



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

“DESARROLLO DE UN SENSOR ELECTROANALÍTICO DE CARBONO VÍTREO
MODIFICADO CON QUITOSANO Y GRAFENO PARA DETECTAR MORINA EN
MUESTRAS NATURALES”

Línea de investigación:

Polímeros naturales, sintéticos y funcionales

Tesis para optar el Título Profesional en Química

Autora:

Bello Salinas, Mónica Pilar

Asesora:

Castañeda Pérez, Luz Genara

(ORCID: 0000-0001-6684-8205)

Asesor Externo:

Nagles Vidal, Edgar Orlando

(ORCID: 0000-0002-2957-2817)

Jurado:

Salvador Salazar, Martha

Ruiz Martel, Candy Janice

Barreto Yaya, Danilo Arturo

Lima – Perú

2023

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a Dios, ni antes ni después los tiempos de Dios son perfecto. A mi madre y mi padre por apoyarme en todo, a mis hermanos por la confianza y porque siempre me han apoyado, a mi esposo Anthony, a mis hijos Amir y Flavia que son la mayor motivación para seguir adelante y nunca rendirme, a mis amigas Roxana, Nery, Ana y Miluska por apoyarme cuando más las necesito, por extender su mano en momentos difíciles y por el amor brindado cada día, a mi querido profesor Manuel Otiniano, aunque no esté físicamente con nosotros sé que está contento por esta tesis.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la UNFV por haber sido mi casa de estudio y a mis profesores que me brindaron su conocimiento y su apoyo. Agradezco a mis asesores de Tesis Dr. Orlando Nagles y la Dra. Luz Castañeda por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, y también por tenerme paciencia en esta tesis.

Agradezco a la UNMSM por permitirme realizar esta tesis en sus instalaciones.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Descripción y formulación del problema	5
1.2 Antecedentes	6
1.3 Objetivos	10
- Objetivo General	10
- Objetivos Específicos	10
1.4 Justificación.....	11
1.5 Hipótesis.....	11
II. MARCO TEÓRICO	12
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	12
III. MÉTODO	15
3.1 Tipo de investigación	15
3.2 Ámbito temporal y espacial.....	15
3.3 Variables.....	15
3.4 Población y muestra	15

3.5 Instrumentos	15
3.6 Procedimientos	16
3.7 Análisis de datos.....	19
3.8 Consideraciones éticas	19
IV. RESULTADOS	20
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	30
VI. CONCLUSIONES.....	38
VII. RECOMENDACIONES	39
VIII. REFERENCIAS.....	40

RESUMEN

La presente tesis tuvo como objetivo desarrollar un sensor electroanalítico de carbono vitreo modificado con grafeno y quitosano - grafeno que nos ayude a detectar y cuantificar morina (MR) usando una metodología sensible, selectiva y económica. La investigación fue experimental y se realizó en el laboratorio de la UNMSM. Las técnicas que se utilizó son: la Voltametría cíclica (CV) ayuda a evaluar las superficies activas de los electrodos y la Voltametría de onda cuadrada (SWV) ayuda a evaluar la actividad del MR, los resultados mostraron que el pH y los parámetros electroquímicos, como el potencial de adsorción, el tiempo de adsorción y la velocidad de barrido se obtuvieron de forma óptima (pH 3; E_{ADS} , 0.0 V; t_{ADS} , 30 s; y v , 0.1 Vs^{-1}). El límite de detección para la MR es de $0,30 \mu\text{mol/L}$, las sustancias que pueden interferir con la señal de MR, es la rutina y la quercetina, se oxidan a un potencial de más y menos positivo, respectivamente. El electrodo modificado se usó para cuantificar MR en muestras de café y manzanilla en presencia de otros flavonoides con resultados consistentes. Con esta nueva metodología se logró demostrar que el sensor electroanalítico con el electrodo modificado (grafeno – quitosano) arroja un mejor resultado, la señal de oxidación cambia a valores potenciales más positivos, además la señal de Tiempo de Retención (RT) disminuye considerablemente al aumentar el pH entre 5,0 - 6,0 y aunque la señal de MR cambia a 0,25 V, solo disminuye un 20%, lo que le permite ser sensible.

Palabras clave: morina, electrodo modificado, parámetros electroquímicos

ABSTRACT

The objective of this thesis was to develop an electroanalytical sensor of vitreous carbon modified with graphene and chitosan-graphene that helps us to detect and quantify morin (MR) using a sensitive, selective and economic methodology. The research was experimental and was carried out in the UNMSM laboratory. The techniques that I use are Cyclic Voltammetry (CV) helps to evaluate the active surfaces of the electrodes and Square Wave Voltammetry (SWV) helps to evaluate the activity of the MR, the results showed that the pH and electrochemical parameters, such as the adsorption potential, adsorption time and scanning speed were optimally obtained (pH 3; E_{ADS} , 0.0 V; t_{ADS} , 30 s; and v , 0.1 Vs^{-1}). The detection limit for MR is $0.30 \mu\text{mol/L}$, the substances that can interfere with the MR signal, rutin and quercetin, are oxidized at a plus and minus positive potential, respectively. The modified electrode was used to quantify MR in coffee and chamomile samples in the presence of other flavonoids with consistent results. With this new methodology it was possible to demonstrate that the electroanalytical sensor with the modified electrode (graphene - chitosan) yields a better result, the oxidation signal changes to more positive potential values, in addition the Retention Time (RT) signal decreases considerably with increasing the pH between 5.0 - 6.0, and although the MR signal changes at 0.25 V, it only decreases 20%, which allows it to be sensitive.

Keywords: morin, modified electrode, electrochemical parameters.

1. INTRODUCCIÓN

El sensor es un dispositivo que transforma la información de una reacción química en una señal útil que puede ser procesada, por lo tanto, facilita la información de interés de forma rápida, eficiente evitando análisis complejos. Cano (2018)

Las técnicas electroanalíticas permiten el desarrollo de métodos analíticos en función de la corriente producida en los procesos de oxidación o reducción de analitos electroactivos y relacionar esta corriente con la concentración, (Ortiz et al.,2006). Las técnicas más usadas son la voltametría cíclica (CV) y la voltamperometría de onda cuadrada (SWV). Esta última permite llegar a límites de detección muy bajos menores a 0.1 ppb. Las propiedades mecánicas y de biocompatibilidad de los dos materiales, quitosano y grafeno, propuestos en esta investigación han sido estudiados y reportados previamente pero no ha sido reportado su uso para detectar morina, (Fan et al., 2010), cuyo nombre IUPAC es 2',3,4',5,7-Pentahidroxiflavona, es un compuesto polifenol de origen vegetal, tiene potentes propiedades antioxidante, antidiabético, antiinflamatorio, antitumoral, antihipertensivo y antibacteriano (Caselli et al., 2016), se encuentran en muchas frutas y vegetales como el café (Suárez et al.,2020), manzanilla (Flores et al., 2019), té negro, cocoa, vino, entre otros (Chong, 2011).

Debido a las propiedades de este compuesto que ayudan al beneficio en la salud de las personas, se han desarrollado muchas metodologías que permiten su fácil detección usando diferentes técnicas en la última década, tales como; espectroscopia molecular UV-Vis, IR con transformada de Fourier, Espectrometría de Masas. (Fossen y Andersen, 2006), otra técnica que se utiliza mucho es cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC sus siglas en ingles) y Espectrometría de masas de ionización por electroaspersión (ESI-MS sus siglas en inglés)

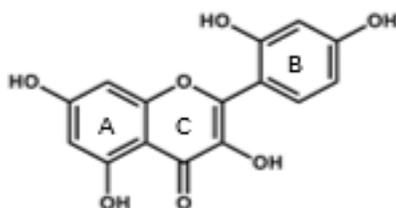
(Kumar ,2017), pero estas técnicas presentan el inconveniente de ser de alto costo instrumental operativo.

El gran interés en estudiar pentahidroxi flavonoides es por la amplia actividad farmacológica que tienen, estos pueden unirse a polímeros biológicos, como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN, quelar iones metálicos como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones, eliminar radicales libres. Debido a esto, se explica los efectos protectores en diferentes patologías como: diabetes mellitus, cáncer, enfermedades cardíacas, cardiovasculares, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones. Otras actividades importantes son sus acciones antivirales y antialérgicas, así como sus propiedades antitrombóticas y antiinflamatorias.

Para establecer la capacidad antioxidante de los flavonoides se explican en base su estructura química, mostrada en la figura 1. se caracteriza principalmente la presencia de estructura m-dihidroxi en el anillo B; que confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones, doble ligadura, en conjunción con la función oxo del anillo C y los grupos dihidroxi en los anillos A y B. (Chong, 2011).

Figura 1

Estructura del flavonoide 2',3,4',5,7-Pentahidroxi flavona



Fuente: (Chong, 2011)

1.1 Formulación del problema

Problema general

¿Es posible desarrollar un sensor electroanalítico de carbono vítreo modificado con quitosano y quitosano-grafeno podrá detectar morina en muestras naturales?

Problemas específicos

- ¿Será posible preparar los electrodos modificados con quitosano y quitosano-grafeno?
- ¿Será posible detectar morina con los electrodos modificados con quitosano y quitosano - grafeno?
- ¿Será posible determinar los parámetros experimentales como pH, potencial de acumulación y tiempo de acumulación adecuados para la absorción y actividad redox de morina en soluciones sobre los electrodos modificados?
- ¿Será posible detectar morina en muestras reales?

1.2 Antecedentes

En los últimos años el desarrollo de electrodos modificados para detectar flavonoide como la morina se ha incrementado, usan diferentes tipos de materiales para el desarrollo de electrodos modificados usados en la detección de morina.

Para Zityadinova et al. (2014) en su investigación modificaron el electrodo de carbono vítreo (GCE) por nanotubos de carbono carboxilados de pared simple (SWNT-COOH) y tensioactivo de tampón fosfato como el bromuro de cetilpiridio catiónico (CPB), el Triton X100 no iónico, y el dodecilsulfato de sodio aniónico en diferentes concentraciones. Las corrientes de oxidación de morina aumentan en los electrodos modificados con tensioactivos. Las mejores características se observan en CPB(1 μ M) /SWNT-COOH/GCE se ha observado un aumento de 1.8 veces en las corrientes de oxidación en comparación con SWNT-COOH/GCE. Se utiliza la técnica Voltamperometría de pulso diferencial (DPV) con límite de detección 28.9 nM. Se aplicó para la cuantificación de morina en hojas de morera mediante extracción inicial con etanol.

