



CENTRO DE INVESTIGACIONES
EN ÓPTICA, A.C.

**MATERIALES ORGÁNICOS APLICADOS COMO SENSORES COLORIMÉTRICOS Y
PLASMÓNICOS PARA LA DETECCIÓN DE METALES**

**“ORGANIC MATERIALS APPLIED AS COLORIMETRIC AND PLASMONIC SENSORS FOR THE
DETECTION OF METAL IONS”**



Doctor en Ciencias (Óptica)

Presenta:

Diecenia Peralta Domínguez

Asesor:

Dr. Gabriel Ramos Ortiz

Coasesor:

Dr. José Luis Maldonado Rivera

Octubre 2017
León, Guanajuato, México

RESUMEN

En el presente proyecto de investigación se estudió una serie de moléculas orgánicas derivados de base de Schiff como sensores para la detección de metales. La motivación de este trabajo ha sido desarrollar sensores colorimétricos de metales en medios acuosos que combinen las propiedades de bajo costo, alta sensibilidad y alta selectividad. Una molécula orgánica (ligante) puede funcionar como un sensor colorimétrico, sí en su estructura molecular contiene una unidad receptora (encargada de coordinarse al metal) y un cromóforo, enlazados por un sistema π conjugado. Se estudiaron varios ligantes de base de Schiff cuya estructura favorece la coordinación química con los iones metálicos. La interacción de los ligantes denotados como **L1**, **L2**, **L3**, **L4**, **L5**, **L6**, **L7** y **S1** con iones metálicos se realizó mediante espectroscopía de absorción Ultravioleta-visible. Los resultados indicaron una excelente coordinación entre **L1** y **S1** con níquel y cobre, respectivamente, es decir, dichos sensores son capaces de detectar selectivamente iones de estos metales sin la interferencia significativa de otros iones.

El ligante **L1**, 4-chloro-2-[(3-(4-dimethylaminophenyl)-allylidenamino]phenol, fue validado como sensor colorimétrico de Ni^{2+} en solución acuosa. La adición de níquel a una solución de **L1** en DMSO produjo un rápido cambio de color de amarillo a naranja, correspondiente a un gran desplazamiento hacia el rojo del pico de absorción de 435 a 480 nm. El efecto colorimétrico está acompañado de la presencia de un punto isosbestico en el espectro de absorción, lo que indica que en realidad el corrimiento hacia el infrarrojo se debe a la aparición de una nueva banda de absorción indicativa de la coordinación sensor-metal. **L1** exhibió un límite de detección para Ni^{2+} de 1×10^{-7} M medido por espectroscopía de absorción, mientras que el límite de detección colorimétrico (definido como el cambio de color detectado visualmente sin el apoyo de ningún instrumento) fue del orden de 5×10^{-6} M. La interacción entre **L1** y otros iones metálicos biológicamente y ecológicamente relevantes como Hg^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Mn^{2+} , inducen cambios espectrales mínimos. Los resultados obtenidos muestran que la

base de Schiff **L1** funciona como un excelente sensor químico del ion Ni^{2+} con una alta selectividad y la capacidad para realizar la detección en el agua en un intervalo de 5.5-8 de pH.

La estructura molecular del sensor **L1** puede ser modificada para inducir una respuesta colorimétrica diferente. Por ejemplo, al cambiar de 4 a 5 la posición del elemento cloro en anillo dimetilaminofenil la selectividad de coordinación de **L1** cambia completamente. En este la nueva estructura resulta en 5-chloro-2-[3-(4-(dimethylaminophenyl)-allylidenamino]phenol y en este estudio se denota como **S1**, que funciona como un sensor colorimétrico. El sensor **S1** muestra una coordinación favorable hacia Cu^{2+} y prácticamente ninguna interferencia con la presencia de otros iones de metales, como son, Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} y Zn^{2+} . **S1** exhibió cambios de color del amarillo al rosa con un límite de detección para Cu^{2+} de 1.25×10^{-7} M medidos por métodos espectroscópicos, mientras que a concentraciones muy bajas del orden de 2×10^{-6} M se pudieron observar cambios colorimétricos a simple vista. Experimentos de titulación de mezclas de soluciones de **L1** y Ni^{2+} , así como de **S1** y Cu^{2+} , permitieron establecer la formación y geometría estequiométrica de los complejos **S1** + Ni^{2+} y **S1** + Cu^{2+} .

Estos sensores pueden ser de utilidad en pruebas biológicas y ciencias ambientales en donde se requiere detectar iones de níquel y cobre. Finalmente, con la finalidad de ejemplificar la utilidad de estos sensores, también se demostró que **S1** puede ser útil para la detección de iones de cobre a través del uso de la técnica de resonancia de plasmón superficial (SPR). Mediante un arreglo de SPR en la configuración de Kretschmann se detectó Cu^{2+} en soluciones acuosas al nivel de concentración de 1.5×10^{-6} M debido a los cambios en el índice de refracción en soluciones después de la formación de los complejos metálicos.

ABSTRACT

In the present research project we studied a series of organic molecules derived from Schiff base as sensors for the detection of metals. The motivation of this work has been to develop colorimetric sensors of metals in aqueous media that combine the properties of low cost, high sensitivity and high selectivity. An organic molecule (ligand) can function as a colorimetric sensor, if its molecular structure contains a receptor unit (responsible for coordinating the metal) and a chromophore, linked by a π conjugated system. In this work some Schiff bases whose structure favors chemical coordination with metal ions were studied. The interaction of the ligands denoted as **L1**, **L2**, **L3**, **L4**, **L5**, **L6**, **L7** and **S1** with metal ions was performed by absorption spectroscopy (UV-Vis). The results indicated excellent coordination between **L1** and **S1** with nickel and copper respectively. These sensors are able to selectively detect ions of these metals without significant interference from other ions.

The ligand **L1**, 4-chloro-2 - [(3- (4-dimethylaminophenyl) -allylidenamino] phenol, was validated as a colorimetric Ni^{2+} sensor in aqueous solution. The addition of nickel into a solution of **L1** in DMSO produced a rapid color change from yellow to orange, corresponding to a large red shift of the absorption peak from 435 to 480 nm. The colorimetric effect is accompanied by the presence of an isosbestic point in the absorption spectrum due to the appearance of a new band that is indicative of the sensor-metal coordination. **L1** exhibited a detection limit for Ni^{2+} of 1×10^{-7} M measured by absorption spectroscopy, while the colorimetric detection limit (defined as the color change detected at naked eye without the support of any instrument) was of the order of 5×10^{-6} M. The interaction between **L1** and other metal ions biologically and ecologically relevant such as Hg^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} and Mn^{2+} , induce minimal spectral changes. The results obtained show that the Schiff base **L1** works as an excellent chemical sensor of Ni^{2+} ion with a high selectivity and the ability to perform detection in water in a range of 5.5-8 pH.

The molecular structure of the sensor **L1** can be modified to induce a different colorimetric response. For example, changing the position of the chlorine element in the dimethylaminophenyl ring from 4 to 5, the coordination selectivity of **L1** changes

completely. The new structure results in 5-chloro-2- [3- (4- (dimethylaminophenyl) - allylidenamino] phenol and in this study it is denoted as **S1**, which functions as a Cu^{2+} colorimetric sensor, and practically without interference with other metal ions, such as Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} and Zn^{2+} . **S1** exhibited a color changes from yellow to pink with a limit of detection for Cu^{2+} of 1.25×10^{-7} M measured by spectroscopic methods, while at very low concentrations of the order of 2×10^{-6} M colorimetric changes could be observed at naked eye. Titration experiments of mixtures of solutions of **L1** and Ni^{2+} , as well as **S1** and Cu^{2+} , allowed to establish the formation and stoichiometric geometry of the **S1**+ Ni^{2+} and **S1**+ Cu^{2+} complexes.

These sensors can be useful in biological tests and environmental sciences where it is necessary to detect nickel and copper ions. Finally, in order to exemplify the utility of these sensors, it was also shown that **S1** may be useful for the detection of copper ions through the use of surface plasmon resonance (SPR) technique. By SPR array in the Kretschmann configuration Cu^{2+} was detected in aqueous solutions at the concentration level of 1.5×10^{-6} M due to changes in the refractive index in solutions after the formation of the metal complexes.

PREFACIO

En la actualidad el medio ambiente se deteriora día con día debido al crecimiento de la población y los desechos industriales generados por la actividad humana. Una pobre regulación en los desechos industriales, permite que éstos terminen en los mantos acuíferos y aguas superficiales provocando un alto índice de contaminación de diversos elementos incluyendo iones metálicos. Por esta razón se requiere técnicas de detección económicas y de fácil empleo. Esto ha motivado el desarrollo de nuevas técnicas y transductores ópticos que funcionan como sensores de iones metálicos.

El uso de materiales moleculares orgánicos como los derivados de la base Schiff en la denominada electrónica orgánica está dando paso a la creación de sensores ópticos y colorimétricos de nueva generación. Las moléculas orgánicas que experimentan un cambio de color debido a una reacción química con un analito, se conocen como “sensores colorimétricos”, en este caso nuestro interés se centra en los derivados de la base Schiff para la detección de iones metálicos en medios acuosos para este proyecto de investigación. La motivación principal de este proyecto es el estudio de sensores moleculares colorimétricos capaces de identificar metales en agua. Debe mencionarse que el desarrollo de sensores colorimétricos es un tema importante que está recibiendo mucha atención en la literatura, pero existen pocos reportes de sensores con la cualidad de poder detectar la presencia de metales en agua. El poder detectar metales en medios acuosos tiene importantes implicaciones prácticas en ciencias ambientales y ciencias biológicas. Este proyecto es interdisciplinario pues involucra aspectos de espectroscopía óptica, sensores ópticos/colorimétricos, química orgánica y plasmónica.

La presente tesis consiste en 8 capítulos. Inicia con el capítulo de la introducción donde se explica la razón y la motivación de este proyecto de investigación, que incluye los efectos causados por las altas concentraciones de los metales en el cuerpo humano, plantas y animales. En este mismo capítulo se aborda los métodos de detección de iones metálicos existentes, así como sus ventajas y desventajas.

El capítulo 2 se centra en las características químicas de moléculas orgánicas y en la técnica de espectroscopía de absorción Ultravioleta-Visible (Uv-Vis) para su

estudio. Así mismo se describen sus niveles de energía y los efectos de los disolventes en la absorción de las moléculas. Como ejemplo de estos efectos, se presentan los resultados obtenidos del estudio solvatocrómico de moléculas modelo de esta tesis (base Schiff) denotadas como **L1** y **S1** con sensibilidad hacia níquel y cobre, respectivamente.

En el capítulo 3 se explica las propiedades químicas que debe cumplir una molécula orgánica para que pueda funcionar como un sensor químico/óptico. Se incluyen las características de un sensor colorimétrico y su principio de funcionamiento.

En el capítulo 4 se presenta los resultados obtenidos de la caracterización espectroscópica de una familia completa de derivados de la base Schiff denotados como **L1**, **L2**, **L3**, **L4**, **L5**, **L6** y **L7**. Este capítulo también presenta un análisis de las propiedades colorimétricas de **L1** ante los metales de transición disueltos en agua, abarcando aspectos como selectividad, sensibilidad, estabilidad y comportamiento ante diferentes pH ya que **L1** presentó excelentes propiedades de coordinación ante Ni^{2+} .

La capacidad de enlace de las iminas depende de la distribución electrónica a través del sistema π conjugado (π^*); una distribución de densidad electrónica alta promueve que los átomos tales como el oxígeno, cloro y el nitrógeno se coordinan con iones metálicos. Como se podrá ver en el capítulo 2 las estructuras de **L1** y **S1** tienen los mismos grupos donadores y aceptores de electrones con la diferencia de que en la estructura de **S1** se cambia la posición del átomo de cloro de *meta* a *orto* cambiando así la densidad electrónica alrededor de los átomos y causando selectividad hacia otro ion metálico. Por lo que en el capítulo 5 se presenta un análisis de las propiedades colorimétricas, de absorción, selectividad, sensibilidad y estabilidad de **S1** como sensor de Cu^{2+} .

En el capítulo 6 se presenta el principio de funcionamiento de la técnica de resonancia de plasmon superficial y como esta puede combinarse con el uso de sensores colorimétricos para la detección de metales en agua. Finalmente en el capítulo 7, se presenta el caso de **S1** para la detección de cobre en agua usando esta técnica de resonancia de plasmón superficial.

El capítulo 8 presenta las conclusiones generales de este trabajo de investigación, así como el trabajo a futuro.

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Sr. Alejandro Peralta Núñez,
Sra. Maximina Domínguez Gómez.

Por el apoyo incondicional que me han brindado y la confianza que depositaron en mí. Por apoyarme en cada una de las decisiones importantes que he tomado en la vida y por ser la fuente de inspiración para ser mejor día con día. Por impulsarme a levantarme y seguir adelante en cada tropiezo u obstáculo que el destino me ha puesto.

A MIS HERMANOS:

Por el apoyo y comprensión que siempre me han brindado en buenos y malos momentos.

Con mi más grande amor:

MIL GRACIAS.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a cada persona que confió en mí y me motivó a culminar mis estudios de Doctorado. Primeramente agradezco a mi asesor Dr. Gabriel Ramos Ortiz y a mi co-asesor el Dr. José Luís Maldonado Rivera por el tiempo dedicado y por la paciencia, al enseñarme todo lo que necesité saber para realizar este trabajo de investigación. También agradezco al Dr. Mario Alejandro Rodríguez por su importante apoyo con sus conocimientos de química orgánica requeridos.

Así mismo agradezco al Grupo de Propiedades Ópticas de la Materia (GPOM) por permitirme ser parte de su grupo de trabajo, por compartir sus conocimientos y por la disponibilidad y gestión de los equipos existentes en el laboratorio.

Quiero agradecer, a cada uno de mis profesores, que contribuyeron en mi formación. En especial a mi comité evaluador formado por los doctores David Monzón Hernández, Geminiano Donaciano Martínez Ponce y Mario Alejandro Rodríguez Rivera; así como a los doctores Gabriel Ramos Ortiz, David Monzón Hernández y José Norberto Farfán García por aceptar ser mis sinodales. Gracias por compartir sus amplios conocimientos y experiencia en este periodo del doctorado.

Agradezco al Dr. Donato Luna y a la M. C. Yuliana Espinoza por compartir conmigo sus conocimientos y experiencia en la técnica de caracterización de Resonancia de plasmón superficial.

Agradezco a Martin Olmos por su asistencia técnica en el laboratorio de materiales. A Mónica Castro y Daniel Banuelos por sintetizar las moléculas.

A todos mis amigos y compañeros del CIO por brindarme su amistad y dejarme formar parte de sus vidas.

Agradezco al CONACYT por la beca otorgada durante el periodo de doctorado y por el soporte económico para el desarrollo de esta tesis a través del proyecto 132946 y 183147.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1 Los iones metálicos como contaminantes.....	2
1.1.1 El níquel	3
1.1.2 El Cobre	6
1.2 Planteamiento del problema	8
1.3 Motivación.....	9
1.4 Hipótesis y objetivos	10
1.4.1 Hipótesis	10
1.4.2 Objetivo general.....	10
1.4.3 Objetivos específicos	10
2. IMINAS (Bases de Schiff) Y SU ESTUDIO MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN.....	11
2.1 Introducción	11
2.2 Sistemas π conjugados	11
2.3 Ventajas del sistema π conjugado	13
2.4 Cromóforos	15
2.5 Moléculas orgánicas	16
2.5.1 Iminas	16
2.5.2 Propiedades de las iminas.....	19
2.5.3 Iminas o Bases de Schiff utilizadas como ligandos	19
2.6 Propiedades espectroscópicas de materiales orgánicos	21
2.6.1 La naturaleza de transiciones electrónicas en moléculas orgánicas	21
2.7 Espectros de absorción de iminas	24
2.7.1 Solvatochromismo	25
2.7.2 Efectos solvatochrómicos de las iminas estudiadas en esta tesis	28
3. SENSORES QUÍMICO-ÓPTICOS.....	31
3.1 Introducción	31
3.2 Propiedades básicas de un sensor	31

6.4 Configuración de Kretschmann.....	94
6.5 Sensores ópticos de SPR.....	97
7.- DETECCIÓN DE Cu^{2+} EN MEDIOS ACUOSOS USANDO S1 Y LA TÉCNICA DE SPR.....	99
7.1 Resonancia de plasmón superficial y bases de Schiff para la detección de iones de cobre.....	99
7.2 Respuesta SPR en muestras de S1 en coordinación con cobre a diferentes concentraciones.....	102
7.3 Respuesta SPR en muestras de S1 en coordinación con cobre a la misma equivalencia.....	104
8. CONCLUSIONES.....	109
9. REFERENCIAS.....	111

1.- INTRODUCCIÓN

En la actualidad el medio ambiente está contaminado y deteriorado debido al desarrollo industrial y al crecimiento en la población. Fuentes estacionaras como las refinerías, plantas químicas e industrias mineras, representan importantes emisores de contaminantes para el medio ambiente. Tener un medio ambiente contaminado es dañino para los seres vivos, disminuyendo la calidad de vida en la tierra. México no es la excepción a este problema, ya que no cuenta con regulaciones estrictas que eviten la contaminación del medio ambiente, además de que carece de técnicas efectivas y de bajo costo para detectar contaminantes en las áreas industriales por lo que no se conoce cuales contaminantes ni en qué cantidad están presentes en el medio ambiente. Dentro de los contaminantes más importantes a detectar están los metales de transición presentes en el agua, los cuales son altamente peligrosos pues causan problemas neurodegenerativos de salud. Por esta razón en los últimos años, el interés por monitorear iones metálicos tóxicos en los mantos acuíferos y otros cuerpos de aguas superficiales ha ido en aumento [1].

Debido a la problemática de contaminación en el medio ambiente la búsqueda de nuevos compuestos orgánicos que funcionen como sensores para la detección de iones metálicos en agua se ha vuelto un tema importante de investigación. Las moléculas orgánicas, en especial las que contienen átomos con pares de electrones libres y sistemas π -conjugados, lucen como buenos candidatos para ser empleados en el desarrollo de detectores o sensores colorimétricos o fluorescentes de iones metálicos sin la necesidad de requerir algún equipo para leer la señal o el uso de equipos sofisticados, disminuyendo de esta forma el costo del análisis, permitiendo la capacidad de poseer un medio económico para ser utilizado en el monitoreo de aguas residuales, así como en el control de aguas destinadas para el uso doméstico. Además de estas ventajas, dichos sensores ofrecen buena sensibilidad y selectividad.

1.1 Los iones metálicos como contaminantes

Los metales se encuentran en forma natural en la corteza terrestre. Sin embargo, se pueden convertir en contaminantes al alterarse su distribución en el ambiente por actividades humanas, sobre todo si no se tiene un adecuado tratamiento de los residuos, causando la contaminación de suelos, aguas subterráneas, superficiales y ambientes acuáticos. La detección inmediata de iones metálicos en agua contaminada resulta entonces de vital importancia debido a que su consumo puede estar relacionado con problemas graves de intoxicación y de salud para la fauna, flora y para los seres humanos.

A pesar de que los iones metálicos juegan un papel muy importante en muchos procesos fisiológicos en los organismos, su acumulación causa muchos problemas de salud. Por ejemplo, el hierro es esencial para la vida humana, es involucrado en el transporte de oxígeno, crecimiento y la diferenciación celular, entre muchos otros de sus usos, sin embargo, si se excede la dosis necesaria, puede causar problemas de depresión, respiración rápida y superficial, coma, convulsiones y paro cardíaco [2]. El Zinc es el segundo metal de transición más importante en el cuerpo humano después del hierro pero como contaminante reduce la actividad microbial de la tierra produciendo efectos fitotóxicos [3]. La acumulación de mercurio en el cuerpo humano puede causar daños cerebrales prenatales, desordenes cognitivos y de movimientos [4]. Otro ion altamente tóxico es el plomo, ya que causa enfermedades neurotóxicas y toxicidad reproductiva así como arterioesclerosis, elevación de la presión en la sangre; este metal en particular es muy peligroso pues es ampliamente empleado en gasolinas, pinturas, baterías y cerámicas [5]. El manganeso también tiene relevancia biológica, ya que es una componente importante en enzimas antioxidantes, pero al igual que los iones anteriores, en exceso puede causar enfermedades como el Parkinson [6]. Por otra parte, el cobre y el níquel, que son los metales de interés para esta tesis, no son la excepción en

cuanto a que son importantes en muchos procesos biológicos dentro de los organismos vivos, pero a concentraciones altas pueden ocasionar diversas enfermedades. En este trabajo de investigación el interés se ha centrado en el desarrollo de sensores moleculares para iones de estos dos metales disueltos en medios acuosos. En las siguientes secciones se detallan algunos aspectos de estos dos metales y los avances recientes para su detección por medio de sensores ópticos/colorimétricos.

1.1.1 El níquel

El níquel como elemento es esencial para las plantas y para formar complejos con amino ácidos, péptidos, fosfatos, nucleótidos y nucleos ácidos. Este metal está involucrado en varias actividades enzimáticas como ureasas, hidrogenasas, dioxigenasas, acireductone, sintasas de acetil-coenzima A, deshidrogenasas de monóxido de carbono y reductasas metilcoenzima M.

Como se puede ver de la Figura 1.1, el Ni^{2+} como contaminante es liberado de una diversidad de procesos industriales como galvanoplastia, catálisis, aleaciones, baterías de cadmio-níquel, súper capacitores, industria petrolera, etc. [7]. La detección de Ni^{2+} , presente en el medio ambiente usando un sensor sensible, es necesaria debido a que es un elemento tóxico a altas concentraciones causando lesiones de pulmón, neumonitis aguda, alergia, carcinogénesis, desorden en el nervio central y problemas gastrointestinales [8-9].



Figura 1.1. Fuentes de contaminación de Níquel.

De lo dicho anteriormente, queda claro que la detección de iones de níquel es de importancia no solo en el área de ciencias biomédicas, ya que es un elemento importante en procesos biofísicos como es la respiración, biosíntesis y metabolismos, sino también en el área de ciencias del medio ambiente, pues por actividades humanas es también un contaminante. De esto nace la necesidad del desarrollo y uso de sensores químicos para Ni^{2+} .

Moléculas orgánicas adecuadas para la detección de Ni^{2+} por técnicas ópticas son escasas principalmente porque otros iones como Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} y Fe^{2+} interfieren con el proceso de detección, restando especificidad (selectividad) a la técnica. Por esta razón en la literatura científica el reconocimiento de Ni^{2+} usando sensores químicos es comúnmente reportado con interferencia de otros metales [10-12]. Algunos reportes incluso hablan de sensores con bi-selectividad cuando son específicos a más de un metal, pero esta situación en realidad es de interés práctico limitado. Por otra parte, el mayor interés es aquel que se hace en medios acuosos, siendo en extremo poco común, lo cual significa una área de oportunidad además de ser una de las motivaciones principales para desarrollar este trabajo de investigación.

Pocos ejemplos de sistemas moleculares han sido desarrollados para la detección de Ni^{2+} , algunos derivados de las familias comúnmente empleados como sensores colorimétricos se muestran en la Figura 1.2. Por ejemplo podemos citar los derivados de dipyrrolyl **Sc1** [13], benzothiadiazoyl-triazoyl **Sc2** [7], Calix[4]arene **Sc3** [9] que han sido estudiados como sensores para Ni^{2+} pero tienen la desventaja que los iones metálicos son detectados en acetonitrilo (ACN) o tetrahidrofurano (THF) y esta característica no es práctica para aplicaciones reales, un caso similar es el de los derivados de tiofenos **Sc4** [14] con el cual detectan Ni^{2+} en etanol (EtOH) y muestra interferencia con Cu^{2+} . Familias derivadas de comarinas **Sc5** [15] disueltas en EtOH o metanol (MeOH) también son empleadas como sensor, pero si el metal está en agua presenta interferencia con Cu^{2+} y Co^{2+} , otra desventaja es que su síntesis presenta un rendimiento del 51 %. Los derivados de porfirina [16] trabajan en agua pero muestra interferencia con Co^{2+} y Fe^{2+} . La fluoresceína y rodamina [10]

trabajan en agua y 2% de dimetil-sulfóxido (DMSO) para Co^{2+} y Ni^{2+} . Derivados de la base Schiff [17] son usados en membranas basados de PVC para la detección de Ni^{2+} . Esta situación implica que existe un área de oportunidad para desarrollar la detección de iones metálicos en agua; de la misma forma, existe un área de oportunidad en diseñar sensores químicos que sean fáciles de sintetizar.

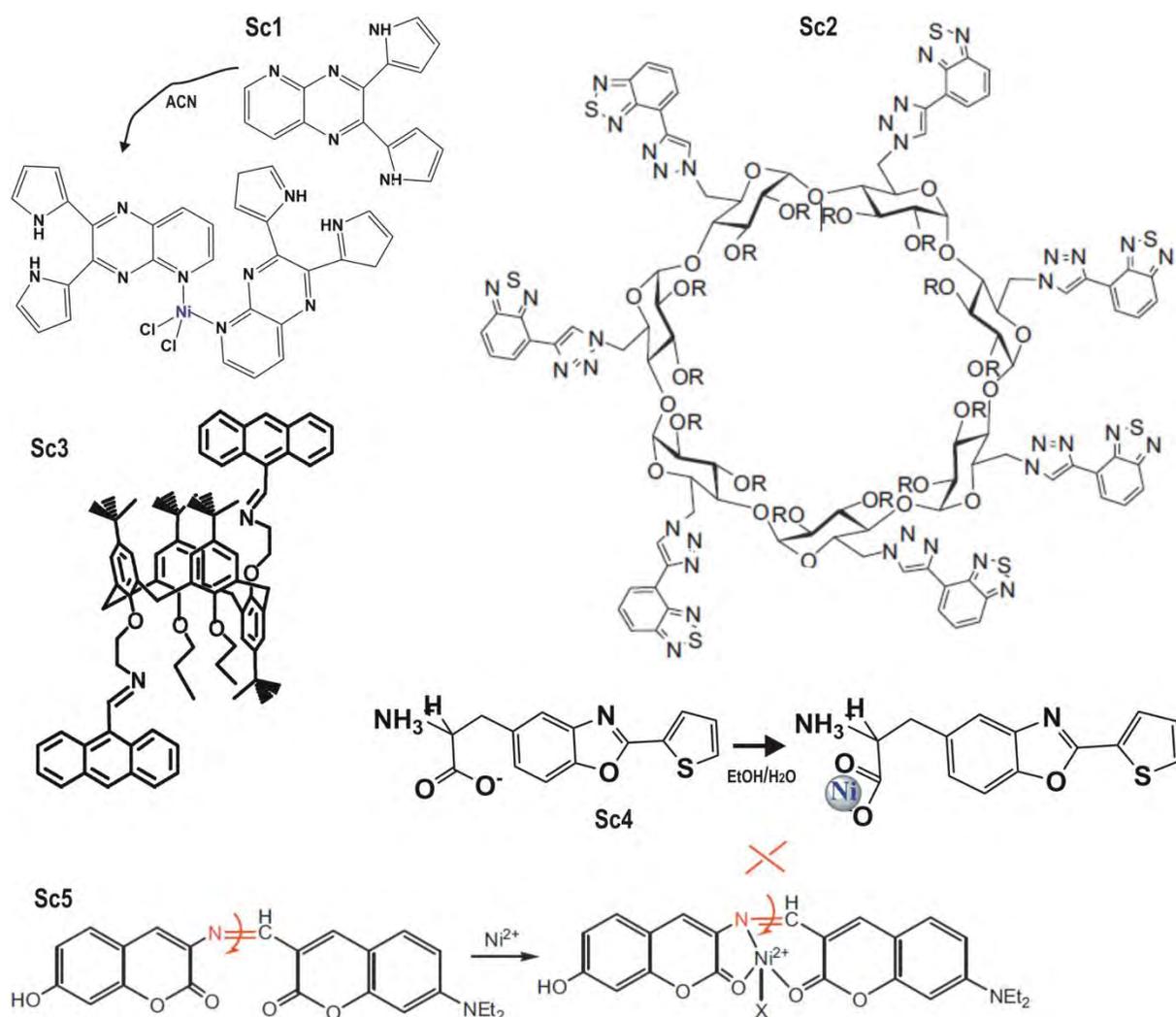


Figura 1.2 Estructuras de las familias químicas más comunes empleadas como sensores colorimétricos de níquel; en el caso del **Sc1**, **Sc4** y **Sc5** también se muestra los complejos que se forman durante la detección de níquel.

1.1.2 El Cobre

El cobre es un metal que está presente naturalmente en el suelo, agua, aire y rocas. Es el tercer metal de transición más abundante en la tierra. Es un elemento esencial para la vida en pequeñas cantidades y en conjunto con ciertas proteínas produce cerca de 20 enzimas [18-20]; este metal es de vital importancia en la formación de los huesos y del tejido muscular, en la respiración celular, en las funciones cerebrales e inmunológicas y su carencia es una de las causas de la anemia [21-23]. En altas concentraciones es tóxica especialmente para las bacterias, algas y hongos por lo que muchos pesticidas están compuestos por sales tales como el acetato, carbonato, cloruro, hidróxidos o sulfatos de Cu^{2+} . La concentración de cobre permitido en la sangre es de 150 $\mu\text{g/dL}$ (23.6 μM) [20, 24]. Para fuentes naturales como el agua el límite establecido es de 15-13 μM (1.3 ppm) [25-26].

El estado de oxidación II es el más estable ya que el Cu (I) se oxida fácilmente y pasa a estado de oxidación II. En lo que se refiere a complejos metálicos, los índices de coordinación más frecuente son 4, 5 y 6, presentando geometrías octaédricas, debido a que el Cu^{2+} presenta una configuración d^9 [27].

El cobre es liberado por la industria minera, actividades agrícolas y de manufactura contaminando ríos y lagos por la liberación de aguas residuales debido a estas actividades, ver Figura 1.3. Una persona expuesta al cobre por medio de la absorción vía oral irrita el tracto intestinal y gastrointestinal causando náuseas, vómito, fallo renal, convulsiones, hemólisis, metahemoglobinemia. Sin embargo, si la exposición es en los primeros meses de vida provoca problemas de hígado, riñones, huesos, desordenes inflamatorios, Alzheimer y enfermedades de Wilson's [18, 28-29]. Estos trastornos se deben a que los tejidos corporales del cuerpo absorben y acumulan el cobre, el cual se deposita en los diversos órganos alterando su buen funcionamiento.



Industria minera



**Químicos empleados
en actividades agrícolas**



Manufactura

Figura 1.3. Fuentes de contaminación de Cobre

La mayoría de las moléculas orgánicas reportadas como sensor de Cu^{2+} hacen la detección del ion en disolventes orgánicos como ACN [30-31], DMSO [32], THF [33], MeOH [19, 34-35], entre otros. Sin embargo y como ya se mencionó anteriormente, para aplicaciones ambientales y biomédicas se requieren sensores donde su proceso de detección sea en agua. Son pocos los sensores que se han reportado que detecten iones en agua [36], o en una mezcla de agua con ACN [18, 37], MeOH [38], DMSO [24-25, 39-40] o THF [41]. En la Figura 1.4 se muestran una serie de estructuras químicas de algunos sensores colorimétricos y los complejos formados con Cu^{2+} disuelto en diferentes disolventes.

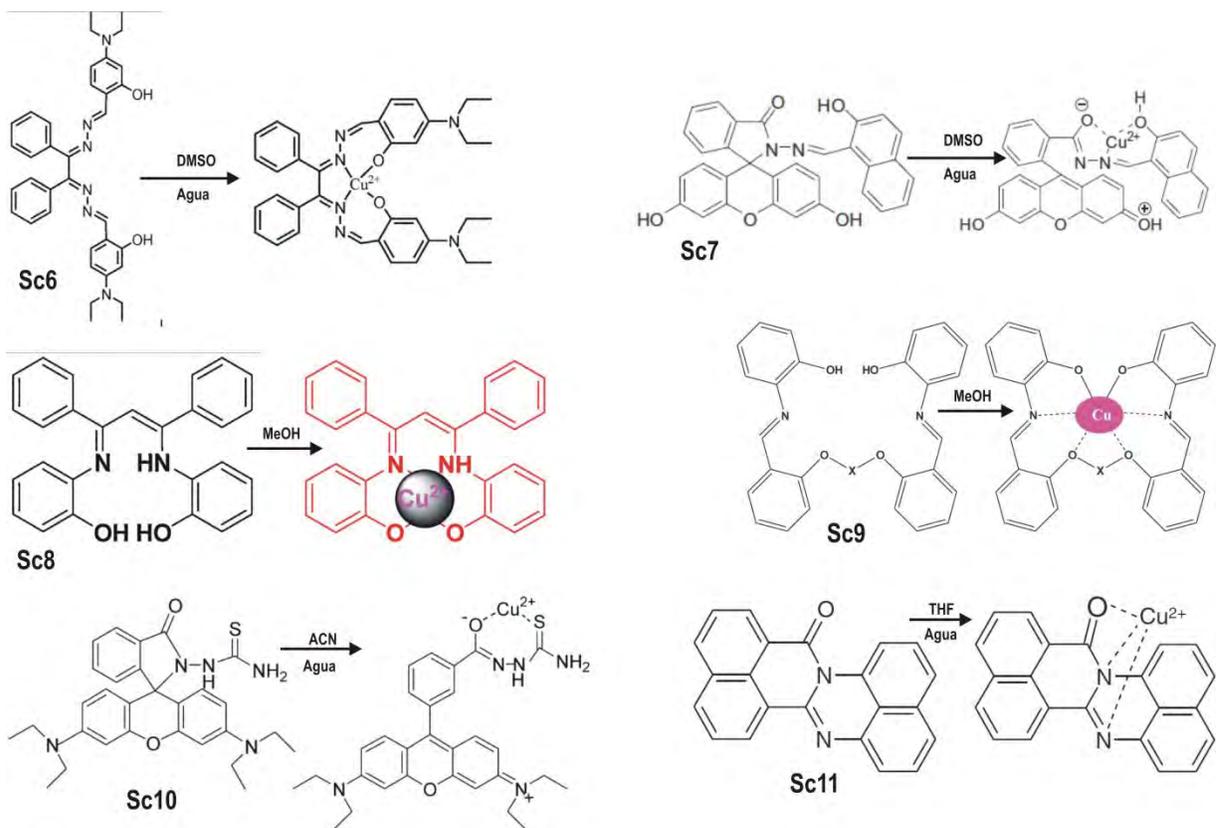


Figura 1.4. Estructuras químicas de algunos sensores colorimétricos de Cu^{2+} y los complejos formados.

1.2 Planteamiento del problema

La presente tesis se centra en el estudio de sensores químico-ópticos basados en derivados de la base Schiff para la detección de metales de transición. El conocimiento frecuente y continuo de la concentración de algunas especies químicas en el agua (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+}) es muy importante en situaciones ambientales, biológicas y médicas. El presente trabajo propone dos sensores colorimétricos **L1** y **S1**, para la detección en medios acuosos de níquel y cobre, respectivamente, con una alta sensibilidad, selectividad y tiempo

de respuesta rápida, usando las ventajas que ofrecen los derivados de la base Schiff en cuanto a una fácil síntesis (a bajo costo) y buena especificidad y selectividad.

1.3 Motivación

En Guanajuato México, las industrias de energía eléctrica, las mineras, las refinerías y las plantas químicas en el área industrial de Silao-Salamanca son los mayores emisores de desechos de aguas contaminadas. Actualmente nos enfrentamos a la gran problemática de aguas contaminadas que han aumentado descontroladamente superando los límites permitidos en agua potable, causando graves problemas de salud y de intoxicación en especial los iones metálicos como son el Cu^{2+} y el Ni^{2+} que pueden causar enfermedades neurodegenerativas. Desafortunadamente, en general, México no cuenta con tecnologías para la detección de iones metálicos que sean eficientes, rápidas, fáciles de utilizar y de preferencia que la detección de los iones sea en agua. Las moléculas orgánicas que funcionan como ligandos para estos metales lucen como potenciales candidatos para el desarrollo de sensores. Las iminas son compuestos fácilmente sintetizados con una amplia variedad de estructuras en relación a las materias primas que se emplean y pueden ser considerados como posibles componentes principales de nuevos sensores colorimétricos. Este tipo de ligandos se pueden diseñar con grupos funcionales para que presente un color o una emisión intensa en presencia o ausencia de cierto analito, permitiendo detectar ciertos contaminantes en el agua de una manera más rápida y barata. El presente trabajo está enfocado en sensores colorimétricos de iones metálicos de cobre y níquel en agua.

1.4 Hipótesis y objetivos

1.4.1 Hipótesis

Los derivados de iminas con estructuras de una base de Schiff que contienen sistemas π conjugados y grupos funcionales como OH o Cl, pueden funcionar como ligandos para la formación de complejos metálicos; controlando la coordinación selectiva hacia un solo ion, este derivado pueda funcionar como un sensor colorimétrico económico, sensible y de fácil manejo.

