

Estudio de factibilidad de sensores de metales pesados usando cristal líquido y empleando la técnica de microgotas

Verónica Gómez González¹, Andrea Verónica López Hernández¹, Fátima Muñoz Fonseca¹, Mariana Vanessa Morales Rodríguez², Rafael Zamudio Zapote¹, José Antonio Reyes Aguilera², Julio Cesar Armas Perez²

¹Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Depto. de Química, Guanajuato, México.

[v.gomez.gonzalez@ugto.mx], [av.lopez.hernandez@ugto.mx], [f.munozfonseca@ugto.mx], [r.zamudiozapote@ugto.mx].

²Universidad de Guanajuato, División de Ciencias e Ingenierías, Depto. de Ingenierías Química, Electrónica y Biomédica, León, México.

[[mv.moralesrodriguez@ugto.mx](mailto:m.v.moralesrodriguez@ugto.mx)], [ja.reyes@ugto.mx], [jc.armas@ugto.mx].

Resumen

El presente trabajo desarrolla el estudio de factibilidad de sensores cualitativos basados en cristales líquidos (CLs) para la detección de metales pesados en agua. El sistema estudiado son microgotas de cristal líquido nemático de la molécula 4-pentil-4'-cianobifenil (5CB) dispersas en emulsión en fase acuosa con cierta concentración de partes por millón (ppm) de metales pesados en forma de iones. Dicho sistema fue analizado empleando microscopía de luz polarizada. En las micrografías obtenidas se puede distinguir la interacción de los iones metálicos de Pb^{2+} y Cd^{2+} observando la transición de oscura a brillante y un cambio de coloración de la imagen de CLs en las microgotas generadas. También se puede distinguir la configuración de las microgotas observadas después de agregar la solución con el metal cambia, adquiriendo una configuración radial debido a la interacción con el ion metálico. Como conclusión, con el desarrollo de esta técnica se puede obtener que es factible el desarrollo de sensores de cristales líquidos para la detección de metales pesados a concentraciones muy bajas.

Palabras clave: Cristal líquido; sensores; microgotas; metales pesados.

Introducción

Los metales pesados son considerados compuestos químicos de alta densidad y altamente tóxicos que se encuentran en la naturaleza. Los iones Pb^{2+} y Cd^{2+} son contaminantes generalizados en el agua. Estos metales pueden causar graves daños a la salud humana, por lo que, el seguimiento rápido y sensible de estos metales pesados es un desafío para la industria. En México existen Normas Oficiales Mexicanas (NOM – 001- SEMARNAT – 2021), que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las aguas residuales. Actualmente, la detección de metales pesados en el agua se realiza mediante espectrofotometría de absorción atómica, espectroscopía de masas, entre otros. Sin embargo, son sistemas caros y no portátiles debido a sus instrumentos sofisticados [1].

La necesidad de sensores que puedan realizar mediciones en tiempo real es cada vez mayor, esto para evitar el efecto de estos metales pesados en la salud humana y el medio ambiente. Un sensor es un dispositivo capaz de transformar magnitudes físicas o químicas en eléctricas. El dispositivo capta estímulos y traduce la información en forma de un impulso eléctrico que es procesado por circuitos que generan una acción predeterminada en un sistema.

Por otro lado, se tiene evidencia de que algunos materiales por sus características moleculares tienden a ser muy sensibles a pequeñas perturbaciones, lo que permite ser idóneos para la generación de sensores. Uno ejemplo de ello son los cristales líquidos (CLs). Estos materiales han sido objeto de estudio y un reto importante para científicos e ingenieros. La importancia de estos materiales (ejemplo clásico de la materia condensada) se debe principalmente a las propiedades ópticas excepcionales que presentan. Además, su alto grado de sensibilidad cuando se les aplica un campo eléctrico ó magnético ha permitido generar un amplio catálogo de aplicaciones, así como una serie de investigaciones a nivel de ciencia básica con el fin de describir y predecir su comportamiento. Recientemente, los CLs son considerados un nuevo participante para el desarrollo de sistemas de detección innovadores. Ejemplo de ello son la creación de sensores para detección de ciertas proteínas, bacterias o virus, todo ello con fines biológicos. Los cristales líquidos son materiales anisotrópicos que presenta propiedades entre un líquido y un cristal. Es decir, dentro de sus propiedades como líquido, puede fluir, formar gotas, etc. Como cristal, presenta orientación de sus moléculas, anisotropía óptica y algunas otras características [2,3,4].

