

Desarrollo y evaluación de un sensor portátil para la detección de Hg^{2+} , a través de la síntesis verde de AuNP utilizando extracto acuoso de *Sargassum spp*[◇]

Development and evaluation of a portable sensor for Hg^{2+} detection by AuNP green synthesis using *Sargassum spp* aqueous extract

Gustavo A. Molina,^{*} José Luis López-Miranda,^{**} Marlen González-Reyna,^{**} Rodrigo Esparza^{**} y Miriam Estevez^{**},[†]

ABSTRACT: The present manuscript's objective is to develop a sensor prototype for measuring mercury (Hg^{2+}) in an aqueous solution. An electrochemical platform based on screen-printed carbon nanotube electrodes (CNT-SPE) and gold nanoparticles (NPs-Au) synthesized using a green synthesis method with an aqueous extract of *Sargassum spp*. For this, the characterization of the NPs-Au was carried out by ultraviolet-visible (UV-Vis), infrared (TF-IR), X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM) spectroscopy. The nanoparticles have sizes between 80-100 nm and an organic coating that allows them a synergy when conjugated with oxidized/activated CNT-SPE. Subsequently, the NPs-Au were used to modify the CNT-SPE through the drop-casting method and thus assemble a novel electrochemical sensor for the measurement of Hg^{2+} , whose validation and ability to measure was demonstrated using differential pulse voltammetry (DPV). Detection limits of 2.38 μM and quantification of 3 μM were obtained. The results show that the developed platform is a fast, efficient and portable alternative for the measurement of Hg^{2+} .

KEYWORDS: electrochemical sensor, gold nanoparticles, mercury, sargassum, screen-printed electrodes.

RESUMEN: El presente trabajo tiene la finalidad de dar a conocer el desarrollo de un prototipo de sensor para la medición de mercurio (Hg^{2+}) en solución acuosa sobre una plataforma electroquímica basada en electrodos serigrafiados de nanotubos de carbonos (CNT-SPE) en conjunto con nanopartículas de oro (NPs-Au) realizadas a través de síntesis verde, utilizando extracto acuoso de *Sargassum spp*. Para esto, se realizó la caracterización de las NPs-Au por espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis), infrarrojo (TF-IR), difracción de rayos X (DRX) y microscopía electrónica de barrido (SEM); obteniendo nanopartículas entre 80-100 nm las cuales poseen un recubrimiento

Recibido: 2 de noviembre, 2022. Aceptado: 17 de abril, 2023. Publicado: 14 de mayo, 2023.

[◇] Los autores agradecemos la participación de la Dra. Fanny Jacqueline González Fuentes, del M. en I. Gerardo Fonseca Hernández y el Dr. Ángel Luis Rodríguez Morales por todo su apoyo técnico en el desarrollo, mediciones y operación requeridas para la caracterización del sensor electroquímico. Además, se agradece a la Mtra. Alicia del Real por su apoyo en la obtención de las micrografías y al Laboratorio Nacional de Caracterización de Materiales (LaNCaM) por sus instalaciones para la caracterización de los materiales presentados.

^{*} Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales. Querétaro, México.

^{**} Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Querétaro, México.

[†] Autora de correspondencia: miries@fata.unam.mx



orgánico que les confiere una sinergia al momento de ser conjugadas con CNT-SPE oxidadas/activadas. Posteriormente, las NPs-Au se utilizaron para modificar el CNT-SPE a través del método *drop-casting* y así ensamblar un novedoso sensor electroquímico para la medición de Hg^{2+} , cuya validación y habilidad para medir fue demostrada utilizando voltametría diferencial de pulso (DPV). Se obtuvieron límites de detección de $2.38 \mu\text{M}$ y cuantificación de $3 \mu\text{M}$. Los resultados demuestran que la plataforma desarrollada es una alternativa, rápida, eficiente y portátil para la medición de Hg^{2+} .

PALABRAS CLAVE: sensor electroquímico, nanopartículas de oro, mercurio, sargazo, electrodos serigrafados.

Introducción

En América Latina y el Caribe, la minería aurífera artesanal y en pequeña escala representa la principal fuente de emisiones, liberaciones y consumo de mercurio. Sin embargo, otra fuente de preocupación es la producción primaria de mercurio. A nivel mundial, México es el segundo mayor productor de mercurio, después de China (U. S. Geological Survey, 2020); no obstante, el 100% de la extracción de mercurio en México se realiza con tecnologías artesanales primitivas, las cuales están impactando los ecosistemas de la zona. De acuerdo con Camacho-de la Cruz *et al.* (2021) en Pinal de de Amoles, Querétaro, México, derivado de la minería artesanal de mercurio, se encontró que el mercurio total en muestras ambientales y biológicas excedió sus respectivos valores de referencia. El mercurio se puede encontrar en diversas estructuras químicas, ya sean inorgánicas como en sales iónicas mercuriosas o mercuricas, u orgánicas como con grupo metilo, etilo, fenilo, etc. (Bernhoft, 2012). Por lo tanto, se hace necesario producir una metodología simple y económica que permita cuantificar la cantidad de mercurio en estas zonas, en comparación con las técnicas tradicionales (Guo, Yuan y Wang, 2009; Karthika *et al.*, 2019).

En la búsqueda de nuevas alternativas, las técnicas electroquímicas han despertado gran interés debido a su sencillez, fácil operación, bajos tiempos de análisis y capacidad de identificar el estado de oxidación del o de los elementos de interés de forma individual o simultánea con bajos volúmenes de muestra. Sin embargo, la composición del electrodo de trabajo resulta ser un factor crítico durante el desarrollo de una técnica electroquímica. Los electrodos convencionales son elementos metálicos como Ag, Au y Pt, así como electrodos compuestos por elementos carbonosos (carbón vítreo, grafito o polvo de grafito); asimismo, en términos generales tienen baja sensibilidad y selectividad. Esta desventaja se puede contrarrestar utilizando nanopartículas metálicas (Cho, Kim y Park, 2020). En este contexto, la química verde ofrece una nueva perspectiva para el futuro de los nanomateriales al desarrollar nanopartículas (NPs) mediante el uso de fuentes orgánicas naturales y no tóxicas, tales como plantas, frutas, hierbas y hongos; mediante un proceso simple, escalable y no tóxico (Abdoli *et al.*, 2021; Muniyappan, Pandeewaran y Amalraj, 2021). De este modo, solventes y agentes reductores permiten la obtención de nanoestructuras metálicas recubiertas con una película orgá-

nica que hereda algunas propiedades de los compuestos activos de la fuente utilizada que les otorga una funcionalidad adicional como se ha demostrado para otras nanoestructuras (Gonzalez-Reyna *et al.*, 2022). Además, tienen un gran efecto en la morfología de las partículas sintetizadas como su tamaño y propiedades fisicoquímicas permitiendo una síntesis verde.

