



Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Facultad de Ciencias Químicas



Centro De Investigación y Estudios De Posgrado

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROGELES HIBRIDOS
ACRILAMIDA/ATP/NAFTALIMIDAS COMO SENSOR ÓPTICO PARA LA DETECCIÓN DE
PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS.**

Tesis para obtener el grado de:

Maestro En Ciencias En Ingeniería Química

Presenta:

I.Q. Esteban Uriel Colorado García

Directora de tesis:

Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo

Co-Director de tesis:

Dr. Cesar Fernando Azael Gómez Duran

San Luis Potosí, S.L.P., julio 2021

El programa de maestría en ciencias en ingeniería química de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al programa nacional de posgrados de calidad (PNPC) del CONACYT, registro 000896.

Número de CVU otorgado por Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: 1008094



Síntesis y caracterización de hidrogeles híbridos acrilamida/ATP/naftalimidias como sensor óptico para la detección de pesticidas organofosforados by Colorado García Esteban Uriel is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Facultad de Ciencias Químicas

Centro De Investigación y Estudios De Posgrado

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROGELES HIBRIDOS ACRILAMIDA/ATP/NAFTALIMIDAS COMO SENSOR ÓPTICO PARA LA DETECCIÓN DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS.

Tesis para obtener el grado de:

Maestro En Ciencias En Ingeniería Química

Presenta:

I.Q. Esteban Uriel Colorado García

Directores de tesis:

Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo

Dr. Cesar Fernando Azael Gómez Duran

Sinodales:

Presidente

Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo
Facultad de Ciencias Químicas/UASLP

Firma

Secretario

Dr. Cesar Fernando Azael Gómez Duran
Facultad de Ciencias Químicas/UASLP

Firma

Vocal

Dra. Erika Padilla Ortega
Facultad de Ciencias Químicas/UASLP

Firma

Asesor Externo

Dra. Lourdes Betancourt Mendiola
Facultad de Ciencias Químicas/UASLP

Firma

San Luis Potosí, México 2021

San Luis Potosí, S.L.P. México

15 Julio, 2021

Comité Académico del Posgrado

En Ciencias de la ingeniería Química

Facultad de Ciencias Químicas / UASLP

Presente. _

Por medio de la presente comunicamos que la tesis llevada a cabo por el alumno de Maestría IQ. Esteban Uriel Colorado García, titulada “Síntesis y caracterización de hidrogeles híbridos acrilamida/ATP/naftalimidias como sensor óptico para la detección de pesticidas organofosforados”, ha sido concluida y aprobada por el comité tutorial para iniciar los trámites correspondientes para su titulación, la cual tendrá lugar el próximo día 15 de julio a las 8:30 horas en el auditorio chico de la Facultad.

Atentamente:

Directora de tesis

Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo
Facultad de Ciencias Químicas/UASLP

Firma

Co-Director

Dr. Cesar Fernando Azael Gómez Duran
Facultad de Ciencias Químicas/UASLP

Firma

Asesor

Dra. Erika Padilla Ortega
Facultad de Ciencias Químicas/UASLP

Firma

Asesor Externo

Dra. Lourdes Betancourt Mendiola
Facultad de Ciencias Químicas/UASLP

Firma

Agradecimientos

Agradecimientos personales

En primera instancia debo agradecer a Dios por iluminar mi camino y darme la bendición de rodearme de personas maravillosas y situaciones que nunca imagine, que han hecho de mi vida una gran aventura.

A mi familia, mis padres Consuelo García y Esteban Colorado, con ustedes he aprendido tantas cosas, quienes siempre han apoyado mis decisiones, gracias por convertirme en lo que soy, por estar ahí en los peores momentos y darme ánimos cuando estaba por rendirme. Quiero que sepan que, aunque muchas veces no expreso lo que siento, quiero darles las gracias, porque sin ustedes simplemente, no estaría aquí, los amo.

Mamá, sé que muchas veces he sido una persona muy dura y necia, discúlpame por todo, quiero darte las gracias por escucharme y aunque muchas veces no hice lo que decías, no dejaste de apoyarme.

Papá, amo estar contigo viviendo cada anécdota, emoción y experiencia que cada día nos acerca más, muchas gracias por todo tu amor. Agradezco que en la vida tenga a un padre como tú, eres lo máximo y espero que sigamos viviendo tantas cosas juntos

A mi abuelita Guadalupe Portales, que con la sabiduría de Dios me has enseñado a ser quien soy hoy. Gracias por tu paciencia, por enseñarme el camino de la vida, gracias por tus consejos, por el amor que me has dado y por tu apoyo incondicional en mi vida. Gracias por llevarme en tus oraciones porque estoy seguro de que siempre lo haces.

A mi novia Jacqueline Martínez, por alegrarme cada día y radiar una energía tan increíble, no hay nadie en el mundo como ella. Gracias por entenderme en todo, gracias porque en todo momento fue un apoyo incondicional en mi vida, eres la felicidad encajada en una sola persona a la cual yo amo demasiado.

Debo agradecer a mis compañeros y amigos del posgrado en ingeniería química, me gusta pensar que ese lazo de apoyo y compañerismo que creamos durara toda la vida.

Mis compañeros del laboratorio no pueden ser excluidos de este agradecimiento, ellos que con el siempre hecho de escuchar mis problemas me ayudaron a encontrar una solución, quienes además de su amistad me ofrecieron sus conocimientos que se ven reflejados en muchos de los experimentos, cálculos de esta tesis y en los carteles que presente en concursos y congresos. Quienes siempre estuvieron dispuestos a compartir sus conocimientos conmigo, en especial al Dr. Miguel Olvera por el apoyo técnico para la síntesis del polímero. A la Dra. Anahí Cisneros quien siempre estuvo al pendiente de mis avances, siempre me apoyo con ideas. A Fide y Laura quienes se dieron el tiempo en ayudarme a tomar muchas de las fotos presentadas en este trabajo, a Verónica Torres y la Dra. Lourdes Betancourt por su apoyo durante la síntesis de la molécula fluorescente 1,8-bromo naftalimida.

A la Dra. Claudia Denisse por su enorme apoyo en la explicación del manejo de equipos y metodologías en técnicas de caracterización como gravimetría para cinéticas de hinchamiento y análisis termo gravimétrico, quien se dio el tiempo de discutir y analizar muchos de los resultados conmigo, además de facilitarme el acceso al equipo necesario para la técnica de TGA.

Debo agradecer a mi asesora la Dra. Gabriela Palestino por darme la oportunidad de conocer el mundo de la investigación y por su apoyo en cada obstáculo que se presentó.

A los miembros de comité tutorial Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo, Dr. Cesar Fernando Azael Gómez Duran, Dra. Erika Padilla Ortega y Dra. Lourdes Betancourt en cada reunión me dieron sugerencias para mejorar este trabajo, además de siempre ser honestos y directos en sus observaciones. Gracias por ayudarme a forjar la seguridad y confianza necesaria para defender un trabajo.

Un agradecimiento especial al Dr. Fernando Azael quien día a día estuvo al pendiente de mí y como estaba, siempre mostro apoyo e interés en mi trabajo, me asesoro desde cero en el manejo de todos los equipos con gran paciencia y amabilidad, en la síntesis de los materiales, sin su ayuda este trabajo no se hubiese llevado a cabo, quien es mi co-asesor pero también lo considero un gran amigo.

Agradecimientos técnicos

Al Dr. Cesar Fernando Azael Gómez Duran y a la Dra. Claudia Denisse Rocha por el apoyo en técnicas instrumentales de análisis, caracterización y síntesis.

Agradecimientos institucionales

A la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por las instalaciones que hicieron posible la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca No. Otorgada para los estudios de maestría y la realización del proyecto No.

Resumen

Los pesticidas son sustancias químicas que tienen como objetivo eliminar plagas ya sean animales o vegetales, sin embargo, se ha descubierto que su uso en exceso ha causado una variedad de repercusiones adversas en los humanos y en el ambiente. El alto empleo de pesticidas en la agricultura y su esparcimiento sobre grandes superficies ha provocado que un gran porcentaje de pesticidas se pueda permear afectando cuerpos de agua subterráneos y a su vez también pueda ser arrastrado sobre la superficie, afectando cuerpos de agua superficiales. Debido a esto, la detección y cuantificación de especies químicas contaminantes son primordiales actualmente, ya que se presenta una gran problemática a nivel mundial por contaminación. Por tales motivos el presente proyecto plantea la síntesis de un fluoróforo orgánico inmovilizado en una red polimérica con el objetivo de detectar pesticidas organofosforados. El fluoróforo se sintetizó a partir de adenosín trifosfato y de la molécula fluorescente de naftalimida. Este sensor se evaluó en glifosato (Gli), uno de los herbicidas organofosforados más polémicos en la actualidad por su alto empleo en plantaciones de aguacate en México. La detección se llevó a cabo por un mecanismo de sustitución de la parte de reconocimiento por el contaminante, lo que permitió el cambio de fluorescencia de la solución contaminada con el pesticida. El máximo rango de detección de glifosato fue de 100 a 800 μM , lo cual es excelente para la detección de estos contaminantes en zonas cercanas a plantaciones agrícolas. Se hicieron pruebas de selectividad empleando otros analitos como carbonatos, fosfatos, nitratos y arseniatos, moléculas presentes en altas concentraciones en suelos y aguas, obteniendo una buena selectividad hacia el pesticida objetivo.

Palabras clave:

Pesticidas, herbicidas, organofosforados, sensor, red polimérica, acrilamida.

Abstract

Pesticides are chemicals that are intended to eliminate pests whether they are animals or plants, nevertheless their overuse has been found to cause a variety of adverse impacts on humans and the environment. The excessive use of pesticides in agriculture and their spread over large natural areas has caused a large percentage of pesticides to permeate affecting underground water and in some cases be dragged on the surface, affecting surface water bodies. Based on these facts, the detection and quantification of polluting chemical species are essential today since there is a great problem worldwide due to contamination. The present project proposes the synthesis of an organic fluorophore immobilized in a polymeric matrix with the objective of sensing organophosphate pesticides. The fluorophore was synthesized from adenosine triphosphate and the fluorescent molecule of naphthalimide. This sensor was evaluated against glyphosate, one of the most controversial organophosphate herbicides due to its high use in avocado plantations in Mexico. The detection was carried out by a substitution mechanism of the sensor, which allowed the change of fluorescence of the solution contaminated with the pesticide. The maximum glyphosate detection range was found to be 100 to 800 μM , which is excellent for detecting these contaminants in areas close to agricultural plantations. Selectivity tests were carried out using other analytes such as carbonates, phosphates, nitrates, and arsenates, obtaining good selectivity towards the target pesticide.

Key words:

Pesticides, herbicides, organophosphates, sensor, polymeric red, acrylamide.

Contenido

1. Introducción.....	2
2. Antecedentes.....	10
2.1 Fluorescencia.....	10
2.1.1 Conceptos generales.....	10
2.1.2 Compuestos fluorescentes.....	13
2.1.2.1 Sondas fluorescentes y fluoróforos.....	13
2.1.2.2 Generalidades de la 1,8 Naftalimida.....	16
2.1.3 Aplicación de la fluorescencia.....	17
2.2 Polímeros.....	18
2.2.1 Modificación de polímeros.....	18
2.2.2 Hidrogeles.....	19
2.3 Pesticidas.....	20
2.3.1 Generalidades de los pesticidas.....	20
2.3.2 Problemática por contaminación.....	20
2.3.3 Glifosato, sus daños ambientales y a la salud humana.....	21
3. Justificación, hipótesis y objetivos.....	27
3.1 justificación.....	27
3.1 Hipótesis.....	27
3.2 Objetivos.....	27
3.2.1 Objetivos generales.....	27
3.2.2 Objetivos específicos.....	28
4. Metodología.....	30
4.1 Síntesis del polímero.....	30

4.1.1 Determinación del peso de entrecruzante e iniciador.	32
4.1.2 Técnica de síntesis del polímero.....	32
4.1.3 Moldeo.	33
4.1.4 Hinchamiento de los hidrogeles en agua a diferentes pH.....	35
4.2 Síntesis de fluoróforos.	36
4.2.1 Síntesis del fluoróforo 1 (Naftalimida-ATP).....	36
4.2.2 Síntesis del fluoróforo 2.	38
4.3 Incorporación de los fluoróforos a la red polimérica.....	40
4.4 Metodología de sensado.....	42
4.5 Determinación del porcentaje de liberación mediante la técnica espectrometría UV-Vis y espectrofotometría de fluorescencia.	44
4.6 Técnicas de caracterización.....	46
4.6.1 Espectroscopia Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR).	46
4.6.2 Gravimetría.	47
4.6.3 Espectroscopia Ultravioleta Visible.	48
4.6.4 Espectrofotometría de fluorescencia.....	48
4.6.5 Análisis Termo Gravimétrico (TGA).	49
5. Resultados y Discusión.	52
5.1 Análisis por espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).	52
5.2 Cinética de hinchamiento por gravimetría.	56
5.3 Cinética de liberación por espectroscopia ultravioleta visible.	63
5.4 Análisis de pruebas de sensado empleado el método de impregnación 1 y 2 por espectroscopia ultravioleta visible.....	65
5.5 Análisis de selectividad y sensibilidad por espectroscopia ultravioleta visible.	67

5.6 Análisis de selectividad y sensibilidad por espectrofotometría de fluorescencia.	75
5.7 Análisis Termo Gravimétrico (TGA).	82
5.7.1 Análisis termogravimétrico compósitos-F1.	83
5.7.2 Análisis termogravimétrico compósitos-F2.	87
6. Conclusiones y perspectivas.	91
6.1 Conclusiones.	91
6.2 Perspectivas.	93
7. Sección Experimental.	95
7.1 Reactivos.	96
7.1.1 Reactivos para la síntesis.	96
7.1.2 Reactivos para preparación de soluciones buffer (Tabla 7.2).	96
7.1.3 Reactivos empleados como analitos (Tabla 7.3).	96
7.2 Síntesis de la 1,8-bromo naftalimida.	97
7.2.1 Metodología de síntesis.	97
7.2.2 Lavados y tratamientos.	97
7.3 Síntesis del fluoróforo 1 (ATP-Naftalimida).	99
7.4. Síntesis del fluoróforo 2.	102
7.4.1 Síntesis del ATP-etoxi.	102
7.4.2 Síntesis de la Naftalimida-acetil.	103
7.4.3 Síntesis del producto fluoróforo 2 (Naftalimida-acetil-ATP-etoxi).	106
Bibliografía.	109
Anexos	114
A) Preparación de soluciones buffer	114

B) Datos de la cinética de hinchamiento	116
C) Espectros IR de los compuestos puros	117
D) Termogramas de compuestos puros y compósitos.....	121

Índice de esquemas

Esquema 4.1 Mecanismo de polimerización de la poliacrilamida.	31
Esquema 4.2 Primera metodología de síntesis y moldeo propuesta para la obtención de los hidrogeles.	34
Esquema 4.3 Segunda metodología de síntesis y moldeo propuesta para la obtención de los hidrogeles.	35
Esquema 4.4 Metodología para medir la cinética de hinchamiento de los hidrogeles a diferentes pH.	36
Esquema 4.5 Síntesis del compuesto naftalimida-ATP (F1).	37
Esquema 4.6 Síntesis del compuesto naftalimida-acetil-ATP-etoxi (F2).	39
Esquema 4.7 Mecanismo de incorporación y sensado del F1, donde el analito sustituye a la unidad fluorescente liberándola al medio.	40
Esquema 4.8 Primera metodología de impregnación propuesta, partiendo del hidrogel seco.	41
Esquema 4.9 Segunda metodología de impregnación propuesta, partiendo del hidrogel hinchado.	42
Esquema 4.10 Metodología de sensado basada en la primera metodología de impregnación, donde el sensado se hace partiendo del hidrogel seco impregnado.	43
Esquema 4.11 Metodología de sensado basada en la segunda metodología de impregnación, donde el sensado se hace partiendo del hidrogel hinchado impregnado.	44
Esquema 7.1 Metodología de síntesis para la obtención de la 1-8 bromo naftalimida.	98
Esquema 7.2 Metodología de síntesis para la obtención del fluoróforo 1.	100
Esquema 7.3 Metodología de síntesis para la obtención del subproducto ATP-etoxi.	103

Esquema 7.4 Metodología de síntesis para la obtención del subproducto 3-(6-bromo-1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il) propil 2-cloroacetato (naftalimida-cloroacetil).	105
---	-----

Índice de figuras.

Figura 1.1 Pesticidas organofosforados más comunes.	3
Figura 1.2 Métodos comunes para el sensado de pesticidas.	5
Figura 1.3 Mecanismo de sensado y estructura general de marcadores fluorescentes.	6
Figura 2.1 Diagrama de Jablonski.	11
Figura 2.2 Mecanismo de fluorescencia.	13
Figura 2.3 Estructura química de moléculas fluorescentes comúnmente empleadas como sensores.	14
Figura 2.4 1,8-Bromo naftalimida disuelta en agua (Izquierda) y etanol (Derecha) bajo luz visible y ultravioleta (365 nm).	16
Figura 2.5 Mecanismo del sensor compuesto por óxido de silicio poroso-Hidrogel (Elemento transductor óptico) y silicio poroso-hidrolasa organofosforada para la detección de pesticidas.	23
Figura 2.6 Mecanismo del sensor compuesto por nanopartículas de oro, ATP y rodamina B, para la detección de pesticidas.	24
Figura 2.7 Mecanismo del sensor hidrogel-ATP-Naftalimida para la detección de pesticidas.	25
Figura 4.1 Fluorescencia en sólido del hidrogel pulverizado de la poli(acrilamida) pura (Izquierda) e impregnada con F1 (Centro) y F2 (Derecha), bajo luz UV 365 nm.	42
Figura 5.1 Espectro infrarrojo de los reactivos y producto para la síntesis del F1.	53
Figura 5.2 Espectro infrarrojo de los reactivos y producto para la síntesis de la naftalimida-cloroacetil (C-2.3).	54

Figura 5.3 Espectro infrarrojo de los reactivos y producto para la síntesis del ATP-etoxi (C-2.6).	55
Figura 5.4 Espectro infrarrojo de los reactivos y producto para la síntesis del F2.	56
Figura 5.5 Cinéticas de hinchamiento del hidrogel a diferentes pH (3, 7, 11).	58
Figura 5.6 Ajuste de la Cinética de hinchamiento del hidrogel a pH 3 a un modelo de 1er y 2do orden.	59
Figura 5.7 Ajuste de la Cinética de hinchamiento del hidrogel a pH 7 a un modelo de 1er y 2do orden.	60
Figura 5.8 Ajuste de la Cinética de hinchamiento del hidrogel en solución pH 11 a un modelo de 1er y 2do orden.	61
Figura 5.9 Ajuste de la cinética de liberación del fluoróforo 1 a un modelo de 1er y 2do orden.	63
Figura 5.10 Ajuste de la cinética de liberación del fluoróforo 2 a un modelo de 1er y 2do orden.	64
Figura 5.11 Resultados de las pruebas de sensado por espectroscopia UV-Vis empleando el método 1 y 2 de impregnación.	65
Figura 5.12 Espectros UV de los reactivos principales puros, productos (fluoróforos) y sus longitudes de onda de adsorción características, anexando las imágenes de los compuestos en presencia de la luz visible...	67
Figura 5.13 Grafica resultante de la prueba de sensibilidad mediante la técnica UV empleando el F1 y por debajo la imagen del hidrogel puro (Izquierda), hidrogel impregnado (Centro) y un hidrogel después del	69

sensado a una concentración de 500 μM (Derecha) vistas bajo luz UV (365 nm).	
Figura 5.14 Grafica resultante de la prueba de sensibilidad mediante la técnica UV empleando el F2 y por debajo la imagen del hidrogel puro (Izquierda), hidrogel impregnado (Centro) e hidrogel después del sensado a una concentración de 500 μM (Derecha) vistas bajo luz UV (365 nm).	70
Figura 5.15 Grafica resultante de la prueba de selectividad mediante la técnica UV-Vis empleando el F1.	72
Figura 5.16 Grafica resultante de la prueba de selectividad mediante la técnica UV-Vis empleando el F2.	74
Figura 5.17 Espectros de fluorescencia de los productos (fluoróforo 1 y 2), sus lo longitudes de onda de emisión características y sus respectivos cambios de Stokes. Anexando las imágenes de los compuestos vistos bajo luz UV (365 nm).	75
Figura 5.18 Espectros de fluorescencia de los productos (fluoróforo 1 y 2) y sus longitudes de onda de excitación características.	76
Figura 5.19 Grafica resultante de la prueba de sensibilidad mediante la técnica de espectrofotometría de fluorescencia (Excitando a 450 nm) empleando el F1 y una concentración de pesticida desde los 100 hasta los 1500 μM	77
Figura 5.20 Grafica resultante de la prueba de sensibilidad mediante la técnica de espectrofotometría de fluorescencia (Excitando a 450 nm) empleando el F2 y una concentración de pesticida desde los 100 hasta los 1500 μM	78

Figura 5.21 Grafica resultante de la prueba de selectividad empleando el F1, mediante la técnica de espectrofotometría de fluorescencia (Excitando a 450 nm).	80
Figura 5.22 Grafica resultante de la prueba de selectividad empleando el F2, mediante la técnica de espectrofotometría de fluorescencia (Excitando a 340 nm).	81
Figura 5.23 Termogramas DTG para el sensor impregnado con fluoróforo 1 y sensado con Gli y su comparación con los compuestos PAAm, Gli y fluoróforo 1.	83
Figura 5.24 Mecanismo propuesto relacionado a los resultados del análisis termo gravimétrico (TGA) para el F1.	85
Figura 5.25 Termogramas DTG para el sensor impregnado con fluoróforo 2 y sensado con Gli y su comparación con los compuestos PAAm, Gli y fluoróforo 2.	87
Figura 5.26 Mecanismo propuesto relacionado a los resultados del análisis termo gravimétrico (TGA) para el F2.	88
Figura 7.1 Técnica de cromatografía de capa fina observada bajo una fuente de luz ultravioleta (365 nm) para corroborar la formación del producto.	101

Índice de tablas

Tabla 5.1 Resultados de K y porcentaje de desviación estándar para el modelado de 1er y 2do orden de la cinética a pH 3.	59
Tabla 5.2 Resultados de K y porcentaje de desviación estándar para el modelado de 1er y 2do orden de la cinética a pH 7.	60
Tabla 5.3 Resultados de K y porcentaje de desviación estándar para el modelado de 1er y 2do orden de la cinética a pH 11.	61
Tabla 5.4 Resultados de K y porcentaje de desviación estándar para el modelado de 1er y 2do orden de la cinética de liberación del fluoróforo 1.	63
Tabla 5.5 Resultados de K y porcentaje de desviación estándar para el modelado de 1er y 2do orden de la cinética de liberación del fluoróforo 2.	64
Tabla 7.1 Reactivos de síntesis para sensores.	96
Tabla 7.2 Reactivos para preparación de soluciones buffer.	96
Tabla 7.3 Reactivos empleados como analitos.	96
Tabla A.1 solución buffer de cloruros (pH 1-1.5).	114
Tabla A.2 Solución buffer de acetato (pH 3.6-4.6).	115
Tabla B.1 Valores tomados de masa para formación de las cinéticas de hinchamiento a diferentes tiempos y pH.	116

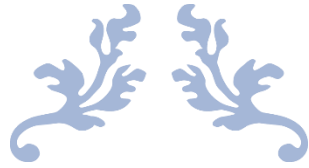
Índice de formulas

Na_2CO_3	Carbonato de calcio
$PSiO_2$	Oxido de silicio poroso
PO_4^{3-}	Grupo fosfato
$CONH_2$	Grupo amida
OH	Grupo hidroxilo
$CONH_3^+$	Grupo amida protonado
K_2CO_3	Carbonato de potasio
$C_5H_9NO_2$	L-prolina
CH_3COONa	Acetato de sodio
HCl	Ácido clorhídrico
CuI	Yoduro de cobre
CH_2Cl_2	Diclorometano
H_2O	Agua

Índice de abreviaturas

AAm	Acrilamida	Abs	Absorbancia
ATP	Adenosín trifosfato	ATR	Reflectancia total atenuada
a.u.	Unidades arbitrarias	BODIPY	4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno
°C	Grados Celsius	FL	
CN	Cianuro	C	Carbón
DMSO	Dimetil sulfóxido	DMAEMA	2-(Dimetilamino)etil metacrilato
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas	DCM	Dicloro metano
F1	Fluoróforo 1 (ATP-Naftalimida)	F	flúor
FTIR	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier	F2	Fluoróforo 2 (Naftalimida-acetil- ATP-etoxi)
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución	g	Gramos
K	Constante de velocidad cinética	Gli	Glifosato
Min	Minutos	M	Molar
NNMBAAm	N,N'-Metilenbisacrilamida	mM	Milimolar
nM	Nanomolar	nm	Nanómetros
OPH	Hidrolasa organofosforada	O	Oxígeno
PAAm	Poliacrilamida	P	Fosforo
PM	Peso molecular	pH	Potencia de hidrogeno
		PO	Pesticidas organofosforados

PSA	Persulfato de amonio	PSi	Silicio poroso
R	Cadena lateral	S	Azufre
S0	Estado fundamental	S1	Estados electrónicos singlete
SNAFL 1	3',10'-dihidroxispiro[2- benzofuran-3,7'- benzo[c]xanteno]	SNC	Sistema nervioso central
t	Tiempo	T	Temperatura
TEA	Trietil-Amina	TGA	Análisis termogravimétrico
UE	Unión Europea	μM	Micromolar
UV	Ultravioleta	V	Volt
W	Peso del hidrogel a un tiempo t	(W ∞)	Peso del hidrogel máximo durante la medición de la cinética
W_hh	Peso del hidrogel humero a un tiempo t	W_hs	Peso del hidrogel seco
%Desv	Porcentaje de desviación del valor experimental contra el calculado		



CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN



1.Introducción.

Hoy en día los pesticidas se han convertido en un gran soporte para el control y calidad del procesamiento de muchos de los productos alimenticios que consumimos día a día. Se han usado ampliamente en todo el mundo para controlar y eliminar plagas, enfermedades de plantas o animales además de aumentar la producción y calidad de los productos agrícolas y ganaderos (Mogul et al., 1996)(Lamberth et al., 2013). Sin embargo, también se han convertido en un grave problema para la salud humana y de muchas otras especies. La principal causa de este problema es consecuencia de rociar grandes cantidades de pesticidas sobre amplias zonas de cultivo (W. & J., 2002). Dependiendo de la solubilidad de la sustancia y la permeabilidad del suelo, combinado esto con la lluvia, los pesticidas pueden ser arrastrados sobre la superficie afectando los cuerpos de agua superficiales o pueden ingresar a cuerpos de agua subterráneos. Esta permeabilidad puede afectar los ecosistemas, organismos no objetivo, la seguridad de los productos agrícolas, ganaderos y la salud humana. Los pesticidas y sus respectivos productos de degradación pueden permanecer en plantas y sus frutos, animales y cuerpos de agua. Además, pueden concentrarse más a medida que avanzan en la cadena alimenticia debido a la bioacumulación (Aragay et al., 2012). La Organización Mundial de la Salud registra anualmente en promedio 3 millones de casos de intoxicaciones causadas por el mal uso de pesticidas organofosforados (PO), de los cuales el 10% mueren (Eyer, 2003).

Los pesticidas comúnmente contienen compuestos químicos derivados del nitrofenol, carbamatos, arsénico, organofosfatos y piretroides. Los pesticidas pueden clasificarse principalmente en 3 grandes grupos según sea su propósito en herbicidas, insecticidas o fungicidas. Independientemente del grupo al que pertenezca, los pesticidas suelen ser altamente tóxicos para los humanos, principalmente al afectar el sistema nervioso central (SNC) (Eddleston et al., 2008). Los pesticidas organofosforados son una clase de pesticidas diseñados para afectar el sistema nervioso de los insectos los cuales inactivan irreversiblemente la acetilcolinesterasa. Los pesticidas organofosforados

sintéticos como el paratión y el paraoxón se usan ampliamente en la agricultura en todo el mundo como insecticidas, fungicidas y herbicidas (Li et al., 2018). Ver Figura 1.1

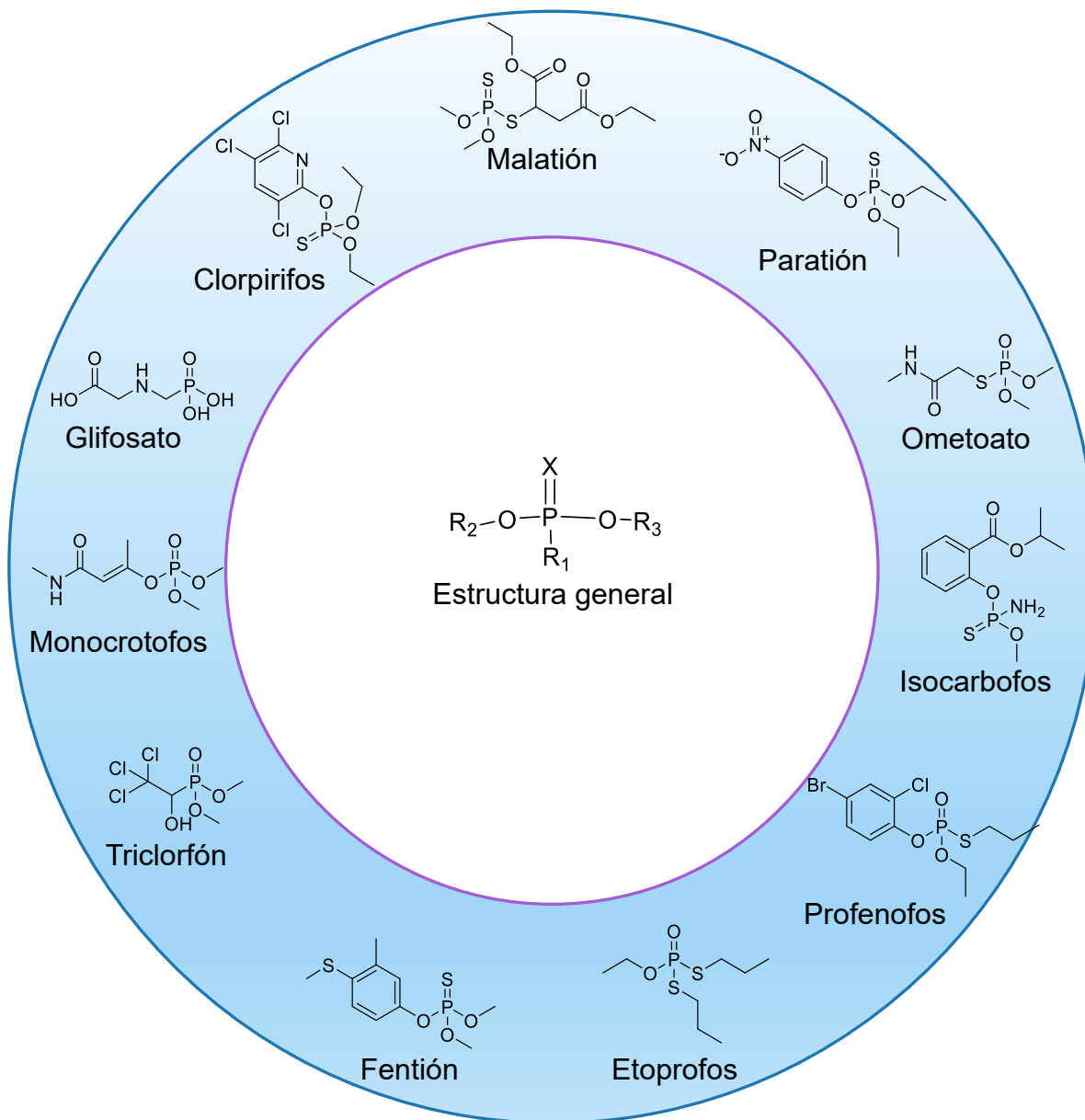


Figura 1.1 Pesticidas organofosforados comunes utilizados (Li et al., 2018).

Debido a su toxicidad, las agencias ambientales han establecido valores máximos permitidos para los niveles de contaminación por pesticidas en el agua potable y superficial (Aragay et al., 2012). Por lo que existe un creciente interés en el desarrollo de sistemas altamente sensibles y confiables que permitan la detección, determinar el contenido, monitorearlos, así como sistemas para descomponerlos y / o eliminarlos.

Entre los principales métodos utilizados para analizar y detectar pesticidas organofosforados se encuentra el análisis electroquímico (Viswanathan et al., 2009), la cromatografía de gases (Lambropoulou & Albanis, 2007), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la espectrometría de masas (Zhou et al., 2012), inhibición enzimática y el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA por sus siglas en inglés) (Qian et al., 2009), (Figura 1.2). ELISA utiliza anticuerpos y cambios de color para identificar una sustancia, la principal desventaja de este método es la baja estabilidad de los anticuerpos o enzimas lo que limita su aplicación directa en campo, aunque, por otro lado, presenta buena repetibilidad y sensibilidad. El método de inhibición enzimática carece de especificidad, sin embargo, es un método rápido. La cromatografía líquida o gaseosa, presenta una buena selectividad y sensibilidad. Sin embargo, estos métodos requieren personal altamente capacitado que operen complejos equipos de alto costo. Además, para llevar a cabo el análisis es necesario un laboratorio ya que las muestras a analizar requieren diversos pretratamientos y condiciones experimentales controladas. Ninguno de los métodos convencionales es adecuado para su aplicación *en campo* con buena selectividad y sensibilidad. Actualmente, siguen existiendo retos en el desarrollo de sensores colorimétricos o fluorescentes para detectar pesticidas organofosforados de manera selectiva, económicos, de rápida respuesta, fáciles de aplicar y que el sensado pueda ser *in situ* (You et al., 2015).



Figura 1.2 Métodos comunes para el sensado de pesticidas.

Debido a la necesidad de detección de contaminantes mediante técnicas sencillas, rápidas y económicas se han desarrollado una serie de sensores químicos compuestos por dos unidades: una unidad emisora de la señal analítica y una unidad coordinante (Wu et al., 2015). La unidad coordinante tiene capacidad de interaccionar selectivamente o reaccionar con el analito de principal interés, la unidad emisora es la encargada de emitir un señal óptica o fluorescente en respuesta a la interacción de la unidad coordinante con el analito. Los sensores ópticos son interesantes porque la presencia del analito puede detectarse a simple vista o utilizando un equipo de apoyo, evitando emplear costosos equipos de análisis (García et al., 2011). Los sensores

químicos pueden actuar mediante dos mecanismos (Figura 1.3) los cuales dependerán del tipo de unión que se presente entre las unidades: Mecanismo unidad coordinante-unidad emisora, mecanismo por el cual se encuentran unidas covalentemente las dos unidades puede ser directamente o por medio de un espaciador. La unidad coordinante interactúa con el analito con interacciones débiles como lo son interacciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno, por consecuencia la subunidad emisora se verá modificada principalmente en la absorción (provocando un cambio de color) y fluorescencia. El otro mecanismo es el de desplazamiento, en el que la interacción covalente entre la unidad coordinante y emisora está ausente y su interacción es débil, de tal manera que la fuerte interacción entre el analito y la unidad coordinante provoca la sustitución de la interacción con el fluoróforo, causando el desplazamiento del fluoróforo y su liberación a la solución, provocando modificaciones en sus propiedades espectroscópicas (Alfonso et al., 2009) (Kim et al., 2009).

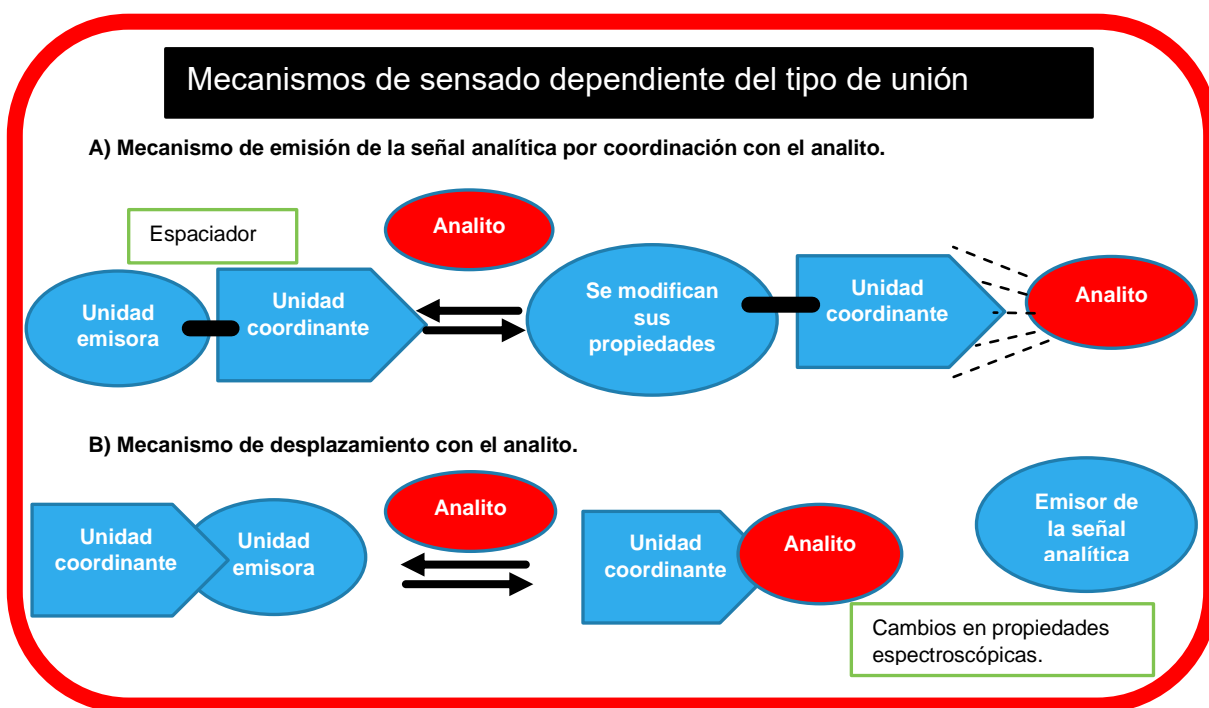


Figura 1.3 Mecanismo de sensado y estructura general de marcadores fluorescentes (Wu et al., 2015).

