento electroquímico muy similar a la AFB1, además destaca su morfología y baja toxicidad que lo convierten en una excelente opción para el desarrollo seguro de la metodología electroquímica (figura 4).

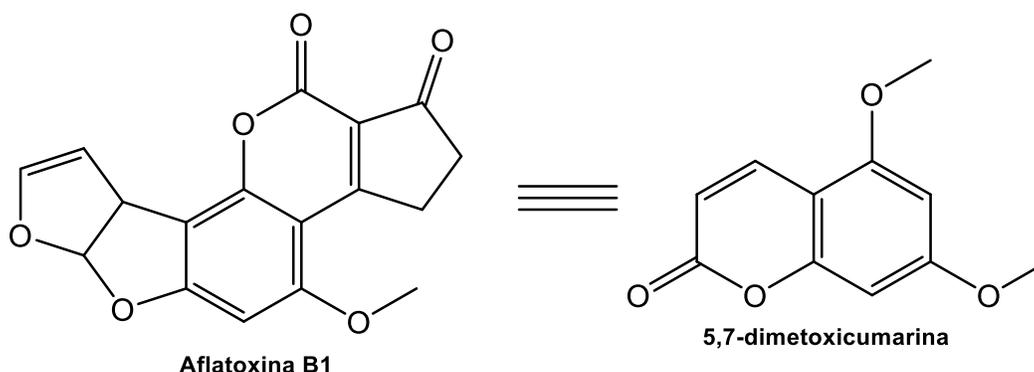


Figura 4. Estructura molecular de AFB1 y DMC.

Se trabajó con un estándar de DMC 200 mgL^{-1} preparado con acetonitrilo ($\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$), realizando diluciones para obtener las concentraciones deseadas en las diferentes etapas de la metodología.

2.4 Preparación del electrodo de pasta de carbono modificado con MOF Cu-BTC.

El EPC modificado se preparó mezclando polvo de grafito y el MOF Cu-BTC con aceite mineral como aglutinante (figura 5). La mezcla fue homogenizada de forma manual hasta obtener una pasta, la cual se empaquetó en un tubo de plástico (jeringa de insulina) con un contacto de cobre en el extremo que sirvió para conectarlo al potencióstato.

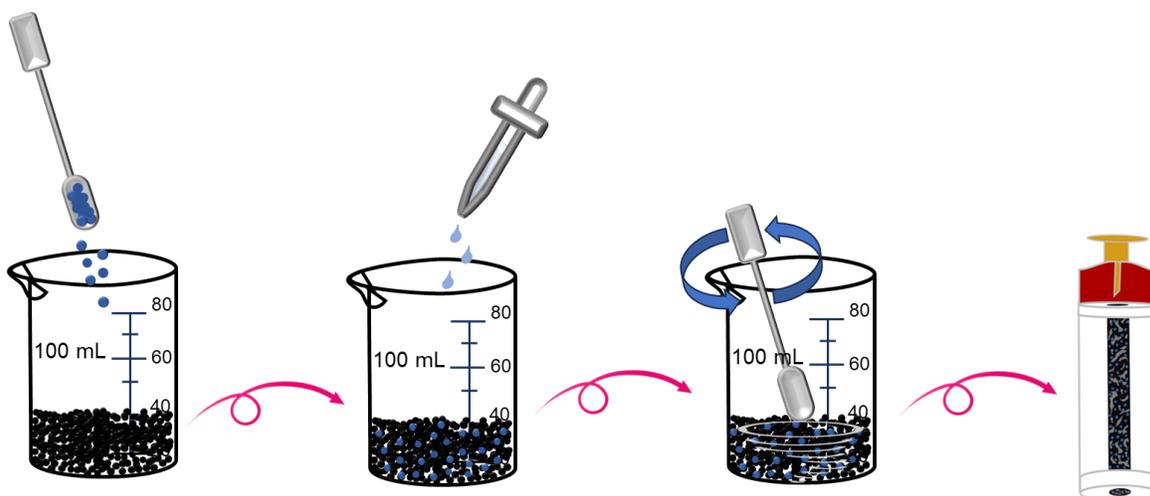


Figura 5. Proceso de elaboración del EPC modificado.

El EPC blanco se preparó de la misma manera que el EPC modificado, pero sin incluir el MOF Cu-BTC (figura 6).

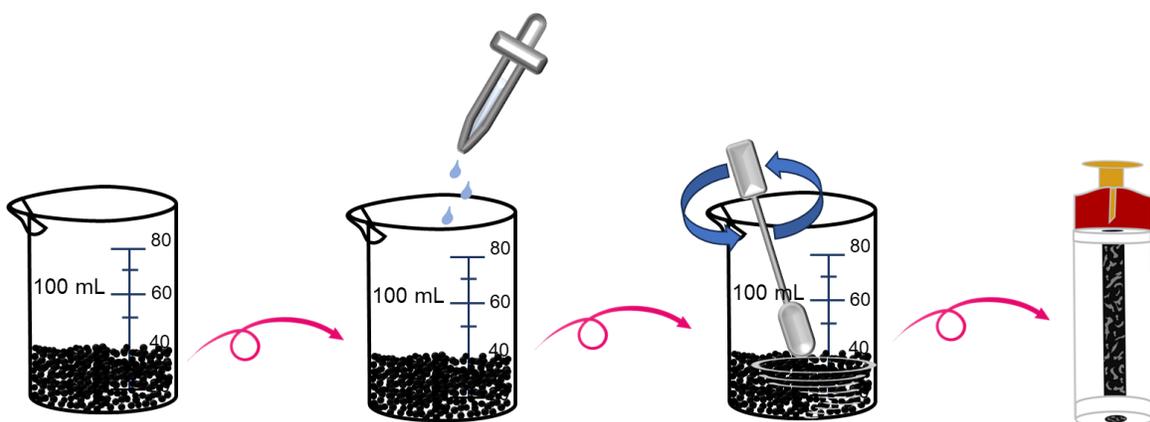


Figura 6. Proceso de elaboración del EPC sin modificar.

Se empleó voltamperometría cíclica en sentido anódico para evaluar los electrodos contruidos en un medio blanco y en presencia de AFB1, con una velocidad de barrido de 100 mV/s, una ventana de potencial de -1200 a 1200 mV y a partir del punto de corriente nula.

2.5 Efecto de la composición del electrodo.

Por medio de voltamperometría cíclica se evaluó el efecto de la cantidad de MOF en la pasta de carbono sobre la señal de respuesta anódica en la superficie del electrodo de trabajo. Se optimizó la proporción de la mezcla para maximizar la señal electroanalítica entre un blanco y una solución con $20 \mu\text{gL}^{-1}$ de DMC (tabla 3), a una velocidad de barrido de 100 mVs^{-1} e imponiendo un $\text{pH} = 7$.

Se seleccionaron estas condiciones de entrada para garantizar que hubiera suficiente tiempo para que ocurrieran los procesos electroquímicos, así como para estudiar el sensor a pH neutro simulando condiciones ambientales reales que evitaran la degradación química del material en pH extremos.

Tabla 3. Proporción de grafito y MOF Cu-BTC.

Grafito (%)	Cu-BTC (%)
100	0
93	7
90	10
85	15
80	20

La cantidad de aceite mineral cambiaba en virtud de obtener una mezcla con la consistencia adecuada para el correcto empaquetamiento del electrodo. En términos generales, por cada 0.3 g de mezcla grafito-MOF se requerían 3 o 4 gotas de aceite mineral.

2.6 Efecto del pH del electrolito soporte.

Mediante la imposición de un potencial eléctrico de -0.8 V durante 60 s seguida de voltamperometría diferencial de pulsos se evaluó el efecto del pH del electrolito soporte empleando el buffer Britton-Robinson a una concentración 0.1 M para encontrar el pH en donde se maximiza la señal electroanalítica respecto al proceso de oxidación de AFB1 en una solución de DMC con $20 \mu\text{gL}^{-1}$. El valor de pH fue ajustado con una solución concentrada de NaOH en un intervalo de 4 a 8.

