



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN
INTENSIFICADA POR SUPERFICIE (SERS), APLICADA EN LA DETECCIÓN
DEL GLIFOSATO EN UN HERBICIDA COMERCIAL.**

TESIS

PRESENTA:

ALEIDA AMAIRANI ATENCO PAREDES

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

TUTOR:

DR. ERICK FLORES ROMERO

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX., 2024





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: REYES SALAS EUGENIO OCTAVIO

VOCAL: Profesor: GÁLVEZ MARISCAL MARÍA AMANDA

SECRETARIO: Profesor: FLORES ROMERO ERICK

1er. SUPLENTE: Profesor: ROJAS ESCUDERO ELBA

2° SUPLENTE: Profesor: NAVARRO OCANA ARTURO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE NANOESTRUCTURAS ORDENADAS, DEPARTAMENTO DE FÍSICA EXPERIMENTAL, INSTITUTO DE FÍSICA (UNAM)

ASESOR DEL TEMA: _____

Dr. ERICK FLORES ROMERO, Catedrático CONACYT

SUSTENTANTE: _____

ALEIDA AMAIRANI ATENCO PAREDES

ÍNDICE

Índice de Figuras	3
Índice de Tablas.....	4
CAPÍTULO I.....	5
INTRODUCCIÓN:	6
Glifosato.	9
Ácido aminometilfosfónico (AMPA).....	11
HIPÓTESIS.....	13
OBJETIVO.....	13
Objetivo general.....	13
Objetivos específicos.....	13
CAPÍTULO II.....	14
PLANTEAMIENTO	14
MARCO TEÓRICO	14
Nanoestructuras metálicas.....	18
METODOLOGÍA	20
CAPÍTULO III	26
DESARROLLO TEÓRICO-EXPERIMENTAL	26
RODAMINA 6G	27
GLIFOSATO	30
CAPÍTULO IV	37
ANÁLISIS COMPLEMENTARIO IR DE LAS MOLÉCULAS DEL GLIFOSATO.	38
ANÁLISIS COMPLEMENTARIO IR DE LAS MOLÉCULAS DEL AMPA.....	40
CAPÍTULO V.....	44
CONCLUSIONES	44
Referencias.....	46

Índice de Figuras

Figura 1. Rodamina 6G.	9
Figura 2. Glifosato (N-(fosfonometil) glicina).	10
Figura 3. Principal reacción de descomposición del glifosato.	12
Figura 4. Interpretación cuántica de la interacción.	15
Figura 5. Molécula del enlace.	16
Figura 6. Metodología experimental.	20
Figura 7. Proceso de Piranha.	21
Figura 8. Diagrama de bloques del proceso de síntesis de micropartículas.	22
Figura 9. Proceso de spin-coating para obtener una película delgada.	23
Figura 10. Sustratos de silicio depositados con microesferas de sílice antes de su caracterización en el microscopio electrónico de barrido (SEM).	26
Figura 11. Micropartículas después de realizar la síntesis y el depósito.	27
Figura 12. Micropartículas con Ag.	27
Figura 13. Espectros Raman-SERS de la muestra con rodamina, concentración 1×10^{-6} M con objetivo 40x.	28
Figura 14. Espectro de la muestra con objetivo 40x después de un lavado en etanol por 18 horas.	29
Figura 15. Características de la etiqueta de glifosato comercial.	30
Figura 16. Micropartículas de silicio después de realizar la síntesis y el depósito.	31
Figura 17. Micropartículas con Plata.	31
Figura 18. Curva normal de los tamaños de las microesferas.	32
Figura 19. Frecuencia del tamaño de las microesferas.	32
Figura 20. Espectro de muestra de silicio con glifosato concentración 1×10^{-6} M. Se obtuvo con un equipo Raman modular.	34
Figura 21. Espectro en muestra de silicio con glifosato concentración. Espectro en muestra de silicio con glifosato concentración 1×10^{-5} M. (Microscopio DXR Raman).	34
Figura 22. Espectro de muestra con glifosato concentración 1×10^{-5} M. Sin técnica SERS. (Microscopio DXR Raman).	35
Figura 23. Espectro IR del AMPA sólido en pastilla de KBr, entre $3500-2000 \text{ cm}^{-1}$ (Barja, 1999). ...	41
Figura 24. Espectro IR del AMPA sólido en pastilla de KBr, entre $2000-400 \text{ cm}^{-1}$ (Barja, 1999).	41

Índice de Tablas

Tabla I. Propiedades moleculares del glifosato (Choque y Nogales 2019).	10
Tabla II. Identificación del peligro. Elementos de la etiqueta (YPF, 2010).	11
Tabla III. Propiedades moleculares del ácido aminometilfosfónico (AMPA).....	12
Tabla IV. (AMPA) Identificación del peligro del ácido aminometilfosfónico (NCBI, 2021).	12
Tabla V. Material y reactivos utilizados para el procedimiento de Piranha.....	21
Tabla VI. Material y reactivos utilizados para el procedimiento de síntesis de micropartículas.	22
Tabla VII. Espectros Raman observados a diferentes concentraciones de rodamina 6G.....	29
Tabla VIII. Datos estadísticos del diámetro de las microesferas en μm medidos por el programa Image-J.	33
Tabla IX. Comparación de los máximos encontrados en el espectro SERS experimentales con la literatura.....	36
Tabla X. Regiones de absorción en el espectro IR en función de la estructura química del glifosato (Herrera, 2011; Rojo, 2009 y Larkin, 2011).	38
Tabla XI. Comparación de los máximos encontrados en el espectro IR y SERS experimentales con la literatura.....	40
Tabla XII. Regiones de absorción en el espectro IR en función de la estructura química del AMPA (Rojo, 2009 y Larkin, 2011).....	42
Tabla XIII. Comparación de los máximos encontrados para AMPA en el espectro IR de la literatura y Raman-SERS experimental.....	43

CAPÍTULO I

Organización de la tesis

Esta tesis está organizada como sigue.

En el capítulo I se escribe la introducción, hipótesis y objetivo.

En el capítulo II se describe el planteamiento, marco teórico y metodología.

Los resultados se discuten desde el capítulo III donde se describe el desarrollo teórico experimental, hasta el capítulo IV en el que se escribe el análisis complementario del espectro IR y Raman-SERS de las moléculas de glifosato y AMPA.

Por último, en el capítulo V las conclusiones.

INTRODUCCIÓN:

La nanociencia ha sido un novedoso y popular campo de investigación durante la última mitad del siglo XX y principios del XXI, esto ha dado pie a que otras áreas relacionadas incursionen en ella para el desarrollo de sus aplicaciones.

En la industria alimentaria, como una de esas áreas, es impulsada tanto por las organizaciones y consumidores para su desarrollo, investigación e innovación.

Debido a todo esto nace el interés en la espectroscopía Raman intensificada por superficie (Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS) como herramienta analítica fina emergente para el análisis en el aseguramiento de la calidad alimentaria.

En la actualidad, el control químico es una de las principales herramientas en la agricultura moderna (Anderson, 1996). La disminución en las expectativas de producción debido a la incidencia de plagas y enfermedades provocó un incremento en la aplicación de plaguicidas, con la finalidad de aumentar la capacidad agrícola. Por lo que, en las últimas décadas, el uso de plaguicidas (insecticidas, fungicidas y herbicidas) y fertilizantes sintéticos ha aumentado de forma considerable. Teniendo una gran repercusión en daños a los suelos y ecosistemas.

En el caso de los plaguicidas, algunos pueden amenazar especies vitales para la producción de alimentos, como los polinizadores; y la salud de las personas debido a la toxicidad de las sustancias que se emplean en las tierras de cultivo y en los lugares de almacenamiento (Arellano y Rendón, 2016).

Entre estos plaguicidas se encuentra el glifosato siendo el plaguicida más usado a nivel mundial. Entre los años 1974 y 2014 se produjeron 8.6 millones de toneladas de glifosato, el uso de este herbicida incrementó 15 veces desde 1996 dada la introducción de los cultivos genéticamente modificados tolerantes al glifosato. En la actualidad el glifosato es producido en diversos países. En México las principales marcas de plaguicidas con glifosato son Faena®, Cacique 480®, Nobel 62%®, Lafam®, Eurosato® y Agroma® (CONACYT, 2019).

La acción del glifosato se debe principalmente a su capacidad para bloquear la producción de aminoácidos esenciales en las plantas y algunos microorganismos a través de una vía llamada shikimato que está presente solo en las plantas, por lo que se pensaba que no afectaba a animales y seres humanos (*Watts et al.*, 2016).

Pero en el 2006 la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó el glifosato como “probablemente cancerígeno para los seres humanos” (OMS, 2006).

Diversos estudios muestran que los herbicidas a base de glifosato pueden afectar numerosos órganos en mamíferos y vías bioquímicas, causando la inhibición de enzimas, alteraciones metabólicas y estrés oxidativo que contribuyen a una excesiva peroxidación de lípidos en la membrana, como también al daño celular y de tejidos.

La genotoxicidad y la alteración endócrina también conducen a efectos dañinos crónicos para la salud y el desarrollo. El glifosato en bajas concentraciones daña las células del hígado, los riñones y la piel; en este último órgano, provoca envejecimiento y potencialmente cáncer (CONACYT, 2019).

Su uso también tiene graves impactos en el medio ambiente, ya que reduce la biodiversidad y con ello puede afectar a seres vivos cruciales para la agricultura; además, a través de un decreto publicado el 31 de diciembre del 2020 en el Diario Oficial de la Federación se señaló que el periodo de prohibición del uso de glifosato es el 31 de enero de 2024 por lo que se estableció un periodo de transición para que la sustitución del glifosato sea completa. En otros países como los son Francia, Holanda, El Salvador, etc. (Arellano y Rendón, 2016) ya existe su prohibición. Aunque los herbicidas son aplicados extensivamente, aún falta mucha investigación sobre ellos.

Debido a toda esta información, es que se planteó el glifosato como el plaguicida de mayor interés para el proyecto.

En el proyecto de tesis se analiza la presencia de remanentes del glifosato. La técnica analítica fina que se utiliza es la espectroscopía Raman-SERS.

La espectroscopía Raman se basa en la dispersión inelástica de la luz por las moléculas, se dice que es una dispersión inelástica porque involucra un cambio en la frecuencia de la luz dispersada con respecto a la luz incidente, dicho cambio de frecuencia se produce por un cambio en los niveles energéticos vibracionales de la molécula, de esa manera un espectro Raman permite conocer los niveles vibracionales de una molécula, siendo una técnica complementaria a la espectroscopía infrarroja (IR). Por otro lado, la espectroscopia Raman-SERS se basa en la amplificación de la intensidad de la luz dispersada inelásticamente, la amplificación se produce debido a las oscilaciones colectivas de los metales, ya que tienen la propiedad de oscilar con los campos electromagnéticos sobre la superficie de los metales, por lo tanto, si se coloca una molécula sobre un metal, se amplifica el campo electromagnético del espectro Raman, a esto

se le conoce como espectroscopía intensificada por superficie o espectroscopía Raman-SERS por sus siglas en inglés (Surface Enhanced Raman Spectroscopy).

La espectroscopía Raman-SERS está proporcionando otra herramienta a la industria alimentaria, la cual siempre está buscando la mejora en cuanto a la detección de contaminación en alimentos. Ésta se define según la NOM-251-SSA1-2009 como: “*presencia de materia extraña, sustancias tóxicas o microorganismos, en cantidades que rebasen los límites permisibles establecidos por la Secretaría de Salud o en cantidades tales que representen un riesgo a la salud del consumidor*”.

Entre los métodos analíticos más utilizados para la detección del glifosato se encuentran el HPLC-UV, HPLC-Fluorescencia (Islas G. 2013), ambos tienen una alta sensibilidad.

Pero la técnica Raman-SERS tiene como principal ventaja que no es una prueba destructiva, ya que la muestra analizada no requiere de pretratamientos, procedimientos de extracción o limpieza. También existen equipos prácticos y transportables (Islas G, 2013).

Debido a que es una herramienta emergente, aún no existe una metodología estandarizada, ni se sabe con exactitud la reacción de las moléculas al sometimiento de la técnica SERS. Sin embargo, se han reportado trabajos de la aplicación de esta técnica en el área alimentaria. De acuerdo a la bibliografía consultada, la alta sensibilidad del método es utilizado en la detección rápida de la ractopamina la cual es un antagonista β -adrenérgico aprobado para su uso en alimentación porcina a un nivel de concentración de 5–20 ppm, en algunos países como los Estados Unidos y Canadá (*The EFSA Journal* 2009), ya que ésta podría suponer un riesgo potencial para la salud humana (Yan et al., 2018). Otro de los usos de este método de detección es la fabricación de nanopartículas de oro recubiertas de plata para detectar residuos de insecticidas en durazno con la técnica SERS [(Yaseen et al., 2019) y (Huang et al., 2010)].

Por lo que este proyecto contribuye al desarrollo de la técnica SERS para su investigación y para su aplicación, dando un enfoque práctico relacionado con la innovación en técnicas de detección analítica fina en alimentos.