La luminiscencia se define como la emisión de radiación o de luz desde un estado excitado de una molécula a un estado basal tras la absorción de un fotón de luz (Braun et al., 1991). Existen dos principales mecanismos por los cuales una molécula excitada puede liberar energía a través de un proceso de relajación o desactivación, los más importantes son los radiativos y no radiativos (Lakowicz, 2006). Comúnmente, el tiempo de vida media de una molécula excitada es corto ya que como se mencionó anteriormente hay diversas formas por las cuales puede liberar su exceso de energía y relajarse a su estado fundamental.

Otro elemento básico importante para el desarrollo del sensor es el hidrogel. Los hidrogeles son formados a partir de un conjunto de cadenas poliméricas entrecruzadas formando redes, esta red tiende a hincharse poniéndose en contacto con una fase líquida. Los hidrogeles poseen una combinación de las propiedades cohesivas de los sólidos, pero a su vez poseen las propiedades de transporte difusivo de los líquidos (Hennink & van Nostrum, 2012).

Los hidrogeles se clasifican dependiendo del tipo de entrecruzamiento en geles físicos o químicos. Las cadenas poliméricas en los geles químicos se acoplan mediante enlaces covalentes, mientras que en los geles físicos es mediante interacciones débiles de Van Der Waals. Los hidrogeles poseen propiedades únicas aplicables para una amplia variedad de aplicaciones por ejemplo su capacidad de retener agua, insolubilidad en medios acuosos y resistencia, lo que los vuelve compatibles con sistemas biológicos.

Los hidrogeles se sintetizan a partir de tres compuestos principales, el agente entrecruzante que es una molecular con la capacidad de unir tres o más cadenas formando un punto de reticulación convirtiendo un conjunto de cadenas poliméricas en una red evitando la disolución del polímero en agua; el monómero que es la unidad de la cual un polímero está formado; y el iniciador, compuesto que rompe la base vinílica del monómero, creando una reacción en cadena de monómero a monómero para crear la cadena polimérica. El porcentaje en peso de entrecruzante respecto al monómero

tiene una gran influencia en las propiedades mecánicas y la capacidad de hinchamiento del material (Katime Amashta et al., 2005)



CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES



2. Antecedentes.

2.1 Fluorescencia.

2.1.1 Conceptos generales.

Una molécula al adsorber un fotón de luz pasa a un estado excitado (S1 o S2) (ver figura 2.1) superior debido al incremento de energía en una magnitud igual a la del fotón absorbido. Posteriormente la molécula se relaja a un estado excitado con un nivel vibracional de menor energía, por último, esta pasa a su estado basal (S0) emitiendo radiación o luminiscencia. La fluorescencia y la fosforescencia son dos tipos de luminiscencia, su principal diferencia se basa en el estado excitado desde donde se relajan (Lakowicz, 2006).

La pérdida de energía puede ser mediante:

- Procesos de desactivación radiativos, principalmente procesos de fluorescencia definido como un proceso de relajación desde el estado electrónico excitado al estado basal emitiendo fotones.
- Procesos de desactivación no radiativos como procesos de relajación vibracional (Valeur & Berberan, 2012).
- Procesos de desactivación por transferencia de molécula a molécula de energía, electrones o protones.

La fluorescencia y la fosforescencia son dos tipos de relajación radiativas, la fluorescencia es un proceso de relajación desde un estado excitado S1 de igual multiplicidad que el estado inferior de la transición S0. La diferencia con la fosforescencia es que esta se produce desde un estado excitado triplete T1, posteriormente se produce entre estados de diferente multiplicidad. Lo anteriormente mencionado se puede analizar mejor en el diagrama de Jablonsky (Figura 2.1), donde se representan los mecanismos de excitación y relajación. Las flechas sólidas

representan transiciones radiativas que ocurren por absorción (morado y azul) o emisión (verde y rojo). Las flechas punteadas muestran transiciones no radiativas.

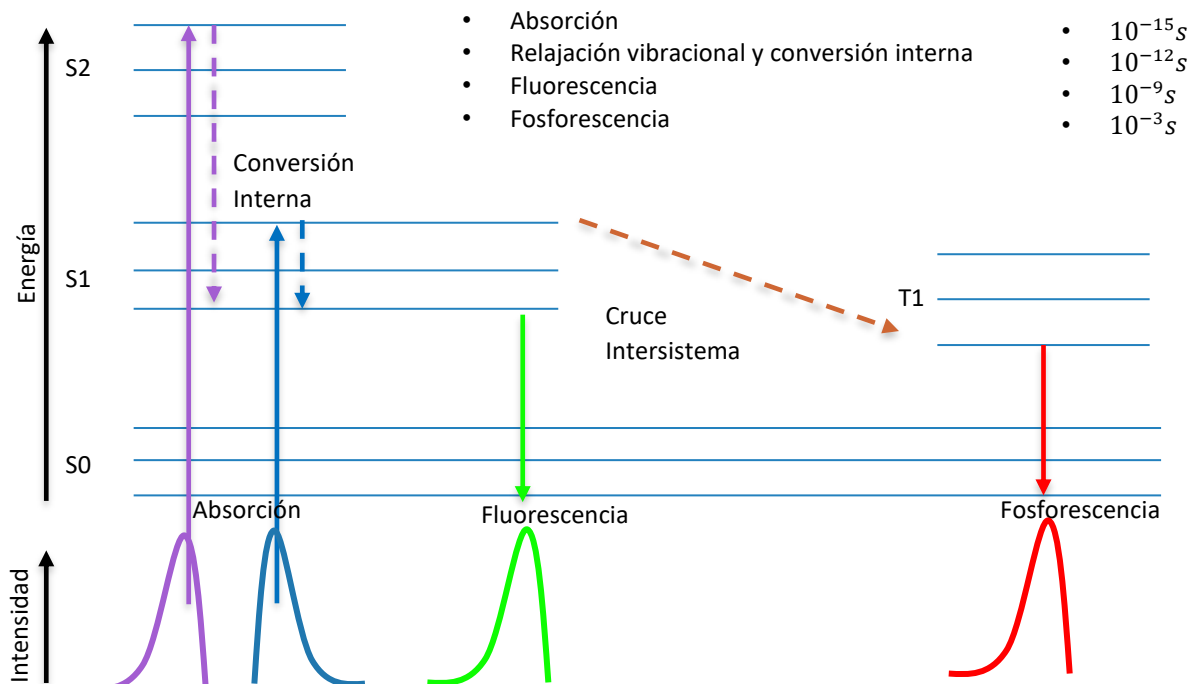


Figura 2.1. Diagrama de Jablonski.

La ruta que se siga para pasar de un estado excitado a un estado basal será probablemente determinada por el tipo de desactivación que presente la transición más corta. Esta puede ser radiativa o por algún proceso de relajación vibracional o de algún otro tipo que no involucre la emisión de luz. Por ejemplo, si la fluorescencia presenta un tiempo de relajación más corto que otros procesos no radiativos, se observará la emisión, de lo contrario se seguirá una ruta sin luminiscencia. Sin embargo, dada la competitividad de los procesos de relajación desde el estado excitado de menor energía S₁, existe la posibilidad de que solo una fracción de moléculas pasen al estado basal por medio de la fluorescencia y otra fracción lo haga por un método no radiativo, esa fracción se le conoce como rendimiento cuántico.

El proceso de absorción de luz es muy rápido, del orden de los femtosegundos. Después de la absorción de luz, la molécula excitada pasa al nivel vibracional más bajo de S1 a través de relajación vibracional y conversión interna. Este proceso no radiativo tiene lugar en picosegundos. La emisión de fluorescencia se produce desde el nivel vibracional de más baja energía de S1 al nivel fundamental S0. Por lo cual, el espectro de fluorescencia se desplaza a energías más bajas respecto al espectro de absorción. La fluorescencia se lleva a cabo en la escala de tiempo de los nanosegundos (Figura 2.2).

Algunos ejemplos de transiciones no radiativas son (Valeur & Berberan, 2012):

- La relajación vibracional, se presenta cuando existe una transición de un nivel de vibración de mayor energía a uno de menor energía.

- La conversión interna, es un proceso producido por la unión de los niveles vibracionales de un estado electrónico de mayor y uno de menor energía, se da entre dos estados electrónicos de igual multiplicidad.

- El cruce intersistema, transición que se presenta entre dos estados excitados con desigual multiplicidad de espín. pueden acontecer debido a un mecanismo llamado unión espín-orbital.

- El “quenching”, es un mecanismo “turn-off” en el que el fluoróforo abate su fluorescencia al interaccionar con alguna molécula generalmente nombrada “quencher”, el cual ayuda a regresar al estado fundamental sin la necesidad de emitir radiación.

En resumen, la fluorescencia se desarrolla en tres etapas. Primero, se da la excitación a través de la absorción de un fotón de luz, seguido de la transición donde la energía es disipada pasando a un estado excitado de menor energía, por último, ocurre una relajación hacia el estado fundamental radiando luz.

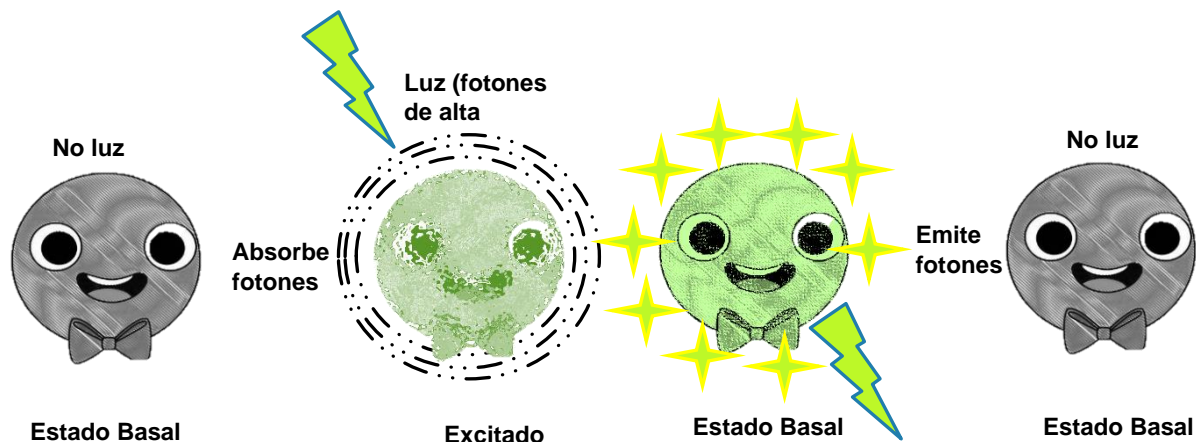


Figura 2.2 Mecanismo de fluorescencia.

2.1.2 Compuestos fluorescentes.

2.1.2.1 Sondas fluorescentes y fluoróforos.

Un fluoróforo es un compuesto que tiene la capacidad de emitir fluorescencia. La luz que se radia es de inferior energía, y de mayor longitud de onda que la luz absorbida. Una molécula fluorescente injertada en un sistema con el fin de proporcionar información sobre él se le llama sonda fluorescente. Al estar unida la sonda covalentemente a alguno de los componentes del sistema, se le llama etiqueta fluorescente. Es importante mencionar que la mayoría de los compuestos fluorescentes se producen a partir de moléculas aromáticas. Otro concepto importante es el de marcador fluorescente empleado para compuestos cuyo objetivo es poder visualizarlo en un medio en concreto, por lo que se usan como agentes de identificación o marcaje.

Los sensores fluorescentes son moléculas que presentan cambios en su emisión de fluorescencia ante un estímulo. Los cambios se producen en propiedades como la polaridad, rigidez, pH, viscosidad, presión, temperatura, potencial eléctrico o movilidad molecular del medio.

Los fluoróforos pueden dividirse en intrínsecos/naturales o extrínsecos. Siendo los primeros aminoácidos, clorofila, derivados del piridoxil que tiene su fluorescencia de manera natural y los extrínsecos aquellos que son incorporados como fluorocromos para su actividad fluorescente como el Dansil, fluoresceína, rodamina, etc. En la Figura 2.3 se muestran algunos de los fluoróforos más empleados.

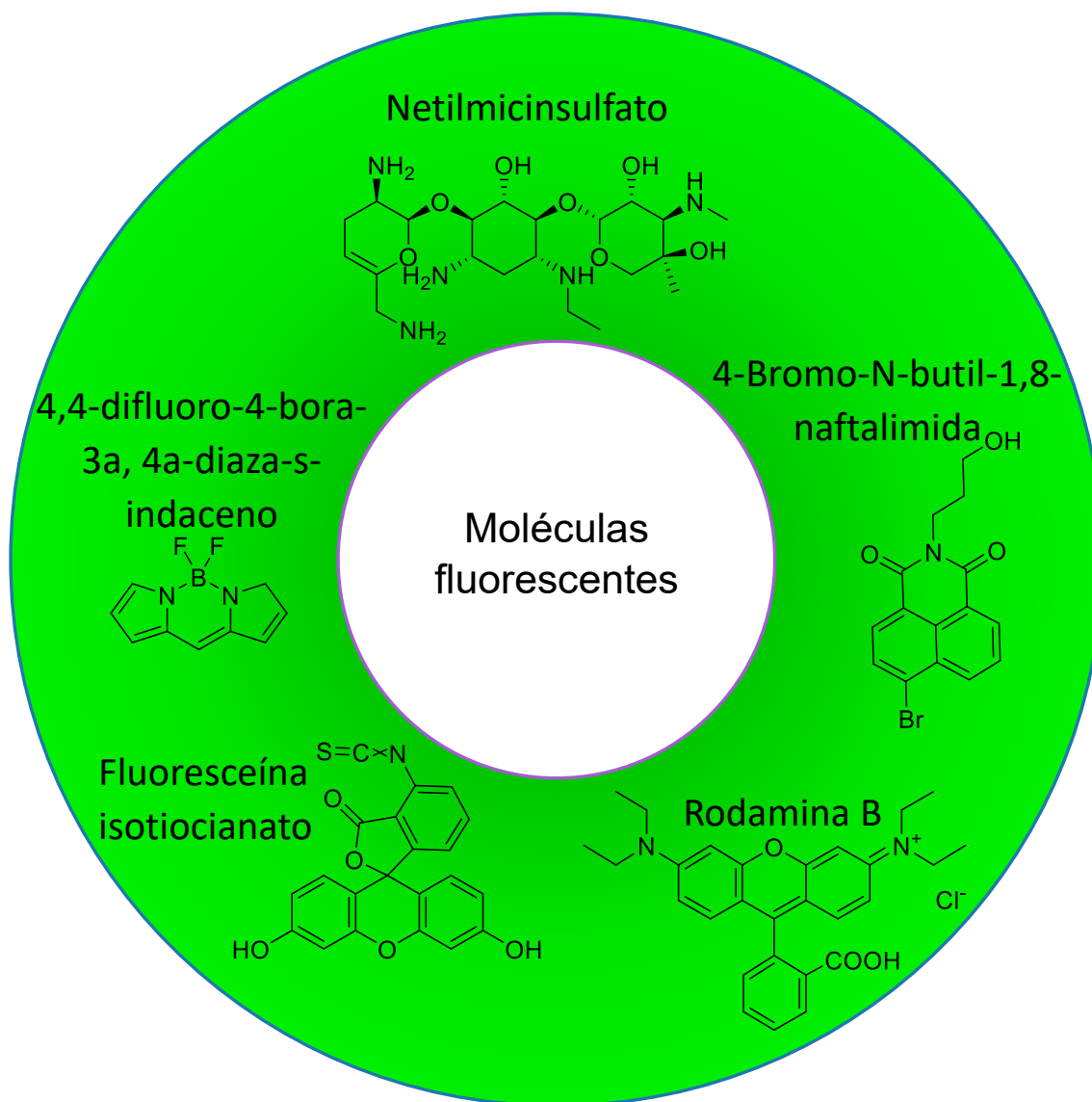


Figura 2.3 Estructura química de moléculas fluorescentes comúnmente empleadas como sensores.

Para poder realizar el análisis de las sondas o fluoróforos, se emplea una técnica muy importante, la espectroscopia de fluorescencia, esta técnica de análisis es muy útil para observar cambios en diversos sistemas. Sin embargo, la fluorescencia de los materiales comúnmente es muy débil, incluso en ocasiones no se presenta este fenómeno. Para lograr este efecto se requiere la incorporación de una sonda fluorescente al material, que nos permita obtener información sobre los cambios que se presenten.

El mecanismo de incorporación de los fluoróforos a las redes poliméricas se puede llevar a cabo por:

- Acoplamiento durante la síntesis del polímero.
- Adición durante el procesado.
- Por dispersión de la sonda con disolventes.
- Impregnando del polímero terminado con ayuda de la difusión o el hinchamiento.
- Injertando la molécula a través de un tratamiento superficial.

La aplicación de sondas fluorescentes a sistemas de sensado requiere que tengan características como estabilidad térmica, fotoestabilidad, buena capacidad de adsorción, emisión, rendimiento cuántico y que sean inertes.

En los últimos años, el interés en las propiedades ópticas y fluorescentes, electroquímicas y fotoeléctricas de los compuestos de 1,8-naftalimida han aumentado constantemente. Se ha reportado de que naftalimida tiene excelentes propiedades de fluorescencia, estabilidad y cuenta con una excelente estructura con dos sitios por donde funcionalizar o modificar la molécula, además, los derivados poseen una gran afinidad electrónica, causada por la existencia de un centro deficiente en electrones. Debido a la necesidad de un marcador fluorescente con buenas propiedades fluorescentes y propiedades estable, la naftalimida se tomó en cuenta como una posible molécula candidata para el desarrollo del sensor.

2.1.2.2 Generalidades de la 1,8-Naftalimida.

Los compuestos derivados de la 1,8-naftalimida han sido de interés por su excelente fluorescencia (Figura 2.4), buena fotoestabilidad y por su gran variedad de aplicaciones en diferentes áreas, como monitores ambientales (Duke et al., 2010), marcadores fluorescentes aplicados en la biología y medicina para detectar o combatir enfermedades (Andricopulo et al., 2000) y como posibles absorbentes de energía solar. Estos compuestos poseen propiedades ópticas, electroquímicas y electrónicas únicas. Las recientes investigaciones de la 1,8-naftalimida y sus derivados, muestran que estos materiales tienen capacidades de transporte de carga. Debido a sus propiedades, provocan que las naftalimidias sean candidatas como materiales potenciales para aplicaciones en (opto) electrónica, como el marcaje de polímeros, marcadores fluorescentes en biología, sensores de transferencia de electrones fotoinducidos, Las propiedades de los disolventes afectan los espectros de emisión y adsorción, así como los rendimientos cuánticos. El rango de colores donde la naftalimida puede emitir fluorescencia varía de un amarillo a un azul (Gudeika, 2020).

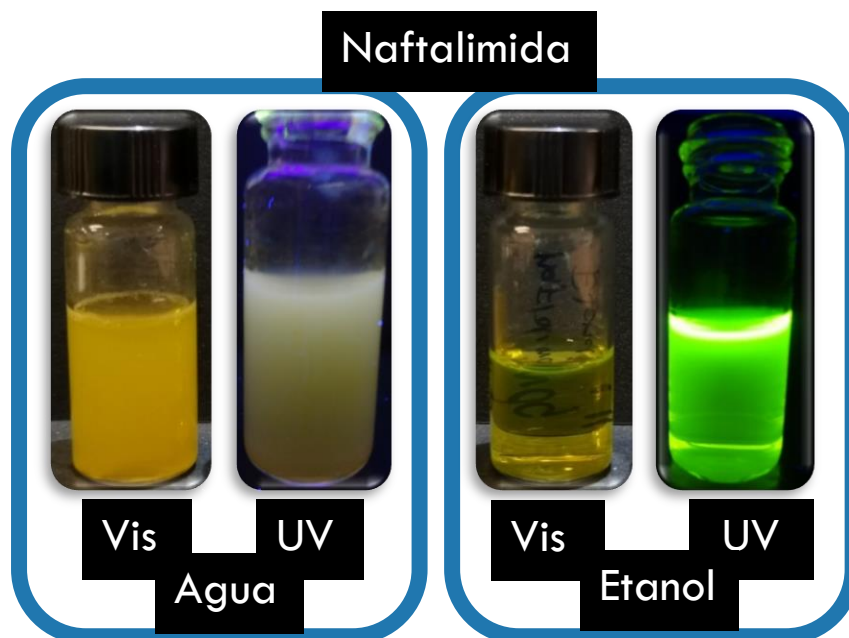


Figura 2.4. Emisión de 1,8-Bromo naftalimida disuelta en agua (Izquierda) y etanol (Derecha) bajo luz visible y ultravioleta (365 nm).

2.1.3 Aplicación de la fluorescencia.

La espectrofotometría de fluorescencia es empleada para resolver problemáticas presentes en áreas de ciencias como la química y biología. Los datos proporcionados por la técnica muestran información sobre los cambios que se generan y fenómenos moleculares, por ejemplo (Valeur & Berberan, 2012):

- Detección y monitoreo en cambios de concentración.
- Marcaje celular.
- Distancias intra/intermoleculares.
- Cambios conformacionales.
- Interacciones de enlace químico.
- Caracterización de la estructura.
- Interacciones de moléculas de disolvente con fluoróforos.

Las ventajas de la técnica de fluorescencia son su gran sensibilidad, selectividad, tiempos cortos de respuesta y a diferencia de otras técnicas de caracterización que degradan a la muestra mientras se analiza como el análisis termogravimétrico (TGA), la espectrofotometría de fluorescencia no modifica molecularmente a la muestra ni la degrada (Gaddam et al., 2016). Los datos obtenidos por la técnica de análisis de fluorescencia se muestran como espectros de emisión los cuales presentan la intensidad de fluorescencia en función de la longitud de onda. Los datos mostrados en los espectros de emisión varían en función de la estructura del compuesto fluorescente y de la naturaleza del disolvente.

Mencionadas las aplicaciones y ventajas de la fluorescencia, es de interés en este trabajo la inmovilización de un fluoróforo dentro de una red polimérica para su aplicación en detección de contaminantes. A través del injerto de compuestos fluorescentes en las redes poliméricas se ha realizado el análisis de varios procesos de síntesis de polímeros (Gaddam et al., 2016) como la degradación, estabilización, modificación (Bark & Allen, 1982) y el estudio de su morfología (Jenneskens et al., 1991).

2.2 Polímeros.

2.2.1 Modificación de polímeros.

Una de las modificaciones más empleadas para mejorar las propiedades de un polímero es la de entrecruzamiento la cual se realiza durante la síntesis. Un polímero que no está entrecruzado y sus cadenas poliméricas se encuentran libres tiende a solubilizarse, el entrecruzamiento tiene como objetivo reticular las cadenas poliméricas creando una red mejorando las propiedades mecánicas, estabilidad morfológica y resistencia a disolventes. Hay una gran variedad de modificaciones de polímeros enfocadas a mejorar sus propiedades como lo son el entrecruzamiento, polimerización, funcionalización, obtención de copolímeros, y degradaciones controladas.

Con el fin de cambiar o mejorar las propiedades de los polímeros se recurre a modificarlos molecularmente. Comúnmente se emplea la modificación durante la síntesis, sin embargo, recientemente se ha desarrollado una alternativa de modificación posterior a la síntesis o polimerización las cuales se explican más adelante. Si el polímero es amorfo se puede aprovechar su capacidad de fundirse para injertar o inmovilizar un nuevo compuesto (Mane, 2016).

Existen 2 clases o tipos de funcionalización, la funcionalización en bloque se realiza durante la síntesis bajo la condición que un monómero este funcionalizado. Sin embargo, también se puede llevar a cabo una post- polimerización realizada después de la síntesis, bajo la condición de que el polímero presente grupos reactivos para su funcionalización. El otro tipo de funcionalización es la que emplea tratamientos físicos superficiales como ionización a la flama, radiación UV, microondas o tratamiento con plasma. Posteriormente se puede funcionalizar mediante enlaces débiles o covalentes (Oyama, 2014).

2.2.2 Hidrogeles.

Los hidrogeles son un conjunto de cadenas poliméricas entrecruzadas formando redes poliméricas con capacidades de adsorber y retener grandes cantidades de agua hinchándose. El polímero posee grupos hidrofílicos que tienden a hidratarse dentro de un entorno acuoso formando la estructura del hidrogel. (Hennink & van Nostrum, 2012)

Las características particulares de los hidrogeles son:

- a) Carácter hidrofílico atribuido a la presencia de grupos funcionales hidrofílicos (OH, COOH, CONH₂, CONH, SO₃H) dentro de la estructura molecular del hidrogel.
- b) Insolubilidad en agua originada por la red tridimensional en la estructura polimérica y el entrecruzamiento, causado por fuerzas cohesivas débiles (fuerzas de Van Der Waals y puentes de hidrogeno) y enlaces covalentes o iónicos.
- c) consistencia elástica y suave, determinadas por el monómero hidrofílico inicial además de la baja densidad de entrecruzamiento.
- d) Estado de equilibrio del hidrogel hinchado causado por el equilibrio de las fuerzas osmóticas originadas por el agua al entrar al hidrogel y fuerzas cohesivas ejercidas por las cadenas macromoleculares que se oponen a la expansión. (Katime, 2005)

Los hidrogeles son de gran interés debido a sus posibles aplicaciones como sensores, membranas de separación, adsorbentes y materiales en medicina como sistemas de liberación de fármacos. Esto ayuda a resolver problemas ambientales y biológicos al ser utilizados en la remoción de contaminantes y en la regeneración de tejidos. (Karadağ et al., 2002)

2.3 Pesticidas.

2.3.1 Generalidades de los pesticidas.

Los pesticidas son compuestos químicos diseñados para controlar o eliminar plagas. Existen varios tipos de pesticidas y se clasifican de acuerdo con su estructura o propósito (plaga a eliminar.), entre los principales tipos de pesticidas se encuentran los Herbicidas, Insecticidas y fungicidas, siendo los herbicidas los encargados de eliminar plagas del tipo vegetal. La actividad de algunos herbicidas está basada en su capacidad de bloquear la vía enzimática del Shikimato al inhibir a la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), relacionada con la biosíntesis de aminoácidos esenciales (aminoácidos aromáticos como fenilalanina, triptófano y tirosina). Al no haber estos aminoácidos, se detiene la síntesis de proteínas en las células vegetales, el crecimiento de la planta cesa hasta que muere (Aragay et al., 2012).

2.3.2 Problemática por contaminación.

Estos compuestos químicos tienen muchas ventajas, pero también tienen su contraparte ya que han dañado gravemente al ambiente, todo esto como consecuencia del uso desmedido de estas sustancias en todo el mundo, la creciente demanda y el creciente interés en mejorar calidad de productos agrícolas, afectando una gran variedad de plantas y animales. El uso de insecticidas para eliminar plagas de mosquitos ha afectado a organismos no objetivo, por ejemplo, las abejas, que son de vital importancia para el proceso de la polinización; aproximadamente el 80% de todas las plantas con flores dependen de esta acción, al afectar a las abejas, se perderían cultivos de frutas, verduras y otros recursos que alimentan a otros seres vivos. Entre las principales frutas y verduras que dependen de la polinización de las abejas está el brócoli, espárragos, pepino, fresas, manzanas, tomates y almendras (Rumkee et al., 2017).

2.3.3 Glifosato, sus daños ambientales y a la salud humana.

El glifosato (Gli) es uno de los pesticidas organofosforados más utilizados en el mundo, ya que puede eliminar a una amplia gama de las plantas consideradas como plagas que afectan a miles de agricultores en México causando pérdida de cosechas, por consecuencia afecta la economía de los agricultores lo que lleva a un alza de precios en los productos afectando a millones de consumidores. Las primeras investigaciones sobre el Gli han reportado un bajo impacto tóxico en los seres humanos. Sin embargo, trabajos de investigación recientes reportan lo contrario. Los pesticidas a base de Gli pueden afectar las regulaciones del ciclo celular tanto en plantas como en animales. En adición que su uso ha provocado el desarrollo de plantas resistentes a los herbicidas. Se ha publicado que el Gli puede ser tóxico incluso cuando está por debajo de los límites permitidos por diversas organizaciones. Los principales efectos dañinos presentados por el contacto con estos contaminantes son teratogénicos, tumorigénicos y hepatorreñales. Estos son causados por la alteración endocrina y el estrés oxidativo lo que provoca alteraciones. El grado de daño será dependiente del tiempo que se estuvo en exposición ante este contaminante, su repetitividad y las concentraciones a las que se expone (Kolakowski et al., 2020).

En los Estados Unidos, el límite permisible para la concentración de plaguicidas en el agua potable es de 4 μM y en la UE el límite es de 0.6 nM. Hoy en día, los límites de la regulación son monitoreados por costosas técnicas de análisis. Debido al difícil procedimiento de muestreo, son muy pocas las muestras que se toman. Es de suma importancia el monitoreo principalmente en lugares donde su suelo permita la permeación de estos contaminantes a importantes fuentes de agua, las cuales llegar a flora y fauna, dando el ecosistema y la salud de poblaciones enteras (W. & J., 2002).

Se han publicado una variedad de artículos relacionados a la detección de estos contaminantes mediante los métodos convencionales. Sin embargo, se han hecho mejoras importantes, uno de ellos publicado en el 2018 (Noori et al., 2018) por Jafar Safaa. En dicha investigación se plantea la detección de pesticidas a través de la cuantificación electroquímica. Esta consiste en la aplicación de un potencial sobre una

solución de agua que contiene el analito para la posterior oxidación del Gli sobre un electrodo de oro. Se propone la oxidación en el enlace covalente fosforo-oxígeno. Para encontrar el potencial óptimo de sensado se tomaron en cuenta dos factores, el primero es la sensibilidad, para ellos se realizaron pruebas amperométricas a concentración de 0 mM (blanco), 0.018 mM y 0.3 mM. A cada concentración se le aplicaron siete potenciales diferentes (entre 0.6 a 1.05 V) obteniendo para cada uno de ellos una carga. Para encontrar el óptimo se calcularon las pendientes de carga generadas por la respuesta del máximo y mínimo de concentración, dicha pendiente representa la sensibilidad que puede tener cada potencial. El segundo factor fue la relación señal ruido que se calcula dividiendo la carga a cierta concentración de un potencial determinado, entre la carga del blanco al mismo potencial. Idealmente se tiene que encontrar un óptimo entre la alta sensibilidad y una relación señal ruido baja. Obteniendo dicho potencial se evaluó la capacidad de sensibilidad.

A partir de la necesidad de monitorear contaminantes y la inquietud por el desarrollo de nuevos sensores químicos se han planteado una serie de trabajos e investigaciones sobre detectores químicos los cuales pretenden mejorar muchos aspectos previamente mencionados respecto a los métodos convencionales de detección. Uno de ellos publicado por Russell, Ryan J. en 1999 (Russell et al., 1999). La investigación es un estudio de la detección de pesticidas organofosforados en hidrogeles por cambio de pH, para esto se prepara un material de hidrogel de poli(etilenglicol) en cual se le ha inmovilizado un biosensor fluorescente para Pesticidas organofosforados (PO) que utiliza carboxiseminatofluoresceína (SNAFL-1), un fluoróforo ratiométrico dependiente del pH. Para que cambie el pH también se ha inmovilizado hidrolasa organofosforada (OPH). Dentro del hidrogel, la OPH inmovilizada cataliza la hidrólisis en los enlaces P-O, P-S, P-F o P-CN de neurotoxinas organofosforadas que incluyen paraoxón, paratión y sarín, generando así protones, lo que resulta en una disminución del pH del microambiente y un aumento en la intensidad de fluorescencia medida. SNAFL-1 es un colorante, que reduce los problemas asociados con el foto-blanqueo y disminuye el ruido del sensor mediante el uso de mediciones de emisiones radiométricas.

Posteriormente, en junio del 2013 se publicó un artículo por Segal (Krepker & Segal, 2013). El estudio se centra en la síntesis de una nanoestructura de silicio poroso combinada con una estructura híbrida de silicio poroso (PSi) / hidrogel. El primer compartimento del biosensor consiste en un híbrido de óxido de silicio poroso (PSiO₂) / poli (metacrilato de 2-dimetilaminoetilo) [poli (DMAEMA)] el cual se modela in situ dentro de una película delgada. El nuevo híbrido resultante muestra una respuesta óptica rápida y reversible a los cambios de pH. Se empleó este híbrido como un elemento transductor óptico integrándolo con un segundo compartimento que incluye la hidrolasa organofosforada, que está inmovilizada dentro de los poros del PSiO₂, capaz de hidrolizar selectivamente compuestos organofosforados, lo que da como resultado una serie de cámaras catalíticas a nano escala para la degradación de los compuestos organofosforados y la liberación de dos protones estequiométricamente. Por lo tanto, la función del biosensor se basa en la difusión de los productos de hidrólisis de PO desde las cámaras catalíticas, a través de la red de poros interconectados, hasta la región híbrida que activa su respuesta óptica (Figura 2.5). La exposición al analito objetivo modelo da como resultado un cambio rápido y reproducible en el espectro de reflectividad óptica del híbrido, lo que permite la detección y cuantificación de una manera simple y confiable.

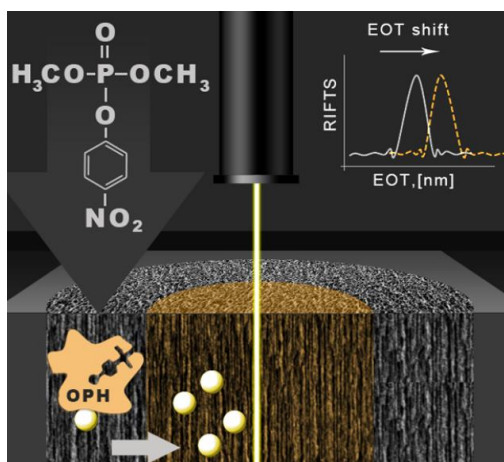


Figura 2.5 Mecanismo del sensor compuesto por oxido de silicio poroso-Hidrogel (Elemento transductor óptico) y silicio poroso-hidrolasa organofosforada para la detección de pesticidas (Krepker & Segal, 2013).

Recientemente, en octubre del 2018 se publicó un artículo publicado por Zeng (Li et al., 2018), reporta un sensor cromogénico y fluorogénico para detectar pesticidas organofosforados usando rodamina B funcionalizada con adenosín trifosfato (ATP) y como sitio de anclaje nanopartículas de oro. Primeramente, las nanopartículas se acoplan con ATP que funciona como agente estabilizador para evitar la agregación de las nanopartículas de oro. Después, se funcionaliza el ATP/nanopartículas con Rodamina B, lo que provoca que la fluorescencia de la rodamina se abata. Una vez hecho esto, para las pruebas de sensado se le adiciona el analito que al interaccionar con las nanopartículas provoca un desplazamiento del fluoróforo (ATP/Rodamina) y su liberación a al medio, por lo que se recuperan sus propiedades de fluorescencia. En adición a esto, al perder el agente estabilizador ATP, provoca la agregación de las nanopartículas lo que resulta en un cambio de coloración (Figura 2.6).

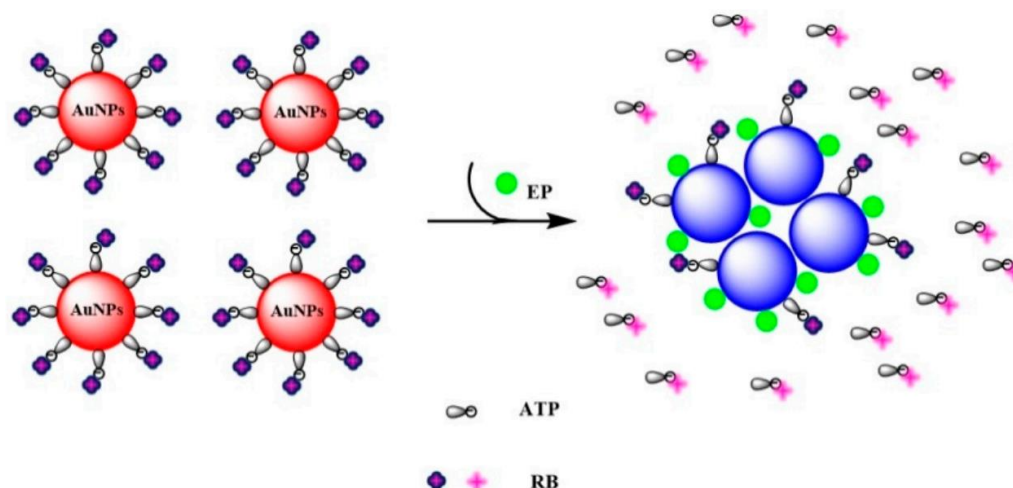


Figura 2.6 Mecanismo del sensor compuesto por nanopartículas de oro, ATP y rodamina B, para la detección de pesticidas (Li et al., 2018).