2.7 Efecto del potencial impuesto.

Se evaluó el efecto del potencial impuesto desde -1.5 V hasta -0.8 V con una duración de 60 s por experimento para maximizar la señal electroanalítica sin que se generaran burbujas en la superficie del electrodo del trabajo y contraelectrodo debido a la reducción del hidrógeno del agua.

2.8 Caracterización electroquímica de la DMC usando el EPC modificado.

Se analizó el comportamiento del electrodo de pasta de carbono modificado con el MOF al 15% para visualizar la respuesta electroanalítica en presencia y ausencia de DMC $3 \mu\text{gL}^{-1}$ a pH 7 imponiendo un potencial de -0.8 V durante 60 s seguido de la DPV.

2.9 Estudio del área electroactiva del EPC blanco y modificado.

Se empleó voltamperometría cíclica para calcular el área electroactiva del EPC blanco y modificado. Para el EPC blanco se estudió la diferencia de intensidad de corriente anódica en un intervalo de velocidad de barrido de 20 a 60 mVs^{-1} en una solución de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (pureza 99%, Sigma-Aldrich) 0.1 M en KCl 1 M.

Para el EPC modificado se siguió la misma metodología, pero ajustando la velocidad de barrido en el intervalo de 20 a 40 mVs^{-1} .

2.10 Estudio de los procesos de difusión y adsorción sobre la superficie del electrodo de trabajo.

La cinética de reacción sobre la superficie del electrodo se evaluó mediante la ecuación de Randles-Sevcik y la ecuación de la adsorción.

Empleando voltamperometría cíclica se estudiaron los procesos de difusión y adsorción sobre la superficie del electrodo de trabajo considerando la diferencia de intensidad de corriente anódica en el proceso de oxidación del Cu-BTC en presencia de $3 \mu\text{gL}^{-1}$ de DMC con velocidad de barrido en un intervalo de 40 a 110 mVs^{-1} en buffer Britton-Robinson 0.1 M a pH 7.

Con los datos obtenidos se realizaron dos gráficos logarítmicos de la diferencia de intensidad de corriente vs la velocidad de barrido y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido. En función de la linealidad es posible conocer el tipo de proceso electroquímico, ya que si es controlado por difusión será $b=0.5$ o por adsorción $b=1$.

2.11 Caracterización del método analítico.

La AFB1 es una molécula con grupos funcionales electroactivos, de tal modo que el método analítico consistió en imponer un potencial de -0.8 V para reducir a esta molécula y posteriormente realizar una voltamperometría de pulso diferencial en el rango de -0.8 V a 0.8 V para seguir la respuesta electroquímica de la oxidación de la DMC.

Se implementó un diseño de experimentos Box-Behnken considerando 4 variables de la voltamperometría de pulso diferencial (tabla 4). Los experimentos de las diferentes combinaciones se realizaron por triplicado (tabla 5).

Tabla 4. Variables del diseño de experimentos Box-Behnken.

Variable	-1	0	+1
Paso (V)	0.003	0.020	0.037
Amplitud de modulación (V)	0.020	0.150	0.280
Tiempo de modulación (s)	0.001	0.050	0.090
Tiempo de intervalo (s)	0.050	0.350	0.650

Tabla 5. Combinaciones del diseño de experimentos Box-Behnken.

Experimento	Paso	Amplitud de modulación	Tiempo de modulación	Tiempo de intervalo
1	0.02	0.28	0.05	0.05
2	0.02	0.15	0.01	0.65
3	0.02	0.15	0.05	0.35
4	0.003	0.15	0.05	0.65

Experimento	Paso	Amplitud de modulación	Tiempo de modulación	Tiempo de intervalo
5	0.02	0.02	0.05	0.65
6	0.003	0.15	0.09	0.35
7	0.037	0.28	0.05	0.35
8	0.037	0.02	0.05	0.35
9	0.02	0.02	0.09	0.35
10	0.02	0.15	0.09	0.05
11	0.02	0.15	0.05	0.35
12	0.02	0.02	0.01	0.35
13	0.037	0.15	0.05	0.05
14	0.02	0.02	0.05	0.05
15	0.037	0.15	0.01	0.35
16	0.02	0.28	0.05	0.65
17	0.003	0.15	0.05	0.05
18	0.02	0.28	0.09	0.35
19	0.02	0.15	0.01	0.05
20	0.037	0.15	0.09	0.35
21	0.02	0.15	0.09	0.65
22	0.003	0.28	0.05	0.35
23	0.02	0.28	0.01	0.35
24	0.037	0.15	0.05	0.65
25	0.02	0.15	0.05	0.35
26	0.003	0.15	0.01	0.35
27	0.003	0.02	0.05	0.35

2.12 Estudio de repetibilidad.

Para evaluar la repetibilidad, se construyó un EPC modificado con 15% de MOF y se realizó la medición de la señal electroanalítica 10 veces en una solución de 6 μgL^{-1} de DMC a pH 7. Se calculó la desviación estándar y el porcentaje de

desviación estándar relativa (%DER), cuyo valor debe ser menor al 10% para demostrar una buena precisión en el sensor.

2.13 Estudio de reproducibilidad.

Para evaluar la reproducibilidad, se construyeron 5 EPC modificados con 15% de MOF y se midió la señal electroanalítica 5 veces para cada uno de ellos en una solución con $6 \mu\text{gL}^{-1}$ de DCM a pH 7. Se calculó la desviación estándar y el porcentaje de desviación estándar relativa (%DER), cuyo valor debe ser menor al 10% para demostrar una buena confiabilidad del sensor.

2.14 Determinación de los parámetros analíticos.

Se estudió el efecto de la variación de concentración DMC con la metodología propuesta. Para la curva de calibración se graficaron concentraciones crecientes de estándares de DMC vs la intensidad de pico, en un intervalo de 0.8 a $4 \mu\text{gL}^{-1}$ e incluyendo las barras de error del análisis por triplicado.

2.14.1 Determinación de la sensibilidad analítica.

La sensibilidad analítica se determinó aplicando el análisis de mínimos cuadrados a la curva de calibración, obteniendo la ecuación de la línea recta descrita como:

Ecuación 2

$$\Delta i \text{ (mA)} = [m \text{ (mA } \mu\text{g}^{-1}\text{L)} * [\text{AFB1}](\mu\text{gL}^{-1})] + b$$

Se considera que la pendiente de la recta (m) es igual a la sensibilidad del método.

2.14.2 Determinación del límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ).

La determinación del LOD y LOQ se realizó mediante el estudio estadístico de la curva de calibración construida usando la metodología recomendada por la IUPAC.

El LOD se define como la concentración mínima de sustancia que puede ser detectada con fiabilidad por el método. Se determinó con la ecuación 3.

Ecuación 3

$$\text{LOD} = \frac{3S_{x/y}}{m}$$

Donde $S_{x/y}$ es el error típico de la curva de calibración y m es la sensibilidad (pendiente).

El LOQ se define como la concentración mínima de sustancia que puede ser cuantificada por el método. Se determinó con la ecuación 4.

Ecuación 4

$$\text{LOQ} = \frac{10S_{x/y}}{m}$$

2.15 Análisis de muestras reales.

Se emplearon muestras de arroz y leche que fueron adquiridas en una tienda de abarrotes de Mineral de la Reforma, Hidalgo, para la cuantificación de AFB1 con el método electroanalítico desarrollado. Previo al análisis, las muestras fueron sometidas a un pretratamiento con la finalidad de disminuir los posibles interferentes.

2.15.1 Arroz.

El pretratamiento de la muestra de arroz se basa en la NOM-247-SSA1-2008 con algunas modificaciones (figura 7). En un vaso de precipitados de 250 mL se pesaron 25 g de arroz molido y se adicionaron 50 mL de solución metanol-agua (80:20, v/v), se dopó con 25 ppb de DMC y se mantuvo con agitación constante por 25 minutos. La mezcla se filtró y se almacenó el filtrado para su posterior análisis.