En el presente trabajo, se hizo uso de un extracto acuoso de *Sargassum* spp. debido a la alta concentración de compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, florotaninos, flavonoides, etc.) y al contenido total de azúcares reductores que posee (Polo y Chow, 2022; Lee *et al.*, 2020; Prasedya *et al.*, 2021). Esta composición química, le otorga al sargazo altas propiedades antioxidantes útiles para producir nanopartículas de oro (NPs-Au) con un recubrimiento orgánico rico en compuestos y grupos funcionales. Se seleccionaron nanopartículas de oro (NPs-Au) pues poseen interesantes cualidades fisicoquímicas como excelente relación superficie volumen, propiedades optoelectrónicas en relación con su forma y tamaño, gran biocompatibilidad y muy baja toxicidad, lo que las hace tener un gran potencial para su uso en biomedicina, catalítica y fotónica (Al-Radadi, 2021; Asnag, Oraby y Abdelghany, 2019; Chen *et al.*, 2020; Hammami *et al.*, 2021; Yeh, Creran y Rotello, 2012). Las NPs-Au sintetizadas fueron utilizadas como elemento activo de un electrodo de trabajo con nanotubos de carbono serigrafados (CNT-SPE). Dicho electrodo permitió la detección de mercurio mediante técnicas electroquímicas.

Metodología

Materiales y reactivos

En todos los experimentos reportados se utilizó *Sargassum* spp. (sargazo) recolectado en Puerto Morelos, Quintana Roo (20° 50' 44.1" N, 18 86' 52' 35.5" O), en junio de 2020. El sargazo se lavó varias veces con agua destilada para eliminar la arena y otras impurezas; se secó en un horno de convección a 50 °C durante 6 horas y después se almacenó a 4 °C, en bolsas oscuras de plástico para protegerlo de la luz, hasta su posterior uso.

La sal precursora fue ácido cloroaurico de grado analítico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 99, 995% de base metálica) adquirida de Sigma-Aldrich. Para la preparación del *buffer* de Sorensen, se mezcló una proporción adecuada para obtener una solución de pH 7 de dihidrógeno fosfato de sodio (NaH_2PO_4 , reactivo ACS, < 99%) y fosfato de sodio (Na_2HPO_4 , reactivo ACS) 0.2 M. Los reactivos se adquirieron de Macron Fine Chemicals TM. Además, para la determinación electroquímica, se adquirió cloruro de mercurio (II) (reactivo ACS, > 99.5%) de Sigma Aldrich. Todos los extractos, soluciones y diluciones fueron preparados con agua desionizada.

Preparación del extracto de *Sargassum* spp. y síntesis verde de nanopartículas

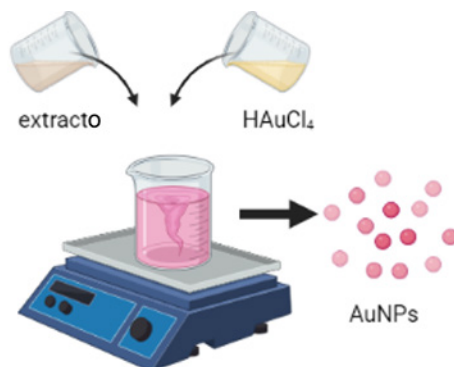
El extracto de *Sargassum* spp. se preparó mediante un método de infusión. El sargazo previamente almacenado se molió utilizando una licuadora de uso

doméstico, hasta obtener un polvo fino, el cual fue homogeneizado utilizando un tamiz de malla 40.

Para la preparación del extracto se colocaron dos gramos del polvo de sargazo en un vaso de precipitados y se agregaron 50 mL de agua destilada. La mezcla se homogeneizó mediante agitación magnética a 80 °C durante 90 minutos y, posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente. La fase líquida se separó por filtración utilizando papel filtro Whatman #41. El extracto obtenido se almacenó a 4 °C en un vial ámbar hasta su posterior uso.

La síntesis de nanopartículas de oro (NPs-Au) consistió en mezclar la solución precursora (HAuCl_4) con el extracto de sargazo (figura 1). La concentración de la solución precursora y el volumen de extracto fueron los parámetros experimentales evaluados. En primer lugar, se varió la concentración de la solución de HAuCl_4 en 3 mM, 5 mM y 7 mM; el volumen de extracto y precursor utilizado inicialmente fue de 1 mL para los tres experimentos. En el segundo parámetro evaluado, el volumen de extracto se varió en 0.25 mL, 0.5 mL y 0.75 mL contra 1 mL de solución de HAuCl_4 a 7 mM.

Figura 1. Esquema de preparación de las NPs-Au utilizando extracto de sargazo como agente reductor.



Fuente: Elaboración de los autores.

Caracterización de NPs-Au

Las NPs-Au se caracterizaron por diferentes técnicas. El análisis de espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis) se realizó utilizando un espectrofotómetro UV-6000 (METASH Instruments Co. Ltd., Shanghai, China) para determinar la presencia de nanopartículas. Los espectros se registraron desde 300 nm hasta 800 nm usando celdas de cuarzo. La naturaleza cristalina y el tamaño del cristal se evaluaron por difracción de rayos X empleando un difractor Ultima IV (Rigaku Corporation, Tokio, Japón). La radiación utilizada fue $\text{Cu K}\alpha$, y el rango de 2θ grados fue desde 20 hasta 80°. La morfología y el tamaño de partícula se analizaron en un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo frío SU8230 (Hitachi Ltd., Tokio, Japón) con un voltaje de aceleración de 1 kV. Finalmente, se sintetizaron los compuestos orgánicos invo-

lucrados en la reducción y estabilización de NPs-Au con base en los enlaces determinados por la técnica de espectroscopía FT IR utilizando un espectrómetro Spectrum Two FT-IR (Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA).

