



UNIVERSIDAD DE BURGOS

Departamento de Química
Área de Química Analítica

TRABAJO FIN DE GRADO

**DETERMINACIÓN ANALÍTICA DE
PESTICIDAS**

*DETECCIÓN DE DIURON MEDIANTE
VOLTAMPEROMETRÍA*

Autora: RAQUEL IZQUIERDO BROGERAS

Tutora: OLGA DOMÍNGUEZ RENEDO

Junio 2015



FIN DE GRADO

CURSO: 2014/2015

SI	x
----	---

NO *	
------	--

OBSERVACIONES:

Fdo.: **OLGA DOMÍNGUEZ RENEDO**

ÍNDICE

1. ABSTRACT	7
2. INTRODUCTION	7
3. STATE OF THE ART	8
3.1. DIURON	8
3.2. ANALYTICAL DETERMINATION OF DIURON	9
3.3. SCREEN-PRINTED ELECTRODES.....	11
3.4. NANOMATERIALS	11
4. OBJECTIVE.....	12
5. EXPERIMENTAL	12
5.1. REAGENTS.....	12
5.2. APPARATUS AND SOFTWARE.....	12
5.3. EXPERIMENTAL PROCEDURE.....	13
6. RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSIÓN	13
6.1. DETERMINACIÓN DE DIURON MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE IMPULSOS CON ELECTRODOS SERIGRAFIADOS	14
6.1.1 SELECCIÓN DEL pH DE MEDIDA.....	14
6.1.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO	16
6.2. DETERMINACIÓN DE DIURON MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA DE ONDA CUADRADA EMPLEANDO ELECTRODOS SERIGRAFIADOS.....	17
6.3. DETERMINACIÓN DE DIURON MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE IMPULSOS EMPLANDO ELECTRODOS SERIGRAFIADOS MODIFICADOS	19
6.4. DETERMINACIÓN DE DIURON EN MUESTRAS REALES MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE IMPULSOS CON ELECTRODOS SERIGRAFIADOS ..	20
6.4.1. DETERMINACIÓN DE DIURON EN AGUA DE GRIFO.....	20
6.4.2. DETERMINACIÓN DE DIURON EN AGUA DE RÍO.....	21
6.4.3. DETERMINACIÓN DE DIURON EN AGUA DE MAR	21
7. CONCLUSIONES.....	23
8. BIBLIOGRAFÍA	23

1. ABSTRACT

This work describes the development of electrochemical sensors using screen-printed carbon electrodes (SPCEs) for the determination of the pesticide diuron. Two different electrochemical techniques, namely differential pulse voltammetry (DPV) and square wave voltammetry (SWV), have been tested.

Bare SPCEs have been successfully applied to the determination of this compound, being the developed sensors characterized in terms of capability of detection and reproducibility. The capability of detection value obtained was $6.9 \pm 0.5 \mu\text{M}$. In the case of reproducibility a value of 8.0% was obtained when using DPV.

Modified SPCEs by means of metallic gold nanoparticles (AuNPs/SPCEs) and multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs/SPCEs) were also tested in order to improve the performance of the developed method. These modification processes did not lead to a substantial improvement of the sensitivity of the method.

DPV was the selected technique for the analysis of diuron in real samples. In this way, the developed electrochemical systems were successfully applied in the determination of diuron in tap, river and sea water samples.

2. INTRODUCTION

Diuron is a phenyl-urea pesticide. Pesticides are chemical substances of natural or synthetic origin, used to exterminate or control agricultural and domestic plagues. The main source of these substances in water is runoff from agricultural and residential areas and parks. According to their chemical composition, pesticides can be classified as follows: inorganic pesticides, organic pesticides from plant origin and synthetic organic pesticides. Pesticides can be also classified according to their field of application. In this way, diuron may be classified as an herbicide used for treating or eliminating plants, which is used for broad spectrum pre-emergence weed control in a wide variety of crops [1, 2].

The presence of diuron in water may be associated with contamination problems to aquatic organisms and even humans. Therefore, the development of selective and sensitive methods for the detection of diuron is very important.

Different analytical methods have been described for the determination of this compound in different samples. Among other, methods based on high performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography have been the most frequently used for the determination of diuron. These described methods have resulted very sensitive and selective in the determination of this molecule, however, they are considered tedious and time consuming. In this way, electrochemical sensors are presented as an interesting alternative in the determination of diuron due to their important advantages including ease of use, portability and low cost.

The electrochemical sensors for the analysis of diuron are frequently based on the use of classic solid electrodes. The substitution of this kind of electrodes by transducers such as SPCEs offers additional advantages related to

their compact dimensions and disposable characteristics. Moreover, these disposable systems present a great versatility, which lies in the wide range of possible methods of modification, including the incorporation of metallic nanoparticles and redox mediators on the electrode surface.

In this work, a simple electrochemical method for the determination of diuron has been developed. The method is based on the utilization of bare SPCEs using DPV and SWV as analytical techniques.

The first step in this work was the optimization of the experimental variables, which present a high influence in the analytical response. In this way, an optimization of the pH value was performed. Then, the developed method was validated by means of the determination of capability of detection and reproducibility values.

Different modified SPCEs including, AuNPs/SPCEs and, MWCNTs/SPCEs have been also tested in the determination of this herbicide in order to improve the performance of the developed method.

The developed method was also applied to the determination of diuron in tap, river and sea water.

3. STATE OF THE ART

3.1. DIURON

Since their discovery in the early 1950s, phenylurea derivatives have grown into one of the most prominent and diversified groups of herbicides, being, diuron, (3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea) (Figure 1), one of the most used. This herbicide acts primarily by inhibiting the Hill reaction in photosynthesis, thus limiting the production of high-energy compounds such as adenosine triphosphate (ATP) used for various metabolic processes [2-4]. In this way, it has been used in pre-emergence weed control in a wide variety of crops, such as cotton, alfalfa, wheat, fruits and mostly in sugar cane plantations [2, 5-7]. Besides its use as an herbicide, it is also employed as an active ingredient in antifouling boat paints and in algacide formulations used in fountains and aquaculture [2].

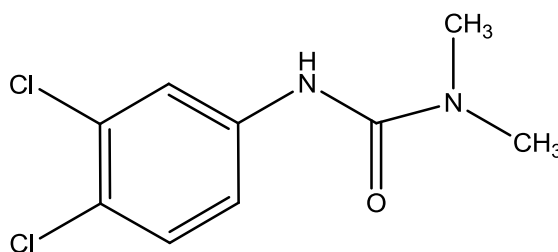


Figure 1. Chemical structure of diuron.

Diuron can contaminate the surface and ground water by agricultural runoffs and wastewaters generated from diuron manufacturing plants [8]. Thus, the prolonged use of diuron is a great concern since its residues remain in these

types of waters in a limit that is not permissible for healthy environment [5]. Thus, the European Water Framework Directive includes a list of 33 priority substances, which represent a significant risk to the European aquatic environment. Diuron has been included in this list due to its persistence, toxicity and bio-recalcitrant properties [8-10].