Para Sukanya et al. (2018), prepararon un nuevo tipo de diselenuro de terbio (Tb₂Se₂) en la estructura de un nano octágono y se integró con nanofibra de carbono oxidado (f-CNF) utilizando una técnica hidrotérmal simple. Estudiaron las propiedades electroquímicas del electrodo de carbono vítreo (GCE) modificado por nanocompuesto f-CNF/Tb₂Se₂, mediante el uso de técnicas electroquímicas como Voltamperometría de pulso diferencial (DPV) y Voltametría Cíclica (CV), con límite de detección 0.6 μ M teniendo una excelente actividad para la detección de morina en extracto de hojas de guayaba.

Para Kokulnathan et al. (2018), prepararon un complejo de coordinación de hexamina cobalto (III)[Co (NH₃)₆]³⁺ injertado en un electrodo de carbono vítreo (GCE) modificado compuesto de óxido de grafeno reducido (RGO) para la detección electroquímica de morina. El

compuesto RGO/ $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, el rendimiento electroquímico del electrodo fabricado se da mediante el uso de técnicas electroquímicas como Voltamperometría de pulso diferencial (DPV) y Voltametría Cíclica (CV), con límite de detección $0.008\mu\text{M}$, propuesto para la detección de morina en frutos.

Para Lütfti et al. (2014), las nanopartículas de plata (AgNP) se autoensamblaron sobre las superficies de láminas de óxido de grafeno funcionalizado con 2-aminoetanotiol (AETGO). Los nanocompuestos de óxido de grafeno (GO) y AgNPs-AETGO se caracterizaron mediante un microscopio electrónico de transmisión (TEM). La determinación simultánea de quercetina (QR) y morina (MR) se ha realizado en electrodo de carbono vítreo (GCE) modificado con AgNPs-AETGO. Obteniendo (AgNPs-AETGO/GCE). Mediante técnica de voltamperometría cíclica (CV) con límites de detección de QR y MR fueron $5.0 \times 10^{-6}\text{M}$ y $3.3 \times 10^{-9}\text{M}$ respectivamente. Se aplicó a muestras reales para determinación simultánea de QR y MR. Por tanto, el método desarrollado se puede adoptar como una alternativa a los métodos cromatográficos.

Para Sasikumar et al. (2017), trabajan la síntesis de nanoflakes de pentóxido de vanadio (V₂O₅ NF) utilizando líquido iónico y empleamos el V₂O₅ NF en la determinación de Morin (MR) en muestras de frutas. Los V₂O₅ NF se caracterizaron por Voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) y Voltamperometría cíclica (CV). Los estudios CV y DPV reconocieron que el rendimiento electroquímico del electrodo de carbono vítreo modificado con película V₂O₅ NF (V₂O₅ NF/GCE) es sobresaliente en comparación con GCE no modificado.

Para Cheng et al. (2017), fabricaron un sensor electroquímico sensible basado en PEDT-Au/ nanocompositos de óxido de grafeno reducido (PEDT-Au/rGO), un electrodo de carbono vítreo modificado (PEDT-Au/rGO/GCE) para determinación electroquímica de morina. Se empleó un método sencillo, eficaz y de alta eficiencia en un recipiente para sintetizar los

nanocompuestos PEDT-Au/rGO. Sus características electroquímicas se estudiaron mediante EIS. CV y SWV.

Para Nagles et al. (2018), utilizaron quitosano en la preparación de electrodos modificados sin utilizar otras sustancias. Presentaron un método de especiación sensible y selectivo para determinación de rutina (RT) y morina (MR) en productos naturales sobre un electrodo de carbón serigrafiado recubierto de quitosano (CS-SPC). MR y RT puede absorberse sobre la superficie del electrodo SPC recubierto con CS, aumentando la intensidad de corriente en más del 60 y 45% para RT y MR respectivamente, en comparación con la del SPC no modificado. Se evaluó la utilidad del electrodo modificado para cuantificar RT y MR en muestras comerciales de té negro, así como en infusiones *Cymbopogon citratus* y frutos.

Para Peng et al. (2011), desarrollaron un método para fabricar películas delgadas de polipirrol (PPy) y grafeno sobre electrodos mediante polimerización electroquímica de pirrol con oxido de grafeno (GO). El electrodo compuesto de PPy y electrodo modificado con oxido de grafeno reducido electroquímicamente (eRGO) es altamente sensible y selectivo hacia la detección de dopamina (DA), el rendimiento de detección del electrodo modificado con PPy/eRGO se investiga mediante voltamperometría de pulso diferencial (DPV). La aplicación práctica del electrodo modificado con PPy/eRGO se ha demostrado con éxito para la determinación de DA en suero sanguíneo humano.

Para Yang et al. (2014), a través del método electroquímico se preparó el óxido de grafeno reducido (ERGO). Compararon el electrodo de carbono vítreo desnudo (GCE), con el GCE modificado con ERGO (ERGO /GCE). Los resultados de la voltamperometría diferencial de pulsos muestran que la dopamina (DA), ácido ascórbico (AA) y ácido úrico (UA) pueden

detectarse de forma selectiva y sensible. ERGO/GCE podría usarse para determinación de DA en muestras biológicas.

Para Bagher et al. (2016), construyeron un sensor electroquímico, un electrodo de carbono vítreo modificado con quitosano complejado con cobre químicamente reticulado/nanotubos de carbono de paredes múltiples (Cu-CS/MWCNT/GCE), mostrando una buena selectividad, estabilidad y reproducibilidad para análisis de rutin en frutos con resultados satisfactorios.

El electrodo sustrato más usado es el carbono vítreo (GCE) por su sigla en inglés, las técnicas más usadas es la voltamperometría cíclica, los materiales para modificar la superficie de carbono vítreo más usados son nanotubos de carbono de pared múltiple (SWCNT), grafeno, polímeros y nanopartículas de metales, los datos analíticos reportan valores de límite de detección muy bajos entre los nM y M μ . aunque los autores casi no reportan el valor de potencial de oxidación de morina, esta se observa por lo general entre 0.1 y 0.4 V, los autores han detectado morina en muestras biológicas como alimentos y plantas, también demuestran que con las modificaciones de electrodos pueden detectarse fármacos como dopamina.

Los materiales propuestos para esta tesis no han sido usados juntos para la detección de morina. Estos resultados son evidencia del buen desarrollo de esta propuesta y obtención de buenos resultados.

1.1 Objetivos

Objetivo general

Desarrollar un sensor electroanalítico de carbono vitreo modificado con quitosano-grafeno para detectar morina en muestras naturales.

Objetivos específicos

- Modificar electrodos de carbono vitreo con quitosano y quitosano-grafeno para caracterizar las áreas de superficie.
- Estudiar la actividad electroquímica de los electrodos de carbono vitreo con quitosano y quitosano-grafeno para detectar morina.
- Evaluar parámetros óptimos como el pH, potencial de acumulación y tiempo de acumulación para la detección de morina usando el electrodo más eficiente.
- Evaluar la eficacia del sensor electroanalítico desarrollado en la detección de morina y sus posibles interferencias usando rutina y quercetina.
- Realizar el análisis de la morina utilizando el sensor desarrollado, en muestras de café y manzanilla.

1.4 Justificación

En los últimos años el incremento en consumo de alimentos artificiales está ocasionando daños a la salud (Ministerio de Salud), siendo necesario el consumo de alimentos naturales para incrementar la buena salud entre esto están los flavonoides. La principal propiedad que presenta es que son antioxidantes. (Escamilla et al., 2019), también previenen y ayudan a combatir enfermedades como la diabetes, el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, entre otras. (Caselli et al., 2016), pero la información acerca de ellos sobre los valores nutricionales que aportan no se informa es por eso que realizamos este estudio, para desarrollar un sensor electroanalítico que nos ayude a detectar y cuantificar morina usando una metodología sensible, selectiva y económica comparada con la metodología convencional como HPLC (una técnica muy buena, pero es muy costosa).

1.5 Hipótesis

El desarrollo de un sensor electroanalítico de carbono vítreo modificado con quitosano-grafeno es capaz de detectar morina en soluciones y muestras naturales con eficiencia, selectividad y sensibilidad.

II.MARCO TEÓRICO

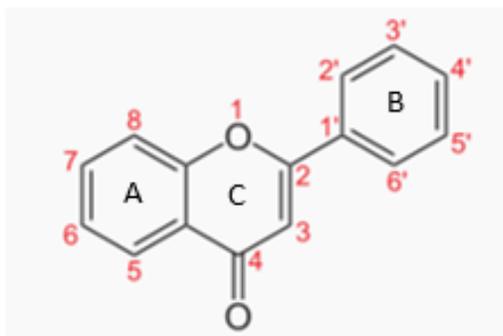
2.1 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos polifenólicos ampliamente presentes en frutas, vegetales y algunos productos elaborados como té, vino y chocolate, (Chong, 2011). Son reconocidos por su capacidad antioxidante, (Bohm et al., 1998) que ejercen un rol protector frente a enfermedades cardiacas, cáncer y diferentes patologías; además de presentar efecto antiinflamatorio y antialérgico, (Caselli et al., 2016).

Los flavonoides Presentan una estructura química básica de 2-fenil-benzo- γ -pirona (Fig.2), la que puede presentar diferentes sustituciones en los anillos A y B. Modificaciones en el anillo heterocíclico C, da lugar a diferentes subclases de flavonoides, por ejemplo, flavonas, isoflavonas, neoflavonas, flavanonas, chalconas, flavanoles y antocianidinas (Fig. 3). Se han identificado más de 8000 compuestos con estructura de flavonoide. Este gran número de compuestos se debe a las variadas combinaciones de múltiples grupos hidroxilo y metoxilo en su esqueleto básico.