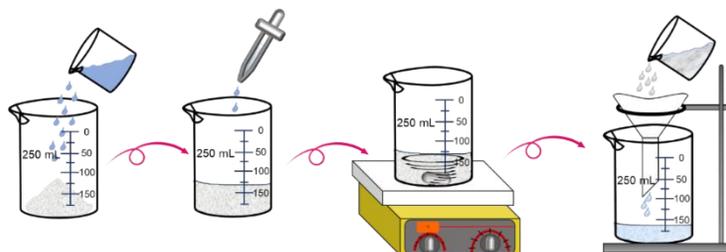


Figura 7. Pretratamiento de la muestra de arroz.

2.15.2 Leche.

La muestra de leche fue analizada siguiendo el procedimiento descrito en la NOM-243-SSA1-2010 con algunas modificaciones (figura 8). En un vaso de precipitados de 50 mL se adicionaron 5 mL de leche entera y 8 mL de HNO₃ 6 M, y se dopó con 25 ppb de DMC. Se llevó a calentamiento con agitación constante durante 4.5 horas y posteriormente se dejó en reposo. El sobrenadante se llevó al aforo en un matraz volumétrico de 25 mL y se almacenó para su posterior análisis.

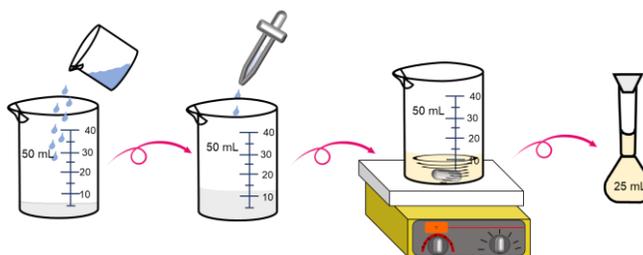


Figura 8. Pretratamiento de la muestra de leche.

2.16 Cuantificación de AFB1 en muestras reales.

Se tomaron 100 μ L de cada muestra, se diluyeron en 10 mL con buffer Britton-Robinson 0.1 M y se doparon con diferentes concentraciones de DMC, para ser analizadas bajo la metodología propuesta.

La cuantificación de DMC en las muestras de arroz y leche se realizó mediante calibración directa, haciendo 3 repeticiones por cada muestra y obteniendo los porcentajes de recuperación con la ecuación 5.

Ecuación 5

$$\%R = \frac{\text{Concentración real}}{\text{Concentración teórica}} (100)$$

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Mecanismo de respuesta del método propuesto.

El EPC sin modificar no presenta ningún pico de oxidación, por lo que se atribuye que la señal analítica corresponde a la oxidación del cobre y no de la DMC (figura 9).

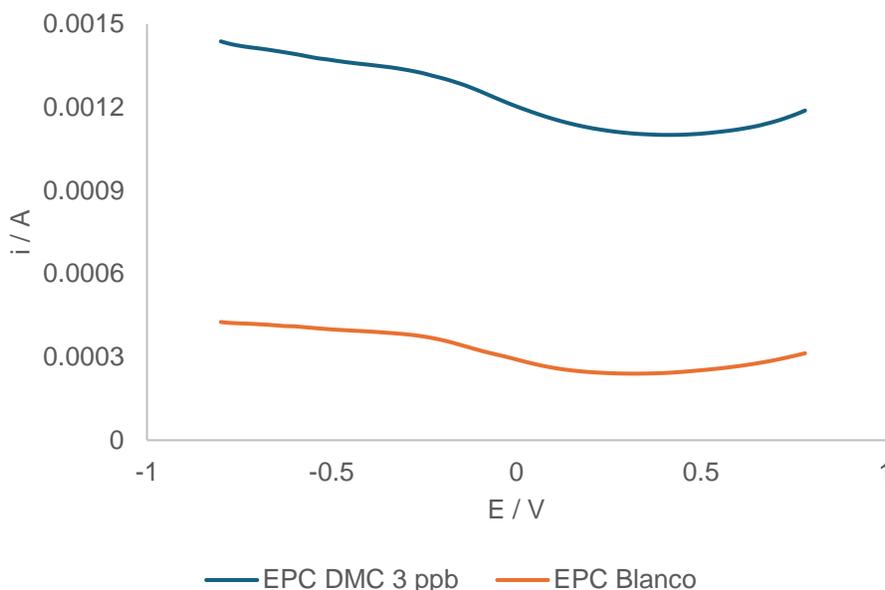


Figura 9. Voltamperogramas DPV para el EPC sin modificar en una solución $3 \mu\text{gL}^{-1}$ de DMC a pH 7 con su respectivo blanco.

Mediante estudios computacionales se ha demostrado que la AFB1 tiene interacciones moleculares con compuestos inorgánicos de Ag^+ , Zn^{2+} y Mg^{2+} (Martínez et al., 2023). De tal modo que, se propone que el MOF Cu-BTC actúa como un material conductor y adsorbente debido a que la AFB1 tiene una interacción con el Cu^{2+} de los sitios activos del MOF y permite la determinación indirecta analito.

Esta interacción impide la oxidación completa del cobre presente en la superficie del electrodo de trabajo. De tal modo que, conforme aumenta la concentración de DMC, el área electroactiva disponible del MOF es cada vez menor, por lo que se pasiva la señal electroanalítica (tabla 6, figura 10).

Tabla 6. Valores de intensidad de pico (i_p) para el EPC modificado a diferentes concentraciones de DMC.

[DMC] (ppb)	i_p (mA)
0	0.86472
1.5	0.41406
2	0.33648

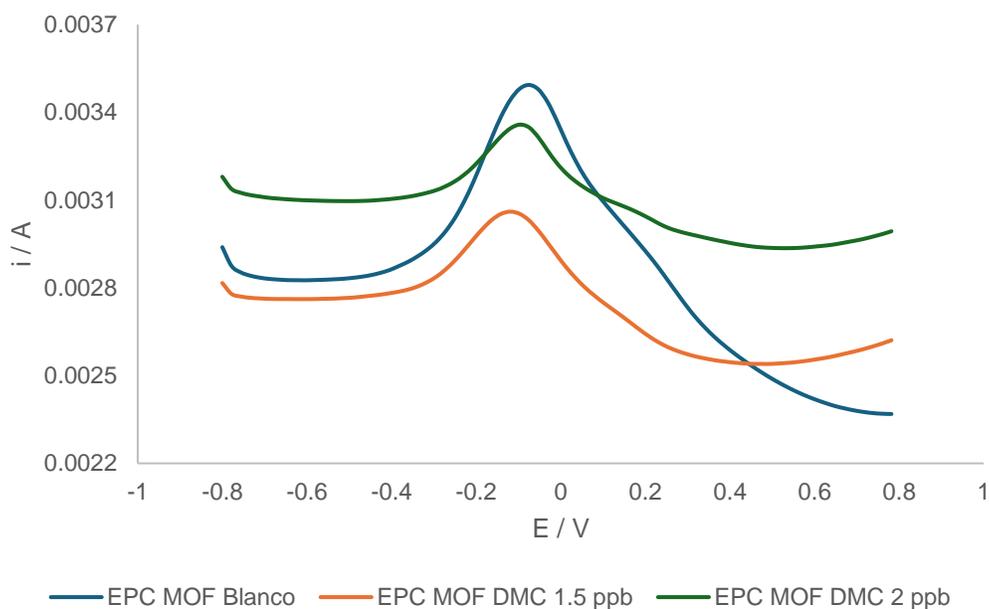


Figura 10. Voltamperogramas DPV para el EPC modificado en una solución 1.5 y 2 μgL^{-1} de DMC a pH 7 con su respectivo blanco.

3.2 Optimización del porcentaje de MOF Cu-BTC en electrodos de pasta de carbono.

Se evaluó por VC el efecto de la cantidad de MOF Cu-BTC en la pasta de carbono, empleando una solución de DMC 20 μgL^{-1} en un buffer de fosfatos pH 7. Se probaron los siguientes porcentajes de MOF: 0, 7, 10, 15 y 20% (tabla 7).