The toxic effects of diuron significantly affect aquatic organisms. In this way, diuron presents low lethality in adult fishes, but it is highly toxic to aquatic invertebrates. In addition, genotoxic effects on plant chromosomes such as inhibition of mitotic index and induction of chromosome aberrations have been also reported [11].

Diuron has been also described as a toxic compound for humans, causing irritation on contact with the skin and mucous membranes. Diuron also affects human health by acting as an endocrine disruptor and continuous exposure to this compound results in the formation of methemoglobin in blood, as well as abnormalities in liver and spleen, unless medical treatment is provided quickly [7, 12]. Moreover, diuron has been shown to be carcinogenic, causing bladder cancer, kidney cancer, and breast cancer in studies with laboratory animals.

The described potential toxic and mutagenic effects of diuron to humans, plants and animals, have led to the development of many detection systems for the analysis of this compound in different samples.

3.2. ANALYTICAL DETERMINATION OF DIURON

Numerous analytical methods have been developed for diuron detection that include HPLC, mass spectrometry, gas chromatography, electrophoresis, Fourier transform infrared spectrometry and ultrasensitive fluorescence [13-20]. However, cost and complexity of these methods limit their applicability.

The use of electroanalytical methods for the determination of diuron in complex matrices can be an advantageous alternative for some applications and studies due to the relatively inexpensive instrumentation and reagents and minimum sample pre-treatment. Moreover, electrochemical techniques offer the possibility of portable field-based instrumentation able to determine different compounds at trace level. Thus, several works have been described in the literature for the determination of diuron by means of different electroanalytical methods. As it can be seen in table 1, these methods generally involve the utilization of different electrochemical techniques using different modified classic solid electrodes.

Table 1. Electrochemical methods for determination of diuron

REF.	ELECTRODE	MODIFICATION	TECHNIQUE	RSD (%)		CAPABILITY OF DETECTION
				REPRODUCIBILITY	REPEATABILITY	
[2]	SPEs	Hapten functionalized carbon nanotubes	DPV	-	-	0.43 pM
[3]	GCE	Modified with polymerized nickel tetraamino-phtalocyanine	CV	-	0.1	0.33 μ M
[4]	GCE	Modified with iron tetraaminophtalocyanine-single walled carbon nanotubes dendrimer	CV	-	-	0.26 μ M
[6]	Polyurethane-graphite electrode	-	DPV	4.0	5.6	10 nM
[7]	CPE	Modified with hemin and nickel (II)	Amperometry	-	4.4	20 μ M

CPE: Carbon paste electrode; CV: Cyclic voltammetry; GCE: Glassy carbon electrode; DPV: Differential pulse voltammetry; RSD: Relative Standard Deviation; SPEs: Screen-printed electrodes

3.3. SCREEN-PRINTED ELECTRODES

As it has been described above, electroanalytical methods are widely used as alternative procedures in the analysis of diuron, using convectional solid electrodes. The most common problem of these electroanalytical methods is their lack of reproducibility related to the difficulty of production of identical electrodes for each measurement. This problem can be solved by means of the replacement of the classical electrodes and cell systems by disposable SPEs. An advantage of the SPEs is the elimination of the surface regeneration process needed when using solid electrodes. Moreover, SPEs can be designed according to the analytical problem characteristics by choosing the adequate fabrication materials [21].

Screen-printing technology is based on the sequential layer deposition of different inks on a ceramic or plastic substrate using the appropriate screen. A typical screen is made from a finely mesh of different materials including stainless steel, polyester or nylon mounted under tension on a metal frame. The finished screen has open-mesh areas through which the desired pattern can be printed giving rise to the different electrodes (working, reference and auxiliary) in the same unit or device [21, 22]. In this work SPCEs have been used for the determination of diuron consisted of a carbon working electrode, a Ag/AgCl reference electrode (Ag/AgCl-SPE) and a carbon auxiliary electrode (Figure 2).

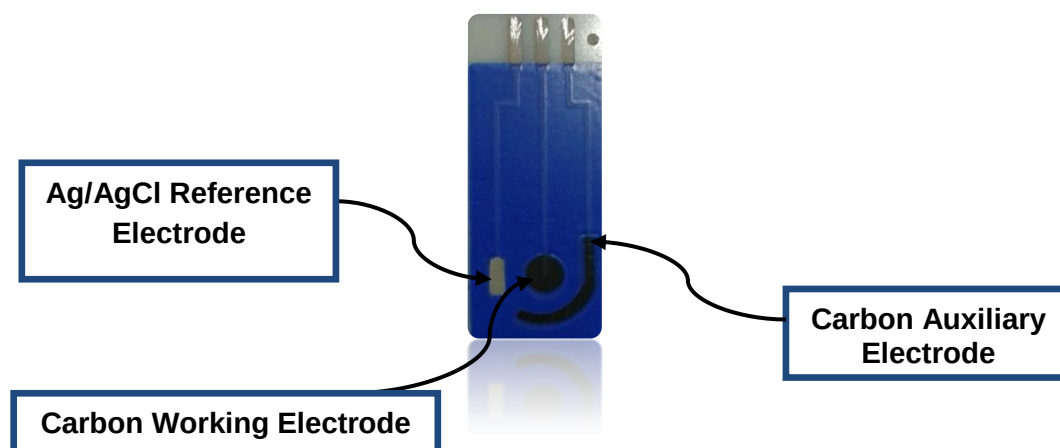


Figure 2. Image of the SPCEs electrode system used.

3.4. NANOMATERIALS

The design of new nanoscale materials has acquired ever greater importance in recent years since they present wide-ranging applications in various fields. Among these materials, metallic nanoparticles, such as gold nanoparticles (AuNPs), are of great interest. Due to their reduced size, metallic nanoparticles exhibit important physical and electrical properties that made them very useful for the construction of more sensitive electrochemical sensors [21].

Carbon nanotubes (CNTs) have recently gained interest for use in electrochemical assays due to their remarkable tensile strength, surface area, flexibility and other unique structural, mechanical, electrical as well as

physicochemical properties reflecting increased signal currents. For the detection of an electroactive analyte, bioreceptors are usually immobilized on the electrode and the corresponding redox responses can be measured [2]. CNTs offer significant reduction in overpotentials, large surface areas, increased voltammetric signals and little or no observed surface fouling [4].

4. OBJECTIVE

The main goal of this work is to develop sensitive electrochemical sensors for the determination of diuron in real samples based on the use of SPCEs.

5. EXPERIMENTAL

5.1. REAGENTS

All the reagents used were of analytical grade and Milli-Q water (Millipore, Bedford, USA) was employed for preparing all solutions.

The supporting electrolyte used in the electrochemical measurements was an acetic-acetate buffer solution containing 100 mM KCl (Merck, Darmstadt, Germany). Buffer solutions of different pH values (pH 2-7) were prepared by means of the adequate mixture of a 100 mM sodium acetate solution and 100 mM acetic acid solution prepared using Merk (Darmstadt, Germany) analytical-grade reagents.

Stock solutions of diuron were prepared by dissolving the adequate amount of pesticide purchased from Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany) in methanol.