La presente tesis pretende sintetizar un detector a base de un hidrogel-ATP-naftalimida con los beneficios de ser de bajo costo y que presente una respuesta rápida. El hidrogel de poliacrilamida sintetizado por polimerización radicalaria de la acrilamida, usando como agente entrecruzante el N,N'-metilenbisacrilamida y persulfato de

amonio como iniciador. Sobre esta estructura polimérica se inmovilizará por interacciones electrostáticas un sensor fluorescente conformado por ATP y un derivado de naftalimida como fluoróforo. El cual, al ser sustituido de la matriz polimérica por los compuestos organofosforados se desprenderá hacia el líquido atrapado dentro del hidrogel, teniendo así un cambio de fluorescencia en respuesta a la presencia de compuestos organofosforados. Esto se lleva por un mecanismo de desplazamiento, en el que existe una interacción débil entre la subunidad emisora y el sitio de anclaje, al no existir un enlace covalente entre el polímero (Sitio de anclaje) y el ATP-naftalimida (Unidad emisora), provoca el desplazamiento de la unidad emisora y su liberación al medio acuoso (Figura 2.7). De esta manera sus propiedades espectroscópicas se modifican, ocasionando la fluorescencia del sobrenadante.

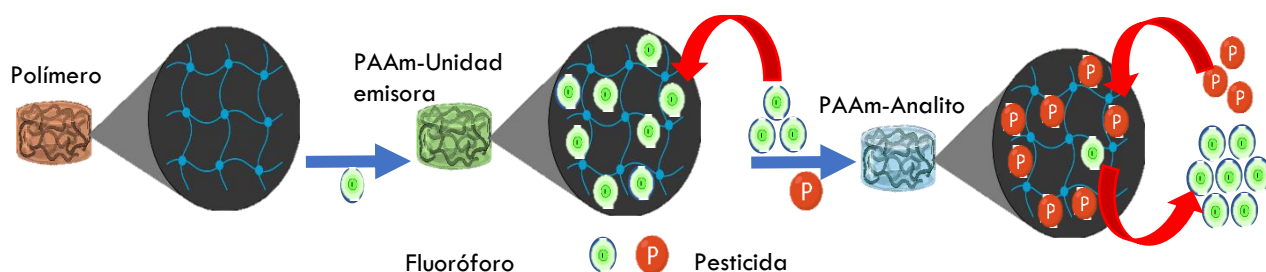


Figura 2.7 Mecanismo del sensor hidrogel-ATP-Naftalimida para la detección de pesticidas.



CAPÍTULO 3

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



3. Justificación, hipótesis y objetivos.

3.1 justificación

La detección rápida de pesticidas organofosforados (PO) en el medio ambiente es de gran importancia para la protección de la salud pública. Sin embargo, los métodos convencionales implican procedimientos que involucran laboratorios y equipos sofisticados. Esto se traduce a costos muy altos y largos tiempos para obtención de la respuesta. Por tal motivo, se requiere un método que sea de bajo costo, que tenga buena sensibilidad, selectividad y límites bajos de detección.

3.1 Hipótesis.

El sensor ATP-Naftalimida inmovilizado en un hidrogel a base de acrilamida, detectará glifosato a través de un mecanismo de sustitución sobre la superficie del hidrogel. Por medio de esta metodología se detectará de forma eficiente, precisa y a bajos costos PO, para este trabajo de tesis se utilizará glifosato.

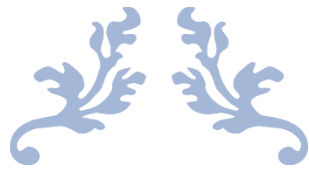
3.2 Objetivos.

3.2.1 Objetivos generales.

Desarrollar un sensor óptico para la detección cualitativa de Pesticidas organofosforados a base de un hidrogel/ATP-naftalimida, el cual sea económicamente factible y con tiempos de respuesta menores respecto a los métodos convencionales.

3.2.2 Objetivos específicos.

- Establecer protocolos para la funcionalización química del polímero con grupos funcionales amino.
- Sintetizar un hidrogel de poliacrilamida bajo condiciones específicas previamente reportadas para generar propiedades las cuales permitan la gelificación de la solución que contenga PO.
- Encontrar las mejores condiciones de síntesis del fluoróforo a través de la funcionalización de la molécula de ATP con naftalimida.
- Inmovilizar por interacciones intermoleculares ATP-naftalimida a la cadena de poliacrilamida.
- Realizar pruebas de desplazamiento de la molécula de ATP-naftalimida (subunidad emisora) incorporada sobre el hidrogel (Sitio de anclaje) con la molécula del PO (Analito). Todo esto a través de un mecanismo de desplazamiento y debido a la interacción débil entre las unidades.
- Evaluar la capacidad de detección de pesticidas organofosforados mediante fluorescencia en la solución debido a la liberación de la molécula de ATP-naftalimida.



CAPÍTULO 4

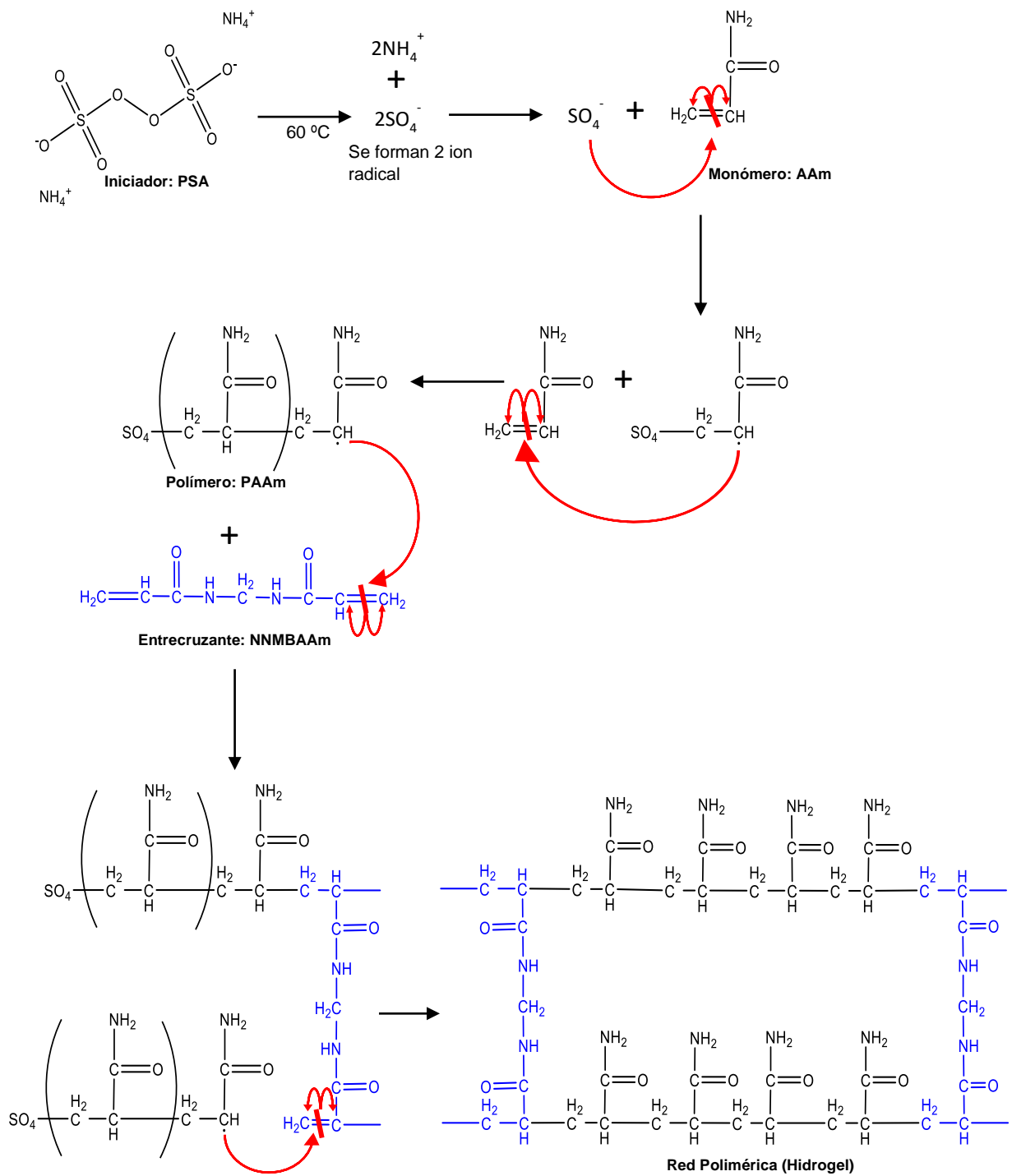
METODOLOGÍA



4. Metodología.

4.1 Síntesis del polímero.

Como se mencionó anteriormente, se emplea un hidrogel de acrilamida como sitio de anclaje. Para obtener dicho hidrogel se polimerizará la acrilamida la cual presenta un grupo vinilo, esto se llevará a cabo mediante una polimerización radicalaria, el cual puede observarse en el Esquema 4.1. Esta comprende de una etapa de iniciación en la cual partimos de un iniciador de radicales que es el persulfato de amonio. Esto se lleva a una temperatura de aproximadamente 60 °C generando la ruptura del persulfato de amonio y la obtención de radicales. Uno de los radicales reacciona con la base vinílica de la acrilamida rompiendo el doble enlace C=C, formando un enlace entre uno de los electrones desapareados y el radical. El otro electrón desapareado pasa a el segundo carbono por una cuestión de estabilidad siendo esta molécula formada un nuevo radical. Una vez transcurrido esto comienza la etapa de propagación donde el electrón desapareado del nuevo radical reacciona con la base vinílica de otro monómero. Esto ocurre rompiendo homolíticamente el doble enlace C=C generando dos electrones desapareados. Uno de ellos formará el enlace que unirá ambos monómeros, el otro electrón desapareado nuevamente pasará al segundo carbono, repitiendo este mecanismo hasta formar una cadena polimérica. Por último, se lleva a cabo la etapa de entrecruzamiento con la N,N'-Metilenbisacrilamida la cual presenta dos bases vinílicas. Por lo cual se requieren dos cadenas poliméricas cada una con un electrón desapareado que atacará el doble enlace C=C de cada grupo vinilo. Finalmente, se forman puntos de reticulación y la estructura de la red polimérica o hidrogel, ver Esquema 4.1.



Esquema 4.1 Mecanismo de polimerización de la poliacrilamida.

Para la síntesis de los hidrogeles se mantuvo constante la cantidad de acrilamida (1 g), en base a este dato se determinaron los pesos de los porcentajes de entrecruzante e iniciador.

4.1.1 Determinación del peso de entrecruzante e iniciador.

Se determinó el 1% de entrecruzante en base a la masa total del monómero:

$$m_{ac} = 1 \text{ g}$$

$$m_e = (1 \text{ g})(0.01) = 0.01 \text{ g}$$

De igual forma se determinó el peso para el iniciador

$$m_{ac} = 1 \text{ g}$$

$$m_i = (1 \text{ g})(0.01) = 0.01 \text{ g}$$

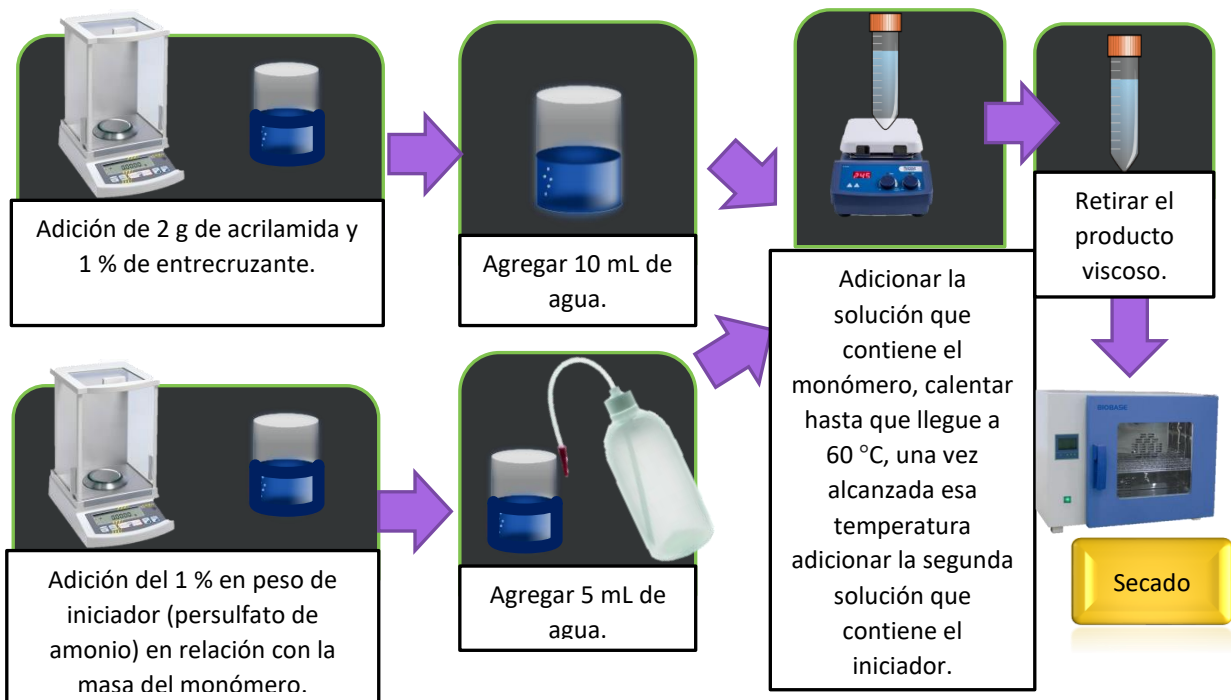
4.1.2 Técnica de síntesis del polímero.

Se prepararán dos soluciones, para la primera se pesarán 1.0 g de acrilamida (monómero) y 0.01 g de metilbisacrilamida (entrecruzante). Esta solución se aforará a 10 mL en agua. Para la segunda solución se pesan 0.02 g de persulfato de amonio (Iniciador) esta se afora a 5 mL. En cuanto al sistema de reacción se usará un matraz que contiene la solución de monómero y entrecruzante. El cual se equipará con un termómetro para ir midiendo y controlando la temperatura. Se someterá a calentamiento indirecto y una vez la temperatura alcance los 65 °C se adicionará la solución que contiene el iniciador. El sistema se mantendrá en agitación todo el tiempo hasta que llegue a su punto de gelificación. Debido a su alta viscosidad y alto peso molecular el agitador magnético ya no podrá tener más movimiento. Este será el punto cuando nos demos cuenta de que la reacción ha terminado. Posteriormente, se pasará

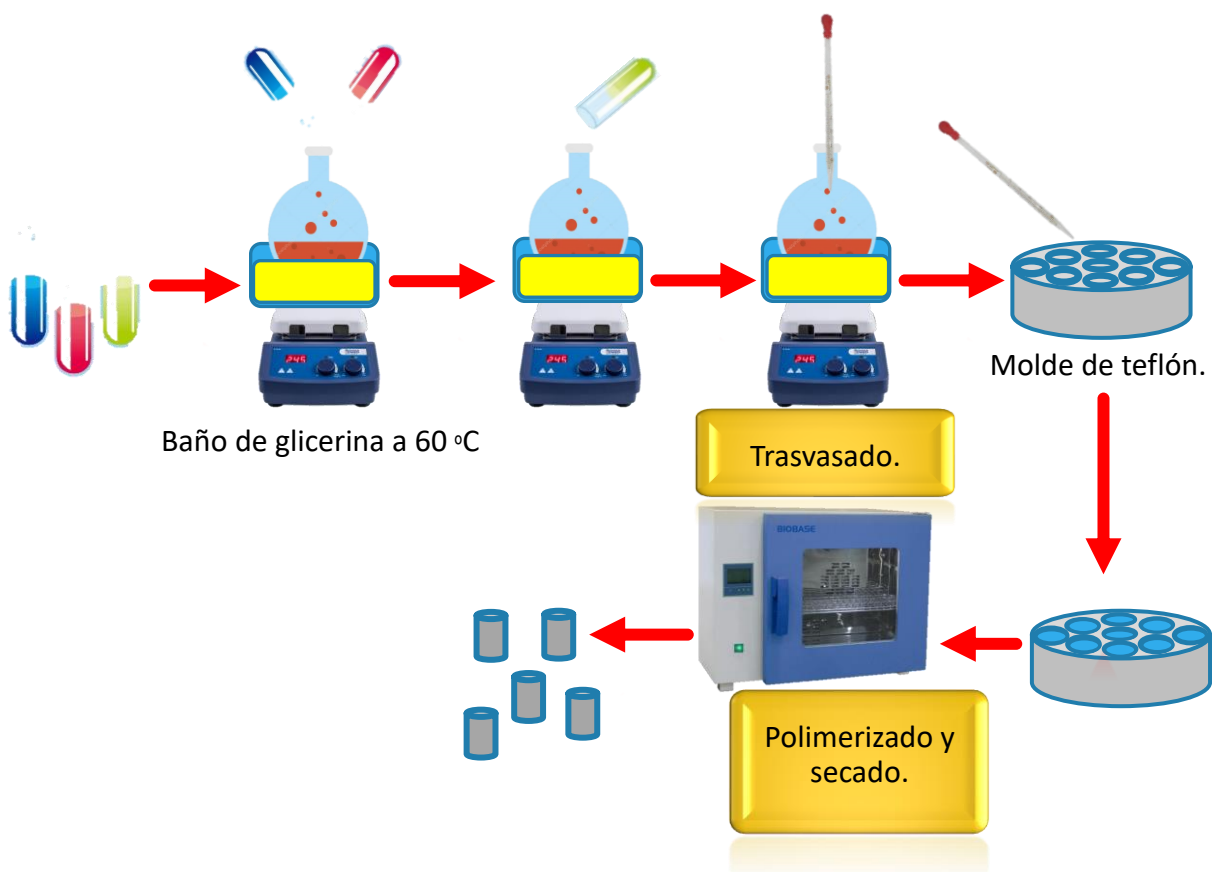
el producto polimérico a un tubo de ensaye, donde se someterá a tres lavados para finalmente dejarlo secar por completo para su posterior acoplamiento con el fluoróforo.

4.1.3 Moldeo.

Inicialmente para la polimerización de la acrilamida se empleaba como molde y reactor un tubo falcón de 25 mL, esta metodología se puede ver en el Esquema 4.2. Una vez polimerizado, el polímero adquiría una forma cilíndrica y posteriormente se cortaba con una navaja, lo cual causaba daños al material ya que la navaja se oxidaba rápidamente durante el corte. El hidrogel absorbía el óxido y podría afectar los experimentos. Otra desventaja de cortar el hidrogel era que la forma no era uniforme y se obtenían unos hidrogeles con diferencias significativas en el peso y forma, algunos tenían mayor área y volumen que otros. Para resolver este problema se fabricaron siete moldes de teflón los cuales presentan trece orificios, todos del mismo volumen en cada molde. Esto para colocar la solución que contenía el iniciador, monómero y entrecruzante. Para poder emplear este molde se seguía la siguiente metodología. Se pesan las cantidades respectivas de monómero (A), entrecruzante (B) e iniciador (C). Se coloca A y B en un contenedor 1 adicionando 5 mL de agua, C se colocaba en un contenedor 2 adicionando 2.5 mL de agua. El contenedor 1 se sometía a agitación 5 minutos a 60 °C. Después se adicionaba el material del contenedor 2. En este punto era de suma importancia no dejar que la solución se polimerizara, por lo cual se mide el tiempo que tarda en polimerizar la solución a 65 °C resultando un tiempo de 7 minutos. Una vez que se mezclaban ambos contenedores se dejaban 3 minutos en mezclado para después trasvasar la solución mezclada a los moldes. Todo esto antes de que pasaran 7 minutos que era el tiempo donde comenzaba a polimerizar. Una vez se llenaban todos los moldes se pasaba a un horno que estaba a una temperatura de 85 °C donde se terminaba de polimerizar durante 24 horas el hidrogel, esta metodología se puede ver en el Esquema 4.3.



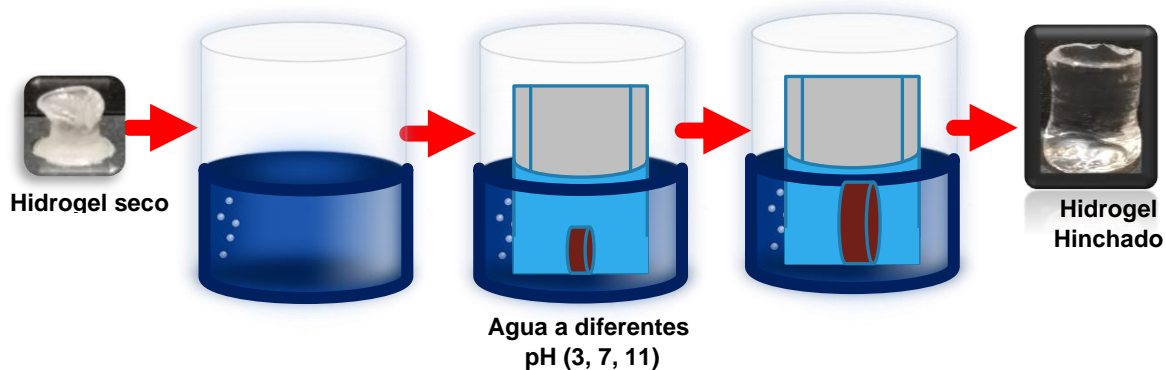
Esquema 4.2 Primera metodología de síntesis y moldeo propuesta para la obtención de los hidrogeles.



Esquema 4.3 Segunda metodología de síntesis y moldeo propuesta para la obtención de los hidrogeles.

4.1.4 Hinchamiento de los hidrogeles en agua a diferentes pH.

La capacidad de hinchamiento de los hidrogeles se evaluó con el siguiente protocolo. Se prepararon soluciones amortiguadas con diferentes valores de pH (3, 7, 11). Para los hidrogeles sintetizados se pesaron muestras secas, las cuales se introdujeron respectivamente en contenedores con un volumen de buffer de 6 mL. El estudio de hinchamiento se llevó a cabo por gravimetría en un tiempo de dos semanas, la metodología se puede ver en el Esquema 4.4. El contenido en agua en el equilibrio fue definido como el porcentaje en peso de agua en el hidrogel.



Esquema 4.4 Metodología para medir la cinética de hinchamiento de los hidrogelos a diferentes pH.

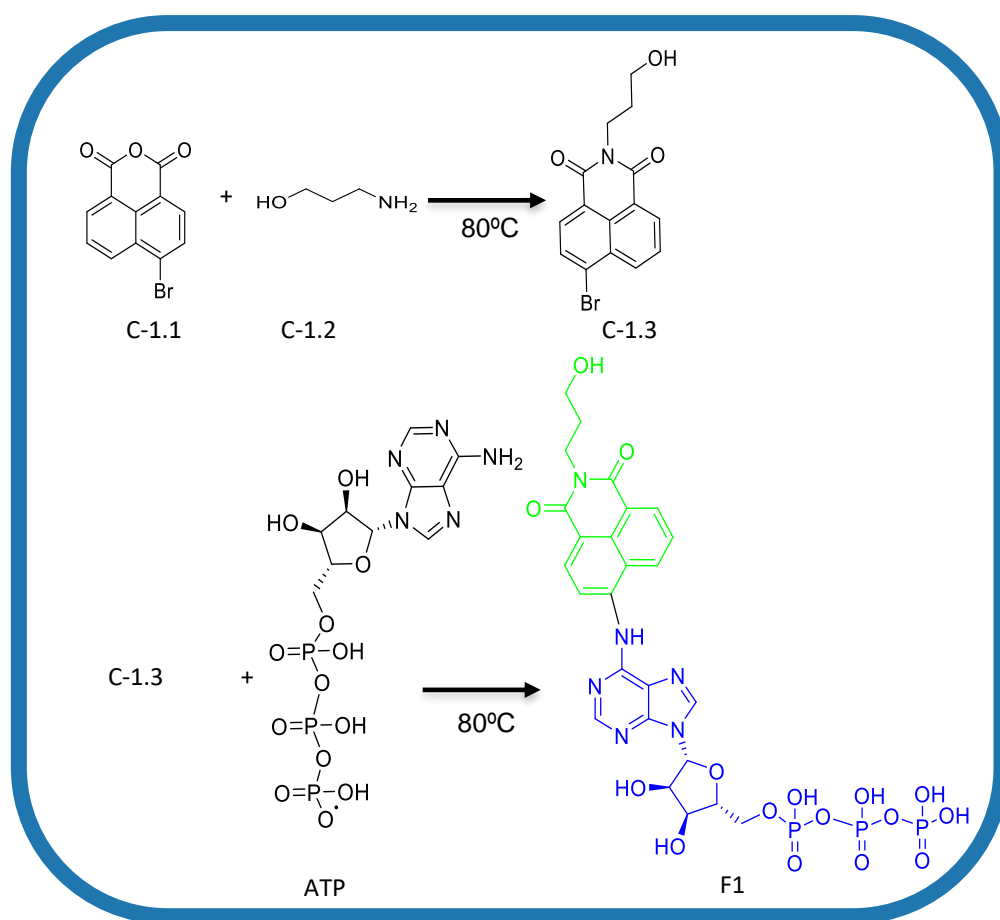
4.2 Síntesis de fluoróforos.

Una vez sintetizado el material polimérico (hidrogel) y conociendo sus propiedades de hinchamiento a diferentes condiciones de pH, se procede a sintetizar los fluoróforos partir de la 1,8-bromo naftalimida y del ATP. Se sintetizaron dos moléculas diferentes con el objetivo de tener diferentes propiedades de absorción, emisión, excitación. Esto sirve para comprobar como cada una de ellas interactúa con el hidrogel y el Gli. De esta manera se pueden comparar y evaluar sus capacidades de sensado y selectividad ante diferentes concentraciones y analitos.

4.2.1 Síntesis del fluoróforo 1 (Naftalimida-ATP).

La unidad fluorescente 1,8-bromo naftalimida, es una molécula con excelentes propiedades fluorescentes. Para sintetizar esta molécula se parte del 4-bromo-1,8-anhidrido naftalico (C-1.1) y del 3-Amino-1-propanol (C-1.2). Para la síntesis del fluoróforo 1 se partió de la 1,8-bromo naftalimida (C-1.3). Es una molécula con excelentes propiedades fluorescentes, a esta molécula se le modifico con ATP ya que esta molécula contiene grupos fosfato (PO_4^{3-}) con una carga parcialmente negativa, lo

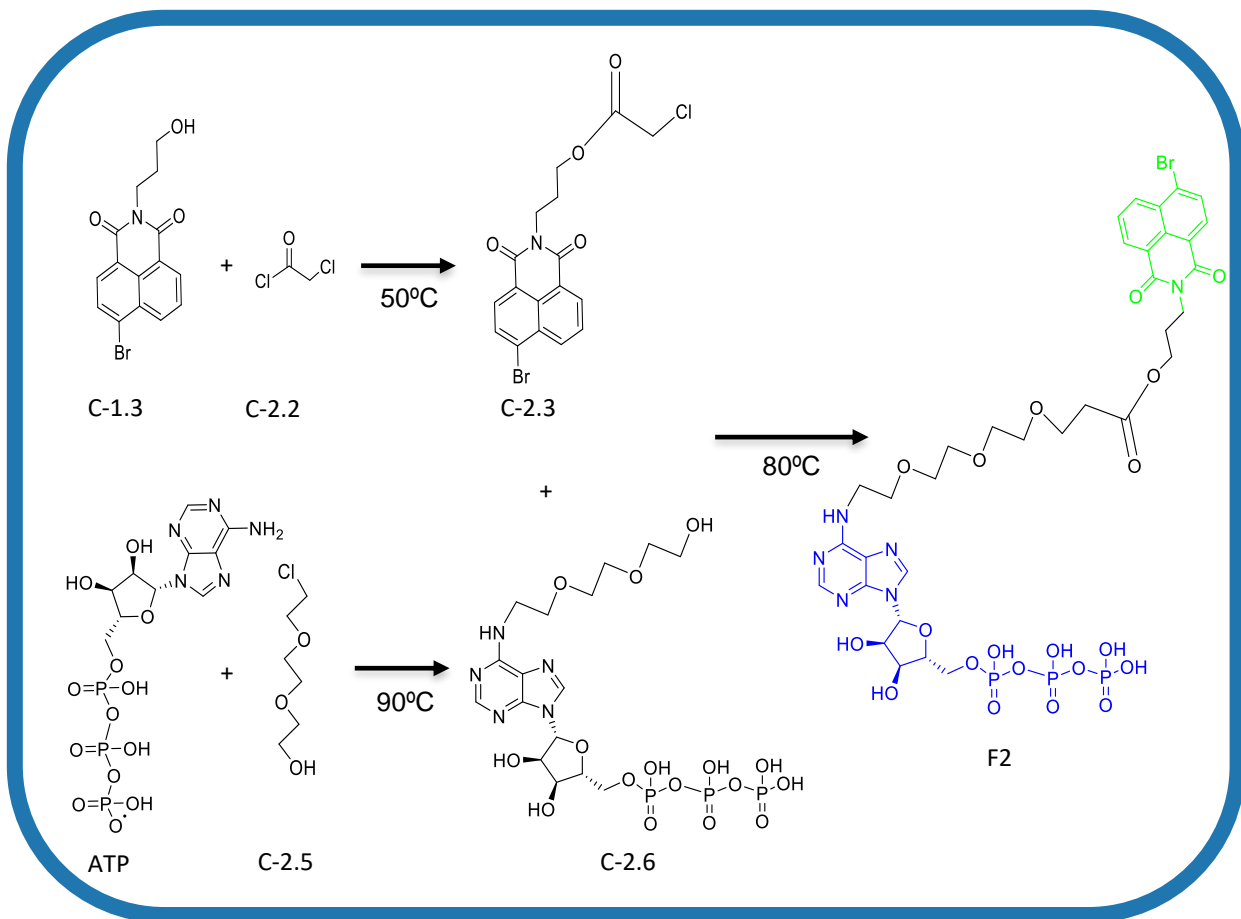
que formará una sonda fluorescente que tendrá atracción por los grupos amida ($CONH_2$) del polímero. Estos tienen una carga parcialmente positiva, por lo cual se podrán generar interacciones para formar puentes de hidrogeno, mecanismo por el cual modificaremos el polímero injertándole una molécula fluorescente, dicha síntesis sigue la ruta del Esquema 4.5. Finalmente, se obtiene un fluoróforo con excelentes propiedades fluorescentes color azul, con una longitud de onda de absorción de 349 nm, emisión de 458 nm y excitación de 380 nm (Figura 5.12, 5.17 y 5.18).



Esquema 4.5 Síntesis del compuesto Naftalimida-ATP (F1)

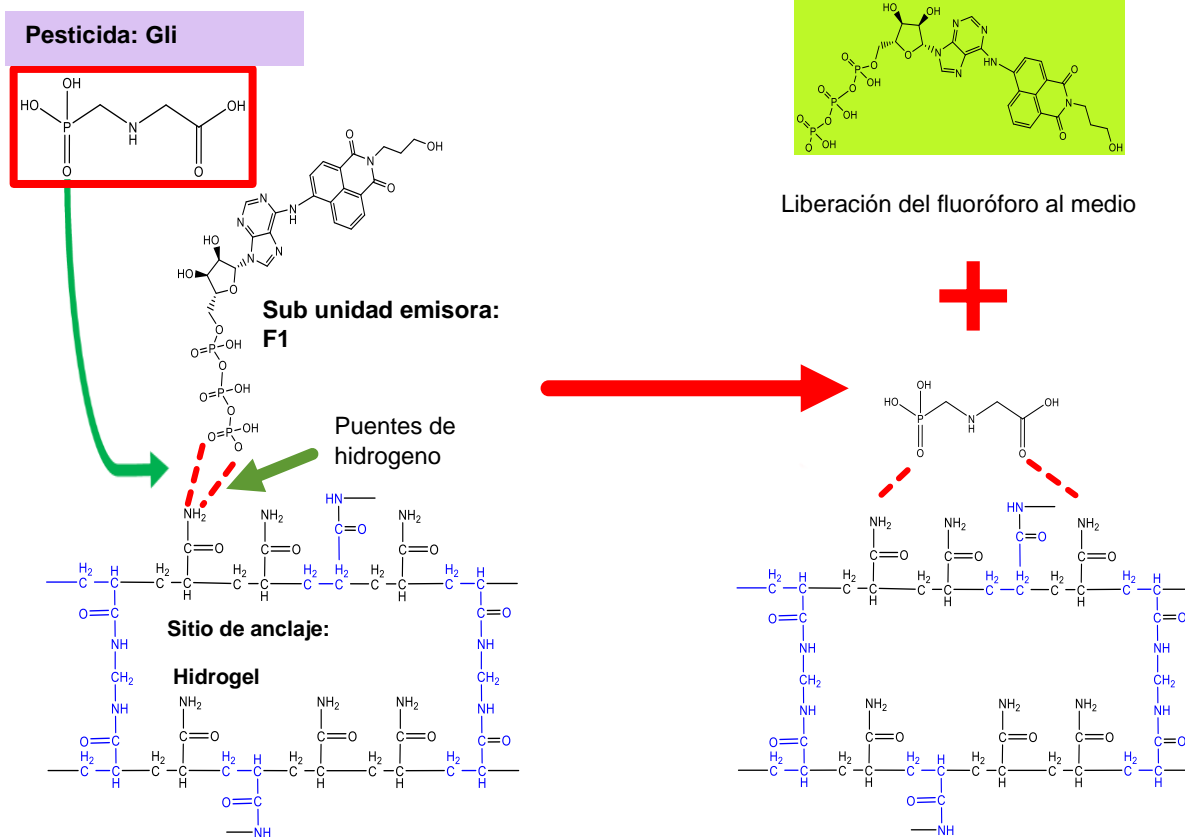
4.2.2 Síntesis del fluoróforo 2.

Para llegar a la síntesis del F2 se llevaron a cabo dos reacciones previas, la cual sigue la ruta del Esquema 4.6. Primero, se sintetizó el compuesto ATP-etoxi (C-2.6) a partir del ATP (C-2.4) y del (Cloroetoxi)etoxi (C-2.5). Uno de los principales objetivos de reaccionar el ATP con el (Cloroetoxi)etoxi es aumentar la capacidad de solubilidad o la propiedad de hidrofilia que es la capacidad de atracción con moléculas de agua, del ATP en medios acuosos. La naftalimida es soluble únicamente en solventes orgánicos y al momento de hacerlos reaccionar si ambos reactivos no se solubilizan el porcentaje de conversión será mínimo o casi nulo, como consecuencia no podremos llegar al producto deseado. El segundo compuesto sintetizado fue la naftalimida-cloroacetil (C-2.3) la cual se sintetiza a partir de la 1,8-bromo naftalimida (C-1.3) y del cloruro de cloro acetilo (C-2.2). El objetivo de la ruta de síntesis del F2 comparada con el F1 fue unir la molécula del ATP a la Naftalimida por otra posición. Con esto se busca lograr un flujo de electrones que mejore la propiedad de fluorescencia. Además, dotar al nuevo compuesto de diferentes bandas de absorción y emisión lo cual modificara el color de la fluorescencia y su intensidad. Finalmente, se hace reaccionar la naftalimida-cloroacetil y el ATP-etoxi, obteniendo un fluoróforo color verde con una longitud de onda de absorción de 450 nm, emisión de 547 nm y excitación de 448 nm (Figura 5.12, 5.17 y 5.18).



Esquema 4.6 Síntesis del compuesto naftalimida-acetil-ATP-etoxi (F2)

4.3 Incorporación de los fluoróforos a la red polimérica.

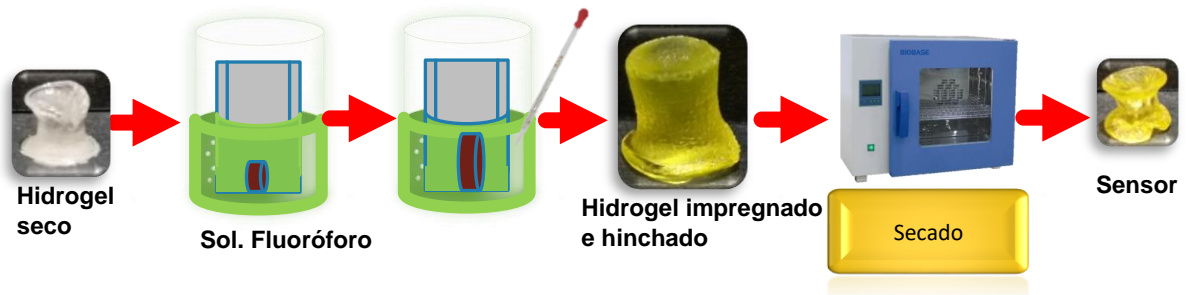


Esquema 4.7 Mecanismo de incorporación y sensado del F1, donde el analito sustituye a la unidad fluorescente liberándola al medio.

Posteriormente a la síntesis de los fluoróforos 1 y 2, se procede a impregnarlos en la red polimérica, como se muestra en el Esquema 4.7. Se espera que se den las siguientes interacciones electrostáticas formando puentes de hidrogeno, esto se pretende lograr siguiendo las siguientes metodologías propuestas.

