

Diseño de Nanosensores Híbridos para la Detección de Metales Pesados en Agua: Funcionalización de SBA-15 mediante Química Clic

Design of Hybrid Nanosensors for the Detection of Heavy Metals in Water: SBA-15 Functionalization through Click Chemistry

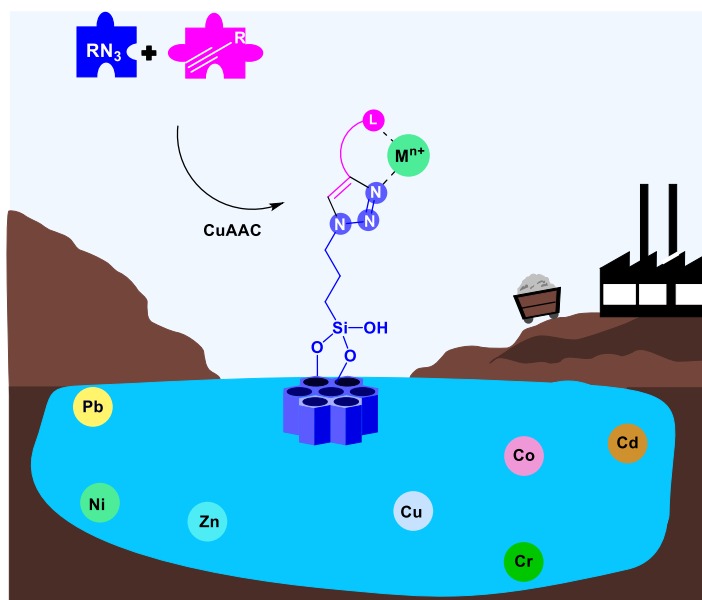
Itzel Nohemi Gutiérrez Barroso, Carlos Rodolfo Vargas López, Saúl Andrés López Ramírez, Edgar Rojas Arroyo,¹ Adriana Galván^{1*}

¹Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto. ac.galvan@ugto.mx¹

²Escuela de Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

*ac.galvan@ugto.mx

Resumen



Palabras clave: nanosensor, Química Clic, CuAAC, sílice mesoporosa ordenada, metales pesados

Dada la relevancia de la industria minera en la ciudad de Guanajuato, se plantea el diseño de nanosensores sólidos como una alternativa en la detección rápida de metales pesados. Se sintetizó la sílice mesoporosa SBA-15 mediante la ruta hidrotermal seguida de su funcionalización con (3-azidopropil) trimetoxisilano para generar sílice 'clicable' o N₃-SBA-15. Esta última se empleó en la reacción de ciclo-adición azida-alquino catalizada por Cu(I) (CuAAC) con distintos alquinos con el fin de incorporar estructuras de ligandos bi- y tridentados en superficie. Las propiedades fisicoquímicas de los nanosensores desarrollados se caracterizaron utilizando técnicas analíticas como FT-IR, fisisorción de N₂ y UV-Vis. Se realizaron análisis complementarios del ligante orgánico mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN) ¹H y ¹³C. Finalmente, se evaluó la respuesta de los nanosensores ante soluciones de metales pesados con concentraciones (Cd, Pb, Hg, Cu y Co).

Introducción

La importancia de desarrollar nanosensores para la detección de metales pesados en muestras acuosas radica en la necesidad urgente de monitorear y controlar la contaminación en los recursos hídricos. Los metales pesados como el arsénico (As), plomo (Pb), níquel (Ni), cobre (Cu) y cadmio (Cd) son tóxicos incluso en concentraciones muy bajas y pueden tener efectos adversos significativos sobre la salud humana y el medio ambiente. La presencia de estos contaminantes en el agua puede provenir de diversas fuentes, como actividades industriales, agrícolas y desechos urbanos (Balali, 2021). La generación de nanosensores toma importancia pues representan una alternativa a los métodos espectrofotométricos comúnmente empleados. Los nanosensores son materiales a la escala nanométrica, responden a la presencia de un analito y proveen una respuesta que puede ser interpretada por el usuario (Rasheed et al., 2022). Están conformados por un nanomaterial, un elemento de reconocimiento y mecanismo de traducción de señal; cuando interactúan con analito producen una señal detectable. Los nanosensores pueden clasificarse por el tipo transducción (ópticos, eléctricos y magnéticos) (Santhamoorthy et al., 2024) o por el tipo de nanomaterial (grafeno, nanotubos de carbono, puntos cuánticos, sílices mesoporosas ordenadas, magnetita, nanocables (Vikesland et al., 2018). La implementación de materiales sólidos como las sílices mesoporosas ordenadas en la obtención de nanosensores presenta ciertas ventajas como áreas superficiales elevadas, distribución de tamaños de poro uniforme, resistencia mecánica y térmica, así como una elevada población de grupos silanol superficiales que son susceptibles de funcionalización mediante reacciones de condensación con silanos orgánicos (Boland, 1993). Otro punto importante es que es posible sintetizar sílices mesoporosas con distinta morfología y tamaño de poros, lo mismo aplica a la morfología de la partícula, Figura 1.

