



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

---

---

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**

**ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA**

**SÍNTESIS E INTEGRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE  
CdTe/Cds EN EL ANÁLISIS DE GLIFOSATO EN SUELO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MAESTRO EN QUÍMICA**

**P R E S E N T A**

**RAYBEL MUÑOZ RAMÍREZ**

**DIRECTOR DE TESIS  
DR. JOSÉ ANTONIO RODRÍGUEZ ÁVILA**

**MINERAL DE LA REFORMA, HGO.**

**AGOSTO 2018**



Mineral de la Reforma, Hgo., a 23 de julio de 2018

**Número de control:** ICBI-D/650/2018  
**Asunto:** Autorización de impresión de tesis.

**M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO**  
**DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR**

Por este conducto le comunico que el comité revisor asignado al C. Raybel Muñoz Ramírez, alumno de la Maestría en Química con número de cuenta 202434, autoriza la impresión del proyecto de tesis titulado "Síntesis e integración de nanopartículas de CdTe/CdS en el análisis de glifosato en suelo" en virtud de que se han efectuado las revisiones y correcciones pertinentes.

A continuación se registran las firmas de conformidad de los integrantes del comité revisor.

PRESIDENTE	Dr. Alfredo Guevara Lara
SECRETARIO	Dra. María Elena Páez Hernández
VOCAL	Dr. José Antonio Rodríguez Ávila
SUPLENTE	Dr. Israel Samuel Ibarra Ortega

Sin otro particular reitero a Usted la seguridad de mi atenta consideración.

Atentamente  
 "Amor, Orden y Progreso"

Dr. Óscar Rodolfo Suárez Castillo  
 Director del ICBI

ORSC/LHMH



Ciudad del Conocimiento  
 Carretera Pachuca - Tulancingo km. 4.5  
 Colonia Carboneras  
 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42184  
 Tel. +52 771 7172000 exts 2231, Fax 2109  
 direccion\_icbi@uaeh.edu.mx

[www.uaeh.edu.mx](http://www.uaeh.edu.mx)



Este trabajo de investigación se realizó en el laboratorio 1 del Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y en el Departamento de Ciencias Químicas de la Facultad de Farmacia de la Universidade do Porto. .

Parte de este trabajo ha sido presentado en:

- XXX Congreso Nacional de Química Analítica (2017) con el trabajo: “Evaluación de variables de control en propiedades fluorescentes de CdTe/CdS”.
- XXXI Congreso Nacional de Química Analítica (2018) con el trabajo : “Evaluación de nanopartículas de CdTe/CdS en el análisis de glifosato mediante el análisis por inyección en flujo”.

**Sólo aquellos que se arriesguen a ir demasiado lejos pueden descubrir  
que lejos se puede ir.**

**T.S. Eliot**

## Agradecimientos

A Dios por permitirme concluir un objetivo más en mi vida.

A mi familia por apoyarme en las decisiones que he tomado en mi vida y por estar siempre presente cuando lo he necesitado. A mi papá por su apoyo incondicional, a mis hermanos Nancy, Nor, Carmen, Lili, Juan y Pao por sus consejos, regaños, confianza y fe en mí. A mi tía, a mis sobrinos Gael y Alan por ser una inspiración y darle alegría a mi vida. A Jessy por compartir tantos momentos conmigo por su motivación, comprensión y cariño.

A mis amigos y compañeros de laboratorio, Alexandra, Nancy, Jessica, Zita, Isai, Ricardo, Lili por tantos momentos compartidos e inolvidables.

Al Dr. José Antonio Rodríguez Ávila por permitirme realizar este proyecto, por su amistad, por los regaños y consejos en estos 5 años.

A los Doctores Alfredo Guevara, Israel Ibarra y María Elena Páez por su participación en el desarrollo de este proyecto



## Índice

1.1	Herbicidas .....	2
1.2	Glifosato .....	2
1.3	Nanopartículas de materiales semiconductores .....	5
1.3.1	<i>Metodologías de síntesis de nanopartículas de materiales semiconductores .....</i>	<i>5</i>
1.3.2	<i>Uso de nanopartículas de materiales semiconductores como sensores químicos .....</i>	<i>6</i>
1.4	Métodos de determinación de glifosato .....	8
1.4.1	<i>Métodos espectroscópicos .....</i>	<i>9</i>
1.4.2	Métodos de separación cromatográficos .....	11
1.5	Integración de nanopartículas de materiales semiconductores en sistemas de detección .....	17
2.	Objetivos .....	23
2.1	Objetivo general .....	23
2.2	Objetivos específicos .....	23
3.	Metodología .....	25
3.1	Reactivos, soluciones y equipos .....	25
3.2	Preparación de muestras de suelo .....	25
3.3	Síntesis de nanopartículas de CdTe/CdS por reacción hidrotérmica .....	25
3.4	Caracterización de nanopartículas sintetizadas .....	26
3.5	Evaluación espectroscópica de sistemas Glifosato-CdTe/CdS en discontinuo .....	26
3.6	Integración de CdTe/CdS en sistemas en continuo para la determinación de glifosato .....	27
3.6.1	Análisis por inyección en flujo (FIA) .....	27
3.6.2	Cromatografía de líquidos de alta resolución .....	28
3.6.3	Electroforesis capilar de zona .....	28
3.7	Obtención de parámetros de desempeño de las metodologías propuestas .....	29
4	Resultados y discusión .....	32
4.1	Caracterización espectroscópica de nanopartículas de CdTe/CdS sintetizadas .....	32
4.2	Evaluación espectroscópica de sistemas CdTe/CdS-glifosato en discontinuo .....	35
4.3	Integración de nanopartículas de CdTe/CdS en sistemas en continuo .....	39
4.3.1	Análisis por inyección en flujo (FIA) .....	39
4.3.2	Cromatografía de líquidos de alta resolución .....	40

4.3.3 Electroforesis capilar .....	43
4.4 Validación analítica de metodologías propuestas .....	47
5. Conclusiones.....	53
6. Referencias bibliográficas.....	55



## Resumen

El glifosato es el herbicida de mayor uso en la agricultura a nivel mundial para el control de maleza. Su bajo costo, baja toxicidad y fácil producción ha propiciado su uso desmedido, lo que genera problemas ambientales como contaminación de suelo debido a su absorción. Debido a los efectos adversos propiciados por el glifosato es de gran importancia el desarrollo de técnicas analíticas que permitan su cuantificación en muestras complejas, sin embargo las de mayor uso como cromatografía de gases y de líquidos tienen la desventaja de incluir una etapa de derivatización previa al análisis, esto debido a la ausencia de grupo cromóforo en la molécula del analito y a su alto punto de ebullición, lo que implica mayores tiempos de análisis y gasto de reactivos. Una alternativa a la derivatización es la detección indirecta que se basa en el aumento o abatimiento de la señal analítica de un compuesto cromóforo por el analito de interés, para lo cual se propone el uso de nanopartículas de materiales semiconductores de CdTe/CdS. Se ha descrito que este tipo de nanopartículas fluorescentes puede interactuar con diferentes moléculas induciendo un cambio en sus propiedades espectroscópicas.

El presente trabajo está dividido en tres partes, la primera se enfoca en la síntesis y caracterización de nanopartículas de materiales semiconductores de CdTe/CdS y la evaluación espectroscópica en presencia de glifosato. En la segunda parte se integran las nanopartículas en sistemas de detección en discontinuo y continuo para posteriormente realizar la validación de las metodologías de acuerdo a la normativa internacional. Finalmente las técnicas desarrolladas son aplicadas en la cuantificación de glifosato en muestras de suelo.

Las nanopartículas de CdTe aumentan de tamaño y muestran efectos batocrómicos e hipercrómicos en los espectros de absorción y emisión conforme aumenta el tiempo de reacción. La evaluación espectroscópica de las nanopartículas en presencia de glifosato muestra que solo existen cambios en el espectro de emisión, por lo que la cuantificación de glifosato solo es posible mediante esta espectroscopia. El aumento de la señal de emisión observado es resultado de la formación de enlaces de coordinación entre los iones cadmio superficiales y el grupo fosfonato contenido la molécula de glifosato.

Se desarrollaron metodologías de análisis en continuo como: análisis por inyección en flujo, cromatografía de líquidos de alta resolución y electroforesis capilar de zona, siendo ésta última la técnica más sensible y con mayor selectividad debido a que es posible la separación del aducto CdTe/CdS-glifosato debido al incremento del tamaño de la partícula.

Las cuatro metodologías desarrolladas son aplicadas al análisis de muestras de suelo de zonas de cultivo encontrándose resultados adecuados para este tipo de matrices.

## ***Antecedentes***

## 1. Antecedentes

### 1.1 Herbicidas

El incremento de la población mundial ha generado aumento en la demanda alimenticia por lo que la productividad en la agricultura se ha visto acelerada. Como consecuencia el uso de herbicidas se ha vuelto esencial para el control de plagas y enfermedades en un amplio espectro de cultivos, además que, permiten el control de maleza contribuyendo al aumento en el rendimiento y la calidad de los cultivos [1].

Los herbicidas son la clase más utilizada de pesticidas y el mecanismo de acción de se basa en una reacción bioquímica en la cual se regula el crecimiento de la hierba o maleza a nivel celular ya sea inhibiendo el proceso de fotosíntesis, imitando reguladores de crecimiento de plantas, bloqueando síntesis de aminoácidos o inhibiendo la división celular, entre otros mecanismos [2].

Los herbicidas son clasificados por el Comité de Acción de Resistencia a Herbicidas de acuerdo a su sitio y mecanismos de acción [3]. Las principales familias de herbicidas son:

- Inhibidores de síntesis de aminoácidos: derivados de aminoácidos, imidazolinas, sulfinilureas, sulfonaminas, tiopirimidinas y glicinas.
- Disruptores de la membrana celular: difeniléteres y bipyridilos.
- Reguladores de crecimiento: piridinas, herbicidas fenoxiacéticos, herbicidas benzoicos.
- Inhibidores de respiración: arsénico orgánico.
- Inhibidores de fotosíntesis: triazinas, ureas, nitrilos, diazinas, compuestos fenólicos y misceláneos.
- Inhibidores de biosíntesis lipídica: ciclohexanodionas y arifenoxi-propanoatos.
- Inhibidores de crecimiento de raíz: dinitroanilinas.
- Inhibidores de retoños: amidas sustituidas y carbamatos.
- Inhibidores de síntesis de pigmentos: isoxasoles, oxazolodionas y piridazinonas.

De los herbicidas empleados, se destacan el grupo de las glicinas, más específicamente el glifosato debido a que es el de mayor uso a nivel mundial. Actualmente es usado en más de 130 países y se estima que son utilizados anualmente  $6 \times 10^9$  kg y se enlistan más de 160 especies de malezas controladas.

### 1.2 Glifosato

El glifosato (N-fosfometilglicina, Fig. 1) es un herbicida organofosforado que pertenece al grupo de las glicinas, este herbicida presenta características anfotéricas ya que posee en su estructura un grupo amino secundario básico y dos sitios ácidos, un grupo carboxílico y un

grupo fosfonato, cuyas constantes de disociación (pKa) son 11.0 para el grupo amino, 2.3 para el ácido carboxílico y 0.8 y 5.6 para los protones del grupo fosfonato por lo que la especie predominante de glifosato dependerá del pH en el que se encuentre el medio, como se muestra en el diagrama lineal de zonas de predominio (Fig. 2). Sin embargo a valores de pH entre 2.3 y 14.0 predominan las especies aniónicas. La presencia de estos grupos funcionales le confiere a la molécula un carácter polar ( $\log P = -2.8$ ) por lo que es soluble en agua [4]. Otras características fisicoquímicas se muestran en la Tabla 1 [5].

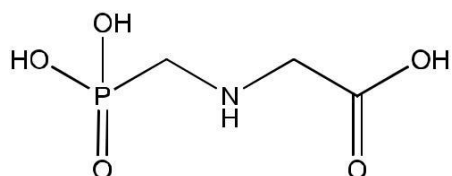


Figura 1. Estructura química del glifosato

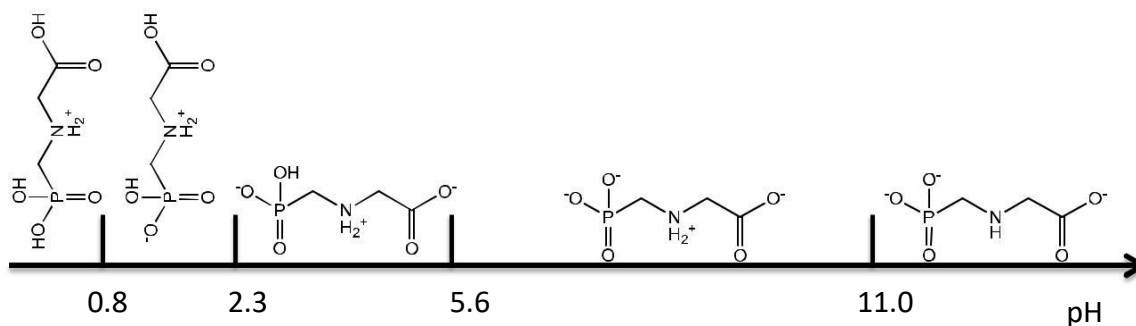


Figura 2. Diagrama lineal de zonas de predominio de glifosato dependiente de pH

Tabla 1. Resumen de propiedades físicas y químicas de glifosato

Propiedad	
Nombre IUPAC	N-(fosfonometil)-glicina
Formula molecular	$C_3H_8NO_5P$
Peso molecular ( $g\ mol^{-1}$ )	169.09
Descripción física	Polvo blanco cristalino
Punto de fusión ( $^{\circ}C$ )	200-230
Punto de ebullición	Descompone a $230\ ^{\circ}C$
Solubilidad en agua ( $mg\ L^{-1}$ )	10,000 - 15,700 a $25\ ^{\circ}C$

El glifosato impide el crecimiento de maleza al actuar sobre la enzima 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), esta enzima facilita el enlace del shikimato-3-fosfato con el

fosfofoenolpiruvato para formar el ácido 5-O-(1-carboxivinil)-3-fosfoshikímico (EPSP) (Fig. 3). Este es un mecanismo de reacción que se lleva a cabo en el cloroplasto de la célula y es un paso previo para la síntesis de los aminoácidos aromáticos triptófano, fenilalanina y tirosina. El glifosato es un inhibidor del mecanismo al formar un enlace con la enzima, generando una competencia con el fosfoenolpiruvato impidiendo la reacción y síntesis de EPSP. La inhibición del EPSP y en consecuencia la de los aminoácidos aromáticos impide el crecimiento de la maleza al ser estos precursores de proteínas, vitaminas, hormonas y otros metabolitos necesarios para el desarrollo de la planta [6].

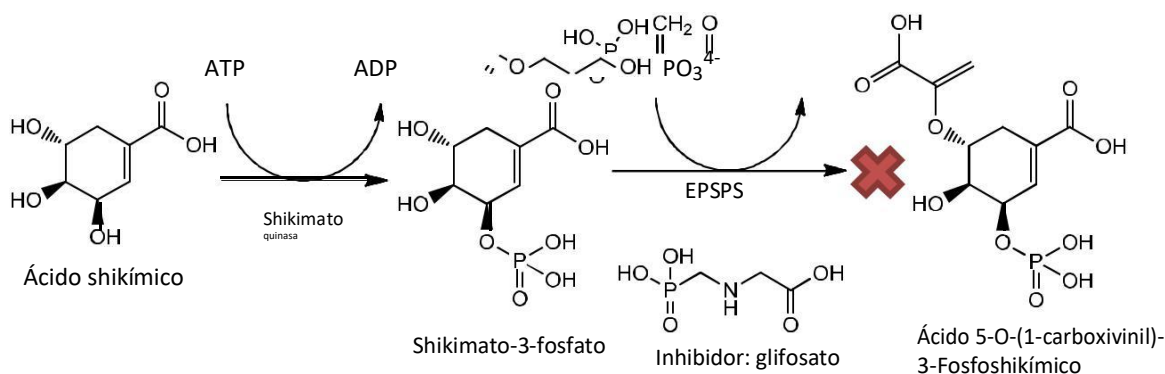


Figura 3. Mecanismo de inhibición de glifosato.

Comparado con otros pesticidas, el glifosato posee características de absorción únicas en suelos. De manera general, la materia orgánica presente en el suelo está asociada a la retención de herbicidas, la cual tiene lugar debido a la interacción con las cadenas alifáticas y/o anillos aromáticos presentes en la estructura de éste tipo de compuestos. Sin embargo, el glifosato al ser una molécula pequeña con tres grupos funcionales de carácter polar (ácido carboxílico, fosfonato y amino), se retiene fuertemente al interactuar con el Al(III) y el Fe(III) contenido de manera común en los minerales del suelo [7].

Su uso extensivo se debe a las características que posee como bajo costo, baja toxicidad en comparación a otros herbicidas, fácil producción y su alta eficiencia en el control de un amplio espectro de hierbas. Desafortunadamente estas características a su vez han propiciado un uso desmedido que genera problemas ambientales como contaminación en suelos y aguas debido a su alta absorción y alta solubilidad en agua [8]. De lo anterior se derivan afectaciones a la salud humana y al medio ambiente, como se mencionó previamente. Aunque el glifosato presenta una menor toxicidad en comparación con otros herbicidas, diversos estudios sugieren que es un potencial disruptor endócrino por lo que la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) ha determinado un máximo permitido en agua potable de

0.7 mg L<sup>-1</sup> [9]. La elevada retención del herbicida en suelos ha traído como consecuencia un aumento de la salinidad del suelo y la presencia de resistencia al herbicida, lo que repercute de manera negativa en las actividades agrícolas; es por ello que el control del contenido de glifosato en suelos es de gran importancia [10].

### **1.3 Nanopartículas de materiales semiconductores**

Las nanopartículas de materiales semiconductores son cúmulos cristalinos monodispersos con dimensiones físicas más pequeñas a las del radio de excitón de Bohr. Con un tamaño típico entre 1 y 10 nm presentan propiedades ópticas diferentes a la de los materiales de partida [11].

