



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA
SIMULTÁNEA DE PARACETAMOL Y LEVOFLOXACINA MEDIANTE
ELECTRODO DE PLATINO

BENALCAZAR REYES DAYANA DEL BELEN
INGENIERA QUÍMICA

MACHALA
2020



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA
SIMULTÁNEA DE PARACETAMOL Y LEVOFLOXACINA
MEDIANTE ELECTRODO DE PLATINO

BENALCAZAR REYES DAYANA DEL BELEN
INGENIERA QUÍMICA

MACHALA
2020



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA SIMULTÁNEA DE
PARACETAMOL Y LEVOFLOXACINA MEDIANTE ELECTRODO DE PLATINO

BENALCAZAR REYES DAYANA DEL BELEN
INGENIERA QUÍMICA

ROMERO BONILLA HUGO ITALO

MACHALA, 08 DE MAYO DE 2020

MACHALA
2020

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA SIMULTÁNEA DE PARACETAMOL Y LEVOFLOXACINA MEDIANTE ELECTRODO DE PLATINO

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%

INDICE DE SIMILITUD

2%

FUENTES DE
INTERNET

2%

PUBLICACIONES

7%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Escuela Politecnica Nacional

Trabajo del estudiante

1%

2

teses.usp.br

Fuente de Internet

1%

3

Submitted to Universidad Autónoma de Nuevo
León

Trabajo del estudiante

1%

4

Submitted to University of Liverpool

Trabajo del estudiante

1%

5

Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD
AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA

Trabajo del estudiante

1%

6

Submitted to Universidad de Salamanca

Trabajo del estudiante

1%

7

Submitted to West Career and Technical
Academy

Trabajo del estudiante

<1%

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, BENALCAZAR REYES DAYANA DEL BELEN, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA SIMULTÁNEA DE PARACETAMOL Y LEVOFLOXACINA MEDIANTE ELECTRODO DE PLATINO, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 08 de mayo de 2020



BENALCAZAR REYES DAYANA DEL BELEN
0704701697

UNIVERSITAS
MAGISTRORUM
ET SCHOLARIUM

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a; mi madre, Nelly Reyes, por ser el pilar fundamental de mi vida, mi guerrera y mi ejemplo a seguir.

A mi padre, Fernando Benalcázar por haberme alentado a conseguir mis metas.

A mis abuelos, Ramón Benalcázar y Aidé Valarezo, por haberme cuidado, protegido y apoyado en todas las etapas de mi vida.

A mi tía, Chanena Benalcázar, por haberme apoyado incondicionalmente a lo largo de mi camino, por ser mi segunda madre y confidente.

A mis hermanos, Dhallam y Heidy Benalcázar, por ser mis compañeros y aliados de infinitas aventuras.

Los amo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco profundamente a Dios, por ser la luz que guía mis pasos y el que me da las fuerzas que necesito para continuar con mi camino.

A mi madre; por confiar en mí, motivarme y luchar constantemente para poder superarme en todos los aspectos, por ser mi refugio y mi protectora.

A mi familia; abuelos, hermanos y tíos/as, quienes me han apoyado siempre, con sus palabras de aliento y sus anhelos de superación diaria.

A la Universidad Técnica de Machala, por su apertura para permitirme formarme como profesional y haberme brindado muchas experiencias enriquecedoras junto a mis compañeros y amigos, a quienes he aprendido a querer y valorar.

A mi tutor, Dr. Hugo Romero Bonilla, por haber sido mi docente durante muchos años y haber impartido los conocimientos necesarios para realizar esta investigación.

Al Ing. Heraldo Betancourt, por haber contribuido con sus conocimientos y haber hecho posible la realización de este trabajo.

RESUMEN

En la actualidad existe un creciente interés por las repercusiones a corto y largo plazo que tienen los contaminantes emergentes en el medio ambiente y en la salud de las personas. Sin embargo, pese a que ya se ha reportado una gran cantidad de estudios que demuestran los efectos tóxicos que generan estos contaminantes y que varias organizaciones internacionales, como la Organización Mundial de la Salud y la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, ya han alertado de los posibles riesgos de continuar con la incorporación descontrolada de estos compuestos a los cuerpos hídricos, la mayoría de ellos aún no están regulados.

Existe una larga lista de contaminantes emergentes dentro de los cuáles se encuentran los productos farmacéuticos que han despertado el interés de la comunidad científica los últimos años por su toxicidad en organismos acuáticos. Es difícil conocer el comportamiento general de los fármacos y su repercusión en los diferentes ecosistemas debido a que están compuestos por un sin número de sustancias químicas sintéticas y naturales que son metabolizadas por los seres humanos y excretadas continuamente. Muchos de estos medicamentos han sido detectados en las plantas de tratamiento de aguas residuales pero los métodos convencionalmente utilizados para tratar el agua son ineficientes ante la presencia de estos xenobióticos.

Gracias al desarrollo de nuevos métodos analíticos más sensibles en la medición de estos compuestos químicos se ha podido detectar concentraciones traza en aguas residuales, fuentes de agua potable y aguas subterráneas, concentraciones que varían desde los ng/L hasta mg/L.

El presente estudio propone un método de determinación y cuantificación de dos fármacos consumidos comúnmente por las personas y de libre venta como lo son la Levofloxacina Hemihidrato, que se encuentra clasificada dentro del grupo de los antibióticos, y el Paracetamol o Acetaminofén que se incluye dentro del grupo de los analgésicos.

Se estudió la aplicación de dos técnicas electroquímicas, Voltamperometría Cíclica y Voltamperometría de Onda Cuadrada usando un electrodo de teflón dopado con punta de

platino para la determinación del comportamiento de los analitos, su reacción de óxido reducción en la interfase conductor-disolución y la cuantificación de diferentes rangos de concentración con el fin de optimizar los parámetros de control para ambas técnicas y obtener un límite de detección y cuantificación bajo que permita su futura aplicación en muestras reales de agua.

El comportamiento electroquímico de LEV y PAR usando el electrodo de platino fue sujeta a dos soluciones electrolíticas diferentes, solución buffer de acetato y fosfato, y a diferentes niveles de pH de entre 4 y 6 en un rango de potencial de 0 a + 2 V a una velocidad de escaneo seleccionada de 50 mVs⁻¹ por VC. La oxidación del pico anódico ocurrió a potenciales de 1.0 V (LEV) y 0.6 V (PAR).

La cuantificación electroquímica se realizó por la técnica de Voltamperometría de Onda Cuadrada (SWV) en rangos de concentración lineal de 1,349 x10⁻⁷ mol L⁻¹ hasta 1.349 x10⁻⁵ mol L⁻¹ (LEV) y de 6.6 x10⁻⁷ mol L⁻¹ hasta 3.3 x10⁻⁵ mol L⁻¹ (PAR) obteniéndose límites de detección (LD) de 2,96x10⁻⁸ mol L⁻¹(LEV) y 6,6x10⁻⁷ mol L⁻¹ (PAR) para determinaciones individuales y 3,2x10⁻⁸ mol L⁻¹ (LEV) y 2,7x10⁻⁷ mol L⁻¹ (PAR) para determinaciones simultáneas.

Se optimizaron los parámetros de control de la técnica de SWV arrojando mejores respuestas electroquímicas a una frecuencia de 10 Hz con un pulso de amplitud de 100 mV y un incremento de escaneo de 10 mV.

Finalmente, se determinó y cuantificó simultáneamente ambos analitos en una matriz de agua residual sintética mostrando un buen porcentaje de recuperación de los analitos de entre 92 y 104% y sin interferencias por el resto de componentes de la matriz.

Palabras clave: contaminantes emergentes, electrodo de platino, voltamperometría cíclica, voltamperometría de onda cuadrada, levofloxacin, paracetamol.

ABSTRACT

At present there is a growing interest in the short and long term repercussions of emerging pollutants in the environment and in people's health. However, although a large number of studies have already been reported that demonstrate the toxic effects generated by these pollutants and that several international organizations, such as the World Health Organization and the United States Environmental Protection Agency, have already alerted of the possible risks of continuing with the uncontrolled incorporation of these compounds into the water bodies, most of them are not yet regulated.

There is a long list of emerging pollutants within which are the pharmaceutical products that have aroused the interest of the scientific community in recent years for their toxicity in aquatic organisms. It is difficult to know the general behavior of drugs and their impact on different ecosystems because they are composed of a number of synthetic and natural chemicals that are metabolized by humans and continuously excreted. Many of these medications have been detected in wastewater treatment plants but the methods conventionally used to treat water are inefficient in the presence of these xenobiotics.

Thanks to the development of new more sensitive analytical methods in the measurement of these chemical compounds it has been possible to detect trace concentrations in wastewater, sources of drinking water and groundwater, concentrations ranging from ng/L to mg/L.

The present study proposes a method of determination and quantification of two drugs commonly consumed by people and free sale such as Levofloxacin Hemihydrate, which is classified within the group of antibiotics, and Paracetamol or Acetaminophen that is included within the group of analgesics.

The application of two electrochemical techniques, Cyclic Voltammetry and Square Wave Voltammetry was studied using a doped Teflon electrode with platinum tip for the determination of analyte behavior, its oxide reaction reduction in the conductor-dissolution interface and the quantification of different concentration ranges in order to optimize the control parameters for both techniques and obtain a low detection and quantification limit that allows its future application in real water samples.

The electrochemical behavior of LEV and PAR using the platinum electrode was subjected to two different electrolytic solutions, acetate and phosphate buffer solution, and at different pH levels between 4 and 6 in a potential range of 0 to + 2 V at a Selected scan speed of 50 mVs⁻¹ per VC. Oxidation of the anodic peak occurred at potentials of 1.0 V (LEV) and 0.6 V (PAR).

Electrochemical quantification was performed by the Square Wave Voltammetry (SWV) technique in linear concentration ranges from 1,349 x10⁻⁷ mol L⁻¹ to 1,349 x10⁻⁵ mol L⁻¹ (LEV) and 6.6 x10⁻⁷ mol L⁻¹ to 3.3 x10⁻⁵ mol L⁻¹ (PAR) obtaining detection limits (LD) of 2.96x10⁻⁸ mol L⁻¹ (LEV) and 6.6x10⁻⁷ mol L⁻¹ (PAR) for individual determinations and 3.2x10⁻⁸ mol L⁻¹ (LEV) and 2.7x10⁻⁷ mol L⁻¹ (PAR) for simultaneous determinations.

The control parameters of the SWV technique were optimized, yielding better electrochemical responses at a frequency of 10 Hz with an amplitude pulse of 100 mV and a scan increase of 10 mV.

Finally, both analytes were simultaneously determined and quantified in a synthetic wastewater matrix showing a good percentage of analyte recovery between 92 and 104% and without interference by the rest of the matrix components.

Keywords: emerging pollutants, platinum electrode, cyclic voltammetry, square wave voltammetry, levofloxacin, paracetamol.

INDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS	xvi
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
OBJETIVO GENERAL	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
HIPÓTESIS	4
CAPÍTULO 1: MARCO REFERENCIAL.....	5
1.1. Contaminantes emergentes.....	5
1.2. Productos farmacéuticos en el agua	6
1.3. Metabolismo de fármacos	6
1.4. Efectos tóxicos de los fármacos en el ambiente.....	6
1.4.1. Analgésicos	6
1.4.2. Antibióticos	7
1.5. Contaminantes emergentes en aguas residuales domésticas.....	7
1.6. Levofloxacina hemihidrato	7
1.7. Paracetamol	8

1.8. Electroquímica	9
1.8.1. Principios teóricos	10
1.8.1.2. Curva I/E	11
1.8.1.3. Transporte de masa	11
1.8.1.4. Reversibilidad e irreversibilidad	11
1.9. Técnicas voltamperométricas para cuantificación de fármacos	12
1.9.1. Voltamperometría cíclica	13
1.9.2. Voltamperometría de onda cuadrada	16
1.10. Descripción de la instrumentación (Ver Anexo 1)	19
CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA	21
2.1. Materiales y métodos	21
2.1.1. Materiales	21
2.1.2. Reactivos	21
2.1.3. Equipos	22
2.2. Ubicación de la investigación	22
2.3. Desarrollo experimental	22
2.3.1. Preparación de las soluciones buffer	22
2.3.2. Preparación de soluciones madre de levofloxacin y paracetamol	23
2.3.3. Preparación de solución madre de levofloxacin y paracetamol para cuantificación simultánea	24
2.3.4. Preparación de agua residual sintética	26
2.3.5. Optimización de los parámetros en voltamperometría cíclica	28
2.3.6. Optimización de los parámetros en voltamperometría de onda cuadrada ...	28
2.3.7. Determinación electroquímica de levofloxacin y paracetamol	29
2.3.8. Determinación electroquímica simultánea de levofloxacin y paracetamol	30
2.3.9. Aplicación del electrodo de TPt en muestras de agua residual sintética	30
CAPÍTULO 3: RESULTADOS	31

3.1. Optimización del rango de escaneo en voltamperometría cíclica	31
3.1.1. <i>Efecto del rango de escaneo en voltamperometría cíclica en presencia de PAR</i>	31
3.1.2. <i>Efecto del rango de escaneo en voltamperometría cíclica en presencia de LEV</i>	32
3.2. Optimización de los parámetros de control en voltamperometría de onda cuadrada	33
3.2.1. <i>Efecto de la solución buffer</i>	33
3.2.2. <i>Efecto del pH de la solución buffer</i>	35
3.2.3. <i>Efecto de la frecuencia</i>	36
3.2.4. <i>Efecto del pulso de amplitud</i>	37
3.2.5. <i>Efecto del incremento de escaneo</i>	37
3.2.6. <i>Efecto de la concentración del analito</i>	38
3.2.7. <i>Efecto de la concentración simultánea de los analitos</i>	42
3.3. Aplicación del electrodo de TPt en muestras de agua residual sintética.....	46
CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES	47
CAPÍTULO 5: RECOMENDACIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	50
ANEXOS	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diluciones de Levofloxacin para determinación individual por SWV	23
Tabla 2. Diluciones de Paracetamol para determinación individual por SWV	24
Tabla 3. Diluciones de LEV y PAR para determinación simultánea por SWV	25
Tabla 4. Diluciones de LEV y PAR para determinación simultánea por SWV	26
Tabla 5. Niveles de concentración de LEV y PAR en la muestra de agua residual sintética	27
Tabla 6. Cantidades de adición de los estándares de LEV y PAR.....	27
Tabla 7. Parámetros óptimos para la determinación individual y simultánea de LEV y PAR por SWV	37
Tabla 8. Límite de detección y cuantificación de la determinación individual de Levofloxacin	39
Tabla 9. Límite de detección y cuantificación de la determinación individual de Paracetamol.....	41
Tabla 10. Límite de detección y cuantificación de la determinación simultánea de Levofloxacin y Paracetamol.....	43
Tabla 11. Límite de detección y cuantificación de la determinación simultánea de Paracetamol y Levofloxacin.....	45
Tabla 12. Resultados obtenidos de los análisis del agua residual sintética	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de reacción del proceso de oxidación de Levofloxacin	8
Figura 2. Mecanismo de reacción del proceso de oxidación del Paracetamol.	9
Figura 3. Clasificación de las técnicas electroquímicas	10
Figura 4. Voltamograma cíclico	15
Figura 5. Velocidad de barrido en VC	16
Figura 6. Voltamograma de una onda cuadrada.	17
Figura 7. Especificaciones de un ciclo de potencial.	18
Figura 8. Se muestra el voltamograma de 3.3×10^{-6} mol L ⁻¹ de Paracetamol a diferentes rangos de escaneo	31
Figura 9. Se muestra el voltamograma de $1,349 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ de Levofloxacin a diferentes rangos de escaneo	32
Figura 10. Se observa la respuesta electroquímica de la solución buffer de acetato y fosfato en presencia de 1.34×10^{-6} mol L ⁻¹ de Levofloxacin	33
Figura 11. Se muestra la respuesta electroquímica de la solución buffer de acetato y fosfato en presencia de 1.32×10^{-5} mol L ⁻¹ de Paracetamol	34
Figura 12. Se aprecia los voltamogramas arrojados a diferentes niveles de pH de la solución buffer de acetato en presencia de $2,6 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ de Levofloxacin	35
Figura 13. Se aprecia los voltamogramas en presencia de 2.69×10^{-6} mol L ⁻¹ de Levofloxacin a dos valores de frecuencia diferentes	36
Figura 14. Se observa la respuesta electroquímica de diferentes concentraciones de Levofloxacin	38
Figura 15. Curva de calibrado y ecuación de la recta de las lecturas de Levofloxacin	39
Figura 16. Se muestra los voltamogramas arrojados a diferentes concentraciones de Paracetamol	40
Figura 17. Curva de calibrado y ecuación de la recta en respuesta de las lecturas de Paracetamol	41
Figura 18. Se visualiza el efecto de la cuantificación simultánea de diferentes concentraciones de LEV a una concentración fija de PAR	42

Figura 19. Curva de calibrado y ecuación de la recta de las lecturas simultáneas de LEV y PAR.....	43
Figura 20. Se visualiza el efecto de la cuantificación simultánea de diferentes concentraciones de PAR a una concentración fija de LEV	44
Figura 21. Curva de calibrado y ecuación de la recta de las lecturas simultáneas de LEV y PAR.....	45

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Equipo Squidstat Potenciostato/Galvanostato.....	57
Ilustración 2. Celda de trabajo, electrodo de trabajo, electrodo de referencia y electrodo auxiliar	57
Ilustración 3. Electrodo de teflón dopado con punta de platino.....	58
Ilustración 4. Electrodo de alambre de platino.....	58
Ilustración 5. Electrodo de auxiliar (Ag/KCl).....	58
Ilustración 6. Interfaz de la técnica de voltamperometría cíclica.....	59
Ilustración 7. Interfaz de la técnica de voltamperometría de onda cuadrada	60

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Equipo e instrumentación	57
Anexo 2. Interfaz de las técnicas de análisis	59

LISTA DE ABREVIATURAS

CEs	Contaminantes emergentes
EDC	Disruptores endocrinos
TPt	Teflón dopado con punta de platino
SWV	Voltamperometría de onda cuadrada
VC	Voltamperometría cíclica
LEV	Levofloxacin
PAR	Paracetamol
ΔE_s	Incremento de escaneo
ΔE_p	Pulso de amplitud
f	Frecuencia
v	Velocidad del rango de escaneo
I	Intensidad
E	Corriente
ARS	Agua residual sintética
I_p	Intensidad de pico
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
ET	Electrodo de trabajo
ER	Electrodo de referencia
EA	Electrodo auxiliar

INTRODUCCIÓN

La supervivencia de los seres vivos depende de la disposición en buen estado de los recursos hídricos. Este recurso vital para la existencia humana se ha venido degradando con el crecimiento poblacional y el desarrollo industrial debido a que el consumo de agua y la descarga asociada de aguas residuales y contaminantes emergentes aumentan anualmente¹. La presencia de contaminantes emergentes en concentraciones traza en los ecosistemas acuáticos y el hecho de que no pueden ser eliminados por tratamientos convencionales de tratamiento de aguas residuales presentan nuevos retos desde el punto de vista técnico, económico y ambiental².