Los CL presentan diferentes fases, entre ellas la fase nemática, esméctica y colestérica, y estas aparecen como función de la temperatura (Figura 1a). En la fase nemática las partículas no se encuentran con un orden posicional, se caracteriza por tener un orden orientacional de largo alcance en una dirección preferencial. Esta fase suele estar formada por moléculas de tipo cilindro o vara. Dentro de los compuestos típicos que forman esta fase, se encuentra el 5CB (4-pentil-4- bifenilcarbonitrilo), compuesto con el que se desarrolló el trabajo de este estudio [2].

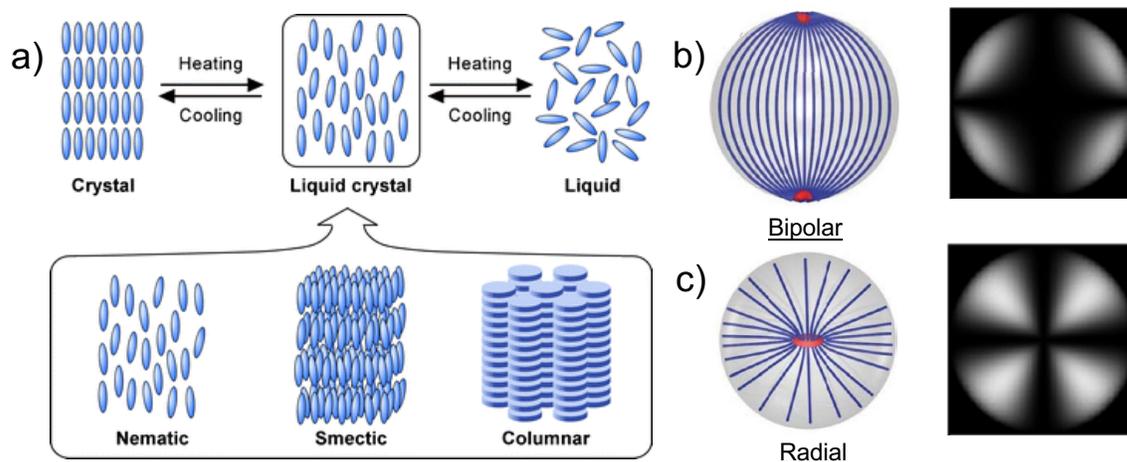


Figura 1. a) Fases líquido cristalinas como función de la temperatura. Representación pictórica de microgotas de cristal líquido nemático en la fase b) bipolar y c) radial, con sus correspondientes micrografías observadas bajo un microscopio de luz polarizada [5].

El orden orientacional presente en cada fase del CL es extremadamente sensible y puede ser inducida por la temperatura, la concentración y/o a la presencia de impurezas. Por lo que son considerados materiales de respuesta ya que estos materiales poseen anisotropía óptica, al ver bajo el microscopio con polarizadores, puede aparecer oscuro o brillante respondiendo a la presencia de especies extrañas en señales macroscópicas. Con dichos defectos generados en sus propiedades se pueden desarrollar novedosas aplicaciones. Cuando los cristales líquidos son confinados a gotas, se puede observar dos posibles configuraciones: una configuración denotada como bipolar, donde la orientación de las moléculas cerca de la superficie se ordena de manera paralela a dicha superficie, induciendo una orientación como se muestra en la Figura 1b; si las moléculas cerca de la superficie se ordenan de forma perpendicular a la superficie, se genera una morfología denominada radial (Figura 1c). Ambas configuraciones pueden ser reconocidas si la microgota es observada usando un microscopio de luz polarizada.

Los sensores ópticos basados en cristales líquidos (CL) ofrecen una alta sensibilidad hacia los analitos específicos y una detección en tiempo real. La energía requerida para perturbar el orden molecular de los CL es muy pequeña debido a su correlación orientacional de largo alcance. Las interacciones de nivel molecular pueden acoplarse al orden de los CL en las interfaces y eso puede amplificarse como una transición de orientación, lo que resulta en la modificación de la intensidad de la luz transmitida a través de un par de polares cruzados las fases acuosas conducen a ordenar las transiciones del CL. La perturbación en el ordenamiento local de los CL en las interfases por eventos químicos o físicos en la fase acuosa se puede observar como una señal óptica.

En literatura podemos encontrar trabajos de investigación donde ya se ha desarrollado y planteado diversas técnicas para la detección de diversos metales pesados empleando cristales líquidos [6-9]. Sin embargo, en este trabajo se plantea utilizar la técnica de microgotas, reportada por I-Hsin [10].

