

# **Desarrollo de un medidor portátil para la detección de metales pesados disueltos en medios acuosos utilizando principios de fluorescencia**

***Marco Antonio González Cantellano***

Desarrollo Científico y Tecnológico para la Sociedad, CINVESTAV, Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508, Sn Pedro Zacatenco, C.P. 07360, Teléfono: (55)57473800 ext. 6780  
*mgonzalezg@cinvestav.mx magonzalezcantellano@gmail.com*

***Luis Manuel Montaña Zetina***

Departamento de Física, CINVESTAV, Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508, Sn Pedro Zacatenco, C.P. 07360, Teléfono: (55)57473800 ext. 6153  
*lmontano@fis.cinvestav.mx*

## **Resumen**

Hemos incursionado en el desarrollo de un detector de fluorescencia para determinar, de forma cualitativa y cuantitativa, la presencia de metales pesados que se encuentren disueltos en medios acuosos y que causan problemas de salud pública en nuestro país; iniciando los primeros ensayos con muestras patrón de Hg(II). Las características de innovación de dicho instrumento, a diferencia de los equipos de laboratorio de grandes dimensiones y altos precios, son: costo moderado; los materiales que requiere pueden ser adquiridos en cualquier tienda de electrónica; de operación, ya que no excede las dimensiones de 9 dm<sup>3</sup>; sólo requiere una fuente de 12 volts y algunos reactivos analíticos para la adecuación de la muestra acuosa. La electrónica está conformada por un sensor de fluorescencia, una fuente de emisión de luz UV en el rango de 480-510 nm, un microprocesador y una pantalla sensible al tacto como interface. Estos son todos los elementos de electrónica básica para la propuesta de dicho instrumento.

**Palabra(s) Clave(s):** contaminantes, fluorescencia, metales pesados, quelatos.

## **1. Introducción**

La determinación de metales pesados en medios acuosos, generalmente agua, ha estado regulado por las normas mexicanas desarrolladas a partir de normas norteamericanas y europeas [1,2,3]. Dichas normas aseguran la trazabilidad y repetibilidad de las mediciones para la determinación de dichos contaminantes. Algunas de las características de estos análisis son los de sus costos relativamente elevados y la necesidad de requerir procedimientos de muestreo, conservación y transporte indicado en dichas normas para su posterior examen en laboratorios certificados.

Sin dejar de lado los requerimientos mínimos necesarios para un análisis de calidad en laboratorio, nos hemos propuesto diseñar un detector de contaminantes del tipo metales pesados inicialmente para mercurio, que se encuentren disueltos en medios acuosos y que representan un problema de salud pública. Existen en el mercado, instrumentos de detección de metales que utilizan diferentes y muy variados detectores; todos ellos, equipos de laboratorio de que van de dimensiones significativas y altos costos [4] hasta equipos de mesa para aplicaciones específicas pero de costos relativamente altos [5]. Para el caso de metales en medios acuosos, se utilizan equipos de espectrometría que van desde la absorción atómica, hasta las tecnologías de plasma-masas pasando por el plasma de acoplamiento inductivo. Todas estas tecnologías son meramente de detección espectral; es decir, se detecta y se interpreta el espectro de emisión que una muestra acuosa que previamente fue excitada por una fuente de alta frecuencia (plasma) o por una radiación no ionizante (luz UV).

En una primera instancia, intentamos que dicho instrumento pueda ser utilizado “in situ” sin requerir la conservación y el traslado de muestras. La necesidad de desarrollar dicho equipo surge como una respuesta dada a las comunidades humanas que se encuentran cerca de cuerpos de agua (ríos, lagos, presas) y que son susceptibles de enfermedades derivadas de la mala calidad del líquido que consumen. Aunque existen muchos y muy variados tipos de contaminantes en agua, nos enfocamos a la parte de

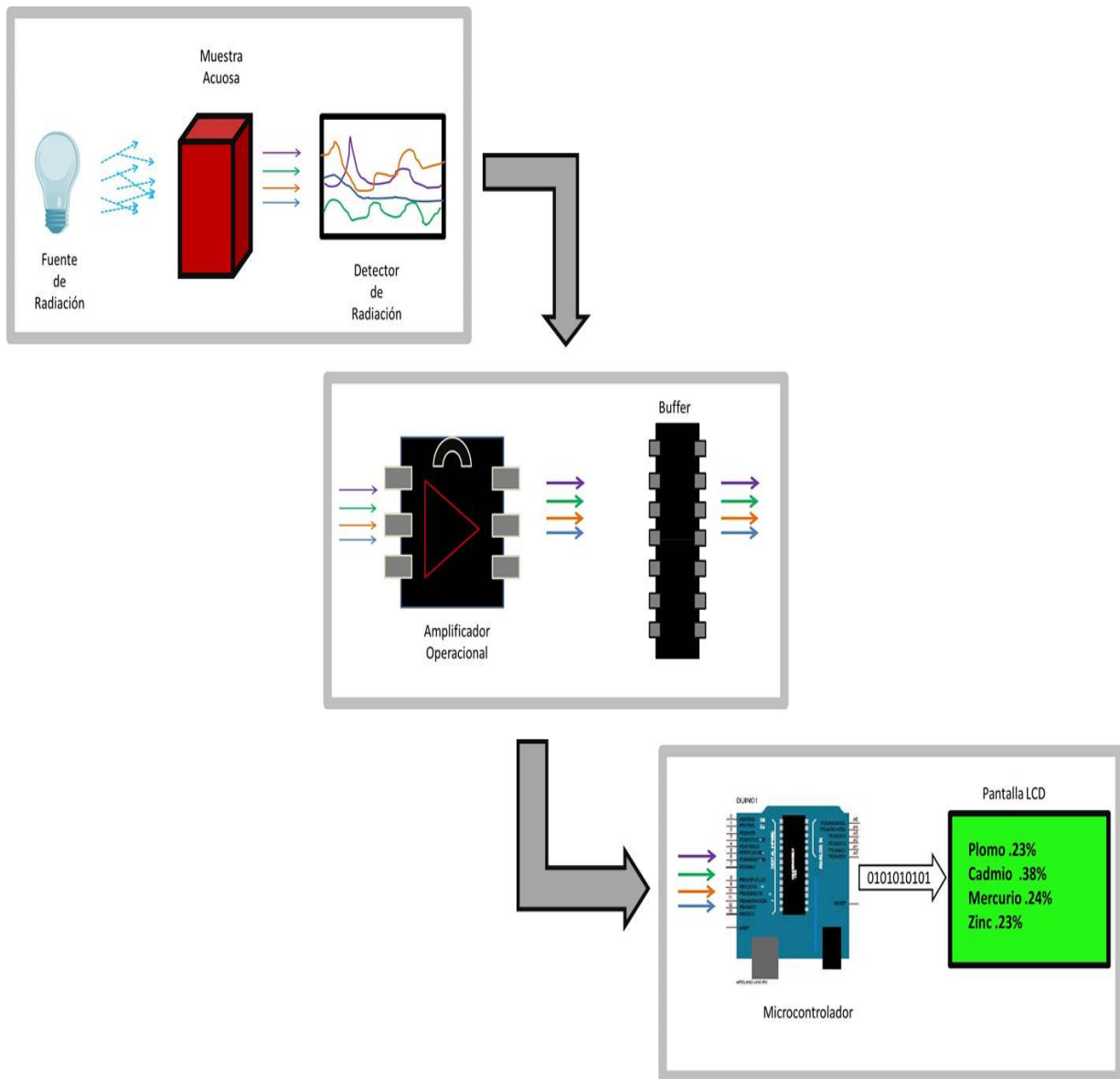
metales pasados ya que estos representan un problema que aqueja a ciertas comunidades del norte del país y, concretamente, a las más cercanas a las industrias petrolera y minero – metalúrgicas.