En años recientes el uso de nanocristales coloidales de materiales semiconductores ha incrementado debido a las propiedades fotoluminiscentes que presentan. Por lo anterior, estos nanomateriales se han incorporado gradualmente en sistemas analíticos, mayoritariamente como sensores químicos en mediciones basadas en fluorescencia, la cual se presenta al incidir un haz de luz con longitud de onda tal que excite los electrones de la capa de valencia y pasen a la de conducción. Las propiedades espectroscópicas como longitud de onda de absorción y emisión dependen del tamaño de la partícula por lo que el control de la reacción de síntesis es importante [12].

Se han sintetizado una gran variedad de nanopartículas de materiales semiconductores, en los que destacan los compuestos binarios de CdSe, CdTe, ZnSe, CdS así como InP. Al recubrir el núcleo sintetizado con capas o una “coraza” de CdS o ZnS se le confiere a la nanopartícula una mayor fotoluminiscencia, resultado de un mayor confinamiento de los electrones al núcleo. A estas estructuras se les conoce como núcleo/coraza. A las nanopartículas sintetizadas generalmente se les adiciona un agente ligante con la finalidad de estabilizar la dispersión en medio acuoso. Entre los ligantes más utilizados se encuentran el ácido tioglicólico, ácido mercaptopropiónico, la glutatona, la cisteína, entre otros. Además, la funcionalización de los ligantes con grupos amino o carboxílicos le confieren especificidad a analitos de interés [13].

#### *1.3.1 Metodologías de síntesis de nanopartículas de materiales semiconductores*

La síntesis de nanopartículas requiere de al menos tres componentes, el primero es un catión de un material semiconductor como Cd<sup>2+</sup> o In<sup>3+</sup>, el segundo es un calcógeno como el Se<sup>2-</sup>, S<sup>2-</sup>, Te<sup>2-</sup> y finalmente un agente estabilizador generalmente un compuesto con un grupo tiol en su estructura [14].

El protocolo de síntesis hidrotérmica para la obtención de nanopartículas estabilizadas por grupos tiol consiste en tres etapas, inicialmente se obtiene un complejo entre el catión

(disolviendo una sal de catión) y el estabilizante en el cual se ajusta el pH. Posteriormente se realiza la incorporación de la fuente de calcogenuro en ausencia de oxígeno siendo  $\text{Te}^{2-}$ ,  $\text{Se}^{2-}$ ,  $\text{S}^{2-}$  los convencionales, estos últimos obtenidos previamente a través de una reacción de reducción. Finalmente, la nucleación y crecimiento de las nanopartículas se regula mediante el calentamiento usualmente en reflujo. Para la síntesis de nanopartículas de tipo núcleo/coraza, es necesaria una previa adición de un exceso del catión y de un segundo calcogenuro tras el proceso de nucleación [14].

Recientemente el uso de microondas (MW) para la síntesis de nanopartículas estables ha incrementado; este mecanismo permite aumentar significativamente el número de nanopartículas sin comprometer la homogeneidad de tamaño. A su vez se disminuyen cambios de gradiente de temperatura presentes en la reacción hidrotérmica. Se ha descrito la síntesis de nanopartículas de InGaP, InP, CdS, CdSe, CdTe en la que son empleados precursores que absorben la irradiación de microondas, esto permite una nucleación instantánea y el crecimiento de partícula a mayor rapidez comparado con la reacción hidrotérmica. Como resultado se obtienen nanopartículas estables, con superficies más pasivadas y mayores rendimientos cuánticos: Sin embargo, debido a las características antes mencionadas su reactividad con otras especies químicas es limitada, por ello generalmente se emplean las sintetizadas por reacción hidrotérmica [15].

### *1.3.2 Uso de nanopartículas de materiales semiconductores como sensores químicos*

Como se ha mencionado, las nanopartículas de materiales semiconductores han sido ampliamente utilizados como sensores luminiscentes para la detección de analitos orgánicos e inorgánicos. Previo a su aplicación en un sistema analítico se deben estudiar el tiempo de reacción, el tamaño de partícula y los ligantes empleados en la síntesis, debido a que esto determina sus propiedades espectroscópicas y en consecuencia la longitud de onda de emisión y su intensidad. Desde el punto de vista de la química analítica, es posible detectar y dar seguimiento al analito por los cambios en la señal de emisión ya sea por el abatimiento o incremento de la señal. El fenómeno que el analito induce a la nanopartícula es dependiente del tipo de interacción, y dicho cambio en la fluorescencia de la nanopartícula es dependiente de la concentración del analito [15].

- Abatimiento de señal

La cadena de tiol en la partícula desempeña el rol de estabilizador debido a la ionización de los grupos terminales; estos le confieren propiedades químicas dado que le pueden proporcionar funcionalidad. La complejación entre el analito y los grupos ligantes inducen de igual manera el abatimiento de la señal por desplazamiento de ligante, analitos como el  $\text{Cr}^{6+}$  y el  $\text{As}^{3+}$  forman

complejos con la glutatona (ligante) lo que ocasiona el incremento de tamaño de la nanopartícula y en consecuencia una desestabilización y precipitación de los QDs. De igual manera la carga superficial puede ser afectada por la adsorción de iones y moléculas orgánicas al modificar las propiedades de los ligantes. Por ejemplo, al disminuir el pH del medio se provoca la protonación del grupo tiol causando la agregación de la partícula evitando las transiciones electrónicas que permiten la fluorescencia [16]. Bajo este mecanismo, analitos como la tiopronina [17] o el ácido valproico [18] han sido analizados en formulaciones farmacéuticas obteniéndose límites de  $0.15 \mu\text{g mL}^{-1}$  y  $0.24 \text{mg L}^{-1}$  respectivamente (Fig. 4).

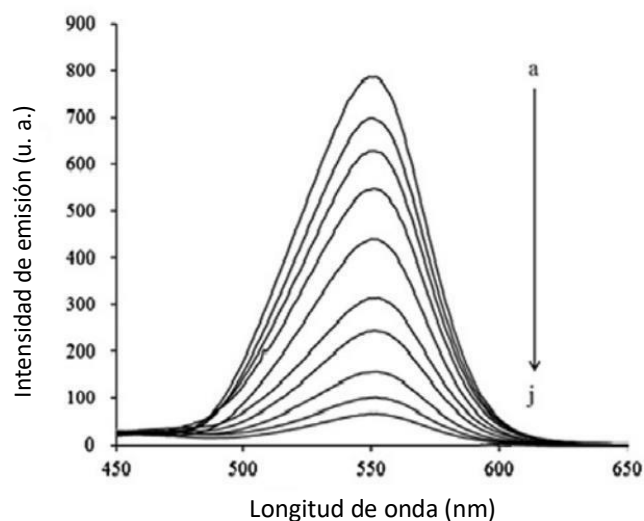


Figura 4. Abatimiento de la señal de fluorescencia de nanopartículas de CdTe por ácido valproico a diferentes concentraciones (a-j) 0.0, 0.5, 0.75, 1.125, 1.5, 2.25, 3.0, 3.75, 5.5 y 7.5  $\text{mg mL}^{-1}$

- Aumento de la señal analítica

Las nanopartículas de CdTe estabilizadas por grupos tiol tienen un gran área superficial por lo que es difícil que todos los iones  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{Te}^{2-}$  se complejen con el ligante; estos iones que no están ligados no tienen transiciones electrónicas. Existen analitos que pueden complejarse con el  $\text{Cd}^{2+}$  o el  $\text{Te}^{2-}$  superficial lo que genera que los electrones pueden pasar al estado excitado, y debido a que existe un mayor número de electrones excitados, aumenta la señal de emisión [16]. Algunos promotores del aumento de señal son clorhexidina,  $\text{Cu}^{2+}$  [19] y  $\text{Ag}^+$  [20] (Fig.5).



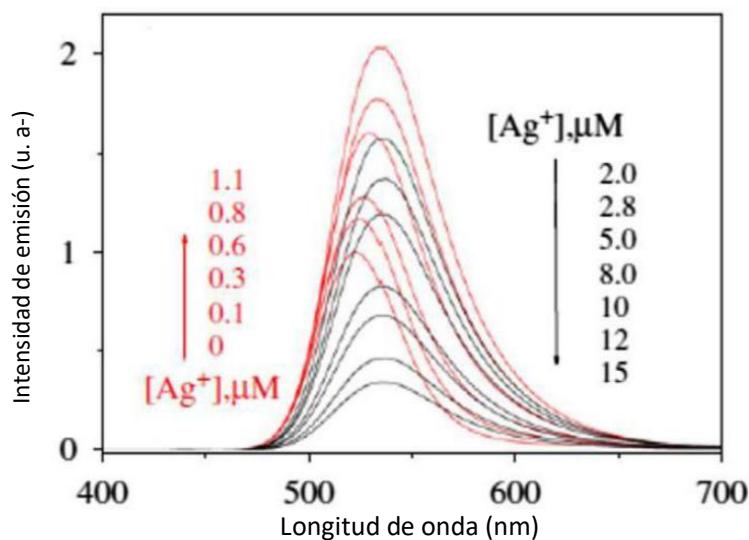


Figura 5. Aumento y abatimiento de la señal de emisión de CdTe a diferentes concentraciones de  $Ag^+$ .

De lo anterior se puede resumir que el fenómeno observado espectrofluorimétricamente es dependiente tanto de las nanopartículas empleadas como de las características químicas del analito.

Los nanocristales de CdTe/CdS son adecuados para el desarrollo de sistemas de detección basados en fotoluminiscencia debido a sus características espectroscópicas como: altas intensidades de emisión (lo que le confiere a las técnicas una mayor sensibilidad), estabilidad química, y la capacidad de modular la longitud de emisión, absorción y tamaño durante su síntesis [16].

Las nanopartículas de CdTe/CdS estabilizados con ligantes que contienen al grupo tiol han sido de gran interés y aplicación debido a la simplicidad de su síntesis, propiedades ópticas reproducibles, estabilidad en fase acuosa así como un amplio intervalo de emisión (500 - 750 nm) [15].

#### 1.4 Métodos de determinación de glifosato

Debido a los problemas ambientales generados por el glifosato es de importancia el desarrollo de metodologías analíticas que permitan su determinación y cuantificación en diversas matrices analíticas. Las principales metodologías utilizadas son las espectroscópicas, la cromatografía de gases (GC) y la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).

### 1.4.1 Métodos espectroscópicos

Las metodologías espectroscópicas se basan en la interacción del analito de interés con la radiación electromagnética. En espectroscopía UV-Vis, el haz de luz atraviesa una solución que contiene el analito, y la interacción entre la luz con la molécula de interés produce una excitación de los electrones de valencia propiciando transiciones electrónicas. De la radiación incidida solo una parte puede llegar hacia el detector y se le conoce como energía transmitida o transmitancia. De manera convencional, la transmitancia o absorbancia (energía absorbida por la solución) se relaciona con la concentración mediante la ley de Lambert-Beer [21].

El glifosato es una molécula que carece de grupos cromóforos por lo que no absorbe en el espectro UV-Vis; la detección suele realizarse mediante la formación de derivados cromóforos que permitan su detección en esta región del espectro [9].

Debido a que el glifosato es un derivado de la glicina, las reacciones de derivatización que se emplean de manera convencional son equivalentes a las empleadas para determinar aminoácidos. Glass y colaboradores (1981) proponen realizar la detección indirecta que involucra dos etapas: a) la oxidación del glifosato a ortofosfato con peróxido de hidrógeno y b) la formación del complejo azul de fosfomolibdato mediante la reacción del ortofosfato resultante con molibdeno (V) y molibdeno (VI), el cual es detectado a 830 nm [22]. Esta metodología se aplicó a muestras de agua obteniéndose porcentajes de recuperación del 100 %. La metodología es poco aplicada debido a que el fosfato presente en las muestras reacciona de manera paralela interfiriendo con el análisis.

La ninhidrina ha sido empleada igualmente como agente cromogénico: la reacción entre el grupo amino del glifosato la ninhidrina en presencia de molibdato de sodio como catalizador permite la reacción del grupo amino secundario presente en la molécula del analito y tras la eliminación de agua se generan compuestos de Ruhemann, los cuales presentan coloración púrpura y absorben a 570 nm (Fig. 6). El límite de detección alcanzado es de  $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$ , y se ha empleado en el análisis de muestras comerciales del herbicida y de agua de escorrentía [23].

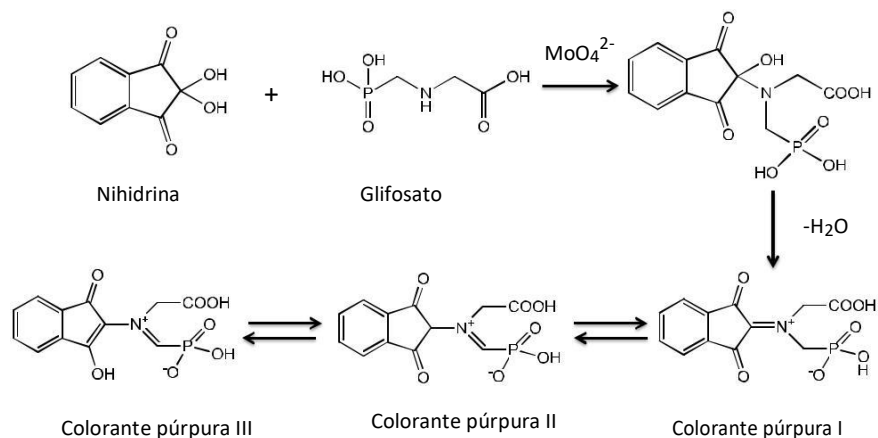
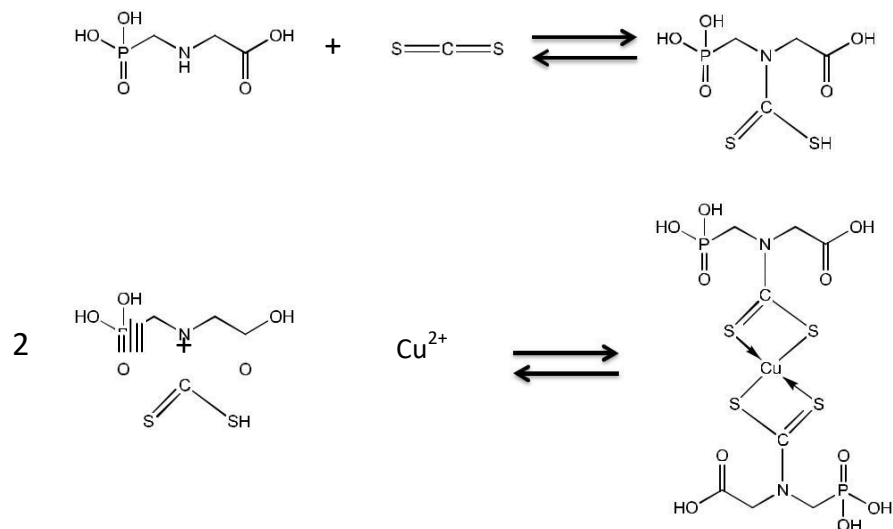


Figura 6. Formación de compuestos de Ruhemann

Jan (2009) desarrolló un método basado en la reacción del disulfuro de carbono con el grupo amino presente en el glifosato para generar un ácido ditiocarbámico en una primera etapa. Posteriormente el grupo ditiocarbamato del producto es usado como grupo quelante del ión  $\text{Cu}^{2+}$  obteniendo así un complejo de coordinación amarillo el cual se absorbe a 435 nm (Fig.7) [24]. Este método ha sido aplicado para la determinación de glifosato en muestras de agua, suelos y granos de trigo alcanzándose un límite de detección de  $1.1 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

Figura 7. Formación de complejo de coordinación entre el glifosato,  $\text{CS}_2$  y  $\text{Cu}^{2+}$ .

Debido a que las metodologías no son selectivas dado que se basan en la reacción del grupo amino, es posible que en matrices complejas como alimentos, agua o suelo que contengan

interferentes como proteínas o aminoácidos, afecten la exactitud de las metodologías. Es por ello que se han empleado técnicas cromatográficas para mejorar el desempeño analítico [25].

#### 1.4.2 Métodos de separación cromatográficos

Generalmente, el análisis de glifosato requiere de una derivatización previa de la muestra cuando se utiliza una técnica cromatográfica. Cuando se emplea GC, se busca obtener un derivado volátil del analito tras la derivatización, mientras que en HPLC se tienen dos objetivos, el disminuir la polaridad de la molécula y añadir un grupo cromóforo que permita su detección [25].

La cromatografía de gases es una técnica de separación que se basa en el uso de una fase móvil (gas acarreador) y una fase estacionaria (columna cromatográfica), en la que una muestra generalmente líquida se vaporiza en el inyector y es acarreada por un gas (He o N<sub>2</sub>) a través de la columna. Debido a las diferentes interacciones presentes entre analitos y la fase estacionaria contenidas en las columnas, es posible modificar la velocidad de migración de los analitos permitiendo la elución a diferentes tiempos [21].

Debido a que la separación se da debido a las interacciones entre la fase estacionaria y el analito, la selección de la columna empleada es de gran importancia para garantizar la separación (generalmente se usa una fase estacionaria de polaridad similar a la de los analitos) [26]. De acuerdo a la polaridad, las columnas se pueden clasificar en:

- Fases estacionarias no polares: polidimetilsiloxano.
- Fases estacionarias de polaridad intermedia: fenil metil polisiloxano.
- Fases estacionarias polares: polietilenglicol.

Las características fisicoquímicas del glifosato no permiten sea analizado directamente en GC, por lo que es necesaria una derivatización previa. Diversos agentes derivatizantes han sido propuestos para el análisis de analito de interés; entre los más comunes se encuentra el anhídrido trifluoroacético en combinación con el trifluoroetanol (Fig. 8). En este procedimiento el ácido carboxílico y el fosfonato reaccionan con el trifluoroetanol para formar los esteres correspondientes, mientras que un derivado trifluoroacetil se forma por la reacción entre grupo amino y el anhídrido trifluoroacético [27]. Debido a la disminución de la polaridad del derivado, la separación se lleva a cabo en una columna capilar HP-5 (fenil metil polisiloxano) empleando como detector un espectrómetro de masas. La metodología descrita fue empleada en la determinación de glifosato en muestras de agua subterránea y de suelos obteniéndose límites de detección de 0.050  $\mu\text{g mL}^{-1}$  y 0.003  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente.