Tabla 7. Valores de intensidad de pico (ip) para los diferentes porcentajes de modificante en el EPC.

%MOF en el EPC	ip (mA)	% DER (n=3)
7	0.116	4.17
10	0.142	2.46
15	0.157	2.28
20	0.109	0.07

Al comparar los voltamperogramas obtenidos con los diferentes porcentajes de MOF, se observa que un 15% presentó la mayor diferencia de intensidad de corriente anódica respecto al blanco, en comparación con las otras proporciones.

La proporción de 15% fue seleccionada como la óptima. A porcentajes superiores, la diferencia de intensidades de corriente anódica se ve disminuida debido a la naturaleza semiconductora del MOF, disminuyendo la conductividad del electrodo.

3.3 Optimización del pH del electrolito soporte.

Se evaluó el efecto del pH del electrolito soporte empleando el buffer Britton-Robinson a una concentración 0.1 M ajustado con una solución concentrada de NaOH en un intervalo de pH de 4 a 8 en presencia de 3 μgL^{-1} de DMC.

En pH 8 se observó una respuesta menor del blanco en comparación con el medio dopado con DMC (figura 11, tabla 8), siendo contrario al fenómeno de pasivación de la señal electroquímica cuando se dopa con el analito; se propone que esto se debe a la formación de hidroxocomplejos de cobre (figura 12) a partir de pH 8, por lo que se eligió pH 7 como el óptimo para llevar a cabo las siguientes etapas de la metodología.

Tabla 8. Valores de intensidad de pico (ip) obtenidos en soluciones $3 \mu\text{gL}^{-1}$ de DMC a pH 6, 7, 8 con sus respectivos blancos.

pH		ip (mA)	Δip (mA)
6	Blanco	0.14151	-0.01113
	DMC	0.13038	
7	Blanco	0.16812	-0.04003
	DMC	0.12809	
8	Blanco	0.15181	0.03465
	DMC	0.18646	

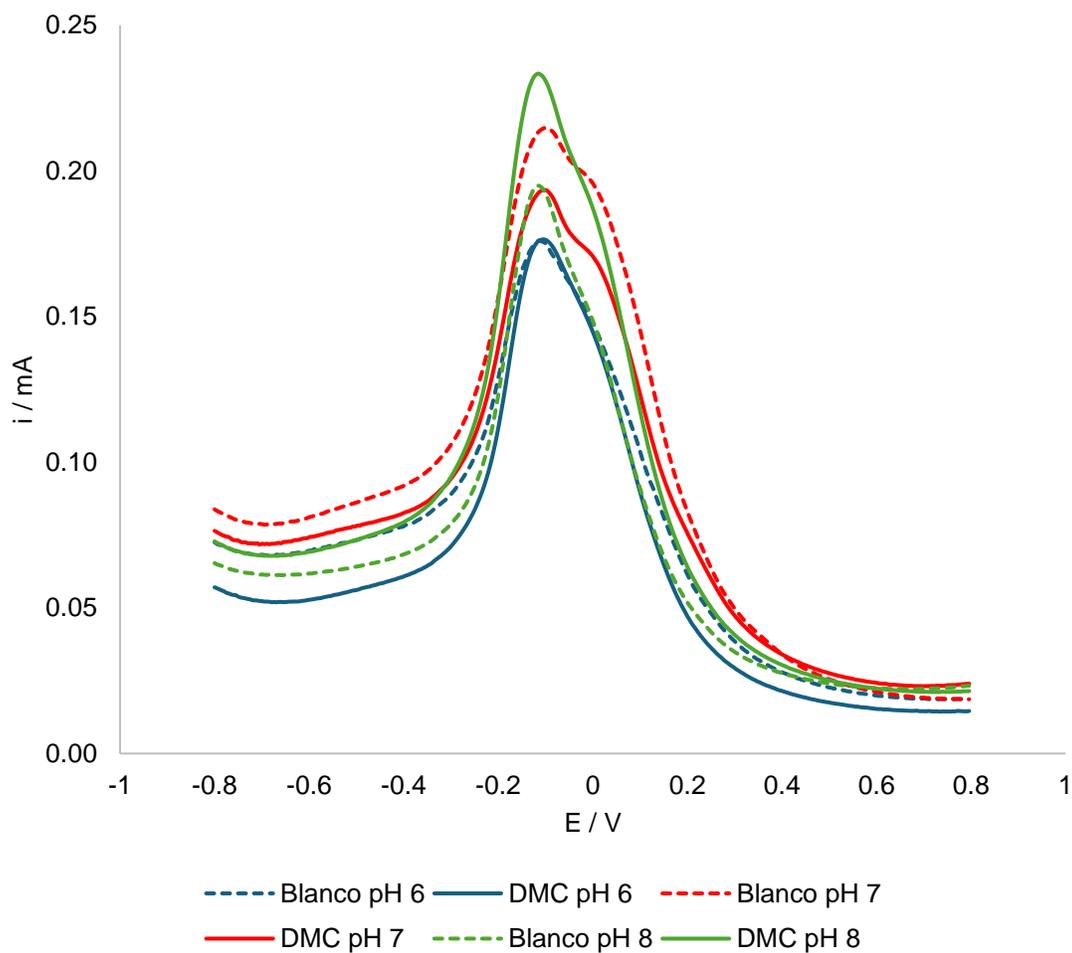


Figura 11. Voltamperogramas DPV obtenidos en soluciones $3 \mu\text{gL}^{-1}$ de DMC a pH 6, 7, 8 con sus respectivos blancos.

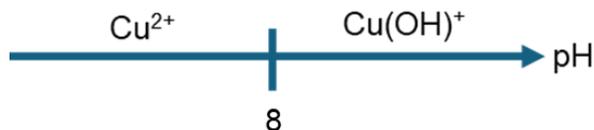


Figura 12. Diagrama Lineal de Zonas de Predominio de Cu(II) con OH^- .

3.4 Optimización del potencial de la cronoamperometría.

Se evaluó el potencial impuesto previo a la corrida voltamperométrica en el intervalo de -1.5 a -0.8 V durante 60 segundos con el objetivo de preconcentrar a la DMC en la superficie del electrodo para incrementar la sensibilidad y disminuir los límites de detección y cuantificación.

En la mayoría de los potenciales se generaban burbujas en la superficie del contraelectrodo y del electrodo del trabajo debido a la reducción del hidrógeno del agua, este fenómeno interfería en la medición de la señal electroanalítica. Se eligió entonces que el potencial de -0.8 V debido a que no se observaban burbujas durante los experimentos.

En la figura 13 se observa la diferencia de corriente habiendo optimizado la proporción de la mezcla grafito-MOF del electrodo, el pH del medio y el potencial impuesto en la cronoamperometría.

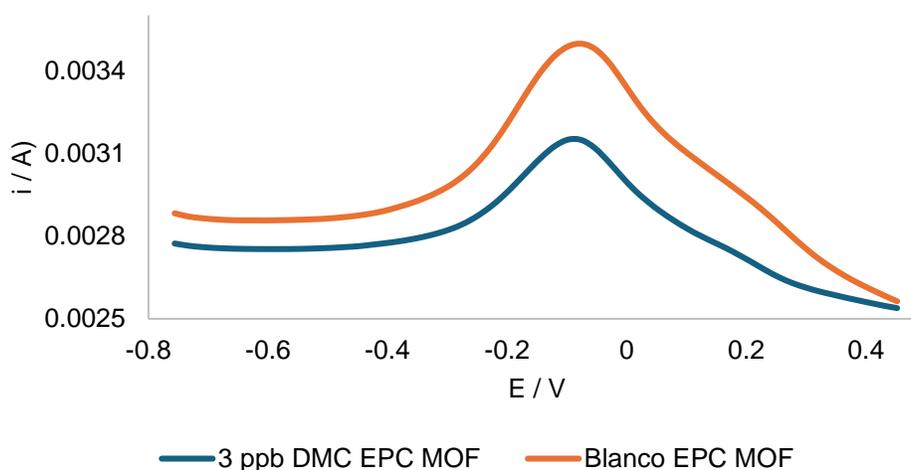


Figura 13. Diferencia de la intensidad de pico (i_p) después de la optimización en 3 ppb de DMC y blanco.