1.4.2 Objetivo general

Estudiar una serie de moléculas orgánicas derivados de la base Schiff que presenten propiedades colorimétricas y de selectividad hacia los iones metálicos de transición disueltos en agua.

1.4.3 Objetivos específicos

- ❖ Estudiar las transiciones electrónicas de iminas propuestas como modelo por espectroscopia de UV-Vis y efectos de solvatocromismo. Evaluar las moléculas como posibles sensores colorimétricos de iones metálicos disueltos en agua.
- ❖ Determinar las propiedades de selectividad e interferencia de aquellas moléculas que presentaron propiedades colorimétricas ante la presencia de sales metálicas en medios acuosos.
- ❖ Determinar la sensibilidad y la constante de enlace del sensor.
- ❖ Evaluar el sensor por el método de resonancia de plasmón superficial.

2. IMINAS (Bases de Schiff) Y SU ESTUDIO MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN

2.1 Introducción

La capacidad de los materiales orgánicos para detectar metales tóxicos mediante cambios en sus propiedades de absorción ha permitido que se les considere como elementos importantes para la construcción de dispositivos de medición basado en el efecto colorimétrico. Dentro de los materiales orgánicos son de particular interés las estructuras moleculares que contienen sistemas de conjugación π . Este tipo de enlace es el encargado de proporcionar la coloración de un material y facilitar una gran movilidad electrónica intramolecular.

El propósito de este capítulo es presentar el proceso de absorción de la radiación Ultravioleta-Visible (Uv-Vis) y las características básicas de los compuestos orgánicos π – conjugados. El interés por los sistemas π – conjugados es debido a la versatilidad con que pueden ser sintetizados y su bajo costo.

2.2 Sistemas π conjugados

Un sistema π conjugado es un fragmento de la estructura de un compuesto orgánico donde existe la alternación de enlaces covalentes sencillos y dobles (Figura 2.1). En este fragmento se produce un fenómeno llamado deslocalización electrónica, en el que los electrones no se localizan sobre un solo enlace o átomo sino sobre todo un conjunto de ellos. Este tipo de sistemas es el resultado de una deslocalización de los electrones a través de todos los orbitales del tipo p presentes en una molécula. Las bandas π son regiones de distribución de carga eléctrica deslocalizables por encima y por debajo de los ejes interatómicos [42]. Más detalladamente, cuando se combinan dos átomos de carbono con hibridación sp^3 se

obtiene un enlace denominado σ . Por otro lado, si los átomos a unir presentan hibridación sp^2 , además de formarse un enlace σ se formará un enlace π . Es decir, el enlace π se produce, cuando el orbital p de la hibridación sp^2 se encuentra lo suficientemente cerca de un orbital p de otro átomo de carbono, estos se traslapan y los electrones se aparean. En la Figura 2.2 se muestra el esquema de la superposición de dos orbitales atómicos frontalmente correspondiente a un enlace σ (a), o lateralmente correspondiente a un enlace π (b).

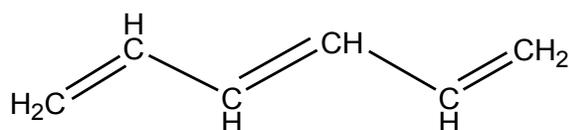


Figura 2.1. Estructura de una molécula que contiene un sistema π conjugado

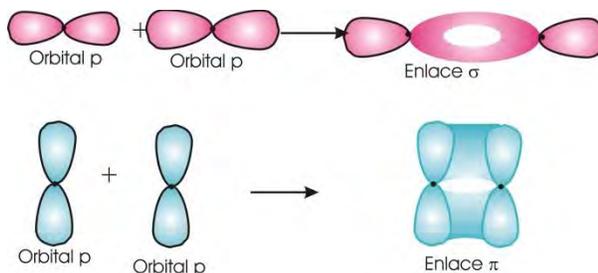


Figura 2.2 Formación de enlaces sigma y pi.

La presencia simultánea de un enlace π y uno σ forman un enlace doble. En la Figura 2.3 se muestra un ejemplo de la formación de los enlaces π y σ en la molécula de etileno, C_2H_4 .

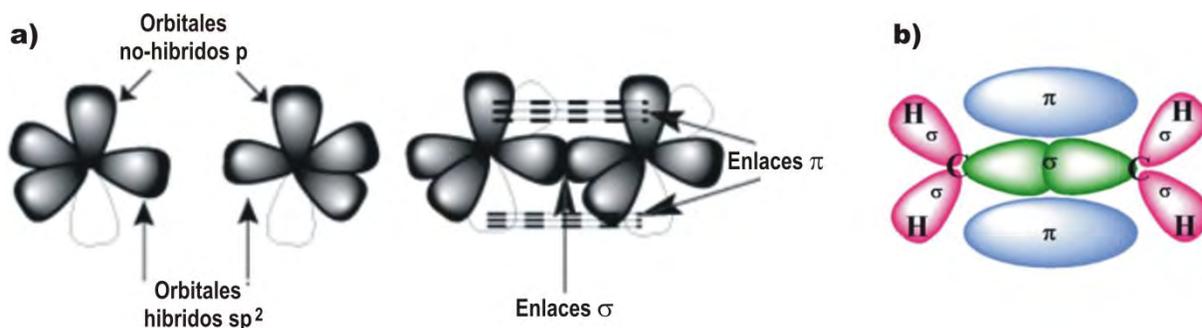


Figura 2.3 Enlaces presentes en la molécula de etileno, C_2H_4 . Existen enlaces σ entre los átomos de carbono-carbono y carbono-hidrogeno. Los dos orbitales $2p_z$ de los átomos de carbono se traslapan produciendo un enlace π , que se encuentra por encima y por debajo del plano de la molécula.

Los sistemas π conjugados son los responsables de originar los colores en las moléculas orgánicas y por ende se les conoce como cromóforos. Esta propiedad es ocasionada debido a que los electrones dentro de los sistemas conjugados son capaces de absorber fotones de luz o energía dentro de la región del espectro electromagnético visible y generar estados excitados en la molécula y en algunos casos regresar a sus estados originales emitiendo luz de diversas longitudes de onda. Esta emisión es provocada por el cambio del nivel energético de los electrones, al pasar de un estado excitado a un estado basal.

2.3 Ventajas del sistema π conjugado

La ventaja de tener un sistema π conjugado dentro de un compuesto orgánico se ven reflejadas en las propiedades electrónicas y ópticas inusuales que le confiere a la molécula y que se pueden aprovechar para la construcción de dispositivos ópticos, electro-óptico, foto-luminiscentes, así como sensores, biosensores y la fabricación de sistemas laser, entre otros. Los sistema π conjugados combinan las propiedades semiconductoras de los materiales cristalinos inorgánicos,

con las ventajas de que pueden ser procesados fácilmente en soluciones y ser depositados mediante diferentes métodos en sólidos amorfos.

Otra de las ventajas que representan las moléculas que contienen un sistema π conjugado es que promueve la deslocalización y el movimiento de los electrones. Por ejemplo, un sistema π conjugado en combinación de ciertos grupos funcionales donadores y aceptores, la conductividad electrónica aumenta por lo que el compuesto tiene la posibilidad de utilizarse para la fabricación de dispositivos como las celdas solares que convierte la energía solar en energía eléctrica. Otro caso es la importancia en los sensores colorimétricos, en donde un sistema π conjugado es empleado para unir cromóforos y grupos funcionales como receptores de iones metálicos aumentando así la extensión de la conjugación en un sistema de doble enlace; la presencia de enlaces π conjugados, provoca que los niveles de energía en un cromóforo disminuya, es decir, la extensión de la conjugación disminuye la energía requerida para producir una transición de un nivel HOMO a un nivel desocupado LUMO y la longitud de onda de luz absorbida experimenta un desplazamiento hacia longitudes de onda más largo, ver Figura 2.4 [43]. Esto implica que al formarse la coordinación de la molécula con un ion metálico hay un aumento del sistema π conjugado causando que la energía del gap disminuya y este cambio se observa como un desplazamiento de absorción hacia el rojo (cambio de color o efecto batocrómico).

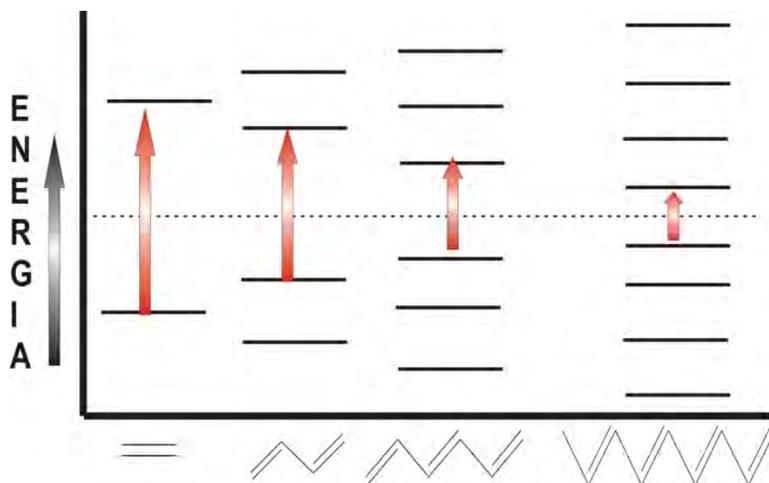


Figura 2.4 *Una comparación de la energía del gap $\pi \rightarrow \pi^*$ en una serie de polienos aumentando la longitud de la cadena π .*

2.4 Cromóforos

Aunque la absorción de la radiación ultravioleta y visible resulta de la excitación de los electrones del estado base al excitado, el núcleo que mantiene a los electrones unidos en los enlaces juega un rol importante para determinar cuáles longitudes de onda son absorbidas. El núcleo determina la fuerza con la cual los electrones son enlazados y esto influye el espaciamiento de energía entre el estado base y el excitado. Aquí la energía característica de una transición y la longitud de radiación absorbida son propiedades de un grupo de átomos más que los electrones mismos. El grupo de átomos produciendo tales absorciones es llamado cromóforo (por ejemplo, $C = C$, $C = O$, NO_2).

El enlace de hidrógeno de grupos sustituyentes en una estructura cromofórica básica cambia la posición y la intensidad de la banda de absorción de un cromóforo. Los sustituyentes que aumentan la intensidad de la absorción y posiblemente la longitud de onda se llaman auxocromo. Los sustituyentes típicos incluye grupos OH , NH_2 y Cl , entre otros y pueden tener algunos de los cuatro efectos de absorción siguientes:

DESPLAZAMIENTO BATOCRÓMICO (Desplazamiento al rojo). El desplazamiento de la absorción a energías menores o a una longitud de onda mayor debido a un efecto de solvente o sustitución.

DESPLAZAMIENTO HIPSOCRÓMICO (Desplazamiento al azul). El desplazamiento de la absorción a energías mayores o a una longitud de onda menor debido a un efecto de solvente o sustitución.

EFEECTO HIPERCRÓMICO. Un aumento de la intensidad de absorción.

EFFECTO HIPOCRÓMICO. Una disminución en la intensidad de absorción.

Las características de absorción de las moléculas orgánicas en la región ultravioleta y luz visible dependen de las transiciones electrónicas que pueden ocurrir y del efecto atómico de las transiciones.

2.5 Moléculas orgánicas

Dentro de la gran diversidad de compuestos orgánicos que existen en la naturaleza y de los que se pueden sintetizar en el laboratorio, tenemos varias familias como son los compuestos carbonílicos, las aminas, iminas, los alcoholes, etc. Las iminas han llamado la atención de los científicos debido a su gran facilidad de síntesis y su gran variedad de aplicaciones [44].

2.5.1 Iminas

Una imina es un grupo funcional o compuesto orgánico que posee una estructura general $RR'C=NR''$ (Figura 2.5), donde R es un grupo arilo, R' puede ser un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo o arilo y R'' también puede ser un grupo alquilo o arilo el cual contiene un átomo de carbono sustituido enlazado al átomo de nitrógeno. Estas iminas son también conocidas como bases de Schiff (o azometino), nombrado así en honor a Hugo Schiff, químico alemán que en 1864 descubrió la reacción de condensación de aminas aromáticas con aldehídos la cual es el método clásico de preparación de las iminas [45].

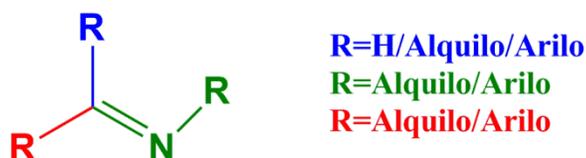


Figura 2.5. Bases Schiff.

Por otro lado las iminas son moléculas orgánicas que han sido ampliamente utilizados como ligandos debido a la facilidad de síntesis y la gran versatilidad estructural que posee, además estas han desempeñado un papel importante en el desarrollo de la química de coordinación, ya que fácilmente forman complejos con la mayoría de los metales de transición. Los complejos formados entre las bases de Schiff y metales tienen un amplio campo de aplicación en distintas áreas interdisciplinarias en las que se incluyen la química biorgánica, catálisis y ciencia de los materiales [46]. Actualmente, las iminas son también de gran interés en el área de los materiales debido a sus propiedades fotocromicas y termocromicas, las cuales pueden ser empleadas para la fabricación de interruptores moleculares. Una clasificación de las Bases de Schiff como ligandos se establece en base a la cantidad de número de átomos donantes existentes en la molécula, así entonces tenemos monodentados, bidentados y tridentados [47]. En la Figura 2.6 se muestra una serie de iminas empleadas como sensores colorimétricos para los iones de Ni^{2+} (**Sc5**), Fe^{2+} (**Sc12**), Cu^{2+} (**Sc13**), Zn^{2+} (**Sc14**), Hg^{2+} (**Sc15**), y Al^{2+} (**Sc16**) [15, 48-52].

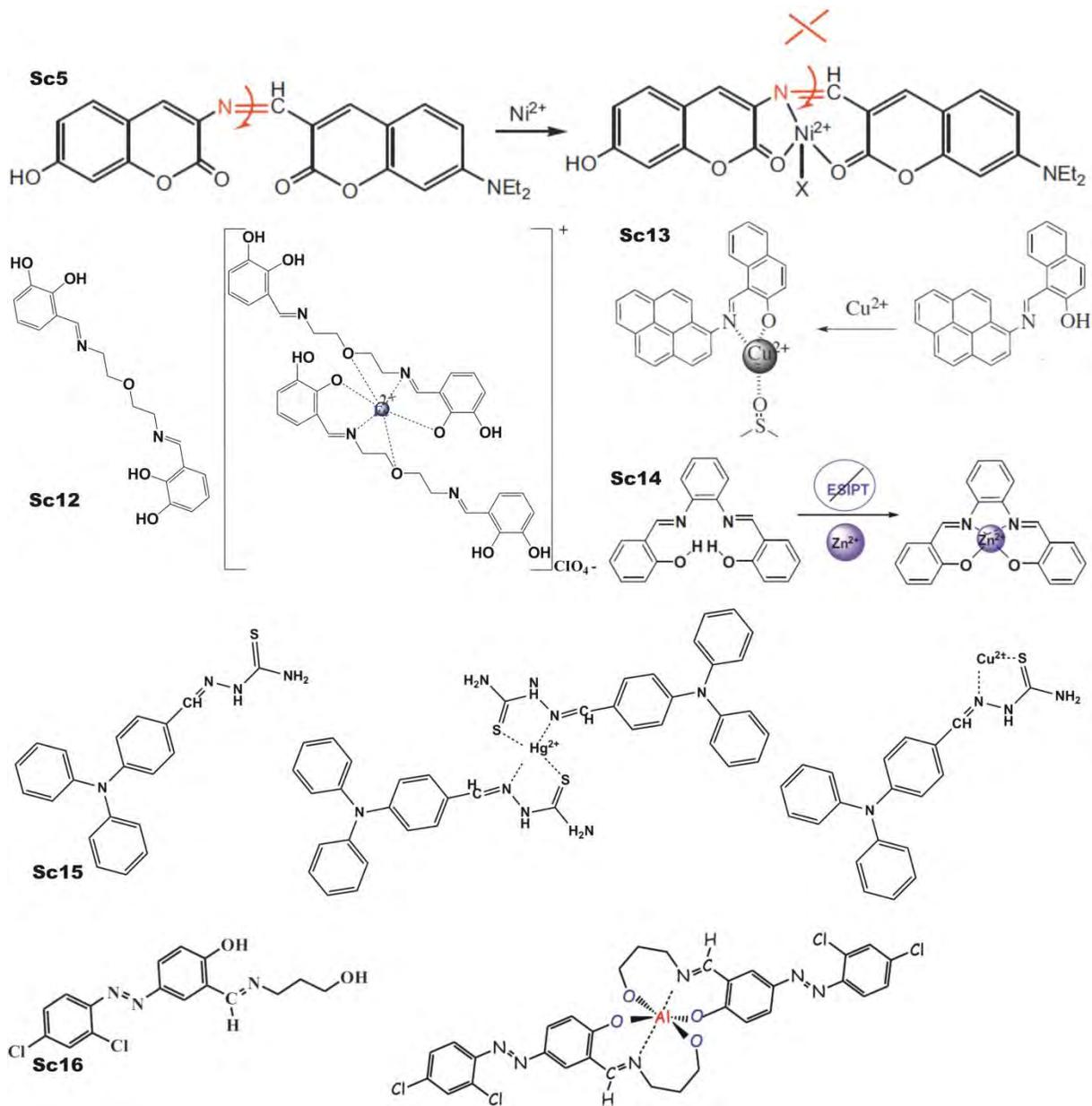


Figura 2.6. Estructura química de diversos sensores colorimétricos derivados de la base Schiff y la geometría de coordinación propuesta para el complejo formado con Fe^{2+} , Hg^{2+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} y Zn^{2+} , respectivamente.

2.5.2 Propiedades de las iminas

Una de las propiedades estructurales del grupo imino es la reactividad que presenta el doble enlace C=N en procesos inter e intramoleculares de transferencia de electrones donde se involucra el par libre del nitrógeno. Este tipo de reactividad propicia el fenómeno fotocromico en el cual este tipo de compuestos son capaces de reordenar su estructura molecular (cambio en la posición de los dobles enlaces) por acción de la luz, produciendo un cambio de color; en casos especiales hay otro fenómeno conocido como fototropismo que es la capacidad que tiene un material para cambiar su color de manera reversible por acción de la radiación electromagnética [53].

2.5.3 Iminas o Bases de Schiff utilizadas como ligandos

Un ligante es una molécula o ion que rodea a un átomo metálico para formar un complejo metálico. Si una molécula orgánica funciona como un ligante debe contener átomos con pares de electrones libres los cuales puedan enlazarse con el núcleo metálico. Existen un gran número de moléculas orgánicas descritas que se han empleado como ligandos y dentro de ellas se encuentran las iminas que ocupan un lugar especial [54].

Los ligantes monodentados más comúnmente utilizados para coordinarse a átomos metálicos son: F⁻, I⁻, Br⁻, Cl⁻, NO₂⁻, ONO, CN, SCN, NCS, OH, CH₃COO, H₂O, NH₃, CO, NO y Piridina. A continuación se presentan los derivados de la base Schiff estudiados en esta tesis, para cada molécula se usará la nomenclatura indicada en la Figura 2.7. Como se podrá observar de dicha figura las estructuras de **L1** y **S1** tienen los mismos grupos donadores y aceptores de electrones con la diferencia de que en la estructura de **S1** se cambia la posición del átomo de cloro de meta a orto cambiando así la densidad electrónica alrededor de los átomos, causando así una selectividad hacia otro ion metálico. Debido a que las estructuras son muy similares

en vez de usar una notación de **L8** se cambia a **S1** para resaltar un cambio en la posición del átomo de Cl.

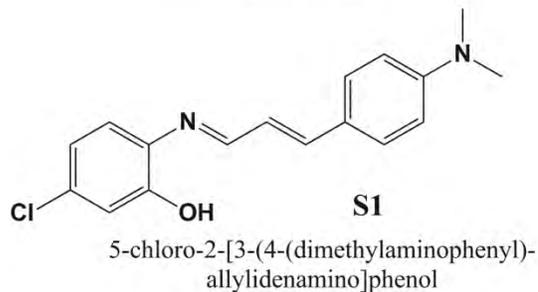
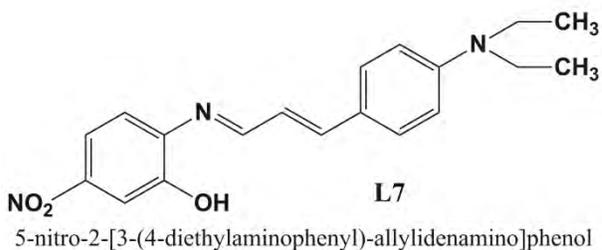
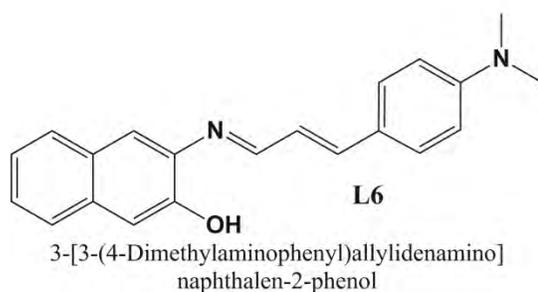
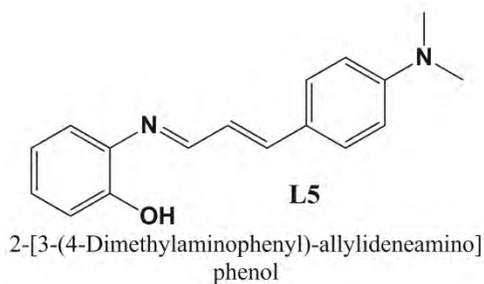
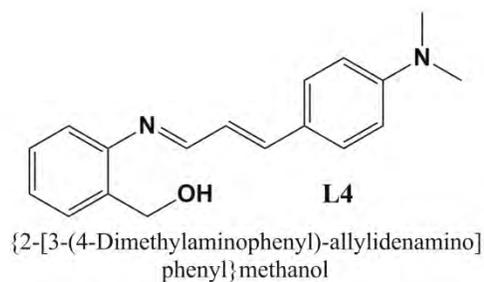
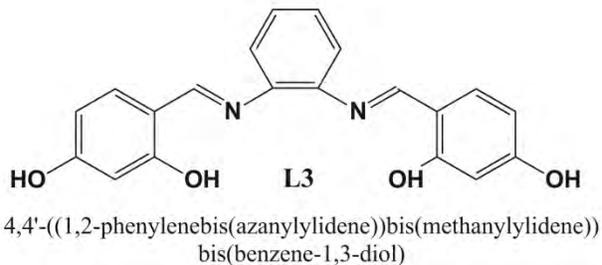
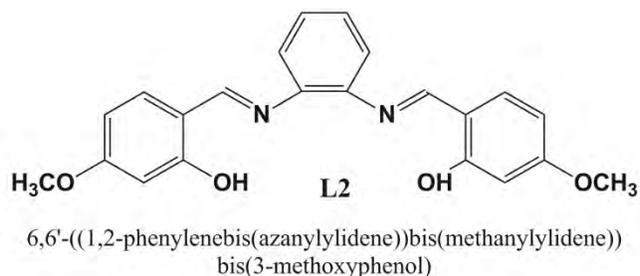
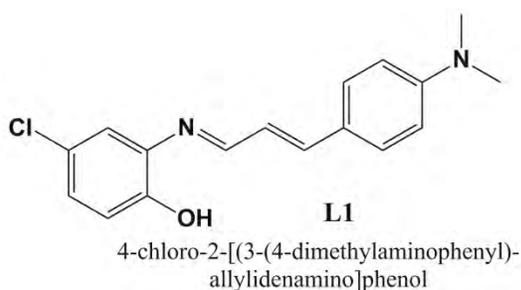


Figura 2.7 Estructura química de los derivados de la base Schiff estudiados en este trabajo de investigación.

2.6 Propiedades espectroscópicas de materiales orgánicos

La espectroscopía está relacionada con la absorción, emisión y el esparcimiento de la radiación electromagnética causada por los átomos o las moléculas. En el caso que nos ocupa, ésta absorción dependerá de los cromóforos enlazados al esqueleto principal de molécula. Las moléculas aromáticas que contienen cromóforos conjugados se caracterizan por tener una banda de absorción en el intervalo de 190 a 800 nm debido a las transiciones más comunes de $n \rightarrow \pi^*$ o $\pi \rightarrow \pi^*$. Sin embargo, la presencia de grupos funcionales diferentes y la extensión de la conjugación del enlace causan desplazamientos de la banda de absorción hacia el rojo [55].

La mayoría de las moléculas orgánicas y los grupos funcionales no son transparentes en la región del espectro electromagnético ultravioleta (UV) y visible (Vis), correspondiente a la longitud de onda de 190-800 nm. Consecuentemente, la espectroscopia de absorción solo es de utilidad en este rango de longitud de onda.

2.6.1 La naturaleza de transiciones electrónicas en moléculas orgánicas

Cuando una radiación óptica pasa a través de un material, una porción de la misma puede ser absorbida, produciendo un espectro de absorción característico. Como un resultado de la energía absorbida, los átomos o moléculas pasan de un estado de baja energía (estado inicial o base) a un estado de mayor energía (el estado excitado). La Figura 2.8 muestra este proceso de excitación cuantizada. La radiación electromagnética que es absorbida tiene una energía exactamente igual a la diferencia de energía entre el estado excitado y el estado base.

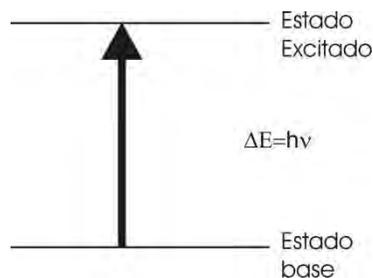


Figura 2.8 *Proceso de excitación.*

En el caso de los estudios que se realiza por medio de espectroscopía Uv-Vis, las transiciones que resultan debido a la absorción ocurren entre los niveles de energía electrónicos. Cuando una molécula absorbe energía, un electrón es promovido de un orbital ocupado a un orbital desocupado de energía potencial más grande. Generalmente la transición más probable es del orbital molecular ocupado más alto (HOMO, highest occupied molecular orbital) al orbital molecular desocupado más bajo (LUMO, lowest unoccupied molecular orbital). La diferencia de energía entre los niveles electrónicos en la mayoría de las moléculas varía de 125 a 650 kJ/mole [43].

Para la mayoría de las moléculas, el orbital molecular ocupado de energía más bajo son los orbitales σ los cuales corresponden a los enlaces σ . Los orbitales π se encuentran en niveles de energía altos y los orbitales que contienen pares no compartidos, es decir, orbitales de antienlace (n), están incluso a energías más altos. Los orbitales desocupados o de antienlace (π^* y σ^*) son los orbitales de energía más altos Figura 2.9a.

La energía requerida para tener una transición del nivel de energía más alto en el estado base al nivel de energía desocupado más bajo es menor que la energía requerida para tener una transición de un nivel de energía ocupado más bajo. En la Figura 2.9b se muestra una transición $n \rightarrow \pi^*$ que podría tener una energía menor que una transición $\pi \rightarrow \pi^*$. Para muchos propósitos de aplicaciones como celdas solares o sensores colorimétricos las transiciones de energía más bajo es de mayor

importancia, ya que la energía requerida para una transición electrónica es menor, es decir la absorción se da en el espectro visible o infrarrojo cercano.

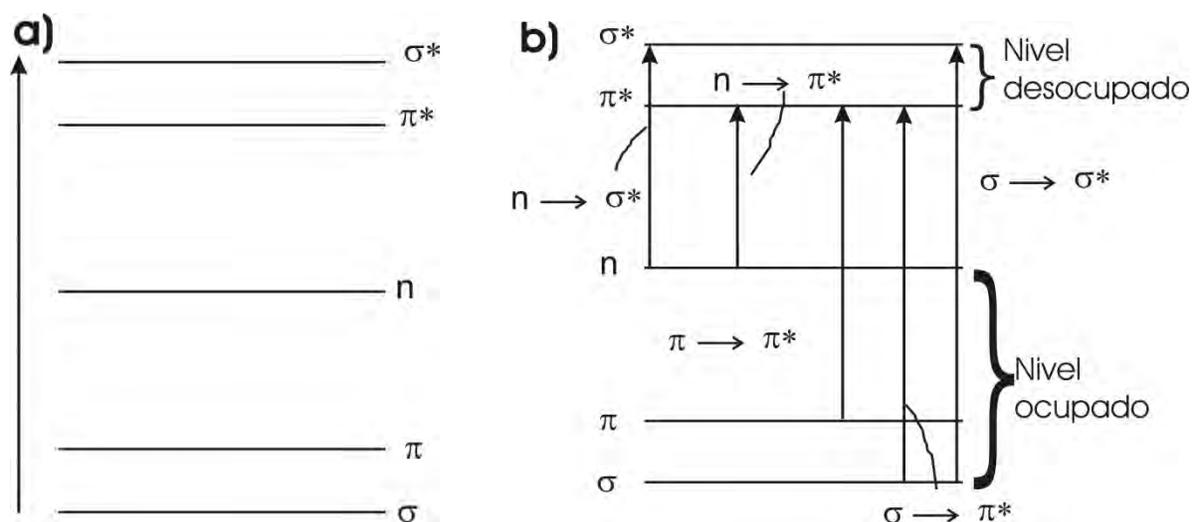


Figura 2.9 Niveles de energía electrónicos y sus transiciones.

La posición de la absorción máxima corresponde a la longitud de onda de la radiación cuya energía es igual a la requerida para la transición electrónica. La intensidad de la absorción depende principalmente de dos factores: la probabilidad de interacción entre la energía de radiación y el sistema electrónico para elevar el electrón del estado base al estado excitado, así como la polaridad del estado excitado. La probabilidad de transición es proporcional al cuadrado del momento de transición. El momento de transición o el momento dipolo de transición, es proporcional al cambio en la distribución de carga electrónica que ocurre durante la transición. Una absorción intensa se presenta cuando la transición va acompañada de un gran cambio en el momento de transición. La intensidad de la absorción para un conjunto grande de moléculas (efecto de bulto del material) puede expresarse como la transmitancia (T), definida por

$$T = I/I_0 \quad \text{Ec. 2.1}$$

donde I_0 es la intensidad de la energía radiante que incide en la muestra e I es la intensidad de la energía radiante que sale de la muestra. Una expresión más conveniente para la intensidad de absorción es la que se deriva de la ley de Lambert-Beer, la cual establece una relación entre la transmitancia (T), el espesor de la muestra (l) y la concentración de las especies absorbentes (c) mediante la siguiente fórmula:

$$\log_{10} \left(I_0/I \right) = \varepsilon cl = A \quad \text{Ec. 2.2}$$

donde ε se conoce como la absorptividad molar, que anteriormente se denominaba coeficiente de extinción molar.

2.7 Espectros de absorción de iminas

El espectro de absorción ultravioleta-visible se muestra como una gráfica de la absorción en función de la longitud de onda. En la Figura 2.10 se muestra las curvas de absorción típicas de los derivados de imina estudiados en esta tesis. Como veremos más adelante, la elección del disolvente es importante para poder medir la absorción de una molécula, ya que las moléculas orgánicas se disuelven en ciertos disolventes pero en otros no; por ejemplo, **L4** se disuelve bien en etanol, pero **L1**, **L2**, **L3**, **L5**, **L6**, **L7** y **S1** no se disuelven bien en dicho disolvente. En contraste, todas estas moléculas se disuelven bien en acetonitrilo (ACN), a excepción de **L4**, como se muestra en la Figura 2.10. Las estructuras químicas de **L2** y **L3** solo varían por los grupos funcionales en la posición orto de los bencenos, a pesar de eso muestran la misma forma de la curva de absorción así como la misma posición del máximo de absorción a 328 nm diferenciándose debido a que **L3** muestra una mayor intensidad de absorción. Nuevamente **L4** y **L5** muestran estructuras químicas similares, por los

que muestran un máximo de absorción a 388 nm y a 297 nm. En el caso de **L1**, **L6**, **L7** y **S1** en ACN muestran máximos de absorción a 442, 410, 394 y 407 nm, respectivamente.

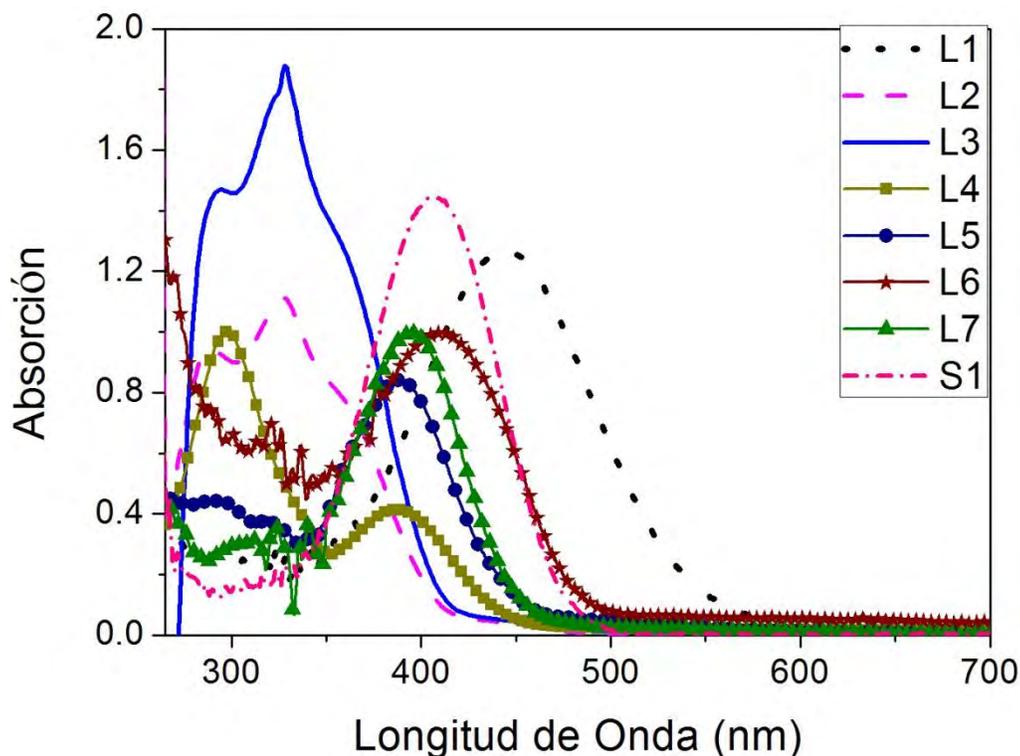


Figura 2.10. Curvas de absorción de los derivados de imina a la concentración de 10^{-5} M, **L4** disuelto en etanol, **L1**, **L2**, **L3**, **L5**, **L6**, **L7** y **S1** disueltos en ACN.

2.7.1 Solvatocromismo

El efecto de disolver un soluto en un disolvente es que estos últimos ejercen una influencia definitiva en el soluto. Dicha influencia depende de la naturaleza del disolvente, es decir su polaridad provoca cambios en el espectro de absorción y fluorescencia [56].

La polaridad del disolvente se define simplemente como el “poder o capacidad general de solvatación” para (a) productos lo que influye en equilibrios

químicos y (b) iones o moléculas en su estado base y excitado, los cuales son responsables de la absorción de luz en las diferentes regiones de longitudes de onda. Esta capacidad general de solvatación depende de la acción de todas las interacciones moleculares soluto/disolvente posibles, excluyendo las interacciones que conducen a las alteraciones químicas de los iones o moléculas del soluto. Uno puede encontrar disolventes apolares sin enlaces de hidrógeno donadores HBD ("aprótico") tales como ciclohexeno, benceno, diclorometano; seguido por los disolventes dipolares sin-HBD ("aprótico") tales como acetona, THF, ACN, DMF y DMSO; finalmente, el grupo de disolventes dipolares con HBD ("próticos") tales como los alcoholes [57]. En la tabla 2.1 Se muestra la constante dieléctrica y la polaridad de los disolventes más comunes [58-60].

Tabla 2.1 Constante dieléctrica y polaridad de ciertos disolvente orgánicos, ϵ : constante dieléctrica, P : polaridad.

Disolvente	ϵ	P
Ciclohexeno ^b	2.01 ^c	0.557 ^b
Benceno	2.28 ^c	0.667 ^b
THF ^a	7.52	0.21
Diclorometano ^a	8.93	0.217
DMF ^a	36.7	0.274
ACN ^a	36.64	0.305
DMSO ^a	46.68	0.263
MeOH	33 ^c	0.308 ^a
EtOH	22.4 ^c	0.853 ^b
H ₂ O ^c	79.7	1

Tomado de ^a Handbook of Chemistry and Physics; ^b Handbook of solvents, ^c Handbook of organic solvent properties [58-60].

