

**DETECCIÓN DE IMIDACLOPRID Y TIMEROSAL USANDO ELECTRODOS
SERIGRAFÍADOS DE CARBONO**

JOAN SEBASTIAN PAEZ QUINTERO

C120131010

UNIVERSIDAD DE IBAGUÉ

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS

**PROGRAMA DE ADMINISTRACIÓN DEL MEDIO AMBIENTE Y DE LOS
RECURSOS NATURALES**

IBAGUÉ

2018

**DETECCIÓN DE IMIDACLOPRID Y TIMEROSAL USANDO ELECTRODOS
SERIGRAFÍADOS DE CARBONO**

JOAN SEBASTIAN PAEZ QUINTERO

C120131010

ANTEPROYECTO DE GRADO

DIRECTOR

Dr. EDGAR ORLANDO NAGLES

Dr. OLIMPO GARCÍA BELTRÁN (Codirector)

UNIVERSIDAD DE IBAGUÉ

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS

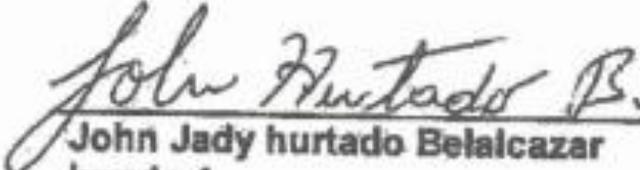
**PROGRAMA DE ADMINISTRACIÓN DEL MEDIO AMBIENTE Y DE LOS
RECURSOS NATURALES**

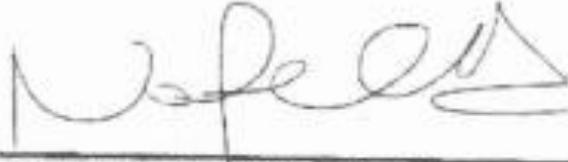
IBAGUÉ

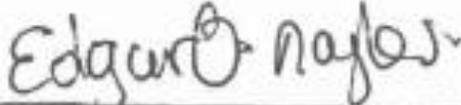
2018

NOTA DE ACEPTACIÓN:

Aprobado por el comité de grado en cumplimiento de los requisitos exigidos por la Universidad Autónoma de Occidente para optar al título de Administrador del Medio Ambiente y los Recursos Naturales.


John Jady hurtado Belalcazar
Jurado 1


Liceth Natalia Cuellar Alvarez
Jurado 2


Edgar Orlando Nagles Vidal
Director


Olimpo José García Beltrán
Codirector

TABLA DE CONTENIDO

pág.

INTRODUCCION	6
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	10
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	12
2. JUSTIFICACION	13
3. OBJETIVOS	14
3.1 OBJETIVO GENERAL	14
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	14
4. MARCO DE REFERENCIA	15
4.1 MARCO CONCEPTUAL	15
4.2 MARCO TEÓRICO	17
5.1 ZONA DE ESTUDIO	20
5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL	20
6. RECURSOS Y MATERIALES	22
7. CRONOGRAMA	23
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
8.1 CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DEL ELECTRODO DE TRABAJO (SPCE) CON Y SIN IMI Y TMS	24
8.2 BUSQUEDA DE PARAMETROS OPTIMOS	26
8.2.1. Efecto del pH	26
8.2.2 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE ACUMULACIÓN Y POTENCIAL DE ACUMULACIÓN (T_{ADS} , E_{ADS})	28
8.2.3 VELOCIDAD DE BARRIDO	28
8.3 CURVAS DE CALIBRADO, PARAMETROS ESTADISTICOS, ESTABILIDAD E INTERFERENCIAS	31
9. CONCLUSIONES	33
10. BIBLIOGRAFÍA	34

CONTENIDO DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. Cronograma de actividades.....	23
TABLA 2. Variación de corriente y posición aumentando la velocidad de barrido del imidacloprid.....	29
TABLA 3. Variación de corriente y posición aumentando la velocidad de barrido del timerosal.....	29

CONTENIDO DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1. Estructura química del Timerosal.....	16
FIGURA 2. Estructura química del Imidacloprid.....	17
FIGURA 3 Voltamperogramas de SPCE solo (A), IMI (B) y TMS (C) con buffer fostato pH 3.0 sobre SCPE. Velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1}	25
FIGURA 4 Curva de pH vs corriente de TMS (a) y de IMI (b) en función del pH entre 3,1 y 7,8 usando SCPE y velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1}	26
FIGURA 5 Curva de pH vs potencial (V) de TMS (a) y de IMI (b) pH entre 3,1 y 7,8 usando SCPE y velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1}	26
FIGURA 6 Curva de corriente vs velocidad de barrido de IMI (A) y deTMS (B) usando SCPE a pH 7.0 y 4.5.....	30
FIGURA 7 Voltamperogramas de TMS (A) y curva de calibrado (B) con buffer fostato pH 4.0 sobre SCPE. Velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1}	32
FIGURA 8 Voltamperogramas de IMI (A) y curva de calibrado (B) con buffer fostato pH 7.0 sobre SCPE. Velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1}	32

RESUMEN

En el presente trabajo, se desarrolló un dispositivo electroquímico sin modificar, de bajo costo instrumental, de fácil uso y aplicación, selectivo y altamente sensible para la determinación de los fumigantes imidacloprid y timerosal. Para caracterizar el electrodo (SPCE) primero se tuvo en cuenta la sensibilidad del mismo realizando mediciones a diferentes pH, determinando así que el pH más óptimo para el imidacloprid fue de 7.1 mientras que para el timerosal fue de 4.5. Se utilizaron técnicas de voltamperometría cíclica, se estudiaron las variables efectivas en el electrodo tales como velocidad de barrido, potencial de acumulación y tiempo de acumulación. Este electrodo (SPCE) sin modificar presento una buena repetibilidad, una excelente selectividad y alta sensibilidad.

Palabras clave: dispositivo electroquímico, imidacloprid, timerosal, electrodo, voltamperometria cíclica.

ABSTRACT

In this Project, an electrochemical device unmodified was developed, it was of low instrumental cost, easy use and application, selective and highly sensitive for the determination of imidacloprid and thimerosal fumigants. To characterize the electrode (SPCE), first it was taken into account its sensitivity by making measurements at different pH, determining that the most optimal pH for imidacloprid was 7.1 while for the thimerosal it was 4.5. It was used cyclic voltammetry techniques, the effective variables were studied in the electrode such as scanning speed, accumulation potential and accumulation time. This unmodified electrode (SPCE) showed good repeatability, excellent selectivity and high sensitivity.

Keywords: electrochemical device, imidacloprid, timerosal, electrode, cyclic voltamperometry.

INTRODUCCION

Los biosensores electroquímicos han tenido gran importancia durante las últimas décadas ya que se han implementado de manera exponencial para la detección de sustancias químicas o biológicas, esta metodología resulta ser de gran importancia al momento de proporcionar información analítica específica ya que al implementarse se genera una respuesta biológica mediante una señal cuantificable y/o semicuantificable¹. Además, son dispositivos pequeños que permiten medir directamente un analito en una matriz disminuyendo el tiempo de análisis.².

Existen diferentes técnicas electroquímicas que miden la conductividad eléctrica generando una actividad iónica la cual se ve reflejada mediante una señal electromagnética, estas se pueden identificar como: potenciometría, voltametría/polarografía, coulombimetría, conductometría y la amperometría³.

Los sensores electroquímicos se pueden clasificar dependiendo de su función, entre estos se encuentran: electroquímicos, termométricos, ópticos, celulares e inmunosensores⁴ y son efectivos para la detección y determinación de plaguicidas o fumigantes como el imidacloprid(IMI) y timerosal (TMS), entre otros.

Los plaguicidas pueden ser de origen químico y/o biológico, dentro de los químicos se encuentran más de 1000 principios activos, entre estos se encuentran el insecticida imidacloprid y el antiséptico timerosal y se hacen más de 30.000 productos de este origen, entre los biológicos se encuentran 195 principios activos y con esto se generan más de 700 productos diferentes, la mezcla de estos

¹D. R. Thevenot, K. Tóth, R. A. Durst, y G. S. Wilson, «Electrochemical Biosensors: Recommended Definitions and Classification», *Pure Appl. Chem.*, vol. 71, n.º 12, pp. 2333–2348, 1999.

²J. Wang, «SURVEY AND SUMMARYFrom DNA biosensors to gene chips», *Nucleic Acids Res.*, vol. 28, n.º 16, pp. 3011-3016, ago. 2000.