Se empezó desarrollando una metodología utilizando como molécula de prueba la rodamina 6G, un compuesto orgánico heterocíclico perteneciente a la familia de las rodaminas que se utiliza a menudo como un tinte trazador en el agua para determinar el volumen, velocidad y las direcciones de flujo y transporte, en la Figura 1 se muestra la estructura química de la rodamina 6G. También es utilizado como medio amplificador y colorante en láseres. Por todas sus

características, y al ser soluble en compuestos polares, resultó ser la mejor opción para desarrollar la metodología experimental, lo que permitió familiarizarnos con los equipos, resultados y mediciones correspondientes que se obtuvieron durante todo el proyecto.

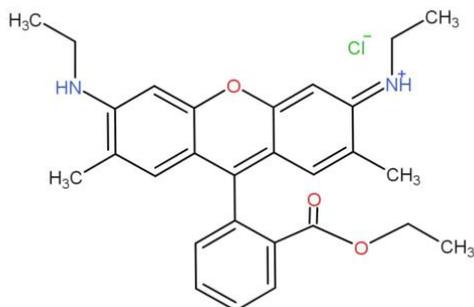


Figura 1. Rodamina 6G.

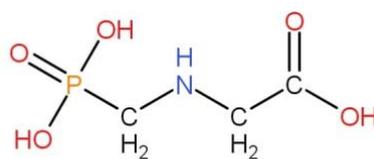
En cuanto se obtuvo una metodología experimental la cual se ve desarrollada en el Capítulo II (Figura 6) se continuó analizando la técnica SERS para su aplicación en la detección del glifosato.

Glifosato.

El glifosato es un herbicida de amplio espectro, no selectivo, post-emergente con fitotoxicidad sobre plantas anuales y perennes. Pertenece al grupo de los herbicidas derivados de aminoácidos y se trata de un sólido blanco altamente soluble en agua.

Su aplicación consiste en una técnica de rocío del herbicida sobre los cultivos, y una vez en el ambiente, el glifosato se absorbe en suelos teniendo un tiempo de vida de 8 a 9 semanas aproximadamente desde su aplicación, por lo cual esta molécula puede ser detectada en suelos, agua superficial, agua subterránea y aire.

En la Figura 2 se puede ver la estructura molecular del glifosato, compuesto por una amina secundaria y un ácido carboxílico. En la Tabla I se muestran las propiedades moleculares del glifosato.



Fórmula: C₃H₈O₅NP

Peso atómico: 169.01

Figura 2. Glifosato (N-(fosfonometil) glicina).

Estructura química, fórmula estructural, peso atómico.

Tabla I. Propiedades moleculares del glifosato (Choque y Nogales 2019).

	Modelo mecano- cuántico semiempírico	Unidades
Energía libre de Gibbs.	-55.129	kcal/mol
Entropía AS 298k.	0.111	kcal/mol/deg
Energía de enlace.	-1729.6	kcal/mol
Energía HOMO.	-10.37	ev
Energía LUMO.	-0.36	ev
Polarizabilidad	10.58	Å ³
Refractividad	30.79	Å ³

Fuente: Datos obtenidos por optimización geométrica mecanocuántico del glifosato con Hyperchem v8.0.10

En la Tabla II se muestra la identificación de peligros que conlleva estar expuestos a esta sustancia, por lo cual es necesaria su detección temprana y oportuna.

Tabla II. Identificación del peligro. Elementos de la etiqueta (YPF, 2010).

Pictograma.		 Corrosivo	
Indicación de peligro.	H318 - Provoca lesiones oculares graves.	H350 - Puede provocar cáncer.	H402 - Nocivo para los organismos acuáticos.
Criterios de clasificación.	Daño ocular grave (Categoría 1)	Carcinogenicidad (Categoría B)	Peligro para el medio ambiente acuático – peligro agudo (Categoría 3)
Otras regulaciones.	OMS CATEGORÍA III - Ligeramente peligroso.		

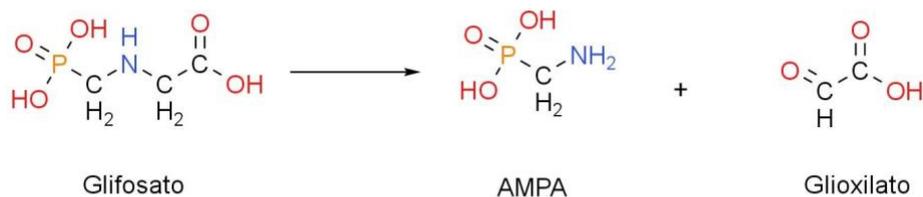
La dosis letal de ingesta por vía oral en ratas: DL50, es 5.6 g de su formulación/kg de peso corporal.

Ácido aminometilfosfónico (AMPA)

El glifosato, como todos los herbicidas, tiene tres vías de degradación; que son fotoquímicas (debido a la luz), químicas (debido a distintas reacciones como oxidación e hidrólisis) y biológicas (debido a microorganismos).

El principal producto de degradación del glifosato es el ácido aminometilfosfónico (AMPA) como se muestra en la reacción de la Figura 3. Esta molécula está compuesta de un carbono y un miembro de los ácidos fosfónicos el cual deriva de un ácido fosfónico y un grupo amino. Esto quiere decir que tiene la mayor parte de los grupos funcionales del glifosato.

En las Tablas III y IV se muestran las propiedades moleculares del AMPA y su identificación de peligro, respectivamente.



KingDraw

Figura 3. Principal reacción de descomposición del glifosato.

Tabla III. Propiedades moleculares del ácido aminometilfosfónico (AMPA).

Fórmula molecular	CH_6NO_3P	
Peso Molecular	111.04	mol/g

Tabla IV. (AMPA) Identificación del peligro del ácido aminometilfosfónico (NCBI, 2021).

Pictograma.	 Corrosivo	 Irritante	
Indicación de peligro.	H302: Nocivo por ingestión. H332: Nocivo si se inhala. H335: Puede irritar las vías respiratorias.	H312: Nocivo en contacto con la piel H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H315: Provoca irritación cutánea.	H319: Provoca irritación ocular grave .
Criterios de clasificación.	Advertencia: Toxicidad aguda (inhalación), toxicidad sistémica específica de órganos, irritación del tracto respiratorio.	Advertencia Toxicidad aguda (cutánea), Peligro Corrosión irritación cutáneas.	Advertencia lesiones o irritación ocular graves.
Otras regulaciones.	OMS CATEGORÍA III - Ligeramente peligroso.		

HIPÓTESIS

Si la técnica utilizada da resultados positivos y es reproducible en el análisis de rodamina 6G se estudiará su aplicación en la detección del glifosato sobre sustratos de silicio.

OBJETIVO

Objetivo general

Desarrollar la técnica analítica fina de espectroscopía Raman-SERS para su aplicación en la detección positiva del plaguicida glifosato desarrollando una técnica eficiente para su uso en la investigación alimentaria.

Objetivos específicos

- a) Usar la técnica analítica SERS para la detección positiva de moléculas de rodamina 6G y glifosato.
- b) Coadyuvar a que la detección mediante el método SERS del glifosato y su derivado AMPA pueda ser aplicable y reproducible, para la regularización de estos compuestos que, según el Diario Oficial de la Federación, se aplica en México desde el 2024.
- c) Plantear un modelo que explique molecularmente la eficiencia de las nanopartículas de sílice depositadas con plata que interactúa con el analito estudiado.
- d) Evaluar la aplicación de la técnica en la inocuidad alimentaria.

CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO

En este proyecto se pretende obtener un método estandarizado de la técnica SERS, para la obtención y caracterización del espectro Raman-SERS del glifosato, ya que es el plaguicida comercial más utilizado a nivel mundial. Y de esta manera, contribuir también para la regularización en México desde el 2024.

Esta técnica permite la ampliación de señal por plasmones en superficie de nanoestructuras metálicas, además, es un método de alta sensibilidad, la prueba no es destructiva y al aplicarse en soluciones acuosas, se espera menor interferencia espectral, todo esto permitirá una detección más eficiente para tamaños pequeños de muestra, el glifosato al ser soluble en agua es ideal para el desarrollo de la técnica. Así mismo, se explorará un modelo teórico-experimental sobre el análisis de la técnica analítica SERS sobre los analitos de interés.

MARCO TEÓRICO

La espectroscopía Raman es una técnica que se basa en la dispersión inelástica de la luz donde la radiación electromagnética interactúa con la molécula, dando lugar a un espectro de absorción, el cual depende de la dirección del espectro y del área de radiación incidente. Este cambio proporciona información sobre las transiciones vibracionales, rotacionales y otras de baja frecuencia en las moléculas.

La técnica analítica que se utiliza es la espectroscopía Raman intensificada por efectos de superficie (SERS, por sus siglas en inglés). Esta técnica se basa en la dispersión inelástica de la luz, cuya intensidad es amplificada por las oscilaciones colectivas de los electrones libres en metales (plasmones de superficie), un esquema se puede ver en la Figura 4.

En ella se mide la intensidad y frecuencia de fotones que se dispersan en el material al ser irradiado con luz monocromática de alta intensidad (un haz láser a una determinada frecuencia o longitud de onda), proporcionando información del adsorbato y su entorno, en particular su interacción con la nanopartícula potenciadora, su orientación espacial y las propiedades de polarización del campo eléctrico local.

Cuenta con un intervalo de 250-2900 cm^{-1} , al medir el desplazamiento de la frecuencia de la luz dispersada respecto al incidente, que se conoce como desplazamiento o corrimiento Raman, medido en unidades de número de onda (cm^{-1}).

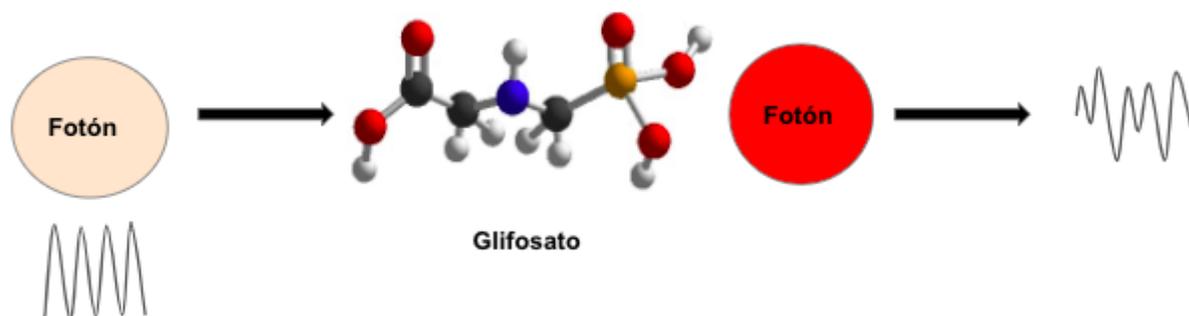


Figura 4. Interpretación cuántica de la interacción.

En la técnica Raman-SERS pueden ocurrir tanto la adsorción física como adsorción química, ésta será determinada por la entalpía de la reacción, ya que, si es más positiva que -25kJ/mol , la interacción es clasificada como adsorción física; pero si es más negativa que -40kJ/mol , la interacción será clasificada como química (Aroca, 2006).

Los casos más comunes de Raman- SERS son (Aroca, 2006):

- Raman-SERS de moléculas adsorbidas físicamente.
- Raman-SERS de moléculas adsorbidas químicamente sin resonancia (transferencia de carga).
- Raman-SERS de moléculas adsorbidas químicamente con resonancia (transferencia de carga).
- Raman-SERS Resonancia mejorada en la superficie.

La intensificación, en la adsorción química, la unión directa a la superficie proporciona el factor de amplificación electromagnético más alto. Este espectro de SERS puede estar compuesto por amplificación multiplicativa generada por un efecto Raman resonante debido a la excitación de una transición de la transferencia de carga.

En cuanto a las moléculas adsorbidas químicamente: comúnmente en la superficie de plata existen las formaciones de Ag-N, Ag-S, Ag-O o Ag-X (X= halógeno) que se observarán en la región espectral de 100 a 300 cm^{-1} . La identificación de la señal para el sistema metal-molécula,

ver esquema en la Figura 5, se puede obtener relativamente fácil, pero la asignación de las bandas no es sencilla, ya que existen especies superficiales como óxidos o haluros que pueden interferir.

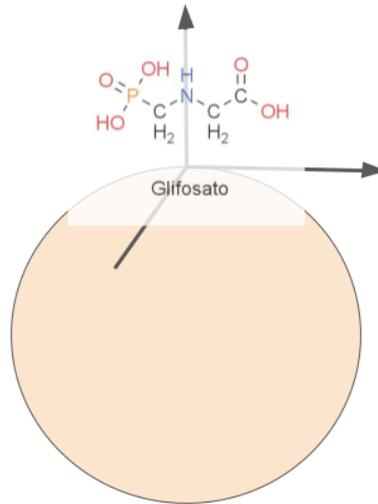


Figura 5. Molécula del enlace.