Como se mencionó antes, en el estudio espectroscópico Uv-Vis de moléculas orgánicas un parámetro de gran importancia es la elección del disolvente. Por lo que se debe considerar las siguientes características:

1.- Considerar la banda de absorción del disolvente y así evitar un traslape de curva de este con el del compuesto orgánico, usualmente los disolventes no contienen sistemas π -conjugados, por lo que no absorben en el rango visible y su absorción se da en la región espectral ultravioleta.

2.- Considerar la polaridad del disolvente, un disolvente no-polar no forma enlaces de hidrógeno con el soluto y el espectro del soluto se aproxima al espectro de su estado gaseoso, en el cual se observa una curva de absorción angosta. En un disolvente polar, los enlaces de hidrógeno forman un soluto-solvente complejo, causando un espectro de absorción ancho.

3.- Considerar la habilidad para influir en la longitud de onda de la luz absorbida y la estabilización del estado base y del estado excitado. Los disolventes polares no forman enlaces de hidrógeno fácilmente con el estado excitado de moléculas polares como con sus estados fundamentales y estos solventes aumentan las energías de las transiciones electrónicas en la molécula. Los solventes polares desplazan las transiciones del tipo $n \rightarrow \pi^*$ a longitudes de onda más cortas. Por otro lado, en algunos casos los estados excitados pueden formar enlaces de hidrógeno más fuertes que el estado base correspondiente. En tales casos, un solvente polar desplaza una absorción a longitudes de onda más largas si la energía de la transición electrónica es disminuida. Los solventes polares desplazan las transiciones del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ a longitudes de onda mayores.

4.- Considerar la miscibilidad con el agua, específicamente para el análisis espectroscópico de iminas en esta tesis, el cual es enfocado en la detección de metales de transición presentes en el agua.

2.7.2 Efectos solvatocrómicos de las iminas estudiadas en esta tesis

A continuación se presentan las propiedades de absorción de las moléculas **L1** y **S1**, las cuales mostraron las mejores propiedades como sensores colorimétricos de iones metálicos en esta investigación. La concentración de trabajo para cada molécula se eligió a partir de sus propiedades de absorción, es decir, la curva de absorción a esta concentración no debe saturar el equipo. Sin embargo, debe ser lo suficientemente intensa para que al diluirse con el metal en agua, la curva de absorción esté bien definida. Para dicho estudio se prepararon soluciones a diferentes concentraciones en un intervalo de 5×10^{-4} a 9×10^{-6} M. En la Figura 2.11 se muestran las curvas de absorción de **L1** en solución para diferentes disolventes a la concentración de 3.3×10^{-4} M. La banda de absorción observada es asignada a la transferencia de carga intramolecular (ICT, intramolecular charge transition) $n \rightarrow \pi^*$ del grupo NMe_2 al anillo Cl-fenilo. En un disolvente aprótico de baja polaridad como el diclorometano (DCM) la banda revela una transición de energía de 463 nm ($\epsilon_{DCM} = 88 \times 10^2 M^{-1} cm^{-1}$), mientras en disolventes polares intermedios y altos, tales como el THF y el ACN, la banda sufre un desplazamiento hipsocrómico de 25 y 18 nm para situarse a 438 y 445 nm ($\epsilon_{THF} = 86.2 \times 10^2$ y $\epsilon_{ACN} = 38.5 \times 10^2 M^{-1} cm^{-1}$), respectivamente. Cuando **L1** fue disuelto en un medio polar alto como DMSO la banda apareció a 435 nm ($\epsilon_{DMSO} = 69.7 \times 10^2 M^{-1} cm^{-1}$). La influencia de la polaridad del disolvente sobre la banda de absorción sugiere una interacción disolvente-soluto modificando la ICT. Por otro lado, en disolventes polares próticos, como el etanol y metanol, la banda de absorción aparece a 420 nm; esta energía relativamente alta es inducida por la interacción de los enlaces de hidrógeno del grupo de **L1** con las moléculas del disolvente.

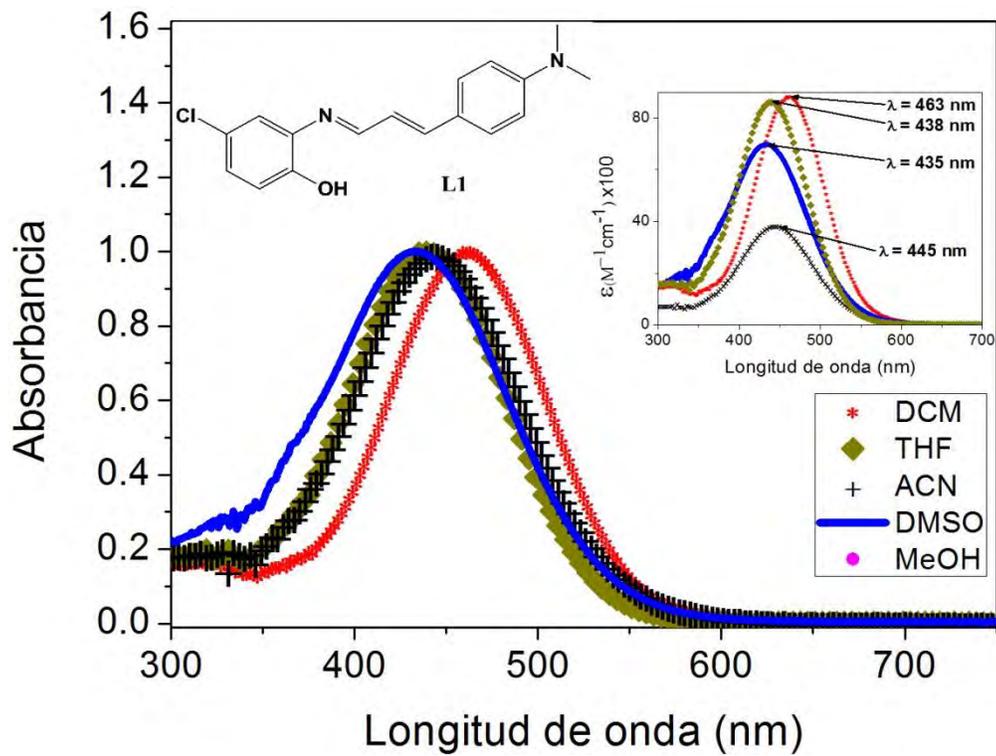


Figura 2.11. Curvas de absorción de la molécula **L1** normalizada a la concentración de 3.3×10^{-4} M. En la gráfica insertada se muestra el coeficiente de extinción molar contra longitud de onda. En ambos casos **L1** está disuelto en diferentes disolventes.

En la Figura 2.12 se muestra las bandas de absorción de **S1** en diferentes disolventes a la concentración de 2.5×10^{-5} M. El espectro de absorción electrónica en un disolvente aprótico como el DCM mostró una fuerte absorción a 463 nm en la región visible. **S1** en otros disolventes la posición de la banda visible varía ligeramente cambiando de la región 463 nm a 445, 438 y 435 nm en ACN, THF y DMSO, respectivamente.

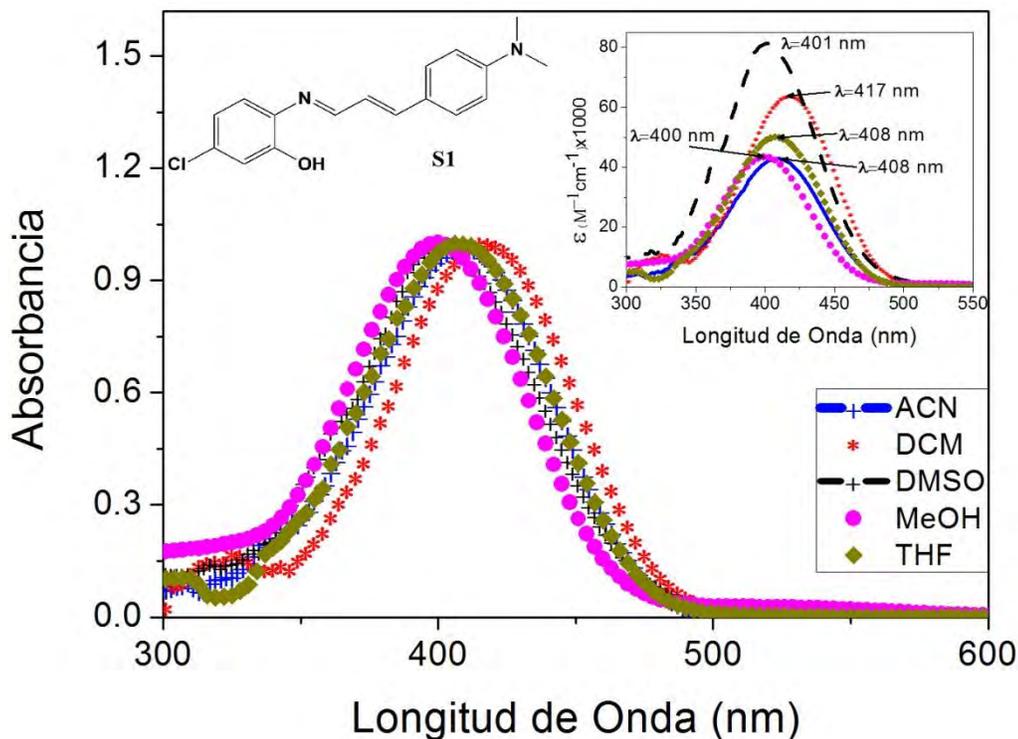


Figura 2.12. Curvas de absorción de la molécula **S1** a la concentración de $10^{-5} M$, disuelta en diferentes disolventes. En la gráfica insertada se muestra el máximo del coeficiente de extinción molar contra longitud de onda. En ambos casos **S1** está disuelto en diferentes disolventes.

Cambios más pequeños en el máximo de absorción se deben a la variación en el entorno dieléctrico de la molécula de prueba y un desplazamiento más grande indica que se puede especificar las interacciones soluto-solvente entre la molécula y el disolvente. El desplazamiento observado hacia el rojo indica que la molécula está más estabilizada en el estado excitado que en el estado base. En ambos casos, los picos de longitud de onda largos sufren un desplazamiento hacia el rojo con el aumento de la polaridad del disolvente que indica un carácter dipolar alto.

3. SENSORES QUÍMICO-ÓPTICOS

3.1 Introducción

El desarrollo de sensores altamente sensibles y selectivos ha tomado gran importancia en los últimos años. La definición exacta de un sensor es frecuentemente interpretado de acuerdo al contexto en el cual se pretende aplicar. En general, un sensor es definido como un dispositivo que permite obtener una respuesta o información en tiempo real al recibir un estímulo de naturaleza física o química. De manera general, permite la traducción directa de un estímulo externo convirtiéndola en una señal que pueda ser medida o registrada.

El propósito de este capítulo es presentar características básicas/generales y el principio de funcionamiento de los sensores colorimétricos estudiados en esta tesis. Los sensores colorimétricos, también conocidos como sensores químico-ópticos, consisten de compuestos orgánicos (en el caso de esta tesis iminas o derivados de la base Schiff) que al formar un complejo con un metal cambian la coloración de la solución en donde se encuentran, causando así un cambio en su curva de absorción. Estos cambios de coloración pueden ser detectados a simple vista y/o mediante espectroscopia de absorción. A su vez, estos cambios de absorción se traducen en pequeños cambios de índice de refracción del medio que pueden ser detectados mediante técnicas ópticas, tema que se abordará más ampliamente en el capítulo 6.

3.2 Propiedades básicas de un sensor

Para aplicaciones reales las propiedades de un sensor son de suma importancia pues definen el alcance de su uso. Algunas de las propiedades más importantes son enlistadas en la tabla 3.1 [61]:

Tabla 3.1: Cualidades básicas que debe satisfacer un sensor.

Tiempo de respuesta	Tiempo de vida (T_v)	Selectividad
Sensibilidad (límite de detección)	Estabilidad	Tamaño y Peso
Constante de enlace	Resolución	Costo
Reversibilidad	Reproducibilidad	Intervalo dinámico

A continuación se definen estas propiedades

El *tiempo de respuesta* (t_R) es el tiempo que le toma al sensor alcanzar el 90% del valor de su estado base después de la introducción de la sustancia a medir. Cuando se trata de sensores reversibles, el *tiempo de recuperación* es el tiempo que le toma alcanzar el 10% del valor inicial después de interactuar con el analito.

La precisión o *reproducibilidad* relaciona la habilidad del sensor a producir la misma respuesta bajo repetidas exposiciones a una sustancia en particular. Un sensor que exhibe una reproducibilidad excelente tiene la misma respuesta y el mismo tiempo de recuperación con el mismo nivel de respuesta. Después de un repetido uso sobre un periodo largo de tiempo, es natural esperar alguna degradación en la respuesta del sensor debido a la acumulación de trazas de impurezas o imperfecciones en el elemento sensante o al efecto del medio ambiente en el que opera el sensor. Esta degradación varía de un tipo a otro, es comúnmente conocida como el *tiempo de vida*.

La *estabilidad* se determina al examinar de forma general la respuesta del sensor. Es decir, en los sensores de corto tiempo, una vez que el sensor haya alcanzado su valor de saturación, esta respuesta se mantiene hasta que la sustancia medible sea removida. En los sensores de larga duración los parámetros característicos como tiempo de respuesta, nivel de saturación y tiempo de

recuperación podría ser reproducibles de exposición a exposición de exactamente la misma concentración de la sustancia medible. Algunos cambios significativos o repentinos en los parámetros característicos indican que el sensor es inestable a tiempos largos.

La *sensibilidad* (L_D) y *resolución* son propiedades del sensor que son extremadamente críticos cuando uno está trabajando con sistemas de control precisos o sustancias medibles potencialmente peligrosas. La resolución es que tan exacto uno puede medir la concentración mínima y relacionarlo directamente al error asociado con las medidas experimentales. Esto es importante para determinar la cantidad mínima medible o el límite más bajo que el sensor puede detectar. Esto es debido a que la respuesta puede no variar linealmente con respecto a la concentración. El *límite de detección* más bajo es determinado por la mínima cantidad medible capaz de producir una respuesta medible.

El *intervalo dinámico* (R_d) es definido como el margen de valores de entrada que puede ser medido. Idealmente este intervalo dinámico es asociado con el intervalo de concentración para el cual la respuesta del sensor con respecto a la concentración es lineal.

La *selectividad* es la capacidad del sensor de detectar y/o cuantificar solo una determinada especie de interés y no responder a ningún otro en presencia de otras potencialmente interferentes.

La *constante de enlace* (k_a) es una característica específica de un sensor colorimétrico referente al valor numérico asignado a la distancia entre el ion metálico y la molécula receptora. Este es determinado por experimentos de titulación mediante la siguiente ecuación [5]:

$$K_a = \frac{A-A_0}{(A_{Max}-A_0)[M^{2+}]} \quad \text{Ec. 3.1}$$

donde A y A_0 representa la absorción del sensor en la presencia y ausencia del ion metálico, respectivamente, A_{Max} es la absorbancia saturada en la presencia de una

cantidad excesiva del ion metálico, mientras $[M^{2+}]$ es la concentración de ion metálico agregado, todos estos valores son tomados en la longitud de onda en la que se sitúa el máxima absorción del complejo.

A estas propiedades básicas, de naturaleza intrínseca, se pueden añadir otras como su portabilidad, bajo consumo de energía, tamaño y costo económico.

Todas las características anteriores son de importancia para las aplicaciones particulares del sensor. Por ejemplo, en la detección de gases altamente tóxicos la sensibilidad se convierte en una propiedad muy importante. En aplicaciones donde el sensor podría responder numerosas veces a las sustancias a medir en tiempo real, las propiedades de reproducibilidad y tiempo de vida son de vital importancia. En aplicaciones relacionadas a biosensores implantados en humanos o animales el peso y tamaño se convierte de gran importancia, etc.

3.3. Sensores ópticos para la detección de metales pesados o de transición

Hay diversos sensores o técnicas para la detección de metales pesados, por ejemplo: voltamperometría de redisolución anódica, espectroscopía de emisión atómica/fluorescencia, gravimétricos, cromatografía, espectrofotometría, electrodos selectivos de iones, etc. Sin embargo, estos métodos analíticos suelen ser complicados y requieren mucho tiempo en la preparación de las muestras, necesitan aparatos relativamente costosos y no son fácilmente adaptables para el monitoreo en tiempo real [34, 62-63]. En contraste, los sensores colorimétricos han atraído la atención debido a su manera directa de detección, ofreciendo información cualitativa y cuantitativa, límites de detección muy bajos, alta sensibilidad, operación simple y buena selectividad sin el uso de un equipo costoso [31, 35, 64]. Además tienen la ventaja de poder ser utilizados sin un instrumento de detección, realizando la

detección del analito a simple vista a causa del cambio de color causado durante el proceso de detección.

3.3.1 Sensores químico/ópticos (colorimétricos)

Un sensor químico es un sistema que al interactuar con una especie química produce una señal, dependiendo de la naturaleza de la respuesta del compuesto utilizado como sensor, este se puede clasificar en alguna de las siguientes categorías: ópticos, eléctricos, magnéticos, sensores de masa y de calor. Actualmente, un tema en el campo de la investigación es la búsqueda de nuevos sensores que mejoren la selectividad y sensibilidad.

Un sensor colorimétrico es una molécula capaz de unirse de manera específica a un analito de interés y mostrar un cambio en su absorción perceptible por un instrumento o a simple vista [65], ver Figura 3.1.

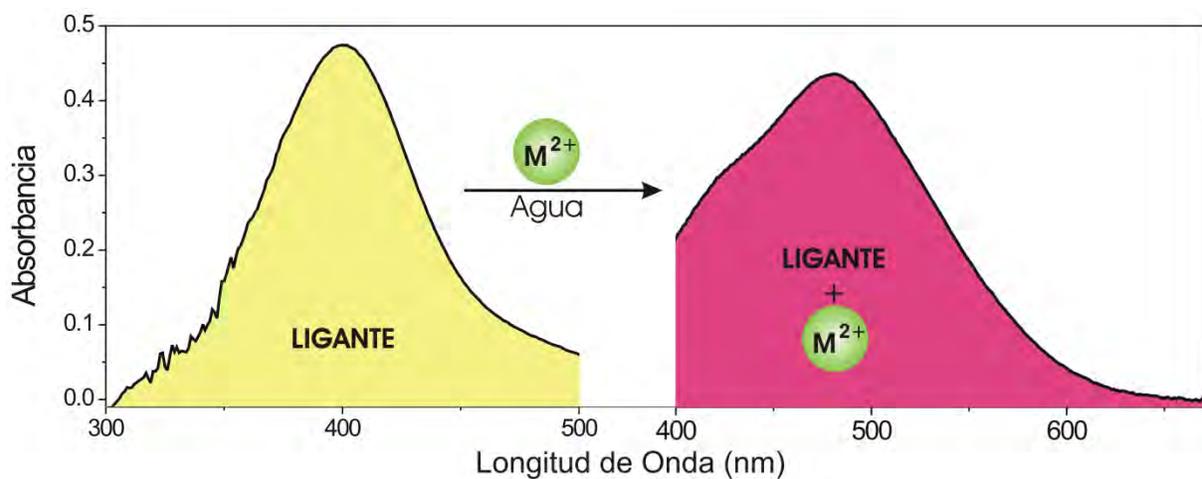


Figura 3.1 Principio de funcionamiento de un sensor colorimétrico en base a una Base de Schiff.

Un sensor químico-óptico está formado por dos unidades fundamentales, uno es la unidad llamado receptor responsable del reconocimiento molecular o

iónico, el cual interacciona selectivamente con un componente determinado de la muestra o analito. La otra parte importante es un detector capaz de producir una señal (absorción o fluorescencia) debido a la interacción que se produce entre el analito específico y el receptor. Respecto a los diferentes tipos de señales, los colorantes orgánicos con características ópticas-colorimétricas son clasificadas principalmente en dos grupos: sensores colorimétricos y fluorescentes. En este trabajo de investigación nuestro interés se enfoca en sensores colorimétricos. Como se puede ver de la Figura 3.2, la estructura molecular más común de los sensores colorimétricos consiste principalmente de un receptor y un cromóforo/fluoróforo, los cuales son unidos directamente o por una cadena π conjugada [18]. Un sensor colorimétrico puede convertir el evento de reconocimiento de analitos en una señal óptica altamente sensible y fácil de monitorear (fuertes cambios en la banda de absorción UV-Vis). En particular, la unidad receptora del analito (un ion metálico en nuestro caso) es responsable de formar un nuevo compuesto. Cuando el analito es un ion metálico, el receptor y el ion forman un complejo metálico mediante interacciones electrostáticas y/o de enlaces de hidrógeno que utilizan algunos grupos funcionales tales como sulfona de amida, urea, hidroxilo, aminas, iminas, etc. [66] Un cromóforo eficiente para ser utilizado en sensores debe mostrar un cambio fuerte en la transición electrónica para un fácil reconocimiento y una señal específica para determinados iones. La lectura de salida de los sensores colorimétricos se da como un cambio en la intensidad de absorción o bien como un desplazamiento en el máximo de la longitud de onda de absorción hacia el infrarrojo o hacia el ultravioleta y en esta forma alcanzar un cambio de color. Mientras que para los fluorescentes se observa un aumento o disminución de la intensidad de fluorescencia ante la interacción con el analito.

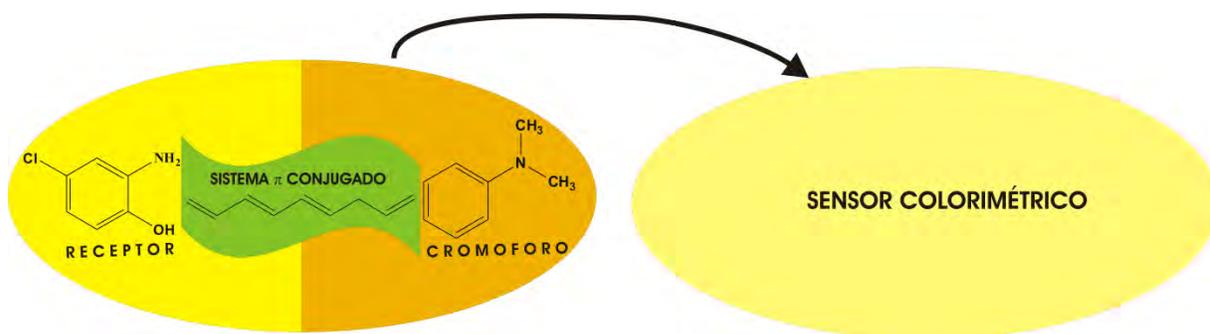


Figura 3.2. Unidades fundamentales que se deben considerar al diseñar una molécula orgánica como sensor colorimétrico.

3.4. Sensores colorimétricos de diversos iones metálicos

Como ya se mencionó anteriormente el grupo $C = N$, conocido como base Schiff, tiene la propiedad de ser un excelente receptor de iones metálicos, propiedad que algunas veces puede ser mejorada al combinarse con otras familias de compuestos como coumarinas y rodaminas. A continuación se presenta algunos ejemplos del estado del arte de sensores colorimétricos, en base a los reportes científicos a partir del 2012 que utilizan la unidad $C = N$ como elemento de coordinación de iones metálicos.

Los compuestos **Sc17** [67] y **Sc18** [68] mostrados en la Figura 3.3 han sido descritos como sensores colorimétricos altamente sensibles y selectivos de iones de Hierro, ambos sensores hacen la detección en medios acuosos $H_2O/MeOH$ (7:3, v/v) y $DMSO/H_2O$ (1:1, v/v), respectivamente. En cada caso los autores hacen estudios estequiométricos y proponen una geometría de coordinación 1:1. **Sc17** es capaz de detectar Fe^{3+} ante la presencia de otros iones con un límite de detección de 15 nM; **Sc18** muestra selectividad ante Fe^{3+} en interferencia con Fe^{2+} . **Sc18** tiene 2 máximos de absorción en 297 y 424 nm los cuales desaparecen al coordinarse con Fe^{3+} y surgen nuevas curvas en 266, 346 y 500 a causa de la transferencia de carga del

metal-ligando. **Sc18** tiene un L_D para Fe^{3+} y Fe^{2+} de $0.19 \mu\text{M}$ y de $0.21 \mu\text{M}$ con una constante de enlace de 1.1×10^4 y $1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, respectivamente.



Figura 3.3. Moléculas orgánicas con capacidad de sensor colorimétrico de Fe^{2+} y Fe^{3+} .

El sensor **Sc19** (Ver Figura 3.4) es sensible a iones de Hg^{2+} en agua y basa su funcionamiento en la coordinación del metal por el ligante derivado de rutenio, lo que ocasiona un cambio de color. Este sensor se coordina a Hg^{2+} a una razón 1:1 con un desplazamiento hipsocrómico de la curva de absorción de 514 a 476 nm causado por las transiciones de transferencia de carga metal-ligando (TCML) y tiene un $L_D = 15 \text{ nM}$. **Sc19** tiene la ventaja de funcionar en estado sólido, es decir, se prepararon tiras de papel filtro impregnado con **Sc19** y posteriormente secado, que al estar en contacto con Hg^{2+} muestra un cambio de color. Por otro lado, el complejo **Sc19+Hg²⁺** puede detectar Cisteína ante otros amino ácidos con un $L_D = 0.2 \mu$ [69].

Otra imina que se emplea como sensor químico-óptico es un ligando derivado de piridina **Sc20** que presenta gran selectividad colorimétrica hacia Fe^{3+} en ACN y muestra un incremento del 80% en la fluorescencia al coordinarse con Mg^{2+} en una mezcla de ACN/ H_2O (8:2, v/v). Para este sensor los autores proponen la formación de un complejo metálico en una relación estequiométrica de 1:1, es decir, una unidad de ligando que se enlazan a un átomo de metal. El sensor **Sc20** muestra un cambio de coloración de translucido a café con la aparición de una nueva curva de absorción a 538 nm . El aumento de la fluorescencia se debe a la supresión de la isomerización de $\text{C}=\text{N}$ en el estado excitado. **Sc20** tiene una capacidad de enlazarse a Fe^{3+} y Mg^{2+}

con una k_a de $2.17 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ y $1.42 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, respectivamente. Así mismo, muestra una sensibilidad de 1.75 y de $.09 \mu\text{M}$ para Fe^{3+} y Mg^{2+} , respectivamente [70].



Figura 3.4. Sensores colorimétricos y fluorescente de Hg^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} y Zn^{2+} .

Otra molécula reportada como un sensor colorimétrico y fluorescente es el derivado de rodamina **Sc21**. El funcionamiento del sensor fue analizado por espectroscopia de absorción y puede detectar Zn^{2+} en $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ (2:1, v/v) aunque sufre de interferencia con Co^{2+} , Ni^{2+} y Cu^{2+} . Es bien conocido que los derivados de rodamina son altamente fluorescentes, por lo que **Sc21** puede detectar Zn^{2+} (sensor fluorescente) con una ligera interferencia ante Pb^{2+} . Por este método se puede medir una concentración de 29 nM, con una constante de disociación de $3.16 \times 10^{-7} \text{ M}$ y una geometría de coordinación 1:1. En este trabajo los autores realizaron estudios de potenciales electrostáticos y de orbitales moleculares de frontera [71].

3.4.1 Sensores colorimétricos de níquel

El níquel es un ion metálico de relevancia biológica, ya que es esencial para las plantas, para actividades enzimáticas y para formar complejos con amino ácidos, pero a altas concentraciones son nocivos para la salud, por lo que su detección ha atraído la atención, por ejemplo:

Un derivado de comarina **Sc5** se ha sintetizado como sensor colorimétrico para la detección de Ni^{2+} en ACN. Cuando Ni^{2+} es agregado a la solución se observa un cambio de color de amarillo a rojo con un desplazamiento en la curva de absorción de 465 a 516 nm, debido a ICT. Las propiedades de enlace fueron determinados con tierras raras, metales alcalinos, alcalinoterrios y de transición (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Sb^{3+} y Fe^{3+}). Mediante estudios estequiométricos se propone una coordinación 1:1. Por otro lado, la fluorescencia aumentó con la adición de Ni^{2+} en ACN de alrededor del 48 %, con respecto a cuando no se tiene la coordinación [15].

Otro derivado de comarina **Sc22** en MeOH muestra un máximo de absorción a 341 nm pero al agregarle Ni^{2+} hay un cambio en la absorción a 540 nm. Dicho desplazamiento en la absorción se observa a simple vista como un cambio de coloración traslucido a rosa, debido a la afinidad termodinámica de Ni^{2+} hacia un ligante N-donador y al enlace del metal al ligante. **Sc22** es capaz de discriminar Ni^{2+} , ante Pb^{2+} , Hg^{2+} y Cu^{2+} , los cuales comúnmente interfieren en dicha detección cuando se usa otros sensores químico-ópticos. Los valores del límite de detección (L_D) y la constante de enlace (k_a) fueron de 0.5 μM y $2.343 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, respectivamente, con un modo de enlace 1:1. Al agregarse Ni^{2+} la coordinación se da entre el ion metálico a los átomos de nitrógeno y oxígeno de la unidad piridina y de la base Schiff aumentando su movimiento electrónico, el cual conduce a un fuerte ICT de los grupos hidroxilos donadores de electrones a los metales coordinados [72].

La estructura de **Sc23** derivado de quinoxalina, sugiere enlaces de hidrógeno intramolecular, causando un aumento de fluorescencia con la adición de Ni^{2+} en ACN-HEPES (9:1, v/v). Los enlaces de hidrógeno o efectos de deprotonación afectan las propiedades electrónicas de **Sc23** lo cual resulta con un cambio de color pálido a amarillo, con una nueva interacción de transferencia de carga entre enlaces de níquel y las unidades de NH. La constante de estabilidad calculado fue de $2.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ con una coordinación estequiométrica propuesta de 2:1 debido a PET [73]. **Sc23** presenta una ligera interferencia con Co^{2+} así como el derivado de piridil **Sc24**. **Sc24**

es un sensor colorimétrico y fluorescente capaz de detectar Ni^{2+} en MeOH/H₂O, (1:1, v/v) a una concentración de 8.3×10^{-7} y de 1 μM . Este sensor tiene un máximo de absorción a 381 nm el cual sufre un desplazamiento a 510 nm al coordinarse con Ni^{2+} debido a transiciones de ICT; transiciones que son corroboradas mediante estudios teóricos de los espectros electrónicos. Los estudios de titulación de la absorción a 510 nm alcanzan una fracción molar de 0.5 equivalencias, lo que indica una geometría de coordinación 1:1 con una constante de enlace de $1.27 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ [74].

La detección de un ion metálico en agua sin interferencia de iones de otro metal es un factor importante en un sensor colorimétrico con aplicaciones biológicas. Esta característica ofrece el derivado de malonohidrazide **Sc25**. En DMSO/H₂O (1:1, v/v) muestra un aumento de la fluorescencia a partir de 200 μL de Ni^{2+} . **Sc25** tiene un sistema electrónico π^* planar, donde la planaridad favorece a la coordinación de Ni^{2+} con los átomos de oxígeno de los dos anillos aromáticos. Los estudios muestran baja interferencia, un límite mínimo de detección L_D de 0.5 μL debido al efecto paramagnético de Ni^{2+} . Los resultados de titulación de la fluorescencia sugieren una coordinación de 1:1 por PET y constante de estabilidad de $3.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. El aumento de la eficiencia cuántica al coordinarse con Ni^{2+} es de 0.05 a 0.23 [75].

Por último, el derivado de benzimidazole **Sc26** muestra selectividad por Ni^{2+} en DMSO/H₂O (1:1), con un desplazamiento en su curva de absorción de 403 a 600 nm. El límite de detección es de $L_D = 0.14 \mu\text{L}$ y la constante de estabilidad de $2.08 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$. Al aumentarse las equivalencias de Ni^{2+} el máximo de absorción se estabiliza a una fracción molar de 0.5 indicando una geometría de coordinación 1:1. Mediante estudios teóricos se calcula que la energía del gap disminuye entre los orbitales HOMO y LUMO de 3.13 a 2.32 eV para **Sc26** y **Sc26+Ni²⁺**, comportamiento que coincide con el comportamiento de la absorción [76].

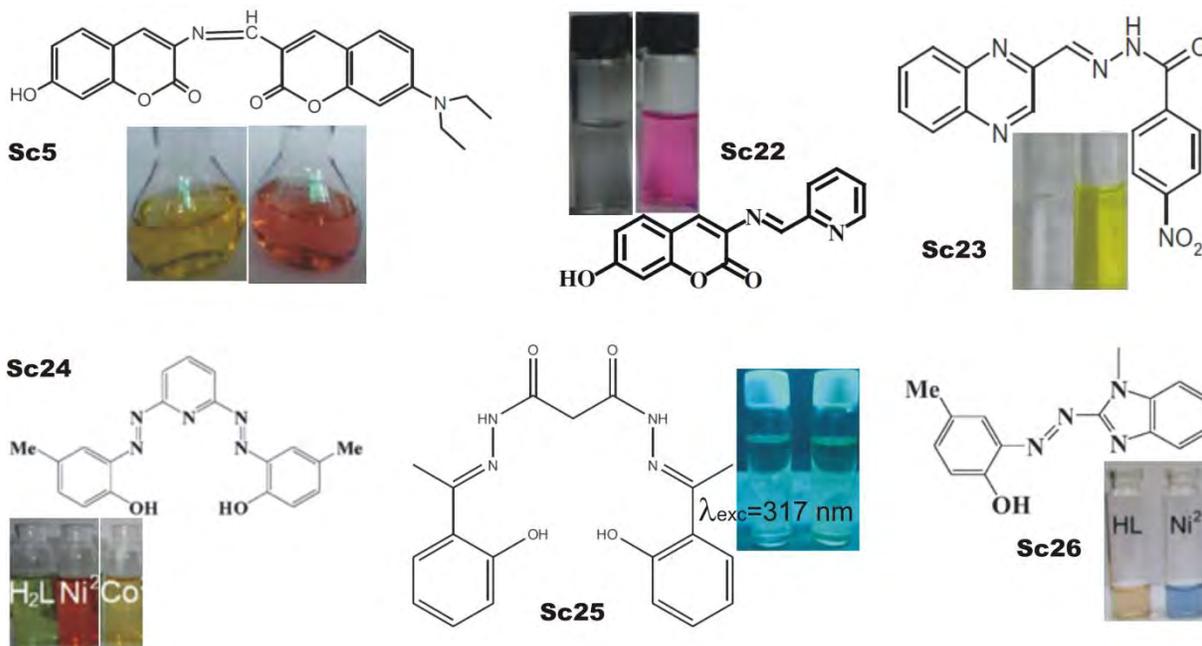


Figura 3.5. Estructuras químicas de los sensores de Ni²⁺ y sus propiedades colorimétricas.

3.4.2 Sensores de cobre

Como ya se describió anteriormente, el cobre juega un rol importante como cofactor catalítico pero a altas concentraciones puede causar enfermedades neurodegenerativas. Por ello su detección es de importancia. A continuación se describe una serie de moléculas orgánicas que pueden detectar cobre, así mismo al final de cada sección se presenta una tabla con los valores más relevantes de cada sensor como son: disolvente en el que trabajan, límite de detección, constante de enlace, geometría de coordinación y en algunos casos las células que analizan mediante microscopía fluorescente. Por claridad, en las secciones siguientes se analizan por separado sensores de cobre puramente colorimétricos y colorimétricos/fluorescentes.

3.4.2.1 Sensores de cobre puramente colorimétricos en medios acuosos

Sc27 derivado de malonohidrazina-Shiff-base fue sintetizado como sensor colorimétrico altamente selectivo de Cu^{2+} en DMSO/ H_2O (8:2, v/v). Muestra un máximo de absorción de 397 nm y muestra un desplazamiento en la absorción a 470 nm ante Cu^{2+} aun en la presencia de diferentes iones metálicos. Este cambio en la curva de absorción se observa como un cambio de color a café. Debido a que Cu^{2+} posee una estructura electrónica de d^9 , los electrones d pueden participar en las transiciones ICT, causando un cambio de color. Por otro lado, el tiempo de respuesta de **Sc27** es menor a un minuto [63]. El mismo tiempo de respuesta es exhibido por el sensor **Sc28** derivado de rodamina. **Sc28** al coordinarse con Cu^{2+} en ACN/ H_2O (1:1), muestra un aumento drástico del máximo de absorción a 552 nm. Dicha coordinación causa que la estructura espirocíclica de la rodamina se rompa, causando un cambio de color debido a la formación de un sistema π^* rígido. Coloriméricamente presenta una ligera coordinación ante Fe^{3+} , sin embargo, esta coordinación no es significativa para detectar Cu^{2+} [77].



Figura 3.6. Sensores colorimétricos (para cobre) derivados de malonohidrazide y rodamina.