Los efectos biológicos y toxicológicos de una lista cada vez más amplia de compuestos químicos conocidos actualmente como; contaminantes emergentes (CEs), contaminantes de preocupación emergente (CPE), micro contaminantes (MC), sustancias tóxico persistentes (STP), contaminantes prioritarios (CP) o sustancias de muy alta preocupación (SMAP)², son cada vez más preocupantes. Por tal motivo, es necesario que los reguladores de los recursos hídricos en los diferentes países del mundo promuevan bases de datos e inventarios para regular las emisiones de los CEs³.

Los contaminantes emergentes abarcan una larga lista de compuestos conocidos y recientemente conocidos de los cuales los productos farmacéuticos son probablemente los más estudiados por su relevancia ambiental debido a que son biológicamente activos y seudopersistentes⁴. Además, estos despiertan un gran interés no solo por sus propiedades tóxicas sino por su emisión continua al medio ambiente⁵.

La presente investigación se enfoca en la determinación y cuantificación de dos fármacos que pertenecen al grupo de los antibióticos y los analgésicos, siendo estos de una de las clases de productos más antiguos, exitosos y más utilizados⁶. La relevancia de este estudio parte de la necesidad de proponer una alternativa más sencilla, barata y rápida de detectar y cuantificar fármacos, puesto que hay muchos estudios que han reportado buenos resultados utilizando otras técnicas analíticas como; la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)⁷, cromatografía líquida de ultra rendimiento acoplada a un espectrómetro de masas (UPLC-MS/MS)⁸, cromatografía de gases-espectrometría de

masas (GC-MS)^{9,10} y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS)¹¹, técnicas mucho más costosas y que requieren de un alto nivel de conocimiento de la técnica.

Para la realización de este estudio se aplicaron dos técnicas electroanalíticas como lo son la Voltamperometría Cíclica y Voltamperometría de Onda Cuadrada. Ambas técnicas se basan en el mismo principio de medir las intensidades de corriente generadas al imponer una diferencia de potencial. Como sensor electroquímico se empleó un electrodo de platino, los sensores dopados con nanomateriales como el oro, platino o plata están permitiendo grandes avances en el monitoreo ambiental al proporcionar respuestas rápidas y estables¹².

El objetivo principal del estudio es optimizar los parámetros electroquímicos de ambas técnicas con el fin de obtener respuestas rápidas, precisas y confiables a concentraciones bajas de los analitos. Así mismo, se desea observar el comportamiento en la determinación y cuantificación simultánea de los fármacos en una matriz de agua residual sintética para poder aplicar este método en futuras investigaciones en matrices de muestras reales puesto que ya se han planteado varios tratamientos de muestras de agua para determinar contaminantes emergentes¹³.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Aplicar técnicas electroquímicas mediante un electrodo de platino para la determinación y cuantificación de Levofloxacin y Paracetamol en muestras de agua residual sintética.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir el impacto ambiental que genera la distribución de contaminantes emergentes en el medio ambiente.
- Establecer las condiciones óptimas de detección y cuantificación de Levofloxacin y Paracetamol mediante la técnica de voltamperometría cíclica y voltamperometría de onda cuadrada.
- Determinar y cuantificar simultáneamente Levofloxacin y Paracetamol en muestras de agua residual sintética mediante la técnica de voltamperometría cíclica y voltamperometría de onda cuadrada usando un electrodo de teflón dopado con punta de platino.

HIPÓTESIS

La Voltamperometría Cíclica y Voltamperometría de Onda Cuadrada son una alternativa de detección y cuantificación de fármacos (Levofloxacin y Paracetamol) en muestras de agua residual sintética.

CAPÍTULO 1: MARCO REFERENCIAL

1.1. Contaminantes emergentes

En la actualidad, existe una gran variedad de contaminantes que son descargados a los cuerpos hídricos por diferentes vías, muchos de ellos son regulados en las distintas legislaciones de organismos encargados de la salud pública y medioambiental. Por lo general, los contaminantes cuyas concentraciones en los cuerpos de agua son regulados y controlados están dentro de la lista de contaminantes prioritarios establecidos en la Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de agosto del 2013¹⁴ contaminantes que, en su mayoría, son descargados en grandes cantidades y/o son nocivos para la salud de los seres vivos.

Sin embargo, existen contaminantes que están presentes en el agua en cantidades traza, por tal motivo, hasta hace pocos años, estos no eran del interés de la comunidad científica. Gracias al desarrollo de técnicas y métodos de análisis más sensibles, se ha podido alertar de la presencia de otros contaminantes altamente peligrosos denominados comúnmente como emergentes. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos afirma que; los contaminantes de preocupación emergente (CPE), incluidos los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PFCP), se detectan cada vez más a niveles bajos en aguas superficiales, muchos de ellos actúan como los llamados disruptores endocrinos (EDC)¹⁵, por sus siglas en inglés.

Los EDC son compuestos que alteran las funciones normales de las hormonas y producen una variedad de efectos sobre la salud, a pesar de que pueden demostrar baja toxicidad aguda, alteran los niveles hormonales a concentraciones muy bajas de exposición ¹⁵. Esto afecta directamente a los organismos acuáticos alterando el proceso reproductivo.

Ejemplo de los compuestos de reciente interés por sus potenciales efectos sobre la salud son: surfactantes, productos farmacéuticos, productos para el cuidado personal, aditivos de gasolinas, retardantes de fuego, esteroideos, hormonas, antisépticos y subproductos de la desinfección del agua ¹⁶.

1.2. Productos farmacéuticos en el agua

Debido al desconocimiento de la acumulación y transformación que sufren los productos farmacéuticos en el suelo, agua, tejidos vegetales y animales no eran considerados como contaminantes ambientales. Solo a partir de los años 90 se empezaron a cuantificar entre partes por billón (ppb) y partes por trillón (ppt)¹⁷. Diferentes fuentes contribuyen a la presencia de productos farmacéuticos en las aguas superficiales, como los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales e industriales, la escorrentía, la actividad agrícola, etc¹⁸.

1.3. Metabolismo de fármacos

Nuestro organismo posee múltiples sistemas enzimáticos que son responsables de la transformación de los fármacos en productos de eliminación debido a que estos xenobióticos son expuestos a reacciones de oxidación, reducción o hidrólisis, luego se conjugan con sustancias endógenas para facilitar su posterior excreción¹⁷.

Los xenobióticos se diferencian de otros contaminantes debido a que están compuestos por moléculas que poseen actividad biológica sobre diversos organismos. Otro factor adverso es que la composición de los fármacos es heterogénea y compleja por lo que sus propiedades dependerán del cuerpo receptor¹⁷. Una propiedad en común de los fármacos es que están constituidos por ácidos y bases débiles, por lo que su distribución, bioacumulación y biomagnificación dependerá del pH del medio y la constante de acidez (Ka)¹⁷.

1.4. Efectos tóxicos de los fármacos en el ambiente

Debido a los diversos grupos de fármacos existentes y su biomagnificación en el ambiente es difícil estudiar la toxicidad de todos. Por ello, en el presente estudio se exponen dos de los grupos de fármacos más comunes y tóxicos que actúan sobre el sistema nervioso como los analgésicos y antibióticos.

1.4.1. Analgésicos

Se ha demostrado que los analgésicos causan mayor toxicidad en los ecosistemas acuáticos que en el terrestre. Analgésicos tales como el ibuprofeno, diclofenaco o paracetamol son persistentes a la fotólisis, hidrólisis y biodegradación¹⁹. Sus principales efectos en los organismos acuáticos son la inmovilización, inhibición del crecimiento, alteraciones sobre la reproducción, alteraciones sobre la morfología y muerte.

1.4.2. Antibióticos

Son uno de los grupos de fármacos más importantes por sus efectos adversos en el medio ambiente. Debido a que poseen alta solubilidad, los antibióticos son excretados por la orina hasta en un 90% en su forma original.

Uno de los problemas más alarmantes es la resistencia bacteriana que han desarrollado bacterias como *Enterococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*. Se ha observado que cualquier población bacteriana puede desarrollar genes de resistencia a los antibióticos, esto altera las defensas de algunas especies del ecosistema¹⁹. Las especies más afectadas por la toxicidad de los antibióticos son las cianobacterias y las algas verdes.

1.5. Contaminantes emergentes en aguas residuales domésticas

Las plantas de tratamiento de aguas residuales son las principales vías de entrada de los contaminantes emergentes en el ciclo del agua. La mayoría de los fármacos poseen compuestos no biodegradables que no son eliminados en las PTAR y aunque sean retenidos junto a otros sólidos, estos terminarán apareciendo en el ciclo del agua por las precipitaciones, escorrentías y procesos de lixiviación²⁰. Varios estudios realizados en los últimos años afirman que la presencia de fármacos en el agua potable proviene, en su mayoría, de las aguas residuales municipales²¹.

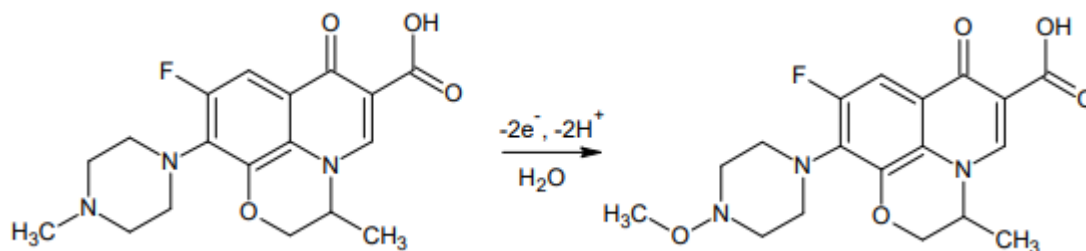
1.6. Levofloxacin hemihidrato

La Levofloxacin (LEV) es un antibiótico de amplio uso debido a su aplicación en el tratamiento de diferentes infecciones bacterianas causadas por bacterias gram positivas y gram negativas, en su mayoría, infecciones que afectan al sistema respiratorio y urinario²². La Levofloxacin es un antibiótico fluoroquinolona de amplio espectro de tercera generación que existe como hemihidrato en condiciones ambientales²³, con nombre de la IUPAC (-) - (S) -9-fluoro-2, 3- dihidro-3-metil-10- (4-metil-1-piperzínil) -7-oxo-7H pirido [1,2 , hemihidrato de ácido 3-de] -1,4-benzoxazina-6-carboxílico²³ y fórmula molecular $C_{18}H_{20}FN_3O_4 \cdot \frac{1}{2} H_2O$.

Este antibiótico sufre un metabolismo limitado en el cuerpo humano, más del 85% de este fármaco es excretado en la orina como fármaco inalterado, lo que facilita el control de su tasa de eliminación mediante la determinación de la concentración en orina²⁴. Según la

literatura, los dos únicos metabolitos de la Levofloxacinina identificados en humanos son el Desmetil y N-óxido²⁵ (Figura 1).

Figura 1. Mecanismo de reacción del proceso de oxidación de Levofloxacinina



Fuente: Tomado de ²⁹.

Existen muchos métodos analíticos que ya han sido usados para la determinación y cuantificación de LEV en muestras biológicas y soluciones farmacéuticas como la espectrofluorimetría²⁶, espectroscopía de resonancia magnética nuclear²⁷, cromatografía líquida de alta presión (HPLC)²⁸, así como métodos espectrofotométricos, entre otros. Sin embargo, estos métodos carecen de simplicidad y rentabilidad, lo que los hace deficientes.

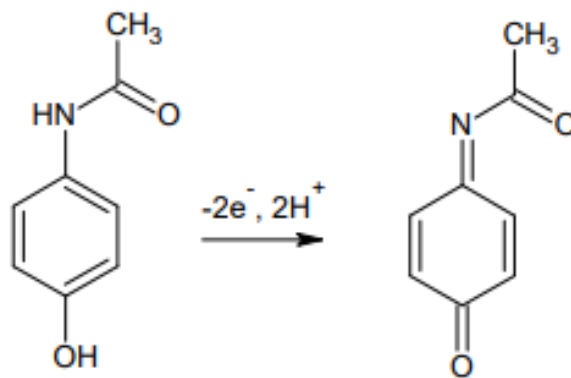
Los métodos electroquímicos tienen ventajas como la rapidez de análisis, simplicidad y bajo costo frente a los métodos antes mencionados²⁵. Para ello, se han desarrollado diferentes tipos de electrodos como: electrodos de carbón vítreo²⁵, electrodos de diamante dopado de boro^{29,30}, electrodos modificados con nanopartículas²², etc.

1.7. Paracetamol

El Paracetamol (N-acetyl-4-aminophenol) con fórmula molecular $C_8H_9NO_2$ pertenece al grupo de los analgésicos y antipiréticos. Este fármaco probablemente es el medicamento más consumido a nivel mundial debido a que está disponible sin receta médica y es apto para todas las edades³¹. A pesar de ser un medicamento seguro, si es consumido correctamente, se han reportado muchas sobredosis que producen hepatotoxicidad, lo que puede afectar a riñones, corazón, sistema nervioso e incluso llevar a la muerte³². El Paracetamol (PAR) presenta una gran solubilidad; por lo que hasta el 90% de este fármaco

se metaboliza en el hígado y se elimina por la orina pero de su 10% restante, al menos la mitad, es metabolizado como N-acetil-para-benzoilquinoneimina por el sistema citocromo P450, compuesto más tóxico y más persistente que el compuesto original, produciendo metabolitos tóxicos difíciles de eliminar en las plantas de tratamiento de aguas residuales^{32,33}.

Figura 2. Mecanismo de reacción del proceso de oxidación del Paracetamol.

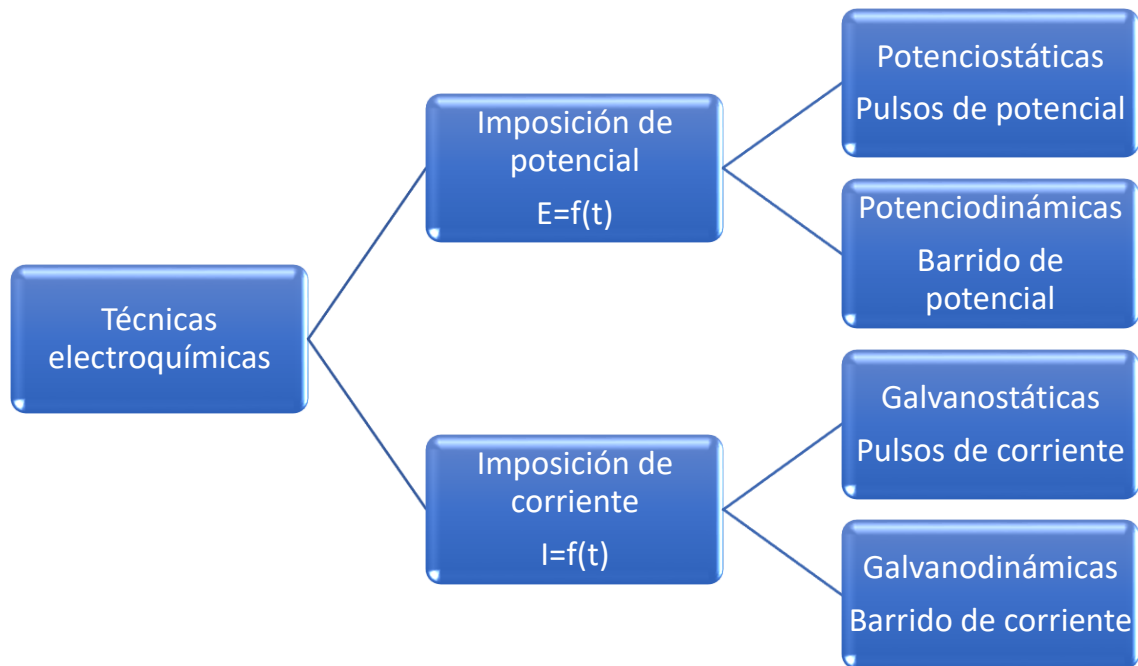


Fuente: Tomado de ²².

1.8. Electroquímica

Se define a la electroquímica analítica como el estudio de los procesos de reacción que ocurren en una interfase conductor-disolución, generados espontáneamente o mediante perturbaciones externas³⁴. La respuesta que se manifieste dependerá del tipo de perturbación que se aplique al sistema, esta respuesta nos dará diferente información que será útil para caracterizar el analito, las reacciones que ocurran en el electrodo, el tipo de movimiento de las moléculas o las transformaciones electroquímicas que se generen. Por ejemplo; si lo que se aplica al sistema es una diferencia de potencial se obtendrá una corriente de electrólisis, en cambio, si se aplica una corriente constante la respuesta será un cambio de potencial en la interfase conductor-disolución³⁴. A continuación, se clasifican las diferentes técnicas electroquímicas en base a las perturbaciones que se apliquen al sistema y la manera en la que se realizan las mediciones:

Figura 3. Clasificación de las técnicas electroquímicas

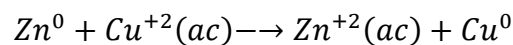


Fuente: Adaptado de ³⁴.

1.8.1. Principios teóricos

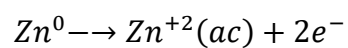
1.8.1.1. Reacciones óxido-reducción

Las reacciones de óxido-reducción se dividen en dos semirreacciones, una en la que la especie se oxida (pierde electrones) y la otra especie se reduce (gana electrones). Como ejemplo tenemos la siguiente reacción:

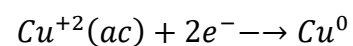


En esta reacción ocurren dos semirreacciones:

Semirreacción de oxidación



Semirreacción de reducción



Existen dos tipos de sistemas; los sistemas homogéneos, aquellos donde las especies reactivas se encuentran en la misma fase y sistemas heterogéneos, donde las especies reactivas pueden estar en dos o más fases.

En electroquímica se trabaja con sistemas heterogéneos donde una fase puede estar conformada por una solución líquida como un electrolito, sales disueltas, compuestos iónicos, etc. Y la segunda fase pueden ser membranas semipermeables, conductores sólidos u otro electrolito³⁴.