Hydrogen tetrachloroaurate (III) trihydrate (HAuCl_4), used in the generation of AuNPs, was purchased from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

For the detection of real samples, tap and river water from Burgos and Cantabrian sea water were employed.

5.2. APPARATUS AND SOFTWARE

Electrochemical measurements were performed using a μ Autolab electrochemical system with GPES software (Eco Chemie, Utrecht, The Netherlands) using a SPCE system.

The pH of the solutions was measured with a Crison Model 2002 (Barcelona, Spain) pHmeter.

Data analysis was processed with PROGRESS [23] for robust regressions and DETARCHI [24] for the capability of detection.

5.3. EXPERIMENTAL PROCEDURE

Differential pulse voltammetric measurements of diuron were achieved at room temperature in an electrochemical cell containing 10 mL of the supporting electrolyte solution. Successive additions of a diuron stock solution were made. The voltammogram was then recorded by making an anodic scan from +0.0 V to +1.5 V. Other main experimental parameters used were as follows: modulation amplitude, 50 mV; step potential, 6 mV and interval time, 0.6 s.

In the same way, square wave voltammetric analysis of diuron was performed at room temperature in an electrochemical cell containing 10 mL of the supporting electrolyte solution. The voltammogram was then recorded by making an anodic scan from +0.0 V to +1.5 V using different frequency values. Successive additions of a diuron stock solution were made.

The electrochemical deposition of AuNPs was performed in a 100 μ L drop of 0.1 mM HAuCl_4 , prepared in 0.5 M H_2SO_4 solution, applying a potential of +0.18 V vs Ag/AgCl-SPE during 15 s. The AuNPs/SPCEs were then washed with Milli-Q water.

The deposition of MWCNTs on the SPCE surface was performed by dropping 5 μ L of a 3 mg/mL MWCNTs dispersion in DMF onto the working electrode surface. The solvent was left to dry at room temperature. The MWCNTs/SPCEs were then washed with Milli-Q water.

6. RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSIÓN

Las experiencias llevadas a cabo durante la realización del trabajo presentado en esta memoria demuestran que es posible determinar diuron mediante técnicas voltamperométricas empleando electrodos serigrafiados.

El proceso electroquímico seguido se basa en el proceso de oxidación descrito en la figura 3. El diuron se oxida formando una especie dimérica. La presencia de grupos amino en la periferia de los anillos de esta molécula provoca su electropolimerización en el electrodo. Los grupos amino son sustituyentes capaces de formar una red de enlaces conjugados y por lo tanto polimerizar con facilidad. [3,7]

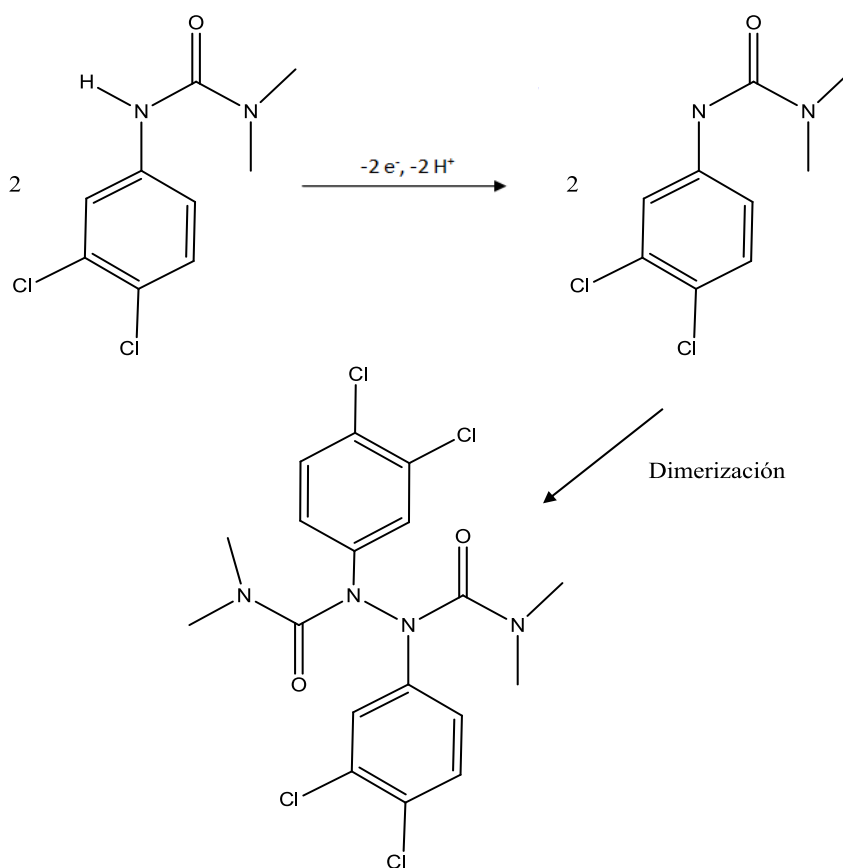


Figura 3. Formación y oxidación del dímero.

6.1. DETERMINACIÓN DE DIURON MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE IMPULSOS CON ELECTRODOS SERIGRAFIADOS

6.1.1 SELECCIÓN DEL pH DE MEDIDA

En todo procedimiento analítico se deben optimizar los parámetros experimentales que influyen en el valor de la variable respuesta. En este sentido, la sensibilidad que puede alcanzarse en el análisis de un determinado compuesto mediante DPV depende considerablemente del pH del medio utilizado. Por ello, se llevó a cabo un estudio de la variación de la intensidad del pico de oxidación del diuron (localizado aproximadamente a +1.1 V) con el valor del pH. En concreto, se estudió la influencia del pH en dicho pico de oxidación en el intervalo de valores de pH comprendidos entre 2 y 7.

La figura 4 recoge las diferentes experiencias realizadas mediante DPV a diferentes valores de pH utilizando SPCEs. En dicha figura se observa que las respuestas con mayor calidad analítica se obtienen para valores de pH comprendidos entre 2 y 4, siendo 3 el valor de pH para el que se obtiene una mayor intensidad de pico. Por lo tanto, este fue el valor de pH seleccionado para llevar a cabo la determinación de diuron empleando técnicas voltamperométricas.