El desarrollo del prototipo, pensado inicialmente para la rama de análisis de agua, consta de dos fases; el desarrollo de la marcha analítica y el desarrollo del prototipo electrónico. La marcha analítica se basa en la propiedad que tiene la 8-hidroxiquinoleína para conformar quelatos en metales que se encuentran previamente disueltos en medios acuosos [4,5]. Dichos quelatos, al cambiar su conformación espacial, atrapan al metal y adquieren propiedades de fluorescencia cuando es irradiado por una fuente de excitación [5]. El desarrollo del prototipo electrónico está basado en perfilar los mecanismos de control que permitan excitar la muestra con una fuente UV, detectar la fluorescencia generada a partir de un sensor en el rango de los 450-510 nm e interpretarla [6]. En un inicio, comenzamos con un proceso de detección cualitativa; es decir, poder determinar si, a partir de las lecturas de señal medida, podemos revelar o no al contaminante; y en una segunda fase, determinar la cantidad de contaminante presente en dicha muestra.

## **2. Desarrollo**

Se construyeron tres prototipos; cada uno consecuencia de mejoras en el prototipo anterior. Describimos el desarrollo de cada uno y los componentes a manera de módulos que los conforman. En la parte final del desarrollo, se lista una tabla de los diversos módulos que conforman el prototipo final.

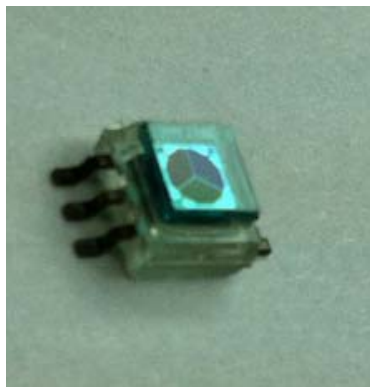
Trabajamos sobre el concepto preliminar de un dispositivo que detecte una emisión de fluorescencia generada por una reacción fisicoquímica iniciada por una fuente UV de alta potencia. Dicha emisión, una vez amplificada, es interpretada por un microcontrolador que, acoplado a una interfaz gráfica (analógica o digital), nos indique cualitativa y cuantitativamente el o los contaminantes presentes en el medio acuso analizado [7,8] (Ver fig. 1).



**Fig. 1. Planteamiento conceptual del dispositivo.**

Utilizamos como dispositivo para la interpretación electrónica, al procesador ATmega 2560 por la versatilidad de sus conexiones; tanto analógicas como digitales. Se programan, como principio inicial en los tres prototipos, tres señales analógicas de entrada, una señal de salida y una interpretación de datos, mismos que son mostrados en una pantalla alfanumérica.

Cómo dispositivo de captura de radiación no ionizante, trabajamos sobre dos propuestas: una fotoresistencia de sulfuro de cadmio (CdS) que genera señales de respuesta en el rango de 1.2 a 3.5 Volts, y un detector de radiación de ferricianuro de sílice ( $\text{SiFe}(\text{CN})_2$ ) de tres canales de alta sensibilidad que trabaja en el rango de 0.1 a 0.6 mV (ver Fig. 2).



**Fig. 2. Sensor de  $\text{SiFe}(\text{CN})_2$  de tres canales.**

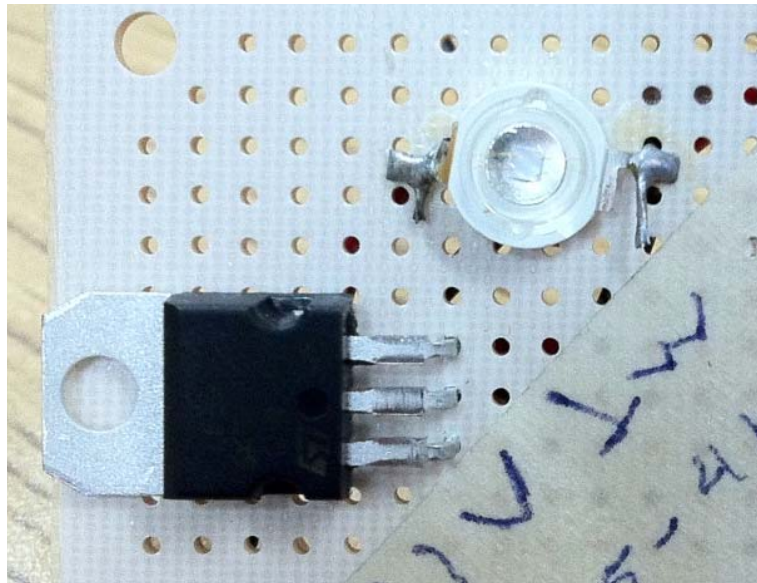
Como la interacción luz – materia es compleja, una fuente de longitud de onda corta nos puede proporcionar mayor eficiencia cuántica para la detección. Sin embargo, las posibilidades de que dicha energía se convierta en calor, son muy altas. Es por ello que, una vez determinada la longitud de onda en la que nuestro analito puede ser excitado, es necesario medir las respuestas de fluorescencia generadas [9,10,11]. Esto nos lleva a la necesidad de encontrar las diferentes respuestas que tienen diferentes fuentes de longitud de onda [12].