3.5 Caracterización electroquímica de la AFB1 usando el EPC modificado.

Mediante cronoamperometría y voltamperometría de pulso diferencial se evaluó el comportamiento electroquímico del electrodo de pasta de carbono modificado en presencia y ausencia de $3 \mu\text{gL}^{-1}$ de DMC a pH 7. Se muestran los voltamperogramas correspondientes al sensor modificado con el MOF (figura 13), en donde se visualiza una disminución de la intensidad de corriente en presencia de DMC respecto al blanco.

3.5.1 Área electroactiva del electrodo blanco y modificado.

Mediante VC se compara el área electroactiva un electrodo de pasta de carbono blanco (sin modificar) y el modificado con MOF en una solución de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 0.1 M en KCl 1 M, a diferentes velocidades de barrido.

Considerando la ecuación de Randles-Sevcik (ecuación 1) se grafica i_p vs $v^{1/2}$ para ambos electrodos (figuras 14 y 15) y el área se calculó considerando la ecuación de la mejor recta obtenida por mínimos cuadrados y el valor de la pendiente obtenida, donde se despeja el valor del área electroactiva (ecuación 6):

$$i_p = (2.69 \times 10^5)n^{3/2}AD_0^{1/2}C_0^*v^{1/2} \quad \text{Ecuación 1}$$

$$A = \frac{m}{(2.69 \times 10^5)n^{3/2}D_0^{1/2}C_0^*} \quad \text{Ecuación 6}$$

donde n es el número de electrones que se intercambian en el proceso redox, D_0 es el coeficiente de difusión del $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ y C_0 es su concentración en solución.

Para el electrodo de pasta de carbono blanco (figura 14) el área electroactiva es:

$$A = \frac{0.0073}{(2.69 \times 10^5)(1)^{3/2}(6.5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s})^{1/2}(0.0001 \text{ mol}/\text{cm}^3)} = 0.1064 \text{ cm}^2$$

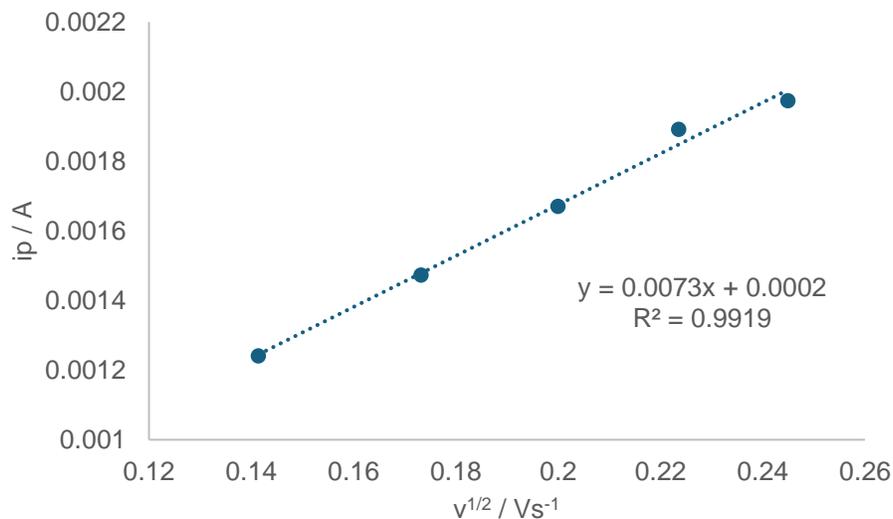


Figura 14. Relación entre la intensidad de pico (ip) vs la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($v^{1/2}$) para el EPC blanco.

Para el electrodo de trabajo modificado (figura 15) el área electroactiva es:

$$A = \frac{0.0090}{(2.69 \times 10^5)(1)^{3/2}(6.5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s})^{1/2}(0.0001 \text{ mol}/\text{cm}^3)} = 0.1312 \text{ cm}^2$$

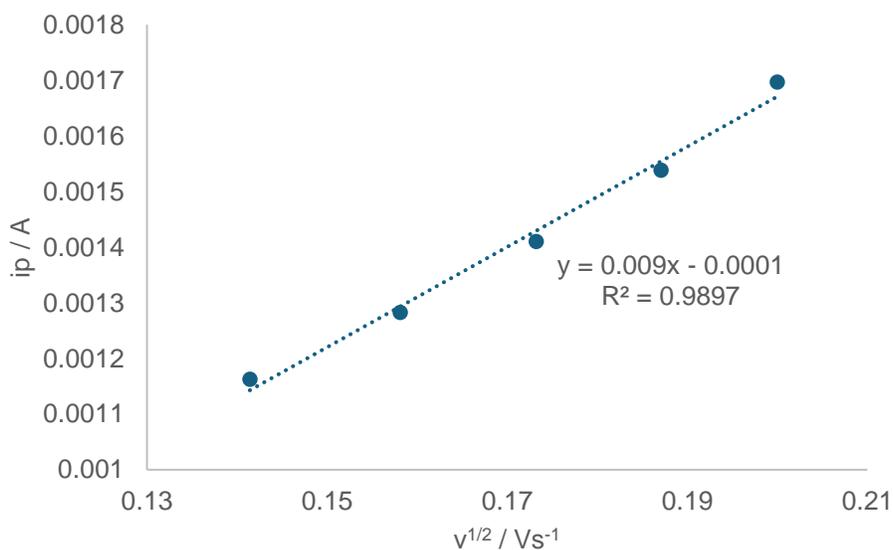


Figura 15. Relación entre la intensidad de pico (ip) vs la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($v^{1/2}$) para el EPC modificado.

Los resultados demuestran que el uso del MOF Cu-BTC como modificante incrementa el área superficial del electrodo de trabajo, favoreciendo la respuesta electroquímica.

3.5.2 Estudio de los procesos electroquímicos sobre la superficie del electrodo de trabajo.

Empleando VC se estudiaron los fenómenos de transporte de materia sobre la superficie del electrodo de trabajo modificado. Con base en la ecuación de Randles-Sevcik se construyó un gráfico de i_p vs $v^{1/2}$ (figura 16), obteniendo una tendencia lineal con una R^2 de 0.9967. Esto indica que la difusión es el mecanismo de transporte que rige el movimiento de DMC hacia la superficie del electrodo.

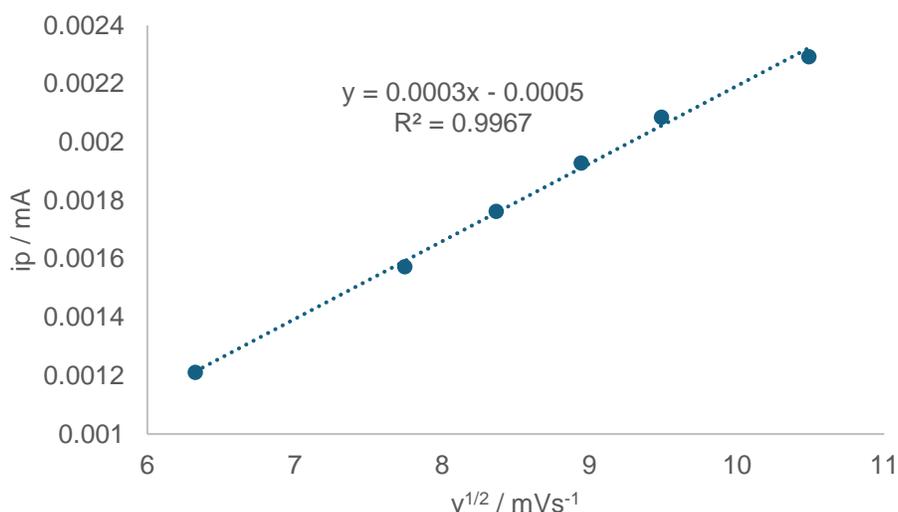


Figura 16. Relación entre la intensidad de pico (i_p) vs la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($v^{1/2}$) para el EPC modificado con $3 \mu gL^{-1}$ de DMC a pH 7.

