

Determinación de metales pesados en aguas residuales mediante la implementación de biosensores ópticos.

Determination of heavy metals in wastewater through the implementation of optical biosensors.

Daniel Santos Ubaldo, Valentín López Gayou, Stephane Pastrana Cruz, Raúl Delgado Macuil.

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, ExHacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac Tepetitla, Km 1.5 Tlaxcala, Centro, 90700, México, Tlaxcala.

Palabras Clave

Aguas residuales, Metales pesados, contaminación ambiental, biosensores ópticos.

Key Words

wastewater, heavy metals, optical biosensors.

Introducción

En los últimos años la calidad del agua se ha vuelto un tema de vital importancia a nivel nacional y mundial, el aumento de la población y las actividades de la misma produce grandes variedades y cantidades de desechos químicos, la deposición continua de sustancias orgánicas peligrosas afecta la biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos (Eltzov, et.al., 2015; Gosset, Ferro, & Durrieu, 2016). En México en el 2019 la red de agua superficial estuvo constituida por 2,764 sitios. Los resultados mostraron una calificación de excelente para 42.6% de los sitios considerando DBO₅, 15.8% para DQO, 61.7% para SST, 28.0% para CF, 40.8% para E_COLI, 85.4% para ENTEROC, 44.2% para OD%. El resto de los sitios obtuvieron una calificación que varió de buena calidad a fuertemente contaminada. En el caso de toxicidad 90.4% de los sitios no presentaron toxicidad, para el caso de agua subterránea se evaluaron 1272 sitios de los cuales el 44.7% de los sitios se catalogaron con color rojo presentando incumplimiento en uno o varios de los siguientes parámetros: Fluoruros, Coliformes Fecales, Nitrógeno de Nitratos, Arsénico Total, Cadmio Total, Cromo Total, Mercurio Total y Plomo Total (CONAGUA, 2019). Los metales pesados existen ampliamente en estos ambientes contaminados. Por ejemplo, muchos lugares están considerablemente contaminados con cromo de las aguas residuales de las curtidurías. En estas áreas, el cromo existe tanto en la forma hexavalente como en la trivalente. Las plantas que crecen en tales áreas pueden acumular iones de cromo. Estos iones tienen ciertos niveles de umbral para las funciones esenciales del organismo vivo y del hombre, pero provocan acciones tóxicas si se superan los niveles de tolerancia (Ntihuga, 2006). Los métodos analíticos para determinación de metales pesados están basados en la norma mexicana NMX-AA-051-SCFI-2001 la cual establece que el “método para la determinación de metales por espectrofotometría de absorción atómica en aguas naturales, potables y residuales se basa en la generación de átomos en estado basal y en la medición de la cantidad de energía absorbida por estos, la cual es directamente proporcional a la concentración de ese elemento en la muestra analizada”, el método anterior es un método eficiente que puede detectar casi todos los

metales pesados, sin embargo, es un método muy complejo debido a que las muestras a analizar necesitan un tratamiento químico antes de meterlas al espectrofotómetro. Además, por las dimensiones del equipo es imposible realizar mediciones in situ (Chávez Vallarino, 2011). Los biosensores, debido a su simplicidad y selectividad resultan muy prometedores para el control de la contaminación ambiental, especialmente por metales pesados (Biswas, et.al., 2017; Ntihuga, 2006; Yu, et.al., 2017).

Un biosensor es un dispositivo analítico que consiste de un elemento de reconocimiento biológico (ERB) inmovilizado en una matriz o soporte (transductor), el cual convertirá la señal bioquímica producida por la interacción del ERB con el analito, en una señal detectable y hasta cuantificable. La aplicación de técnicas ópticas y el tipo de ERB utilizado, para determinar la presencia de metales pesados han sido muy variadas, desde el uso de aptameros, enzimas y genes como elementos de reconocimiento biológico, y la determinación por medio de técnicas de fluorescencia, colorimetría, resonancia del plasmón superficial aplicando espectroscopia de infrarrojo y Raman (Schafer, et.al., 2018; Jaskulak, et.al., 2018; Forzani, et.al. 2005; Zhou, J., et.al., 2018; Verma, N. & Singh M., 2005, Mehrvar, M., & Abdi, M. 2004; Thirugnanasambandan, T., 2018).

En este trabajo mostramos el desarrollo de biosensores ópticos, de tipo enzimático; para la determinación de metales pesados en aguas, aplicando técnicas de espectroscopia vibracional de infrarrojo y Raman.