- SIN EXCITACIÓN DE RESONANCIA ELECTRÓNICA: Esto quiere decir que no existe una adsorción electrónica en la región espectral de la excitación, es decir, no hay efecto Raman de resonancia.

- CON EXCITACIÓN DE TRANSFERENCIA DE CARGA: La excitación de plasmones en superficies metálicas nano corrugadas conlleva en algunos casos, a generar campos electromagnéticos sobre las superficies, denominados excitaciones ópticas localizadas. La transferencia de carga se considera una rama de la espectroscopia SERS para moléculas químicamente adsorbidas, y se puede separar en estos grandes grupos.

- El primer caso general de los fenómenos de transferencia de carga implica la transferencia de un electrón desde el nivel de Fermi del metal a un orbital molecular desocupado del adsorbato o viceversa. La evidencia de este tipo particular de excitación se ha obtenido principalmente de experimentos electroquímicos.
- El segundo enfoque de transferencia de carga es la producción de dispersión Raman de resonancia a partir de complejos metálicos formados con la molécula adsorbida.

- TRANSFERENCIA DE CARGA METAL-MOLÉCULA O MOLÉCULA-METAL: Esto ocurre cuando la luz incidente puede provocar la transferencia de un electrón desde el nivel de Fermi del metal a los orbitales vacíos del adsorbato, lo que da como resultado el estado de

transferencia de carga excitado. La emisión de un fotón por la recombinación electrón-hueco daría una frecuencia de cambio Raman, siempre que la molécula permanezca vibratoriamente excitada.

Esto quiere decir que la enorme intensificación de varios órdenes de magnitud de la espectroscopía Raman-SERS frente a la espectroscopía Raman tradicional se debe a las nanopartículas metálicas, y los mecanismos que dan lugar al fenómeno son debido a la transferencia de carga y un mecanismo electromagnético (excitaciones ópticas localizadas).

Algunas de las técnicas analíticas actualmente reportadas para la detección del glifosato son las técnicas de separación instrumentales como electroforesis capilar (UV-Vis, fluorescencia y espectroscopía de masas), cromatografía de gases y cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) (Islas, 2013).

Pero en comparación con técnicas similares a la empleada en este proyecto, también para el análisis de esta molécula se utilizan comúnmente técnicas de espectroscopía vibracional, en las cuales se encuentran el infrarrojo medio, infrarrojo cercano y Raman, estas técnicas se basan en el análisis de las propiedades moleculares, dando como resultado una huella espectral única de cada compuesto.

A diferencia de las técnicas del infrarrojo medio y el infrarrojo cercano, que implican una absorción, Raman es una técnica de dispersión. En ella se mide la intensidad y frecuencia de fotones que se dispersan en el material al ser irradiado con luz monocromática de alta intensidad (láser a una determinada longitud de onda).

Es por lo que las espectroscopías Raman e infrarrojo se consideran técnicas complementarias a la hora de estudiar las frecuencias vibraciones de una molécula.

El Raman también tiene interés para el estudio de sustancias en disolución acuosa, ya que el agua absorbe fuertemente en el IR, tapando otras bandas, pero no en el Raman. Por otra parte, en cuanto a espectros IR por debajo de 100 cm^{-1} no se pueden obtener señales claras.

En Raman, no existe problema en observar desplazamientos de Raman menores de 100 cm^{-1} y hasta 10 cm^{-1} . Cuenta con un intervalo de $250\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$, al medir el desplazamiento de la longitud de onda de la luz dispersada respecto al incidente, que se conoce como desplazamiento o corrimiento Raman, medido en unidades de cm^{-1} .

Las técnicas de cromatografía mencionadas anteriormente requieren pasos adicionales (extracciones líquido-líquido, el uso de disolventes orgánicos, destrucción de muestra, entre otros).

Como ventajas del método propuesto, se puede decir, que se encuentra que el tamaño de la muestra que requiere es pequeño y la prueba no es destructiva, la interferencia espectral del agua es mínima, y adicionalmente existe una mayor resolución de los espectros y mayor sensibilidad para la diferenciación de factores conformacionales

Nanoestructuras metálicas

Las técnicas ópticas de reflexión, absorción y dispersión son herramientas centrales para la caracterización de nanomateriales, estructuras organizadas y nanomateriales ensamblados químicamente.

Generalmente, los nanomateriales se clasifican en cuatro grupos (Reyes 2019):

- Con base de carbón.
- Con base metálica: pueden ser puntos cuánticos, transistores de un solo electrón, o nanopartículas de oro, plata o de metales reactivos como el dióxido de titanio.
- Dendrímeros: polímeros manométricos contruidos a modo de arborescencia, las terminaciones de cada cadena de ramas pueden diseñarse para ejecutar funciones químicas específicas (una propiedad útil para procesos catalíticos).
- Composites: combinan nanopartículas con otras de distinta naturaleza o con materiales de mayor dimensión.

Para la técnica SERS se utilizan nanoestructuras metálicas, por ejemplo, nanopartículas esféricas que vayan de 1 a 100 nm de diámetro, que sean adecuadas para soportar resonancias de plasmones superficiales. Su interacción con la luz cubre la región espectral ultravioleta ($10 \text{ nm} < \lambda < 380 \text{ nm}$), visible ($380 \text{ nm} < \lambda < 780 \text{ nm}$), infrarrojo ($0,8 \text{ }\mu\text{m} < \lambda < 1000 \text{ }\mu\text{m}$), incluido el infrarrojo cercano ($0,8 \text{ }\mu\text{m} < \lambda < 2,5 \text{ }\mu\text{m}$) el infrarrojo medio ($2,5 \text{ }\mu\text{m} < \lambda < 50 \text{ }\mu\text{m}$) y el infrarrojo lejano ($50 \text{ }\mu\text{m} < \lambda < 1000 \text{ }\mu\text{m}$), que son las regiones de interés para las mediciones de la espectroscopía Raman e infrarrojas.

Para que una película delgada sea funcional para la técnica, se debe cumplir con las siguientes características o especificaciones (Reyes 2019):

- Estabilidad química y térmica, así como buena adherencia al sustrato.

- Espesor uniforme.
- Composición química controlada.
- Densidad de imperfecciones.

En cuanto al depósito de nanoestructuras y el método utilizado para el depósito, existen técnicas físicas, químicas (procesos químicos en fase gas o líquido) y métodos fisicoquímicos.

Las nanoestructuras son fundamentales para el mecanismo del efecto SERS pues pueden absorber la luz directamente, los plasmones superficiales se pueden excitar en pequeñas partículas metálicas o protuberancias superficiales, pero no se pueden excitar directamente en superficies metálicas planas (se requiere una geometría específica).

Esto debido a la radiación incidente, ondas electromagnéticas ligadas a la interfase debido a oscilaciones de la densidad electrónica del metal, también debido a la absorción y dispersión de la luz por las nanopartículas metálicas.

La absorción de luz por partículas nanométricas, seguida de la reflexión de la luz sobre superficies lisas, y su aplicación en la mejora selectiva de frecuencias vibratorias mediante reflectividad y polarización de la luz. En particular, en estructuras nanoscópicas genera un movimiento colectivo de electrones de conducción, o plasmón de superficie, que puede excitarse resonantemente por la luz visible o infrarroja cercana. El fotón de superficie tiene una amortiguación más débil y, por lo tanto, ofrece la ventaja de resonancias ópticas más fuertes y nítidas para aplicaciones de mejora en la región espectral del infrarrojo medio y Raman.

Cuando una nanopartícula esférica metálica (mucho más pequeña que la longitud de onda de la radiación incidente) es irradiada por una onda monocromática plana, el campo eléctrico oscilante hace que los electrones de conducción oscilen coherentemente. La ubicación de la frecuencia de oscilación en el espectro electromagnético está determinada por la función dieléctrica, así como por la forma y el tamaño de la partícula metálica.

Actualmente, las nanopartículas se utilizan comúnmente en las aplicaciones de SERS aunque esto implica enormes dificultades experimentales. Debido a esto, es que se centran muchos estudios en el desarrollo de los mecanismos fundamentales que hacen que las propiedades ópticas, electrónicas, físicas y químicas de estos nuevos materiales y las nanoestructuras fabricadas promuevan las aplicaciones de la técnica SERS.

METODOLOGÍA

La metodología empieza con la fabricación de sustratos de silicio de aproximadamente 6 mm de lado y 1 mm de espesor, de manera que las orillas del cuadrado queden lisas y sin defectos. Posteriormente, se colocan estos sustratos de silicio en una solución de 50:50 (etanol-agua).

La metodología experimental desarrollada se resume en la Figura 6.

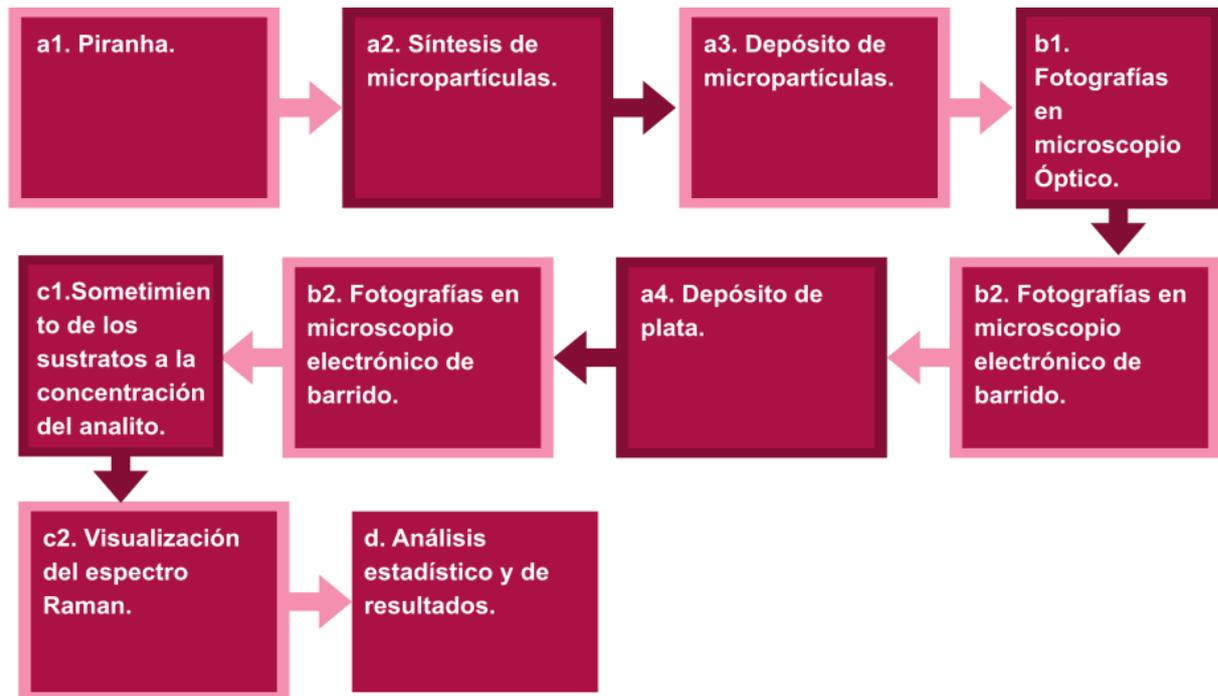


Figura 6. Metodología experimental.

a) Preparación de sustratos

La preparación de los sustratos de silicio para la detección del glifosato consta de los siguientes procesos:

a1. Piranha: Es un procedimiento de limpieza para eliminar toda la materia orgánica residual y promover una superficie hidrofóbica que mejora la dispersión, y así se obtienen arreglos más ordenados de micropartículas de sílice en la superficie de los sustratos. El material utilizado en el proceso de piranha está descrito en la Tabla V y Figura 7, respectivamente.

El tratamiento piranha comienza agregando el H_2SO_4 a temperatura ambiente y programando el equipo a $90\text{ }^\circ\text{C}$ y 250 rpm, al acercarse la temperatura a los $90\text{ }^\circ\text{C}$ se añade gota a gota H_2O_2 , evitando proyecciones u otros posibles riesgos. Cuando la solución empieza a efervescer se colocan dentro los sustratos, manteniendo la temperatura entre $100\text{ }^\circ\text{C}$ a $110\text{ }^\circ\text{C}$ por un tiempo

de 20 minutos, dejando que la solución alcance la temperatura ambiente con el control de temperatura apagado y en continua agitación. Se tratan los sustratos con tres lavados posteriores con agua destilada y tres con alcohol etílico de alta pureza para eliminar la humedad.

Tabla V. Material y reactivos utilizados para el procedimiento de Piranha.

