

Desarrollo de un sistema para la determinación de mercurio basado en resonancia plasmónica de superficies

Jimmy Castillo^{1,2}, Jean Carlos Pérez², José Chirinos¹

¹Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Caracas, Venezuela.

²Universidad Nacional Experimental "Sur del Lago". Santa Bárbara de Zulia, Venezuela.

RESUMEN

Las especies de mercurio son compuestos potencialmente tóxicos y pueden estar presentes en los reservorios de aguas y demás muestras ambientales. Generalmente, el mercurio se encuentra como Hg(II), el cual puede combinarse tanto con ligandos orgánicos como inorgánicos y puede ser metilado, siendo este la especie de mayor toxicidad. El nivel máximo de concentración de Hg aceptado por la agencia de protección ambiental es de 2 ng/mL, de aquí la importancia de contar con instrumentos altamente sensibles para su determinación. Entre los métodos que se emplean para determinar Hg en efluentes naturales se encuentra la absorción y fluorescencia atómica con vapor frío, plasma inductivamente acoplado con espectrometría de masas y recientemente, la resonancia plasmónica de superficies, la cual ha mostrado gran sensibilidad para la detección de mercurio en estado elemental. En el presente trabajo se desarrolló un sistema de flujo continuo para la determinación de mercurio en aguas basado en la resonancia plasmónica de superficies con detección de imágenes vía CCD. El mercurio iónico disuelto en el agua es reducido a mercurio elemental empleando borohidruro de sodio en medio ácido y dada la baja tensión superficial del mercurio, este es fácilmente arrastrado hasta la película de oro donde se adsorbe cambiando el índice de refracción en la superficie y de esta manera la resonancia plasmónica de superficie. El instrumento presentó límites de detección inferior a los 0,5 ng, comparable a los obtenidos con espectrómetros de absorción atómica. Igualmente, se estudio el límite de saturación encontrándose por el orden de los 10^{14} átomos/cm².

Palabras clave: resonancia plasmónica de superficies, mercurio, sensor.

ABSTRACT

The species of mercury are toxic compounds that can be present in the waters reservoirs and other environmental samples. Generally, mercury is present as Hg(II), which can be combined as much with organic and inorganic ligands and can be methylated that is the most toxic specie. The maximum concentration level of Hg accepted by environmental protection agency is 2 ng/mL. For this reason, it is important to have highly sensible instruments for its determination. Atomic absorption with cold vapor, atomic fluorescence with cold vapor, inductively coupled plasma with mass spectrometry and recently, the surface plasmonic resonance (SPR) are the commonly used technique for Hg determination in water. They exhibit great sensitivity for the mercury detection in elementary state. In the present work a continuous flow system for mercury determination in water was developed based on SPR with images detection via CCD. Dissolved ionic mercury in waters is reduced to elemental Hg using sodium borohydride in inorganic acid media. Hg can be easily transported to the gold surface due its low superficial tension and it is adsorbed changing the refractive index in the surface and modifying the surface plasmonic resonance signal. The instrument presented limits of detection lower than 0.5 ng, comparable to those obtained with atomic absorption spectrometer. Also, It was studied the limit of saturation that it approximately 10^{14} atoms/cm².

Keyword: surface plasmon resonance, mercury, sensor.

Para citar este artículo: Castillo J.; Pérez JC.; Chirinos J. Desarrollo de un sistema para la determinación de mercurio basado en resonancia plasmónica de superficies. Bistua. 2011;9(1):40-47
+Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de separatas: Pérez Jean Carlos. Universidad Nacional Experimental "Sur del Lago". Santa Bárbara de Zulia, Venezuela. e-mail: jcarlospp@gmail.com