Figura 2

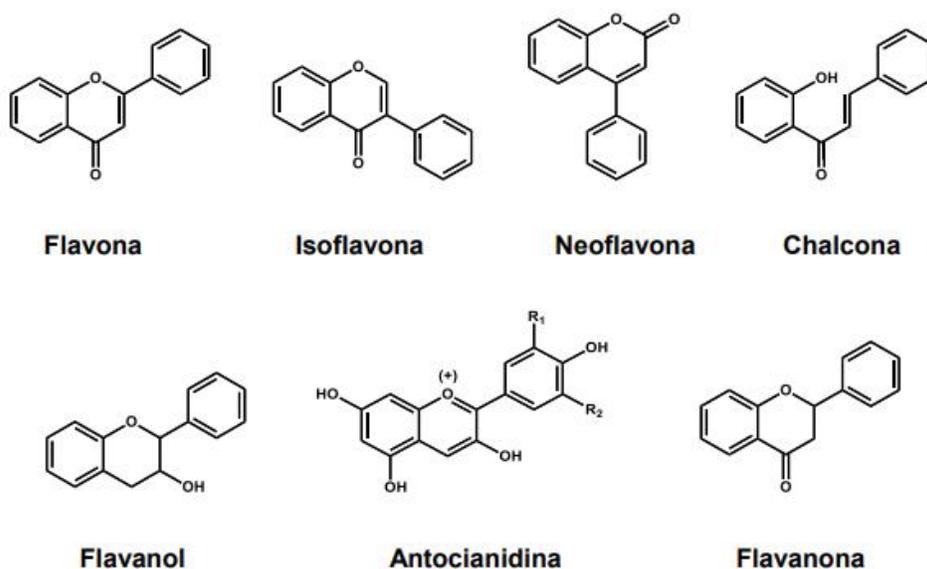
Estructura química básica de los flavonoides



Fuente: (Rodríguez, 2017)

Figura 3

Estructura química de diferentes subclases de flavonoides



Fuente: (Rodríguez, 2017)

El potencial de oxidación de los flavonoides como morina depende de las propiedades de los sustituyentes en el anillo A y B. Estos anillos son los sitios más electroactivos a valores de pH medianamente ácido.

2.2 Los antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos químicos que el cuerpo utiliza para eliminar los radicales libres, que son sustancias químicas muy reactivas que introducen oxígeno en las células y producen la oxidación, alteraciones en el ADN y cambios diversos que aceleran el envejecimiento del cuerpo. El oxígeno es muy importante para la vida, aunque es un elemento muy reactivo. El propio organismo genera radicales libres para su propio uso (control de musculatura, eliminación de bacterias, regulación de la actividad de los órganos, etc.), pero al

mismo tiempo genera antioxidantes para eliminar los radicales libres sobrantes, ya que estas sustancias son muy agresivas, (Ramírez et al., 2012).

2.3 Carbono vítreo o vidrioso

Es una forma de carbono puro producida por la descomposición térmica de un polímero reticulado tridimensionalmente que debido a su alto brillo y fractura concoidal, se ha denominado “carbón vítreo”. Las Propiedades que distinguen al carbono vítreo de las formas más comunes del elemento incluyen alta resistencia, dureza y resistencia a la corrosión, con baja porosidad y permeabilidad, los carbonos vitreos se utilizan ampliamente como un material de electrodo en electroquímica, (Balach et al., 2013).

2.4 Grafeno

El grafeno es una de las formas alotrópicas del carbono, de estructura nanométrica, bidimensional. Sus átomos de carbono están fuertemente cohesionados en una superficie uniforme, (Katsnelson, 2007).

2.5 Quitosano

El quitosano es un polisacárido que contiene unidades de D- glucosamina y N-acetil-D- glucosamina unidades β -(1-4), (Rinaudo, 2006). Se obtiene mediante la desacetilación de la quitina, que es un elemento estructural del exoesqueleto de los crustáceos e insectos. (Giraldo, 2015). Los productos generalmente con más de 60% de grado de desacetilación (DD) y peso molecular promedio o que se puedan disolver en ácido diluido se llaman quitosano.

III. MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

La presente investigación es experimental y aplicada, con enfoque cuantitativo.

3.2 Ámbito temporal y espacial

La investigación fue desarrollada en el Laboratorio de Electroquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, gracias a la accesibilidad brindada mediante del Asesor Externo. Los experimentos se desarrollaron durante el año 2022.

3.3 Variables

3.3.1 *Variables independientes*

Tipo de electrodo, pH.

3.3.2 *Variables dependientes*

Detección de morina en muestras sintéticas y muestras naturales.

3.4 Población y muestra

La población estará comprendida por alimentos que tengan un porcentaje de Morina.

La muestra es la infusión filtrante de manzanilla y de café molido adquiridos en mercados de Lima.

3.5 Instrumentos

- pH metro
- Balanza analítica
- Potenciostato AUTOLAB
- Micropipeta
- Vaso precipitado

- Estufa
- Campana extractora

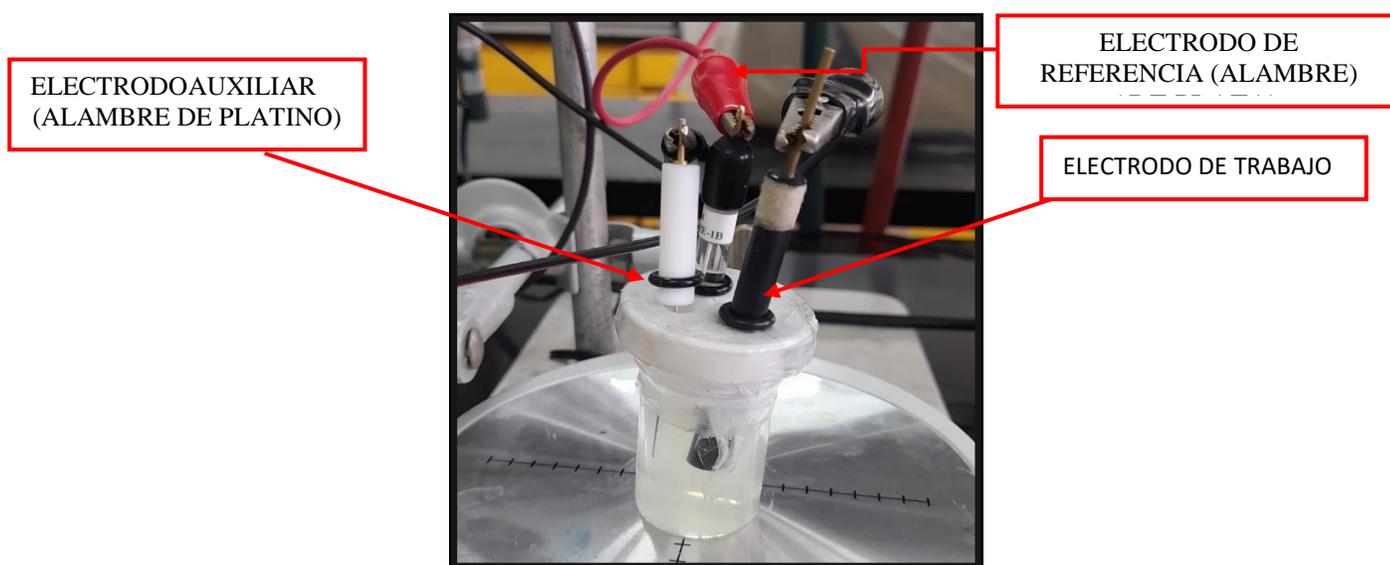
3.6 Procedimientos

Preparación y caracterización de los electrodos

Antes de la preparación del electrodo modificado, se debe pulir la superficie de carbono vítreo con óxido de silicio y lavar con ácido nítrico concentrado para eliminar impurezas. La preparación del electrodo se desarrollará como es reportado previamente con cantidades óptimas de quitosano entre 1 y 5 mg se disolverán en 10 ml de ácido acético al 1 %. 20 μ L de esta mezcla se depositará sobre la superficie del electrodo de carbono vítreo usando una micropipeta, después se someterá a 100°C por 5 min. para eliminar el exceso de solvente. Para el electrodo modificado con quitosano y grafeno se mezclarán 100 μ L de grafeno con 300 μ L de quitosano preparado entre 1 y 5 mg de quitosano y disuelto en 10 mL de ácido acético al 1%. 20 μ L de esta mezcla se depositará sobre la superficie del electrodo de carbono vítreo usando una micropipeta. Después se someterá a 100°C por 5 min. para eliminar el exceso de solvente. La caracterización de los electrodos será por voltamperometría cíclica e impedancia electroquímica usando $K_4Fe(CN)_6$ en KCl como electrólito de prueba, (Peña et al., 2018).

Figura 4*Potenciostato Galvanostático*

Nota. Equipo empleado en el trabajo de investigación del Laboratorio de Electroquímica.

Figura 5*Electrodos*

Nota. Los electrodos empleados en el trabajo de investigación.

Desarrollo de las pruebas

Las mediciones se desarrollarán en una celda electroquímica de 10.0 mL formada por un electrodo de referencia de Ag/AgCl, KCl 3 M., un alambre de platino como contra electrodo y el electrodo modificado como electrodo de trabajo. Los voltamperogramas cíclicos se medirán en un barrido de potencial entre 0.0 y 1.0 V a una velocidad de 0.1 V/s. Se usará buffer fosfato a un valor de pH óptimo como electrolito soporte.

Determinación de parámetros óptimos

Estos se desarrollarán por voltamperometría de onda cuadrada y se estudiará el pH, el potencial de adsorción (E_{ads}) y el tiempo de adsorción (T_{ads}), que son los parámetros relacionados con la sensibilidad en la etapa de adsorción. Por otro lado, si las condiciones del material son alteradas serán despreciables si la reproducibilidad es menor al 2%.

Elaboración de curvas de calibrado y parámetros estadísticos

Con el electrodo modificado y caracterizado junto con los mejores parámetros óptimos (pH, E_{ads} y T_{ads}), se procede a la elaboración de curvas de calibrado, usando disoluciones estándar de morina de 10 $\mu\text{mol/L}$. con los valores de las pendientes de las curvas se calculará la sensibilidad y los límites de detección.

Validación y estudio de interferencias

La validación de la metodología se estudiará con estándar certificado de morina (Sigma – Aldrich) o muestras dopadas de concentración conocida. De esta manera se evaluará la exactitud del sensor. Este mismo estándar puede ser usado en el estudio de interferencias usando otras sustancias, estándar de quercetina y rutina que también están presentes en las muestras reales, tales como; colorantes sintéticos y excipientes.

