

Sensor de mercurio basado en nanopartículas coloidales de oro

M. A. Ortega

Universidad Simón Bolívar, Valle de Sartenejas, Edo. Miranda, Venezuela, 07-86226@usb.ve

Lorenzo Echevarría

Universidad Simón Bolívar, Valle de Sartenejas, Edo. Miranda, Venezuela, lorenzoer@usb.ve

Jimmy Castillo

Universidad Central de Venezuela, Caracas, Distrito Capital, Venezuela, jimmy@ciens.ucv.ve

Alberto Fernández

Universidad Central de Venezuela, Caracas, Distrito Capital, Venezuela, alberto.fernandez@ciens.ucv.ve

RESUMEN

En este trabajo desarrollamos un sensor de mercurio basado en la inhibición de fluorescencia que ejercen nanopartículas (NPS) coloidales de oro sobre la Rodamina560. Las NPS coloidales fueron generadas por la Ablación Láser de una placa de oro (99.99%) sumergida en soluciones etánolicas de Rodamina560. Se evalúa la inhibición por parte de las NPS en diferentes concentraciones del colorante para encontrar una concentración óptima de trabajo. Se encontró que las NPS de oro inhiben satisfactoriamente la emisión radiativa de la Rodamina560. En esta solución se aplicó un flujo de Hg^0 , producto de la reducción de soluciones acuosas de Hg^{2+} , empleando como agente reductor $NaBH_4$ (Método de Vapor Frío). Se observa un incremento en la emisión de fluorescencia de la solución NPS-Rodamina en presencia del Hg^0 . Estos resultados pueden ser atribuidos a que el Hg^0 amalgama la partícula, rompiendo de esta manera su asociación con el colorante, liberándolo y presentando nuevamente su emisión radiativa característica. Por lo anteriormente expuesto, es posible detectar la presencia de Hg^0 en solución, mediante la determinación de la variación de la señal de fluorescencia. El desarrollo de esta técnica ofrece una nueva oportunidad para la detección del mercurio en soluciones acuosas a niveles de ppb.

Palabras Claves: Sensor de mercurio, Nanopartículas coloidales, Rodamina 560, Quenching de Fluorescencia.

ABSTRACT

In this work we developed a mercury sensor based in the Rhodamine 560 fluorescence quenching in colloidal gold nanoparticles (NPS). The NPS were obtained by Ablation Laser of a gold plate (99.99%) and stabilized by the rhodamine ethanolics solutions. We evaluate the quenching capacity of NPS in various Rhodamine's concentrations in order to find the optimal concentration for the experiment. We found that NPS produce satisfactorily a quenching of the radiative emission. In this solution we introduce a Hg^0 flow by reduction of Hg^{2+} solutions, using $NaBH_4$ like reducing agent (Cold Vapour Method). The fluorescence emission of the NPS-Rhodamine system after of the contact with Hg^0 is increased. We propose an explication of this result based in that the Hg^0 creates an amalgam around the particle, breaking the interaction between the dye and NPS. In this case, the molecules of dye are released and can to emit radiation again, which allows detecting Hg^0 in solution, through the appearance of this fluorescence signal. This method showed a high sensivity for the determination of mercury in aqueous solutions in the ppb order.

Key Words: Mercury Sensor, Colloidal Nanoparticles, Rhodamine 560, Quenching of Fluorescence.