Recibido: Septiembre 02 de 2009

Aceptado: Diciembre 20 de 2010

1. INTRODUCCIÓN

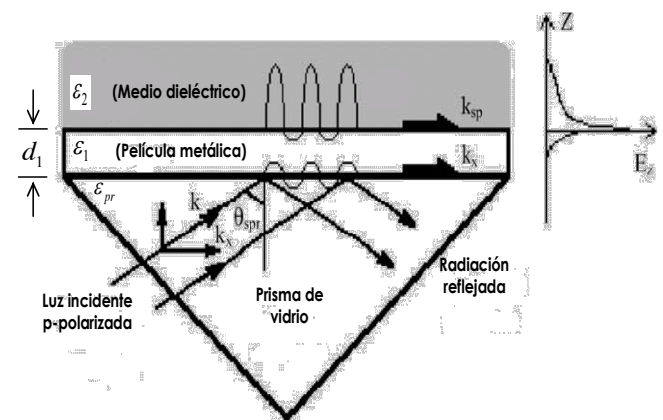
La contaminación ambiental por mercurio es una preocupación mundial desde hace décadas, debido a que este elemento es altamente tóxico, ocasiona daños al hígado y al sistema nervioso central. Peor aun resulta el hecho de que bajo condiciones anóxicas, el mercurio puede ser metabolizados por bacterias en metilo o dimetil mercurio, las cuales son especies volátiles y lipofílicas (1).

Esta situación ha creado un interés por buscar técnicas analíticas sensibles que permitan la cuantificación de este elemento en diferentes matrices. En el caso particular de muestras de agua, para la cuantificación de mercurio se ha empleado técnicas como espectrometría de absorción atómica con vapor frío (1), fluorescencia atómica con vapor frío (1) y plasma inductivamente acoplado con espectrometría de masas (2)

Recientemente se ha empleado la resonancia plasmónica de superficies para el análisis de metales en agua (2,3,4). Este fenómeno ocurre cuando el momento de una onda de luz p-polarizada que se hace incidir sobre una película metálica a través de un prisma, se iguala al momento de la propagación del plasmón superficial entre el metal y el dieléctrico. Bajo estas condiciones toda la energía del fotón incidente es transferida al plasmón superficial(2).

En la figura 1 se muestra un diagrama esquemático de un arreglo empleado para generar la resonancia plasmónica de superficies bajo la configuración Kretschmann. En esta configuración una película metálica delgada (de un espesor de aproximadamente 50 nm) se une a un prisma. Un haz de luz p-polarizada se hace incidir a través del prisma a un determinado ángulo mayor al ángulo crítico, es decir, a un ángulo mayor al cual ocurre la reflexión total en la interfaz metal-prisma, e induce un campo evanescente. Este campo es capaz de penetrar la película metálica y excitar una onda de plasmón de superficie en la interfaz metal-ambiente(2,3). El campo eléctrico o campo evanescente asociado con el plasmón superficial decae exponencialmente con una longitud característica, perpendicular a la interfaz y está confinado a una región que circunda la superficie metálica. Cuando un material dieléctrico pasa por la región del campo evanescente, este modifica la constante de propagación del plasmón de superficie, produciendo un cambio en el ángulo de resonancia. Esta característica hace que el plasmón superficial sea muy sensible y de gran utilidad para estudiar procesos en la vecindad de la superficie metálica.

Figura 1. Diagrama esquemático de un arreglo para SPR del tipo Kretschmann.



En este trabajo se presentan los resultados obtenidos empleando un sistema de flujo continuo para la resonancia plasmónica de superficies con detección de imágenes vía CCD, desarrollado en nuestro laboratorio, el cual fue empleado en la determinación de mercurio en agua. El mercurio iónico disuelto en el agua es reducido a mercurio elemental empleando borohidruro de sodio en medio ácido y dada la baja tensión superficial del mercurio, este es fácilmente arrastrado hasta la película de oro del sistema de resonancia plasmónica donde se adsorbe, cambiando el índice de refracción en la superficie y de esta manera la respuesta del sistema.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Materiales, equipos y reactivos

Las películas metálicas para el sistema de resonancia fueron preparadas por sputtering dc (equipo marca Eiko Engineering, modelo Ion Coarter 2 (IC-2)) sobre placas portaobjetos de vidrio (3,6 cm x 2,5 cm), utilizando un cátodo de oro. El espesor de las películas preparadas fue medido con un elipsómetro de anulación marca Gaertner, modelo L117. Se utilizaron soluciones acuosas con diferentes concentraciones de etanol, y por lo tanto con diferentes índices de refracción, para realizar la calibración del sistema.