3.7 Análisis en muestras

El objetivo de la nueva metodología es detectar y cuantificar morina en muestras reales de manzanilla y café obtenidas en mercados de la ciudad de Lima. Los resultados obtenidos se compararán con datos publicados en el cual han sido analizados con otras técnicas como la espectroscopia y HPLC.

Figura 6

Muestras reales



Nota. Bolsitas filtrantes de Manzanilla de la marca McColin's y del Café marca Altomayo, fueron las muestras utilizadas para determinar morina.

3.8 Consideraciones éticas

Protocolos de seguridad para eliminación de desechos de forma segura y no ocasionando daños al medio ambiente.

IV. RESULTADOS

4.1 Determinación de las áreas activas de los electrodos de carbono vitreo (GCE), carbono vitreo modificado con quitosano (Ch/GCE) y carbono vitreo modificado con quitosano y grafeno (Ch-G/GCE)

Las superficies activas de GCE, Ch/GCE y Ch-G/GCE fueron evaluados por CV usando $K_4Fe(CN)_6$ con KCl 0.005 mol/L. La actividad y el área fue evaluada variando la velocidad de barrido entre 0.02 y 0.12 V/s. Los voltamperogramas se muestran en la figura 7 y 8, la curva de corriente vs raíz cuadrada de la velocidad de barrido en la figura 9. En la tabla 1 se resumen los valores de áreas activas de los tres electrodos.

Figura 7

Voltamperogramas de $K_4Fe(CN)_6$ (5.0 mmol/L) con GCE (curva a), Ch/GCE (curva b) y Ch-G/GCE (curva c) a 0.10 V/s

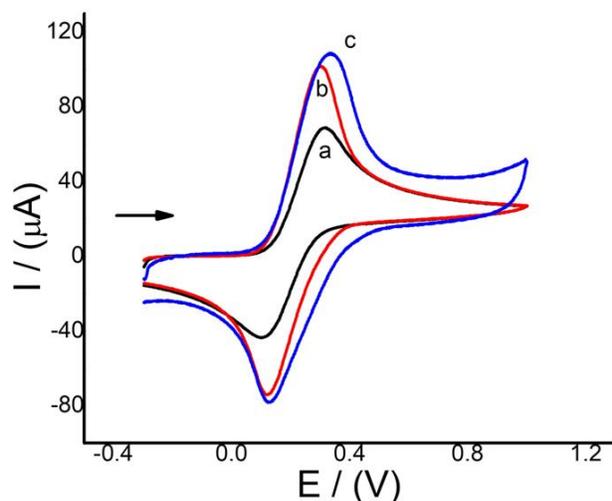
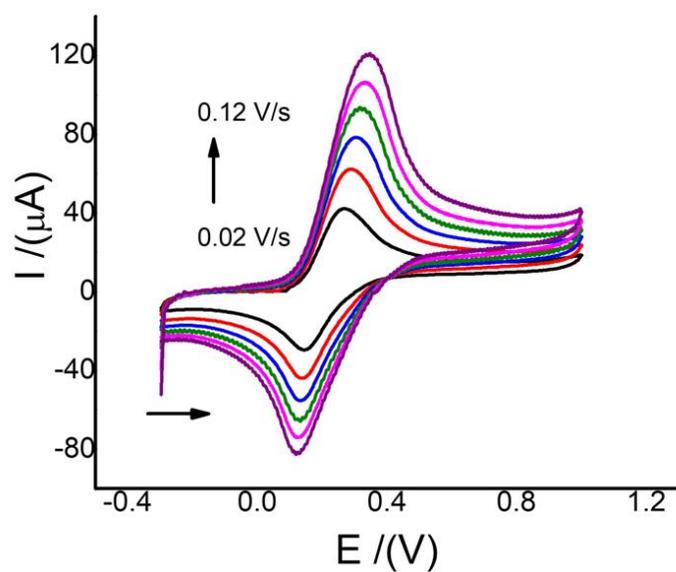


Figura 8

Voltamperogramas de $K_4Fe(CN)_6$ (5.0 mmol/L) a velocidades de barrido entre 0.02-0.12 V/s con Ch-G/GCE



En la Figura 9 se muestra la relación lineal entre la corriente de pico anódica vs la raíz cuadrada de la velocidad de barrido.

Figura 9

Curva de corriente de pico I_p (A) versus $v^{1/2}$ (V/s) de los voltamperogramas de **Fig. 8**

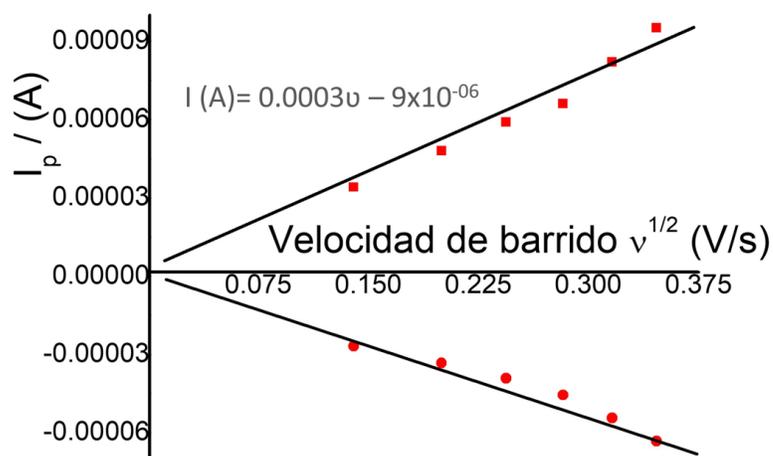


Tabla 1

Superficies de área activas de los electrodos GCE, Ch/GCE y Ch-G/GCE

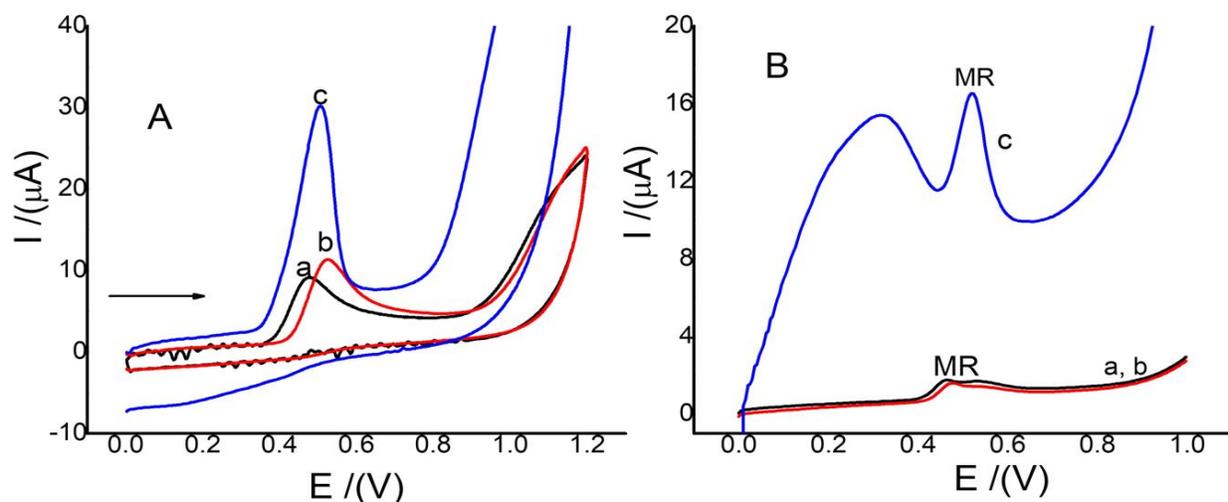
Electrodo	Pendiente ($I_p/v^{1/2}$)		Área (cm^2)		Total, área (cm^2)
	I_{pa}	I_{pc}	I_{pa}	I_{pc}	
GCE	0.0001	1.5×10^{-5}	0.010	9.6×10^{-4}	0.011
Ch/GCE	0.0002	0.0001	0.032	0.021	0.053
Ch-G/GCE	0.0003	0.0002	0.081	0.051	0.132

4.2 Actividad electroquímica de morina (MR).

La actividad de MR fue evaluada utilizando los tres electrodos por CV y SWV. Los resultados se muestran en la figura 10 y los valores de corriente y potencial se resume en la tabla 2.

Figura 10

(A) Voltamperogramas cíclicos de MR y (B) Voltamperogramas de onda cuadrada de MR



Nota. (A) Voltamperogramas cíclicos de MR (0.12 mmol/L) utilizando GCE (curva a), Ch/GCE (curva b) y Ch-G/GCE (curva c) a una velocidad de barrido 0.1 V/s; y (B) voltamperogramas de onda cuadrada de MR (6.0 $\mu\text{mol/L}$) con GCE (curva a), Ch/GCE (curva b) y Ch-G/GCE (curva c). Condiciones: pH 3.0 (PBS) a 0.0 V por 30 s, frecuencia 15 Hz, y amplitud de pulso 0.05 V.

Los resultados del aumento en las corrientes máximas del ánodo para MR se resumen en la Tabla 2 para CV y SWV.

Tabla 2

Corriente de pico anódico para MR con GCE, Ch/GCE y Ch-G/GCE por CV y SWV

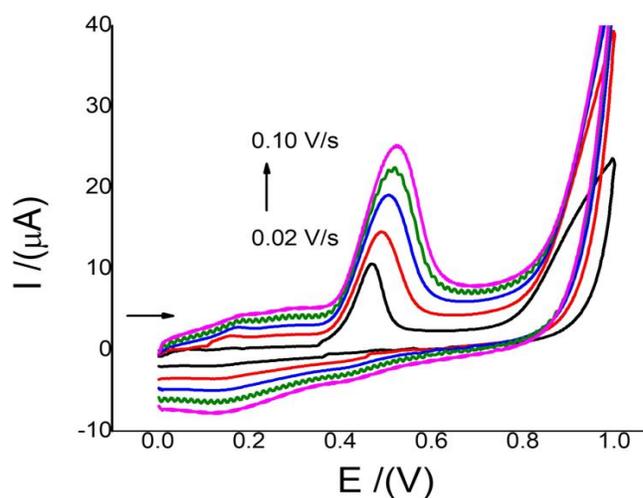
Electrodo	CV		SWV		% Ipa incremento CV	% Ipa incremento SWV
	E(V)	Ipa (μA)	E(V)	Ipa (μA)		
GCE	0.47	6.5 ± 0.2	0.47	1.00 ± 0.01		
Ch/GCE	0.46	9.2 ± 0.4	0.47	0.97 ± 0.03		
Ch-G/GCE	0.50	25 ± 0.1	0.52	4.80 ± 0.01	75.0	79

4.3 Evaluación del proceso de transferencia de masa para MR con Ch-G/GCE

Se utilizó CV para estudiar los procesos de transferencia de masa para 0,12 mmol/L de MR variando la velocidad de barrido entre 0,02 y 0,10 V/s con Ch-G/GCE , los voltamperogramas se muestran en la Figura 11.

