UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ESCUELA DE POSTGRADO

MAESTRÍA EN QUÍMICA DEL MEDIO AMBIENTE

"DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE UN ELECTRODO IÓN SELECTIVO PARA BORO AREQUIPA – 2012"

Tesis presentada por el Bachiller:
Stamber Alvaro Ramírez Revilla

Para optar el Grado Académico de
Magíster en Química del Medio Ambiente

Arequipa – Perú
2013

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....**04**
ABSTRACT.....**06**
INTRODUCCIÓN.....**08**
HIPÓTESIS.....**11**
OBJETIVOS.....**12**

CAPÍTULO I

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....**13**

1.- Diseño, construcción del electrodo y composición de la mezcla sensora 13
2.- Calibración de las curvas del electrodo 19
3.- Acondicionamiento del electrodo 20
4.- Dinámica de respuesta 20
5.- Tiempo de vida 22
6.- Límite práctico de detección.....22
a.- Linealidad.....22
b.- Sensibilidad.....25
7.- Efecto del pH 26
8.- Interferentes 28
9.- Determinación espectrofotométrica de Boro por Azometina H 30

CAPÍTULO II

CONCLUSIONES.....32
SUGERENCIAS.....33
BIBLIOGRAFÍA.....34
ANEXOS.....42

RESUMEN

Los electrodos o sensores químicos son considerados como instrumentos simples en comparación con los grandes equipos de análisis, sin embargo estos no pueden ser obviados ya que son necesarios en áreas donde se requiere mediciones rápidas de bajo costo y con una sensibilidad satisfactoria, todo esto además de su inherente portabilidad la cual es necesaria para mediciones en el campo. Por otro lado su uso requiere una capacitación más simple y rápida.

Se diseñó y construyó un cuerpo de electrodo ión selectivo, utilizando Ertalyte® (material termoplástico) para la fabricación del cuerpo del electrodo; se prepararon sales sólidas de Ag_3BO_3, Ag_2S y Cu_2S para la fabricación de la membrana sensora, la cual fue inmovilizada sobre el cuerpo de Ertalyte® y usando un soporte de resina epóxica conductora. Todas las medidas de potencial fueron realizadas en la estación potenciométrica Titrando 808 de Methrom, mediante una técnica electroquímica, un electrodo de Ag/AgCl con un puente salino incorporado fue usado como electrodo de referencia, las medidas fueron

hechas a 25.0 ± 0.1 ^{o}C en una celda termostateada. Las mediciones fueron realizadas usando $NaNO_3$ 0.1 M para mantener la fuerza iónica constante y soluciones de borato de distinta concentración fueron preparadas para observar la respuesta. La metodología empleada, la validación del método y los resultados encontrados son discutidos.

El electrodo presenta una pendiente de 30.096 mV/década, un tiempo de respuesta de 20 - 30 segundos, un tiempo de vida superior a 8 meses, un intervalo de pH óptimo de 6 a 9, límite práctico de detección de 5.50×10^{-8} M y presenta una pequeña interferencia al ion plata.

Para verificar los resultados obtenidos por el electrodo ión selectivo, se estandarizó una técnica espectrofotométrica para Boro a través de la formación de un complejo coloreado con Azometina H. Se encontró que la cantidad de Boro presente en el agua del río Tambo fue de 4.18 ± 0.03 y de 4.03 ± 0.11 ppm con el electrodo ión selectivo y el método espectrofotométrico, respectivamente.

ABSTRACT

The electrodes or chemical sensors are considered as mere instruments compared with the great teams of analysis; however these cannot be ignored as they are needed in areas requiring fast measurements of low cost and satisfactory sensitivity, all in addition to its inherent portability which is necessary for field measurements. On the other hand uses very simple and fast training.

A body of electrode was designed and constructed ion selectively, Ertalyte ® (thermoplastic material) using for manufacturing the electrode body; solid salts were prepared Ag_3BO_3, Ag_2S and Cu_2S for the manufacture of the sensor membrane was immobilized on the body of Ertalyte ® and using a conductive epoxy resin support. All potential measurements were made at station potentiometric Titrando 808 of Methrom by an electrochemical technique, an electrode of Ag / AgCl incorporated with a salt bridge was used as reference

electrode, measurements were made at 25.0 ± 0.1 ° C in a termostated cell. The measurements were performed by using 0.1 M of $NaNO_3$ to maintain constant ionic strength and borate solutions of different concentration were prepared to observe the response. The methodology, method validation and results are discussed.

The electrode has a slope of 30,096 mV / decade, a response time of 20 - 30 seconds, a lifetime more than 8 months, an optimum pH range of 6 to 9, the practical limit of detection of 5.50×10^{-3} M and has a small silver ion interference.

To verify the results obtained by the ion selective electrode was standardized spectrophotometric technique for boron through the formation of a colored complex with Azomethine H. It was found that the amount of boron in the Tambo river water was 4.18 ± 0.03 and 4.03 ± 0.11 ppm with ion selective electrode and spectrophotometric method, respectively.

INTRODUCCIÓN

Las principales actividades económicas desarrolladas en la Región Arequipa son la agricultura, la ganadería, la minería y la industria. La agricultura practicada principalmente en los Valles, está desarrollada y tecnificada, lo que ha convertido a Arequipa en el primer productor de cebolla a nivel nacional, además del cultivo de otros vegetales como ajo, zanahoria, brócoli, etc.

Para el normal crecimiento de las plantas se ha demostrado la esencialidad del boro, como un importante micronutriente en la obtención de altas y buenas cosechas de calidad en las prácticas agrícolas. El boro es un elemento imprescindible para la vida vegetal.[1] En la actualidad se piensa que el nivel de boro en planta puede condicionar, en determinados casos, el nivel de producción de un cultivo. Por ello, se tiende a incluir el análisis del boro como un análisis de rutina a la hora de investigar el estado nutricional de las plantas cultivadas.[1]

El exceso de boro tanto para plantas[2, 3] como para animales[4, 5] provoca una intoxicación visible. Entre una amplia variedad de especies de plantas el síntoma visible típico de intoxicación por boro es la hoja quemada, manchas cloróticas y/o necróticas, frecuentes en las márgenes y puntas de las hojas más viejas.[6, 7] Estos síntomas reflejan la distribución del boro en la mayoría de las especies con una acumulación en el final del fluido de transpiración.[8]

Síntomas visibles de intoxicación no aparecen en las raíces debidos probablemente a que las concentraciones de boro permanecen bajas comparadas con las de las hojas, aun cuando se le suministre boro en muy altos niveles. [9, 10]

Altos niveles de boro se encuentran naturalmente en algunos tipos de suelo, por ejemplo en las tierras áridas del sur de Australia, Oriente Medio, la costa oeste de Malasia y en algunas zonas de Perú y Chile.[11, 12] Adicionalmente, la acumulación de boro a partir de concentraciones relativamente bajas en el agua de riego, también contribuyen a la toxicidad y bajo rendimiento de los cultivos.[12]

A pesar de que está muy bien establecida la esencialidad del boro como micronutriente para todas las plantas vasculares en la obtención de altas y buenas producciones de calidad en las prácticas agrícolas, el conocimiento acerca de sus funciones metabólicas en los vegetales aún permanece incompleto. Algunas investigaciones han ayudado a mejorar grandemente el entendimiento de algunos procesos en las plantas en cuanto a su consumo y transporte.[13]

No existe un método que se utilice con carácter general para la determinación de boro en cualquier tipo de muestras. Entre los métodos para la determinación de boro en materiales vegetales, es el de la Azometina-H el que se ha utilizado con más frecuencia durante los últimos años. A pesar que su sensibilidad es menor que el método de la Curcumina[14], su sencillez y rapidez de uso facilita considerablemente el análisis de grandes series de muestras.

La necesidad de contar con sensores que nos permitan el monitoreo *in situ* de este toxico nos llevó al diseño y fabricación de un electrodo ion selectivo para Boro. Los electrodos o sensores químicos son considerados como instrumentos simples en comparación con los grandes equipos de análisis, pero sin embargo estos no pueden ser obviados ya que son necesarios en áreas donde se requiere mediciones rápidas de bajo costo y con una sensibilidad satisfactoria, todo esto además de su inherente portabilidad la cual es necesaria para mediciones en el campo. Por otro lado su uso requiere una capacitación más simple y rápida.

HIPÓTESIS

Dada la deficiencia de equipos para el monitoreo de boro *in situ*, es probable que la fabricación de un electrodo ión selectivo posibilite su monitoreo en ecosistemas contaminados.

OBJETIVOS

1. Diseñar y construir un cuerpo para electrodo ión selectivo.
2. Fabricar, evaluar y analizar una membrana sensora ión selectiva para boro.
3. Optimizar las condiciones de respuesta del electrodo ión selectivo para boro y de esta manera poder realizar un monitoreo en campo.
4. Comparar los resultados obtenidos del electrodo ión selectivo con una técnica espectrofotométrica de Azometina-H para boro, previamente estandarizada.

CAPÍTULO I

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se diseñó, construyó y evaluó un electrodo ión selectivo para la determinación de boro.

1. Diseño, construcción del electrodo y composición de la mezcla sensora.

A partir de las experiencias de diversos autores [69, 70, 71] se procedió al diseño y construcción del electrodo (Fig. 1.1). Se fabricaron 03 cuerpos de electrodos utilizando Poliamida, Delrin®, Ertalyte®, observándose que el material que mejor acabado en su fabricación y durabilidad en su uso fue el Ertalyte®.

La estación potenciométrica Titrando 808 de Methrom, utiliza un cable de conexión especial con cabezal enchufable para los electrodos de dicha casa comercial (6.2104.020), lo cual ocasionaba un limitante en la conexión del electrodo fabricado. Para ello se fabricó la unión a dicho conector, utilizando bronce, el cual fue torneado con las mismas características al original (Fig. 1.2).

Muchos conectores de equipos presentes en el mercado presentan conectores tipo BNC los cuales pueden ser adquiridos fácilmente.

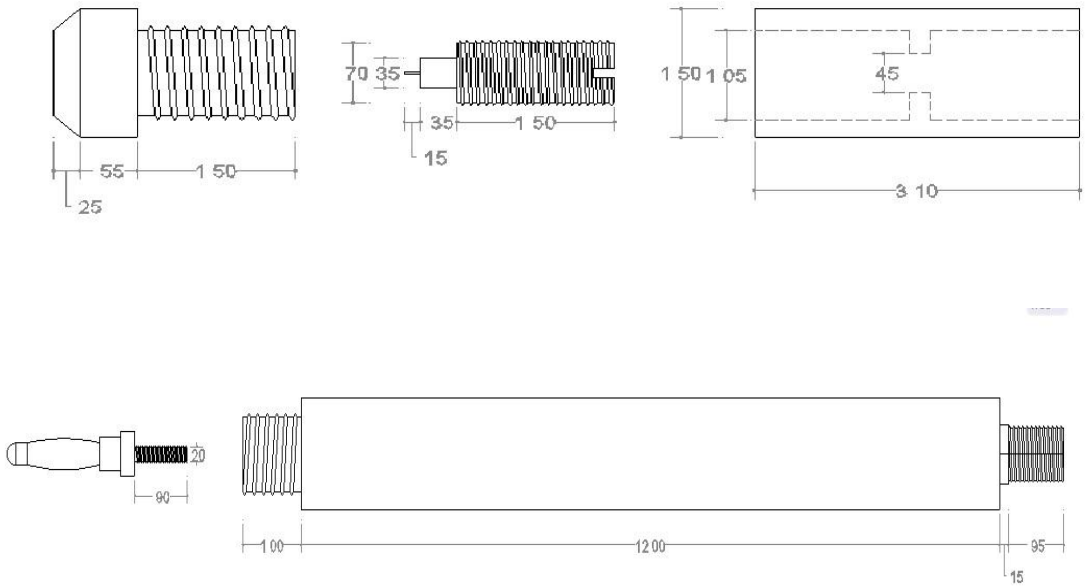

Fig. 1.1. Diagrama del Electrodo ión selectivo (medidas en mm)

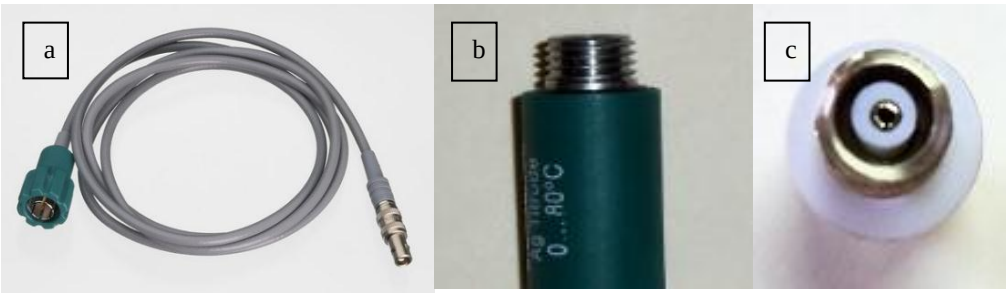

Fig. 1.2. a) Cable de conexión de Metrohm, b) Conector de electrodo de Metrohm, c) Conector fabricado para electrodo.

Para la fabricación de la mezcla sensora (pellet), diversos autores utilizan una prensa hidráulica que se encuentra en los espectrofotómetros IR. Al no contar con dicha prensa, se fabricó una matriz en acero inoxidable con un diámetro de 7 mm para contener la mezcla sensora (Fig. 1.3); dicha matriz se utilizó en una prensa hidráulica de reloj para soportar una presión de 5000 kg.cm^{-2} durante 5 minutos y

luego bajo una presión de 8000 $kg.cm^{-2}$ durante 10 minutos. Los pellets de 7 mm de diámetro y 0.1 - 0.3 mm de espesor fueron sellados con resina epóxica.

Fig. 1.3. Matriz para pellet.

La composición de la membrana tiene un gran efecto sobre la sensibilidad, selectividad y la estabilidad de los electrodos de membrana selectiva de iones. En el presente estudio, se prepararon 03 tipos de pellets, los cuales fueron usados para la fabricación de los electrodos en diferentes composiciones tal como se muestra en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Composición de los pellets.

Composición	Ag_3BO_3 (%)	Cu_2S (%)	Ag_2S (%)
Pellet 1	10	10	80
Pellet 2	1	10	89
Pellet 3	0.5	10	89.5

Una vez fabricados los pellets en las diferentes composiciones descritas en la Tabla 1.1, se fabricaron los electrodos (Fig. 1.4); los cuales fueron evaluados posteriormente.

Fig. 1.4. Electrodo ion selectivo fabricado.

En la figura 1.5 se observa la respuesta del pellet fabricado con una concentración de 10 % de Ag_3BO_3 frente a soluciones de borato de concentraciones conocidas, observándose que el pellet no presenta respuesta alguna.

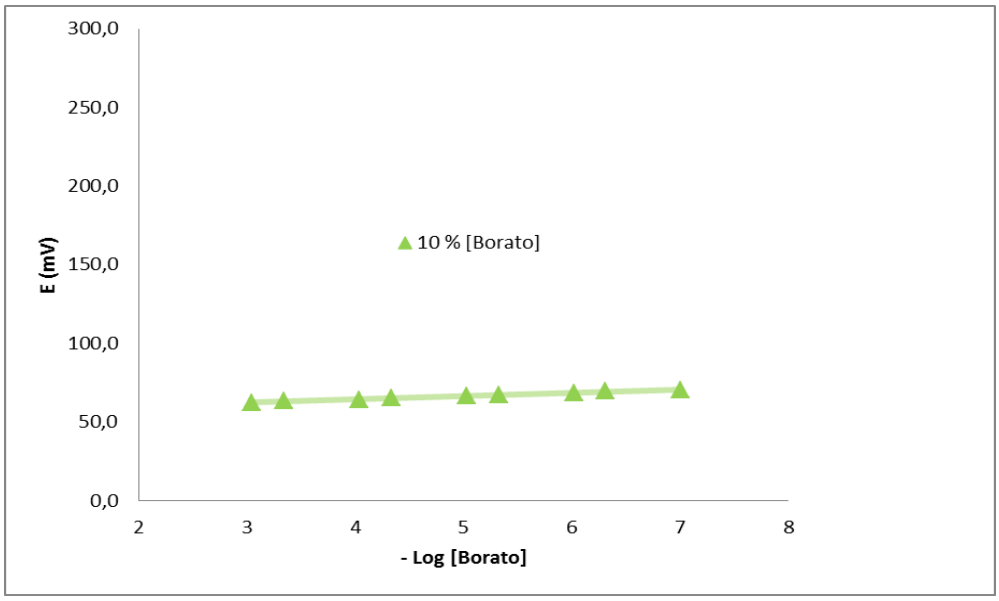

Fig. 1.5 Curva de calibración del electrodo de borato (en $NaNO_3$ 0.1 M) preparado a una concentración de 10 % de Ag_3BO_3.

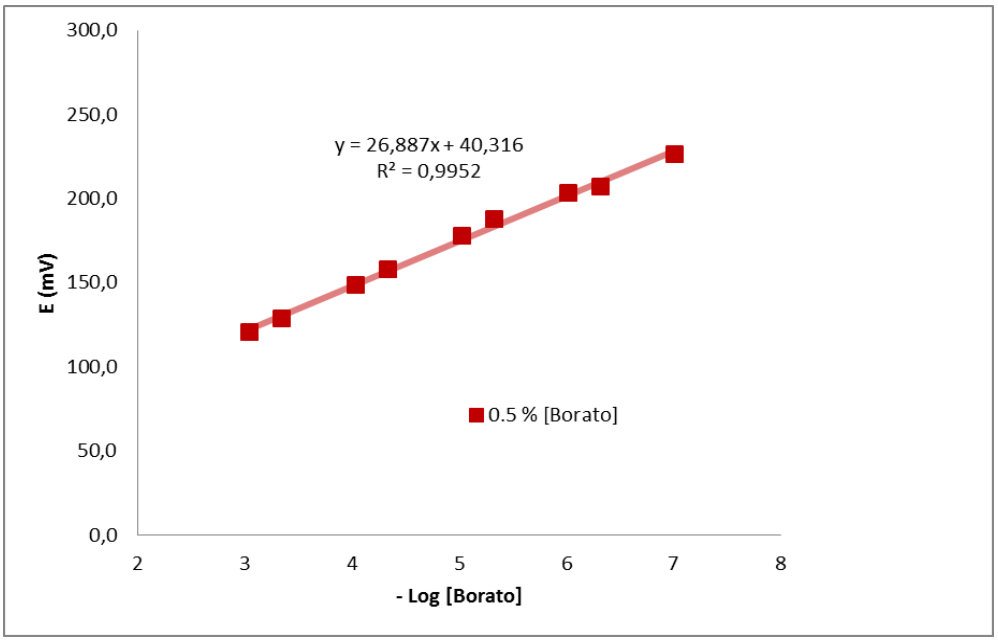

Fig. 1.6 Curva de calibración del electrodo de borato (en $NaNO_3$ 0.1 M) preparado a una concentración de 0.5 % de Ag_3BO_3.

En la figura 1.6 se observa la respuesta del pellet fabricado con una concentración de 0.5 % de Ag_3BO_3 frente a soluciones de borato de concentraciones conocidas, observándose que el pellet presenta una respuesta positiva la cual fue evaluada.