Previo a la definición del tipo de fuente a utilizar, se tomaron lecturas con LED's de diferentes longitud de onda; todas de 1 watt de potencia (ver Tabla 1).

Longitud de onda del LED	Voltaje de operación	
	Min	Max
375 – 380 azul	3.8	4.5
405 – 410 azul	3.8	4.5
420 azul	3.5	4.0
490 – 540 verde	2.0	3.5
550 – 600 amarillo	2.5	3.5

**Tabla 1. LED's utilizados como fuente de emisión.**

Los LED's presentan la misma conformación física. Es necesario, por las necesidades de su consumo y por seguridad para no estropearlo, regular el voltaje de entrada a los rangos máximos indicados en la tabla 1. Todos los LED's usados en este prototipo son montados sobre una base estándar para regular el voltaje (Fig. 3).



**Fig. 3. LED UV del rango de 405 – 410 nm.**

Se reciben tres señales de tipo analógico con rangos de 0.003 a 2.7 volts; una por cada rango de detección. Todo el dispositivo es alimentado con por una fuente de 5 volts para un consumo de 0.6 amps.

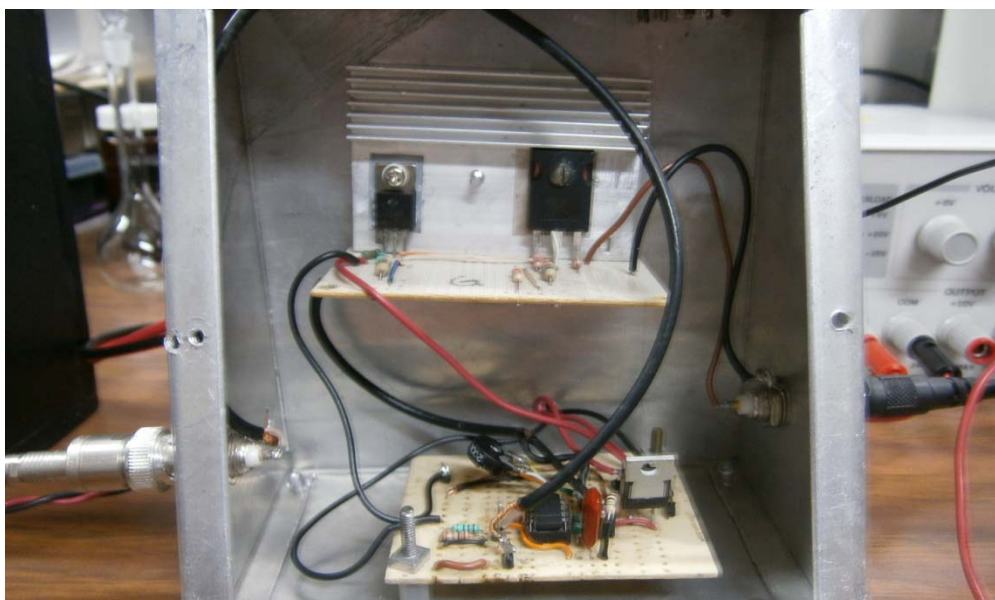
El contenedor de la muestra acuosa se monta sobre una base donde se instalan tanto el detector como la fuente de emisión. Dicho contenedor se prefiere totalmente oscuro y sin superficies reflejantes (fig.4).



**Fig. 4. Primer prototipo con celda para probeta de muestra, LED UV y detector.**

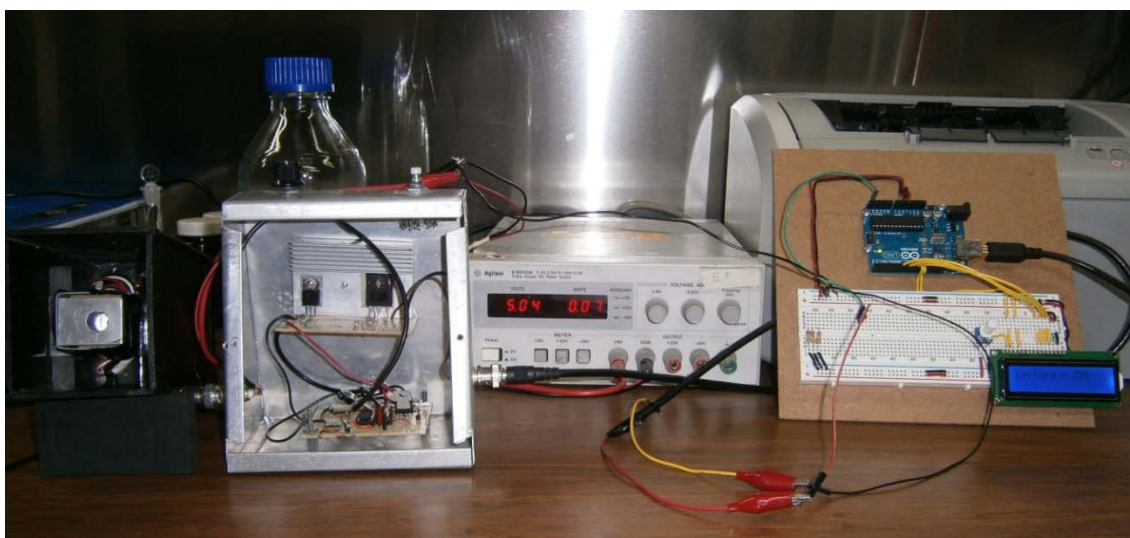
La señal del detector es llevada a la electrónica de amplificación, que a su vez, está habilitada por un buffer para evitar caídas de tensión. Todo ello se encuentra alimentado por una fuente de 5 volts (fig. 5).