Figura 11

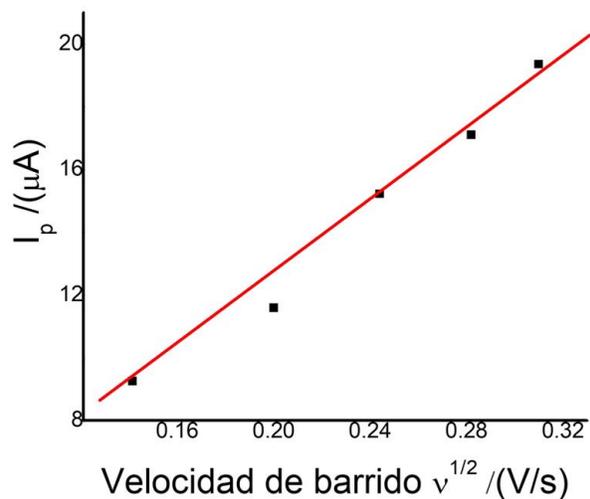
Voltamperogramas de MR (0.12 mmol/L) a velocidades de barrido entre 0.02-0.10 V/s con Ch-G/GCE



La relación de corriente frente a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido se muestra en la figura 12.

Figura 12

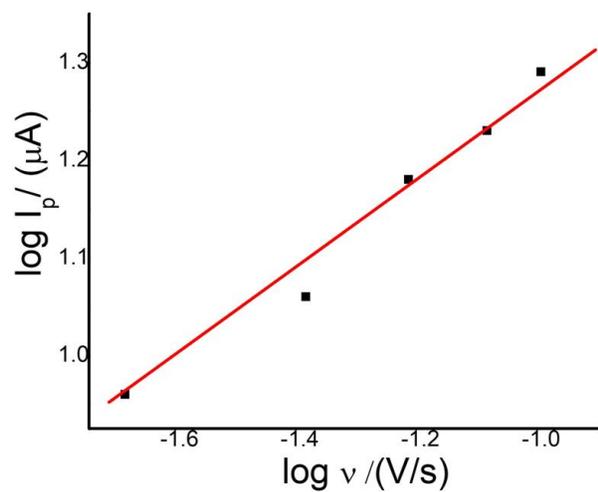
Curva de corriente de pico I_p (A) versus $v^{1/2}$ (V/s) de los voltamperogramas de Figura 11



En la Figura 13 se muestra la curva de $\log I_p$ vs $\log v$.

Figura 13

Curva de \log . de corriente de pico I_p (A) versus \log . velocidad de barrido v (V/s) de los voltamperogramas de Figura 11

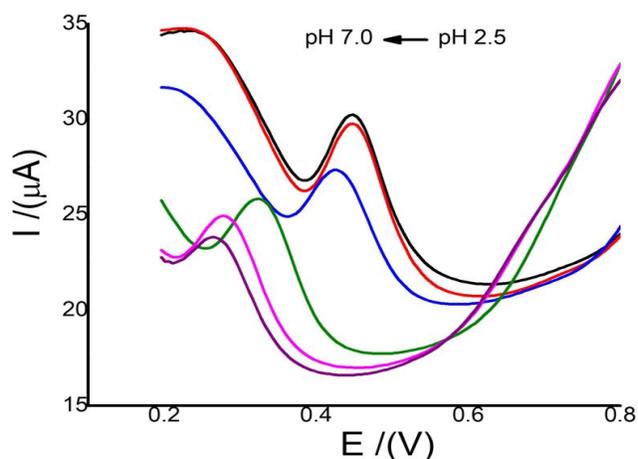


4.4 Efecto del pH sobre la actividad de MR

El pH se estudió a 2,5 , 3,0 , 4,0 , 5,5 , 6,0 y 7,0 por SWV usando CH-G/GCE y MR de concentración 6,0 $\mu\text{mol/L}$, los voltamperogramas se muestran en la figura 14.

Figura 14

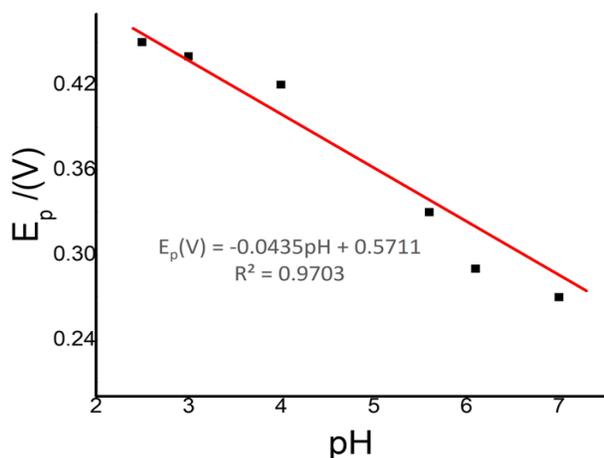
Voltamperogramas de onda cuadrada de MR a diferentes pH



Nota: Voltamperogramas de onda cuadrada de MR (6.0 $\mu\text{mol/L}$) a valores de pH 2,5, 3,0, 4,0, 5,5, 6,0 y 7,0 con Ch-G/GCE.

Figura 15

*Curva de corriente de potencial (E_p) versus pH v (V/s) de los voltamperogramas de **Figura 14***



4.4 Curva de calibrado, sensibilidad y límite de detección

Las corrientes de oxidación de MR por voltamperometría de onda cuadrada netas se obtuvieron utilizando condiciones optimizadas: pH de 3,0 (PBS) aplicando un potencial de acumulación de 0,0 V por 30 s y en la etapa de barrido se usó una frecuencia de 15,0 Hz y un pulso de amplitud de 0,05 V, estas corrientes se usaron para medir el límite de detección y sensibilidad del nuevo método con el Ch-G/GCE para MR agregando alícuotas de 20,0 μL consecutivamente a partir de una solución estándar de 0,5 mmol/L con 9,0 mL de agua ultrapura y 0,250 mL de PBS en la celda electroquímica. Los voltamperogramas y la curva de calibrado se muestran en la Figura 16 y 17 respectivamente.

Figura 16

Voltamperogramas de onda cuadrada de MR entre 0.90 y 50.0 $\mu\text{mol/L}$. pH 3,0 con Ch-G/GCE

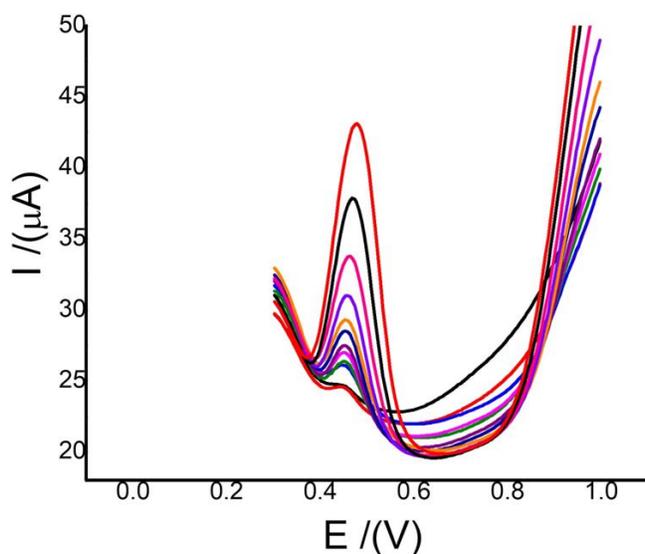
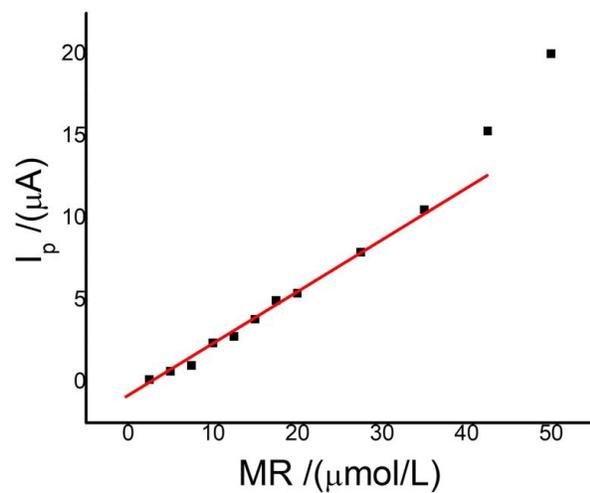


Figura 17

Curva de calibrado para MR de los voltamperogramas de la *figura 16*



4.5 Estudio de interferencia

Se evaluaron algunas sustancias que pueden interferir con la detección de MR, como quercetina (QC), rutina (RT) y catequina (CT). Los resultados son mostrados en la figura 18 y 19.