En la figura 2 se muestra el montaje de resonancia realizado, este consta de un láser de diodo de 5 mW de potencia, una longitud de onda de 656,40 nm y un voltaje operacional de 12 V, como fuente de radiación, una fibra óptica para conducir la radiación al interior del sistema, un polarizador para orientar la radiación de tal manera que la radiación que llegue a la superficie metálica sea radiación p-polarizada, un espejo en el que se refleja la radiación, orientándola hacia el prisma. El prisma, la película metálica y la celda de flujo se fijan sobre una base giratoria, que permite hacer

variaciones del ángulo de incidencia del haz a la película. La placa portaobjeto con la película metálica se une al prisma con aceite de inmersión (benzoato de bencilo, MERCK, $n=1,515-1,517$). La radiación reflejada del prisma se proyecta sobre una superficie cubierta con papel bond blanco base 20. La imagen proyectada en la superficie de reflexión es adquirida con una cámara CCD (marca Genius, modelo videoCAM web V2 con una resolución máxima de 640 píxeles x 480 píxeles) y procesada con MATLAB R2006a. El procesamiento de la imagen consiste en la suma de la intensidad del haz reflejado.

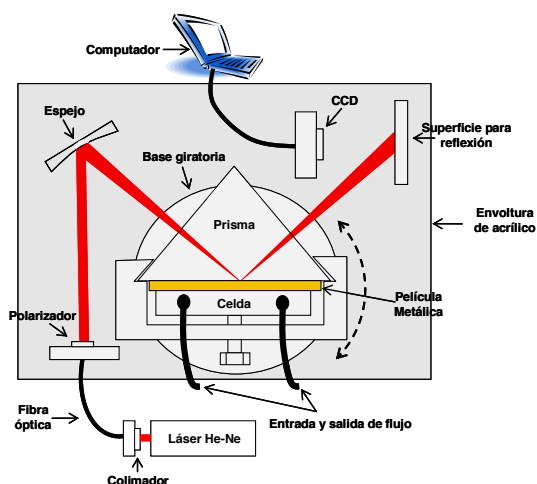


Figura 2. Sistema para resonancia plasmónica en flujo continuo.

El mercurio en estado elemental se obtiene a partir de la reducción de iones Hg^{2+} en solución con borohidruro de sodio. Para llevar a cabo esta reacción se construyó un sistema, el cual se muestra en la figura 3, este consiste en un recipiente sellado con un tapón de goma, con una entrada para la solución de mercurio desde una inyectora y una salida, a través de la cual sale el mercurio elemental producto de la reducción, hacia el sistema de resonancia plasmónica. A la salida del sistema de reducción de mercurio se dispuso un tamiz molecular con la finalidad de atrapar el líquido que pudiera ser arrastrado con el mercurio.

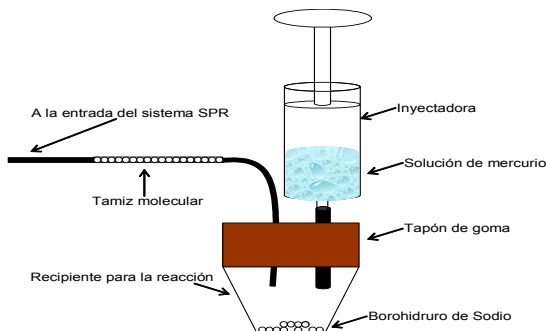


Figura 3. Sistema de reacción para la reducción de iones de mercurio.

Las películas de oro utilizadas en el análisis de mercurio fueron evaluadas con una microsonda electrónica de barrido analítico que cuenta con un analizador EDX (energy dispersive X-ray) marca JEOL, modelo JXA 8900R, con la finalidad de verificar si el mercurio se formó amalgama con el oro de la película.

