

Tecnologías emergentes

SERS para la detección de agentes de guerra química

Autores: Marta Lafuente, María Pilar Pina, Reyes Mallada, Jesús Santamaría, Instituto de Nanociencia de Aragón (INA); Miguel Urbiztondo, Centro Universitario de Defensa de Zaragoza (CUD); Ismael Pellejero, *Institute For Advanced Materials*.

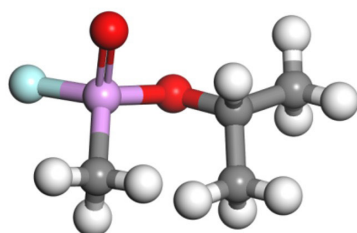
Palabras clave: sensor, gas sarín, SERS.

Metas Tecnológicas relacionadas: MT 5.2.1.

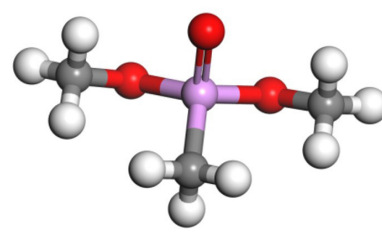
Introducción

Agentes Químicos de Guerra

Según la *Chemical Weapons Convention* (CWC), un agente químico de guerra (*Chemical Warfare Agent*, CWA) es toda sustancia química que, por su acción química sobre los procesos vitales, pueda causar la muerte, la incapacidad temporal o lesiones permanentes a seres humanos o animales [1]. Las CWA son relativamente más baratas que el resto de armas de destrucción masiva (armas nucleares, radiológicas y biológicas), y sus efectos son devastadores para la población [2].



Gas Sarín
(metilfosfonofluoridato de O-isopropilo)



DMMP
(metilfosfonato de dimetilo)

Fig. 1. Estructura del gas sarín y su simulante: DMMP. Leyenda de colores: C, gris; H, blanco; O, rojo; P, morado; F, azul. (Fuente: propia.)

Las CWA se clasifican según sus efectos en el cuerpo humano en agentes nerviosos, sanguíneos, pulmonares (asfixiantes), vesicantes, lacrimógenos y discapacitantes (o paralizantes).

Los agentes nerviosos son los agentes de guerra más tóxicos de todos los que se conocen, de cientos a miles de veces más letales que los vesicantes, los agentes pulmonares o los venenosos que afectan a la sangre. Por ejemplo, la toxicidad del sarín es de 25 a 50 veces superior a la del cianuro de hidrógeno. Además, este tipo de arma puede ser dispersada desde misiles, cohetes, bombas, proyectiles,

minas, municiones u otros dispositivos que den como resultado un aerosol que pueda utilizarse en espacios confinados (teatros, centros comerciales, estaciones de metro, etc.) con objeto de causar el mayor daño posible.

Detección de Agentes Químicos de Guerra (CWA) en fase gas

En la actualidad las técnicas más habituales de detección en fase gas de este tipo de amenazas están basadas en cromatografía gases-masas (GC MS) [3] y espectroscopía de movilidad iónica (IMS) [4]. Sin embargo, presentan severas limitaciones en especificidad,