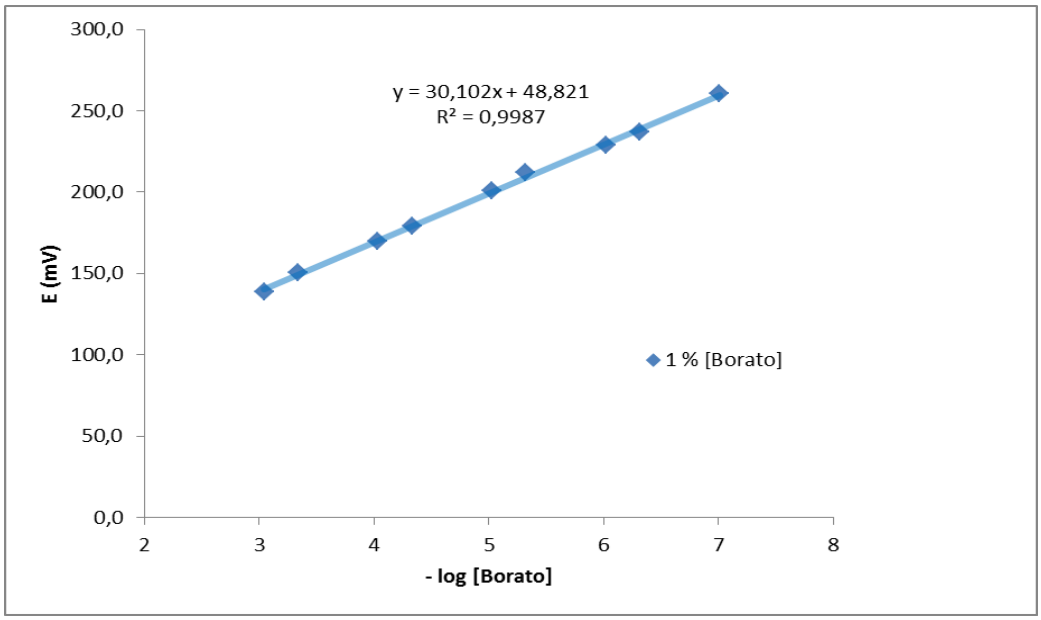

Fig. 1.7 Curva de calibración del electrodo de borato (en $NaNO_3$ 0.1 M) preparado a una concentración de 1 % de Ag_3BO_3.

En la figura 1.7 se observa la respuesta del pellet fabricado con una concentración de 1 % de Ag_3BO_3 frente a soluciones de borato de concentraciones conocidas, observándose que el pellet presenta una respuesta positiva la cual fue evaluada.

Los tres pellets fabricados en distintas concentraciones de Ag_3BO_3 fueron evaluados, observándose que el pellet que contenía 10 % de Ag_3BO_3 casi no tuvo respuesta alguna, el que tenía 0.5 % de Ag_3BO_3, obtuvo una mejor respuesta (pendiente de 27 mV/década), pero el pellet que obtuvo mayor respuesta fue el que contenía 1 % de Ag_3BO_3, 10 % de Cu_2S y 89 % de Ag_2S (pendiente de 30 mV/década). Cabe señalar que la pendiente para iones divalentes es de 29.6 mV/década esto debido a la respuesta Nerstiana. De acuerdo a los resultados obtenidos una gráfica representativa se muestra en la figura 1.8

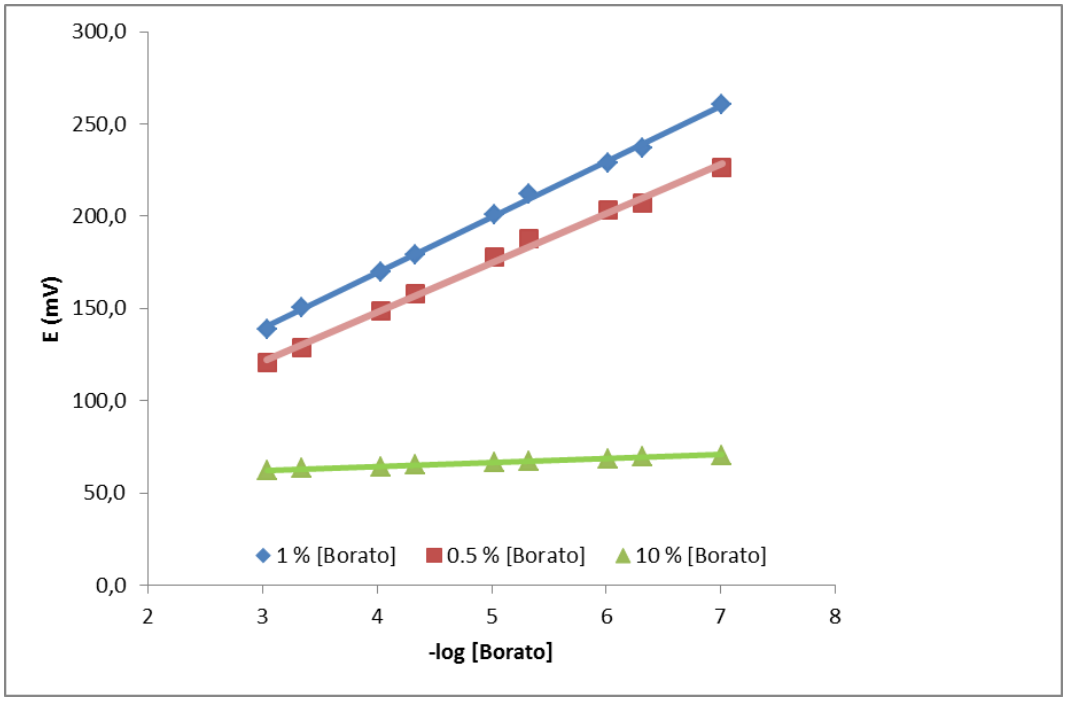

Fig. 1.8 Curvas de calibración del electrodo de borato (en $NaNO_3$ 0.1 M) preparados en distintos porcentajes de Ag_3BO_3.

2. Calibración de las curvas del electrodo

La respuesta potenciométrica de los electrodos preparados en diferentes composiciones, fueron investigadas frente a la concentración de iones borato. Para este propósito, se preparó una solución de borato ($Na_2B_4O_7.10H_2O$) registrándose las variaciones en el potencial. Para mantener una fuerza iónica constante todas las mediciones se realizaron en 20 mL de $NaNO_3$ 0.1 M.

La respuesta de cada electrodo se midió después de adiciones de 0,2 mL de $Na_2B_4O_7$ de distintas concentraciones. Para la curva de calibración las lecturas realizadas fueron graficadas contra la concentración de borato ($B_4O_7^{=}$). La curva de calibración para el electrodo conteniendo 1% Ag_3BO_3, 89% de Ag_2S y 10% de Cu_2S se muestra en la figura 1.9. Como era de esperar para aniones, al aumentar la concentración de iones borato el potencial se hace más negativo.

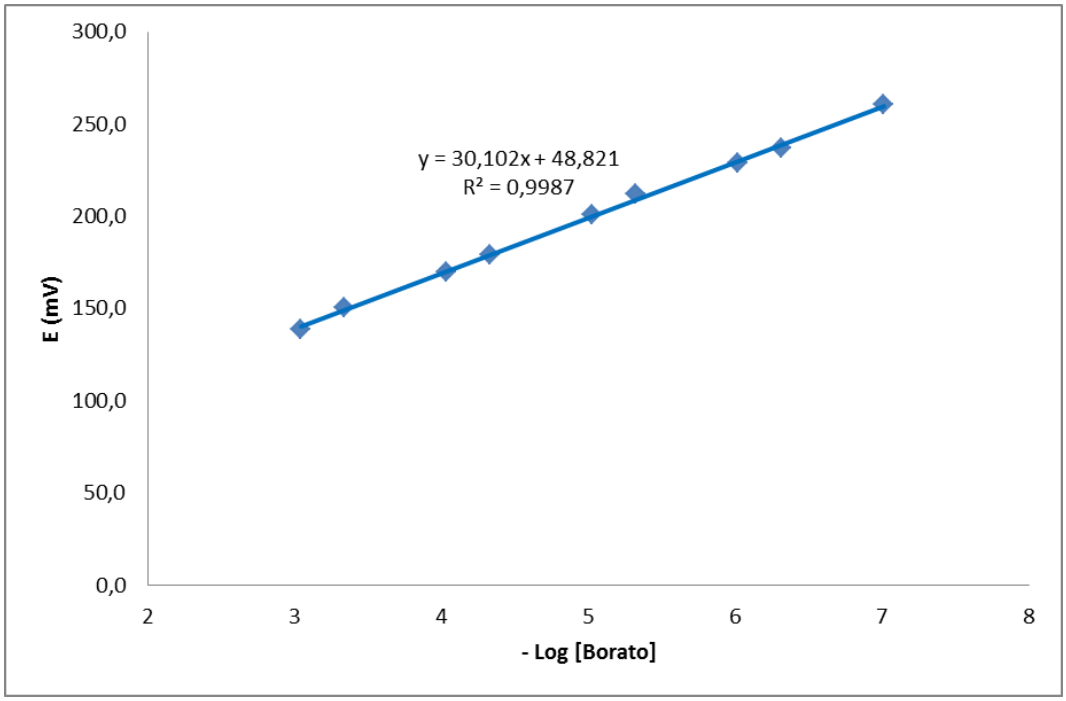

Fig. 1.9 Respuesta del EIS (en $NaNO_3$ 0.1 M) frente adiciones estándares de $Na_2B_4O_7$

3. Acondicionamiento del electrodo

El electrodo preparado con 1 % de Ag_3BO_3, 10 % de Cu_2S y 89 % de Ag_2S se dejó en el aire (en la oscuridad), en agua destilada y en una solución 10^{-4} M $Na_2B_4O_7$ y luego sus respuestas a ión borato se midieron.

Se encontró que el electrodo que mejor respuesta presentó fue el que se dejó esperar en el aire (en la oscuridad), después de cada uso se lavó y se limpió a fondo. Sin embargo, cuando se deja en agua destilada o en solución de borato la respuesta disminuye drásticamente, debido a la disminución de su pendiente, una gráfica representativa se muestra en la figura 1.10

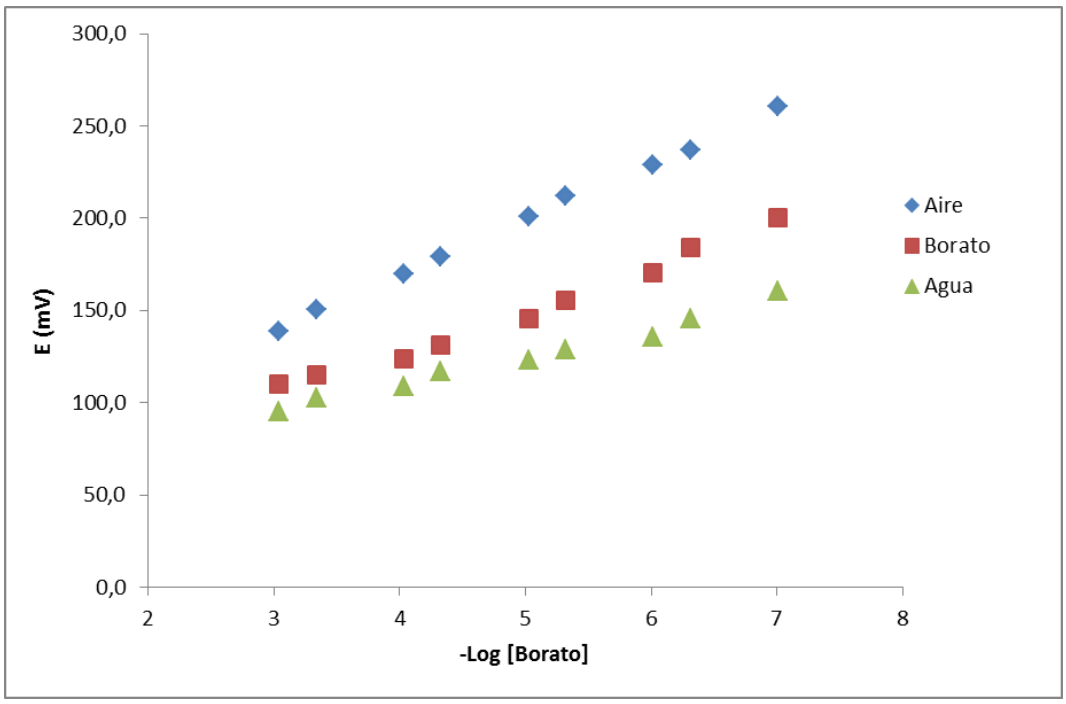

Fig. 1.10. Respuesta del electrodo de acuerdo a su almacenamiento.

4. Dinámica de respuesta

La dinámica de respuesta del electrodo depende de la concentración. Después de cada adición, el tiempo en que se demora el potencial en permanecer estable, se considera como el tiempo de respuesta. Cuando la concentración de

borato cambia la respuesta del electrodo se demora aproximadamente entre 20 - 30 segundos, que es un período corto y es una ventaja, por esta razón este electrodo se puede utilizar fácilmente para análisis de rutina. Todas las mediciones se realizaron a temperatura constante de 25.0 ± 0 .1 ^{o}C en una celda termostateada.

La velocidad de respuesta de los electrodos selectivos a los iones tiene una fuerte dependencia con las condiciones experimentales. Así, en los ensayos llevados a cabo para realizar las curvas de calibración del electrodo elaborado, se determinaron los tiempos de respuesta, los valores encontrados estaban dentro del rango de 20 a 30 segundos.

La IUPAC [65] recomienda que la determinación de la velocidad de respuesta de electrodos selectivos deba ir acompañada de las descripciones detalladas de las condiciones experimentales en el que se realiza la medición. Por tanto, aconseja definir el tiempo de respuesta, como el tiempo que pasa desde el momento en que se altera la concentración en el medio hasta que se llega a una diferencia de potencial de 1 mV antes de la estabilidad completa. La figura 1.11 muestra una gráfica representativa del tiempo de respuesta del electrodo.

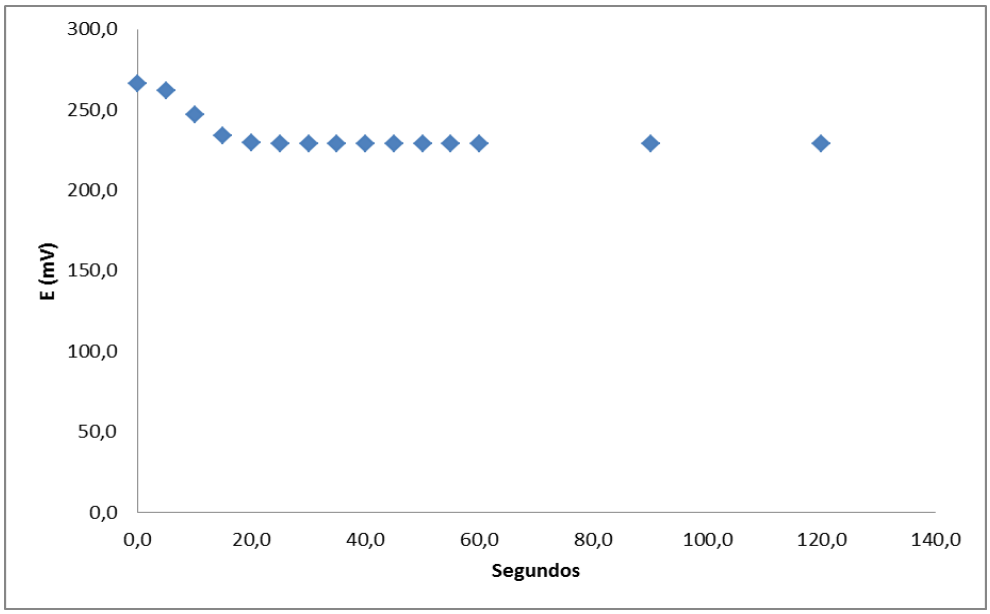

Fig. 1.11. Tiempo de respuesta del electrodo.

5. Tiempo de vida

La evaluación del electrodo elaborado en el presente estudio fue superior a los 8 meses, determinándose de acuerdo a la breve disminución de la pendiente inicial, la cual fue comprobada después de cada uso del electrodo. Se almacenó de acuerdo a los resultados obtenidos de las distintas condiciones experimentales establecidas (en el aire y oscuridad, en agua destilada y en una solución 10^{-4} M de $Na_2B_4O_7$) que se pueden observar en la figura 1.10.

Así, la pendiente para el electrodo estudiado, tuvo una variación mínima durante todo el tiempo de su evaluación, obteniéndose respuestas nernstianas a lo largo de este tiempo.

Según la bibliografía y en la mayoría de los casos, los electrodos selectivos de estado sólido tienen una durabilidad igual y mayor a 1 año, dependiendo de la manera en que son utilizados.

Así, el electrodo en estudio, tiene un tiempo de vida de 1 año. Algunos autores [72] estiman que el tiempo de vida de los electrodos desarrollados en forma de pellets, sería de dos años.

6. Límite práctico de detección

El límite práctico de detección (LPD) del electrodo en estudio, fue determinado a partir de su recta de calibración, determinándose:

a. Linealidad

Para determinar la linealidad de la respuesta del electrodo frente a diferentes concentraciones de Borato, se elaboró la recta de regresión lineal como se muestra en la figura 1.12 y cuyos valores se encuentran en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2. Datos para la linealidad del método.

Ci ($mol.dm^{-3}$)	Cf ($mol.dm^{-3}$)	Log Cf	E (mV)	E (mV)	E (mV)	E (mV)	Promedio (mV)	DS
1,00E-05	9,80E-08	7,009	260,1	260,0	260,2	260,5	260,2	0,22
5,00E-05	4,85E-07	6,314	236,0	236,4	237,2	237,2	236,7	0,62
1,00E-04	9,62E-07	6,017	228,5	228,5	229,1	229,0	228,8	0,31
5,00E-04	4,76E-06	5,322	211,4	211,7	212,1	212,2	211,9	0,39
1,00E-03	9,43E-06	5,025	200,3	200,4	201,1	200,5	200,6	0,37
5,00E-03	4,67E-05	4,330	178,1	178,6	179,3	178,9	178,7	0,48
1,00E-02	9,26E-05	4,033	169,3	169,1	170,3	169,8	169,6	0,52
5,00E-02	4,59E-04	3,338	149,9	149,8	151,1	150,7	150,4	0,60
1,00E-01	9,09E-04	3,041	138,3	138,6	139,4	138,7	138,8	0,47

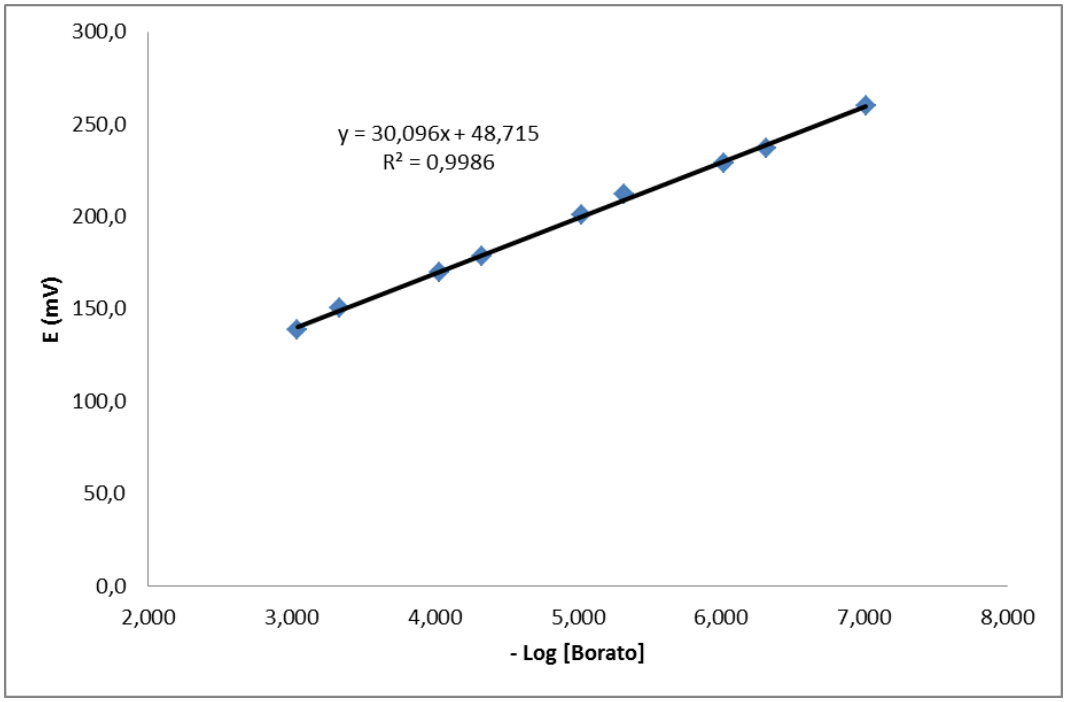

Fig. 1.12. Gráfica de calibración para Borato.