Figura 18

Voltamperogramas de MR y RT a pH 3,0 con Ch-G/GCE

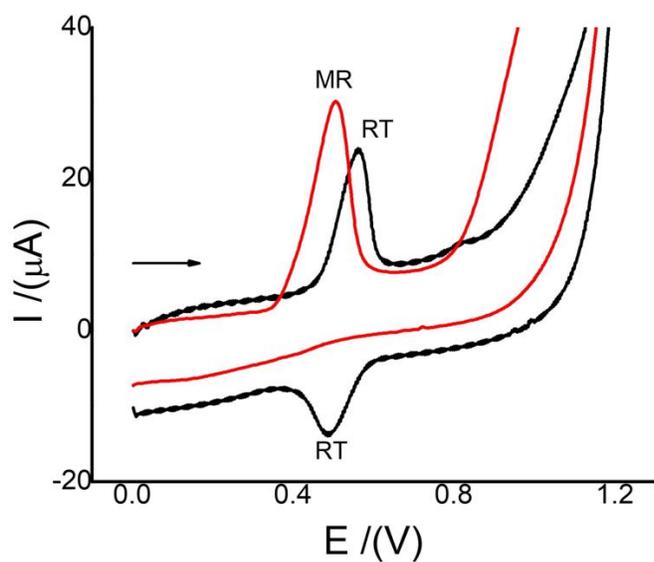
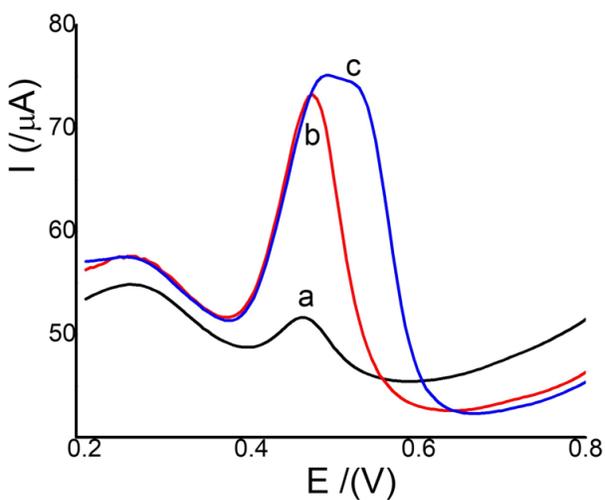


Figura 19

Voltamperogramas de muestra de café



Voltamperogramas de muestra de café (curva a), MR 20.0 $\mu\text{mol/L}$ (curva b) and RT 40.0 $\mu\text{mol/L}$ (curva c) con Ch-G/GCE. Condiciones: pH 3.0 (PBS) a 0.0 V por 30 s, 15 Hz, y amplitud 0.05 V.

4.6 Aplicación en muestras reales

Se aplico la utilidad del nuevo método electroanalítico con Ch-G/GCE en la detección de MR en muestras de café y bebidas aromáticas de manzanilla. Los resultados se resumen en la **Tabla 5** y los voltamperogramas y la curva de calibración de la muestra de bebida aromática de manzanilla se muestran en la **figura 20**.

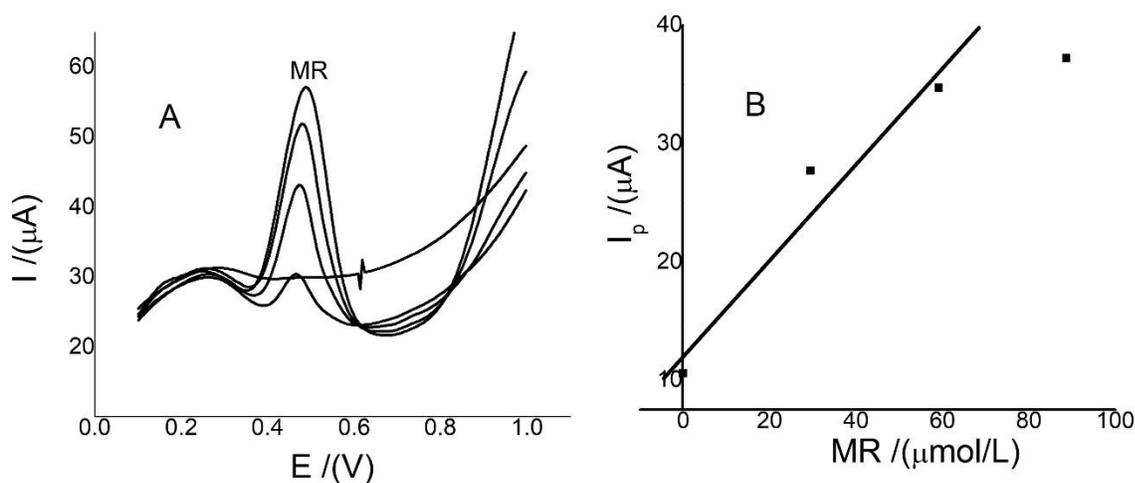


Figura 20. (A) Voltamperogramas de onda cuadrada de muestra de aromática de manzanilla. y (B) Curva de calibrado para los voltamperogramas de la **Figura 20A**. pH 3,0 con Ch-G/GCE.

Tabla 5.

Resumen de los valores de MR detectados en muestras reales

Muestras	MR ($\mu\text{mol/L}$)	
	Detectado	%RSD
Café	18.5-	0.03
* aromáticas de manzanilla	30.5	0.01

*Voltamperogramas y curva de calibrado mostrados en la **Figura 20**.

V. DISCUSION DE RESULTADOS

Los resultados del primer objetivo específico que tratan de la caracterización de electrodos modificados se estudió el área de superficie activa utilizando voltamperometría cíclica (VC), porque las superficies de electrodos similares se han estudiado ampliamente mediante técnicas como XPS, SEM y EIS. (Arvand et al., 2017), (An et al., 2013). El electrodo modificado con Ch-G/GCE aumenta las corrientes anódicas y catódicas para la solución de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{-4}$ (Fig. 7 curva c), también hay un aumento en la corriente de fondo en comparación con el electrodo no modificado, esto es posiblemente debido al aumento de la superficie de área del electrodo modificado con quitosano y grafeno. Para calcular el área activa en cm^2 y determinar el aumento del área con los electrodos modificados y no modificados, se estudió las corrientes anódicas y catódicas para la misma solución de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{-4}$, variando las velocidades de barrido entre 0,02 y 0,12 V/s con Ch/GCE y Ch-G/GCE, los resultados se compararon con los GCE no modificado y se observó claramente que las corrientes máximas anódicas aumentaron proporcionalmente con el aumento de la velocidad de barrido con los tres electrodos. Para los cálculos de área se usó los valores de la pendiente de la curva de la Figura 9 y se reemplazó en la ecuación de Randles-Sevcik.

$$I_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} v^{1/2} C \quad (\text{Arvand et al., 2017}); (\text{Nagles et al., 2021})$$

De donde se puede obtener el valor del área superficial activa (A) en cm^2 , donde:

I_p = pico de corriente anódica,

n = número de electrones (n =1),

D = coeficiente de difusión del $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ($7.6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)

$v^{1/2}$ = Velocidad de barrido

C = Concentración de ferrocianuro en mol/dm³.

Donde el área se calcula por el despeje de A en la ecuación de Randles-Sevcik.

$$A = \frac{(I_p/v^{1/2})}{2.69 \times 10^5 \times (1)^{3/2} (7.6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1})^{1/2} (5 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^3)}$$

En la Tabla 1, se observó un aumento para Ch/GCE y Ch-G/GCE en comparación con el GCE no modificado. Esta puede ser la causa del aumento de corriente con el electrodo modificado con quitosano y grafeno. En reportes anteriores, donde se desarrollaron los mismos electrodos, pero con diferentes metodologías y donde se evaluó la superficie del electrodo modificado solo con grafeno, este valor fue similar al valor calculado para el electrodo modificado solo con quitosano de 0.05 cm². En cambio, para el electrodo modificado con grafeno y quitosano, el valor obtenido fue ligeramente inferior al de un informe anterior, que fue de 0,16 cm², (Arvand et al., 2017). Además, estos resultados son muy similares a informes previos sobre el uso de electrodos con óxidos y nanopartículas metálicas. (Nagles et al., 2021); (Karimi-Maleh et al., 2021). La electro-oxidación de MR suele implicar la transferencia de uno y dos electrones con igual número de protones (H⁺), de uno de los anillos aromáticos entre 0,2 y 0,5V (Ziyatdinova et al., 2014); (Sebastian et al., 2020).

En este estudio, para cumplir el segundo objetivo específico, se analizó la actividad de MR utilizando los tres electrodos. Los resultados mostraron corrientes máximas anódicas para MR entre 0,40 y 0,60 V para CV y SWV, (Figura 10) pero hubo un gran aumento en la corriente de casi el 80 % con el electrodo modificado con grafeno y quitosano (Ch-G/GCE) a 0,5 V por CV y 0,48 V por SWV. Este aumento significativo en el pico corriente anódica de MR posiblemente se deba a un efecto sinérgico del quitosano y el grafeno que permite una mayor tasa de transferencia de carga, (Erady et al., 2020) y el aumento en la concentración de MR en la

superficie del electrodo debido al aumento de la superficie del área activa, que es un efecto muy similar al observado en informes anteriores donde se utilizó para detectar la rutina (Arvand et al., 2017); (An et al., 2013). Además, cuando se utilizaron electrodos modificados con nanopartículas de metales como Ni, Zn y Mo, se observó el pico de oxidación de Morina con valores de potencial inferiores a 0,5 V, (Lee y Kim, 2021); (Sebastian et al., 2020); (Erady et al., 2020). Con electrodos modificados con grafeno y óxido de plata se observó el pico de oxidación de Morina en un valor superior a 0,5 V (Lütfti et al., 2014). Esto indica que el electrodo modificado en esta tesis, aunque es más simple de producir en comparación con los electrodos que requieren menos energía para la oxidación de MR, no requiere tanta energía en comparación con otros electrodos más complejos, por otro lado, SWV nos permite observar la actividad de MR en concentraciones casi 100 veces inferiores a la de CV.

Para cumplir con el tercer objetivo específico se utilizó CV para estudiar los procesos de transferencia de masa para 0,12 mmol/L de MR variando la velocidad de barrido entre 0,02 y 0,10 V/s con Ch-G/GCE. Se observó un aumento lineal en las corrientes máximas anódicas a medida que la velocidad de barrido aumentaba de 0,02 a 0,10 V. Para MR y la corriente anódica (I_{pa}) frente a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (v)^{1/2} es lineal con un coeficiente de correlación R^2 de 0,989, lo que indica que el proceso está controlado por difusión. Por otro lado, para comprobar este resultado, con los mismos valores también se preparó la gráfica de $\log I_{pa}$ vs $\log v$, donde la pendiente de la ecuación lineal, $\log I_p(\mu A) = 0.483 \log v + 1.7612$ fue de 0.48. Este resultado indica que el proceso está controlado por difusión para MR lo cual confirma el resultado discutido previamente. Normalmente, utilizando electrodos modificados con otros materiales, como nanotubos de carbono, óxidos metálicos y nanopartículas catiónicas (Mariño et al., 2015); (Ziyatdinova et al., 2014); (Lee y Kim, 2021); (Sukanya et al., 2018); (Erady et al.,

2020), el proceso de oxidación de MR se controla por adsorción. Entonces, el proceso controlado por difusión favorece el aumento de la vida útil del electrodo ya que permite la limpieza total del electrodo, reduciendo efectos memoria de medidas anteriores. Además, los voltamperogramas de la Figura 11 muestran que los valores de potencial cambian a valores más positivos con un aumento en la velocidad de barrido, lo que indica un proceso limitado por la cinética de reacción (Sukanya et al., 2018).