Material		Reactivos	
1	Vaso de precipitado de 150 mL	Ácido sulfúrico	9 mL
2	Vasos de precipitado de 10 mL	Peróxido de hidrógeno	3 mL
2	Pipetas		
2	Perillas		
1	Agitador magnético		
1	Parrilla de agitación		
1	Termómetro		

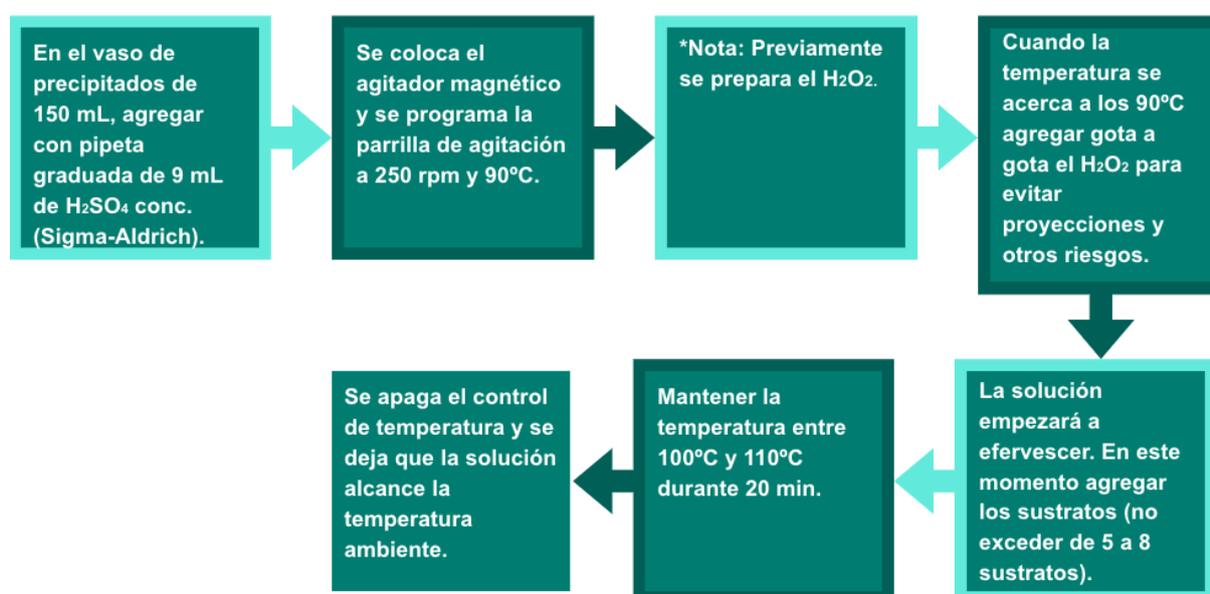


Figura 7. Proceso de Piranha.

a2. Síntesis de micropartículas de sílice: Es un proceso de formación de esferas de aproximadamente 600 nm de diámetro que se obtienen mediante un proceso de sol-gel del tetraetil ortosilicato (TEOS). Tanto el material utilizado como el proceso de la síntesis están descritos en la Tabla VI y en la Figura 8, respectivamente.

Tabla VI. Material y reactivos utilizados para el procedimiento de síntesis de micropartículas.

Material		Reactivos	
	Vaso de precipitado de 150 mL	Hielo	
1	Vasos de precipitado de 20 mL	Etanol	20 mL
3	Vasos de precipitado de 10 mL	TEOS*	1.8 mL
2	Pipetas	Agua destilada	8 mL
2	Perillas	Hidróxido de Amonio	5.5 mL
1	Agitador Magnético		
1	Parrilla de agitación		
2	Termómetro		

*TEOS: Tetraetilortosilicato.

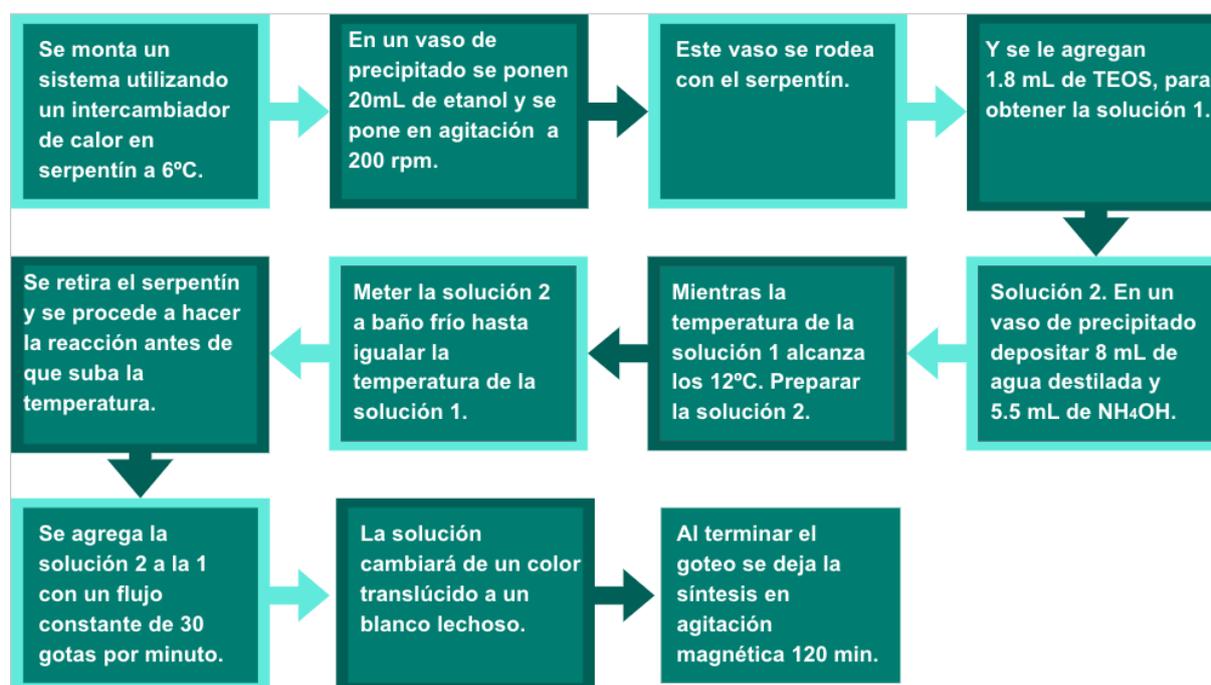


Figura 8. Diagrama de bloques del proceso de síntesis de micropartículas.

a3. Depósito de micropartículas: Los sustratos de silicio previamente preparados con piranha se utilizan para realizar un depósito de micropartículas mediante la técnica de spin-coating (en este trabajo se utilizó una velocidad de 500 rpm durante 60 s) y se puede observar el proceso de spin-coating para obtener una película delgada en la Figura 9.

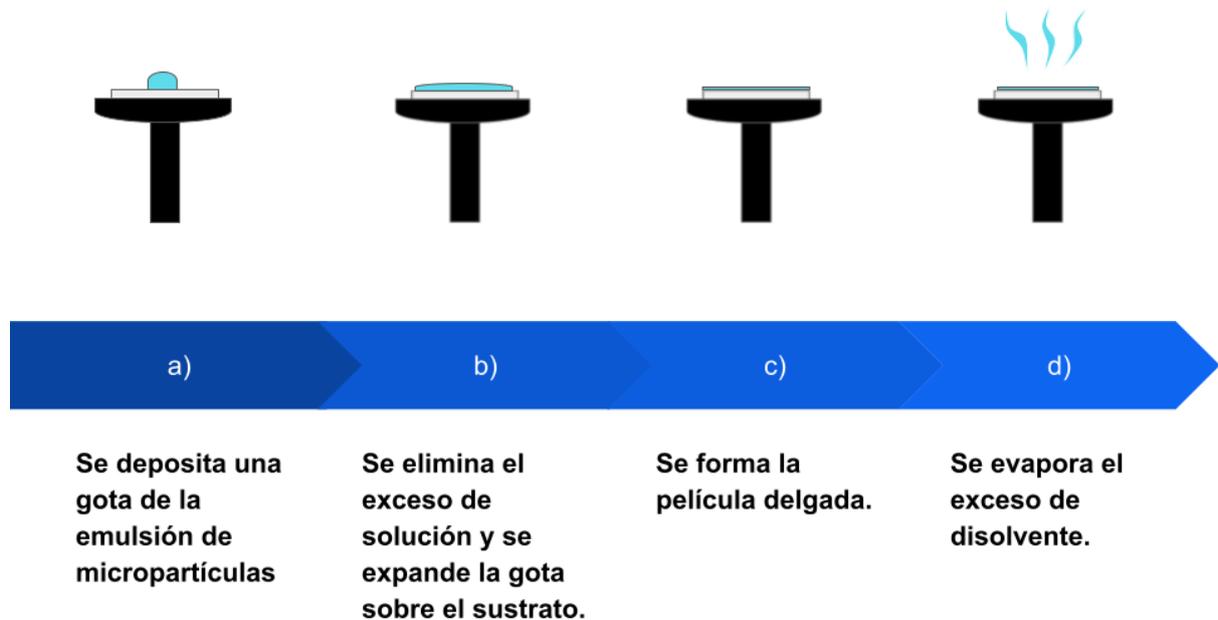


Figura 9. Proceso de spin-coating para obtener una película delgada.

a4. Depósito de plata. Una película de plata del espesor en el orden de nanómetros se deposita sobre la monocapa de las nanopartículas de silicio. Mediante la técnica física de evaporación por haces de electrones. Esta película es la que intensifica el campo eléctrico cercano a su superficie.

b) Caracterización de sustratos

b1. Fotografías con microscopio óptico. Una vez depositada las micropartículas de silicio se toman imágenes para observar que los sustratos tengan áreas extensas de monocapas, y éstos son seleccionados como sustratos para depósito de plata.

b2. Fotografías en microscopio electrónico de barrido. A los sustratos seleccionados se les toman imágenes con un microscopio electrónico de barrido (SEM), esto se hace antes y después del depósito de plata. Las unidades de las micropartículas son de micrómetros.

c) Medición de espectros Raman (Intensidad u.a. vs. corrimiento Raman)

c1. Preparación del analito: Concentración a realizar de glifosato diluido en agua ultra pura ya que la molécula es soluble en agua.

c2. Visualización de Espectro Raman: Éste se realiza con un espectrofotómetro Raman (Ocean Optics) adaptado a un microscopio óptico.

En la técnica SERS, la muestra (5 microlitros) a analizar es colocada sobre las nanoestructuras metálicas para que las moléculas del analito se adsorban a ellas, entonces se ilumina la muestra con un haz láser y la luz dispersada inelásticamente se colecta y se analiza con un espectrofotómetro. El resultado es un espectro de la luz dispersada característico de la molécula iluminada, proporcionando la información de los niveles vibracionales y rotacionales de ella. Como cuenta con la característica de alta sensibilidad y especificidad de detección, ayuda a que cualquier residuo o remanente de glifosato sea detectado con facilidad y eficiencia.

d) Análisis estadístico: Los datos estadísticos del proyecto fueron recolectados de las imágenes del SEM en el programa Image-J. Así como los gráficos de los espectros en el programa de Origin.

Equipo:



Balanza analítica



Dispensador



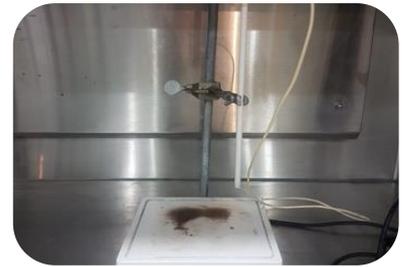
Humidificador



Micropipetas



Minispiner



Parrilla de agitación



Potenciómetro



Pipetas



Sonicador



Spinner

CAPÍTULO III

DESARROLLO TEÓRICO-EXPERIMENTAL

La técnica experimental, para la estandarización de esta, se inició con rodamina 6G ya que con sus características y su investigación de la técnica Raman-SERS sobre este analito, resultó conveniente debido a que es un colorante que tiene bandas de dispersión raman muy estudiadas y siendo eficiente para probar el efecto Raman-SERS es una de las moléculas más socorridas para hacerlo. Por las características de la rodamina, mencionadas en la introducción, se utilizó para desarrollar la metodología experimental y después aplicarlos al proyecto del glifosato.

Como la técnica se basa en que el ordenamiento de micropartículas ayudará a mejorar la detección del espectro Raman, es muy importante la verificación de un arreglo adecuado, por eso se tomaron fotografías de cada uno de los sustratos en un microscopio electrónico de barrido (SEM), para corroborar que tanto el ordenamiento de la síntesis como el depósito de plata se realizaron correctamente. Esto se puede comprobar con el resultado de partículas homogéneas y zonas adecuadas para la caracterización de tamaños, dispersión y empaquetamiento de microesferas mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM), para la obtención de resultados.



Figura 10. Sustratos de silicio depositados con microesferas de sílice antes de su caracterización en el microscopio electrónico de barrido (SEM).

En la Figura 10 se observa una fotografía de los distintos sustratos de silicio colocados en una estructura metálica la cual es parte del microscopio electrónico de barrido (SEM). Los sustratos de silicio claramente tienen colores tornasolados; esto nos indica un depósito correcto de micropartículas y se espera ver en el SEM un arreglo parecido al de las Figuras 11,12 y 16,17.