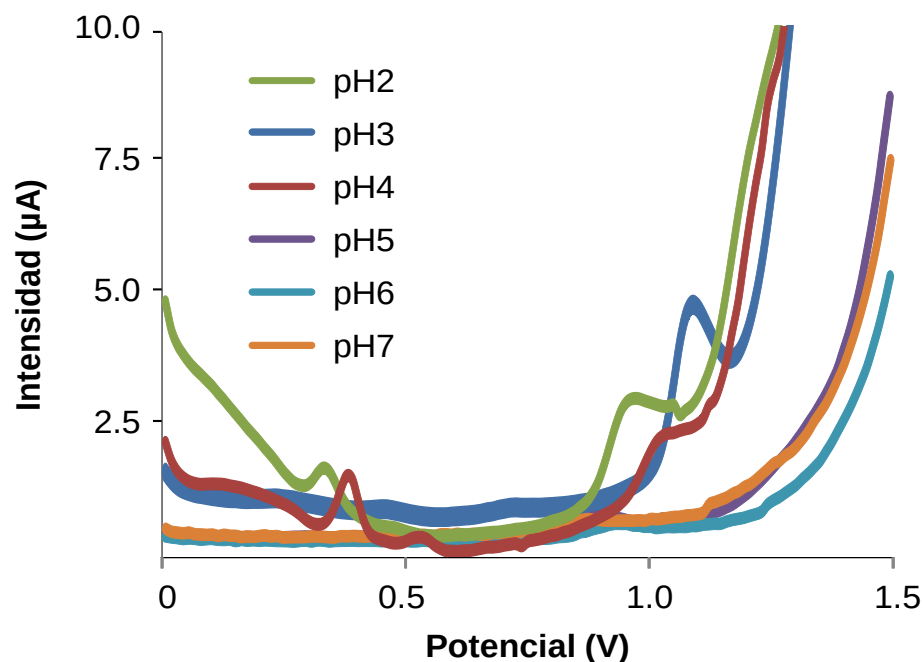


Figura 4. Voltamperogramas obtenidos mediante DPV utilizando SPCEs para una concentración de diuron $9.9 \mu\text{M}$ para valores de pH comprendidos entre 2 y 7 (Tampón acético-acetato; Potenciales vs. Ag/AgCl-SPE).

En la figura 5 se puede observar con mayor claridad que es posible obtener una respuesta voltamperométrica mediante DPV, relacionada con la oxidación de diuron, a un potencial de +1.1 V para un valor de pH igual a 3 y, utilizando SPCEs. La variación de dicha respuesta con la concentración de diuron se muestra en la figura 6.

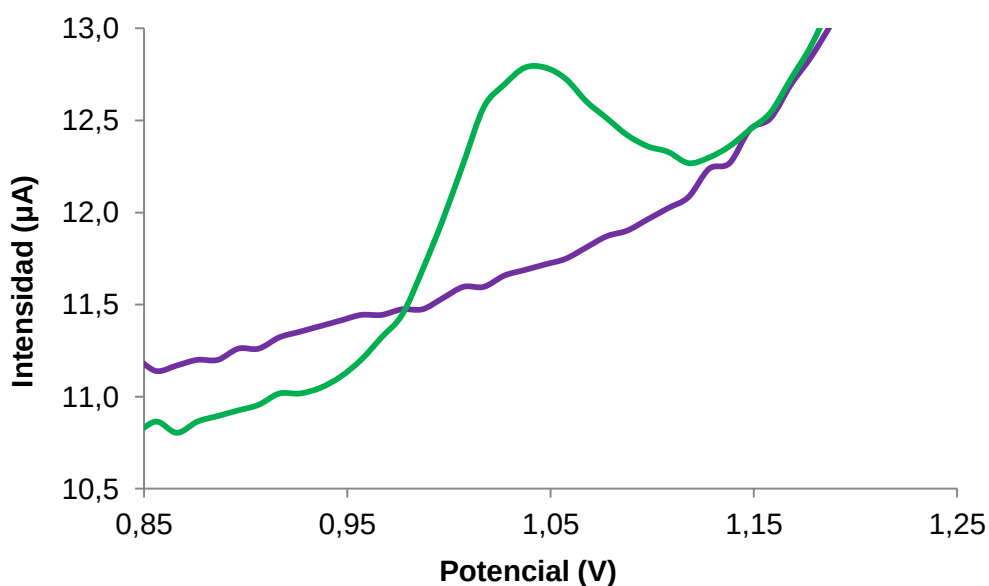


Figure 5. Voltamperogramas obtenidos mediante DPV empleando un SPCE: — blanco; — [Diuron], $24.4 \mu\text{M}$ (pH 3, Tampón acético-acetato; Potenciales vs. Ag/AgCl-SPE).

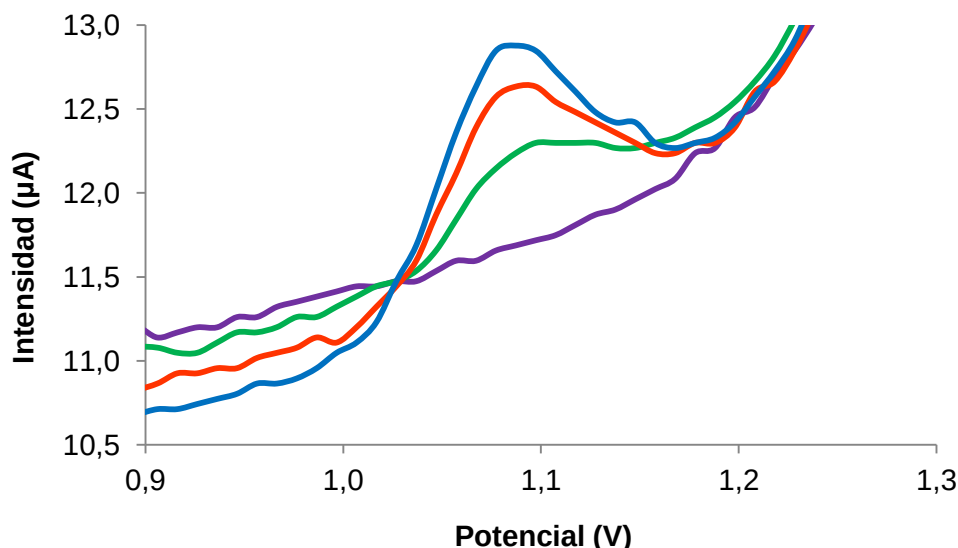


Figura 6. Voltamperogramas obtenidos mediante DPV empleando un SPCE para concentraciones crecientes de diuron: — blanco; — [Diuron], 9.9 μM ; — [Diuron], 19.6 μM ; — [Diuron], 29.1 μM ; (pH 3, Tampón acético-acetato; Potenciales vs. Ag/AgCl-SPE).

Durante las experiencias llevadas a cabo en el laboratorio pudo observarse que existía una pérdida de sensibilidad de la medida voltamperométrica del diuron cuando el electrodo de trabajo era utilizado repetitivamente. Por ello, fue necesario utilizar un sistema de electrodos diferente en cada calibrado realizado.

6.1.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Con la finalidad de caracterizar un procedimiento analítico y asegurar su calidad es importante validar dicho procedimiento mediante el cálculo de parámetros analíticos como la precisión y, la capacidad de detección.

6.1.2.1. Precisión

La precisión del método analítico se determinó en términos de reproducibilidad. Para la determinación de la reproducibilidad del método desarrollado, se llevaron a cabo tres calibrados de diuron en las condiciones determinadas anteriormente utilizando tres sistemas electródicos diferentes. En todos los casos se realizaron adiciones de 50 μL de una disolución de diuron 1.0 mM, midiendo la intensidad de oxidación obtenida después de cada una de estas adiciones.