³J. M. González de Buitrago, «13 - Técnicas electroquímicas. Medida de iones y pH y gases en sangre», en *Técnicas y Métodos de Laboratorio Clínico (Terzaedizione)*, Elsevier España, 2010, pp. 177-196.

⁴ *Ibíd.*,

principios activos se denominan ingredientes inertes, cuyo efecto se ve reflejado en el ingrediente activo el cual hace que existan diferentes clasificaciones dependiendo de su toxicidad⁵.

Los insumos químicos sintéticos son usualmente utilizados para diversos fines en cuanto a la protección y producción de cultivos, estos pueden contaminar diversos ecosistemas tanto en el suelo, agua y aire. Las prácticas agrícolas tradicionales se ven afectadas por las grandes industrias agropecuarias, las cuales tienen una tasa de producción muy alta en comparación con productores particulares; esto hace que los productores se vean obligados a aumentar su productividad mediante fertilizantes sintéticos⁶.

Según la especie de plaga que se desee controlar y mitigar en un cultivo o zona determinada se presenta una serie de plaguicidas que tienen una función específica para cada una de ellas, entre estas se encuentran: los insecticidas (larvicida, formicida, pulguicida), los garrapaticidas, nematocidas, molusquicidas, rodenticidas, ovidas (columbicida), bacteriostático y bactericidas, fungicidas, herbicidas (defoliante, arbusticida)⁷.

Según el Banco mundial, en Colombia durante las últimas décadas se ha visto un incremento de uso de insumos químicos sintéticos de más del 360%⁸, esto debido a la falta de acompañamiento de las autoridades municipales o regionales que no informan ni capacitan al agricultor para disminuir esta problemática⁹. Por lo tanto, con este proyecto se busca crear un electrodo serigrafado de carbono sin modificar que sea capaz de detectar insumos químicos sintéticos, específicamente imidacloprid y timerosal ya que estos son altamente tóxicos y dañinos tanto para el

⁵del P. Rodríguez, A. M, S. Suárez Tamayo, P. Estrada, y D. E, «Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud», *Rev. Cuba. Hig. Epidemiol.*, vol. 52, n.º 3, pp. 372-387, dic. 2014.

⁶K. A. Sumonet *al.*, «Effects of imidacloprid on the ecology of sub-tropical freshwater microcosms», *Environ. Pollut.*, vol. 236, pp. 432-441, may 2018.

⁷del P. Rodríguez, A. M, S. Suárez Tamayo, P. Estrada, y D. E, «Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud», *Rev. Cuba. Hig. Epidemiol.*, vol. 52, n.º 3, pp. 372-387, dic. 2014.

⁸«En 20 años Colombia aumentó uso de plaguicidas en un 360 %», *Agencia de noticias*. [En línea]. Disponible en: [http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle.html&tx_ttnews\[tt_news\]=](http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle.html&tx_ttnews[tt_news]=)

⁹ *Ibíd.*

medio ambiente como para la salud pública en general y están categorizados según la OMS como moderadamente peligroso y moderadamente tóxico¹⁰.

¹⁰«imidacloprid». [En línea]. Disponible en:
<http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-de-datos-menu/331-imidacloprid>.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Los pesticidas son biosidas, es decir que se emplean para matar organismos vivos o para detener su desarrollo, su aplicación en sistemas agrícolas pone en riesgo no solo el ecosistema sino también a su aplicador y a al consumidor¹¹.

El uso de fumigantes es importante para la producción agrícola ya que estos ayudan a acelerar la producción y a proteger los cultivos de diferentes plagas, sin embargo el uso desmesurado de estos productos ha ocasionado que los suelos se degraden y pierdan sus composición fisicoquímica volviéndose improductivos, a su vez se ve afectada el agua subterránea por la durabilidad y persistencia de los químicos que estos pesticidas contienen, ya que estos insumos químicos sintéticos se aplican directamente en el suelo y las plantas, por lo tanto es necesario crear alternativas sostenibles que brinden un equilibrio ecológico entre el productor y los diferentes agroecosistemas¹².

La demanda en la industria de plaguicidas ha crecido durante las últimas décadas en Colombia, no solo con el fin de combatir plagas en suelos productivos sino también de acelerar su productividad y aumentar su beneficio monetario¹³, según el Banco Mundial en Colombia en el año 2002 el consumo de fertilizantes (kilogramos por hectárea de tierras cultivables) fue de 309,0 unidad mientras que

¹¹B. M. E. Turaglio, «“Degradación de imidacloprid en cultivo de lechuga y reducción de residuos por medio de lavado.”», p. 46.

¹²M. Arias-Estévez, E. López-Periago, E. Martínez-Carballo, J. Simal-Gándara, J.-C. Mejuto, y L. García-Río, «The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources», *Agric. Ecosyst. Environ.*, vol. 123, n.º 4, pp. 247-260, feb. 2008.

¹³ Sánchez Navarro, Dennis y Herrera Saavedra, Juan. Estudio sobre Plaguicidas en Colombia [En línea]. Colombia: superintendencia de industria y comercio. 2013. Disponible en http://www.sic.gov.co/recursos_user/documentos/Estudios-Academicos/Documentos-Elaborados-Grupo-Estudios-Economicos/7_Estudio_Sobre_Sector_Plaguicidas_Colombia_Diciembre_2013.pdf

en 2015 fue de 772.5¹⁴, esto quiere decir que a medida que aumentó la industria agrícola también lo hizo la industria agroquímica.

Debido al grado de peligrosidad y toxicidad de los insumos químicos sintéticos la Organización Mundial de la Salud (OMS) WorldHealthOrganization (WHO) clasifica los plaguicidas como muy tóxico y nocivo. Esto se basa en estudios de intoxicación por vía oral, dérmica, y respiratoria en ratas y ratones que son puestos a prueba. Lo anterior es decisivo para determinar el uso permitido que se le puede dar a los diferentes plaguicidas a nivel mundial, también para determinar el grado de contaminación y degradación que estos pueden generar en el medio ambiente¹⁵.

El consumo de plaguicidas contenidos en los alimentos y en el agua también trae fuertes consecuencias en la salud humana, cuando este supera los niveles seguros permitidos, ya que pueden entrar en contacto con el hombre de forma oral, respiratoria y dérmica¹⁶. El uso indiscriminado y extensivo de plaguicidas como timerosal e imidacloprid ha sido también causante de problemas ambientales a nivel mundial por aplicaciones directas en suelos productivos degradando y deteriorando los diferentes ecosistemas¹⁷, comprometiendo la sostenibilidad de estos y sobre todo el de los sistemas agrícolas.

¹⁴«Consumo de fertilizantes (kilogramos por hectárea de tierras cultivables) | Data». [En línea]. Disponible en: <https://datos.bancomundial.org/indicador/AG.CON.FERT.ZS?view=chart>.

¹⁵del P. Rodríguez, A. M, S. Suárez Tamayo, P. Estrada, y D. E, «Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud», *Rev. Cuba. Hig. Epidemiol.*, vol. 52, n.º 3, pp. 372-387, dic. 2014.

¹⁶ *Ibíd.*

¹⁷«OMS | Plaguicidas altamente peligrosos», *WHO*. [En línea]. Disponible en: http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/pesticides/es/.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Teniendo en cuenta las problemáticas anteriormente mencionadas en el aspecto ambiental y social con respecto al consumo de pesticidas que se hace a nivel mundial, surge la necesidad de identificar y cuantificar la presencia de diferentes fumigantes que están presentes en los alimentos.

¿Puede un sensor electroquímico (electrodo serigrafado de carbono) sin modificar detectar sustancias tóxicas como los fumigantes imidacloprid y timerosal?

De ser esto posible, es necesario la optimización de las variables como pH, tiempo y potencial de acumulación para lograr una sensibilidad entre 1.0 y 0.1 mg L⁻¹.

La determinación de pesticidas a nivel mundial ha sido de gran importancia debido a los impactos que estos generan a largo plazo en el ambiente y la salud de las personas. Son varios los estudios que se han realizado con sensores electroquímicos para la detección de sustancias químicas o biológicas, pero estas suelen tener una serie de desventajas como ser muy costosas y requerir personal y maquinaria especializada para llevar a cabo este proceso¹⁸.

¹⁸ E. A. Songa y J. O. Okonkwo, «Recent approaches to improving selectivity and sensitivity of enzyme-based biosensors for organophosphorus pesticides: A review», *Talanta*, vol. 155, pp. 289-304, ago. 2016.