RODAMINA 6G

Microfotografías por microscopía electrónica de barrido. En las Figuras 11 y 12 se presentan imágenes de microesferas de SiO₂ tomadas mediante SEM.

Los arreglos observados en las Figuras 11 y 12 muestran una síntesis homogénea, tanto por el tamaño de las partículas como por el ordenamiento. También se puede apreciar claramente la capa de plata depositada (Figura 12); ésta se ve como una superficie rugosa alrededor de las micropartículas, el espesor de esta capa es de aproximadamente 50 nm. Gracias a esta rugosidad y al arreglo de microesferas la rodamina pudo ser detectada mediante la técnica SERS.

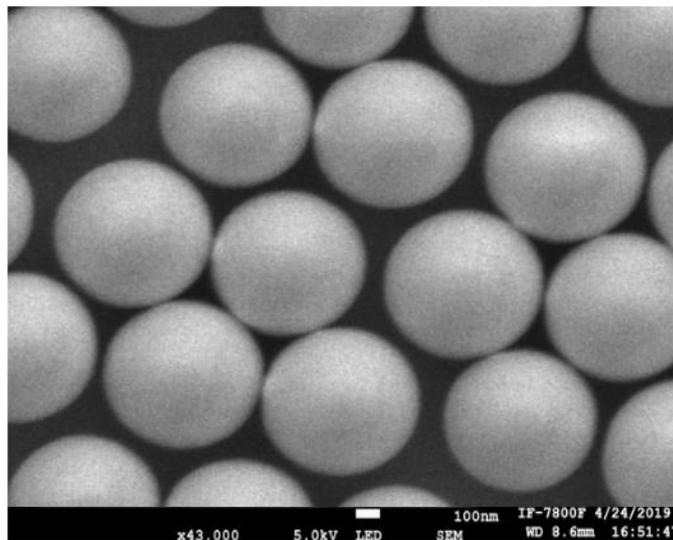


Figura 11. Micropartículas después de realizar la síntesis y el depósito.

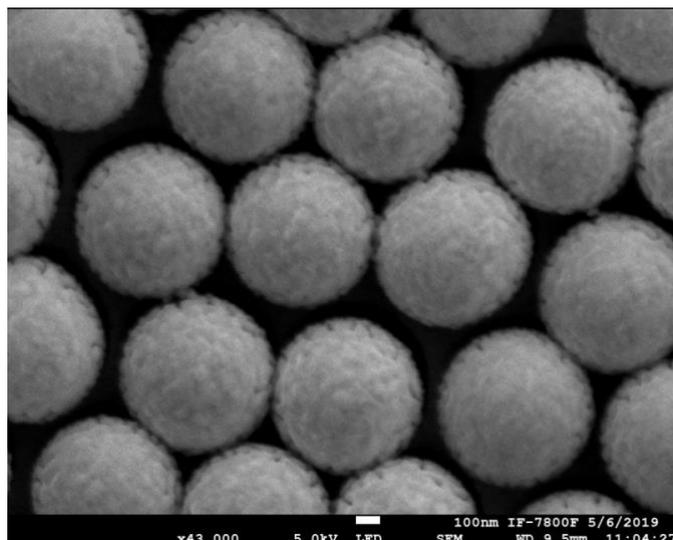


Figura 12. Micropartículas con Ag.

Espectros SERS. Se obtuvieron los espectros SERS en los que se busca la detección de concentraciones muy pequeñas de determinados compuestos, en esta primera parte del proyecto el analito es la rodamina 6G.

En los espectros analizados, como el de la Figura 13 el cual pertenece a la muestra S326B con la concentración de $1 \times 10^{-6} \text{M}$, se pueden observar los picos característicos de rodamina de acuerdo a la bibliografía (Flores-Romero et al., 2018). Estos resultados dan a notar la alta sensibilidad del método y la fiabilidad de éste para la detección. También se analizaron los demás espectros de las muestras a sus correspondientes concentraciones, por lo que se pudo determinar su resultado positivo para espectro SERS.

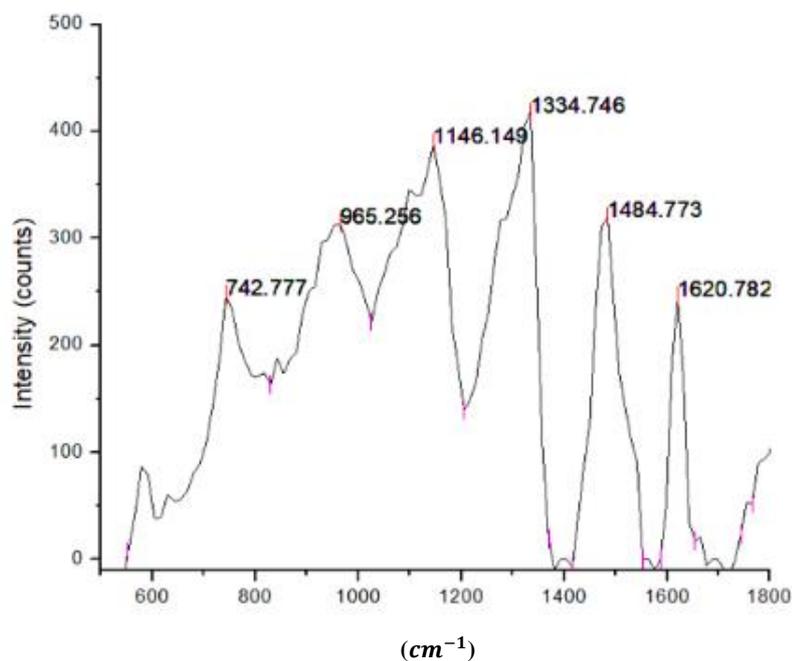


Figura 13. Espectros Raman-SERS de la muestra con rodamina, concentración $1 \times 10^{-6} \text{M}$ con objetivo 40x.

En cuanto a la Figura 14 se sometió a la muestra a pasar 18 h en etanol, logrando quitar total o parcialmente el analito, con la finalidad de que las muestras sean reutilizables. En este espectro se puede ver que no hay picos característicos ni señal clara de interpretar.

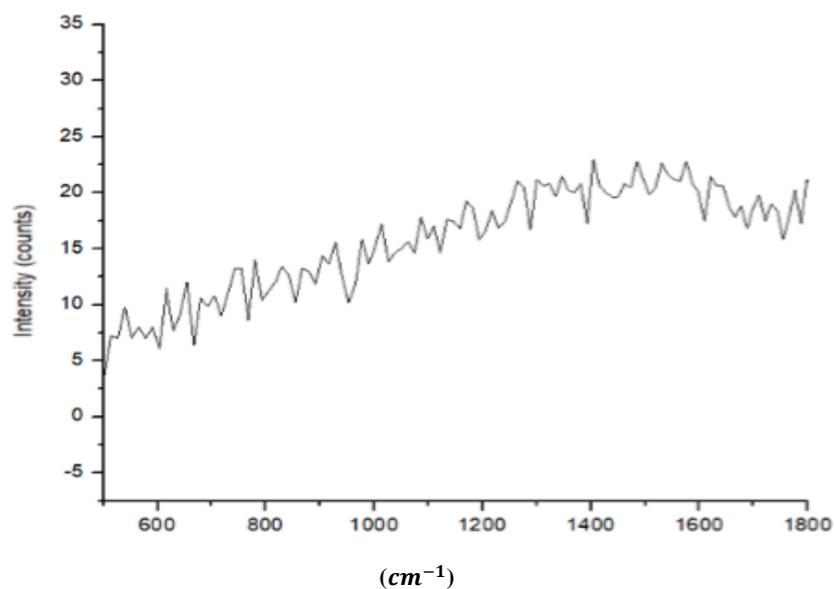


Figura 14. Espectro de la muestra con objetivo 40x después de un lavado en etanol por 18 horas.

Tabla VII. Espectros Raman observados a diferentes concentraciones de rodamina 6G.

Muestra	Concentración	Resultados para espectro SERS
S326B	$1 \times 10^{-6} \text{M}$	Positivo
S326C	$1 \times 10^{-7} \text{M}$	Positivo
S322	$1 \times 10^{-8} \text{M}$	Positivo
S318	$1 \times 10^{-9} \text{M}$	Positivo

GLIFOSATO

La molécula a analizar será el glifosato, obtenido como un herbicida comercial; en la Figura 15 se anotaron algunas características de la etiqueta de la muestra.

Para las mediciones se utiliza la disolución glifosato comercial a una concentración de $1 \times 10^{-5} \text{M}$.

En las Figuras 16 y 17 se presentan imágenes de microesferas de SiO_2 tomadas mediante SEM, en las que se ve el autoensamblado de las esferas, éste es un resultado característico de un trabajo experimental realizado adecuadamente para resultados positivos en detección. En la Figura 17 se muestra una síntesis homogénea, pero también se puede apreciar claramente la capa de plata depositada, ésta se ve como una superficie rugosa alrededor de las partículas, el espesor de esta capa es de aproximadamente 50 nm. Gracias a esta rugosidad y al arreglo de microesferas, el glifosato se detectó mediante la técnica SERS.

Marca: FAENA FUERTE	
“Uso agrícola”	
Glifosato	
Herbicida y desecante agrícola concentrado soluble.	
Contenido Neto 1L	
reg. RSCO-HEDE-0230-346.375-036	
@Marca Registrada por Monsanto, Comercial S. de R.L. de C.V.	
Composición porcentual:	
Glifosato al 81%.....	35.6%
Ingredientes Inherentes.....	64.4%

Figura 15. Características de la etiqueta de glifosato comercial.

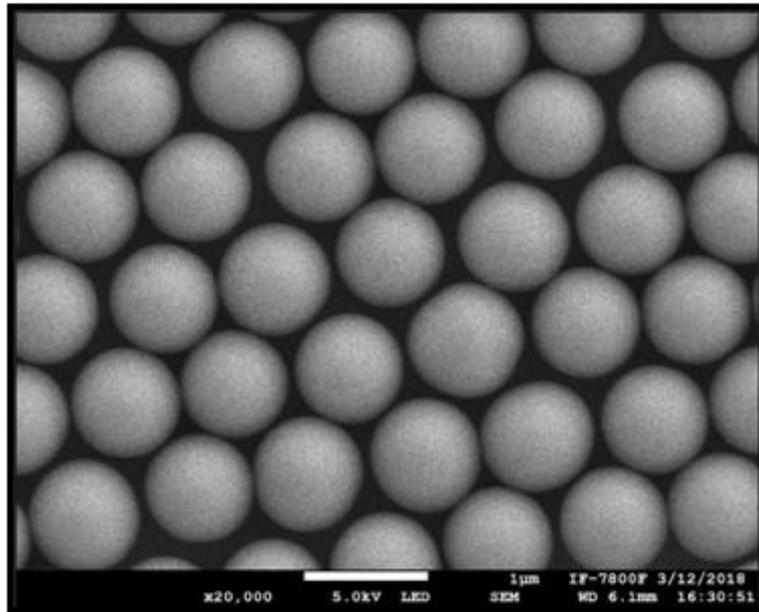


Figura 16. Micropartículas de silicio después de realizar la síntesis y el depósito.

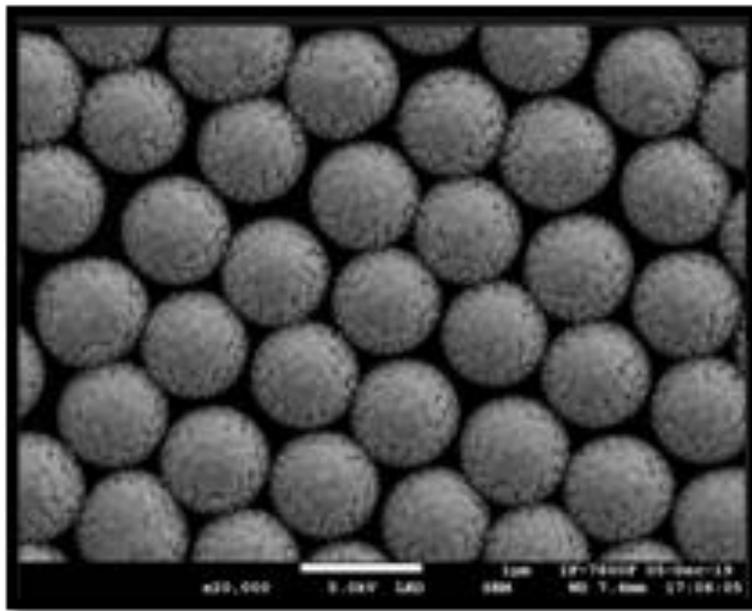


Figura 17. Micropartículas con Plata.