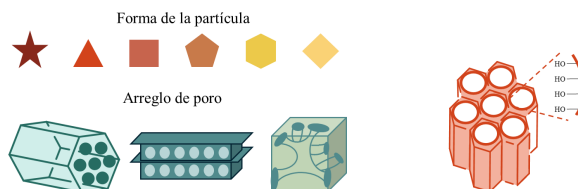


Figura 1. Sílices Mesoporosas Ordenadas.

Una opción interesante para la modificación de las sílices mesoporosas ordenadas es, sin duda, la Química Clic, que es una metodología enfocada en la síntesis de moléculas mediante la unión de pequeños sustratos. Asimismo, las reacciones involucradas se caracterizan por ser selectivas, de amplio alcance, ofrecen rendimientos altos y generan subproductos inofensivos que pueden eliminarse mediante métodos no cromatográficos. Entre ellas, destaca la reacción de *Cicloadición Alquino-Azida Catalizada por Cobre (I)* (CuAAC), Figura 2. Tal transformación fue desarrollada por Sharpless (Sharpless 2001) y fue galardonada con el premio Nobel de Química en 2022. Permite la unión dos sustratos cualesquiera mientras cuenten con los grupos funcionales de alquino y azida por lo que su aplicación ha trascendido a un sinfín de campos de investigación y la ciencia de los materiales no es la excepción (Ziarani, 2016).

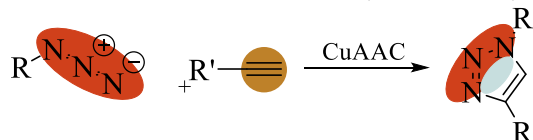


Figura 2. Química clic, CuAAC.

La funcionalización con grupos alquino o azida de diversos materiales ha permitido la liberación controlada de fármacos, el marcaje con biomoléculas en imagenología, la inmovilización de enzimas en catálisis, la estabilización metales de transición o incorporación de cromóforos como se muestra en la Figura 3.

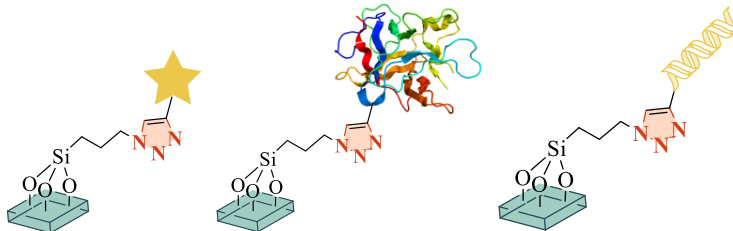


Figura 3. Funcionalización de sílices con Química clic.

Metodología Experimental

Se realizó la síntesis de dos familias de nanosensores sólidos para la detección de metales pesados en agua, en la Figura 4 se muestra la metodología estudiada.

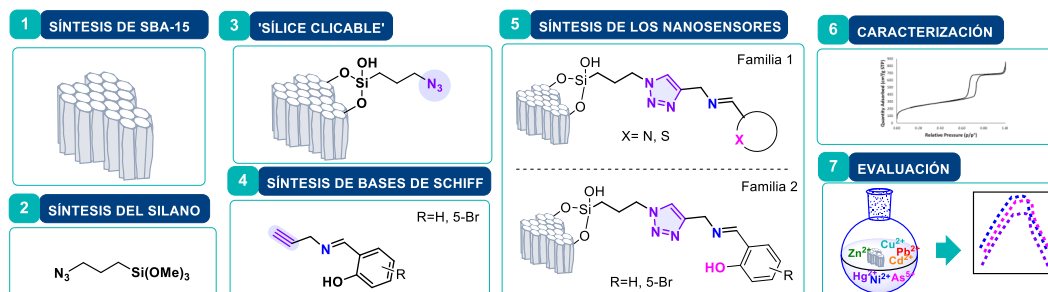


Figura 4. Metodología utilizada para la generación de nanosensores a partir de la sílice SBA-15 y química clic.

Síntesis de SBA-15

En un recipiente de polipropileno con tapa se pesaron 16.2 g de Pluronic P123 (=5800) y se disolvieron en 375 mL de HCl 1.6 M. Se agitó a 35-40 °C por 4 h. Se adicionaron 37.0 mL de tetraetoxisilano o tetraetilortosilicato (TEOS) 97% por goteo. El recipiente de polipropileno se cerró herméticamente y se agitó a la misma temperatura por 20 h. Posteriormente, se ajustó la temperatura a 80 °C y se mantuvo bajo condiciones estáticas por 24 h más. Se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a vacío. Se lavó con agua destilada. Se secó a 60 °C por 12 h. Se calcinó a 550 °C por 6 h y el tamaño de partícula se homogenizó a 150 µm.