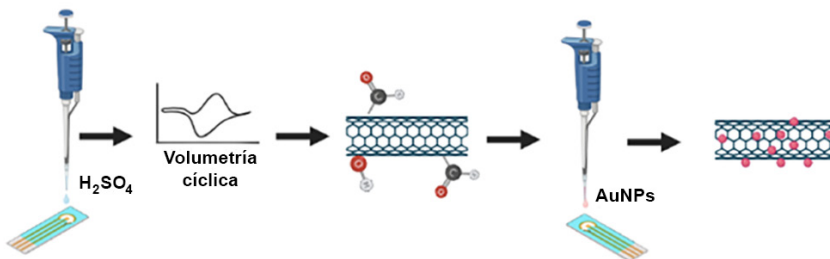
Desarrollo y caracterización del sensor de Hg²⁺ base CNT-SPE + NPs-Au

Las mediciones electroquímicas se realizaron utilizando un conector boxeer como interfaz entre los electrodos serigrafiados (SPE) y el potencióstato Bio-Logic VP-50 (Bio-Logic Science Instruments, Seyssinet-Pariset, Francia) utilizando ECLab como *software* de adquisición. Los electrodos de carbono serigrafiados (CNT-SPE, Tipo: 110-CNT), se compraron de DropSens (Oviedo, Asturias, España) y están constituidos por nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con grupos carboxilo (MWCNT-COOH). La celda electroquímica consta de MWCNT-COOH / Carbón, Carbón y Plata, como electrodo auxiliar y de referencia, respectivamente.

La superficie del electrodo de trabajo serigrafiada CNT-SPE se modificó primero mediante una activación/oxidación electroquímica (CNT-SPE/Ox) mediante voltamperometría cíclica de -1.0 V a +1.0 V a 100 mV/s durante 100 ciclos sobre una gota (50 μ M) de ácido sulfúrico (H₂SO₄, 0.5M). Para agregar las NPs-Au, se realizó una modificación adicional utilizando el método de vaciado por gota (*drop casting*). Se colocó una gota de 20 microlitros de NPs-Au, con una concentración equivalente de 15 μ g/ μ L (previamente dispersos por sonicación por 5 minutos) en el electrodo de trabajo, luego se protegió para evitar la contaminación por contacto con el aire, hasta secarse por 24 horas. El procedimiento tiene como objetivo generar en primera instancia fracciones hidroxilo, carbonilo y carboxilo los cuales se unen a los compuestos orgánicos que recubren las NPs-Au a través de enlaces de hidrógeno y/o enlaces covalentes. Un esquema del sensor descrito se muestra en la figura 2.

Para el análisis de detección de mercurio, se colocó una gota de 50 microlitros del *buffer* de Sorensen (pH = 7) en la superficie CNT-SPE con y sin NPs-Au para registrar las respuestas de voltametría de pulso diferencial (DPV) y cí-

Figura 2. Esquema de oxidación y posterior modificación de electrodos con nanotubos de carbono-electrodos serigrafiados (CNT-SPE) mediante la técnica *drop-casting* utilizando las NPs-Au obtenidas por síntesis verde usando extracto de sargazo para el montaje de un sensor para la detección y cuantificación de Hg²⁺.



Fuente: Elaboración de los autores.

clica (CV). Los experimentos de DPV se realizaron a una velocidad de exploración de 5 mV/s y una amplitud de pulso de 70 mV en el rango de -0.2 a 0.4 V, para CV se usó una ventana de potencial de -1V a +1V por dos ciclos y 50 mV/s como velocidad de barrido, luego de eso, una muestra de Hg^{2+} disuelta en el *buffer* fue analizada. Se aplicaron estas condiciones para analizar las siguientes concentraciones de mercurio: 20, 25, 30, 35 y 40 μM ; diluido en el *buffer* para crear la curva de calibración. Como muestra real, una cantidad conocida de agua destilada fue contaminada con mercurio y posteriormente diluida en el *buffer* de Sorensen para su análisis; se colocó una gota de 50 μL de esta muestra sobre el sensor electroquímico y fue examinada bajo las mismas condiciones experimentales previamente descritas.

Resultados

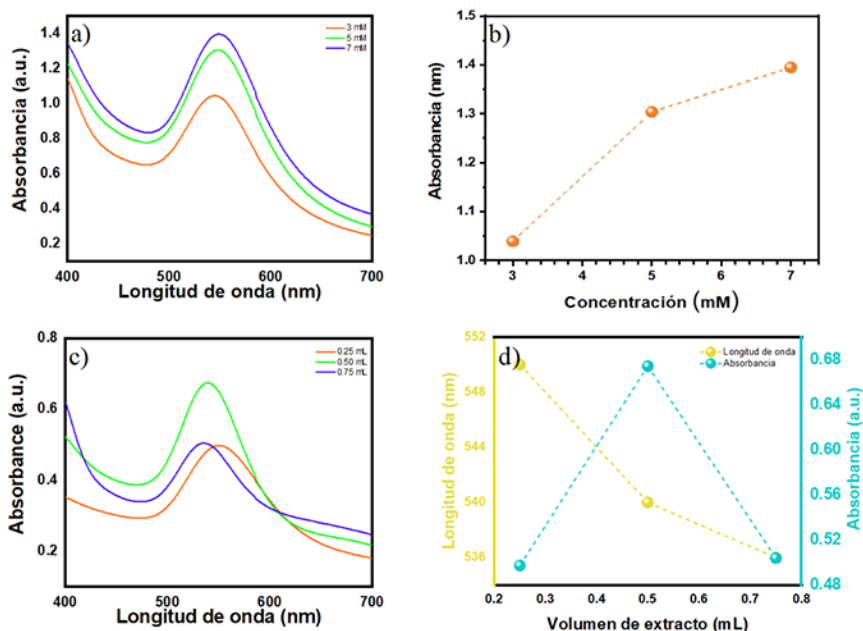
Caracterización de NPs-Au

Las nanopartículas de oro (NPs-Au) sintetizadas se caracterizaron mediante espectroscopía UV-Vis al exhibir una banda de absorción causada por el fenómeno de resonancia de plasmón superficial. Para NPs-Au, dicha banda está entre 500 y 600 nm. La posición, intensidad y forma de la banda se relacionan con el tamaño, la morfología y la concentración de las nanopartículas. La figura 3a muestra los espectros UV-Vis de las NPs-Au sintetizadas con variaciones de la sal precursora (3, 5 y 7 mM). El tamaño promedio de las nanopartículas es similar en las tres muestras debido a que no se observan cambios significativos en la posición de las bandas. La figura 3b muestra la relación existente entre el valor de absorbancia y la concentración de la sal precursora. Como se puede observar, a medida que aumenta la concentración de sal, también aumenta la intensidad de la banda de absorción, lo cual significa un aumento de la concentración de nanopartículas.