Por otro lado, se construyó un gráfico de $\log i_p$ vs $\log v^{1/2}$ (figura 17), obteniendo una tendencia lineal con una R^2 de 0.9965 y una pendiente de 0.6458 ($b > 0.5$). Esto demuestra que el proceso de adsorción de la especie química en la superficie del electrodo es determinante en los procesos electroquímicos que se llevan a cabo en la superficie del electrodo modificado.

Lo anterior significa que la DMC se adhiere a la superficie del electrodo mejorando así la señal electroquímica, por lo que el MOF Cu-BTC no solo actúa como material conductor, sino que también como una superficie que permite la retención de la DMC.

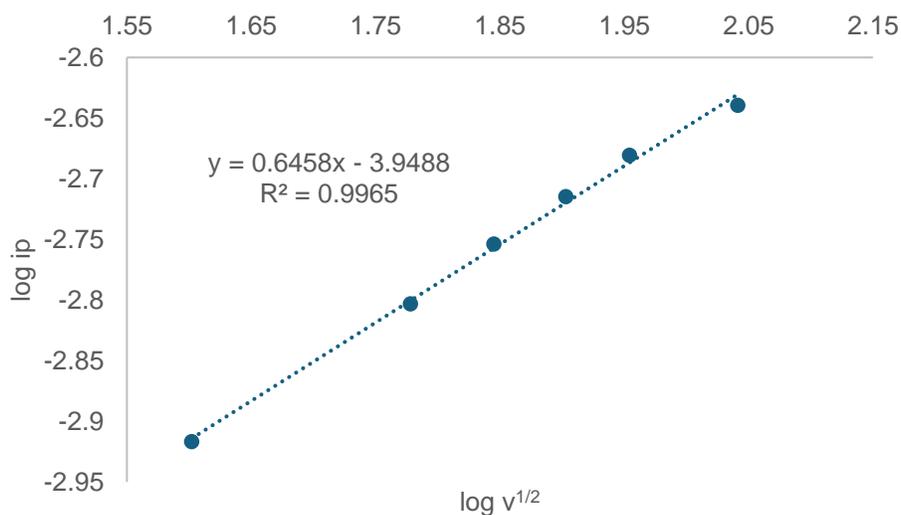


Figura 17. Relación entre log intensidad de pico (ip) vs log raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($v^{1/2}$) para el EPC modificado con $3 \mu\text{gL}^{-1}$ de DMC a pH 7.

3.6 Repetibilidad y reproducibilidad.

La repetibilidad se determinó realizando 10 mediciones sucesivas utilizando el mismo EPC modificado en una solución de DMC a $6 \mu\text{gL}^{-1}$ y en las condiciones óptimas, obteniendo una desviación estándar relativa de 3.60% (<10%DER), lo que demuestra la precisión de las medidas al renovar la superficie del electrodo modificado.

La reproducibilidad se evaluó construyendo 5 EPC modificados bajo las mismas condiciones y realizando 5 mediciones de cada electrodo en una solución de DMC a $6 \mu\text{gL}^{-1}$ en las condiciones óptimas; el valor de DER para este estudio fue de 6.98% (<10%DER), lo que demuestra la precisión en la construcción del electrodo de trabajo en el que se basa la metodología.

3.7 Optimización de la técnica de voltamperometría diferencial de pulso.

El diseño de experimentos arrojó las siguientes condiciones óptimas y la ecuación que describe la metodología en función de la sensibilidad (pendiente), para obtener la respuesta teórica. También permitió obtener las gráficas de contorno (figura 18).

- Paso de potencial (P): 0.0219 V
- Amplitud de modulación (AM): 0.280 V
- Tiempo de modulación (TM): 0.010 s
- Intervalo de tiempo (TI): 0.650 s

$$m = 0.000045 + 0.001191(P) - 0.000492(AM) - 0.001583(TM) + 0.000068(TI) - 0.02727(P^2) + 0.002415(AM^2) + 0.01372(TM^2)$$

$$m = 0.000045 + 0.001191(0.0219) - 0.000492(0.280) - 0.001583(0.010) + 0.000068(0.650) - 0.02727(0.0219^2) + 0.002415(0.280^2) + 0.01372(0.010^2)$$

$$m = 0.00013932$$

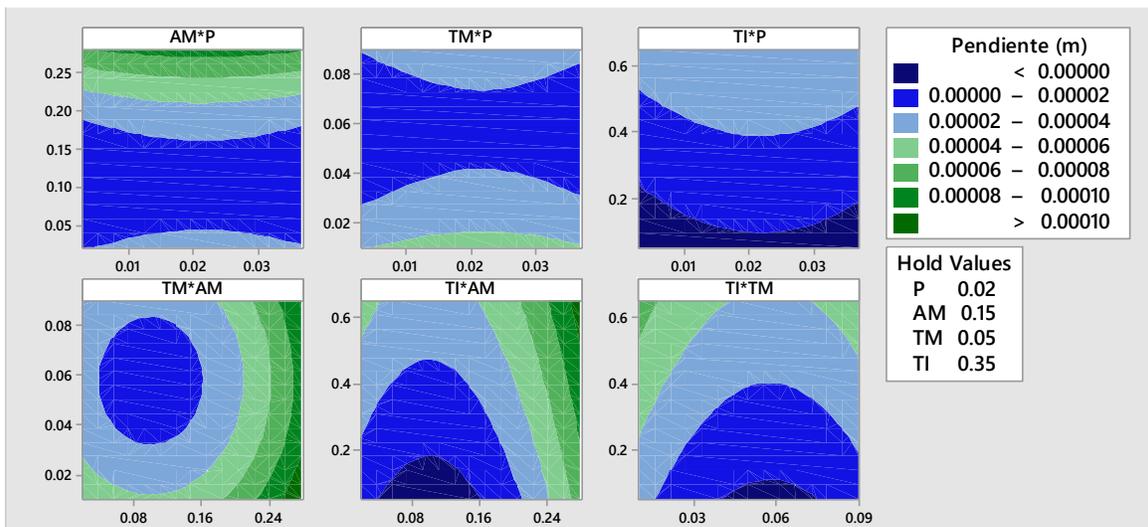


Figura 18. Gráficas de contorno.

3.8 Caracterización analítica del método propuesto.

Se construyó una curva de calibración usando estándares a concentraciones de 0.8 a 4 μgL^{-1} , considerando tres réplicas para la medición de cada estándar (figura 19). La ecuación de regresión lineal y los parámetros analíticos de la metodología propuesta se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Parámetros analíticos de la metodología propuesta.

Intervalo lineal	-0.0347 [AFB1] + 0.3982
Sensibilidad	0.0347 $\text{mA}\mu\text{g}^{-1}\text{L}$
R²	0.9987
LOD	0.0119 μgL^{-1}
LOQ	0.0398 μgL^{-1}

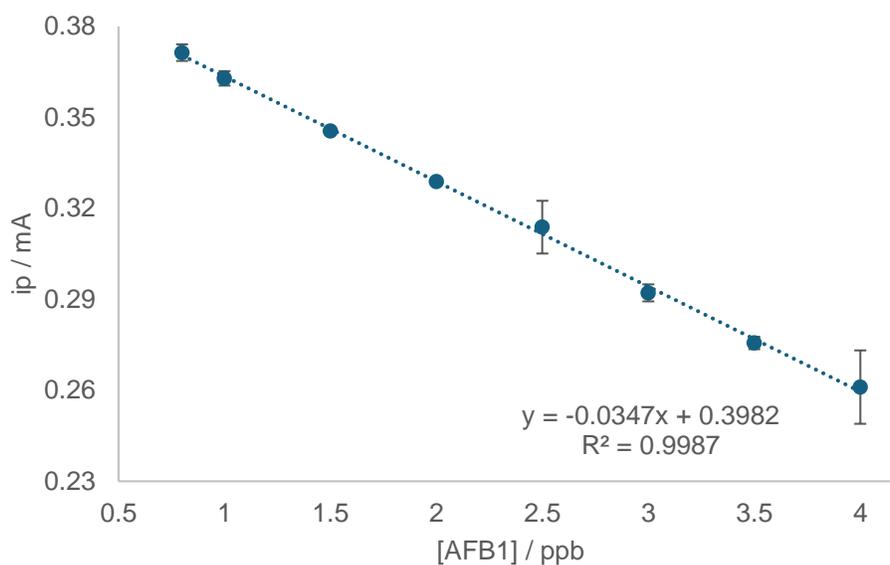


Figura 19. Curva de calibración con la metodología optimizada.