2. JUSTIFICACION

Con base en las diferentes problemáticas que acarrea la producción y uso de pesticidas en el medio ambiente y en la salud de las personas, surge la necesidad de detectar y cuantificarlos insumos químicos sintéticos que son utilizados en la industria agrícola, mediante técnicas electroanalíticas efectivas, ya que su sensibilidad es muy alta¹⁹.

Numerosos métodos analíticos se han implementado para la detección de fumigantes como lo son; la cromatografía líquida, la cromatografía líquida de alto rendimiento, la espectrometría de masas, la electrofóresis capilar y la espectroscopia molecular. Estos métodos son igualmente sensibles comparado con las técnicas electroanalíticas, implementarlo satisfactoriamente al momento de detectar pesticidas, presentan una serie de desventajas ya que son muy costosos, requieren de mano de obra calificada, debe llevarse a cabo en un laboratorio, entre otros²⁰.

Por tal motivo, las técnicas electroanalíticas son más convenientes debido a su bajo costo, sensibilidad y selectividad. Los electrodos serigrafados son una alternativa que ha sido implementada en diversos estudios y han mostrado efectividad al momento de determinar cualquier componente de origen químico o biológico²¹.

¹⁹S. A. Özkan, B. Uslu, y H. Y. Aboul-Enein, «Analysis of Pharmaceuticals and Biological Fluids Using Modern Electroanalytical Techniques», *Crit. Rev. Anal. Chem.*, vol. 33, n.º 3, pp. 155-181, jul. 2003.

²⁰E. A. Songa y J. O. Okonkwo, «Recent approaches to improving selectivity and sensitivity of enzyme-based biosensors for organophosphorus pesticides: A review», *Talanta*, vol. 155, pp. 289-304, ago. 2016.

²¹D. M. Yerga, «Aplicaciones electroanalíticas de Quantum Dots y nanopartículas de fosfatos de titanio», <http://purl.org/dc/dcmitype/Text>, Universidad de Oviedo, 2016.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Detectar imidacloprid y timerosal sobre electrodos serigrafiados de carbono usando técnicas electroanalíticas.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Caracterizar la superficie del electrodo de trabajo

Estudiar la actividad electro activa del imidacloprid y timerosal

Identificar los parámetros óptimos

Calcular el límite de detección, estabilidad e interferencias

4. MARCO DE REFERENCIA

4.1 MARCO CONCEPTUAL

Sensores químicos: Los sensores químicos o biosensores electroquímicos son dispositivos capaces de proporcionar información analítica cuantitativa o semicuantitativa, son desechables es decir que tienen un solo uso. Consta de un elemento de reconocimiento de la sustancia (receptor bioquímico) que se retiene en contacto espacial directo con un elemento de transducción electroquímico.²²

Técnicas electro-analíticas: Es una técnica química que estudia un analito en una celda electroquímica, están miden la corriente del analito generando una actividad iónica específica.²³

Plaguicidas: Son sustancias de origen químico o biológico y están destinadas a la prevención y control de plagas como lo son los insectos, roedores, mamíferos, hongos, malezas, entre otros. Estos atacan a los cultivos y/o son transmisores de enfermedades que pueden desarrollarse en el hombre.²⁴

Neonicotinoides: Es el principio activo de un grupo de insecticidas usados a nivel mundial y que actúan a través del sistema nervioso central de los insectos paralizándolos y causándoles la muerte. También actúa con menor intensidad en vertebrados (aves y mamíferos).²⁵

²² D. R. Thevenot, K. Tóth, R. A. Durst, y G. S. Wilson, «Electrochemical Biosensors: Recommended Definitions and Classification», *Pure Appl. Chem.*, vol. 71, n.o 12, pp. 2333–2348, 1999.

²³ J. M. González de Buitrago, «13 - Técnicas electroquímicas. Medida de iones y pH y gases en sangre», en *Técnicas y Métodos de Laboratorio Clínico (Terzaedizione)*, Elsevier España, 2010, pp. 177-196.

²⁴ H. C. Nicolás, «PARA PRESENTAR EL EXAMEN DEMOSTRATIVO DE LA EXPERIENCIA EDUCATIVA DE LA EXPERIENCIA RECEPCIONAL DEL PROGRAMA EDUCATIVO DE INGENIERÍA AMBIENTAL», p. 83. 2011

²⁵ A. F. Estrada Atehortúa, M. C. Berrouet Mejía, y J. A. Giraldo, «Toxicidad por neonicotinoides: revisión de tema y reporte de dos casos», *Med. UPB*, vol. 35, n.º 1, 2016.

Toxicidad: Es la capacidad de que una sustancia química actúe perjudicialmente en el organismo de un ser vivo, afectando o alterando su estado fisiológico o su salud, según el grado de alteración del organismo, la toxicidad puede clasificarse como aguda, crónica, o recidivante.²⁶

Timerosal: El timerosal o tiomersal es también llamado etilmercurio es un compuesto químico altamente inestable cuya composición química es $C_9H_9HgNaO_2S$ cumple una función antiséptica y antifúngico y es utilizado tanto para diferentes cultivos agrícolas como para la salud humana²⁷.

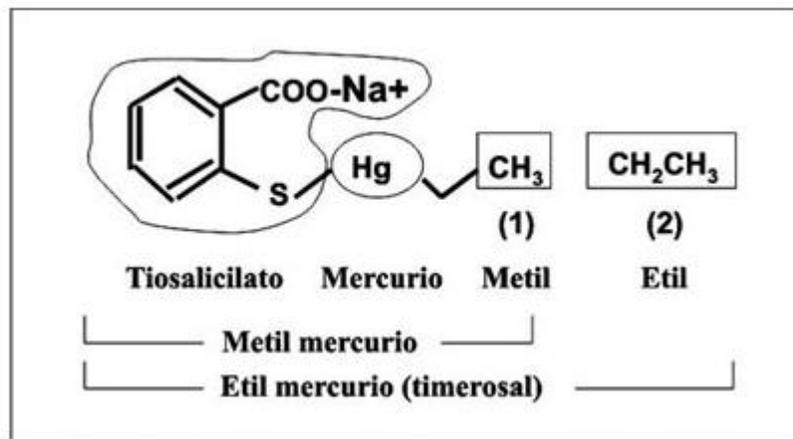


Figura 1. Estructura química del timerosal.

Fuente: Luis Maya y Flora Luna. El Timerosal y las enfermedades del neurodesarrollo infantil.²⁸

Imidacloprid: El imidacloprid es un insumo químico sintético utilizado en diferentes países y que cumple una función de insecticida, su sustancia activa es

²⁶ M. Bruguera Cortada, «Toxicidad hepática», *Med. - Programa Form. Médica Contin. Acreditado*, vol. 9, n.º 7, pp. 435-442, abr. 2004.

²⁷ L. Maya y F. Luna, «El timerosal y las enfermedades del neurodesarrollo infantil», *An. Fac. Med.*, vol. 67, n.º 3, pp. 255-274, sep. 2006.

²⁸ *Ibid.* P.257

el neonicotinoide y actúa en el sistema nervioso central de los insectos causándoles la muerte, su estructura química es $C_9H_{10}ClN_5O_2$.²⁹

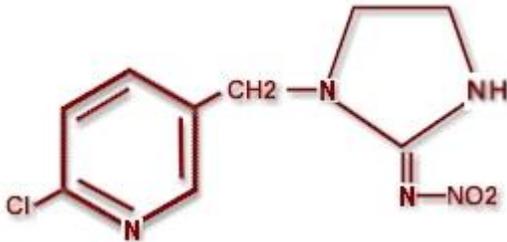


Figura 2. Estructura química del Imidacloprid

Fuente: Becerra, D. Barba, Ho, L. y Gutierrez, H. Factibilidad de biodegradación del insecticida Imidacloprid y evaluación de movilidad en el suelo.³⁰

4.2 MARCO TEÓRICO

¿Porque es necesarios estudiar imidacloprid y timerosal?

Las sustancias fumigantes como el imidacloprid y el timerosal son ampliamente usados para mejorar la eficiencia de los cultivos y evitar pérdidas tanto ecológicas como económicas, el timerosal también se ve ampliamente utilizado en la medicina para medicamentos tópicos o vacunas³¹, por lo tanto surge la necesidad de estudiar estos fumigantes para conocer las diferentes consecuencias o impactos que estos generan al medio ambiente y a la salud humana, la aplicación del imidacloprid al hacerse de manera directa con el suelo genera daños a los

²⁹ BECERRA, D. BARBA, HO, L. y GUTIERREZ, H. Factibilidad de biodegradación del insecticida Imidacloprid y evaluación de movilidad en el suelo. En Cali, Universidad del valle. 2007. P 445-453.