En la figura 1.12, a partir del rango de concentraciones finales y el valor promedio del voltaje medido, se obtuvo el coeficiente de determinación (r^2) igual a 0.9986, el cual debe ser por lo menos 0.99 para ser aceptado; una pendiente (b) de 30.096; un intercepto (α) de 48.715 y un coeficiente de correlación (r) de 0.9993.

La relación entre la variable dependiente (concentración) y la variable independiente (voltaje) se expresa matemáticamente haciendo una estadística de regresión, tal como se expresa en la Tabla 1.3.

Tabla 1.3. Determinación de la linealidad para los datos de la gráfica de regresión.

Estadísticas de la regresión	
Coeficiente de correlación múltiple	0,9993
Coeficiente de determinación R^2	0,9986
R^2 ajustado	0,9984
Error típico	1,6314
Observaciones	9

Para la evaluación y certificación de la existencia de una correlación significativa entre **x, y** se tuvo en cuenta el contraste estadístico para el coeficiente de correlación donde se calcula el valor $t_{regresión}$ (de acuerdo a fórmula) con n-2 grados de libertad a un intervalo de confianza del 95 % y este se compara con el valor de t_{tabla}

De acuerdo a fórmula se obtienen valores de 70.66 y 2.36 para $t_{regresión}$ y t_{tabla} respectivamente, indicando la existencia de una correlación significativa entre **x, y**.

El mejor indicador del modelo lineal no es **r**, sino una prueba estadística, así el análisis de varianza se muestra en la Tabla 1.4, donde se evidencia la existencia de una alta correlación entre los datos de concentración y su respuesta, por tal razón se concluye que el método presenta una proporcionalidad entre la concentración del analito y su respuesta en el voltaje (mV).

Tabla 1.4. Análisis de varianza para la determinación de la linealidad.

	Grados de libertad	*Suma de cuadrados*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Valor crítico de F*
Regresión	1	13443,972	13443,972	5051,372	2,87E-11
Residuos	7	18,630	2,661		
Total	8	13462,602			

	Coeficientes	*Error típico*	*Estadístico t*	*Probabilidad*	*Inferior 95%*	*Superior 95%*
Intercepción	48,715	2,160	22,553	8,53E-08	43,607	53,822
Variable X 1	30,096	0,423	71,073	2,87E-11	29,094	31,097

b. Sensibilidad

Este parámetro se encuentra relacionado con la mínima cantidad de analito que pueda producir un resultado significativo. En la tabla 1.5 se muestran los valores necesarios para su determinación.

Tabla 1.5. Valores para la determinación de la sensibilidad.

Determinación de la sensibilidad		
Potencial inicial antes de la adición	E_o	267.1
Número de datos	n	9
Pendiente	b	30.096

i) Límite práctico de detección (LPD).

El límite práctico de detección (LPD) se determinó a partir de la ecuación de la recta generada por la curva de calibración del ión evaluado, resolviendo el antilogaritmo de la variable X en la ecuación lineal al sustituir en la variable Y el potencial inicial (potencial obtenido en la disolución de fondo, es decir; antes de efectuar las adiciones).

$$y = 30.096x + 48.715$$

El límite práctico de detección (LPD) del electrodo construido, fue determinado a partir de la recta de calibración respectiva, obteniéndose valores cercanos a 10^{-8} M para el ion estudiado. De esta manera se obtuvo que el LPD para el ion borato, fue de 5.50 x 10^{-8} M.

7. Efecto del pH

Para la determinación del efecto del pH se hicieron las lecturas de potencial en la presencia de 10^{-4} M de borato. Para este fin se utilizaron 20 mL de $NaNO_3$ 0,1 M para mantener la fuerza iónica constante, se añadió HNO_3 0.1 M hasta un pH cercano a 1. Como electrodo de referencia, se usó un electrodo de tipo convencional de doble unión de marca Metrohm y para medir el pH un electrodo combinado de la misma casa. Se varió el pH adicionando gotas de una disolución concentrada de hidróxido de sodio.

Con los valores obtenidos se construyó el diagrama de Reilley para el electrodo en estudio (Fig. 1.13). En dicho diagrama se puede apreciar que a pHs muy bajos y al ir aumentando el pH, el potencial disminuye, posiblemente debido al ataque del ión hidrógeno a los sulfuros. Seguidamente los valores del potencial se estabilizan, iniciándose una zona ligeramente plana. Así la variación de los potenciales con el pH queda determinada, se puede observar que los pHs óptimos para esta determinación corresponden al rango entre 6 a 9, rango donde el electrodo se puede usar de forma segura. La figura 1.14 muestra la estación potenciométrica Titrando 808 de Metrohm y el potenciómetro pH-Lab 827 de Metrohm usado en el presente estudio para la determinación del voltaje y pH.

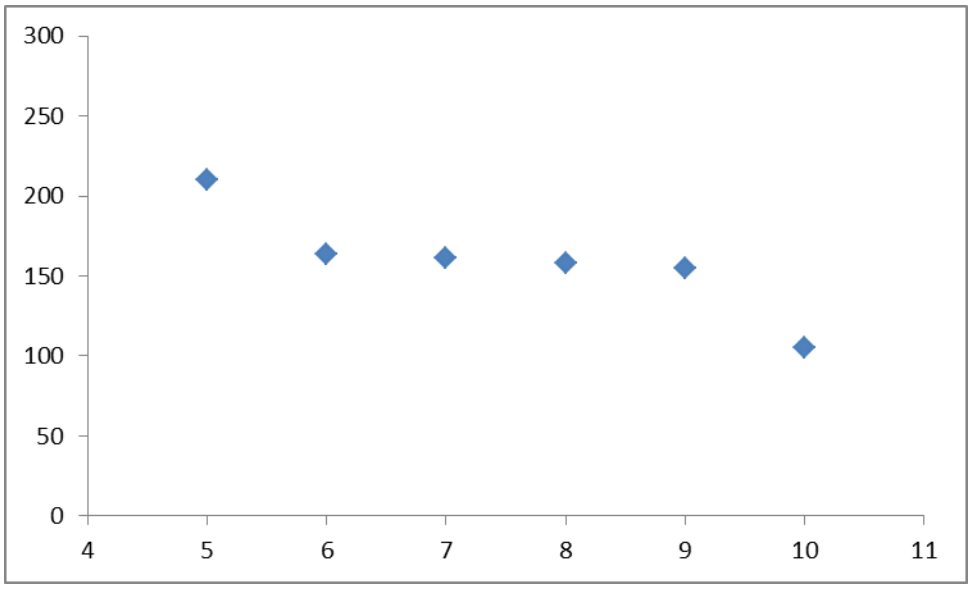

Fig. 1.13. Respuesta del EIS (en $NaNO_3$ 0.1 M) frente al pH.

Fig. 1.14. Estación potenciométrica y potenciómetro usado.

8. Interferentes

Por lo general, no es posible obtener un electrodo ion selectivo que sólo sea específico para un ión. Por lo tanto, a fin de lograr resultados que sean más correctos y sensibles en el análisis, es importante conocer los efectos de otros iones en el medio. Estos efectos son identificados a través de coeficientes de selectividad. En el presente estudio se utilizó el método de las soluciones mixtas para determinar el coeficiente de selectividad, $K_{A,B}^{pot}$ debido a que se ajusta más a la situación en las muestras. En este método, se prepararon soluciones con una actividad constante del ión principal y la actividad variante de los iones interferentes. Los valores del coeficiente de selectividad fueron calculados a través de la siguiente ecuación[73]:

$$k_{A,B}^{pot} a_B^{nA/nB} = a_A \{anti \log[(E_1 - E_2) \ /S]\} - a_A$$

Dónde: $S = 2.303RT/nAF$ (pendiente del electrodo de borato).

a_A, es la actividad del ion primario (borato).

a_B, es la actividad del ion interferente.

E_1, es el potencial medido cuando sólo A esta presente.

E_2, es la respuesta del potencial del ion primario en presencia del ion interferente.

$k_{A,B}^{pot}$, es el coeficiente de selectividad.

nA y nB, son las cargas de A (borato) y B (ion interferente).

En el presente estudio se analizaron los siguientes aniones como posibles interferentes, Cl^-, NO_3^-, $SO_4^=$, $H_2PO_4^-$ y como cationes, K^+, Na^+, Cu^{2+}, Ag^+. Los iones interferentes fueron añadidos en presencia de $NaNO_3$ 0.1 M, conteniendo solución de borato de 10^{-5} M, de modo que la concentración de iones interferentes fue de 10^{-2} – 10^{-5} M, y el cambio en el potencial fue medido después de cada adición.

Los potenciales obtenidos a diferentes concentraciones de iones interferentes se representan gráficamente en la figura 1.15 para cationes y en la figura 1.16 para aniones.

En la figura 1.15, no se observaron interferencias para sodio, potasio y cobre, se observó una ligera interferencia de iones plata.

En la figura 1.16, se observa que los iones cloruro, nitrato, sulfato y fosfato diácido, no presentan interferencia alguna.

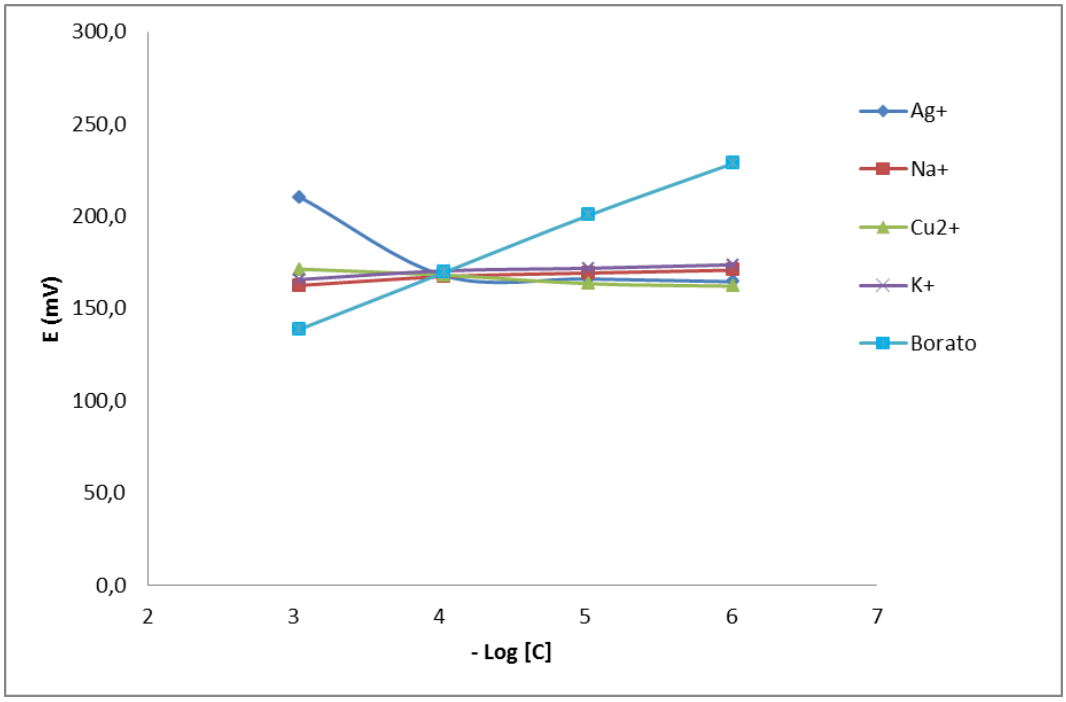

Fig. 1.15. Respuesta del electrodo frente a algunos cationes.

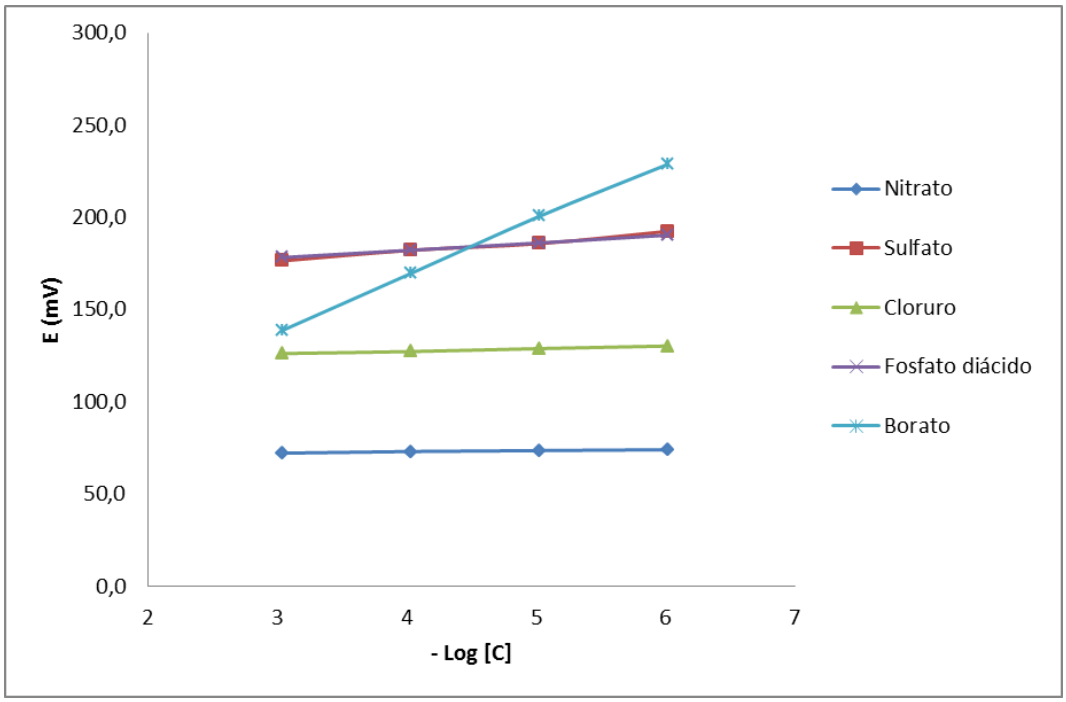

Fig. 1.16. Respuesta del electrodo frente a algunos aniones.

La tabla 1.6 resume los parámetros encontrados para el electrodo en estudio.

Tabla 1.6. Parámetros del electrodo en estudio.

Parámetros	**Valores deseados**
Pendiente	Anión divalente: 30.096
Tiempo de respuesta	20 – 30 segundos.
Tiempo de vida	> 1 año
Limite práctico de detección	5.50×10^{-8} M
Acondicionamiento	Ninguno
Influencia del Ph	Entre 6 – 9

9. Determinación Espectrofotométrica de Boro por Azometina H

Como un aporte al presente trabajo y para realizar la comparación del electrodo ion selectivo con un método estandarizado, se determinó la concentración de una muestra con ambos métodos.

La determinación espectrofotométrica de Boro a través de la formación de un complejo coloreado con Azometina H, constituye uno de los métodos más adecuados para el análisis de este elemento en muestras de suelo, agua y material vegetal. Los datos obtenidos para estandarizar la técnica espectrofotométrica se muestran en la Tabla 1.7 y una gráfica representativa en la Figura 1.17. Obteniéndose un coeficiente de correlación (r^2) de 0,9996, una pendiente de 0,2854 y un intercepto de -0,0338. Límite de Detección (LOD) correspondiente a 0,06 ppm y el Límite de Cuantificación (LOQ) a 0,07 ppm.

Tabla 1.7. Datos para la linealidad del método de Azometina-H para Boro.

Std.	Conc. ppm (mg/L)	Absorbancia				
		I	II	III	Promedio	D.S.
1	0,5	0,1125	0,1144	0,1150	0,1140	0,001
2	1	0,2541	0,2545	0,2557	0,2548	0,001
3	2	0,5212	0,5228	0,5237	0,5226	0,001
4	3	0,8263	0,8214	0,8231	0,8236	0,002
5	4	1,1112	1,1127	1,1138	1,1126	0,001

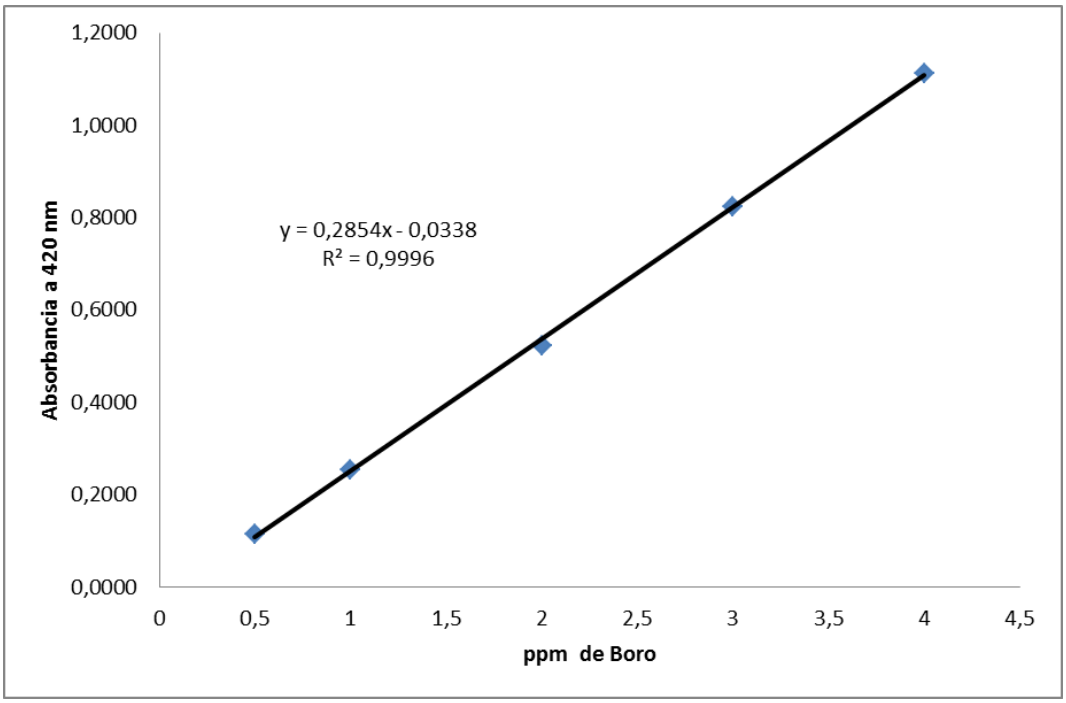

Fig. 1.17. Gráfica de calibración para Boro.