- Diámetro de las microesferas

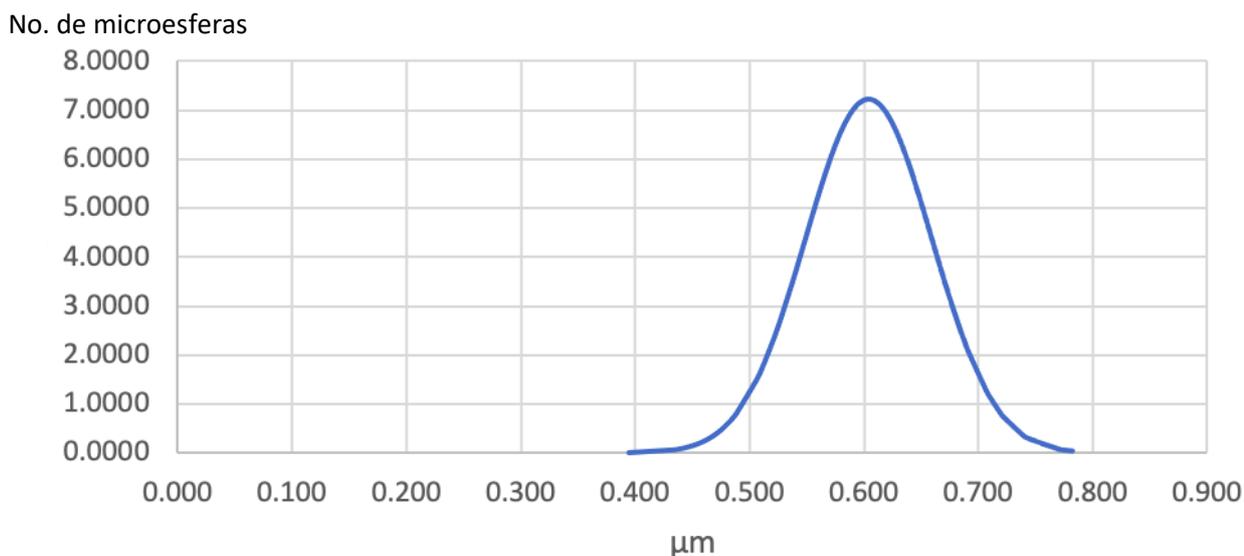


Figura 18. Curva normal de los tamaños de las microesferas.

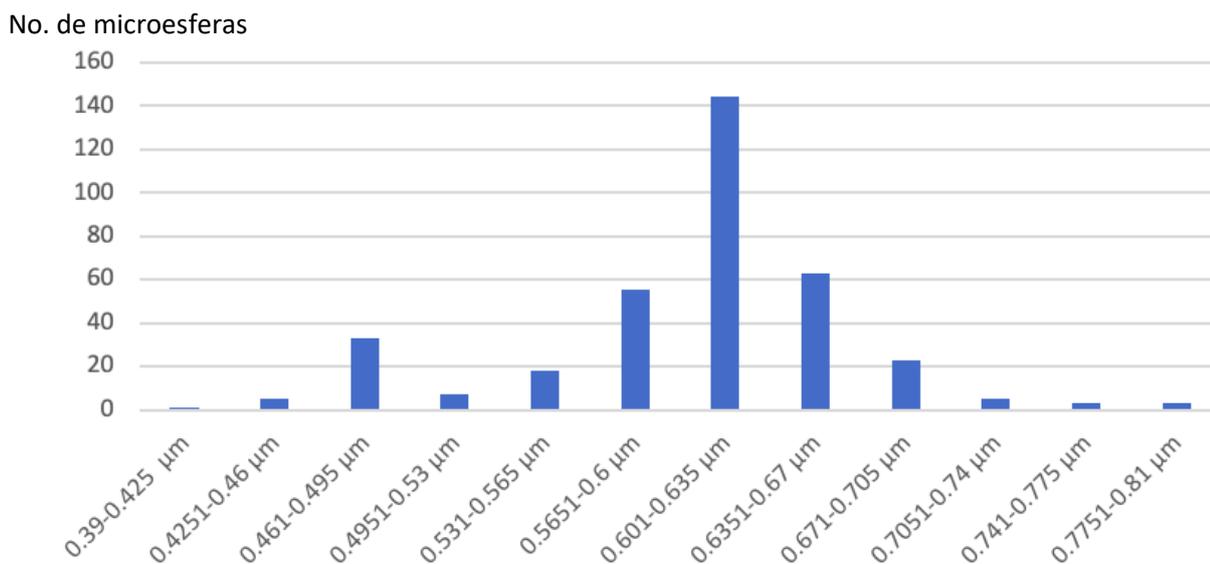


Figura 19. Frecuencia del tamaño de las microesferas.

Los datos estadísticos de esta síntesis están en la Tabla VIII, complementados con las Figuras 18 y 19 en las que se observa que la mayor parte de las microesferas tiene un diámetro en el intervalo de 0.601-0.635 μm , estos datos estadísticos fueron obtenidos de las imágenes del SEM y procesados con el programa Image-J.

Estos resultados son congruentes con las Figuras 16 y 17 ya que se puede ver la homogeneidad en el diámetro.

Tabla VIII. Datos estadísticos del diámetro de las microesferas en μm medidos por el programa Image-J.

Mínimo	0.394
Máximo	0.782
Promedio	0.604
SD	0.055

- **Espectros SERS:** Se obtuvieron los espectros SERS de concentraciones muy pequeñas de determinados compuestos; en este proyecto el analito es el glifosato.

Los sustratos SERS se sumergieron por 24 h en el glifosato antes de ser analizados con distintas longitudes de onda y distintos equipos como se explica a continuación.

En las Figuras 20 y 21 se observan 2 espectros diferentes dados por la técnica SERS. En la Figura 20 el espectro se realizó con un equipo Raman modular con spot láser de alrededor de 50 micrómetros de diámetro, con una longitud de onda $\lambda = 532 \text{ nm}$ y un objetivo de 40x obteniendo un espectro que no tiene máximos claros. Por lo que no se continuó con ese equipo y se utilizó uno más especializado en el laboratorio de materiales del Instituto de Física. Este segundo equipo cuenta con un spot de aproximadamente 1 micrómetro, y una longitud de onda $\lambda = 780 \text{ nm}$, con él se obtuvo el espectro de la Figura 21, donde los máximos fueron muy claros.

El segundo equipo de donde se obtuvieron los espectros Raman se recogieron con un detector CCD y un microscopio óptico utilizando un objetivo de $50\times$ con un valor de apertura numérica (NA) de 0,75. Las mediciones se realizaron con un orificio o hendidura de 50 (Microscopio DXR Raman).

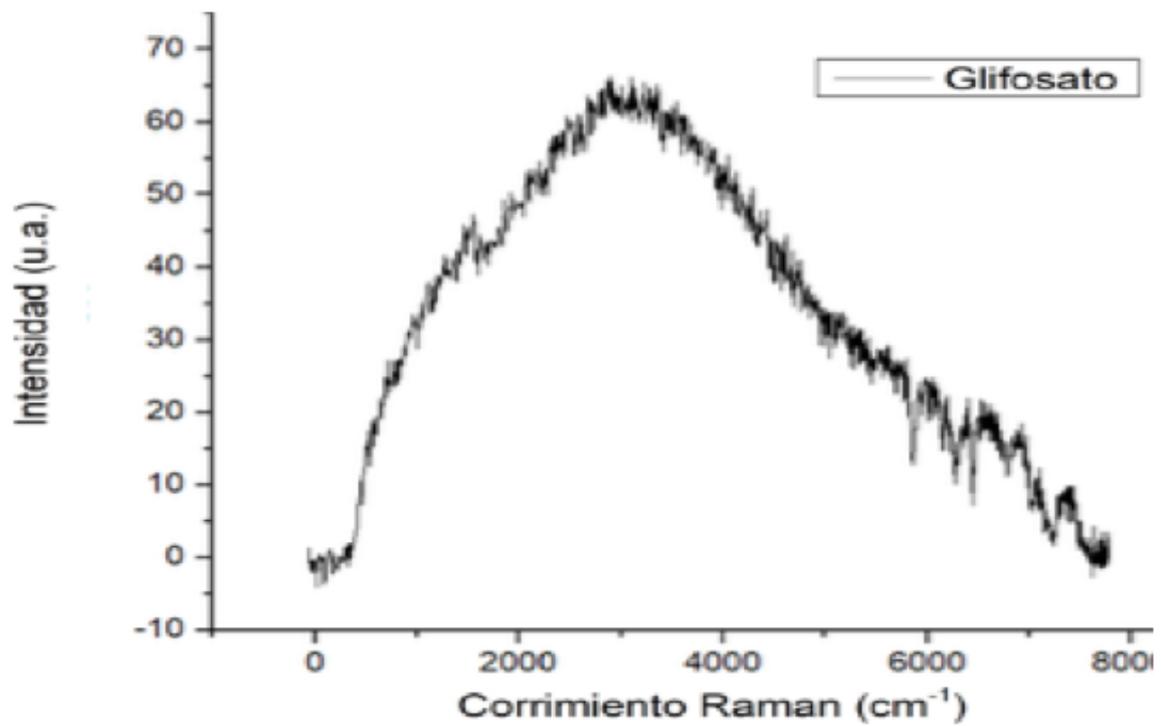


Figura 20. Espectro de muestra de silicio con glifosato concentración 1×10^{-5} M. Se obtuvo con un equipo Raman modular.

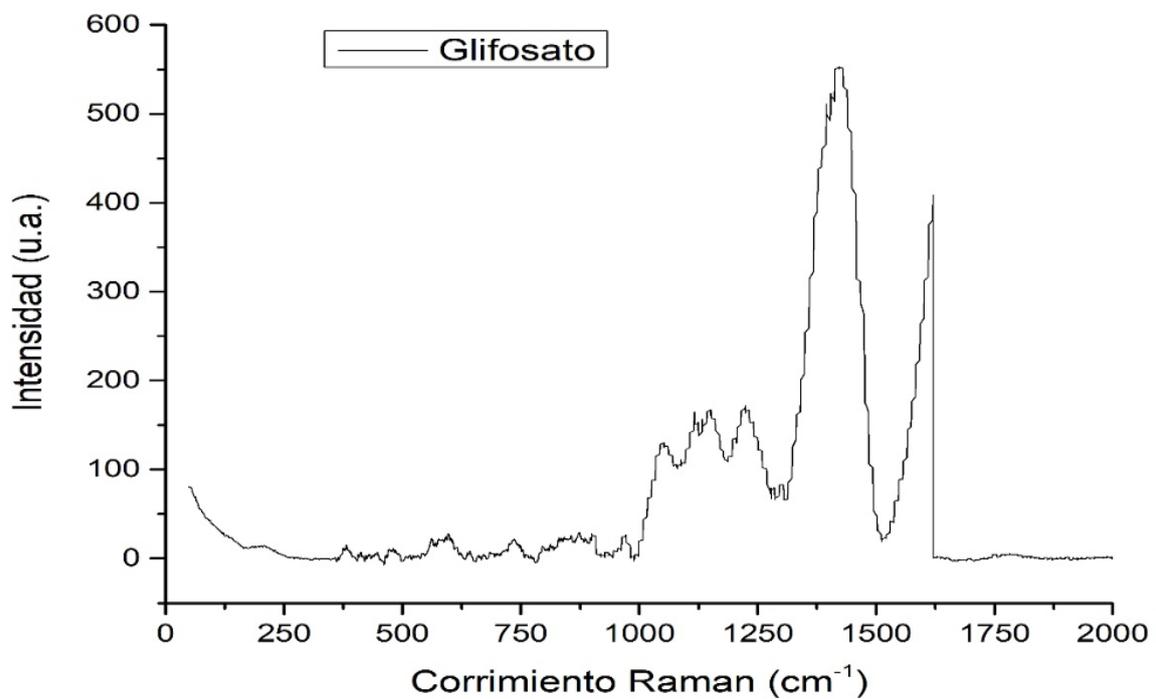


Figura 21. Espectro en muestra de silicio con glifosato concentración. Espectro en muestra de silicio con glifosato concentración 1×10^{-5} M. (Microscopio DXR Raman).

La Figura 22 es el resultado de un sustrato que *no* cuenta con un depósito de microesferas ni película metálica, en este espectro se observó que la señal es inapreciable por lo tanto no serviría como método analítico de detección corroborando que la eficientización de la técnica SERS como una técnica de detección molecular.