1.8.1.2. Curva I/E

Las curvas de Intensidad (amperios) vs Corriente (voltios) expresa a la corriente como una función del potencial aplicado, donde la intensidad de corriente es la respuesta emitida por el electrodo de trabajo. Con el paso de una corriente Faradaica o de electrólisis, el electrodo idealmente polarizado (ET) sufre una desviación de su potencial que inicialmente es nulo³⁴. La intensidad de la corriente de pico (I_p) resultante es directamente proporcional a la concentración del analito.

1.8.1.3. Transporte de masa

El transporte de masa es la forma en la que la especie reactiva llega al electrodo, este fenómeno influye en la velocidad en la que ocurre la reacción. Se distinguen tres modelos de transporte de masa³⁴:

- Difusión: la materia fluye de una región con mayor concentración hasta una menos concentrada de manera espontánea.
- Migración: al imponer una diferencia de potencial se forma un campo eléctrico donde las especies electroactivas son transportadas mediante la solución electrolítica.
- Convección: el transporte de materia ocurre por la aplicación de medios físicos como la agitación, el calentamiento o la vibración.

La intensidad de corriente que se obtiene como resultado es proporcional al flujo de materia que llega al electrodo, lo que estará en función al modelo de transporte de masa con el que se efectúe la reacción.

1.8.1.4. Reversibilidad e irreversibilidad

Se entiende como reversibilidad termodinámica al cambio que puede ser revertido, es decir; aquel que, al invertir su dirección el sistema regresa a su estado original. Caso contrario, el proceso sería irreversible. Cuando se trata de la forma de la curva I/E el pico

anódico y catódico nos indican la reversibilidad o irreversibilidad de una reacción, cuando se obtiene ambos picos con intensidades de corrientes similares se trata de un proceso reversible, cuando solo se obtiene un pico de oxidación o reducción indica que se han obtenido otros productos que no pueden oxidarse o reducirse al invertir el barrido³⁴.

1.9. Técnicas voltamperométricas para cuantificación de fármacos

La voltamperometría engloba un grupo de técnicas electroquímicas usadas para obtener información cualitativa y cuantitativa de un determinado analito basándose en la respuesta corriente-potencial, es decir, mide las intensidades de corriente generadas como respuesta a la diferencia de potencial aplicado³⁵. Estas técnicas involucran el proceso de electrólisis de uno o más compuestos electroactivos contenidos en una celda electrolítica, donde ocurren fenómenos de transferencia de masa desde la disolución hacia el electrodo y reacciones de la especie electroactiva en el electrodo.

Para comprender los procesos y fenómenos involucrados es necesario describir los componentes requeridos para la aplicación de estas técnicas:

- **Potenciostato-galvanostato:** es un dispositivo electrónico utilizado para controlar la diferencia de potencial impuesta entre el electrodo de trabajo y de referencia, esta corriente se hace pasar a través del contra electrodo mediante el cual es posible realizar las mediciones requeridas en el sistema, ya sea sobre la corriente o sobre la diferencia de potencial³⁶.
- **Celda de trabajo:** componente donde ocurren las reacciones redox que, por lo general, contiene de tres a cinco orificios para colocar los electrodos, el gas inerte, etc.
- **Electrodo de trabajo:** es un electrodo idealmente polarizable, es decir; aquel que muestra un cambio considerable, hacia valores positivos en el potencial (oxidación) o valores de potencial negativo (reducción), con el paso de una corriente infinitesimal³⁵.
- **Electrodo de referencia:** es un electrodo idealmente no polarizable, que tiene un potencial conocido y estable, o dicho en otras palabras, su potencial no varía con el paso de una corriente³⁴. Suele contener una solución saturada de KCl o AgCl.
- **Contraelectrodo o electrodo auxiliar:** este electrodo aporta la corriente requerida para efectuar la electrólisis en el electrodo de trabajo. Además, evita el paso de

corrientes altas por el electrodo de referencia para mantener su potencial estable³⁷. Suelen estar fabricados de un material inerte o de platino.

- **Electrolito:** solución de pH fijo que es añadida para asegurar la conductividad, evita la migración de corriente y no altera la composición del analito. Para soluciones acuosas se suelen usar soluciones buffer elaboradas a partir de un ácido débil y su base conjugada.
- **Voltamogramas:** gráficos presentados por el software del potenciostato/galvanostato donde se muestran los resultados obtenidos en base a la técnica y parámetros establecidos.

Los desarrollos introducidos en este tipo de técnicas han potenciado su aplicación en investigaciones científicas teniendo como uno de los principales desafíos alcanzar límites de detección cada vez menores. A continuación, se mencionan las técnicas voltamperométricas comúnmente usadas en investigación de la ecotoxicidad de los fármacos:

- ✓ Voltamperometría cíclica³⁸
- ✓ Voltamperometría de onda cuadrada³⁹
- ✓ Voltamperometría de barrido lineal^{40,41}
- ✓ Voltamperometría de pulso diferencial^{42,43}
- ✓ Cronoamperometría⁴⁴

1.9.1. Voltamperometría cíclica

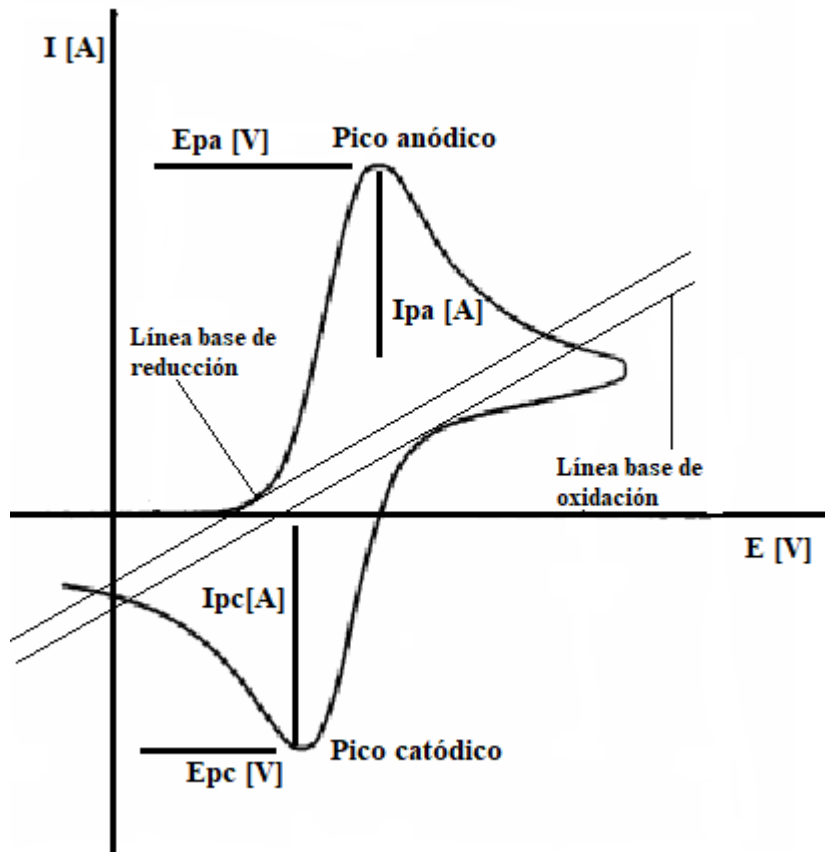
La voltamperometría cíclica (VC), también conocida como espectroscopía electroquímica, es una de las técnicas de la electroanalítica más usadas para estudiar los mecanismos de reacción, ya que presenta información rápida e inequívoca de las reacciones de óxido reducción de las especies³⁴. La voltamperometría cíclica se realiza haciendo ciclar el potencial de un electrodo, mismo que está sumergido en una solución electrolítica, y midiendo la corriente resultante. El potencial aplicado al electrodo de trabajo es controlado por un electrodo de referencia (Ag/AgCl), el potencial controlado aplicado a través de ambos electrodos se conoce como señal de excitación³⁷. La señal de excitación en la voltamperometría cíclica es un barrido lineal del potencial en forma triangular.

Esta técnica requiere de un generador de ondas, el cual producirá la señal de excitación que será controlada por un potenciostato-galvanostato y aplicada en una celda

electroquímica que contiene normalmente tres electrodos; de trabajo, que es donde se lleva a cabo la reacción de interés, de referencia, que tiene un potencial estable y conocido y un electrodo auxiliar o contraelectrodo, el cual previene el paso de corrientes altas a través del electrodo de referencia y mantiene su potencial constante³⁷. También se requiere de un software que grafique el voltamperograma obtenido y permita modificar los parámetros de interés.

La VC consiste en electrolizar una especie e invertir el potencial para observar la formación de su par redox, de esta manera poder obtener información cualitativa y cuantitativa de los procesos de transferencia de electrones, estudiar el comportamiento reversible o irreversible de las especies, etc³⁴. En primer lugar, se escogen los dos valores de los potenciales donde se hará el barrido, la curva corriente-potencial iniciará en sentido catódico y llegará un punto donde comience a ocurrir la electrólisis, la corriente catódica comienza a crecer exponencialmente y la concentración de la especie en disolución se va agotando alrededor de la superficie del electrodo hasta llegar a un punto máximo llamado Epc (potencial de pico catódico). Posteriormente, la corriente catódica va disminuyendo hasta llegar a un valor muy pequeño donde el sentido del barrido se invierte. Al volverse el potencial menos negativo, la sustancia reducida en la superficie del electrodo comienza a oxidarse hasta un punto máximo llamado Epa (potencial de pico anódico) dando como resultado la curva anódica. Esta curva también disminuye conforme la cantidad de compuesto va disminuyendo en la superficie del electrodo, como se muestra en la Figura 4.

Figura 4. Voltamograma cíclico

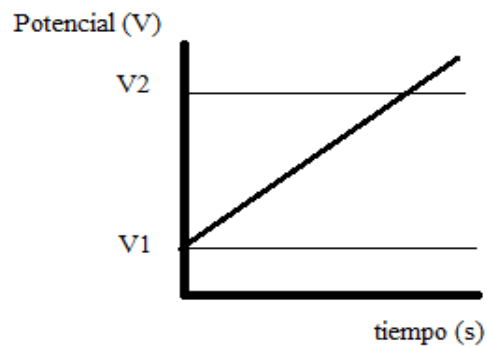


Fuente: Elaboración propia.

1.9.1.1. Rango de escaneo

El rango de escaneo o velocidad de barrido es uno de los factores que más se debe tomar en cuenta en la CV. La velocidad de barrido es la pendiente del potencial aplicado versus el tiempo (Figura 5), lo que se entiende como la velocidad en que las especies reaccionan en función del tiempo. A mayor velocidad, las reacciones redox ocurren en regiones cada vez más próximas al electrodo por lo que se obtienen picos más elevados.

Figura 5. Velocidad de barrido en VC



Fuente: Elaboración propia.

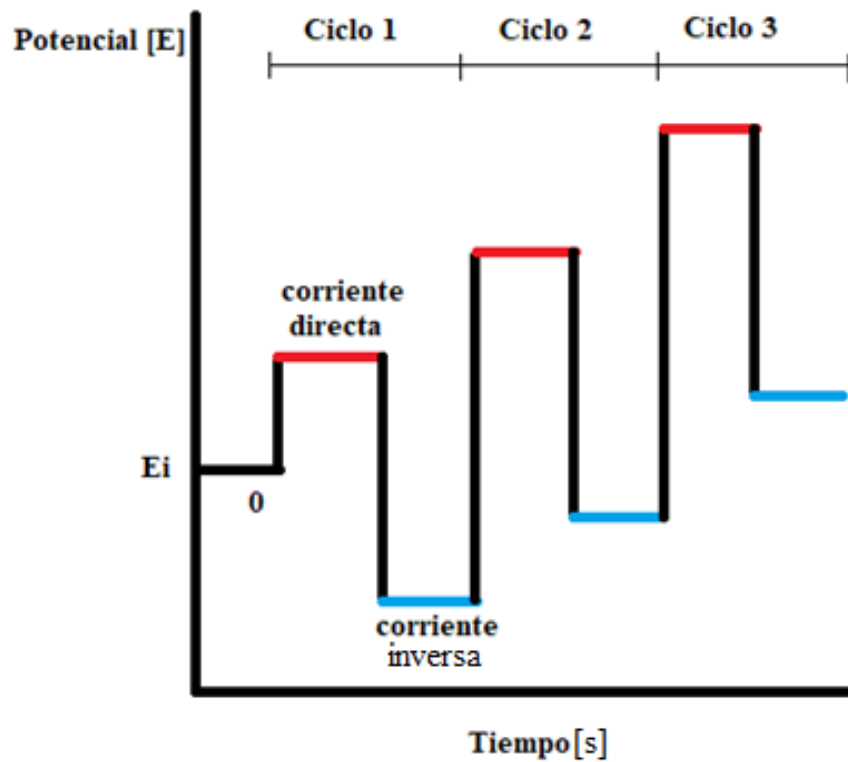
1.9.2. Voltamperometría de onda cuadrada

La voltamperometría o voltametría de onda cuadrada, Square Wave Voltammetry (SWV) por sus siglas en inglés, es una potente técnica electroquímica ideal para análisis cuantitativos, está considerada como una de las técnicas voltamétricas más avanzadas ya que unifica las ventajas de las técnicas de pulso (sensibilidad mejorada), voltametría cíclica (proyección del mecanismo del electrodo) y las técnicas de impedancia (información cinética de procesos de electrodo muy rápidos)⁴⁵. La SWV se desarrolló por la combinación de la onda cuadrada de alta amplitud y alta frecuencia con la forma de onda de escalera rápida y utilizando elementos controlados por programas en computadoras⁴⁶.

1.9.2.1. Características básicas de la SWV

El potencial que se aplica en SWV consiste en una rampa de potencial de escalera modificada con pulsos de potencial de forma cuadrada, en cada paso de la rampa de la escalera se imponen dos pulsos de igual altura y pulsos de potenciales opuestos⁴⁵, así mismo, en cada ciclo habrá un corriente directa (línea roja) y una corriente inversa (línea azul). Los dos últimos pulsos de potenciales opuestos completan un ciclo de potencial (Figura 6). Este ciclo se repite en cada paso de la rampa de la escalera según lo que dure el experimento.

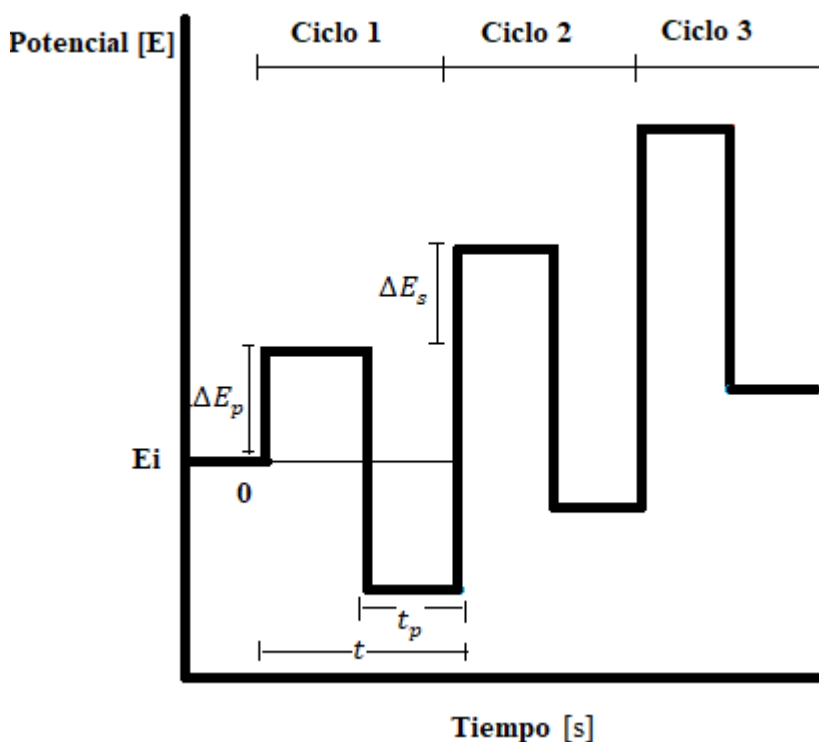
Figura 6. Voltamograma de una onda cuadrada.



Fuente: Elaboración propia.

La onda cuadrada posee una altura de pulso (ΔE_p), que se mide a partir de la línea del incremento de potencial de la escalera (ΔE_s), y un ancho de pulso ($t_p = \frac{t}{2}$). El ancho de pulso también se lo expresa como la frecuencia de la onda cuadrada, $f = \frac{1}{2t_p}$. Por lo tanto, el tiempo del experimento voltamétrico está representado por la duración de un solo ciclo de potencial (t) o la duración de un pulso potencial único (t_p)⁴⁵. En términos de frecuencia para un ciclo de potencial sería $f = \frac{1}{t}$, como se ilustra a continuación.

Figura 7. Especificaciones de un ciclo de potencial.



Fuente: Elaboración propia.

Las corrientes netas de cada ciclo de potencial forman el voltamograma final y, en la mayoría de análisis, la altura del pulso neto adquiere una forma de campana con una posición y altura determinada y precisa que nos da información acerca del analito de interés y del mecanismo del electrodo. La corriente máxima obtenida en el voltamograma es una función lineal de la concentración del analito. En cada medición obtendremos uno o más picos de corrientes en diferentes potenciales en base a las especies activas presentes en la disolución.

1.9.2.2. *Parámetros de control*

➤ Frecuencia de la onda cuadrada

Se define a la frecuencia como un número de ciclos potenciales en una unidad de tiempo⁴⁵. En física, el hercio (Hz) es la unidad de medida de la frecuencia en el sistema internacional, el cual nos indica el número de veces que se repite un fenómeno por segundo ($1 \text{ Hz} = \text{s}^{-1}$). El rango de frecuencia que puede llegar a proporcionar cada equipo

puede variar, pero, por lo general, los equipos disponibles comercialmente disponen de un rango de frecuencia de 5 a 2000 Hz.

➤ Amplitud de la onda cuadrada

La amplitud de la onda cuadrada (ΔE_p) corresponde a la altura de un pulso de potencial único y es una herramienta experimental poderosa para estudiar la cinética de los electrodos⁴⁵. Este parámetro viene expresado en voltios (V).

➤ Incremento de escaneo

El incremento de escaneo (ΔE_s) generalmente es significativamente inferior que la amplitud de la onda cuadrada (ΔE_p), este parámetro determina la resolución de las características voltamétricas a lo largo del eje potencial ya que el rango de escaneo en SWV es el producto de la frecuencia y el incremento de escaneo²⁹.