Para la determinación de borato, primero se mide el potencial de 20 mL de $NaNO_3$ 0.1 M, utilizando el electrodo ión selectivo de borato. A continuación, los volúmenes adecuados de las muestras de agua se añadieron y una vez más se midió el potencial. En el caso de concentraciones más bajas de borato, se debe de añadir volúmenes mayores de muestra de agua.

Las concentraciones de Boro obtenidas en el agua del rio Tambo, se observan en la Tabla 1.6, obteniéndose valores de 4.18 ± 0.03 y de 4.03 ± 0.11 ppm con el electrodo ion selectivo y el método usando azometina H por espectrofotometría, respectivamente. En la tabla 1.7, se observa la prueba estadística t, la cual nos demuestra que entre ambos métodos usados no existe diferencia significativa.

Tabla 1.6. Resultados de Boro en ambos métodos.

	Muestras (ppm) de Boro				
Método	**A**	**B**	**C**	**Promedio**	**DS**
Azometina H	3,91	4,07	4,11	4,03	0,11
EIS	4,15	4,18	4,21	4,18	0,03

Tabla 1.7. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	Variable 1	*Variable 2*
Media	4,181464243	4,032644242
Varianza	0,001023444	0,011295091
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0,006159268	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	2,322428743	
P(T<=t) una cola	0,040460418	
Valor crítico de t (una cola)	2,131846786	
P(T<=t) dos colas	0,080920835	
Valor crítico de t (dos colas)	2,776445105	

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede concluir lo siguiente:

1. Se diseñó y construyó el cuerpo del electrodo, con materiales de uso local, no presentándose inconveniente alguno para la obtención de los materiales y fue económicamente viable.
2. La respuesta de la membrana sensora ión selectiva para borato fue estudiada, obteniéndose un buen rendimiento en lo que se refiere a la reproducibilidad, sensibilidad, tiempo de vida y una pendiente de 30.096 mV/década el cual es un valor muy cercano al teórico 29.6mV/década presentando un comportamiento nernstiano.
3. El electrodo ion selectivo para borato, presenta una buena selectividad para dicho ion, observándose que sólo el ión plata presenta una pequeña interferencia; un tiempo de respuesta de 20 – 30 segundos; tiempo de vida mayor a 1 año; límite práctico de detección de 5.50×10^{-8} M; un rango de pH de 6 a 9.
4. Las concentraciones de boro obtenidas en el agua del río Tambo fueron de 4.18 ± 0.03 y de 4.03 ± 0.11 ppm con el electrodo ión selectivo y con la técnica espectrofotométrica respectivamente.

SUGERENCIAS

- Desarrollar diferentes tipos de electrodos para el monitoreo de diferentes contaminantes.
- Establecer la factibilidad de producir electrodos a nivel comercial.

BIBLIOGRAFÍA

1. García, I.; Dorronsoro, C. Contaminación por metales pesados. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Granada (España), 2001. Lección 15.
2. Dorronsoro, C. Degradación del suelo. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Granada (España), 2001. Lección 10.
3. Nedlkoska, T. V; Doran, P.M. 2000. Characteristic of Heavy Metal Uptake by Plant Species with Potential for Phytoremediation and Phytomining. Minerals Engineer. 13(5): 549-561.
4. Garbisu, C; Alkorta, I 2001. Phytoestraction: a cost-effective plant-based technology for the renoval of metals from the environment. Review paper. Bioresource technol. 77: 229-236.
5. Power PP, Woods WG. 1997. The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant and Soil* 193: 1-13.
6. Brady JE, Humiston GE. 1978. *General chemistry: Principles and structure*. New York. John Wiley and Sons.
7. Holleman AF, Wiberg E. 2001. *Inorganic chemistry*. New York. Academic Press.
8. Bolaños L, Lukaszewski K, Bonilla I, Blevins D. 2004. Why boron? *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 907-912.
9. Warington K. 1923. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Annals of Botany* 37: 629-672.
10. Smyth DA, Dugger WM. 1981. Cellular changes during boron-deficient culture of the diatom *Cylindrotheca fusiformis*. *Plant Physiology* 51: 111-117.
11. Bonilla I, García-González M, Mateo P. 1990. Boron requeriment in cianobacteria. Its possible role in the early evolution of photosynthetic organisms *Plant Physiology* 94: 1554-1560.

12. García-González M, Mateo P, Bonilla I. 1991. Boron requirement for envelope structure and function in *Anabaena* PCC 7119 heterocysts. *Journal of Experimental Botany* 42: 925-929.
13. Bonilla I, Mergold-Villasenor C, Campos ME, Sánchez N, Pérez H, López L, Castrejón L, Sánchez F, Cassab GI. 1997. The aberrant cell walls of boron deficient bean root nodules have no covalently bound hydroxyproline-/proline-rich proteins. *Plant Physiology* 115: 1329-1340.
14. Bennett A, Rowe RI, Soch N, Eckhert CD. 1993. Boron stimulates yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) growth. *The Journal of Nutrition*. 129: 2236-2238.
15. Rowe RI, Eckhert CD. 1999. Boron is required for zebra fish embryogenesis. *Journal of Experimental Botany* 202: 1649-1654.
16. Kobayashi M, Matoh T, Azuma J. 1996. Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. *Plant Physiology* 110: 1017-1020.
17. O'Neill MA, Ishii T, Albersheim P, Darvill AG. 2004. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *Annual Review of Plant Biology* 55: 109-139.
18. Blevins DG, Lukaszewski KM. 1998. Boron in plant structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 481-500.
19. Brown PH, Bellaloui N, Wimmer MA, Bassil ES, Ruiz J, Hu H, Pfeffer H, Dannel F, Römheld V. 2002. Boron in plant biology. *Plant Biology* 4: 205-223.
20. Goldbach HE, Wimmer MA. 2007. Boron in plants and animals: Is there a role beyond cell-wall structure?. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 170: 39-48.
21. Redondo-Nieto M, Rivilla R, El-Hamdaoui A, Bonilla I, Bolaños L. 2001. Boron deficiency affects early infection events in the pea-*Rhizobium* symbiotic interaction. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 819-823.

22. Camacho-Cristóbal JJ, González-Fontes A. 2007. Boron deficiency decreases plasmalemma H+-ATPase expression and nitrate uptake, and promotes ammonium assimilation into asparagine in tobacco roots. *Planta* 226: 443-451.
23. Kobayashi M, Mutoh T, Matoh T. 2004. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells IV. Genes induced under low boron supply. *Journal of Experimental Botany* 55:1441-1443.
24. Takano J, Wada M, Ludewig U, Schaaf G, von Wirén N, Fujiwara T. 2006. The Arabidopsis major intrinsic protein NIP5; 1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation. *Plant Cell* 18: 1498-1509.
25. Kasajima I, Fujiwara T. 2007. Identification of novel Arabidopsis thaliana genes which are induced by high levels of boron. *Plant Biotechnology* 24: 355-360.
26. Camacho-Cristóbal JJ, Herrera-Rodríguez MB, Beato VM, Rexach J, Navarro-Gochicoa MT, Maldonado JM *et al*. 2008. The expression of several cell wallrelated genes in Arabidopsis roots is down-regulated under boron deficiency. *Environmental and Experimental Botany* 63: 351-358.
27. Gonzalez-Fontes A, Rexach J, Navarro-Gochicoa MT, Herrera-Rodríguez MB, Beato VM, Maldonado JM, Camacho-Cristóbal JJ. 2008. Is boron involved solely in structural roles in vascular plants? *Plant Signalling & Behaviour* 3: 24-26.
28. Hu H, Brown PH. 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil* 193: 49-58.
29. Takano J, Miwa K, Fujiwara T. 2008. Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. *Trends in Plant Science* 13: 451-457.
30. Tisdale SL, Nelson WL, Beaton JD. 1985. *Soil Fertility and Fertilizers 4th Edn*. New York. Macmillan Publishing Company.
31. Gupta UC. 1979. Boron nutrition of crops. *Advances in Agronomy* 31: 273-307.

32. Kerem R, Bingham FT. 1985. *Boron in water, soils, and plants*. Advances in soil science VI. Ed. BA Stewart. New York. Springer-Verlag.
33. Brown PH, Shelp BJ. 1997. Boron mobility in plants. *Plant and Soil* 193: 85-101.
34. Hu H. Penn SG, Lebrilla CB, Brown PH. 1997. Isolation and characterization of soluble B-complexes in higher plants. *Plant Physiology* 113: 649-655.
35. Nable RO, Bañuelos GS, Paull JG. 1997. Boron toxicity. *Plant and Soil* 193: 181-198.
36. Parks JL, Edwards M. 2005. Boron in the environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 35: 81-114.
37. Vouthckow N. 2005. Desalination-water for the next generation. *Filtration & Separation* 42: 14-25.
38. Tariq M, Mott CFB. 2007. The significance of boron in plant nutrition and environment - A review. *Journal of Agronomy* 6: 1-10.
39. Chesworth W. 1991. *Geochemistry of micronutrients. Micronutrients in agriculture*. Eds. JJ Mortvedt, FR Cox, LM Shuman, RM Welch. Soil Science Society of America. Madison, Wl, USA.
40. Argust P. 1998. Distribution of boron in the environment. *Biological Trace Element Research*. 66: 131-143.
41. Anderson DL, Kitto ME, McCarthy L, Zoller WH. 1994. Sources and atmospheric distribution of particulate and gasphase boron. *Atmospheric Environment.* 28: 1401-1410.
42. Coughlin JR. 1998. Sources of human exposure: overview of water supplies as sources of boron. *Biological* Trace Element *Research* 66: 87-100.
43. Malina G. 2004. Ecotoxicological and environmental problems associated with the former chemical plant in Tarnowski Gory. *Poland Toxicology* 205: 157-172.
44. Maier KJ, Knight AW. 1992. The toxicity of waterborne boron to *Daphnia* and *Chironoomus decorus* and the effects of water hardness and sulphate

on boron toxicity. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 20: 282-287.

45. Nable RO, Bañuelos GS, Paull JG. 1997. Boron toxicity. *Plant and Soil* 193: 181-198.
46. Yermiyahu U, Tal A, Ben-Gal A, Bar-Tal A, Tarchitzky J, Lahav O. 2007. Rethinking desalinated water quality and agriculture. *Science* 318: 920-921.
47. At-Kinson S. 2005. Desalination project worldwide. *Membrane Technology* 1: 7-10.
48. Vouthckow N. 2005. Desalination-water for the next generation. *Filtration & Separation* 42: 14-25.
49. Schiffler M. 2004. Perspectives and challenges for desalination in the 21st century. *Desalination* 165: 1-9.
50. Martínez Beltrán J, Koo-Oshima S. 2006. *Water desalination for agricultural applications*. FAO, Roma.
51. Bhumbla DR, Ckhabra R. 1982. Chemistry of sodic soils in review of soil research in India. *In*. Trans. 12th Int. Cong. Soil Sci. New Delhi, India.
52. Robinson B, Green S. et al. 2003. Phytorremediation: using plants as biopumps to improve degraded environments. *Australian Journal of Soil Research* 41: 599-611.
53. Eaton FM. 1944. Deficiency, toxicity and accumulation of boron in plants. *Journal of Agricultural Research* 69: 237-277.
54. Nable RO. 1988. Resistance to boron toxicity amongst several barley and wheat cultivars: a preliminary examination of the resistance mechanism. *Plant and Soil* 112: 45-52.
55. Francois LE. 1988. Yield and quality responses of celery and cripshead lettuce to excess boron. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 113: 538-542.
56. Paull JG, Nable RO, Rathjen AJ. 1992. Physiological and genetic control of the tolerance of wheat to high concentrations of boron and implications for plant breeding. *Plant and Soil* 146: 251-260.

57. Dossier. *Le bore et le nickel dans les ressources en eau.* Techniques Sciences Methodes, Octobre, *661-IQl* (1996).
58. Adriano D.C. *Trace elements in the terrestrial environment.* Ed. Springer-Verlag (New-York 1986).
59. Lorenzo L. *Los electrodos selectivos en el análisis de aguas, Gestión y Promoción*. Editorial, S.A. Barcelona 1996.
60. Hauptmann P. *Sensors, Principles & Applications*. Great Britain, 1991
61. Cranny A. W. J. y Atkinson J.K. *Thick film silver-silver cloride reference electrode*. Measurements Science and Technology. 9, 1998 1557-1565.
62. CSIC/CDTI. *Introducción a los sensores*. Madrid, 1987.
63. White N. y Turner J. *Thick film sensors: past, present and future*. Measure Science and Techonlogy , 8 (1997) 1-20.
64. Galan C. *Desarrollo de sensores químicos y biosensores por tecnología thick film*. Tesis doctoral. UAB. 1996.
65. IUPAC; Analytical Chemistry Division, Comission on Aanalytical Nomenclature. *Recommendations for Nomenclature of ion selective electrodes*. Pure Application Chemistry, 48, N° 1, 1976.
66. Daniel C. Harris. Análisis Químico Cuantitativo. 2DA edición. 2001.
67. José M. Pingarron Carrazón. Pedro Sanchez Molina. Química electroanalítica.
68. British Columbia Ministry of Environment, Lands and Parks (BC MELP). Ambient Water Quality Guidelines for Boron. 1981.
69. E. Martínez-Fabregas, S. Alegret, A practical approach to chemical sensors through potentiometric transducers, J. Chem. Educ. 71 (1994) A60–A67.
70. A.A.A.S. Machado, Conductive epoxy-based ion-selective electrodes, Analyst 119 (1994) 2263–2274.
71. González-Bellavista, Macanas, Muñoz, Fabregas. Sulfonated poly(ether ether ketone), an ion conducting polymer, as alternative polymeric membrane for the construction of anion-selective electrodes. Department of Chemistry, Autonomous University of Barcelona. Bellaterra, Catalonia, Spain. October 2006.

72. Lima, J.L.F.C. *Electrodos selectivos de iones con suporte de resina conductora*. Centro de Investigaciones en Química, Departamento de Química da Facultad de Ciencias de Porto, Porto1985.
73. K.Srinivasan, G.A. Rechnitz, Anal. Chem. 41 (1969) 1203-1208.
74. J. Janata, M. Jasowiz, *Anal. Chem.*, 66 (1994).
75. K. Cammann, *Naturwissenschaften*, 57, (1970) 298.
76. K. Cammann, en *Das Arbeiten mit ionenselektiven*, Ed. Springer-Verlag, Berlin, 1977.
77. A.K. Covington, en *Ion-Selective Electrode Methodology*, Ed. CRC, Boca Ratón, 1978.

ANEXOS

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Escuela de Postgrado

Maestría en Química del Medio Ambiente

"DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE UN ELECTRODO IÓN SELECTIVO PARA BORO. AREQUIPA – 2011."

Presentado por:

Bach. Stamber Alvaro Ramírez Revilla

Para optar el título de Magíster en Química del Medio Ambiente

Arequipa – Perú

2011

ÍNDICE

CAPÍTULO I

PREÁMBULO.....04

CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO TEÓRICO 05
1.- PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....05
1.1.- ENUNCIADO DEL PROBLEMA 05
1.2.- DESCRIPCION DEL PROBLEMA.....05
1.3.- JUSTIFICACION DEL PROBLEMA 05
2.- MARCO CONCEPTUAL 06
2.1.- METALES PESADOS 06
2.2.- BORO 07
2.2.1.- Un nutriente esencial 08
2.2.2.- Problemática del boro en el medio ambiente.....11
2.2.3.- Fuentes naturales de boro y su distribución.....11
2.2.4.- Influencia de la actividad humana 12
2.2.5.- Remediación de agua y suelos con exceso de boro 16
2.2.6.- Toxicidad de boro en plantas 17
2.2.7.- El boro en el agua 18
2.3.- SENSORES QUÍMICOS.....19
2.3.1.- Electrodos 20
2.3.1.1.- Electrodo de referencia 20
2.3.1.2.- Electrodo indicador o de trabajo.....21
2.3.2.- Parámetros de evaluación 24
2.3.2.1.- Curva de calibración 24
2.3.2.2.- Reproducibilidad de la respuesta 24

2.3.2.3.- Dinámica de respuesta 25
2.3.2.4.- Límite de respuesta lineal y límite práctico de detección.....25
2.3.2.5.- Tiempo de vida 26
2.3.2.6.- Efecto del pH sobre el potencial. Diagrama de Reilley.....26
2.3.2.7.- Interferencias 26
2.3.2.8.- Variables que afectan a la medición 27
2.3.2.9.- Resumen de los valores deseados en los parámetros de electrodos.....27

3.- ANALISIS DE ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....28
4.- OBJETIVOS 29
5.- HIPOTESIS 29

CAPÍTULO III

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL 30
1.- TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN 30
2.- CAMPO DE VERIFICACIÓN.....41
2.1.- UBICACIÓN ESPACIAL 41
2.2.- UBICACIÓN TEMPORAL.....41
2.3.- UNIDADES DE ESTUDIO 41
3.- ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....41

CAPÍTULO IV

CRONOGRAMA DE TRABAJO.....42

CAPÍTULO V

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA.....43

PREÁMBULO

Las principales actividades económicas desarrolladas en la ciudad de Arequipa son la agricultura, la ganadería, la minería y la industria. La agricultura practicada principalmente en el valle del Río Chili, es desarrollada y tecnificada, lo que ha convertido a Arequipa en el primer productor de cebolla a nivel nacional, además del cultivo de otros vegetales como ajo, zanahoria, brócoli, etc.

Para el normal crecimiento de las plantas se ha demostrado la esencialidad del boro, como un importante micronutriente en la obtención de altas y buenas cosechas de calidad en las prácticas agrícolas.

Altos niveles de boro se encuentran naturalmente en algunos tipos de suelo, por ejemplo en las tierras áridas de Australia del Sur, Oriente Medio, la costa oeste de Malasia y en algunas zonas de Perú y Chile.[1, 2]

Adicionalmente, la acumulación de boro a partir de concentraciones relativamente bajas en el agua de riego, también contribuye a la toxicidad y bajo rendimiento de los cultivos.[2]

Frente a esta problemática se plantea la evaluación de las concentraciones de boro en muestras de agua de regadío de la Región Arequipa a través de un electrodo ion selectivo para dicho metal.

CAPÍTULO II PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 ENUNCIADO:

"DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE UN ELECTRODO IÓN SELECTIVO PARA BORO, AREQUIPA-2011".