Materiales y métodos

Se utilizaron obleas de silicio cristalino con orientación con un grosor de 254 – 304 μm y una resistividad de 5 – 10 Ω cm. Las obleas se cortaron en soportes de 3-5 mm^2 . Posteriormente se hidroxilo la superficie de la cada oblea, la disolución para la hidroxilación de las matrices consistió en 15 ml de agua desionizada y 15 ml de metanol, al cual se le agregaron 844 mg de KOH en lentejas (1 M). La disolución fue colocada en una caja Coplin, donde se introdujeron soportes previamente cortados y lavados con la superficie pulida hacia arriba. Se dejaron hidroxilar durante una hora, posteriormente se sacaron, se enjuagaron 3 veces con chorros de 5 ml de metanol y se secaron bajo el flujo de nitrógeno. Posteriormente se funcionalizo la superficie de la matriz para dejar grupos funcionales activos, para esto se colocaron 29.4 ml de tolueno, se tapó con aluminio y se calentó usando una parrilla eléctrica hasta llegar a 90 $^{\circ}\text{C}$, momento en que se agregaron 600 μl de 3-AMPTS y se retiró de la parrilla. Se permitió que la mezcla descendiera su temperatura hasta 30 $^{\circ}\text{C}$, una vez llegada a esta temperatura, se vertió en una caja Coplin y se colocaron soportes previamente hidroxilados con la cara pulida hacia arriba. Se dejó funcionalizar durante dos horas, posteriormente se extrajeron los soportes y se enjuagaron tres veces con chorros de 5 ml de tolueno.

Como elemento de reconocimiento biológico se utilizaron las enzimas *L lactato deshidrogenasa* y *urease*. Los metales a determinar fueron Hg, Pb, Cu, Cd y Cr, todos estos reactivos adquiridos en Sigma-Aldrich. La concentración de metales en el agua fue de 0.1 μgL^{-1} a 1000 mgL^{-1} .

Resultados

En la figura 1 se muestra de manera representativa los resultados obtenidos para la determinación de tres de los metales utilizados. Los espectros de nuestros sistemas acuosos mostraron diferencias tanto con el tipo de metal como en función de la concentración de éste, aquí es posible observar perturbaciones en la región OH y de tijereteo de acuerdo con la concentración de metal. Estas modificaciones en las

intensidades y geometría de las bandas fueron perceptibles incluso a concentraciones tan bajas como $0.1 \mu\text{gkg}^{-1}$.

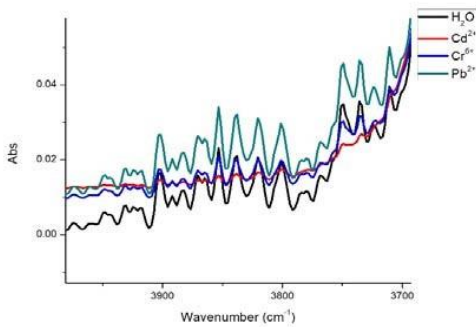


Figura 1b. Espectro de infrarrojo de Cd²⁺, Cr⁶⁺ and Pb²⁺ a $0.1 \mu\text{gkg}^{-1}$ en la región de estiramiento de OH ($4000\text{--}3750 \text{ cm}^{-1}$)

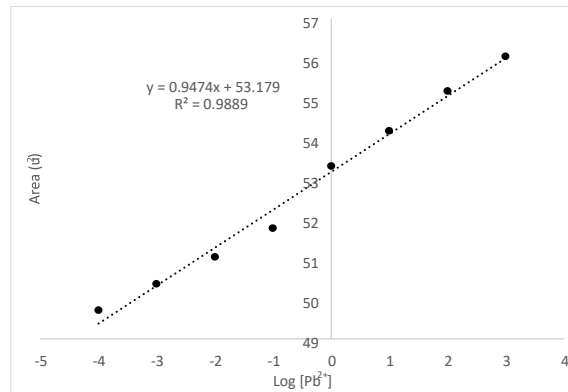


Figura 2. Relación lineal entre el área bajo la curva y la concentración de log [Pb²⁺] en solución acuosa.