Se eligió un método de regresión robusta, la regresión mediante mínima mediana de cuadrados (LMS) que permite detectar puntos anómalos tanto de carácter “outlier” (puntos alejados en el eje de ordenadas) como “leverage” (puntos alejados en el eje de abscisas) [23]. Una vez detectados y eliminados los puntos anómalos se procedió a realizar una regresión por mínimos cuadrados con el resto de los puntos para lograr estimar la sensibilidad y el término independiente.

En la figura 7 se muestran las curvas de calibración obtenidas para los diferentes electrodos una vez eliminados los datos anómalos. La reproducibilidad del método fue calculada en términos del valor de RSD asociado a las pendientes de dichas rectas. El valor obtenido para dicho parámetro fue de 8.0% ($n=3$), lo que indica que el método desarrollado permite el análisis de diuron con una precisión adecuada desde el punto de vista analítico.

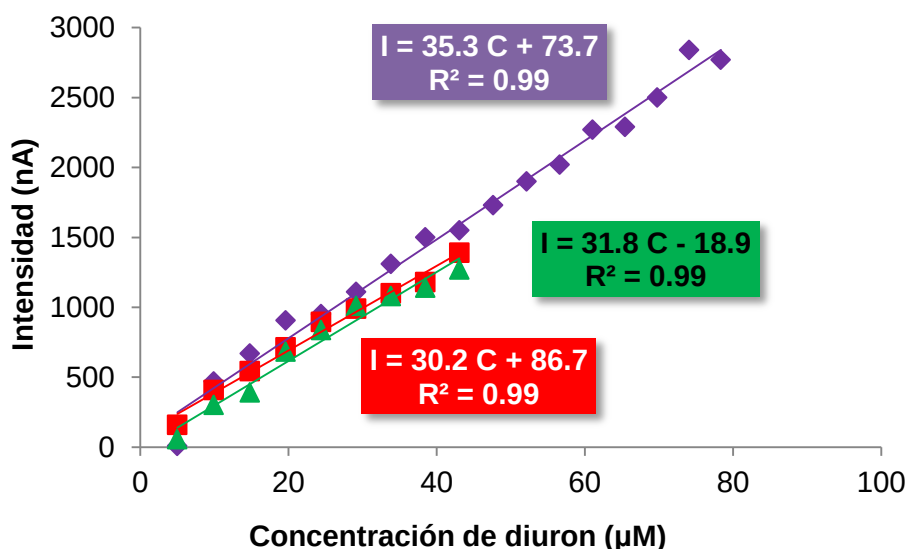


Figura 7. Curvas de calibrado obtenidas mediante DPV utilizando SPCEs para adiciones crecientes de 50 μ L de una disolución de diuron 1.0 mM en tampón acético-acetato (pH 3).

6.1.2.2. Capacidad de Detección

El método electroquímico desarrollado para la determinación analítica de diuron ha sido también caracterizado mediante el cálculo de su capacidad de detección, teniendo en cuenta una probabilidad de falso positivo (α) y falso negativo (β), para lo que se utilizó el programa DETARCHI [24]. El valor de capacidad de detección obtenido fue $6.9 \pm 0.5 \mu\text{M}$ ($n = 3$, $\alpha = \beta = 0.05$).

6.2. DETERMINACIÓN DE DIURON MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA DE ONDA CUADRADA EMPLEANDO ELECTRODOS SERIGRAFIADOS

En la siguiente etapa del trabajo experimental se llevó a cabo el estudio de la posibilidad de determinar diuron con SPCEs utilizando SWV como técnica electroquímica. Para llevar a cabo dicho estudio se empleó el electrolito soporte que resultó más adecuado para el seguimiento del pico de oxidación del diuron, es decir, tampón acético-acetato de pH 3.

En el caso de la SWV, uno de los parámetros que puede influir en la intensidad medida para el pico voltamperométrico es la frecuencia utilizada en la obtención de los voltamperogramas. Por ello, se llevaron a cabo diferentes experiencias con el objetivo de encontrar el valor más adecuado de dicho parámetro para la determinación de diuron. Así, valores de frecuencia de 10, 25, 50 y 100 Hz fueron analizados siendo el valor de 50 Hz el que proporcionó

valores de intensidad de oxidación más elevados tal y como, puede verse en la figura 8.

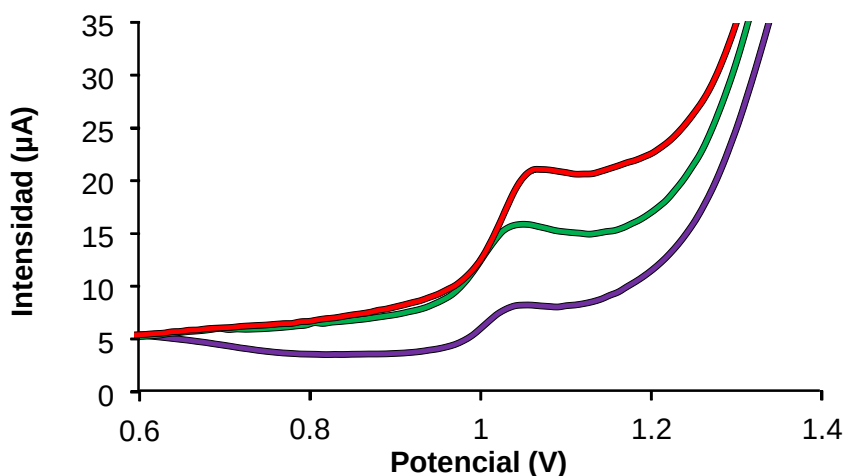


Figura 8. Voltamperogramas obtenidos mediante SWV empleando SPCE para una concentración de diuron 29.1 μM para diferentes valores de frecuencia: — 10 Hz; — 25 Hz; — 50 Hz; (pH 3, Tampón acético-acetato; Potenciales vs. Ag/AgCl-SPE).

En la figura 9 puede observarse como efectivamente es posible obtener una respuesta voltamperométrica mediante SWV, relacionada con la oxidación de diuron a un potencial de +1.1 V utilizando SPCEs. Sin embargo, tal y como puede verse en la figura 10, la construcción de una curva de calibrado con suficiente calidad analítica a niveles bajos de concentración utilizando SWV resultó complicada. Por ello se eligió la técnica DPV para llevar a cabo las siguientes etapas del proceso experimental.