1.2 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA:

Los electrodos o sensores químicos son considerados como instrumentos simples en comparación con los grandes equipos de análisis, pero sin embargo estos no pueden ser obviados ya que son necesarios en áreas donde se requiere mediciones rápidas de bajo costo y con una sensibilidad satisfactoria, todo esto además de su inherente portabilidad la cual es necesaria para mediciones en el campo. Por otro lado su uso requiere una capacitación más simple y rápida.

La necesidad de contar con sensores que nos permitan el monitoreo *in situ* de este toxico nos lleva al diseño y fabricación de un electrodo ion selectivo para Boro.

1.3 JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA:

En la ciudad de Arequipa, la agricultura juega un rol muy importante, al ser la primera opción de desarrollo económico para la población. El presente trabajo busca diseñar y fabricar un electrodo ión selectivo para boro, que se pueda usar para el monitoreo del mismo en aguas de regadío, debido a la carencia de un control en la concentración de boro, para así asegurar una concentración adecuada y una producción agrícola idónea en los valles de nuestra ciudad.

2. MARCO CONCEPTUAL

2.1 METALES PESADOS

Se considera metal pesado a aquel elemento que tiene una densidad igual o superior a 5 g/cm^3 cuando está en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos). Su presencia en la corteza terrestre es inferior al 0.1 % y casi siempre menor del 0.01%. Junto a estos metales pesados hay otros elementos químicos que aunque son metales ligeros o no metales se suelen englobar con ellos por presentar orígenes y comportamientos asociados; es este caso del As, B, Ba y Se. [1]

Dentro de los metales pesados hay dos grupos:

A) Oligoelementos o micronutrientes, que son los requeridos en pequeñas cantidades traza por plantas y animales, y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. Pasando cierto umbral se vuelven tóxicos. Dentro de este grupo están: As, B, Co, Cr, Mo, Mn, Ni, Se y Zn. [2,3]

B) Metales pesados sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva a disfunciones en el funcionamiento de sus organismos. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos. Son, principalmente: Cd, Hg, Pb, Cu, Ni, Sb, Bi.

El contenido de metales pesados en los suelos, debería ser únicamente función de la composición del material original y de los procesos edafogenéticos que dan lugar al suelo. Pero la actividad humana incrementa el contenido de estos metales en el suelo en cantidades considerables, siendo esta, sin duda, la más frecuente de las concentraciones tóxicas. [1, 4]

Los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir cuatro diferentes vías: pueden quedar retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la solución del suelo o bien fijados por procesos de adsorción, complejación y precipitación;

pueden ser absorbidos por las plantas y ahí incorporarse a las cadenas tróficas; pueden pasar a la atmósfera por volatilización y pueden movilizarse a las aguas superficiales o subterráneas. [1]

2.2 BORO

El boro (B) fue identificado como elemento químico en 1824 por Jöns Jakob Berzelius. Presenta dos isótopos estables en la naturaleza con una masa atómica de 10 a 11. Éstos se encuentran aproximadamente en una proporción de 20:80, lo que lleva a que el B presente una masa atómica media de 10.81 g/mol. [5]Es un elemento trivalente, metaloide y semiconductor que se localiza en el grupo IIIA de la tabla periódica y que presenta un pequeño átomo de número atómico 5. De acuerdo con su configuración electrónica, posee tan sólo tres electrones de valencia, por tanto, aunque establezca tres enlaces covalentes simples van a seguir faltando dos electrones para que llegue a alcanzar la estructura estable de gas noble. Esta característica hace que el B sea a menudo definido como un elemento "deficiente en electrones". A diferencia de su vecino químico el aluminio (Al), su pequeño tamaño y su elevado potencial iónico tan sólo le permiten formar enlaces covalentes, fundamentalmente con átomos de oxígeno. [6]El número de coordinación del B (número de átomos dadores enlazados al átomo central) suele ser de 3 o 4. [7]

Debido a su elevado punto de fusión (MP ≈ 3400 K) y a sus propiedades corrosivas como líquido es muy difícil obtener B con un elevado grado de pureza. En la naturaleza se va a encontrar en forma de ácido bórico (H_3BO_3), borato [$B(OH)_4^-$] o como mineral borosilicato. El ácido bórico se comporta como un ácido débil de Lewis en solución acuosa, de manera que acepta iones hidróxido y libera protones de acuerdo con la siguiente ecuación de equilibrio (pK_a = 9.24 a 25ºC) [5]

$$B(OH)_3 + H_2O \leftrightarrow B(OH)_4^- + H^+$$

La disociación del ácido bórico está por tanto determinada por el pH, de manera que por encima de un pH de 9.24 el B se encuentra fundamentalmente en forma de anión [$B(OH)_4^-$], mientras que a pH ácido o bien cerca de un pH neutro como ocurre en la mayoría de los fluidos biológicos, predomina en forma de ácido bórico. El ácido bórico también se caracteriza por reaccionar con alcoholes formando ésteres de B:

$$B(OH)_3 + 3ROH \leftrightarrow B(OR)_3 + 3H_2O$$

Asimismo tanto el ácido bórico como el borato se caracterizan por formar complejos con una gran variedad de azúcares y otros compuestos que contienen grupos *cis*-hidroxilo (Figura 1.1). Esta capacidad para estabilizar moléculas a través de dichos complejos se considera la base principal para la comprensión del papel del B en los sistemas biológicos, independientemente de su función en ellos. [8]

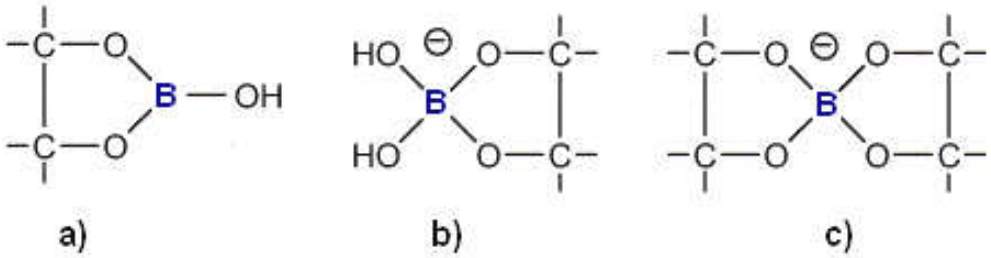

Figura 1.1. (a) Ester monoborato, (b) complejo monoborato y (c) complejo diborato. (Tomado de Bolaños, et al., 2004)

2.2.1 Un nutriente esencial

Los biólogos despertaron su interés por el B en 1923 cuando fue definido como un elemento esencial para el desarrollo de las plantas [9]. Desde entonces se le han atribuido funciones en una amplia variedad de organismos como diatomeas [10], cianobacterias [11, 12, 13], levaduras [14], e incluso en animales como el caso del pez cebra (*Danio rerio*). [15]

Aunque el B fue descrito como un nutriente esencial en las plantas superiores hace más de 80 años, no se le había asignado un papel concreto en éstas hasta

ahora. Recientemente se ha aceptado por primera vez que el B está implicado en el mantenimiento de la estructura y la funcionalidad de la pared celular. Esto ha sido posible gracias al aislamiento y caracterización de los complejos rhamnogalacturonano-II-boro (RG-II-B) que ponen de manifiesto la presencia de enlaces entre el B y residuos de apiosa unidos a pectinas (Figura 1.2), lo que permite estabilizar la compleja red péctica y ayuda a regular el tamaño de los poros de la pared celular.[16, 17] Sin embargo, este fenómeno no explica todos los efectos de la deficiencia de B en las plantas, lo que hace pensar que podría desempeñar otras funciones. En este sentido, se ha propuesto que el B podría establecer enlaces con constituyentes de la membrana que presentan grupos *cis*-hidroxilo, como por ejemplo fosfoinositoles, glicoproteínas y glicolípidos.[8] Esto explicaría por qué las plantas deficientes en B presentan una alteración en la composición de la membrana y en el transporte a través de ella. Sin embargo, aún no existen evidencias directas ni pruebas bioquímicas que corroboren esta hipótesis. También se relaciona al B con otras muchas funciones implicadas en diversos mecanismos fisiológicos de la planta tales como la reproducción; el transporte de azúcares; el metabolismo fenólico; el metabolismo del nitrógeno, del ácido indolacético, del ARN o de los carbohidratos. [18, 19, 20]

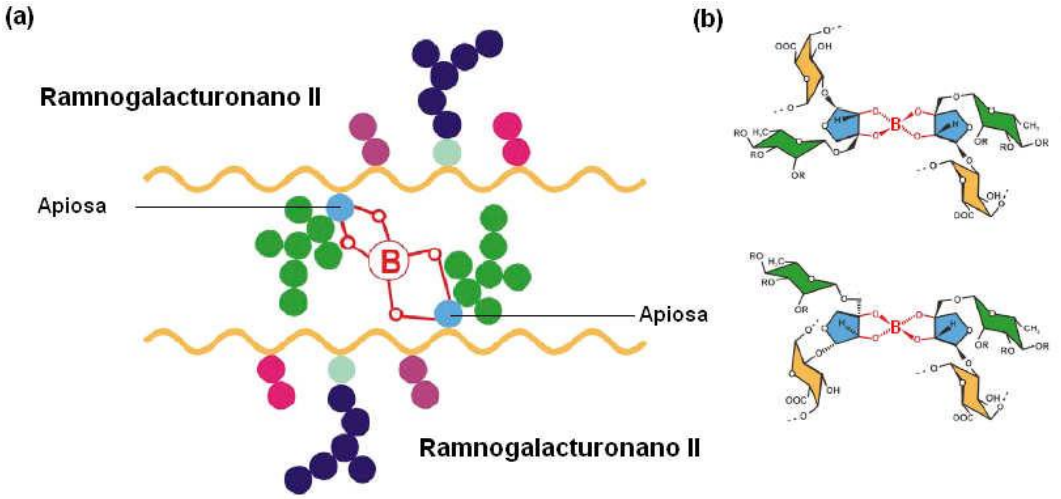

Figura 1.2. Dos moléculas de ramnogalacturonano-II se unen a través de un complejo borato bis-diol formado entre los residuos de apiosa (a). Representación de dos residuos de apiosa unidos a través de un enlace borato éster dónde puede observarse como el átomo de B es quiral (b) (tomado de O'Neill *et al*., 2004).

Probablemente, en relación con algunas de las funciones anteriores, el B tiene un papel a nivel transcripcional. En los últimos años varios estudios han mostrado que la deficiencia de B afecta a la expresión de genes implicados en diversos aspectos del metabolismo del nitrógeno [21, 22], del estrés oxidativo [23], de la absorción de B [24, 25] y de la pared celular [26]. También se ha encontrado que elevados niveles de B inducen la expresión de varios genes en raíces y hojas de *Arabidopsis*, uno de los cuales se ha identificado como un factor de transcripción de la familia de los dedos de cinc. [25] González-Fontes *et al*. (2008) han sugerido que el B presenta un papel en la señalización celular y que éste es capaz de interactuar con factores de transcripción. Esto podría explicar por qué varios genes de diferentes procesos fisiológicos son afectados tan rápidamente cuando las plantas son sometidas a deficiencia de B. [27]

En cuanto a la captación de B, éste es absorbido por las raíces a través de la solución del suelo principalmente en forma de ácido bórico. En base a las características químicas del B, se calcula que el coeficiente teórico de permeabilidad del ácido bórico a través de una bicapa lipídica es de 8×10^{-6} $cm.s^{-1}$ [28]. Este valor relativamente alto ha sido la causa de que durante mucho tiempo se pensara que el principal o único mecanismo de absorción de B fuese a través de difusión pasiva. Sin embargo, estudios recientes con *Arabidopsis thaliana* han puesto de manifiesto que el ácido bórico también utiliza canales y transportadores durante su paso por la raíz. [29]

El índice de transpiración es un factor importante que influye en la capacidad de la planta para absorber B y por tanto en su estado nutricional. En consecuencia, un incremento de la temperatura y de la intensidad lumínica va a afectar de manera positiva a la absorción de B, mientras que un incremento de la humedad relativa va a hacer que disminuya. [28] La disponibilidad de B en el suelo también afecta al crecimiento y a la productividad de las plantas. Ésta va a depender de varios factores como la textura, el pH, la temperatura, así como del contenido en materia orgánica, cationes y aniones del suelo. [30] De ellos, el más importante es el pH, considerándose en general que la

disponibilidad de B disminuye con el incremento de pH del suelo. [31] Cuando el pH incrementa, la proporción de borato respecto al ácido bórico también lo hace y como consecuencia de la fuerte afinidad del borato por los minerales arcillosos, la cantidad de B adsorbido por el suelo es mayor.[32]

Generalmente se considera al B como un elemento poco móvil en el floema de la mayoría de las plantas, acumulándose al final de la corriente de transpiración. No obstante, cada vez hay más evidencias de que la movilidad del B en el floema varía drásticamente de unas especies a otras. En los últimos años se ha descubierto que las plantas que transportan azúcares del tipo manitol o sorbitol presentan una importante retranslocación floemática de B. [33] Esto se produce como consecuencia de la formación de complejos bis(diol) entre el B y dichos azúcares. Por ejemplo, se ha conseguido aislar complejos manitol-B-manitol en savia de apio (*Apium graveolens*) así como complejos sorbitol-B-sorbitol, fructosa-B-fructosa y sorbitol-B-fructosa en néctar floral de melocotón (*Prunus persica*) [34]

2.2.2 Problemática de boro en el medio ambiente.

Las mayores concentraciones de boro se encuentran en los sedimentos y la roca sedimentaria, particularmente, en los sedimentos marinos ricos en arcilla. Aunque menos frecuentes que los suelos deficientes, los suelos ricos en B son importantes porque en diferentes regiones del mundo causan grandes pérdidas de producción agrícola [35]. En algunas de estas regiones el B se encuentra en elevadas concentraciones de forma natural. Sin embargo, en otras aparece como consecuencia de actividades antropogénicas tales como la industria o la desalinización del agua [36], una situación que se ve agravada por la presión urbanística y el turismo. [37]

2.2.3 Fuentes naturales de boro y su distribución.

El boro se relaciona con el medio ambiente muy lentamente y a bajas concentraciones por procesos de desgaste natural. Esta cantidad es aproximadamente 360.000 toneladas de boro por año en el mundo. Vertientes

termales en Grecia han reportado tener una concentración de boro de 43 mg/Kg. El boro también puede ser encontrado naturalmente en el suelo a concentraciones de 5 a 150 ppm.

La concentración media de B en la corteza terrestre es de 10 microgramos por gramo de suelo [36]. En general, los suelos de las zonas tropicales, templadas y boreales contienen bajas concentraciones de B (1-2 $\mu g.g^{-1}$), mientras que los de las regiones áridas y semiáridas contienen elevadas concentraciones de este elemento (10-40 $\mu g.g^{-1}$) [38]. Entre las regiones que destacan por presentar elevados niveles de B se encuentran: el sur de Australia, Oriente Medio, el norte de África, la costa sur de Perú, las regiones andinas del norte de Chile, así como otras regiones pertenecientes a California (EEUU), Rusia, Malasia y la India [35, 38]

Las principales fuentes de B en la mayoría de los suelos son la turmalina y las emanaciones volcánicas [39]. La turmalina procede de rocas formadas a altas temperaturas y es muy resistente a la erosión química por lo que se acumula en la fracción clástica de los sedimentos y en las rocas sedimentarias. En éstas últimas, así como en las rocas ígneas y metamórficas, el B se va a encontrar en forma de borosilicatos, no disponible para las plantas. Finalmente, en la pedosfera (capa más externa de la tierra), la movilización del B a partir de sus formas no disponibles ocurre como consecuencia de la actuación de numerosos procesos erosivos que incluyen reacciones del tipo ácido-base, oxidación-reducción y disolución-precipitación, siendo el principal compuesto resultante el ácido bórico [35].

Otra fuente importante de B son los océanos, que contienen una media de 4.6 $mg.L^{-1}$ de B y un rango que va desde los 0.52 $mg.L^{-1}$ en el Mar Báltico hasta los 9.57 $mg.L^{-1}$ en el Mar Mediterráneo. [40] Varios estudios demuestran que la concentración de B en el suelo y en las aguas continentales incrementa con la proximidad al mar. Por un lado contribuyen las filtraciones de agua salada, y por otro lo hace la coevaporación de ácido bórico junto a la humedad del agua

del mar, lo que da lugar a la formación de aerosoles de borato en la atmósfera que posteriormente se condensan en agua de lluvia. [36] Aunque también contribuyen los gases emitidos por los volcanes y las fuentes geotermales, se estima que los océanos son responsables del 65-85% de todo el B atmosférico. [41, 42] De forma similar, algunas zonas con elevadas concentraciones de B se van a encontrar asociadas a las aguas salobres y a los propios suelos salinos (Dhankhar y Dahiga, 1980), dónde el pobre drenaje va ser responsable de la excesiva y permanente acumulación de B en la solución del suelo (Goldberg, 1997).

2.2.4 Influencia de la actividad humana.

Aunque existen unos 200 tipos de minerales que contienen B solo unos pocos son de importancia comercial, destacando el borax, la kernita, colemanita y ulexita que son extraídos de manera extensiva (Tabla 1.1). De ellos se suele utilizar como fertilizante el borax y el ácido bórico, siendo este último aplicado directamente tanto al suelo como a las hojas. [36]

Tabla 1.1. Minerales de interés comercial que contienen B.

Mineral	Composición química	Boro (%)
Boracita	$Mg_6B_{14}O_{26}Cl_2$	19.30
Colemanita	$Ca_2B_6O_{11}.5H_2O$	15.78
Datolita	CaBSiO4.OH	6.76
Hydroboacita	$CaMgB_6O_{11}.6H_2O$	15.69
Kernita	$Na_2B_4O_7.4H_2O$	14.90
Priceita	$Ca_4B_{10}O_{19}.7H_2O$	15.48
Proberita	$NaCaB_5O_9.5H_2O$	15.39
Sassolita	H_3BO_3	17.48
Szaibelyita	$MgBO_2.OH$	12.85
Borax (Tincal)	$Na_2B_4O_7.10H_2O$	11.34
Tincalconita	$Na_2B_4O_7.5H_2O$	15.16
Ulexita	$NaCaB_5O_9.8H_2O$	13.34

Fuente: Lyday PA. 2000. Boron, US Geological Survey.