2.2. Procedimiento experimental

Las placas portaobjetos son tratadas con acetona pura antes de ser recubiertas. El recubrimiento se realizó con una presión de 8 Pa. Las mediciones elipsométricas de las películas se realizaron a 30°, 50° y 70° de ángulos de incidencia. Al obtener las rotaciones del analizador y el polarizador del elipsómetro en las que la intensidad reflejada de la película es mínima, se registran los valores de P_1 , A_1 , P_2 y A_2 , para luego proceder a calcular ψ y Δ mediante las siguientes ecuaciones:

$$\psi = \frac{180^\circ - (A_2 - A_1)}{2} \quad (1)$$

$$\Delta = 360^\circ - (P_2 + P_1) \quad (2)$$

Los valores de ψ y Δ se introducen en el software Ellipsometry para obtener el valor de espesor e índice de refracción de la película.

2.2.1. Calibración del sistema

Con la finalidad de calibrar nuestro sistema se prepararon varias soluciones con índices de refracción diferentes a partir de diferentes volúmenes de etanol y agua. Las mediciones de índice de refracción se realizaron colocando tres gotas de cada solución sobre el prisma de medida del refractómetro (Carl Zeiss), de tal manera que se forme una película delgada al unir el segundo prisma o prisma de iluminación. El valor del índice de refracción de cada solución se obtiene leyendo la escala de medida una vez que se ubica la línea de reflexión en la posición central con la ayuda del tornillo compensador.

Para la obtención de la señal de resonancia se procede a colocar la placa portaobjeto recubierta con la película metálica en la base del prisma con una gota de aceite de inmersión y luego se coloca cuidadosamente la celda de flujo. Todo este arreglo se fija a la base giratoria y se verifica que la radiación incida a un ángulo de aproximadamente 80° sobre el prisma y que además intercepte el canal de flujo de la celda. La posición de la cámara se ajusta de tal manera que la imagen proyectada este ubicada en el centro del área de captura de la cámara. La imagen reflejada se toma por triplicado

por cada medio que se hace pasar a través de la superficie metálica (agua, soluciones de etanol-agua y etanol).

En el modo flujo continuo se hizo pasar a través del sistema de resonancia inicialmente agua, y luego se aumentó el índice de refracción de la solución progresivamente con la adición de etanol. La toma y descargar de la solución se hizo en el mismo recipiente, de esta manera se hacía recircular la solución a través del sistema. Se realizaron simultáneamente tomas de reflectividad y mediciones del índice de refracción después de cada adición de etanol.

La determinación de mercurio se realizó con diferentes volúmenes de una solución de 500 ppb de Hg^{2+} preparada en medio ácido. Se consideraron 1, 2, 4 y 5 ml de la solución de 500 ppb de Hg^{2+} , correspondiente a 0,5, 1, 2 y 2,5 ng de mercurio, respectivamente. El procedimiento consistió en cargar la inyectora del esquema de reacción mostrado en la figura 3, con un volumen de solución de mercurio, iniciando con el volumen menor y aumentado progresivamente para cada corrida. En el fondo del recipiente de reacción se coloca borohidruro de sodio en exceso en relación a la cantidad de mercurio adicionada desde la inyectora. Una vez iniciado el ciclo de lectura de reflectividad, se inyecta la solución de mercurio en el recipiente, registrando los cambios en la reflectividad una vez que el mercurio llega a la superficie metálica del sistema de resonancia.

Las películas expuestas a soluciones de mercurios fueron analizadas a través de la técnica microscópica EPMA (Electron Probe Micro-Analyzer) con la finalidad de verificar en enlace entre el mercurio y el oro de la película. Con fines comparativos, se analizó también una parte de la película que no fue expuesta al mercurio.