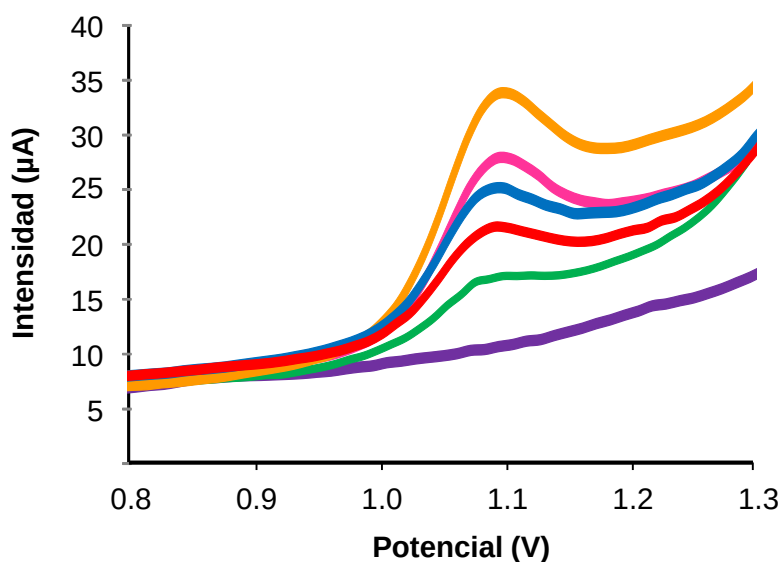


Figura 9. Voltamperogramas obtenidos mediante SWV empleando SPCEs para concentraciones crecientes de diuron: — blanco; — [Diuron], 9.9 μM ; — [Diuron], 19.6 μM ; — [Diuron], 29.1 μM ; — [Diuron], 38.5 μM ; — [Diuron], 47.6 μM ; (pH 3, Tampón acético-acetato; Potenciales vs. Ag/AgCl-SPE).

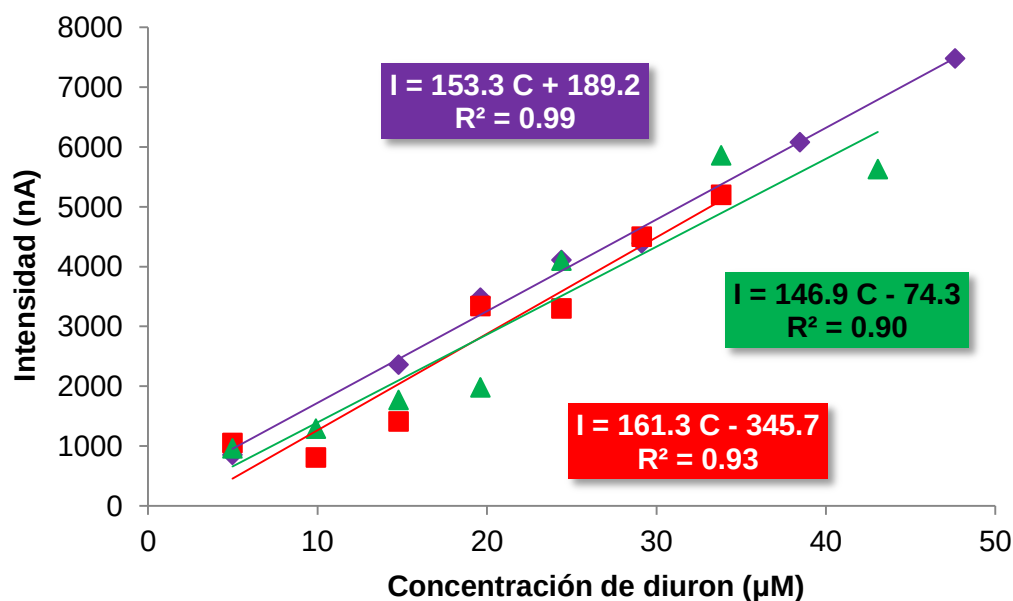


Figura 10. Curvas de calibrado obtenidas mediante SWV utilizando SPCEs para adiciones crecientes de 50 μL de una disolución de diuron 1.0 mM con tampón acético-acetato (pH 3); frecuencia 50 Hz.

6.3. DETERMINACIÓN DE DIURON MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE IMPULSOS EMPLEANDO ELECTRODOS SERIGRAFIADOS MODIFICADOS

La siguiente etapa del trabajo presentado en esta memoria consistió en la utilización de SPCEs modificados con distintos materiales con el objetivo de mejorar la respuesta obtenida para el diuron mediante DPV.

Una manera sencilla de modificar SPCEs con AuNPs es la basada en la electrodeposición de AuNPs a partir de una disolución de oro. Esta metodología consiste esencialmente, en la deposición de una gota de 100 μL de una disolución 0.1 mM HAuCl_4 , preparada en H_2SO_4 0.5 M, sobre el sistema electrodo y, la posterior aplicación de un potencial de +0.18 V durante 15 s.

La modificación del electrodo de trabajo con nanotubos de carbono se llevó a cabo mediante la deposición de 5 μL de una dispersión de 30 mg/mL de MWCNTS preparada en 100 μL de DMF sobre el electrodo de trabajo de carbono. El volumen depositado se deja secar al aire para que se adhieran los nanotubos a la vez que se evapora la DMF.

Las experiencias realizadas con los diferentes electrodos modificados no dieron buenos resultados en el análisis de diuron a bajas concentraciones de este analito. Por lo tanto la modificación de los SPCEs empleados no condujo a una mejora en la sensibilidad del método desarrollado.

6.4. DETERMINACIÓN DE DIURON EN MUESTRAS REALES MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE IMPULSOS CON ELECTRODOS SERIGRAFIADOS

Teniendo en cuenta los resultados experimentales descritos en los apartados anteriores, se eligió como método analítico para llevar a cabo la resolución de algún problema o muestra real, el basado en la utilización de DPV con SPCEs

El análisis de las muestras reales se realizó mediante adición estándar en tres tipos de aguas diferentes: agua de grifo, agua de río y agua de mar.

6.4.1. DETERMINACIÓN DE DIURON EN AGUA DE GRIFO

En primer lugar se llevó a cabo el análisis de diuron mediante adición estándar en muestras enriquecidas de agua de grifo tomada del laboratorio de prácticas del área de Química Analítica de la Universidad de Burgos. Para ello, se adicionaron 10 mL de la disolución tampón acético-acetato (pH 3) en la celda electroquímica y seguidamente se añadieron 100 μL de la disolución de agua de grifo con una concentración 1.0 mM de diuron y se registró el voltamperograma. A continuación, se realizaron adiciones sucesivas de 50 μL de diuron de concentración 1.0 mM registrándose los voltamperogramas mostrados en la figura 11. Con las intensidades medidas para las diferentes concentraciones se construyó la correspondiente curva de calibrado ($I = 39.2 C + 368.9$; $R^2 = 0.99$) y se determinó la cantidad de diuron presente en la muestra enriquecida. El resultado obtenido, utilizando el método electroquímico desarrollado fue de 0.94 ± 0.14 mM. Valor que resulta similar a la concentración de la muestra enriquecida.