➤ Velocidad de exploración

La velocidad de exploración influye directamente en la modulación del potencial general y viene definida como $v = f * \Delta E_s$.

Por ejemplo, si queremos realizar una exploración a una velocidad moderada podríamos establecer una frecuencia alta (Ej. $f = 500 \text{ Hz}$) y un incremento de exploración pequeño (Ej. $\Delta E_s = 0.1 \text{ mV}$), esto daría como resultado una velocidad de $50 \frac{\text{mV}}{\text{s}}$.

1.10. Descripción de la instrumentación (Ver Anexo 1)

1.10.1. Potenciostato/Galvanostato/FRA SQUIDSTATTM PLUS

El potenciostato/galvanostato de Squidstat Plus es un poderoso analizador electroquímico que ofrece múltiples métodos que pueden ser personalizados de forma rápida y sencilla sin necesidad de tener habilidades en programación⁴⁷. Posee una memoria integrada de 16 GB, los puntos de ajuste de voltaje/corriente, potencial a circuito abierto de la célula (OPC) y las velocidades de muestreo son ajustables en tiempo real. Sus modos de funcionamiento son: Potenciostato / Galvanostato / ZRA / FRA (Frequency response analyzer). Con conexiones para hasta 5 electrodos y una resolución de 16 bits. Su velocidad máxima de muestreo es de 100.000 muestras por segundo. Trabaja con el Software Squidstat User Interface.

1.10.2. Celda de trabajo

Se utilizó una celda clásica fabricada en material de vidrio pyrex que fue lavada con una solución de ácido sulfúrico 0.1 mol L^{-1} y posteriormente enjuagada con abundante agua desionizada previo a su uso.

1.10.3. Electrodo de trabajo

El electrodo de trabajo utilizado para los diferentes experimentos fue un electrodo de teflón dopado con un disco plano de platino (TPt) de 0.5 mm de diámetro. Este electrodo se pulió con una suspensión de $0.05 \mu\text{m Al}_2\text{O}_3$, se aclaró con agua desionizada y se secó antes de su uso.

La alta actividad catalítica del platino sobre la reactividad redox de sustancias orgánicas por la adsorción disociativa de pequeñas moléculas orgánicas es una de las ventajas que ofrece este metal noble⁴⁸.

1.10.4. Electrodo de referencia

Como electrodo de referencia se utilizó un electrodo de plata sumergido en una solución saturada de cloruro de potasio ($3 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$).

1.10.5. Electrodo Auxiliar

Como electrodo auxiliar o contra electrodo se utilizó un alambre de platino.

CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA

2.1. Materiales y métodos

2.1.1. *Materiales*

- Bata de laboratorio
- Guantes desechables
- Mascarilla desechable
- Balones aforados de 1000 ml
- Balones aforados de 100 ml
- Balones aforados de 50 ml
- Vasos de precipitado de 100 ml
- Vasos de precipitado de 50 ml
- Pipeta volumétrica de 10 ml
- Pipeta volumétrica de 5 ml
- Agitador de vidrio
- Espátula
- Piseta
- Jeringa de 5 ml
- Lija de poro fino
- Celda electroquímica de tres electrodos
- Electrodo de teflón dopado con punta de platino (diámetro=0.5 mm)
- Electrodo de Ag/AgCl (3 mol L⁻¹ KCl)
- Alambre de platino
- Micropipeta de 2-20 µl
- Micropipeta de 10-1000 µl

2.1.2. *Reactivos*

- Agua desionizada
- Agua destilada
- Acetato de sodio Trihidrato (C₂H₃NaO₂*3H₂O)

- Ácido acético (CH_3COOH) 99,99%
- Fosfato de sodio monobásico anhidro (NaH_2PO_4)
- Fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4)
- Solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1}
- Solución buffer de fosfato 0.1 mol L^{-1}
- MicroPolish Powder
- Cloruro de potasio saturado (KCl) 3 mol L^{-1}
- Paracetamol 10 mg/ml (solución para infusión)
- Levofloxacina Hemihidrato 500 mg/100 ml (inyectable)

2.1.3. Equipos

- Balanza analítica RADWAG As.220.X2
- Potenciostato/Galvanostato/FRA (SQUIDSTAT™ PLUS) equipado con el software Squidstat User Interface v2.09.28.2018 Beta
- Medidor de pH BOECO BT-6775
- Hornilla

2.2. Ubicación de la investigación

La presente investigación fue desarrollada en el laboratorio de Electroquímica LI-EQ de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala.

2.3. Desarrollo experimental

2.3.1. Preparación de las soluciones buffer

2.3.1.1 Preparación de solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1}

La solución buffer de acetato 0.1 M fue preparada en un balón aforado de 1000 ml con la adición de los siguientes reactivos: 11.29 g de acetato de sodio trihidrato ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) y 0.97 ml de ácido acético (CH_3COOH) 99,99%. Ambos reactivos fueron agregados en el balón aforado y enrasados con agua destilada. Se procedió a homogeneizar bien la solución y a determinar el pH mediante un potenciómetro. El pH arrojado en el potenciómetro debe coincidir con el calculado, siendo este 5.5.

2.3.1.2 Preparación de solución buffer de fosfato 0.1 mol L^{-1}

La solución buffer de fosfato 0.1 M fue preparada en un balón aforado de 1000 ml con la adición de los siguientes reactivos: 0.8437 g de fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4) y 11.28 g de fosfato de sodio monobásico anhidro (NaH_2PO_4). Una vez pesados ambos

reactivos, se procedió a agregar los 0.8437 g de Na_2HPO_4 en un vaso de 100 ml con un poco de agua destilada. Esta solución fue llevada a una hornilla y, calentada y agitada, hasta la disolución completa del reactivo. Ambos reactivos fueron agregados en el balón aforado de 1000 ml y enrasados con agua destilada. Se procedió a homogenizar la solución y a medir el pH en el potenciómetro. El valor de pH arrojado en el potenciómetro debe coincidir con el calculado, siendo este de 6.

2.3.2. Preparación de soluciones madre de levofloxacina y paracetamol

2.3.2.1 Preparación de 0.5, 1, 5, 10 y 50 μl de solución madre de Levofloxacina.

Con ayuda de una jeringa se extrajo 1 ml de Levofloxacina hemihidrato con una concentración de 5000 ppm y fue colocado en un vaso de precipitado de 50 ml. Previo a cada dilución, cinco balones aforados de 50 ml fueron enjuagados con un poco de solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1} . Con ayuda de una micropipeta se tomaron alícuotas de 0.5, 1, 5, 10 y 50 μl de Levofloxacina Hemidrato y fueron traspasados a cada balón aforado, respectivamente. Una vez colocado el fármaco, se procedió a enrasar con la solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1} cada balón aforado. Finalmente, cada solución fue homogenizada.

Tabla 1. Diluciones de Levofloxacina para determinación individual por SWV

Concentraciones de LEV	Solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1} (pH 5.5)	Concentración Molar de la disolución
Blanco	50 ml de buffer	0 mol L^{-1}
0.05 ppm	0.5 μl de LEV + buffer	$1,349 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
0.1 ppm	1 μl de LEV + buffer	$2.69 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
0.5 ppm	5 μl de LEV + buffer	$1.34 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
1 ppm	10 μl de LEV + buffer	$2.69 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
5 ppm	50 μl de LEV + buffer	$1.349 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

Fuente: Elaboración propia.

2.3.2.2. Preparación de 250, 500, 750, 1000 y 2500 μl de solución madre de Paracetamol. Mediante una jeringa se extrajo 7 ml de Paracetamol líquido con una concentración de 100 ppm y fue colocado en un vaso de precipitado de 50 ml. Previo a cada dilución, cinco balones aforados de 50 ml fueron enjuagados con un poco de solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1} . Con ayuda de una micropipeta se tomaron alícuotas de 50, 250, 500, 750 y 2500 μl de Paracetamol líquido y fueron traspasados a cada balón aforado, respectivamente. Una vez añadido el fármaco, se procedió a enrasar cada balón aforado con solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1} . Finalmente, se homogenizó la solución.

Tabla 2. Diluciones de Paracetamol para determinación individual por SWV

Concentraciones de PAR	Solución buffer de acetato 0.1 mol L⁻¹ (pH 5.5)	Concentración Molar de la disolución
Blanco	50 ml de buffer	0 mol L^{-1}
0.1 ppm	50 μl de PAR + buffer	$6.6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
0.5 ppm	250 μl de PAR + buffer	$3.3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
1 ppm	500 μl de PAR + buffer	$6.6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
1.5 ppm	750 μl de PAR + buffer	$9.9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
5 ppm	2500 μl de PAR + buffer	$3.3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

Fuente: Elaboración propia.

2.3.3. *Preparación de solución madre de levofloxacina y paracetamol para cuantificación simultánea*

2.3.3.1. *Preparación de la mezcla de analitos variando la concentración de LEV y manteniendo fija la de PAR.*

Con ayuda de una jeringa se extrajo 1 ml de Levofloxacina hemidrato con una concentración de 5000 ppm y fue colocado en un vaso de precipitado de 50 ml. Se tomaron cinco balones aforados de 50 ml y fueron enjuagados con la solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1} (pH 5.5). Con ayuda de una micropipeta, se tomaron alícuotas de 0.5, 1, 5, 10 y 50 μl de LEV y fueron traspasados a cada balón aforado, respectivamente. Luego, con ayuda de una micropipeta, se añadió a cada balón que contiene diferentes concentraciones de LEV una alícuota de 750 μl de PAR. Finalmente, se enrasó cada balón

aforado de 50 ml con la solución buffer de acetato 0.1 mol L⁻¹ (pH 5.5). Se homogenizó bien la mezcla y se prosiguió a realizar los respectivos análisis.

Tabla 3. Diluciones de LEV y PAR para determinación simultánea por SWV

Concentraciones de LEV	1 ppm de PAR + Solución buffer de acetato 0.1 mol L⁻¹ (pH 5.5)	Concentración Molar de LEV y PAR en la disolución
0.05 ppm	0.5 µl de LEV + 2500 µl de PAR + buffer	1,349 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de LEV 3.3 x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de PAR
0.1 ppm	1 µl de LEV + 2500 µl de PAR + buffer	2.69 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de LEV 3.3 x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de PAR
0.5 ppm	5 µl de LEV + 2500 µl de PAR + buffer	1.34 x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de LEV 3.3 x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de PAR
1 ppm	10 µl de LEV + 2500 µl de PAR + buffer	2.69 x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de LEV 3.3 x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de PAR
5 ppm	50 µl de LEV + 2500 µl de PAR + buffer	1.349 x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de LEV 3.3 x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de PAR

Fuente: Elaboración propia.

2.3.3.2. Preparación de la mezcla de analitos variando la concentración de PAR y manteniendo fija la de LEV

Con ayuda de una jeringa se extrajo 5 ml de Paracetamol líquido con una concentración de 100ppm y fue colocado en un vaso de precipitado de 50 ml. Se tomaron cuatro balones aforados de 50 ml y fueron enjuagados con la solución buffer de acetato 0.1 mol L⁻¹ (pH 5.5). Con ayuda de una micropipeta, se tomaron alícuotas de 250, 500, 750, 1000 y 2500 µl de PAR y fueron traspasados a cada balón aforado. Luego, con ayuda de una micropipeta, se añadió a cada balón que contiene diferentes concentraciones de PAR una alícuota de 0.5 µl de LEV. Finalmente, se enrasó cada balón aforado de 50 ml con la solución buffer de acetato 0.1 mol L⁻¹ (pH 5.5). Se homogenizó bien la mezcla y se prosiguió a realizar los respectivos análisis.

Tabla 4. Diluciones de LEV y PAR para determinación simultánea por SWV

Concentraciones de PAR	1 ppm de LEV + Solución buffer de acetato 0.1 mol L⁻¹ (pH 5.5)	Concentración Molar de LEV y PAR en la disolución
0.5 ppm	250 µl de PAR + 0.5 µl de LEV + buffer	6.6 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de PAR 1,349 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de LEV
1 ppm	500 µl de PAR + 0.5 µl de LEV + buffer	6.6 x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de PAR 1,349 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de LEV
1.5 ppm	750 µl de PAR + 0.5 µl de LEV + buffer	9.9 x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de PAR 1,349 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de LEV
2 ppm	1000 µl de PAR + 0.5 µl de LEV + buffer	1.32 x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de PAR 1,349 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de LEV
5 ppm	2500 µl de PAR + 0.5 µl de LEV + buffer	3.3 x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de PAR 1,349 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de LEV

Fuente: Elaboración propia.

2.3.4. Preparación de agua residual sintética

Se preparó agua residual sintética en un balón aforado de 250 ml disolviendo: 40 mg de peptona, 27.50 mg de extracto de levadura, 7,5 mg de Urea, 7 mg de fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄), 0.5mg de sulfato de magnesio (MgSO₄), 1 mg de cloruro de calcio (CaCl₂) y 1.75 mg de cloruro de sodio (NaCl). Es necesario diluir por separado los 40 mg de peptona en agua desionizada caliente antes de agregarlos al balón aforado. Todos los compuestos fueron llevados al balón aforado de 250 ml y se enrasó con agua desionizada.

Se procedió a dopar el agua residual sintética a dos niveles de concentración conocidos de LEV y PAR (1,349 x10⁻⁷ mol L⁻¹ y 2.69 x10⁻⁶ mol L⁻¹ de LEV) y (3.3 x10⁻⁶ mol L⁻¹ y 9.9 x10⁻⁶ mol L⁻¹ de PAR) en dos balones aforados de 50 ml.

Tabla 5. Niveles de concentración de LEV y PAR en la muestra de agua residual sintética

Nivel de concentración	Concentraciones de LEV	Concentración Molar de la disolución
1	0.05 ppm	$1,349 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
2	1 ppm	$2.69 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$

Nivel de concentración	Concentraciones de PAR	Concentración Molar de la disolución
1	0.5 ppm	$6.6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$
2	1.5 ppm	$9.9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$

Fuente: Elaboración propia.

2.3.4.1. Método de adición de estándares

Posteriormente, se tomaron 4 alícuotas de 5 ml de la muestra de agua residual sintética dopada con LEV y PAR y fueron traspasadas a 4 balones aforados de 50 ml donde se agregaron 4 volúmenes diferentes; un estándar que contiene una concentración de $2.69 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ LEV y otro estándar que contiene $6.6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PAR.

Se realizó este procedimiento para los dos niveles de concentración del agua residual sintética.

Tabla 6. Cantidades de adición de los estándares de LEV y PAR

Estándar de LEV (1 ppm)	Estándar de PAR (1 ppm)
0 μl	0 μl
2 μl	3 μl
4 μl	6 μl
6 μl	9 μl

Fuente: Elaboración propia.

Se construyó las gráficas usando los resultados de los picos de corriente máxima versus los mililitros de los estándares agregados y se insertó la línea de tendencia a partir de la

cual se tomó los valores de la pendiente (m) y el intercepto (b) para obtener la concentración de los analitos contenidos en las muestras de agua residual sintética mediante la aplicación de la siguiente fórmula form (1)⁴⁹:

$$CM = \frac{(b)x(Cs)}{(m)x(Vm)} \quad (1)$$

CM= concentración de la muestra (mg/L)

b= intercepto (mA)

Cs= concentración del estándar (mg/L)

m= pendiente (mA/ml)

Vm= volumen de la muestra problema (ml)

El método de adición de estándares establece la concentración desconocida del analito (LEV y PAR) en la muestra que es analizada agregando una cantidad definida de una solución estándar de concentración conocida⁴⁹. Mediante este procedimiento se obtuvieron los resultados de la concentración encontrada establecidos en la Tabla 12.

2.3.5. Optimización de los parámetros en voltamperometría cíclica

2.3.5.1. Efecto del rango de escaneo

Para la optimización del rango de escaneo se preparó una solución de $1,349 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de LEV y otra solución de $3.3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PAR ambas disueltas en la solución electrolítica de acetato 0.1 mol L^{-1} (pH 5.5) y se procedió a hacer barridos a diferentes velocidades en un rango de 10 a 70 mV s^{-1} (Figura 8 y 9).

Para todas las determinaciones por voltamperometría cíclica el electrodo fue sujeto a un potencial de entre -1 y + 2 V.

2.3.6. Optimización de los parámetros en voltamperometría de onda cuadrada

2.3.6.1. Efecto de la solución buffer

El efecto de la solución buffer en la respuesta electroquímica por el método de SWV usando un electrodo de teflón dopado con punta de platino en presencia de $2.69 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ LEV y $1.32 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de PAR fue evaluada usando una solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1} (pH 5.5) y una solución buffer de fosfato 0.1 mol L^{-1} (pH 6) (Figura 10 y 11).

Para todas las cuantificaciones por SWV se aplicó un potencial entre 0 y + 2 V.

2.3.6.2. Efecto del pH de la solución buffer

El efecto del pH de la solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1} se evaluó por SWV usando un electrodo de TPt en presencia de $2,6 \times 10^{-6} \text{ L}^{-1}$ LEV a niveles de pH de 4, 5, 5.5 y 6 (Figura 12).

2.3.6.3. Efecto de la frecuencia (f)

Este es uno de los primeros parámetros que deben ser optimizados en SWV ya que influye directamente en la velocidad del proceso electroquímico y ofrece información sobre la sensibilidad de la técnica²⁹. Se realizaron pruebas de frecuencia en el rango de 10 a 100 Hz para la oxidación de LEV con un pulso de amplitud ΔE_p constante de 100 mV en presencia de $2.69 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de LEV. Solo para este parámetro se aplicó un potencial diferente, con valores de 0 y + 4 V (Figura 13).

2.3.6.4. Efecto del pulso de amplitud (ΔE_p)

La literatura sugiere pulsos de amplitud pequeños^{22,25,29} que varían desde 10 mV hasta 100 mV. Se realizaron varios barridos entre este rango de pulsos de amplitud por SWV usando un electrodo de TPt en presencia de $2.69 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ LEV y 0.1 mol L^{-1} de solución buffer de acetato (pH 5.5).

2.3.6.5. Incremento de escaneo (ΔE_s)

El producto del incremento de escaneo y la frecuencia definen el rango de escaneo, parámetro del cual depende el incremento del potencial de los picos. En el presente estudio, el incremento de escaneo varió de 1 a 15 mV.

2.3.7. Determinación electroquímica de levofloxacin y paracetamol

Se obtuvieron las curvas de calibración usando SWV en presencia de diferentes concentraciones de LEV y PAR. Los parámetros de control establecidos en la experimentación fueron los descritos en la Tabla 7. La Figura 14 muestra los resultados obtenidos de la determinación individual de LEV en rangos de concentración de $1,349 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ hasta $1.349 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ y en la Figura 16 se muestran los resultados de la determinación individual de PAR en rangos de concentración de $6.6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ hasta $3.3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Con cada una de las diluciones se realizaron 5 repeticiones para obtener su promedio de corriente y con estos valores construir la curva de calibrado y la ecuación de la recta.