3. RESULTADOS

Para evaluar y calibrar el sistema de resonancia se tomaron imágenes de reflectividad a medios con diferentes índices de refracción, las imágenes obtenidas se muestran en la figura 4a, las soluciones 1-4 son soluciones etanol-agua. En esta figura se puede apreciar un cambio en la intensidad del haz reflejado entre un medio y otro, dicha intensidad aumenta a medida que aumenta el índice de refracción del medio. Para entender este comportamiento recurrimos a la figura 4b, en la que se muestran dos perfiles teóricos de resonancia para dos medios con diferentes índices de refracción, para el primero el índice es de 1,337 y para el segundo es de 1,369. En esta figura se puede apreciar que el ángulo al cual ocurre la resonancia plasmónica se desplaza a ángulos mayores a medida que aumenta el índice de refracción de

dicho medio. Si las medidas se realizan a un ángulo de incidencia fijo, tal es el caso de las imágenes tomadas con el sistema de resonancia experimental, la intensidad reflejada a medida que aumenta el índice de refracción será mayor debido al desplazamiento del perfil, como se puede ver en los puntos negros sobre los perfiles en la figura 4b. Es por ello que se infiere que el comportamiento mostrado por el arreglo experimental coincide con la teoría del fenómeno de resonancia plasmónica.

La señal que se obtiene del sistema SPR experimental consiste en la imagen proyectada del haz reflejado desde el prisma, la cual es capturada con la web cam. Las imágenes son tomadas a una resolución de 640 píxeles x 480 píxeles, y el tamaño promedio de las imágenes es de 358 píxeles x 270 píxeles. Del procesamiento de la señal, los mejores resultados se obtuvieron cuando se considera la intensidad total de la imagen, tanto por la sensibilidad como por la linealidad, aspectos que contribuyen a la potencialidad del sistema para su uso como herramienta de análisis. En la figura 5 se muestra la curva de calibración obtenida a partir de las soluciones etanol-agua con índices de refracción en un rango entre 1,34 y 1,37, mostradas en la figura 4a. Además de la sensibilidad y el ajuste lineal de los datos, en la curva de calibración también se puede apreciar que el sistema presenta buena reproducibilidad, con un coeficiente de variación máximo de 2,1%.

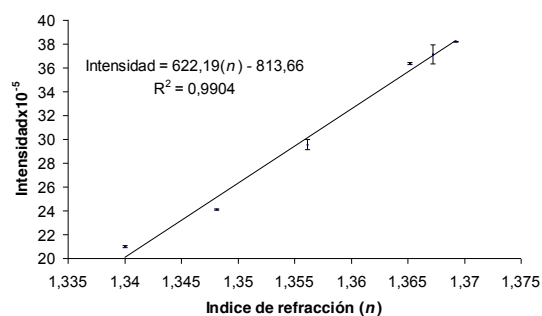


Figura 5. Curva de calibración de medidas de reflectividad SPR para soluciones etanol-agua con diferentes índices de refracción.

También se evaluó el funcionamiento del sistema de resonancia en flujo continuo. Para este ensayo se hizo recircular en el sistema un volumen de líquido, que inicialmente fue agua, y al que se le realizaron varias adiciones de etanol, con la finalidad de ir aumentando progresivamente el índice de refracción. Se realizaron 100 medidas de reflectividad después de cada adición de etanol. En la figura 6 se muestran los resultados obtenidos de este ensayo. En esta figura se puede ver como, a medida que se aumenta el índice de refracción de la solución, se genera también un aumento en la reflectividad. El cambio en la reflectividad se minimiza en la medida en la que el índice de

refracción de la solución se va haciendo igual al del etanol.

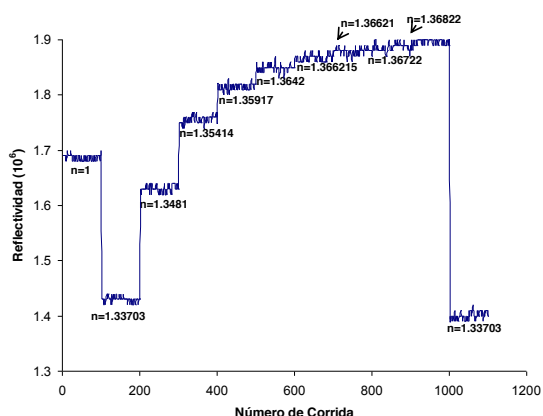


Figura 6. Medidas de reflectividad en un sistema SPR en flujo continuo. n es el índice de refracción del medio.