**Fig. 5. Circuito con amplificador operacional y buffer para caídas de tensión.**

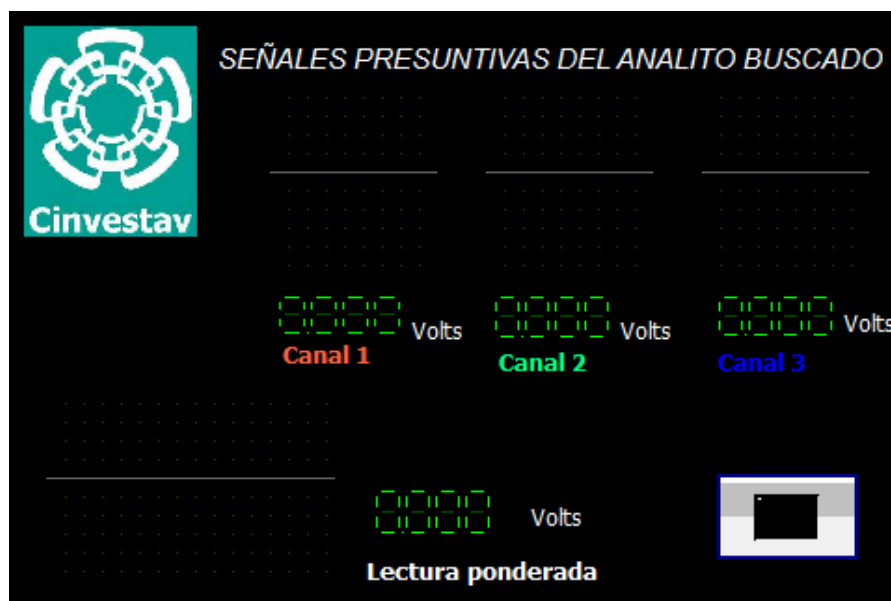
La señal, una vez amplificada y estabilizada, es llevada a la electrónica de interpretación que nos permite obtener una lectura presuntiva (en una primera fase) del analito buscado; esto como un primer prototipo (fig. 6).



**Fig. 6. Prototipo 1 completo, incluyendo sistema de adquisición de datos y pantalla analógica.**



El segundo prototipo mejorado incluye una interface gráfica de control y de interpretación de datos. Se utiliza, como interface de comunicaciones, una pantalla sensible al tacto de 8.5 por 6 cm alimentada con 5 volts con dos canales de transmisión y recepción de datos desde el micro controlador. Dicha pantalla es programada y configurada para apagar y encender el equipo, para detectar las tres señales en los tres rangos posibles y para dar lectura a la señal más intensa previamente ponderada (ver fig. 7)



**Fig. 7. Modelo previo de diseño de interface para control del dispositivo.**

La electrónica mejorada incluye un filtro en la señal y la posibilidad de intercambiar las fuentes de emisión en diferentes rangos de longitud de onda en el UV, pero no las fuentes de detección; es decir, estamos dejando fija la fuente de detección ya que, para este segundo prototipo, no hemos considerado intercambiar el fotodetector por algún otro con mejor respuesta. También no consideramos aún un cambio o mejora en la celda de detección que contiene, además de la fuente de emisión y al fotodetector, la probeta con la muestra previamente tratada (fig. 8).



**Fig. 8. Prototipo 2 con pantalla sensible al tacto como interface.**

Como parte de las mejoras en el diseño y la programación, recogemos en la interface gráfica, las señales de los canales utilizados para la lectura de la fluorescencia emitida por la muestra. Se toma como predominante a aquella señal de mayor potencia y se compara, estadísticamente, con los demás canales; obteniendo así, una señal ponderada (fig. 9).

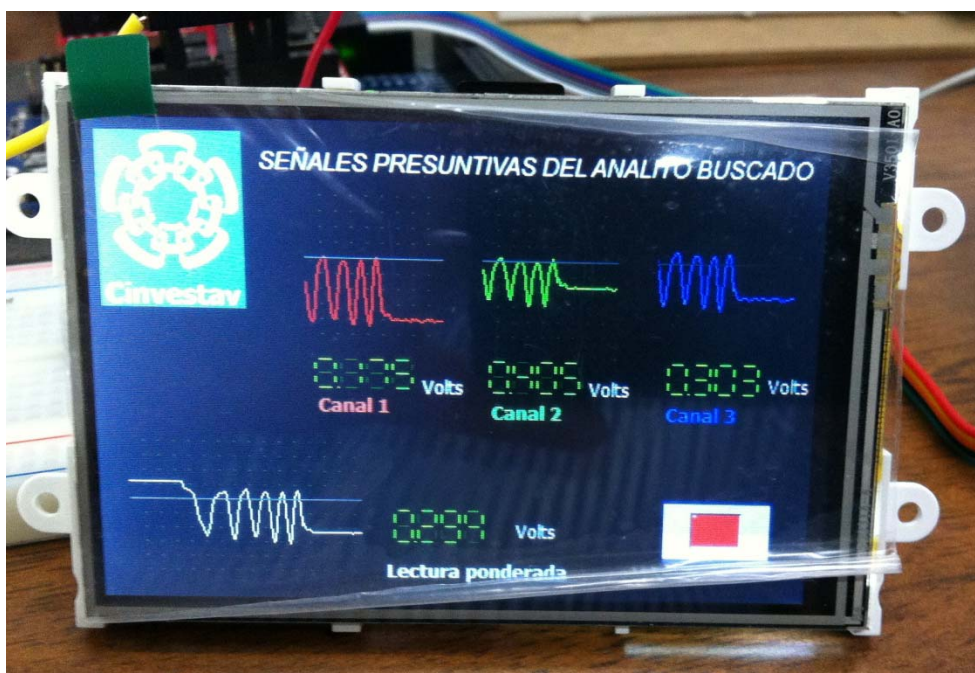
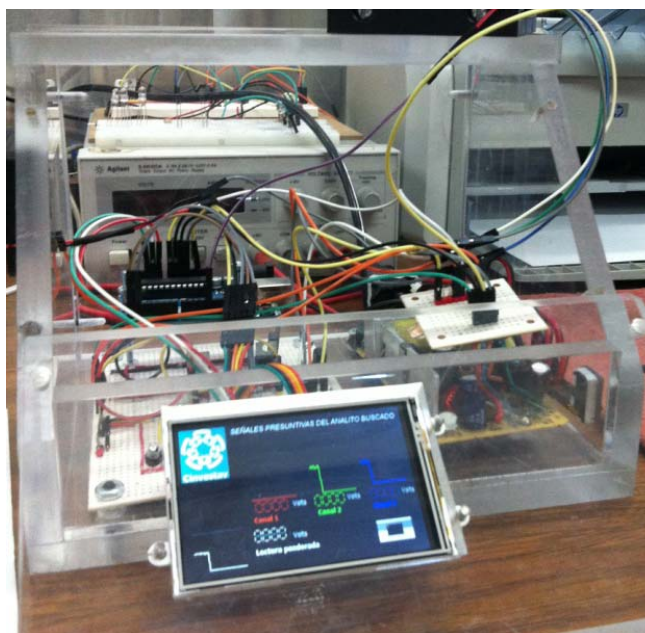