2.3.8. *Determinación electroquímica simultánea de levofloxacin y paracetamol*

La determinación simultánea de LEV y PAR fue llevada a cabo por SWV utilizando como solución electrolítica 0.1 mol L⁻¹ de solución buffer de acetato pH 5.5. Los parámetros establecidos en la determinación por SWV son los establecidos en la Tabla 7. Los voltamogramas fueron obtenidos usando una concentración fija de un analito mientras se variaba la concentración del otro analito. En primer lugar, se prepararon diluciones con diferentes concentraciones de LEV en un rango de 1,349 x10⁻⁷ mol L⁻¹ hasta 1.349 x10⁻⁵ mol L⁻¹ y una concentración fija de PAR de 3.3 x10⁻⁵ mol L⁻¹ (Tabla 3). Posteriormente, se prepararon diluciones con diferentes concentraciones de PAR en un rango de 6.6 x10⁻⁷ mol L⁻¹ hasta 3.3 x10⁻⁵ mol L⁻¹ y una concentración fija de LEV de 1,349 x10⁻⁷ mol L⁻¹ (Tabla 4).

Con cada una de las diluciones se realizaron 5 repeticiones para obtener su promedio de corriente (Figura 18 y 20) y con estos valores construir la curva de calibrado y la ecuación de la recta.

2.3.9. *Aplicación del electrodo de TPt en muestras de agua residual sintética*

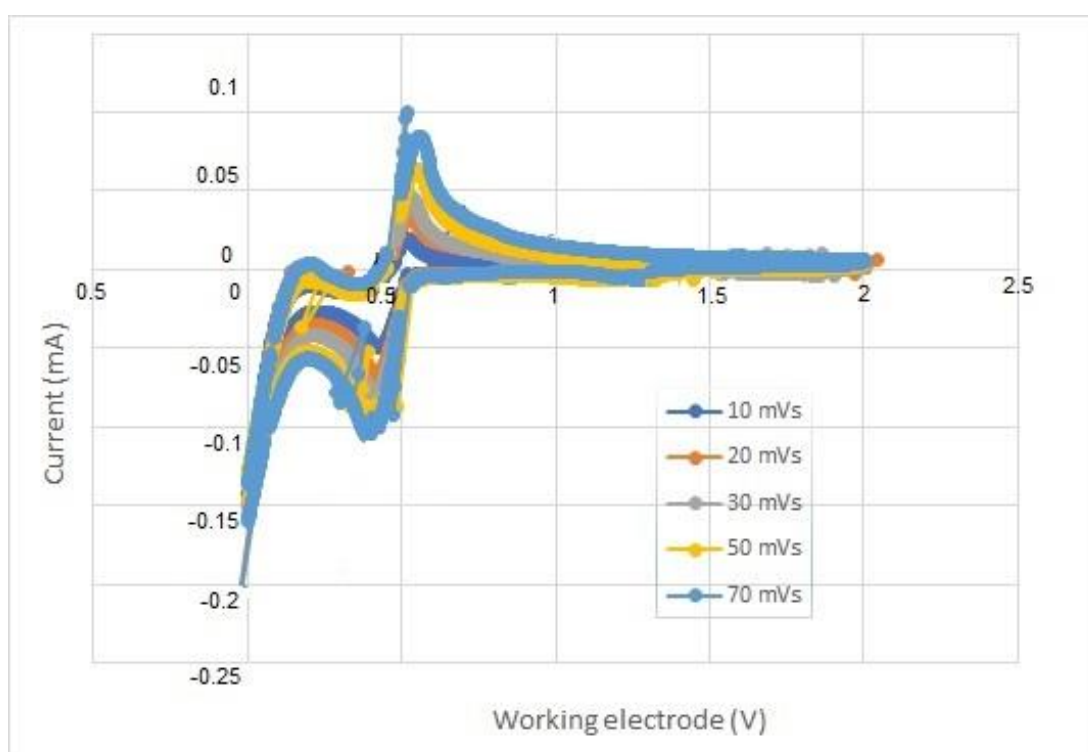
En primer lugar, se analizó una muestra de agua residual sintética por SWV para identificar cualquier reacción en los rangos de potencial estudiados y con los parámetros de control propuestos. El voltamograma de SWV no reveló ningún pico de oxidación correspondiente a los compuestos que contenía el agua residual sintética por lo tanto se procedió a realizar lecturas por triplicado mediante SWV de las muestras de agua residual sintética dopada y las concentraciones finales fueron halladas aplicando la fórmula del método de adición de estándares (Tabla 12).

CAPÍTULO 3: RESULTADOS

3.1. Optimización del rango de escaneo en voltamperometría cíclica

3.1.1. Efecto del rango de escaneo en voltamperometría cíclica en presencia de PAR

Figura 8. Se muestra el voltamograma de $3.3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Paracetamol a diferentes rangos de escaneo



Fuente: Elaboración propia.

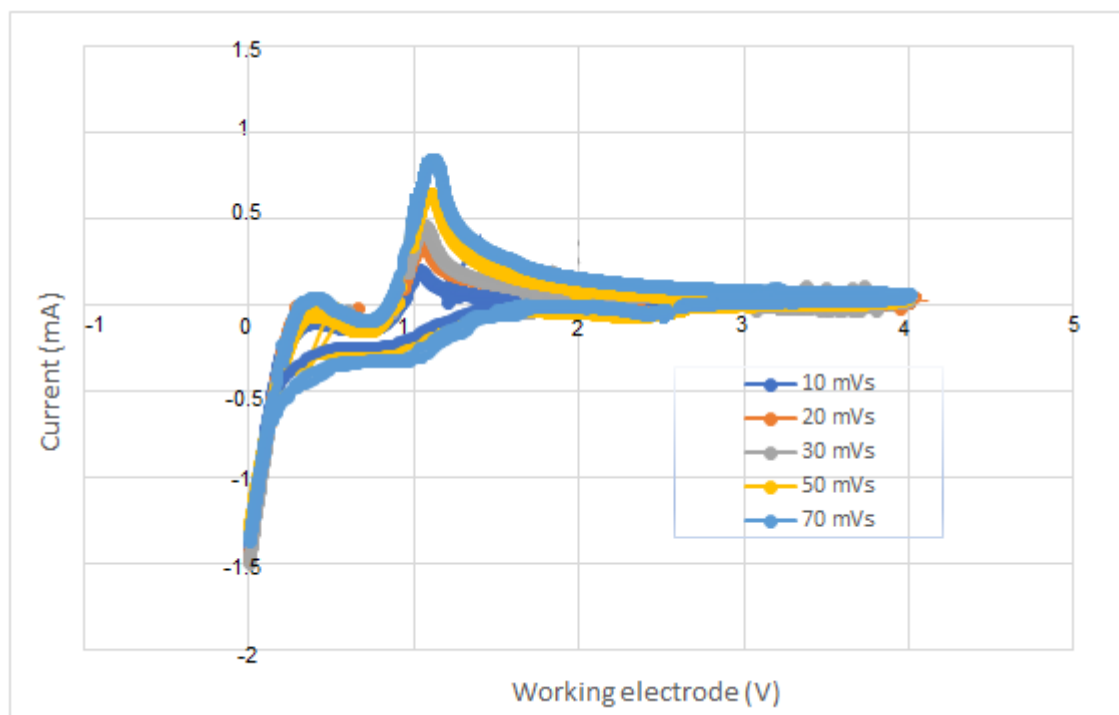
Voltamograma cíclico de electrodo de Pt en 0.1 mol L^{-1} de solución buffer de acetato (pH 5.5) obtenido a diferentes rangos de escaneo en presencia de $3.3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PAR a $T = 25^\circ\text{C}$.

El voltamograma cíclico muestra un pico anódico I_a a 0.6 V y un pico catódico I_c a 0.4 V, indicando un proceso cuasi reversible. Se pudo observar que con el incremento del rango de escaneo aumenta la intensidad de la corriente de pico. Sin embargo, con un rango

de escaneo alto (igual o superior a 70 mVs^{-1}) se producen más interferencias durante el proceso por lo cual se determinó que la velocidad óptima de trabajo es 50 mVs^{-1} .

3.1.2. Efecto del rango de escaneo en voltamperometría cíclica en presencia de LEV

Figura 9. Se muestra el voltamograma de $1,349 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de Levofloxacin a diferentes rangos de escaneo



Fuente: Elaboración propia.

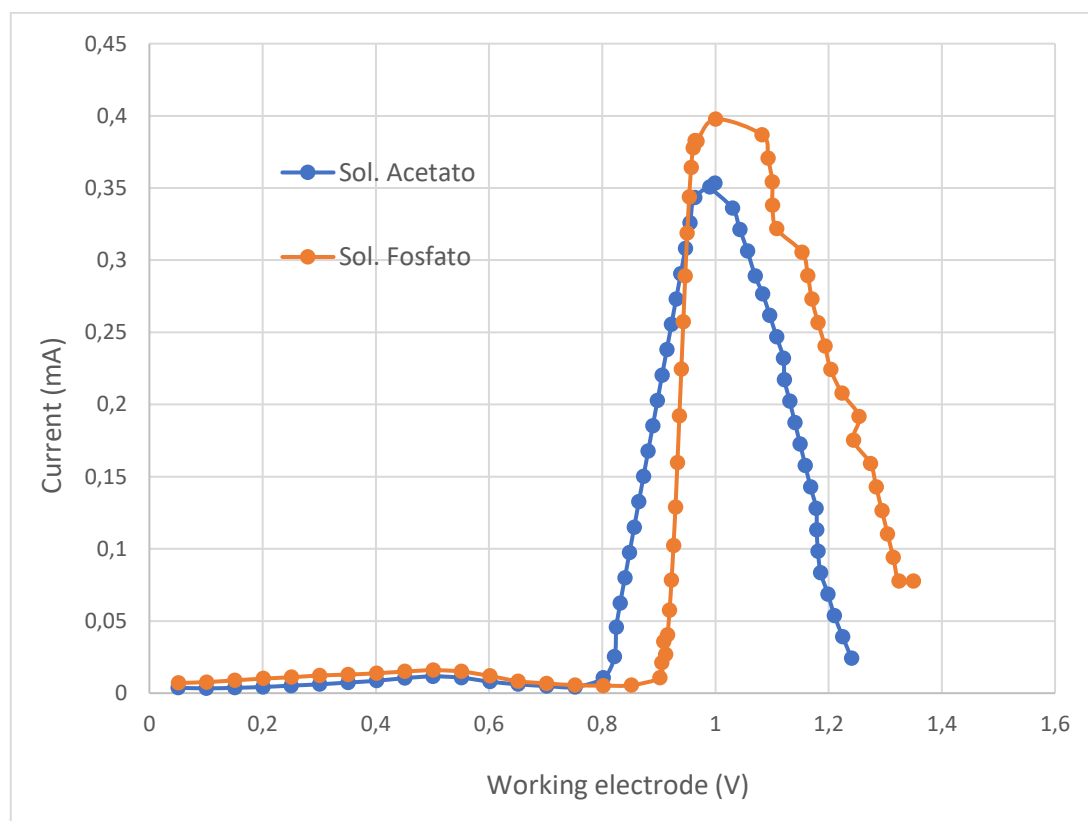
Voltamograma cíclico de electrodo de Pt en 0.1 mol L^{-1} de solución buffer de acetato (pH 5.5) obtenido a diferentes rangos de escaneo en presencia de $1,349 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de LEV a $T = 25^\circ\text{C}$.

En presencia de Levofloxacin el voltamograma cíclico presentó un pico anódico I_a a 1 V y no mostró ningún pico catódico por lo que se determina que el proceso es irreversible. Al igual que con el Paracetamol, la intensidad de corriente de pico aumenta proporcionalmente con el aumento del rango de escaneo y se observó que a una velocidad igual o superior a 70 mV s^{-1} se presentan más interferencias en la gráfica por lo que se determinó que la velocidad óptima de trabajo es 50 mVs^{-1} .

3.2. Optimización de los parámetros de control en voltamperometría de onda cuadrada

3.2.1. Efecto de la solución buffer

Figura 10. Se observa la respuesta electroquímica de la solución buffer de acetato y fosfato en presencia de $1.34 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Levofloxacina

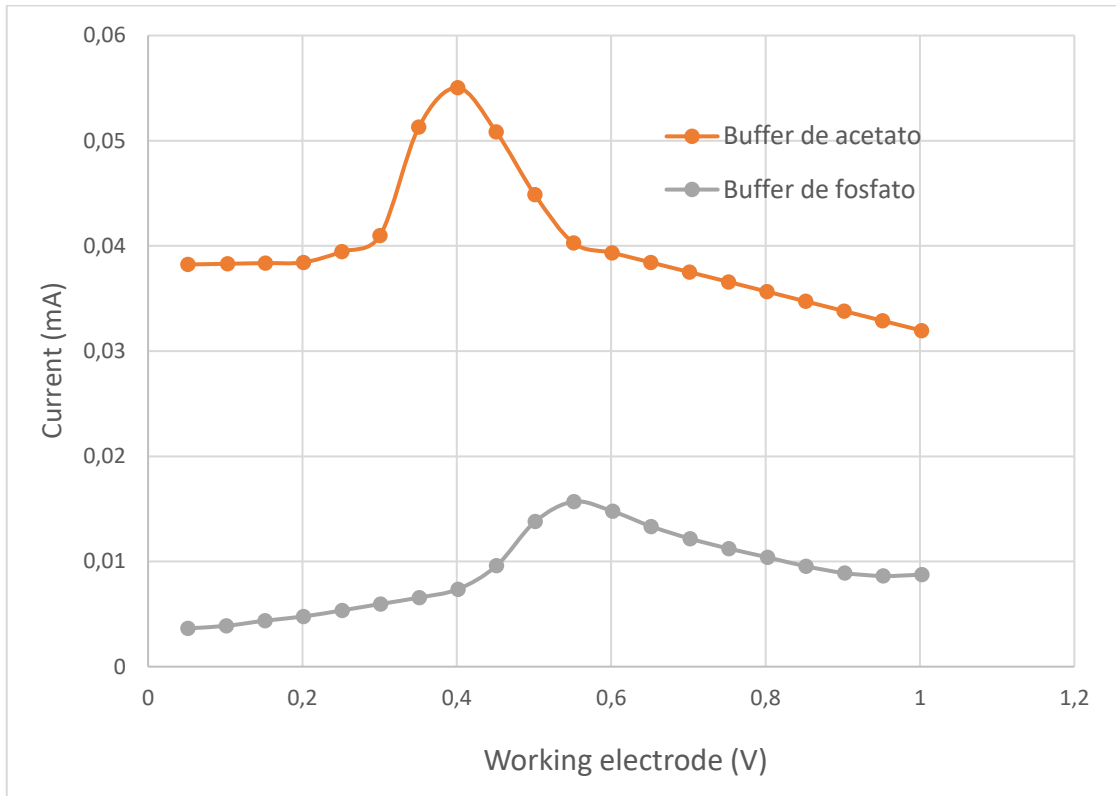


Fuente: Elaboración propia.

Efecto de la solución buffer en la respuesta electroquímica usando 0.1 mol L^{-1} de solución buffer de acetato (pH 5.5) y buffer de fosfato (pH 6). Condiciones de la SWV: $f=10 \text{ Hz}$, $\Delta E_p=100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$; $[\text{LEV}] = 1.34 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Se observó una mejor respuesta electroquímica usando como soporte electrolítico la solución buffer de acetato obteniendo una intensidad de pico más pronunciada y definida en comparación a la solución buffer de fosfato.

Figura 11. Se muestra la respuesta electroquímica de la solución buffer de acetato y fosfato en presencia de $1.32 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Paracetamol



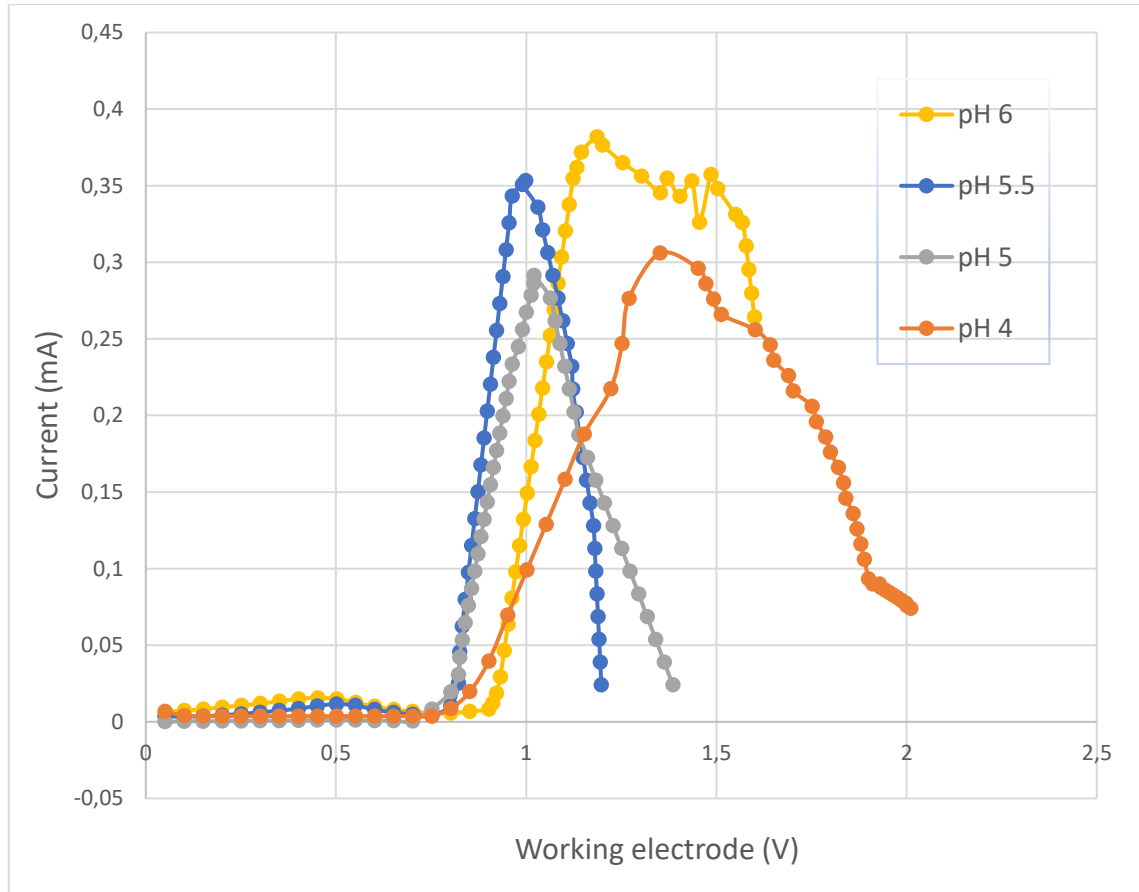
Fuente: Elaboración propia.