En el efecto del pH de la solución es importante y el estudio ha sido incluido en el cuarto objetivo específico porque esta sustancia tiene propiedades antioxidantes debida a la pérdida de protones H^+ que puede neutralizar los radicales libres (Verdan et al., 2011) por lo tanto se analizaron corriente de pico anódica y los potenciales de pico anódicos a diferentes valores de pH. Los resultados mostraron que el potencial anódico se desplazó a valores de potencial más positivos de pH más ácidos. Se trazó el potencial $E(V)$ frente al pH y la ecuación lineal fue $E(V) = 0,571 - 0,043pH$. Este resultado indica que los protones (H^+) están involucrados en la oxidación de MR, y el valor de la pendiente cerca de 0,059 indica que el número de protones (H^+) = número de electrones (e^-) en la reacción de oxidación de MR, estos resultados son similares a los reportados previamente para MR usando electrodos modificados con diferentes materiales, (Ziyatdinova et al., 2014) ; (Lee y Kim, 2021); (Erady et al., 2020). Por otro lado, la mayor corriente de oxidación se observó a pH 3,0. Este valor de pH fue elegido para estudios posteriores.

Para evaluar la utilidad y versatilidad del nuevo método y cumplir con el desarrollo del quinto objetivo específico se preparó la curva de calibrado para obtener la sensibilidad y límite de detección. La ecuación de la recta fue $I_p (\mu A) = 0.3269C_{MR} - 1.0415$. El límite de detección y

la sensibilidad fueron de 0,30 $\mu\text{mol/L}$ y 0,33 $\mu\text{A}/\mu\text{mol/L}$ para MR, respectivamente. Este valor se calculó con los diez primeros puntos de la figura 16. La Tabla 4 muestra un resumen de algunos estudios de MR anteriores que utilizan electrodos modificados con complejos de coordinación de iones metálicos, nanopartículas de iones metálicos, nanotubos de carbono y polímeros. Por otro lado, estos electrodos no son fácil de fabricar. En esta tesis se reporta un sensor más fácil de fabricar e igual sensible que otros que utilizan grafeno y nanotubos de carbono combinados con complejos de coordinación.

Tabla 4

Electrodos modificados usados para detectar morina

Electrodo modificado	Aplicación	Límite de detección ($\mu\text{mol/L}$)	Ref.
CNT/IL	Vegetales	0.05	(Mariño,2015)
MoS ₂ /G		0.39	(Lee,2021)
CNF/Tb ₂ Se ₂	Hojas de guayaba	0.60	(Sukanya, 2018)
NH ₂ -CNT/ZnO	Frutas	0.02	(Sebastian,2019)
NiPc/CPE	Orina	0.002	(Erady, 2020)
PEDT–Au/rGO/GCE	sangre	0.83	(Cheng, 2017)
AgNPs-GO/GCE	Vino	0.003	(Lütfi, 2014)
Ch-G/GCE	Café y manzanilla	0.30	Esta tesis

GCE: electrodo de carbono vitreo; CPE: electrodo de pasta de carbono; G: grafeno; CNTs: nanotubos de carbono; CNF: carbono nanofibras; NiPc: nickel (II) talocianina. PEDT: Poli 3,4-etidioxitiofeno. Todo por sus siglas en ingles.

En los reportes resumidos en la tabla 4 resaltamos los resultados de Mariño et al. (2015), desarrollaron un electrodo de nanotubos de carbono en presencia de líquido iónico para determinar pentahidroxi flavonas. El límite de detección fue de 0.05 $\mu\text{mol/L}$, el método se utiliza para cuantificar en muestras de tejido vegetal. Lee et al. (2021), desarrollaron un electrodo de nanocompuesto de disulfuro de Molibdeno en grafeno para determinar morina. El límite de detección fue de 0.39 $\mu\text{mol/L}$. Sukanya et al. (2018), desarrollaron un electrodo de Diseleniuro de Terbio integrado con nanofibras de carbonos para determinar morina en hojas de guayaba. El límite de detección fue de 0.60 $\mu\text{mol/L}$. Sebastian et al. (2019), desarrollaron un electrodo de óxido de zinc con nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con amina para detectar morina en frutas. El límite de detección fue de 0.02 $\mu\text{mol/L}$. Erady et al. (2020), desarrollaron un electrodo de un complejo de ftalocianina de níquel (II) para determinar morina en orina, vino. El límite de detección fue de 0.002 $\mu\text{mol/L}$. Cheng et al. (2017), desarrollaron un electrodo de nanopartículas de óxido de grafeno reducido con oro para determinar morina en sangre. El límite de detección fue de 0.83 $\mu\text{mol/L}$. Lütfi et al. (2014), desarrollaron un electrodo de nanopartículas de plata en superficie de óxido de grafeno para determinar morina en vino. El límite de detección fue de 0.003 $\mu\text{mol/L}$. En esta tesis se desarrollaron un electrodo de quitosano con grafeno en superficie de carbono vitreo para determinar morina en café y manzanilla. El límite de detección es de 0.30 $\mu\text{mol/L}$. Para el estudio de interferencias se evaluaron algunas sustancias que pueden interferir con la detección de MR, como quercetina (QC), rutina (RT) y catequina (CT). CT no mostró actividad con Ch-G/GCE. QC mostró una actividad mucho menor

con el electrodo a valores de potencial menos positivos entre 0,1 y 0,2 V, un resultado muy similar al reportado usando AgNPs-G/GCE, (Lütfti et al., 2014). Por otro lado, RT mostró actividad con el electrodo a un potencial muy cercano al de MR, el resultado de esta actividad, que puede causar una interferencia considerable en la cuantificación de la MR, se muestra en la Figura 18, la separación de ambas corrientes pico anódicas es de 60 mV. Además, esta interferencia se evaluó con una muestra real, los resultados mostrados en la Figura 19, en el cual se observa que la muestra tiene una señal de corriente pico anódica a 0,46 V (Fig. 19 curva a), y cuando se agrega una cantidad conocida de MR, la corriente pico anódica aumenta al mismo valor potencial (Fig. 19 curva b). Luego, se agrega la misma cantidad de RT (Figura 19 curva c). En los resultados no se observa aumento a 0,46 V, pero se observa un ensanchamiento de la señal a 0,54 V. Estos resultados muestran que la RT puede causar una pequeña interferencia con la señal de MR en concentraciones más altas en comparación con las detectadas para MR en este tipo de muestra, como café y manzanilla, esto se debe a que la actividad de este sensor es mayor para MR en comparación con RT, como se muestra en la Figura 19, donde la concentración de RT es el doble que la de MR. Informes anteriores de RT que utilizan electrodos similares, pero con una metodología diferente, observan la señal de corriente máxima anódica de RT a 0,5 V (Arvand et al., 2017); (An et al., 2013). Con esta nueva metodología, la señal de oxidación cambia a valores potenciales más positivos. Además, la señal de RT disminuye considerablemente al aumentar el pH entre 5,0 y 6,0, y aunque la señal de MR cambia a 0,25 V, solo disminuye un 20%, lo que le permite ser sensible.

Con el uso de muestras reales, según el último objetivo, la matriz de la muestra no afectó los valores potenciales de MR y solo hubo un pequeño cambio de 20,0 mV. Estos valores detectados fueron más altos que los detectados en uvas para vino, (Lütfti et al., 2014), chocolate,

té (Arancibia et al., 2017) y extracto de tejidos de plantas y frutas, (Mariño et al., 2015); (Sebastian et al., 2020) pero similares a los detectados en frutas como la mora, (Ziyatdinova et al., 2014). Además, los valores detectados se encuentran dentro del rango normal detectado para muestras de origen vegetal (Rattanachaikunsopon y Phumkhachorn, 2010).

VI. CONCLUSIONES

- Las áreas de los electrodos fueron calculadas y los resultados fueron consistentes con previos reportes donde el área no es mayor a 0.2 cm^2 .
- El electrodo modificado presento una gran actividad hacia la oxidación de morina a valores de potencial menor de 0.6 V .
- Los parámetros según las pruebas: el pH, potencial de acumulación y tiempo de acumulación fueron 3.0, 0.5 mV y 60 s respectivamente.
- El sensor electroanalítico para la detección de morina en muestras naturales, el electrodo modificado se desarrolló sin problema y es adecuado para la determinación, se pudo observar interferencias de otros flavonoides que se encuentran presentes en muestras reales como quercetina (QC), rutina (RT) y catequina (CT).
- Se demostró que el electrodo modificado con quitosano - grafeno muestra una ventaja en términos de sensibilidad, selectividad, facilidad de análisis y costo con respecto a otros estudios, encontramos en muestra de café varios flavonoides, por su actividad antioxidante podemos afirmar que consumir café es bueno para la salud.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar más trabajos de investigación con respecto a otros electrodos con el fin de poder cuantificar diferentes flavonoides ya que son muy importantes y tienen propiedades con muchos beneficios en la salud.
- Consumir frutas y verduras en nuestra dieta diaria, que son las mayores fuentes de polifenoles, que ayudan mucho para combatir las enfermedades como la diabetes, el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, etc.
- Implementar laboratorios para realizar estudios y mejorar la metodología y comprobar a que tipo de enfermedades es más beneficioso.
- Realizar más trabajos en muestras de fruta y alimentos.