1. INTRODUCCION

El mercurio es uno de los metales que posee una alta toxicidad tanto para el ser humano como para el ambiente. Este elemento se filtra fácilmente en membranas respiratorias, gastrointestinales e inclusive por la piel. El Mercurio tiene un número de efectos sobre los humanos tales como: alteraciones en el sistema nervioso, cerebro, ADN y cromosomas, reacciones alérgicas, irritación de la piel, cansancio, y dolor de cabeza, efectos negativos en la reproducción, defectos de nacimientos y abortos. Los daños a las funciones del cerebro pueden causar la degradación de la habilidad para aprender, cambios en la personalidad, temblores, cambios en la visión, sordera, incoordinación de músculos y pérdida de la memoria. Algunas formas de actividades humanas liberan Mercurio directamente al suelo o al agua, por ejemplo la aplicación de fertilizantes en la agricultura y los vertidos de aguas residuales industriales. Todo el Mercurio que es liberado al ambiente eventualmente terminará en suelos o aguas superficiales. Existen muchos métodos y técnicas para monitorear los niveles de concentración de mercurio en agua. Entre los métodos establecidos se encuentran: Espectroscopia de absorción atómica, cromatografía de gas inductivamente acoplado con Espectrometría de plasma-masas, Espectrometría de fluorescencia atómica, entre otros. Sin embargo, la mayoría de estas técnicas requieren de equipos costosos, así como también la preparación y tratamiento de la muestra antes del análisis. La técnica de fluorescencia es una versátil técnica analítica, que permite detectar bajas concentraciones de analitos. Cuando la radiación electromagnética interactúa con una especie atómica y/o molecular induce transiciones entre los diferentes estados electrónicos del sistema, absorbiendo la energía suministrada por la radiación. Una de las propiedades más interesantes de las moléculas electrónicamente excitadas debido a dicha absorción, es su tendencia a emitir radiación para volver al estado fundamental. Cuando la emisión de radiación ocurre desde el primer estado electrónico singlete al estado fundamental se genera lo que se conoce como fluorescencia. La presencia de especies cuyos estados electrónicos interactúan con los estados electrónicos responsables del decaimiento radiativo, pueden originar lo que se conoce como “quenching” o inhibición de la Fluorescencia. Entre los sistemas que pueden ocasionar la inhibición de radiación de especies moleculares se encuentran las NPS. Actualmente las nanopartículas metálicas debido a su tamaño y las propiedades fisicoquímicas que presentan, han adquirido un importante papel en diversas áreas como catálisis, fotónica, bio-medicina, entre otras. Entre las diversas aplicaciones que poseen estas nanoestructuras resalta las investigaciones realizadas en el campo de sensores biológicos y ambientales. Durante los últimos años, varios grupos han realizado investigaciones en torno al decaimiento radiativo de colorantes orgánicos, encontrando que la superficie de las nanopartículas metálicas, en especial NPS de oro y plata, puede inhibir la emisión de fluorescencia de estas especies de manera efectiva. En este sentido, basándonos en el hecho de que este tipo de partículas pueden originar una inhibición de fluorescencia de sistemas de colorantes, nos hemos planteado el empleo de un sistema NPS-Rodamina 560 para ser empleado en la determinación de Hg^0 en soluciones acuosas. Esta investigación pretende aportar una herramienta metodológica para el monitoreo confiable, práctico y altamente sensible de mercurio en solución, el cual es uno de los principales agentes químico-tóxico que afecta al ambiente y a los seres vivos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Las NPS de oro fueron obtenidas por la Ablación Láser de una placa de oro 99,99% de pureza, como se muestra en la Figura 1a. Se sumergió la placa de oro en aproximadamente 4 mL de Rodamina 560 en Etanol en un rango de concentraciones entre 3 y 16,7 ppm. Cada solución fue irradiada por 10 minutos. Los espectros de absorción se midieron empleando un espectrofotómetro UV-Visible Marca Agilent de arreglo de diodos HP8452A. Un microscopio electrónico de transmisión (TEM) Marca JEOL JEM 550, fue empleado para obtener las micrografías correspondientes, para la cual se colocó una gota de la solución sobre una rejilla de cobre, cubierta con colodión. Los espectros de fluorescencia se tomaron empleando un espectrofotómetro Ocean Optics 2000. Se utilizó un Láser Nd-YAG Surelite II Q-Switched con pulsos de 8 ns, frecuencia 10Hz operando a una longitud de onda de 355 nm. Se utilizó una lente de distancia focal 10 cm, que enfoca el haz directamente sobre la placa de oro y produce la ablación. Para la generación de vapor de mercurio se empleó el montaje de la Figura 1b. El $NaBH_4$ se deposita en el fondo de la celda y se hace pasar soluciones acuosas de Hg^{2+} de concentraciones 5 ppm y 500 ppb respectivamente. El Hg^0 que se genera es burbujeado dentro de la solución de NPS-Rodamina560. Cabe destacar que la técnica de vapor frío ha sido y sigue siendo ampliamente usada para la generación de mercurio en