³⁰ *Ibíd.* Pag.446

³¹J. Laurente *et al.*, «Efectos neurotóxicos del timerosal, a dosis de vacuna, sobre el encéfalo y el desarrollo en hámsteres de 7 días de nacidos», *An. Fac. Med.*, vol. 68, n.º 3, pp. 222-237, sep. 2007.

ecosistemas acuáticos entre otros a través de la deriva del rocío, la escorrentía superficial y la lixiviación del agua subterránea³².

¿Qué técnicas se han usado para detectar Imidacloprid y Timerosal?

Diversas metodologías electro-analíticas se han implementado y utilizado para detectar y cuantificar fumigantes como el imidacloprid y timerosal, entre estas técnicas las que más se destacan son: la cromatografía de gases, cromatografía líquida de alta resolución, electroforesis capilar y espectrometría de masas. Pero estas técnicas suelen tener una serie de desventajas ya que requieren maquinaria especializada, personal capacitado para el debido uso de estas técnicas, la preparación de las muestras son complejas, entre otras³³.

¿Por qué usar técnicas electroanalíticas para detectar imidacloprid y timerosal?

La necesidad de implementar metodologías electroanalíticas nuevas para detectar fumigantes surge a partir de que los procesos clásicos a pesar de ser eficientes y ultrasensibles tienen una serie de limitaciones, esto hace que su campo de aplicación sea muy corto, por lo tanto es necesario utilizar metodologías modernas que permitan la detección y análisis de fumigantes en el monitoreo ambiental de maneras simple, sensible, efectiva y rápida³⁴.

¿Por qué usar electrodos serigrafados para detectar Imidacloprid y Timerosal?

Un electrodo serigrafado es un dispositivo que consta de tres electrodos integrados: un electrodo de trabajo (receptor), electrodo de referencia y un electrodo auxiliar (transductor). Esto hace que se puedan realizar mediciones

³²K. A. Sumonet *al.*, «Effects of imidacloprid on the ecology of sub-tropical freshwater microcosms», *Environ. Pollut.*, vol. 236, pp. 432-441, may 2018.

³³E. A. Songa y J. O. Okonkwo, «Recent approaches to improving selectivity and sensitivity of enzyme-based biosensors for organophosphorus pesticides: A review», *Talanta*, vol. 155, pp. 289-304, ago. 2016.

³⁴C. S. Pundir y N. Chauhan, «Acetylcholinesterase inhibition-based biosensors for pesticide determination: A review», *Anal. Biochem.*, vol. 429, n.º 1, pp. 19-31, oct. 2012.

electroanalíticas sin celdas electroquímicas de gran volumen, este dispositivo es rápido efectivo y fácil de usar al momento de detectar fumigantes como imidacloprid y timerosal ya que su sensibilidad es muy alta y su bajo costo es una de sus principales ventajas³⁵.

La detección de sustancias fumigantes como imidacloprid y timerosal mediante electrodos serigrafados son muy pocos, esto hace que sea necesario la creación de una nueva metodología económica y efectiva al momento de detectar dichas sustancias.

³⁵J. Wang, «SURVEY AND SUMMARYFrom DNA biosensors to gene chips», *Nucleic Acids Res.*, vol. 28, n.º 16, pp. 3011-3016, ago. 2000.

5. METODOLOGÍA

5.1 ZONA DE ESTUDIO

La detección y determinación electroquímica del imidacloprid y timerosal se llevara a cabo en el laboratorio de química aplicada de la facultad de ciencias naturales y matemáticas, de la universidad de Ibagué, esta se encuentra ubicada en la ciudad de Ibagué en el departamento del Tolima (Colombia)

5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

5.2.1 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS ELECTRODOS.

Los electrodos serigrafiados (SPC) se enjuagan con agua ultra pura y se tratan con una disolución de ácido fosfórico 0.01 mol L^{-1} de pH 7.0 y se seca con aire caliente para lograr una superficie limpia

Lo más importante en este trabajo de investigación es la preparación y caracterización del electrodo modificado. Las técnicas usadas en la caracterización de la superficie del electrodo serán voltamperometría cíclica (VC) impedancia electroquímica (IE) y microscopía electrónica de barrido (MEB).

5.2.2. BÚSQUEDA DE PARÁMETROS ÓPTIMOS

Los parámetros que están relacionados con la sensibilidad en la etapa de adsorción son: pH, potencial de acumulación (Eads) y tiempo de acumulación (tads). Es necesaria su optimización. Esta se logra con un electrodo ya optimizado en su superficie. En este caso, se miden cantidades cuantitativas de imidacloprid (IMI) y timerosal (TMS) en concentraciones entre 1 y 10 mg L^{-1} y se selecciona cada parámetro (pH, Eads y Tads) por el método univarible, manteniendo todo los

otros parámetros constantes mientras se varíala magnitud de solo uno. La señal de corriente más alta en función de cada parámetro se escoge como la óptima.

5.2.3. ELABORACIÓN DE CURVAS DE CALIBRADO Y PARÁMETROS ESTADÍSTICO

La elaboración de curvas de calibrado se desarrollaran con el electrodo óptimo junto con los parámetros seleccionados (pH, Eads y Tads) usando disoluciones estándar. Se buscaran obtener límites de detección iguales o por debajo de 1.0 mg L⁻¹ y rangos de linealidad superiores a 100 mg L⁻¹ y una desviación estándar relativa menor o igual al 5,0 %. De esta manera se estudiará la precisión, repetitividad y estabilidad del sensor.

La celda electroquímica donde se desarrollaran las mediciones constara de un electrodo serigrafiado. La celda tendrá 9.5 mL de agua ultra pura, 500 µL de buffer fosfato y entre 250.0-10.0 µL de IMI y TMS 10.0 mg L⁻¹. Por otro lado, no es necesario la preparación de disoluciones estándar para el desarrollo de curvas de calibrado ya que cada alícuota de 10 uL depositada en la celda es un patrón y la concentración aumenta proporcionalmente.

5.2.4. VALIDACIÓN CON ESTÁNDARES CERTIFICADOS

Al no contar con estándares certificados, la validación de la metodología se estudiará con disoluciones modelo de concentración conocida. De esta manera se evaluará la exactitud del electrodo. Los estándares certificados para este tipo de estudios son escasos y muy costosos.

5.2.5 ESTUDIO DE INTERFERENCIAS

Con el objetivo de evaluar las posibles interferencias para la detección de IMI y TMS se evaluara la actividad electro activa de sustancias como dopamina, ácido úrico, ácido ascórbicos, endosulfan, iones metálicos y algunos colorantes sintéticos con los electrodos serigrafiados.

6. RECURSOS Y MATERIALES

- Electrodo serigrafiado de carbono (SPCE)
- Imidacloprid
- Timerosal
- Buffer fosfato
- Ácido nítrico
- Computador
- Bata
- Peachímetro
- Agua destilada
- Destilador de agua

7. CRONOGRAMA

nombre de la actividad	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Escritura del anteproyecto	■	■	■	■							
Sustentación del anteproyecto					■						
Caracterizar el SPDE de trabajo					■						
Identificación y análisis del pH, potencial y tiempo de ac						■	■				
Identificación de las propiedades del imidacloprid y tim							■	■			
Determinación del LD y LC y reproducibilidad								■	■		
Validar estandares certificados o soluciones modelos									■	■	
Analizar los estudios de interferencia							■				
Estudio electroactivo de analito sobre la superficie del e										■	■

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DEL ELECTRODO DE TRABAJO (SPCE) CON Y SIN IMI Y TMS

Los analitos estudiados en este trabajo se realizaron por reducción para el IMI a valores de potencial negativos entre 0.0 y -1.2 V y por oxidación para TMS a valores de potencial positivos entre 0.0 y 1.2 V. Por lo tanto, es necesario que el electrodo de trabajo no tenga ningún tipo de reacción entre estos valores de potencial que pueda confundirse con la señal de los analitos. Los resultados son mostrados en la fig.3A. Se observó claramente una zona limpia de señales entre -0.80 y 1.2 V usando el electrodo sin la presencia de IMI y TM. El aumento de la señal a valores de potencial más positivo y negativo es debido a procesos redox del electrolito. Por lo tanto, este electrodo es conveniente para estudios posteriores. En las fig. 3 también se observan las señales de reducción para IMI a 0.73 V (Fig 3B) y de oxidación para TMS a 0.12 V (fig. 3C) a una velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1} a pH 3.0 usando buffer fosfato. La reacción redox del IMI es a través de un proceso irreversible, debió a que no se observa señal en el proceso inverso y para TMS se observa una señal en el proceso inverso de reducción a 0.009 V con un ΔV de 0.11 V indicando un proceso cuasi-reversible. Estos resultados son similares a reportes previos donde se usaron electrodo modificados. Por lo tanto, con estas simples variables es posible el desarrollo de un método electroanalítico para detectar IMI y TMS.