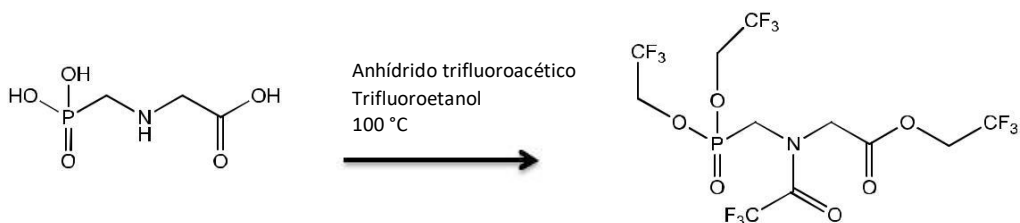


Figura 8. Reacción de derivatización de glifosato con anhídrido trifluoroacético y trifluoroetanol

Otra combinación de reactivos de derivatización es el isopropilcloroformiato y diazometano. El primer reactivo reacciona con la amina secundaria dando lugar a la formación de una amida mientras que el segundo reactivo reacciona con los grupos  $-OH$  del fosfonato y el ácido carboxílico formando éteres o esteres metílicos, respectivamente (Fig. 9) [28]. La metodología fue aplicada a muestras de suelo, encontrándose límites de cuantificación de  $12 \text{ ng g}^{-1}$ , los porcentajes de recuperación en muestras de suelo obtenidos fueron en el intervalo de 91-106 % y las desviaciones estándar relativas fueron de 0.3-7.7%.

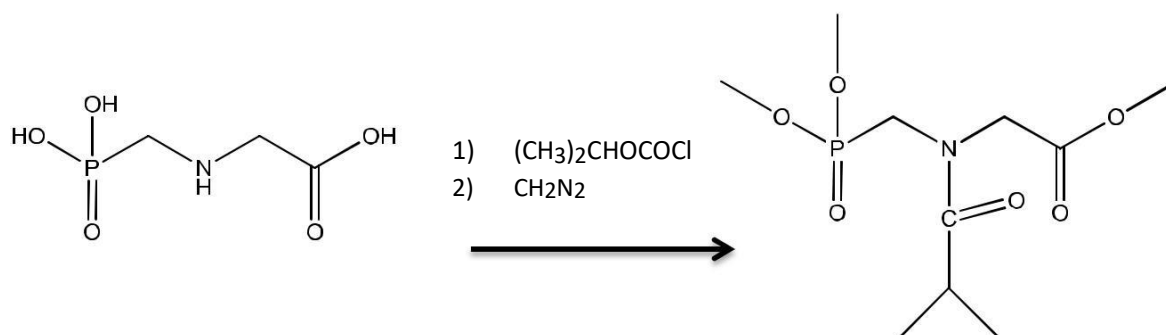
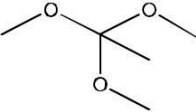
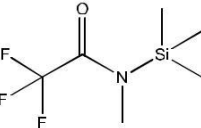


Figura 9. Reacción de derivatización de glifosato con isopropilcloroformiato y diazometano

En la Tabla 2 se muestran más agentes derivatizantes utilizados para la determinación de glifosato mediante GC. Aunque estas metodologías para GC tienen límites de detección del orden de  $\text{ng L}^{-1}$ , los detectores utilizados como el de nitrógeno-fósforo o el espectrómetro de masas/masas son de alto costo y los procedimientos son largos y tediosos.

Tabla 2. Agentes de derivatizantes de glifosato para GC

Agente derivatizante	Columna y detector	Límite de detección	Matrices analizadas	Referencia
Trimetil ortoacetato (TMOA) 	Difenil polisiloxano Fotométrico de llama	0.02 mg Kg <sup>-1</sup>	Arroz Soya	[29]
N-metil-N-(trimetilsilil) trifluoroacetamida (MSTFA) 	Polisilfenileno siloxano Espectrómetro de masas	1.4 ng	Herbicidas comerciales	[30]

HPLC es otra técnica cromatográfica que permite la separación de moléculas en una mezcla. En esta modalidad, la fase móvil que acarrea a los analitos a través de una columna es un líquido o mezcla de líquidos. La fase estacionaria típica comprende una columna empacada con partículas de tamaños de 3 A 10  $\mu\text{m}$ . La muestra se inyecta en la fase móvil para ser transportada a través de la columna, donde las moléculas de interés interactúan con la fase estacionaria contenida en la columna y posteriormente se eluyen a diferentes tiempos debido a la interacción con la fase. Los sistemas de detección convencionales en HPLC son el UV-Vis, índice de refracción, fluorescencia y espectrometría de masas [21].

Existe una gran variedad de modalidades de esta técnica, por lo que se han clasificado debido a la naturaleza de las fases móviles y estacionarias utilizadas, así como en el tipo de interacciones que existen en la separación. A continuación en la Tabla 3 se mencionan las técnicas de mayor uso [31].

Tabla 3. Modalidades de HPLC más empleadas

Modalidad	Fase móvil	Fase estacionaria	Características
Fase normal	No polar (ej. Hexano o CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	Polar	Los analitos menos polares eluyen primero y los de mayor polaridad al final
Fase inversa	Polar, las mezclas contienen un solvente orgánico (acetonitrilo, etanol, isopropanol) y agua	No polar (ej. octadecilsilano)	Las interacciones involucradas se consideran hidrofóbicas
Cromatografía iónica	Soluciones amortiguadoras	Resina de intercambio iónico	Retención basada en la atracción entre los iones de los analitos y las cargas opuestas de la fase estacionaria por interacciones coulombicas.
Cromatografía de filtración en gel	Solución acuosa	Columna llena de un gel poroso	La separación se lleva por tamaño de partícula.

Generalmente la selección de la modalidad empleada se basa en el analito de interés, sin embargo en ocasiones la naturaleza de los analitos no permite su detección por lo que se requiere de un proceso de derivatización. En HPLC la derivatización permite modificar la polaridad de la molécula mediante una reacción química para mejorar la separación, asimismo permite obtener un compuesto cromóforo o fluoróforo para su detección UV-Vis o fluorescencia, respectivamente [25]. Como se mencionó previamente, las características del glifosato como su alta polaridad y la ausencia de grupos cromóforos no permiten emplear estos detectores en HPLC por lo que es necesaria una derivatización previa.

Uno de los agentes de derivatización propuestos es el 4-cloro-3-5-dinitrobenzotrifloruro: este agente permite la sustitución del cloro presente en la molécula por el grupo amino del glifosato formando un 2, 6-dinitro-4-trifluprometil-benzamina (Fig. 10).

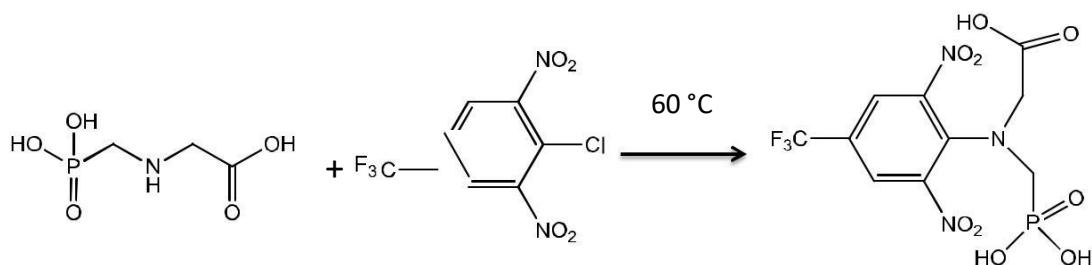


Figura 10. Reacción de derivatización del glifosato con 4-cloro-3-5-dinitrobenzotrifloruro.

El compuesto sintetizado es separado en una columna que contiene como fase estacionaria octadecilsiloxano (C18), como fase móvil fue utilizado acetonitrilo y solución de fosfatos 50 mM a pH=2.5 y la detección se realiza a 360 nm. Bajo estas condiciones de análisis es posible alcanzar límites de detección de  $0.009 \text{ mg L}^{-1}$  y la metodología ha sido aplicada para muestras de agua ambiental [32].

La detección por fluorescencia permite el desarrollo de técnicas con mayor sensibilidad y mejores límites de detección, por lo que agentes como el 9-fluoronilmetil clorofomato (FMOC-Cl) han sido empleados para conferirle fluorescencia a la molécula de glifosato. La reacción se basa en la sustitución del cloro de la molécula de FMOC-Cl por el grupo amino presente en el glifosato generando un compuesto fluoróforo (Fig.11).

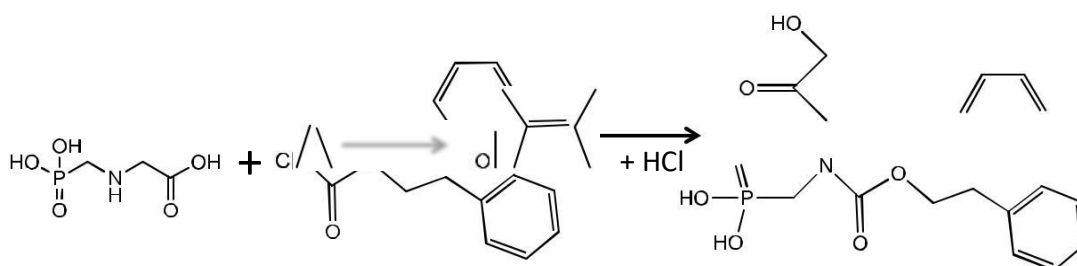


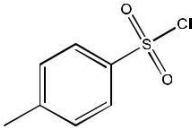

Figura 11. Reacción de derivatización del glifosato con FMOC-Cl

Las separación se lleva a cabo en gradiente en una columna amino, como primera fase estacionaria es utilizada una mezcla de acetonitrilo/fosfato de sodio 50 mM (55:45) a pH 10 y como segunda fase acetonitrilo/agua (60:40) y las longitudes de onda de excitación y emisión seleccionada para la detección de este analito son 266 y 315, respectivamente. Bajo estas condiciones se obtienen límites de detección de  $0.03 \text{ mg kg}^{-1}$  y la metodología ha sido aplicada para muestras de trigo y arroz. Sin embargo, debido a que este agente es muy reactivo es necesario el pretratamiento de la muestra mediante extracción en fase sólida empleando



cartuchos C18 para la remoción de interferentes [33]. Algunos otros agentes derivatizantes de glifosato para en el análisis por HPLC en modalidad precolumna se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Agentes derivatizantes de glifosato para HPLC-UV

Agente derivatizante	Fase móvil/ Fase estacionaria	Muestras analizadas	Límites de detección	Referencia
Cloruro de p-toluenosulfonilo (TsCl) 	Ácido fosfórico 0.2 M/ ACN (45:55) Octadecilsiloxano	Estándares de glifosato	$40 \mu\text{g mL}^{-1}$	[34]
1,2-naftoquinona-4-sulfonato 	Ácido acético 1%/ ACN (40:60) Octadecilsiloxano	Suelos	$0.064 \text{ mg kg}^{-1}$	[35]

La cromatografía de líquidos de alta resolución permite la derivatización post-columna. En esta modalidad la derivatización se lleva a cabo después de la separación del analito y previo a su llegada al detector. El análisis de glifosato en sistemas post-columna requiere el uso de columnas de intercambio aniónico para la separación, la derivatización con *o*-ftaldehído-mercaptoetanol e hipoclorito de calcio alcanza un límite de detección de  $2 \mu\text{g L}^{-1}$  en muestras de agua ambiental empleando un detector de fluorescencia. Las reacciones que tienen lugar se presentan en la Figura 12 [36].

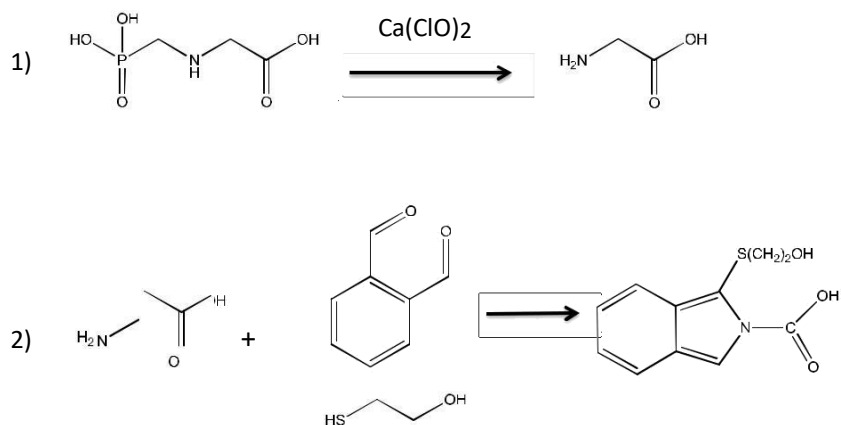


Figura 12. Reacción de derivatización de glifosato con OPA

Otra estrategia de análisis es la detección indirecta, donde un compuesto que absorbe (o emite) energía y fluye de forma constante a través del detector. Cuando el analito eluye de la columna se mezcla con el compuesto cromóforo (o fluoróforo) producido un abatimiento de la señal analítica cuya magnitud es proporcional a la concentración del compuesto de interés. Este concepto se ha aplicado empleando un complejo fluorescente (Al (III) - Morin) que interactúa con el glifosato eluido de un sistema de cromatografía iónica. El límite de detección alcanzado es de 14 ng y no fue aplicado a muestras reales [37].

Aunque con las técnicas cromatográficas se obtienen buenos límites de detección estas presentan algunas desventajas como alto consumo de reactivos, requieren derivatizaciones previas y largos tiempos de análisis, por lo que es necesario implementar técnicas más rápidas lo cual se puede conseguir incorporando las nanopartículas de CdTe/CdS a los sistemas de análisis.

### 1.5 Integración de nanopartículas de materiales semiconductores en sistemas de detección.

En análisis instrumental, el diseño de una metodología analítica requiere de una planificación de la modalidad de detección. De forma general existen detecciones en discontinuo y continuo; en el primer caso, la muestra tratada (dilución, mezcla con reactivos, calentamiento, etc) se coloca de forma estática para realizar la medición puntual dependiendo de la técnica de detección. Respecto a el análisis en continuo, la muestra se transporta al detector mediante la incorporación a un fluido; en algunos casos durante el transporte se lleva a cabo una reacción para conferir al analito de interés propiedades adecuadas para su medición [38].

Los sistemas en continuo se subclasifican en técnicas cromatográficas y no cromatográficas: las cromatográficas son aquellas que utilizan una columna que contiene una fase estacionaria que

permite la separación de analitos, dentro de esta clasificación se encuentra la cromatografía de líquidos y la cromatografía de gases. Las técnicas no cromatográficas tienen un funcionamiento esquemático análogo a las separaciones cromatográficas aunque el fundamento del proceso separativo es diferente, incluyen a los métodos de análisis en flujo en todas sus modalidades y la electroforesis capilar [39].

Las nanopartículas de materiales semiconductores han sido empleadas en el diseño metodologías en discontinuo y en continuo. A continuación se hace un breve resumen de diversas aplicaciones.

Las nanopartículas de CdTe estabilizadas por grupos tiol, han sido empleadas para la determinación de diversos analitos en sistemas en discontinuo, principalmente basadas en el abatimiento de la señal de fluorescencia. Generalmente se construyen sistemas que contienen un volumen fijo de nanopartículas mezcladas con diferentes concentraciones de analito y en algunas ocasiones se adiciona solución amortiguadora. La disminución de la señal analítica se relaciona con la concentración de la molécula de interés, por lo que con los valores de intensidad de emisión es posible cuantificarlo [16]. En la Tabla 5 se muestran algunos analitos que han sido determinados en sistemas en discontinuo empleando nanopartículas de CdTe.

Tabla 5. Analitos determinados en sistemas en discontinuo empleando nanopartículas de materiales semiconductores

Analito	Longitud de onda de excitación y emisión de CdTe (nm)	Límite de detección	Muestra	Referencia
Pb <sup>2+</sup>	325 / 590	218 nmol L <sup>-1</sup>	Espinacas Hojas de cítricos	[40]
Ag <sup>+</sup>	400 / 640	8.3 nmol L <sup>-1</sup>	Agua potable	[41]
Cu <sup>2+</sup>	400 / 593	0.67 µg L <sup>-1</sup>	Biodiesel	[42]
Hg <sup>2+</sup>	400 / 540	3.33 nmol L <sup>-1</sup>	Muestras fisiológicas	[43]
Vitamina B6	325 / 550	0.15 mg L <sup>-1</sup>	Muestras biológicas	[44]
Paratión	380 / 668	18 µg L <sup>-1</sup>	Agua de riego	[45]

El uso de nanopartículas de tipo núcleo/coraza en sistemas en discontinuo es menos común, sin embargo las características que presentan como alta estabilidad, altos rendimientos cuánticos y mayores intensidades de emisión permiten desarrollar técnicas más sensibles y por ende con mejores límites de detección. Se ha descrito el uso de nanopartículas de CdS/ZnS para la determinación de vitamina B6 en muestras farmacéuticas encontrándose un límite de detección

de  $0.015 \text{ mg L}^{-1}$  [46]. Al ser empleadas nanopartículas de tipo núcleo/coraza se obtuvieron límites de detección 10 veces menores para la vitamina B6 en comparación al uso de las nanopartículas de tipo núcleo por lo que su uso es promisorio.

En cuanto al analito de interés, en la bibliografía solo se ha descrito el uso de glifosato para funcionalizar la superficie de nanopartículas de CdTe/CdS para la determinación de  $\text{Cu}^{2+}$  [47].

La integración de las nanopartículas a sistemas en continuo, ha incrementado en años recientes debido a que es posible desarrollar metodologías de análisis sensibles, esto como resultado de las propiedades fotolumiscentes de las nanopartículas, y a su estabilidad química en medio acuoso, lo que permite su incorporación como reactivo en alguna de las etapas del análisis [15].