Fig. 9. Interface activa; tres canales y señal ponderada.

El tercer modelo de desarrollo del prototipo se derivó en dos fases; la primera consistió en la adecuación y mejoramiento de la electrónica desarrollando una fuente de poder bipolar de 12 y 5 volts (fig. 10), así como el arreglo dimensional en lo que ahora es la estructura física del instrumento (fig. 11).



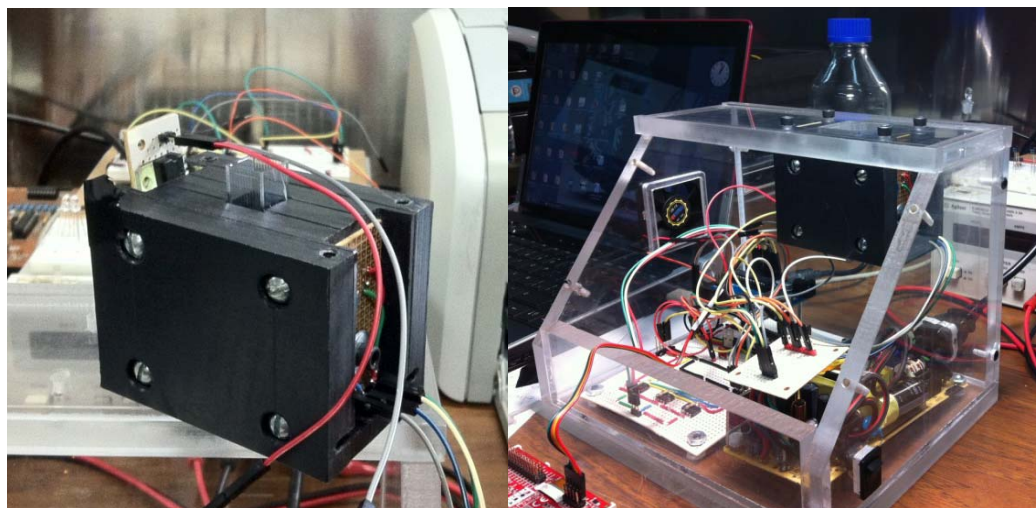
Fig. 10. Fuente de alimentación bipolar de (+/-) 5 y 12 volts.



**Fig. 11. Arreglo dimensional de la estructura física del dispositivo.**

La segunda fase consistió en el desarrollo de una nueva celda de detección; la cual cuenta con la peculiaridad de poder intercambiar tanto el detector como la fuente de emisión UV. Dicha celda se concibió como un cuerpo negro con la menor superficie reflejante y con el espacio necesario para la introducción de la muestra contenida en una probeta cúbica (fig 12).



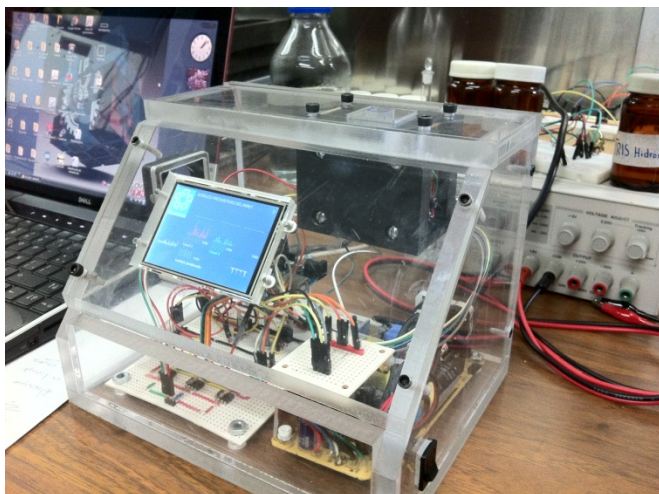


**Fig. 12. Celda de detección con fuente de emisión, detector y ranura porta probeta. Fuera del instrumento (a), y empotrado en el mismo (b).**

Finalmente, la conjugación de todas las fases nos da como resultado el tercer prototipo terminado. Esta versión del instrumento engloba: fuente de poder regulada bipolar, electrónica de emisión y control de radiación UV, celda de emisión UV - detección de fluorescencia UV, electrónica de recepción – amplificación de señal y microprocesador de detección e interpretación de señal (ver tabla 2). Todos estos elementos, a excepción de la fuente bipolar regulada, están controlados por la pantalla sensible al tacto que funciona como interface entre el usuario y el instrumento (fig. 13).

<b>Módulos construidos</b>	<b>Aplicación</b>
Fuente bipolar (+/-) 5 y 12 volts	Suministro y regulación de energía
Electrónica de emisión y radiación UV	Suministro de radiación UV no ionizante con control de intensidad
Celda de emisión UV – detección fluorescencia	Zona de emisión de radiación UV hacia la muestra acuosa y de detección de fluorescencia generada por el analito buscado.
Electrónica de recepción – amplificación de señal.	Recepción de la señal emitida y potenciada mediante amplificadores operacionales.
Sistema de microprocesador – interpretación de señal	Recibe la señal amplificada y, mediante un algoritmo previamente programado, interpreta la señal.
Interfaz gráfica	Control del instrumento y presentación gráfica de los resultados.