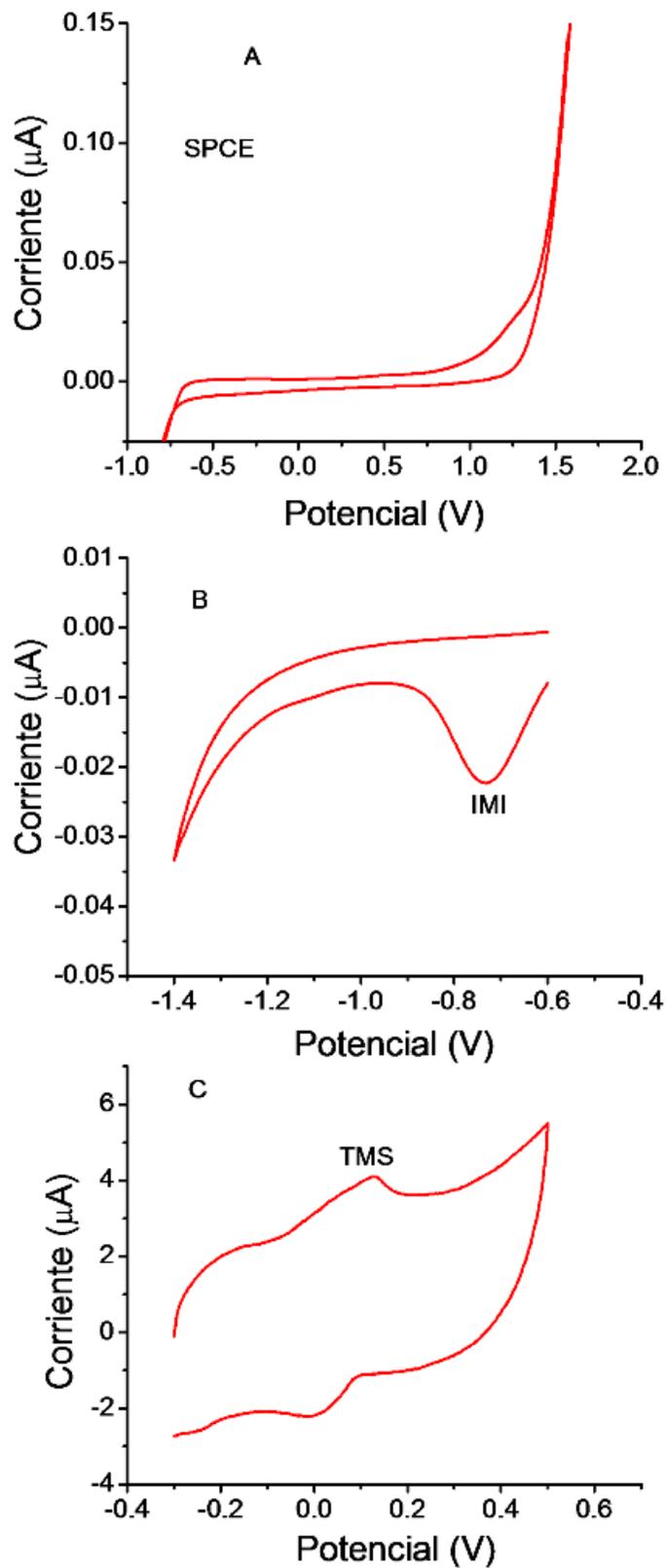


Figura 3. Voltamperogramas de SPCE solo (A), IMI (B) y TMS (C) con buffer fostato pH 3.0 sobre SCPE. Velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1} .

8.2 BUSQUEDA DE PARAMETROS OPTIMOS

8.2.1. Efecto del pH

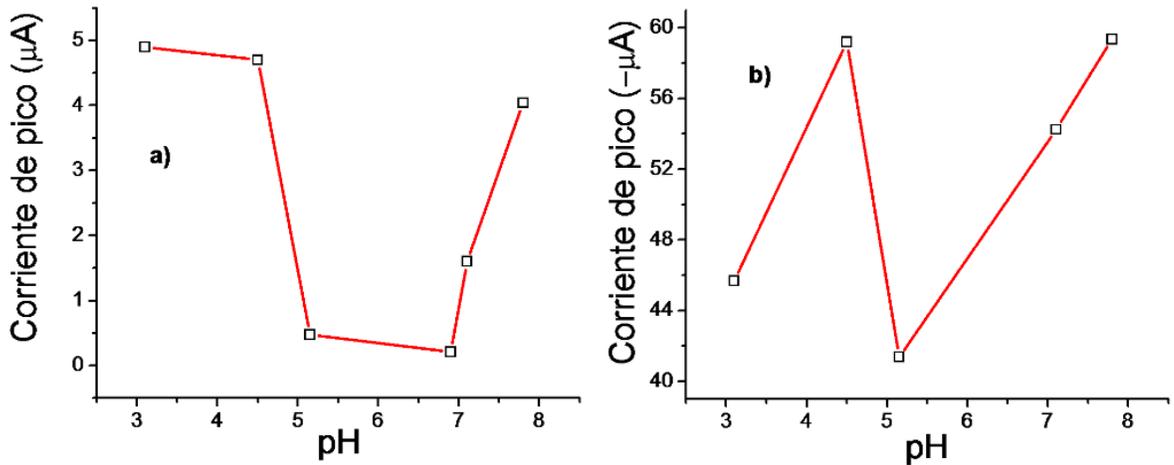


Figura 4. Curva de pH vs corriente de TMS (a) y de IMI (b) en función del pH entre 3,1 y 7,8 usando SCPE y velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1} .

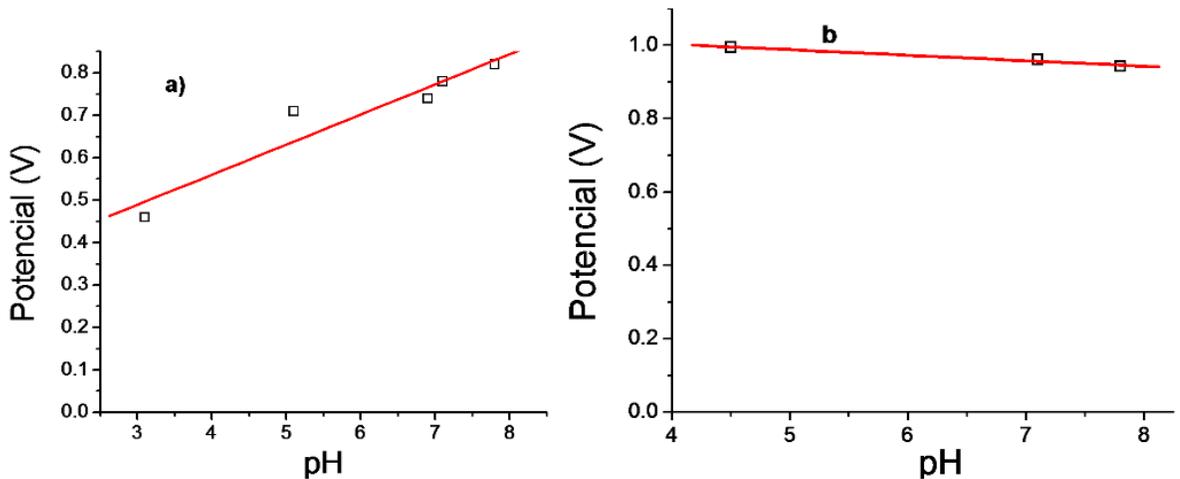


Figura 5. Curva de pH vs potencial (V) de TMS (a) y de IMI (b) pH entre 3,1 y 7,8 usando SCPE y velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1} .

El pH se estudió con el fin de encontrar las corrientes de pico más altas y óptimas para medir la sensibilidad del electrodo respecto a los fumigantes imidacloprid y timerosal, estos estudios fueron realizados en buffer fosfato mediante la técnica electroquímica voltamperometría cíclica. Los rangos de pH que se utilizaron para

este estudio oscilaron entre 3.1 hasta 7.8. los resultados se muestran en la figura Como se puede ver en la Fig. 4a y 4b.