las áreas de analítica y espectroscopía, sin embargo tanto los diseños de la celda como la metodología utilizada en este trabajo no ha sido reportada anteriormente. De igual manera, es importante resaltar, que durante la investigación realizada se cumplieron con las medidas de seguridad necesarias para la manipulación de los reactivos, así como también con las Normativas y Reglamentos correspondientes al manejo y desechos de materiales con alto grado de toxicidad, establecidos por los Organismos Nacionales e Internacionales.

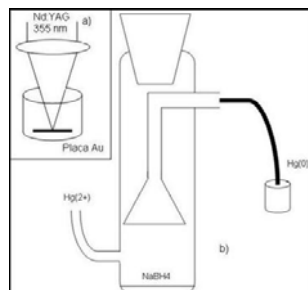


Figure 1. a) Montaje General para Ablación Láser. b) Diseño de la celda empleada para la reducción de Hg.

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Las NPS de oro obtenidas por Ablación Láser en soluciones de Rodamina 560 fueron analizadas empleando TEM, como se muestra en la micrografía de la Figura 2b. Las partículas presentaron un diámetro promedio entre 10-30 nm. En la Figura 2a se ilustra el espectro de absorción de estas partículas generadas en el solvente, las cuales presentan una banda de resonancia plasmónica característica, a una longitud de onda máxima de 525 nm, junto con el espectro de absorción correspondiente al sistema NPS-Rodamina. La absorción correspondiente a esta mezcla entre el colorante y las NPS, resultó una combinación de las bandas de las especies individuales, lo que puede significar que la Rodamina 560 no sufrió cambios en su estructura luego de estos procesos.

Para la escogencia de la concentración óptima del colorante en el cual el “quenching” se produce mas efectivamente, se prepararon diversas soluciones etanólicas de Rodamina en Etanol a diferentes concentraciones. En la Figura 3 se muestra los espectros de absorbancia y fluorescencia normalizados de la Rodamina 560. Cada solución fue irradiada por 10 minutos de manera de asegurar que la concentración de NPS generada fuese la misma para cada muestra. Los resultados se muestran en la Figura 4. La muestra cuya concentración fue de 13 ppm presenta la inhibición de radiación mayor por parte de las nanoestructuras y fue seleccionada para la segunda fase experimental. En la Figura 5 se muestran los espectros tomados cada cierto tiempo a medida que se generaban las NPS por Ablación Láser en el colorante a dicha concentración, con el fin de asegurar que la radiación fuese suprimida completamente por las nanopartículas.