Las características fisicoquímicas de las nanopartículas no permiten su integración en GC por lo que la única técnica cromatografía a la que puede ser incorporadas es a HPLC. Para la cromatografía de líquidos se ha descrito la separación de nanopartículas de carbono mediante una columna de octadecilsiloxano y fases móviles en gradiente, sin embargo no existen estudios previos de la integración de nanopartículas de materiales semiconductores en el sistema de HPLC que permitan la detección de analitos [48].

La integración de las nanopartículas de materiales semiconductores es más frecuente dentro de las técnicas no cromatográficas. La versatilidad del análisis en flujo permite que sea posible incorporar las nanopartículas como reactivo en la solución acarreadora o en la muestra en las diferentes modalidades de la técnica, principalmente análisis por inyección secuencial (SIA) y análisis en flujo multiconmutado (MCFIA) [49]. Diferentes analitos han podido determinarse aplicando estas técnicas, algunos de ellos se muestran en la Tabla 6. Debe destacarse que las muestra analizadas son en su mayoría formulaciones farmacéuticas, que son matrices analíticas relativamente sencillas.

Tabla 6. Integración de nanopartículas de materiales semiconductores en sistemas de análisis en flujo.

Analito	$\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ (nm)	Modalidad	Flujo ( $\text{mL min}^{-1}$ )	Muestra	Límite de detección	Referencia
Ácido ascórbico	285 / 628	MCFIA	2.1	Formulaciones farmacéuticas	$4 \mu\text{g L}^{-1}$	[50]
Quinolonas	310 / 588	MCFIA	2.4	Formulaciones farmacéuticas	$39 \mu\text{mol L}^{-1}$	[51]
Rifampicin	340 / 637	MCFIA	2.3	Formulaciones farmacéuticas Orina humana	$1.5 \mu\text{g mL}^{-1}$	[52]

$\beta$ -Caroteno	353 / 617	MCFIA	2.8	Jugos de fruta	$0.09 \mu\text{g mL}^{-1}$	[53]
Quinolonas	310 / 588	SIA	6	Formulaciones farmacéuticas	$45 \mu\text{mol L}^{-1}$	[51]

En la mayoría de las metodologías de flujo propuestas, se describen sistemas de baja o media dispersión (debido a las longitudes del canal no mayores a 100 cm, diámetros de 0.8 mm en todos los casos y caudales de medios a altos). Esto permite que exista una menor dilución de la muestra lo que se traduce en una mejores señales en términos del ancho y altura.

Para el análisis de glifosato, se ha descrito la incorporación de nanopartículas de CdTe en un sistema MCFIA de baja dispersión (Fig. 13) para su determinación en muestras de agua y cereales. el sistema propuesto utiliza tres válvulas solenoides que permiten la incorporación de agua desionizada como solución acarreadora, glifosato ( $1.7\text{-}15 \text{ mg L}^{-1}$ ) y nanopartículas de CdTe ( $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) como reactivo. Inicialmente existe un flujo constante de la solución acarreadora ( $2.5 \text{ mL min}^{-1}$ ), posteriormente se activan las válvulas solenoides por 15 segundos para incorporar en forma simultánea, la solución de glifosato y las nanopartículas de CdTe. Ambas soluciones se mezclan en el cofluyente y llegan al detector en el que se mide la señal de emisión a los 548 nm (longitud de onda de excitación 400 nm). Bajo estas condiciones se obtiene un límite de detección de  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  [54].

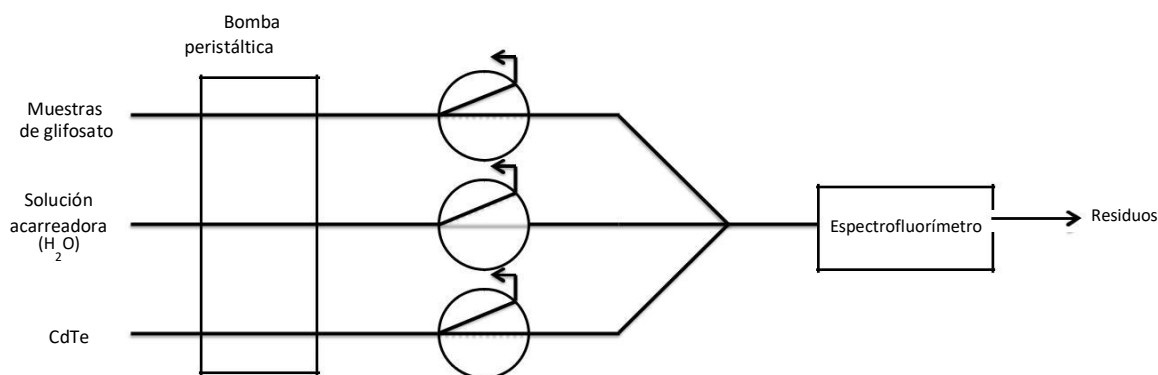


Figura 13. Sistema MCFIA para la determinación de glifosato

Electroforesis capilar es una técnica de separación que se basa en la movilidad de moléculas cargadas (iones) bajo la influencia de un campo eléctrico en función de su velocidad de migración hacia el ánodo o el cátodo dependiente de su carga y/o tamaño. La incorporación de las nanopartículas a esta técnica de análisis se basa en que presentan carga y tienen

propiedades fluorescentes adecuadas para su detección empleando fluorescencia inducida por láser (LIF). Existen pocas metodologías en la que se integran nanopartículas de materiales semiconductores en electroforesis capilar. Chen y colaboradores (2011) determinaron acrilamida tras la incorporación de nanopartículas de CdTe estabilizadas por ácido mercaptopropiónico a la muestra. Se emplearon las siguientes condiciones de trabajo en electroforesis capilar: solución de fosfato 40 mM (pH = 8.0) como electrolito de trabajo, 18 kV de voltaje y detector LIF (Longitud de onda de excitación 473 nm y emisión 568). Los electroferogramas obtenidos muestran que la presencia de acrilamida abate la señal de fluorescencia de las nanopartículas, esta metodología ha sido aplicada en muestras de papas horneadas encontrándose un límite de detección de  $0.1 \text{ mg kg}^{-1}$  [55].

Hasta la fecha, no ha sido propuesta una metodología en la que se integren nanopartículas de materiales semiconductores en electroforesis capilar para la determinación de glifosato, sin embargo, se ha descrito la inmovilización de nanopartículas de CdTe/CdS estabilizadas por ácido mercaptopropiónico en la ventana del detector para la determinación de pesticidas organofosforados. Esta técnica se fundamenta en la formación de aductos fluorescentes, resultado de la interacción entre pesticidas y nanopartículas inmovilizadas en el capilar. Esta modalidad fue empleada en la determinación de mevinfós (LOD:  $0.16 \text{ mg kg}^{-1}$ ), metidatió (LOD:  $0.05 \text{ mg kg}^{-1}$ ), diazinón (LOD:  $0.18 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y fosalón ( $0.12 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en vegetales. Cabe resaltar que como resultado de la integración a sistemas de separación, se logró analizar muestras complejas [56].

Como se ha descrito, el uso de nanopartículas de materiales semiconductores es muy amplio en sistemas en continuo gracias a sus propiedades fisicoquímicas y luminiscentes. En el presente trabajo se evalúa la integración de nanopartículas de CdTe/CdS en diferentes sistemas en continuo para la determinación de glifosato en muestras de suelo.

## ***Objetivos***

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo general**

Diseñar una metodología analítica para la determinación de glifosato en muestras de suelo mediante la incorporación de nanopartículas de materiales semiconductores.

### **2.2 Objetivos específicos**

Sintetizar y caracterizar nanopartículas estables de materiales semiconductores de CdTe/CdS.

Evaluar el comportamiento espectroscópico de las nanopartículas sintetizadas en presencia de diferentes concentraciones de glifosato.

Integrar las nanopartículas de CdTe/CdS a sistemas de separación instrumental aplicados al análisis de glifosato.

Validar una metodología de separación para el análisis de glifosato en muestras de suelo siguiendo el protocolo establecido por normativas internacionales.



## ***Metodología***

### 3. Metodología

#### 3.1 Reactivos, soluciones y equipos.

Todas las soluciones se prepararon agua con resistividad no menor a 18 M $\Omega$  cm, obtenida de un sistema Milli-Q academic (Millipore). Para la síntesis de de las nanopartículas se emplea CdCl<sub>2</sub> (Sigma Aldrich  $\geq$  99.0%), ácido 3-mercaptopropiónico (Sigma Aldrich  $\geq$  99.0), telurio en polvo (Sigma Aldrich 99.8%), NaBH<sub>4</sub> (Johnson Matthey) y tiourea (Sigma Aldrich  $\geq$  99.0%). Los estándares de glifosato fueron preparados con N-(fosfonometil)-glicina (Sigma Aldrich). Las fases móviles utilizadas en HPLC fueron preparadas empleando acetronitrilo (J. T. Baker al 99.98 %), metanol (Sigma Aldrich  $\geq$  99.9%) y ácido acético al 1% (J. T. Baker al 100%). Las soluciones amortiguadoras empleadas en los sistemas en flujo y electroforesis capilar se preparan a partir de fosfato de sodio dodecahidratado (Sigma Aldrich  $\geq$  98%) y de tetraborato de sodio decahidratado (J. T. Baker, 100%).

El pH de las soluciones se ajusta con NaOH 0.1 M (Sigma Aldrich  $\geq$  97.0%) y HCl 0.1M (J. T. Baker al 38.0%).

#### 3.2 Preparación de muestras de suelo

Se analizaron 7 muestras de suelo obtenidas de campos de cultivo de Hidalgo, México, para ello se pesan 0.1 g de suelo en tubos de centrifuga de polipropileno y se adicionan 4 mL de agua desionizada, posteriormente la mezcla se agita mecánicamente durante 1 hora, se centrifuga a 3200 rpm durante 15 minutos y se reserva la fase líquida para su análisis.

#### 3.3 Síntesis de nanopartículas de CdTe/CdS por reacción hidrotérmica

La síntesis de las nanopartículas de CdTe/CdS se lleva a cabo en tres etapas: en la primera se pesan 50.8 mg (0.4 mmoles) de telurio en polvo y 37.8 mg (1 mmol) de NaBH<sub>4</sub> en un matraz balón de 2 bocas. Posteriormente se adicionan 10 mL de agua desionizada y se colocan a reflujo hasta que la solución adquiera un color vino, lo cual se consigue tras 10 minutos de reacción, indicativo de la formación de NaHTe.

En la segunda etapa, se pesan 36.6 mg de CdCl<sub>2</sub> (0.2 mmoles), 42.5 mg de ácido mercaptopropiónico (0.4 mmoles) y se adicionan 40 mL de agua desionizada ajustando el pH de la solución a un valor de 10.0 con NaOH 0.1 M. Posteriormente se le adicionan 2 mL de la solución de NaHTe y la reacción se coloca a reflujo hasta que la coloración se torne naranja, la cual se alcanza a los 2 minutos indicando la formación de CdTe.

En la última etapa, se adicionan 6 mg de tiourea (0.08 mmoles) como fuente de azufre y se mantiene en reflujo, tomando alícuotas de 2.0 mL tras 30, 60, 120 y 240 minutos de reacción.

### 3.4 Caracterización de nanopartículas sintetizadas

Para determinar la evolución de tamaño de partícula respecto al tiempo de reacción, se toman 2 mL de CdTe/CdS sintetizados a diferentes tiempos de reacción en una celda de cuarzo y se mide el movimiento browniano de la dispersión en un equipo Malvern Zetasizer Nano-ZS90, registrando el tamaño de partícula promedio tras estabilizarse la medición.

La evolución de la reacción fue evaluada por espectrofotometría UV-Vis en un equipo Perkin Elmer Lambda 40, en un intervalo de 400 a 800 nm empleando celdas de cuarzo con un paso óptico de 1.0 cm.

Los espectros de emisión se obtienen en un equipo de fluorescencia Perkin Elmer LS 55. Para ello las muestras fueron diluidas 20 veces con agua desionizada previamente a su análisis. La longitud de onda de excitación empleada fue de 400 nm y se registró el espectro de emisión en el intervalo de 420 a 700 nm.

El rendimiento cuántico se determina en un equipo Quantaaurus-QY C11347-11 a 400 nm, tras la dilución de 100  $\mu\text{L}$  de nanopartículas sintetizadas a diferentes tiempos de reacción en 1.5 mL de agua desionizada. Tras la medición de un blanco en la celda de cuarzo se realiza la medición espectroscópica de las CdTe/CdS sintetizadas por triplicado.

La concentración de nanopartículas sintetizadas a 120 minutos se obtiene liofilizando fracciones de 5 mL de la dispersión por 72 horas y determinado la masa del polvo obtenido.

### 3.5 Evaluación espectroscópica de sistemas Glifosato-CdTe/CdS en discontinuo

Los espectros de absorción de los sistemas nanopartícula-analito se obtienen en un intervalo de 400 a 800 nm en un equipo Perkin Elmer lambda 40, los sistemas evaluados se componen de 200  $\mu\text{L}$  de la dispersión de CdTe/CdS sintetizadas a los diferentes tiempos de reacción (15, 30, 60, 120 y 240 minutos) y glifosato ( $0 - 5000 \text{ mg kg}^{-1}$ ) aforando a 10.0 mL con agua desionizada.

De igual forma se realiza la evaluación de los cambios en el espectro de fluorescencia de las nanopartículas de CdTe/CdS sintetizadas ( $97.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ) en ausencia y presencia de glifosato ( $0 - 5000 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Para el análisis se selecciona una longitud de onda de excitación de 400 nm y se registra la emisión en un intervalo de 400 a 800 nm en un espectrofluorímetro Perkin Elmer LS 55.

Para la determinación de glifosato en muestras de suelo se realiza el siguiente procedimiento: 800  $\mu\text{L}$  del extracto acuoso centrifugado y 500  $\mu\text{L}$  de CdTe/CdS ( $1950 \mu\text{g L}^{-1}$ ) se aforan a 10.0 mL. La mezcla reacciona durante 10 minutos en agitación y posteriormente se registra el espectro de emisión de 420 a 700 nm (excitando de 400 nm) en una celda de cuarzo. La cuantificación se realiza mediante interpolación en la curva de calibrado.

### 3.6 Integración de CdTe/CdS en sistemas en continuo para la determinación de glifosato

#### 3.6.1 Análisis por inyección en flujo (FIA)

Una vez evaluadas las interacciones que existen en un sistema en discontinuo, se integran nanopartículas de CdTe/CdS, en un sistema FIA de baja dispersión (Fig. 14) que consta de una bomba peristáltica de velocidad programable (BP,  $0.5 \text{ ml min}^{-1}$ ), una válvula de inyección (VI,  $25 \mu\text{L}$ ), un reactor (R, 50 cm) acoplado a un detector de fluorescencia (D,  $\lambda_{\text{exc}}=400 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=570\text{nm}$ ). Las nanopartículas de CdTe/CdS fueron incorporadas en dos sistemas independientes donde se añadieron en la solución acarreadora (SA) o en la muestra (M).

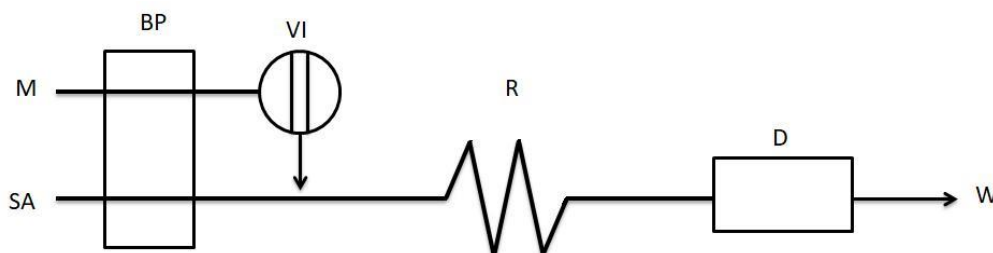


Figura 14. Diagrama de sistema de análisis por inyección en flujo para la determinación de glifosato por fluorescencia. (BP: bomba peristáltica, D: detector, M: muestra, R: reactor, SA: solución acarreadora, VI: válvula de inyección, W: residuos)

En el primer sistema (FIA 1), se realiza una detección indirecta, en la que la solución acarreadora (SA) consta de nanopartículas de CdTe/CdS ( $97.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y una solución tampón de boratos (30 mM, pH 10.0), las diferentes soluciones estándar de glifosato ( $0-500 \text{ mg kg}^{-1}$ ) se inyectan en la solución acarreadora para su transporte y detección en continuo.

En la segunda modalidad (FIA 2), la solución acarreadora está compuesta únicamente de solución tampón de boratos (30 mM, pH= 10.0) y los estándares constan de una mezcla de nanopartículas de CdTe/CdS ( $97.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y glifosato a diferentes concentraciones ( $0 - 800 \text{ mg kg}^{-1}$ ) preparadas 10 minutos previo al análisis, dichas soluciones se inyectan y analizan en el sistema FIA propuesto. El análisis de glifosato en las muestras de suelos se realiza empleando el segundo sistema propuesto, las muestras analizadas se obtienen mezclando  $800 \mu\text{L}$  del extracto acuoso centrifugado,  $100 \mu\text{L}$  de CdTe/CdS ( $1950 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y  $1.1 \text{ mL}$  de agua desionizada. Tras 10 minutos de reacción la mezcla se inyecta en el sistema FIA. En todos los casos la inyección se realiza por triplicado.

### 3.6.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución

Los análisis por HPLC se realizan en un equipo Agilent Infinity 1260 con un detector de fluorescencia empleando longitudes de excitación y emisión de 400 y 570 nm, respectivamente. Se evaluaron dos modalidades de separación diferentes, la primera mediante cromatografía iónica en una columna Zorbax NH<sub>2</sub> (4.6 × 150 mm, 5 μm. Agilent WI, USA) [15] y posteriormente en fase inversa empleando una columna Zorbax Eclipse Plus C<sub>18</sub> (4.6 × 150 mm, 5 μm, Agilent WI, USA). El caudal de trabajo fue de 0.5 mL min<sup>-1</sup> en todos los casos, la composición de la fase móvil y las modalidades de incorporación de nanopartículas de CdTe/CdS se presentan en la Tabla 7.