**Tabla 2. Módulos que componen al 3er prototipo.**



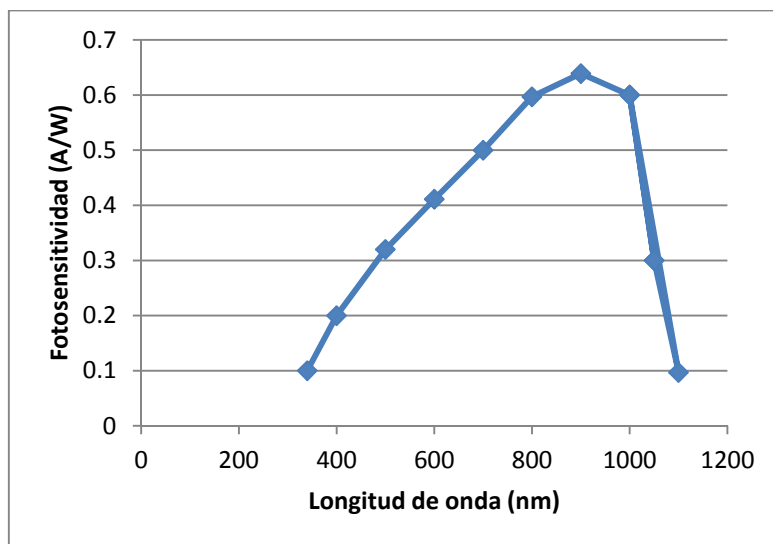
**Fig. 13. El prototipo No. 3. (a) Armado y operando y (b) con la radiación UV no ionizante incidiendo en la probeta con la muestra.**

Las pruebas de detección cualitativa y cuantitativa para el Hg(II) se realizaron desde la puesta en marcha del 1er prototipo. La evolución en el diseño y mejora en la electrónica de detección se concentraron en el desarrollo de modelo de la interfaz gráfica de control y en la celda de detección, misma que presentó mayor complejidad en su diseño debido a la necesidad de contar con espacios no reflejantes y con una alineación entre emisor – muestra – detector lo más precisa posible. Esto se logró midiendo las desviaciones en las lecturas de salida del detector con respecto a la posición horizontal del emisor. En este sentido, la muestra no requiere ajuste en cuanto a su ubicación, ya que se encuentra fija en la parte central de la celda, y la radiación incide sobre una sección horizontal de la misma.



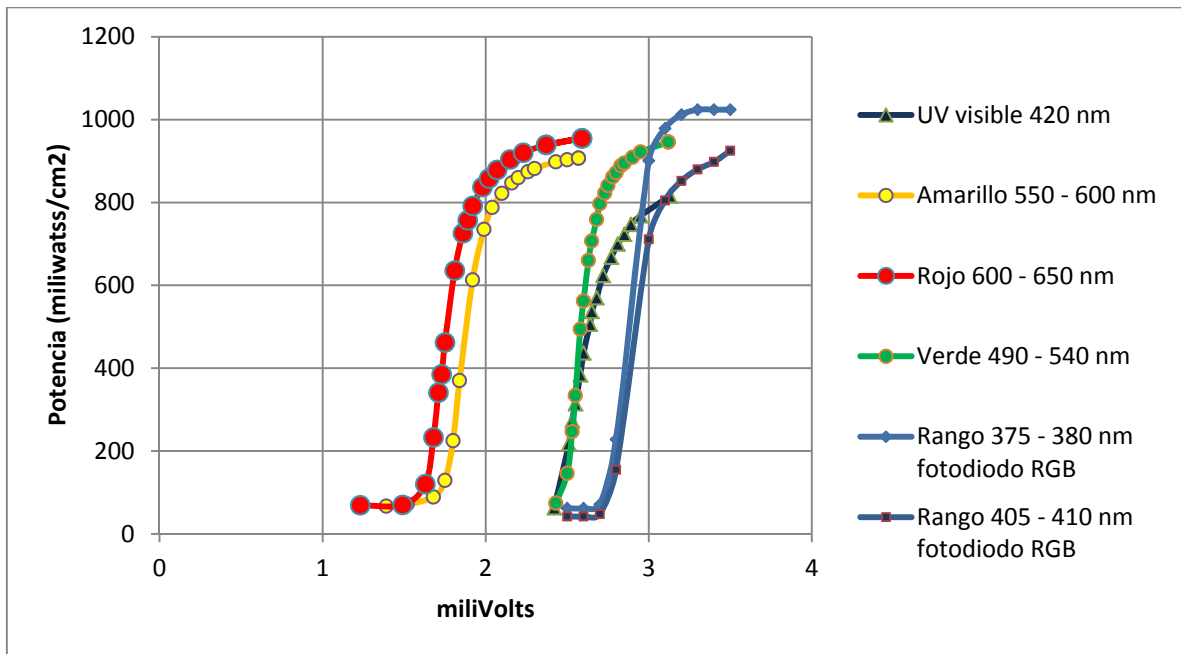
### 3. Resultados

Para el caso del sensor de tres canales que utiliza como sustrato sílice, medimos su respuesta espectral debido a que las muestras presentan emisión para rangos de longitud de onda entre 300 a 520 nm (ver fig. 14).



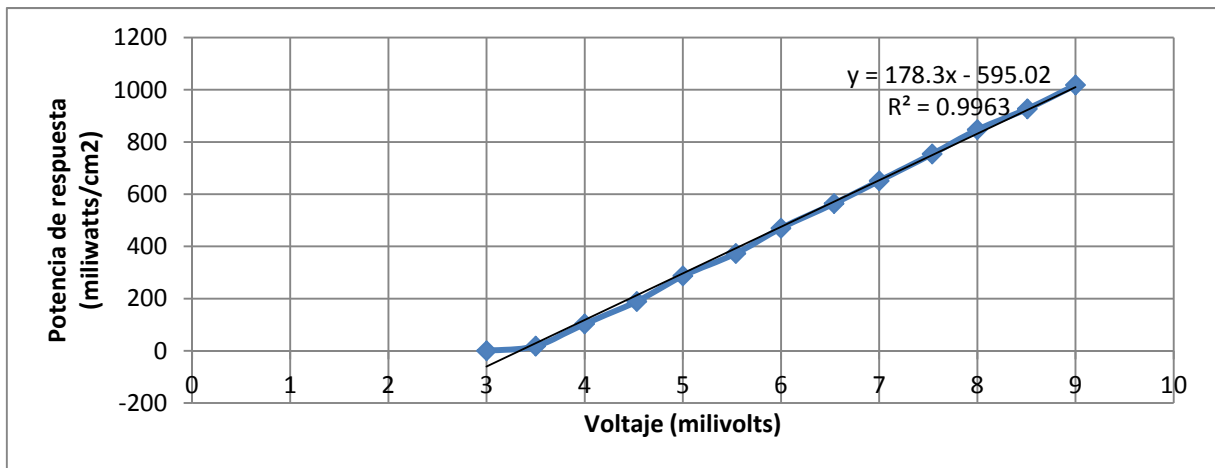
**Fig. 14. Respuesta espectral del detector de  $\text{SiFe}(\text{CN})_2$ .**