Estas modificaciones observadas por nosotros pueden ser atribuidas a las interacciones entre cationes con grupos nucleofílicos afectando el movimiento vibracional de la molécula del agua, ya que la introducción de cationes de metales pesados en la estructura de los sorbentes utilizados provocó la modificación de las intensidades de banda debido a las vibraciones de estiramiento de los grupos OH y grupos aniónicos. En ambos casos, los cambios sistemáticos se relacionaron con el tipo de catión (su naturaleza química) y su concentración en la solución inicial.

Tratando de establecer una relación cuantitativa entre la concentración del metal pesado y algún parámetro observado, se calculó el área bajo la curva en la región de tijeo (2007–1305 cm^{-1}) de cada metal en función de su concentración; en la figura 2 se presenta la relación lineal entre la concentración del plomo y su absorbancia para fines de cuantificación. Este mismo procedimiento se realizó para el resto de metales utilizados en este proyecto.

Conclusiones

Mediante la aplicación de biosensores ópticos utilizando enzimas como elemento de reconocimiento biológico, se logró determinar la presencia de metales pesados en soluciones acuosas y por la correlación de los valores de absorbancia se lograron generar curvas de calibración para la futura cuantificación de estos metales. La técnica de espectroscopia de infrarrojo fue la más adecuada para lograr observar la presencia de los metales pesados y futuros experimentos son necesarios para poder observar el funcionamiento de los dispositivos biosensor aplicando el fenómeno del plasmón superficial generado por la inclusión de las nanopartículas de oro.

Referencias

- Biswas, P., Karn, A. K., Balasubramanian, P., & Kale, P. G. (2017). Biosensor for detection of dissolved chromium in potable water: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 94(November 2016), 589–604. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.03.043>
- Chávez Vallarino, C. (2011). Detección de Metales Pesados en Agua. *Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica*, 2.
- CONAGUA. (2019, Septiembre 20). CONAGUA. Retrieved from CONAGUA: <https://www.gob.mx/conagua/articulos/calidad-del-agua>.
- Eltzov, E., Slobodnik, V., Ionescu, R. E., Jaskulak, M., Rorat, A., Grobelak, A. Kacprzak M. Marks, R. S. (2015). On-line biosensor for the detection of putative toxicity in water contaminants. *Talanta*, 132, 583–590. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.09.032>
- Forzani, E., Zhang, H., Chen, W. & Tao, N. detection of heavy metals ions in drinking water using a High-resolution differential surface plasmon resonance sensor. *Environmental, Science technology*. 39, 1257-1262. <https://doi.org/10.1021/es049234z>.
- Gosset, A., Ferro, Y., & Durrieu, C. (2016). Methods for evaluating the pollution impact of urban wet weather discharges on biocenosis: A review. *Water Research*, 89, 330–354. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.020>
- Jaskulak, M., Rorat, A., Grobelak, A. Kacprzak M. Antioxidative enzymes and expression of rbcl gene as tools to monitor heavy metals -related stress in plants. *Journal of Environmental Management*. 218, 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.052>
- Mehrvar, M., & Abdi, M. (2004). Recent developments, characteristics, and potential applications of electrochemical biosensors. *Analytical Sciences*, 20(8), 1113–1126. <https://doi.org/10.2116/analsci.20.1113>
- Ntihuga, J. N. (2006). Biosensor to Detect Heavy Metals in Waste Water. In *Proceedings from the International Conference on Advances in Engineering and Technology*. <https://doi.org/10.1016/b978-008045312-5/50018-2>
- Schafer M., Brauler V. & Ulber R. Bio-sensing of metal ions by a novel 3D-printable smartphone. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 255 1902-1910. <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.20170080207>.
- Thirugnanasambandan, T. (2018). Functionalization on sensing surfaces for efficient biomolecular capturing. In *Nanobiosensors for Biomolecular Targeting*. <https://doi.org/10.1016/B978-012-813900-4.00003-8>.
- Verma, N. & Singh M. Biosensors for heavy metals. *Bio Metals*.18, 121-129. DOI 10.1007/s10534-004-5787-3.
- Yu, D., Bai, L., Zhai, J., Wang, Y., & Dong, S. (2017). Toxicity detection in water containing heavy metal ions with a self-powered microbial fuel cell-based biosensor. *Talanta*, 168(December 2016), 210–216. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.048>.
- Zhou, J., Wang, Y., Zhang, L. & li. W. Plasmonic biosensing based on non-noble metal materials. *Chinese Chemical letters*. 29, 54-60. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccllet.2017.09.003>.