Los usos de los compuestos del B son muy diversos: manufacturación de vidrio, cerámicas, retardantes de fuego, jabones, detergentes, cosméticos, compuestos farmacéuticos y pesticidas entre otros. [40, 43] En las últimas décadas se ha incrementado la extracción de B con fines industriales (Figura 1.3.) Tanto en el proceso de extracción de B en las minas como durante la fabricación de los productos derivados se producen fugas y se libera una gran cantidad de B al medio ambiente. [40] El vertido de compuestos con alto contenido en B durante la producción y uso de detergentes, como por ejemplo el perborato sódico, ha dado lugar a su acumulación en ambientes acuáticos. Estos compuestos suelen ser solubles en agua y tienden a acumularse en este tipo de ecosistemas (USEPA, 1975), fundamentalmente en aquellos dónde han sido movilizados por la actividad humana. [44] Por esta razón, en el agua subterránea los niveles de B pueden incluso superar los 5 $mg.L^{-1}$ [36]

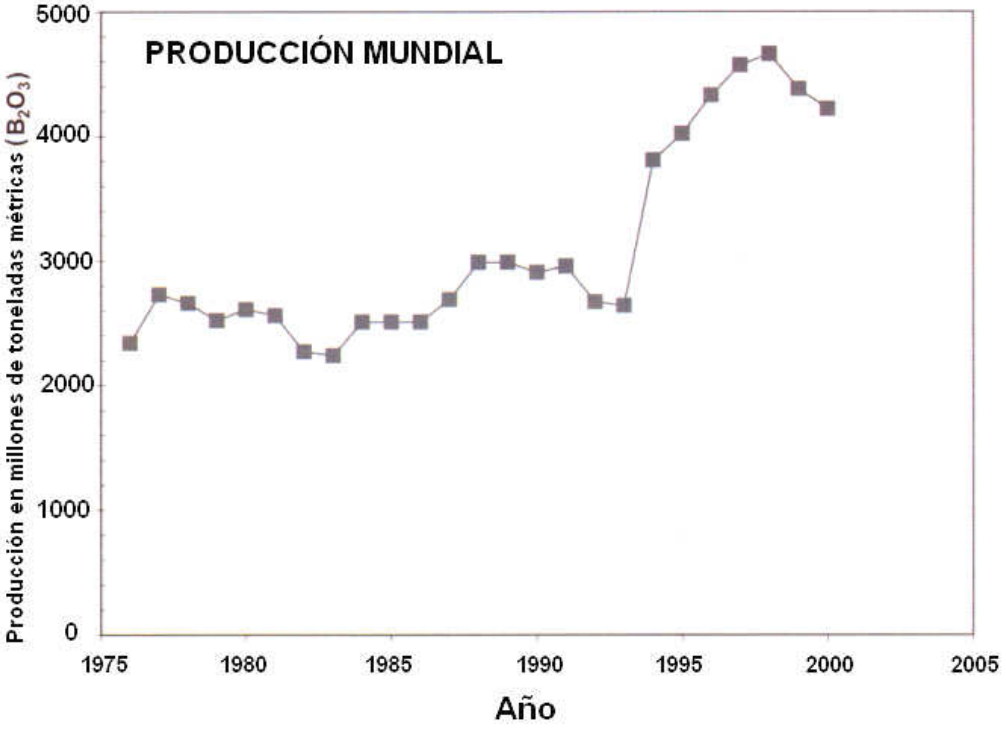

Figura 1.3. Extracción mundial de B en las últimas décadas (Parks y Edwards, 2005).

Otro aspecto de suma importancia que puede contribuir a la toxicidad de B en las plantas es la utilización de agua desalinizada, ya que uno de los principales reservorios de B son los océanos. [36] Éstos contienen una media de 4.6 $mg.L^{-1}$

de B [40], mientras que la concentración máxima que toleran las plantas más sensibles en el agua de riego es de 0.3 $mg.L^{-1}$ [32] En general, el agua desalinizada no presenta una concentración de B que afecte de forma negativa a la salud humana, pero sí para la mayoría de las plantas, a menos que el B sea retirado de forma eficiente durante el proceso de desalinización. [36] En un ambiente ácido o neutro el B pasa fácilmente a través de las membranas de ósmosis reversa de las plantas desalinizadoras. Sin un tratamiento especial adicional, el agua desalinizada obtenida a partir del Mar Mediterráneo puede alcanzar una concentración de 2 $mg.L^{-1}$ de B, niveles que son tóxicos incluso para un gran número de cultivos considerados tolerantes. [45] Un ejemplo de ello ocurrió en Eliat (Israel), dónde se observó que aguas procedentes de una planta desalinizadora municipal provocaban síntomas de toxicidad en los cultivos de árboles frutales. [46]

En los últimos años la desalinización ha sido reconocida como una de las principales vías para obtener recursos hídricos suficientes que abastezcan a todos los factores derivados del incremento de la población, [47] como por ejemplo el creciente turismo en las áreas de costa o la agricultura intensiva, cuya demanda de agua se ha visto impulsada por las sequías severas en muchas zonas áridas tales como la región Mediterránea. [48] Actualmente, 15000 plantas desalinizadoras operan en más de 120 países, dónde en algunos como España, Arabia Saudi y los Emiratos Árabes Unidos el agua desalinizada puede llegar a suponer un suplemento de más del 70%. [48]Además, el uso de esta fuente de agua para la agricultura podría incrementarse de forma significativa, ya que su uso directo es factible para altos valores de producción agrícola, con técnicas de riego eficaces y costes de desalinización subvencionados, como es el caso de España [49], dónde aproximadamente el 22% del agua desalinizada ya es utilizada con fines agrícolas. [50] Un problema aun mayor ocurre en otros países dónde la demanda de agua es tan elevada que los agricultores incluso se ven obligados a utilizar agua salobre, de peor calidad aunque un tercio más barata que el agua desalinizada. [46]

2.2.5. Remediación de agua y suelos con exceso de boro.

Para eliminar el exceso de B del agua se han propuesto una gran variedad de técnicas que emplean diversos procesos tales como precipitación, absorción/adsorción a compuestos inorgánicos, intercambio iónico o filtración. [36] Sin embargo, muchas de ellas, como por ejemplo la nanofiltración o la diálisis reversa, resultan excesivamente caras, de manera que no suelen utilizarse para obtener agua potable y tan solo se emplean en determinados procesos industriales. Además, estas tecnologías aún deben ser mejoradas porque no son totalmente eficientes extrayendo el B del agua. [36]

En el caso del suelo se han propuesto tres formas diferentes para evitar y/o reducir los niveles de B: lavado con agua, aplicación de enmiendas y fitorremediación. [45] El lavado del suelo presenta varios inconvenientes. Por un lado se requieren grandes cantidades de agua con baja concentración de B, algo que es difícil de encontrar en las zonas asociadas a toxicidad por B, dónde ya de por sí el agua constituye un bien escaso. Por otro lado, un lavado con abundante agua puede acarrear la pérdida de otros nutrientes esenciales y afectar a la productividad del suelo. En cuanto al empleo de enmiendas que permiten disminuir la disponibilidad del B destaca la aplicación de yeso, que convierte fácilmente el metaborato de sodio en metaborato de calcio, este último menos soluble. [51] Aunque pueden parecer una solución rápida, se ha demostrado que las enmiendas solamente son útiles a corto plazo y no tienen la misma eficacia en todos los tipos de suelo. [45] Por último, aunque existen poco estudios al respecto, también se ha propuesto el uso de fitorremediación como una estrategia alternativa para reducir los niveles de B en el suelo. Bañuelos *et al*. (2003) encontraron que plantas de mostaza india (*Brassica juncea*), festuca alta (*Festuca arundinacea*), cuernecillo (*Lotus corniculatus*) y kenaf (*Hibiscus cannibinus*) reducían el B extraíble del suelo en un 52%. Otro ejemplo se ha llevado a cabo en Nueva Zelanda, dónde se han empleado álamos (género *Populus*) para reducir los niveles de B en áreas contaminadas con aguas residuales. [52]

2.2.6 Toxicidad de boro en las plantas.

El síntoma visible más común en las plantas expuestas a un exceso de B es la presencia de quemaduras, que aparecen como parches cloróticos y/o necróticos a menudo en los márgenes y en las puntas de las hojas maduras (Figura 1.4). [53, 14] Por el contrario, no parecen desarrollarse señales visibles en las raíces, dónde la concentración de B es relativamente inferior incluso a altos niveles de aplicación al medio de dicho micronutriente. [54] Todo esto refleja la escasa movilidad de este elemento a través del floema y su distribución en la mayoría de las especies, dónde su acumulación se relaciona de forma estrecha con la intensidad en la tasa de transpiración

Figura 1.4. Síntomas de toxicidad por B en hojas de trigo (a) y en cítricos (b). (Tomado de Bennett et al.,1993)

No obstante, la sintomatología habitual no aparece en aquellas especies en las que existe una importante retranslocación floemática de B. En lugar de las típicas quemaduras en los márgenes y en las puntas de las hojas, diferentes especies del género *Prunus*, *Malus* o *Pyrus* presentan yemas apicales muertas, abscisión de brotes jóvenes y presencia de lesiones en forma de acorchamientos de color marrón junto a tallos y pecíolos. [33] De forma similar, en otras especies de plantas como el apio, el exceso de B produce malformación de tallos y hojas jóvenes. [55] Todo esto demuestra que la

movilidad del B a través del floema puede influir en el diagnóstico de este desorden nutricional, siendo fundamental la selección del tejido que va a ser empleado para dicho diagnóstico. En este sentido, se ha sugerido que el análisis de fruto puede ser mejor indicador en las especies en las que el B es significativamente móvil a través del floema, puesto que éste se acumula aquí rápidamente. [33]

En definitiva, independientemente de la especie, el exceso de B va a producir un retraso del desarrollo y una reducción del crecimiento de la planta, así como del número, tamaño y peso de los frutos. [56, 45] Este fenómeno, que se traduce en una disminución del rendimiento de los cultivos, ocurre como consecuencia de la alteración que a nivel fisiológico o metabólico produce el exceso de B en las células vegetales. Aunque la información existente al respecto es escasa, en los siguientes apartados se detallan algunos de los aspectos más relevantes del efecto que niveles tóxicos de B tienen sobre diversos procesos en la planta, algunos de los cuales se han propuesto como una respuesta de tolerancia frente a este estrés nutricional.

2.2.7 EL BORO EN EL AGUA

Entre los elementos disueltos en el agua y denominados menores se encuentra el boro. Aparece en concentraciones usualmente menores de 1 mg/L y rara vez sobrepasa la concentración existente en el agua de los mares que se estima que está entre 4,4 y 4,6 mg/L. Las aguas potables no suelen contener boro, siendo una concentración normal la de 0,1 -0,2 mg/L. [57,58]

Las principales fuentes de boro, que justifican su presencia en las aguas superficiales son los vertidos urbanos ricos en detergentes y productos de limpieza, los vertidos industriales que pueden provenir de un gran número de actividades diferentes y los diversos productos químicos utilizados en agricultura ("alto potencial contaminante").

Ya hemos comentado que los compuestos de boro en las aguas no son retenidos por los procesos de tratamiento en las estaciones depuradoras y son, por lo tanto, reintegrados al medio natural. Esto permite considerar al boro como un marcador o trazador de la contaminación, fundamentalmente de tipo doméstico y urbano al ser los detergentes los principales contaminantes de boro. [58]

2.3 Sensores Químicos

Cuando se utiliza la potenciometría como método de medida, los sensores electroquímicos forman parte de un sistema que corresponde a la celda electroquímica, como la que se muestra en la Figura 1.5.

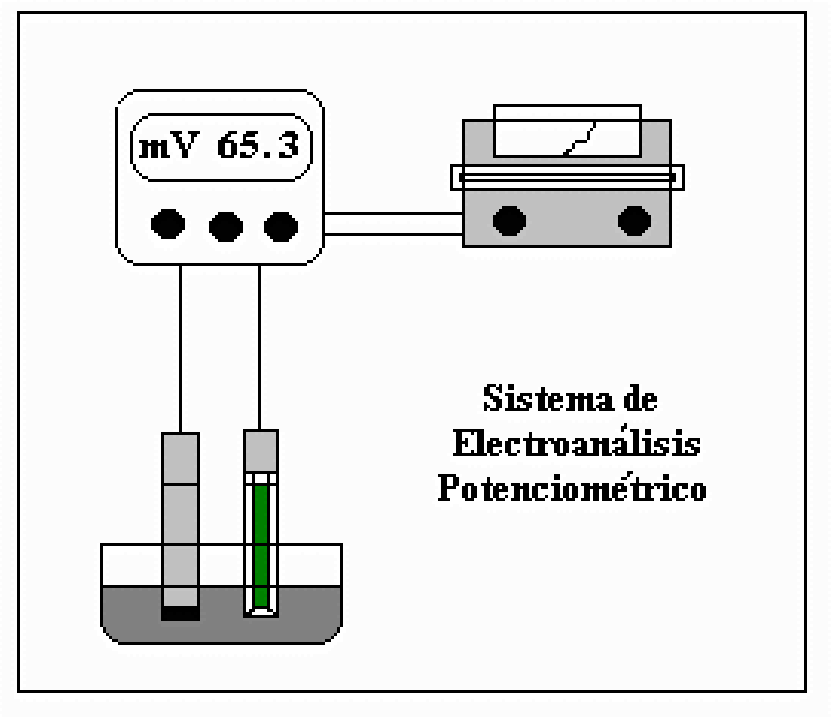

Figura. 1.5. Celda electroquímica. (Tomado de Lorenzo et al., 1996)

En Potenciometría se mide, bajo condición de corriente cero, la diferencia de potencial entre dos electrodos, el indicador o de trabajo y el de referencia, de forma que no se perturba la muestra.

El potencial medido se relaciona con las actividades de los analitos mediante la ecuación de Nernst cuyos valores numéricos representan una significativa información que permite interpretar el desarrollo de la reacción [59, 60]

$$E = E° + (RT/nF) \ln a_{oxd} / a_{red}$$

Donde Eº es constante para una reacción dada y corresponde al potencial estándar del sistema, **n** es el número de electrones implicados en la reacción electroquímica, R la constante de los gases ideales (8,314 JK-1mol-1), T la temperatura absoluta en grados Kelvin, F la constante de Faraday (96487 $Cmol^{-1}$), y a_{oxd} y a_{red} son las actividades de las especies que toman parte en la reacción química.

2.3.1. ELECTRODOS

2.3.1.1. Electrodo de referencia.

Dentro de un sistema de medida potenciométrico, el electrodo de referencia proporciona un potencial constante e independiente de la concentración de los analitos.

Uno de los electrodos de uso más común es el electrodo Ag/AgCl de doble unión, que consta de un cilindro que por su interior lleva un hilo de plata cubierto con una capa muy fina de cloruro de plata e inmerso en una disolución saturada de KCl. Por su extremo inferior está cerrado por un tapón de placa porosa que permite el contacto con la disolución electrolítica que se encuentra en el exterior dentro de otro tubo de mayor diámetro y que en su parte inferior hay un contacto anular que establece la unión eléctrica con la solución a analizar.

Este electrodo Ag/AgCl es, en esencia, un electrodo ión selectivo que exhibe una fuerte sensibilidad a la concentración del ion cloruro, más estrictamente a la actividad del ion cloruro. [61]

La reacción electroquímica que tiene lugar en este electrodo es como sigue:

$$AgCl\ (s) + e^- \leftrightarrow Ag\ (s) + Cl^-\ (aq)$$

El potencial de equilibrio (E) asociado con esta reacción está relacionado con las actividades de los reactivos y de los productos, como se expresa en la siguiente expresión:

$$E = Eo - 2.303\ (RT/nF)\ \log a_{Cl^-}$$

Donde a_{Cl^-} representa la actividad de cloruros libres y que se puede relacionar con la concentración (C) mediante el coeficiente de actividad (γ) de la forma siguiente:

$$a = \gamma.C$$

A concentraciones de iones cloruro muy bajas se asume un comportamiento ideal, donde γ =1 y por tanto la concentración es igual a la actividad. A partir de este punto, como se ha trabajado siempre con disoluciones diluidas o en condiciones de fuerza iónica constante, se utilizarán exclusivamente concentraciones. Para una temperatura de 25 °C, el factor del electrodo [2.303 (RT/nF)] se reduce al valor de 59.2 mV/década (si E va expresado en mV) que, juntamente con el valor de **n**, en este caso –1, sería la pendiente nernstiana para este electrodo, quedando la ecuación anterior de la manera siguiente [59, 61, 62]

$$E = Eo - 59.16\ \log [Cl^-]$$

2.3.1.2. Electrodo indicador o de trabajo.

El electrodo indicador responde a las variaciones de concentración del analito. Dentro de los distintos tipos de electrodos indicadores y de las diferentes configuraciones existentes, sólo se comentan aspectos relacionados con los tipos de sensores desarrollados en la presente tesis. Así, se comentan ciertos detalles de electrodos selectivos de iones de membrana sólida, basados en tecnología “thick film o de capas gruesas.

Existen diversas técnicas para la fabricación de los sensores “thick film” como son: “Screen-printing” (serigráfica), “Casting” (moldeado), “Dipping” (inmersión), “Dropping” (goteo), “Spinning” (centrifugado), “Spray-coating” (atomizado), “Brushing” (brochado) y “Roller-coating” (rodillo), cuyos procesos de deposición del material se describen de modo breve: [63,64]

“**Screen-printing”.** En esta técnica se coloca una matriz o malla de dimensiones pre-establecidas sobre un substrato y sobre la parte descubierta se deposita el material, pasta o tinta sensora quedando el impreso para ser termo-curado. La temperatura del curado, que está sujeta al tipo de material termocurable, varía entre 60ºC y 1200°C. Después de este procedimiento se recubre con un material encapsulante la parte conductiva dejando libre la parte sensible del material.

“**Casting”.** Es una técnica que consiste en depositar el material sensor sobre una matriz diseñada previamente, que corresponde al molde.

Estas membranas son capas continuas que separan dos fases distintas, responsables de la respuesta de potencial y de la selectividad del electrodo. En la figura 1.6, se muestra un esquema general de electrodos que responden a esta técnica. Estos dispositivos han sido ampliamente desarrollados a lo largo de los años. (74, 75) Actualmente, la potenciometría directa permite la determinación selectiva de varios cationes y aniones. (76, 77)

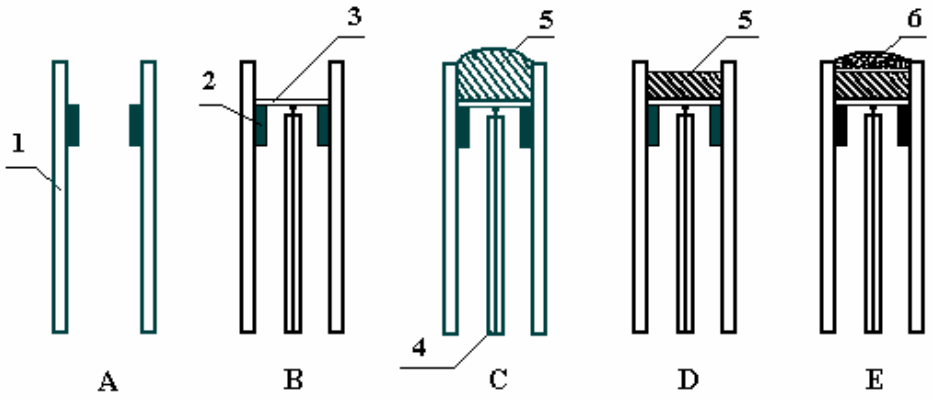

Figura 1.6. Proceso de construcción de los electrodos. (1) Tubo de PVC. (2) Anillo de PVC flexible. (3) Lámina de Cu. (4) Cable blindado. (5) Soporte epoxi-conductor. (6) Membrana sensora. [74]

"Dipping". En esta técnica se sumerge el substrato en el material sensor, dando sucesivos baños y curados hasta encontrar el espesor de película que se desea.

"Dropping". Para la fabricación de los sensores químicos de membrana, el uso más extensivo es el de goteo, pues permite depositar cantidades exactas del material sensor. Esta técnica combina el foto-curado (luz ultravioleta) y el termo-curado.

"Spray-coating". El procedimiento para la deposición del material sensor se realiza mediante un fuerte chorro de partículas dispersadas sobre la superficie producidas por la presión del aire comprimido.