Otro parámetro experimental importante, es la cantidad o volumen de extracto de sargazo usado para la síntesis. Los resultados dependen directamente del tipo y composición del extracto. Hay algunos reportes en los que el aumento del volumen de extracto mejora las características de las nanopartículas (Singh *et al.* 2019). Sin embargo, en muchos estudios se ha reportado un comportamiento contrario (Satpathy *et al.*, 2020; Usman, Aziz y Noqta, 2019). Es decir, el aumento en el volumen del extracto conduce a la síntesis de nanopartículas con varias morfologías y tamaños debido al mal control de la reacción. La figura 3c muestra los espectros de las NPs-Au obtenidos variando el volumen de extracto de sargazo, donde se observan cambios en intensidad, pero más importante, cambios en longitud de onda. La figura 3d muestra la relación que existe entre la variación de longitud de onda, absorbancia, y volumen de sargazo. Lo primero que se observa es que conforme se aumenta el volumen se presenta un corrimiento hipsocrómico, implicando que el tamaño de las partículas disminuye. Además, cuando el extracto de volumen se aumentó a 0.5 mL, la banda de absorción muestra un incremento significativo en

la intensidad, el cual vuelve a disminuir cuando se utilizaron 0.75 mL, esto implica que 0.5 mL corresponde al volumen óptimo de síntesis; logrando así, a este volumen, la mayor eficiencia de la síntesis. Por tanto, se seleccionó la muestra correspondiente a las nanopartículas sintetizadas con 0.5 mL de extracto de sargazo para su posterior caracterización y análisis electroquímico.

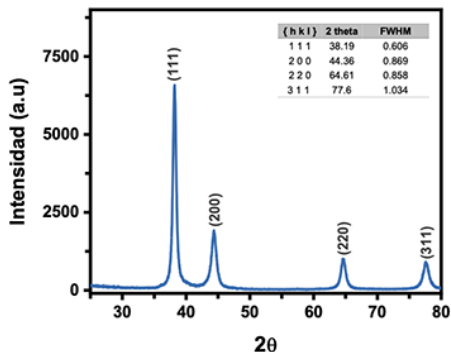
Figura 3. a) Análisis por espectroscopía UV-Vis de las variaciones de la sal precursora y b) el cambio en la absorbancia al variar la sal precursora a una longitud de onda de 554 nm. c) Análisis por espectroscopía UV-Vis de las variaciones de volumen sal : extracto a 7 mM y b) cambio en la longitud de onda y absorbancia de acuerdo con las variaciones de volumen sal : extracto.



Fuente: Elaboración de los autores.

La figura 4 muestra el patrón de difracción de rayos X de las NPs-Au sintetizadas con extracto de sargazo. El difractograma muestra cuatro reflexiones ubicadas a 38.19° , 44.36° , 64.61° y 77.60° correspondientes a los planos (111), (200), (220) y (311), respectivamente. Estos picos fueron indexados con la tarjeta JCPDF 04-0784 y pertenecen al oro con una estructura cúbica centrada y el parámetro de red estimado fue de 4.07 nm, lo cual, está de acuerdo con los datos de estructura de oro reportados en la literatura. Se usó el diagrama de Williamson-Hall para estimar el tamaño de los cristalitas usando el FWHM de todos los picos de difracción. El tamaño medio de los cristales se estimó en 13.80 ± 1.79 nm. Estos resultados confirman la presencia de oro como única fase cristalina y el papel de los compuestos orgánicos del extracto de sargazo en las nanopartículas sintetizadas.

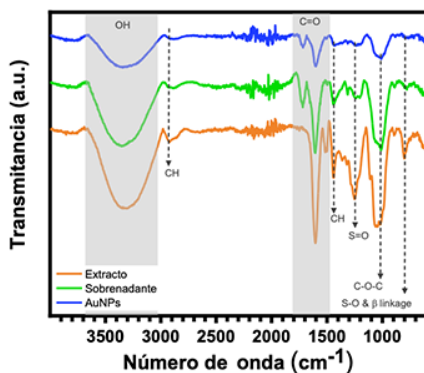
Figura 4. Análisis por difracción de rayos X de las NPs-Au sintetizadas utilizando extracto de sargazo.



Fuente: Elaboración de los autores.

El análisis FT-IR se llevó a cabo para determinar los compuestos orgánicos involucrados en la síntesis de NPs-Au. Los espectros del extracto (línea naranja), el sobrenadante obtenido después del lavado (línea verde) y de las NPs-Au sintetizadas (línea azul) se muestran en la figura 5. A pesar de que las 3 señales son muy similares, las bandas muestran un claro cambio en intensidad.

Figura 5. Análisis FT-IR de NPs-Au y extracto de sargazo antes y después de la síntesis de estas.



Fuente: Elaboración de los autores.

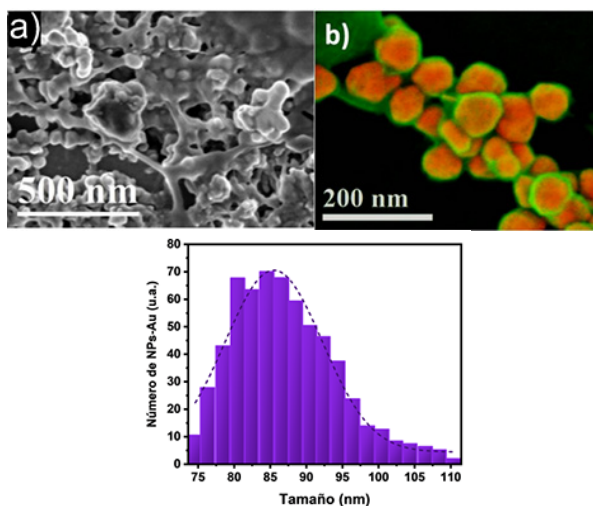
El extracto de sargazo muestra varias bandas características relacionadas con compuestos fenólicos. La señal ubicada en 3240 cm^{-1} corresponde al estiramiento O-H. Las bandas de 2920 cm^{-1} y 1440 cm^{-1} corresponden al estiramiento C-H y a la flexión C-H, respectivamente. Las bandas ubicadas en 1604 cm^{-1} y 1498 cm^{-1} corresponden a enlaces aromáticos C = O. Las bandas de 1360 cm^{-1} y 1319 cm^{-1} están relacionadas con la flexión O-H, en los grupos alcohólico y fenólico, respectivamente. La banda alrededor de 1250 cm^{-1} corres-

ponde al estiramiento C-O en anillos aromáticos. La banda alrededor de 1035 cm^{-1} está relacionada con el estiramiento CO-O-CO. Finalmente, las bandas de 894 cm^{-1} y 800 cm^{-1} se atribuyen a la flexión C = C.