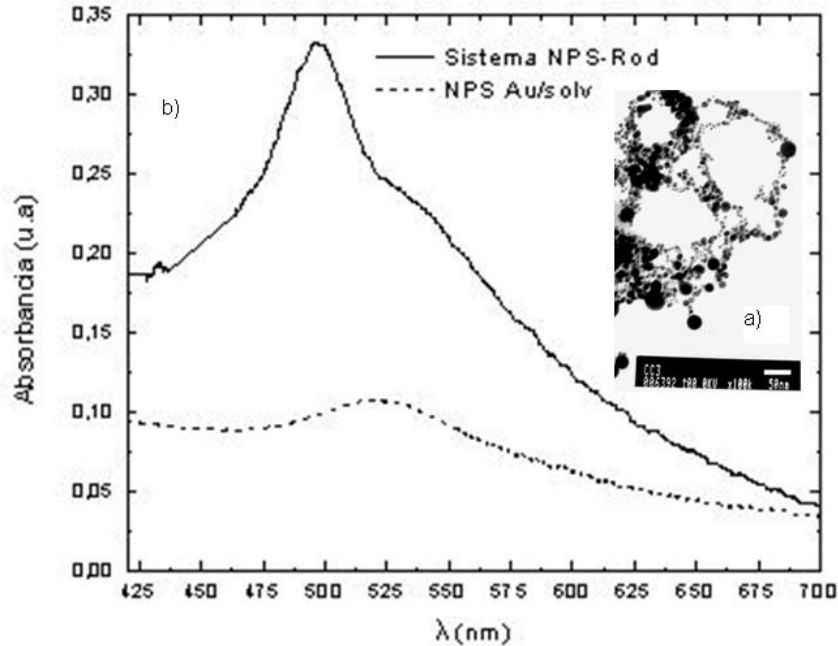


Figure 2. a) Espectro de absorción de NPS de oro ($\lambda_{\text{máx}}=525$ nm), y espectro de absorción del sistema NPS-Rodamina luego de la Ablación Láser. b) Micrografía tomada por TEM del sistema NPS-Rodamina.

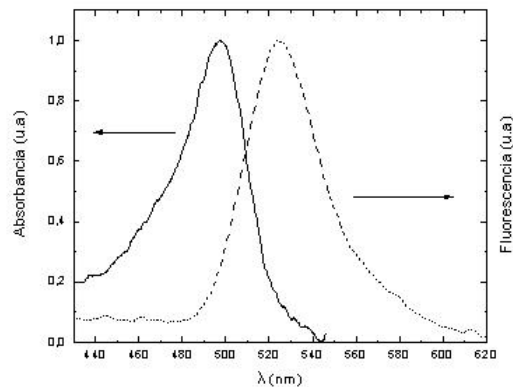


Figure 3. Espectros de absorbancia y fluorescencia de la Rodamina 560.

La presencia de las NPS en el colorante inhibió en gran medida su relajación radiativa, es decir, la nanopartícula ejerció un fenómeno de quenching sobre la fluorescencia del colorante y asegura la interacción entre estos sistemas. Cuando un metal se confina hasta alcanzar tamaños nanométricos, los niveles de energía se discretizan con estrechas distribuciones de energía alrededor de dichos niveles. Estos interactúan con los niveles de energía de los sistemas moleculares originando procesos de transferencia de energía entre las especies que explican esta inhibición de radiación. Cannone et al, (2006) aseguraron que la energía se transfiere desde estos estados

excitados a algún estado isoenergético de la partícula una vez que estos interactúan, evitando que la energía se disipe de manera radiativa en el colorante. Esto es posible ya que los niveles electrónicos en la partícula presentan diferencias de energía comparables con los del sistema molecular.

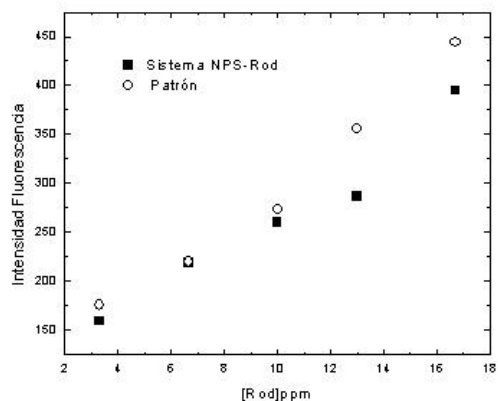


Figure 4. Máximos de los espectros de Fluorescencia de los sistemas NPS-Rodamina a diferentes concentraciones comparados con sus equivalentes patrones.