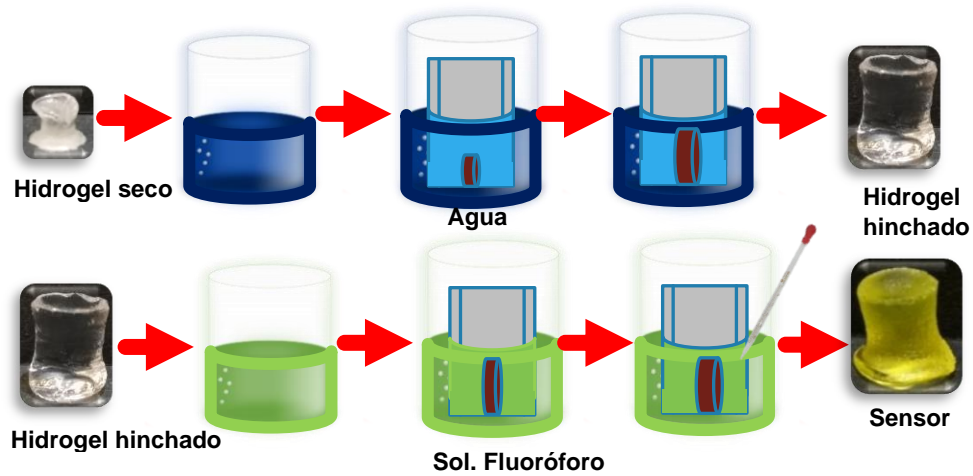
La primera metodología propuesta, fue secar el polímero posterior a la síntesis y moldeo. Preparar una solución de cada fluoróforo en agua a una concentración de 500 μM empleando el baño ultrasónico para obtener una mejor solubilidad y homogeneidad en la solución. Posteriormente, adicionar a la solución el hidrogel seco dejándolo sumergido por 24 horas hasta que alcance el equilibrio de hinchamiento, por

último, se deja secando el hidrogel otras 24 horas en el horno a 85 °C esperando que el fluoróforo se quede atrapado dentro del polímero debido a las interacciones electrostáticas que pueden ocurrir, dicha metodología sigue la ruta del Esquema 4.8.



Esquema 4.8 Primera metodología de impregnación propuesta, partiendo del hidrogel seco.

Segunda metodología propuesta (Esquema 9): partiendo del hidrogel previamente secado, se deja en hinchamiento por 24 horas en agua a pH 7 hasta alcanzar el equilibrio, posteriormente el hidrogel hinchado se sumerge dentro de una solución con cierta concentración de fluoróforo hasta que se impregne por procesos de difusión y finalmente se seca a 85 °C por 24 horas. Finalmente, obtenemos hidrogeles impregnados de fluoróforo, los cuales presentan fluorescencia bajo luz UV a 365 nm (Figura 4.1).



Esquema 4.9 Segunda metodología de impregnación propuesta, partiendo del hidrogel hinchado.



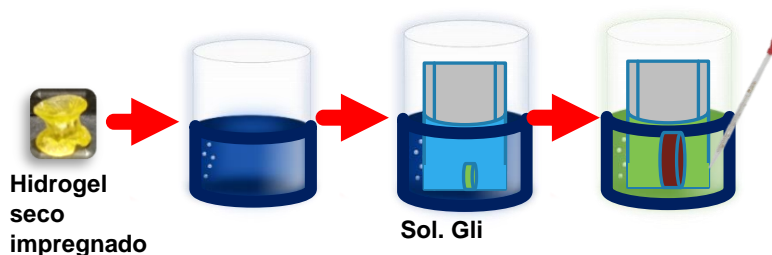
Figura 4.1 Fluorescencia en sólido del hidrogel pulverizado de la poliacrilamida pura (Izquierda) e impregnada con F1 (Centro) y F2 (Derecha), bajo luz UV 365 nm.

4.4 Metodología de sensado.

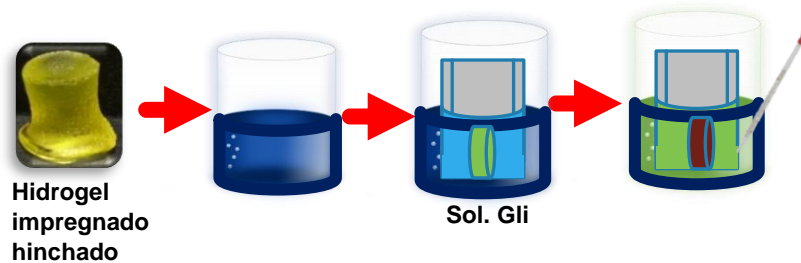
Partiendo de las dos metodologías de impregnación propuestas se continúan las mismas para realizar los experimentos de sensado, para estos experimentos de sensado se procederá a sumergir los hidrogeles en soluciones de Gli a diferentes concentraciones (0, 100, 300 y 500 μM), siguiendo la metodología 1, una vez obtenemos el hidrogel impregnado y seco, este se sumerge dentro de la solución de

pesticida por 24 horas hasta que alcance el equilibrio de hinchamiento. el pesticida sustituirá a moléculas de fluoróforo liberándolas a la solución, de esta manera podemos tomar una muestra del sobrenadante, procesar la muestra por alguna técnica de análisis como espectrometría ultravioleta visible o por espectrofotometría de fluorescencia y sensar la presencia de pesticida, la metodología de sensado se observa en el Esquema 4.10.

A diferencia del método 1 y siguiendo el método 2 de impregnación, una vez obtuvimos el hidrogel impregnado e hinchado, inmediatamente metemos el hidrogel dentro de una solución de pesticida (Esquema 4.11), con el objetivo de que uno de los principales fenómenos que afecte el intercambio de fluoróforo pesticida sea la difusión, aunque sabemos que no es el único fenómeno que está involucrado en el mecanismo de sensado, para que haya una sustitución de pesticida que libere el fluoróforo al medio, debe existir una mayor afinidad de carga por parte del pesticida, la cual será la fuerza impulsora que rompa la atracción entre el grupo funcional de la red polimérica y el fluoróforo desplazándolo y liberándolo al medio. Estas fuerzas o enlaces son enlaces o atracciones débiles, como puentes de hidrogeno formados por la atracción de los oxígenos presentes en el ATP con una carga parcial negativa y la carga parcial positiva de las amidas. Los resultados de ambas técnicas de impregnación/sensado se presentan en el siguiente capítulo.



Esquema 4.10 Metodología de sensado basada en la primera metodología de impregnación, donde el sensado se hace partiendo del hidrogel seco impregnado.



Esquema 4.11 Metodología de sensado basada en la segunda metodología de impregnación, donde el sensado se hace partiendo del hidrogel hinchado impregnado.

4.5 Determinación del porcentaje de liberación mediante la técnica espectrometría UV-Vis y espectrofotometría de fluorescencia.

Para determinar el % de liberación, se empleó la técnica de espectroscopia UV-Vis y/o espectrofotometría de fluorescencia. Primero, se determinó la absorbancia (Abs) o la intensidad de emisión (a.u.) dependiendo de la técnica empleada, y con una serie de cálculos, mediciones y con el apoyo de curvas de calibración para cada una de las técnicas, se determinó el % de liberación.

Se realizaron una serie de curvas de calibración para cada uno de los fluoróforos, después se realizó un ajuste lineal de los datos. Posteriormente, se midió la masa cargada a cada uno de los hidrogeles, esto se hizo midiendo la absorbancia de los sobrenadantes de la solución, donde se dejó impregnando los hidrogeles. Después, a partir de las ecuaciones lineales (Ec. 1) generadas por el ajuste de las curvas de calibración, se calcula la concentración correspondiente a la absorbancia medida.

$$Y = mx + b \quad (1)$$

Donde Y= Abs y X=Concentración (C) en μM (Ec. 2).

$$\text{Abs} = 0.0035 (C_1) - 0.044 \quad (2)$$

Se despeja la concentración quedando (Ec. 3):

$$C_1 = \frac{\text{Abs}+0.044}{0.0035} \quad (3)$$

La curva de calibración se formó con datos de absorbancia, con un valor que comprenden entre 0 y 1, por lo que, si el sobrenadante nos da una absorbancia mayor de 1, se toma una menor cantidad en volumen, y se diluye con agua. Dependiendo del volumen de sobrenadante que se haya tomado para analizar, se hacen los cálculos para determinar la concentración del sobrenadante sin diluir, con la siguiente relación (Ec. 4):

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (4)$$

A partir de la concentración determinada y sabiendo que la expresión para la molaridad es de la forma (Ec. 5):

$$C_2 = \frac{\text{moles soluto}}{\text{litros Solucion}} \quad (5)$$

Donde, los litros de solución son el volumen total de sobrenadante. Por lo tanto, despejando los moles de soluto queda la siguiente expresión (Ec. 6):

$$\text{Mol} = (C_2)(V_2) \quad (6)$$

Se conoce que la definición del mol es (Ec. 7):

$$\text{Mol} = \frac{\text{Masa}}{\text{PM}} \quad (7)$$

Se despeja la masa quedando la siguiente ecuación (Ec. 8):

$$\text{Masa} = (\text{mol})(\text{PM}) \quad (8)$$

A partir de la ecuación 8 se obtiene la masa de fluoróforo que queda en el sobrenadante después de impregnar a los hidrogeles, por lo que, la masa cargada a los hidrogeles será la diferencia entre la masa inicial adicionada a la solución y la masa que permanece en el sobrenadante después de impregnarlos (Ec. 9).

$$\text{masa cargada en hidrogeles} = \text{Masa inicial adicionada} - \text{masa sobrenadante} \quad (9)$$

Para calcular la masa cargada a cada hidrogel, simplemente se divide la masa cargada entre el número de hidrogeles impregnados en la solución (Ec. 10).

$$\text{Masa cargada por el hidrogel} = \frac{\text{masa cargada total}}{\text{N}^{\circ} \text{ hidrogeles}} \quad (10)$$

Después de determinar la masa de fluoróforo cargada al hidrogel, se procede a calcular el porcentaje de liberación de fluoróforo después de poner en contacto el sensor con el analito. A partir de la ecuación generada por el ajuste de la curva de calibración (Ec. 1), y partiendo de las absorbancias medidas en el sobrenadante de cada experimento, se calcula la concentración de fluoróforo correspondiente en el sobrenadante con la ecuación 3. Es importante mencionar que las absorbancias se tomaron a una longitud de onda de 349 nm para el F1 y 257 nm para el F2, dichos valores corresponden a longitudes de onda de adsorción características de los fluoróforos (Figura 5.12). Posteriormente se sigue el mismo procedimiento de cálculo empleado para determinar la masa cargada en el hidrogel, empleando las ecuaciones 4, 5, 6 y 7 hasta llegar a la ecuación 8, la cual determina la masa de fluoróforo que se liberó en el sobrenadante, esto después del sensado o, en otras palabras, después de que él Gli ha sustituido y desplazado al fluoróforo en la red polimérica y se ha liberado al medio. Por último, el porcentaje liberado de fluoróforo respecto al cargado se calcula con la siguiente expresión (Ec. 11):

$$\% \text{ liberado} = 100 - \left(\frac{(\text{masa cargada al hidrogel} - \text{masa liberada})}{\text{masa cargada al hidrogel}} \times 100 \right) \quad (11)$$

Se siguió la misma metodología de cálculos para determinar el porcentaje de liberación en las pruebas de selectividad, los resultados se presentan en el siguiente capítulo.

4.6 Técnicas de caracterización.

4.6.1 Espectroscopia Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR).

La espectroscopia infrarroja fue empleada para identificar los grupos funcionales de las diferentes moléculas sintetizadas dentro del presente trabajo, comprobar la formación de los productos de interés en cada una de las síntesis llevadas a cabo,

observar la presencia de los fluoruros y analitos en los compósitos preparados, así como confirmar la interacción que se presenta entre ellos. Cabe destacar que la región del infrarrojo del espectro electromagnético abarca la radiación en número de onda entre 14000 y 20 cm^{-1} , donde la más utilizada es la región del infrarrojo intermedio, la cual comprende las frecuencias de 4000 a 200 cm^{-1} .

Los espectros infrarrojos por FTIR de los hidrogeles y fluoróforos sintetizados fueron obtenidos con un Espectrofotómetro Cary 600, Agilent Technologies, equipado con ATR de diamante (Reflectancia Total Atenuada) perteneciente al laboratorio de biopolímeros y nanoestructuras de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, con una resolución de 4 cm^{-1} y 32 barridos, se analizaron las muestras en forma de polvo en un rango de $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$. Inicialmente se midió el espectro infrarrojo del medio que fue el aire (background) para evitar interferencias en los análisis posteriores. A continuación, se tomó la muestra del hidrogel y se puso en contacto con la punta de diamante. La muestra se aseguró presionando la película con un tornillo micrométrico. Finalmente se midió el espectro de la muestra.

4.6.2 Gravimetría.

Mediante la técnica de gravimetría se permite determinar la cantidad adicionada de un elemento a una muestra que previamente fue determinada su masa, para esto se emplea una balanza analítica. Esta técnica es ampliamente usada en cinéticas de hinchamiento (Liu et al., 2013), donde el objetivo es medir incrementos de masa en función del tiempo. Generalmente la parte más importante de una cinética es en la primera etapa respecto al tiempo máximo de hinchamiento. En esta etapa, la velocidad de hinchamiento es la más rápida, por lo que se debe tener tiempos muy cortos de medición (Katime, 2005).

4.6.3 Espectroscopia Ultravioleta Visible.

La espectroscopía UV-Vis está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible. El objetivo de emplear esta técnica es para a través de la correlación con la concentración poder cuantificar el fluoróforo que se ha cargado al hidrogel. El fluoróforo que se libera, además de conocer las longitudes de onda características de adsorción de los fluoróforos sintetizados. Para los experimentos de selectividad y sensado se realizaron pruebas por duplicado del porcentaje de liberación. Las condiciones de síntesis de los hidrogeles usados fue 1% entrecruzante, 1% iniciador y agua desionizada para su síntesis. Para analizar los experimentos se determinó la absorbancia en función de la longitud de onda. Con una serie de cálculos, mediciones y con el apoyo de curvas de calibración para cada una de las técnicas, se determinó el porcentaje de liberación y carga.

El rango de radiación de la técnica de espectrometría por UV-Vis comprende entre las longitudes de onda entre los 160 y 800 nm, esta técnica se basa en la radiación que una molécula absorbe. La absorción de esta radiación causa la promoción de un electrón a un estado excitado. Los electrones que se excitan al absorber radiación de esta frecuencia son los electrones de enlace de las moléculas, por lo que los picos de absorción se pueden correlacionar con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto.

4.6.4 Espectrofotometría de fluorescencia.

La espectrofotometría por fluorescencia está basada en los procesos de emisión, excitación. El objetivo de emplear esta técnica es para a través de la correlación con la concentración poder cuantificar el fluoróforo que se ha cargado al hidrogel. El fluoróforo que se libera, además de conocer las longitudes de onda características de emisión, excitación de los fluoróforos sintetizados. Para los experimentos de selectividad y sensado se realizaron pruebas por duplicado del porcentaje de liberación. Las condiciones de síntesis de los hidrogeles usados fueron las mismas

que en la técnica de UV-Vis. para determinar el porcentaje de liberación y carga se determinó la intensidad (a.u.) en función de la longitud de onda y mediante una serie de cálculos, mediciones y con el apoyo de curvas de calibración, se determinó el porcentaje de liberación correspondiente.

La espectroscopia de fluorescencia es una herramienta que se emplea para monitorizar cambios a nivel molecular en todo tipo de sistemas, por ejemplo, en sistemas poliméricos. Esto se debe a las ventajas que presenta la técnica en comparación con otras técnicas convencionales (Valeur & Berberan, 2012) (Retting & Strehmel, 1999).

4.6.5 Análisis Termo Gravimétrico (TGA).

El análisis termogravimétrico (TGA) es una técnica que mide la masa de una muestra mientras se calienta o se enfría en un ambiente controlado e inerte. El TGA se usa principalmente para la caracterización de materiales en lo que respecta a su composición. También permite medir fenómenos térmicos que no provocan un cambio de masa, como la fusión, la transición vítrea u otro tipo de transiciones de fase sólido-sólido. Dentro del presente trabajo esta técnica fue empleada con el objetivo de comprobar la existencia de los fluoróforos y analitos en el compósito. Debido a que por medio de la técnica FTIR no se pudieron ver los compuestos presentes en el material debido a un posible solapamiento de bandas. Otro objetivo fue tener una explicación más sólida del comportamiento de los compuestos puros (F1, F2, acrilamida, Gli) y los compósitos resultantes de la impregnación y sensado. Por último, otro objetivo fue ver cómo cambian las propiedades físicas térmicas en función de la temperatura. Para determinar la estabilidad térmica de los hidrogeles se empleó esta técnica de análisis empleando un instrumento TA (Q500). Durante el análisis, los flujos de nitrógeno y aire se mantuvieron en 20 mL/min, las muestras puras y compósitos se colocaron en una charola de aluminio y se calentaron desde una temperatura ambiente de aproximadamente 25 °C hasta 500 °C, fijando una velocidad de calentamiento de

10 °C/min, las muestras fueron analizadas de la siguiente manera: a) compuestos puros, b) hidrogel impregnado c) hidrogel impregnado y sensado. las muestras para analizar fueron las siguientes: fluoróforo 1, fluoróforo 2, Gli puro, PAAm, compósito PAAm-F1, compósito PAAm-F2, compósito PAAm-F1-Gli, compósito PAAm-F2-Gli.



CAPÍTULO 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



5. Resultados y Discusión.

5.1 Análisis por espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).

Para confirmar la estructura molecular de los fluoróforos sintetizados, se realizó un estudio mediante la técnica FTIR, en los cuales se observaron los siguientes resultados:

Para la reacción de formación del fluoróforo 1 se emplea como reactivo el ATP y la 1,8-bromo naftalimida. Sus espectros debidamente identificados se muestran en la Figura 5.1. El ATP presenta bandas características importantes para la identificación de los grupos fosfato en la molécula a 692 y 509 cm^{-1} . La molécula 1,8-bromo naftalimida presenta múltiples bandas, las más importantes son las de estiramiento Ar-Br a 1071 cm^{-1} y C-Br a 554 cm^{-1} . Otras bandas importantes de identificar son la de tensión C=C que abarcan desde 1585 a 1505 cm^{-1} y la de tensión C=O a 1700 cm^{-1} . Al comparar las bandas características de los reactivos y productos se puede observar que se pierde la banda de vibración C-Br y Ar-Br de la 1,8-bromo naftalimida. Sin embargo, permanecen las bandas de tensión C=C y C=O. Respecto al ATP, se observa que las bandas características de los grupos funcionales fosfato, aparecen en el espectro del fluoróforo 1, lo que confirma la estructura propuesta.

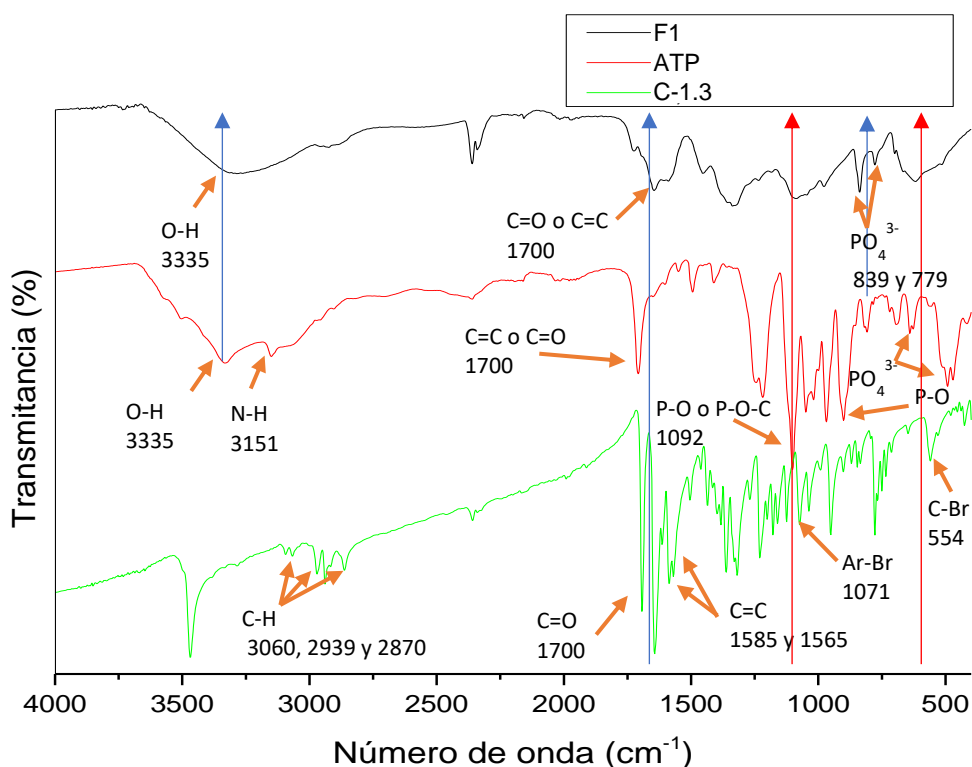


Figura 5.1 Espectro infrarrojo de los reactivos y producto para la síntesis del F1.

Para la síntesis del segundo fluoróforo se trabajaron tres reacciones distintas. La primera para la síntesis de la naftalimida-cloroacetil, la segunda para formar el ATP-etoxi y por último la síntesis del fluoróforo 2 usando los productos de las reacciones previas. Para confirmar la formación de la naftalimida-cloroacetil y su estructura propuesta, se analizaron los espectros infrarrojos observados en la Figura 5.2. Se observó que en el producto se presentan bandas importantes de ambos reactivos. Respecto al reactivo cloruro de cloro acetilo se observan bandas importantes relacionadas al grupo funcional éster (C=O) en un número de onda de 1765 cm^{-1} . Al igual que importantes bandas de estiramiento C-Cl a 740 y 666 cm^{-1} . Respecto a la 1,8-bromo naftalimida, en el producto se observan bandas de vibración importantes de este reactivo en específico la banda de C-Br a 554 cm^{-1} , al igual que vibraciones C-H a 3060, 2939 y 2870 cm^{-1} . En adición, se observaron las bandas de vibración de tensión C=C entre en rango de 1500 y 1580 cm^{-1} correspondientes a los anillos

aromáticos de la molécula. Este conjunto de bandas de los reactivos observadas en el producto confirma la estructura del compuesto.

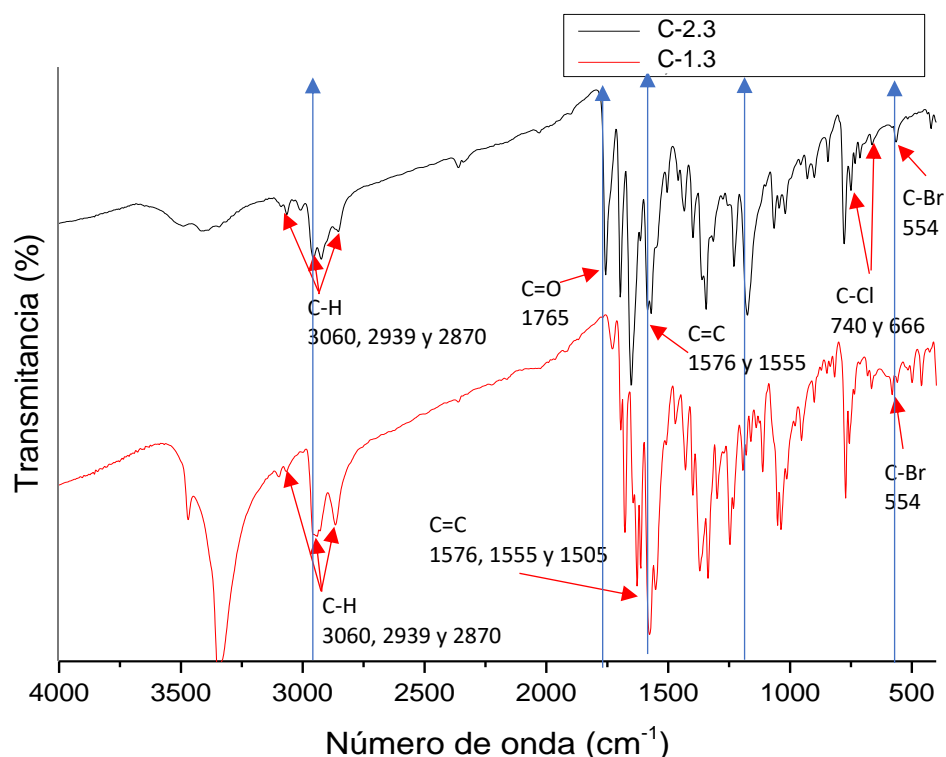


Figura 5.2 Espectro infrarrojo de los reactivos y producto para la síntesis de la naftalimida-cloroacetil (C-2.3).

Posteriormente, para corroborar la estructura propuesta de síntesis del ATP-etoxi, se analizó el espectro IR basado en los reactivos ATP y del (cloroetoxi)etoxi. Se observó que en los espectros del (cloroetoxi)etoxi se presentan bandas de vibración C-Cl a un número de onda de 740 y 666 cm^{-1} (Figura 5.3). En adición, se tiene una banda muy importante de este reactivo referida al estiramiento C-O-C presente en el grupo funcional éter a 1113 y 1050 cm^{-1} . Es de esperar que se pierdan las bandas de vibración C-Cl y que permanezca la banda de estiramiento de el éter C-O-C. En los espectros infrarrojo del ATP se puso especial énfasis en las bandas de los grupos fosfato a 692 y 509 cm^{-1} . Se observó que en el producto también se encontraban las

bandas características de estos grupos por lo que se confirma la estructura propuesta de la molécula.

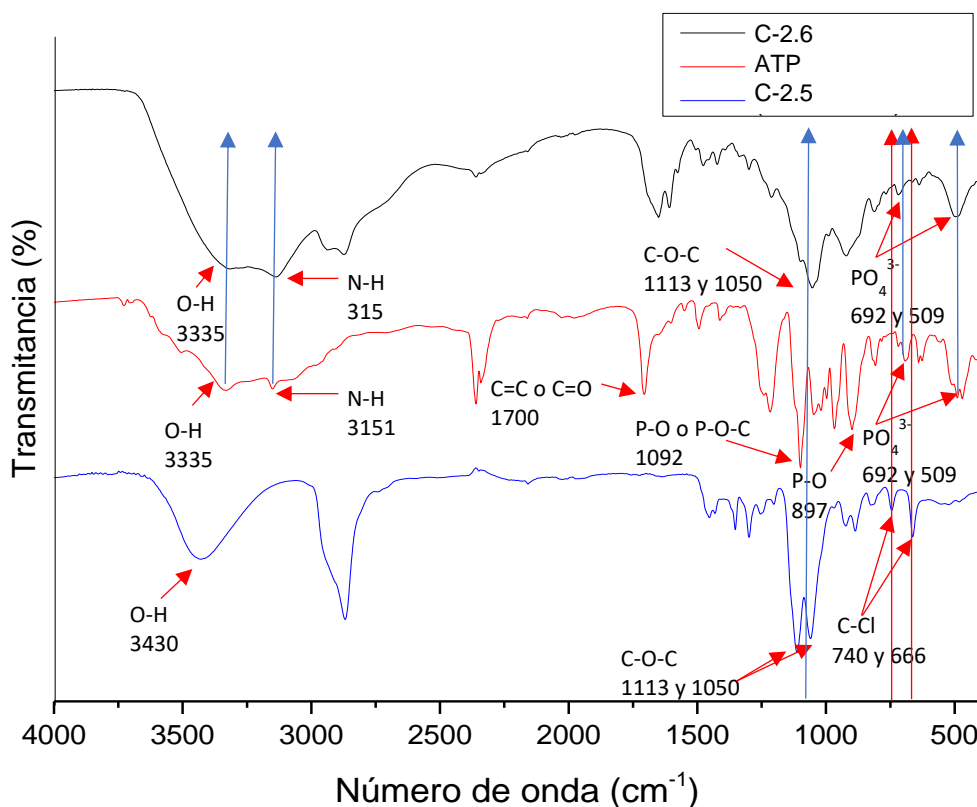


Figura 5.3 Espectro infrarrojo de los reactivos y producto para la síntesis del ATP-etoxi (C-2.6).

Por último, se analizaron los espectros infrarrojos para la síntesis del fluoróforo 2 observados en la Figura 5.4. a partir de las bandas características del ATP-etoxi y naftalimida-cloroacetil. Se observó la presencia en el producto de las bandas de estiramiento C-H del anillo aromático presente en la naftalimida-cloroacetil a un número de onda de 3060, 2939 y 2870 cm^{-1} . También se observó la banda de estiramiento C=O característico en grupos funcionales éster a un número de onda de 1765 cm^{-1} . Por lo contrario, se observó que desaparecen las bandas de estiramiento C-Cl presentes en la naftalimida-cloroacetil a 554 cm^{-1} . Respecto al reactivo ATP-etoxi,

las bandas de estiramiento C-O-C a 1113 y 1050 cm^{-1} características de grupos funcionales éter y la banda de estiramiento O-H a 3330 cm^{-1} se observan en el producto. Todas estas bandas que aparecen y desaparecen del producto confirman la estructura propuesta.

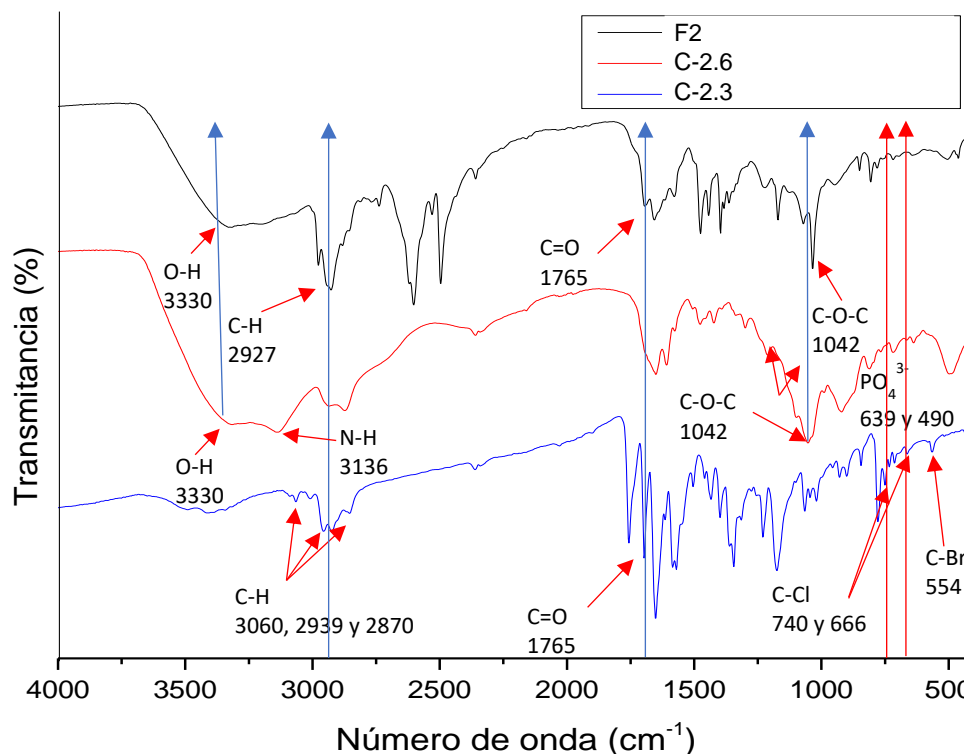


Figura 5.4 Espectro infrarrojo de los reactivos y producto para la síntesis del F2.

5.2 Cinética de hinchamiento por gravimetría.

Se conoce que los hidrogeles tienen altas capacidades de retención de agua (o hinchamiento), estas capacidades se derivan de su estructura molecular altamente entrecruzada, aunada a sus grupos funcionales que forman una variedad de interacciones moleculares.

Para confirmar estas interacciones fue necesario realizar un estudio cinético de hinchamiento a diferentes pH. El porcentaje de hinchamiento fue calculado con la

ecuación 1, los resultados se muestran en la Tabla B.1 de los anexos y en la Figura 5.5. Además de confirmar las interacciones, se comprobó que se alcanza un máximo de hinchamiento (W_{∞}), lo que evita la disolución del polímero, esto se logra solo cuando el polímero esta entrecruzado. Este fenómeno es generado cuando la presión de hinchamiento es igual a la tensión de recuperación elástica de la red hinchada. En adición se comprobó que se alcanza un equilibrio cinético, lo cual minimiza gradualmente la tasa de hinchamiento.

Se realizaron pruebas por triplicado del hinchamiento de los hidrogeles (1% entrecruzante, 1% iniciador, agua desionizada) en soluciones a pH 3, 7 y 11. Obteniendo un máximo de 719% a pH 11, el cual se muestra en la Figura 5.8 y obteniéndose un mínimo de 660% a pH3. Estas pruebas de hinchamiento se evaluaron mediante una técnica de gravimetría, calculándose por la siguiente ecuación.

$$\% \text{ Hinchamiento} = \frac{W_{hh} - W_{hs}}{W_{hs}} * 100 \quad (12)$$

Cada una de las cinéticas se ajustó a un modelo de primer orden de la ley de Fick, que refiere a la inflamación controlada por difusión, y a un modelo de 2do orden, gobernada principalmente por la ecuación lineal de Robinson, empleada para el aumento unidimensional del espesor de las películas de geles soportados (Schott, 1992).

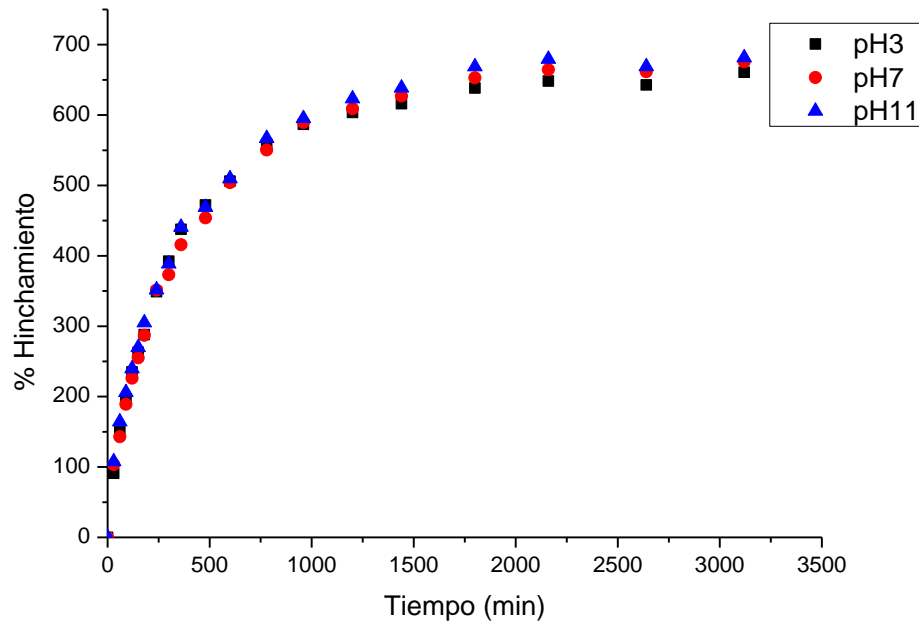


Figura 5.5 Cinéticas de hinchamiento del hidrogel a diferentes pH (3, 7, 11).

Como se mencionó previamente, el máximo de hinchamiento se encontró a pH 11 (719.56%), lo que coincide con el comportamiento de polímeros con grupos (amida, CONH_2) aceptores de protones (como la acrilamida). En los máximos de hinchamiento, se observa una tendencia a la baja cuando se disminuye el pH. Esto ocurre porque a pH ácido los grupos CONH_2 se protonan (CONH_3^+), disminuyendo la atracción con las moléculas de H_2O . En cambio, a pH básico los grupos amida (CONH_2) no se encuentran protonados, mejorando la interacción intermolecular, probablemente de puentes de hidrogeno, lo que aumenta su capacidad de retención de H_2O .

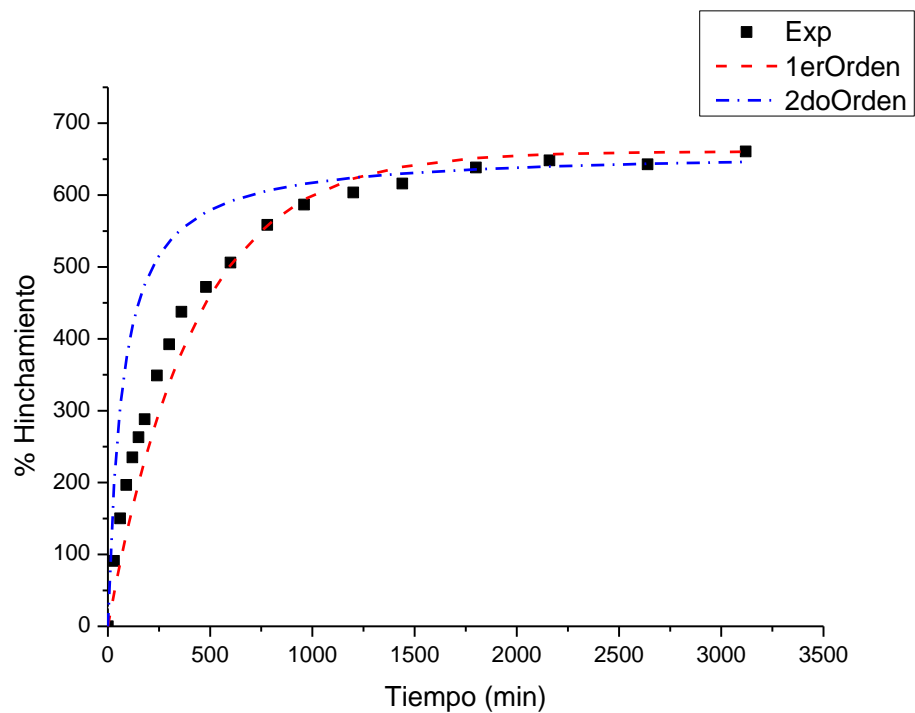


Figura 5.6 Ajuste de la Cinética de hinchamiento del hidrogel a pH 3 a un modelo de 1er y 2do orden.

Tabla 5.1 Resultados de K y porcentaje de desviación estándar para el modelado de 1er y 2do orden de la cinética a pH 3.