Efecto de la solución buffer en la respuesta electroquímica usando 0.1 mol L^{-1} de solución buffer de acetato (pH 5.5) y buffer de fosfato (pH 6). Condiciones de la SWV: $f=10 \text{ Hz}$, $\Delta E_p=100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$; $[\text{PAR}]= 1.32 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

En presencia de Paracetamol, se observó una mayor diferencia en la intensidad del pico de oxidación puesto que con la solución buffer de fosfato no se da una correcta reacción que eleve la intensidad de corriente hasta un valor aceptable para ser identificado contrario al valor obtenido con la solución buffer de acetato donde se observa un pico bien pronunciado a un potencial característico del fármaco. Por lo tanto, se escogió como soporte electrolítico la solución buffer de acetato 0.1 mol L^{-1} para todos los análisis.

3.2.2. Efecto del pH de la solución buffer

Figura 12. Se aprecia los voltamogramas arrojados a diferentes niveles de pH de la solución buffer de acetato en presencia de $2,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Levofloxacinina



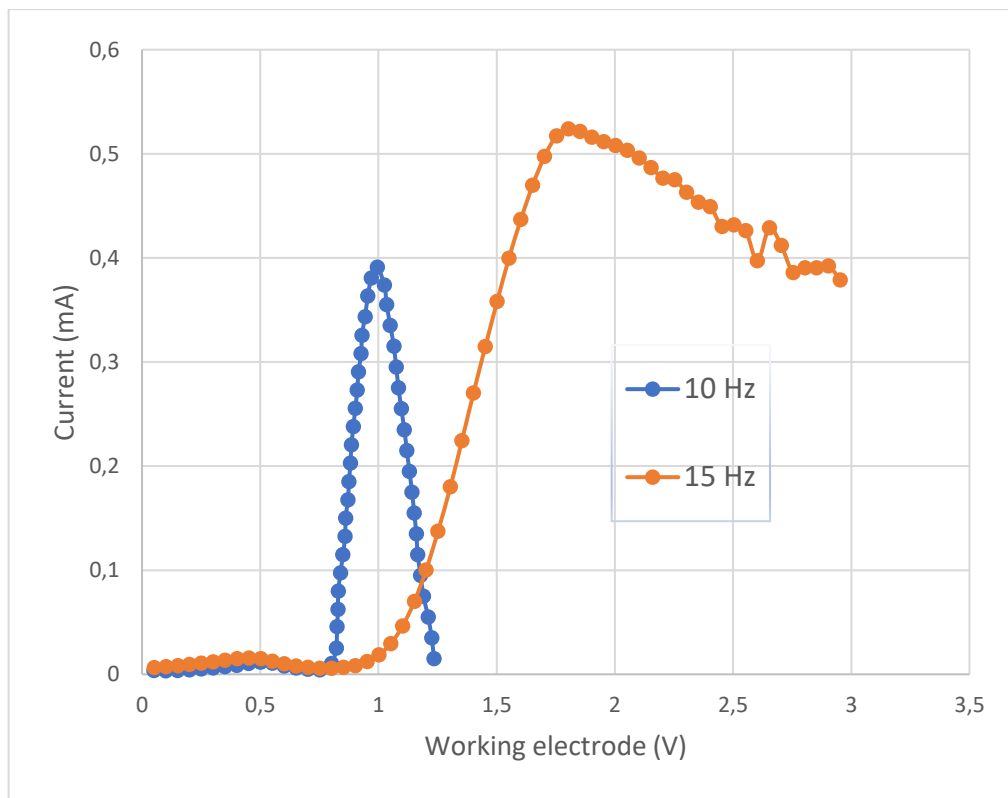
Fuente: Elaboración propia.

El efecto del pH en la respuesta electroquímica usando $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de solución buffer de acetato a diferentes niveles de pH. Condiciones de la SWV: $f=10 \text{ Hz}$, $\Delta E_p=100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$; $[\text{LEV}] = 2,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Se identificó una mejor respuesta electroquímica a niveles de pH de entre 5 y 5.5 de la solución buffer de acetato. Sin embargo, a un pH de 5.5 se obtiene un pico más elevado y pronunciado a un valor de potencial característico de la Levofloxacinina por lo cual se trabajó con la solución buffer de acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a un pH de 5.5 para todos los análisis.

3.2.3. Efecto de la frecuencia

Figura 13. Se aprecia los voltamogramas en presencia de $2.69 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Levofloxacina a dos valores de frecuencia diferentes



Fuente: Elaboración propia.

El efecto de la frecuencia en la respuesta electroquímica usando 0.1 mol L^{-1} de solución buffer de acetato pH 5.5. Condiciones de la SWV: $f=10$ y 15 Hz , $\Delta E_p=100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$; $[\text{LEV}] = 2.69 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

A un pulso de amplitud ΔE_p constante de 100 mV se obtuvo una mejor densidad de la corriente de pico anódico con un valor de frecuencia de 10 Hz observándose que; a valores de frecuencia más elevados no ocurría la reacción de oxidación deseada, la elevación de la corriente no se producía en un potencial adecuado e incrementaba proporcionalmente con el incremento de la frecuencia. Por lo cual se seleccionó un valor de frecuencia de 10 Hz para todos los análisis por SWV.

3.2.4. Efecto del pulso de amplitud

Se evaluó el pulso de amplitud ΔE_p en un rango de 10 a 100 mV a una frecuencia constante de 10 Hz obteniendo diferentes pulsos de amplitud de la onda cuadrada donde se estableció que con un valor de 100 mV y una frecuencia de 10 Hz daba como resultado un voltamograma bien definido, con valores menores el voltamograma se deformaba de tal manera que no era posible identificar el fármaco en cuestión.

3.2.5. Efecto del incremento de escaneo

Al establecer una frecuencia baja de 10 Hz la mejor velocidad de exploración se obtuvo con un incremento de escaneo $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$, dando una velocidad resultante de 100 mVs^{-1} . Con valores menores o mayores al indicado la onda cuadrada se encogía o alargaba de tal manera que no presentaba un voltamograma definido.

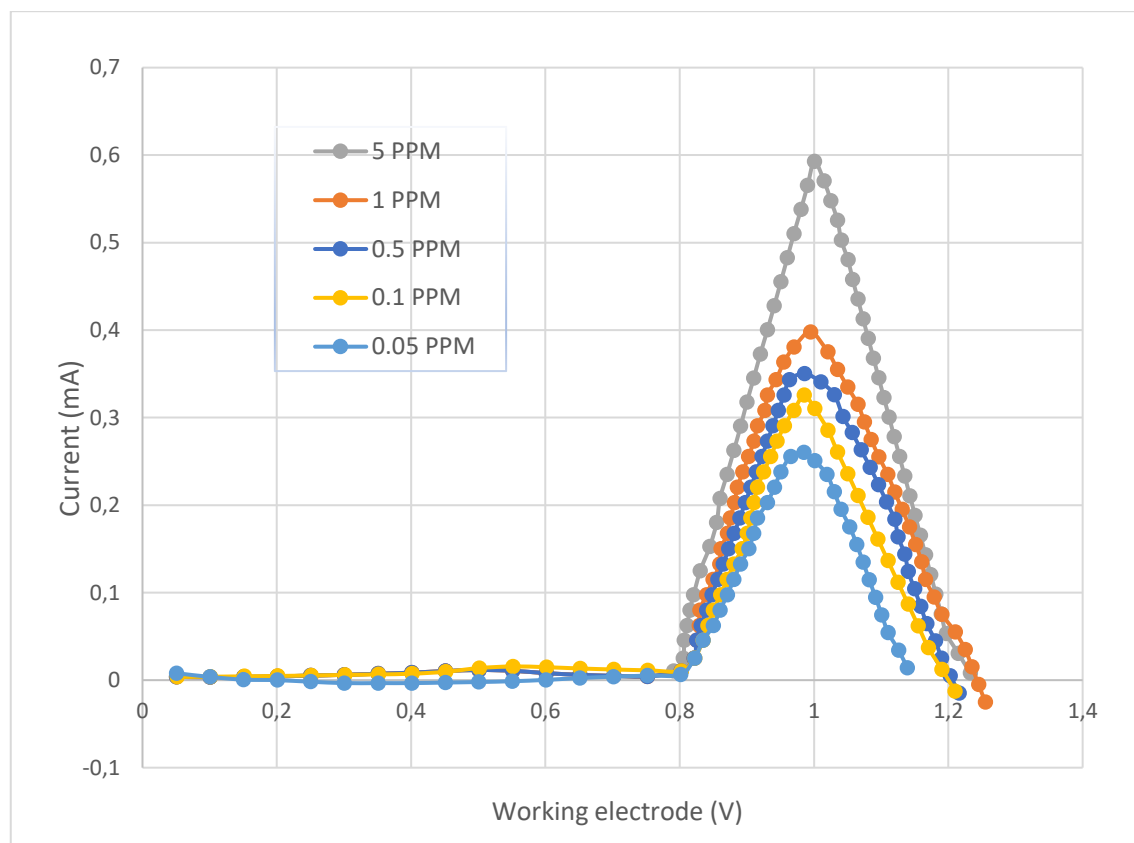
Tabla 7. Parámetros óptimos para la determinación individual y simultánea de LEV y PAR por SWV

Parámetros	Rango de estudio	Valores óptimos
Frecuencia de la SWV (f)	10-100 Hz	10 Hz
Amplitud de la SWV (ΔE_p)	10-100 mV	100 mV
Incremento de escaneo de la SWV (ΔE_s)	1-15 mV	10 mV

Fuente: Elaboración propia.

3.2.6. Efecto de la concentración del analito

Figura 14. Se observa la respuesta electroquímica de diferentes concentraciones de Levofloxacin



Fuente: Elaboración propia.

Voltamograma obtenido por SWV usando un electrodo de TPt en 0,1 mol L⁻¹ de solución buffer de acetato pH 5,5. Condiciones de la SWV: $f=10$ Hz, $\Delta E_p=100$ mV, $\Delta E_s = 10$ mV; concentraciones de LEV= $1,349 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, $2,69 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, $1,34 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, $2,69 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, $1,349 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

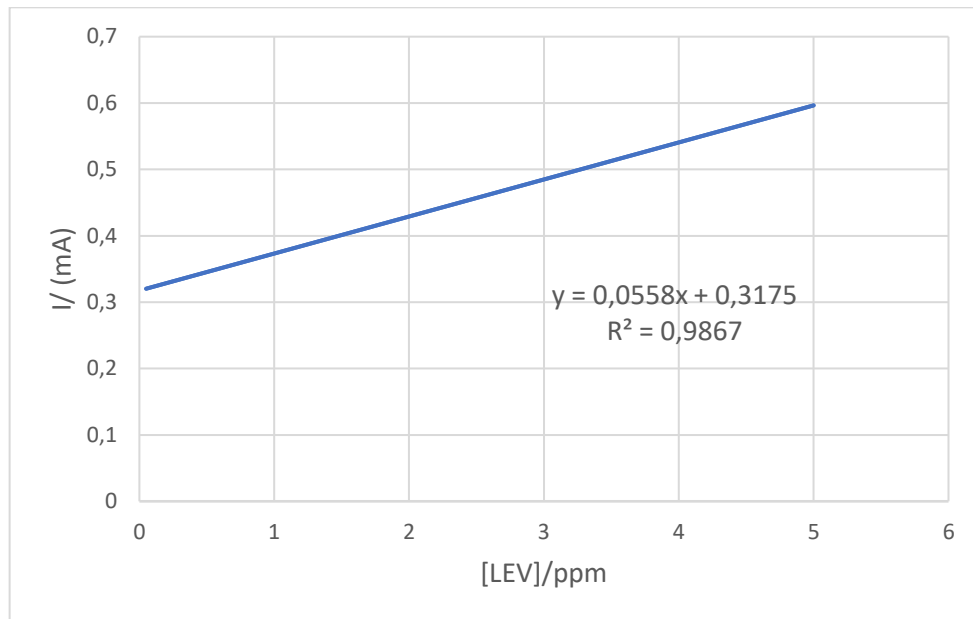
Linealidad

La linealidad fue obtenida a partir de 5 repeticiones a los 5 niveles de concentración de Levofloxacin arrojando un valor de $R^2 = 0,9867$ y un $r = 0,9933$ con una pendiente de 0,0558 y un intercepto de 0,3175. Se puede observar que las intensidades de corrientes de las curvas incrementan linealmente con el incremento de la concentración del analito obteniéndose un coeficiente de determinación (R^2) y un coeficiente de correlación (r)

aceptable. La ecuación correspondiente al proceso de difusión controlado es dada a continuación ec. (1):

$$I(mA) = 0.0558[LEV] + 0,3175 \text{ ppm} \quad (1)$$

Figura 15. Curva de calibrado y ecuación de la recta de las lecturas de Levofloxacin



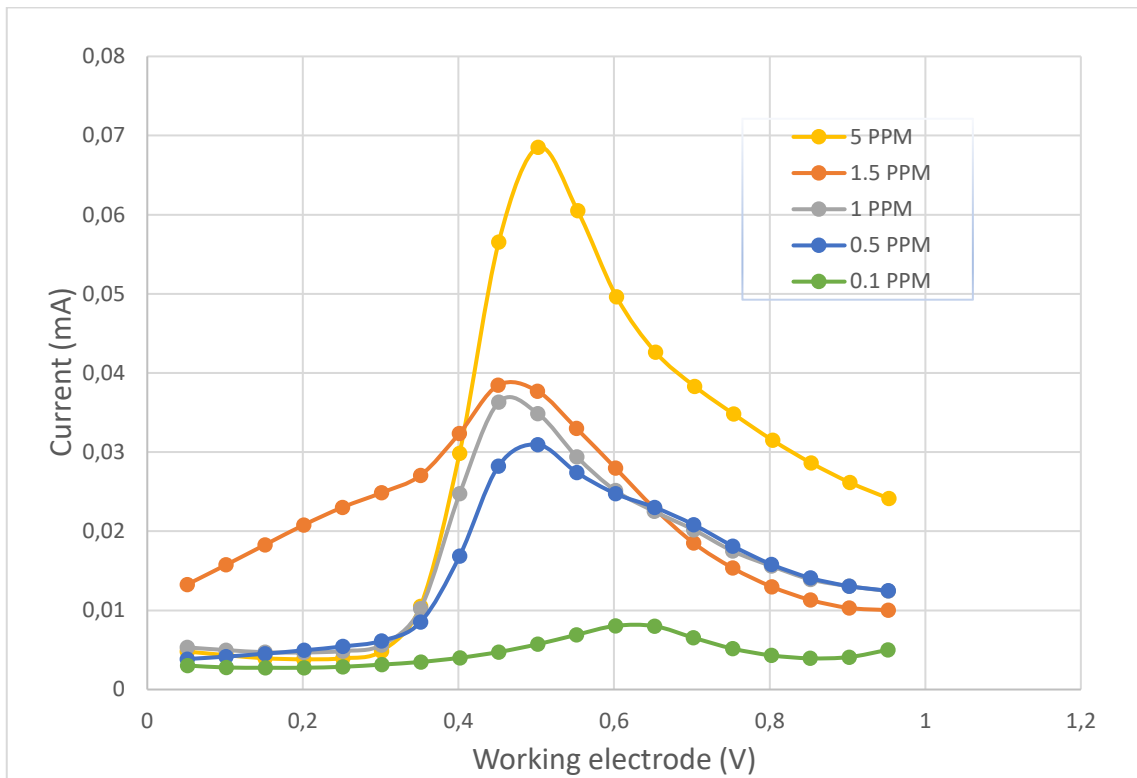
Fuente: Elaboración propia.

Tabla 8. Límite de detección y cuantificación de la determinación individual de Levofloxacin

Número de repeticiones del blanco	10	
Señal promedio del blanco	0.001634	mA
Desviación estándar	0.0002	
Pendiente	0.0558	
Límite de detección	0.011	ppm
Límite de cuantificación	0.037	ppm

Fuente: Elaboración propia.

Figura 16. Se muestra los voltamogramas arrojados a diferentes concentraciones de Paracetamol



Fuente: Elaboración propia.

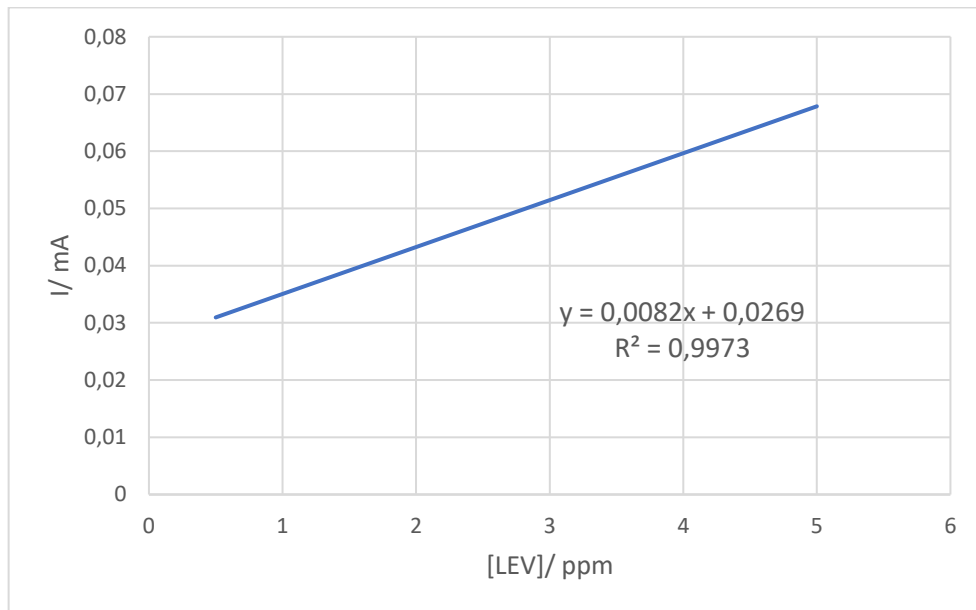
Voltamograma obtenido por SWV usando un electrodo de TPt en 0.1 mol L⁻¹ de solución buffer de acetato pH 5.5. Condiciones de la SWV: $f=10$ Hz, $\Delta E_p=100$ mV, $\Delta E_s = 10$ mV; concentraciones de PAR= 6.6×10^{-7} mol L⁻¹, 3.3×10^{-6} mol L⁻¹, 6.6×10^{-6} mol L⁻¹, 9.9×10^{-6} mol L⁻¹, 3.3×10^{-5} mol L⁻¹.