Síntesis del (3-azidopropil) trimetoxisilano (1)

En un matraz redondo de 25 mL seco con agitador se pesaron 183 mg de KN₃ bajo atmósfera de N₂. Se adicionaron 0.9 mL de DMF anhidro y 0.28 mL de (3-cloropropil) trimetoxisilano (CPTMS) y se agitó a 100 °C por 12 h. Se adicionaron 2.5 mL de agua y 2.5 mL de Et₂O, se agitó por 5 min y se dejó reposar. Se separó la fase orgánica y se lavó con agua (3x5 mL) y con salmuera (1x5 mL). Finalmente, se secó la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro y el producto fue recuperado mediante la evaporación del Et₂O.

Funcionalización de SBA-15 con grupos azida (N₃-SBA-15).

En un matraz redondo de 50 mL seco equipado con agitador se pesó 1.0 g de SBA-15 previamente secada a 120 °C por 12 h y se adicionaron 25 mL de PhMe anhidro bajo atmósfera de N₂. La mezcla de reacción fue agitada a 80 °C por 24 h. El sólido resultante fue recuperado por filtración a vacío y lavado con EtOH y acetona. Luego se sometió a extracción Soxhlet con DCE por 24 h, finalmente se secó a 80 °C por 12 h.

Síntesis de las bases de Schiff (4a-b)

En un matraz redondo de 25 mL seco con agitador se colocaron 1.0 mmol del salicil aldehído correspondiente, 1.05 equiv. de propargilamina, 2.0 equiv. de Na₂SO₄ anhidro y 2.0 mL de THF. La mezcla de reacción se irradió en un baño de ultrasonido hasta que se consumió la materia prima. El producto fue aislado mediante recristalización con DCM y hexano.

Síntesis de Nanosensores: funcionalización de SBA-15 con CuAAC.

En un matraz redondo de 250 mL con agitador se pesaron 2.0 g de N₃-SBA-15, 2.0 mmol del alquino correspondiente, 0.2 equiv. de CuI, 0.4 equiv. de ascorbato de sodio y 100 mL de EtOH o tBuOH. La mezcla de reacción se agitó por 24 h a temperatura ambiente. Los nanosensores fueron recuperados mediante filtración a vacío, se lavaron con EtOH, acetona y finalmente con una solución de dietilditiocarbamato de sodio 0.2 M en MeOH. Los nanosensores se secaron en estufa a 80 °C por 12 h previo a su caracterización o evaluación.

Pruebas de detección de los Nanosensores.

Se prepararon soluciones acuosas de Cd²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Hg²⁺ y Pb²⁺ a partir de las sales Cd(NO₃)₂·4H₂O, CoCl₂·6H₂O, CuCl₂·2H₂O, HgCl₂ y Pb(NO₃)₂ respectivamente con concentraciones de 0.00, 0.10, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 ppm, el pH de estas fue ajustado a un valor de 3.0-4.0 con una solución de KCl/HCl 0.2 M; se usó agua desionizada para la preparación de todas las soluciones. Para las pruebas de detección se pesaron 20 mg de nanosensor y se suspendieron en 10 mL de solución metálica en un tubo de centrifuga de 20 mL, la suspensión se irradió en un baño de ultrasonido por 5 min (65 KHz) a temperatura ambiente. Posteriormente,

se centrifugó a 1 000 rpm en un periodo de 10 min. El sobrenadante fue analizado en un espectrofotómetro UV-Vis en un intervalo de 200-400 nm.

Resultados

En primera instancia se realizó la síntesis de la sílice mesoporosa ordenada SBA-15 de acuerdo con el método reportado por Zhao (Zhao, 2002). Para comprobar la obtención del soporte mesoporoso ordenado se realizó su caracterización por distintas técnicas, ver Figura 5. El análisis del patrón de difracción de rayos X (a) muestra una banda ancha entre 20-30 ° que corresponde a sílice mesoporosa amorfa presente en la paredes de SBA-15. Para corroborar la existencia del arreglo hexagonal de poros en dos dimensiones se realizó el análisis de difracción de rayos X de ángulo bajo (b), se observan los picos característicos de SBA-15 a 0.89, 1.53 y 1.71 ° de 2θ que corresponden a los planos de difracción $D_{100}=9.9$ nm, $D_{110}=5.8$ nm y $D_{200}=5.1$ nm, las distancias interplanares se calcularon de acuerdo con la ley de Bragg; el patrón de difracción es consistente con un arreglo de poros hexagonal en 2D (grupo espacial $p6mm$). La microscopía electrónica de barrido (MEB) para la SBA-15 (c) muestra la presencia de partículas tubulares curvas con dimensiones de alrededor de 150 nm x 400 nm.