	1er orden	2do orden
K promedio	2.30E-03 (1/min)	2.16E-05 (1 / min%)
%Desv.	11.1	29.0

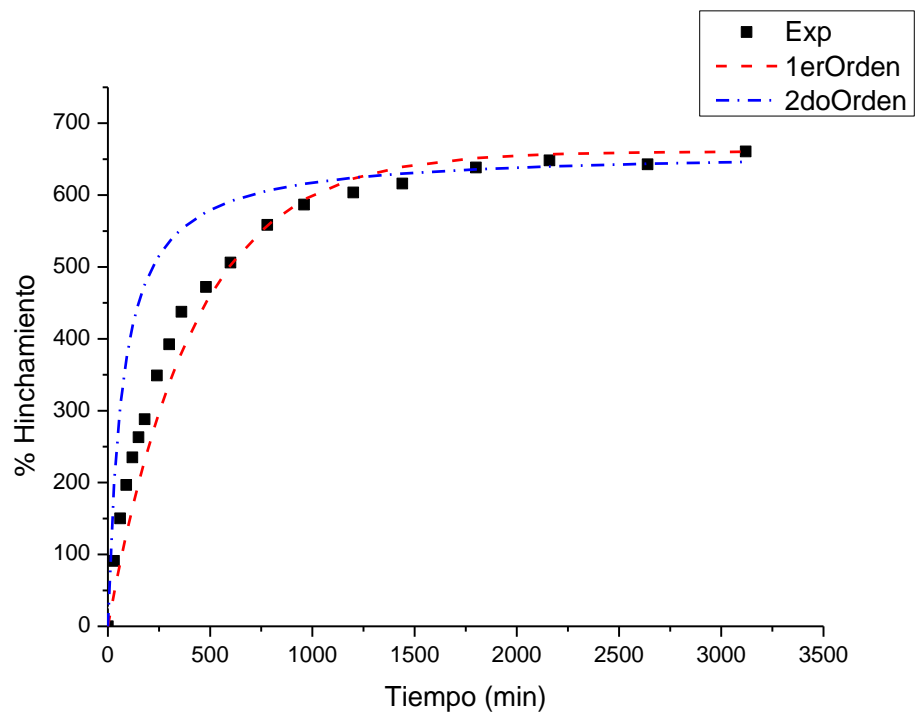


Figura 5.7 Ajuste de la Cinética de hinchamiento del hidrogel a pH 7 a un modelo de 1er y 2do orden.

Tabla 5.2 Resultados de K y porcentaje de desviación estándar para el modelado de 1er y 2do orden de la cinética a pH 7.

	1er orden	2do orden
K promedio	2.20E-03 (1/min)	1.62E-05 (1 / min%)
%Desv.	10.94	25.91

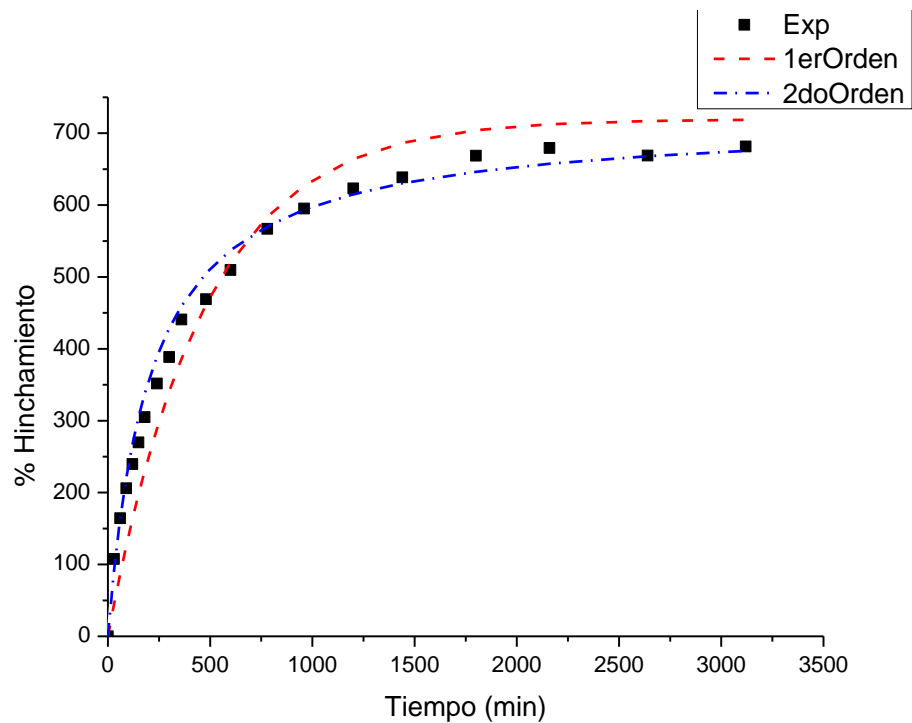


Figura 5.8 Ajuste de la Cinética de hinchamiento del hidrogel en solución pH 11 a un modelo de 1er y 2do orden.

Tabla 5.3 Resultados de K y porcentaje de desviación estándar para el modelado de 1er y 2do orden de la cinética a pH 11.

	1er orden	2do orden
K promedio	2.14E-03 (1/min)	6.83E-06 (1 / min%)
%Desv.	13.90	4.60

Respecto a la cinética de hinchamiento de los hidrogeles a diferentes pH (3, 7, 11), se observa que el equilibrio se alcanza aproximadamente a los 2000 minutos. La cinética para un pH 3 presenta un mejor ajuste al modelo de difusión de Fick de 1er orden (Figura 5.6), con un valor de porcentaje de desviación de 11.1% (Tabla 5.1). La cinética para un pH 7, presenta un mejor ajuste al modelo de 1er orden (Figura 5.7), con un valor de porcentaje de desviación de 10.94% (Tabla 5.2). La cinética para un pH 11,

presenta un mejor ajuste al modelo de 2do orden (Figura 5.8), con un valor de porcentaje de desviación de 4.6% (Tabla 5.3). Para las cinéticas que se ajustaron a un modelo de primer orden, la velocidad de hinchamiento en cualquier momento dado (t), es directamente proporcional al consumo del medio de hinchamiento que aún no ha ocurrido, antes de que se haya alcanzado la absorción máxima o de equilibrio (W_{∞}). Si W es lo que ha absorbido en el tiempo t , $W_{\infty} - W$ es lo que aún no se ha absorbido del medio de hinchamiento. El hinchamiento de los polímeros sigue esa cinética, solo cuando se cumple la condición de que la velocidad es controlada por difusión y cuando las leyes de Fick son obedecidas. Si algún punto o grupo de puntos no se ajusta al modelo, es probable que, en ese momento la difusión es reemplazada por un hinchamiento provocado por la relajación del estrés de las cadenas, y actúa como el principal factor de control de la velocidad.

Para las cinéticas ajustadas a un modelo de segundo orden, el hinchamiento de polímeros en agua es gobernado por la relajación del estrés de la red polimérica. Se supone que la velocidad de hinchamiento es directamente proporcional a la cantidad relativa de adsorción no realizada del medio de hinchamiento en ese momento $(W_{\infty} - W)/W_{\infty}$, es decir, que todavía está disponible una fracción de la capacidad de hinchamiento, o expresado de otra manera, que la velocidad de hinchamiento es directamente proporcional al porcentaje de hinchamiento no realizada.

5.3 Cinética de liberación por espectroscopia ultravioleta visible.

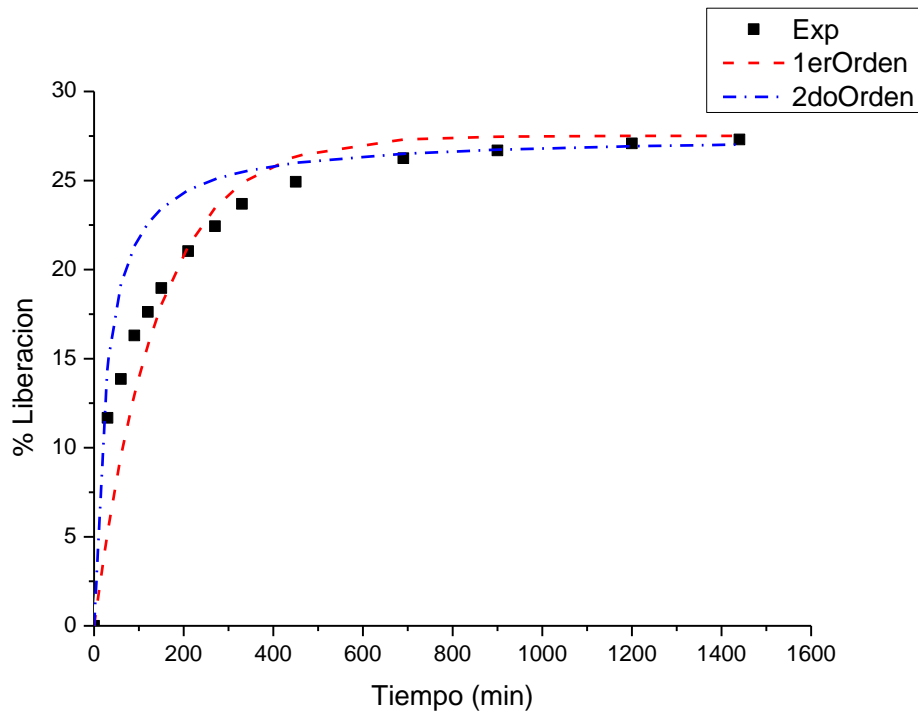


Figura 5.9 Ajuste de la cinética de liberación del fluoróforo 1 a un modelo de 1er y 2do orden.

Tabla 5.4 Resultados de K y porcentaje de desviación estándar para el modelado de 1er y 2do orden de la cinética de liberación del fluoróforo 1.

	1er orden	2do orden
K promedio	7.09E-03 (1/min)	1.39E-03 (1 / min%)
%Desv.	9.24	11.98

Respecto a la cinética de liberación del fluoróforo 1 (Figura 5.9), se observa que el equilibrio se alcanza aproximadamente a los 800 minutos, y la cinética presenta un mejor ajuste al modelo de difusión de Fick de 1er orden (Tabla 5.4).

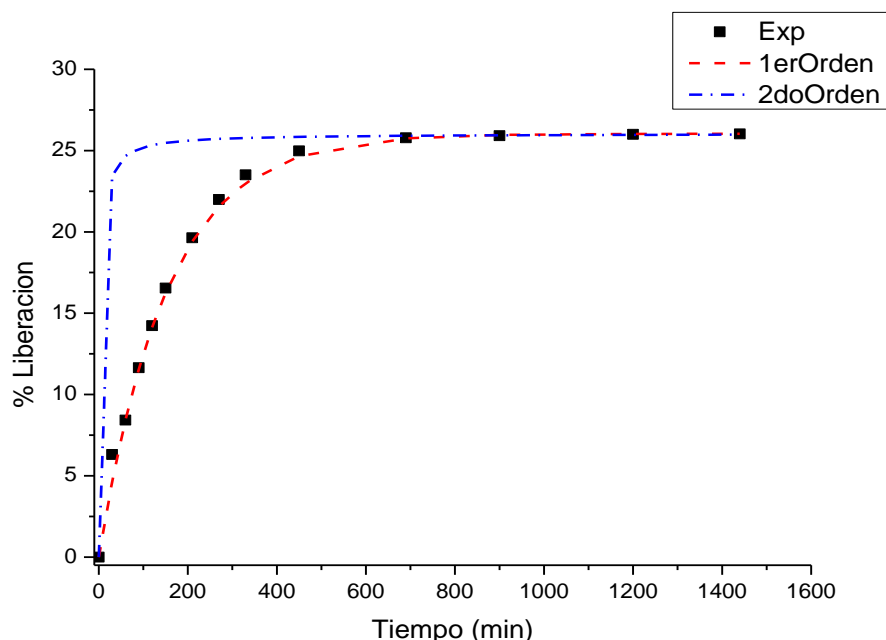


Figura 5.10 Ajuste de la cinética de liberación del fluoróforo 2 a un modelo de 1er y 2do orden.

Tabla 5.5 Resultados de K y porcentaje de desviación estándar para el modelado de 1er y 2do orden de la cinética de liberación del fluoróforo 2.

	1er orden	2do orden
K promedio	6.52E-03 (1/min)	1.15E-02 (1 / min%)
%Desv.	2.29	48.39

Respecto a la cinética de liberación del fluoróforo 2, se observa que el equilibrio se alcanza a aproximadamente a los 800 minutos (Figura 5.10). La cinética presenta de igual manera que el F1, un mejor ajuste al modelo de difusión de Fick de 1er orden (Tabla 5.5). El ajuste de las cinéticas de liberación del fluoróforo a un modelo de primer orden se puede interpretar que, una vez llega la molécula de Gli, sustituye y desplaza la molécula de fluoróforo, esta se libera desde los poros de la red hinchada a la solución mediante un fenómeno de difusión.

5.4 Análisis de pruebas de sensado empleado el método de impregnación 1 y 2 por espectroscopia ultravioleta visible.

Una vez se han sinterizado los hidrogeles y conociendo sus capacidades de hinchamiento a diferentes pH, se procede a inyectar la molécula fluorescente. El hidrogel involucra dos mecanismos durante el proceso de impregnación: el primero es la afinidad del polímero por el agua que se adsorbe durante el proceso de hinchamiento; el otro mecanismo es el de difusión, donde por un gradiente de concentración, las moléculas de fluoróforo entraran a la red polimérica. Como se mencionó en la metodología, se han propuesto dos mecanismos para impregnar el fluoróforo: el primero, donde se involucran ambos mecanismos partiendo del hidrogel seco; el segundo, donde solamente se involucra la difusión partiendo del hidrogel hinchado en agua.

Resultados

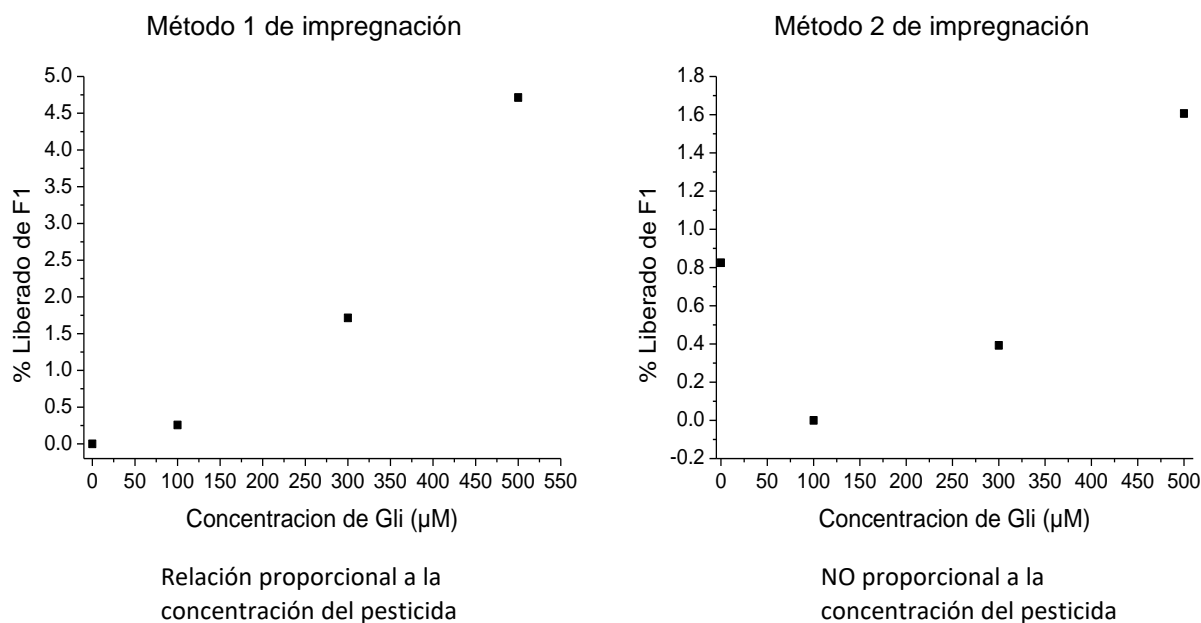


Figura 5.11 Resultados de las pruebas de sensado por espectroscopia UV-Vis empleando el método 1 y 2 de impregnación.

Para evaluar la tendencia (Concentración de pesticida – porcentaje de fluoróforo liberado) y capacidad de detección de los hidrogeles impregnados mediante los diferentes mecanismos propuestos, se realizaron pruebas de sensado. Se observa que la metodología 1 tuvo mejores resultados que la metodología 2 (Figura 5.11). Principalmente porque al hacer la prueba de sensado de los hidrogeles impregnados por el método 1, en la gráfica resultante del experimento, se observa que conforme aumenta la concentración de pesticida, aumenta el porcentaje de fluoróforo liberado. Sin embargo, en los resultados de los experimentos de sensado, empleando la metodología 2 de impregnación y sensado, se observa que no hay alguna tendencia o relación entre la concentración de pesticida y el porcentaje de fluoróforo liberado, por lo que los resultados no son fiables. El comportamiento de los resultados previos se puede deber a que, al emplear el hidrogel hinchado para impregnarlo dentro de una solución, la difusión será uno de los principales fenómenos para que la molécula de fluoróforo logre llegar hasta los grupos funcionales dentro de la red polimérica, sin embargo, al estar la red llena de agua, la molécula puede verse afectada para tener un recorrido libre a través de los poros de hidrogel. Otra posible causa puede ser que, la afinidad del hidrogel por las moléculas de agua que ya están dentro de la red polimérica evita la entrada de otras moléculas de agua cargadas con fluoróforo. Otra posible consideración desfavorable es la velocidad de difusión, que puede ser muy lenta, aunque para fines de este proyecto, no se realizó una cinética de difusión. A partir de estos resultados, se decidió ampliar el rango de concentraciones (0, 100, 300, 500, 800, 1100 y 1500 μM) y emplear el método 1 para pruebas de sensado. El objetivo de ampliar el rango de concentraciones es para conocer el límite máximo de detección.

5.5 Análisis de selectividad y sensibilidad por espectroscopia ultravioleta visible.

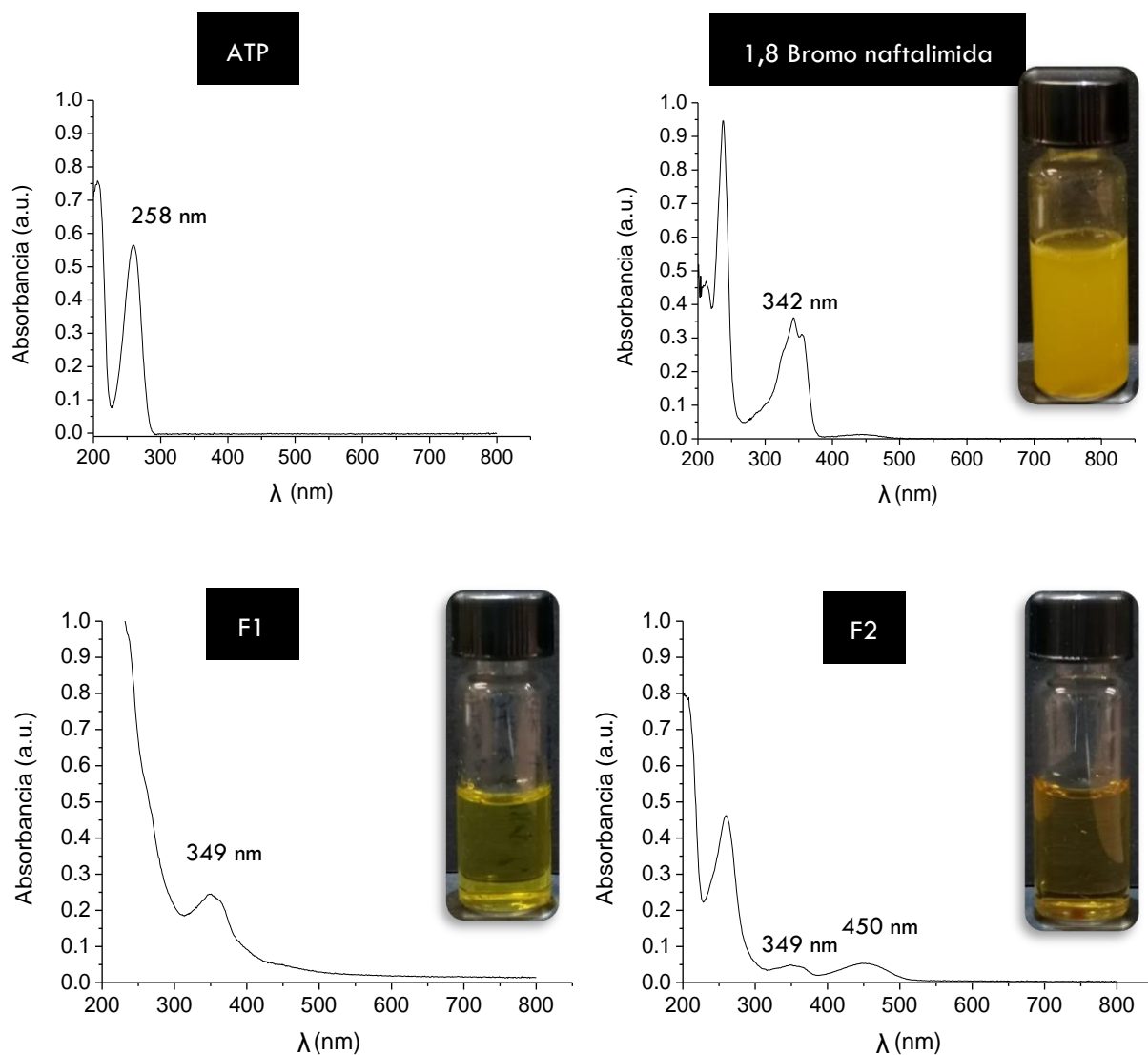


Figura 5.12 Espectros UV-Vis de los reactivos principales puros, productos (fluoróforos) y sus longitudes de onda de adsorción características, anexando las imágenes de los compuestos puros en diferentes solventes en presencia de la luz visible (1,8-bromo naftalimida en Etanol, F1 en agua, F2 en agua).

Uno de los objetivos de modificar la naftalimida, es adicionar la molécula ATP, con el propósito de proveer los grupos necesarios para que la molécula resultante interaccione con los grupos amida del polímero, creando puentes de hidrogeno. La naftalimida solamente es soluble en algunos compuestos orgánicos, por lo que al disolverla en agua sus propiedades fluorescentes se apagan casi por completo, ya que no se logra disolver el material. Por lo que otro objetivo de modificar la naftalimida fue crear un fluoróforo hidrofílico, capaz de sensar el Gli en agua, y darnos una respuesta fluorescente. En la figura 5.12 se puede observar las longitudes de onda de adsorción característicos de los fluoróforos.

Para los experimentos cinéticos, selectividad y sensado, se realizaron pruebas por duplicado o triplicado determinando el porcentaje de liberación. Las condiciones de síntesis de los hidrogeles usados fue 1% entrecruzante, 1% iniciador y agua desionizada para su síntesis. Para las pruebas de sensibilidad, se trabajaron siete experimentos. En cada uno de los experimentos se empleó un hidrogel impregnado (sensor), de masa cargada de fluoróforo conocida. Posteriormente, se adiciono a cada experimento 2 mL de agua con diferente concentración de Gli (Control, 100 μ M, 300 μ M, 500 μ M, 800 μ M, 1100 μ M y 1500 μ M). Es importante mencionar que las absorbancias se tomaron a una longitud de onda de 349 nm para el F1 y 257 nm para el F2, dichos valores corresponden a longitudes de onda de adsorción características de los fluoróforos (Figura 5.12).

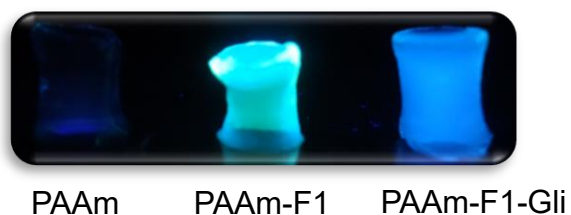
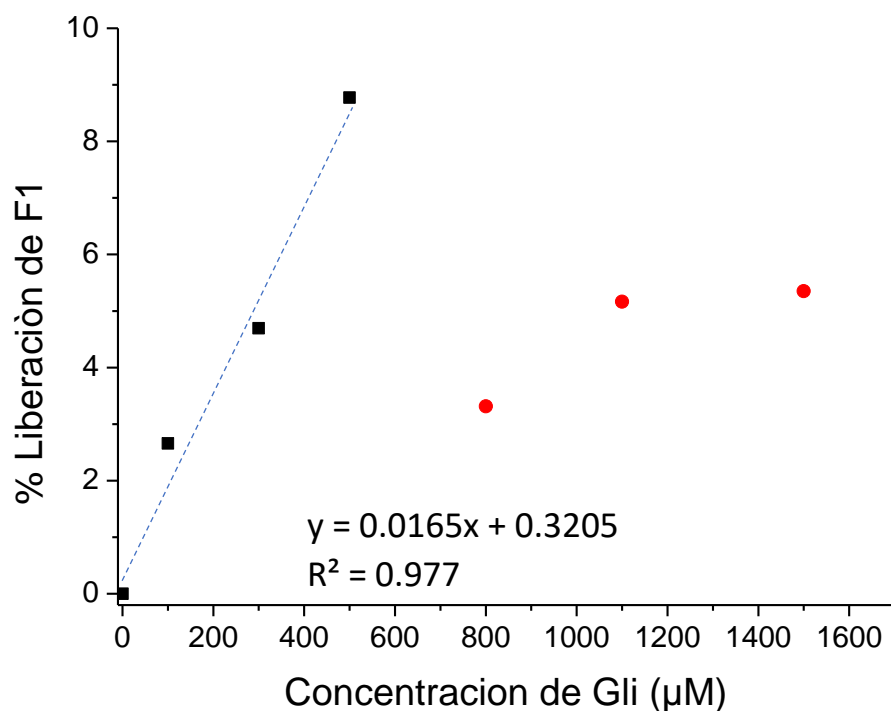


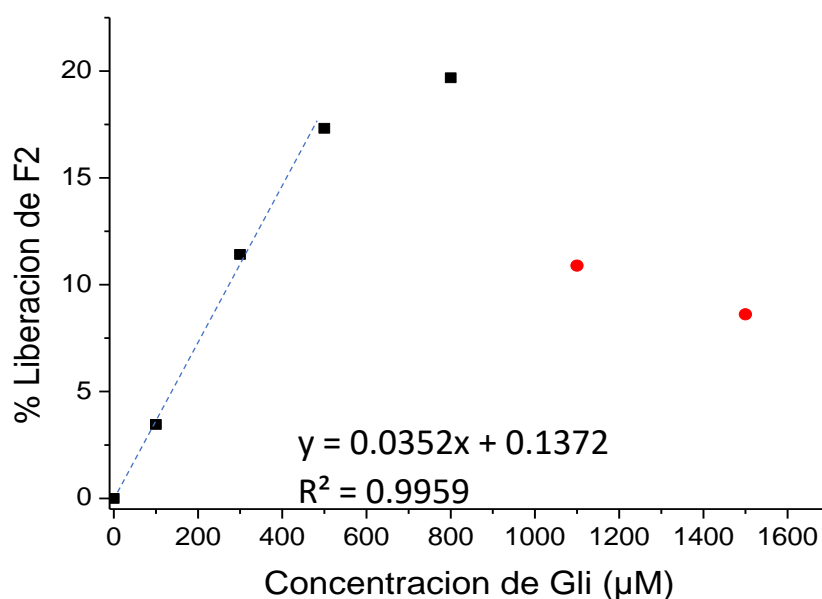
Figura 5.13 Grafica resultante de la prueba de sensibilidad mediante la técnica UV-Vis empleando el F1, y por debajo la imagen del hidrogel puro (Izquierda), hidrogel impregnado (Centro) e hidrogel después del sensado a una concentración de 500 µM (Derecha) vistas bajo luz UV (365 nm).

Es importante mencionar que empleando una solución control (0 µM), la cual no contiene nada de Gli, nos da una respuesta de porcentaje de liberación, este valor se restó a los resultados de todas las pruebas a diferente concentración de Gli. Los resultados de las pruebas de sensado para el fluoróforo 1 se muestran en la Figura 5.13. Se puede notar que el rango de concentraciones donde el sensor puede dar un resultado confiable es entre 100 y 500 µM (Puntos negros de la figura 5.13), debido a

que, conforme se va aumentando la concentración hasta 500 μM , el porcentaje de liberación de fluoróforo aumenta, teniendo como modelo (del F1 y por la técnica UV-Vis) para el cálculo de la concentración de pesticida en la muestra:

$$\text{Concentración Gli} = \frac{(\% \text{ Liberación F1} - 0.3205)}{0.0165} \quad (13)$$

Con un coeficiente de ajuste de 0.977. Después de 500 μM la tendencia se pierde (Puntos rojos de la figura 5.13), en base a lo observado concluimos que, por encima de esa concentración, no podremos emplear el modelo matemático para calcular la concentración de pesticida.



PAAm PAAm-F2 PAAm-F1-Gli

Figura 5.14 Grafica resultante de la prueba de sensibilidad mediante la técnica UV-Vis empleando el F2 y por debajo la imagen del hidrogel puro (Izquierda), hidrogel impregnado (Centro) y un hidrogel después del sensado a una concentración de 500 μM (Derecha) vistas bajo luz UV (365 nm).

Los resultados de las pruebas de sensado para el fluoróforo 2 se muestran en la Figura 5.14. En la solución control obtenemos una respuesta de porcentaje de liberación, por lo que se restó este valor a las demás pruebas, por lo tanto, la respuesta de la solución control toma un valor de 0. El rango de concentraciones donde el sensor presenta un resultado confiable y con tendencia a aumentar conforme se aumenta la concentración de Gli es entre 100 y 800 μM (Puntos negros de la figura 5.14), teniendo como modelo (del F2 y por la técnica UV-Vis) para el cálculo de la concentración de pesticida en la muestra:

$$\text{Concentración Gli} = \frac{(\% \text{ Liberación F2} - 0.1372)}{0.0359} \quad (14)$$

Con un coeficiente de ajuste de 0.9959. Después de esa concentración nuevamente se pierde la tendencia (Puntos rojos de la figura 5.14), como paso con el F1. Podemos concluir que por encima de 800 μM no podremos emplear el modelo matemático para calcular la concentración de pesticida y obtener una respuesta confiable. Siendo 100 y 800 μM nuestros rangos de concentraciones donde el sensor funciona.

Para ambos fluoróforos (F1 y F2), la pérdida de tendencia en el límite superior de detección, se debe probablemente a que, a partir de los 500 μM y 800 μM respectivamente, hay una saturación de los sitios de interacción, donde el Gli puede desplazar y sustituir al fluoróforo. Posteriormente a la saturación, puede presentarse un fenómeno donde entre y salga fluoróforo que no esté interaccionando dentro la red polimérica. Existen posibles cambios de concentración de fluoróforo en la solución, que no sean dependientes de la concentración del Gli, por lo cual, se pueden obtener resultados aleatorios que no pueden ser debidamente cuantificados.

Se siguió la misma metodología que las pruebas de sensado, pero esta vez se usaron diferentes soluciones de analitos a 500 μM .

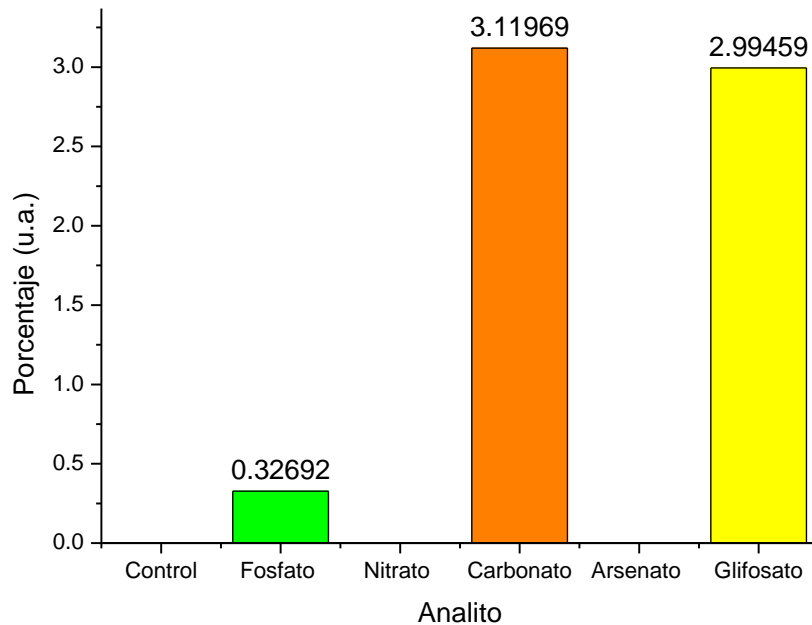


Figura 5.15 Grafica resultante de la prueba de selectividad mediante la técnica UV-Vis empleando el F1.

En la Figura 5.15 se observan los resultados de las pruebas de selectividad para el F1. En este experimento se evaluó la capacidad de selectividad de los fluoróforos, de acuerdo con lo observado se obtuvieron buenos resultados. Se determinó que para el sensor que contiene el F1 se observó selectividad al Gli. En adición, los demás analitos usados para comparación, como lo fueron fosfatos, nitratos y arseniatos, no se observó respuesta. En los análisis realizados, se obtuvo respuesta con los carbonatos, que pueden generar interferencia en la medición. Para eliminar esta interferencia, se podría realizar un pretratamiento de la muestra de agua a analizar para eliminar los carbonatos previo al sensado, para evitar interferencias y resultados erróneos que puedan causar estos compuestos.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se llegó a la conclusión de que el fluoróforo queda impregnado en la red polimérica mediante la formación de enlaces débiles, corroborado por la técnica de TGA, UV-Vis y fluorescencia. Sin embargo, además de quedar injertado por la formación de interacciones, gran parte del fluoróforo se queda atrapado dentro de la red polimérica durante el proceso de secado. Este atrapamiento se debe a que el tamaño del poro de la red se hace más pequeño a medida que se tensan las cadenas poliméricas, lo que evita la salida de la molécula. Finalmente, cuando se hacen las pruebas de sensado o selectividad, al volver a hinchar el hidrogel, las cadenas se relajan y liberan el fluoróforo. Lo que nos lleva a obtener una respuesta incluso en la solución control. Por esta razón, decidimos restar el valor de respuesta generado por el control a las demás pruebas que si contienen un analito. Otro resultado observado, fue que el nitrato de sodio y el arseniato de potasio nos daban una respuesta de porcentaje de liberación menor que la solución control. Esto se puede deber a la interacción que existe entre el F1 y el nitrato de sodio, lo que provoca un tipo de “quenching” o apagado en el fluoróforo. La otra hipótesis es que, al introducir el hidrogel impregnado dentro de la solución de arseniatos o nitratos, la molécula trate de entrar al hidrogel por una fuerte afinidad, causando un tipo de taponamiento u obstrucción que evite la salida del fluoróforo desde la matriz polimérica al medio.

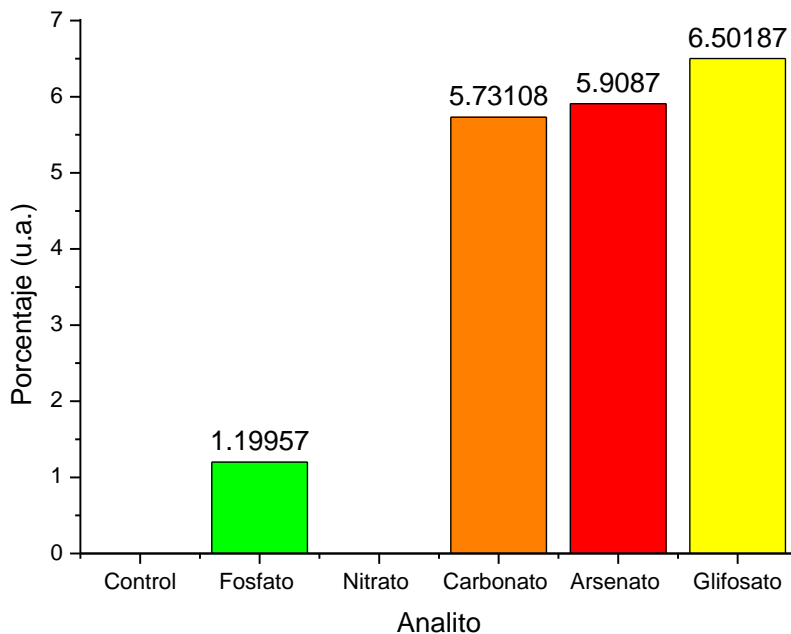


Figura 5.16 Grafica resultante de la prueba de selectividad mediante la técnica UV-Vis empleando el F2.

En la Figura 5.16 se observan los resultados de las pruebas de selectividad para el sensor que contiene el F2. Nuevamente se tuvieron buenos resultados y se determinó que este sensor fue selectivo al Gli en adición de arseniatos, otro contaminante de vital importancia de detección por su peligrosa toxicidad en humanos y animales. Se determinó como posibles interferencias los carbonatos. Sin embargo, no fue selectivo a fosfatos y nitratos. En base a los resultados se concluye que, se debe tener un pretratamiento de la muestra de agua a analizar, para eliminar los carbonatos y si se desea también eliminar arseniatos, esto con el objetivo de evitar interferencias y resultados erróneos que puedan causar estos compuestos. De la misma manera que la prueba de selectividad para el F1, en este análisis, se observó un quenching o

apagamiento del fluoróforo al interactuar con el analito nitrato de sodio. Las posibles razones son las mismas: algún tipo de apagado del fluoróforo 2, debido a la interacción nitrato-fluoróforo, o debido a un taponamiento de la red polimérica que obstaculice la salida del fluoróforo hacia la solución.