Materiales y métodos - Preparación de las microgotas

Materiales

El cristal líquido usado fue el 5CB con 98% de pureza, producto importado desde China con lote MKCL7639, CAS: 40817-08-1. Se usaron puntas y micropipetas Gilson. Para la obtención de las micrografías se requirió de un microscopio óptico Primo Star de Zeiss con polarizador y cámara. El software usado para tratar las imágenes fue el ZEN 3.0 de Zeiss. Se utilizaron portaobjetos de vidrio para colocar las gotas. Parrilla de calentamiento, termómetro de vidrio, soporte universal, tubos Eppendorf de 1.5 ml, un agitador Vortex Genie 2 y campana de extracción se usaron para el desarrollo del procedimiento

Preparación de soluciones de los iones metálicos

Para la preparación de las soluciones de cadmio y plomo se usaron los compuestos CdSO_4 y $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ respectivamente, se hicieron las soluciones empleando como disolvente agua desionizada. El material de vidrio empleado fueron matraces aforados de 10ml y 25 ml, vasos de precipitados de 100 ml y frascos de vidrio para almacenar las soluciones. Se prepararon soluciones de 200 ppm, 150 ppm, 100 ppm, 75 ppm, 50 ppm y 25 ppm.

Lavado de portaobjetos.

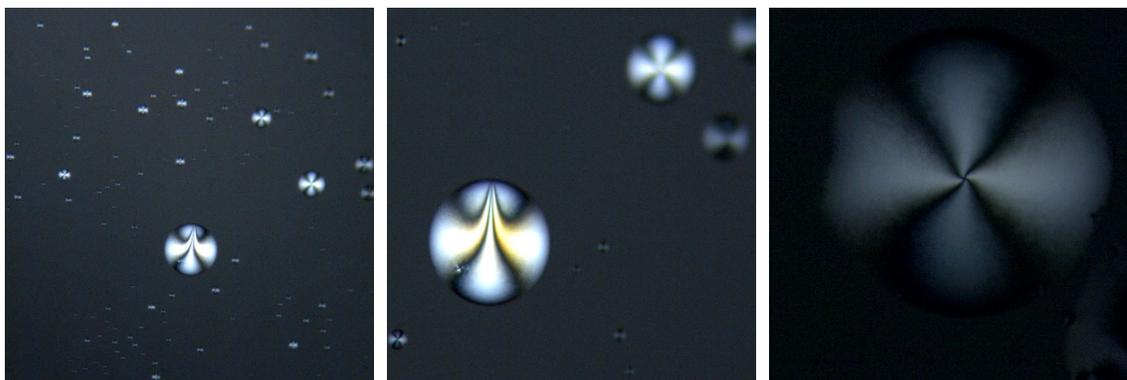
Para la preparación de la solución para realizar la limpieza es inicialmente con una "solución piraña" donde siempre es añadiendo peróxido de hidrógeno al ácido sulfúrico lentamente, nunca al revés ya que mezcla de la solución es extremadamente exotérmica. Previamente se tiene lista un baño maría de agua a temperatura ambiente, el extractor encendido para los gases corrosivos que pueda liberar la solución y una parrilla de calentamiento a 80°C.

Se realiza la mezcla de la solución en un recipiente ancho con la capacidad de que pueda cubrir por completo los portaobjetos estando acostados y también sea del tamaño adecuado para sumergirse en el baño maría. La proporción que se añade es de 70 mL de ácido sulfúrico y enseguida 30 mL de peróxido de hidrógeno, teniendo cuidado de no gotear o tener contacto con la solución.

Después de enfriar un poco la solución con el baño maría se pasa a la parrilla de calentamiento y se introducen los portaobjetos de tal manera que estén lo más separados posible uno entre otro y procurando que la solución los cubra por completo, dejándolos así por 2 horas a esta misma temperatura de 80°C. Se mueven de posición cada 15 minutos separando los portaobjetos entre ellos.