El volumen de inyección de estándares y muestras en el equipo es de 25 μL. Los estándares se componen de 100 μL de CdTe/CdS en ausencia y presencia de glifosato a diferentes concentraciones (0-800 mg kg<sup>-1</sup>) en un volumen final de 2 mL, las muestras a inyectar contienen 800 μL de extracto acuso centrifugado y 100 μL de CdTe/CdS en un volumen final de 10.0 mL.

Tabla 7. Sistemas de separación propuestos para el análisis de glifosato mediante HPLC

Sistema	Fase estacionaria	Fase móvil
1	-NH <sub>2</sub>	ACN:AcOH 1% (1:1)
2	-NH <sub>2</sub>	MeOH:AcOH 1% (1:1)
3	-C <sub>18</sub>	ACN:Agua (1:1)

De los sistemas cromatográficos descritos se seleccionó el sistema HPLC en fase inversa para la cuantificación de glifosato en suelos. La cuantificación se realiza por interpolación en la curva de calibrado de la señal de emisión obtenida a los 2.3 minutos.

### 3.6.3 Electroforesis capilar de zona

Como última técnica de determinación de glifosato se propone electroforesis capilar de zona, está se realiza en un equipo Beckman Coulter PA 800 plus con un detector de fluorescencia inducida por láser (LIF) y la separación se efectúa en un capilar de sílice fundida (30 cm x 75 μm). Previo al análisis, el capilar se activa haciéndole fluir (20 psi) durante periodos independientes de 10 minutos las siguiente soluciones: NaOH 1 M, NaOH 0.1 M, agua desionizada y solución amortiguadora de boratos (20 mM, pH 10.0). El capilar es lavado entre muestras haciendo pasar durante 2 min la secuencia de soluciones mencionadas anteriormente.

Los estándares constan de una mezcla de CdTe/CdS (97.5  $\mu\text{L}$ ) y diferentes concentraciones de glifosato (0-800  $\text{mg kg}^{-1}$ ) en un volumen final de 2 mL, mientras que las muestras a analizar contienen 800  $\mu\text{L}$  de extracto acuoso de suelo y 100  $\mu\text{L}$  de CdTe/CdS en un volumen de 2 mL; tanto estándares como muestras son inyectadas al capilar por presión (0.5 psi, 5 segundos) para posteriormente realizar la separación en polaridad positiva aplicando un voltaje de 15 kV durante 10 min. La señal analítica se registra empleando una  $\lambda_{\text{ex}}$  de 488 nm y una  $\lambda_{\text{em}}$  de 570 nm.

### 3.7 Obtención de parámetros de desempeño de las metodologías propuestas

Se obtuvieron los parámetros de desempeño analítico de las metodologías propuestas para la determinación de glifosato en muestras de suelo, estas comprenden: la sensibilidad analítica, ordenada al origen, límites de detección y cuantificación, intervalo lineal, precisión y exactitud. Dichos parámetros fueron establecidos empleando la metodología propuesta por la IUPAC [57].

La sensibilidad analítica se define como la variación de la respuesta del instrumento a un cambio en la concentración del analito, esta es igual a la pendiente obtenida en la regresión lineal entre señal y concentración de analito. La ordenada al origen es el segundo parámetro de la regresión, este permite conocer si existe o no efecto matriz de la muestra analizada, cuando el valor obtenido incluye a cero denota ausencia de interferencia en la señal analítica.

El límite de detección es la concentración mínima de analito detectada en la metodología de análisis, mientras que límite de cuantificación se define como la concentración mínima que puede ser determinada. Ambos valores están definidos por la IUPAC como:

$$\text{LOD} = \frac{3.29 S_e}{\text{Sensibilidad analítica}} \quad \text{LOQ} = \frac{10 S_e}{\text{Sensibilidad analítica}}$$

donde  $S_e$  es la desviación estándar de ajuste

El intervalo lineal de trabajo describe las concentraciones en que es posible la cuantificación del analito y comprende desde el LOQ hasta la concentración máxima de analito que muestre tendencia en la regresión.

La precisión expresa el grado de concordancia entre resultados individuales cuando el método se aplica repetidamente a una muestra homogénea, es decir mide la dispersión de los resultados entorno al valor promedio, sin embargo esto no significa que el valor sea verdadero. La precisión de un método incluye los términos de repetitividad y reproducibilidad, el primero se basa en el análisis de una muestra en las mejores condiciones posibles (mismo día, mismo analista) y la reproducibilidad se basa en la medición en circunstancias desfavorables (días diferentes, diferente analista). Los resultados se obtienen en términos de desviación estándar relativa (%DER) de las concentraciones obtenidas.

La exactitud de un método analítico es la cercanía de los resultados experimentales obtenidos por dicho método a uno aceptado como verdadero y se expresa como porcentaje de error. Existen tres procedimientos con los cuales se puede obtener la exactitud de un sistema: análisis de una muestra certificada, comparación con una técnica de referencia establecida y la obtención de porcentajes de recuperación en muestras dopadas con el analito de interés.

## ***Resultados y discusión***



## 4 Resultados y discusión

### 4.1 Caracterización espectroscópica de nanopartículas de CdTe/CdS sintetizadas

El análisis de tamaño de las nanopartículas de CdTe/CdS sintetizadas a diferentes tiempos de reacción se muestra en la Figura 15 y los resultados obtenidos son: 5.4 nm: 15 min, 8.0 nm: 30 min, 9.7 nm: 60 min, 13.5 nm: 120 min, 14.1 nm, 240 min. En las distribuciones se observa el incremento de tamaño a mayores tiempos de reacción, esto se atribuye a un mecanismo de maduración de Ostwald mediado por la temperatura, esto se lleva en 2 etapas, la primera es la nucleación o formación del núcleo de CdTe la cual es rápida, seguido de la coalescencia o crecimiento de partícula la cual es lenta [14].

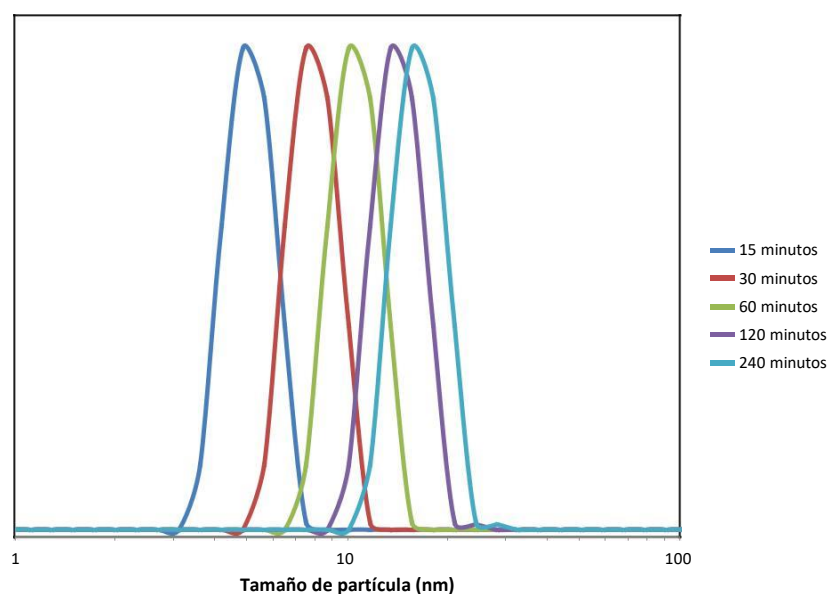
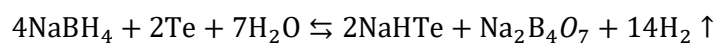


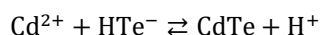
Figura 15. Distribución de tamaños de nanopartículas de CdTe/CdS

Se ha descrito en la bibliografía que el mecanismo de síntesis involucra la formación de un núcleo de CdTe y posteriormente de la coraza de CdS. La coraza de CdS es obtenida como consecuencia de la descomposición de la tiourea en iones  $S^{2-}$  que reaccionan con el  $Cd^{2+}$  añadido en exceso a una temperatura mayor a  $80^{\circ}C$  [58].

En la primera etapa de reacción se obtiene el precursor (NaHTe) tras la reducción del  $Te^0$  por  $NaBH_4$  bajo la siguiente reacción:



Posteriormente la adición de NaHTe a la solución que contiene  $\text{Cd}^{2+}$  y ácido mercaptopropiónico genera la formación del núcleo de CdTe tras 2 minutos de reacción:



En la última etapa de síntesis, la tiourea a altas temperaturas se degrada y da lugar a la formación de iones sulfuro, por lo que en la última etapa los iones generados reaccionan con el exceso de iones  $\text{Cd}^{2+}$  para generar CdS el cual se agrega lentamente sobre la nanopartícula de CdTe [59] (Fig. 16).

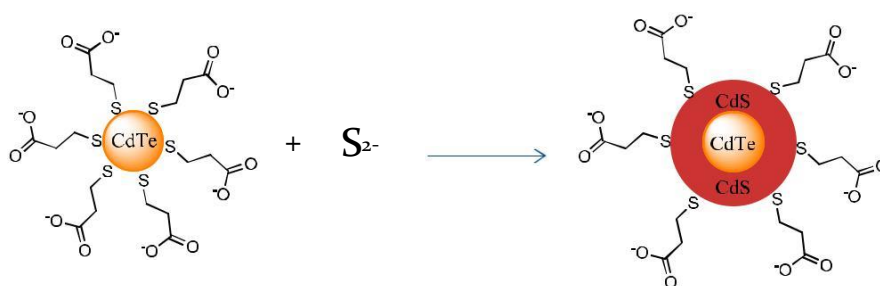


Figura 16. Esquema de síntesis de CdTe/CdS QDs.

Se obtuvieron 9.75 mg de polvo de nanopartículas en 5 mL de muestra lo que corresponde a una concentración de  $1.95 \text{ mg L}^{-1}$ .

Los espectros de absorción (Fig. 17.a) muestran un efecto batocrómico de las partículas de CdTe/CdS respecto al tiempo de reacción. De manera visual, se percibe un cambio en la coloración de la solución de naranja a rojo. Dicho cambio se asocia al crecimiento de las partículas. Los espectros de emisión obtenidos (Fig. 17.b), muestran efectos batocrómicos e hipercrómicos respecto al tiempo. El incremento de la señal se asocia a la formación de capa de externa de CdS sobre CdTe, lo que permite una mejora en el rendimiento cuántico (QY, relación entre fotones emitidos y absorbidos) que permiten mejores transiciones electrónicas en términos de emisión. De igual manera la coraza de CdS le permite a la nanopartícula una mayor estabilidad lo que evita la fotooxidación y degradación de la nanopartícula [13].

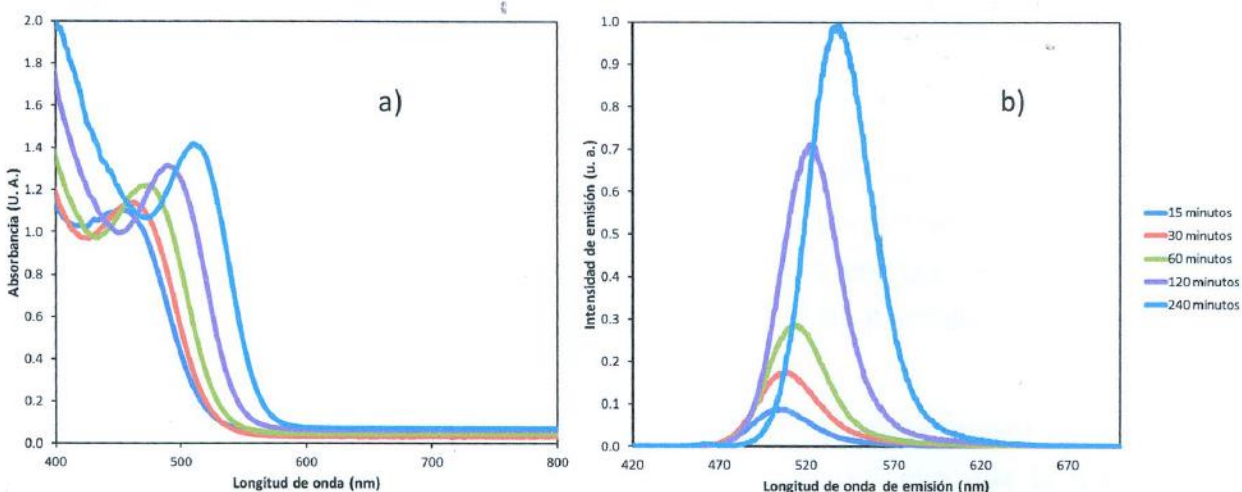


Figura 17. Espectros (a) UV-Vis y (b) de emisión de CdTe/CdS sintetizadas a diferentes tiempos de reacción

De los parámetros mencionados se evalúa su correlación de Pearson, encontrándose que los coeficientes obtenidos (Tabla 8) son mayores al  $r_{critico}$  (0.805,  $n=3$ ,  $\alpha=0.05$ ). Los coeficientes de correlación entre variables se obtienen a partir de la siguiente expresión:

$$r_{X,Y} = \frac{\sigma_{XY}}{\sigma_X * \sigma_Y}$$

los resultados obtenidos indican que existe una relación entre los parámetros evaluados, por lo que es posible predecir las propiedades espectroscópicas de los CdTe/CdS controlando el tiempo de reacción en la etapa de coalescencia. Los resultados obtenidos son congruentes con lo descrito por Boatman y colaboradores (2006) [60] para nanocristales de CdSe en los que hay un incremento lineal de la longitud de onda de absorción y emisión de estos compuestos respecto al tiempo de reacción.

Tabla 8. Coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) entre variables evaluadas.

	Tiempo de reacción (minutos)	Tamaño de nanopartícula (nm)	Longitud máxima de absorción (nm)
Tamaño de nanopartícula (nm)	0.886	-	-
Longitud máxima de absorción (nm)	0.947	0.965	-
Longitud máxima de emisión (nm)	0.990	0.934	0.964

Los QYs de las nanopartículas se muestran en la Tabla 9. Se observa que a partir de los 120 minutos de reacción no existe un aumento en el valor de QY. Los valores encontrados de QY

para nanopartículas de CdTe tipo núcleo y núcleo/coraza están en el orden de 8-40% [61] que concuerdan con los valores determinados para las partículas sintetizadas en este trabajo. El aumento en el valor respecto al tiempo se asocia a la teoría del excitón; esta cuasipartícula se compone del electrón y el hueco del electrón, el electrón al ser excitado pasa de la capa de valencia a la de conducción sin embargo, cuando tiene una coraza que lo protege, existe un confinamiento y la distancia entre capas es menor por lo que la energía necesaria para producir la excitación es menor. Se ha observado que la coraza de CdS promueve este fenómeno en partículas de CdTe/CdS [62].

Ha sido descrito que partículas con QY>25 %, presentan superficies con mayor pasivación lo que limita su reactividad en presencia de diferentes analitos. Es por ello que la mayoría de las técnicas analíticas que emplean nanopartículas de materiales semiconductores utilizan partículas con QY en el intervalo de 10 a 20 % [63], por lo que se seleccionan las partículas sintetizadas a 120 minutos en la aplicación en el análisis de glifosato.

Tabla 9. Rendimientos cuánticos de nanopartículas de CdTe/CdS sintetizadas a diferentes tiempos de reacción.

Tiempo de reacción (minutos)	QY (%)
15	13.5
30	13.7
60	14.0
120	15.6
240	15.6

#### 4.2 Evaluación espectroscópica de sistemas CdTe/CdS-glifosato en discontinuo

Una vez caracterizadas la nanopartículas se construyen sistemas CdTe/CdS-glifosato para evaluar las interacciones presentes por espectroscopia UV-Vis y fluorescencia. La Figura 18 muestra los espectros de absorción de nanopartículas de CdTe/CdS sintetizadas a 120 minutos en presencia de glifosato a diferentes concentraciones de analito (0-5000 mg kg<sup>-1</sup>). La presencia de glifosato en las concentraciones evaluadas no modifica el espectro de absorción de ninguna de las nanopartículas sintetizadas por lo que el seguimiento por espectroscopía UV-Vis no es viable.

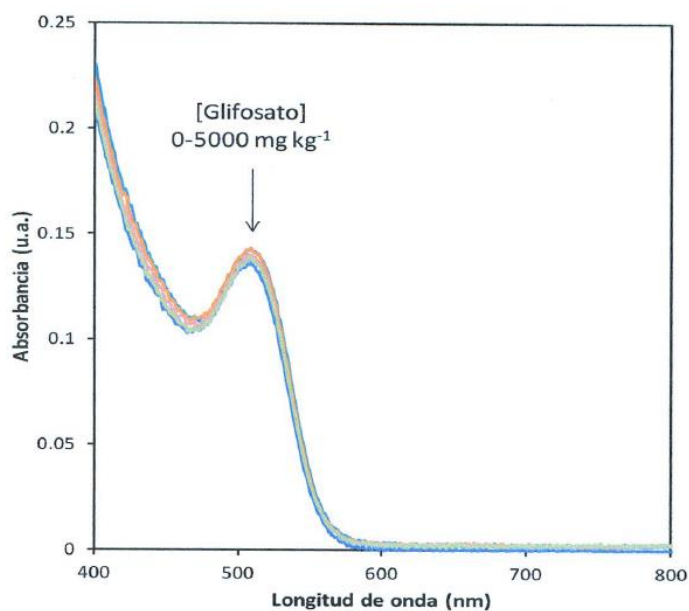


Figura 18. Espectros UV-Vis de nanopartículas de CdTe/CdS en presencia de glifosato a diferentes concentraciones.

Sin embargo, cuando se evalúa la interacción de las nanopartículas sintetizadas a 120 minutos de CdTe/CdS con el analito de interés mediante fluorescencia, se observa un efecto hipercrómico (Fig. 19) en los espectros de emisión en presencia de glifosato (200-500 mg kg<sup>-1</sup>). Dicho comportamiento se atribuye a la interacción entre el Cd<sup>2+</sup> presente en la superficie de las nanopartículas con los grupos fosfonato del glifosato [14].