En la figura 7 se representa el promedio de la reflectividad versus la variación del índice de refracción (Δn) de la corrida realizada en flujo continuo, mostrada en la figura 6. En esta figura se puede apreciar que aun cuando la señal de reflectividad siempre fue en aumento, como era de esperar, ya que el índice de refracción aumentaba con cada adición de etanol, el valor obtenido para el índice de refracción a partir del refractómetro (Carl Zeiss) en algunos casos disminuyó, observando entonces un mejor comportamiento del sistema de resonancia que del refractómetro, para detectar pequeños cambios en el índice de refracción, especialmente a valores mayores a 1,366 ($\Delta n=0,02918$). En la figura 7 también se representa la desviación estándar obtenida de las mediciones de reflectividad realizadas para cada de índice de refracción en forma de barras, observando buena reproducibilidad en las mediciones. El coeficiente de variación no excedió del 0,5% durante toda la corrida. Del ajuste por regresión lineal de los datos experimentales se obtuvo una correlación de 0,9868, similar a la obtenida por otros autores(1), y una sensibilidad analítica de 2×10^{-4} .

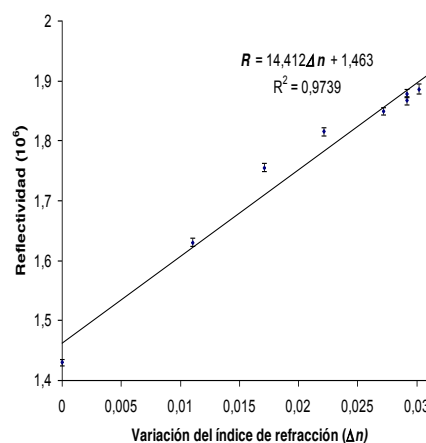


Figura 7. Reflectividad versus Δn en flujo continuo para solución etanol-agua con diferente índices de refracción.

Para evaluar la respuesta del sistema de resonancia ante mercurio elemental, se unió la salida del sistema de reacción construido para la reducción del mercurio en solución con la entrada al arreglo experimental de resonancia. El promedio de los resultados obtenidos para la reflectividad en el tratamiento de varios volúmenes de solución de Hg[II] de 500 ng/mL están representados en la figura 8, en esta figura se puede detallar que a medida que la masa de mercurio alimentada al sistema de reducción aumenta, también aumenta la señal de reflectividad en el sistema de resonancia, hasta alcanzar un máximo cuando se hacen reaccionar 2 ng de Hg[II], y muestra un descenso con la adición una masa mayor, lo que indica que la capacidad del oro para enlazar el mercurio reducido no es infinita, sino por el contrario esta limitada, debido a que la superficie de oro se va saturando en la medida en la que va enlazando mercurio, disminuyendo cada vez mas el numero de sitios disponibles para enlaces. En superficies policristalina, la saturación se alcanza a aproximadamente 1×10^{14} átomos de Hg/(cm²)(1). Es decir, el sistema responde hasta tanto no se sature la superficie de oro con mercurio. El coeficiente de variación máximo resultante de las mediciones obtenidas para mercurio fue de 0.22%.