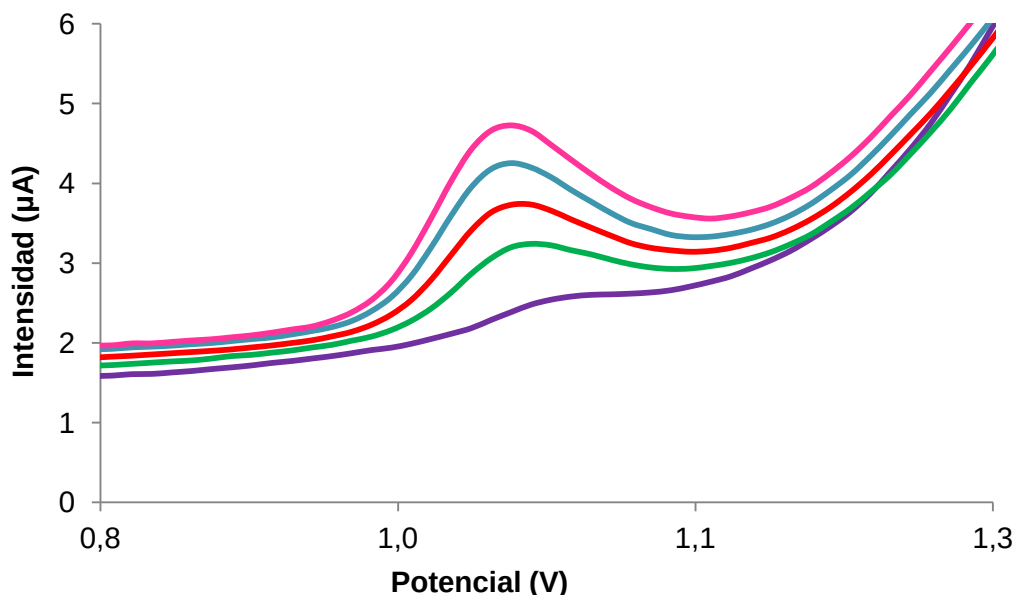


Figura 11. Voltamperogramas obtenidos mediante DPV para la determinación de la concentración de diuron en una muestra de agua de grifo: — agua de grifo enriquecida; — [Diuron], 9.9 μM ; — [Diuron], 19.6 μM ; — [Diuron], 29.1 μM ; — [Diuron], 38.5 μM ; (pH 3, Tampón acético-acetato; Potenciales vs. Ag/AgCl-SPE).

6.4.2. DETERMINACIÓN DE DIURON EN AGUA DE RÍO

La determinación de diuron se llevó a cabo también en muestras de agua de río enriquecidas utilizando SPCEs mediante DPV y adición estándar. Para llevar a cabo esta determinación se adicionaron 10 mL de la disolución tampón acético-acetato (pH 3) en la celda electroquímica y seguidamente se añadieron 100 μ L de la disolución de agua de río enriquecida con una concentración 1.0 mM de diuron y se registró el voltamperograma. A continuación, se realizaron adiciones sucesivas de 50 μ L de diuron de concentración 1.0 mM registrándose los voltamperogramas correspondientes con los que se construyó la curva de calibrado mostrada en la figura 12.

El resultado obtenido, utilizando el método electroquímico desarrollado fue de 1.1 ± 0.4 mM. Por lo tanto, el método propuesto resulta adecuado en este tipo de análisis.

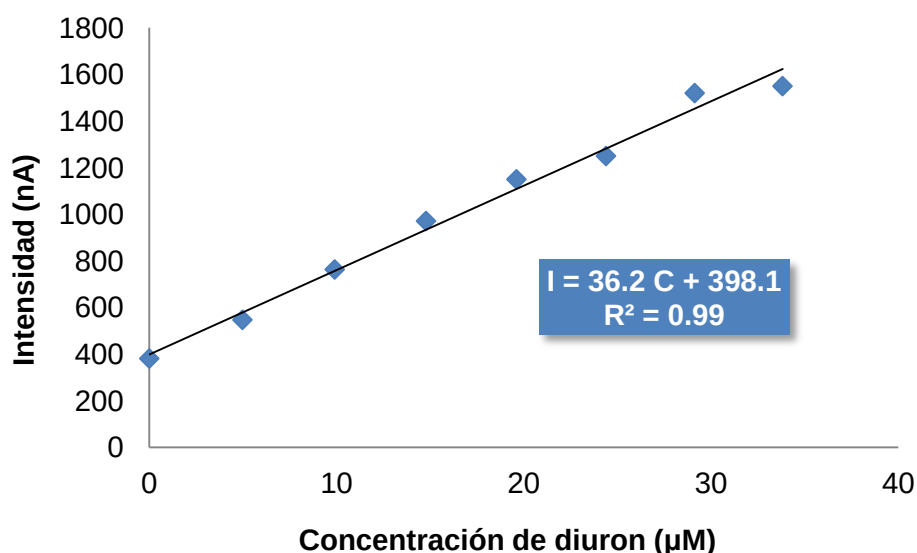


Figura 12. Puntos experimentales y recta de calibrado obtenidos mediante adición estándar para la determinación de la concentración de diuron en una muestra de agua de río (pH 3, Tampón acético-acetato; Potencial vs. Ag/AgCl-SPE).

6.4.3. DETERMINACIÓN DE DIURON EN AGUA DE MAR

Finalmente, se llevó a cabo la determinación de diuron en agua de mar enriquecida siguiendo el mismo procedimiento que el descrito para el agua de grifo y agua de río. Para esta muestra se obtiene mediante adición estándar la curva de calibrado mostrada en la figura 13, relacionada con la figura 14. Esta última figura muestra los voltamperogramas obtenidos para algunos de los puntos del calibrado.

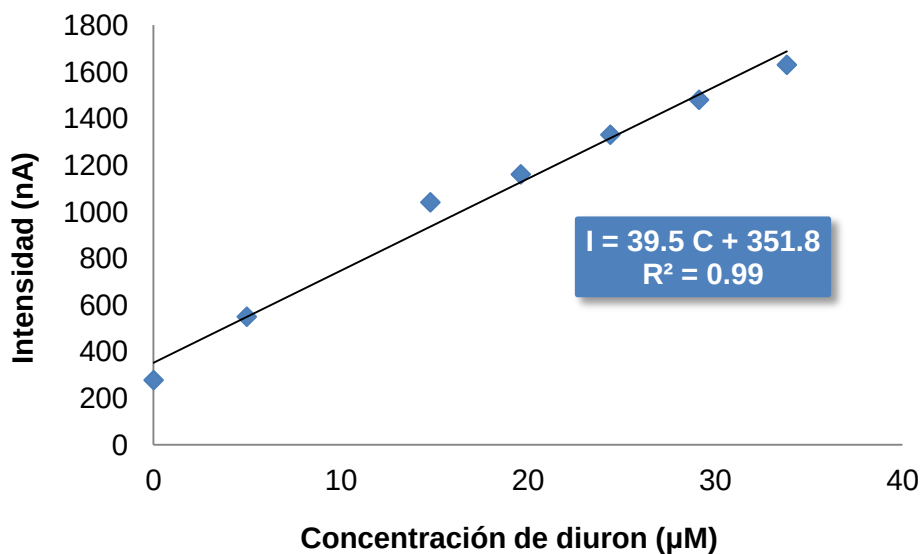


Figura 13. Puntos experimentales y recta de calibrado obtenidos mediante adición estándar para la determinación de la concentración de diuron en una muestra de agua de mar (pH 3, Tampón acético-acetato; Potencial vs. Ag/AgCl-SPE).