El sobrenadante y las NPs-Au mostraron espectros relativamente similares, aunque presentan menos bandas y también diferentes intensidades entre ellos. Por ejemplo, la banda de 1182 cm^{-1} es más clara en este espectro y corresponde a un estiramiento C-O. Asimismo, la intensidad de la banda presentada en 1706 cm^{-1} aparece mientras la banda en 1604 cm^{-1} tiene menor intensidad, ambas correspondientes al estiramiento C = O, debido a la interacción de un grupo aceptor de electrones como el oro o mediante enlaces intramoleculares de hidrógeno entre moléculas del extracto después de la reacción con la sal de oro, lo cual explica el porqué esta frecuencia es de mayor intensidad en el sobrenadante que en las NPs-Au. Por otro lado, la banda en 1498 cm^{-1} correspondiente al enlace aromático C = O desapareció. Estos cambios confirman que los compuestos fenólicos del sargazo están involucrados en la reducción del oro y su estabilización, resultando en la formación de nanopartículas con un recubrimiento orgánico.

La figura 6a muestra las micrografías SE-SEM del electrodo serigrafado comercial de nanotubos de carbono (CNT-SPE) después de ser modificado y funcionalizado con las NPs-Au. La imagen muestra CNT entrelazados, cubiertos por una clase de película y en zonas específicas algunos aglomerados. Dichos aglomerados corresponden a cúmulos de NPs-Au. La figura 6b muestra una imagen de colores formada por la mezcla de micrografías de electrones secundarios (SE-SEM) y electrones retrodispersados (BSE-SEM) realizadas sobre

Figura 6. Micrografías de: a) electrones secundarios (SE); b) electrones retro dispersados más secundarios (BSE+SE) que muestran el tamaño y la morfología de las NPs-Au sintetizadas con extracto de sargazo, y, c) distribución del tamaño de las NPs-Au.



Fuente: Elaboración de los autores.

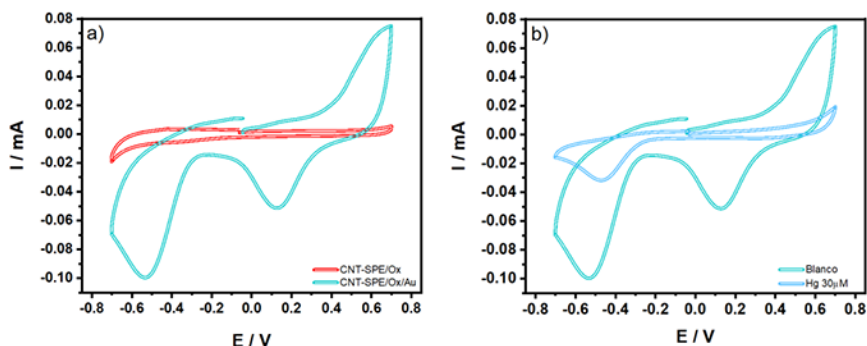
una muestra de NPs-Au. Es claro dentro de la micrografía que todas las nanopartículas están recubiertas por un compuesto orgánico (color verde) del extracto de sargazo, y las formas poliédricas de las nanopartículas (color rojo) se exhiben con mayor detalle, así como sus rangos de tamaño (entre 80 y 100 nm), como se muestra en el histograma de la figura 6c.

Análisis para la detección de mercurio utilizando CNT-SPE/Ox+NPs-Au

En primera instancia se realizó una comparación entre el electrodo previamente oxidado/activado (CNT-SPE/Ox) y su modificación utilizando las NPs-Au (CNT-SPE/Ox/Au). En la figura 7a se puede observar la comparación de una solución de 30 μM de mercurio en ambos electrodos, CNT-SPE/Ox y CNT-SPE/Ox/Au, donde se muestra una diferencia notoria entre ambos análisis, al no existir ningún tipo de señal de oxidación o reducción cuando se utiliza el electrodo CNT-SPE/Ox; mientras que cuando se utiliza la modificación con NPs-Au (CNT-SPE/Ox/Au) se puede observar en el análisis claramente una señal de reducción, que corresponde a la presencia del oro.

En la figura 7b se muestra el análisis voltamperométrico por medio de voltametría cíclica (CV) de una solución de mercurio 30 μM y el blanco correspondiente a una solución del *buffer* de Sorensen. Se puede observar que en la solución de mercurio existe la ausencia de algunas señales de oxidación y reducción que se encontraban en el blanco, esto permite corroborar que las señales de reducción que se tienen en el análisis de mercurio corresponden a la reducción de la superficie de las NPs-Au que se encuentran en la modificación del electrodo CNT-SPE/Ox/Au.

Figura 7. a) Voltamograma cíclico superpuesto a 30 μM de Hg^{2+} en CNT-SPE/Ox y CNT-SPE/Ox/Au; b) voltamograma cíclico superpuesto de 30 μM de Hg^{2+} y de electrolito (*buffer* de Sorensen) en CNT-SPE/Ox/Au.



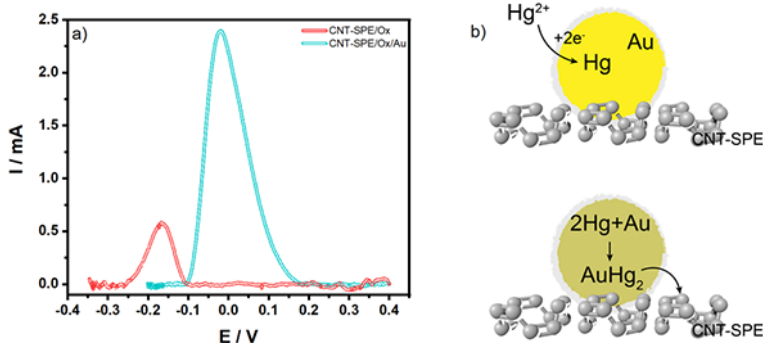
Fuente: Elaboración de los autores.

Para corroborar las últimas observaciones, se realizó un análisis adicional por medio de la técnica de voltametría de pulso diferencial (DPV) a los elec-

trodos CNT-SPE/Ox y CNT-SPE/Ox/Au utilizando la solución de 30 μM de mercurio como se puede observar en la figura 8a.

De la misma manera en que se podía observar en la gráfica de CV, existe una diferencia en el análisis de la solución de mercurio 30 μM debido a que, cuando el electrodo de nanotubos de carbono es únicamente oxidado (CNT-SPE/Ox), tiene una señal ubicada en -167 mV y en el momento en que es modificado con las NPs-Au (CNT-SPE/Ox/Au), la señal descrita desaparece y se puede observar una nueva, en potenciales más positivos, con una mayor corriente, en -36 mV; esta señal, como se podrá observar más adelante, es proporcional a la concentración de la solución de mercurio; esto refuerza la idea de que la detección del mercurio se da, principalmente, a través de su interacción con la superficie de las NPs-Au reducidas, ya que el Hg^{2+} se transfiere desde la solución en bulto hacia el electrodo modificado (CNT-SPE/Ox/Au) difundiéndose en él y formando una amalgama como se puede ver en la figura 8b.