"Spinning". El material sensor es depositado mediante la técnica de goteo en el substrato y luego por fuerza centrífuga el material es dispersado hacia los extremos recubriendo todas las partes del substrato según su geometría. El éxito de esta técnica se encuentra en los parámetros de la centrifugación, como velocidad y aceleración angular, tiempo y viscosidad del material sensor.

2.3.2. PARÁMETROS DE EVALUACIÓN PARA ELECTRODOS

La evaluación de la respuesta de los electrodos en potenciometría, se da a través de una serie de parámetros, que se describen a continuación**.**

2.3.2.1. Curva de calibración.

La curva de calibración es una gráfica semilogarítmica del potencial en función del logaritmo de la concentración de una disolución patrón. En efecto, cuando representamos los cambios del potencial eléctrico con respecto a los cambios de la concentración, para un electrodo "ideal" se obtiene una línea recta, con una pendiente de 59.2 mV/década para iones monovalentes o de 29.6 mV/década para iones divalentes. Está pendiente adquiere valores positivos para los cationes y negativos para los aniones. Según Lorenzo [59] se produce una variación de potencial de 1 mV para un cambio de un 4% en la concentración de iones monovalentes, o bien para un cambio de un 8% de la concentración de iones divalentes.

a) **Precisión:** está íntimamente relacionada con la presencia de errores indeterminados (o aleatorios) y se considera como una medida de la reproducibilidad de los resultados. Para describir la precisión se utiliza fundamentalmente la desviación estándar.
b) **Exactitud:** mide el error sistemático o determinado de un método analítico. Se puede determinar por comparación con muestras patrón y por comparación con un método patrón.

2.3.2.2. Reproducibilidad de la respuesta.

La evaluación de la reproducibilidad de la respuesta del electrodo, se realiza, mediante la comparación de los valores de potencial estándar, del potencial inicial (potencial que presenta el electrodo sumergido en la disolución de fondo o medio antes de la primera adición, es decir, en ausencia de analito) o de la pendiente, obtenidas en cada una de las calibraciones efectuadas a lo largo del tiempo.

2.3.2.3. Dinámica de respuesta.

Es el período de tiempo necesario para obtener un potencial estable del electrodo al cambiar de una concentración a otra. El tiempo de respuesta es una función de muchos factores. En la mayoría de los casos, un electrodo alcanza un 95 % del valor final dentro de la escala de tiempo de 1 minuto o menos. El tiempo restante, es decir el 5 % que falta, dependerá de la temperatura, magnitud y dirección del cambio de concentración desde la anterior disolución, velocidad de agitación y proximidad al límite de detección. El tiempo de respuesta es siempre más rápido cuando va desde una disolución de concentración más diluida a una más concentrada. [59]

2.3.2.4. Límite de respuesta lineal y límite práctico de detección.

El rango de trabajo de los electrodos selectivos de iones está relacionado con los límites de respuesta lineal.

El límite práctico de detección es la actividad o concentración en el eje de la abscisa que corresponde al punto de intersección entre la prolongación de la recta de calibración y el valor extrapolado del potencial inicial. [65] Existen algunos factores que influyen en los límites de detección, primordialmente la solubilidad del material sensible y, desde luego, ciertas consideraciones prácticas como la adición rigurosa de microvolúmenes de disoluciones muy diluidas, la adición de menor a mayor concentración y de la variación de la temperatura, así como el medio electrolítico.

a) **Sensibilidad:** se define como la pendiente de la señal respuesta de un sensor frente a una concentración del analito. En el caso de los electrodos ion selectivos corresponde al valor de la pendiente de la curva frente al log[X], donde X es la concentración del ion a determinar. Sus unidades son mV/log[M o mg/L]. La sensibilidad de una técnica se define correctamente como la pendiente del calibrado, y si éste es lineal, puede medirse en cualquier punto de él.

2.3.2.5. Tiempo de vida.

El tiempo de vida de un electrodo por lo general es de 1 año o más para el caso de electrodos de membranas sólidas, pero depende básicamente de la manera como se manipula y el uso que se haga del dispositivo. A medida que se usa un electrodo en condiciones normales va perdiendo el valor de su pendiente, al tiempo que se incrementa su deriva y disminuye su velocidad de respuesta.

2.3.2.6. Efecto del pH sobre el potencial. Diagrama de Reilley.

Para determinar el comportamiento del potencial de los electrodos con respecto al pH del medio, se varía el pH a un volumen grande de la disolución principal, a una concentración fija de analito a fuerza iónica constante, mediante la adición de pequeños volúmenes de una disolución de hidróxido de sodio concentrada, para mantener constante el volumen, registrando la lectura del potencial del electrodo y el valor del pH. Con estos datos se construye el diagrama de Reilley en el cual se dispone en el eje de la Y los valores del potencial y en el eje de las X el valor del pH.

2.3.2.7. Interferencias

Las interferencias son generadas normalmente por iones presentes en la muestra y que contribuyen al valor de la señal registrada. La interferencia ocurre cuando una sustancia o procedimiento conduce a una falsa respuesta en una técnica de medición. El coeficiente de selectividad de un electrodo define la capacidad del electrodo ion selectivo para distinguir el ión de interés a partir de iones que interfieren. El otro parámetro necesario para conocer K_{AB}^{Pot} es la actividad de ion interferente. Este término se obtiene con ayuda de la ecuación de Debye-HücKel; calculándose los coeficientes de selectividad por la ecuación correspondiente:

$$K_{AB}^{Pot} = \frac{a_A}{a_A^{z_A/z_B}}$$

2.3.2.8. Variables que afectan a la medición.

Las variables que afectan la medición son: la temperatura (variable directamente proporcional en la ecuación de Nernst), la contaminación (proceso rápido debido a especies insolubles en la superficie de la membrana que reduce drásticamente la sensibilidad del electrodo), el envejecimiento (proceso gradual por agotamiento lento de los componentes activos en la superficie de una membrana, que aumenta la resistencia y la deriva, y como consecuencia de este efecto, disminuye la sensibilidad), el potencial del electrodo de referencia (elección de electrolito de relleno), la fuerza iónica, el pH de la muestra, los agentes complejantes y las interferencias (sustancias en la disolución problema, que puedan alterar el potencial medido por un electrodo sensible).

2.3.2.9 Resumen de los valores deseados en los parámetros de electrodos selectivos.

Tabla 2. Resumen de los valores deseados en los parámetros de electrodos selectivos a iones.

Parámetros	Valores deseados.
Pendiente	Valor correspondiente a la pendiente nernstiana. Para cationes divalentes: S=29,6 Para cationes monovalentes: . S = 59,2
Potencial estándar (E)	Que sea reproducible
Potencial Inicial (Ei)	Que sea reproducible
Límite práctico de detección (LPD)	$\leq 10^{-6}$ M
Tiempo de respuesta	≤ 1 minuto
Tiempo de vida	El máximo posible.
Acondicionamiento	Ninguno
Influencia de pH	El máximo intervalo.
Interferencias	Mínimas o con coeficientes de selectivad potenciométrica mínimos.

3. ANÁLISIS DE ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Innumerables técnicas se han utilizado para remover metales pesados, sin embargo, estos métodos tienen limitaciones, como los altos costos operativos en el caso de adsorción con carbón activado y dificultades para cumplir con los estrictos requisitos reglamentarios en el caso de la precipitación química. [2, 66]

Uno de los antecedentes más significativos es el estudio llevado a cabo en nuestra ciudad sobre la capacidad removedora de cobre de la arcilla, greda, cenicero, diatomita; llevada a cabo en la Universidad San Agustín en el 2005, donde se encontró que la bentonita sin activar tienen alta capacidad de adsorción de Cu^{2+}, y la arcilla es quien muestra una alta capacidad de intercambio de cationes. [58]

Otros estudios basados en material inorgánico como el realizado por Yong Sik Ok y col. Donde evaluó la mezcla de zeolita-cemento como sustituto de carbón activado para el tratamiento de aguas residuales, dando a conocer que remueve Pb y Cu en una solución acuosa hasta 27 y 23 $mg.g^{-1}$ respectivamente, siendo más eficiente y con mayor capacidad adsortiva que el carbón activado. [67]

También, las muestras de arcilla montmorillonita (Brasil) tanto originales como modificadas fueron estudiadas para el estudio de la adsorción de mercurio por Guerra D. y col. donde encontraron una interacción favorable entre el catión y la arcilla mediante un método calorimétrico. [68]

Además de los innumerables estudios basados en material orgánico como, la capacidad de adsorción de una carbón activado en polvo derivado de la cáscara de la nuez, demostrando que la adsorción de Hg (II) disminuye al aumentar el pH.[14].Así como también la habilidad de remoción del Hg (II) de soluciones acuosas por el material adsorbente derivado de la cáscara de fruta de la *Terminalia catappa*, activada con ácido sulfúrico. [15] Por último, la adsorción de la lenteja de agua (*Lemna minnor*) para la remoción de mercurio inorgánico y orgánico. [66]

1. OBJETIVOS

1. Diseñar y construir un cuerpo para electrodo ión selectivo.
2. Fabricar, evaluar y analizar una membrana sensora ión selectiva para boro.
3. Optimizar las condiciones de respuesta del electrodo ión selectivo para boro y de esta manera poder realizar un monitoreo en campo.
4. Comparar los resultados obtenidos del electrodo ión selectivo con una técnica espectrofotométrica de Azometina-H para boro, previamente estandarizada.

2. HIPÓTESIS

Dada la deficiencia de equipos para el monitoreo de boro *in situ*, es probable que la fabricación de un electrodo ión selectivo posibilite su monitoreo en ecosistemas contaminados.

CAPÍTULO III PLANTEAMINETO OPERACIONAL

TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN:

1. MUESTRAS

Se utilizaron muestras de aguas provenientes del río Tambo, localizado en el Valle de Tambo, Provincia de Islay, Departamento de Arequipa.

2. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

Para el presente trabajo de investigación, se utilizó agua ultrapura de 18.2 MΩ obtenida de un equipo EASYPURE II RF de Barnstead Thermo Scientific. Los reactivos empleados fueron de grado analítico sin purificación adicional. Se preparó una solución stock de Borato de Sodio ($Na_2B_4O_7.10H_2O$) 0.1 M disolviendo 9,53 g de $Na_2B_4O_7.10H_2O$ en 250 mL de agua. Se utilizó grafito, resina epóxica con endurecedor.

Para la preparación de la membrana sensora se utilizaron los siguientes reactivos:

a) Preparación de Ag_2S: aproximadamente 3 g de $AgNO_3$ (Merck) se disuelve en agua, se añadió 40 mL de una solución 1M de Na_2S (Merck), se formó un precipitado el cual se filtra y se lava varias veces, se secó en un horno a 110 ºC. Se almacenó en la oscuridad y en un desecador.

b) Preparación de Cu_2S: esta reacción es necesaria protegerla del aire para evitar la oxidación, para ello se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno. Alrededor de 2 g de CuCl fueron disueltos en 100 mL de agua desaireada, con el fin de proteger la reacción de la oxidación. A esta solución se le añadió Na_2S preparado también con agua desaireada. Se calentó a 60 ºC por 30 minutos, se formó un precipitado negro, luego se filtró, se lavó varias veces y se secó en un horno a 110 ºC. Se almacenó en un desecador.

c) Preparación de Ag_3BO_3: para este propósito se disuelve $Na_2B_4O_7.10H_2O$ en agua y se añade $AgNO_3$ se formó un precipitado, se filtró, se lavó varias veces y se secó en un horno a 110 ºC. Se almacenó en un desecador en oscuridad.

Todas las mediciones de potencial se hicieron con una estación potenciométrica Titrando 808 de Metrohm y a 25.0 ± 0.1 ºC usando una celda termostateada. Esta estuvo equipada con un electrodo de referencia de Ag/AgCl con un puente salino incorporado. Para la comprobación del pH de las soluciones en el presente estudio un pH-Lab 827 de Metrohm, fue utilizado.

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María (H-202).

3. METODOLOGÍA

3.1 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL ELECTRODO

A partir de las experiencias de diversos autores y fabricantes, se procedió al diseño y construcción del cuerpo de los electrodos ion selectivo. Para el diseño (ver Fig. 2.1), construcción del cuerpo se utilizó Poliamida®, Delrin®, Ertalyte®, acero inoxidable para el conector. Una primera parte es el vástago que por un extremo tiene un pin macho y por el otro un cable que se conecta al potenciómetro, debido a que esta conexión es especial en el equipo a utilizar se fabricó dicha pieza; la otra parte es el cabezal remplazable que contiene un pin hembra soldado a una lámina de cobre de forma circular sobre la cual se depositó la mezcla sensora.

Para la construcción del cabezal remplazable se cortan los tubos en longitudes de 16 cm y 2.5 cm, se tornean según el diseño, se corta en forma circular un trozo de lámina de cobre de 0.4 mm de espesor y 6.5

mm de diámetro. Previamente se limpia una de las caras de la lámina de cobre mediante pulido mecánico. Por la otra cara se agrega mezcla de resina epóxica conductora con grafito en relación de 1:4.

A continuación se marca externamente la altura de donde queda la placa de cobre para poder visualizar el desgaste de la membrana sensora al ir puliendo una vez esté depositada. Luego se cubre con cinta adhesiva el contorno del tubo para que no se ensucie cuando se realiza la deposición de la pasta sensora. Luego se procede a construir el vástago del electrodo, que consta de un tubo de 14 cm con unión a un conector macho que se conecta por el extremo interno un cable coaxial de 2 mm. El otro extremo del tubo sujeta el cable centrándolo y el hilo interno del cable se conecta al pin central de un conector de tipo antena que se mandó a tornear, quedando sujeta al conector.

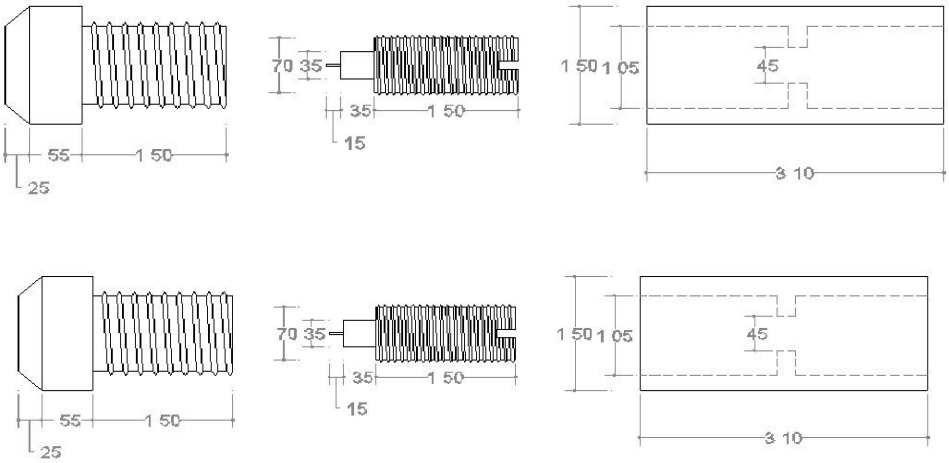

Fig. 2.1. Diagrama del Electrodo y conector.

3.2 ELABORACIÓN DE LA MEZCLA SENSORA

Fueron preparadas en base a lo reportado en publicaciones relacionadas. Para esto las sales preparadas de Cu_2S, Ag_3BO_3 y Ag_2S fueron mezcladas en diferentes proporciones (10 - 15 mg) y fueron hechas pellets, manteniendo primero bajo una presión de 5000 $Kg.cm^{-2}$ durante 5 minutos y luego bajo una presión de 8000 $Kg.cm^{-2}$ durante

10 minutos, usando para esto una prensa hidráulica. Los pellets de 7 mm de diámetro y de 0.1 a 0.3 mm de espesor fueron sellados con resina epóxica (0.7 g de resina epóxica y 0.9 g de endurecedor).

Para obtener un buen sellado dela resina epóxica en el borde del electrodo se tuvo que esperar unos 10 minutos. Un día después el pellet se selló con un alambre de cobre en el extremo plano, para este propósito el interior del electrodo se rellenó con aproximadamente 1 cm de una mezcla de 0.5 g de grafito, resina epóxica y el endurecedor. El electrodo preparado tuvo que esperar alrededor de 2 días para que la resina pueda secar por completo. La superficie del electrodo se lava y luego es pulida con un papel suave. Se deben de almacenar en un lugar oscuro cuando no estén en uso.

3.3 EVALUACIÓN DEL ELECTRODO IÓN SELECTIVO

La evaluación del electrodo ión selectivo, fue realizada según la siguiente metodología: a partir de su curva de calibración, se determinaron su pendiente y potencial estándar, su tiempo de respuesta y el límite práctico de detección, con los diferentes experimentos realizados a lo largo del tiempo, se determinó su tiempo de vida; por otro lado, también se evaluó la variación del potencial en función del pH.

3.3.1 CURVA DE CALIBRACIÓN

Para conocer las características de respuesta del electrodo, se llevaron a cabo repetidas calibraciones en las que se midió la variación del potencial respecto a la variación de la concentración del ión principal. Para tal fin, se varió la concentración del analito por el proceso de adición de cantidades conocidas de una disolución estándar.

Una vez instalado el sistema de medida se agregó con una pipeta volumétrica de 20.0 mL, la disolución de $NaNO_3$ 0.1 M, en el interior de la celda potenciométrica. Luego se colocaron el electrodo de referencia y el de trabajo. El electrodo de trabajo había sido pulido previamente con papel abrasivo. Se depositó en la celda un agitador magnético junto con los dos electrodos. Se puso en marcha el agitador con velocidad de agitación de 500 r.p.m. y una vez estabilizado el sistema, se agregaron alícuotas de 200 uL de las disoluciones patrón del analito a determinar, realizando pausas de 30 segundos en cada adición hasta la estabilización del potencial. Estas adiciones correspondieron a un rango de concentración desde 1×10^{-6} a 0.1 M de $Na_2B_4O_7$. El conjunto de datos obtenidos permitió elaborar las curvas de calibración.

A partir de los resultados obtenidos en cada una de las calibraciones realizadas, se representó la variación del potencial en milivoltios frente al logaritmo de su concentración, obteniéndose su respectiva curva de calibración, linealidad y sus parámetros como pendiente y potencial estándar.

3.3.2 ACONDICIONAMIENTO DEL ELECTRODO

Para conocer la reproducibilidad del electrodo, se efectuaron calibraciones consecutivas y otras espaciadas en el tiempo durante el periodo que duró todo el estudio. Considerando que cada vez que se realizaron las calibraciones estas fuesen por duplicado y con una diferencia de 20 a 30 minutos.

La estabilidad de respuesta se determinó por observación directa del software del equipo, cada vez que se calibraban los electrodos, observando la variabilidad del potencial con el tiempo para cada cambio de concentración. Esta característica de respuesta

condiciona fuertemente el uso práctico de un electrodo selectivo, sobre todo en potenciometría directa.

El electrodo evaluado fue almacenado en distintas condiciones; en el aire y protegido de la luz, en agua destilada y en una solución de 10^{-4} M de $Na_2B_4O_7$, posteriormente sus respuestas fueron medidas.