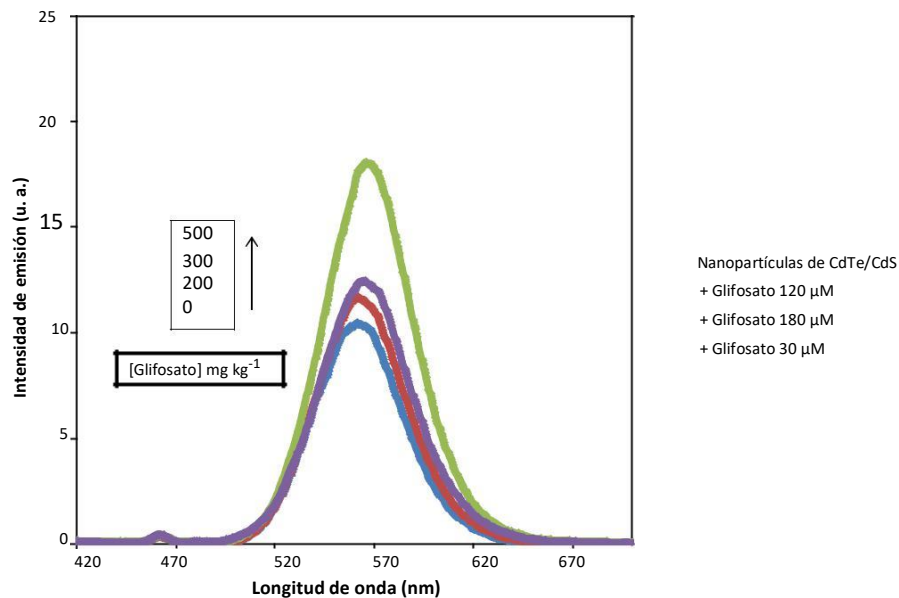


Figura 19. Espectros de emisión de nanopartículas de CdTe/CdS en presencia de glifosato

Se ha descrito que los grupos fosfonato interactúan con el  $\text{Cd}^{2+}$  de la superficie de la nanopartícula formando enlaces de coordinación, lo que genera una mayor pasivación de la superficie promoviendo un aumento en la señal de fluorescencia (Fig. 20) [47].

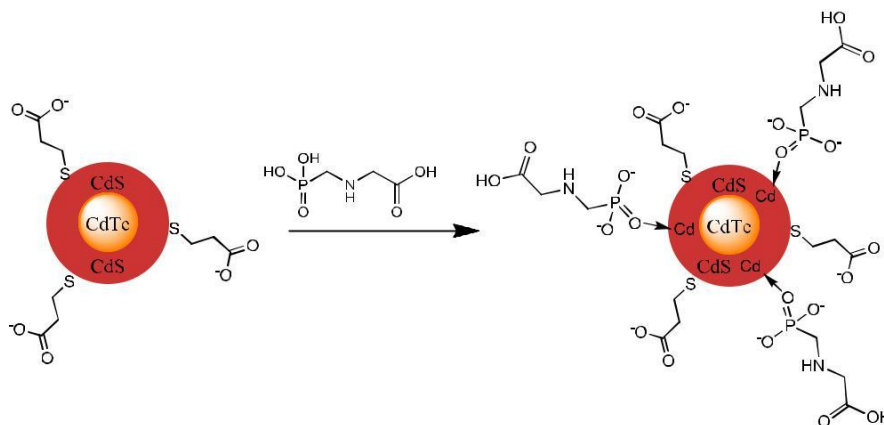


Figura 20. Reacción entre nanopartículas de CdTe/CdS con glifosato propuesta por Liu y colaboradores [47]

El incremento de la señal de fluorescencia de nanopartículas de materiales semiconductores por analitos ha sido descrito en pocas ocasiones, solo algunos iones metálicos como  $\text{Cu}^{2+}$  [19] y  $\text{Ag}^+$  [20] así como algunas moléculas orgánicas como la cisteína [64] y el acetamiprid [65] han podido ser determinados en sistemas en discontinuo bajo este mecanismo de interacción.

A partir de los valores de intensidad de emisión (u.a.) obtenidos, se calculan los valores de sensibilidades analíticas e intervalo lineal de trabajo cuando se emplean las nanopartículas de CdTe/CdS sintetizadas a diferentes tiempos de reacción, dichos resultados se compilan en la Tabla 10.

Tabla 10. Valores de coeficientes de sensibilidad analítica en emisión para las nanopartículas de CdTe/CdS en presencia de glifosato

Nanopartículas empleadas (tiempo de reacción, minutos)	Sensibilidad (Intensidad de emisión u. a. $\mu\text{M}^{-1}$ )	Intervalo lineal ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
15	27	50-1200
30	26	50-1200
60	48	50-1200
120	57	50-885
240	62	50-500

Las partículas de menor tamaño presentan un mayor intervalo lineal de trabajo, la nanopartícula al estar menos pasivada presenta de un mayor número de iones  $\text{Cd}^{2+}$  o espacios libres en donde puede interactuar el glifosato promoviendo un incremento del tamaño de la partícula que puede concluir en la formación de un precipitado. Por el contrario las nanopartículas de mayor tamaño tienen un menor número de iones superficiales, por lo que se observa la formación de un precipitado a menores concentraciones de glifosato, lo que es congruente con la saturación de los iones superficiales [16]. A pesar de que el intervalo lineal es mayor en las nanopartículas de menor tamaño, las de mayor tamaño tienen mayores sensibilidades resultado de las altas intensidades de emisión que presenta, lo que se traduce en una mejora en los límites de detección.

Debido a que las muestras de suelo a analizarse son complejas es posible de que exista un efecto matriz en el sistema, por lo que es necesario integrar las nanopartículas a un sistema de separación para realizar la cuantificación en este tipo de muestras. Las partículas seleccionadas para integrar al sistema de separación son las sintetizadas a 120 minutos, debido a que presentan mejores parámetros analíticos.

### 4.3 Integración de nanopartículas de CdTe/CdS en sistemas en continuo

#### 4.3.1 Análisis por inyección en flujo (FIA)

Una primera aproximación al diseño de una metodología de separación consiste en conocer donde integrar las partículas de CdTe/CdS. Donde pueden hacerse reaccionar antes o durante la separación.

En el sistema FIA 1, se adicionan a la solución acarreadora CdTe/CdS, por lo que fluye de forma constante la suspensión de nanopartículas dando una señal analítica  $> 0$ . Al inyectarse la muestra con el glifosato se observaría una interacción que cambio en la señal registrada. La Figura 21 muestra el FIAGrama obtenido bajo esta modalidad, donde se observa que la inyección de las muestras produce un abatimiento de la señal de fluorescencia (Fig. 19), sin embargo el efecto es equivalente cuando se analizan el blanco y las diferentes concentraciones de glifosato, lo que indica que la disminución de la señal analítica es debida a la dilución de las nanopartículas y no a la interacción CdTe/CdS-glifosato. El tiempo de contacto entre el glifosato y las nanopartículas no es suficiente para observar una tendencia en la señal analítica. Se ha descrito en análisis en discontinuo que la mezcla (CdTe/CdS-glifosato) debe reaccionar durante 15 minutos para que se observe de forma adecuada la interacción [12], por lo que el tiempo transcurrido desde la inyección hasta la detección no es suficiente para observar la formación del aducto CdTe/CdS-glifosato.

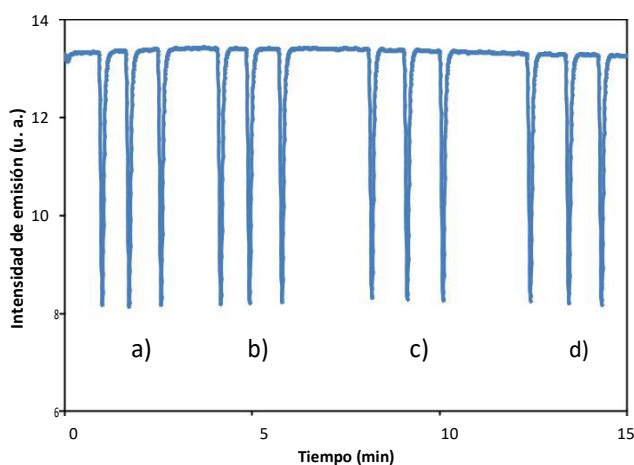


Figura 21. FIAGrama de nanopartículas de CdTe/CdS en ausencia y presencia de glifosato. (a) Blanco, (b) 100, (c) 200 y (d) 300 mg kg<sup>-1</sup> utilizando el sistema FIA 1

Debido a que no se observa efecto en la modalidad anterior se opta por preparar previamente mezclas CdTe/CdS-glifosato para su inyección en la solución acarreadora de boratos (sistema FIA



2). La señal que fluye de forma continua hacia el detector no presenta fluorescencia por lo que debe observarse un aumento de la señal analítica cuando se inyecta la mezcla. La Figura 22 muestra el FIograma obtenido, en éste se puede observar un incremento en la señal cuando el glifosato está presente en la muestra, lo que permite corroborar que es necesario un tiempo de reacción entre las nanopartículas de CdTe/CdS y el analito para observar cambios en la señal de fluorescencia.

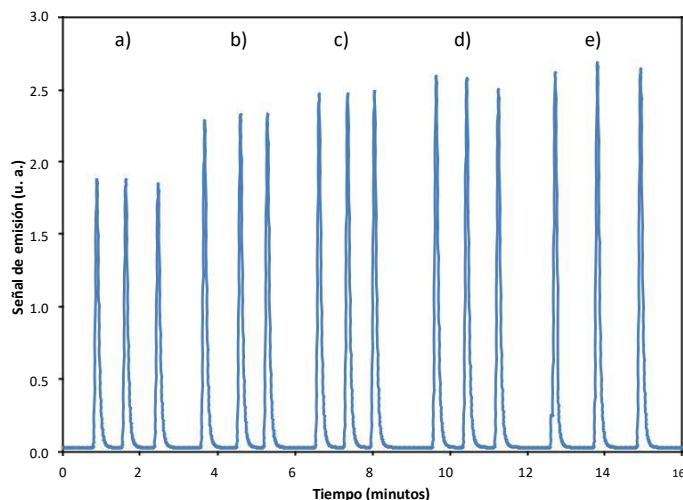


Figura 22. FIograma de nanopartículas de CdTe/CdS en ausencia y presencia de glifosato a diferentes concentraciones. (a) blanco, (b) 100, (c) 200, (d) 300 y (e) 500  $\text{mg kg}^{-1}$  utilizando el sistema FIA 2.

Este comportamiento concuerda con lo observado en los sistemas CdTe/CdS-glifosato en discontinuo de acuerdo a lo observado en los espectros de emisión. En sistemas en flujo generalmente se observa un abatimiento de la señal de emisión sin embargo analitos como la acetilcisteína promueven el incremento de señal en nanopartículas de CdTe [66].

#### 4.3.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución

Con base en los resultados obtenidos en los experimentos FIA, se concluye que es necesario preparar la mezcla de las nanopartículas de CdTe/CdS con glifosato antes de realizar la separación. Es por ello que dicha reacción se realiza 10 minutos previos al análisis mediante HPLC, de manera adicional se puede concluir que las derivatizaciones post-columna no son viables.

Debido a que el glifosato y el aducto CdTe/CdS-glifosato predominan en su forma aniónica, se propone evaluar el uso de una columna de aminopropil en medio ácido (adicionando ácido

acético de la fase móvil), donde el grupo amino terminal adquiere carga positiva ( $R-NH_3^+$ ) permitiendo comportarse como intercambiador aniónico mediante interacciones electrostáticas [67].

La Figura 23 muestra los cromatogramas obtenidos empleando la fase amino y como fase móvil mezclas de acetonitrilo:ácido acético 1% (1:1, Fig. 23.a) y metanol:ácido acético 1% (1:1, Fig. 23.b). Puede observarse en ambos casos que no existe una señal analítica relacionada en la presencia de glifosato, lo cual se puede asociar a dos fenómenos: una elevada interacción entre el analito y la fase estacionaria que limita la elución y la baja estabilidad de la nanopartículas de CdTe/CdS en medio ácido.

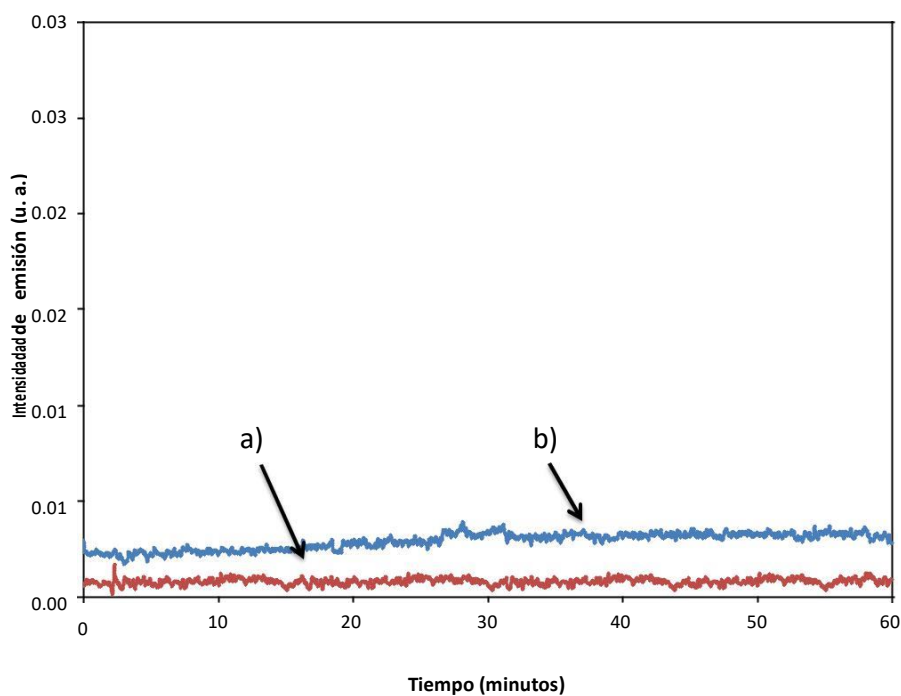


Figura 23. Cromatograma de nanopartículas de CdTe/CdS con glifosato  $X \text{ mg kg}^{-1}$  empleando una columna de aminopril y como fase móvil ACN:AcOH 1% (1:1, a) y MeOH:AcOH 1% (1:1, b)

Debido a que la cromatografía iónica no presenta resultados favorables bajo las condiciones estudiadas, se propone emplear condiciones de separación en fase inversa utilizando como fase estacionaria columnas de octadecilsiloxano ( $C_{18}$ ). Se ha descrito que las interacciones hidrofóbicas entre las cadenas alifáticas de la fase estacionaria y de los ligantes estabilizadores de las nanopartículas permiten la retención de éste tipo de compuestos. De forma adicional, se elige como fase móvil una mezcla de acetonitrilo-agua debido a que se ha descrito que las nanopartículas de materiales semiconductores se agregan en presencia de metanol y su estabilidad es baja en medios ácidos [68].

En la Figura 24 se muestran los cromatogramas obtenidos del análisis en fase inversa de nanopartículas de CdTe/CdS en ausencia (Fig. 24.a), y presencia de glifosato (Fig. 24.b). En los cromatogramas se observa una única señal ( $t_r=2.4$  min) la cual aumenta de magnitud en presencia de glifosato. El tiempo de retención que se observa es bajo, lo que indica el elevado carácter hidrofílico del compuesto inyectado. De forma adicional no se observa la presencia de la señal asociada a la interacción CdTe/CdS-glifosato, por lo que puede concluirse que no existe retención entre las especies presentes en la muestra y la fase estacionaria de la columna.

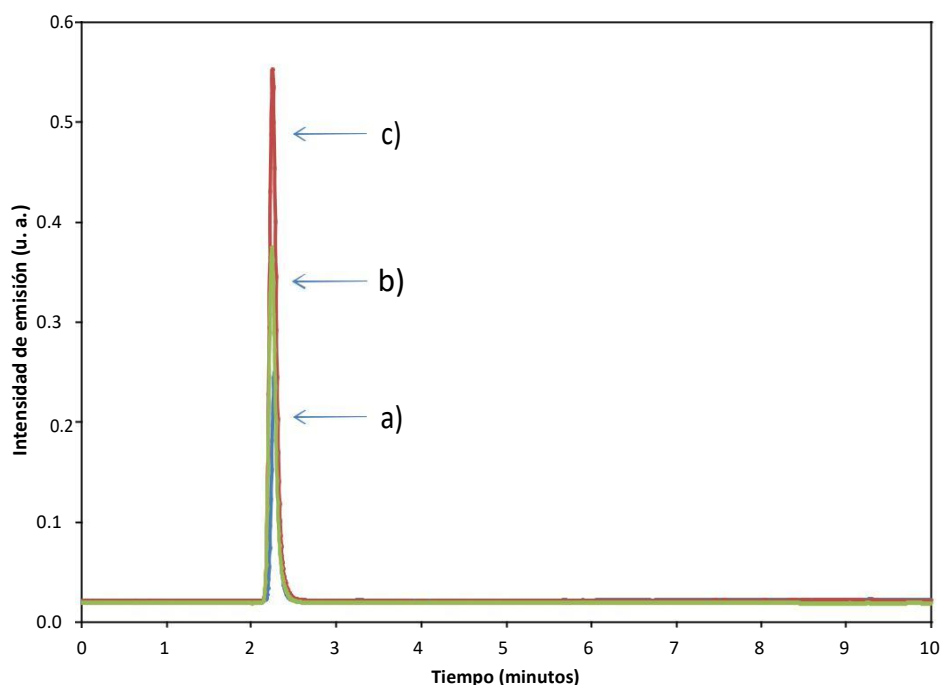


Figura 24. Cromatograma de a) nanopartículas de CdTe/CdS, b) nanopartículas con glifosato  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  y nanopartícula con glifosato  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  (fase estacionaria: C18 y fase móvil: ACN:Agua relación 1:1)

Los experimentos realizados permiten observar un incremento de la señal analítica pero no es posible separar la contribución de las nanopartículas de CdTe/CdS y CdTe/CdS-glifosato, lo cual es una desventaja en el análisis de muestras complejas debido a que la señal registrada puede ser consecuencia de la interacción con algunos componentes de la muestra y del analito. Considerando el cambio en la carga superficial, se propone utilizar electroforesis capilar debido a que resulta adecuada para el análisis de compuestos hidrofílicos.