El estudio se desarrolló con seis electrodos y 30 μ L de buffer fosfato a un valor de pH diferente empezando con 3.1 seguido de 4.5, 5.1, 6.9 7.1 y 7.8, para IMI no se midió con pH 7.1. Posteriormente se le adiciono 30 μ L de IMI o TMS de concentración de 10 ppm (concentración real 5 ppm) esto con el fin de medir la sensibilidad y respuesta de cada pH respecto a los fumigantes y electrodos. Las posiciones de cada pH con IMI fueron de -0,91, -0,994, -0,94, -0,958 y -0,94V respectivamente, y para TMS fueron 0,468, 0,788, 0,712, 0,746, 0,786 y 0,824V respectivamente. Estos cambios en el potencial indican que son protones los que se están oxidando en el caso de TMS y reduciendo en el caso de IMI. Los resultados se muestran en la Fig. 5a y 5b. Para el caso del IMI se determinó que el pH con mayor sensibilidad fue de 7.1 mientras que para el TMS fue de 3.1, esto se debe posiblemente a las diferencias estructurales de cada molécula y a la fuerza iónica de la disolución. Por otro lado, para un estudio simultáneo el pH optimo sería de 4.5 debido a que ese valor de pH la corriente catódica y anódica tienen caso la misma intensidad.

Reportes previos sobre el análisis y desarrollo de biosensores tales como los electrodos serigrafados de carbono en los cuales se pueden observar que el pH más usado en estos estudios fueron cercanos a 7.0; como se observa en el estudio de electrodos de carbono modificados con el óxido de grafeno en el electrodo de carbono vítreo³⁶, la ftalocianina de cobre (II) en electrodo de cerámica de carbono³⁷ y electrodo de carbono - cerámica modificado con líquido iónico³⁸; Por lo tanto se confirmó que el pH elegido para este estudio fue el más óptimo. Por

³⁶ LEI, Wu, *et al.* Electrochemical determination of imidacloprid using poly (carbazole)/chemically reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode. *En: Sensors and Actuators B: Chemical*. Julio, 2013. vol. 183, p. 102-109.

³⁷ MAJIDI, Determination of Imidacloprid in Tomato Grown in Greenhouse Based on Copper(II) Phthalocyanine Modified Carbon Ceramic Electrode by Differential Pulse Voltammetry, *Op. cit.*, p. 207.

³⁸ MAJIDI, Mir Reza; FADAKAR BAJEH BAJ, Reza y BAMOROWAT, Mehdi. Ionic liquid modified carbon-ceramic electrode with structure similar to Graphenenanoplatelets: Application to Imidacloprid determination in some agricultural products. *En: Measurement*. Noviembre, 2016. vol. 93, p. 29-35.

otro lado el timerosal en pH neutro o alcalino cumple una función de fungistático o bacteriostático³⁹, pero para hallar la presencia de este fungicida en análisis electroquímicos fue necesario trabajar con un pH de 4.5 como se mencionó anteriormente.

8.2.2 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE ACUMULACIÓN Y POTENCIAL DE ACUMULACIÓN (T_{ADS} , E_{ADS})

La determinación del tiempo de acumulación y potencial de acumulación se realizó ya que estos parámetros influyen de manera significativa en la sensibilidad de los electrodos. Para realizar este proceso se usó la técnica de onda cuadrada para disminuir la corriente capacitiva y separarla de la corriente farádica de este proceso.

El estudio del tiempo de acumulación (T_{ADS}) para el imidacloprid y timerosal oscilo entre 10 – 60 s, mostrando mejores resultados a tiempos mayores o iguales a 60s, debido a que la intensidad de corriente era constante. Por otro lado el potencial de acumulación (E_{ADS}) para el imidacloprid oscilo entre -0.2 y 0.2 V, mientras que para el timerosal fue de 0.0 y 0.5 V.

8.2.3 VELOCIDAD DE BARRIDO

Con el objetivo de especificar el fenómeno de transporte de masa involucrado para TMS y IMI, se estudió la variación de la corriente y potencial en función de la velocidad de barrido en $mV s^{-1}$ a pH 7.0. Los resultados se resumen en las tablas 2, 3 y en la figura 6. La velocidad se varió entre 20 y 140 $mV s^{-1}$ con IMI y TMS de 2,5. $mg L^{-1}$. En la tabla 2 se observó que para el IMI a medida que aumento la velocidad entre 20 y 40 $mV s^{-1}$ la velocidad se mantuvo constante. A velocidades

³⁹Zambrano, Betzana

2004

Consideraciones Generales Sobre El Mercurio, El Timerosal, y Su Uso En Vacunas Pediátricas. Revista Médica Del Uruguay 20(1): 4–11

más altas de 40 mV s⁻¹ la corriente aumento proporcionalmente hasta 140 mV s⁻¹. Además se observó que potencial cambio de -0.734 V hasta -0.842 V. Estos resultados indican que el transporte de masa es irreversible y controlado por adsorción. La fig. 6A muestra la tendencia lineal entre 60 y 140 mV s⁻¹.

Velocidad de barrido (mVs ⁻¹)	Corriente (μA)	Posición (V)
20	-14.08	-0.734
40	-13.00	-0.766
60	-13.00	-0.798
80	-15.92	-0.822
100	-18.05	-0.822
120	-18.46	-0.830
140	-19.37	-0.842

Tabla 2. Variación de corriente y posición aumentando la velocidad de barrido del imidacloprid.

Velocidad de barrido (mVs ⁻¹)	Corriente (μA)	Posición (V)
20	-39.9	-0.938
40	-55.276	-0.952
60	-65.588	-0.952
80	-78.124	-0.956
100	-88.181	-0.962
120	-97.977	-0.966
140	-109.388	-0.966

Tabla 3. Variación de corriente y posición aumentando la velocidad de barrido del timerosal.

Las variación de la velocidad de barrido y potencial para TMS fue estudiada a pH 4.5 agregando 10μmol L⁻¹ de timerosal. Al igual que para IMI, la corriente aumento proporcionalmente a medida que la velocidad de barrido aumento entre 20 y 140

mV s⁻¹. Por otro lado, a diferencia de IMI, el potencial no varió considerablemente. Los resultados indican un proceso reversible controlado por adsorción. Los resultados se resumen en la tabla 3 y fig. 6B

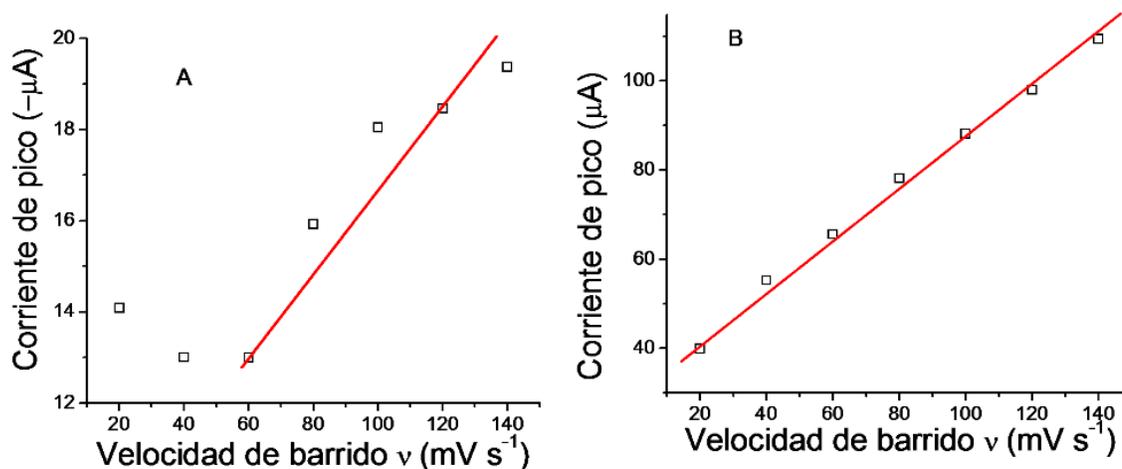


Figura 6. Curva de corriente vs velocidad de barrido de IMI (A) y deTMS (B) usando SCPE a pH 7.0 y 4.5.