La integración de un receptor con un cromóforo es una característica necesaria para los sistemas de sensado por transferencia de carga intramolecular

como son los casos de los sensores colorimétricos **Sc29** [78], **Sc30** [79] y **Sc31** [80]. **Sc29** es un derivado de ninhidrina-quinoxalina, donde se espera que la quinoxalina actúe como aceptor de electrones, así mismo incorporaron dos átomos de N en el anillo de benceno, mientras que la parte restante se espera para que actúe como donador de electrones. Muestra bandas de absorción a 295 y 390 nm las cuales se ven perturbadas por la adición de Cu^{2+} en EtOH/ H_2O (1:9, v/v) dichas perturbaciones se reflejan como un desplazamiento a 301 y 385 nm, respectivamente. Por su parte, **Sc30** es un derivado de hidrazina que trabaja en agua/ACN (3:7, v/v); exhibe picos de absorción máxima a 294 y 343 nm asociados a las transiciones $\pi\text{-}\pi^*$ y al coordinarse a Cu^{2+} se desplazan a 400-440 por las transiciones $n\text{-}\pi^*$. Mismo principio de coordinación es del derivado de carbaldehido **Sc31** en DMSO/ H_2O (7:3), que al formar el complejo de coordinación experimenta un desplazamiento batocrómico de 415 a 489 nm debido al efecto push-pull de los grupos donadores y aceptores de electrones. El complejo **Sc31**+ Cu^{2+} tiene la ventaja de que fue empleado como sensor de cisteína en H_2O sin interferencia ante otros amino ácidos o péptidos, con una sensibilidad de $L_D = 10.77 \mu\text{M}$ y una constante de enlace de $L_D = 19.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$.



Figura 3.7. Estructura química de sistemas de sensado de cobre por transferencia de carga intramolecular.

El derivado de dietilamino fenol **Sc32** fue reportado como un sensor químico útil para pruebas cualitativas y también cuantitativas de iones de Cu^{2+} en ACN/ H_2O (4:1, v/v). Por si solo reacciona ante el cobre debido a su gran polarizabilidad y la detección se hace con la ayuda de NaClO , el cual ayuda a eliminar la influencia del oxígeno en el aire. El funcionamiento del sensor fue analizado por espectroscopía de absorción y por este método se encuentra un desplazamiento en la absorción de 398 a 552 nm ante Cu^{2+} [81].

J.-J. Xiong, et.al., combinaron la base Schiff con aminoantipirina (**Sc33**) y encontraron un desplazamiento de 290 a 550 nm en su espectro de absorción ante Cu^{2+} en ACN/agua (2:8). Lo ideal en un sensor es que funcione en tiras de papel como lo hacen las tiras reactivas de pH. Tiras de papel filtro que previamente fueron tratadas con **Sc33** y posteriormente secadas, fueron capaces de detectar Cu^{2+} , con un límite de detección colorimétrico de 1×10^{-5} M. Se cree que Cu^{2+} se coordina al átomo de oxígeno de $\text{C}=\text{O}$, al N de $\text{C}=\text{N}$ y al pirrol, los cuales fueron corroborados por ^1H NMR y ESI-MS [82].

Otro sensor químico-óptico utilizado para el análisis de iones metálicos disueltos en agua que emplea una base de Schiff es **Sc34**. Este sensor tiene un máximo de absorción en 373 nm y al coordinarse al cobre la absorción se desplaza a 497 nm, pero sufre de interferencia con iones de Hg^{2+} , Cd^{2+} y Pb^{2+} . Con la finalidad de mejorar la selectividad y evitar dicha interferencia, el sensor **Sc34** se apoya del agente EDTA para formar un complejo no reversible [83].

2,4-dinitrofenil-hidrazina, **Sc35**, es un miembro de las familias clásicas de sensores colorimétricos. **Sc35** es capaz de detectar Cu^{2+} en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), mediante un cambio de color de amarillo a amarillo claro con una disminución de la absorbancia a 360 nm. Este sensor fue probado para detectar Cu^{2+} disuelto en muestras de agua tomadas de la ciudad Hsinchu y de un lago sin cambios significativos [84].



Figura 3.8. Varios sensores colorimétricos de Cu^{2+} .

La tabla 3.2 resume los parámetros del límite de detección, constante de enlace, relación estequiométrica y el medio acuoso en la que se realiza de detección de cobre para los sensores puramente colorimétricos descritos en esta sección. Debe resaltarse que si bien la literatura es amplia en cuanto a sensores de cobre, son pocos los que realizan el proceso de detección en medios acuosos. La motivación de esta tesis ha sido el estudio de un nuevo sensor que mejore en algunos de los parámetros de los sensores ya previamente publicados.

Tabla 3.2 parámetros más importantes de los sensores colorimétricos de cobreen medios acuosos. * **Disolvente:** Disolvente en el que trabajan (v/v), G_e : **Geometría de enlace** y A_{max}^c : **Absorción máxima del complejo**.

Sensor	Disolvente	L_D [M]	k_a [M^{-1}]	G_e	A_{max}^c [nm]
Sc27	DMSO/ H_2O (8:2)	-----	2.2×10^4	2:1	470
Sc28	ACN/ H_2O (1:1)	-----	3.2×10^4	1:1	552
Sc29	EtOH/ H_2O (1:9)	3.43×10^{-7}	-----	1:1	301 & 383 Dos bandas
Sc30	Agua/ACN (3:7)	5.24×10^{-7}	1×10^4	1:1	407
Sc31	DMSO/ H_2O (7:3)	2.4×10^{-6}	3.2×10^4	1:1	489
Sc32	ACN/ H_2O (4:1)	-----	-----	1:1	552
Sc33	ACN/ H_2O (2:8)	2.14×10^{-7}	8.3×10^4	1:1	550
Sc34	H_2O /ACN (9:1)	1.81×10^{-6}	-----	1:1	497
Sc35	MeOH/ H_2O (1:1)	0.85×10^{-6}	-----	1:1	360

3.4.2.2 Sensores colorimétricos y fluorescentes de cobre

El componente trifenilamina del sensor **Sc36** al coordinarse a Cu^{2+} induce un cambio de color por ICT y un aumento de la fluorescencia de 8 veces en ACN. Al mezclarse con Cu^{2+} su pico de absorción a 417 nm desaparece, el de 473 disminuye y la de 351 nm aumenta. Los experimentos de titulación de la fluorescencia demuestran que este sensor tienen un límite de detección a una fracción molar a 0.5 y no presenta interferencia ante iones de Li^+ , Na^+ , K^+ , Mn^{2+} , Bi^{3+} , Cr^{3+} , Al^{3+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ag^+ , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ba^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} y Cd^{2+} [85].

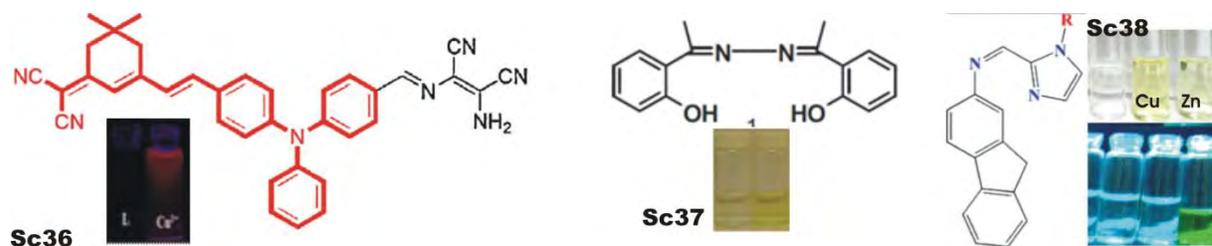


Figura 3.9. Sensores colorimétricos y fluorescentes de Cu^{2+} .

Un cambio en la curva de absorción o de fluorescencia involucra un cambio en el gap entre el nivel energético HOMO y LUMO, por lo que es necesario de estudios computacionales de la densidad electrónica en los orbitales tanto del sensor como de su complejo. Dichos estudios han sido reportados para **Sc37** [86], **Sc38** [87] y **Sc39** [39] los cuales fueron sintetizados como sensores colorimétricos/fluorescentes de Cu^{2+} . **Sc37** en $\text{DMSO}/\text{H}_2\text{O}$ (50:50, v/v), al coordinarse con Cu^{2+} disminuye la energía del gap entre el HOMO y LUMO, el cual causa un cambio en el máximo de absorción de 285, 325 y 365 nm a 295 y 365 nm promovidos por ICT metal ligante. **Sc37** en MeOH/agua detecta Cu^{2+} colorimétricamente con interferencia de Zn^{2+} mediante un aumento de fluorescencia, para Zn^{2+} calculan un $L_D = 76 \mu\text{M}$ y $k_a = 6.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. Derivados de ferroceno **Sc39** (en este trabajo los autores analizan tres derivados de esta familia por lo que son etiquetados A, B, C) en $\text{DMSO}/\text{H}_2\text{O}$ (10:0.5, v/v) muestran

selectividad ante Cu^{2+} en interferencia con Hg^{2+} mediante un apagado de la fluorescencia por las transiciones electrónicas de $\pi \rightarrow \pi^*$.

El último sensor discutido en esta sección es el **Sc40**, derivado de etinilbenzoato. Al agregarse Cu^{2+} en ACN, hay un desplazamiento de 522 a 600 nm en interferencia con Hg^{2+} . La ventaja de este sensor es que también puede detectar cobre mediante un aumento de la eficiencia cuántica de fluorescencia de 0.15 a .58, con una geometría de coordinación de 1:1 y una constante de estabilidad de 6.3 μM [88].

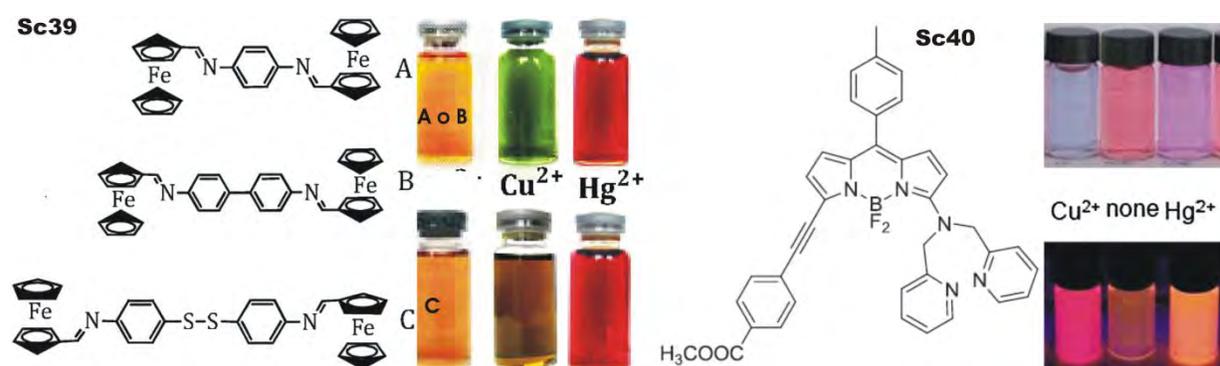


Figura 3.10. Otros sensores colorimétricos y fluorescentes de Cu^{2+} .

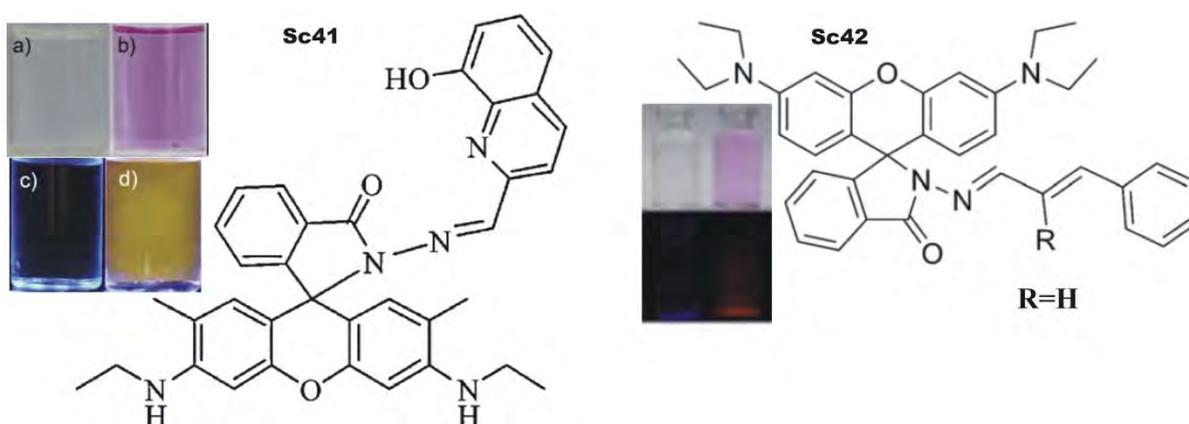
Tabla 3.3 parámetros más importantes de los sensores colorimétricos/fluorescentes de cobre

Sensor	Disolvente	L_D [M]	k_a [M^{-1}]	G_e	A_{max}^c [nm]	
Sc36	ACN	1.568×10^{-6}	1.184×10^4	1:1	351	
Sc37	DMSO/ H_2O (50:50)	50×10^{-9}	111,667	1:1	295 y 365	
Sc38	MeOH/agua	10×10^{-6}	7.82×10^4	2:1	390	
Sc39	DMSO/ H_2O (10:0.5)	1×10^{-6}	-----	1:1	A	280
					B	288
					C	287
Sc40	ACN	-----	-----	1:1	600	

3.4.2.3 Sensores de cobre que son empleados como marcadores celulares

Una de las aplicaciones de los sensores químico-ópticos es la detección de iones metálicos al interior de células. Esto es de importancia pues ayuda a monitorear procesos bio-químicos en los que intervienen iones metálicos, así como a detectar la presencia de estos como contaminantes a nivel celular. En esta sección se presentan una serie de sensores colorimétricos y fluorescentes que son empleados como marcadores para obtener imágenes de células vivas mediante microscopía fluorescente. El proceso para formar imágenes funciona si se forma el complejo entre el sensor y Cu^{2+} .

Por ejemplo los derivados de rodamina **Sc41** [89], **Sc42** [90], **Sc43** [91] y **Sc44** [92] muestran un aumento de fluorescencia al coordinarse con Cu^{2+} . **Sc41** es capaz de evitar los efectos paramagnéticos de Cu^{2+} aumentando así la fluorescencia de 80 veces al formarse el complejo con una respuesta dinámica de 2×10^{-7} a 5×10^{-5} M. **Sc44** a diferencia de los otros sensores es muy lento para formar el complejo ya que su tiempo de respuesta es $< 3 \text{ min}$, los iones estudiados están en MeOH- H_2O (1:1, v/v) disolvente diferente al que esta **Sc44**.



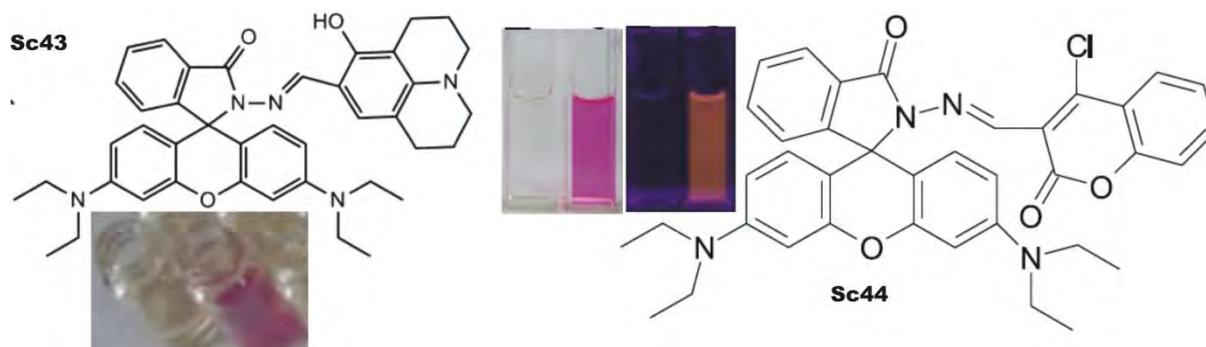


Figura 3.11. Estructura química de los complejos que son empleados como marcadores para imágenes de células vivas.

Los derivados de pireno son interesantes por su facilidad de formar complejos con iones metálicos, como es el caso de **Sc13** quien fácilmente se coordina a Cu^{2+} y Fe^{3+} en DMSO/ H_2O (8/2, v/v). Ante Cu^{2+} su curva de absorción mostró un desplazamiento hipsocrómico de 355 y 452 a 326 y 410 nm. Muestra un aumento de su fluorescencia al coordinarse con Fe^{3+} con un límite de detección de 3.19×10^{-6} M. A diferencia de los otros sensores este aumento de fluorescencia ante Fe^{3+} es empleado para obtener imágenes microscópicas de organelos biológicos que contiene Fe^{3+} [49].

Otro sensor es el derivado de diaminomaleonitrilo **Sc45** quien muestra interferencia con Hg^{2+} y un máximo de fluorescencia a 459 nm. **Sc45** es un compuesto dipolar por lo que su diferencia de energía entre su estado base y excitado es influenciado por las interacciones soluto solvente y que los dipolos del estado excitado son más grandes que el del estado base [93].

Otra familia reconocida por su eficiencia cuántica de fluorescencia alta y por sus propiedades como sensor de iones son los derivados de comarina como es el caso de **Sc46**. **Sc46** al coordinarse con Cu^{2+} aumenta drásticamente su fluorescencia en 489 nm, el aumento de la eficiencia cuántica fue del 46.3% y un tiempo de respuesta es $< 3 \text{ min}$ [94].

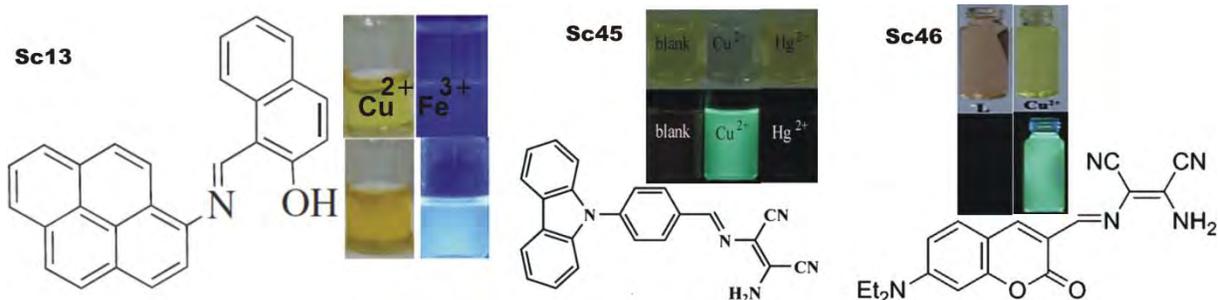


Figura 3.12. Otros sensores colorimétricos y fluorescentes de Cu²⁺.

Tabla 3.4 parámetros más importantes de los sensores colorimétricos de cobre

Sensor	Disolvente en el que trabajan (v/v)	Sensibilidad [M]	Constante de enlace [M ⁻¹]	Geometría de enlace	Célula
Sc41	tris-HCl/EtOH (7:3)	^f 0.19 x 10 ⁻⁶	Log=8.04	1:1	MG-63
Sc42	MetOH:H ₂ O (1:20)	^c 3.7 x 10 ⁻⁸	-----	1:1	MG-62
		^f 1.2 x 10 ⁻⁸			HepG2
Sc43	EtOH-PBS (5:5)	^f 3 x 10 ⁻⁶	8.9 × 10 ⁴	2:1	HELA
Sc44	ACN	^c 10 x 10 ⁻⁶	4.06 × 10 ⁴	1:1	HELA
		^f 2.3 x 10 ⁻⁶			
Sc13	DMSO/H ₂ O (8/2)	^f 2.17 x 10 ⁻⁶	-----	1:1	organelos
Sc45	ACN	-----	-----	1:3	HepG2
Sc46	ACN.	^f 3.36x10 ⁻⁸	-----	1:1	HepG2

valor calculado por ^ffluorescencia y ^cUv-vis.

En la Figura 3.13 se muestran imágenes celulares obtenidas mediante microscopía fluorescente. Los diferentes autores obtuvieron dichas imágenes empleando como marcador los complejos formados entre los sensores y cobre.

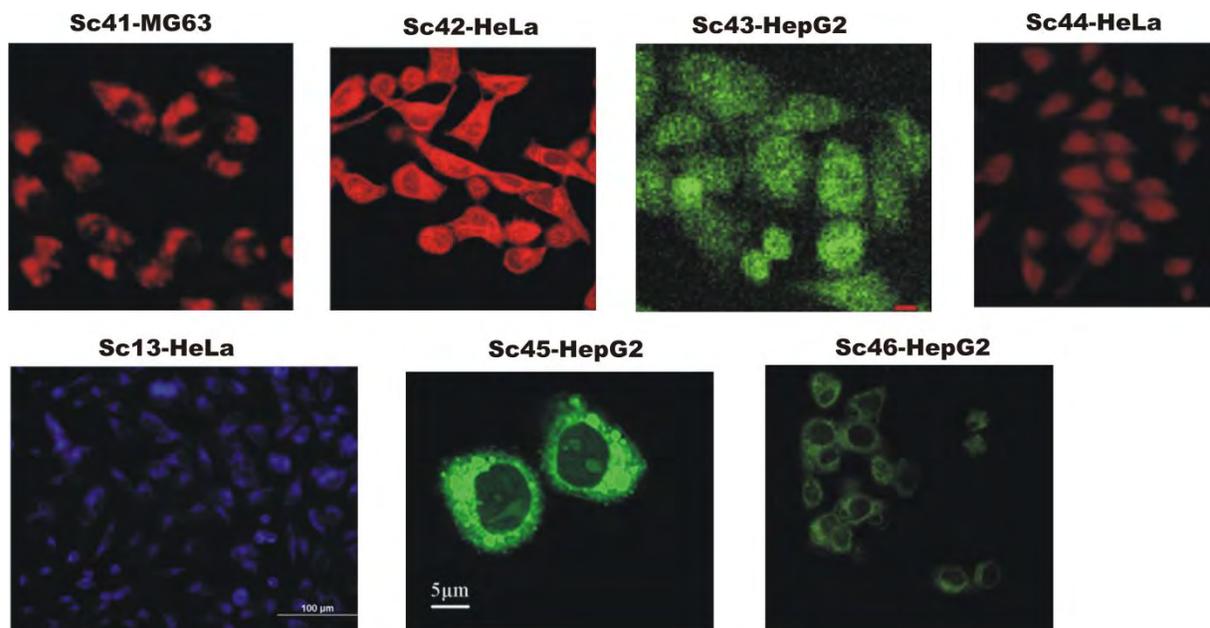


Figura 3.13 *Imágenes celulares obtenidas mediante microscopía fluorescente empleando como marcadores los complejos formados entre cada uno de los sensores y Cu^{2+} .*

4. RESULTADOS EXPERIMENTALES PARA UN SENSOR COLORIMETRICO DE NÍQUEL BASADO EN LA BASE DE SCHIFF L1

En este trabajo se caracterizaron ópticamente 8 nuevos derivados de bases Schiff, las cuales poseen un sistema π conjugado que las hace coloridas. Se trabaja bajo la hipótesis de que los grupos NO_2 , Cl y OH contenidos en los compuestos estudiados y la posición que ocupan dentro de la estructura molecular, pueden facilitar una coordinación hacia iones metálicos; de estos 8 compuestos dos resultaron ser capaces de formar complejos metálicos con el níquel y el cobre de manera selectiva y con alta sensibilidad. La formación del complejo entre una molécula orgánica y un metal, se observa como un desplazamiento en el máximo de absorción con respecto al de la solución en donde se realiza la coordinación, causando un cambio de color que puede observarse a simple vista, indicando así que las moléculas pueden ser aplicadas como sensores colorimétricos. El objetivo es desarrollar sensores que hagan la detección de iones metálicos en agua. Este objetivo está motivado por el hecho de que la mayoría de los sensores reportados en la literatura realizan la detección de metales en medios no acuosos, lo cual limita su aplicación práctica.

4.1 Caracterización de los compuestos bajo estudio por el método de espectroscopía de UV-Vis.

4.1.1 Desarrollo experimental

Todos los solventes y materiales empleados en el desarrollo de esta tesis se adquirieron de Sigma-Aldrich y se emplearon sin ninguna purificación. Los espectros de absorción se midieron usando un espectrofotómetro (Lambda 900, Perkin-Elmer).

Los materiales derivados de la base Schiff **L1**, **L4**, **L5**, **L6**, **L7** y **S1** fueron sintetizados en el laboratorio del Grupo de Propiedades Ópticas de la Materia (GPOM), en el caso de **L2** y **L3** fueron sintetizados en la facultad de química de la UNAM. Los detalles del método de síntesis de este tipo de compuestos pueden ser consultados en la referencia [95].

Para establecer las propiedades como sensor de las bases de Schiff **L1**, **L2**, **L3**, **L4**, **L5**, **L6**, **L7** y **S1**, se prepararon soluciones en disolventes orgánicos tales como THF, DMSO, ACN y MeOH. El uso de diferentes disolventes es necesario para tomar en cuenta posibles interacciones solvente-soluto que puede afectar el proceso de coordinación con metales y por lo tanto el proceso de detección iónica. Así mismo se prepararon soluciones de diferentes sales metálicas en agua y en los mismos disolventes orgánicos usados para preparar las soluciones de bases Schiff. Ambas soluciones se pusieron en contacto directo para investigar un posible cambio de color que se pueda detectar a simple vista como prueba de selectividad sobre alguno de los metales por parte de las iminas. De las moléculas analizadas solo **L1**, **L2**, **L3** y **S1**, mostraron un cambio de color en presencia de iones de níquel, manganeso, manganeso y cobre, respectivamente, por lo cual se procedió a investigar en mayor detalle la selectividad, reproducibilidad, estabilidad y sensibilidad de estos posibles sensores. Este capítulo se enfoca principalmente al estudio de **L1** como sensor de níquel, en tanto que el capítulo 5 se dedica al estudio de **S1** como sensor de cobre.

4.1.2 Formación de complejos metálicos con las bases de Schiff L2, L3 L4, L5, L6 y L7.

En el análisis de **L2** y **L3** como sensores colorimétricos, primero se prepararon soluciones acuosas de metales a una concentración molar de 3×10^{-5} M. Los iones metálicos empleados fueron Hg^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} y Zn^{2+} . Posteriormente se prepararon soluciones de **L2** y **L3** a la misma concentración que los metales, los disolventes empleados fueron THF, ACN, DMSO, etanol y metanol, estos disolventes tienen la característica de ser miscible con el agua. Finalmente se

mezcló 1 mL de la solución del ion metálico y 1 mL de solución de la molécula y se procedió a medir su espectro de absorción. Los resultados para los ligandos **L2** y **L3** son muy similares como se puede ver de la Figura 4.1, por lo que solo se muestran los datos de **L3** en las Tabla 4.1.

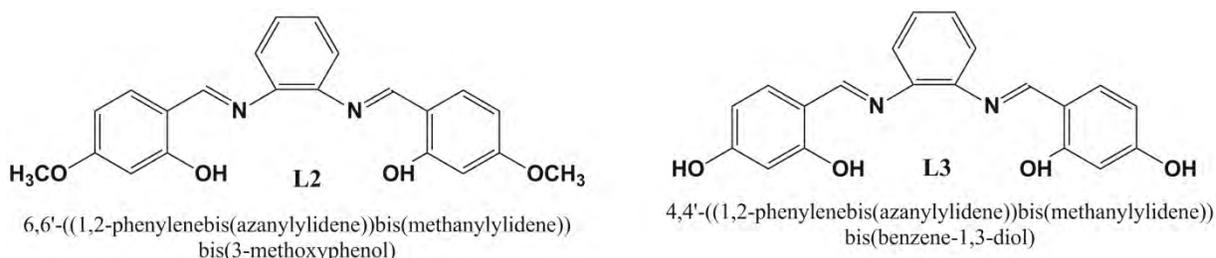


Figura 4.1. Estructura química de **L2** y **L3**.

Los resultados obtenidos para **L2** y **L3** mostraron de forma general que las moléculas no son estables cuando se mezclan con soluciones acuosas conteniendo iones metálicos independientemente del valor del pH, esto se dedujo al obtener diferentes curvas de absorción en diferentes días. No obstante, las moléculas presentan ciertos grados de coordinación hacia diferentes iones como son el zinc, cobre, magnesio y cobalto, pero con un grado de sensibilidad muy pobre. Por ejemplo, la tabla 4.1 muestra un cambio colorimétrico muy débil cuando **L3** y los iones metálicos se disuelven en el mismo disolvente, por ejemplo DMSO, o cuando **L3** se disuelve en DMSO y los iones metálicos en agua. Un cambio colorimétrico moderado se observa en el caso en que **L3** en ACN se mezcla con iones de manganeso en agua, pasando de amarillo claro a amarillo-naranja.

Tabla 4.1. Pruebas de selectividad del ligante L3 en diferentes disolventes: Máximo de absorción (A_{max})

Disolvente	Curva de absorción	Selectividad colorimétrica	Análisis de la absorción
L3- DMSO Metal-H ₂ O		En ambos casos el cambio en la curva de absorción no es significativo para que haya un cambio de color perceptible a simple vista	$A_{max} = 329$ nm. Mostró un cambio en la curva de absorción ante Cu^{2+} , Mn^{2+} y Zn^{2+} .
L3-Metal- DMSO		No hay cambio de color perceptible a simple vista.	Mostró selectividad ante iones de cinc en interferencia con los iones de Cobre.
L3- ACN Metal-H ₂ O		<p>Soluciones de L3 con diferentes metales a una razón 1:1</p>	Mostró selectividad ante manganeso tanto colorimétrico como espectroscópico

En el caso de **L4**, **L5**, **L6** y **L7** a pesar de que sus estructuras químicas cumplen con los requisitos de contener un receptor y un cromóforo; (por ejemplo, imina, átomos de cloro y alcohol) unidades que deben estar presentes en la estructura de un sensor colorimétrico, sin embargo a pesar de dichas unidades no mostraron ningún cambio colorimétrico cuando se mezclaron con muestras de agua conteniendo los iones metálicos.

4.2. **L1** como sensor colorimétrico de níquel

En el estudio de **L1** (ver figura 4.2) como sensor colorimétrico primero se establecieron sus propiedades en diferentes disolventes miscibles con agua, como THF, ACN, DMSO y MeOH. Sin embargo, **L1** mostró propiedades de coordinación hacia los iones metálicos solo en THF y DMSO. Para establecer la selectividad de **L1** hacia un ion metálico primero se analizó la curva de absorción de dicho ligante en THF mezclado con disoluciones acuosas de iones metálicos, ambos a una concentración de 1×10^{-5} M. En este caso, la absorción máxima (438 nm) de **L1** en THF está asignada a una transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$. Un desplazamiento en el máximo de absorción después de mezclar la solución de **L1** y el agua conteniendo iones metálicos sugiere la formación de complejos metálicos (ver Figura 4.3); la magnitud del desplazamiento está relacionado con la eficiencia de los procesos de transferencia de carga intramolecular después de la formación del complejo. En particular, el complejo **L1+Ni²⁺** mostró un desplazamiento en el pico de absorción hacia el rojo a 476 nm, en tanto que para el caso del cobalto hubo un desplazamiento a 451 nm, menor al del Ni²⁺. En el caso de Hg²⁺ y Cu²⁺ se observó un desplazamiento hacia el azul y para Pb²⁺ y Mn²⁺ la curva de absorción permaneció sin cambios significativos en comparación con **L1**. Por otra parte, se evaluó la propiedad de **L1** como sensor fluorescente. En la Figura 4.4 se muestra el espectro de fluorescencia de **L1** en THF a una concentración de 3.3×10^{-4} M obtenido bajo iluminación UV (475 nm). El máximo de fluorescencia se da a 631 nm. La

fluorescencia resulto débil, y no se observaron cambios perceptibles a simple vista cuando la solución se mezcló con el agua conteniendo metales. En general, los derivados de la base Schiff aquí estudiados no son buenos fluoróforos, es decir tienen una baja eficiencia cuántica de fluorescencia, por lo que se descartó algún otro posible estudio de fluorescencia con ellos.

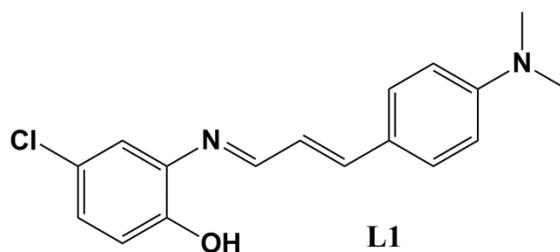


Figura 4.2 Estructura química de **L1**.

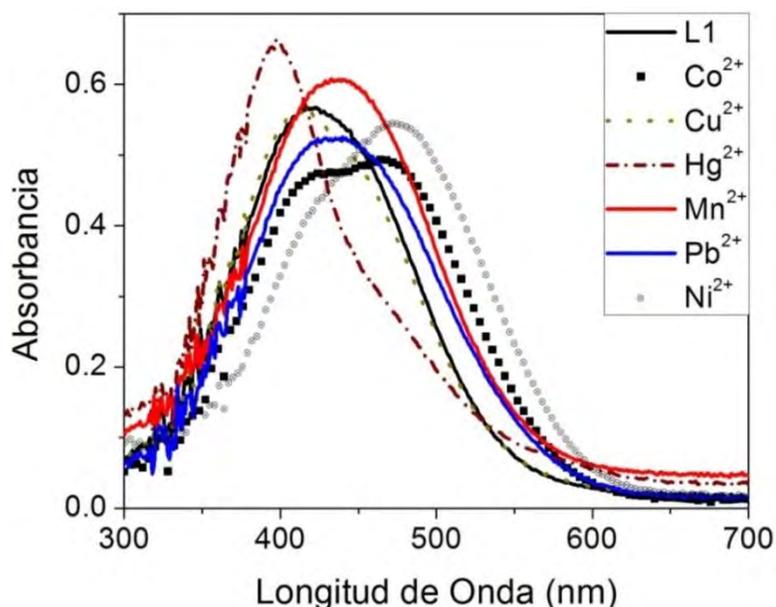


Figura 4.3 Cambios en la curva de absorción de **L1** en THF bajo la adición de soluciones acuosas de iones de Pb^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} y Ni^{2+} a una concentración de $1 \times 10^{-5} M$, tanto para **L1** como para cada ion metálico.

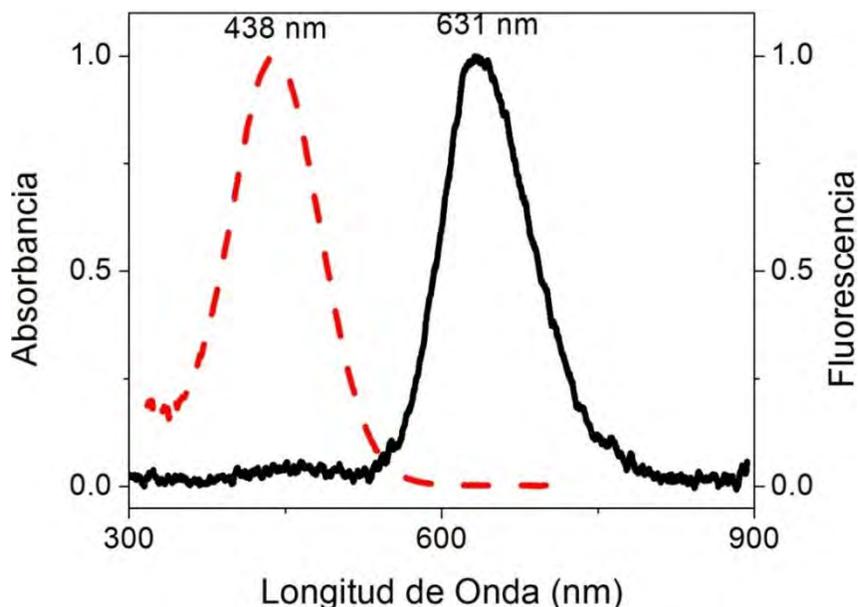


Figura 4.4 Curva de absorción (izquierda) y de fluorescencia (derecha) de **L1** en THF a una concentración de 3.3×10^{-4} M.

Debido a que **L1** en THF muestra una coordinación para más de un metal se investigó el comportamiento de **L1** en DMSO. A diferencia de las pruebas antes realizadas en THF, las efectuadas en DMSO bajo las mismas condiciones experimentales mostraron un cambio de color visible a simple vista con una buena estabilidad debido a las diferencias en las constantes dieléctricas que tiene el THF y el DMSO. Recordemos que los cambios en el máximo de absorción y la estabilidad de los estados base y excitados se deben a las variaciones en el entorno dieléctrico de la molécula de prueba. En este caso hay cambio en la constante dieléctrica de $\epsilon = 7.52$ a $\epsilon = 46.68$, al pasar de THF a DMSO, así mismo de la polaridad lo que indica que la molécula **L1** es más estable conforme se aumenta la polaridad o la constante dieléctrica del disolvente. Es decir, las propiedades de **L1** dependen de la polaridad del disolvente y sugiere que DMSO es el mejor disolvente para que **L1** sea empleado como sensor de iones metálicos.