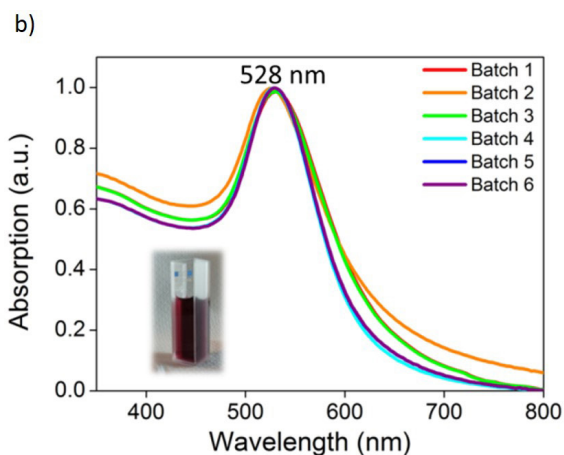
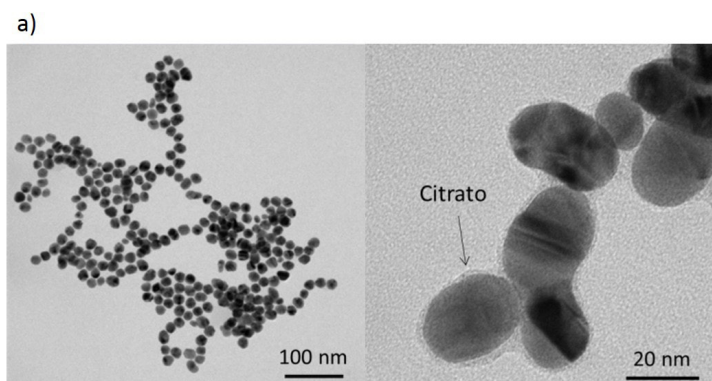
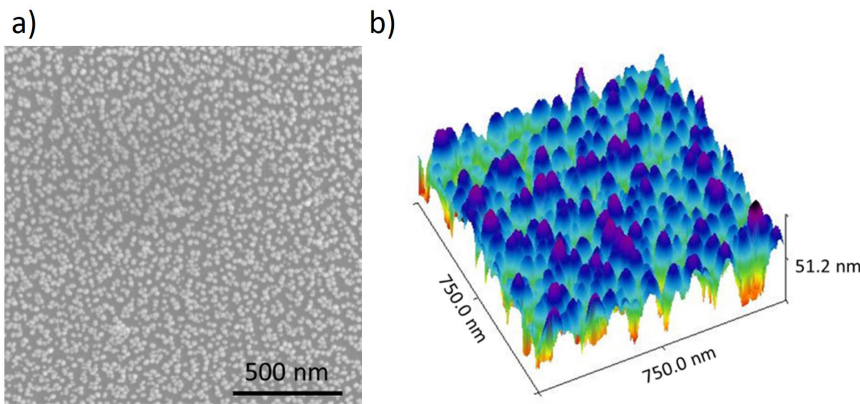


Fig. 2. a) Imagen TEM de AuNP@citrate donde se visualiza la capa estabilizante de citrato. b) Espectro de absorción de seis diferentes lotes de AuNP@citrate; inserto: AuNP@citrate en la cubeta de UV. (Fuente: Referencia [8]).



portabilidad, coste y simplicidad. Estas técnicas no dotan a los cuerpos de seguridad de respuesta rápida, de un equipamiento que les permita realizar un análisis rápido e “in situ” de la escena cuando haya riesgo de haberse producido un ataque químico. Los avances que se presentan en este artículo intentan suplir esta importante necesidad. El objetivo final es el desarrollo de un método rápido, sencillo y reproducible de detección de agentes nerviosos G en condiciones reales o de campo realmente útil para nuestras fuerzas de seguridad.

Espectroscopía Raman y efecto SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy)

La espectroscopía Raman monitoriza la vibración de los enlaces de las moléculas obteniéndose la huella dactilar de las mismas (la vibración de cada molécula es única, como la huella dactilar humana) y, por tanto, alcanzándose una alta selectividad en la identificación de agentes químicos. Por otro lado, la variante Raman SERS ha sido identificada como una tecnología clave en la detección

de agentes químicos debido a su ultra alta sensibilidad, y la capacidad de identificar y cuantificar mezclas de compuestos en una sola medida, permitiendo una detección a tiempo real en condiciones de campo.

El efecto Raman se produce cuando la luz (láser) incide sobre una molécula e interactúa con la nube de electrones de los átomos de esa molécula. El fotón incidente excita uno de los electrones a un estado virtual. La molécula se excita desde el estado basal a un estado de energía virtual, y se relaja a un estado vibracional excitado, lo que genera la dispersión inelástica de Raman Stokes.

El efecto SERS consiste en una intensificación extraordinaria de la emisión Raman procedente de una molécula cuando ésta se encuentra en contacto o cerca de una superficie metálica nano-estructurada. La amplificación de la señal en SERS proviene de la interacción de la luz con los electrones de conducción situados en la superficie del metal.