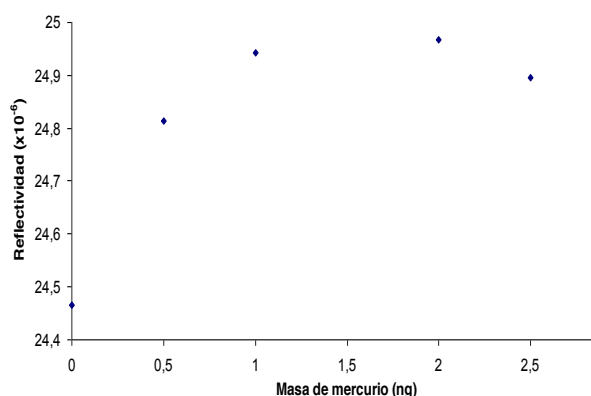


Figura 8. Reflectividad versus masa de mercurio adicionados

En la figura 9 se muestran los espectros de emisión de energía obtenidos con la microsonda electrónica de barrido, de dos áreas de una película de oro utilizada en el sistema de resonancia plasmónica para el análisis de mercurio. El primer espectro se obtuvo de un área de la película que no fue expuesta al mercurio (a), mientras que el segundo espectro corresponde a un área de la película expuesta (b). Al establecer una comparación entre los dos espectros se puede apreciar la aparición de líneas de emisión características del mercurio en el espectro obtenido del área expuesta (b), a 9,9 keV ($L_{\alpha 1}$), 11,8 keV ($L_{\beta 1}$) y 13,8 keV ($L_{\gamma 1}$), que no están presente en el espectro obtenido del área no expuesta (a), ya que en este último sólo aparecen las líneas de emisión del oro a 9,7 keV ($L_{\alpha 1}$), 11,4 keV ($L_{\beta 1}$) y 13,3 keV ($L_{\gamma 1}$), como era de esperar. Estos resultados confirman que efectivamente el mercurio reducido se enlazó al oro de la película. Es importante destacar que la cercanía de las líneas de emisión del oro y del mercurio se debe a la

45

proximidad de sus números atómicos (z), que para el oro es 79, y para el mercurio 80. La resolución de la microsonda permite diferenciar la señal que se origina a partir de cada elemento.

4. CONCLUSIONES

Se logró construir un sistema de resonancia plasmónica de superficie, a partir de componentes de bajo costo, con películas delgadas de oro preparadas sobre portaobjetos de vidrios, a partir de la técnica de cubrimiento iónico sputtering, obteniendo películas con diferentes espesores en el rango necesario para dar respuesta a resonancia plasmónica (~ 50 nm). El sistema es capaz de detectar soluciones etanol-agua con índices de refracción entre 1,33703 y 1,36722, con un coeficiente de variación menor a 2,1%. En el análisis de mercurio, el sistema de resonancia fue capaz de detectar 0,5 ng de mercurio. De la evaluación de las películas expuestas al mercurio con una microsonda de barrido electrónico se

45

encontró que el mercurio efectivamente se enlaza a la superficie metálica del sistema de resonancia.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Leopold K, Harwardt L, Schuster M, Schlemmer G "A new fully automated on-line digestion system for ultra trace analysis of mercury in natural waters by means of FI-CV-AFS" *Talanta* **15**, pp. 382-388, 2008.
2. T. Morris, G. Szulczewski "A Spectroscopic Ellipsometry, Surface Plasmon Resonance, and X-ray Photoelectron Spectroscopy Study of Hg Adsorption on Gold Surfaces" *Langmuir* **18**, pp. 2260-2264, 2002.