Los experimentos de detección de iones metálicos usando soluciones de **L1** en DMSO se desarrollaron mezclando dichas soluciones con muestras de agua conteniendo iones metálicos a una razón 1:1, ambos a una concentración de 3.6×10^{-5} M, en un pH=7. Después de mezclar **L1** con cada uno de los metales, inmediatamente se detectó un cambio de color a simple vista el cual fue cuantificado por espectroscopía de absorción UV-Vis. Antes de evaluar las propiedades de sensado de **L1** por espectroscopía, se analizó la estabilidad de **L1** en la mezcla DMSO/H₂O a una razón volumétrica de 1:1. En la Figura 4.5 se muestra que el pico de absorción de **L1** se localiza en 405 nm en esta mezcla, mostrando un desplazamiento hacia el azul de 30 nm con respecto a cuándo **L1** está solo en DMSO (435 nm). Se sabe que las iminas en solución acuosa se someten a un efecto de hidrólisis, sin embargo nuestro resultado mostró que **L1** es estable por 30 min en dicha mezcla de DMSO/H₂O, ver Figura 4.6.

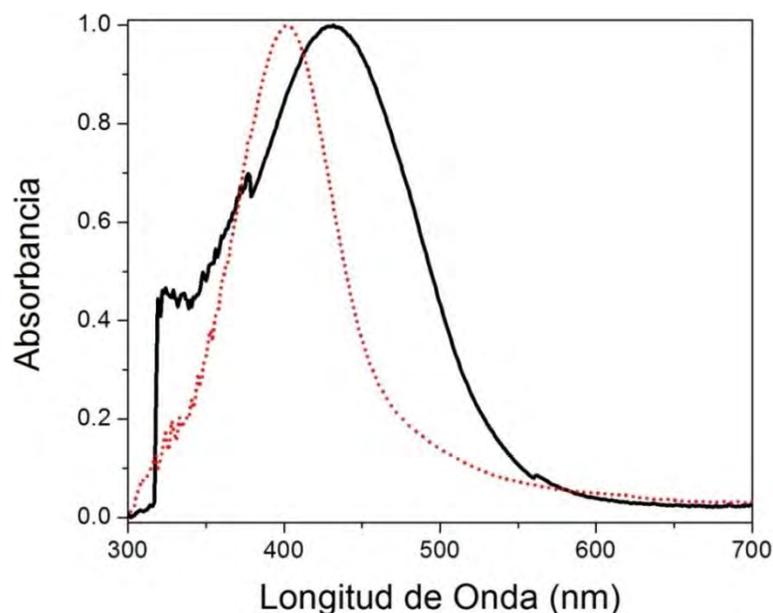


Figura 4.5. Curva de absorción de **L1** en DMSO (línea continua) y en DMSO/H₂O a una razón 1:1 (línea discontinua).

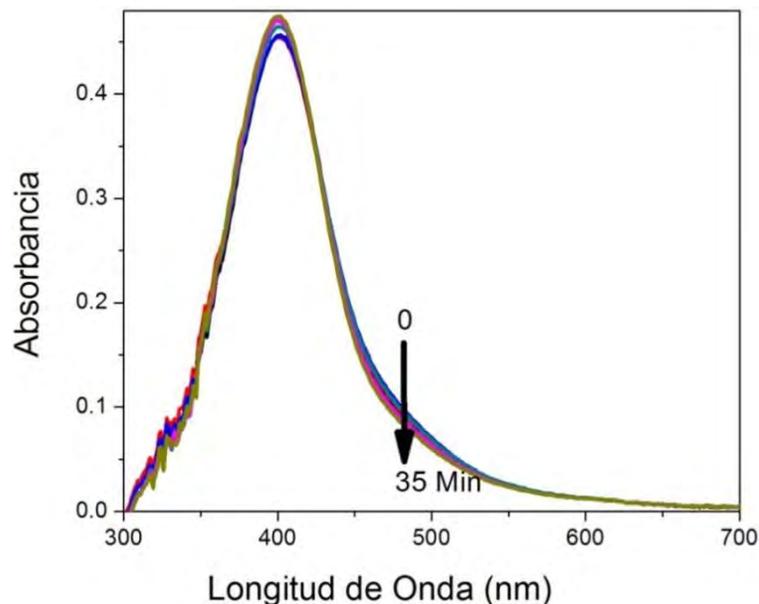


Figura 4.6. Curva de absorción de **L1** en DMSO/H₂O a una razón 1:1 a diferentes tiempos.

Una vez que se caracterizó el efecto de mezclar agua y soluciones de **L1** en DMSO se procedió a estudiar los cambios colorimétricos de **L1** cuando está en contacto con los iones metálicos en agua. Dicha molécula presentó un efecto colorimétrico ante la presencia de iones de níquel, pues sufrió un cambio de color de amarillo a naranja percibido a simple vista, siendo estable por un tiempo de aproximadamente 53 min. Por otro lado, en las pruebas en las que se utilizó Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} y Pb^{2+} no se observó cambio colorimétrico apreciable con respecto a la muestra de **L1** en DMSO/H₂O, aunque Hg^{2+} causó un ligero cambio de color. En la Figura 4.7 se muestra la fotografía de cada uno de los ensayos con la finalidad de corroborar el cambio de color perceptible al ojo humano de la molécula **L1** en presencia de varios iones metálicos.

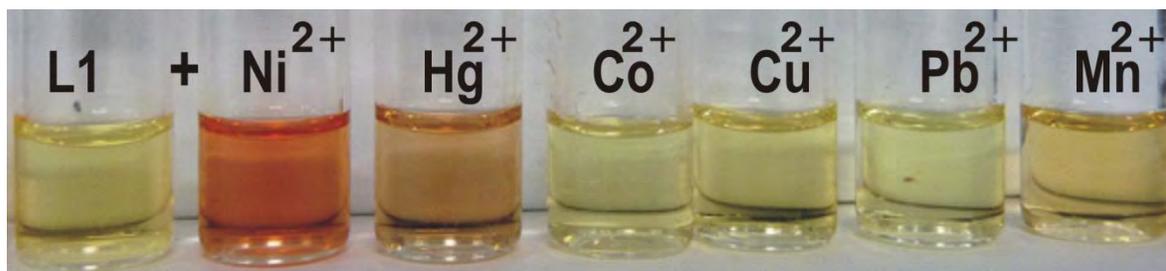


Figura 4.7. Mezclas de la imina **L1** en DMSO y agua destilada conteniendo diferentes iones metálicos. Las soluciones de **L1** y de cada ion metálico están a una concentración de $3.6 \times 10^{-5}M$, la razón de la mezcla a una equivalencia 1:1 a un pH de 7.

El procedimiento consistió en mezclar una solución de **L1** en DMSO a $3.6 \times 10^{-5} M$ con una solución acuosa de metal con un pH de 7. Este procedimiento se utilizó en todos los experimentos desarrollados. Nuestros resultados mostraron que **L1** exhibe una selectividad para níquel en agua a una concentración equimolar, ver Figura 4.8. De la figura se observa que la mezcla **L1-Ni²⁺** causó un desplazamiento del pico máximo de absorción de 75 nm (máximo de absorción en 480 nm) hacia el infrarrojo con respecto a la banda de transferencia de carga intramolecular de **L1** en DMSO/H₂O. Este cambio de color se dio en el instante que las soluciones estuvieron en contacto. **L1** mostró un cambio en el espectro de absorción también en presencia de mercurio, pero no tan intensa como en caso del níquel y con un corrimiento en la banda de absorción de 20 nm indicando una interacción débil entre el metal y el ligando. Estos desplazamientos en la banda de absorción son promovidos por la modificación de los procesos ITC en el sistema principal π^* debido a la coordinación ($N \rightarrow M^{2+}$), con un fuerte enlace hacia Ni^{2+} y menos hacia Hg^{2+} . Es importante señalar que el enlace entre **L1** y Hg^{2+} no fue estable, ya que se rompía fácilmente lo cual se observa por una pérdida del efecto colorimétrico después de unos cuantos minutos, como se discute en la siguiente sección. Finalmente, para los otros metales como Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} y Pb^{2+} no se observó ningún cambio significativo en los espectros de absorción.

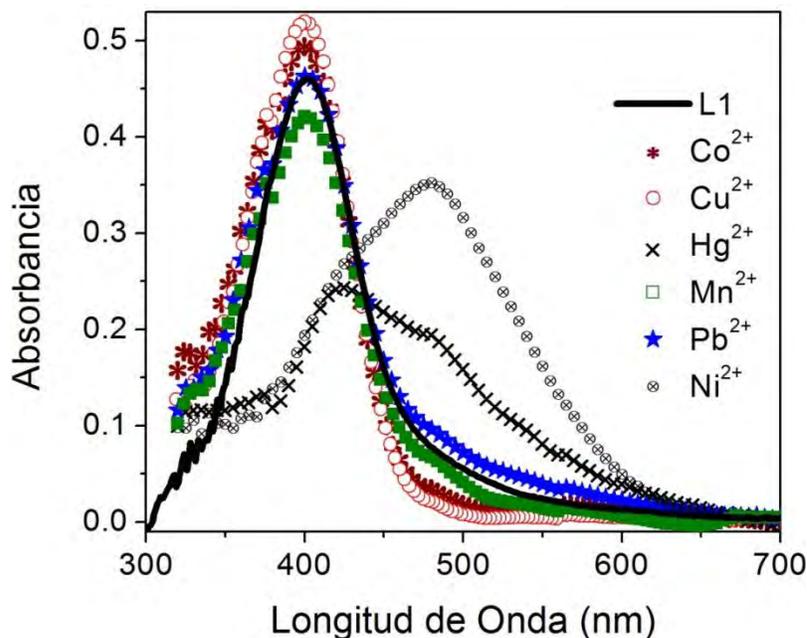


Figura 4.8. Pruebas de selectividad del sensor **L1** en DMSO mezclado con agua conteniendo diferentes iones metálicos a una razón equimolar 1:1

4.2.1 Selectividad de L1 hacia níquel

Debido a que **L1** mostró cierta capacidad para formar enlaces con mercurio, se procedió a monitorear el tiempo de estabilidad de dichos enlaces una vez formado el complejo, es decir una vez que se haya mezclado **L1** con el metal. La Figura 4.9a presenta la banda de absorción a 480 nm como una función del tiempo para las diferentes mezclas **L1**+ M^{2+} . De esta figura se puede observar que la propiedad colorimétrica del complejo **L1**+ Ni^{2+} es estable en el tiempo, mientras que los cambios colorimétricos de **L1**+ Hg^{2+} se degradan rápidamente y desaparece completamente después de unos cuantos minutos indicando una baja estabilidad del complejo. En la Figura 4.9b y 4.9c se muestran los espectros de absorción como función del tiempo para la interacción **L1** con Ni^{2+} y Hg^{2+} , respectivamente. Con la idea de analizar la funcionalidad de **L1** en el campo real, es decir fuera del laboratorio, se prepararon muestras de iones metálicos con agua potable regulada por la norma oficial

Mexicana [96]. Usando agua potable (disponible en el grifo del laboratorio) el funcionamiento de **L1** fue el mismo que con agua destilada. Esta característica del funcionamiento de **L1** en agua es importante resaltarla, ya que otros sensores reportados para la detección de níquel son directamente examinados en el mismo solvente y no en agua [7, 9, 11-14, 16, 97].

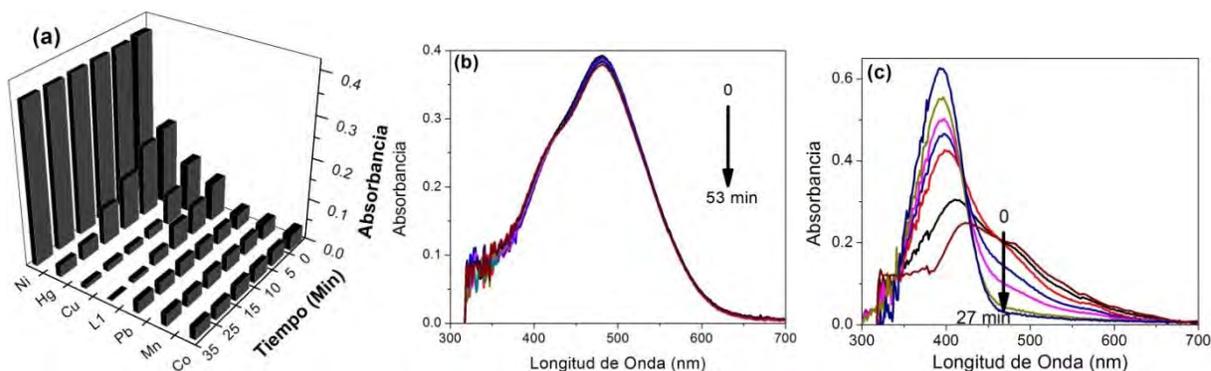


Figura 4.9 a) *Análisis de estabilidad de la banda de absorción a 480 nm del sensor **L1** ante la presencia de una equivalencia de varios metales. Intensidad de la banda de absorción para el complejo b) **L1**+Ni²⁺ y c) **L1**+Hg²⁺ a diferentes tiempos, en solución de DMSO/H₂O (1:1, v/v) a 3.6×10^{-5} M y un pH de 7 de la solución metálica.*

Para determinar la utilidad de **L1** como sensor selectivo, se estudiaron los efectos de interferencia, es decir, si aun en presencia de otros metales la molécula **L1** preserva la selectividad observada hacia níquel. Para este estudio, a la solución de la molécula **L1** en DMSO se le agregó agua contaminada de Ni²⁺ y simultáneamente otro metal a la misma equivalencia 1:1. La Figura 4.10 muestra los valores de la banda de absorción a 480 nm de cada combinación. La intensidad de la banda de absorción del complejo **L1**+Ni²⁺ no sufrió un cambio significativo ante la presencia de otro ion incluyendo Hg²⁺. Esta característica representa una ventaja significativa en comparación con otros sensores reportados, los cuales muestran

menos selectividad ante Ni^{2+} e interferencia en presencia de Hg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Ag^{2+} , Fe^{2+} y Pb^{2+} [7, 10-12, 14, 17, 98].

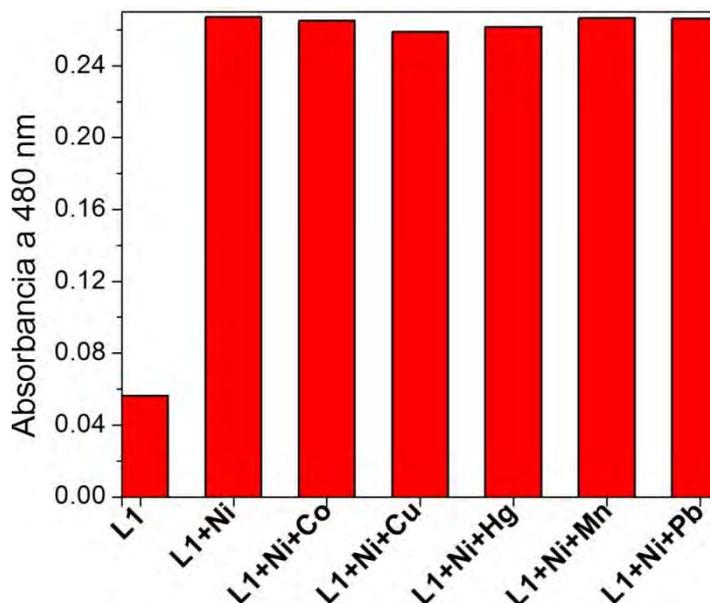


Figura 4.10 Absorción de **L1** a 480 nm en presencia de níquel (1 equivalencia) y simultáneamente con la presencia de Hg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} y Pb^{2+} (1 equivalencia) en solución de $\text{DMSO}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) a $3.6 \times 10^{-5} \text{ M}$ en un pH de 7.

En la práctica, el análisis de agua de algún río y/o alguna planta purificadora de agua representa el reto de que más de dos iones metálicos pueden estar presentes, por lo que es necesario estudiar la capacidad de **L1** para detectar Ni^{2+} ante la presencia de una mezcla de iones metálicos. Para este análisis la solución de **L1** en DMSO fue mezclada con soluciones acuosas de iones metálicos de acuerdo a los siguientes procedimientos A, B y C. En el procedimiento A, el sensor fue mezclado con todos los metales excepto mercurio y níquel. En B el sensor fue mezclado con todos los metales excepto níquel y en C el sensor fue mezclado con todos los metales estudiados incluyendo Ni^{2+} . La Figura 4.11 muestra el espectro de absorción obtenido de las soluciones de A, B y C. En A la curva de absorción

muestra un cambio mínimo comparado con el observado de la solución de **L1**, indicando que Cu^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} y Pb^{2+} no tienen interacción con el sensor. En B el espectro de absorción a 407 nm mostró un pequeño desplazamiento batocrómico con la aparición de un hombro a 477 nm, indicando una interacción débil de **L1** con Hg^{2+} . En el caso cuando la solución contiene níquel junto con el resto de los metales (procedimiento C) la curva de absorción mostró un pico máximo a 480 nm, el cual es la curva característica del complejo **L1+Ni²⁺**. De acuerdo a este resultado podemos decir que **L1** es altamente selectivo ya que es capaz de detectar iones de níquel en solución acuosa en presencia simultánea de otros metales, incluyendo mercurio. Así mismo en la Figura 4.11 se presenta una fotografía de las diferentes mezclas de sensor-metal, mostrando que se puede detectar níquel a simple vista.

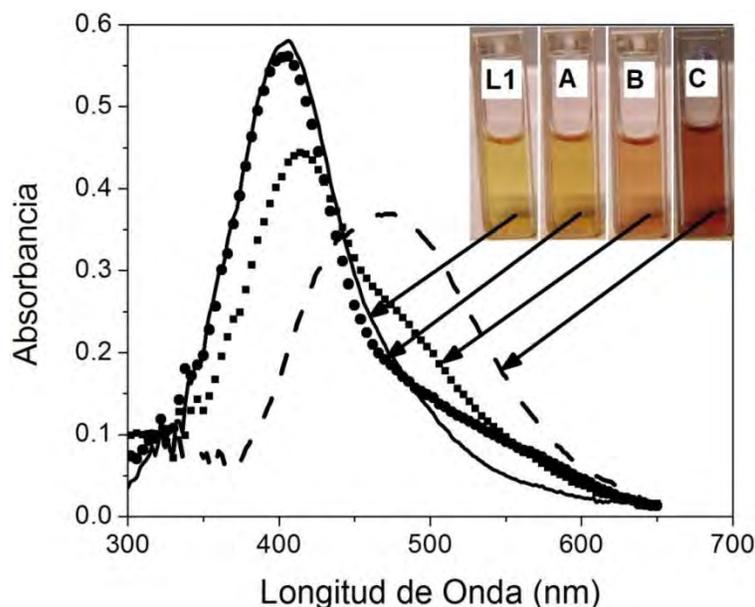


Figura 4.11 Espectro de absorción de L1 en DMSO/H₂O; A: L1+ Cu^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} y Pb^{2+} ; B: L1+ Cu^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} y Hg^{2+} ; C: L1+ Cu^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} y Ni^{2+} . Todos los metales se encuentran a 1 equivalencia con respecto a **L1** a la concentración de 3.6×10^{-5} M en un pH de 7. Inset: Fotografía de cada mezcla.

4.2.2 Estudio de sensibilidad y procesos estequiométricos de L1

Otra de las características importantes de un sensor es la sensibilidad, parámetro relacionado al límite de detección L_D más bajo que el sensor puede identificar, es decir, la cantidad mínima de analito a la cual el sensor es sensible, ya sea por el método colorimétrico o espectroscópico. El estudio de sensibilidad del sensor **L1** se desarrolló analizando la curva de absorción de **L1** en DMSO con diferentes concentraciones (titulación) de soluciones acuosas de Ni^{2+} . En la Figura 4.12a se muestra los cambios en la banda de absorción de **L1** promovido por la adición de agua con diferentes concentraciones de Ni^{2+} . Un aumento en la concentración de Ni^{2+} conduce a una disminución en la absorbancia a 405 nm y a su vez produce una nueva banda de absorción a 480 nm debido a la formación del complejo **L1**+ Ni^{2+} . La presencia de un punto isobéptico a 430 nm indica que las especies **L1** y **L1**+ Ni^{2+} están en equilibrio durante los procesos de titulación. Dicho punto isobéptico no se observó cuando la concentración de mercurio fue aumentada, indicando nuevamente que esta coordinación no es estable, ver Figura 4.12b. Sin embargo, la curva de absorción no mostró cambios significativos para concentraciones de níquel mayores a una equivalencia. Con la idea de visualizar mejor los cambios en la intensidad de absorción como una función de la concentración de Ni^{2+} se calculó el parámetro A_N/A_M , donde A_N es la absorción de **L1** a diferentes concentraciones de Ni^{2+} y A_M es la absorción máxima de **L1**+ Ni^{2+} a la equivalencia 1:1, ambos a 480 nm. Con este parámetro la formación estequiométrica fue claramente determinada en una razón 1:1 del complejo metal:ligante, ver Figura 4.13, en esta misma figura se muestra la estructura química propuesta para la coordinación de **L1**+ Ni^{2+} .

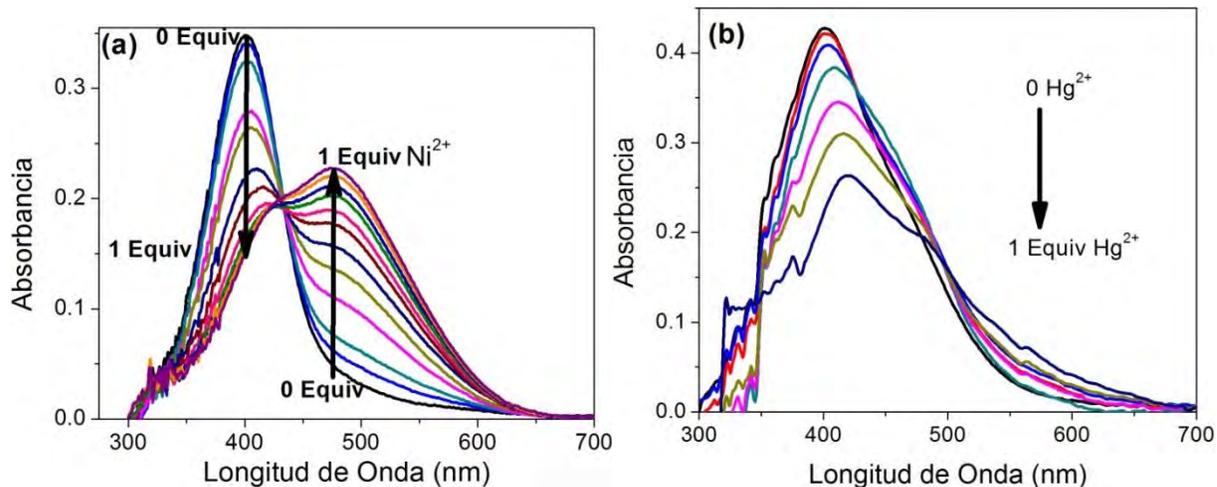


Figura 4.12. Espectro de absorción obtenido durante la titulación de a) L1 con Ni^{2+} . b) L1 con Hg^{2+} . En ambos casos L1 está en DMSO y los iones metálicos en H_2O .

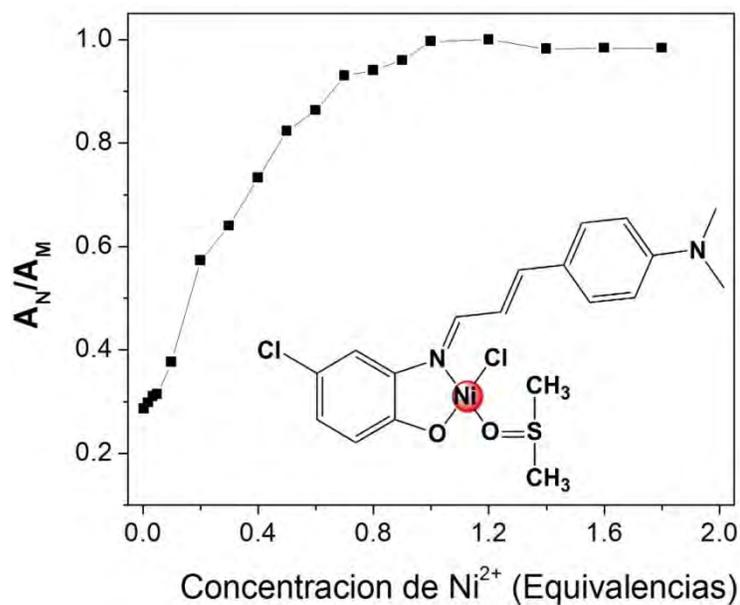


Figura 4.13 Formación estequiométrica del complejo $\text{L1} + \text{Ni}^{2+}$; inset: estructura química propuesta del complejo formado al coordinarse L1 con Ni^{2+} .

El límite de detección del sensor **L1** se calculó de la titulación cuando la concentración del metal se varió de 0.005 a 0.05 (Figura 4.13). El primer cambio significativo de la curva de absorción se dio a una equivalencia de 0.005. Este límite de detección espectroscópico corresponde a una concentración de 1×10^{-7} M. Este valor es alrededor de dos órdenes de magnitud más bajo que el nivel de contaminación permitido por la agencia de protección ambiental americana (EPA, the American Environmental Protection Agency), cuyo límite permitido para el níquel en el agua es de 1.7×10^{-5} M [99]. Jiang utilizó un sensor colorimétrico derivado de comarina y demostró un límite de detección de 5×10^{-7} M, sin embargo, el proceso de detección de iones fue desarrollado en metanol puro [72]. Igualmente, uno de los mejores límites de detección (1.2×10^{-7} M) fue reportado por Hu et. al con sensores fluorescentes derivados de Pd-porfirina, solo que en este caso el sensor presenta interferencia con cobre y cobalto, siendo estos metales los que comúnmente presentan interferencia con níquel [16]. Bases de Schiff han sido empleadas también en métodos potenciométricos por medio de una matriz polimérica mostrando buena sensibilidad de 3×10^{-7} M en un medio no acuoso [17]. Finalmente se puede decir que nuestro sensor puede detectar níquel colorimétricamente y muestra un cambio de color a simple vista a partir de una concentración de 5.4×10^{-6} M.

La constante de enlace (K_a) de **L1** con Ni^{2+} fue determinada durante los experimentos de titulación mediante la ec. 3.1 a 480 nm. La constante de enlace K_a fue de $1.29 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ con una relación lineal de $R=0.98$ y un modo de enlace 1:1. Este valor de la constante de enlace es comparable a los reportados recientemente para los sensores colorimétricos de Ni^{2+} derivados de comarina y de la base Schiff cuyos valores están en el intervalo de $2.3\text{-}2.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ [15, 72], sin embargo, en el último ejemplo no es claro si el proceso de detección es desarrollado en agua, mientras que en nuestro caso **L1** puede detectar níquel en agua. La tabla 4.2 presenta un resumen de las propiedades de **L1** comparado con otros sensores colorimétricos y fluorescentes reportados recientemente, en términos del límite de

detección, medio de detección, interferencia con otros metales, diferente pH y la constante de enlace.

Tabla 4.2 Comparación de **L1** con otros sensores químicos colorimétricos y fluorescentes de Ni^{2+} . **Derivado:** familia a la que pertenece el sensor químico-óptico, **MT:** método, **LD:** límite de detección, **MD:** medio de detección, **pH:** rango de pH en el cual el sensor es estable, **MI:** metal de interferencia, **CI:** colorimétrico, **FI:** fluorescente, K_a = constante de enlace

Derivado	MT	L_D	MD	K_a	pH	MI	Ref.
Benzothiadiazoyl-triazol	CI y FI		CH ₃ CN	2.88×10^7		Cu, Co, Hg	[7]
Pd porfirina	CI y FI	1.2×10^{-7}	H ₂ O		4.7-7.5	Co, Cu	[16]
Coumarina base Schiff	CI		CH ₃ CN	2.9×10^4			[15]
Dipyrrolyl	FI		CH ₃ CN	11×10^5			[13]
Coumarina	CI	5×10^{-7}	Etanol	2.34×10^4			[72]
Quinoxalina	CI	1.47×10^{-6}	CH ₃ CN-HEPES		7.4		[76]
Glutación-Ag Nps	CI	7.5×10^{-5}	H ₂ O		3-12	Co	[100]
Base Schiff	CI	1×10^{-7}	H ₂ O	1.29×10^5	5.5-8		L1

5. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE UN SENSOR COLORIMÉTRICO PARA COBRE BASADO EN LA BASE DE SCHIFF **S1**

En este capítulo se presentan los resultados del sensor de Cu^{2+} derivado de la base Schiff **S1**. Para este estudio, primero se aborda el comportamiento de **S1** en diferentes disolventes, con la idea encontrar el mejor disolvente que favorezcan las propiedades de **S1** como sensor. Se encontró que **S1** en ACN es capaz de detectar Cu^{2+} en agua con una sensibilidad del orden de 10^{-7} M, siempre y cuando se mantenga la proporción del 10:1 entre ACN y agua.

5.1 Propiedades de **S1** como sensor en diferentes disolventes

Para los experimentos de sensado usando el ligante **S1**, ver la estructura en Figura 5.1, se prepararon soluciones de iones metálicos en agua destilada a una concentración de 3×10^{-3} M en un pH de 7 y posteriormente se diluyó hasta alcanzar la concentración deseada. **S1** tiene la ventaja de ser soluble en disolventes miscibles con el agua, como por ejemplo: ACN, DMSO y MeOH. Con la idea de encontrar el mejor comportamiento del ligante **S1** como sensor de iones metálicos, se procedió a investigar soluciones de esta imina en diferentes disolventes miscibles con el agua. Debido a que cada disolvente tiene una constante dieléctrica y polaridad característica, el comportamiento de **S1** ante diferentes iones metálicos dependerá del disolvente en el que se encuentre. Para establecer el medio en el que **S1** tiende a formar enlaces con un ion metálico se analizó la curva de absorción de **S1** en solución en diferentes disolventes a una concentración de 2.5×10^{-5} M. Para cada disolvente se analizó la formación del complejo metálico al agregar a la solución de **S1** una cantidad de metal bajo estudio disuelto ya sea en agua o en una mezcla disolvente/ H_2O a la razón 2:1. El primer análisis consistió en disolver **S1** en un medio altamente polar como DMSO y los iones metálicos en DMSO/ H_2O (2:1, v/v). De la

Figura 5.2a se puede observar que **S1** en DMSO muestra un máximo de absorción en 404 nm y al agregar iones metálicos (también disueltos en DMSO) hay un desplazamiento batocrómico, efecto causado por los cromóforos de la molécula coordinados con iones de Cu^{2+} con interferencia de Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} y Pb^{2+} . Por otra parte, cuando el metal está en una mezcla de DMSO/ H_2O , **S1** muestra selectividad hacia Mn^{2+} en interferencia con Ni^{2+} y Co^{2+} , ver Figura 5.2b. Se tiene entonces que **S1** al estar disuelto en DMSO es capaz de formar complejos con más de un metal. Cuando **S1** fue disuelto en un disolvente polar prótico como MeOH forma complejos con los iones Zn^{2+} , Co^{2+} y Ni^{2+} cuando los metales están en MeOH y con Mn^{2+} , Co^{2+} y Ni^{2+} cuando estos iones están en la mezcla MeOH/ H_2O , ver Figura 5.3. Una vez que se descartó el MeOH como disolvente para **S1** a causa de que los resultados no son satisfactorios (pues no forma complejos con iones de cobre, que es el metal que se quiere detectar) se propuso investigar su comportamiento en ACN. A diferencia de las otras pruebas antes realizadas, las efectuadas en ACN bajo las mismas condiciones experimentales mostraron cambio de color a simple vista cuando a la solución de **S1** se agregó Cu^{2+} disuelto en una mezcla ACN/ H_2O . Se encontró que **S1** es altamente selectivo hacia los iones de Cu^{2+} cuando estos últimos están disueltos en una mezcla de ACN/agua a una razón volumétrica de 4:1, con una muy ligera interferencia de Mn^{2+} y en mucha menor medida de Ni^{2+} . Para este efecto colorimétrico ver Figura 5.4. Este resultado es interesante para la finalidad de este trabajo donde se busca un sensor de Cu^{2+} , que sea empleado fácilmente sin la necesidad de utilizar algún equipo óptico costoso para llevar a cabo la detección de la señal del sensor.

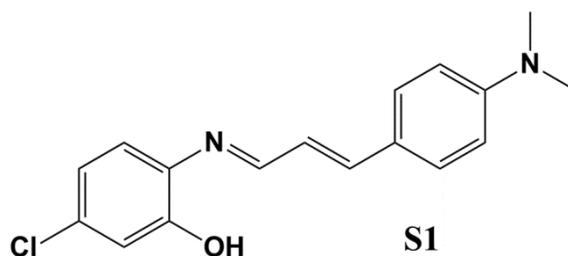


Figura 5.1. Estructura química de **S1**

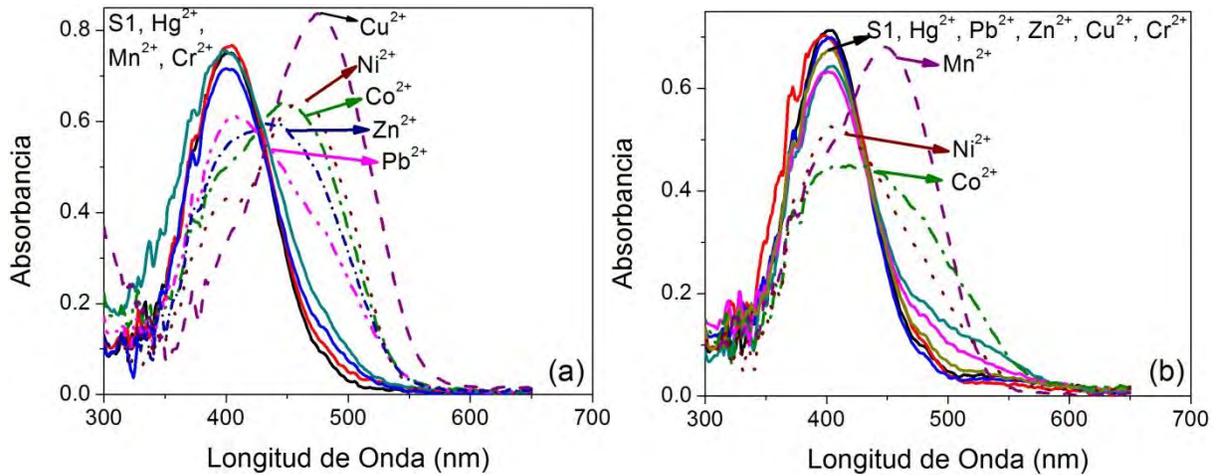


Figura 5.2. Espectro de absorción de **S1+Metales²⁺**, **S1** fue disuelta en DMSO. a) Los iones metálicos son disueltos en DMSO, b) Los iones metálicos están en una mezcla de DMSO/H₂O (2:1, v/v), en ambos casos a una concentración de $2.5 \times 10^{-5} M$.

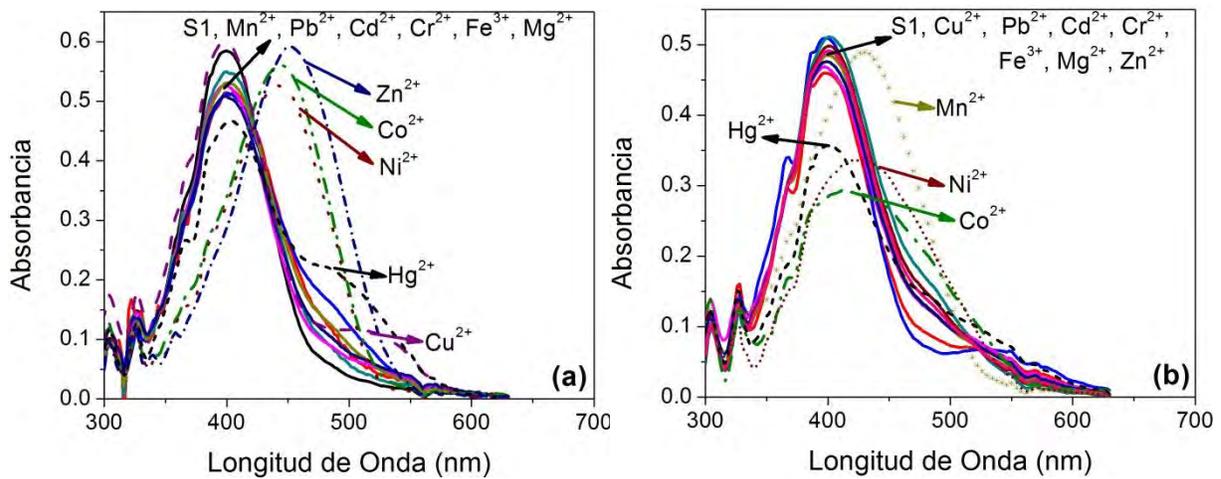


Figura 5.3. Espectros de absorción **S1+Metales²⁺**, **S1** fue disuelta en MeOH. a) Los iones metálicos son disueltos en MeOH, b) Los iones metálicos están en una mezcla de MeOH/H₂O (2:1, v/v), en ambos casos a una concentración de $2.5 \times 10^{-5} M$.