Linealidad

Se obtuvo la linealidad para el efecto de la variación de concentraciones de Paracetamol a partir de 5 repeticiones a los 5 niveles de concentración dando como resultado un valor de $R^2 = 0,9973$ y un $r = 0,9986$ con una pendiente de 0,0082 y un intercepto de 0,0269. Se puede observar que las intensidades de corrientes de las curvas incrementan linealmente con el incremento de la concentración del analito obteniéndose un coeficiente de determinación (R^2) y un coeficiente de correlación (r) aceptable. La ecuación correspondiente al proceso de difusión controlado es dada a continuación ec. (2):

$$I(\text{mA}) = 0,0082[\text{PAR}] + 0,0269 \text{ ppm} \quad (2)$$

Figura 17. Curva de calibrado y ecuación de la recta en respuesta de las lecturas de Paracetamol



Fuente: Elaboración propia.

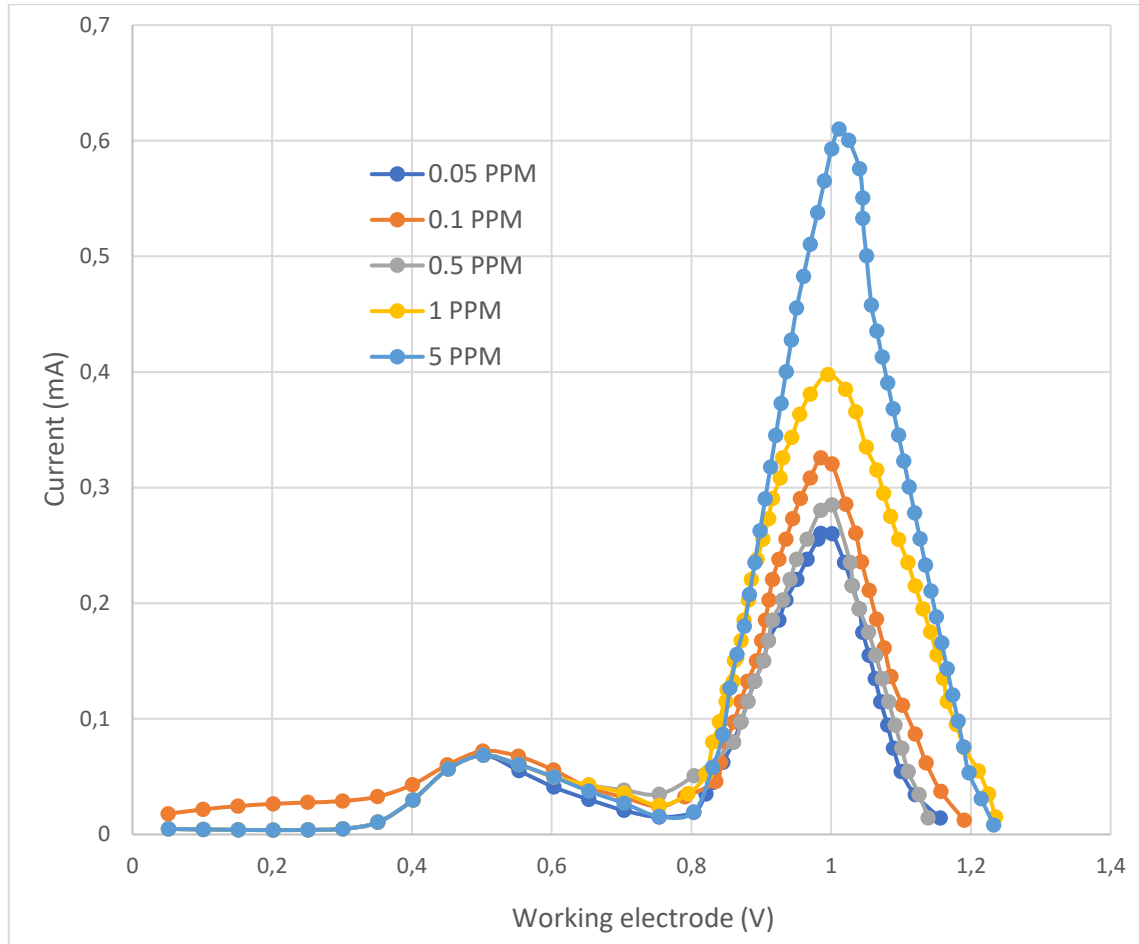
Tabla 9. Límite de detección y cuantificación de la determinación individual de Paracetamol

Número de repeticiones del blanco	10	
Señal promedio del blanco	0.0019	mA
Desviación estándar	0.00028	
Pendiente	0.0082	
Límite de detección	0.1	ppm
Límite de cuantificación	0.34	ppm

Fuente: Elaboración propia.

3.2.7. Efecto de la concentración simultánea de los analitos

Figura 18. Se visualiza el efecto de la cuantificación simultánea de diferentes concentraciones de LEV a una concentración fija de PAR



Fuente: Elaboración propia.

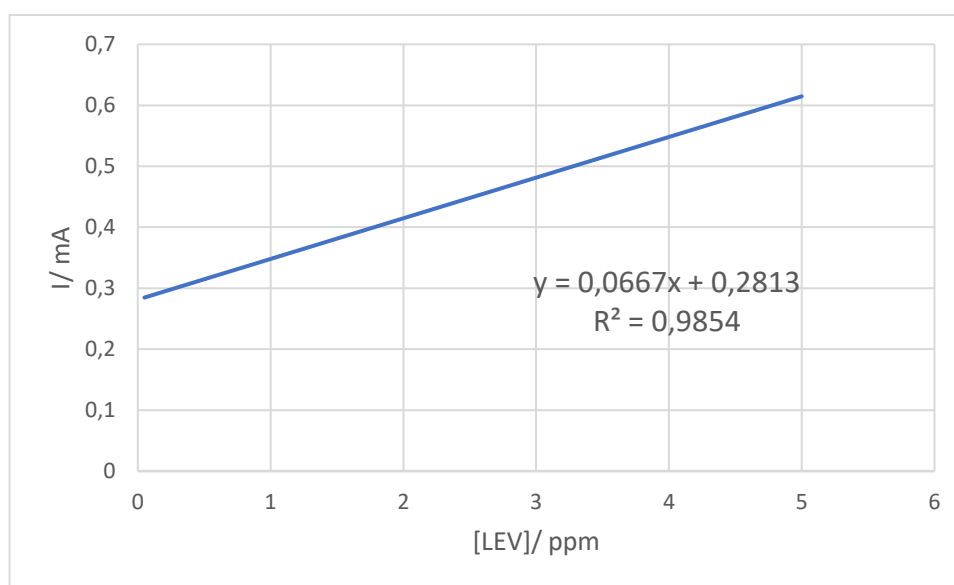
Voltamograma obtenido por SWV usando un electrodo de TPt en 0.1 mol L^{-1} de solución buffer de acetato pH 5.5. Condiciones de la SWV: $f=10 \text{ Hz}$, $\Delta E_p=100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$; concentraciones de LEV = $1,349 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $2.69 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1.34 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $2.69 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ y $1.349 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; concentración fija de PAR= $3.3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Linealidad

La linealidad fue obtenida a partir de 5 repeticiones a los 5 niveles de concentración de Levofloxacin junto con 1 nivel de concentración de PAR arrojando un valor de $R^2 = 0,9854$ y un $r= 0,9926$ con una pendiente de $0,0667$ y un intercepto de $0,2313$. Se puede

observar que las intensidades de corrientes de las curvas incrementan linealmente con el incremento de la concentración del analito obteniéndose un coeficiente de determinación (R^2) y un coeficiente de correlación (r) aceptable.

Figura 19. Curva de calibrado y ecuación de la recta de las lecturas simultáneas de LEV y PAR



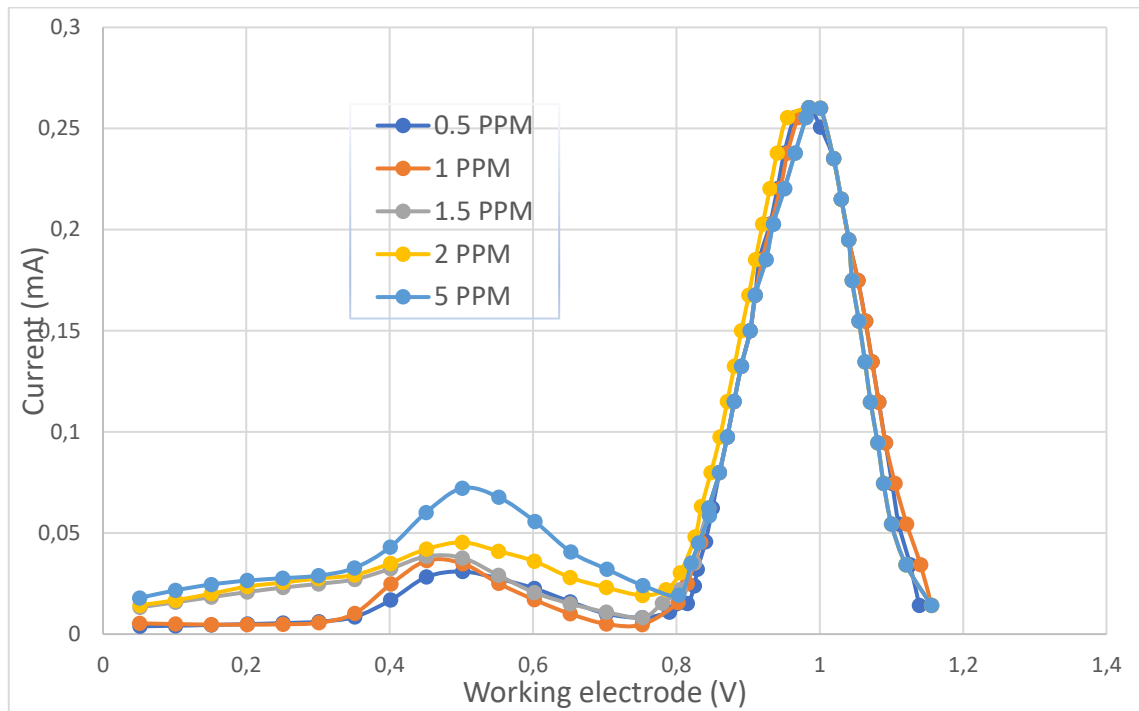
Fuente: Elaboración propia.

Tabla 10. Límite de detección y cuantificación de la determinación simultánea de Levofloxacin y Paracetamol

Número de repeticiones del blanco	10	
Señal promedio del blanco	0.0017	mA
Desviación estándar	0.00028	
Pendiente	0.0667	
Límite de detección	0.012	ppm
Límite de cuantificación	0.04	ppm

Fuente: Elaboración propia.

Figura 20. Se visualiza el efecto de la cuantificación simultánea de diferentes concentraciones de PAR a una concentración fija de LEV



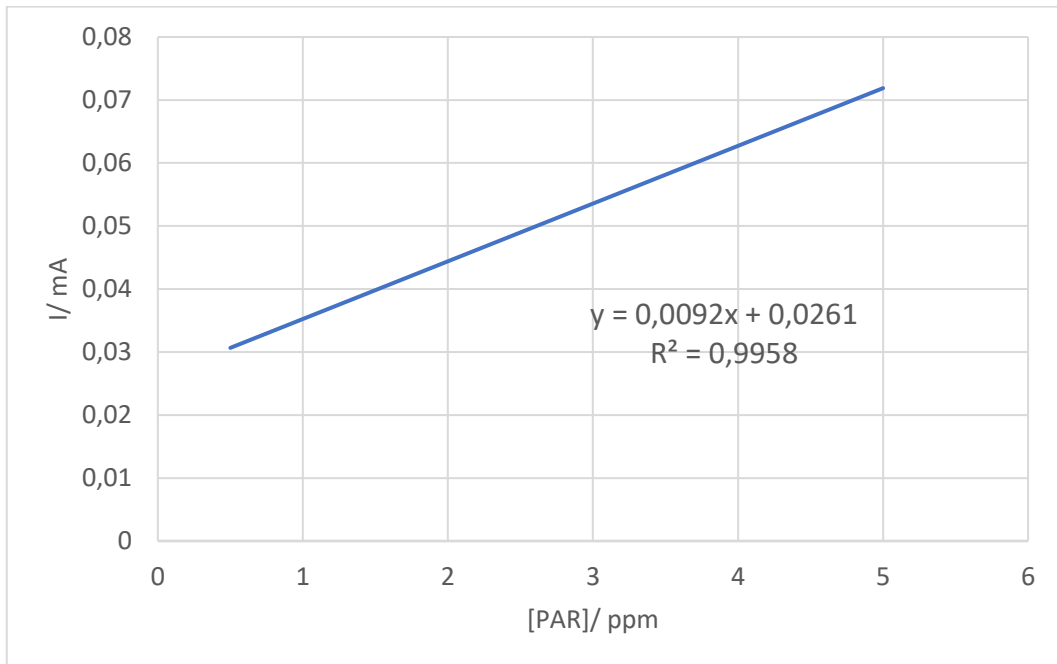
Fuente: Elaboración propia.

Voltamograma obtenido por SWV usando un electrodo de TPt en 0.1 mol L^{-1} de solución buffer de acetato pH 5.5. Condiciones de la SWV: $f=10 \text{ Hz}$, $\Delta E_p=100 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$; concentraciones de PAR= $6.6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $6.6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $9.9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $1.32 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ y $3.3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; concentración de LEV= $1,349 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Linealidad

La linealidad fue obtenida a partir de 5 repeticiones a los 5 niveles de concentración de Paracetamol junto con 1 nivel de concentración de PAR arrojando un valor de $R^2 = 0,9958$ y un $r = 0,9979$ con una pendiente de 0,0092 y un intercepto de 0,0261. Se puede observar que las intensidades de corrientes de las curvas incrementan linealmente con el incremento de la concentración del analito obteniéndose un coeficiente de determinación (R^2) y un coeficiente de correlación (r) aceptable.

Figura 21. Curva de calibrado y ecuación de la recta de las lecturas simultáneas de LEV y PAR



Fuente: Elaboración propia.

Tabla 11. Límite de detección y cuantificación de la determinación simultánea de Paracetamol y Levofloxacin

Número de repeticiones del blanco	10	
Señal promedio del blanco	0.001855	mA
Desviación estándar	0.0003	
Pendiente	0.0092	
Límite de detección	0.10	ppm
Límite de cuantificación	0.35	ppm

Fuente: Elaboración propia.

Se puede apreciar claramente la linealidad que presentan las curvas con el incremento de las concentraciones de los analitos. Los rangos de concentración lineal fueron de $1,349 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ hasta $1.349 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (LEV) y de $6.6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ hasta $3.3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (PAR), con límites de detección (LD) de $2,96 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (LEV) y $6,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (PAR) para determinaciones individuales, y $3,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (LEV) y $2,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (PAR) para determinaciones simultáneas.

Los resultados obtenidos en las determinaciones simultáneas por voltamperometría de onda cuadrada de LEV y PAR arrojaron resultados muy similares a los obtenidos en las determinaciones individuales de LEV y PAR. Se puede concluir que no existen interferencias entre ambos compuestos en los rangos de concentración estudiados.

3.3. Aplicación del electrodo de TPt en muestras de agua residual sintética

Tabla 12. Resultados obtenidos de los análisis del agua residual sintética

Muestras de ARS	Concentración agregada (mol L ⁻¹)	Concentración encontrada (mol L ⁻¹)	% de recuperación*	Criterio de aceptación
LEV	1,349 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	1,36 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	100,81	Entre 95% - 107 %
PAR	6.6 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	6,9 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	104,54	
LEV	2.69 x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	2.5 x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	92,93	
PAR	9.9 x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	9.6 x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	96,97	

Fuente: Elaboración propia.

$$*\text{Porcentaje de recuperación} = [C_{\text{encontrada}}/C_{\text{agregada}}] \times 100$$

Los resultados del porcentaje de recuperación del método propuesto se encuentran dentro de los rangos obtenidos por otros métodos reportados en la literatura donde varía desde 95% hasta 107%^{22,25,29,50}.

CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES

Diferentes investigaciones y reportes de estudios sobre contaminantes emergentes han demostrado el gran riesgo para la salud pública y para el medio ambiente que representan este tipo de contaminantes, entre ellos destacan por su ecotoxicidad los fármacos, ya que se caracterizan por poseer compuestos activos y metabolitos que actúan como disruptores endocrinos los cuales alteran principalmente las funciones hormonales de las especies acuáticas afectando principalmente su reproducción y crecimiento.

Ante la necesidad de valorar esta problemática ambiental cada vez más alarmante la presente investigación estudió dos técnicas de voltamperometría para la determinación y cuantificación de dos fármacos de habitual consumo como lo son la Levofloxacin (antibiótico) y el Paracetamol (analgésico). Se optimizó los parámetros de control para ambas técnicas en base a las respuestas de la interfase conductor-disolución seleccionando para la técnica de Voltamperometría cíclica una velocidad óptima de escaneo de 50 mVs^{-1} y para la técnica de Voltamperometría de onda cuadrada una frecuencia, pulso de amplitud e incremento de escaneo óptimos de 10 Hz, 100 mV y 10 mV, respectivamente.

El electrodo de teflón dopado con punta de platino (TPt) mostró excelentes respuestas electroquímicas para la determinación y cuantificación individual y simultánea de los analitos en un soporte electrolítico de solución buffer de acetato de sodio 0.1 mol L^{-1} pH 5.5, siendo esta una nueva propuesta de aplicación para este electrodo en análisis biológicos.

La técnica de voltamperometría de onda cuadrada usando un electrodo de teflón dopado con punta de platino mostró una buena linealidad en el análisis simultáneo de diferentes rangos de concentraciones para ambos analitos $r > 0.99$ y $R^2 > 0.98$.

También arrojó porcentajes satisfactorios de recuperación del analito, de entre 92 y 104 %, comparados con los valores de otras investigaciones reportadas. Bajos valores de límite de detección (LD) y cuantificación (LC) fueron registrados haciendo posible la

aplicación de esta técnica en concentraciones bajas y haciendo del método propuesto una alternativa fiable, sencilla, rápida y barata.