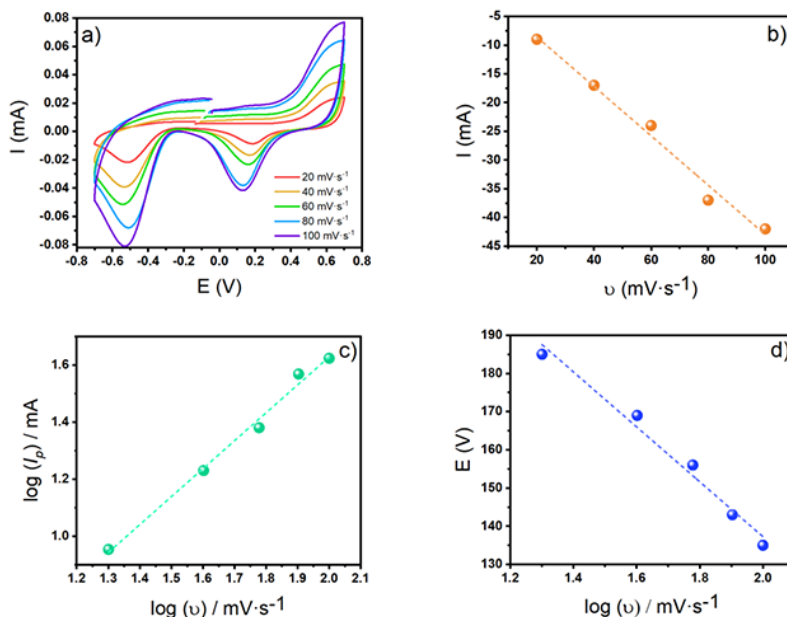
Figura 8. a) Voltamograma de pulso diferencial (DPV) superpuesto a 30 μM de Hg^{2+} en CNTSPE/Ox y CNT-SPE/Ox/Au, y, b) mecanismo propuesto para la formación de la amalgama.



Fuente: Elaboración de los autores.

Además, se realizó un análisis adicional de los procesos de superficie que ocurren en el electrodo mediante el estudio de exploración del efecto de la velocidad potencial. La figura 9a muestra el voltamograma cíclico superpuesto a diferentes velocidades de barrido, en presencia de mercurio 30 μM ; la figura 9b presenta la dependencia de la corriente de pico catódico, a diferentes velocidades de barrido (hasta 100 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$), donde se observa un comportamiento linealmente proporcional, característico de un sistema para sustancias adsorbidas superficialmente en el electrodo. Como se mencionó anteriormente, el mercurio se adsorbe en la superficie de CNTSPE/Ox/Au, esto se refuerza al observar la relación lineal entre $\log(I_p)$ y $\log(v)$ en la figura 9c, dado un valor de pendiente de 0.9785 y un coeficiente de correlación de $r^2 = 0.992$, el valor de la pendiente confirma que el proceso de adsorción del electrodo se controla ya que se acerca al valor teórico de 1 (Karthika *et al.*, 2019).

Figura 9. a) Voltamogramas cíclicos de una solución de Hg^{2+} a $30 \mu\text{M}$ a diferentes velocidades de barrido; b) gráfica de la corriente máxima de reducción frente a la velocidad de barrido potencial; c) gráfica del logaritmo de la señal potencial de reducción contra el logaritmo de la velocidad de barrido, y, d) potencial del pico anódico frente a logaritmo de la velocidad de barrido.



Nota: Todas las gráficas se realizaron en CNT-SPE/Ox/Au utilizando el buffer de Sorensen.
 Fuente: Elaboración de los autores.

Además, es posible determinar la irreversibilidad del sistema observando la respuesta voltamperométrica del mercurio con solo presentar la regresión lineal entre E_p y $\log(v)$ la cual muestra una buena linealidad dada una pendiente de 80 y un coeficiente de correlación de $r^2 = 0.90$ y concuerda con lo expresado en la ecuación de la teoría de Laviron:

$$E_p = E^0 + \left(\frac{2.303RT}{\alpha nF} \right) \log \left(\frac{RTk^0}{\alpha nF} \right) + \left(\frac{2.303RT}{\alpha nF} \right) \log(v) \dots (1)$$

donde α es el coeficiente de transferencia, k^0 es la constante de velocidad heterogénea estándar para la reacción, n el número de electrones, v la velocidad de barrido y E^0 el potencial redox estándar y el resto de los símbolos tienen su significado habitual.

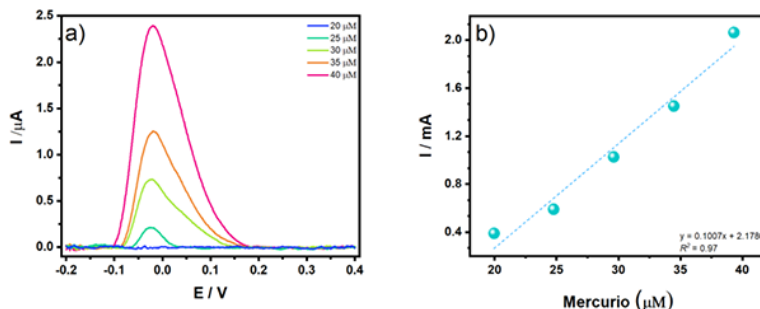
Por la expresión de Bard-Faulkner (ecuación 2), donde E_p es el pico de potencial y $E_p/2$ es el pico de ancho en el medio de la corriente; y el hecho de que la reducción de mercurio implica la transferencia de un electrón ($n = 1$), el coeficiente de transferencia se puede calcular como $\alpha = 0,4$, que es cercano

a 0.5, lo cual significa que el porcentaje de energía empleada en la reacción electroquímica de reducción y oxidación es equitativa.