Figura 5.4. Fotografía de mezclas de soluciones de **S1** en ACN y diferentes iones metálicos disueltos en ACN/H₂O (4:1, v/v). Tanto **S1** y los iones metálicos están a la concentración de 2.5×10^{-5} .

Tal y como se había anticipado en la sección introductoria de este trabajo, las propiedades de los sensores químico-ópticos dependen fuertemente del entorno en el que se encuentran (polaridad del solvente); en nuestro caso, el uso de ACN favorece que **S1** forme complejos metálicos de manera selectiva con cobre.

Una vez que se estableció que el disolvente ACN es el mejor medio en el que la imina **S1** presenta las mejores propiedades como sensor de cobre, se analizó su estabilidad. Los resultados obtenidos en las pruebas realizadas por espectroscopía de absorción mostraron un máximo de absorción del ligante **S1** en ACN a 407 nm y una estabilidad por más de 22 horas, ver Figura 5.5. Este pico de absorción es asignado a una banda de energía baja producida por una transferencia de carga intramolecular debido a que **S1** muestra un desplazamiento batocrómico en disolventes de polaridad diferente. La existencia ICT para iminas es también sugerido por otros derivados de base Schiff que presentaron propiedad de solvatocromismo y por estudios computacionales [35, 78, 86-87].

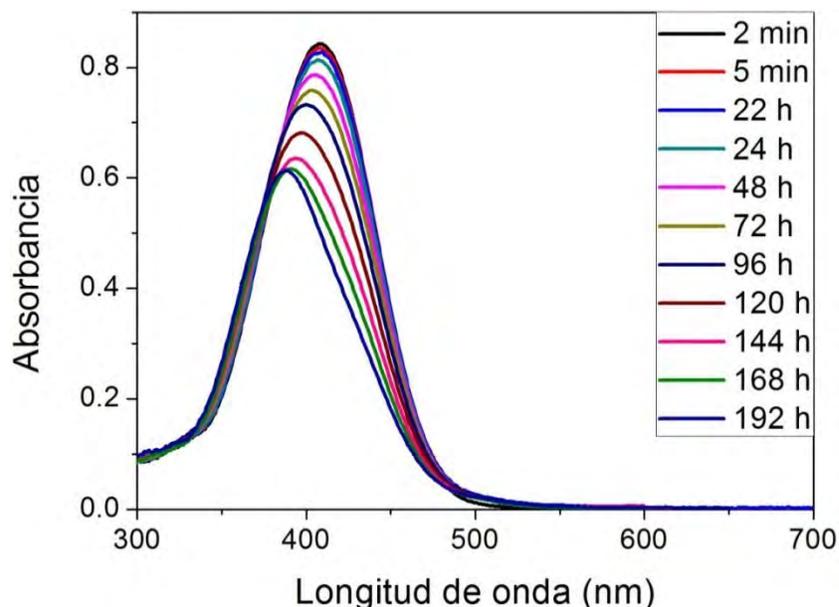


Figura 5.5. Análisis de la estabilidad de **S1** en ACN mediante el espectro de absorción a una concentración de 2.5×10^{-5} M.

Una característica de las bases Schiff es poder exhibir hidrólisis ante el agua, por lo que se analizó el comportamiento de **S1** en una mezcla de ACN/H₂O. Este estudio consistió en medir las curvas de absorción de **S1** en ACN, ACN/H₂O a una razón 1:1 y en ACN/H₂O a razón de 10:1 en volumen. Como se puede ver de la Figura 5.6, **S1** sufre un cambio notable en su espectro de absorción al estar en una mezcla de ACN/H₂O a una proporción 1:1, pero el espectro permanece casi inalterado si la proporción es de 10:1. Nótese que en ambos casos la concentración de **S1** es la misma. Bajo estas condiciones (en una mezcla ACN/H₂O en proporción 10:1) y cuando el ligante se encuentra en contacto con los iones de Cu²⁺, se produce un cambio de color visible a simple vista de amarillo a rosa intenso. El efecto colorimétrico de **S1** en ACN después de agregar soluciones acuosas conteniendo iones de Cu²⁺ se muestra en la Figura 5.7. La figura muestra diferentes proporciones de ACN y H₂O en la mezcla final (10:1, v/v) que contiene a S1 y a los iones metálicos. Como se puede observar la intensidad de la absorbancia muestra ser

dependiente de las diferentes proporciones entre ACN y H₂O, mostrando una curva de absorción para el complejo metálico bien definida y muy intensa con un máximo de absorción en 530 nm para las proporciones 4:1, 8:1 y 10:2. Se considera que estas son las proporciones útiles para que **S1** funcione como sensor selectivo a cobre.

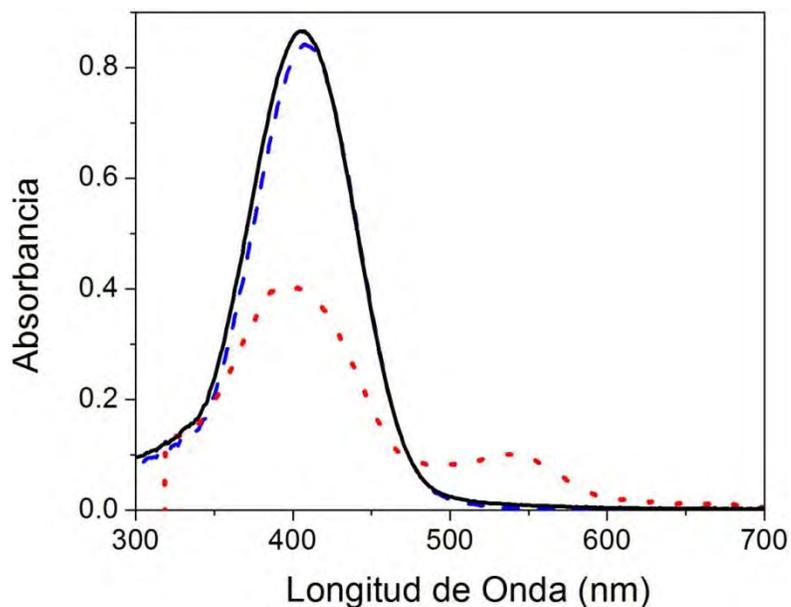


Figura 5.6. Curva de absorción de **S1** en ACN (línea continua), ACN/H₂O (1:1, v/v, línea punteada) y en ACN/H₂O (10:1, v/v, línea discontinua). En los tres casos la concentración es de 2.5×10^{-5} M.

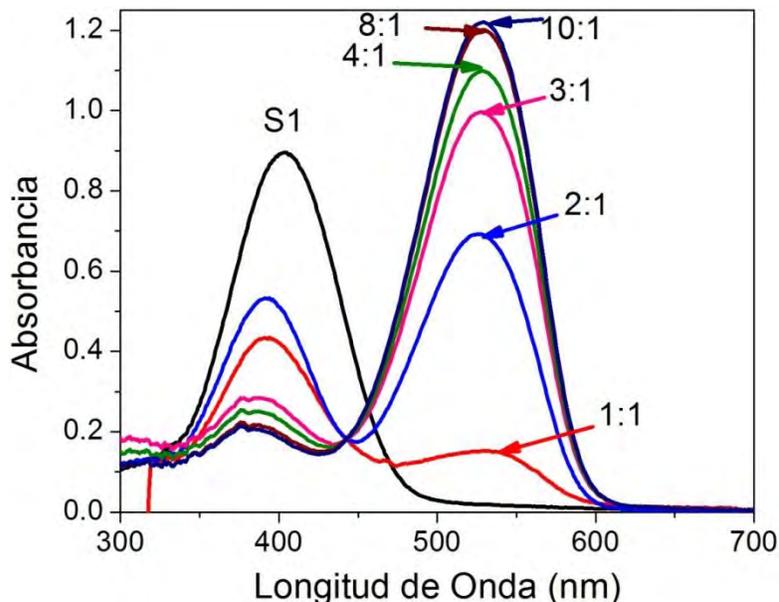
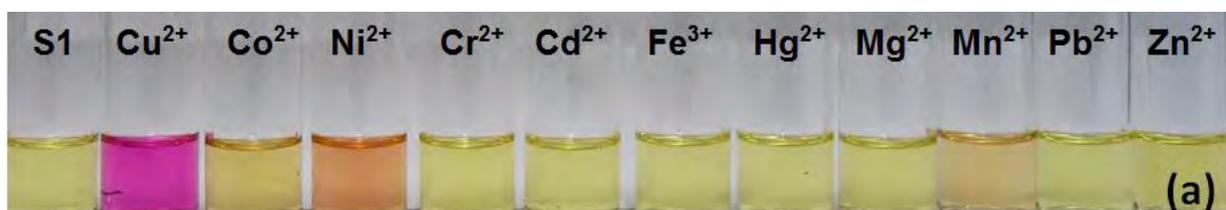


Figura 5.7 Espectro de absorción de **S1** en ACN después de agregar soluciones acuosas de Cu^{2+} . En cada caso son presentados diferentes proporciones de ACN/ H_2O . En todos los casos se mantuvo la concentración de $2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ tanto de **S1** como el de Cu^{2+} .

5.2 Propiedades de **S1** ante diferentes iones metálicos

Una vez que el efecto del agua en **S1** fue establecido y que se determinó que la mejor proporción ACN/ H_2O para evitar hidrólisis y maximizar la respuesta de **S1** como sensor es de 10:1, se procedió a estudiar los cambios colorimétricos cuando dicha molécula en ACN entra en contacto con diferentes iones metálicos disueltos en agua como son Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} . El procedimiento experimental para el reconocimiento metálico consistió en mezclar soluciones de **S1** en ACN con soluciones del metal en agua a analizar a la misma concentración de 1 equivalencia ($2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$). La razón del ACN y agua se mantuvo de 10:1. Este procedimiento se utilizó en todo el desarrollo experimental. La Figura 5.8a muestra los cambios colorimétricos observados en **S1** después de agregarle soluciones de los diferentes iones metálicos en agua. Nuestros resultados

claramente muestran que **S1** es selectivo a Cu^{2+} . La Figura 5.8b muestra que la interacción metal-ligante (**S1**+ Cu^{2+}) produce una nueva banda de absorción desplazada a 530 nm. Esta banda es desplazada hacia el infrarrojo aproximadamente 123 nm con respecto a la banda de la molécula **S1**, desplazamiento causado por la coordinada con el metal y que da origen al color rosa-violeta intenso de la solución, indicando el comportamiento de selectividad hacia el Cu^{2+} . Este cambio en la banda de absorción es asignado a la modificación de la ICT en el sistema π -electrónico de **S1** causado por la formación del enlace con el ion metálico [35]. **S1** también exhibió una interacción débil con Mn^{2+} , con una intensidad similar a la mostrada cuando la proporción ACN/ H_2O es de 4:1 (Ver Figura 5.4), mientras que para los otros metales como Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} el máximo de absorción de la curva a 407 nm se mantuvo sin ninguna modificación. Los resultados presentados en la Figura 5.8 usando agua destilada son reproducibles cuando los metales son disueltos usando agua de tubería. La fuerza iónica del agua usada es regulada por la norma oficial mexicana mostrando una variación de pH de 6.8-7[96].



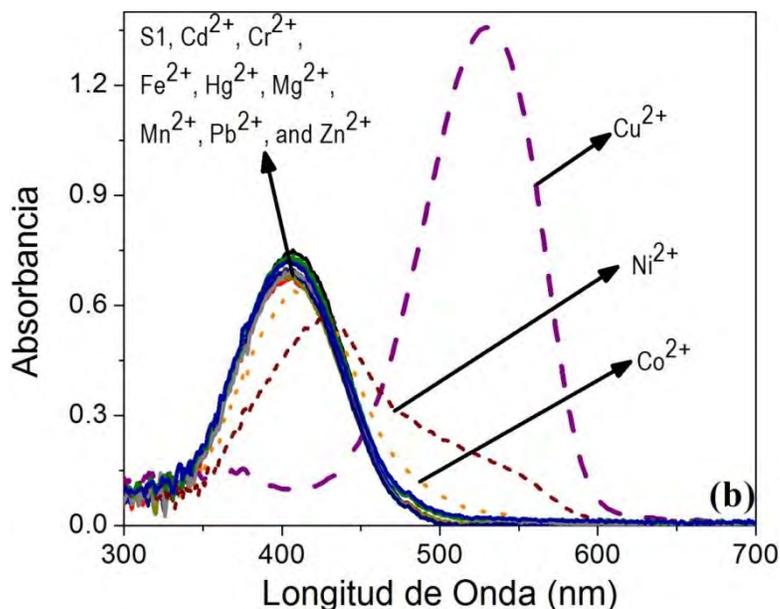


Figura 5.8. a) Fotografía y b) Curva de absorción de **S1** en ACN después de agregarle diferentes soluciones de iones metálicos. Todos los espectros corresponden a una mezcla de ACN/H₂O a una razón 10:1 en volumen y una concentración de 2.5×10^{-5} M de **S1** y metal (equivalencia 1:1).

Por otro lado, se puede observar que la solución que contiene 1 equivalencia de Ni²⁺ presenta un ligero cambio de color, así como la banda de absorción principal presenta un pequeño hombro y un desplazamiento de sólo 21 nm, indicando una interacción débil Ni²⁺-**S1**. Debe observarse que este cambio colorimétrico en la mezcla ACN/H₂O a una proporción 10:1, aunque débil, resultó ser más intenso respecto al caso de la proporción de 4:1. Con la finalidad de cuantificar el nivel de interferencia de Ni²⁺ en la detección de Cu²⁺, se desarrolló un experimento de titulación dejando fija la concentración de **S1** y aumentando la concentración de Ni²⁺. Como se muestra en la Figura 5.9a, la formación del complejo **S1**+Ni²⁺ no está en equilibrio, ya que no se observa un punto isobestico característico. En contraste, como se discutirá más adelante, la titulación de **S1** y Cu²⁺ si muestra un punto isobestico característico. Así mismo, se analizó la respuesta inducida por la

interacción de **S1**+Ni²⁺ como función de la concentración de **S1**, es decir se mantuvo fija la concentración de Ni²⁺ y se fue variando la concentración de **S1**. Como puede verse de la Figura 5.9b la interacción fue débil y sin cambio significativo en la estructura del espectro de absorción ya que solo cambio la amplitud de absorbancia.

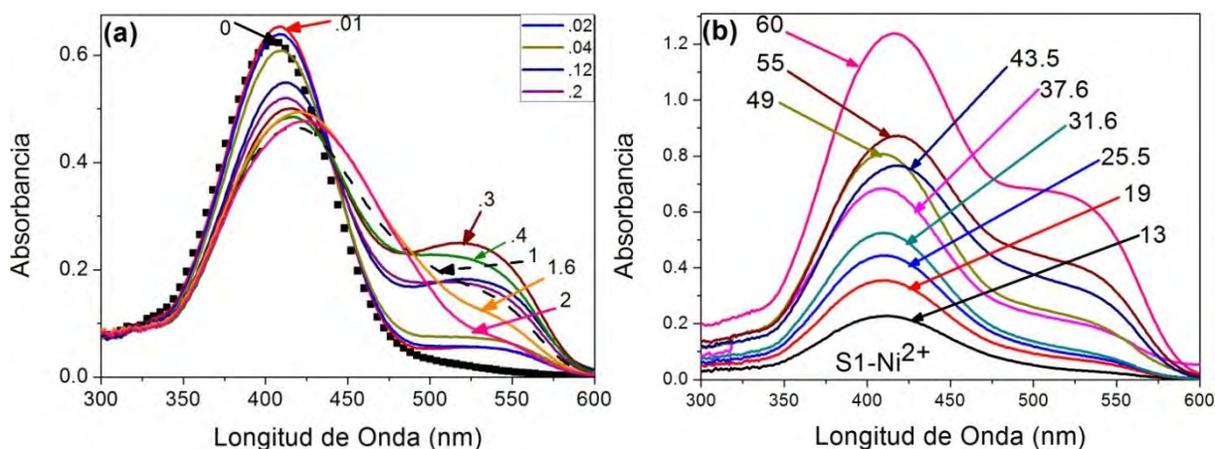


Figura 5.9. a) Titulación de **S1** en ACN después de agregarle soluciones acuosas de Ni²⁺. La concentración de **S1** fue de 2.5×10^{-5} M mientras el del níquel se fue variando en el intervalo de 0 – 2 equivalencias. b) Curva de absorción de **S1**+Ni²⁺ en donde se mantuvo la concentración de Ni²⁺ constante y las concentraciones del ligante se fue variando en el intervalo de 13-60 μM.

De acuerdo a lo anterior, se tiene entonces que **S1** reacciona fuertemente con Cu²⁺, con una pequeña interferencia de Ni²⁺. Nótese que la respuesta colorimétrica inducida por la interacción **S1**-Ni²⁺ es mucho más débil y diferenciada en color respecto a la observada para **S1**-Cu²⁺. Se analizó el tiempo de permanencia del color una vez que se mezcla el sensor con los iones metálicos, es decir, se analizó la estabilidad de los complejos formados **S1**-Cu²⁺ y **S1**-Ni²⁺. Dicho análisis se llevó a cabo mediante la medición de la curva de absorción a diferentes tiempos, donde ambos mostraron ser estables por varios minutos como puede observarse en la Figura 5.10.

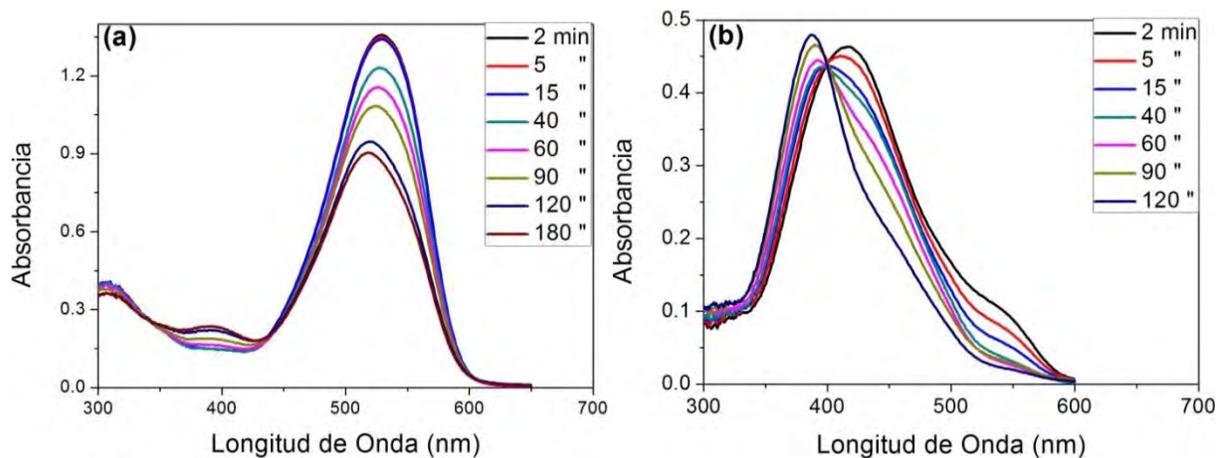


Figura 5.10. Espectro de absorción como función del tiempo para a) **S1+Cu²⁺** y b) **S1+Ni²⁺** en la mezcla de ACN/H₂O (10:1, %v/v), con una concentración de **S1** y de los metales de 2.5×10^{-5} M.

5.3 Propiedades de interferencia de iones metálicos ante la detección de Cu²⁺

Una vez que se estableció la afinidad de **S1** hacia Cu²⁺, se investigó el efecto de la presencia de múltiples iones en la detección de Cu²⁺; de especial interés es el análisis de la detección de Cu²⁺ ante la presencia de los metales que comúnmente causan interferencia. Para este análisis se midió la curva de absorción de muestras binarias entre Cu²⁺ y los otros metales en estudio. El experimento consistió en agregar a la solución de **S1** (en ACN), 1 equivalencia de Cu²⁺ y 2 equivalencias de los otros iones Cd²⁺, Cr²⁺, Fe³⁺, Mg²⁺, Pb²⁺, Co²⁺, Hg²⁺, Ni²⁺, Mn²⁺, o Zn²⁺ en ACN/H₂O. El comportamiento de estas combinaciones se muestran en la Figura 5.11, donde se comparan los valores de la absorción a 530 nm de la mezcla **S1+Cu²⁺** y de cada solución binaria, demostrando que la intensidad del complejo **S1+Cu²⁺** no es influenciado por la presencia de los otros iones mencionados. Estos resultados sugieren que **S1** es selectivo al cobre en presencia de cualquier otro metal, por lo que puede ser explotado como sensor colorimétrico para iones de Cu²⁺,

discriminando iones metálicos como son Ni^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{3+} o Zn^{2+} , que algunas veces dificultan la detección de Cu^{2+} como ha sido reportado por otros autores [23, 101-104].

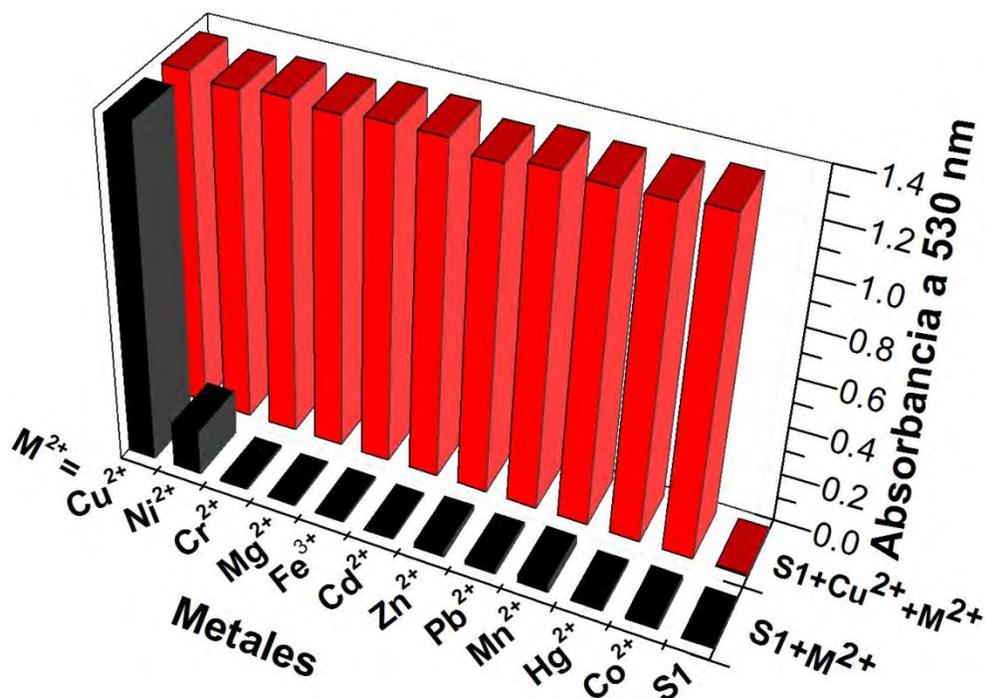


Figura 5.11. Absorbancia de **S1** (2.5×10^{-5} M) en presencia de Cu^{2+} (1 equivalencia) y de los iones Cd^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} o Zn^{2+} (2 equivalencias en cada caso) en solución de ACN/ H_2O (10:1, v/v).

En la práctica se puede presentar la situación de una muestra de agua a analizar que contiene simultáneamente múltiples iones metálicos, por lo que se realizaron las pruebas de selectividad del ligante **S1** hacia Cu^{2+} ante la presencia simultánea de todos los iones metálicos aquí estudiados. La Figura 5.12 muestra los espectros de absorción, así como fotografías, obtenidas de la mezcla de **S1** con todos los metales excepto Cu^{2+} (muestra A) y de **S1** mas todos los metales incluyendo Cu^{2+} (muestra B). Como puede observarse en dicha figura, la presencia

simultánea de Cd^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} y Zn^{2+} modifica muy ligeramente la curva de absorción de **S1**, indicando que la presencia simultánea de estos iones tiene una interacción insignificante con **S1**, mientras que en el caso cuando está presente el Cu^{2+} se observa la curva de absorción a 530 nm, característica de la coordinación de **S1** con Cu^{2+} . Esto confirma que **S1** es capaz de detectar selectivamente Cu^{2+} en soluciones de ACN/ H_2O incluso ante la presencia simultánea de otros metales.

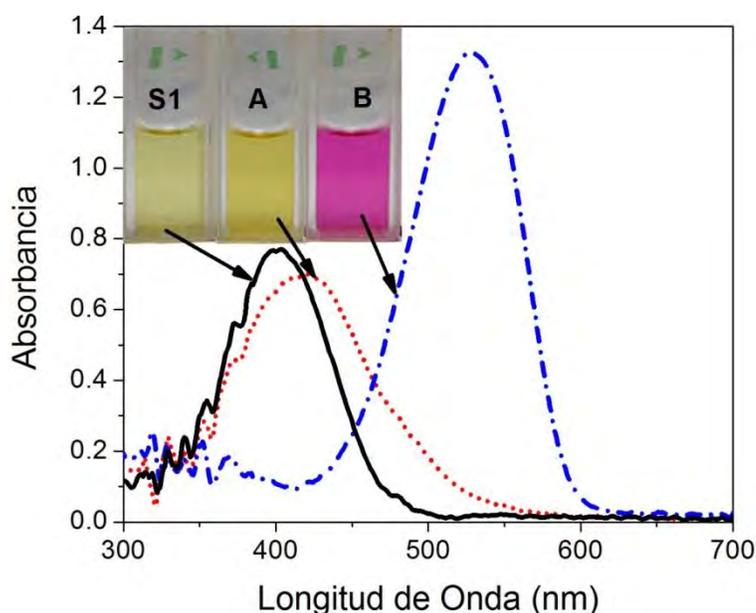


Figura 5.12. Absorbancia de **S1** en ACN/ H_2O . A: **S1** mezclado con los iones Cd^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} y Zn^{2+} ; B: **S1** mezclado con todos los metales de la muestra A más Cu^{2+} . Todos los metales a una equivalencia con respecto a **S1** (2.5×10^{-5} M).

5.4 Límite de detección del sensor **S1**

Otro parámetro de vital importancia es el límite de detección mínima L_D de **S1** para detectar Cu^{2+} . Para poder determinar la sensibilidad de la imina **S1** se realizó el experimento de titulación de **S1** en ACN con Cu^{2+} . La titulación se desarrolló en el

intervalo de .02-2 equivalencias de Cu^{2+} , ver Figura 5.13. Un incremento en la concentración de Cu^{2+} causó una reducción en la intensidad de la absorbancia a 407 nm y simultáneamente produjo la aparición de un máximo de absorción nuevo a 530 nm producido por la coordinación de **S1** con Cu^{2+} . La presencia de un punto isosbestico a 454 nm implica que las especies **S1** y **S1**+ Cu^{2+} están en equilibrio durante la titulación, a diferencia de la titulación entre **S1** y Ni^{2+} el cual no muestra un punto isosbestico como se puede ver en la Figura 5.9. La absorción de **S1**+ Cu^{2+} a 530 nm tiene un aumento rápido hasta que alcanzan las 0.2 equivalencias, a continuación, la absorción aumenta más lentamente hasta que alcanza un punto de estabilización para concentraciones superiores a 1 equivalencia. Debido a que el máximo de absorción se satura a una razón mayor a 1.2 equivalencias se propone una geometría de coordinación estequiométrica de 2:1, es decir, resulta un enlace entre un átomo de Cu^{2+} y dos de ligante, ver Figura 5.14. Se sugiere que en la formación del complejo **S1**+ Cu^{2+} , el metal es coordinado con los átomos de oxígeno de los grupos fenoles e iminas $\text{C}=\text{N}$ [34]. La habilidad de los enlaces de las iminas depende de la distribución electrónica sobre la cadena principal π , una distribución de densidad electrónica alta promueve que los átomos de oxígeno y nitrógeno se coordinen con los iones metálicos. La presencia de átomos de cloro en la estructura de **S1** ayuda a proporcionar una densidad electrónica alrededor de los átomos como oxígeno y nitrógeno.

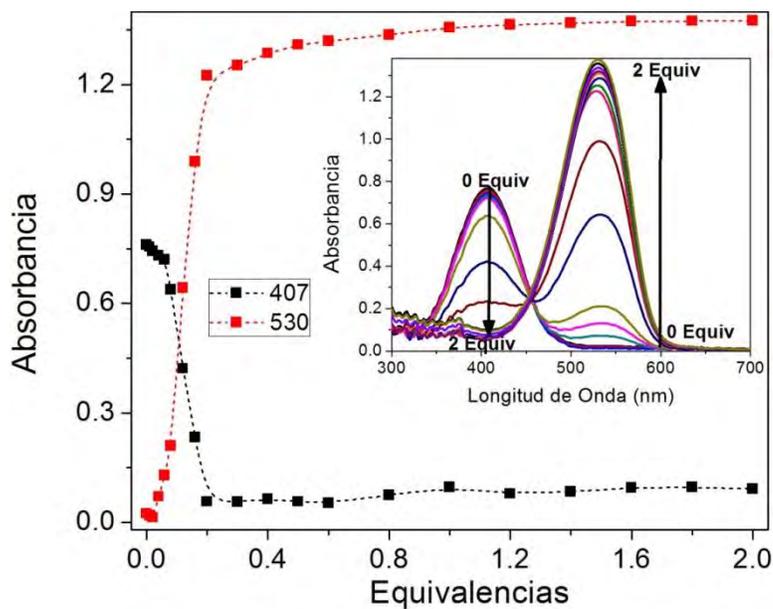


Figura 5.13. Absorbancia obtenida durante la titulación de **S1** con Cu^{2+} en $\text{ACN}/\text{H}_2\text{O}$ (10:1, v/v). **S1** a la concentración de 2.5×10^{-5} M.

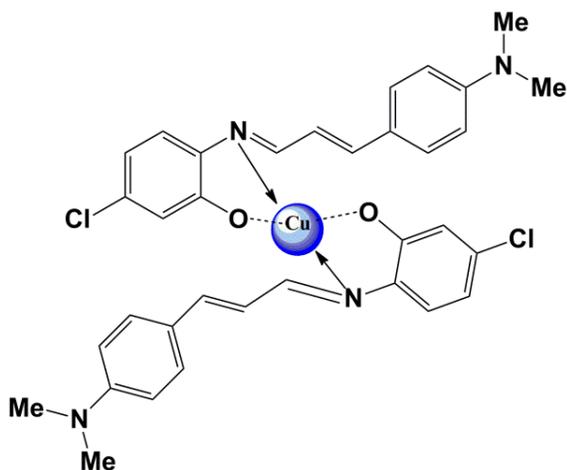


Figura 5.14. Geometría de coordinación entre **S1** y Cu^{2+} .

El límite de detección del sensor **S1** se calculó de la titulación cuando se observó el primer cambio en la banda de absorción, este cambio sucedió a una

concentración de $1.25 \times 10^{-7} \text{ M}$ ($0.125 \mu\text{M}$), el cual es un valor mucho más bajo que el límite permitido en el agua potable ($< 30 \mu\text{M}$) [25, 36, 105] y más bajo que la concentración promedio de cobre en el organismo humano ($15.7\text{-}23.6 \mu\text{M}$) [24, 63, 106]. El cambio de absorción fue visible claramente a simple vista. Por ejemplo, la solución incolora de **S1** se volvió inmediatamente a un color naranja claro tras la adición de $0.5 \mu\text{M}$ de Cu^{2+} mientras que a $1.9 \mu\text{M}$ cambió a rojizo, ver Figura 5.15, lo cual significa que el límite de detección de Cu^{2+} a simple vista (sin ayuda de instrumento) fue de aproximadamente $2 \mu\text{M}$. Nuevamente esta sensibilidad colorimétrica de $2 \mu\text{M}$ es más bajo que el nivel permitido por la EPA [99]. Con este método se observó que la tonalidad de coloración violeta es proporcional a la concentración del metal, es decir, a mayor concentración del metal se tiene una coloración más intensa, por esta razón es posible conocer la concentración de una muestra real contaminada con cobre por medio de métodos colorimétricos, debido a que hay mayor cantidad de ligante coordinado a Cu^{2+} provocando un aumento en la coloración de la solución. X. Wang et. al., utilizó un sensor colorimétrico y fluorescente derivado de hidrazina y demostró un límite de detección bajo de $2 \times 10^{-10} \text{ M}$, sin embargo, el proceso de detección presenta interferencia con Hg^{2+} [107]. Igualmente otro de los mejores límites de detección reportado fue de 20 ppb usando un derivado de quinoline-carbaldehído, solo que en este caso el sensor trabajo solo en ACN puro y presenta interferencia nuevamente con mercurio [108]. En relación a bases de Schiff, estos han sido empleadas en un medio acuoso (HEPES-ACN 9:1, v/v) con una sensibilidad de $10 \times 10^{-6} \text{ M}$, sin embargo, este sensor presenta interferencia con Zn^{2+} [87]. Finalmente podemos decir que nuestro sensor tiene la ventaja de detectar cobre a simple vista a partir de una concentración de $5.4 \times 10^{-6} \text{ M}$, lo cual lo hace competitivo con los sensores existentes. Para contextualizar este hecho de mejor manera, la tabla 5.1 muestra un cuadro comparativo de las propiedades de **S1** como sensor selectivo de cobre en medios acuosos con otros tipos de sensores para el mismo metal reportados recientemente.



Figura 5.15. Cambios colorimétricos en **S1** después de agregar diferentes concentraciones de Cu^{2+} . La concentración de izquierda a derecha es de 0, 0.5, 1, 1.9, 2.5, 6.4, 12 μM .

La constante de enlace k entre **S1** y el ion puede ser calculado del cambio observado en la curva de absorción a 530 nm durante los experimentos de titulación usando la ecuación de Benesi-Hildebrand [15]. El valor k_a resultó ser de $1.08 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ver Figura 5.16. Este valor es comparable con los sensores colorimétricos de Cu^{2+} reportados recientemente, por ejemplo, los derivados de diketopyrrolopyrrole alkyne y rodamina cuyos valores son de 10^4 y de $3.76 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, respectivamente [109, 110], sin embargo, en el primer ejemplo presenta interferencia con mercurio. De esto podemos concluir que el valor de k_a y el límite de detección exhibidos por **S1** están entre los valores más competitivos de los sensores de Cu^{2+} en medios acuosos reportados recientemente. Para contextualizar este hecho de mejor manera, la tabla 5.1 muestra un cuadro comparativo de las propiedades de **S1** como sensor selectivo de cobre en medios acuosos con otro tipo de sensores colorimétricos y fluorescentes para el mismo metal reportados recientemente. Los parámetros de comparación son: cromóforo empleado, método de detección, límite de detección, medio de detección y la constante de enlace.

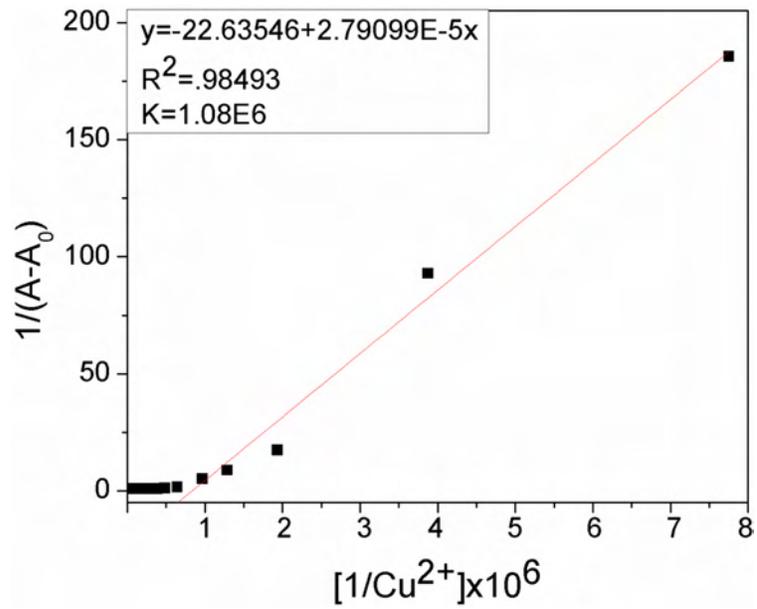


Figura 5.16. Análisis lineal de Benesi-Hildebrand de la dependencia de la concentración de Cu^{2+} con respecto a la absorción de **S1**.