CAPÍTULO 5: RECOMENDACIONES

Una parte fundamental para el correcto desarrollo de las técnicas voltamperométricas es realizar una correcta limpieza y secado de los electrodos previo a su uso debido a que la superficie del electrodo donde ocurren las reacciones de óxido reducción es muy sensible y cualquier interferencia afecta en la respuesta electroquímica.

En la presente investigación se utilizó un electrodo de teflón dopado con punta de platino el cual arrojó buenos resultados en presencia de los analitos seleccionados. Sin embargo, se recomienda continuar con los estudios para la detección y cuantificación de otros fármacos con el fin de ampliar el uso del electrodo.

Pese a la buena linealidad que presentaron los rangos de las concentraciones seleccionadas de los analitos es recomendable seguir modificando los parámetros de control con el fin de obtener límites de detección y cuantificación más bajos puesto que la presencia de este tipo de contaminantes en el ambiente se encuentra en cantidades traza.

El método propuesto se realizó en una matriz de agua residual sintética debido a que el principal objetivo era la optimización de las técnicas voltamperométricas aplicadas. Como ya se ha mencionado anteriormente, la principal vía de entrada de los contaminantes emergentes al ambiente son las plantas de tratamiento de aguas residuales, es por eso, que se recomienda continuar con la aplicación del método, pero en matrices de muestras reales.

El estudio desarrollado muestra la importancia que acarrea la presencia de los contaminantes emergentes en el ambiente y abre una nueva línea de investigación debido a la necesidad inmediata de desarrollar y validar métodos de análisis sensibles que ayuden a seguir investigando el comportamiento y la presencia de estos contaminantes en matrices biológicas.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Zhou, Y.; Meng, J.; Zhang, M.; Chen, S.; He, B.; Zhao, H.; Li, Q.; Zhang, S.; Wang, T. Which Type of Pollutants Need to Be Controlled with Priority in Wastewater Treatment Plants: Traditional or Emerging Pollutants? *Environ. Int.* **2019**, *131* (June). <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104982>.
- (2) Teodosiu, C.; Gilca, A. F.; Barjoveanu, G.; Fiore, S. Emerging Pollutants Removal through Advanced Drinking Water Treatment: A Review on Processes and Environmental Performances Assessment. *J. Clean. Prod.* **2018**, *197*, 1210–1221. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.247>.
- (3) Peña-Guzmán, C.; Ulloa-Sánchez, S.; Mora, K.; Helena-Bustos, R.; Lopez-Barrera, E.; Alvarez, J.; Rodriguez-Pinzón, M. Emerging Pollutants in the Urban Water Cycle in Latin America: A Review of the Current Literature. *J. Environ. Manage.* **2019**, *237* (February), 408–423. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.100>.
- (4) Álvarez-Ruiz, R.; Picó, Y. Analysis of Emerging and Related Pollutants in Aquatic Biota. *Trends Environ. Anal. Chem.* **2020**, *25*. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00082>.
- (5) Fijalkowski, K. *Emerging Contaminants in Sludge (Endocrine Disruptors, Pesticides, and Pharmaceutical Residues, Including Illicit Drugs/Controlled Substances, Etc.)*; Elsevier Inc., 2019. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815907-1.00020-9>.
- (6) Wilkinson, J.; Hooda, P. S.; Barker, J.; Barton, S.; Swinden, J. Occurrence, Fate and Transformation of Emerging Contaminants in Water: An Overarching Review of the Field. *Environ. Pollut.* **2017**, *231*, 954–970. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.032>.
- (7) Botelho, G.; Tavares, C. J.; Vilas-vilela, J. L. Photocatalytic and Antimicrobial Multifunctional Nanocomposite Membranes for Emerging Pollutants Water Treatment Applications. *ECSN* **2020**, 126299.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126299>.

- (8) Huerta, B.; Jakimska, A.; Llorca, M.; Ruhí, A.; Margoutidis, G.; Acuña, V.; Sabater, S.; Rodriguez-Mozaz, S.; Barcelò, D. Development of an Extraction and Purification Method for the Determination of Multi-Class Pharmaceuticals and Endocrine Disruptors in Freshwater Invertebrates. *Talanta* **2015**, *132*, 373–381. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.09.017>.
- (9) Loos, R.; Tavazzi, S.; Mariani, G.; Suurkuusk, G.; Paracchini, B.; Umlauf, G. Analysis of Emerging Organic Contaminants in Water, Fish and Suspended Particulate Matter (SPM) in the Joint Danube Survey Using Solid-Phase Extraction Followed by UHPLC-MS-MS and GC-MS Analysis. *Sci. Total Environ.* **2017**, *607–608*, 1201–1212. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.039>.
- (10) Tan, J.; Lu, X.; Fu, L.; Yang, G.; Chen, J. Quantification of Cl-PAHs and Their Parent Compounds in Fish by Improved ASE Method and Stable Isotope Dilution GC-MS. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2019**, *186* (October), 109775. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109775>.
- (11) Mendoza, A.; Aceña, J.; Pérez, S.; López de Alda, M.; Barceló, D.; Gil, A.; Valcárcel, Y. Pharmaceuticals and Iodinated Contrast Media in a Hospital Wastewater: A Case Study to Analyse Their Presence and Characterise Their Environmental Risk and Hazard. *Environ. Res.* **2015**, *140*, 225–241. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.04.003>.
- (12) Jin, W.; Maduraiveeran, G. Electrochemical Detection of Chemical Pollutants Based on Gold Nanomaterials. *Trends Environ. Anal. Chem.* **2017**, *14* (April), 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2017.05.001>.
- (13) Núñez, M.; Borrull, F.; Pocurull, E.; Fontanals, N. Sample Treatment for the Determination of Emerging Organic Contaminants in Aquatic Organisms. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2017**, *97*, 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.007>.
- (14) Barrena Medina, A. Directiva 2013/39/UE Del Parlamento Europeo y Del Consejo, de 12 de Agosto de 2013, Por La Que Se Modifican Las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE En Cuanto a Las Sustancias Prioritarias En El Ámbito de La Política de Aguas (DOUE L 226, de 24 de Agosto D. *Actual. Jurídica*

Ambient. **2013**, 2013 (28), 22–23.

- (15) Environmental Protection Agency. Contaminantes de preocupación emergente, incluidos productos farmacéuticos y de cuidado personal. <https://www.epa.gov/wqc/contaminants-emerging-concern-including-pharmaceuticals-and-personal-care-products>.
- (16) Becerril Bravo, J. E. Contaminantes Emergentes En El Agua. *Rev. Digit. Univ.* **2009**, 10 (8), 1–7.
- (17) Cartagena, C. J. Emerging Organic Pollutants in Environment: Pharmaceutical Products. *Rev. Lasallista Investig.* **2011**, 8 (2), 143–153.
- (18) Zhou, S.; Di Paolo, C.; Wu, X.; Shao, Y.; Seiler, T. B.; Hollert, H. Optimization of Screening-Level Risk Assessment and Priority Selection of Emerging Pollutants – The Case of Pharmaceuticals in European Surface Waters. *Environ. Int.* **2019**, 128 (October 2018), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.034>.
- (19) Cuñat Zaira, A.; Ruiz, M. J. Ensayos de Ecotoxicidad de Los Fármacos y Efectos Tóxicos En El Medio Ambiente: Revisión. *Rev. Toxicol.* **2016**, 33 (2), 108–119.
- (20) Pérez Álvarez, J. A. Fármacos Como Contaminates Emergentes: Caracterización, Cuantificación y Eliminación En Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, Universidad de Oviedo, 2017.
- (21) Cruz, N. de la. Estudio de La Eliminación de Contaminantes Emergentes En Aguas Mediante Procesos de Oxidación Avanzados. *Repos. Inst. Diposit.ub.edu/dsp.* **2015**.
- (22) Wong, A.; Santos, A. M.; Fatibello-Filho, O. Simultaneous Determination of Paracetamol and Levofloxacin Using a Glassy Carbon Electrode Modified with Carbon Black, Silver Nanoparticles and PEDOT:PSS Film. *Sensors Actuators, B Chem.* **2018**, 255, 2264–2273. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.09.020>.
- (23) Psimadas, D.; Georgoulas, P.; Valotassiou, V.; Loudos, G. Molecular Nanomedicine Towards Cancer: *J. Pharm. Sci.* **2012**, 101 (7), 2271–2280. <https://doi.org/10.1002/jps>.
- (24) Hidi, I. J.; Jahn, M.; Pletz, M. W.; Weber, K.; Cialla-May, D.; Popp, J. Toward Levofloxacin Monitoring in Human Urine Samples by Employing the LoC-SERS

- Technique. *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120* (37), 20613–20623. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b01005>.
- (25) Radi, A.; El-Sherif, Z. Determination of Levofloxacin in Human Urine by Adsorptive Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry on a Glassy Carbon Electrode. *Talanta* **2002**, *58* (2), 319–324. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00245-X](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00245-X).
- (26) Shah, J.; Jan, M. R.; Ullah, I.; Shah, S. Sensitive Spectrofluorimetric Method for Determination of Fluoroquinolones through Charge-Transfer Complex Formation. *Am. J. Anal. Chem.* **2013**, *04* (10), 521–530. <https://doi.org/10.4236/ajac.2013.410066>.
- (27) Salem, A. A.; Mossa, H. A.; Barsoum, B. N. Quantitative Determinations of Levofloxacin and Rifampicin in Pharmaceutical and Urine Samples Using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2005**, *62* (1–3), 466–472. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2005.01.016>.
- (28) Aguilar-Carrasco, J. C.; Hernández-Pineda, J.; Jiménez-Andrade, J. M.; Flores-Murrieta, F. J.; Carrasco-Portugal, M. del C.; López-Canales, J. S. Rapid and Sensitive Determination of Levofloxacin in Microsamples of Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography and Its Application in a Pharmacokinetic Study. *Biomed. Chromatogr.* **2015**, *29* (3), 341–345. <https://doi.org/10.1002/bmc.3278>.
- (29) Rkik, M.; Brahim, M. Ben; Samet, Y. Electrochemical Determination of Levofloxacin Antibiotic in Biological Samples Using Boron Doped Diamond Electrode. *J. Electroanal. Chem.* **2017**, *794* (January), 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.04.015>.
- (30) Brocenschi, R. F.; Silva, T. A.; Lourencao, B. C.; Fatibello-Filho, O.; Rocha-Filho, R. C. Use of a Boron-Doped Diamond Electrode to Assess the Electrochemical Response of the Naphthol Isomers and to Attain Their Truly Simultaneous Electroanalytical Determination. *Electrochim. Acta* **2017**, *243*, 374–381. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.05.044>.
- (31) Sharma, C. V.; Mehta, V. Paracetamol: Mechanisms and Updates. *Contin. Educ. Anaesthesia, Crit. Care Pain* **2014**, *14* (4), 153–158.

<https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mkt049>.

- (32) Acevedo Barrios, R. L.; Severiche Sierra, C. A.; Jaimes Morales, J. del C. Efectos Tóxicos Del Paracetamol En La Salud Humana y El Ambiente. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental. RIAA, ISSN-e 2145-6453, Vol. 8, N°. 1, 2017, págs. 139-149* **2017**, 8 (1), 139–149.
- (33) Almanza, M.; Flores, E.; Condori, L.; López, S.; Del, V.; Mendieta, R.; Almanza, M.; Flores, E.; Condori, L.; López, S.; et al. Relación de Efectos Adversos y Grado de Eficacia Del Antídoto Del Paracetamol Después de Una Sobre Dosis, Comprobado En Conejos. **2014**, 18.
- (34) Reyes, Alejandro Baeza, A. G. Principios de Electroquímica Analítica. *Principios Electroquim. Anal.* **2011**, 1–77.
- (35) Tafur Salazar, L. ; E.-M. Deeterminación de Metales Pesados Cd (II), Pb (II) y Hg (II) Mediante Voltameprometría de Redisolución Anódica En Aguas Residuales Mineras (Distrito Minero Portovelo). **2016**, No. II.
- (36) González, L. J.; Rey, C. Diseño y Montaje de Un Potenciostato/Galvanostato Basado En Convertidor DC/DC. **2015**, 14–15.
- (37) Estrada Aldrete, J. Electroodos de Pasta de Carbón Modificados Con Residuos de Café Para Cuantificar Metales Pesados En Solución Acuosa. **2012**, 52.
- (38) El-Said, W. A.; Yea, C. H.; Kim, H.; Oh, B. K.; Choi, J. W. Cell-Based Chip for the Detection of Anticancer Effect on HeLa Cells Using Cyclic Voltammetry. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, 24 (5), 1259–1265. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.07.037>.
- (39) Rudnicki, K.; Landová, P.; Wrońska, M.; Domagała, S.; Čáslavský, J.; Vávrová, M.; Skrzypek, S. Quantitative Determination of the Veterinary Drug Monensin in Horse Feed Samples by Square Wave Voltammetry (SWV) and Direct Infusion Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (DI-ESI-MS/MS). *Microchem. J.* **2018**, 141 (February), 220–228. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.05.032>.
- (40) Rodríguez, J.; Castañeda, G.; Lizcano, I. Electrochemical Sensor for Leukemia Drug Imatinib Determination in Urine by Adsorptive Stripping Square Wave

- Voltammetry Using Modified Screen-Printed Electrodes. *Electrochim. Acta* **2018**, 269, 668–675. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.03.051>.
- (41) Filik, H.; Avan, A. A. Dextran Modified Magnetic Nanoparticles Based Solid Phase Extraction Coupled with Linear Sweep Voltammetry for the Speciation of Cr(VI) and Cr(III) in Tea, Coffee, and Mineral Water Samples. *Food Chem.* **2019**, 292 (June 2018), 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.058>.
- (42) Brycht, M.; Kaczmarska, K.; Uslu, B.; Ozkan, S. A.; Skrzypek, S. Sensitive Determination of Anticancer Drug Imatinib in Spiked Human Urine Samples by Differential Pulse Voltammetry on Anodically Pretreated Boron-Doped Diamond Electrode. *Diam. Relat. Mater.* **2016**, 68, 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2016.05.007>.
- (43) Upadhyay, S. S.; Kalambate, P. K.; Srivastava, A. K. Enantioselective Analysis of Moxifloxacin Hydrochloride Enantiomers with Graphene- β -Cyclodextrin-Nanocomposite Modified Carbon Paste Electrode Using Adsorptive Stripping Differential Pulse Voltammetry. *Electrochim. Acta* **2017**, 248, 258–269. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.07.141>.
- (44) Jiménez-Pérez, R.; Sevilla, J. M.; Pineda, T.; Blázquez, M.; Gonzalez-Rodriguez, J. Study of the Electro-Oxidation of a Recreational Drug GHB (Gamma Hydroxybutyric Acid) on a Platinum Catalyst-Type Electrode through Chronoamperometry and Spectro-Electrochemistry. *J. Electroanal. Chem.* **2016**, 766, 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.02.005>.
- (45) Mirceski, V.; Gulaboski, R.; Lovric, M.; Bogeski, I.; Kappl, R.; Hoth, M. Square-Wave Voltammetry: A Review on the Recent Progress. *Electroanalysis* **2013**, 25 (11), 2411–2422. <https://doi.org/10.1002/elan.201300369>.
- (46) Scholz, F. Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications. *Electroanal. Methods Guid. to Exp. Appl.* **2010**, 1–359. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-02915-8>.
- (47) Admiral Instruments. No Title <https://www.admiralinstruments.com/product-page/squidstat-plus-with-eis>.
- (48) Jiménez Pérez, R. Caracterización Del Ácido Gamma-Hidroxibutírico Sobre Superficies de Platino, Universidad de Córdoba, 2017.

- (49) Ortiz, D.; Betancourt, H. Aplicación de Técnicas Electroanalíticas En La Determinación de Cadmio En Agua Potable, Universidad Técnica de Machala, 2015.
- (50) Jaramillo, A. M. O. Validación de Una Técnica Electroanalítica Para La Determinación de Paracetamol En Medios Acuáticos Enfocados a La Ecofarmacovigilancia. **2018**.

ANEXOS

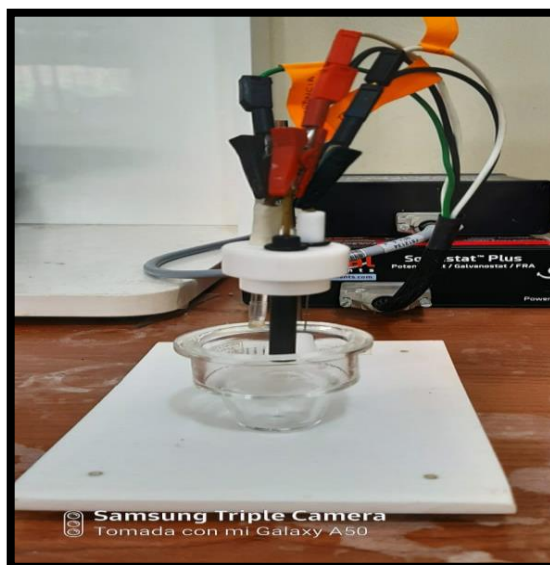
Anexo 1. Equipo e instrumentación

Ilustración 1. Equipo Squidstat Potenciostato/Galvanostato



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 2. Celda de trabajo, electrodo de trabajo, electrodo de referencia y electrodo auxiliar



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 3. Electrodo de teflón dopado con punta de platino



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 4. Electrodo de alambre de platino



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 5. Electrodo de auxiliar (Ag/KCl)



Fuente: Elaboración propia.

Anexo 2. Interfaz de las técnicas de análisis

Ilustración 6. Interfaz de la técnica de voltamperometría cíclica

Parameters

Scanning direction: Scan to lower vertex first

Starting potential: -1 V

with respect to: reference

Quiet time: 5 seconds
(time spent at the starting potential)

Upper scan limit: 1 V

with respect to: reference

Lower scan limit: -1 V

with respect to: reference

Scan rate (dE/dt): 10 mV/s

Sample at intervals of: 1 mV

Cycles: 2

Aurorange
 Approx.

Current ranging

Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 7. Interfaz de la técnica de voltamperometría de onda cuadrada

Parameters

Starting potential:	<input type="text" value="0"/>	V
with respect to:	<input type="text" value="reference"/>	▼
Quiet time:	<input type="text" value="5"/>	seconds
Voltage step:	<input type="text" value="0.015"/>	V
Final potential:	<input type="text" value="2.5"/>	V
with respect to:	<input type="text" value="reference"/>	▼
Pulse amplitude:	<input type="text" value="0.1"/>	V
Square wave frequency:	<input type="text" value="20"/>	Hz
Current ranging		
Approx. max current:	<input type="text" value="1"/>	mA ▼

Fuente: Elaboración propia.