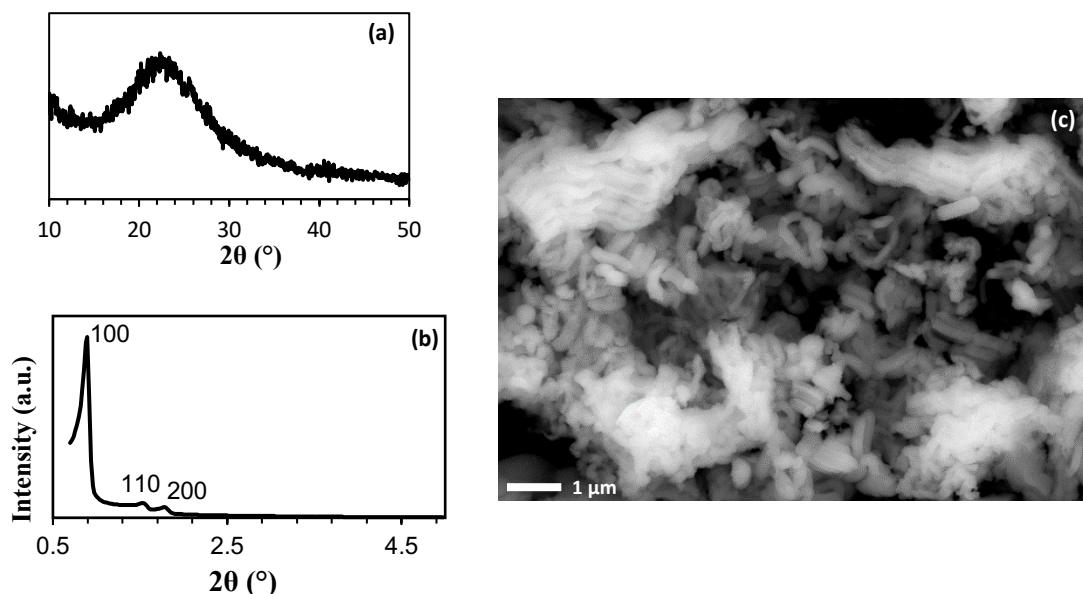


Figura 5. Caracterización de la sílice mesoporosa SBA-15 (a) patrón de difracción de rayos X de polvos, (b) patrón de difracción de rayos X de ángulo bajo y (c) microscopía electrónica de barrido.

A la par se sintetizó el (3-azidopropil) trimetoxisilano **1** mediante una reacción de sustitución nucleofílica entre el CPTMS y KN_3 , se obtuvo un rendimiento del 82%. En la Figura 6 se muestran los espectros de RMN ^1H y ^{13}C del producto obtenido. El espectro de RMN ^1H (a) presenta un singlete en 3.57 ppm correspondiente a los hidrógenos del grupo trimetoxisilil $-\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$. Se observa además un triplete en 3.26 ppm para el grupo metileno (CH_2) adyacente al grupo azida (N_3). El metileno intermedio se revela en un quintuplete en 1.70 ppm, mientras que el metileno unido al silano aparece un triplete en 0.69 ppm. En el espectro de RMN ^{13}C , se observa una señal en 53.87 ppm, atribuida al carbono continuo al grupo N_3 . En tanto, el pico en 50.71 ppm corresponde a los carbonos equivalentes del metoxilo. El carbono central se encuentra en 22.59 ppm, por último, el metileno adyacente al silano se detecta en 6.47 ppm.

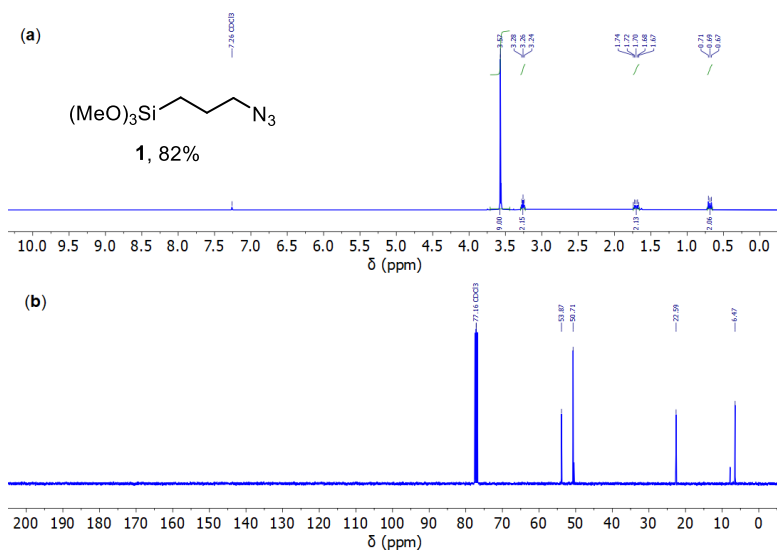
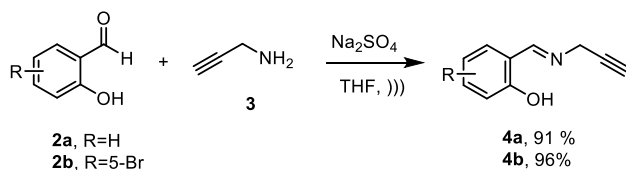


Figura 6. Espectros RMN del silano 1: (a) ^1H (CDCl_3 , 500 MHz), (b) ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz).