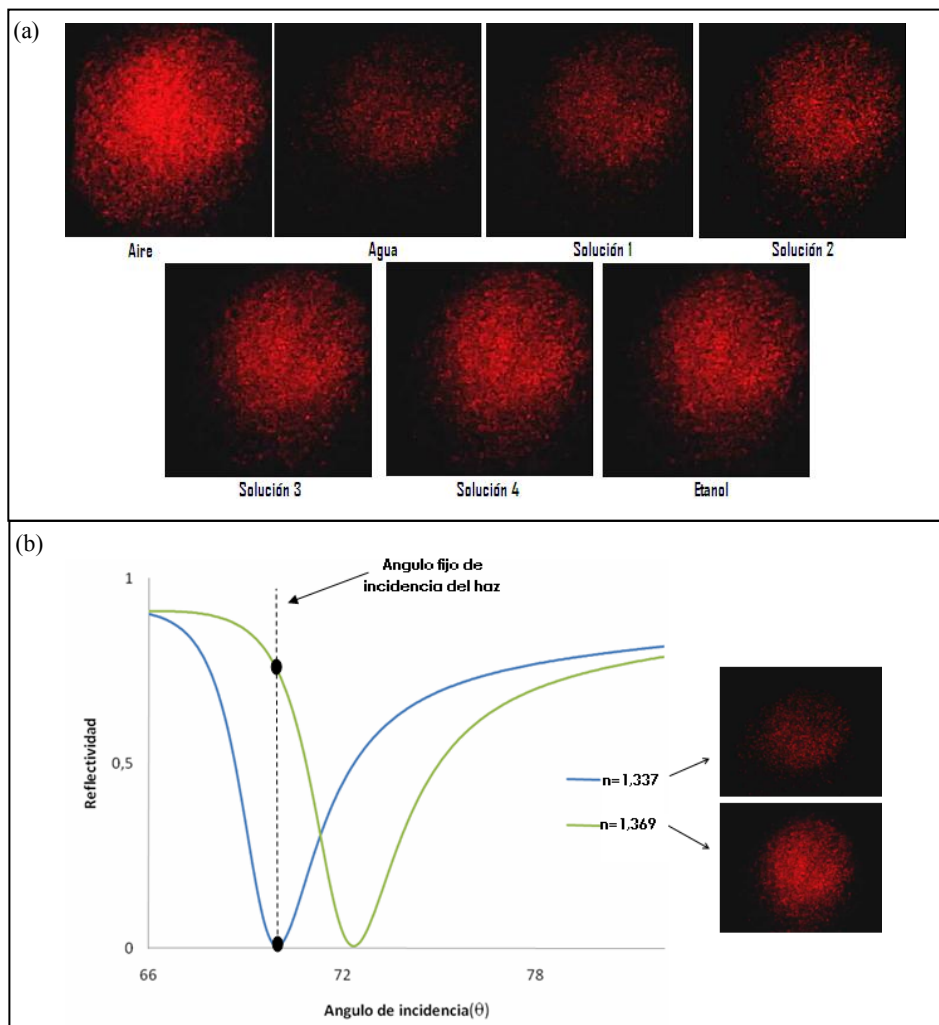


Figura 4. (a) Imágenes de resonancia obtenidas para medios con índices de refracción $(n = 1 - 1,36722)$. (b) Perfiles teóricos de reflectividad versus el ángulo de incidencia para dos índices de refracción diferentes del dieléctrico.

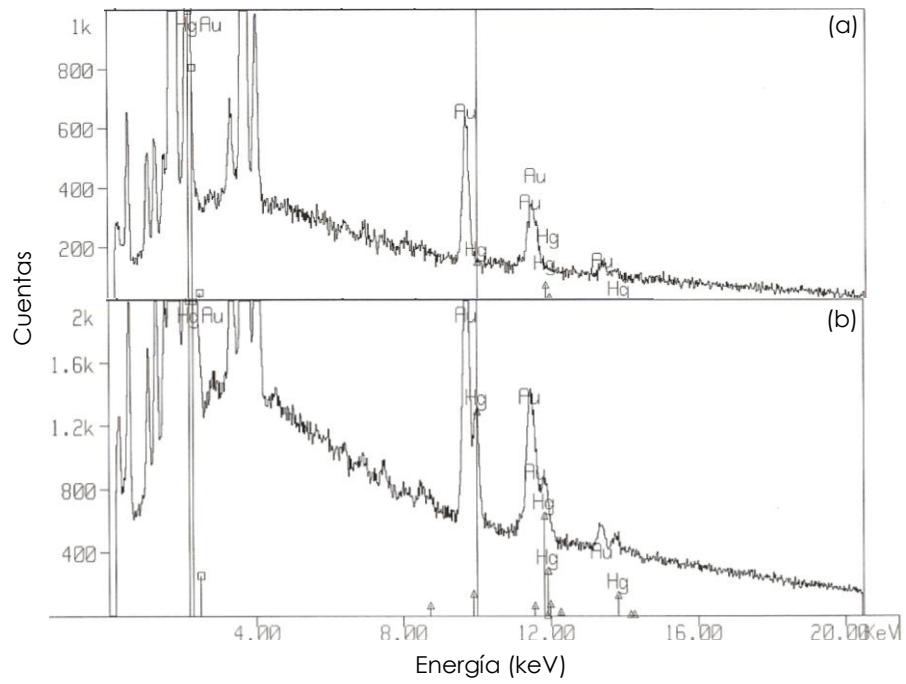


Figura 9. Espectros de rayos x obtenidos para una película de oro sin (a) y con (b) exposición a mercurio en el sistema de resonancia.