En la tabla 10 se muestran los límites de detección de otras metodologías electroquímicas empleadas en la determinación de AFB1.

Tabla 10. Metodologías electroquímicas empleadas en la determinación de AFB1.

Técnica	Electrodo de trabajo	LOD (μgL^{-1})	Referencia
EIS	Carbono serigrafiado	0.00312	(Ong et al., 2023)
DPV	Carbono vítreo	0.01120	(Hernández-Hernández et al., 2021)
SWV	Carbono vítreo	0.00571	(Franco-Guzmán et al., 2024)
CV	Pasta de carbono	0.00231	(Hernández-García et al., 2024)

El sensor desarrollado en este trabajo muestra un LOD competitivo frente a algunas técnicas que emplean otros tipos de sensores más robustos, aunado a que se apega a los límites máximos permisibles de las normativas nacionales e internacionales.

3.9 Análisis en muestras reales.

La metodología fue evaluada en el análisis de muestras de arroz y leche dopadas con DMC. La cuantificación de las muestras se realizó por triplicado mediante calibración directa, obteniendo porcentajes de recuperación desde 103 hasta 107% (tabla 11) con valores de desviación estándar entre 0.08 y 0.32, los cuales se encuentran dentro de los límites permitidos por la AOAC ($100\pm 15\%$).

Los resultados obtenidos muestran una buena precisión y se puede concluir que las muestras analizadas no se encuentran contaminadas por AFB1.

Tabla 11. Concentraciones promedio (n=3) de DMC y porcentajes de recuperación obtenidos por calibración directa.

Muestra dopada	[AFB1] (μgL^{-1})	\bar{x} [AFB1] (μgL^{-1})	$t_{\text{experimental}}$	t_{critica}	% recuperación
Arroz	1.25	1.29±0.13	0.533	4.303	103.2
	2.75	2.93±0.32	0.974		107.3
Leche	1.26	1.34±0.08	1.732		106.3
	1.76	1.86±0.10	1.732		105.7

CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

4.1 Conclusiones.

Se desarrolló y optimizó una metodología electroanalítica verde basada en un sensor que utiliza el MOF Cu-BTC para la detección y cuantificación selectiva de AFB1 empleando DMC como analito dummie, mediante cronoamperometría seguida de voltamperometría de pulso diferencial.

La caracterización de la metodología muestra límite de detección de $0.0119 \mu\text{gL}^{-1}$ y límite de cuantificación de $0.0398 \mu\text{gL}^{-1}$, que son valores menores comparados con los límites máximos permisibles de la legislación nacional e internacional. Por otro lado, se tiene sensibilidad de $0.0347 \text{ mA}\mu\text{g}^{-1}\text{L}$, repetibilidad de 3.60% y reproducibilidad de 6.98%, mostrando una respuesta electroquímica lineal en el rango de concentración de 0.8 a $4 \mu\text{gL}^{-1}$.

Este estudio ha establecido una base sólida para el uso de MOFs en la detección electroanalítica de AFB1, proporcionando una herramienta eficiente, precisa y ecológica para el análisis de contaminantes en alimentos. La combinación de alta sensibilidad, facilidad de preparación, bajo costo y menor impacto ambiental hace que esta metodología sea una opción viable y prometedora para el análisis cuantitativo de esta toxina, mejorar la seguridad alimentaria y proteger la salud pública.

4.2 Perspectivas.

- Realizar el análisis de la concentración de AFB1 en muestras de arroz y leche mediante calibración por adición patrón para concluir si existe o no efecto matriz.
- Realizar el estudio de interferentes.
- Validar la metodología realizando estudios de contraste en las muestras contra la metodología oficial de la Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002.

Referencias.

1. ATSDR. (2019). Curso de Toxicología para Comunidades. Obtenido de ATSDR: https://www.atsdr.cdc.gov/es/training/toxicology_curriculum/modules/1/es_lecturenotes_1.html
2. Abrehame, S., Manoj, V., Hailu, M., Chen, Y.-Y., Lin, Y.-C., & Chen, Y.-P. (2023). Aflatoxins: Source, Detection, Clinical Features and Prevention. *Processes*, 11(1), 204. doi:<https://doi.org/10.3390/pr11010204>
3. Baranwal, J., Barse, B., Gatto, G., Broncova, G., & Kumar, A. (2022). Electrochemical Sensors and Their Applications: A Review. *Chemosensors*, 10(9), 363. doi:<https://doi.org/10.3390/chemosensors10090363>
4. Bard, A. J., & Faulkner, L. R. (2001). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. (Segunda ed.). John Wiley & Sons, Inc.
5. Beitollahi, H., Tajik, S., Dourandish, Z., Zhang, K., Shokouhimehr, M., Kim, S. Y., Van Le, Q., & Jang, H. W. (2020). Recent Advances in the Aptamer-Based Electrochemical Biosensors for Detecting Aflatoxin B1 and Its Pertinent Metabolite Aflatoxin M1. *Sensors*, 20(11), 3256. doi:<https://doi.org/10.3390/s20113256>
6. Bogantes Ledezma, P., Bogantes Ledezma, D., & Bogantes Ledezma, S. (2004). Aflatoxinas. *Acta Médica Costarricense*, 46(4), 174-178.
7. Escarpa, A., González, M., & López, M. (2015). *Agricultural and Food Electroanalysis*. España: John Wiley & Sons, Ltd.
8. Espinosa Calderón, A., Contreras Medina, L. M., Muñoz Huerta, R. F., Millán Almaraz, J. R., Guevara González, R. G., & Torres Pacheco, I. (2011). Methods for Detection and Quantification of Aflatoxins. *Aflatoxins - Detection, Measurement and Control*, 109-128. doi:<http://dx.doi.org/10.5772/28439>
9. Farghaly, O., Abdel Hameed, R., & Abu-Nawwas, A. (2014). Analytical Application Using Modern Electrochemical Techniques. *International Journal of Electrochemical Science*, 9, 3287-3318. doi:[https://doi.org/10.1016/S1452-3981\(23\)08010-0](https://doi.org/10.1016/S1452-3981(23)08010-0)
10. Franco Guzmán, M., Castañeda Ovando, A., Mendoza Huizar, L. H., Chávez Flores, B., Hernández León, S., Rebolledo Perales, L. E., & Álvarez Romero, G.