Utilizando diferentes fuentes de emisión de 1 watt, observamos una respuesta consistente para el detector de tres canales con rangos de alimentación de 1.75 a 3.70 miliVolts, con salidas de potencia entre 100 y 1100 miliWatts por centímetro cuadrado. Para el caso de la generación de fluorescencia, requerimos mayor energía para poder excitar la muestra formada por el quelato metálico y la 8-hidroxiquinoleina. Nuestras opciones se acercan más a la utilización del LED en los rangos de 375 a 410 nm (ver fig. 15).



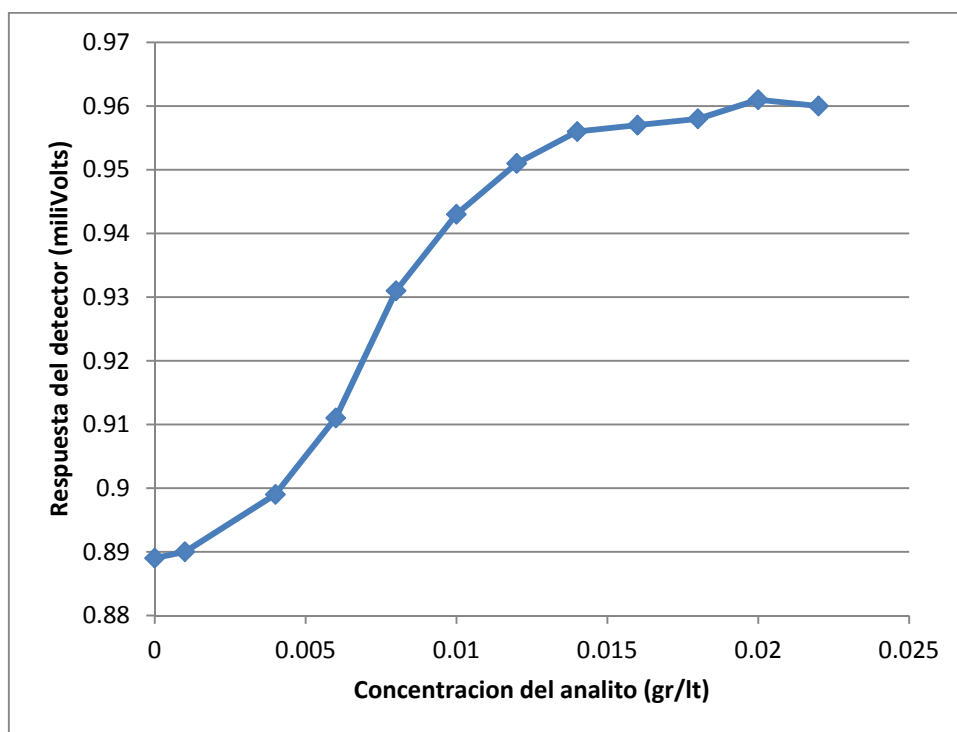
**Fig. 15. Respuesta del fotodiodo para diversos tipos de fuente de emisión.**

Esperamos una respuesta consistente para el fotodiodo de tres canales la cual no requiera ajustes o transformaciones logarítmicas que nos obliguen llevarlo a una transformación lineal. Para este caso, la respuesta experimental es muy consistente con mínimas desviaciones y con una R de 0.993 (ver fig. 16).



**Fig. 16. Respuesta del fotodiodo para rangos de 3 a 9 miliVolts.**

Con una concentración conocida de Hg patrón, disuelto  $\text{HNO}_3$  y preparado con diferentes diluciones para generar muestras de diferentes concentraciones (0 a 0.024 gr/lit) se procedió a la formación de los quelatos con solución de 8-hidroxiquinoleína ajustado todo a un pH de 8.5 con solución buffer y con la adición de Tris-hidroxiaminometano. Una vez estabilizado, se procedió a la lectura en el aparato obteniendo la siguiente curva de concentraciones para una repetibilidad de 8 pruebas en días diferidos con el mismo analista (ver fig. 17).



**Fig. 17. Concentración vs respuesta del detector.**

No realizamos pruebas de reproducibilidad porque el instrumento aún se encuentra en fase de pruebas. Las reacciones con los diferentes analitos presentan variaciones pero, en general, los resultados en la repetibilidad de muestras patrón es consistente. Sin embargo, estamos a la espera en la adquisición de algunos reactivos que nos permitan llevar a cabo más pruebas, tanto de reproducibilidad como de repetibilidad para el caso del Hg. Es claro, por la información recopilada en cuanto a la fluorescencia que

presentan algunos metales que son sometidos a un cierto tratamiento químico previo, que podemos ampliar la aplicabilidad del instrumento hacia la detección de otros metales disueltos en medios acuosos [13]. En este sentido, sabemos que el instrumento es capaz de detectar emisiones de fluorescencia en los rangos espectrales de 360 a 500 nm. Sin embargo, desarrollar la metodología para la marcha analítica de detección es la fase más sensible en cuanto a la utilidad total del instrumento. Para esto, requerimos de toda una batería de reactivos de calidad “Grado Analítico” para la preparación de muestras patrón; que en conjunto representan una inversión considerable. En este sentido estamos en espera de presupuesto para ello. A la par, estamos considerando desarrollar una versión mejorada y más robusta del 3er prototipo para una gama de por lo menos tres metales; a saber: Cadmio, Plomo y Cobre, cuyos espectros de emisión pueden ser recogidos por el fotodetector; y que sabemos representan problemas de contaminación en cuerpos de agua [14,15]. Con esto, es posible realizar métodos de identificación de contaminantes susceptibles de ser removidos de los lugares donde generan problemas de salud pública [16,17].