Terminando el tiempo en la solución piraña, retiramos la solución de la parrilla de calentamiento y continuamos tomando los portaobjetos por una esquina con pinzas de metal limpias y enjuagando cada portaobjeto con agua desionizada, etanol, metanol y acetona (en ese orden), procurando enjuagar cada portaobjeto con cada uno de los compuestos tres veces por cada lado. Al concluir el lavado de portaobjetos se debe cubrir el recipiente donde se tengan con Parafilm para evitar que se contaminen al trasladarlos. Se continua con el secado de cada portaobjeto con gas de nitrógeno durante aproximadamente 5 minutos y teniendo cuidado de no exponerlos al ambiente. Finalmente, se calienta previamente una estufa a 100°C y se introducen los portaobjetos manteniendo la temperatura de 100°C durante 24 horas para concluir con la limpieza de los portaobjetos.

Es importante que al sacar los portaobjetos de la estufa se cubra el recipiente donde se tengan con Parafilm para evitar contaminaciones.



Objetivo: 4x

Objetivo: 10 x

Objetivo: 40x

Figura 2. Micrografías de una emulsión de cristal líquido nemático 5CB disperso en un medio acuoso a temperatura ambiente. El tamaño de las gotas es de aproximadamente 20 micras.

Metodología para la generación de la emulsión (microgotas)

Para este procedimiento se ocuparon tubos Eppendorf dónde agregamos 4 μ l del cristal líquido 5CB al 98%. A continuación, se llevó a calentamiento y luego al vortex hasta disolver, después ahí ya teniendo las soluciones se le agregó cada una de las diferentes concentraciones de las soluciones preparadas que eran a 50, 75, 100, 150 y 200 ppm., por último se agregó 1 ml de agua desionizada.

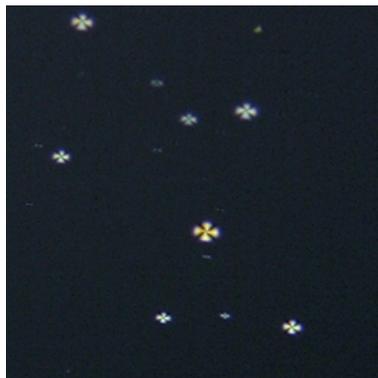
Para la siguiente etapa procedimos con cada uno de los Eppendorf por partes y conforme se iban analizando, se pasaban por el vórtex durante un minuto para que se pudiera formar las gotas y después con una micropipeta se tomaban de 3 a 4 μ l y se colocaban en un portaobjetos previamente esterilizado, las muestras se observaron en el microscopio a objetivos de 4X, 10X y 40X. Todos los experimentos se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

Resultados y discusión

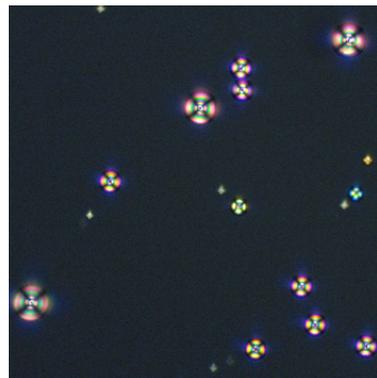
Después de preparar las soluciones de los iones metálicos Cd (II) y Pb (II) a distintas concentraciones, se obtuvieron micrografías de las gotas observadas usando la técnica de microgotas con cristal líquido 5CB. Las imágenes se obtuvieron empleando un microscopio óptico con filtros de polarización

En las imágenes obtenidas del blanco (Figura 2) se puede observar una que las gotas formadas no poseen ninguna coloración y tienen una configuración bipolar, similar a lo reportado por [5,10].

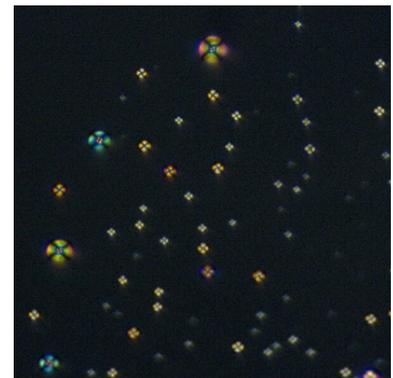
Después de haber capturado las micrografías de las microgotas a distintas concentraciones del metal, podemos ver que la cantidad de gotas de cristal líquido 5CB formadas aumenta conforme la concentración del metal es mayor, además, es clara la diferencia en la coloración con respecto al blanco (agua), ya que se pueden detectar gotas con diferentes colores, como se observa en la Figura 3. La configuración de las gotas observadas después de agregar la solución con el metal también cambia, ahora podemos ver que se adquiere una configuración radial debido a la interacción con el ion metálico Cd (II). Esta configuración se puede apreciar mejor en la Figura 4.