Tabla 5.1. Características de sensores químicos de Cu²⁺ en medio acuoso reportados recientemente.

Estructura	Método	Disolvente (v/v)	k_a [M⁻¹]	L_D [M]	Ref.
Base Schiff	Color.	ACN/H ₂ O (90:10)	1.0×10^6	0.12 μ M	S1
Triazolyl monoazo	Color.	ACN/H ₂ O (9:1)	NA	13 μ M	[18]
Aminonaphtho-quinone	Color.	EtOH/H ₂ O (10:90)	1.6×10^4	NA	[22]
Fenol	Color.	DMSO/H ₂ O (8:2)	3.1×10^4	NA	[24]
Nitrofenil	Color.	DMSO/H ₂ O (9:1)	NA	0.10 μ M	[25]
Rodamina	Color.	MetOH/H ₂ O (30:70)	2.6×10^5	0.078 μ M	[35]
Fluoresceina	Color.	DMSO/H ₂ O (2% DMSO)	3.7×10^4	NA	[38]
Base Schiff	Color.	DMSO/H ₂ O (10:0.5)	NA	1 μ M	[39]
Rodamina B	Color.	EtOH/H ₂ O (1:9)	4.8×10^5	NA	[40]
Dihydroxyanthra-quinona	Color.	H ₂ O/amoníaco	1.5×10^5	0.27 μ M	[41]
Base Schiff	Color.	DMSO/ H ₂ O (9:1)	4.3×10^5	0.80 μ M	[102]
Naftalimida	Color.	ACN/H ₂ O (90:10)	2.1×10^4	NA	[106]
Rodamina B	Color.	ACN/H ₂ O (50:50)	4.2×10^5	0.01 μ M	[111]
Trifenilamina	Color.	ACN/H ₂ O (70/30)	3.3×10^4	~20 μ M	[112]
Base Schiff	Color.	THF/H ₂ O (1/4)	4.9×10^6	0.2 μ M	[113]
NPs dopadas con sílice	Fluor.	H ₂ O tiempo de respuesta 60 s.	4.1×10^4	NA	[114]
Base Schiff	Color.	MeOH	4.8×10^6	NA	[115]

NA: No disponible; Color. = estudio colorimétrico; Fluor. =Estudio de fluorescencia.

6.- RESONANCIA DE PLASMÓN SUPERFICIAL

El propósito de este capítulo es presentar características básicas, el principio de funcionamiento y las condiciones para tener resonancia de plasmón superficial (SPR, surface plasmon resonance). Un derivado de la base Schiff al formar un complejo con un metal la solución en donde se encuentran cambios de coloración, causando así un cambio en su curva de absorción. Estos cambios de absorción se traducen en pequeños cambios de índice de refracción del medio (una solución) donde se da la reacción que pueden ser detectados mediante técnicas ópticas; en este trabajo de investigación se propone detectar dichos cambios de índice de refracción mediante efectos plasmónicos, más en específico por medio de SPR.

6.1 Sensor de resonancia de plasmón superficial

Muchos de los primeros sensores químico/ópticos publicados en la literatura para medir iones metálicos han estado basados en la medición de los cambios en el espectro de absorción. No obstante, también se han desarrollado otras técnicas ópticas para medir cantidades químicas, entre las más sobresalientes podemos mencionar aquellas que hacen uso del esparcimiento Raman, la interferometría, espectroscopía de los modos guiados de una guía de onda y en menor medida la resonancia de plasmones superficiales (RPS).

La técnica SPR se centra principalmente, en la obtención del índice de refracción de sustancias dieléctricas en estado líquido a diferentes concentraciones mediante la configuración de Kretschmann. Los campos de aplicación más destacados de la técnica SPR son el biomédico, el veterinario, la industria alimenticia, el control de procesos industriales o el control medioambiental.

La Resonancia de Plasmón Superficial es un fenómeno óptico que permite la detección de cambios de índice de refracción en las proximidades de la superficie de separación entre un metal y un dieléctrico. Por ello, el sensor de SPR se engloba dentro de los sensores ópticos de Campo Evanescente [116]. Este tipo de sensores se está convirtiendo en una alternativa a los análisis químicos clásicos (costosos, complicados y lentos) ya que permite la realización de medidas en tiempo real con gran sensibilidad. Es posible la detección de cambios de índice de refracción del orden de 10^{-5} y la absorción de capas de moléculas sobre la superficie del sensor de un grosor medio de 0.1 nm [117]. Debido a su fuerte confinamiento en la superficie del metal, los plasmones superficiales se muestran muy sensibles a la presencia de moléculas absorbidas en la superficie. Existen ya sensores comerciales que usan el principio de SPR, por ejemplo:

Pharmacia Biosensor AB en 1990, lanzó el primer instrumento comercial, Biacore, el cual ofrece alta resolución (1×10^{-7} RIU), precisión y múltiples canales de sensado, para mediciones simultáneas. Ésta técnica comenzó a ser el principio de los transductores para la medición en tiempo real de interacciones biomoleculares [118].

SPR 100 módulo de Thermo Electron Corp. (Waltham MA, USA) está basado en la longitud de onda específica para detección SPR. Se agrega la transformada de Fourier de infrarrojos (FT-IR) en el módulo del espectrómetro, el cual proporciona capacidades espectroscópicas infrarrojas, obteniendo así información química sobre las especies enlazadas [119].

6.2 Películas metálicas

La interacción de la luz con un material es a través de los electrones. Un campo eléctrico ejerce una fuerza sobre un electrón incluso cuando éste es estacionario, a diferencia de un campo magnético que puede interactuar solo con un electrón en movimiento, moviéndolo a una fracción apreciable de la velocidad de la

luz. En los metales, los electrones de valencia son libres de moverse en la superficie del material, como se esquematiza en la Figura 6.1. Si se cambia la longitud de onda a longitudes de onda más grandes, los electrones se mueven más fácilmente causando así un incremento en el coeficiente de extinción.

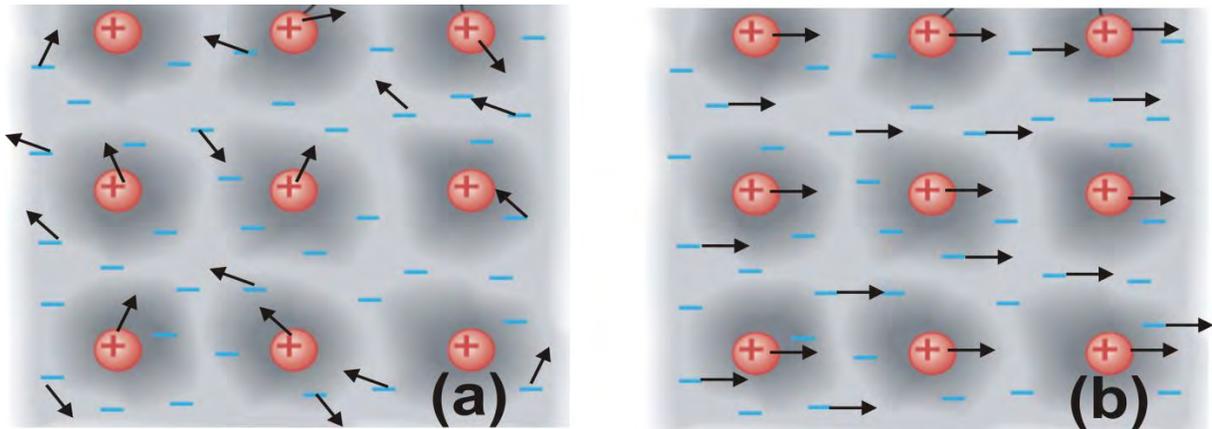


Figura 6.1. Los electrones en un metal determinan su conductividad eléctrica y térmica. Electrones en metales a) sin campo electromagnético b) bajo la influencia de campos electromagnéticos.

En el caso de incrementarse la frecuencia comienza a ser difícil mover los electrones significativamente, teniendo como consecuencia una disminución del coeficiente de extinción. Es decir, a frecuencias muy altas, se vuelve difícil influir en los electrones que aparecen casi fijos en vez de libres, y las propiedades cambian, similares a las de un dieléctrico, pero con altas pérdidas. Con algunos metales, como el oro o la plata, esto pasa a frecuencias más bajas que con otros, tal como el aluminio. Existen algunos factores ambientales que pueden afectar la calidad de una película delgada metálica, tales como la temperatura, la humedad, la corrosión, etc. Debido a que el índice de refracción y el espesor varían como función de la temperatura los índices de refracción de la mayoría de los materiales disminuyen conforme la temperatura se incrementa.

6.3 Plasmones de superficie y condición de resonancia

Los plasmones son oscilaciones colectivas de los electrones de conducción en su última capa de valencia (la más cercana a la banda de conducción), estos se generan en el estado sólido de la materia, particularmente en los metales. Los plasmones pueden generarse cuando es aplicado un campo eléctrico sobre un metal, o mediante el impulso de los fotones [120]. De lo anterior es posible concluir que los plasmones de superficie son ondas de densidad de carga presentes en la superficie de los metales.

Una onda de plasmón superficial es una onda electromagnética transversal que se propaga en la interfaz que existe entre un metal y un dieléctrico cuando el metal se comporta de forma parecida a un gas de electrones libres. La onda de plasma está caracterizada por un vector de propagación (vector de onda, k) que define las condiciones necesarias para poder ser excitada. Si el medio metálico y el dieléctrico son semi-infinitos, el vector k_{sp} de propagación del plasmón viene dado por la Ecuación 6.1 [121]:

$$k_{sp} = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \quad 6.1$$

donde λ es la longitud de onda y ϵ_m y ϵ_d son las constantes dieléctricas del metal y del dieléctrico (con $n = \sqrt{\epsilon}$), respectivamente.

La resonancia de plasmón superficial se lleva a cabo cuando oscilan las cargas libres presentes en la interfaz de dos medios con constantes dieléctricas de signos opuestos, como ocurre entre un metal (típicamente oro y plata) y un dieléctrico. La longitud de onda de resonancia depende del metal, de sus parámetros geométricos (ancho, alto), estado de polarización de la luz incidente y propiedades ópticas del medio ambiente [122]. Para que se produzca este fenómeno es necesario que se cumplan las siguientes condiciones [121]:

- La parte real de la constante dieléctrica del metal sea negativa, $Re[\varepsilon_m] < 0$,
- Que la parte real de la constante dieléctrica del dieléctrico sea menor que la parte real de la constante dieléctrica del metal $Re[\varepsilon_d] < -Re[\varepsilon_m]$,
- Que la onda producida sea magnética transversal (TM).

Hay diferentes formas mediante las cuales las ondas de plasmones superficiales pueden ser excitadas, por ejemplo con electrones o con luz, sin embargo, la excitación no puede llevarse a cabo incidiendo directamente luz sobre el metal.

El vector de onda de la luz incidente está dado por la expresión de la Ecuación 6.2:

$$k_{Luz} = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\varepsilon_d} \sin \theta \quad 6.2$$

donde θ es el ángulo de incidencia de la luz y λ la longitud de onda y ε_d es la constante dieléctrica del sistema acoplador de la luz incidente para excitar los plasmones (en nuestro caso se trata de un prisma de BK7). Para que la excitación de los plasmones superficial se lleve a cabo, es necesario que el vector de onda de la luz y el vector de onda del plasmón de superficie sean iguales [120].

6.4 Configuración de Kretschmann

Existen diferentes técnicas usadas para excitar los plasmones de superficie como son: acoplamiento con guía de onda, acoplamiento con rejilla, configuración de Otto y configuración de Kretschmann.

La técnica empleada en esta tesis consiste de la configuración de Kretschmann, un prisma con alto índice de refracción n_p está interconectado con una guía de onda metal-dieléctrica que está formada por una película delgada de metal con

constante dieléctrica ε_m y espesor q , y un dieléctrico con un índice de refracción n_d . Una condición de resonancia es que el índice de refracción del dieléctrico a medir sea menor que el índice de refracción del prisma ($n_d < n_p$).

Cuando una onda de luz propagándose en el prisma incide en la película metálica, una parte de la luz es reflejada de nuevo en el prisma, actuando la película metálica como un espejo y una parte se propaga en el metal en la forma de una onda electromagnética no homogénea [121].

Cuando la onda plana incide a través del prisma, en condiciones de reflexión total interna, al ir cambiando el ángulo de incidencia de ésta θ_0 se encuentra cierto ángulo en el cual la reflectancia decae. La reflectancia decae debido a que los fotones de la luz con polarización p pueden interactuar con los electrones libres de la capa de metal, induciendo una oscilación en forma de onda de los electrones libres reduciendo de este modo la intensidad de la luz reflejada. Este ángulo de baja reflectancia es conocido como ángulo RPS y depende de las características ópticas del sistema, como son los índices de refracción de los materiales que se encuentran a ambos lados del metal [123].

Para que éste decaimiento de la reflectancia pueda llevarse a cabo, la onda no homogénea decae exponencialmente en dirección perpendicular a la interfaz prisma-metal y es llamada onda evanescente. Si el metal es suficientemente delgado (menos de 100 nm para la luz visible y parte del infrarrojo cercano del espectro), la onda evanescente penetra a través de la película metálica y se acopla con un plasmón de superficie en el límite exterior de la película metálica. Para que el acoplamiento entre la onda evanescente y el plasmón de superficie ocurra, la constante de propagación de la onda evanescente β^{EW} y la del plasmón de superficie β^{SP} tiene que ser igual, y en términos del índice de refracción, la condición de acoplamiento queda como se indica en la Ecuación 3.3:

$$n_p \sin \theta = n_{ef}^{EW} = Re \left\{ \sqrt{\frac{\epsilon_d \epsilon_m}{\epsilon_d + \epsilon_m}} \right\} + \Delta n_{ef}^{SP} \quad 6.3$$

donde n_{ef}^{EW} es el índice efectivo de la onda evanescente, n_{ef}^{SP} es el índice efectivo del plasmón de superficie.

Para esta técnica se utilizó un rayo láser de He-Ne con polarización p (543.5 nm), que incide sobre un prisma semicilíndrico de vidrio BK7 cubierto con una película de plata de 44.5 nm de espesor. La plata utilizada fue de una pureza de 99,99%. El material se evaporó usando evaporación de cañón de electrones (5 KV, 26 mA) en una cámara de vacío a una velocidad de evaporación de 5 Å / s en una atmósfera de aire a 4×10^{-5} mbar de presión. El espesor se midió in situ mediante una microbalanza de cristal de cuarzo (Leybold Inficon XTC/2 Depositions controllers). La película se pone en contacto directo con la solución conteniendo los iones metálicos a detectar. De esta manera la posición y la anchura de la curva de SPR son analizadas a través de la adición de soluciones acuosas del analito en condiciones de reflexión total atenuada (ATR, attenuated total reflection). En la Figura 6.2 se muestra el esquema de esta configuración.

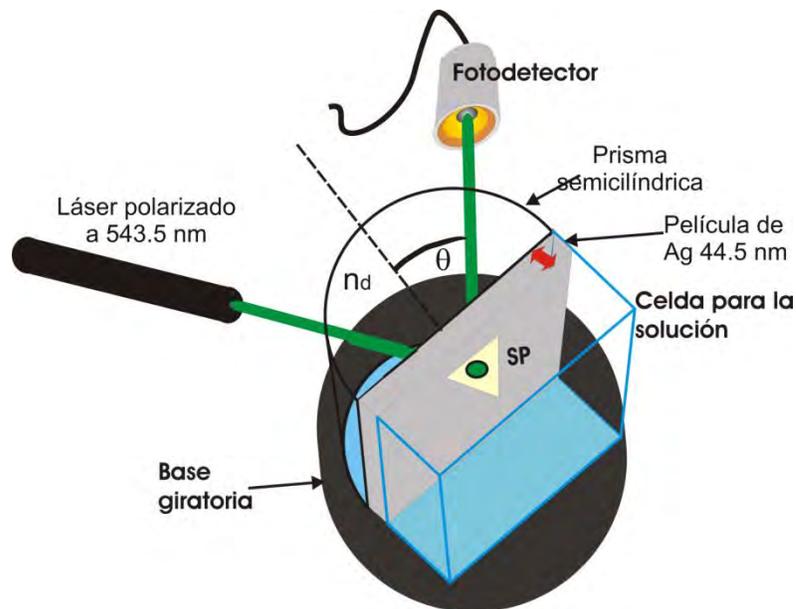


Figura 6.2 Esquema del sensor de SPR. El haz de He-Ne incide en un prisma semicilindrico de BK7 (índice de refracción n_d) cubierto de una película de plata. La película esta en contacto directo con el dieléctrico a medir contenido en una celda de vidrio. La curva de SPR se obtiene detectando el rayo reflejado bajo reflexión total atenuada (ATR) a diferentes ángulos.

6.5 Sensores ópticos de SPR

En la actualidad la mayoría de los sensores de SPR reportados usan superficies metálicas funcionalizadas, sin embargo son escasos los sensores de SPR para iones metálicos. A continuación se hace una pequeña reseña de los sensores de iones metálicos que usan el principio de resonancia de plasmon superficial bajo la configuración de Kretschmann.

El grupo de Yap Wing Fen et. al. en el 2012 reportó un sensor de Pb^{2+} usando p-tert-butylcalix[4]arene-tetrakis (BCAT) como capa activa. BCAT fue inmovilizada o funcionalizada con quitosano y posteriormente depositada en la película delgada de oro. Este sensor puede distinguir Pb^{2+} a una concentración de 30 ppm sin interferencia con iones de cu^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} y Mn^{2+} [124]. Este mismo grupo en el 2015 reportó un sensor de zinc (II) usando como capa activa del orden de nanómetros. Para este sensor usan una película metálica de oro. Las nanocapas de quitosano y disulfuro de tetrabutiltiuram quitosano mostraron un desplazamiento del ángulo de resonancia proporcional a la concentración de Zn^{2+} en agua y una sensibilidad de 0.1mg/L, ver Figura 6.3 [125].

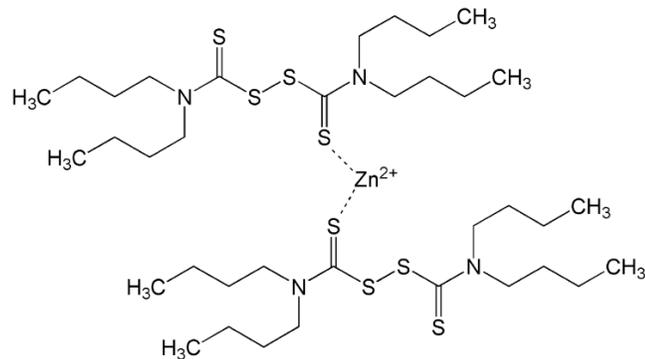


Figura 6.3. Diagrama esquemático del posible enlace de disulfuro de tetrabutiltiuram quitosano con Zn^{2+} .

Otro sensor de SPR es el reportado por A. R. Sadrolhosseini et. al., en este trabajo emplean multicapas de nanotubos de carbono polipirrol para la detección de iones de Hg^{2+} , Pb^{2+} y Fe^{2+} en agua. Este sensor mostró mejor enlace para mercurio que para plomo y hierro. El límite de detección hacia mercurio fue de 0.1 ppm, el cual produjo un desplazamiento de ángulo de 0.3° a 0.6° . La película de oro fue de un grosor de 49 nm [126].

De acuerdo a lo descrito anteriormete, en los senores reportados de SPR la capa activa o material de enlace (material para detección de iones), requiere ser funcionalizada hacia la película metálica. En contraste, en el sensor propuesto en este trabajo la sensibilidad es tal que se puede omitir esta etapa de funcionalización de la superficie metálica, como se demuestras en las siguientes secciones.

7.- DETECCIÓN DE Cu^{2+} EN MEDIOS ACUOSOS USANDO S1 Y LA TÉCNICA DE SPR

Como se demostró en los dos capítulos anteriores, la formación de un complejo entre una molécula orgánica (en nuestro caso una imina base de Schiff) y un ion metálico, tiene como efecto de desplazamiento en el máximo de absorción de dicha molécula orgánica, causando un cambio de color que puede ser observado a simple vista. Demostramos los casos de dos iminas que son selectivas a níquel y cobre y que pueden ser aplicadas como sensores colorimétricos. Como lo hemos demostrado, los cambios de color pueden cuantificarse por técnicas espectroscópicas (Uv-Vis). Por otra parte, el cambio de color implica un cambio en el índice de refracción del medio. Este cambio de índice de refracción puede también cuantificarse como técnica de detección. En este capítulo se investiga la detección de iones metálicos mediante la técnica de resonancia de plasmón superficial (SPR) combinada con el uso de una base de Schiff. Presentamos el caso de la imina **S1** para la detección de cobre.

7.1 Resonancia de plasmón superficial y bases de Schiff para la detección de iones de cobre

Una técnica alternativa para la detección de iones metálicos al método colorimétrico es la de resonancia de plasmón superficial, cuyo estudio se centra en los cambios del índice de refracción asociado con la respuesta colorimétrica de **S1**. Con este estudio fue posible determinar el índice de refracción de las soluciones del complejo **S1**- Cu^{2+} , así como su evolución temporal. Para explorar este efecto, se implementó un sensor de SPR basado en una configuración Kretschmann estándar [98], (Figura 6.2). Para el enfoque del estudio de SPR que siguió en esta tesis, la película metálica depositada sobre el prisma semicilíndrico está en contacto directo

con una solución de **S1**. De esta forma, la posición y la anchura de la curva de SPR son analizadas a través de la adición de soluciones acuosas de Cu^{2+} en condiciones de reflexión total atenuada (ATR, attenuated total reflection). En estos experimentos, los resultados de SPR de la película de plata están dados como la disminución de la intensidad de la luz reflejada a un ángulo específico θ . El ángulo depende de los índices de refracción de la solución y de la película.

La calibración de este esquema experimental se realizó midiendo el índice de refracción para el aire, es decir, se hizo la medición de la curva SPR sin ninguna muestra líquida en contacto con la película de plata, ver Figura 7.1a; posteriormente se obtuvo la curva SPR para 5 ml de agua destilada obteniéndose así el índice de refracción, ver Figura 7.1b. En esta figura se aprecia que el ángulo al que ocurre la mínima reflexión, es aproximadamente 44.75° y 72° para el aire y el agua, respectivamente. La determinación del índice de refracción se obtuvo mediante el ajuste teórico a la curva SPR obtenida al realizar el experimento. Este ajuste se realiza con la finalidad de que, al aproximar la curva teórica a la experimental, se pueda conocer el índice de refracción, el coeficiente de extinción y el espesor de la película metálica que se encuentra adherida al sustrato, así como el de las muestras como es el caso del agua. El índice de refracción de la película de Ag, del sustrato y del agua destilada se muestra en la tabla 7.1. Esta calibración del sistema permite tener certidumbre sobre las mediciones que se hagan con el aparato experimental al medir las diferentes muestras (sólidas, gaseosas o líquidas), sean absorbentes (índice de refracción complejo) o transparente (índice de refracción real).

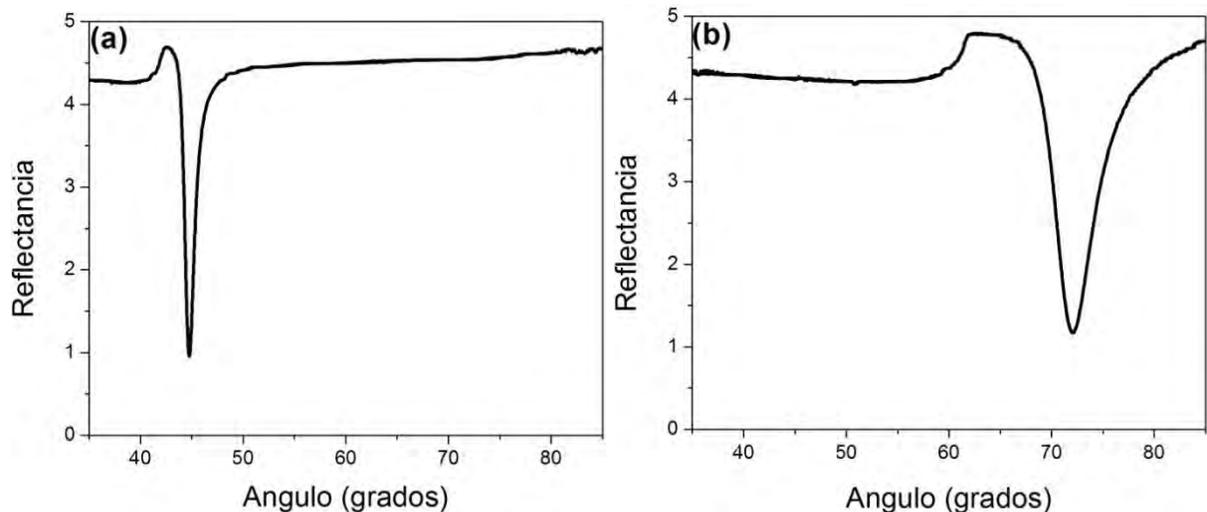


Figura 7.1. Curva de SPR de la película de plata en contacto con a) aire mostrando un mínimo de reflexión a un ángulo de 44.75° ; b) agua mostrando un ángulo mínimo de reflexión de 72° .

Tabla 7.1 Comparación de los índices de refracción teóricos con los experimentales de la película de Ag, BK7 y agua destilada.

Índice de refracción de:	Película de Ag	BK7	H ₂ O
Teórico	0.05435 – i3.2615	1.51886	1.336
Experimental	0.08695 – i3.3515	1.51509	1.328

Las variaciones existentes entre los parámetros obtenidos experimentalmente y los teóricos son relativamente pequeños y pueden deberse a diferentes factores, como lo son, la temperatura, agentes contaminantes dentro de la campana de evaporación (para el depósito de Ag) o el deterioro de la película.

A continuación, se muestran diferentes mediciones que se hicieron con el sistema para la detección de iones de cobre.

7.2 Respuesta SPR en muestras de **S1** en coordinación con cobre a diferentes concentraciones

Enseguida se muestra el análisis que se realizó a **S1** ante la presencia de cobre en agua a diferentes concentraciones. Para realizar esta prueba, se depositaron 2 ml de **S1** en ACN (3×10^{-5} M) en la cubeta de vidrio que se encuentra conteniendo el prisma semiesférico (ver Figura 6.2); posteriormente se agregaron 2 ml de agua con Cu^{2+} . Para cada prueba, se formaron mezclas de **S1** con diferentes concentraciones de Cu^{2+} en el intervalo de 0-1 equivalencia. En este caso, el haz laser induce una resonancia de plasmon superficial a un ángulo específico en la película de plata, lo que resulta en una caída en la intensidad de la luz reflejada. Dicho ángulo depende del dieléctrico (solución de **S1**), de la película y de la longitud de onda. En la Figura 7.2 se muestra las curvas de SPR para esta serie de soluciones acuosas. Los ángulos θ de mínima reflectancia correspondiente a la SPR como ya se mencionó anteriormente; a partir de las curvas experimentales se calculan los valores de θ mediante el uso de un algoritmo. Se observa que a medida que se incrementa la concentración de Cu^{2+} la curva SPR sufre un desplazamiento hacia ángulos más grandes (debido a un cambio en el índice de refracción de menor a mayor) acompañado con un ensanchamiento en la curva. En el recuadro de la figura, se muestra la relación que existe entre el ángulo de resonancia y la concentración del Cu^{2+} . Por lo tanto, al aumentar la concentración del Cu^{2+} el índice de refracción también aumenta. El primer desplazamiento significativo del ángulo se observó al agregar una concentración de $1.5 \mu\text{M}$ de Cu^{2+} , siendo este valor el correspondiente al límite de detección mínimo de la técnica de SPR. En la tabla 7.2 se muestran los datos referentes a la curva de resonancia resultante para cada prueba.

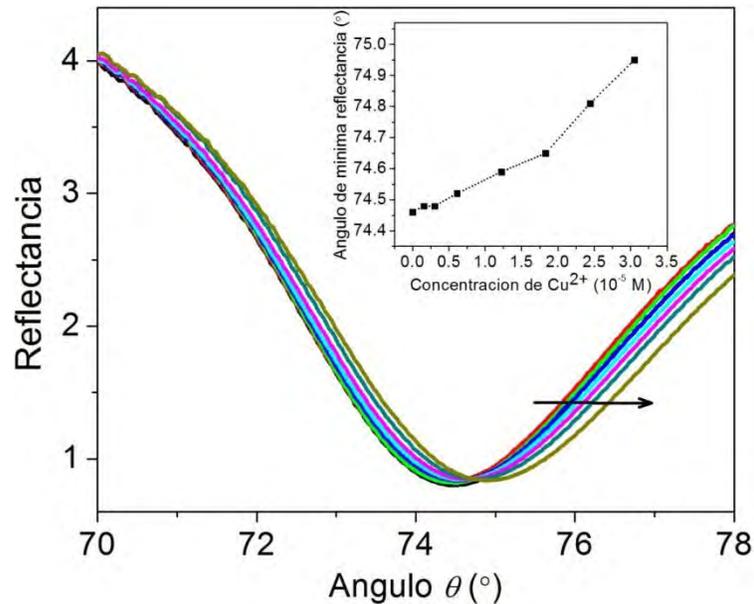


Figura 7.2 Curvas de SPR para una serie de soluciones de **S1** (3×10^{-5} M) con diferentes concentraciones de Cu^{2+} en el rango de 0 - 1 equivalencia. Recuadro de la figura: ángulo de mínima reflectancia como función de la concentración de cobre.

Tabla 7.2. Datos de SPR resultante del complejo **S1** (3×10^{-5} M) en contacto con diferentes concentraciones de Cu^{2+} , donde $\Delta\theta$ = Ancho de la curva, θ_{\min} =Ángulo de mínima reflexión, Δy = profundidad de la curva.

Concentración Cu^{2+} ($\times 10^{-5}$ M)	$\Delta\theta$	θ_{\min}	Δy
0	3.973	74.46	3.805
0.03	4.006	74.47	3.805
0.15	4.086	74.48	3.904
0.30	4.046	74.48	3.904
0.60	4.12	74.52	3.914
1.21	4.12	74.59	3.913
1.82	4.146	74.65	3.965

2.43	4.173	74.81	3.921
3.04	4.286	74.95	3.931

7.3 Respuesta SPR en muestras de S1 en coordinación con cobre a la misma equivalencia

Para realizar esta prueba, se prepararon soluciones de diferentes concentraciones tanto de **S1** (ACN) como de **Cu²⁺** (ACN/H₂O, 10:1 v/v) con la finalidad de formar complejos a la misma equivalencia. Este estudio consistió en 2 casos.

Caso A: se depositan 4 ml de soluciones de **S1** a diferentes concentraciones en la celda de vidrio que contiene al prisma semiesférico, posteriormente se mide la curva de SPR para cada concentración. Como se puede observar de la Figura 7.3 hay un desplazamiento del ángulo de mínima reflectancia hacia ángulos mayores acompañado de un ensanchamiento en la curva de SPR. En el recuadro de la figura insertada se muestra el comportamiento del ángulo de mínima reflectancia a diferentes concentraciones de **S1**. En la tabla 7.3 se muestran los datos referentes a la curva de resonancia resultante para cada prueba.

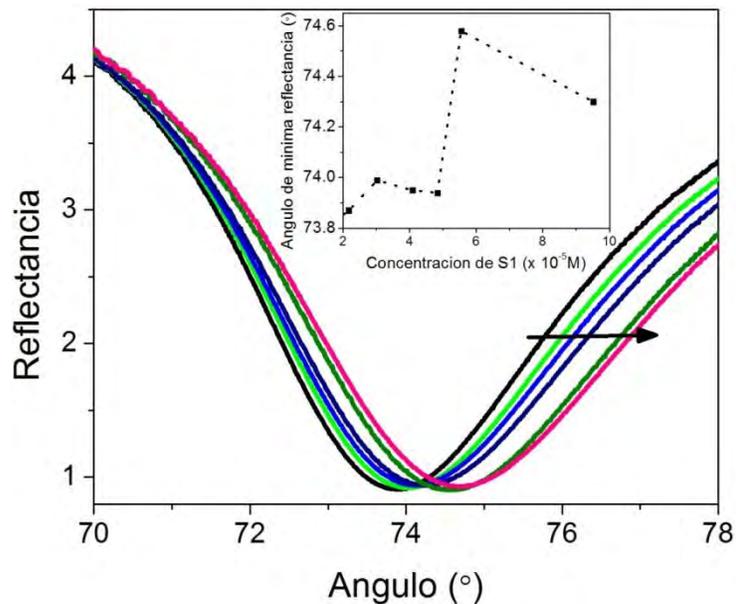


Figura 7.3. Curvas de SPR para una serie de soluciones de **S1** a diferentes concentraciones. Recuadro de la figura: comportamiento del ángulo de mínima reflexión a diferentes concentraciones de **S1**.

Tabla 7.3. Datos referentes a la curva de SPR resultante de **S1** a diferentes concentraciones, donde $\Delta\theta$, θ_{\min} , Δy especificados en la tabla 6.2

Concentración de S1 ($\times 10^{-5}$ M)	$\Delta\theta$	θ_{\min}	Δy
2.17	5.23	73.87	3.880
3.03	5.26	73.99	3.808
4.09	5.27	73.95	3.836
4.83	5.32	73.94	3.885
5.54	6.03	74.58	3.864
9.51	6.01	74.3	3.850

Caso B: Cada concentración de **S1** en el caso A se mezcló con soluciones de Cu^{2+} a la misma concentración y se midió la curva de SPR para cada complejo formado, ver Figura 7.4. Recordemos que los cambios en el ángulo de mínima

reflexión y en el ancho de la curva están relacionados con los cambios en el índice de refracción de las soluciones analizadas, es decir, **S1+Cu²⁺** a mayor concentración aumenta su índice de refracción. Así mismo estos cambios indican un incremento en la constante de propagación del plasmón superficial. A continuación se muestra, en la Tabla 7.4, los resultados obtenidos al analizar los datos.

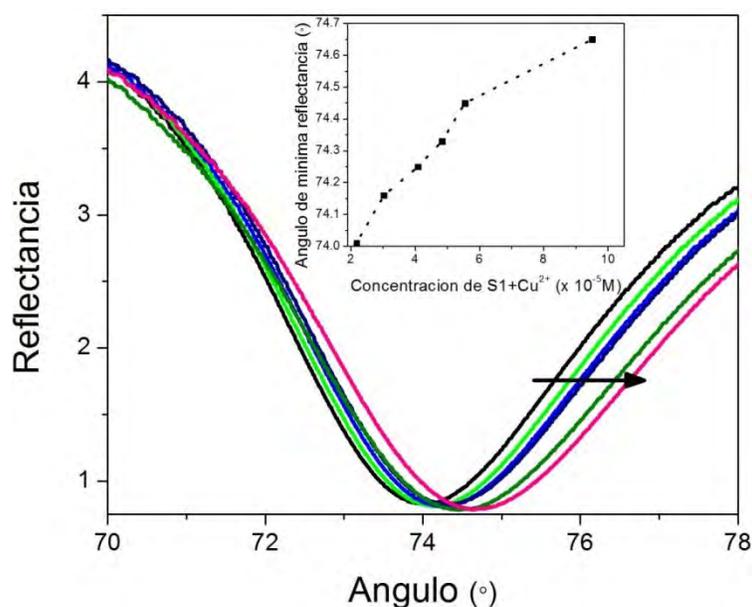


Figure 7.4 Curvas de SPR para una serie de soluciones de **S1+Cu²⁺** a diferentes concentraciones. Recuadro: comportamiento del ángulo de mínima reflexión.

Tabla 7.4. Datos referentes a la curva de SPR resultante del complejo **S1+Cu²⁺** a diferentes concentraciones, donde $\Delta\theta$, θ_{min} Δy especificados en la tabla 6.2

Concentración S1+Cu²⁺ ($\times 10^{-5}$ M)	$\Delta\theta$	θ_{min}	Δy
2.17	5.38	74.01	3.904
3.03	5.54	74.16	3.904
4.08	5.55	74.25	3.914

4.83	5.59	74.33	3.913
5.55	6.11	74.45	3.965
9.51	6.08	74.65	3.921

El índice de refracción para las muestras de **S1** y **S1-Cu²⁺** se calculó ajustando la curva SPR teórica con la curva SPR experimental. Los índices de refracción calculados mediante la técnica SPR son mostrados en la tabla 7.5. Como referencia, se muestran los índices de refracción medidos con un refractómetro. Como puede observarse la tendencia en los valores de los índices de refracción de **S1** y **S1-Cu²⁺** es de aumentar conforme se aumenta la concentración. Tómese como base el valor de índice de refracción para ACN de $n_e=1.3381$. Se observa también como tendencia que los valores de índice de refracción n_{complejo} correspondientes a las soluciones del complejo (n_{complejo} , índice de refracción de **S1+Cu²⁺**) son ligeramente mayores a los del índice de refracción de las soluciones de **S1** (n_{s1} , índice de refracción de la molécula **S1**). Sin embargo, para algunas concentraciones no se logra una clara discriminación entre los valores del índice de refracción del complejo y de las soluciones de **S1** debido a los errores experimentales. En nuestros experimentos, la principal fuente de error se debió a la incertidumbre en el espesor de la película de Ag, en el arreglo experimental de SPR con la configuración de Kretschmann. Por otra parte, también se tuvieron problemas de desgaste rápido de la película conforme se realizaban pruebas. Finalmente, debe observarse que las pequeñas variaciones en los índices de refracción como resultado de la variación de la concentración no pudieron ser detectadas con el refractómetro debido a la limitada sensibilidad del aparato; se asume que las pequeñas variaciones mostradas en la tabla 7.5 para dichos índices de refracción obtenidas con el refractómetro son debido al error instrumental. Queda clara entonces la mayor sensibilidad de la técnica de SPR.