En otros estudios basados en detección de imidacloprid en un electrodo de carbono vítreo modificado con compuesto Nafion⁴⁰, arrojo resultados similares al del presente trabajo en cuanto al tiempo de deposición ya que fue de 60s. otro estudio donde se usó grafeno reducido en un electrodo de carbono vítreo para detectar Imidacloprid nos indicó que el mejor pH fue de 7.8 a una velocidad entre 40-60 mV s^{-141} , asimismo otro estudio basado en determinación electroquímica de imidacloprid modificado con grafeno nanocompuestos diseñados/líquido iónico/nanotubos de carbono de pared múltiple/polianilina indicó que las velocidades adecuadas para detectar la presencia de este químico estaban entre 10–200 mV s^{-142} . Por otro lado, un estudio realizado para la determinación de timerosal en vacunas suministradas en niños, nos indicó que el timerosal es

⁴⁰A. Kumaravel y M. Chandrasekaran, «Electrochemical determination of imidacloprid using nanosilver Nafion®/nanoTiO₂ Nafion® composite modified glassy carbon electrode», *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 158, n.º 1, pp. 319-326, nov. 2011.

⁴¹ LEI, Electrochemical determination of imidacloprid using poly (carbazole)/chemically reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode, *Op. cit.*, p. 105.

⁴²P. Nasr-Esfahani, A. A. Ensafi, y B. Rezaei, «Fabrication of a highly sensitive and selective modified electrode for imidacloprid determination based on designed nanocompositegraphene quantum dots/ionic liquid/multiwall carbon nanotubes/polyaniline», *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 296, p. 126682, oct. 2019.

perjudicial para la salud humana a niveles diminutos y puede causar gran variedad de consecuencias perjudiciales, estos estudios se realizaron con variaciones de velocidades entre 60-100 mV s⁻¹ a pH 3.78⁴³.

8.3 CURVAS DE CALIBRADO, PARAMETROS ESTADISTICOS, ESTABILIDAD E INTERFERENCIAS

Para verificar la sensibilidad y estabilidad del electrodo de trabajo hacía la actividad de imidacloprid y timerosal se desarrollaron mediciones variando la concentración de IMI y TMS usando disoluciones estándar preparadas con estándar certificado de orina control (liquichek-Pro Rad) sin la presencia de IMI y TMS. Se comenzó con un electrodo SPCE al que se le adicionó 30µL de buffer al que se le fue agregando repetidamente muestras de 10 µL de los analitos entre 0.02 y 0.8 mg L⁻¹ de IMI y TMS preparados con el estándar por separado. Para Timerosal al cual se le agrego 30 µL de buffer fosfato de pH 4.5, posteriormente se le fue adicionando repetidas muestras de 10 µL de timerosal. Las condiciones que se tuvieron en cuenta fueron: pH 4.5 a 0.10 V por 60.0 s; la ecuación de la recta de los primeros 19 puntos de la fig. 7A fue $\mu A = -4.56 + 0.2530C_{TMS}$ con un coeficiente de correlación de 0.990 y un error estándar de 0.0063 obteniéndose un límite de detección de 0.074 mg L⁻¹. La curva de calibrado se muestra en la figura 7B. Las condiciones que se tuvieron en cuenta para IMI fueron: pH 7.1 a 0.10 V por 60.0 s; La ecuación de la recta con todos los puntos de la fig. 8A fue $\mu A = 16.87 + 77.07C_{IMI}$ con un coeficiente de correlación de 0.997 y un error estándar de 1.74 obteniéndose un límite de detección de 0.071 mg L⁻¹. Por ser valores de reducción tan negativos la estabilidad del sensor fue afectada y no se pueden obtener más de seis medidas sin que el sensor pierda actividad.

⁴³Geier, David A., Paul G. King, Brian S. Hooker, et al.

2015 Thimerosal: Clinical, Epidemiologic and Biochemical Studies. ClinicaChimicaActa 444: 212–220.

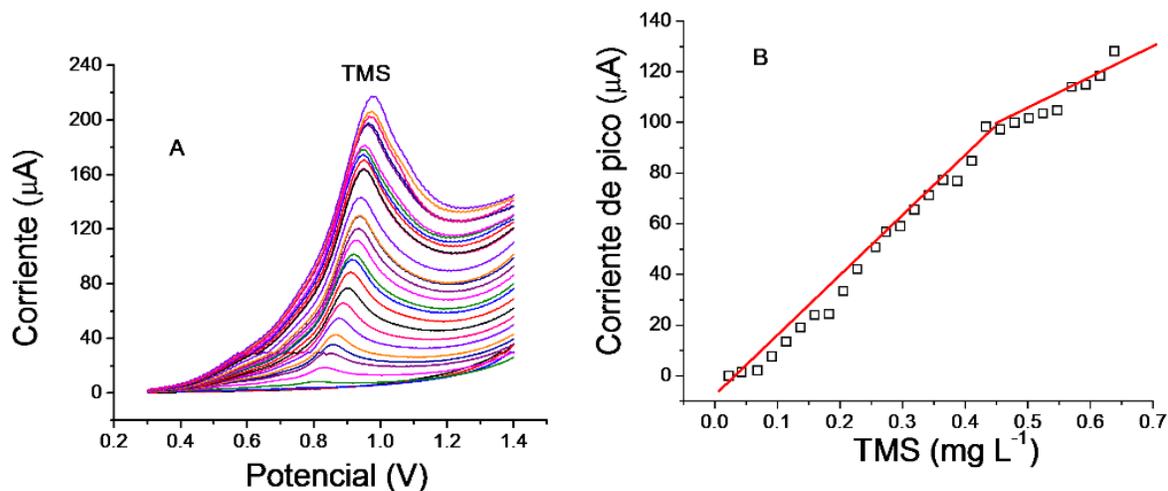


Figura 7. Voltamperogramas de TMS (A) y curva de calibrado (B) con buffer fostato pH 4.0 sobre SCPE. Velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1} .

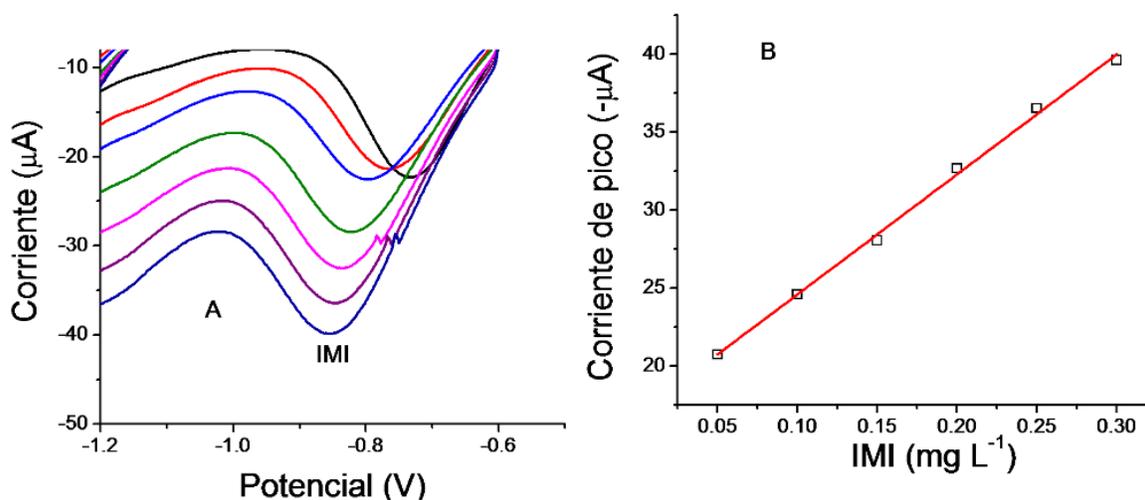


Figura 8. Voltamperogramas de IMI (A) y curva de calibrado (B) con buffer fostato pH 7.0 sobre SCPE. Velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1} .

Con respecto a la sensibilidad de los electrodos se comparó con estudios previos y se pudo evidenciar que los resultados reportados en este trabajo fueron similares, ya que reportaron resultados de la corriente máxima y la concentración de imidacloprid, en el rango de 0.03 a $12.0 \mu\text{mol l}^{-1}$ con una ecuación de regresión de $(\mu\text{A}) = 2.3211c_{\text{imidacloprid}} (\mu\text{mol l}^{-1}) + 0.2491$ ($r^2 = 0.9979$). Estos valores son muy cercanos a los que se obtuvieron en el presente trabajo.⁴⁴

⁴⁴ P. Nasr-Esfahani, A. A. Ensafi, y B. Rezaei, «Fabrication of a highly sensitive and selective modified electrode for imidacloprid determination based on designed nanocompositegraphene quantum dots/ionic liquid/multiwall carbon nanotubes/polyaniline», *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 296, p. 126682, oct. 2019.