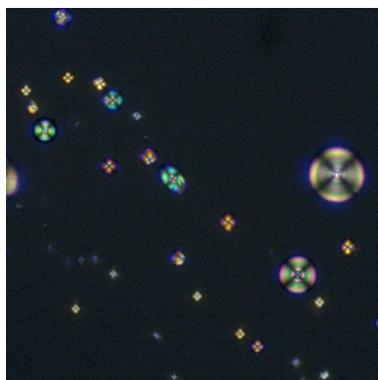
a) 25 ppm con objetivo de 40x



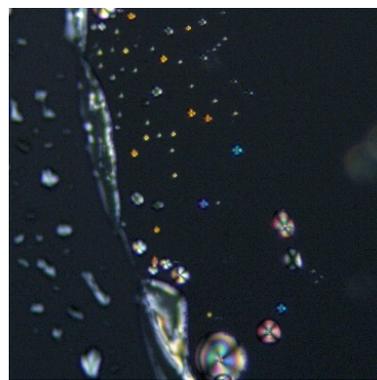
b) 50 ppm con objetivo de 40x



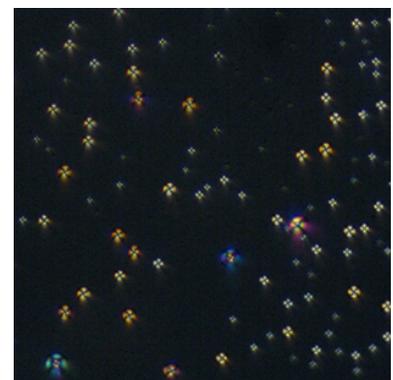
c) 75 ppm con objetivo de 40x



d) 100 ppm con objetivo de 40x



e) 150 ppm con objetivo de 10x



f) 250 ppm con objetivo de 40x

Figura 3. Micrografías de una emulsión de cristal líquido nemático 5CB disperso en un medio acuoso a diversas concentraciones de partes por millón de Cadmio (II).

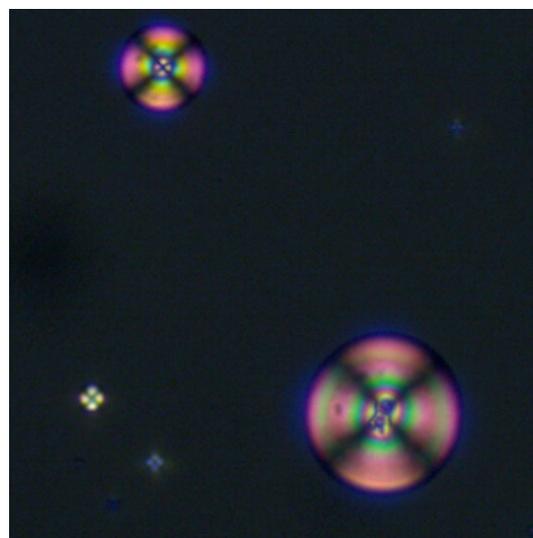
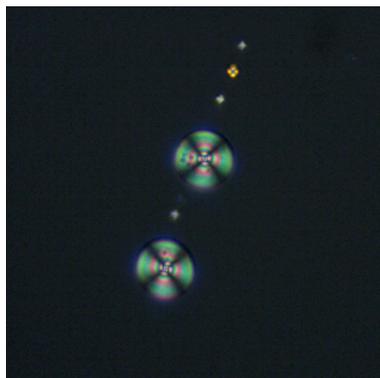


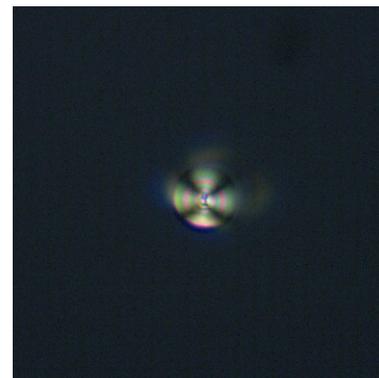
Figura 4. Micrografías de una emulsión de cristal líquido nemático 5CB disperso en un medio acuoso para una concentración de Cadmio (II) de 100 ppm. Se puede observar claramente la conformación radial que se forma en la microgota, debido a la interacción del metal pesado con el cristal líquido.



50 ppm con objetivo de 40x



75 ppm con objetivo de 10x



100 ppm con objetivo de 10x

Figura 5. Micrografías de una emulsión de cristal líquido nemático 5CB disperso en un medio acuoso a diversas concentraciones de partes por millón de Plomo (II).