$$\Delta E_p = E_p - E_{p/2} = \frac{47.7}{\alpha n} \dots (2)$$

Finalmente, se realizaron las mediciones analíticas para la detección de mercurio en el CNT-SPE/Ox/Au y la figura 10a muestra la respuesta de voltametría de pulso diferencial superpuesta de Hg^{2+} en diferentes concentraciones, donde se puede observar la señal anteriormente descrita de oxidación alrededor de -36 mV que aumenta su corriente con respecto a la concentración, este pico se utilizó para la detección y cuantificación de Hg^{2+} en muestras reales. Además, se puede notar que, en la concentración más baja, aparece otro pico de oxidación alrededor de -110 mV, que va desapareciendo a medida que aumenta la concentración, esta señal pertenece al *buffer* utilizado para el experimento. El límite de detección (LOD) para Hg^{2+} se estimó en 2.38 μM (0.477 ppm), aunque no se ha alcanzado el LOD para un ensayo de Hg^{2+} de la regulación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en agua potable (30 nM) (Poulin, Gibb y Prüss-Üstüm, 2013), esta técnica permite detectar mercurio en solución acuosa con una técnica portátil y de bajo costo sin utilizar materiales costosos o procesos de preparación complicados; por ejemplo, el máximo permitido de Hg^{2+} para el consumo humano dictado por la Comunidad Europea 93/351/EEC, establece un límite promedio de 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso húmedo de Hg^{2+} en pescado (Ebdon *et al.*, 2002), en cambio, el LOQ fue de 3 μM . La importancia de detectar las concentraciones de mercurio a las que están expuestos los seres vivos radica en que plantas y animales absorben con gran facilidad compuestos orgánicos/inorgánicos de mercurio, ocasionando bioacumulación en la cadena alimenticia, esto se puede ver reflejado en que los seres humanos pueden absorber y acumular mercurio en sus tejidos debido a la dieta y ocasionar problemas como sordera, dolor de cabeza, hipertensión, desórdenes neurológicos, daños irreversibles en el cerebro e incluso la muerte (Lim, Kim y Woo, 2021). Cuando se analizó la muestra real de agua corriente contaminada con una cantidad conocida de mercurio (5 μM), se obtuvo una corriente de 2.7 mA, que se detectó por DPV, y remplazando en la ecuación de la curva de calibración, resultó en una concentración de 5.26 μM ; por lo que estuvo bien correlacionada con la contaminación realizada. Se han propuesto otros sensores electroquímicos con valores de LOD y LOQ bajos, pero con algunas desventajas. Por ejemplo, los electrodos modificados con nanopartículas de bismuto mejoran la sensibilidad para la detección de metales pesados, sin embargo, son fácilmente hidrolizados tanto en medio alcalino como neutro, requiriendo previamente una optimización en el parámetro experimental especificado en el pH, potencial de deposición y tiempo (Frena *et al.*, 2011).

Figura 10. a) Voltamograma de pulso diferencial (DPV) a la respuesta electroquímica de Hg^{2+} en diferentes concentraciones, y, b) su curva de calibración.

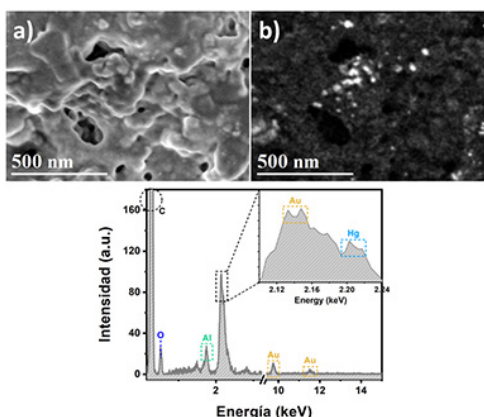


Nota: Para las mediciones se utilizó el buffer de Sorensen y una velocidad de barrido de 5 mV/s; con una amplitud de pulso de 70 mV.

Fuente: Elaboración de los autores.

La figura 11a muestra la micrografía SE-SEM de CNT-SPE/Ox/Au utilizada para la detección de Hg^{2+} . Como se puede observar en la imagen, la superficie está completamente cubierta por la solución y no se aprecian CNT, lo cual indica la saturación del electrodo. La micrografía BSE-SEM de la figura 11b muestra la presencia de puntos brillantes que están asociados con los metales Au^0 y Hg^{2+} . En la muestra, el Hg^{2+} se ubica uniformemente en el sitio de las NPs-Au, corroborando la alta interacción metalófila entre el Hg y el Au. La figura 11c muestra el espectro de rayos X de dispersión de energía (EDS) del CNTSPE/Ox/Au con Hg^{2+} , confirmando la presencia de Au^0 y Hg^{2+} . Como se informó anteriormente y como se observó en CV y DVP, el Au^0 presente en la superficie de las NPs-Au interactúa selectivamente con el Hg^{2+} y confirma la formación de una amalgama Au-Hg (Thakur, Mandal y Banerjee, 2018).

Figura 11. a) y b) micrografías del electrodo CNT-SPE/Ox/Au utilizado para la detección de mercurio, y, c) espectro EDS de las muestras.



Fuente: Elaboración de los autores.

Conclusiones

El sensor electroquímico desarrollado CNT-SPE/Ox/Au es un dispositivo eficiente capaz de detectar niveles bajos de mercurio en solución acuosa (0.477 ppm) que se pueden encontrar en muestras de alimentos, suelos, sangre; con previa preparación de las muestras, de manera sensible, confiable y de bajo costo, al emplear pequeños volúmenes de muestra. Se determinaron bajos límites de detección y de cuantificación y además la miniaturización inherente del sistema electroquímico se ve beneficiada por el método de síntesis de las NPs-Au empleadas (síntesis verde a partir de extracto acuoso de sargazo) creando un efecto sinérgico que deriva en un método analítico para la detección de mercurio de forma ecológica y al mismo tiempo aumentando su sensibilidad y especificidad debido a la reducción del Hg^{2+} sobre el Au^0 . Es importante mencionar, que la inclusión de las NPs-Au se realizó de una manera fácil con solo colocar una pequeña gota de 20 μL en la superficie del electrodo de trabajo en SPE-CNT, debido a la interacción de grupos funcionales presentes en las NPs-Au debido a la síntesis verde y a la oxidación de los nanotubos de carbono del SPE.

Referencias

- Abdoli, Mohadese, Elham Arkan, Zahra Shekarbeygi y Salar Khaledian. (2021). Green synthesis of gold nanoparticles using *Centaurea behen* leaf aqueous extract and investigating their antioxidant and cytotoxic effects on acute leukemia cancer cell line (THP-1). *Inorganic Chemistry Communications*, 129: 108649. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1387700321002082>.
- Al-Radadi, Najlaa S. (2021). Facile one-step green synthesis of gold nanoparticles (AuNp) using licorice root extract: Antimicrobial and anticancer study against HepG2 cell line. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(2): 102956. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535220305177>.
- Asnag, G. M., A. H. Oraby y A. M. Abdelghany. (2019). Green synthesis of gold nanoparticles and its effect on the optical, thermal and electrical properties of carboxymethyl cellulose. *Composites Part B: Engineering*, 172: 436-446. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359836819306894>.
- Bernhoft, Robin A. (2012). Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012: 460508. <https://doi.org/10.1155/2012/460508>.
- Camacho-de la Cruz, Arlette A., Guillermo Espinosa-Reyes, Carlos A. Reboloso-Hernández, Leticia Carrizales-Yáñez, César A. Ilizaliturri-Hernández, Luis E. Reyes-Arreguín y Fernando Díaz-Barriga. (2021). Holistic health risk assessment in an artisanal mercury mining region in Mexico. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193(8): 541. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09312-7>.
- Chen, Xin-yue, Zhiyuan Xue, Jiahui Ji, Donghan Wang, Gengen Shi, Liang-gong Zhao y Shilan Feng. (2020). Hedysarum polysaccharides mediated green synthesis of