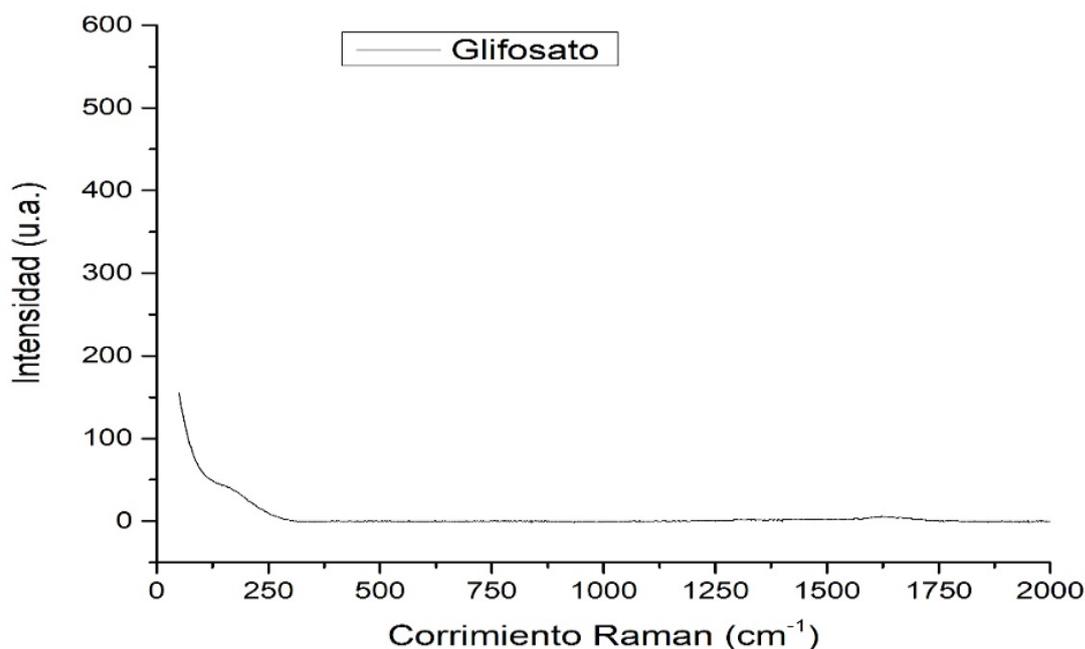


Figura 22. Espectro de muestra con glifosato concentración 1×10^{-5} M. Sin técnica SERS. (Microscopio DXR Raman).

Para verificar los resultados, los datos del espectro en la Figura 21 fueron comparados con la literatura (Ascolani y Tognalli, 2012) y se presentan en la Tabla IX.

En la Tabla IX se pueden observar tres columnas, donde se comparan los resultados experimentales con la literatura (Ascolani, 2012). La primera columna tiene los datos de la muestra experimental (el glifosato comercial), que fueron analizados de la Figura 21 y medidos con una longitud de onda $\lambda = 780 \text{ nm}$.

En la columna dos y tres se encuentran los datos reportados en la literatura con una longitud de onda $\lambda = 532 \text{ nm}$ correspondientes a cristales de glifosato y de cristales AMPA (ácido aminometilfosfónico).

Se dan anotaciones mediante símbolos que determinan la intensidad que tuvieron los picos en la Figura 21 y los reportados en la literatura (Ascolani, 2012), correspondiendo a un pico muy

intenso como “↑↑”, uno intenso “↑”, de intensidad media “↔”, de baja intensidad “↓”, de intensidad muy débil “↓↓” y un hombro “∩”, el cual es una pequeña señal ligada a un pico.

De acuerdo con los máximos encontrados en la Figura 21 y su comparación con la literatura, la muestra analizada tiene espectros acordes con cristales de glifosato, pero sobre todo corresponde a cristales AMPA, esto quiere decir que el glifosato sufre una degradación a AMPA. Los perfiles toxicológicos del glifosato y del AMPA son similares y se considera que ambos presentan toxicidad (OMS. 2006).

Dando como resultado una caracterización correspondiente del analito buscado y también obteniendo características de una muestra que presentó degradación.

Tabla IX. Comparación de los máximos encontrados en el espectro SERS experimentales con la literatura.

Experimental (cm ⁻¹)	Literatura (Ascolani y Tognalli, 2012)	
	Cristales AMPA (cm ⁻¹)	Cristales glifosato (cm)
1580 (↑)	-	1557 (↓)
1550 (↔)	-	-
1510 (↓)	-	-
1450 (↑↑)	1456 (∩)	1465 (↑)
1422 (↑↑)	1436 (↔)	1427 (↔)
1304 (↓)	1318 (↓)	-
1197 (∩)	-	1196 (↓)
1170 (↑)	1185 (↓↓)	-
1151 (↔)	1151 (↓)	-
1116 (↔)	1116 (↓↓)	-
1088 (↓↓)	1085 (↓↓)	1080 (↓)
971 (↓)	973 (↓↓)	-
737.6 (↓)	730 (↔)	-

Los picos más prominentes se encuentran en 1422, 1304, 1151 cm⁻¹, los cuales según la literatura (Rojo, 2009) se asignan a la vibración de torsión/estiramiento del carboxilo terminal, flexión de metileno con cadenas largas y grupos polares terminales (ácidos, ésteres, amidas), torsión/estiramiento de alcohol terciario terminal, respectivamente. Siendo estos compuestos pertenecientes a las moléculas de glifosato y AMPA, por lo que se detecta positivamente la presencia de ambos por este medio.

CAPÍTULO IV

GLIFOSATO

En la Ecuación 1 se calcula el tipo de adsorción que ocurre en nuestro analito, mediante los datos utilizados que están en la Tabla I (Choque, 2019).

Como mencionamos anteriormente la interacción es clasificada por la entalpía H de la reacción, al ser más negativa que -40kJ/mol la interacción será clasificada como adsorción química (Aroca, 2006).

Ecuación 1

Datos del Glifosato utilizados:

$$\Delta G = -55.129 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}}$$

$$T\Delta S_{298\text{K}} = 0.111 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}}$$

Energía HOMO: -10.37 eV

Energía LUMO: -0.36 eV

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

$$\Delta H = \Delta G + T\Delta S$$

$$\Delta H = -55.129\text{K} \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}} + 0.111 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}}$$

$$\Delta H = -55.018 \frac{\text{Kcal}}{\text{mol}}$$

$$\Delta H = -230,195.312 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}}$$

ANÁLISIS COMPLEMENTARIO IR DE LAS MOLÉCULAS DEL GLIFOSATO.

El glifosato es una molécula que presenta en su estructura tres grupos funcionales, el ácido carboxílico, fosfónico y amina. En la Tabla X se describen las regiones de absorción en el espectro IR en función de la estructura química del glifosato.

Tabla X. Regiones de absorción en el espectro IR en función de la estructura química del glifosato (Herrera, 2011; Rojo, 2009 y Larkin, 2011).

Frecuencia		Literatura (Herrera, 2011 y Rojo, 2009)	
(cm ⁻¹)	Intensidad	Grupo	Nota
2935-2915	Chica	-CH ₂ -	
2865-2845	Chica		
1468 1430 1334 1440-1400	Intensas y agudas	-CH ₂ - CO	Entre las más comunes de 1465 a 1380
1560 1485 1640-1560	Chica a mediana	Amina secundaria R - NH - R	Flexión de tijera
3000			Los estiramientos simétricos y asimétricos de N-H se traslapan sobre la banda C-H, se le llama banda de amonio
769 900-650	Mediana, ancha	R - NH - R	Característico de amina primaria y secundaria, no en terciarias. Por estiramiento
1733 1725-1700	Intensa	Ácido carboxílico C = O	Característica del grupo carbonilo, debido al estiramiento.
3000-2200	Ancha		Por puentes de hidrógeno del (-OH)
1422 1262 1420-1200	Dos señales una ancha en 1320-1200 otra más débil en 1440-1390		Flexión por el C - OH Estiramiento
960-875	Ancha y mediana		

1285 1350-1140	Intensa	$P = O$	
1296	Media	$P = C$	Deformación asimétrica
1160 1093 2800-2100		$P - OH$	Vibraciones simétricas y asimétricas
2450-2270		$P - H$	

De acuerdo con la bibliografía (Herrera, 2011) las regiones de 2840, 1468, 1430 y 1334 cm^{-1} son las vibraciones simétricas y asimétricas por el metilo correspondientes al glifosato en IR.

-Existen tensiones asimétricas y simétricas del $N - H$, vibraciones por la amina secundaria en 3013, 1560, 1485 y 796 cm^{-1} . Debido a que las aminas secundarias tienen una banda de estiramiento IR más fuerte cerca de 3300 cm^{-1} pero más fuerte en el espectro Raman.

-También en las regiones 1733, 1262 y 1203 cm^{-1} existen bandas que corresponden a vibraciones de tensión de los grupos $C = O, C - O, C - OH$.

En la región espectral de 1422 cm^{-1} se encuentra la banda de absorción debido a la flexión del $C - OH$ y en 915 cm^{-1} la vibración debido a la flexión del grupo $-OH$ fuera del plano.

-La vibración de estiramiento del grupo $P = O$, aparece como una banda intensa en la región de 1285 cm^{-1} IR mientras que la intensidad de la banda Raman es de moderada a débil.

Además de una deformación asimétrica del grupo $P = C$ en la región de 1269 cm^{-1} .

Con vibraciones simétricas y asimétricas del $P - OH$ en 1160 y 1093 cm^{-1} y Raman con bandas entre 1200 y 950 cm^{-1} del tramo fuera de fase que puede aparecer como un doblete, posiblemente debido a la resonancia (Larkin, 2011).

Esto se puede observar más claramente en la Tabla XI donde se comparó con lo presentado en la bibliografía (Herrera, 2011) con los resultados experimentales. Reiterando la complementariedad de las espectroscopías. Teniendo rangos similares.

Tabla XI. Comparación de los máximos encontrados en el espectro IR y SERS experimentales con la literatura.

Experimental (cm^{-1})	Literatura	
	IR glifosato (cm^{-1}) (Herrera, 2011)	SERS glifosato (cm^{-1}) (Ascolani, 2012)
1580 (\uparrow)		1557 (\downarrow)
1550 (\leftrightarrow)	1560	-
1510 (\downarrow)	1485	1034 ($\uparrow\uparrow$)
1450 ($\uparrow\uparrow$)	1468	-
1422 ($\uparrow\uparrow$)	1422	1427 (\leftrightarrow)
1304 (\downarrow)	1334	-
1197 (\curvearrowright)		1196 (\downarrow)
1170 (\uparrow)		-
1151 (\leftrightarrow)	1160	-
1116 (\leftrightarrow)		
1088 ($\downarrow\downarrow$)	1093	1080 (\downarrow)
971 (\downarrow)		-
737.6 (\downarrow)	796	-

ANÁLISIS COMPLEMENTARIO IR DE LAS MOLÉCULAS DEL AMPA.

En cuanto al espectro IR del AMPA el cual conserva la mayoría de los grupos funcionales del glifosato tiene, según la bibliografía (Barja, 1999), una banda fina a 3113 cm^{-1} , un grupo de bandas en la zona de 2900 a 2600 cm^{-1} y una banda aislada a 2100 cm^{-1} .

La banda a 3113 cm^{-1} corresponde al estiramiento $N-H$, mientras que el conjunto de máximos entre 2900 y 2600 cm^{-1} y se debe principalmente a bandas de combinaciones de (NH) como la banda a 2120 cm^{-1} .

La zona de bajas frecuencias $2000-400 \text{ cm}^{-1}$ no se halla tan influenciada por los efectos de la red del cristal por lo que la interpretación del espectro en esta zona resulta ser más compleja, las cuales se pueden analizar en la Tabla XII de acuerdo a la estructura química del AMPA.

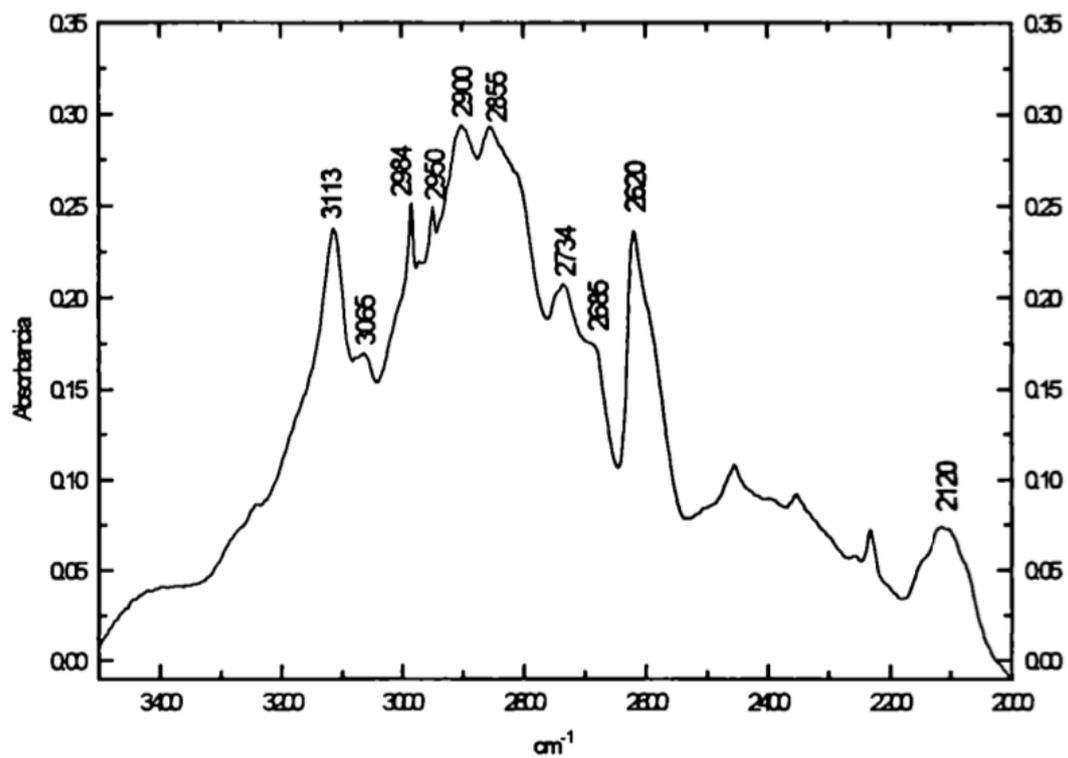


Figura 23. Espectro IR del AMPA sólido en pastilla de KBr, entre $3500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ (Barja, 1999).