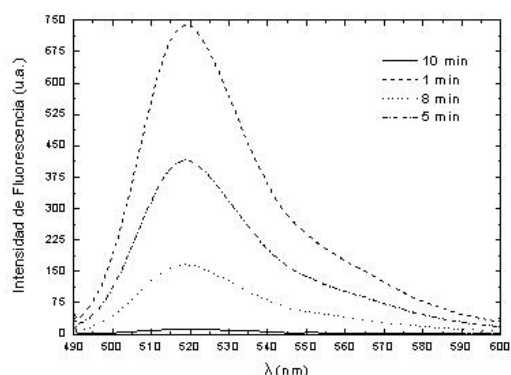
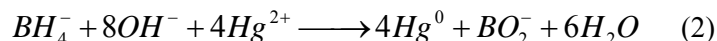


Figure 5. Espectros de Fluorescencia de la Rodamina luego de 1, 5, 8, y 10 minutos de Ablación Láser para producir las NPS de oro.

Una vez que las NPS inhiben la radiación del colorante, se hace pasar Hg^0 a través de la solución por aproximadamente 5 minutos. El agente reductor en esta reacción es el $NaBH_4$ y la reacción de reducción se conoce como método del vapor frío. La hidrólisis del tetrahidroborato (III) en medio alcalino ($pH \geq 9$) viene dada por la siguiente semireacción de oxidación:



Partiendo de ella se tiene que la reacción de reducción del Hg^{+2} esta dada por la reacción:



Este Hg^0 producto de la reacción de reducción, se genera en forma de vapor y es burbujado en la solución que contiene el sistema NPS-Rodamina. Se trabajaron con soluciones acuosas de Hg^{2+} de concentraciones 5 ppm y 500 ppb. Una vez que se burbujó la solución, se tomaron los respectivos espectros de fluorescencia de la muestra. En la Figura 6 se muestran dichos espectros. En ellos se puede observar la aparición de la señal de fluorescencia del colorante una vez que el Hg^0 se pone en contacto con la solución. Esto se puede atribuir al amalgamiento que el Hg^0 forma sobre la superficie de la partícula, permitiendo la ruptura de la interacción existente entre el colorante y la NPS, que se produce cuando son generadas y estabilizadas por Ablación Láser. Como resultado final la Rodamina queda libre y es lo que explica que presente nuevamente su emisión radiativa característica. Se puede observar como la señal es fuertemente liberada a medida que se aumenta la concentración de mercurio, debido a que hay mayor cantidad de mercurio durante el proceso y por ende mayor número de moléculas del colorante son liberadas. Así mismo es importante resaltar que esta pérdida de la interacción en el sistema NPS-Rodamina se produce a concentraciones bajas de mercurio, lo que garantiza la alta sensibilidad del método. Por lo anteriormente expuesto, es posible detectar la presencia de mercurio en soluciones acuosas, mediante la determinación de la variación de la señal de fluorescencia en el sistema Rodamina-NPS.

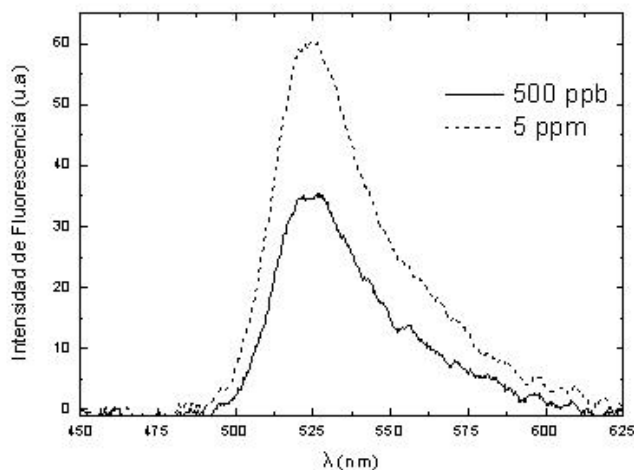


Figure 6. Espectros de Fluorescencia del sistema NPS-Rodamina luego de burbujear con Hg^0 producto de la reducción de soluciones acuosas de Hg^{2+} de concentración 5 ppm y 500 ppb respectivamente.