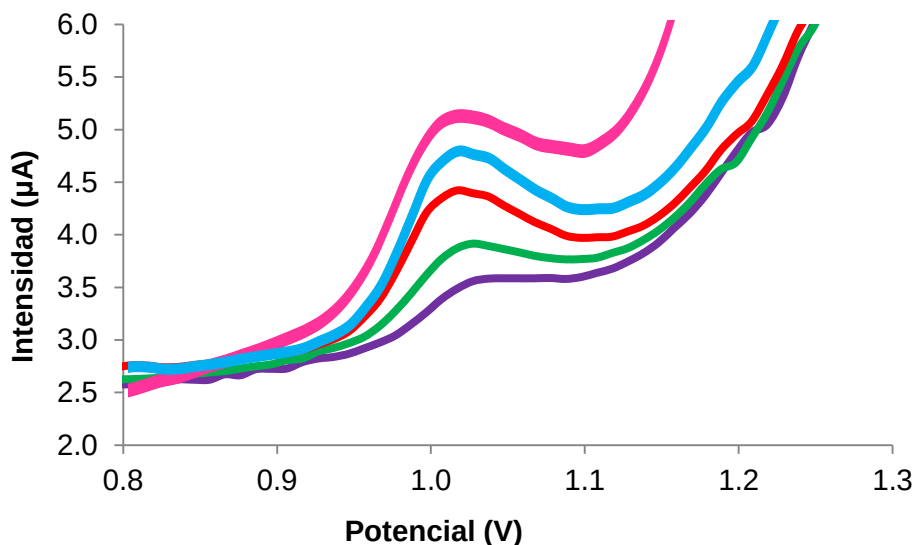


Figura 14. Voltamperogramas obtenidos mediante DPV para la determinación de la concentración de diuron en una muestra de agua de mar: — agua de mar enriquecida; — [Diuron], 5.0 μM; — [Diuron], 14.8 μM; — [Diuron], 24.4 μM; — [Diuron], 33.8 μM; (pH, 3 Tampón Acético-Acetato; Potenciales vs. Ag/AgCl-SPE).

El resultado obtenido, utilizando el método electroquímico desarrollado fue de 0.92 ± 0.48 mM. Por lo tanto, la determinación de diuron en muestras de agua de mar puede llevarse a cabo empleando DPV con SPCEs.

7. CONCLUSIONES

Los resultados de las experiencias realizadas pueden ser resumidos en las siguientes conclusiones:

- La técnica DPV, empleando electrodos serigrafiados se muestra eficaz en el análisis de diuron.
- El analito estudiado presenta un pico de oxidación a un potencial de +1.1 V que puede ser utilizado para el análisis de este compuesto empleando SPCEs.
- En la determinación de diuron mediante DPV, la intensidad del pico de oxidación de éste está influenciado por el valor del pH del medio de análisis.
- El valor óptimo de pH para la determinación de diuron mediante DPV con electrodos serigrafiados es 3.
- La reproducibilidad del método propuesto en términos de RSD de las pendientes asociadas a las rectas de calibración utilizando diferentes electrodos es de 8.0 % para SPCEs.
- La capacidad de detección obtenida para el diuron en las condiciones óptimas de las variables experimentales es de $6.9 \pm 0.5 \mu\text{M}$.
- La técnica voltamperométrica de onda cuadrada empleando electrodos serigrafiados es menos eficaz en análisis de diuron.
- La modificación de SPCEs con AuNPs ó MWCNTs no produjo ninguna mejora en la sensibilidad del método.
- El análisis de diuron en muestras reales de agua de grifo, agua de río y agua de mar es posible mediante DPV empleando SPCEs.

8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] J.L. Bueno, H. Sastre, A.G. Lavin; Contaminación e ingeniería ambiental. Contaminación de las aguas; FICYT (1997) Capítulo 6.
- [2] P. Sharma, V. Bhalla, S. Tuteja, M Kukkar, C.R. Suri, Analyst 137 (2012) 2495-2502.
- [3] T. Mugadza, T. Nyokong, Talanta 81 (2010) 1373-1379.
- [4] T. Mugadza, T. Nyokong, Electrochimica Acta 55 (2010) 2606-2613.
- [5] P. Sharma, K. Sablok, V. Bhalla, C.R. Suri, Biosensors and Bioelectronics 26 (2011) 4209-4212.

- [6] B.B. Soares, W.T. Lopes da Silva, C.M.P. Vaz, *Sensor Letters* 9 (2011) 1786-1793.
- [7] A. Wong, M.P. Taboada Sotomayor, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 731 (2014) 163-171.
- [8] E. Bringas, J. Saiz, I. Ortiz, *Chemical Engineering Journal* 172 (2011) 1016-1022.
- [9] M. Hincapie, M.I. Maldonado, I. Oller, W. Gernjak, J.A. Sánchez-Pérez, M.M. Ballesteros, S. Malato, *Catalysis Today* 101 (2005) 203–210.
- [10] European Commission, “Establishing the List of Priority Pollutants in the Field of Water Policy and Amending Directive 2000/60/EC”, *Official Journal of the European Communities*, Decision n. 2455/2001/EC of the European Parliament and of the Council, L 331/1, 2001.
- [11] M.A. Bacigalupo, G. Meroni, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (2007) 3823–3828.
- [12] M. Catalá-Icardo, J.L. López-Paz, A. Peña-Bádena, *Analytical Sciences* 27 (2011) 291-296
- [13] W. Xie, Y. Shi, J. Hou, C. Huang, D. Zhao, L. Pan, S. Dong, *Chinese Journal of Chromatography* 32 (2014) 179-183.
- [14] C.C. Kaonga, K. Takeda, H. Sakugawa, *Geochemical Journal* 49 (2015) 23-27.
- [15] M.I. Ramli, Z. Zakaria, I. Sahid, T.Y. Ai, H. Muhamed, *Sains Malaysiana* 41 (2012) 1451-1459.
- [16] M. Kaur, A.K. Malik, B. Singh, *LC GC Europe* 25 (2012) 120.
- [17] M. Saraji, N. Tansazan, I. Sahid, T.Y. Ai, H. Muhamed, *Journal of Separation Science* 32 (2009) 4186-4192.
- [18] S. Armenta, G. Quintas, A. Morales, S. Garrigues, M. De la Guardia, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (2005) 5842-5847.
- [19] M.G. Rubio, V.B. Font, A.M. Díaz, M.J.A. Canadà, *Analytical letters* 39 (2006) 835-850.
- [20] H. Yuefang, *Journal of Chromatography B-Analytical technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 968 (2015) 143-148.
- [21] O. Domínguez-Renedo, M.A. Alonso-Lomillo, M.J. Arcos-Martínez, *Talanta* 73 (2007) 202–219.
- [22] O. Domínguez-Renedo, M.A. Alonso-Lomillo, M.J. Arcos-Martínez, Disposable electrochemical biosensors in microbiology in *Current Research, Technology and Education Topics in Applied*

Microbiology and Microbial Biotechnology, Formatex, Badajoz, 2010.

[23] P.J. Rousseeuw, A.M. Leroy, Robust Regression and Outlier Detection, Wiley, Nueva York (1989).

[24] L.A. Sarabia, M.C. Ortiz, Trac-Trends in Analytical Chemistry 13 (1994) 1-6.