9. CONCLUSIONES

Se logró realizar el estudio y análisis de los fumigantes imidacloprid y timerosal mediante técnicas electroanalíticas como la voltamperometría cíclica, haciéndolo de una manera sencilla ya que no hubo necesidad de modificar la superficie de los electrodos para que estos detectaran las sustancias químicas anteriormente mencionadas.

Los pH más óptimos para la detección del imidacloprid y timerosal fueron de 7.1 y 4.5 respectivamente, esto porque la corriente de pico más alta se evidenció en estos parámetros.

Se pudo observar que para la detección de las curvas de calibrado a medida que se iba aumentando la velocidad de barrido (mVs^{-1}) las corrientes de pico eran más altas esto debido a que el transporte de masa era mayor a tiempos similares a 60s. Por lo tanto, ambos analitos llegan a la superficie del electrodo por proceso de adsorción.

La metodología implementada en el presente trabajo fue más económica y sencilla de implementar ya que no se debían utilizar técnicas electroanalíticas diferentes y los instrumentos de trabajo eran los más óptimos para desarrollar el presente trabajo.

El estudio de estabilidad, interferencias y estabilidad que se llevó a cabo fue con estándar de orina control (liquichek-Pro Rad) resultó ser eficaz al momento de verificar la interferencia de una matriz biológica muy similar a las muestras que se pudieron analizar usando esta nueva metodología.

10. BIBLIOGRAFÍA

D. R. Thevenot, K. Tóth, R. A. Durst, y G. S. Wilson, «Electrochemical Biosensors: Recommended Definitions and Classification», *Pure Appl. Chem.*, vol. 71, n.º12, pp. 2333–2348, 1999.

J. Wang, «SURVEY AND SUMMARY From DNA biosensors to gene chips», *Nucleic Acids Res.*, vol. 28, n.º 16, pp. 3011-3016, ago. 2000.

J. M. González de Buitrago, «13 - Técnicas electroquímicas. Medida de iones y pH y gases en sangre», en *Técnicas y Métodos de Laboratorio Clínico (Terzaedizione)*, Elsevier España, 2010, pp. 177-196.

Del P. Rodríguez, A. M, S. Suárez Tamayo, P. Estrada, y D. E, «Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud», *Rev. Cuba. Hig. Epidemiol.*, vol. 52, n.º 3, pp. 372-387, dic. 2014.

K. A. Sumonet *al.*, «Effects of imidacloprid on the ecology of sub-tropical freshwater microcosms», *Environ. Pollut.*, vol. 236, pp. 432-441, may 2018.

«En 20 años Colombia aumentó uso de plaguicidas en un 360 %», *Agencia de noticias*. [En línea]. Disponible en: [http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle.html&tx_ttnews\[tt_news\]=](http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle.html&tx_ttnews[tt_news]=)

«imidacloprid». [En línea]. Disponible en: <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-de-datos-menu/331-imidacloprid>.

B. M. E. Turaglio, «“Degradación de imidacloprid en cultivo de lechuga y reducción de residuos por medio de lavado.”», p. 46.

M. Arias-Estévez, E. López-Periago, E. Martínez-Carballo, J. Simal-Gándara, J.-C. Mejuto, y L. García-Río, «The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources», *Agric. Ecosyst. Environ.*, vol. 123, n.º 4, pp. 247-260, feb. 2008.

Sánchez Navarro, Dennis y Herrera Saavedra, Juan. Estudio sobre Plaguicidas en Colombia [En línea]. Colombia: superintendencia de industria y comercio. 2013. Disponible en http://www.sic.gov.co/recursos_user/documentos/Estudios-Academicos/Documentos-Elaborados-Grupo-Estudios-Economicos/7_Estudio_Sobre_Sector_Plaguicidas_Colombia_Diciembre_2013.pdf

«Consumo de fertilizantes (kilogramos por hectárea de tierras cultivables) | Data». [En línea]. Disponible en: <https://datos.bancomundial.org/indicador/AG.CON.FERT.ZS?view=chart>.

«OMS | Plaguicidas altamente peligrosos», WHO. [En línea]. Disponible en: http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/pesticides/es/.

E. A. Songa y J. O. Okonkwo, «Recent approaches to improving selectivity and sensitivity of enzyme-based biosensors for organophosphorus pesticides: A review», *Talanta*, vol. 155, pp. 289-304, ago. 2016.

D. M. Yerga, «Aplicaciones electroanalíticas de Quantum Dots y nanopartículas de fosfatos de titanio», <http://purl.org/dc/dcmitype/Text>, Universidad de Oviedo, 2016.
L. Maya y F. Luna, «El timerosal y las enfermedades del neurodesarrollo infantil», *An. Fac. Med.*, vol. 67, n.º 3, pp. 255-274, sep. 2006.

BECERRA, D. BARBA, HO, L. y GUTIERREZ, H. Factibilidad de biodegradación del insecticida Imidacloprid y evaluación de movilidad en el suelo. En Cali, Universidad del valle. 2007. P 445-453.

A. F. Estrada Atehortúa, M. C. Berrouet Mejía, y J. A. Giraldo, «Toxicidad por neonicotinoides: revisión de tema y reporte de dos casos», *Med. UPB*, vol. 35, n.º 1, 2016.

M. Bruguera Cortada, «Toxicidad hepática», *Med. - Programa Form. Médica Contin. Acreditado*, vol. 9, n.º 7, pp. 435-442, abr. 2004.

H. C. Nicolás, «PARA PRESENTAR EL EXAMEN DEMOSTRATIVO DE LA EXPERIENCIA EDUCATIVA DE LA EXPERIENCIA RECEPCIONAL DEL PROGRAMA EDUCATIVO DE INGENIERÍA AMBIENTAL», p. 83. 2011

J. Laurente *et al.*, «Efectos neurotóxicos del timerosal, a dosis de vacuna, sobre el encéfalo y el desarrollo en hámsteres de 7 días de nacidos», *An. Fac. Med.*, vol. 68, n.º 3, pp. 222-237, sep. 2007.

C. S. Pundir y N. Chauhan, «Acetylcholinesteraseinhibition-based biosensors for pesticide determination: A review», *Anal. Biochem.*, vol. 429, n.º 1, pp. 19-31, oct. 2012.

Bystron, Tomas, Eva Sramkova, Filip Dvorak, and KarelBouzek 2019 Glassy Carbon Electrode Activation – A Way towards Highly Active, Reproducible and Stable Electrode Surface. *ElectrochimicaActa* 299: 963–970.

LEI, Wu, *et al.* Electrochemical determination of imidacloprid using poly (carbazole)/chemically reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode. En: *Sensors and Actuators B: Chemical*. Julio, 2013. vol. 183, p. 102-109.

MAJIDI, Determination of Imidacloprid in Tomato Grown in Greenhouse Based on Copper(II) Phthalocyanine Modified Carbon Ceramic Electrode by Differential Pulse Voltammetry, *Op. cit.*, p. 207.

MAJIDI, Mir Reza; FADAKAR BAJEH BAJ, Reza y BAMOROWAT, Mehdi. Ionic liquid modified carbon-ceramic electrode with structure similar to Graphenenanoplatelets: Application to Imidacloprid determination in some agricultural products. *En: Measurement*. Noviembre, 2016. vol. 93, p. 29-35.

Zambrano, Betzana 2004 Consideraciones Generales Sobre El Mercurio, El Timerosal, y Su Uso En Vacunas Pediátricas. *Revista Médica Del Uruguay* 20(1): 4–11

LEI, Electrochemical determination of imidacloprid using poly (carbazole)/chemically reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode, *Op. cit.*, p. 105.

Geier, David A., Paul G. King, Brian S. Hooker, et al. 2015 Thimerosal: Clinical, Epidemiologic and Biochemical Studies. *Clinica Chimica Acta* 444: 212–220.

Nasr-Esfahani, A. A. Ensafi, y B. Rezaei, «Fabrication of a highly sensitive and selective modified electrode for imidacloprid determination based on designed nanocomposite graphene quantum dots/ionic liquid/multiwall carbon nanotubes/polyaniline», *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 296, p. 126682, oct. 2019.

A. Kumaravel y M. Chandrasekaran, «Electrochemical determination of imidacloprid using nanosilver Nafion®/nanoTiO₂ Nafion® composite modified glassy carbon electrode», *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 158, n.º 1, pp. 319-326, nov. 2011.