#### **4. Conclusiones**

Al lograr detectar emisiones de fluorescencia para Hg por rangos entre 0.004 a 0.025 gl/lit estamos más cerca de enfatizar la utilidad de dicho instrumento. El abanico de fluorescencias que el sensor puede detectar, potenciado por el amplificador operacional, nos asegura una aplicabilidad para la detección de metales disueltos en agua con un precio bajo y, sobre todo, con el elemento de portabilidad de que dispone el aparato. Hemos pensado en utilizar una batería de detectores de rango mayor (410 - 950 nm) y de alta sensibilidad para así abarcar un mayor espectro de emisión que permitiría detectar otros compuestos quelados sensibles a la 8-hidroxiquinoleína; aunque esto no es privativo de este compuesto. Cualquier quelante capaz de generar fluorescencia al cambiar su conformación electrónica, es candidato a ser usado para medir cualitativa y cuantitativamente un compuesto previamente disuelto o tratado. El aparato, al ser capaz de detectar una fluorescencia con una electrónica de bajo costo,

podrá convertirse en un instrumento versátil para toda aquella muestra inorgánica u orgánica susceptible de ser cuantificada por métodos espectrométricos en el rango del ultravioleta al de luz visible. La portabilidad del instrumento, que es el mayor valor agregado que le damos, nos permite visualizar su aplicación directamente en el lugar donde sean necesarios estudios ambientales que requieran soluciones inmediatas para resolver una problemática de contaminación en agua. Este instrumento no pretende sustituir a los estudios realizados con mayor profundidad por centros y laboratorios certificados, sin embargo, estamos seguros que es una opción viable para análisis presuntivos en cuerpos de agua. Sus posibilidades, las comenzamos a explorar.

## 5. Referencias

- [1] Norma Oficial Mexicana NMX-AA-051-SCFI-2001. Análisis de Agua – Determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas – Método de prueba. SEMARNAT. 2001.
- [2] Water Analysis Handbook. 3ra edition. 2005. HATCH. Colorado. USA.
- [3] L. Clesceri, A. E. Greenberg, A. D. Eaton. Methods for the examination of water and wastewater. 20<sup>th</sup> edition. 2008. Oxford Academic Press. 1475 pp.
- [4] J. R. Lakowicz, Principles of Fluorescence Spectroscopy. 2006. Springer-Verlag. 954 pp.
- [5] IOE-CP Spectrometers. <http://www.spectro.com/products/optical-emission-spectroscopy-metal-analyzer/trace-metal-analysis-spectrolab>. Marzo 2015.
- [6] Fluorescence Method Development. <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/113591-Handbk-FLD-3000-Method-Develop-AN7>. Mayo 2015.
- [7] H. Zhang, Qiang-Li, Y. Jiang, “8-Methoxyquinoline based turn-on metal fluoroionophores”. Tetrahedron Letters. No. 48. 2007. 3959 – 3962 pp.

- [8] B. Valuer, J. C. Brochon. *New Trends in Fluorescence Spectroscopy. Applications to Chemical and Life Sciences*. Springer-Verlag. Berlin. 2001. 496 pp.
- [9] K. Soraka, R. S. Vithanage, D. H. Phillips, "Fluorescence Properties of Metal Complexes of 8-Hydroxyquinoline-5-sulfonic Acid and Chromatographic Applications". *Anal. Chem.* No. 59. 1997. 629 – 636 pp.
- [10] L. García-Colín, L. Dagdug y M. Picquard, *Introducción a la Física Biológica*. El Colegio Nacional. 2010. 1295 pp.
- [11] Yan Zhou, Yan-Bin Jou, "Combined Toxic Effects of Heavy Metals and Antibiotics on a *Pseudomonas fluorescens* Strain ZY2 Isolated from Swine Wastewater". *International Journal of molecular sciences*. No 16. 2015. 2839-2850 pp.
- [12] A. Requena, J. Zuñiga, *Espectroscopia*. 2005. Prentice Hall. 731 pp.
- [13] E. Hecht, *Óptica*. (2000). Addison Wesley. 702 pp.
- [14] Salem Muhammad, Lee Ki-Hwam, "Selective fluorescence detection of  $\text{Cu}^{2+}$  in aqueous solution and living cells". No. 145. 2014. 843-848 pp.
- [15] Jun Tan, Xiaoyan Wei, "The construction, characterization, Hg(II)- sensing and removal behavior of magnetic core-shell nanospheres loaded with fluorescence Off – On probe". *Spectrochimica Acta*. No. 133. 2014. 410-413 pp.
- [16] Chunchang Zhao, Kaibin Li, "Deprotonation and chelation synergically triggered near infrared fluorescence for selective detection of Hg(II)". *Journal of Photochemistry and Photobiology*. No. 250. 2014. 72-76 pp.
- [17] Li Huang, Congming Xiao, Bingxia Chen, "A novel starch-based adsorbent for removing toxic Hg(II) and Pb(II) from aqueous solution". *Journal of Hazardous Materials*. No. 192. 2014. 832-836 pp.

## **6. Autores**

Ing. Marco Antonio González Cantellano, es Ingeniero Químico Industrial egresado de la ESIQIE del IPN. Estudiante de doctorado en el programa DCTS (Desarrollo Científico y Tecnológico para la Sociedad) investiga y desarrolla dispositivos espectrométricos y de radiación con aplicaciones en las áreas de diagnóstico médico y ambiental.

Dr. Luís Manuel Montaña Zetina. Obtuvo su maestría y doctorado en Física en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Trabaja en el desarrollo de instrumentación para detección de altas energías y aplicaciones para Física Médica. Desde 1999 hasta la fecha, forma parte del grupo mexicano que trabaja en el experimento ALICE del “Large Hadron Collider” (LHC) en el CERN. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores (SNI Nivel 2) desde el 2001 y de la Academia Mexicana de Ciencias desde el 2007.