### 4.3.3 Electroforesis capilar

Las nanopartículas de CdTe/CdS pueden ser separadas en electroforesis capilar de zona debido a la carga en la superficie de la nanopartícula, mientras que sus propiedades luminiscentes son adecuadas para utilizar fluorescencia inducida por láser como detector [68]. Como se ha mencionado previamente la interacción de CdTe/CdS con el glifosato genera nanopartículas con características diferentes a las iniciales, pudiendo ser de mayor tamaño y de carga superficial diferente [47]. De los estudios previos se logró concluir que es necesario considerar como paso previo al análisis la reacción entre el glifosato y las nanopartículas de CdTe/CdS un tiempo de reacción durante 10 minutos para que se promueva el aumento de tamaño y como consecuencia, un aumento en la señal de emisión. Por lo anterior, durante los experimentos se realiza la inclusión de las nanopartículas de CdTe/CdS en la muestra previo a la separación electroforética.

El desarrollo de una metodología en electroforesis capilar de zona requiere de la evaluación de algunos parámetros instrumentales del sistema como son: pH y concentración del electrolito de trabajo, concentración de CdTe/CdS y voltaje de separación [68]. Con la finalidad de realizar un análisis completo se emplea un diseño central compuesto para el estudio de estas variables en la separación por electroforesis capilar de zona. La variable de salida seleccionada fue el número de platos teóricos (N) obtenidos a partir de la siguiente expresión.

$$N = 16\left(\frac{t_r}{W}\right)^2$$

donde  $t_r$  es el tiempo de retención del pico (min) y  $W$  el ancho de la señal (min).

Al emplear el diseño central compuesto es posible evaluar diversos modelos matemáticos y determinar cuál es el que se ajusta más al sistema; asimismo es posible obtener una superficie de respuesta que permite describir y optimizar el sistema. Los diseños de superficie de respuesta suelen utilizarse para seleccionar el modelo más adecuado, determinar los factores críticos y establecer las condiciones óptimas de análisis. La superficie de respuesta se obtiene utilizando un nivel de significación ( $\alpha$ ) de 2.0 para 4 factores. Dicho valor se define como la distancia de cada punto axial desde el centro (factores en nivel cero) de un diseño central compuesto [69]. Los niveles seleccionados para ser optimizados de cada una de las variables de control se presentan en la Tabla 11.

Tabla 11. Niveles de significancia de variables en el diseño central compuesto.

Variable	Niveles				
	-2	-1	0	1	2
pH	8.0	9.0	10.0	11.0	12.0
Voltaje (kV)	7.5	10.0	12.5	15.0	17.5
[Electrolito] (mM)	5.0	10.0	15.0	20.0	25.0
[CdTe/CdS] mg L <sup>-1</sup>	32.5	65.0	97.5	130.0	162.5

El diseño central compuesto para 4 variables involucra la realización de 30 experimentos ( $2^k + 2^k + n$ ). La matriz de diseño que resulta se muestra en la Tabla 12, la cual contiene 16 experimentos en los vértices ( $2^4$ ), 8 puntos axiales ( $2(4)$ ) y 6 centrales ( $n$ ). Bajo cada una de las condiciones establecidas se analiza una muestra de glifosato 300 mg kg<sup>-1</sup>.

Tabla 12. Matriz de diseño y respuestas del diseño central compuesto.

Experimento	pH	V	[Electrolito]	[CdTe/CdS]	Respuesta (N)	Contribución
1	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	7225.0	2 <sup>4</sup>
2	-1.0	-1.0	-1.0	1.0	439.0	
3	-1.0	-1.0	1.0	-1.0	6080.7	
4	-1.0	1.0	-1.0	-1.0	19679.0	
5	-1.0	1.0	-1.0	1.0	3142.0	
6	-1.0	1.0	1.0	-1.0	6178.0	
7	-1.0	-1.0	1.0	1.0	3481.0	
8	-1.0	1.0	1.0	1.0	1021.0	
9	1.0	1.0	1.0	1.0	3735.0	
10	1.0	1.0	1.0	-1.0	2385.2	
11	1.0	1.0	-1.0	1.0	8714.0	
12	1.0	-1.0	1.0	1.0	3216.0	
13	1.0	-1.0	-1.0	1.0	3791.0	
14	1.0	-1.0	1.0	-1.0	2554.6	
15	1.0	1.0	-1.0	-1.0	19494.5	
16	1.0	-1.0	-1.0	-1.0	15899.0	
17	-2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2(4)
18	0.0	-2.0	0.0	0.0	4310.0	
19	0.0	0.0	-2.0	0.0	7924.0	
20	0.0	0.0	0.0	-2.0	14138.0	
21	2.0	0.0	0.0	0.0	2185.0	
22	0.0	2.0	0.0	0.0	3205.0	
23	0.0	0.0	2.0	0.0	1600.0	

24	0.0	0.0	0.0	2.0	876.0	6
25	0.0	0.0	0.0	0.0	4009.0	
26	0.0	0.0	0.0	0.0	3616.0	
27	0.0	0.0	0.0	0.0	4710.0	
28	0.0	0.0	0.0	0.0	5595.0	
29	0.0	0.0	0.0	0.0	6276.0	
30	0.0	0.0	0.0	0.0	7398.0	

Las fuentes que contribuyen a la varianza del sistema incluyen la regresión y el error residual. La regresión incluye el uso de los modelos lineal, interacciones y los bloques. La Tabla 13 muestra los resultados obtenidos de la sumas de cuadrado, encontrándose que el modelo lineal con interacciones explica el 86.5 % de los datos por lo que se elige como el más adecuado para la descripción sistema.

Tabla 13. Análisis de la varianza de los resultados obtenidos del diseño de experimentos

Fuente	Varianza	% de varianza
Lineal	111614442	70.4
Interacciones	31352011	19.8
Falta de ajuste	7231765	4.6
Puro error	8240988	5.2

La prueba de falta de ajuste indica que el modelo seleccionado es el adecuado y el análisis de varianza indica que explica el 90.2 % de los datos, mismo que se corrobora con el valor del error (<10%). La ecuación que describe la superficie de respuesta es:

$$N = 5368 + 705 \text{ pH} + 811 \text{ V} - 2599 [\text{Electrolito}] - 3270 [\text{CdTe/CdS}] - 245 \text{ pH} * \text{V} - 1393 \text{ pH} * [\text{Electrolito}] + 638 \text{ pH} * [\text{CdTe/CdS}] - 1606 \text{ V} * [\text{Electrolito}] - 643 \text{ V} * [\text{CdTe/CdS}] + 2529 [\text{Electrolito}] * [\text{CdTe/CdS}]$$

El análisis de la varianza de los resultados demuestra de forma adicional la contribución de cada factor e interacción en la respuesta de salida (Tabla 14). Los tiempos de migración de ambas especies (CdTe/CdS y CdTe/CdS-glifosato) son similares, es por ello que las variables que más influyen en el desempeño de la metodología son la [CdTe/CdS], [electrolito] y la interacción de ambas variables. Esto puede ser explicado debido a que la señal de las nanopartículas presenta un ensanchamiento conforme aumenta la concentración, lo que produce que las señales analíticas se traslapen. Por otra parte la concentración de electrolito influye en la viscosidad del

medio por lo que el aumento en la concentración disminuye la movilidad electroforética de las especies obteniéndose como resultado una disminución de la resolución de las señales.

Tabla 14. Porcentaje de contribución de factores e interacciones en el modelo lineal con interacciones.

Factor	Porcentaje de contribución
pH	1.88
V	2.48
[Electrolito]	25.53
[CdTe/CdS]	40.40
pH * V	0.15
pH * [Electrolito]	4.89
pH * [CdTe/CdS]	1.02
V * [Electrolito]	6.49
V * [CdTe/CdS]	1.04
[Electrolito] * [CdTe/CdS]	16.11

A partir del diseño de experimentos se obtienen los parámetros óptimos para el análisis de glifosato por electroforesis capilar los cuales son pH=10.06, Voltaje de 17.5 kV, concentración de electrolito de 5 mM y concentración de nanopartículas de 32.5 mg L<sup>-1</sup>. En la Figura 25 se muestran el electroferograma obtenidos del análisis de nanopartículas de CdTe/CdS, donde se puede observar la presencia de una única señal (3.2 minutos) atribuida a las nanopartículas, posteriormente cuando se adiciona glifosato se observa la aparición de una señal a un tiempo de migración menor (min), esta señal se atribuye a la formación del aducto CdTe/CdS-glifosato. Con la finalidad de corroborar que la señal de deba al aducto, se realiza el análisis aumentando la concentración de glifosato, observándose que la señal de CdTe/CdS se ve abatida y la señal de CdTe/CdS-glifosato aumenta como consecuencia de una mayor interacción. La disminución del tiempo de migración del aducto es consecuencia del aumento de tamaño de la partícula.

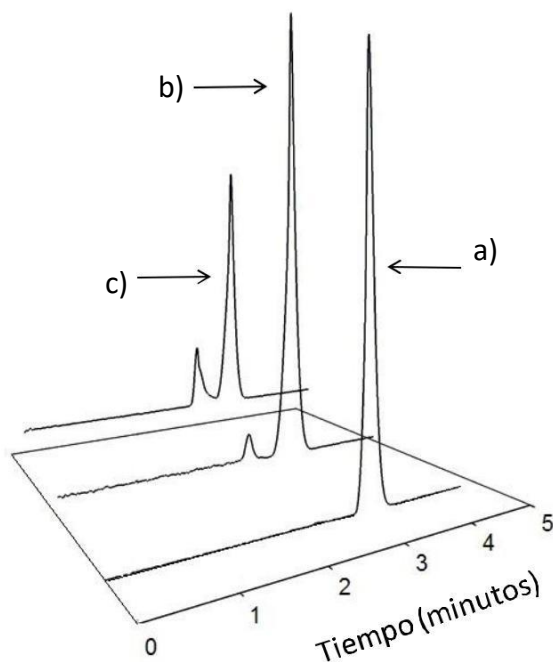


Figura 25. Electroferogramas de a) nanopartículas de CdTe/CdS, b) nanopartículas de CdTe/CdS en presencia de glifosato ( $200\text{ mg kg}^{-1}$ ) y c) nanopartículas de CdTe/CdS en presencia de glifosato ( $400\text{ mg kg}^{-1}$ )

Cabe destacar que la separación de aductos de nanopartículas de materiales semiconductores no ha sido descrita en la bibliografía, por lo que la es una contribución interesante en el diseño de metodologías de análisis empleando este tipo de materiales. De forma adicional, es posible concluir que la diferencia de movilidad electroforética de los aductos formados respecto a los materiales individuales le proporciona selectividad a la metodología, por lo permite analizar matrices complejas como muestras de suelo.

#### 4.4 Validación analítica de metodologías propuestas

Los parámetros de desempeño de las metodologías propuestas fueron obtenidos en un intervalo de concentración de 0 a  $900\text{ mg kg}^{-1}$ . Los parámetros obtenidos son la raíz cuadrada de la varianza residual ( $S_e$ ), la ordenada al origen (intensidad de emisión, i.e.), sensibilidad analítica (i.e)  $\text{kg mg}^{-1}$ , intervalo lineal de trabajo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), LOD y LOQ (Tabla 15).



Tabla 15. Parámetros de la regresión lineal de las metodologías evaluadas.

Parámetro	Fluorescencia	Metodología		
		Análisis por inyección en flujo	Cromatografía de líquidos de alta resolución	Electroforesis capilar
Raíz cuadrada de la varianza residual ( $s_e$ )	1024	0.048	0.026	0.039
Ordenada en el origen, $b_0 \pm ts(b_0)$ (intensidad de emisión)	684 $\pm$ 870	-0.031 $\pm$ 0.064	-0.127 $\pm$ 0.0256	0.069 $\pm$ 0.100
Sensibilidad, $b_1 \pm ts(b_1)$ , (intensidad de emisión $\text{kg mg}^{-1}$ )	37 $\pm$ 2	0.001 $\pm$ 2x 10 <sup>-4</sup>	6x10 <sup>-4</sup> $\pm$ 5x 10 <sup>-5</sup>	0.005 $\pm$ 3x10 <sup>-4</sup>
Intervalo lineal ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	271-900	342-900	420-900	93-700
Límite de detección ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	90	114	140	25
Límite de cuantificación ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	271	343	420	75

Las metodologías propuestas presentan límites de detección en el mismo orden de magnitud, sin embargo electroforesis capilar de zona tiene un límite de detección menor debido a que tiene mayor selectividad en comparación a las otras técnicas desarrolladas.

La precisión y exactitud de las metodologías de análisis evaluó analizando por triplicado glifosato en muestras de suelo empleando las 4 metodologías diseñadas. Los resultados obtenidos del análisis de 7 muestras de suelo de campos de cultivo del estado Hidalgo se presentan en la Tabla 16. Las concentraciones obtenidas muestran resultados similares y concuerdan con los descritos por Islas y colaboradores (2014) [35] para muestras de la misma región. El análisis de varianza indica que existe diferencia significativa entre las concentraciones de glifosato encontradas empleando diferentes metodologías, puesto que los valores de  $F$  indicados son mayores al valor crítico ( $F_{3,8} = 4.1$ ) a un nivel de confianza del 95% .

Los análisis en discontinuo, por inyección en flujo y HPLC muestran concentraciones y %DER mayores. Se han descrito diversas metodologías basadas en el uso de nanopartículas de CdTe/CdS bajo mecanismos de interacción similares, por lo que es posible que exista interacción con otros componentes presentes en la muestra. Cabe resaltar que electroforesis capilar le proporciona selectividad al análisis de glifosato, por lo que en todos los casos las concentraciones encontradas son menores y los valores de %DER demuestran una precisión adecuada.

Tabla 16. Concentraciones de glifosato de muestras de suelo de cultivo de Hidalgo

Muestra	Técnica de análisis								F
	Espectrofluorimetría		Análisis por inyección en flujo		Cromatografía de líquidos de alta resolución		Electroforesis capilar		
	Concentración (mg kg <sup>-1</sup> )	%DER (n=3)	Concentración (mg kg <sup>-1</sup> )	%DER (n=3)	Concentración (mg kg <sup>-1</sup> )	%DER (n=3)	Concentración (mg kg <sup>-1</sup> )	%DER (n=3)	
1	384.6 <sup>a</sup>	6.8	360.7 <sup>ab</sup>	7.4	412.6 <sup>a</sup>	6.6	320.6 <sup>b</sup>	4.4	10.6
2	648.5 <sup>a</sup>	5.9	665.3 <sup>a</sup>	5.8	619.3 <sup>ab</sup>	5.9	535.5 <sup>b</sup>	2.1	9.3
3	565.5 <sup>a</sup>	5.4	555.7 <sup>ab</sup>	5.3	655.6 <sup>a</sup>	9.1	519.6 <sup>b</sup>	6.8	6.1
4	742.0 <sup>a</sup>	3.7	664.6 <sup>ab</sup>	6.7	674.6 <sup>a</sup>	4.6	607.7 <sup>b</sup>	2.4	9.4
5	583.0 <sup>b</sup>	4.9	770.6 <sup>a</sup>	4.8	712.6 <sup>ab</sup>	4.7	515.2 <sup>c</sup>	1.8	9.3
6	616.6 <sup>a</sup>	1.9	668.8 <sup>a</sup>	4.3	559.6 <sup>a</sup>	8.0	567.6 <sup>b</sup>	3.3	5.9
7	690.4 <sup>a</sup>	5.4	682.1 <sup>a</sup>	3.3	684.6 <sup>a</sup>	6.2	590.2 <sup>b</sup>	1.9 <sup>b</sup>	7.0

Los superíndices deferentes en la columna indican diferencias estadísticamente significativas para un nivel de confianza del 95%.

Valor de  $F_{\text{crítico}} = 4.1$

Las diferencias en las concentraciones obtenidas por las metodologías propuestas se representan empleando gráficos de caja y bigote. La Figura 26 muestra los gráficos obtenidos para la muestra 7, puede observarse que la concentración de glifosato es significativamente menor cuando se analiza empleando electroforesis capilar de zona, debido a la selectividad que ofrece esta técnica de separación.

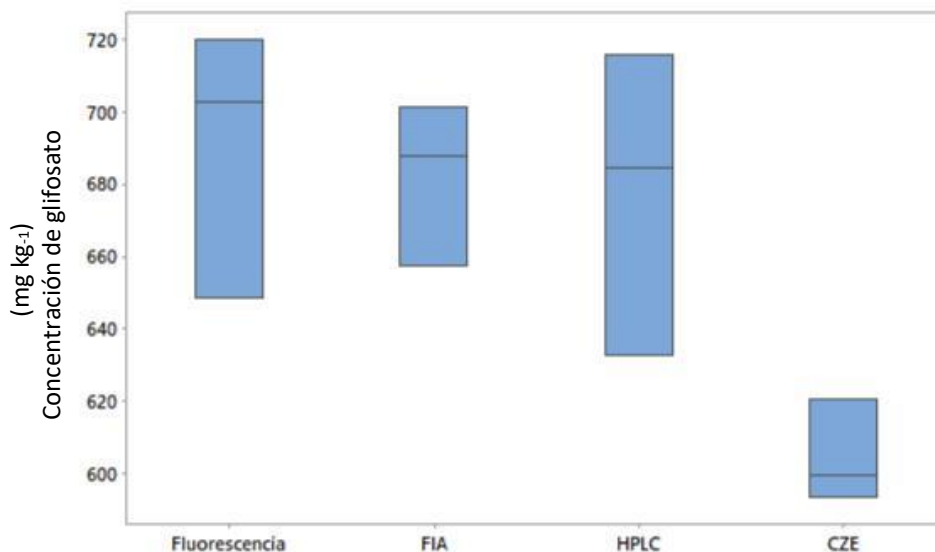


Figura 26. Gráfico de cajas y bigotes de concentración de glifosato en suelos determinado empleando las metodologías propuestas.