También se realizó la síntesis de los alquinos derivados de base de Schiff partiendo de salicil aldehídos y propargilamina en THF, ver Esquema 1. Se presentan los espectros de RMN ^1H para los productos **4a-b** en la Figura 7.



Esquema 1. Síntesis de alquinos derivados de bases de Schiff.

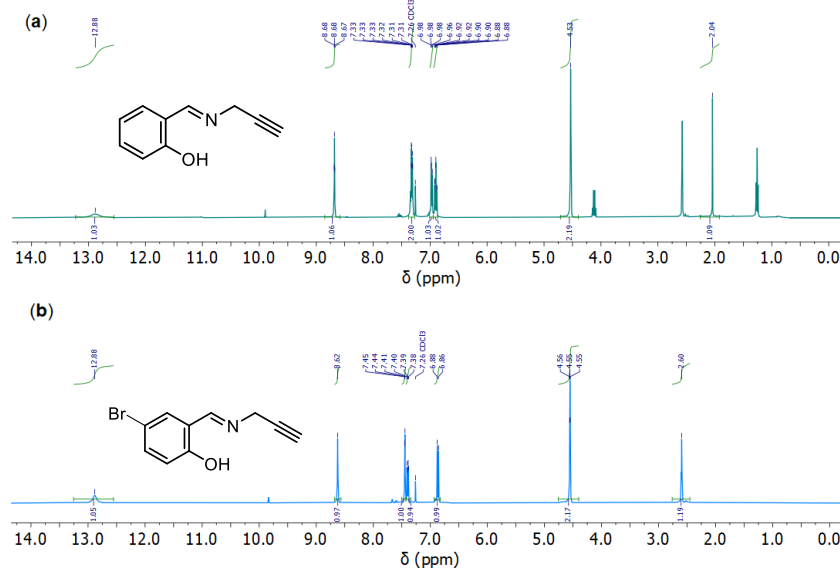


Figura 7. Espectros RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de los alquinos derivados de bases de Schiff.

El espectro de RMN- ^1H del producto **4a** se aprecia un singlete en 12.88 ppm debido a la presencia del hidroxilo (OH), mientras que el hidrógeno de la imina ($\text{HC}=\text{N}$) se expresa en un sigulete en 8.68 ppm. El conjunto de señales entre 7.33 y 6.88 ppm pertenecen al sistema aromático. El metileno ($\text{N}-\text{CH}_2$) se muestra en 4.53 ppm como un singlete, finalmente, el protón del alquino terminal ($\text{C}\equiv\text{CH}$) aparece en 2.04 ppm.

Para el producto **4b** se observa un comportamiento similar, un singulete en 12.88 ppm atribuido por el hidroxilo y en 8.62 ppm debido al protón de la imina. Un multiplete propio del anillo bencénico entre 7.45 y 6.86 ppm. La señal en 4.55 ppm corresponde al metileno adyacente a la imina y otro singulete originado por el hidrógeno del triple enlace.

En una siguiente etapa se realizó la funcionalización de la SBA-15 con el silano **1** para generar sílice clicable, la cual se hizo reaccionar con 2-etinilpiridina en presencia de CuI o $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en combinación con ascorbato de sodio en una mezcla de $t\text{BuOH} : \text{H}_2\text{O}$ (1:1) con cargas molares del 5-10% para CuI y 10-100% para $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ por 24 h a temperatura ambiente para generar el nanosensor **1** (NS1). Para asegurar el estado de oxidación del Cu(I) se realizó una segunda adición de ascorbato de sodio después de 12 h de reacción. Los materiales sintetizados hasta este punto fueron caracterizados por espectroscopía infrarroja, Figura 8a. Se confirmó la incorporación del grupo $-\text{N}_3$ en la superficie de SBA-15 por disminución de la intensidad de la señal alrededor de 3500 cm^{-1} que corresponde a grupos $-\text{OH}$ y aparición de una señal aguda cerca de 2100 cm^{-1} para $-\text{N}_3$. Durante la reacción de CuAAC se observó que las cargas de CuI (10% mol) y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (100% mol) son las más eficientes dado que la señal para el grupo $-\text{N}_3$ disminuye considerablemente. Mientras que las pruebas con cargas inferiores mostraron una mayor intensidad para la banda en cuestión. Entonces se procedió a realizar la síntesis de los nanosensores NS2-4 utilizando CuI (10% mol) con ascorbato de sodio. En la Figura 8b se muestran los espectros infrarrojos de los nanosensores en comparación con N_3 -SBA-15, se determinó que la metodología implementada resulta en una disminución de la señal de $-\text{N}_3$, sin embargo, solo observó una transformación completa para el NS3 (verde). Se plantea la posibilidad de incrementar el tiempo de reacción para favorecer la conversión.