Tabla 7.5. Índices de refracción de n_{S1} y n_{complejo} obtenido a diferentes concentraciones mediante SPR y un refractómetro para las soluciones de **S1** y **S1+Cu²⁺**, respectivamente.

Concentración de S1 y S1-Cu²⁺ ($\times 10^{-5}$ M)	SPR		Refractómetro	
	n_{S1}	n_{complejo}	n_{S1}	n_{complejo}
2.18	1.3386	1.3395	1.344	1.3443
3.03	1.3392	1.3399	1.3441	1.3445
4.08	1.340	1.341	1.3441	1.3444
4.83	1.3406	1.3418	1.3443	1.3446
5.54	1.3425	1.3428	1.3444	1.3446
9.51	1.3436	1.3435	1.3444	1.3448
ACN	$n_e=1.3381$		$n_r=1.3444$	

Desde la primera aplicación del fenómeno de SPR, esta técnica se ha utilizado ampliamente como biosensor óptico, en el cual el analito (biomolécula) es capturado por un ligando inmovilizado de forma permanente en la superficie metálica del dispositivo de SPR. Este enfoque se ha ampliado recientemente para la detección de iones metálicos utilizando como capa activa una superficie de oro modificado con moléculas de reconocimiento [127]. En contraste, en nuestro proceso de detección la superficie metálica del aparato de SPR no está modificado o funcionalizado, ya que se pone en contacto directo con una solución que contiene el ligando **S1** y el ion de metal a ser detectado. La sensibilidad de nuestro experimento para detectar cambios en el índice de refracción en solución acuosa que contiene Cu^{2+} es comparable con el intervalo de detección de 0.1 ppb para Cu^{2+} obtenido con SPR usando una superficie metálica de oro y una capa activa de péptido derivado de $\text{NH}_2\text{-Gly-Gly-His-COOH}$ (Bachem) y resina cisteamina de 4-metoxiltrito [128].

8. CONCLUSIONES

En este proyecto de investigación se estudiaron las propiedades de coordinación de los derivados de las iminas **L1**, **L2**, **L3**, **L4**, **L5**, **L6**, **L7** y **S1** con metales de transición en agua. La evaluación de las moléculas como posibles sensores colorimétricos de iones metálicos se llevó a cabo mediante la preparación de soluciones de las moléculas en diferentes disolventes orgánicos. De esta serie de ligantes, **L1**, **L2**, **L3** y **S1** presentaron propiedades como sensores colorimétricos para Ni^{2+} , Mg^{2+} , Mg^{2+} y Cu^{2+} , respectivamente. Sin embargo, solo **L1** y **S1** mostraron ser estables y selectivos.

Los resultados mostraron que la imina **L1** disuelta en DMSO es selectiva al níquel disuelto en agua destilada, al mostrar un cambio de color de amarillo a violeta al momento de la interacción, el cual es perceptible a simple vista. Esta respuesta colorimétrica fue estable por más de 1 h incluso ante la presencia de Hg^{2+} , siendo éste uno de los metales de mayor interferencia en la detección de Ni^{2+} . **L1** como sensor tiene la ventaja sobre los otros sensores reportados en la simplicidad de su síntesis y la detección de níquel en agua. Además, que este sensor colorimétrico tiene un límite de detección espectroscópico y colorimétrico de 1×10^{-7} M y de 5.4×10^{-6} M, respectivamente, límites mucho más bajos a los límites de detección de los sensores existentes.

Otra de las moléculas que mostró excelentes propiedades como sensor colorimétrico fue **S1**. El comportamiento de **S1** ante iones metálicos se evaluó mediante espectroscopía de absorción en una mezcla de ACN/ H_2O . Este sensor mostró alta afinidad hacia Cu^{2+} , mostrando un cambio de color de amarillo a violeta perceptible a simple vista incluso ante la presencia de otros iones metálicos. **S1** mostró un límite de detección espectroscópico y colorimétrico de 0.12 y de 2 μM , respectivamente. **S1** tiene la ventaja de detectar Cu^{2+} en agua ya que la mayoría de

los sensores colorimétricos reportados detectan cobre en el mismo solvente en el que se encuentra disuelto el sensor, limitando su aplicación en el medio ambiente.

La selectividad que mostró tanto **L1** y **S1** por los iones de níquel y cobre, respectivamente, se conservó aun cuando se analizaron muestras de agua potable contaminada con los iones metálicos. Debe destacarse que esta es la mayor contribución de este trabajo, pues son pocos los sensores colorimétricos que pueden detectar metales en agua. Esto tiene una importante implicación para aplicaciones prácticas en ciencias ambientales y biológicas, pues el agua es el medio de mayor importancia para el ser humano.

Finalmente, para demostrar el potencial de las iminas bases de Schiff como sensores de iones metálicos, se implementó la técnica de SPR para monitorear la presencia de Cu^{2+} en un medio acuoso mediante **S1**. En este caso la superficie de la película metálica empleado no fue funcionalizada con moléculas de reconocimiento, si no que fue puesta en contacto directo con la solución de **S1** y Cu^{2+} . Siguiendo este enfoque, fue posible medir la curva de SPR de **S1** formando un complejo con Cu^{2+} a diferentes concentraciones tanto de **S1** como de **S1**+ Cu^{2+} . Se demostró que **S1** en combinación con la técnica de SPR tiene una sensibilidad para detectar Cu^{2+} en el rango de partes por millón.

Dentro de los trabajos a futuro se pretende funcionalizar los derivados de la base Schiff en una matriz polimérica porosa con la finalidad de tener una plataforma sólida y caracterizarlo como sensor de metales. Así mismo, se investigarán estos sensores como posibles marcadores para la obtención de imágenes celulares contaminadas con metal mediante microscopía fluorescente.

9. REFERENCIAS

- [1] Bautista Zúñiga, F., Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales, ediciones de la universidad autónoma de Yucatan, (2000).
- [2] H. A. Zamani, M. R. Ganjali, F. Faribod, M. Salavati-Niasari, Heptadentate Schiff-base based PVC membrane sensor for Fe(III) ion determination in water samples, *Mat. Sci. Eng C* 32 (2012) 564–568.
- [3] Reza Azadbakht, et. Al., Highly selective fluorescent recognition of Zn^{2+} based on naphthalene macrocyclic derivative, *Spectrochim. Acta Part A* 82, (2011), 200– 204.
- [4] Xiu-Li Wang, A turn-on fluorescent chemosensor for Hg^{2+} based on phenanthroline fluorophore, *J. of Luminescence* 130 (2010) 52–55.
- [5] J. Wang, S. Chu, F. Kong, L. Luo, Y. Wang, Z. Zou, Designing a smart fluorescence chemosensor within the tailored channel of mesoporous material for sensitively monitoring toxic heavy metal ions Pb(II) *Sens. Actuators B Chem.* 150 (2010) 25–35.
- [6] Y. Zhou, H. Zhao, C. Li, P. He, W. Peng, L. Yuan, L. Zeng, Y. He, Colorimetric detection of Mn^{2+} using silver nanoparticles cofunctionalized with 4-mercaptobenzoic acid and melamine as a probe, *Talanta* (2012), 1–5.
- [7] S. Maisonneuve, Q. Fang, J. Xie, Benzothiadiazoyl-triazoylcyclodextrin: a selective fluoroionophore for Ni(II), *Tetrahedron*, 64, (2008), 8716–8720.
- [8] Denkhaus E. and Salnikow K. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 42: (2002) 35–56.
- [9] M. Kumar, V. Bhalla, A. Dhir, J.N. Babu, A Ni^{2+} selective chemosensor based on partial cone conformation of calix[4]arene, *Dalton Trans.*, 39 (2010) 10116–10121.
- [10] F.A. Abebe, C.S. Eribal, G. Ramakrishna, E. Sinn, A 'turn-on' fluorescent sensor for the selective detection of cobalt and nickel ions in aqueous media, *Tetrahedron Lett.* 52 (2011) 5554–5558.
- [11] Weiyang Lin, et. al., Fluorescence enhancement of coumarin–quinoline by transition metal ions: detection of paramagnetic Ni^{2+} and Co^{2+} , *Dyes Pigments* 83 (2009) 14–20.

- [12] Y. Liu, et. al., Thermo and pH sensitive fluorescent polymer sensor for metal cations in aqueous solution, *Polym. Adv. Technol.* 19, 2008, 137–143.
- [13] T. Ghosh, B. G. Maiya, A. Samanta, A colorimetric chemosensor for both fluoride and transition metal ions based on dipyrrolyl derivative, *Dalton Trans.*, 6, (2006), 795–801.
- [14] S. P. G. Costa, E. Oliveira, C. Lodeiro, M. M. M. Taposo, Synthesis, characterization and metal ion detection of novel fluoroionophores based on heterocyclic substituted alanines, *Sensors* 7, (2007), 2096-2114.
- [15] L. Wang, D. Ye, D. Cao A novel coumarin Schiff-base as a Ni(II) ion colorimetric sensor, *Spectrochim. Acta Part A* 90 (2012) 40–44.
- [16] S. Hu, H. Mao, Y. Wang, Optical sensing of heavy metal ions in anionic micellar solution using a Pd porphyrin phosphorescent probe, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 204, (2009), 1–6.
- [17] V. K. Gupta, et. al., Ni(II) selective sensors based on Schiff bases membranes in poly(vinyl chloride), *Anal. chem. Acta*, 624, (2008), 223–231.
- [18] P. Kaur, D. Sareen, K. Singh, Selective colorimetric sensing of Cu^{2+} using triazolyl monoazo derivative, *Talanta* 83 (2011) 1695–1700.
- [19] Y. Q. Weng, Y. L. Teng, F. Yue, Y. R. Zhong, B. H. Ye, A new selective fluorescent chemosensor for Cu(II) ion based on zinc porphyrin-dipyridylamino, *Inorg. Chem. Comm.* 10 (2007) 443–446.
- [20] C. Zong, K. Ai, G. Zhang, H. Li, L. Lu, Dual-emission fluorescent silica nanoparticle-based probe for ultrasensitive detection of Cu^{2+} , *Anal. Chem.* 83 (2011) 3126–3132.
- [21] J. Zhang, B. Zhao, C. Li, X. Zhu, A BODIPY-based “turn-on” fluorescent and colorimetric sensor for selective detection of Cu^{2+} in aqueous media and its application in cell imaging, *Sens. Actuators B chem.* 196 (2014) 117–122.
- [22] S. Madhupriya, K. P. Elango, Highly selective colorimetric sensing of Cu (II) ions in aqueous solution via modulation of intramolecular charge transfer transition of aminonaphthoquinone chemosensor, *Spectrochim. Acta Part A* 97 (2012) 100–104.

- [23] B. K. Paul, S. Kar, N. Guchhait, A Schiff base-derived new model compound for selective fluorescence sensing of Cu(II) and Zn(II) with ratiometric sensing potential: synthesis, photophysics and mechanism of sensory action *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 220 (2011) 153–163.
- [24] W. L. Chang, P. Y. Yang, A color-switching colorimetric sensor towards Cu²⁺ ion: sensing behavior and logic operation, *J. of Luminescence* 141 (2013) 38–43.
- [25] Q. Lin, P. Chen, J. Liu, Y. P. Fu, Y. M. Zhang, T. B. Wei, Colorimetric chemosensor and test kit for detection copper(II) cations in aqueous solution with specific selectivity and high sensitivity, *Dyes Pigments* 98 (2013) 100–105.
- [26] E. Korin, B. Cohen, C. C. Zeng, Y. S. Xu, J. Y. Becker, Phenylethylidene-3,4-dihydro-1H-quinoxalin-2-ones: promising building blocks for Cu²⁺ recognition, *Tetrahedron* 67 (2011) 6252–6258.
- [27] Bodie Eugene, D., J. Alexander, J., *Conceptos y modelos de química inorgánica editorial segunda edición Editorial Reverte (1994).*
- [28] J. M. Liu, L. Jiao, L. P. Lin, M. L. Cui, X. X. Wang, L. H. Zhang, Z. Y. Zheng, S. L. Jiang, Non-aggregation based label free colorimetric sensor for the detection of Cu²⁺ based on catalyzing etching of gold nanorods by dissolve oxygen, *Talanta* 117 (2013) 425–430.
- [29] H. Yang, Y. Zhu, L. Li, Z. Zhou, S. Yang, A phosphorescent chemosensor for Cu²⁺ based on cationic iridium(III) complexes, *Inorg. Chem. Comm.* 16 (2012) 1–3.
- [30] C. Zheng, G. Liu, S. Pu. A sensitive sensor for Cu(II) based on a novel diarylethene with a bipyridyl moiety, *Tetrahedron Lett.* 54 (2013) 5791–5794.
- [31] H. Y. Lee, K. M. K. Swamy, J. Y. Jung, G. Kim, J. Yoon, Rhodamine hydrazone derivatives based selective fluorescent and colorimetric chemodosimeters for Hg²⁺ and selective colorimetric chemosensor for Cu²⁺, *Sens. Actuators B Chem.* 182 (2013) 530–537.
- [32] L. K. Kumawat, N. Mergu, A. K. Singh, V. K. Gupta, A novel optical sensor for copper ions based on phthalocyanine tetrasulfonic acid, *Sens. Actuators B chem.* 212 (2015) 389–394.

- [33] Y. Dong, B. Koken, X. Ma, L. Wang, Y. Cheng, C. Zhu, Polymer-based fluorescent sensor incorporating 2,2'-bipyridyl and benzo[2,1,3]thiadiazole moieties for Cu²⁺ detection, *Inorg. Chem. Comm.* 14 (2011) 1719–1722.
- [34] V. K. Gupta, A. K. Singh, M. R. Ganjali, P. Norouzi, F. Faridbod, N. Mergu, Comparative study of colorimetric sensors based on newly synthesized Schiff bases, *Sens. Actuators B Chem.* 182 (2013) 642–651.
- [35] N. Mergu, V. K. Gupta, A novel colorimetric detection probe for copper(II) ions based on a Schiff base, *Sens. Actuators B chem.* 210 (2015) 408–417.
- [36] Y. Wang, L. Wang, L. L. Shi, Z. B. Shang, Z. Zhang, W. J. Jin, Colorimetric and fluorescence sensing of Cu²⁺ in water using 1,8-dihydroxyanthraquinone- β -cyclodextrin complex with the assistance of ammonia, *Talanta* 94 (2012) 172–177.
- [37] M. Zhao, X. F. Yang, S. He, L. Wang, A rhodamine-based chromogenic and fluorescent chemosensor for copper ion in aqueous media, *Sens. Actuators B chem.* 135 (2009) 625–631.
- [38] S. Narinder, K. Navneet, N. C. Catriona, F. C. John, Fluorescence switch-on sensor for Cu²⁺ by an amide linked lower rim 1,3-bis(2-picolyl)amine derivative of calix[4]arene in aqueous methanol, *Tetrahedron Lett.* 50 (2009) 2735–2739.
- [39] F. A. Abede, E. Sinn, Fluorescein-based fluorescent and colorimetric chemosensors for copper in aqueous media, *Tetrahedron Lett.* 52 (2011) 5234–5237.
- [40] V. Uahengo, B. Xiong, P. Zhao, Y. Zhang, P. Cai, K. Hu, G. Cheng, Three-channel ferrocene-based chemosensors for Cu(II) and Hg(II) in aqueous environments, *Sens. Actuators B chem.* 190 (2014) 937–945.
- [41] S. Goswami, D. Sen, N. K. Das, G. Hazra, Highly selective colorimetric fluorescence sensor for Cu²⁺: cation-induced ‘switching on’ of fluorescence due to excited state internal charge transfer in the red/near-infrared region of emission spectra, *Tetrahedron Lett.* 51 (2010) 5563–5566.
- [42] 17. Ch. Bosshard, k.Sutter, Ph. Pretre, J.Hulliger, M. Florsheimer, P. Kaatz, P. Gunter, “Organic nonlinear optical materials”. Volumen 1, 1995. OPA.

- [43] D. Pavia, G. Lampman, G. Kriz and J. Vyvyan, Introduction to spectroscopy, Cengage learning, 2008.
- [44] McMurry, J. Química Orgánica, 7a edición, Cengage Learning Editores, (2008).
- [45] C. D. Mayer, C. S. Joiner, J.F. Stoddart, Template-directed synthesis employing reversible imine bond formation, Chem. Soc. Rev. 36 (2007) 1705–1723.
- [46] Campos García, P. Vázquez Cruz S., Escolano Mirón, C. Química farmacéutica I. Tomo 2. Preparación de los grupos funcionales más usables en fármacos problemas resueltos de síntesis de fármacos, 2001.
- [47] Seyhan Ege, Química orgánica: estructura y reactividad, Volumen 2 editorial reverse, 2000.
- [48] G. R. You, G. J. Park, S. A. Lee, K. Y. Ryu, C. Kim, Chelate-type Schiff base acting as a colorimetric sensor for iron in aqueous solution, Sens. Actuators B Chem. 215 (2015) 188–195.
- [49] Y. R. Bhorge, H.-T. Tsai, K.-F. Huang, A. J. Pape, S. N. Janaki, Y.-P. Yen, A new pyrene-based Schiff-base: A selective colorimetric and fluorescent chemosensor for detection of Cu(II) and Fe(III), Spectrochim. Acta Part A 130 (2014) 7–12.
- [50] D. Udhayakumari, S. Saravanamoorthy, M. Ashok, S. Velmathi, Simple imine linked colorimetric and fluorescent receptor for sensing Zn²⁺ ions in aqueous medium based on inhibition of ESIPT mechanism, Tetrahedron Lett. 52 (2011) 4631–4635.
- [51] C. Zhang, B. Gao, Q. Zhang, G. Zhang, S. Shuang, C. Dong, A simple Schiff base fluorescence probe for highly sensitive and selective detection of Hg²⁺ and Cu²⁺, Talanta 154 (2016) 278–283.
- [52] M. Orojloo, S. Amani, Synthesis and studies of selective chemosensor for naked-eye detection of anions and cations based on a new Schiff-base derivative, Talanta 159 (2016) 292–299.
- [53] R. Askeland, D. Pradeep P. Phulé Ciencia e ingeniería de los materiales, 4^a Edición, 2004.

- [54] Ocampo Prado, N. Estudios sobre el comportamiento de complejos metálicos con bases de Schiff compartimentales en la obtención de compuestos polinucleares, facultad de química universidad de Santiago de Compostela, 2004.
- [55] Pasto, D. J., Carl R. Johnson, Determinación de estructuras orgánicas, editorial reverté, 2003.
- [56] G. Suganthi, S. Sivakolunthu, V. Ramakrishnan, Solvatochromic and preferential solvation studies on Schiff base 1,4-Bis(((2-methylthio)phenylimino)methyl) benzene in binary liquid mixtures, *J. of fluorescence* 20 (2010) 1181–1189.
- [57] Christian Reichardt, Pyridinium *N*-phenolate betaine dyes as empirical indicators of solvent polarity: some new findings, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 76, No. 10 (2004) 1903–1919.
- [58] D. R. Lide, Handbook of Chemistry and Physics; CRC Press: Boca Raton, FL, 2002.
- [59] G. Wypych, Handbook of solvents, Chem Tec Publishing, 2001.
- [60] I. M Smallwood Handbook of organic solvent properties, Halsted press: John wiley & Sons Inc, NY, 1996.
- [61] Zheng J, Swager TM. Poly(arylene ethynylene)s in chemosensing and biosensing. *Adv. Polym. Sci.* 177 (2005) 151–179.
- [62] W. Xu, L. Mu, R. Miao, T. Zhang, W. Shi, Fluorescence sensor for Cu(II) based on R6G derivatives modified silicon nanowires, *J. Luminescence* 131 (2011) 2616–2620.
- [63] Y. Gao, W. Ma, Study on a colorimetric sensor with color switching: naked-eye detection for Cu(II) ion, *Optical Materials* 35 (2012) 211–216.
- [64] S. Devaraj, V. S. Elanchezian, M. Kandaswamy, Dual chemosensing properties of new ferrocene-based receptors towards fluoride and copper(II) ions, *Inorg. Chem. comm.* 14 (2011) 1596–1601.
- [65] Pérez Conde, C., Sensores ópticos universidad de valencia Consejo Superior de Investigaciones Científicas (España) Introducción a los sensores, (1996).

- [66] X. P. Bao, Y. H. Zhou, J. H. Yu, N-Salicyloyltryptamine: an efficient fluorescent turn-on chemosensor for F and AcO based on an increase in the rigidity of the receptor, *J. Lumin.* 130 (2010) 392–398.
- [67] Z. Li, H. Li, C. Shi, M. Yu, L. Wei, Z. Ni, Nanomolar colorimetric quantitative detection of Fe³⁺ and PPI with high selectivity, *Spectrochim. Acta Part A* 159 (2016) 249–253.
- [68] G. R. You, G. J. Park, S. A. Lee, K. Young Ryu, C. Kim, Chelate-type Schiff base acting as a colorimetric sensor for iron in aqueous solution, *Sens. and Actuators B chem.* 215 (2015) 188–195.
- [69] Y. Cui, Y. Hao, Y. Zhang, B. Liu, X. Zhu, P. Qu, D. Li, M. Xu, A water-soluble and retrievable ruthenium-based probe for colorimetric recognition of Hg(II) and Cys, *Spectrochim. Acta Part A* 165 (2016) 150–154.
- [70] S. Devaraj, Y.-k. Tsui, C.-Y. Chiang, Y.-P. Yen, A new dual functional sensor: Highly selective colorimetric chemosensor for Fe³⁺ and fluorescent sensor for Mg²⁺, *Spectrochim. Acta Part A* 96 (2012) 594–599.
- [71] M. Ozdemir, A selective fluorescent ‘turn-on’ sensor for recognition of Zn²⁺ in aqueous media, *Spectrochim. Acta Part A* 161 (2016) 115–121.
- [72] J. Jiang, C. Gou, J. Luo, C. Yi, X. Liu, A novel highly selective colorimetric sensor for Ni(II) ion using coumarin derivatives, *Inorg. Chem. Commun.* 15 (2012) 12–15.
- [73] S. Goswami, S. Chakraborty, S. Paul, S. Halder, A. C. Maity, A simple quinoxaline-based highly sensitive colorimetric and ratiometric sensor, selective for nickel and effective in very high dilution, *Tetrahedron Lett.* 54 (2013) 5075–5077.
- [74] S. Biswas, S. Acharyya, D. Sarkar, S. Gharami, T. K. Mondal, Novel pyridyl based azo-derivative for the selective and colorimetric detection of nickel(II), *Spectrochim. Acta Part A* 159 (2016) 157–162.
- [75] U. Fegade, J. Marek, R. Patil, S. Attarde, A. Kuwar, A selective fluorescent receptor for the determination of nickel(II) in semi-aqueous media, *J. of Luminescence* 146 (2014) 234–238.

- [76] D. Sarkar, A. K. Pramanik, T. K. Mondal, Benzimidazole based ratiometric and colourimetric chemosensor for Ni(II), *Spectrochim. Acta Part A* 153 (2016) 397–401.
- [77] J. Zhang, L. Zhang, Y. Wei, J. Chao, S. Shuang, Z. Cai, C. Dong, A selectively rhodamine-based colorimetric probe for detecting copper(II) ion, *Spectrochim. Acta Part A* 132 (2014) 191–197.
- [78] A. Kumar, V. Kumar, U. Diwan, K.K. Upadhyay, Highly sensitive and selective naked-eye detection of Cu^{2+} in aqueous medium by a ninhydrin–quinoxaline derivative, *Sens. Actuat. B chem.* 176 (2013) 420–427.
- [79] Q. Liu, Q. Fei, Y. Fei, Q. Fan, H. Shan, G. Feng, Y. Huan, A novel colorimetric probe derived from isonicotic acid hydrazide for copper (II) determination based on internal charge transfer (ICT), *Spectrochim. Acta Part A* 151 (2015) 785–789.
- [80] S. A. Lee, J. J. Lee, J. W. Shin, K. S. Min, C. Kim, A colorimetric chemosensor for the sequential detection of copper(II) and cysteine, *Dyes Pigments* 116 (2015) 131–138.
- [81] X. Xie, X. Chen, B. Li, L. Zhang, Study on a highly selective colorimetric chemosensor for Cu^{2+} detection and its indirect sensing for hypochlorite, *Dyes Pigments* 98 (2013) 422–427.
- [82] J.-J. Xiong, P.-C. Huang, C.-Y. Zhang, F.-Y. Wu, Colorimetric detection of Cu^{2+} in aqueous solution and on the test kit by 4-aminoantipyrine derivatives *Sens. Actuat. B chem.* 226 (2016) 30–36.
- [83] J. M. Hong, H. Y. Kim, H. Park, S.-K. Chang, Cu^{2+} -selective colorimetric signaling by sequential hydrolysis and oxidative coupling of a Schiff base, *Tetrahedron Lett.* 56 (2015) 6782–6785.
- [84] S. Tanwar, H.-Y. Lu, E. Magi, J. Annie Ho, A 2,4-dinitrophenylhydrazine/kojic acid derivative as a simple colorimetric probe for determination of cupric ions in water, *Sens. Actuat. B chem.* 203 (2014) 204–208.
- [85] W. Li, Y. Zhang, X. Gan, A triphenylamine-isophorone-based “off–on” fluorescent and colorimetric probe for Cu^{2+} , *Sens. Actuators B chem.* 206 (2015) 640–646.

- [86] U. Fegade, S.Sahoo, S. Attarde, N. Singh, A. Kuwar, Colorimetric and fluorescent “on–off” chemosensor for Cu^{2+} in semi-aqueous medium, *Sens. Actuators B chem.* 202 (2014) 924–928.
- [87] A. Hens, A. Maity, K. K. Rajak, N. N coordinating schiff base ligand acting as a fluorescence sensor for zinc(II) and colorimetric sensor for copper(II), and zinc(II) in mixed aqueous media, *Inorganica Chimica Acta* 423 (2014) 408–420.
- [88] J. Huang , X. Ma, B. Liu , L. Caia, Q. Li, Y. Zhang, K. Jiang, S. Yin, A colorimetric and ratiometric turn-on BODIPY-based fluorescent probe for double-channel detection of Cu^{2+} and Hg^{2+} , *J. Luminescence* 141 (2013) 130–136.
- [89] J. Wang, L. Long, D. Xie, X. Song, Cu^{2+} -selective “Off–On” chemosensor based on the rhodamine derivative bearing 8-hydroxyquinoline moiety and its application in live cell imaging, *Sens. Actuators B chem.* 177 (2013) 27– 33.
- [90] Z. Yang, M. She, J. Zhang, X. Chen, et. al. Highly sensitive and selective rhodamine Schiff base “off-on” chemosensors for Cu^{2+} imaging in living cells, *Sens. Actuators B chem.* 176 (2013) 482– 487
- [91] W. Gao, Y. Yang, F. Huo, C. Yin, M. Xu, Y. Zhang, J Chao, S. Jin, S. Zhang, An ICT colorimetric chemosensor and a non-ICT fluorescent chemosensor for the detection copper ion, *Sens. Actuators B chem.* 193 (2014) 294– 300.
- [92] S. Goswami, D. Sen, A. K. Das, et.al., A new rhodamine-coumarin Cu^{2+} -selective colorimetric and ‘off–on’ fluorescence probe for effective use in chemistry and bioimaging along with its bound X-ray crystal structure, *Sens. Actuators B chem.* 183 (2013) 518– 525.
- [93] W. Xi, Y. Gong, B. Mei, X. Zhang, Y. Zhang, B. Chen, J. Wu, Y. Tian, H. Zhou, Schiff base derivatives based on diaminomaleonitrile: colorimetric and fluorescent recognition of $\text{Cu}(\text{II})$, cell imaging application, polymorph-dependent fluorescence and aggregation-enhanced emission, *Sens. Actuators B chem.* 205 (2014) 158–167.
- [94] M. Yang, H. Wang, J. Huang, M. Fang, B. Mei, H. Zhou, J. Wu, Y. Tian, Highly sensitive and selective colorimetric and fluorescent off–on probe for copper (II) based

on unique addition reaction and its imaging in living cells, *Sens. Actuators B chem.* 204 (2014) 710–715.

[95] M. Rodriguez, et. al., Synthesis and non-linear optical characterization of novel borinate derivatives of cinnamaldehyde, *New J. Chem.*, 33, (2009), 1693-1702.

[96] Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-SSA1-250-2007.

[97] B. Pedras, H.M. Santos, L. Fernandes, B. Covelo, A. Tamayo, E. Bétolo, J.L. Capelo, T. Avilés, C. Lodeiro, Sensing metal ions with two new azomethine–thiophene pincer ligands (NSN): Fluorescence and MALDI-TOF-MS applications, *Inorg. Chem. Commun.* 10 (2007) 925–929.

[98] A.K. Mandal, M. Suresh, E. Suresh, S.K. Mishra, S. Mishra, A. Das, A chemosensor for heavy-transition metal ions in mixed aqueous–organic media, *Sens. Actuators B chem.* 145 (2010) 32–38.

[99] US EPA, EPA/ROD/R03-99/061, 1999.

[100] H. Li, Z. Cui, C. Han, Glutathione-stabilized silver nanoparticles as colorimetric sensor for Ni^{2+} ion, *Sens. Actuator B chem.* 143 (2009) 87–92.

[101] D. Y. Lee, N. Singh, D. O. Jang, A benzimidazole-based single molecular multianalyte fluorescent probe for the simultaneous analysis of Cu^{2+} and Fe^{3+} , *Tetrahedron Lett.* 51 (2010) 1103–1106.

[102] M. X. Liu, T. B. Wei, Q. Lin, Y. M. Zhang, A novel 5-mercapto triazole Schiff base as a selective chromogenic chemosensor for Cu^{2+} , *Spectrochim. Acta Part A* 79 (2011) 1837–1842.

[103] S. Dalapati, S. Jana, M. A. Alam, N. Guchhait, Multifunctional fluorescent probe selective for Cu(II) and Fe(III) with dual-mode of binding approach, *Sens. Actuators B chem.* 160 (2011) 1106–1111.

[104] L. F. Zhang, J. L. Zhao, X. Zeng, L. Mu, X. K. Jiang, M. Deng, J. X. Zhang, G. Wei, Tuning with pH: The selectivity of a new rhodamine B derivative chemosensor for Fe^{3+} and Cu^{2+} , *Sens. Actuators B chem.* 160 (2011) 662–669.

- [105] Y. Zhou, H. Zhao, Y. He, N. Ding, Q. Cao, Colorimetric detection of Cu^{2+} using 4-mercaptobenzoic acid modified silver nanoparticles, *Colloids Surf. A* 391 (2011) 179–183.
- [106] S. Goswami, D. Sen, N. K. Das, G. Hazra, Highly selective colorimetric fluorescence sensor for Cu^{2+} : cation-induced 'switching on' of fluorescence due to excited state internal charge transfer in the red/near-infrared region of emission spectra, *Tetrahedron Lett.* 51 (2010) 5563–5566.
- [107] X. Wang, J. Zhao, C. Guo, M. Pei, G. Zhang, Simple hydrazide-based fluorescent sensors for highly sensitive and selective optical signaling of Cu^{2+} and Hg^{2+} in aqueous solution, *Sens. Actuators chem. B* 193 (2014) 157–165.
- [108] L. D. Chebrolu, S. Thurakkal, H. S. Balaraman, R. Danaboyina, Selective and dual naked eye detection of Cu^{2+} and Hg^{2+} ions using a simple quinoline–carbaldehyde chemosensor, *Sens. Actuators chem. B* 204 (2014) 480–488.
- [109] M. Kaur, D. Hoon Choi, Dual channel receptor based on diketopyrrolopyrrole alkyne conjugate for detection of $\text{Hg}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$ by “naked eye” and fluorescence, *Sens. Actuators chem. B* 190 (2014) 542–548.
- [110] Z.-H. Xu, H.-W. Wang, X.-F. Hou, W.-Lei Xu, T.-C. Xiang, C.-Z. Wu, A novel ratiometric colorimetric and NIR fluorescent probe for detecting Cu^{2+} with high selectivity and sensitivity based on rhodamine-appended cyanine, *Sens. Actuators chem. B* 201 (2014) 469–474.
- [111] A. Liu, L. Yang, Z. Zhang, Z. Zhang, D. Xu, A novel rhodamine-based colorimetric and fluorescent sensor for the dual-channel detection of Cu^{2+} and Fe^{3+} in aqueous solutions, *Dyes Pigments* 99 (2013) 472–479.
- [112] A. K. Mahapatra, G. Hazra, N. K. Das, S. Goswami, A highly selective triphenylamine-based indolylmethane derivatives as colorimetric and turn-off fluorimetric sensor toward Cu^{2+} detection by deprotonation of secondary amines, *Sens. Actuators B chem.* 156 (2011) 456–462.

- [113] H. Zhou, J. Wang, Y. Chen, W. Xi, Z. Zheng, D. Xu, Y. Cao, G. Liu, et. al., New diaminomaleonitrile derivatives containing aza-crown ether: Selective, sensitive and colorimetric chemosensors for Cu(II), *Dyes Pigments* 98 (2013) 1–10.
- [114] M. Park, S. Seo, S. J. Lee, J. H. Jung, Functionalized Ni@SiO₂ core/shell magnetic nanoparticles as a chemosensor and adsorbent for Cu²⁺ ion in drinking water and human blood, *Analyst* 135 (2010) 2802–2805.
- [115] Meyer, C. D., Joiner, C. S., and Stoddart, J. F., Template-directed synthesis employing reversible imine bond formation, *Chem. Soc. Rev.* 36 (2007) 1705–1723.
- [116] R. P. H. Kooyrnan and L. M. Lechuga, "Immunosensors based on total internal reflectance" in *Handbook of biosensors and electronic noses*, E. Kress-Rogers, Ed. New York: CRC Press, (1997) 169–196.
- [117] R.P.H. Kooyrnan, "Surface plasmon resonance, instrumentation" spatially resolved spectroscopy analyses, Ed. Academic Press (1999) 1–9.
- [118] M. Piliarik, J. Homola, SPR sensor instrumentation, 4 (2006) 95-116.
- [119] R. B. M.Schasfoort, A. J. Tudos, *Handbook of plasmon resonance*, the royal society of chemistry (2008).
- [120] Homola, Jiří, Sinclair S. Yee, and Günter Gauglitz, Surface plasmon resonance sensors: review, *Sens. Actuators B chem.* 54 (1999) 3–15.
- [121] Homola, Jiri, ed. *Surface plasmon resonance based sensors, Part 1 Fundamentals of SPR Sensors*, Vol. 4. Springer, 2006.
- [122] West, Paul R., et al. Searching for better plasmonic materials, *Laser & Photonics Reviews* 4, 6 (2010) 795-808.
- [123] Maier, S. Alexander, *Plasmonics: fundamentals and applications*, Springer, (2007) 21–34.
- [124] Y. W. Fen, W. M. M. Yunus, N. A. Yusof, Surface plasmon resonance optical sensor for detection of Pb²⁺ based on immobilized p-tert-butylcalix[4]arene-tetrakis in chitosan thin film as an active layer, *Sens. Actuators B chem.* 171 (2012) 287–293.

- [125] Y. W. Fen, W. M. M. Yunus, Z. A. Talib, N. A. Yusof, Development of surface plasmon resonance sensor for determining zinc ion using novel active nanolayers as probe, *Spectrochim. Acta Part A* 134 (2015) 48–52.
- [126] A. R. Sadrolhisseini, A. S. M. Noor, A. Bahrami, H. N. Lim, Z. Abidin, M. A. Mahdi, Application of polypyrrole multi-walled carbon nanotube composite layer for detection of mercury, lead and iron ions using surface plasmon resonance technique, *Ploss one* 9, (2014) 93962-93971.
- [127] E. S. Forzani, H. Zhang, W. Chen, N. Tao, Detection of heavy metal ions in drinking water using a high-resolution differential surface plasmon resonance sensor, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 1257–1262.