La exactitud del método de electroforesis capilar se determina mediante el porcentaje de recuperación de glifosato en una muestra de suelo evaluando tres niveles de concentración (400, 500 y 600 mg kg<sup>-1</sup>) con tres replicas para cada nivel. Se obtuvo un promedio de recuperaciones en el intervalo de 90.5 a 98.5% con una desviación estándar menor al 5.0% en todos los casos (Tabla 17).

La detección por fluorescencia en sistemas en discontinuo es una alternativa más rápida para realizar un análisis discriminante, sin embargo entre las metodologías descritas para la determinación de glifosato, electroforesis capilar permite selectividad, precisión y exactitud en la cuantificación de este analito en muestras de suelo

Tabla 17. Ensayos de recuperación de glifosato en muestras de suelo mediante electroforesis capilar de zona

Concentración añadida mg kg <sup>-1</sup>	Encontrada	% Recuperación	% DER
400	389.4	97.4	2.04
	374.5	93.6	
	385.3	96.3	
500	466.6	93.3	3.16
	488.5	97.7	
	460.1	92.0	
600	577.6	96.2	0.98
	588.5	98.0	
	579.7	96.6	

## ***Conclusiones***

## 5. Conclusiones

El análisis estadístico muestra que la longitud máxima de absorción y de emisión así como el tamaño de partícula están correlacionados con el tiempo de reacción, por lo que es posible obtener nanopartículas de CdTe/CdS con características deseadas controlando el tiempo de reacción en la síntesis.

Los espectros de emisión de las nanopartículas de CdTe/CdS muestran un efecto batocrómico e hipercrómico respecto al tiempo de reacción como resultado del aumento de tamaño de partícula por la formación de una capa de CdS sobre el núcleo de CdTe.

Los espectros de emisión de sistemas CdTe/CdS-glifosato muestran un efecto hipercrómico asociado a la formación de un enlace de coordinación entre grupo fosfonato del analito y el Cd<sup>2+</sup> presente en la superficie de las nanopartículas, por lo que la detección mediante fluorescencia es viable.

La integración de nanopartículas de CdTe/CdS en sistemas de detección en discontinuo y en continuo permite realizar el análisis de glifosato, asimismo los parámetros de desempeño obtenidos permiten el análisis en muestras de suelo a las concentraciones comúnmente encontradas.

La electroforesis capilar de zona permite la separación de aductos CdTe/CdS-glifosato de las nanopartículas, la interacción induce un aumento en el tamaño de la partícula lo que ocasiona una movilidad diferente en el sistema cuando un potencial es aplicado, como resultado se obtienen menores tiempos de migración, este efecto no ha sido descrito previamente. Las condiciones óptimas de análisis por esta metodología son pH = 10, voltaje: 17.5 kV, concentración de electrolito: 5 mM y concentración de CdTe/CdS: 32.5 µg L<sup>-1</sup>

## ***Referencias bibliográficas***

## 6. Referencias bibliográficas

- [1] Nahuib, M., Hassanen, A. E. (2011). Herbicides – Properties, synthesis and control of weeds. InTech.
- [2] Nahuib, M., Hassanen, A. E. (2011). Herbicides – Mechanisms and mode of action. InTech.
- [3] Paranjape, K., Gowarikek, V., Krishnamurthy, V. N., Gowariker, S. (2015) The Pesticide Encyclopedia. CABI.
- [4] Baylis, A. D. (2000), Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects, *Pest Management Science*, 56, 299-308.
- [5] Borjesson, Y., Torstensson, L. (2000), New methods for determination of glyphosate and (aminomethyl)phosphonic acid in water and soil, *Journal of Chromatography A*, 886, 207–216.
- [6] Stalikas, S. D., Konidari, S. N. (2001), Analytical methods to determine phosphonic and amino acid group-containing pesticides, *Journal of Chromatography A*, 907, 1-19.
- [7] Bai, S. H., Ogboume, S. M. (2016). Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(19), 18988-19001.
- [8] Aparicio, V. C., De Gerónimo, E., Marino, D., Primost, J., Carriquiriborde, P., Costa, J. L. (2013) Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere*, 93(9), 1866-1873.
- [9] Guo, J., Zhang, Y., Luo, Y., Shen, F., Sun, C. (2014). Efficient fluorescence resonance energy transfer between oppositely charged CdTe quantum dots and gold nanoparticles for turn-on fluorescence detection of glyphosate. *Talanta*, 125, 385-392.
- [10] Helander, M., Saloniemi, I., Saikkonen, K. (2012). Glyphosate in northern ecosystems. *Trends in plant science*, 17(10), 569-574.
- [11] Rogach, A. L., (2008). *Semiconductor nanocrystal quantum dots*. Wien-New York: Springer.
- [12] Frigerio, C., Ribeiro, D. S., Rodrigues, S. S. M., Abreu, V. L., Barbosa, J. A., Prior, J. A., Santos, J. L. (2012). Application of quantum dots as analytical tools in automated chemical analysis: a review. *Analytica Chimica Acta*, 735, 9-22.
- [13] Donegan, J. F., Rakovich, Y. P. (2013). *Cadmium telluride quantum dots: advances and applications*. CRC Press.
- [14] Klimov, V. I. (2010). *Nanocrystal quantum dots*, CRC Press.



- [15] Callan, J. F., Raymo, F. M. (2013). Quantum dots sensors: technology and commercial applications. CRC Press
- [16] Rodrigues, S. S. M., Ribeiro, D. S., Soares, J. X., Passos, M. L., Saraiva, M. L. M., Santos, J. L. (2017). Application of nanocrystalline CdTe quantum dots in chemical analysis: Implementation of chemo-sensing schemes based on analyte-triggered photoluminescence modulation. *Coordination Chemistry Reviews*, 330, 127-143.
- [17] Wang, Y. Q., Ye, C., Zhu, Z. H., Hu, Y. Z. (2008). Cadmium telluride quantum dots as pH-sensitive probes for tiopronin determination. *Analytica chimica acta*, 610(1). 50-56.
- [18] Sorouraddin, M. H., Imani-Nabiyyi, A., Najibi-Gehraz, S. A., Rashidi, M. R. (2014). A new fluorimetric method for determination of valproic acid using TGA-capped CdTe quantum dots as proton sensor. *Journal of luminescence*, 145, 253-258.
- [19] Ghosh, S., Priyam, A., Bhattacharya, S. C., Saha, A. (2009). Mechanistic aspects of quantum dot based probing of Cu (II) ions: role of dendrimer in sensor efficiency. *Journal of fluorescence*, 19(4), 723-731.
- [20] Xia, Y. S., Cao, C., Zhu, C. Q. (2008). Two distinct photoluminescence responses of CdTe quantum dots to Ag (I), *Journal of luminescence*, 128(1), 166-172.
- [21] Harris, D. C. (2003). *Análisis químico cuantitativo*. Editorial Reverté
- [22] Glass, R. L. (1981). Colorimetric determination of glyphosate in water after oxidation to orthophosphate. *Analytical Chemistry*, 53(6), 921-923.
- [23] Bhaskara, B. L., Nagaraja, P. (2006). Direct sensitive spectrophotometric determination of glyphosate by using ninhydrin as a chromogenic reagent in formulations and environmental water samples. *Helvetica chimica acta*, 89(11), 2686-2693.
- [24] Jan, R., Shah, J., Muhammad, M., Ara, B. (2009). Glyphosate herbicide residue determination in samples of environmental importance using spectrophotometric method. *Journal of Hazardous Materials* 169, 742-745.
- [25] Arkan, T., Csámpai, A., Molnár-Perl, I. (2016). Alkylsilyl derivatization of glyphosate and aminomethylphosphonic acid followed by gas chromatography mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 125, 219-223.
- [26] McNair, H. M., Miller, J. M. (2011). *Basic Gas Chromatography*. John Wiley and Sons.
- [27] Hu, J. Y., Chen, C. L., Li, J. Z. (2008). A simple method for the determination of glyphosate residues in soil by capillary gas chromatography with nitrogen phosphorus. *Journal of Analytical Chemistry*, 63(4), 371-375.

- [28] Kataoka, H., Ryu, S., Sakiyama, N., & Makita, M. (1996). Simple and rapid determination of the herbicides glyphosate and glufosinate in river water, soil and carrot samples by gas chromatography with flame photometric detection. *Journal of Chromatography A*, 726(1-2), 253-258.
- [29] Tseng, S. H., Lo, Y. W., Chang, P. C., Chou, S. S., Chang, H. M. (2004). Simultaneous quantification of glyphosate, glufosinate, and their major metabolites in rice and soybean sprouts by gas chromatography with pulsed flame photometric detector. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(13), 4057-4063.
- [30] Arkan, T., Csámpai, A., Molnár-Perl, I. (2016). Alkylsilyl derivatization of glyphosate and aminomethylphosphonic acid followed by gas chromatography mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 125, 219-223.
- [31] Moldoveanu, S. C., David, V. (2012). *Essentials in modern HPLC separations*. Elsevier.
- [32] Qian, K., Tang, T., Shi, T., Wang, F., Li, J., Cao, Y. (2009). Residue determination of glyphosate in environmental water samples with high-performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with 4-chloro-3, 5-dinitrobenzotrifluoride. *Analytica Chimica Acta*, 635(2), 222-226.
- [33] Hogendoorn, E. A., Ossendrijver, F. M., Dijkman, E., & Baumann, R. A. (1999). Rapid determination of glyphosate in cereal samples by means of pre-column derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate and coupled-column liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 833(1), 67-73.
- [34] Kawai, S., Uno, B., Tomita, M. (1991). Determination of glyphosate and its major metabolite aminomethylphosphonic acid by high-performance liquid chromatography after derivatization with p-toluenesulphonyl chloride. *Journal of Chromatography A*, 540, 411-415.
- [35] Islas, G., Rodriguez, J. A., Mendoza-Huizar, L. H., Pérez-Moreno, F., Carrillo, E. G. (2014). Determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in soils by HPLC with pre-column derivatization using 1, 2-naphthoquinone-4-sulfonate. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 37(9), 1298-1309.
- [36] Piriypittaya, M., Jayanta, S., Mitra, S., & Leepipatpiboon, N. (2008). Micro-scale membrane extraction of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water followed by high-performance liquid chromatography and post-column derivatization with fluorescence detector. *Journal of Chromatography A*, 1189(1-2), 483-492.
- [37] Lovdahl, M. J., Pietrzyk, D. J. (1992). Liquid chromatography and postcolumn indirect detection of glyphosate. *Journal of Chromatography A*, 602, 197-204.

- [38] Valcárcel, M., Luque de Castro, M. D. (1988). *Automatic methods of analysis*. Elsevier.
- [39] Valcárcel, M., Gómez, A. (1988). *Técnica analíticas de separación*. Reverté.
- [40] Zhong, W., Zhang, C., Gao, Q., Li, H. (2012). Highly sensitive detection of lead (II) ion using multicolor CdTe quantum dots. *Microchimica Acta*, 176(1-2), 101-107.
- [41] Wang, J. H., Wang, H. Q., Zhang, H. L., Li, X. Q., Hua, X. F., Cao, Y. C., Zhao, Y. D. (2007). Purification of denatured bovine serum albumin coated CdTe quantum dots for sensitive detection of silver (I) ions. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 388(4), 969-974.
- [42] Lima, A. S., Rodríguez, S. S. M., Korn, M. G., Ribeiro, D. S., Santos, J. L., Teixeira, L. S. (2014). Determination of copper in biodiesel samples using CdTe-GSH quantum dots as photoluminescence probes. *Microchemical Journal*, 117, 144-148.
- [43] Xia, Y. S., Zhu, C. Q. (2008). Use of surface-modified CdTe quantum dots as fluorescent probes in sensing mercury (II). *Talanta*, 75(1), 215-221.
- [44] Sun, J. F., Ren, C. L., Liu, L. H., & Chen, X. G. (2008). CdTe quantum dots as fluorescence sensor for the determination of vitamin B6 in aqueous solution. *Chinese Chemical Letters*, 19(7), 855-859.
- [45] Yan, X., Li, H., Wang, X., & Su, X. (2015). A novel fluorescence probing strategy for the determination of parathion-methyl. *Talanta*, 131, 88-94.
- [46] Koneswaran, M., Narayanaswamy, R. (2015). Ultrasensitive detection of vitamin B6 using functionalised CdS/ZnS core-shell quantum dots. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 210, 811-816.
- [47] Liu, Z., Liu, S., Yin, P., He, Y. (2012). Fluorescence enhancement of CdTe/CdS quantum dots by coupling of glyphosate and its application for sensitive detection of copper ion. *Analytica chimica acta*, 745, 78-84.
- [48] Lu, Y., Wang, J., Yuan, H., Xiao, D. (2014). Separation of carbon quantum dots on a C18 column by binary gradient elution via HPLC, *Analytical Methods*, 6, 8124-8128.
- [49] Sklenářová, ., Voráčová, I., Chocholouš, P., Polášek, M. (2017). Quantum dots as chemiluminescence enhancers tested by sequential injection technique: Comparison of flow and flow-batch conditions. *Journal of Luminescence*, 184, 235-241.
- [50] Llorent, E. J., Molina, G, L., Kwiatkowski, R., & Ruiz, A. (2013). Application of quantum dots in clinical and alimentary fields using multicommutated flow injection analysis. *Talanta*, 109, 203-208.

- [51] Molina-García, L., Llorent-Martínez, E. J., Fernández-de Córdoba, M. L., Santos, J. L. M., Rodrigues, S. S. M., Ruiz-Medina, A. (2013). Study of the quenching effect of quinolones over CdTe-quantum dots using sequential injection analysis and multicommutation. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 80, 147-154.
- [52] Jimenez, J., Molina, L., Rodríguez, S. S. M., Santos, J. L. M., Ortega, P., & Ruiz, A. (2016). Automated determination of rifamycins making use of MPA–CdTe quantum dots. *Journal of Luminescence*, 175, 158-164.
- [53] Jiménez, J., Santos, J. L. M., Ortega, P., Ruiz, A. (2017). New Perspectives of Quantum Dots in the Food Field: Determination of  $\beta$ -Carotene in Tropical Fruit Juices and Food Supplements. *Food Analytical Methods*, 10(7), 2412-2421.
- [54] Jiménez, J., Llorent, E. J., Ortega, P., Ruiz, A. (2018). Multicommutated Flow System for the Determination of Glyphosate Based on Its Quenching Effect on CdTe-Quantum Dots Fluorescence. *Food Analytical Methods*, 11(6), 1840-1848.
- [55] Chen, Q., Zhao, W., & Fung, Y. (2011). Determination of acrylamide in potato crisps by capillary electrophoresis with quantum dot mediated LIF detection. *Electrophoresis*, 32(10), 1252-1257.
- [56] Chen, Q., Fung, Y. (2010). Capillary electrophoresis with immobilized quantum dot fluorescence detection for rapid determination of organophosphorus pesticides in vegetables. *Electrophoresis*, 31(18), 3107-3114.
- [57] Currie, L. A. (1995). Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). *Pure and Applied Chemistry*, 67(10), 1699-1723.
- [58] Chen, J., Xiao, A., Zhang, Z., Yu, Y., Yan, Z. (2015). The synthesis and modification of CdTe/CdS core shell quantum dots. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 151, 506-509.
- [59] Gu, Z., Zou, L., Fang, Z., Zhu, W., Zhong, X. (2008). One-pot synthesis of highly luminescent CdTe/CdS core/shell nanocrystals in aqueous phase. *Nanotechnology*, 19(13), 135604.
- [60] Nordell, K. J., Boatman, E. M., Lisensky, G. C. (2005). A safer, easier, faster synthesis for CdSe quantum dot nanocrystals. *Journal of chemical education*, 82(11), 1697.
- [61] Zeng, Q., Kong, X., Sun, Y., Zhang, Y., Tu, L., Zhao, J., Zhang, H. (2008). Synthesis and optical properties of type II CdTe/CdS core/shell quantum dots in aqueous solution via successive ion layer adsorption and reaction. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(23), 8587-8593.

- [62] Peng, X., Schlamp, M. C., Kadavanich, A. V., Alivisatos, A. P. (1997). Epitaxial growth of highly luminescent CdSe/CdS core/shell nanocrystals with photostability and electronic accessibility. *Journal of the American Chemical Society*, 119(30), 7019-7029.
- [63] Costa, J. M., Pereiro, R., Sanz, A. (2006). The use of luminescent quantum dots for optical sensing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 25(3), 207-218.
- [64] Wang, Y., Zheng, J., Zhang, Z., Yuan, C., Fu, D. (2009). CdTe nanocrystals as luminescent probes for detecting ATP, folic acid and l-cysteine in aqueous solution. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 342(1-3), 102-106.
- [65] Qu, F., Zhou, X., Xu, J., Li, H., Xie, G. (2009). Luminescence switching of CdTe quantum dots in presence of p-sulfonatocalix [4] arene to detect pesticides in aqueous solution. *Talanta*, 78(4-5), 1359-1363.
- [66] Frigerio, C., Abreu, V. L., Santos, J. L. (2012). Evaluation of acetylcysteine promoting effect on CdTe nanocrystals photoluminescence by using a multipumping flow system. *Talanta*, 96, 55-61.
- [67] Chen, M. X., Cao, Z. Y., Jiang, Y., Zhu, Z. W. (2013). Direct determination of glyphosate and its major metabolite, aminomethylphosphonic acid, in fruits and vegetables by mixed-mode hydrophilic interaction/weak anion-exchange liquid chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1272, 90-99.
- [68] Marina, M. L., Ríos, A., Valcárcel, M. (2005). *Analysis and detection by capillary electrophoresis*. Elsevier.
- [69] Massart, D. L. (1997). *Handbook of chemometrics and qualimetrics*. Elsevier.