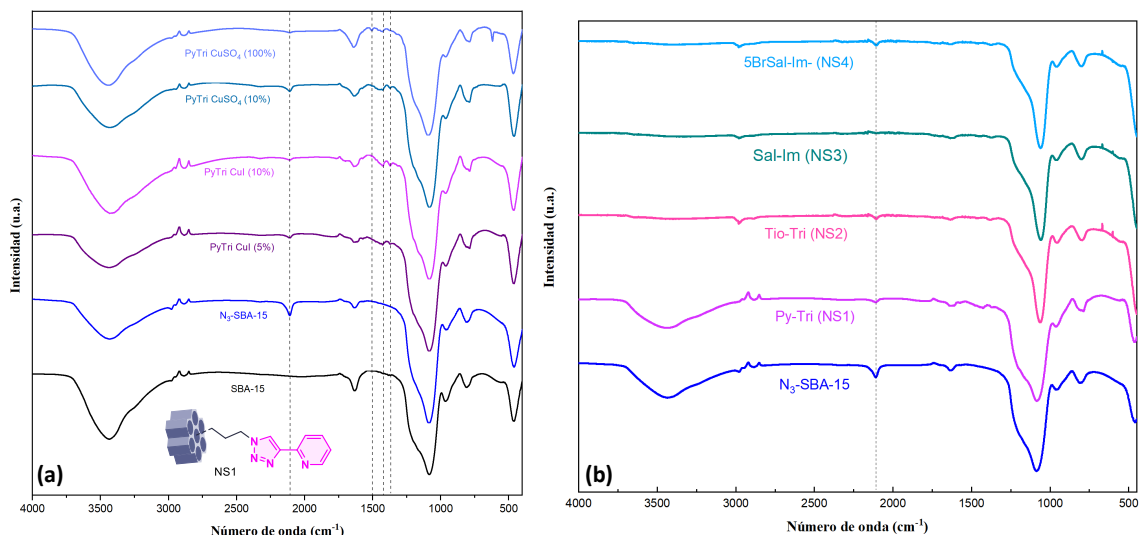


Figura 8. (a) Espectros FTIR para el NS1 obtenido bajo distintas condiciones de reacción, (b) comparación de los espectros FTIR de los nanosensores obtenidos con su precursor N_3 -SBA-15.

Se realizó la determinación de las propiedades texturales de los materiales sintetizados mediante la técnica de fisisorción de N_2 , estas se resumen en la Tabla 1. Se encontró que la sílice SBA-15 presentó una isoterma tipo IV con lazo de histéresis tipo H1 que corresponde a materiales mesoporosos con poros cilíndricos abiertos por ambos extremos, tal información concuerda con la literatura, Figura 9. Para las posteriores modificaciones se observó en general el mismo comportamiento con una disminución incipiente de las propiedades texturales (área superficial, volumen de poro y diámetro de poro). Todos los materiales presentaron una distribución de tamaños de poros uniforme.

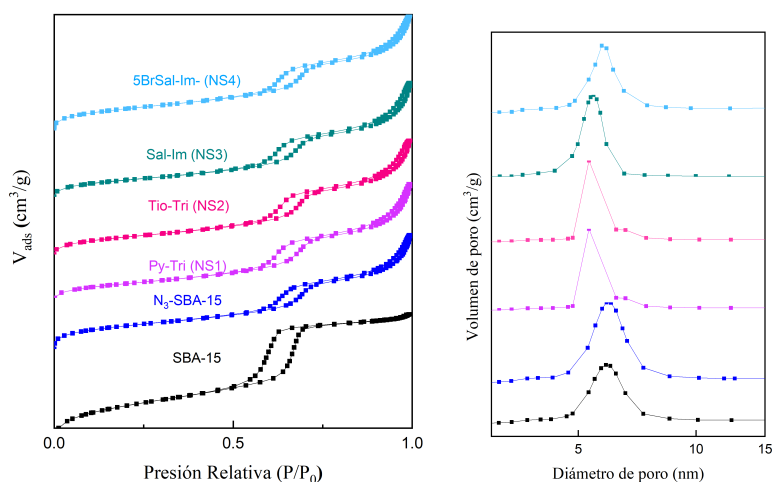


Figura 9. Análisis textural de los materiales sintetizados: (a) Isotermas de adsorción-desorción de N_2 y (b) distribución de tamaños de poro.