5.6 Análisis de selectividad y sensibilidad por espectrofotometría de fluorescencia.

Se hicieron los mismos experimentos, pero empleando la técnica de espectrofotometría de fluorescencia, lo que nos ayudó a corroborar los resultados obtenidos en la técnica de espectrometría UV-Vis, además de obtener resultados más definidos. Los datos de emisión para el F1 se tomaron a una longitud de onda de 458 nm y para el F2 a 547 nm (Figura 5.17). También se observa que en el F1 el cambio de Stokes es de 109 nm y en el F2 es de 97 nm, lo que significa que se puede tener una buena identificación de un analito, ya que la diferencia entre la absorbancia y la emisión es significativa. Entre mayor sea el cambio de Stokes se disminuye el posible traslape de las curvas de absorción y emisión y su identificación es más sencilla. El cambio de Stokes tan largo es probable que sea debido a una posible transferencia de energía. Esto provocado por la absorción de energía por parte del ATP y la captura de su emisión por la naftalimida. En ambos casos, podríamos ver que la emisión ocurre a una mucho mayor longitud de onda.

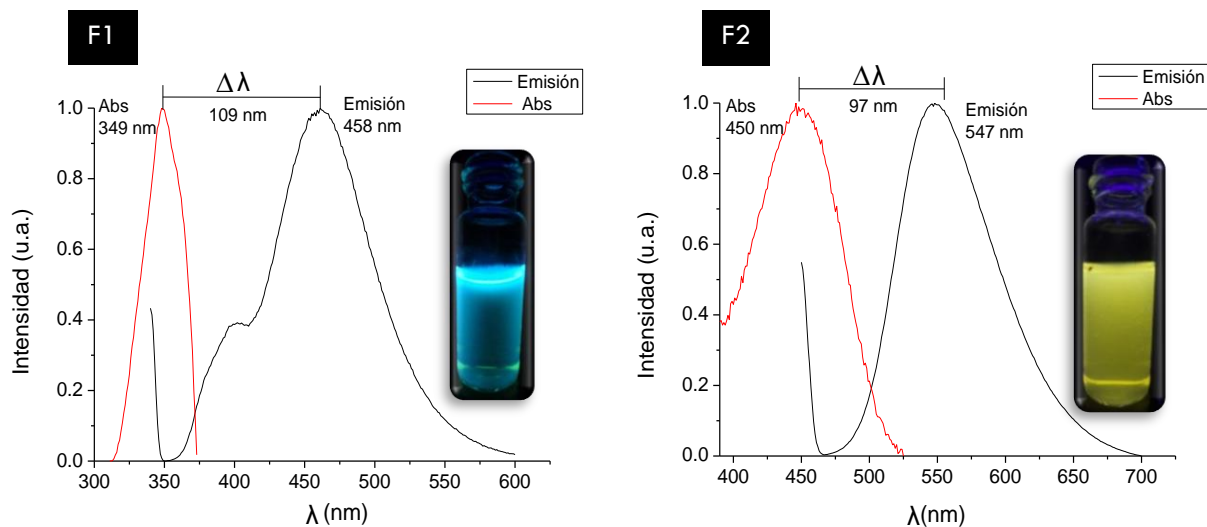


Figura 5.17 Espectros de fluorescencia de los productos (fluoróforo 1 y 2), sus longitudes de onda de emisión características y sus respectivos cambios de Stokes, anexando las imágenes de los compuestos vistos bajo luz UV (365 nm).

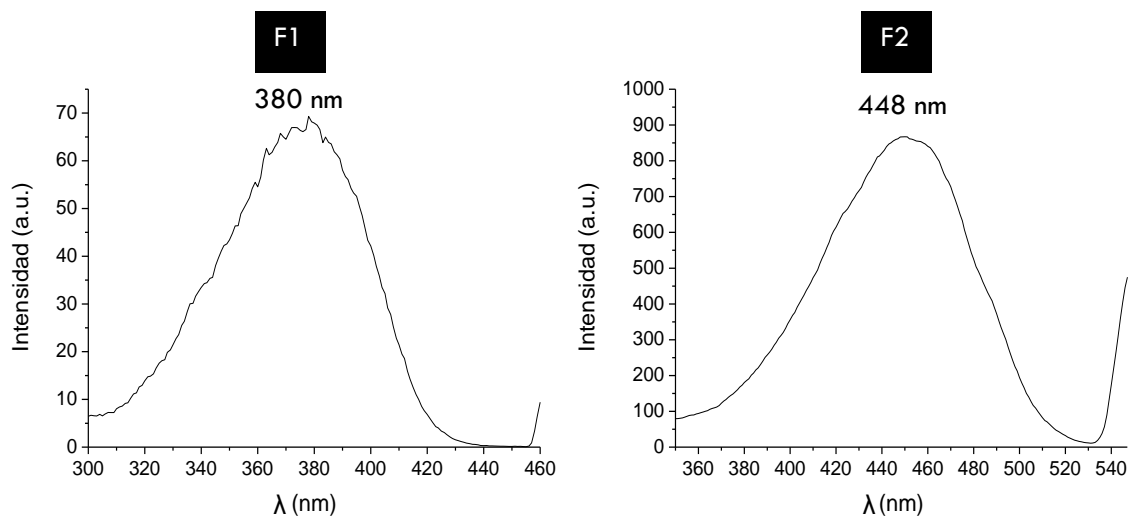


Figura 5.18 Espectros de fluorescencia de los productos (fluoróforo 1 y 2) y sus longitudes de onda de excitación características.

Se siguió la misma metodología de cálculo para determinar el porcentaje de liberación en las pruebas de selectividad y sensibilidad. Sin embargo, esta vez se usaron los datos obtenidos por el espectrofotómetro de fluorescencia, obteniendo los siguientes resultados.

Pruebas de sensibilidad

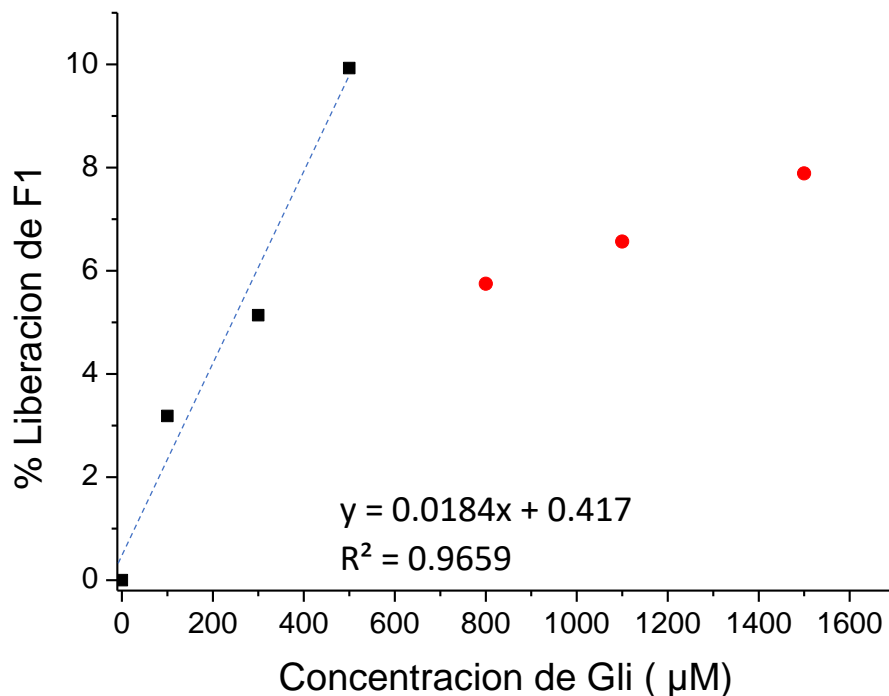


Figura 5.19 Gráfica resultante de la prueba de sensibilidad mediante la técnica de espectrofotometría de fluorescencia (Excitando a 450 nm) empleando el F1 y una concentración de pesticida desde los 100 hasta los 1500 µM.

Es importante mencionar que se tomaron las mismas consideraciones que en los análisis pasados para la respuesta de porcentaje de liberación obtenida, empleando la solución control. Los resultados de las pruebas de sensado para el fluoróforo 1 se muestran en la Figura 5.19. De la misma manera que en la técnica UV-Vis, se observa que el rango de concentraciones donde el sensor puede dar un resultado es entre 100 y 500 µM. Conforme se va aumentando la concentración hasta 500 µM, el porcentaje de liberación de fluoróforo es mayor, teniendo como modelo (del F1 y por la técnica fluorescencia) para el cálculo de la concentración de pesticida en la muestra:

$$\text{Concentración Gli} = \frac{(\% \text{ Liberación F1} - 0.417)}{0.0184} \quad (15)$$

Con un coeficiente de determinación de 0.9659. Después de esa concentración, la tendencia se pierde. Podemos concluir que por encima de 500 μM no podremos emplear el modelo matemático para calcular la concentración de pesticida y obtener una respuesta confiable.

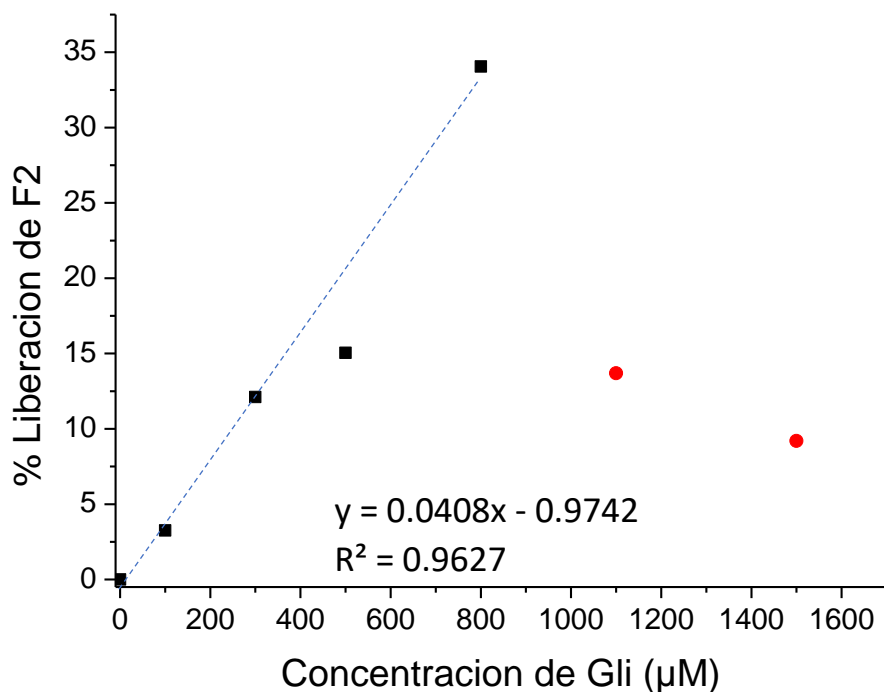


Figura 5.20 Grafica resultante de la prueba de sensibilidad, empleando la técnica de espectrofotometría de fluorescencia (Excitando a 450 nm) para el F2 y una concentración de pesticida desde los 100 hasta los 1500 μM .

Los resultados de las pruebas de sensado para el fluoróforo 2 se muestran en la Figura 5.20. Se comprobó lo observado en la prueba de sensibilidad para el F2, mediante la técnica UV-Vis. El rango de concentraciones donde el sensor con F2 da un resultado confiable es entre 100 y 800 μM . Conforme se va aumentando la concentración de Gli hasta 800 μM , el porcentaje de liberación de fluoróforo es mayor, teniendo como

modelo (del F2 y por la técnica fluorescencia) para el cálculo de la concentración de pesticida en la muestra:

$$\text{Concentración Gli} = \frac{(\% \text{ Liberación F2} + 0.9742)}{0.0408} \quad (12)$$

Con un coeficiente de determinación de 0.9627. Después de una concentración de 800 μM , se pierde la tendencia. Podemos concluir que por encima de 800 μM no podremos emplear el modelo matemático para calcular la concentración de pesticida y obtener una respuesta confiable. Siendo 100 y 800 μM nuestros rangos de concentraciones donde el sensor funciona. Para ambos fluoróforos se obtuvo un rango de detección amplio, lo cual es excelente si este método es aplicado en cuerpos de agua cercanos a cultivos, por ejemplo, en arroyos, ríos, estanques, humedales, lagos, lagunas, pozos, cenotes, acuíferos, etc. Donde su concentración puede estar sobre el límite permitido y su detección será de vital importancia para el cuidado ambiental y de la salud pública. Muchos de los sensores fabricados actualmente tienen rangos de sensado muy estrechos, por ejemplo, uno de los artículos mencionados en la parte de antecedentes, menciona que su rango de detección esta entre 4.0–15.0 μM (Li et al., 2018). El sensor que se fabricó en la presente tesis tiene una tendencia que se mantiene hasta los 500 μM para el F1 y 800 μM para el F2, lo que convierte al sensor en un dispositivo de detección completamente funcional. Sin embargo, sigue existiendo desafíos importantes para poder obtener una respuesta 100% linealmente proporcional a las cantidades de pesticidas, esto se puede mejorar futuramente al eliminar todas esas posibles variaciones que puedan causar el error experimental. Por ejemplo, diferencias de síntesis entre lotes de hidrogeles, control de condiciones ambientales durante la impregnación del hidrogel, inclusive se puede emplear otros sitios de anclaje sin hinchamiento y con más afinidad hacia el analito o sensor, que probablemente den una respuesta más lineal y con un límite de detección menor.

Pruebas de selectividad

Para las pruebas de selectividad se emplearon los analitos: fosfato de potasio, nitrato de sodio, carbonato de potasio, arseniato de potasio y Gli. Se prepararon soluciones de cada analito a una concentración de 500 μM , en adición de una solución control. Posteriormente, se introdujeron dentro de cada solución los hidrogeles impregnados con fluoróforo. Finalmente, se obtuvieron los siguientes resultados de porcentaje de liberación de fluoróforo 1 y 2.

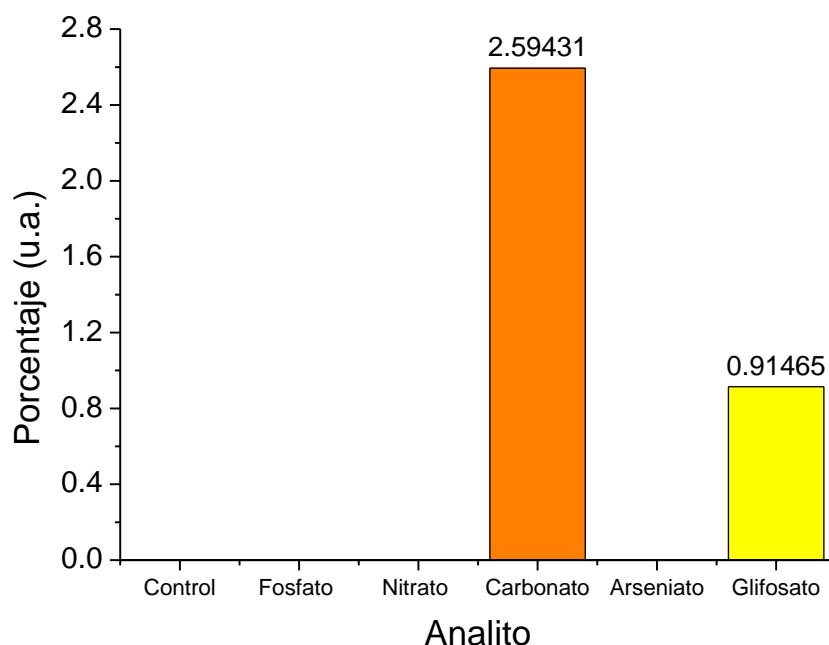


Figura 5.21 Grafica resultante de la prueba de selectividad empleando el F1, mediante la técnica de espectrofotometría de fluorescencia (Excitando a 450 nm).

En este experimento se evaluó la capacidad selectiva del F1, empleando la técnica de espectrofotometría de fluorescencia (Figura 5.21). Se determinó que para el sensor que contiene el F1 fue selectivo al carbonato, y en menor medida al Gli. Los demás analitos contra quien se comparó, como lo fueron fosfatos, nitratos y arseniatos

tuvieron una especie de quenching o apagado de la fluorescencia. Es importante mencionar que las muestras analizadas fueron las mismas que se analizaron en la técnica por espectroscopia UV-Vis, donde se observó que el fluoróforo era selectivo a los carbonatos y al Gli. Comparando los resultados de selectividad para el F1 mediante ambas técnicas, se observa un quenching en la emisión de fluorescencia de la muestra que contiene Gli. El quenching se puede deber a una interacción entre el F1-Gli, que provoca que tenga una buena adsorción. Sin embargo, la emisión se ve afectada, posiblemente emita los fotones adsorbidos mediante un proceso no radiativo.

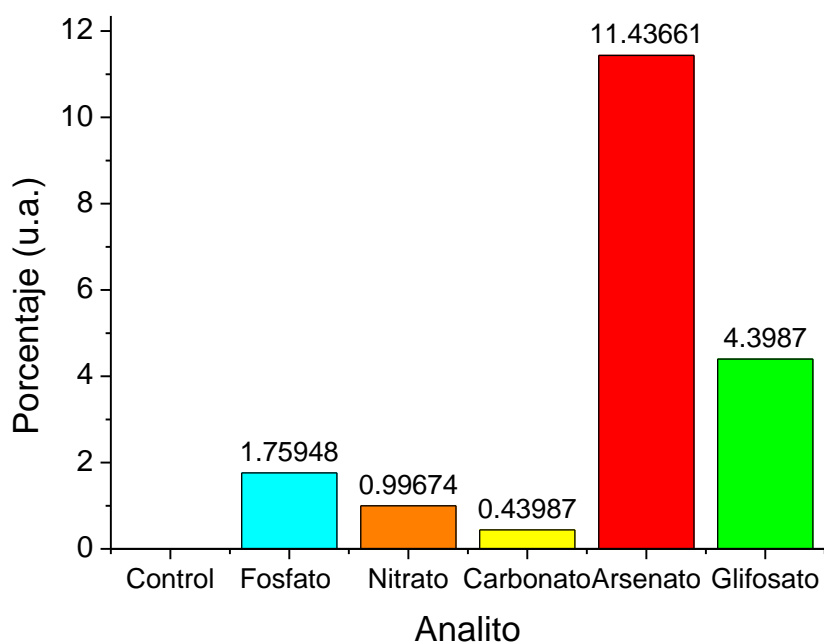


Figura 5.22 Grafica resultante de la prueba de selectividad empleando el F2, mediante la técnica de espectrofotometría de fluorescencia (Excitando a 340 nm).

En este experimento se evaluó la capacidad selectiva del F2, empleando la técnica de espectrofotometría de fluorescencia (Figura 5.22). El F2 fue selectivo al arseniato y al glifosato, los demás compuestos como fosfatos, nitratos y carbonato no mostraron

respuesta. Las muestras analizadas fueron las mismas que se analizaron por la técnica espectroscopia UV-Vis, donde se observó que el fluoróforo era selectivo a los carbonatos, arseniatos y al Gli en casi la misma medida. Comparando los resultados obtenidos por ambas técnicas, se observa una mejora ya que el carbonato no presenta respuesta. Cabe destacar que para obtener estos resultados se éxito a una longitud de onda diferente (350 nm) a las pruebas pasadas por espectrofotometría de fluorescencia (450 nm).

5.7 Análisis Termo Gravimétrico (TGA).

Se realizó un análisis TGA de los sensores antes y después de ponerlos en contacto con el glifosato, con el objetivo de identificar las temperaturas de degradación, estabilidad, y corroborar la presencia de cada unidad dentro del compuesto. En adición, se obtuvieron los termogramas de manera individual de los compuestos. Para el Gli, se observaron tres etapas de degradación, la primera y segunda etapa observada a 204 y 228 °C son atribuidas a la descomposición térmica de los grupos metileno (R-C-R), la 3ra etapa a 306 °C es atribuida a la descomposición térmica de los grupos carbonilo (C=O) (Chen et al., 2012). Para el F1 se encontraron dos etapas de degradación, la primera a 130 °C atribuida al rompimiento y liberación de los grupos fosfato del ATP (Jeong et al., 2021), la segunda etapa a 296 °C, atribuida al rompimiento de la estructura aromática presente del grupo naftalimida (Kumar & Koh, 2013). Para el F2 se encontraron dos etapas de degradación, la primera a 182 °C, correspondiente a la degradación del ATP y la segunda a 231 °C, atribuida al rompimiento de la estructura aromática de la naftalimida. Respecto a la poliacrilamida (PAAm) y los compósitos, se encontraron dos etapas de degradación principales, la primera a 281 °C, atribuida a la descomposición térmica de los grupos funcionales amida (CONH₂), y la segunda etapa a 380 °C atribuida a la descomposición térmica de la cadena polimérica, especialmente los enlaces C-C (Gaabour, 2017).

5.7.1 Análisis termogravimétrico compósitos-F1.

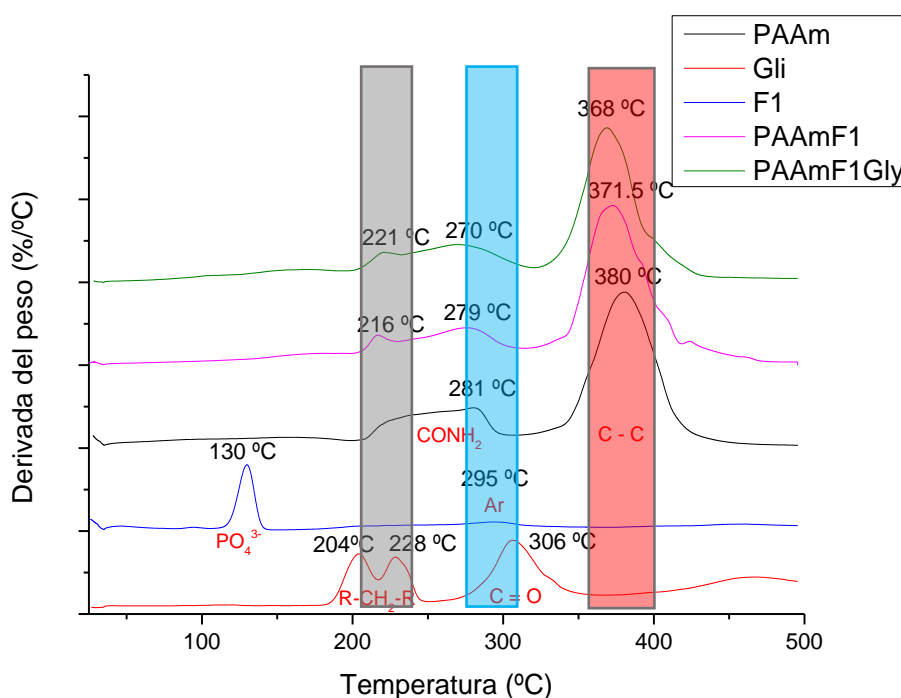


Figura 5.23 Termogramas DTG para el sensor impregnado con fluoróforo 1 y sensado con Gli y su comparación con los compuestos PAAm, Gli, F1.

El comportamiento en la etapa 1 (216 a 281 °C) en el sensor observada en la Figura 5.23, corresponde principalmente a la influencia de la poliacrilamida, en especial al rompimiento de los grupos funcionales amida, presentes en la matriz polimérica. Sin embargo, existen cambios significativos en las temperaturas de degradación y la generación de nuevos picos, al momento de comparar los termogramas de los compósitos y del polímero. Comparando los termogramas de los compuestos PAAm y PAAm-F1, dentro de la zona marcada en color gris, se observa la presencia de un nuevo pico generado por a la presencia de fluoróforo, a una temperatura de 216 °C. El motivo del desplazamiento de la temperatura de degradación del fluoróforo 1, es debido a su encapsulamiento dentro de la red polimérica, provocando un aumento en su temperatura de degradación. Posteriormente, comparando el compósito PAAm-F1,

que no tiene Gli con el termograma del compósito PAAm-F1-Gli dentro de la zona marcada en color azul, se observa la disminución de la temperatura de degradación, provocada por la inestabilidad de los grupos funcionales amida (CONH_2). La inestabilidad se genera al interaccionar los grupos amida con los grupos fosfato presentes en el Gli PO_4^{3-} , creando interacciones electrostáticas o puentes de hidrogeno. Las observaciones hechas evidencian la presencia del fluoróforo y pesticida dentro de los compósitos.

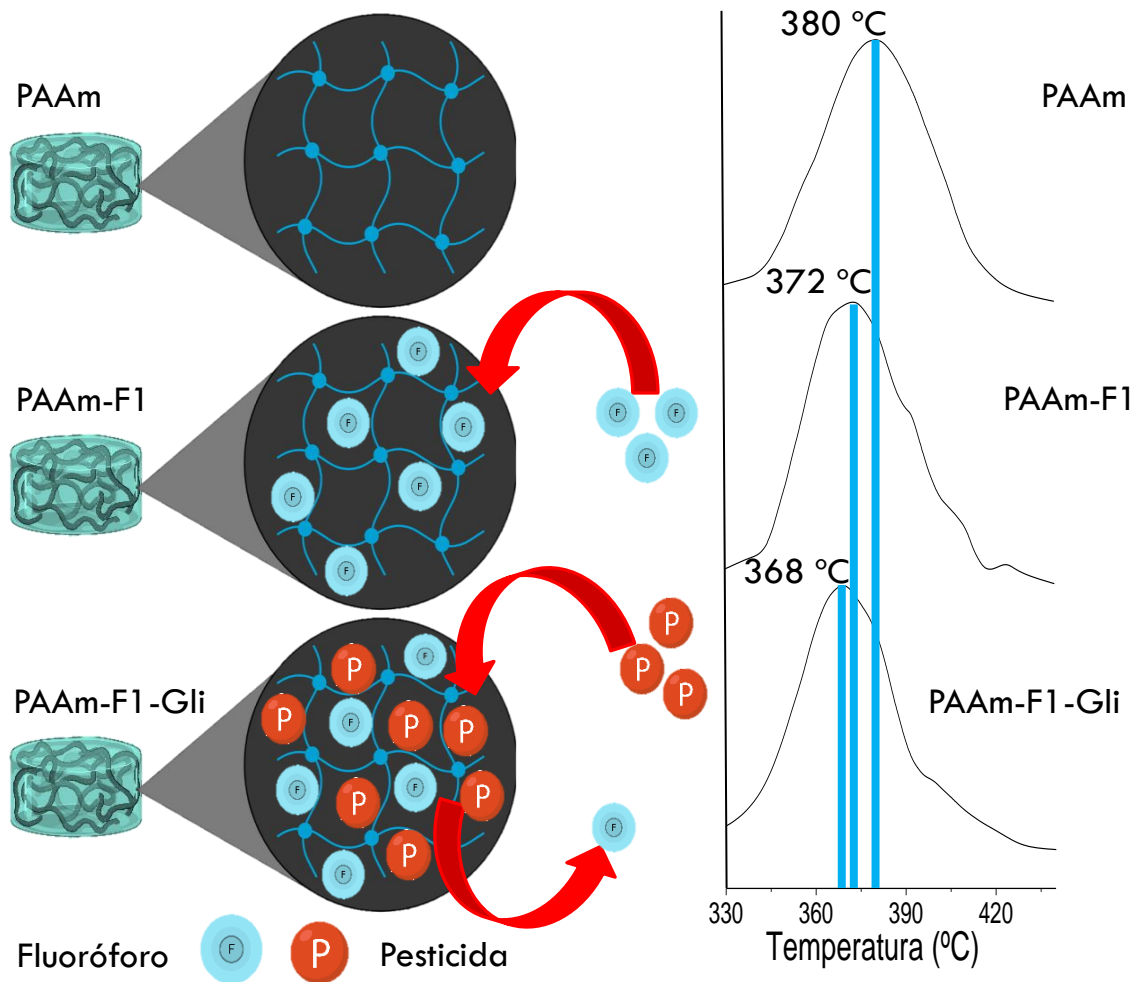


Figura 5.24 Mecanismo propuesto relacionado a los resultados del análisis termogravimétrico (TGA) para el F1.

En la Figura 5.24 se observa el sensor impregnado con F1, en su segunda etapa de degradación atribuida a la despolimerización (zona roja), existen desplazamientos en los picos máximos. La PAAm pura presenta su máxima pérdida de masa a una temperatura de 380 °C. Se puede observar que en el termograma del compuesto PAAm-F1 que la impregnación del fluoróforo provoca la disminución de la temperatura de degradación a 371.5 °C. Esta disminución probablemente ocurre por la formación de interacciones entre el fluoróforo y la red polimérica, lo cual desestabiliza los enlaces C-C, provocando una disminución en la temperatura de despolimerización. Este comportamiento se ha observado en otros trabajos e investigaciones, donde han injertado un fluoróforo con estructura similar a la que empleamos, sobre un polímero de quitosano, donde la adición de este compuesto inestabiliza la red, desplazando sus temperaturas de degradación (Gaabour, 2017). Posteriormente se observa que en el compuesto PAAm-F1-G, nuevamente disminuye la temperatura de degradación a 368 °C, esto se debe a que probablemente exista poca sustitución de Gli. Por lo tanto, una gran parte del Gli añadido en lugar de sustituir y desplazar al fluoróforo, crea nuevas interacciones con la red polimérica, inestabilizando nuevamente las cadenas de la red, disminuyendo aún más la temperatura de degradación.

5.7.2 Análisis termogravimétrico compósitos-F2.

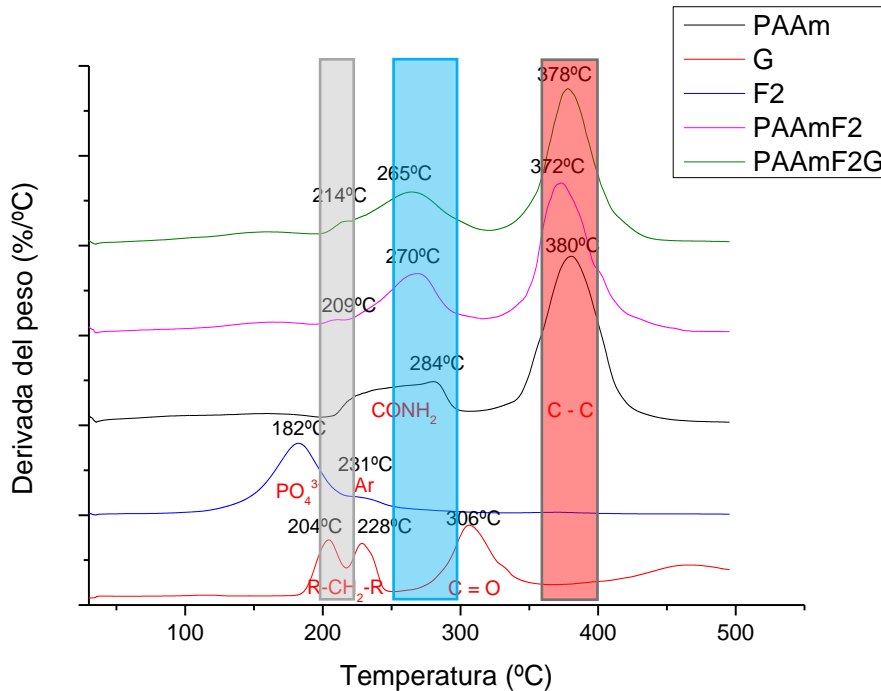


Figura 5.25 Termogramas DTG para el sensor impregnado con fluoróforo 2 y sensado con Gli y su comparación con los compuestos PAAm, Gli, F2.

Como en la discusión de los compósitos relacionados al F1, el comportamiento de los picos de la primera etapa de degradación atribuida al rompimiento de los grupos funcionales amida de la red polimérica, corresponden a la influencia de la poliacrilamida, que es el componente principal de las matrices poliméricas. En la Figura 5.25 se observan nuevamente cambios en las temperaturas de degradación y la presencia de nuevos picos. Comparando los termogramas de la poliacrilamida (PAAm) y el compósito PAAm-F2, dentro de la zona gris, se observa la aparición de un nuevo pico a 209 °C, asociado a la presencia del fluoróforo. El corrimiento del pico de degradación de fluoróforo 2, se debe al encapsulamiento dentro del polímero, lo que le brinda estabilidad al fluoróforo. Comparando el primer compósito (PAAm-F1), y el segundo compósito (PAAm-F1-Gli), dentro de la zona azul, se observa un corrimiento

de la temperatura de degradación de la poliacrilamida, provocada por la interacción de los grupos funcionales amida y el pesticida. Esta interacción provoca la inestabilidad del grupo funcional, disminuyendo la temperatura de degradación.

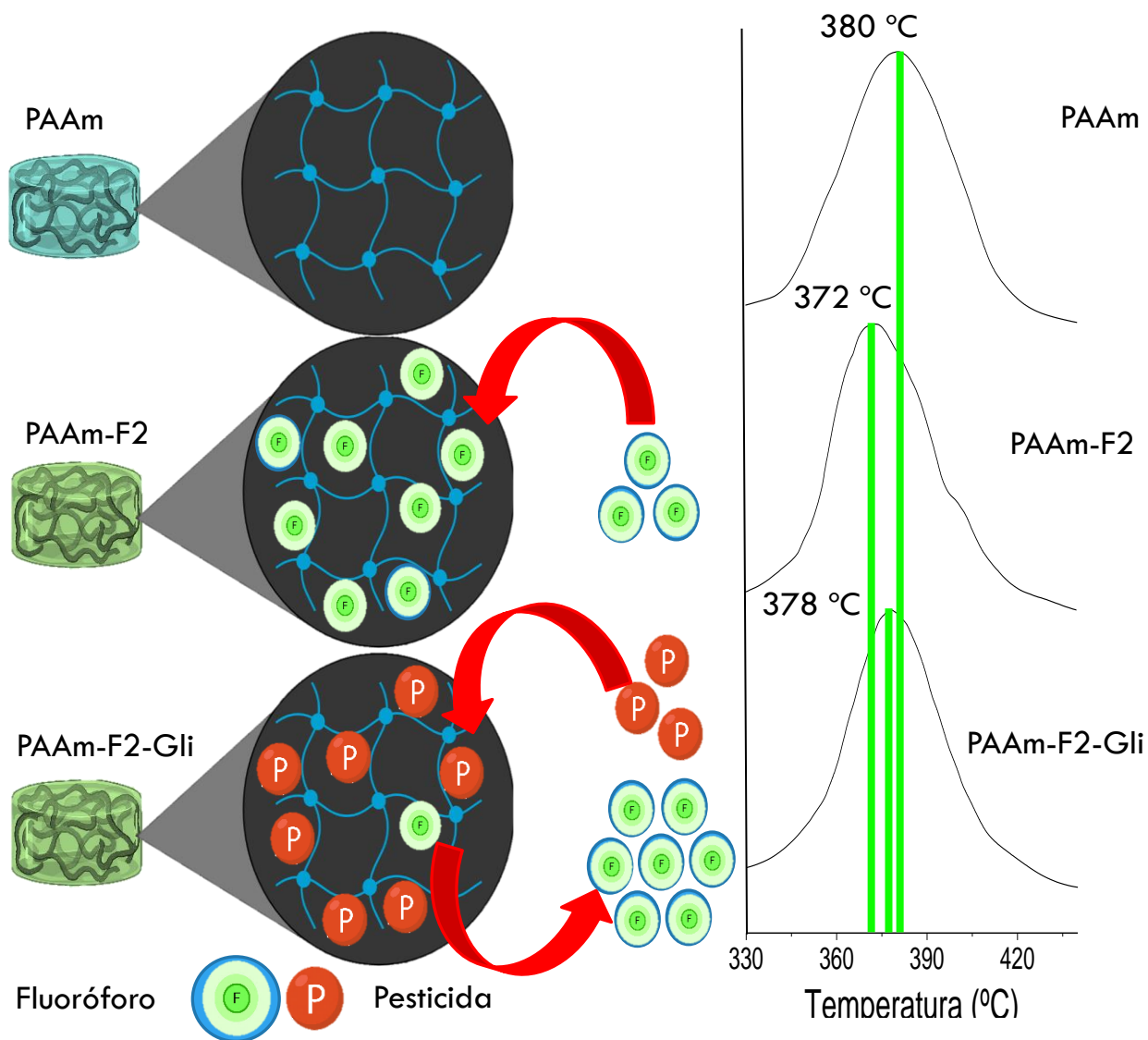


Figura 5.26 Mecanismo propuesto relacionado a los resultados del análisis termogravimétrico (TGA) para el F2.

En el Esquema 5.26, en los termogramas de los compósitos relacionados al fluoróforo 2, en su segunda etapa de despolimerización, se observa que la impregnación del fluoróforo provoca la disminución de la temperatura de degradación de la misma manera que en los compósitos relacionados al F1. Posteriormente se observa que, al adicionarle el Gli, provoca el aumento de la temperatura de degradación. Probablemente el aumento se deba a que existe gran sustitución de fluoróforo por parte del Gli, por lo tanto, recupere parcialmente la estabilidad de despolimerización.

Finalmente, los resultados corroboran lo observado en las pruebas de sensibilidad, ya que, el F1 tenía un menor porcentaje de liberación, por lo tanto, tenía una menor sustitución por parte del Gli comparado con la respuesta del fluoróforo 2, donde se observaba un mayor porcentaje de liberación, y un límite de detección superior.



CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS



6. Conclusiones y perspectivas.

6.1 Conclusiones.

De acuerdo con los objetivos planteados en este trabajo, se llegó a las siguientes conclusiones.