- gold nanoparticles and study of its characteristic, analytical merit, catalytic activity. *Materials Research Bulletin*, 133: 111070. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2020.111070>.
- Cho, Il-Hoon, Dong Hyung Kim y Sangsoo Park. (2020). Electrochemical biosensors: perspective on functional nanomaterials for on-site analysis. *Biomaterials Research*, 24(1): 6. <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0181-y>.
- Ebdon, Les, Mike E. Foulkes, Sophie Le Roux y Riansares Muñoz-Olivas. (2002). Cold vapour atomic fluorescence spectrometry and gas chromatography-pyrolysis-atomic fluorescence spectrometry for routine determination of total and organometallic mercury in food samples. *Analyst*, 127 (8): 1108-1114. <https://doi.org/10.1039/B202927H>. <http://dx.doi.org/10.1039/B202927H>.
- Frena, Morgana, Iolana Campestrini, Otoniel C. de Braga y Almir Spinelli. (2011). *In situ* bismuth-film electrode for square-wave anodic stripping voltammetric determination of tin in biodiesel. *Electrochimica Acta*, 56(12): 4678-4684. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468611003501>.
- González-Reyna, Marlen Alexis, Beatriz Liliana España-Sánchez, Gustavo Andrés Molina, José Luis López-Miranda, Rubén Mendoza-Cruz, Rodrigo Esparza y Miriam Estevez. (2022). Carbon dots synthesized from *Cinchona pubescens* Vahl. An efficient antibacterial nanomaterial and bacterial detector. *ChemistrySelect*, 7(17): e202104530. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/slct.202104530>.
- Guo, Weiwei, Jipei Yuan y Erkang Wang. (2009). Oligonucleotide-stabilized Ag nanoclusters as novel fluorescence probes for the highly selective and sensitive detection of the Hg²⁺ ion. *Chemical Communications*, (23): 3395-3397. <https://doi.org/10.1039/B821518A>. <http://dx.doi.org/10.1039/B821518A>.
- Hammami, Inès, Nadiyah M. Alabdallah, Amjad Al jomaa y Madiha kamoun. (2021). Gold nanoparticles: synthesis properties and applications. *Journal of King Saud University – Science*, 33(7): 101560. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364721002214>.
- Karthika, A., V. Ramasamy Raja, P. Karuppasamy, A. Suganthi y M. Rajarajan. (2019). Electrochemical behaviour and voltammetric determination of mercury (II) ion in cupric oxide/poly vinyl alcohol nanocomposite modified glassy carbon electrode. *Microchemical Journal*, 145: 737-744. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X18309743>.
- Lee, Ju Hee, Hyo Jin Kim, Youngheun Jee, You-Jin Jeon y Hyun Jung Kim. (2020). Antioxidant potential of *Sargassum horneri* extract against urban particulate matter-induced oxidation. *Food Science and Biotechnology*, 29(6): 855-865. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00729-y>.
- Lim, Ji Won, Tai-Yong Kim y Min-Ah Woo. (2021). Trends in sensor development toward next-generation point-of-care testing for mercury. *Biosensors and Bioelectronics*, 183: 113228. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113228>. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566321002657>.
- Muniyappan, N., M. Pandeeswaran y Augustine Amalraj. (2021). Green synthesis of gold nanoparticles using *Curcuma pseudomontana* isolated curcumin: its characterization, antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activities. *Envi-*

- ronmental Chemistry and Ecotoxicology*, 3: 117-124. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590182621000035>.
- Polo, Luz K. y Fungyi Chow. (2022). Variation of antioxidant capacity and antiviral activity of the brown seaweed *Sargassum filipendula* (Fucales, Ochrophyta) under UV radiation treatments. *Applied Phycology*, 3(1): 260-273. <https://doi.org/10.1080/26388081.2022.2030653>.
- Poulin, Jessie, Herman Gibb y Annette Prüss-Üstüm; Organización Mundial de la Salud (2013). *Mercurio: Evaluación de la carga de morbilidad ambiental a nivel nacional y local*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/78130>.
- Prasedya, E. S., N. W. R. Martyasari, A. S. Abidin, B. T. K. Ilhami, H. Padmi, S. Widyastuti, A. L. Sunarwidhi y H. Sunarpi. (2021). Antioxidant activity of brown macroalgae *Sargassum* ethanol extract from Lombok coast, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 712(1): 012038. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/712/1/012038>.
- Satpathy, Swaha, Arjun Patra, Bharti Ahirwar y Muhammad Delwar Hussain. (2020). Process optimization for green synthesis of gold nanoparticles mediated by extract of *Hygrophila spinosa* T. Anders and their biological applications. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 121: 113830. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.physe.2019.113830>. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386947719304564>.
- Singh, Ankit Kumar, Ratnakar Tiwari, Vikas Kumar Singh, Prabhakar Singh, Sk Riyazat Khadim, Urmilesh Singh, Laxmi, Vikas Srivastava, S. H. Hasan y R. K. Asthana. (2019). Green synthesis of gold nanoparticles from *Dunaliella salina*, its characterization and *in vitro* anticancer activity on breast cancer cell line. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51: 164-176. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224718315648>.
- Thakur, Neeraj S., Narattam Mandal y Uttam C. Banerjee. (2018). Esterase-mediated highly fluorescent gold nanoclusters and their use in ultrasensitive detection of mercury: synthetic and mechanistic aspects. *ACS Omega*, 3(12): 18553-18562. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b02505>.
- U. S. Geological Survey. (2020). *Mineral commodity summaries 2020*. Reston, VA: U. S. Geological Survey. <http://pubs.er.usgs.gov/publication/mcs2020>. <https://doi.org/10.3133/mcs2020>.
- Usman, Adamu Ibrahim, Azlan Abdul Aziz y Osama Abu Noqta. (2019). Green sonochemical synthesis of gold nanoparticles using palm oil leaves extracts. *Materials Today: Proceedings*, 7: 803-807. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214785318330062>.
- Yeh, Yi-Cheun, Brian Creran y Vincent M. Rotello. (2012). Gold nanoparticles: preparation, properties, and applications in bionanotechnology. *Nanoscale*, 4(6): 1871-1880. <https://doi.org/10.1039/C1NR11188D>.