- A. (2024). Voltammetric determination of aflatoxin B1 using a bismuth layer-gold nanoparticles modified glassy carbon electrode. *Journal of Applied Electrochemistry*. doi:<https://doi.org/10.1007/s10800-024-02182-0>
11. Fritz Scholz, A., Bond, R., Compton, D., Fiedler, G., Inzelt, H., Kahlert, Š., . . . Retter, F. (2010). *Electroanalytical Methods - Guide to Experiments and Applications* (2 ed.). Alemania: Springer Berlin, Heidelberg. doi:<https://doi.org/10.1007/978-3-642-02915-8>
12. Hernández Hernández, A. A. (2017). DESARROLLO Y OPTIMIZACIÓN DE METODOLOGÍAS PARA LA EXTRACCIÓN Y PRECONCENTRACIÓN DE AFB1 PARA SU DETECCIÓN ELECTROANALÍTICA. Mineral de la Reforma: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
13. Hernández-García, F., Cruz-Navarro, J. A., García-Serrano, J., Franco-Guzmán, M., Islas, G., & Álvarez-Romero, G. A. (2024). Development of a Voltammetric Methodology Based on a Methacrylic Molecularly Imprinted Polymer-Modified Carbon-Paste Electrode for the Determination of Aflatoxin B1. *Separations*, 11(8), 246. doi:<https://doi.org/10.3390/separations11080246>
14. Hernández-Hernández, A. A., Castañeda-Ovando, A., Mendoza-Huizar, L. H., Franco-Guzmán, M., Meneses-Pimentel, K. X., Galán-Vidal, C. A., Páez-Hernández, M. E., & Álvarez-Romero, G. A. (2021). A Novel Voltammetric Approach For The Quantification of Aflatoxin B1 Using a Bismuth-Modified Electrode. *Journal of The Electrochemical Society*, 168(2). doi:[10.1149/1945-7111/abe349](https://doi.org/10.1149/1945-7111/abe349)
15. Jahangiri-Dehaghani, F., Zare, H. R., & Shekari, Z. (2020). Measurement of aflatoxin M1 in powder and pasteurized milk samples by using a label-free electrochemical aptasensor based on platinum nanoparticles loaded on Fe-based metal-organic frameworks. *Food Chemistry*, 310, 125820. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125820>
16. Jemmeli, D., Mchiri, C., Dridi, C., Nasri, H., & Dempsey, E. (2020). Development of a new bisphenol A electrochemical sensor based on a cadmium(II) porphyrin modified carbon paste electrode. *RSC Advances*, 10, 31740-31747. doi:<https://doi.org/10.1039/D0RA04793G>

17. Kounaves, S. (1997). Voltammetric Techniques. En F. Settle, Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry (págs. 709-725). New Jersey: Prentice-Hall.
18. Madadi, M., Moghadam, M. R., Salarizadeh, P., Bazmandegan-Shamili, A., & Shahbakhsh, M. (2025). Sensitive electrochemical detection of dopamine using CuCo₂O₄/graphene quantum dots-modified carbon paste electrode. *Inorganic Chemistry Communications*, 171. doi:<https://doi.org/10.1016/j.inoche.2024.113566>
19. Martínez, J., Hernández-Rodríguez, M., Méndez-Albores, A., Téllez-Isaías, G., Mera-Jiménez, E., Nicolás-Vázquez, M. I., & Miranda-Ruvalcaba, R. (2023). Computational Studies of Aflatoxin B1 (AFB1): A Review. *Toxins*, 15(2), 135. doi:<https://www.mdpi.com/2072-6651/15/2/135>
20. Mousavi Khaneghah, A., Eş, I., Raeisi, S., & Fakhri, Y. (2018). Aflatoxins in cereals: State of the art. *Journal of Food Safety*, 7. doi:<https://doi.org/10.1111/jfs.12532>
21. Nagles, E., Cardenas-Riojas, A. A., Anaya-Roa, F., Roldán-Tello, L., & Hurtado, J. J. (2024). Amperometric Method for Detecting Paracetamol using a Carbon Paste Electrode Modified with Vanadium(V) Oxide. *ChemistrySelect*, 9(6). doi:<https://doi.org/10.1002/slct.202304770>
22. Nossol, E., & Zarbin, A. J. (2008). Carbon paste electrodes made from novel carbonaceous materials: Preparation and electrochemical characterization. *Electrochimica Acta*, 54(2), 582-589. doi:<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2008.07.035>
23. Ong, J. Y., Phang, S.-W., Goh, C. T., Pike, A., & Tan, L. L. (2023). Impedimetric Polyaniline-Based Aptasensor for Aflatoxin B1 Determination in Agricultural Products. *Foods*, 12(8). doi:<https://doi.org/10.3390/foods12081698>
24. Rajendrachari, S., Arslanoglu, H., Yaras, A., & Golabhanvi, S. M. (2023). Electrochemical Detection of Uric Acid Based on a Carbon Paste Electrode Modified with Ta₂O₅ Recovered from Ore by a Novel Method. *ACS Omega*, 8(49), 46946-46954. doi:<https://doi.org/10.1021/acsomega.3c06749>

25. Ramezani, M. A., Najafi, M., & Karimi-Harandi, M. H. (2024). Highly sensitive determination of trace arsenic(III) onto carbon paste electrode modified with graphitic carbon nitride decorated Fe-MOF. *Food Chemistry*, 458. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140296>
26. Raptopoulou, C. P. (2021). Metal-Organic Frameworks: Synthetic Methods and Potential Applications. *Materials*, 14(310), 32. doi:<https://doi.org/10.3390/ma14020310>
27. Riberi, W. I. (2019). Estudios electroquímicos de micotoxinas del género *Fusarium*. Inmovilización de biomoléculas sobre electrodos nanoestructurados y desarrollo de inmunosensores. Aplicaciones analíticas. Río Cuarto: Universidad Nacional de Río Cuarto.
28. Scholz, F. (2015). Voltammetric techniques of analysis: the essentials. *ChemTexts*, 1(17), 24. doi: 10.1007/s40828-015-0016
29. Secretaría de Gobernación. (2002). NORMA Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. Obtenido de Diario Oficial de la Federación:
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=719385&fecha=15/10/2002#sc.tab=0
30. Švancara, I., Vytrás, K., Barek, J., & Zima, J. (2001). Carbon Paste Electrodes in Modern Electroanalysis. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31(4), 311-345. doi:<https://doi.org/10.1080/20014091076785>
31. Tajik, S., Sharifi, F., Aflatoonian, B., & Di Bartolomeo, A. (2023). A New Electrochemical Sensor for the Detection of Ketoconazole Using Carbon Paste Electrode Modified with Sheaf-like Ce-BTC MOF Nanostructure and Ionic Liquid. *Nanomaterials*, 13(3), 523. doi:<https://doi.org/10.3390/nano13030523>
32. Trombete, F. M., Saldanha, T., Direito, G. M., & Fraga, M. E. (2013). Aflatoxinas y tricotecenos en trigo y derivados: incidencia de la contaminación y métodos de determinación. *Revista chilena de nutrición*, 40(2), 181-188. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182013000200014>

33. Villegas Fernández, M. H., Carpio Granillo, M., Vargas Hernández, E., Zuno Cruz, F. J., & Sánchez Cabrera, G. (2021). Una revisión general de las estructuras metal-orgánicas (MOF) dentro de la química inorgánica. *Pädi*, 8(16), 18-29. doi:<https://doi.org/10.29057/icbi.v8i16.5775>
34. Vural, K., Karakaya, S., Dilgin, D. G., Gökçel, H. İ., & Dilgin, Y. (2023). Voltammetric determination of Molnupiravir used in treatment of the COVID-19 at magnetite nanoparticle modified carbon paste electrode. *Microchemical Journal*, 184. doi:<https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.108195>
35. Wacoo, A. P., Wendi, D., Vuzi, P. C., & Hawumba, J. F. (2014). Methods for Detection of Aflatoxins in Agricultural Food Crops. *Journal of Applied Chemistry*. doi:<https://doi.org/10.1155/2014/706291>
36. Wu, L., Lu, Z.-W., Ma, Y., Zhang, J.-J., Mo, G.-Q., Du, H.-J., & Ye, J.-S. (2020). Cu(II) Metal-Organic Framework Encapsulated in Carbon Paste Electrode for High-Performance Non-Enzymatic Glucose Sensing. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 48(3), 20038-20046. doi:[https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(20\)60006-8](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(20)60006-8)
37. Wu, P., & Khlangwiset, P. (2010). Health economic impacts and cost-effectiveness of aflatoxin-reduction strategies in Africa: case studies in biocontrol and post-harvest interventions. *Food Additives and Contaminants*, 27(4), 496-509. doi: 10.1080/19440040903437865
38. Yang, Z. (2024). Voltammetry for quantitative determination of trace mercury ions in water via acetylene black modified carbon paste electrode. *Alexandria Engineering Journal*, 87, 107-113. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aej.2023.12.007>