3.3.3 DINÁMICA DE RESPUESTA

Se midió el tiempo en que el electrodo alcanza su potencial estable variando de menor a mayor la concentración mediante adiciones de la disolución estándar. Los factores que afectan al tiempo de respuesta son: la temperatura del sistema, la magnitud y la dirección del cambio en la concentración desde la adición anterior, la homogeneización de la disolución, la presencia de iones interferentes y la proximidad al límite de detección.[29] Para controlar estas variables experimentales se mantuvieron la velocidad de agitación constante durante todos los experimentos a 500 r.p.m., la temperatura del sistema a 25.0 ± 0.1 ºC y las disoluciones libres de interferencias.

3.3.4 TIEMPO DE VIDA

El tiempo de vida o durabilidad del electrodo es un parámetro difícil de precisar y comparar respecto a otros electrodos fabricados, porque depende de una serie de factores, como son: la composición de la membrana, el material del substrato, exposición a interferentes, así como de la manipulación antes y después de su utilización, con pulimentos o acondicionamientos en diferentes disoluciones.

El tiempo de vida del electrodo selectivo se determinó a partir de los valores de la pendiente, encontradas en las curvas de calibración

a lo largo del tiempo para un mismo electrodo. El tiempo de vida resulta de confrontar la variación de su pendiente o su potencial estándar respecto al número de días.

3.3.5 LÍMITE PRÁCTICO DE DETECCIÓN

El límite práctico de detección (LPD) se determinó a partir de la ecuación de la recta generada por la curva de calibración del anión evaluado, resolviendo el antilogaritmo de la variable X en la ecuación lineal al sustituir en la variable Y el potencial inicial (potencial obtenido en la disolución de fondo, es decir; antes de efectuar las adiciones).

3.3.6 EFECTO DEL pH

Para conocer experimentalmente la influencia del pH sobre el electrodo selectivo se efectuó adiciones sucesivas de pequeños volúmenes de una disolución de hidróxido de sodio concentrada, a un gran volumen de la disolución del ion principal a una determinada concentración, inicialmente a pH ácido y ajustada su fuerza iónica. De esta manera se puede considerar que no hay variación de volumen y, en consecuencia, de la concentración del analito.

Para observar el comportamiento del potencial del electrodo selectivo al anión con respecto al pH, se utilizó una unidad de medición de pH unida a la estación potenciométrica, una de ellas tenía conectada el electrodo de referencia y de trabajo y, en el otro, el electrodo combinado de pH previamente calibrado. Los electrodos se colocaron dentro de la celda potenciométrica que contenía 20 ml de disolución del anión respectivo, a una concentración de 10^{-4}, ajustado a una fuerza iónica de 0.1 M con $NaNO_3$ y a un pH aproximado de 1 con HNO_3 0.1 M.

Una vez estabilizado el potencial se procedió a agregar alícuotas de la disolución concentrada de NaOH 0.1 M y las variaciones en el potencial se registraron junto a su correspondiente valor de pH. Las experiencias fueron repetidas dos veces para cada una de las tres concentraciones estudiadas.

Con los valores obtenidos de pH y el potencial del electrodo se elaboraron los diagramas de Reilley, permitiendo determinar la zona óptima de pH, en la cual, el electrodo de trabajo no se encuentre afectado por las variaciones del pH de la disolución.

3.3.7 INTERFERENTES

En el presente estudio se analizaran los siguientes aniones como posibles interferentes, Cl^-, NO_3^-, $SO_4^=$, $H_2PO_4^-$ y como cationes, K^+, Na^+, Cu^{2+}, Ag^+. Los iones interferentes fueron añadidos en presencia de $NaNO_3$ 0.1 M, conteniendo solución de borato de 10^{-5} M, de modo que la concentración de iones interferentes fue de 10^{-2} – 10^{-5} M, y el cambio en el potencial fue medido después de cada adición.

3.4 Determinación de boro por Azometina-H por espectrofotometría.

Se realizó para la comparación con el electrodo ión selectivo.

Preparación de soluciones:

a. Azometina-H 0,9 % en ácido ascórbico 2 %.

Disolver 0,9 g de Azometina-H y 2,0 g de ácido ascórbico, conjuntamente en un volumen de 100 mL de agua destilada, en un vaso de precipitados de 250 mL y agitar hasta completa disolución en un sistema de agitación magnética. Disponer la solución en frasco plástico y guardar refrigerado. Duración de la solución es de 15 días.

b. Solución tampón pH 5,9:

Disolver 62,5 g de acetato de amonio y 3,8 g de EDTA-Na_2 en 250 mL de agua destilada. Agregar 31 mL de ácido acético glacial y mezclar. Ajustar a pH 5,9 y envasar en recipiente plástico.

c. Estándares de calibración:

A partir de una solución estándar de Boro de 1000 ppm (MERCK), se preparó una solución estándar de 50 ppm y de ella se transfirieron 0,5; 1,0: 2,0; 5,0 y 10,0 mL a fiolas de 50 mL y enrasar con agua destilada.

d. Curva de calibración:

- Tomar una alícuota de 4,0 mL con pipeta volumétrica, de cada una de las soluciones estándares y colocar en frascos de polipropileno.
- Agregar 4,0 mL de con pipeta volumétrica, de la solución tampón y homogeneizar.
- Agregar 2,0 mL exactos de la solución de Azometina-H. Mezclar.
- Dejar reposar por 30 minutos y medir a 420 nm.
- Preparar un blanco de la misma manera. Usar agua destilada.

e. Validación del método:

Linealidad. Es la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en un rango definido.

Precisión. Refleja la medida en que los valores de una serie repetida de ensayos analíticos que se realizan sobre una muestra homogénea son semejantes entre sí.

a) *Repetibilidad.* Refleja la precisión de un método.

b) *Reproducibilidad*. Es la medida de la precisión de los resultados de ensayos realizados sobre la misma muestra homogénea.

c) *Robustez (tolerancia).* Es el grado de reproducibilidad de los resultados obtenidos.

Exactitud. Indica la capacidad del método analítico para obtener resultados lo más próximos posibles al valor verdadero.

Selectividad (especificidad). Se define como la capacidad de un método analítico para medir exacta y específicamente el analito sin interferencias de impurezas, productos de degradación o excipientes que pueden estar presentes en la muestra.

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Una vez obtenidos los cálculos se determinan los siguientes parámetros estadísticos:

a) Parámetro de distribución central:

Promedio:

Valor que representa un conjunto de datos. Señala un centro de los valores.

$$\overline{X} = \frac{\sum X}{n}$$

Donde:

Σx: Sumatoria del conjunto de datos.

n: Número de datos.

b) Parámetro de dispersión:

Desviación Estándar (S):

Se considera como la raíz cuadrada de la varianza.

$$S = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n-1}}$$

Donde:

Σx: Sumatoria del conjunto de datos.

n: Número de datos.

c) Pruebas de Significación.

Análisis de Varianza.

Si tres o más muestras van a compararse, para ver si están tomadas de la misma población, el análisis de varianza (una especie de prueba t múltiple) puede usarse como medio de comparación.

Existen dos únicas fuentes de variación, entre grupos y dentro de los grupos, como se indica en la tabla de análisis de varianza. Los cuadrados de las medias se obtienen dividiendo las sumas de los cuadrados por sus correspondientes grados de libertad. La fórmula para calcular la relación F es:

$$F = \frac{\textit{Cuadrado de las medias entre grupos}}{\textit{Cuadrado de las medias dentro de los grupos}}$$

Para probar la significación en la relación F se recurre a tablas. Se analiza si el valor calculado para F es menor o mayor que el que se indica en tablas de acuerdo a los grados de libertad. En el primer caso, se concluirá que todos los grupos son iguales, en caso contrario se concluirá que no

todos los grupos son iguales, entre algunos o todos existe una diferencia estadística significativa.

1. CAMPO DE VERIFICACIÓN

1.1 Ubicación espacial

Las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María. Pabellón H-202 Laboratorio de Investigación de nuestra institución y Laboratorio de Farmacotecnia H-203.

2.2 Ubicación temporal

El presente estudio es coyuntural, donde se evaluará primero el diseño, y evaluación del electrodo ión selectivo para boro.

2.3 Unidades de estudio

Se probarán materiales inorgánicos u orgánicos para desarrollar la membrana del electrodo ión selectivo.

2. ESTRATEGÍA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Para la recolección de datos se ejecutará:

- Preparación de las soluciones.
- Análisis de los parámetros del electrodo en estudio.
- Recolección de resultados.
- Tiempo en el que se efectuará la investigación.
- Prueba de instrumentos.
- Métodos y técnicas.
- Análisis de resultados obtenidos.

CAPÍTULO IV CRONOGRAMA DE TRABAJO:

ETAPAS	AÑO	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	DIC
Elaboración del marco teórico	2011	XX					
Parte Experimental	2011		XX	XX			
Procesamiento de datos	2011			XX	XX		
Análisis e interpretación de los resultados	2011				XX	XX	
Conclusiones	2011					XX	XX
Elaboración del informe final	2011					XX	XX
Publicación de los resultados (borradores)	2011						XX

BIBLIOGRAFÍA

1. García, I.; Dorronsoro, C. Contaminación por metales pesados. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Granada (España), 2001. Lección 15.
2. Dorronsoro, C. Degradación del suelo. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Granada (España), 2001. Lección 10.
3. Nedlkoska, T. V; Doran, P.M. 2000. Characteristic of Heavy Metal Uptake by Plant Species with Potential for Phytoremediation and Phytomining. Minerals Engineer. 13(5): 549-561.
4. Garbisu, C; Alkorta, I 2001. Phytoestraction: a cost-effective plant-based technology for the renoval of metals from the environment. Review paper. Bioresource technol. 77: 229-236.
5. Power PP, Woods WG. 1997. The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant and Soil* 193: 1-13.
6. Brady JE, Humiston GE. 1978. *General chemistry: Principles and structure*. New York. John Wiley and Sons.
7. Holleman AF, Wiberg E. 2001. *Inorganic chemistry*. New York. Academic Press.
8. Bolaños L, Lukaszewski K, Bonilla I, Blevins D. 2004. Why boron? *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 907-912.
9. Warington K. 1923. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Annals of Botany* 37: 629-672.
10. Smyth DA, Dugger WM. 1981. Cellular changes during boron-deficient culture of the diatom *Cylindrotheca fusiformis*. *Plant Physiology* 51: 111-117.
11. Bonilla I, García-González M, Mateo P. 1990. Boron requeriment in cianobacteria. Its possible role in the early evolution of photosynthetic organisms *Plant Physiology* 94: 1554-1560.
12. García-González M, Mateo P, Bonilla I. 1991. Boron requirement for envelope structure and function in *Anabaena* PCC 7119 heterocysts. *Journal of Experimental Botany* 42: 925-929.

13. Bonilla I, Mergold-Villasenor C, Campos ME, Sánchez N, Pérez H, López L, Castrejón L, Sánchez F, Cassab GI. 1997. The aberrant cell walls of boron deficient bean root nodules have no covalently bound hydroxyproline-/proline-rich proteins. *Plant Physiology* 115: 1329-1340.
14. Bennett A, Rowe RI, Soch N, Eckhert CD. 1993. Boron stimulates yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) growth. *The Journal of Nutrition*. 129: 2236-2238.
15. Rowe RI, Eckhert CD. 1999. Boron is required for zebra fish embryogenesis. *Journal of Experimental Botany* 202: 1649-1654.
16. Kobayashi M, Matoh T, Azuma J. 1996. Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. *Plant Physiology* 110: 1017-1020.
17. O'Neill MA, Ishii T, Albersheim P, Darvill AG. 2004. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *Annual Review of Plant Biology* 55: 109-139.
18. Blevins DG, Lukaszewski KM. 1998. Boron in plant structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 481-500.
19. Brown PH, Bellaloui N, Wimmer MA, Bassil ES, Ruiz J, Hu H, Pfeffer H, Dannel F, Römheld V. 2002. Boron in plant biology. *Plant Biology* 4: 205-223.
20. Goldbach HE, Wimmer MA. 2007. Boron in plants and animals: Is there a role beyond cell-wall structure?. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 170: 39-48.
21. Redondo-Nieto M, Rivilla R, El-Hamdaoui A, Bonilla I, Bolaños L. 2001. Boron deficiency affects early infection events in the pea-*Rhizobium* symbiotic interaction. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 819-823.
22. Camacho-Cristóbal JJ, González-Fontes A. 2007. Boron deficiency decreases plasmalemma H+-ATPase expression and nitrate uptake, and promotes ammonium assimilation into asparagine in tobacco roots. *Planta* 226: 443-451.

23. Kobayashi M, Mutoh T, Matoh T. 2004. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells IV. Genes induced under low boron supply. *Journal of Experimental Botany* 55:1441-1443.
24. Takano J, Wada M, Ludewig U, Schaaf G, von Wirén N, Fujiwara T. 2006. The Arabidopsis major intrinsic protein NIP5; 1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation. *Plant Cell* 18: 1498-1509.
25. Kasajima I, Fujiwara T. 2007. Identification of novel Arabidopsis thaliana genes which are induced by high levels of boron. *Plant Biotechnology* 24: 355-360.
26. Camacho-Cristóbal JJ, Herrera-Rodríguez MB, Beato VM, Rexach J, Navarro-Gochicoa MT, Maldonado JM *et al*. 2008. The expression of several cell wallrelated genes in Arabidopsis roots is down-regulated under boron deficiency. *Environmental and Experimental Botany* 63: 351-358.
27. Gonzalez-Fontes A, Rexach J, Navarro-Gochicoa MT, Herrera-Rodríguez MB, Beato VM, Maldonado JM, Camacho-Cristóbal JJ. 2008. Is boron involved solely in structural roles in vascular plants? *Plant Signalling & Behaviour* 3: 24-26.
28. Hu H, Brown PH. 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil* 193: 49-58.
29. Takano J, Miwa K, Fujiwara T. 2008. Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. *Trends in Plant Science* 13: 451-457.
30. Tisdale SL, Nelson WL, Beaton JD. 1985. *Soil Fertility and Fertilizers 4th Edn*. New York. Macmillan Publishing Company.
31. Gupta UC. 1979. Boron nutrition of crops. *Advances in Agronomy* 31: 273-307.
32. Kerem R, Bingham FT. 1985. *Boron in water, soils, and plants*. Advances in soil science VI. Ed. BA Stewart. New York. Springer-Verlag.
33. Brown PH, Shelp BJ. 1997. Boron mobility in plants. *Plant and Soil* 193: 85-101.

34. Hu H. Penn SG, Lebrilla CB, Brown PH. 1997. Isolation and characterization of soluble B-complexes in higher plants. *Plant Physiology* 113: 649-655.
35. Nable RO, Bañuelos GS, Paull JG. 1997. Boron toxicity. *Plant and Soil* 193: 181-198.
36. Parks JL, Edwards M. 2005. Boron in the environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 35: 81-114.
37. Vouthckow N. 2005. Desalination-water for the next generation. *Filtration & Separation* 42: 14-25.
38. Tariq M, Mott CFB. 2007. The significance of boron in plant nutrition and environment - A review. *Journal of Agronomy* 6: 1-10.
39. Chesworth W. 1991. *Geochemistry of micronutrients. Micronutrients in agriculture*. Eds. JJ Mortvedt, FR Cox, LM Shuman, RM Welch. Soil Science Society of America. Madison, Wl, USA.
40. Argust P. 1998. Distribution of boron in the environment. *Biological Trace Element Research*. 66: 131-143.
41. Anderson DL, Kitto ME, McCarthy L, Zoller WH. 1994. Sources and atmospheric distribution of particulate and gasphase boron. *Atmospheric Environment.* 28: 1401-1410.
42. Coughlin JR. 1998. Sources of human exposure: overview of water supplies as sources of boron. *Biological* Trace Element *Research* 66: 87-100.
43. Malina G. 2004. Ecotoxicological and environmental problems associated with the former chemical plant in Tarnowski Gory. *Poland Toxicology* 205: 157-172.
44. Maier KJ, Knight AW. 1992. The toxicity of waterborne boron to *Daphnia* and *Chironoomus decorus* and the effects of water hardness and sulphate on boron toxicity. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 20: 282-287.
45. Nable RO, Bañuelos GS, Paull JG. 1997. Boron toxicity. *Plant and Soil* 193: 181-198.

46. Yermiyahu U, Tal A, Ben-Gal A, Bar-Tal A, Tarchitzky J, Lahav O. 2007. Rethinking desalinated water quality and agriculture. *Science* 318: 920-921.
47. At-Kinson S. 2005. Desalination project worldwide. *Membrane Technology* 1: 7-10.
48. Vouthckow N. 2005. Desalination-water for the next generation. *Filtration & Separation* 42: 14-25.
49. Schiffler M. 2004. Perspectives and challenges for desalination in the 21st century. *Desalination* 165: 1-9.
50. Martínez Beltrán J, Koo-Oshima S. 2006. *Water desalination for agricultural applications*. FAO, Roma.
51. Bhumbla DR, Ckhabra R. 1982. Chemistry of sodic soils in review of soil research in India. *In*. Trans. 12th Int. Cong. Soil Sci. New Delhi, India.
52. Robinson B, Green S. et al. 2003. Phytorremediation: using plants as biopumps to improve degraded environments. *Australian Journal of Soil Research* 41: 599-611.
53. Eaton FM. 1944. Deficiency, toxicity and accumulation of boron in plants. *Journal of Agricultural Research* 69: 237-277.
54. Nable RO. 1988. Resistance to boron toxicity amongst several barley and wheat cultivars: a preliminary examination of the resistance mechanism. *Plant and Soil* 112: 45-52.
55. Francois LE. 1988. Yield and quality responses of celery and cripshead lettuce to excess boron. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 113: 538-542.
56. Paull JG, Nable RO, Rathjen AJ. 1992. Physiological and genetic control of the tolerance of wheat to high concentrations of boron and implications for plant breeding. *Plant and Soil* 146: 251-260.
57. Dossier. *Le bore et le nickel dans les ressources en eau.* Techniques Sciences Methodes, Octobre, *661-IQl* (1996).
58. Adriano D.C. *Trace elements in the terrestrial environment.* Ed. Springer-Verlag (New-York 1986).

59. Lorenzo L. *Los electrodos selectivos en el análisis de aguas, Gestión y Promoción*. Editorial, S.A. Barcelona 1996.
60. Hauptmann P. *Sensors, Principles & Applications*. Great Britain, 1991
61. Cranny A. W. J. y Atkinson J.K. *Thick film silver-silver cloride reference electrode*. Measurements Science and Technology. 9, 1998 1557-1565.
62. CSIC/CDTI. *Introducción a los sensores*. Madrid, 1987.
63. White N. y Turner J. *Thick film sensors: past, present and future*. Measure Science and Techonlogy , 8 (1997) 1-20.
64. Galan C. *Desarrollo de sensores químicos y biosensores por tecnología thick film*. Tesis doctoral. UAB. 1996.
65. IUPAC; Analytical Chemistry Division, Comission on Aanalytical Nomenclature. *Recommendations for Nomenclature of ion selective electrodes*. Pure Application Chemistry, 48, N° 1, 1976.
66. Daniel C. Harris. Análisis Químico Cuantitativo. 2DA edición. 2001.
67. José M. Pingarron Carrazón. Pedro Sanchez Molina. Química electroanalítica.
68. British Columbia Ministry of Environment, Lands and Parks (BC MELP). Ambient Water Quality Guidelines for Boron. 1981.