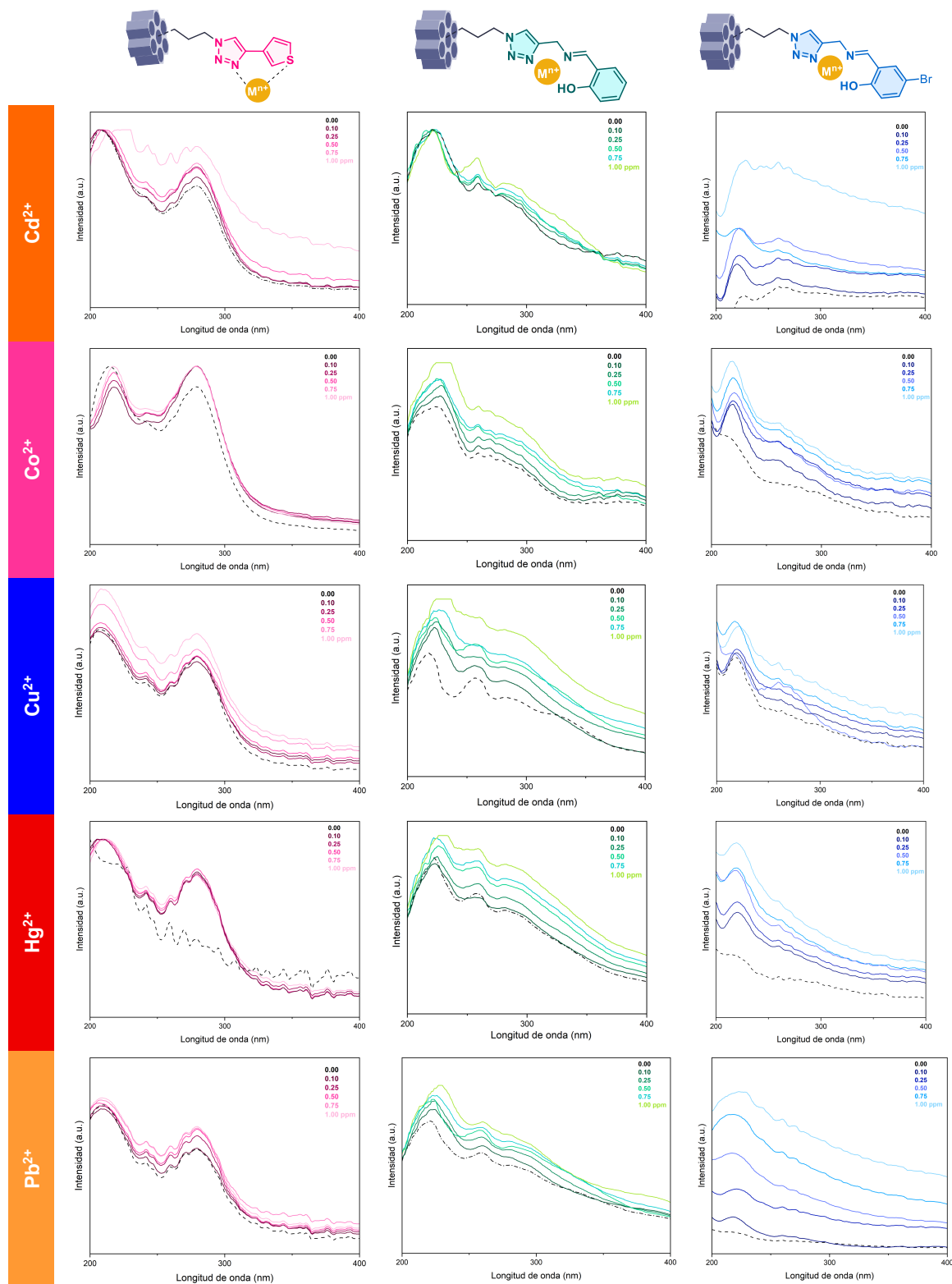
Tabla 1. Propiedades texturales de los nanosensores sintetizados determinados por la técnica de adsorción-desorción de N_2 .