Los metales que presentan las propiedades ópticas adecuadas para

generar tales intensificaciones, son principalmente la plata, el oro y el cobre, siendo los dos primeros los que alcanzan una mayor intensificación y los más aplicados en experimentos SERS. Las dimensiones y la ordenación de las nanopartículas (NP) metálicas implicadas en este fenómeno juegan un papel importante.

En general, las nanoestructuras con unos tamaños entre 1 y 100 nm, absorción entre 400 y 800 nm, suelen ser efectivas. En su ordenación, el espaciado entre NP, también es un parámetro crucial para que se produzca el aumento de la señal. El campo electromagnético generado en una partícula individual debe entrar en interferencia coherente con los campos electromagnéticos de NP adyacentes para producirse el aumento de la señal, este punto de proximidad se denomina “hot spot”, y suelen distar alrededor de entre 5-20 nm [5].

Materiales y Métodos

En este artículo se presentan los resultados obtenidos para la molécula modelo DMMP (metilfosfonato de dimetilo), un simulante del gas sarín, la molécula objetivo de este trabajo. Se utiliza un simulante dada la alta toxicidad de la molécula real y porque la *Chemical Weapons Convention* (CWC) prohíbe el desarrollo, producción, almacenaje y uso de armas químicas [6]. DMMP y gas sarín difieren principalmente en la ausencia del enlace C-F, responsable de la toxicidad (figura 1).

Cabe destacar que, en la bibliografía científica actual, apenas aparecen artículos que usen Raman SERS para detectar DMMP, y los que usan la técnica, detectan la molécula en fase líquida [7], cuando el verdadero peligro

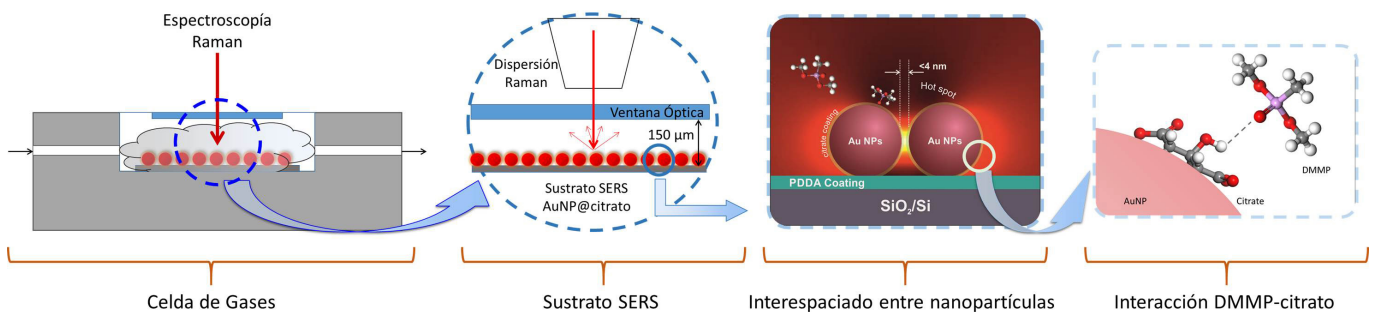


Fig. 4. Esquema general de la plataforma sensible desarrollada para detectar DMMP en fase gas. (Fuente: Referencia [8]).