4. CONCLUSIONES

En este trabajo se ha encontrado que el empleo de un sistema NPS-Rodamina es eficiente para la detección de Hg^0 en soluciones acuosas. Las NPS de oro en este sistema solapan de manera efectiva la señal de fluorescencia que presenta la Rodamina 560. El sensor básicamente comprende la regeneración de la señal de fluorescencia del colorante, una vez que se pone en contacto con el mercurio, debido a que esta especie amalgama la nanoestructura dejando libre a la especie radiativa. Este sensor presenta alta sensibilidad para concentraciones de Hg^0 del orden de ppb, lo que hace que éste método pueda ser comparado con los métodos analíticos convencionales de detección.

REFERENCES

- Aucélio R., Martins de Souza R., De Campos R., Miekeley N., and Da Silveira C. L. (2007). "The determination of trace metals in lubricating oils by atomic spectrometry". *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, Vol. 62, No. 9, pp 952-961.
- Bouyssiere B., Baco F., Savary L., and Lobiński R., (2002) "Speciation analysis for mercury in gas condensates by capillary gas chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection". *Journal of Chromatography A*, Vol. 976, No. 1-2, pp 431-439.
- Bramanti E., D'Ulivo A., Lampugnani L., Giorgio R., and Zamboni R. (1999) "Cold vapour atomic fluorescence studies on the behaviour of mercury(II) and mercury(II)-thiol complexes. An alternative route for characterization of -SH binding groups" *J. Anal. At. Spectrom.* Vol 14, pp 179-185.
- Cannone F., Chirico G., Bizzarri A. R., and Cannistraro S. (2006) "Quenching and Blinking of Fluorescence of a Single Dye Molecule Bound to Gold Nanoparticles". *J. Phys. Chem. B*. Vol. 110, pp 16491-16498.
- Campion A., Gallo A. R., Harris C. B., Robota H. J., and Whitmore P. M. (1980) "Electronic energy transfer to metal surfaces: a test of classical image dipole theory at short distances". *Chem. Phys. Lett*, Vol. 73, No. 3, pp 447-450.
- Chance R. R., Prock A., and Silbey R., (1976) "Comments on the classical theory of energy transfer. II. Extension to higher multipoles and anisotropic media," *J. Chem. Phys*, Vol. 65, No.3, pp. 2527-2531.
- Decreto N° 2.635 mediante el cual se dicta la Reforma Parcial del decreto N° 2.289, contenido de las Normas para el Control de la Recuperación de Materiales Peligrosos. Gaceta Oficial N° 5.212 (E), 12 de Febrero de 1998.
- Lakowicz J. (1986). *Topics in Fluorescence Spectroscopy. Vol. 2 Principles*. Kluwer Academic Publishers.
- Li X., and Wang Z. (2007). "Determination of mercury by intermittent flow electrochemical cold vapor generation coupled to atomic fluorescence spectrometry". *Analytica Chimica Acta*, Vol. 588, No. 2, pp 179-183.
- Matveeva E. G., Shtoyko T., Gryczynski I., Akopova I., Gryczynski Z. (2008) "Fluorescence quenching/enhancement surface assays: Signal manipulation using silver-coated gold nanoparticles" *Chemical Physics Letters*, Vol. 454, pp 85-90.
- Sánchez U. J. E., and Sanz-Medel A. (1998). "Inorganic and methylmercury speciation in environmental samples". *Talanta*. Vol. 47, No 3, pp 509-524.

Authorization and Disclaimer

Authors authorize LACCEI to publish the paper in the conference proceedings. Neither LACCEI nor the editors are responsible either for the content or for the implications of what is expressed in the paper.