Para las gotas del ion Pb (II) se obtuvieron micrografías de 3 concentraciones diferentes de la solución acuosa del metal. Las micrografías se muestran en la Figura 5. Al igual que con el cadmio podemos ver que las gotas adquieren una configuración radial a causa de la interacción con el plomo, así mismo se observa una variedad de gotas de distintos tamaños y colores. Solo se presentan micrografías de 50 ppm, 75 ppm y 100 ppm de plomo (II) ya que con las demás concentraciones no se consiguieron imágenes con información relevante, esto debido probablemente a la técnica utilizada en combinación con la contaminación de los portaobjetos.

Conclusiones

El objetivo de este proyecto de investigación fue el estudio y desarrollo de una técnica para generar sensores que permitan la detección de metales pesados en el agua. Para ello se utilizó cristal líquido 5CB y se trabajó con la técnica de microgotas propuesta por I-Hsin Lin, la cual es bastante sencilla ya que consiste en generar pequeñas gotas de cristal líquido junto con la solución acuosa del metal, las cuales son observadas posteriormente al microscopio. La técnica experimental que empleamos se fue perfeccionando conforme se avanzaba en el desarrollo del proyecto. En general, con los resultados de esta investigación pudimos obtener una primera aproximación para el desarrollo de un sensor de metales pesados basado en cristal líquido. Esto debido a que en que en las micrografías pudimos distinguir perfectamente una diferencia entre las gotas generadas solamente con agua y las que contenían los iones de metales pesados. Esta distinción es principalmente lograda el cambio en la coloración y en la configuración de las gotas. Es importante decir que la investigación que se llevó a cabo está pensada principalmente para diseñar un sensor cualitativo del analito. La variedad de colores es atribuida a la variedad de tamaños que existe entre las múltiples gotas. Con el propósito de concretar resultados más precisos, sería ideal implementar un dispositivo que permita generar gotas de tamaños homogéneo.

Bibliografía/Referencias

1. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166785/NMX-AA-051-SCFI-2001.pdf>
2. D. Demus, J. Goodby, G. W. Gray, H.-W. Spiess, and V. Vill. *Continuum Theory for Liquid Crystals*. Wiley-VCH Verlag GmbH, (2008).
3. Rebecca J. Carlton, Jacob T. Hunter, Daniel S. Miller, Reza Abbasi, Peter C. Mushenheim, Lie Na Tan, and Nicholas L. Abbott. *Chemical and biological sensing using liquid crystals*. *Liquid Crystals Reviews*, 1(1):29–51, (2013).
4. Monirosadat Sadati, Aslin Izmitli Apik, Julio C. Armas-Pérez, Jose A Martinez-Gonzalez, Juan P. Hernandez-Ortiz, Nicholas L. Abbott, Juan J. de Pablo, "Liquid Crystal Enabled Early Stage Detection of Beta Amyloid Formation on Lipid Monolayers", *Advanced Functional Materials*, 25:6050 (2015).
5. J.C. Armas-Pérez, A. Londono, O. Guzmán, J.P. Hernandez-Ortiz and J.J. de Pablo. "Theoretically Informed Monte Carlo Simulation of Liquid Crystals by Sampling of Alignment-Tensor Fields" *J. Chem. Phys.*, 143:4107 (2015).
6. Saman Zehra, Iftikhar Hussain Gul, Zakir Hussaing, "Liquid crystal based optical platform for the detection of Pb²⁺ ions using NiFe₂O₄ nanoparticles", *Results in Physics*, 9:1462 (2018).
7. Nandi, R., & Pal, S. K. "Liquid crystal based sensing device using a smartphone." *Analyst*, 143(5), 1046-1052, (2018).
8. Singh, S. K., Nandi, R., Mishra, K., Singh, H. K., Singh, R. K., & Singh, B. "Liquid crystal based sensor system for the real time detection of mercuric ions in water using amphiphilic dithiocarbamate." *Sensors and Actuators B: Chemical*, 226, 381-387.(2016)
9. Popov, P., Mann, E. K., & Jákli, A. "Thermotropic liquid crystal films for biosensors and beyond". *Journal of Materials Chemistry B*, 5(26), 5061-5078. (2017)
10. I-Hsin Lin, Daniel. S Miller, Paul J. Bertics, Christopher J. Murphy, Juan J de Pablo, Nicholas Abbott, "Endotoxin-Induced Structural Transformations in Liquid Crystalline Droplets", *Science*, 332:1297 (2011)