VIII. REFERENCIAS

- An J., Bi Y., Yang C., Hu F., Wang, C. (2013) Electrochemical study and application on rutin at chitosan/graphene films modified glassy carbon electrode. *Journal of Pharmaceutical Analysis, Vol. 3*, pp. 102-108.
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2012.09.003>
- Arancibia V., Garcia O., Hurtado O., Nagles E. (2017) Adsorptive stripping voltammetric determination of Morin in tea infusions and chocolate drinks on a gold electrode. Effect of cetylpyridinium bromide on the sensitivity of the method. *International Journal of Electrochemical Science, Vol. 12*, pp. 9408 – 9417
- Arvand M., A. Shabani A., Ardaki M.S. (2017). A new Electrochemical sensing platform based on binary composite of graphene oxide-chitosan for sensitive Rutin determination. *Food Anal. Methods. Vol.10*, pp.2332 – 2345.
- Bagher M., Mohammadi-Behzad L., Hosseinkhani H. (2016). Application of a Cu-chitosan/multiwalled carbon nanotube film-modified electrode for the sensitive determination of rutin, *Analytical Biochemistry, Vol. 493*, pp. 35-43.
<http://doi.org/10.1016/j.ab.2015.08.033>
- Balach J.M., Cotella N., Bruno M., Corti H.R., Miras M., Barbero C., Tamborini L., Soldera F., Acevedo D.F., Mücklich, F. (2013). Estudio y caracterización del carbón vítreo poroso nanoestructurado, *Revista Iberoamericana de Ingeniería Mecánica, Vol. 17*, Nro., 1, pp. 17–25.
<https://www2.uned.es/ribim/volumenes/Vol17N1Abril2013/V17N1A02%20Cotella.pdf>

Böhm H., Boeing H., Hempel J., Raab B. y Kroke A. (1998). Flavonols, flavone and anthocyanins as natural antioxidants of food and their possible role in the prevention of chronic diseases, *European Journal of Nutrition*, Vol. 37, pp. 147-163.

<https://doi.org/10.1007/PL00007376>

Cano, M. (2008). *Diseño y aplicación de sensores Electroquímicos basados en Moléculas Orgánicas conductoras* [Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba].

<https://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/422/9788478019311.pdf>

Caselli, A., Cirri, P., Santi, A.y Paoli, P. (2016). Morin: A Promising Natural Drug.Current Medicinal Chemistry, Vol. 23, Nro. 8, 774-791.

<https://www.eurekaselect.com/138334/article>

Cheng W., Liu P., Zhang M., Huang J., Cheng F.y Wang L. (2017). A highly sensitive morin sensor based on PEDT-Au/rGO nanocomposites modified glassy carbon electrode. *Royal Society of Chemistry*. Paper,7, 47781-47788.

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2017/ra/c7ra08292d>

Chong R. (2011). *Alimentos ricos en flavonoides y sus beneficios a la salud* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Martín Tarapoto]. Repositorio Institucional UNSM.

<http://hdl.handle.net/11458/3564>

Erady V., Mascarenhas R., Satpati A., Bhakta A., Mekhalif Z.y Delhalle J. (2020). Sensitive voltammetric determination of Morin in Psidium guajava leaf extract at Nickel (II) phthalocyanine modified carbon paste electrode. *Journal Surf. Interfaces*, Vol. 19, 100517. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2020.100517>

Escamilla, C., Cuevas, E. y Guevara, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista Facultad de Medicina UNAM*, Vol. 52. Nro. 2.

<https://www.mediagraphic.com/pdfs/facmed/un-2009/un092g.pdf>

Fan H., Wang L., Zhao K., Li N., Shi Z., Ge Z., y Jin Z. (2010). Mechanical Properties, and Biocompatibility of Graphene-Reinforced Chitosan Composites, *Biomacromolecules* 11, 9, 2345–2351

Fossen, T., Andersen, M. (2006). Spectroscopic techniques applied to flavonoids. *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications* pp.37-142 ref.583

Giraldo J. (2015). Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano.

<https://www.researchgate.net/publication/277302110>

Karimi-Maleh H., Alizadeh M., Orooji Y., Karimi F., Baghayeri M., Rouhi J., Tajik S., Beitollahi H., Agarwal S., Gupta V.K., Rajendran S., Rostamnia S., Fu L., Saberi-Movahed F. y Malekmohammad S., *Ind. Eng. Chem. Res.* 2021, 60, 816.

Katsnelson, M. (2007). Graphene: carbon in two dimensions. *Materialstoday* Vol.10, Issues 1-2, pp. 20-27. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(06\)71788-6](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(06)71788-6)

Kokulnathan T., Sakthinathan S., Chen S., Karthik R. y Chiu T. (2018). Hexamine cobalt (III) coordination complex grafted reduced Graphene oxide composite for sensitive and selective electrochemical determination of morin in fruit samples. *Journal Inorganic Chemistry Frontiers* 5, 1145-155

Kumar R. (2017). Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(2017) 349-364

Lee C., Kim T.H., (2021). Large-Scale Preparation of MoS₂ / Graphene Composites for Electrochemical. Detection of Morin. *Appl. Nano Mater.* 2021, 4, pp. 6668-6677.

<https://doi.org/10.1021/acsnm.1c00622>

Lütfti M., Kumar V., Eren T., Emre A.y Atar N. (2014). A novel electro analytical nanosensor based on Graphene oxide/silver nanoparticles for simultaneous determination of quercetin and morin. *Revista Internacional Electrochimical Acta* Vol. 120, pp. 204-211.

<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.12.086>

Masek A., Chrzescijanska E.y Zaborski M. (2014). Electrooxidation of morin hydrate at a Pt electrode studied by cyclic voltammetry. *Food chemistry* Vol. 148, pp. 18-23

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.003>

Mariño A., Leiva Y., Bolaños K., García O.y Nagles E. (2015). Determination of pentahydroxyflavones using coated chitosan multi-wall carbon nanotubes and an ionic liquid glassy carbon electrode by adsorption stripping voltammetry (AdSV). *Journal of Electroanalytical chemistry*, Vol. 759, pp. 153-157.

<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2015.11.008>

Ministerio de Salud: Sobre peso y obesidad en el Perú.

<http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/2587.pdf>

Nagles E., Ceroni M., Villanueva C.y Hurtado J. (2021). Simultaneous Electrochemical determination of Paracetamol and Allura Red in Pharmaceutical doses and food using a Mo (VI) Oxide-carbon paste microcomposite. *Electroanalysis*, Vol.33, pp. 2335-2344.

<https://doi.org/10.1002/elan.202100261>

- Nagles E., García O. y Hurtado J., (2018). Speciation of morin and rutin in black tea, *Cymbopogon citratus* and fruit infusions by adsorption voltammetry using screen-printed carbon electrodes coated with chitosan: effect of pH on speciation. *Journal Analytical Methods*, Vol.10, pp. 3680-3689.
<https://doi.org/10.1039/C8AY01067F>
- Ortiz R., Martínez Y. y Hernández R. (2006). Técnicas Electroanalíticas parte II Voltamperometría.
https://www.academia.edu/11769093/T%C3%A9cnicas_Electro_analiticas_II
- Peng S., Hailan Ch., Palanisamy K. y Kim D., (2011). Selective and sensitive determination of dopamine by composites of polypyrrole and graphene modified electrodes, *Journal Analyst* ,136, pp. 5134-5138.
<https://doi.org/10.1039/C1AN15772H>
- Peña A., García O. y Nagles E., (2018). Detection of sunset yellow by Adsorption Voltammetry at glassy carbon electrode modified whit chitosan, *International Journal of Electrochemical Science*, Vol. 13, pp. 5005-5015.
- Ramírez J.H., García C.F., Vizcaino J.A., Cárdenas J.M., Gutiérrez F. J., Murga H. M. y Villagrán S. (2012) ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes? *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana*, Vol. XXV, Nro. 2.
<https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol25num2/articulos/antioxidantes/>
- Rattanachaikunsopon P. & Phumkhachorn P. (2010). Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajava*. *Journal of Medicinal plants research*, Vol. 4, pp. 393-396.

Rinaudo, M. (2006). Chitin and Chitosan: Properties and Applications. Progress in Polymer Science. *Progress in Polymer Science*. Vol. 31, pp. 603–632.

<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>

Rodríguez, J. (2017). *Reactividad de los flavonoides morina y quercetina frente a oxígeno molecular singulete, en presencia de los iones metálicos Ca^{+2} y Cu^{+2}* [Tesis de pregrado, Universidad de Chile]. Repositorio Institucional Universidad de Chile.

<https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/169823>

Sánchez J.T. “Grafeno: sueño o realidad de la nanotecnología”. *Revista Anales de Mecánica y Electricidad*, pp. 40-44. 2010.

https://revista-anales.icaei.es/web/n_4/pdf/seccion_8.pdf

Sasikumar R., Govindasamy M., Chen S., Liu Y., Ranganathan P.y Rwei S. (2017). Electrochemical determination of morin in kiwi and strawberry fruit samples using vanadium pentóxide nano-flakes. *Journal of Colloid and Interface Science*. Vol. 504, pp. 626-632.

<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.03.039>

Sebastian N., Yu W.y Balram D. (2020). Synthesis of amine-functionalized multiwalled carbon nanotube/3D rose flower- like zinc oxide nanocomposite for sensitive electrochemical detection of flavonoid morin. *Analytica Chimical Acta* Vol. 1095, pp. 71-81.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.10.026>

Stefano J., Montes R., Richter E.y Muñoz R, (2014). Flow-injection análisis with multiple-pulse amperometry for simultaneous determination of paracetamol and naproxen using a homemade Flow cell for screen-printed electrodes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Vol. 25, No. 3, pp.484-491. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140006>

- Sukanya R., Sakthivel M., Chen S.y Chen T. (2018). A new type terbium diselenidenano octagon integrated oxidized carbon nanofiber: An efficient electrode material for electrochemical detection of morin in the food sample. *Sensors and Actuators B: Chemical* Vol. 269, pp. 354-367. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.05.013>
- Verdan A., Wang H., Garcia C., Henry W.y Brumaghim J. (2011). Iron binding of 3-hydroxychromone, 5- hydroxychromone, and sulfonated morin: Implications for the antioxidant activity of flavanols with competing metal binding sites. *Journal of Inorganic Biochemistry* Vol. 105, pp. 1314 – 1322. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.07.006>
- Yang L., Liu D., Huang J. y You T. , (2014). Simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid at electrochemically reduced graphene oxide modified electrode, *Journal Sensors and Actuators B: Chemical* Vol. 193, pp. 166-172. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.11.104>
- Yao, K., Yao, F., Li, J. y Yin, Y. (2012). *Chitosan-Based Hydrogels Functions and Applications*, Nueva York, Estados Unidos, Taylor & Francis Group.
- Ziyatdinova G., Ziganshina E., Budnikov H. (2014). Electrooxidation of morin on glassy carbon electrode modified by carboxylated single-walled carbon nanotubes and surfactants. *Revista Internacional Electrochimica Acta* Vol. 145, p. 209-216. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.08.062>