- Se logró sintetizar un hidrogel de acrilamida por el método de polimerización radicalaria e incorporando los compuestos F1 y F2.
- Se logró sintetizar los compuestos fluorescentes y su caracterización mediante la técnica IR.
- Se incorporo satisfactoriamente la molécula de ATP a la 1,8-bromo naftalimida, adquiriendo los grupos necesarios para interaccionar con los grupos amida del polímero, creando puentes de hidrogeno.
- La naftalimida solamente es soluble en algunos compuestos orgánicos, por lo que, al disolverla en agua, sus propiedades fluorescentes se abaten casi por completo debido a la insolubilidad, por lo que, al hacerle las modificaciones, se logró crear un fluoróforo que puede sensar el Gli presente en el agua, y darnos una respuesta fluorescente.
- Se demostró que los hidrogeles sintetizados son adsorbentes y con excelente resistencia morfológica, siendo el máximo de hinchamiento a pH7 de 682.89%.
- Se establecieron los límites de detección ante la presencia de un pesticida organofosforado. Para el fluoróforo 1 esta entre 100 y 500 μM , para el fluoróforo 2 el intervalo abarca desde los 100 μM y 800 μM .
- Se evaluó la capacidad de selectividad para los fluoróforos teniendo buenos resultados, y determinando que para ambos sensores que contienen el F1 y F2 se debe tener un pretratamiento para eliminar los carbonatos previo al sensado, para evitar interferencias y resultados erróneos, que puedan causar estos compuestos.

- Se evalúa los experimentos para comprobar que son reproducibles, en cuanto a la síntesis de los fluoróforos, fueron reproducibles comprobándolo por las técnicas de FTIR, TGA, UV-Vis y fluorescencia.

6.2 Perspectivas.

Con base en los resultados obtenidos en este trabajo se plantean las siguientes perspectivas.

- Comparar el grado de hinchamiento de los materiales sintetizados con polímeros comerciales, además de ampliar el estudio utilizando la impregnación y sensado a diferentes pH y temperaturas.
- Buscar y emplear sitios de anclaje diferentes, es decir sustituir la poliacrilamida por algún otro polímero que no presente hinchamiento, pero que presente grupos funcionales que tengan la capacidad de interactuar con la subunidad fluorescente.
- Modificar las condiciones de síntesis para mejorar las propiedades de los fluoróforos
- Encontrar mejores condiciones de síntesis de la acrilamida para mejorar el mecanismo de sensado
- Evaluar el compuesto para la remoción de más especies químicas contaminantes de interés, así mismo evaluar la capacidad de selectividad para diferentes tipos de pesticidas en específico organofosforados.
- Confirmar la transferencia de energía.



CAPÍTULO 7

SECCIÓN EXPERIMENTAL



7. Sección Experimental.

En este capítulo se presenta una lista de reactivos utilizados en la sección experimental del proyecto de investigación. En adición, se describe detalladamente la síntesis del fluoróforo 1 (naftalimida-ATP) y el fluoróforo 2 (Naftalimida-acetil-ATP-etoxi).

A menos que se indique lo contrario, todas las reacciones fueron realizadas bajo atmósfera de nitrógeno. El material de vidrio se secó previamente con ayuda de la estufa a 80 °C durante 12 horas.

La cromatografía de capa delgada se realizó en placas de gel de sílice sobre soporte de aluminio (0.25 mm). La purificación por columnas cromatográficas se realizó en gel de sílice (60-200) mallas.

Los disolventes grado reactivo analítico fueron utilizados tal y como fueron adquiridos en Sigma Aldrich, tales como DMSO y Acetonitrilo.

Para la caracterización del quimiosensor fue necesario utilizar espectrofotómetro FTIR modelo Cary 600 Series FTIR con ATR de diamante acoplado. Resolución 4cm^{-1} , 32 scans. Espectrofotómetro de UV-Vis Cary 600, espectrofotómetro de fluorescencia Cary eclipse. Espectrofotómetro de fluorescencia Agilent Cary Eclipse con lámpara de xenon. TGA Q500 V20.13 Build 39

Para la síntesis de los fluoróforos e hidrogeles se empleó un liofilizador, específicamente para secar los fluoróforos del solvente de agua, evitando usar el horno a temperaturas altas. Labconco, freezezone 2.5 L con capacidad de enfriamiento de -50 °C, un rotavapor IKA HB 10 basic, una centrifuga HWLAB, un horno Drying oven DHG-9053, un orbital shaker.

Las sales empleadas como analitos para las pruebas de selectividad se reportan en la Tabla 7.3, se prepararon soluciones patrón a una concentración de 2 mM con agua destilada.

7.1 Reactivos.

7.1.1 Reactivos para la síntesis.

Los Reactivos utilizados para el desarrollo del proyecto se muestran en la Tabla 7.1:

Tabla 7.1. Reactivos de síntesis para sensores.

Reactivo	Proveedor
Acrilamida	Sigma-Aldrich
Persulfato de amonio	Sigma-Aldrich
N`N` - metilenbisacrilamida	Sigma-Aldrich
Adenosín 5 Trifosfato disodio	Sigma-Aldrich
2-{2-(2-Cloroetoxi)etoxi}	Sigma-Aldrich
Carbonato de sodio	Sigma-Aldrich
4-Bromo-1,8-anhidrido naftalico	Sigma-Aldrich
3-Amino-1-propanol	Sigma-Aldrich
Cloro acetil clorado	Sigma-Aldrich
Trietil amina	Sigma-Aldrich

7.1.2 Reactivos para preparación de soluciones buffer (Tabla 7.2).

Tabla 7.2. Reactivos para preparación de soluciones buffer.

Reactivo	Proveedor
Buffer fosfatos pH 7.02	Sigma-Aldrich
Ácido acético glacial	Monfel
Acetato de sodio trihidratado	Merck
Ácido clorhídrico	Jalmek
Cloruro de potasio	Jalmek

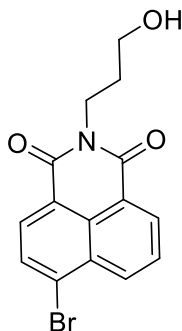
7.1.3 Reactivos empleados como analitos (Tabla 7.3).

Tabla 7.3 Reactivos empleados como analitos.

Reactivo	Proveedor
Fosfato de potasio	Sigma-Aldrich
Nitrato de sodio	Sigma-Aldrich
Carbonato de potasio	Jalmek
Arseniato de potasio	Sigma-Aldrich
Glifosato	Sigma-Aldrich

7.2 Síntesis de la 1,8-bromo naftalimida.

7.2.1 Metodología de síntesis.



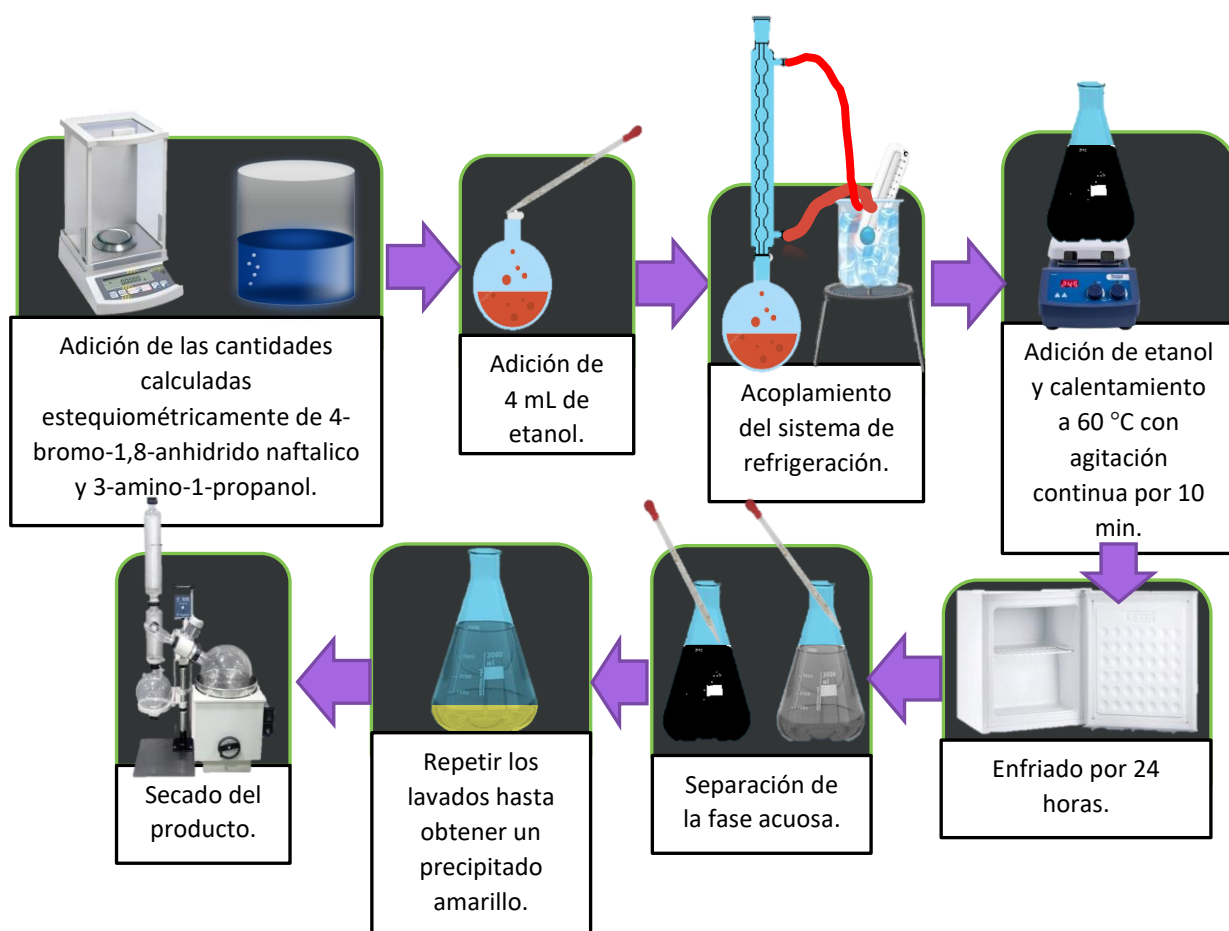
6-bromo-2-(3-hidroxiopropil)-1H-benzo[de]isoquinolina-1,3(2H)-dione (C-1.3).

Se arma un sistema de reacción con reflujo. El sistema consta de un matraz balón de 50 mL y un refrigerante acoplado a un sistema de enfriamiento, conformado por una bomba, mangueras y un contenedor con el fluido de servicio. El refrigerante colocado en posición vertical se conectará al matraz balón y al sistema de refrigeración. Dentro del matraz se coloca el reactivo 4-bromo-1,8-anhidrido naftalico (1 g, 3.6×10^{-3} mmol, 1.0 equivalentes). Posteriormente, se le adiciona 3-Amino-1-propanol (0.33 mL, 325 mg, 4.33×10^{-3} mmol, 1.2 equivalentes). Por último, se le agrega etanol (4mL) como solvente y se deja calentando a 80 °C por 3 días debido a que la reacción es lenta.

7.2.2 Lavados y tratamientos.

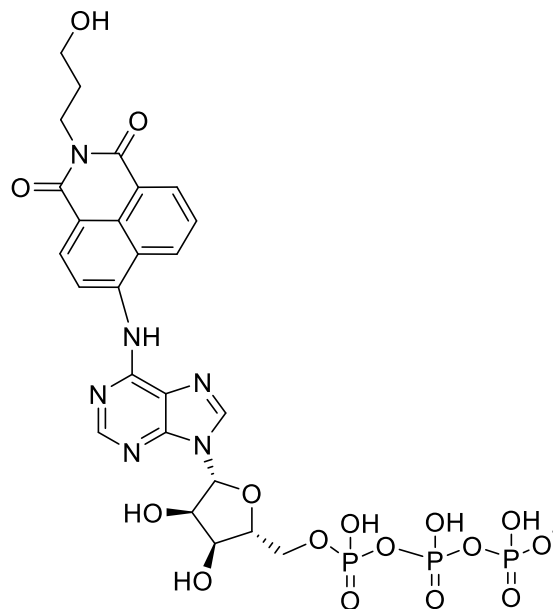
Pasados los 3 días de reacción, se hace una prueba de cromatografía de capa fina para corroborar la formación de producto, después, se hacen los respectivos lavados para eliminar parte de los compuestos que no reaccionaron. Siguiendo la metodología. Primero, se pasa el producto de reacción a un matraz Erlenmeyer, se agregan 250 mL de etanol y se pone a calentar por 10 minutos a 65 °C. Posteriormente, se deja precipitar el producto de reacción, por lo que se coloca dentro de un congelador por

23 horas, con el fin de enfriarlo y favorecer la precipitación del producto de interés. Después de las 24 horas queda un precipitado de color negro, siendo este el producto aun con impurezas. Finalmente, se retira el sobrenadante o fase líquida. Con el objetivo de obtener un producto con una mayor pureza, nuevamente se vuelve a adicionar etanol, calentar y enfriar por otras 24 horas. Se repiten los lavados hasta obtener un precipitado color amarillo, el cual se somete a secado en un horno, siendo el producto final de reacción. La metodología de síntesis se muestra en el Esquema 7.1.



Esquema 7.1 Metodología de síntesis para la obtención de la 1-8 bromo naftalimida.

7.3 Síntesis del fluoróforo 1 (ATP-Naftalimida).

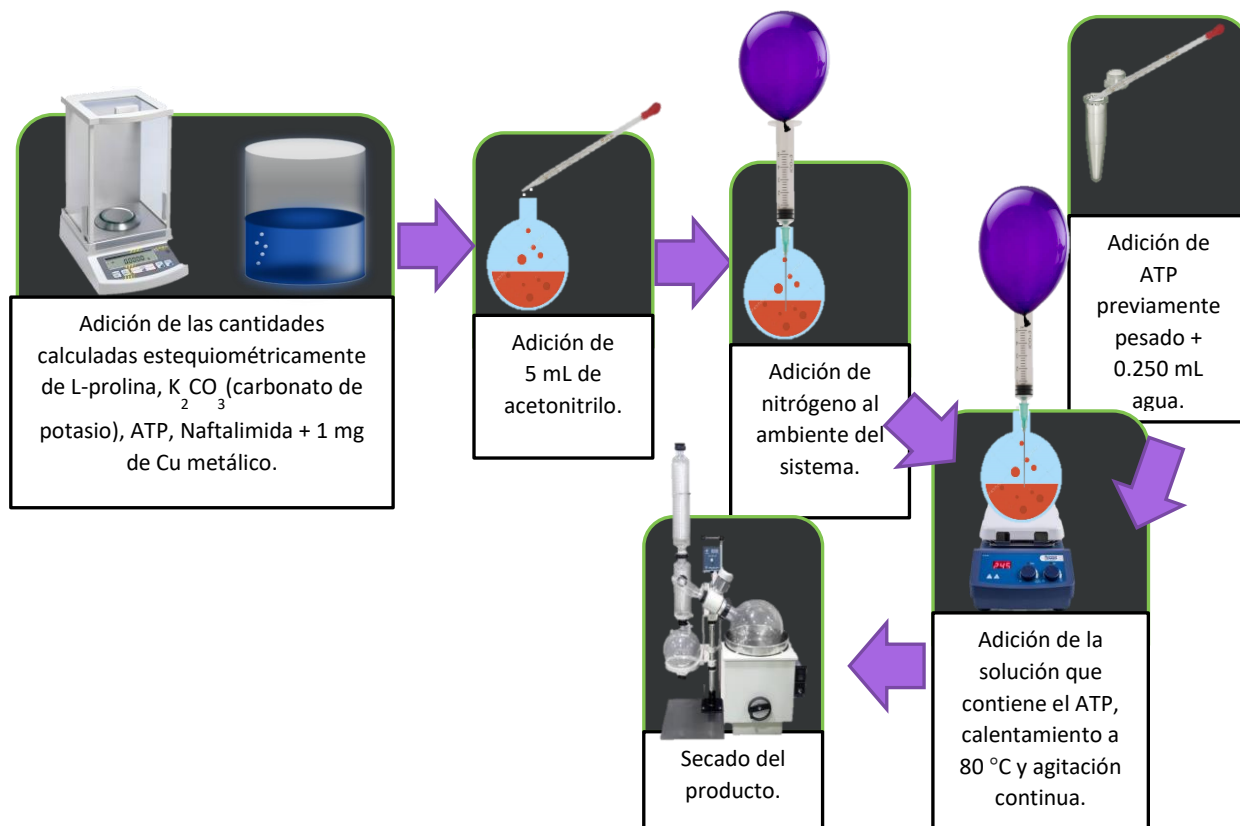


ATP-Naftalimida (F1).

Teniendo como posibles disolventes el agua, acetonitrilo y dimetilsulfoxido, se hicieron pruebas para ver cuál puede ser el mejor disolvente para el adenosín trifosfato, apoyándonos con el baño ultrasónico para obtener una mejor homogeneidad.

En primer lugar, se fija la cantidad a adicionar del ATP (30 mg, 0.05915 mmol, 1.0 equivalentes), a partir de este valor se calculan las cantidades a adicionar de los otros reactivos. Posteriormente, se adiciona a un matraz cada uno de los reactivos involucrados: L-prolina (0.55 mg, 5.9×10^{-3} mmol, 0.1 equivalentes), 1-8 bromo naftalimida (16.61 mg, 0.065 mmol, 1.1 equivalentes), K_2CO_3 (1.63 mg, 0.011 mmol, 0.2 equivalentes), CuI (1.12 mg, 5.9×10^{-3} mmol, 0.1 equivalentes) en adición de acetonitrilo (5 mL) además de cobre metálico (1 mg). Después, se calienta a 80 °C, una vez se alcance esta temperatura, se adiciona el ATP disuelto en agua (0.25 mL). Debido a que algunos reactivos tienden a oxidarse, se empleó un método para crear un ambiente inerte lleno de nitrógeno dentro del matraz (reactor), el cual consta de un globo lleno de nitrógeno conectado a una jeringa que dosificara el gas al reactor. Se

deja en esas condiciones por 24 horas, una vez que pase el tiempo se deja enfriar el matraz. La metodología de síntesis se muestra en el Esquema 7.2.



Esquema 7.2 Metodología de síntesis para la obtención del fluoróforo 1.

Pruebas de Cromatografía en Capa Fina

Es una técnica muy sencilla de separación de productos, muy utilizada en el laboratorio de química orgánica, en el control y seguimiento de reacciones químicas. Está basada en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla. En la técnica de cromatografía en capa fina, siempre hay una fase móvil, que es un líquido que arrastra a la muestra a través de una fase estacionaria. La fase estacionaria consiste en una fina capa de absorbente adherida a una placa que puede ser de vidrio o aluminio. El principio de esta técnica se basa en las interacciones, ya que los componentes de la mezcla interactúan de distinta forma

con la fase estacionaria, de este modo, los componentes atraviesan esta fase a distintas velocidades y se van separando. Se prepara una solución 10% etanol en diclorometano (CH_2Cl_2) como fase móvil, este se coloca en un vaso precipitado de tal forma que solamente forme una capa fina de fluido sobre el fondo del recipiente.

Posteriormente se toma una muestra de 1-8 bromo naftalimida diluida en acetonitrilo, la cual se coloca una gota sobre la placa de adsorbente. A la misma altura y de la misma manera se coloca una muestra de nuestro producto de la reacción. Posteriormente, se procede a introducir la placa de manera vertical, tocando el fondo del vaso. Después, se espera a que la solución de etanol-diclorometano permee hasta la parte superior de la placa, por último, se extrae la placa del vaso y se deja secar. Los resultados se observan bajo luz ultravioleta, presentándose el siguiente resultado (Figura 7.1).

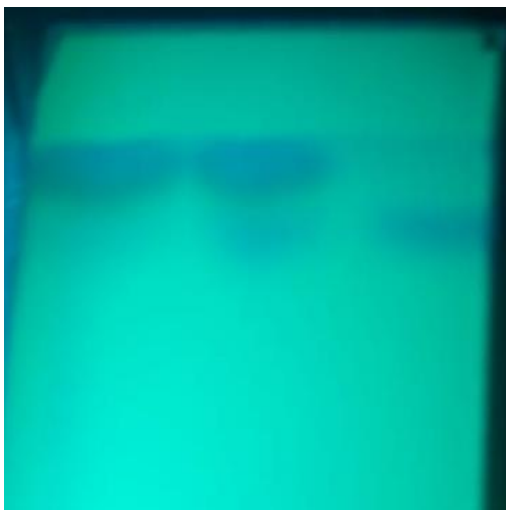
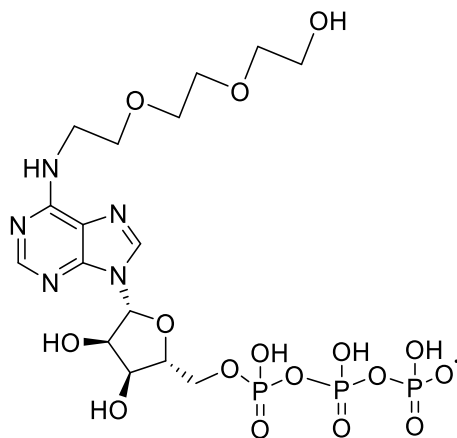


Figura 7.1 Técnica de cromatografía de capa fina observada bajo una fuente de luz ultravioleta (365 nm) para corroborar la formación del producto, del lado izquierdo de ver el producto, el lado derecho el material de partida, se observa que efectivamente ha reaccionado.

Una vez que nos cercioramos de que reacciono de manera correcta, se dejara secar el fluoróforo para su posterior acoplamiento con el polímero.

7.4. Síntesis del fluoróforo 2.

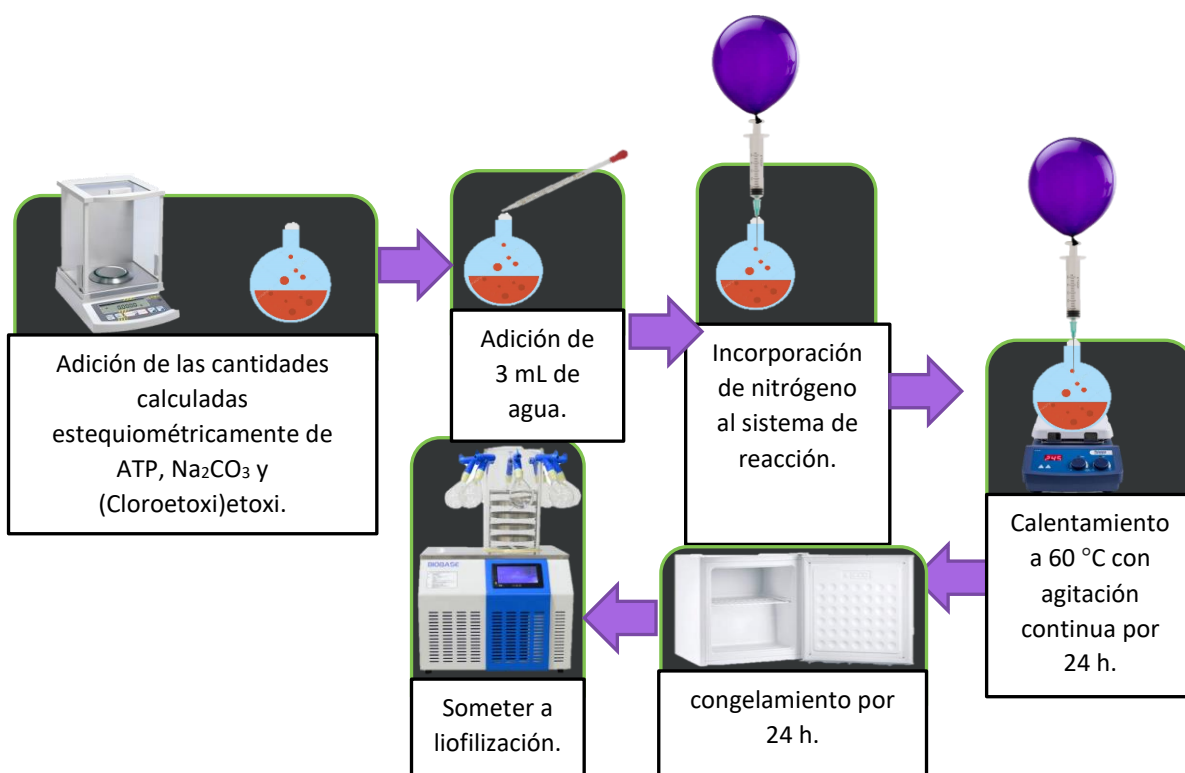
7.4.1 Síntesis del ATP-etoxi.



ATP-etoxi (C-2.6)

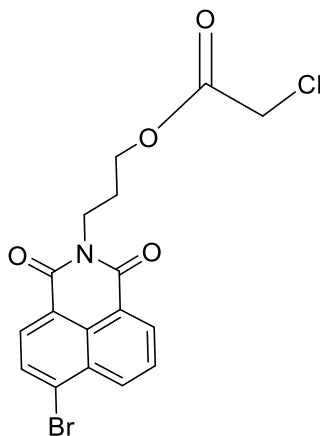
Para iniciar, en un matraz balón de 50 mL equipado con agitador magnético se adiciona el ATP (100 mg, 0.181 mmol, 3.0 equivalentes), (Cloroetoxi) etoxi (8.9 μ L, 10.19 mg, 0.060 mmol, 1.0 equivalentes), Na_2CO_3 (7.69 mg, 0.072 mmol, 1.2 equivalentes) y se disuelve en agua (3 mL). Antes de calentar, el sistema se coloca bajo atmosfera de nitrógeno para evitar productos secundarios, en agitación y se somete a calentamiento a 90 °C por 24 horas. Es importante que no se deje más tiempo porque el producto se puede descomponer o formar productos indeseados, la reacción se monitorea cada 6 horas.

Transcurridas las 24 horas, se congela el producto para después secarlo empleando el equipo de liofilización por otras 24 horas. La razón por la cual empleamos el equipo de liofilización es que, al secarlo en el horno notamos la formación de productos indeseados, sin embargo, al emplear el liofilizador se obtiene el producto con las propiedades morfológicas deseadas como color blanco del producto y en forma de polvo fino, debido a que el proceso de secado es a temperaturas bajas. La metodología de síntesis se muestra en el Esquema 7.3.



Esquema 7.3 Metodología de síntesis para la obtención del subproducto ATP-etoxi.

7.4.2 Síntesis de la Naftalimida-acetil.

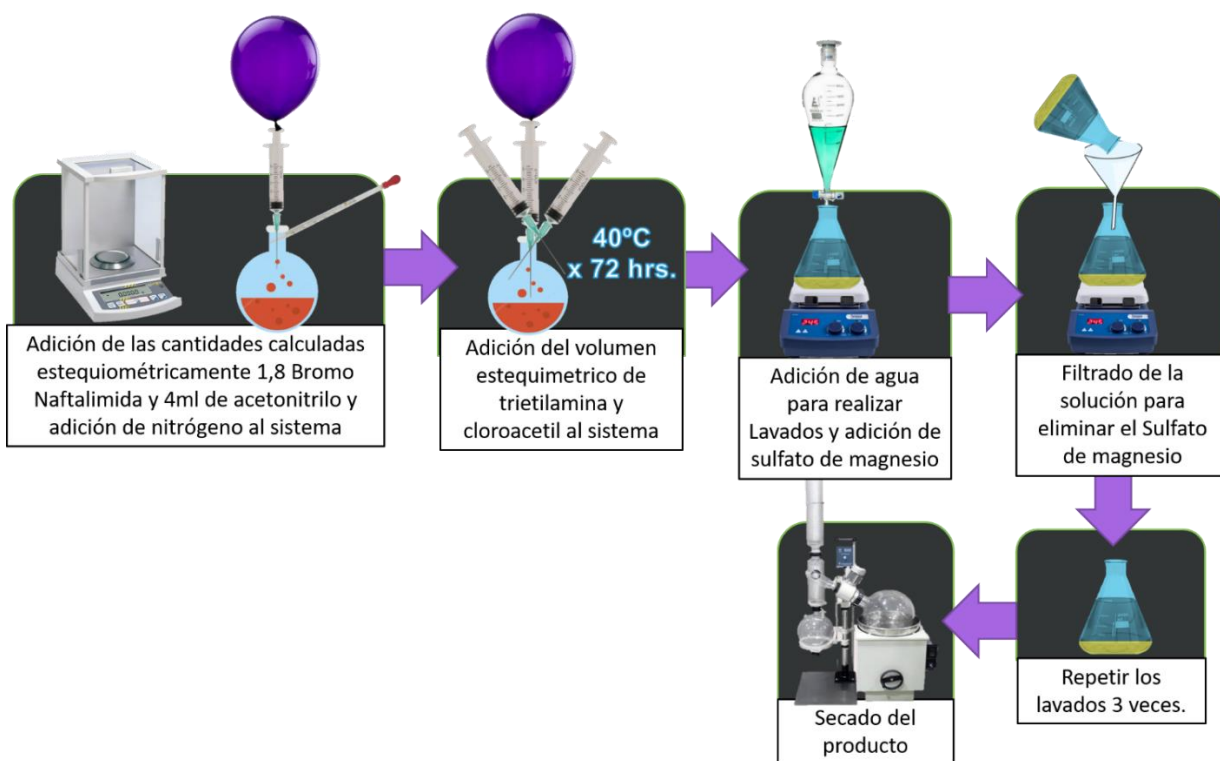


3-(6-bromo-1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-il)propil 2-cloroacetato (C-2.3)

En un matraz balón de 50 mL equipado con agitador magnético se adiciona 1,8-bromo naftalimida (50 mg, 0.195 mmol, 1.0 equivalentes) y se disuelve con acetonitrilo (2 mL). Posteriormente, se tapa el sistema de reacción y antes de calentar se pone nitrógeno en el sistema para evitar productos secundarios. Con ayuda de una jeringa, se adiciona cloruro de cloroacetilo (47.05 μ L, 33.18 mg, 0.294 mmol, 1.5 equivalentes) y trietilamina (28.77 μ L, 39.65 mg, 0.391 mmol, 2.0 equivalentes) inyectándolos a través de la tapa del matraz. Finalmente, se pone en agitación y se somete a calentamiento a 50 °C por 3 días, es importante que no se deje más tiempo, porque el producto se puede descomponer o formarse productos indeseados.

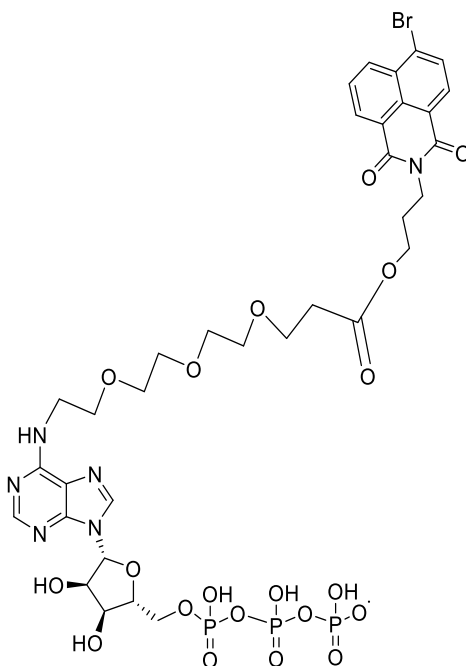
Después de la síntesis, para el postratamiento se agrega acetato de etilo al matraz, y se pasa el material a un embudo de separación. Posteriormente, para separar la naftalimida pura y la naftalimida-cloroacetil del cloruro de cloroacetilo no reaccionado, se le adiciona al embudo 100 mL de agua. Después, se adiciona un poco de salmuera para favorecer la separación de la fase acuosa y de la fase orgánica. Por último, se separan las 2 fases donde el producto se encuentra en la fase orgánica.

Se repiten 3 veces estos lavados adicionando agua a la fase orgánica, y extrayendo la fase acuosa. Una vez se separa la fase acuosa, se adiciona sulfato de magnesio y se agita, ya que este material adsorbe el agua que se pudo extraer junto con la fase orgánica, y de este modo eliminarla. Posteriormente, se filtra para separar el sulfato de magnesio/agua. Finalmente, el producto (fase orgánica), se colocó en un matraz balón y con ayuda de un equipo rotavapor, se evapora el acetato de etilo a 65 °C, obteniendo el producto final. La metodología de síntesis se muestra en el Esquema 7.4.



Esquema 7.4 Metodología de síntesis para la obtención del subproducto 3-(6-bromo-1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-yl) propil 2-cloroacetato (Naftalimida-cloroacetil).

7.4.3 Síntesis del producto fluoróforo 2 (Naftalimida-acetil-ATP-etoxi).



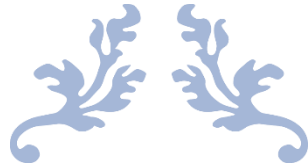
Naftalimida-acetil-ATP-etoxi (F2).

En un matraz balón de 50 mL equipado con agitador magnético, se adiciona la naftaimida-cloroacetil (35 mg, 0.085 mmol, 1.0 equivalentes), disolviéndolo con acetonitrilo (2 mL, el cual se calentó a 50 °C, después, se somete a sonicación para favorecer la disolución del reactivo. Posteriormente, en otro contenedor se pone el ATP-etoxi (108 mg, 0.170 mmol, 2.0 equivalentes), diluyéndolo en agua (1 mL). Una vez que se disolvió, se procede a adicionar la solución que contiene el ATP al matraz balón, se tapa el sistema de reacción y se le adiciona con ayuda de una jeringa la trietilamina (18.78 μ L, 25.87 mg, 0.255 mmol, 3.0 equivalentes), por último, se deja 24 horas en calentamiento a 80 °C.

Pasadas las 24 horas, se procede a secar el producto en el rota vapor a 60 °C, sin embargo, debido a que contenía acetonitrilo y agua, solo se evapora parte del acetonitrilo. Para eliminar el agua, lo que se hizo fue congelar durante 24 horas lo que

no se vaporó y secarlo con ayuda del equipo de liofilización por 2 días. Posteriormente, ya seco mi material, se procede a hacerle lavados con acetato de etilo para eliminar la naftalimida-cloroacetil no reaccionada. El procedimiento de lavados consiste en adicionar acetato de etilo a mi producto seco, agitarlo y pasar mi producto a e-pondors para posteriormente centrifugar, el producto es el precipitado. Se le hicieron varios lavados al precipitado, hasta que el acetato de etilo dejara pintarse de amarillo, posteriormente se vuelve a secar mi producto con ayuda del rotavapor a 65 °C.

Por último, se le hicieron unos segundos lavados, pero esta vez en etanol, con el objetivo de eliminar el ATP-etoxi no reaccionado, aprovechando, que este reactivo no es soluble en etanol. Para realizar los lavados se adiciona etanol, se sónica por 10 min y posteriormente, se deja dentro del congelador por 24 horas para ayudar a favorecer la precipitación del ATP-etoxi. Posteriormente, se pasa el producto a Eppendorff y se centrifuga, el producto de interés es el sobrenadante. Se le hicieron varios lavados al precipitado hasta que quedara casi completamente blanco como lo es el ATP puro. Finalmente, se vuelve a secar mi producto final con ayuda del rotavapor a 65 °C.



BIBLIOGRAFÍA



Bibliografía.