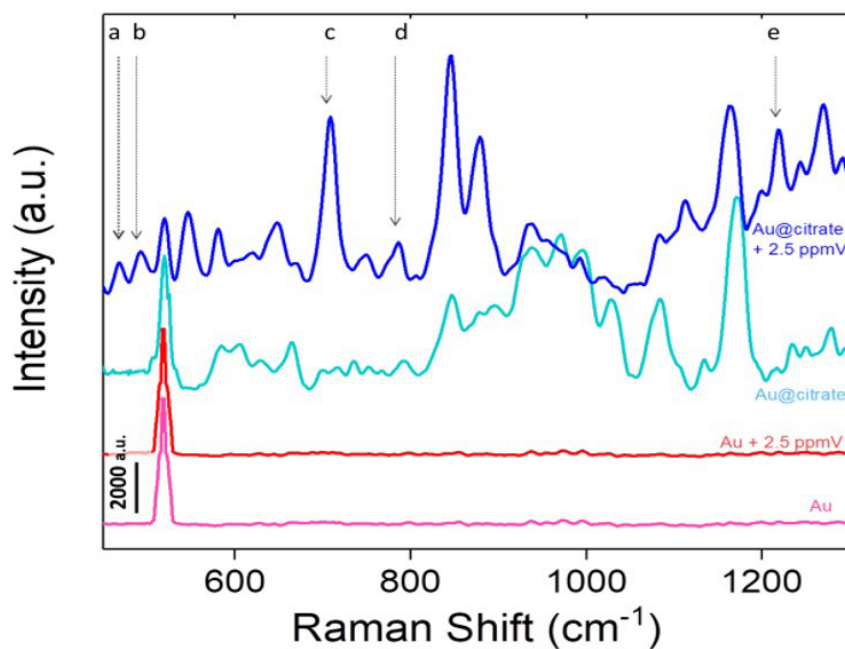


Fig. 5. Espectro SERS de AuNP@citrate sobre SiO₂/Si antes (azul claro) y después de alimentar una corriente gaseosa de DMMP de 2,5 ppmV (azul oscuro). Espectro SERS de AuNP sobre SiO₂/Si tras retirarle la capa de citrato antes (rosa) y después de alimentar una corriente gaseosa de DMMP de 2,5 ppmV (rojo). (Fuente: Referencia [13]).

se encuentra en su dispersión por vía área. Esto supone un reto añadido a nuestro objetivo de detectar e identificar DMMP en fase gas en concentraciones bajas.

Sustrato SERS

El soporte seleccionado como sustrato SERS en detección de DMMP en fase gas ha sido nanopartículas de oro recubiertas de citrato (AuNPs@citrate) depositadas sobre un sustrato plano de óxido de silicio (SiO₂/Si) mediante un protocolo de *Layer-by-layer* usando como *linker* un polímero catiónico.

La figura 2 muestra imágenes TEM de las nanopartículas de oro estabilizadas con citrato (AuNP@citrate) y su espectro UV situado en 528 nm para todas las muestras del lote denotando la gran reproducibilidad del método estudiado y optimizado de síntesis de estas partículas.

Tras la deposición de estas partículas mediante un método basado en un protocolo de deposición capa a capa, se obtuvo como resultado un sustrato SERS con una densidad de 750 AuNP/μm² proporcionando un grado de recubrimiento del 30% y unos interespaciados, *hot spots*, de 15 nm. La densidad y el espaciado fueron

medidos de las imágenes SEM (figura 3 a) y AFM (figura 3 b) de los recubrimientos.

Sistema experimental para medir DMMP en fase gas

El equipo utilizado para medir los espectros Raman SERS del DMMP fue un *Alpha Raman Spectrometer* de WITec. El sistema Alpha 300 combina la alta eficiencia del detector Raman con un microscopio de alta resolución confocal. Con esta combinación es posible obtener información química de muestras realizando áreas x-y-z.

La figura 4 muestra el esquema general de la plataforma sensible desarrollada para la detección de DMMP en fase gas. La plataforma sensible consta de una celda de gases construida "ad-hoc" donde se sitúa el sustrato SERS y se alimenta el DMMP en fase gas [8].

Resultados y discusión de la detección de DMMP en fase gas

El DMMP tiene varios enlaces activos en Raman proporcionando un espectro SERS con múltiples picos, siendo el más intenso e importante el desplazado a 715 cm⁻¹, y que representa el enlace P-C de la molécula, es este pico el que se usa como referencia en la detección de DMMP en fase líquida

y, por tanto, el que usaremos nosotros en fase gas.

Como puede observarse en la figura 5, el espectro SERS de las AuNP@citrate (azul claro) se modifica tras alimentar 2,5 ppmV de DMMP en fase gas a la celda (azul oscuro). El pico característico del DMMP (banda c de la figura 5) comienza a aparecer denotando su presencia. Además, en el espectro del DMMP sobre AuNP@citrate podemos reconocer los picos obtenidos de la vibración de los enlaces POCH₃ (banda a), POC (banda b), PO₂ (banda d) y P=O (banda e).