Muestra	S_{BET} (m^2/g)	Dp (nm)	Vp (cm^3/g)
SBA-15	721	5.9	0.73
N_3 -SBA-15	648	5.9	0.70
Py-Tri (NS1)	387	5.3	0.52
Tio-Tri (NS2)	424	5.3	0.55
Sal-Im (NS3)	389	5.5	0.66
5BrSal-Im- (NS4)	538	5.7	0.69

Como última etapa se realizaron pruebas de detección para soluciones metálicas de Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} y Pb^{2+} a un pH de 3.0-4.0 con ayuda de un espectrofotómetro UV-Vis. En la Figura 10, se muestran los espectros generados a distintas concentraciones de los metales antes mencionados para los nanosensores NS2-4. Se observó que el NS2 de la familia 1, mostró respuesta para todos los metales estudiados, pero fue más marcada para Hg^{2+} . En el caso de los nanosensores que conforman la familia 2 o derivados de bases de Schiff que son tridentados el comportamiento fue distinto. El NS3 mostró una respuesta casi nula para Cd^{2+} mientras que fue más notoria para Cu^{2+} y Co^{2+} . En cuanto al NS4 mostró respuestas favorables todos los metales excepto Cu^{2+} . Cabe destacar que los resultados aquí mostrados son preliminares, es necesario optimizar las condiciones de detección, así como su validación con otras técnicas. Otro punto para considerar es el uso de sales que contengan el mismo anión. Una vez establecido el método debe evaluarse la selectividad, factibilidad de reutilización y el análisis de pruebas con muestras reales.

Respecto al NS1 descrito en la primera parte no fue posible evaluar su respuesta con muestras acuosas debido a la poca cantidad disponible. Se optó por evaluar el comportamiento de un análogo orgánico en disolución metanólica de los metales estudiados en una proporción equimolar, en la Figura 11 se muestran las fotografías después de 12 h de reacción a temperatura ambiente. A la par se estudió el comportamiento del análogo del NS2. Los resultados obtenidos son cualitativos, se observó que las pruebas realizadas con el análogo de NS1 (Piridina-Triazol) presentaron cambios más marcados en cuanto a color, fluorescencia y formación de precipitados que su contraparte NS2 (Tiofenil-Triazol). Este comportamiento marca la pauta para un futuro estudio del NS1 en pruebas de detección más robustas.

Figura 10. Pruebas de detección de metales pesados para los nanosensores sintetizados NS2-4 mediante UV-Vis.



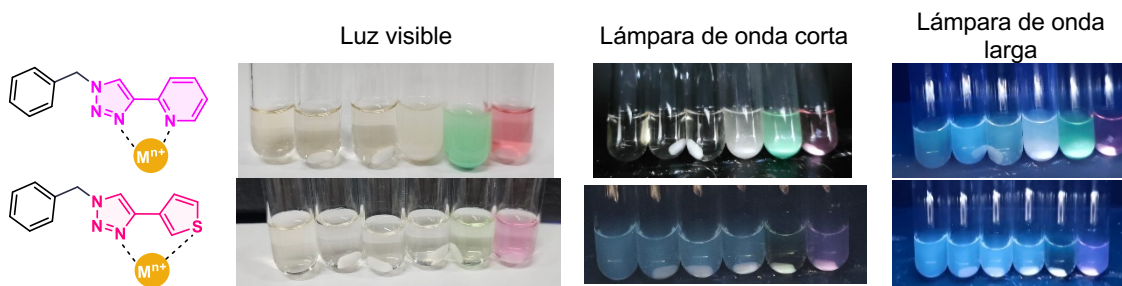


Figura 11. Análisis cualitativo de los análogos orgánicos de los nanosensores NS1 y NS2 frente a metales pesados.

Conclusiones

En este trabajo se empleó exitosamente la Química Clic para sintetizar dos familias de nanosensores, se demostró la importancia de la fuente de Cu(I), uso de aditivos y tiempo de reacción en la reacción de CuAAC con sólidos. Otro factor relevante es la solubilidad del alquino en el medio de reacción para asegurar la difusión hacia los poros del material. Los resultados preliminares aquí descritos, muestran que los nanosensores desarrollados presentan respuesta favorable para la detección de metales pesados, siendo el NS2 el más prometedor para la detección de metales pesados, sin embargo, es necesario realizar estudios complementarios más extensos para optimizar las condiciones de detección.

Agradecimientos

Al Dr. Miguel Ángel Vázquez Guevara y a su grupo de investigación por su enorme apoyo durante el desarrollo del proyecto. Al Dr. Merced Martínez Rosales por su apoyo con la síntesis de caracterización de materiales. A la Universidad de Guanajuato y a Veranos UG por las becas otorgadas. A SECIHTI por el apoyo económico.

Bibliografía/Referencias

- Balali-Mood et al., *Front. Pharmacol.* 2021, 12, 5.
 Rasheed et al. *Trends Environ. Anal. Chem.* 2022, 36, e00179.
 Santhamoorthy, M. et al. *Methods* 2024, 223, 26.
 Vikesland, P. et al. *Nat. Nanotechnol.* 2018, 13, 651.
 Boland, J.J. *Adv. Phys.* 1993, 42, 129.
 Zhao, D. et al. *Science*, 2002, 7, 173.
 Sharpless, K. B. et al. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2001, 40, 2004.
 Ziarani, G.M. et al., *RSC Adv.*, 2016, 6, 21979.