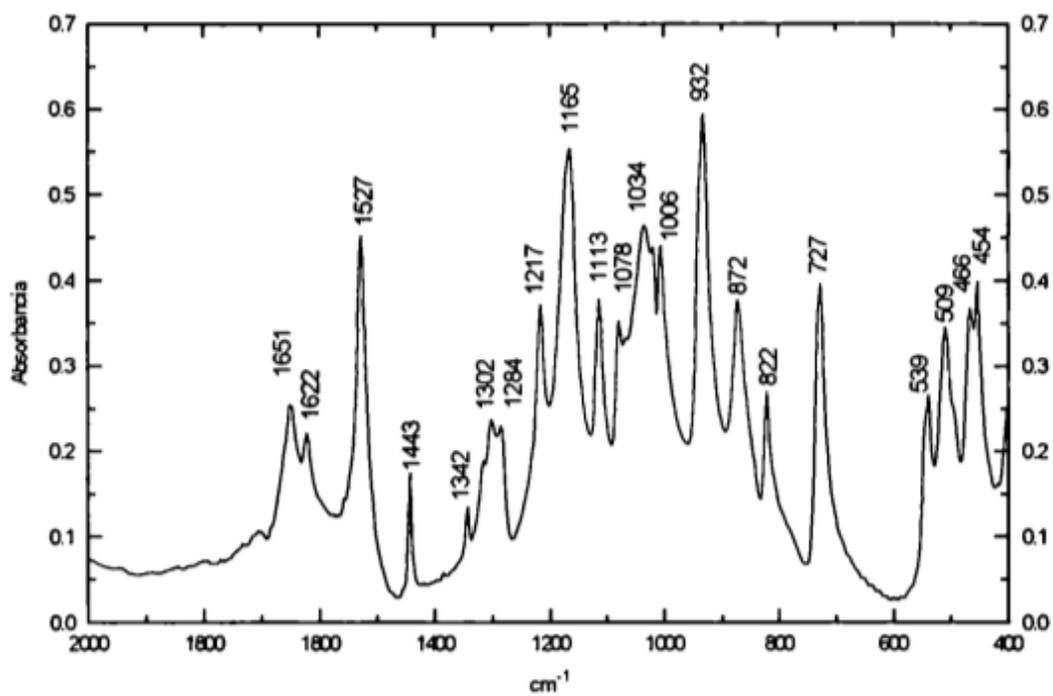


Figura 24. Espectro IR del AMPA sólido en pastilla de KBr, entre $2000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ (Barja, 1999).

Tabla XII. Regiones de absorción en el espectro IR en función de la estructura química del AMPA (Rojo, 2009 y Larkin, 2011).

Frecuencia (cm ⁻¹)	Intensidad	Literatura	
		Grupo	Nota
2935-2915	Chica	$R - CH_2 - R$	
2865-2845	Chica		
3500	Estiramiento simétrico	Amina primaria $R - NH_2$	Característico de amina primaria
3400	Estiramiento asimétrico		
1640-1560	Chica a mediana		Flexión de tijera
900-650	Mediana, ancha		Característico de amina primaria y secundaria, no en terciarias
3000	Ancho	Amina primaria $R - NH_3^+$	Los estiramientos simétricos y asimétricos de N-H se traslapan sobre la banda C-H, se le llama banda de amonio
1350-1140	Intensa	$P = O$	
1296	Media	$P = C$	Deformación asimétrica
2800-2100		$P - OH$	Vibraciones simétricas y asimétricas
2450-2270		$P - H$	

En la Tabla XIII se encuentran los datos de espectros Raman-SERS IR mostrados en las Figuras 23 y 24 extraídos de la literatura (Barja, 1999) y también los datos experimentales del espectro SERS que se desarrolló mediante la metodología experimental, donde al comparar con el espectro IR de acuerdo con la Tabla XII, y complementa el espectro Raman obtenido experimentalmente.

De nuevo corroborando que las similitudes experimentales corresponden al producto de degradación del glifosato llamado AMPA.

Tabla XIII. Comparación de los máximos encontrados para AMPA en el espectro IR de la literatura y Raman-SERS experimental.

Experimentales (cm ⁻¹)	Literatura	
	SERS, AMPA (cm ⁻¹) (Ascolani, 2012)	IR, AMPA (cm ⁻¹) (Barja, 1999)
1580 (↑)	-	
1550 (↔)	-	1527
1510 (↓)	-	
1450 (↑↑)	1456 (↷)	
1422 (↑↑)	1436 (↔)	1443 (↓)
1304 (↓)	1318 (↓)	1342 (↓)
1197 (↷)	-	
1170 (↑)	1185 (↓↓)	1165 (↑↑)
1151 (↔)	1151 (↓)	
1116 (↔)	1116 (↓↓)	1113 (↔)
1088 (↓↓)	1085 (↓↓)	1078 (↷)
971 (↓)	973 (↓↓)	932 (↑↑)
737.6 (↓)	730 (↔)	727 (↑)

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

En cuanto a la técnica Raman-SERS en su desarrollo experimental fue positivo en sus diferentes etapas: la síntesis de microesferas de sílice mediante la técnica de sol-gel, el depósito de microesferas sobre sustratos de silicio mediante la técnica de spin-coating, así como el depósito de películas delgadas de Ag en sustratos con y sin microesferas, y finalmente en la obtención de los espectros Raman-SERS.

Rodamina 6G:

La obtención e interpretación de espectros Raman-SERS en las muestras propició espectros adecuados para la identificación de las diferentes concentraciones Molares de rodamina 6G mostrados en la Tabla VII. Esto sirvió para las bases del desarrollo experimental, para determinar el umbral de detección por medio de espectroscopía Raman-SERS, en cuanto a los resultados se muestra que se logró una detección de $1 \times 10^{-9} \text{M}$.

Glifosato y AMPA:

Al analizar los espectros obtenidos experimentalmente, la aplicación de la técnica Raman-SERS resultó positiva debido a la interacción de las nanoestructuras metálicas con las moléculas del glifosato, por lo tanto se concluye que el método Raman-SERS resulta adecuado para la detección del glifosato y su producto de degradación AMPA.

En la Tabla IX se observó, utilizando como fuente de excitación un láser con longitud de onda $\lambda=780 \text{ nm}$, la presencia de bandas correspondientes a la molécula de glifosato pero sobre todo señales que coinciden con la molécula de cristales de AMPA el cual es un producto de degradación del glifosato, que tiene un rango de toxicidad similar al glifosato y constituye una contaminación secundaria pues éste es un metabolito que presenta una mayor facilidad para su acumulación.

En este caso la espectroscopía Raman-SERS, por su alta sensibilidad y especificidad de detección, permite detectar concentraciones de hasta $1 \times 10^{-5} \text{M}$ de glifosato y sus productos de degradación de manera eficiente y contando con ventajas en su aplicación (siendo una prueba no destructiva).

De acuerdo con los resultados del glifosato y AMPA, el mecanismo que ocurre en la técnica que hace capaz de mejorar la detección, es el químico (transferencia de carga), éste se basa en la transferencia de carga entre las moléculas adsorbidas y la superficie metálica. Sin embargo, los indicios experimentales hallados hasta la fecha, apuntan a considerar que la transferencia de carga junto con el mecanismo electromagnético se dan simultáneamente (Reyes 2019).

Los residuos del glifosato están muy extendidos en los alimentos, sobre todo en aquellos que contienen cereales (donde se ha usado el glifosato previamente en su cosecha), maíz transgénico o productos derivados de la soya. Además, se ha detectado en agua potable, vino, cerveza y tortillas (Watts et al., 2016).

Como método para remediar la contaminación de los suelos y por lo tanto de residuos en los alimentos, en México a través de un decreto publicado en el Diario Oficial de la Federación se establece que la fecha de prohibición del uso de glifosato es a partir 31 de enero de 2024.

El desarrollo de esta técnica para la detección de otros contaminantes de alimentos podría impactar directamente en el área regulatoria de la industria alimentaria.

Referencias

- Anderson, W.** (1996). *Weed Science: Principles* (3rd edition ed.). New York. West Publishing Co.
- Arellano, O. y Rendón, J.** (2016). *La huella de los plaguicidas en México*. Ciudad de México. Greenpeace México A.C.
- Aroca, R.** (2006). *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*. University of Windsor, Ontario, Canadá. John Wiley & Sons, Ltd.
- Ascolani, J., & Tognalli, N.** (2012). *Nanoestructuras plasmónicas para SERS. Estudio de las propiedades fundamentales y su aplicación para detección de glifosato*. Tesis de Maestría en Física, Universidad Nacional de Cuyo, Argentina, 1-73.
- Barja, B.** (1999). *Interacción química del Herbicida Glifosato y compuestos relacionados con Fe (III)*. Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas. Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Choque, R., & Nogales, J.** (2019). Estudio de propiedades moleculares del glifosato usando métodos químico-cuánticos computacionales. *Con-ciencia*, 7(1), 41-56.
- Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).** (2019,). *Monografía sobre el glifosato. Secretaría Ejecutiva de la Comisión Intersecretarial de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados*. Gobierno de México. Retrieved December 05, 2022, from https://conacyt.mx/cibiogem/images/cibiogem/comunicacion/MONOGRAFIA_SOBR E_GLIFOSATO_19.pdf
- DOF.** (2020). DECRETO. *Diario Oficial de la Federación*. Retrieved February 28, 2023, from

https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5609365&fecha=31%2F12%2F2020#gsc.tab=0

The EFSA Journal. (2009). Safety evaluation of ractopamine. (1041), 1-52.

<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1041>

Flores, E., Rodríguez, L., & Cheang, J. C. (2018). Silver films over silica microspheres (AgFOSM) as SERS substrates. *Photonics and Nanostructures Fundamentals and Applications. Photonics and Nanostructures Fundamentals and Applications*, 28, 81-87.

Herrera, M. (2011). *Implementación de una metodología para la determinación de glifosato en muestras de agua*. Tesis de licenciatura. Universidad Industrial de Santander, Colombia.

Islas, G. (2013). *Determinación de Glifosato y ácido Aminometilfosfónico en suelos mediante HPLC con derivatización pre-columna*. Tesis de Maestría en Química, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.

Larkin, P. (2011). *Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation*. Elsevier Science. USA

Li, J. F., Huang, Y. F., Ding, Y., Yang, Z. L., Li, S. B., Zhou, X. S., Fan, F. R., Zhang, W., Zhou, Z. Y., Wu, D. Y., Ren, B., Wang, Z. L., & Tian, Z. Q. (2010). Shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy. *Nature*, 464, 392–395.
<https://doi.org/10.1038/nature08907>

National Center for Biotechnology Information. (2021). (Aminomethyl) phosphonic acid / *CH6NO3P*. PubChem. Retrieved February 28, 2023, from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Aminomethyl_phosphonic-acid#datasheet=LCSS.

- OMS.** (2018). *Guías para la calidad del agua de consumo humano*, 4ta ed. que incorpora la primera adenda [Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating first addendum]. Ginebra. Organización mundial de la Salud.
- Peterson, D. E., Thompson, C. R., Regehr, D. L., & Al-Khatib, K.** (2001). *Herbicide mode of action*. Kansas State University. USA
- Reyes, A.** (2019). *Superficies nanoestructuradas de plata y su aplicación en espectroscopía Raman*. Tesis de Licenciatura. UNAM. FQ. México.
- Rojo, F.** (2018). *Tablas de espectroscopía IR*. Retrieved February 28, 2023, from http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TablasIR_34338.pdf.
- Watts, M., Clausing, P., Lyssimachou, A., Schütte, G., Guadagnini, R., & Marquez, E.** (2016). *Glifosato*. PAN International.
- Yacimientos Petrolíferos Fiscales.** (2010). *FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD. GLIFOSATO*. Retrieved February 28, 2023, from <https://www.ypfagro.com.ar/img/documentos/5df26bbbc7ed20620f9a6cf4a.pdf>
- Yan, B., Sun, K., & Chao, K.** (2018). Fabrication of a Novel Transparent SERS Substrate Comprised of Ag-nanoparticle Arrays and its Application in Rapid Detection of Ractopamine on Meat. *Food Analytical Methods*, 1, 2329-2335. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1216-z>
- Yaseen, T., Pu, H., & Sun, D.-W.** (2019). Fabrication of silver-coated gold nanoparticles to simultaneously detect multi-class insecticide residues in peach with SERS technique. *Talanta*, (196), 537-545. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.12.030>