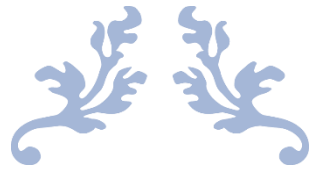
- Alfonso, M., Sola, A., Caballero, A., Tárraga, A., & Molina, P. (2009). Heteroditopic ligands based on ferrocenyl benzimidazoles fused to an additional diaza heterocyclic ring system. *Journal of the Chemical Society.*, 43, 9653–9658. <https://doi.org/10.1039/b915627e>
- Andricopulo, A. D., Müller, L. A., Cechinel Filho, V., Cani, G. S., Roos, J. F., Corrêa, R., Santos, A. R. S., Nunes, R. J., & Yunes, R. A. (2000). Analgesic activity of cyclic imides: 1,8-Naphthalimide and 1,4,5,8-naphthalenediimide derivatives. *Farmaco*, 55(4), 319–321. [https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(00\)00027-6](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(00)00027-6)
- Aragay, G., Pino, F., & Merkoçi, A. (2012). Nanomaterials for sensing and destroying pesticides. *Chemical Reviews*, 112(10), 5317–5338. <https://doi.org/10.1021/cr300020c>
- Bark, L. S., & Allen, N. S. (1982). *Analysis of Polymer Systems* (first edit). [https://doi.org/10.1016/0141-3910\(83\)90021-6](https://doi.org/10.1016/0141-3910(83)90021-6)
- Braun, A. M., Maurette, M. T., & Oliveros, E. (1991). *Photochemical Technology* (ilustrada).
- Chen, F. X., Zhou, C. R., & Li, G. P. (2012). Study on thermal decomposition and the non-isothermal decomposition kinetics of glyphosate. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 109(3), 1457–1462. <https://doi.org/10.1007/s10973-011-1834-9>
- Duke, R. M., Veale, E. B., Pfeffer, F. M., Kruger, P. E., & Gunnlaugsson, T. (2010). Colorimetric and fluorescent anion sensors: An overview of recent developments in the use of 1,8-naphthalimide-based chemosensors. *Chemical Society Reviews*, 39(10), 3936–3953. <https://doi.org/10.1039/b910560n>
- Eddleston, M., Buckley, N. A., Eyer, P., & Dawson, A. H. (2008). Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. *The Lancet*, 371(9612), 597–607. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61202-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61202-1)
- Eyer, P. (2003). The role of oximes in the management of organophosphorus pesticide poisoning. *Toxicological Reviews*, 22(3), 165–190. <https://doi.org/10.2165/00139709-200322030-00004>
- Gaabout, L. H. (2017). Spectroscopic and thermal analysis of polyacrylamide/chitosan (PAM/CS) blend loaded by gold nanoparticles. *Results in Physics*, 7, 2153–2158. <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2017.06.027>
- Gaddam, R. R., Narayan, R., & Raju, K. V. S. N. (2016). Fluorescence spectroscopy of nanofillers and their polymer nanocomposites. In *Spectroscopy of Polymer Nanocomposites*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40183->

8.00007-0

- García, J. M., García, F. C., Serna, F., & De La Peña, J. L. (2011). Fluorogenic and chromogenic polymer chemosensors. *Polymer Reviews*, 51(4), 341–390. <https://doi.org/10.1080/15583724.2011.616084>
- Gudeika, D. (2020). A review of investigation on 4-substituted 1,8-naphthalimide derivatives. *Synthetic Metals*, 262(December 2019), 116328. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2020.116328>
- Hennink, W. E., & van Nostrum, C. F. (2012). Novel crosslinking methods to design hydrogels. In *Advanced Drug Delivery Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.009>
- Jenneskens, L. W., Verhey, H. J., Ramesdonk, J. Van, Witteveen, A. J., & Verhoeven, J. W. (1991). Intramolecular Charge-Transfer Fluorescence of 1-Phenyl-4-[(4-cyano-1-naphthyl)methylene] piperidine as a morphology probe in Diacetyl poly(ethylene glycol) matrices. *American Chemical Society*, 24, 4038–4040.
- Jeong, S. H., Heo, J. H., Lee, J. W., Kim, M. J., Park, C. H., & Lee, J. H. (2021). *Bioinspired Adenosine Triphosphate as an “All-In-One” Green Flame Retardant via Extremely Intumescent Char Formation*. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c02021>
- Karadağ, E., Üzümlü, Ö. B., & Saraydın, D. (2002). Swelling equilibria and dye adsorption studies of chemically crosslinked superabsorbent acrylamide/maleic acid hydrogels. *European Polymer Journal*. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(02\)00117-9](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(02)00117-9)
- Katime Amashta, I. A., Katime Trabanca, D., & Katime Trabanca, O. (2005). Los materiales inteligentes: hidrogeles macromoleculares. *Anales de La Real Sociedad Española de Química*, 35–50.
- Katime, I. (2005). Hidrogeles inteligentes. *Revista Iberoamericana de Polímeros*.
- Kim, S. K., Lee, D. H., Hong, J.-I., & Yoon, J. (2009). Chemosensors for pyrophosphate. *Accounts of Chemical Research*, 42(1), 23–31. <https://doi.org/10.1021/ar800003f>
- Kolakowski, B. M., Miller, L., Murray, A., Leclair, A., Bietlot, H., & Van De Riet, J. M. (2020). Analysis of Glyphosate Residues in Foods from the Canadian Retail Markets between 2015 and 2017. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(18), 5201–5211. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07819>
- Krepker, M. A., & Segal, E. (2013). Dual-functionalized porous Si/hydrogel hybrid for label-free biosensing of organophosphorus compounds. *Analytical Chemistry*, 85(15), 7353–7360. <https://doi.org/10.1021/ac4011815>
- Kumar, S., & Koh, J. (2013). Synthesis, physicochemical and optical properties of

- chitosan based dye containing naphthalimide group. *Carbohydrate Polymers*, 94(1), 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.01.011>
- Lakowicz, J. R. (2006). *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (3rd editio). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>
- Lamberth, C., Jeanmart, S., Luksch, T., & Plant, A. (2013). Current Challenges and Trends in the Discovery of Agrochemicals. *American Association for the Advancement of Science*, 341, 742–746. <https://doi.org/10.1126/science.1237227>
- Lambropoulou, D. A., & Albanis, T. A. (2007). Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography-mass spectrometry-based techniques: A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(6), 1663–1683. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1348-2>
- Li, X., Cui, H., & Zeng, Z. (2018). A Simple Colorimetric and Fluorescent Sensor to Detect Organophosphate Pesticides Based on Adenosine Triphosphate-Modified Gold Nanoparticles. *MDPI*, 12. <https://doi.org/10.3390/s18124302>
- Liu, J., Zheng, X. J., & Tang, K. Y. (2013). Study on the gravimetric measurement of the swelling behaviors of polymer films. *Reviews on Advanced Materials Science*, 33(5), 452–458.
- Mane, S. (2016). Functional Polymers: A Review. *Canadian Chemical Transactions*, 4(3), 316–327. <https://doi.org/10.13179/canchemtrans.2016.04.03.0307>
- Mogul, M. G., Akin, H., Hasirci, N., Trantolo, D. J., Gresser, J. D., & Wise, D. L. (1996). Controlled release of biologically active agents for purposes of agricultural crop management. *Elsevier Science*, 16, 289–320.
- Noori, J. S., Dimaki, M., Mortensen, J., & Svendsen, W. E. (2018). Detection of glyphosate in drinking water: A fast and direct detection method without sample pretreatment. *Sensors (Switzerland)*, 18(9). <https://doi.org/10.3390/s18092961>
- Oyama, T. (2014). Cross-Linked Polymer Synthesis. *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*, 1–11. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-36199-9>
- Qian, G., Wang, L., Wu, Y., Zhang, Q., Sun, Q., Liu, Y., & Liu, F. (2009). A monoclonal antibody-based sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the analysis of the organophosphorous pesticides chlorpyrifos-methyl in real samples. *Food Chemistry*, 117(2), 364–370. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.097>
- Retting, W., & Strehmel, B. (1999). *Applied Fluorescence in Chemistry, Biology and Medicine* (first edit). Springer-Verlag Berlin. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-59903-3>
- Rumkee, J. C. O., Becher, M. A., Thorbek, P., & Osborne, J. L. (2017). Modeling Effects of Honeybee Behaviors on the Distribution of Pesticide in Nectar within a

- Hive and Resultant in-Hive Exposure. *Environmental Science and Technology*, 51(12), 6908–6917. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04206>
- Russell, R. J., Pishko, M. V., Simonian, A. L., & Wild, J. R. (1999). Poly(ethylene glycol) hydrogel-encapsulated fluorophore-enzyme conjugates for direct detection of organophosphorus neurotoxins. *Analytical Chemistry*, 71(21), 4909–4912. <https://doi.org/10.1021/ac990901u>
- Schott, H. (1992). Kinetics of swelling of polymers and their gels. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(5), 467–470. <https://doi.org/10.1002/jps.2600810516>
- Valeur, B., & Berberan, M. (2012). *Molecular Fluorescence: Principles and Applications* (Second Edi). <https://doi.org/10.1002/9783527650002>
- Viswanathan, S., Radecka, H., & Radecki, J. (2009). Electrochemical biosensor for pesticides based on acetylcholinesterase immobilized on polyaniline deposited on vertically assembled carbon nanotubes wrapped with ssDNA. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(9), 2772–2777. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2009.01.044>
- W., B., & J., F. (2002). Potential Toxicity of Pesticides Measured in Midwestern Streams to Aquatic Organisms. *Water Science and Technology*, 45, 95–102. <https://doi.org/10.2166/wst.2002.0213>
- Wu, J., Kwon, B., Liu, W., Anslyn, E. V., Wang, P., & Kim, J. S. (2015). Chromogenic/Fluorogenic Ensemble Chemosensing Systems. *Chemical Reviews*, 115(15), 7893–7943. <https://doi.org/10.1021/cr500553d>
- You, L., Zha, D., & Anslyn, E. V. (2015). Recent Advances in Supramolecular Analytical Chemistry Using Optical Sensing. *Chemical Reviews*, 115(15), 7840–7892. <https://doi.org/10.1021/cr5005524>
- Zhou, T., Xiao, X., & Li, G. (2012). Microwave accelerated selective Soxhlet extraction for the determination of organophosphorus and carbamate pesticides in ginseng with gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 84(13), 5816–5822. <https://doi.org/10.1021/ac301274r>



ANEXOS



Anexos

A) Preparación de soluciones buffer

Buffer de cloruros (pH 1-1.5)

Se preparan dos soluciones stock. La primera de ácido clorhídrico 0.2 M, para la cual se disuelven 197 mL de ácido clorhídrico fumante (HCl) aforando con agua destilada a un volumen de 1 litro. La segunda solución de cloruro de potasio 0.2 M, la cual consiste en disolver 149.1 g de acetato de sodio (CH_3COONa) aforando con agua destilada a un volumen de 1 litro.

A partir de la tabla A.1 se toman las cantidades adecuadas para obtener un pH3.

Tabla A.1 solución buffer de cloruros (pH 1-1.5)

Solución ácido clorhídrico 0.2 M (mL)	Solución cloruro de potasio 0.2 M (mL)	Agua destilada (mL)	pH
134	50	200	1
105.6	50	200	1.1
85	50	200	1.2
67.2	50	200	1.3
53.2	50	200	1.4
41.4	50	200	1.5

Buffer de acetato (pH 3.6-4.6)

Se preparan dos soluciones stock. La primera de ácido acético 0.2 M, para la cual se disuelven 11.55 mL de ácido acético glacial (CH_3COOH) aforando con agua destilada a un volumen de 1 litro. La segunda solución de acetato de sodio 0.2 M, la cual consiste

en disolver 27.2 g de acetato de sodio (CH_3COONa) aforando con agua destilada a un volumen de 1 litro.

A partir de la tabla A.2 se toman las cantidades adecuadas para obtener un pH 4.

Tabla A.2 Solución buffer de acetato (pH 3.6-4.6)

Solución ácido acético 0.2 M (mL)	Solución acetato de sodio 0.2 M (mL)	Agua destilada (mL)	pH
463	37	500	3.6
440	60	500	3.8
410	90	500	4.0
368	132	500	4.2
305	195	500	4.4
255	243	500	4.6

Buffer de fosfato (pH 7.2)

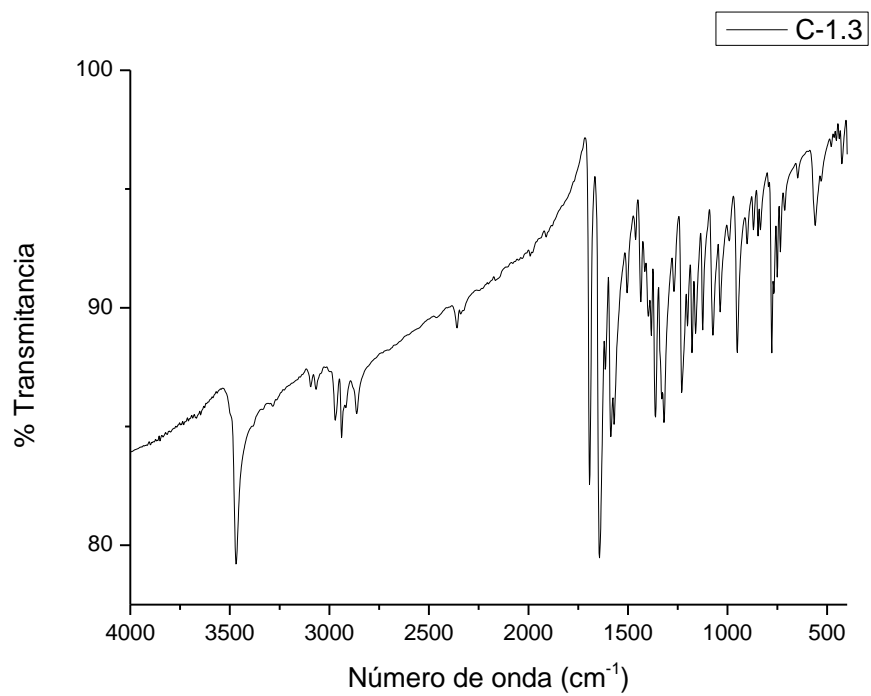
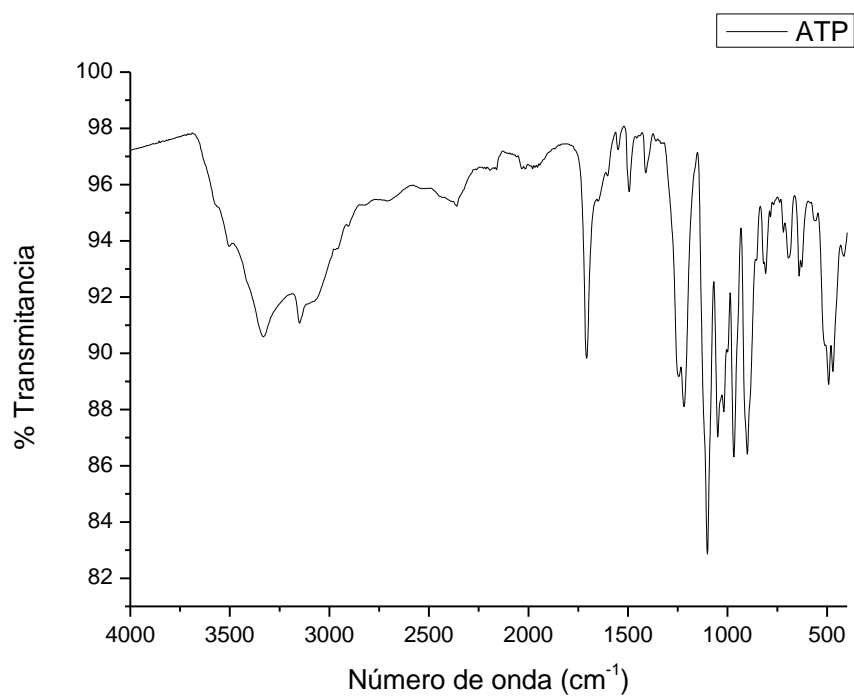
Empleando el producto de Sigma-Aldrich con una concentración 8.3 mmol/L, se realizaron los cálculos necesarios para obtener una cantidad de 500 mL de buffer de fosfatos (pH 7).

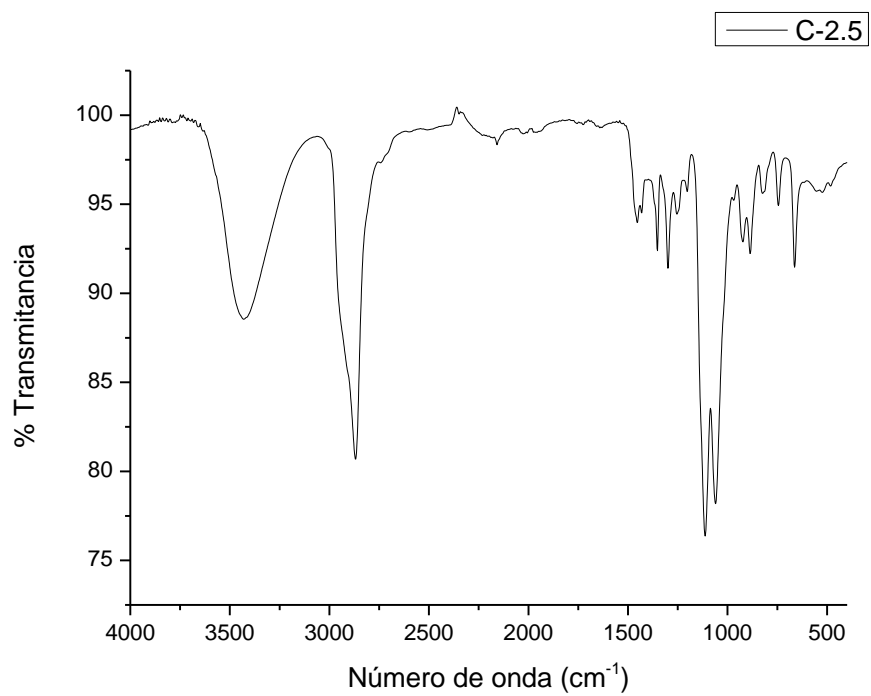
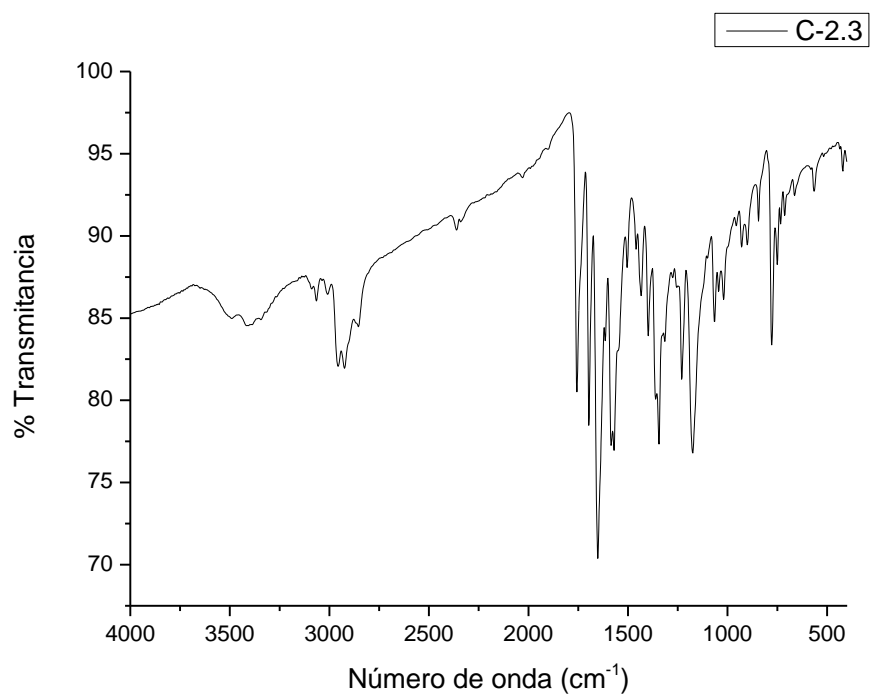
B) Datos de la cinética de hinchamiento

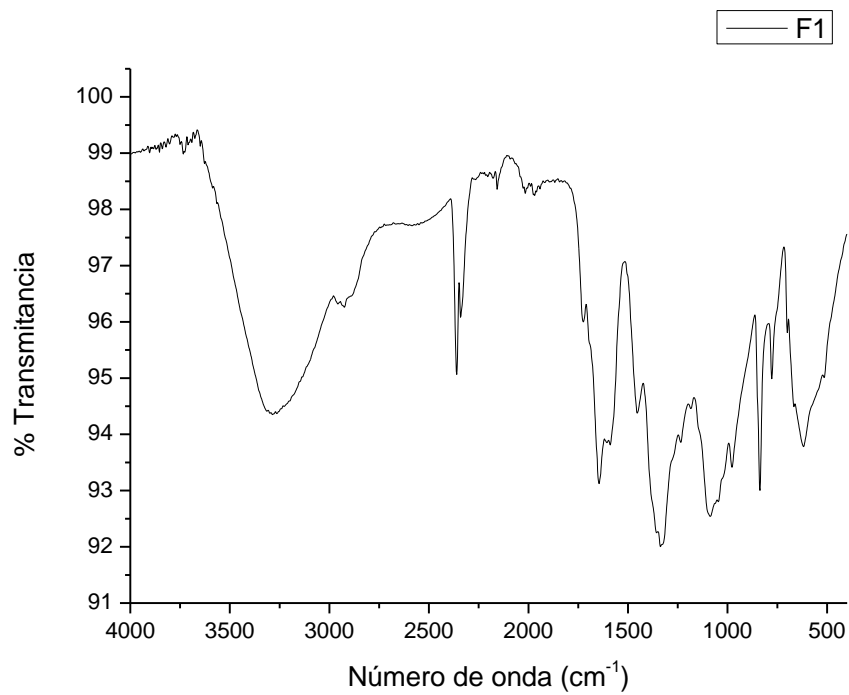
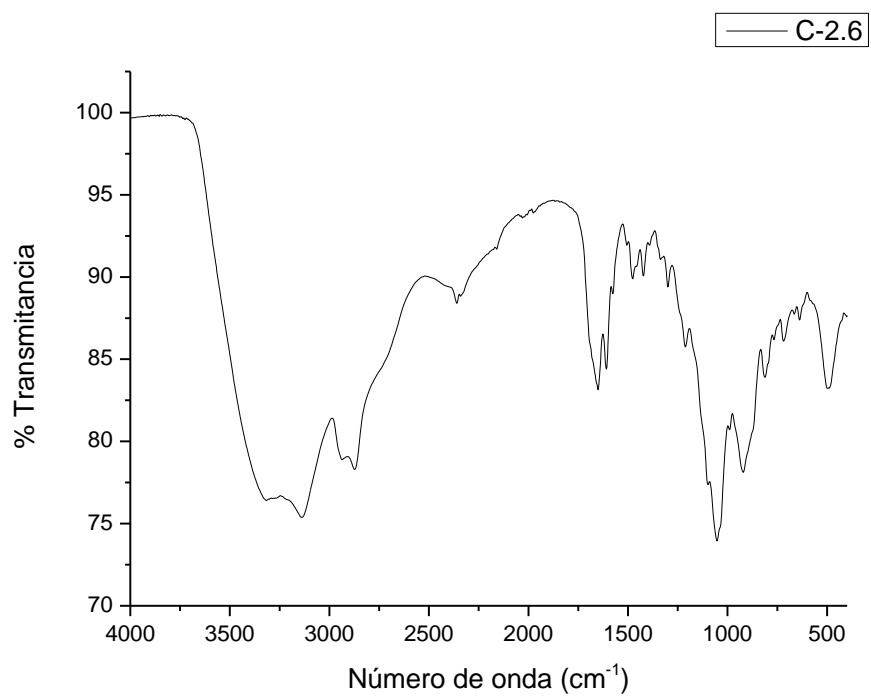
Tabla B.1 Valores tomados de masa para formación de las cinéticas de hinchamiento a diferentes tiempos y pH.

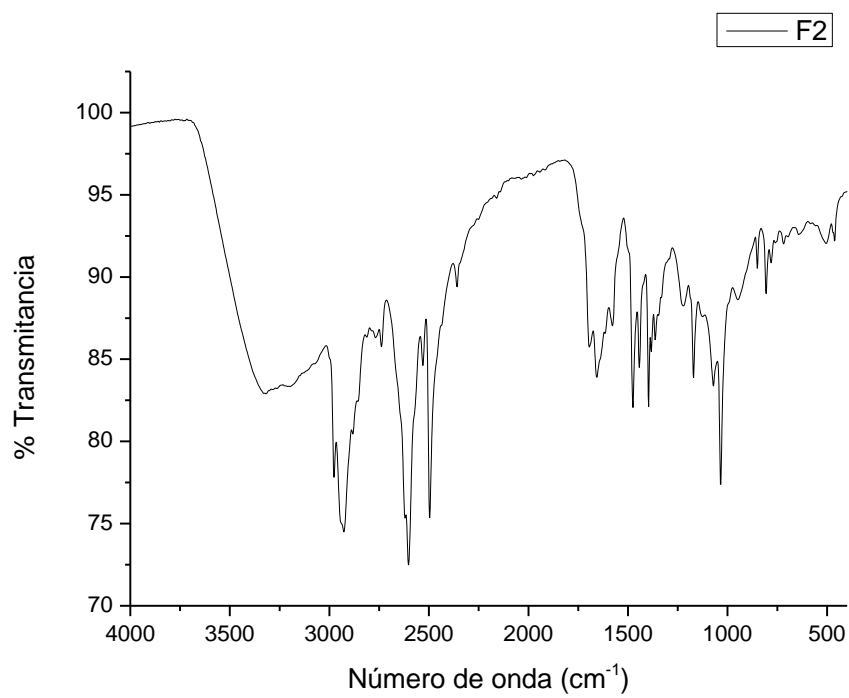
		pH 3	pH 7	pH 11
Hora	Min. totales	Masa (g)	Masa (g)	Masa (g)
06:00	0	0.00	0.00	0.00
06:30	30	91.05	103.32	107.71
07:00	60	150.23	143.11	164.20
07:30	90	196.82	189.04	206.02
08:00	120	235.06	226.19	239.75
08:30	150	263.15	255.08	269.84
09:00	180	288.20	286.97	305.02
10:00	240	348.91	351.38	351.72
11:00	300	392.38	373.12	388.53
12:00	360	437.64	415.66	440.88
02:00	480	472.17	453.88	469.09
16:00	600	506.03	503.95	509.59
19:00	780	558.58	550.44	566.96
22:00	960	586.81	589.41	595.11
02:00	1200	603.58	609.02	623.20
06:00	1440	615.97	627.07	638.56
12:00	1800	638.37	652.88	668.65
18:00	2160	648.24	664.41	679.44
02:00	2640	642.74	661.47	668.84
10:00	3120	660.64	675.63	681.50
10:00	4560	654.54	680.08	686.46
10:00	6000	653.68	674.94	690.85
10:00	7440	655.27	677.32	695.55
10:00	8880	657.59	679.95	706.96
10:00	10320	660.04	682.89	719.56

C) Espectros IR de los compuestos puros



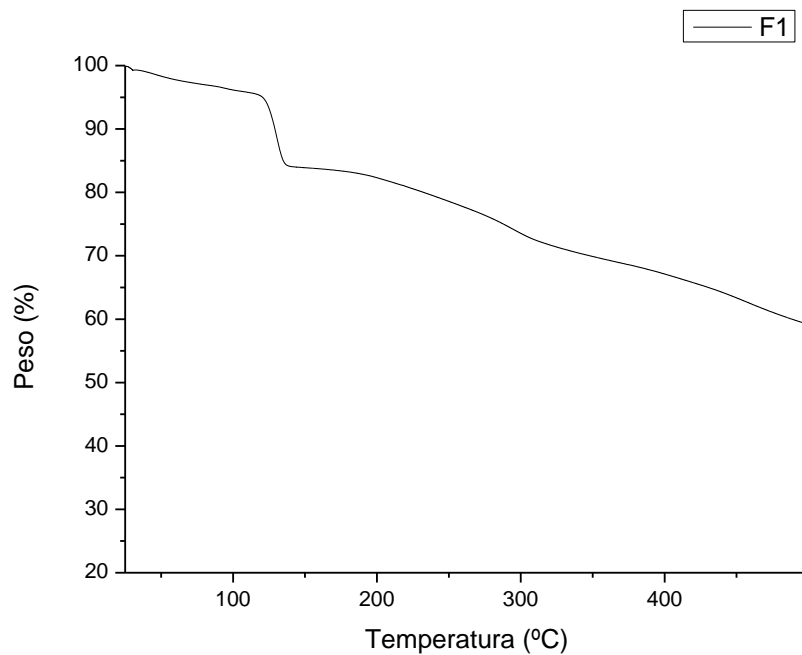




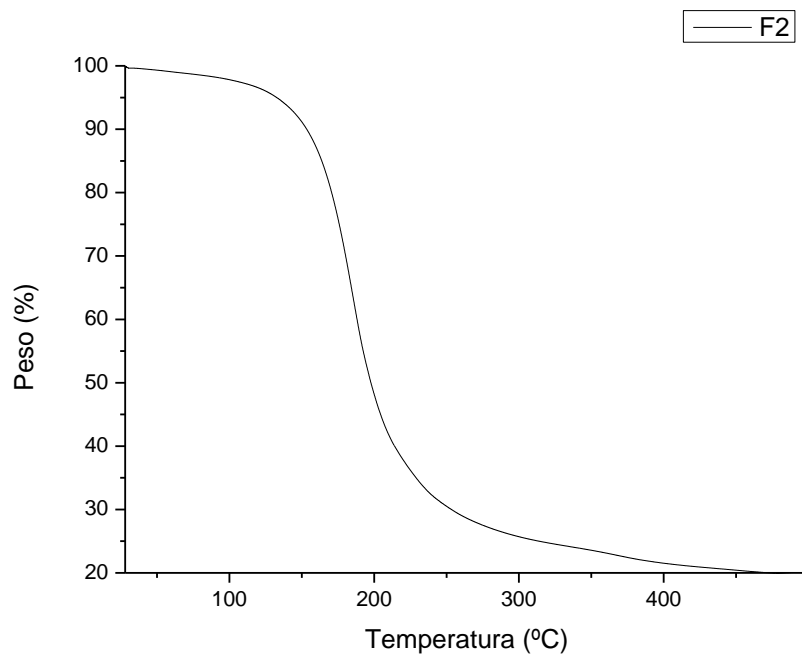


D) Termogramas de compuestos puros y compósitos.

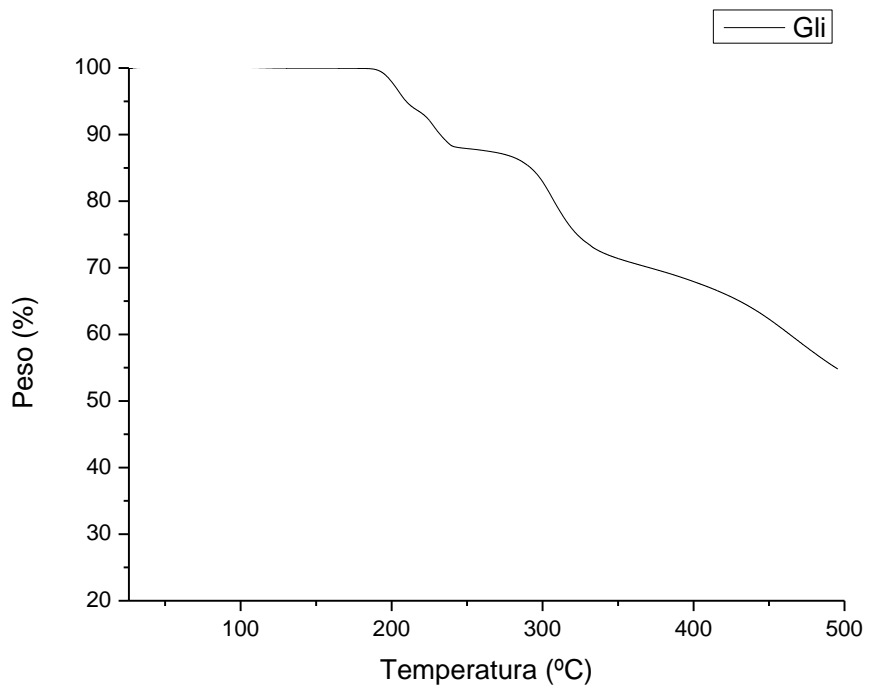
TGA F1



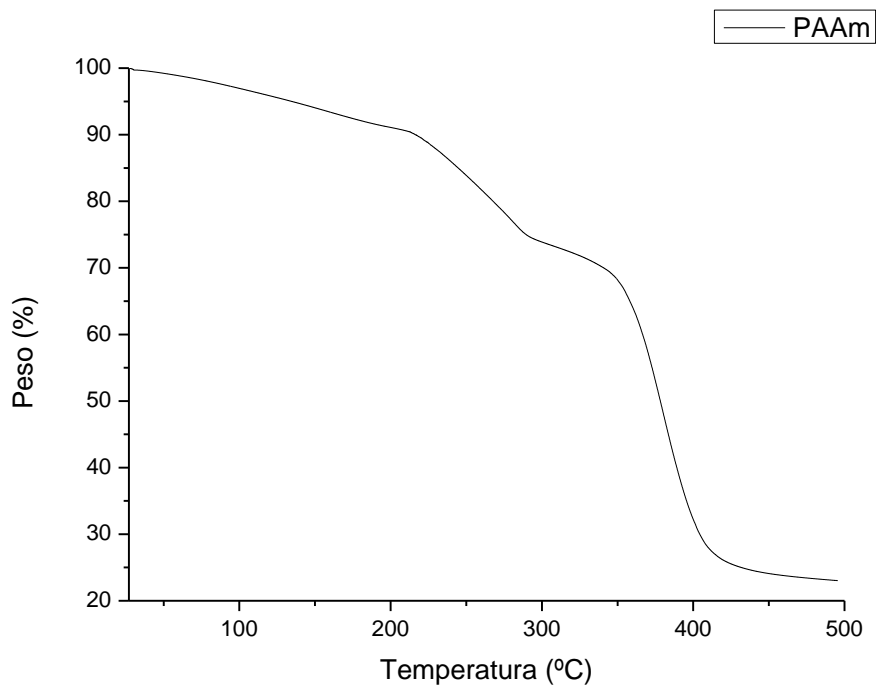
TGA F2



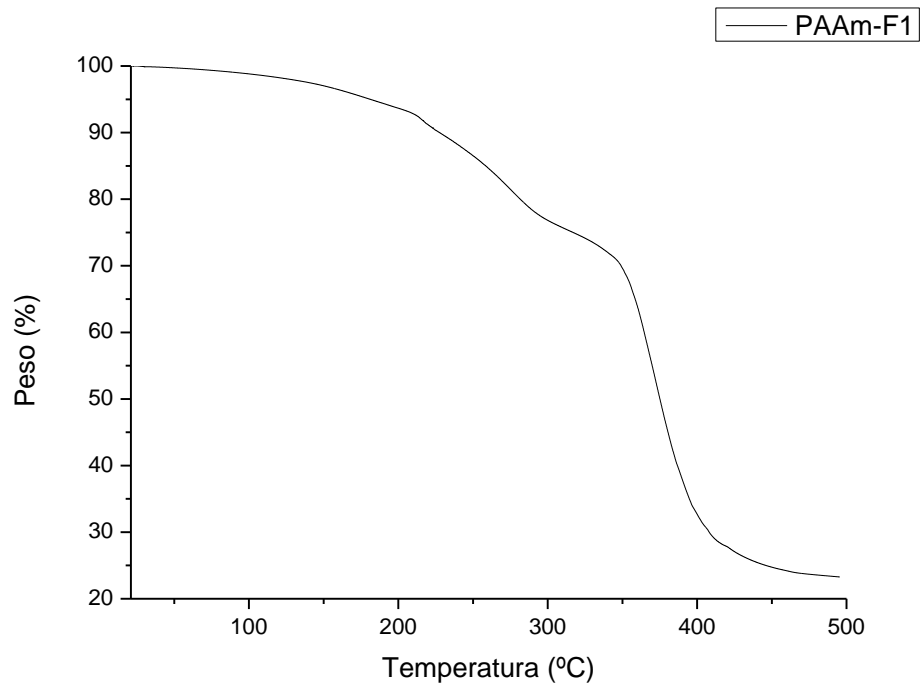
TGA Gli



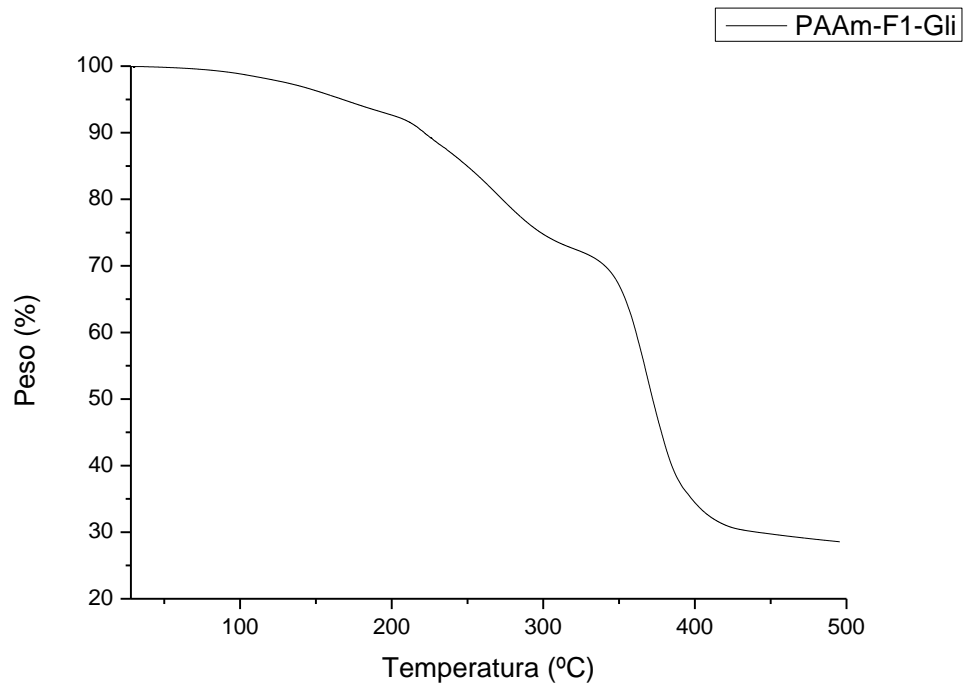
TGA PAAm



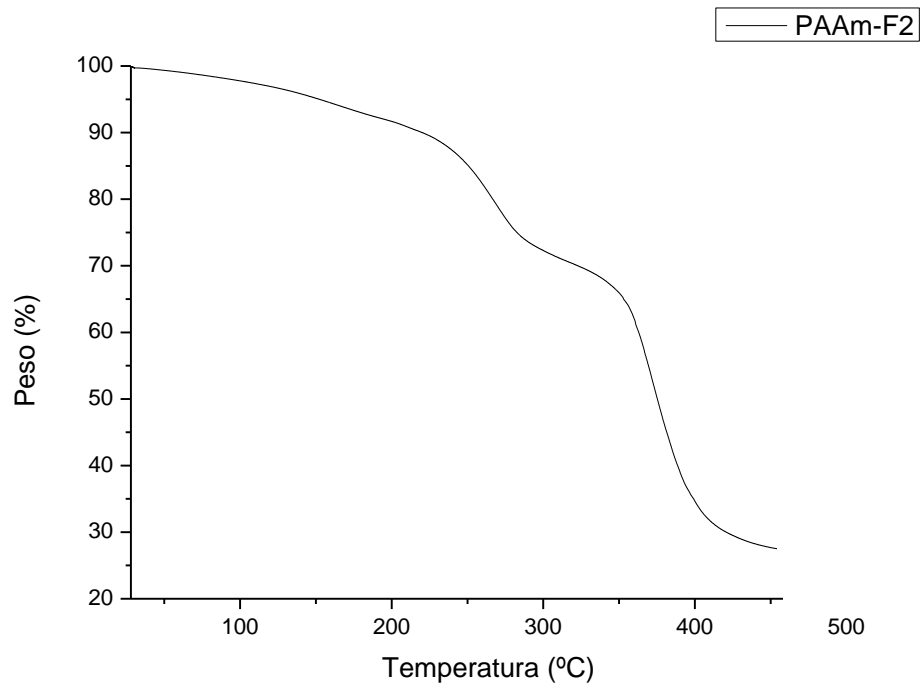
TGA PAAm-F1



TGA PAAm-F1-Gli



TGA PAAm-F2



TGA PAAm-F2-Gli