La figura 5 también compara espectro SERS del DMMP sobre AuNP@citrate con el espectro obtenido del DMMP (rojo) sobre las mismas AuNP sin la capa de citrato (rosa). Si comparamos los dos espectros podemos observar que sobre AuNP sin citrato no somos capaces de detectar DMMP. Con este ensayo se demuestra la importancia de la capa orgánica de citrato alrededor de las AuNP, esta capa orgánica hace de trampa molecular del DMMP en fase gas, acercándolo a la superficie metálica e introduciéndolo así dentro del campo electromagnético amplificado por las nanopartículas metálicas (efecto SERS), es decir, aumentando la señal de la molécula de DMMP siendo así posible su detección e identificación en bajas concentraciones.

El tiempo de respuesta de nuestro sistema es inferior a 100 segundos, tal y como se muestra en la figura 6 (a). Además, la interacción responsable de la detección del DMMP entre esta molécula y el citrato es débil, lo que permite reutilizar el sensor en múltiples medidas. La figura 6 (b) nos muestran 10 ciclos ON/OFF de absorción de DMMP sobre un mismo sustrato de AuNP@citrate. Un ciclo se corresponde con alimentar 1,2 ppmV de DMMP en nitrógeno a la celda hasta obtener señal (puntos rojos) y después barrer la celda con nitrógeno limpio hasta que la intensidad del pico desplazado a 718 cm⁻¹ es cero (puntos azules), aprox. 10 min, considerándose entonces que el sustrato está completamente limpio de DMMP y, por tanto, puede volver a utilizarse.

Una vez conocidas las bondades de nuestro sustrato SERS como plataforma de detección e identificación de DMMP en fase gas, se pasó a

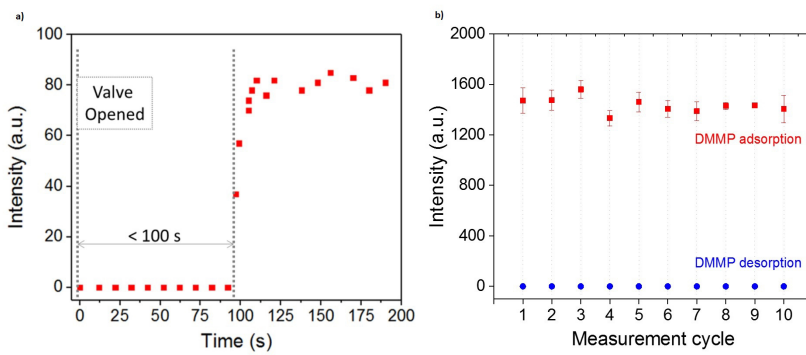


Fig. 6. a) Evolución temporal del pico a 718cm-1 del DMMP sobre AuNP@citrate. Condiciones: 1 mW y 0,5s. b) Evolución del espectro SERS del DMMP cuando se expone el sustrato AuNP@citrate a consecutivos de ciclos ON/OFF de DMMP. Condiciones: 1,2 ppmV. (Fuente: Referencia [13]).

reducir la concentración de DMMP para conocer el límite de detección del sustrato, o sensibilidad del mismo. La figura 7 nos muestra los espectros SERS sobre AuNP@citrate de tres concentraciones diferentes de DMMP: 2,5 ppmV, 1,2 ppmV y 625 ppbV. Puede observarse que en todos los casos se observa claramente el pico del enlace PC del DMMP, y el desplazamiento del pico se debe a la orientación de la molécula sobre el sustrato. Este comportamiento se ha observado anteriormente para otras moléculas cuando se desciende la concentración de las mismas [9]. La intensidad del pico característico del DMMP aumenta linealmente al aumentar la concentración de DMMP (figura 7 b), por lo que nuestro sustrato podría utilizarse para cuantificar DMMP en fase gas. Acorde a estos resultados experimentales se ha calculado el límite de detección (LOD) en 130 ppbV, valor muy por debajo de lo reportado hasta el momento en literatura [10].

Conclusiones

En este trabajo se rescata una técnica de principios de siglo XX con el empuje del efecto SERS, y la sitúa en la vanguardia de las publicaciones científicas más recientes. Pero este trabajo no sólo se queda en una importante contribución a la ciencia, sino que, además, pretende dar solución a un problema que hoy en día existe frente a posibles ataques con agentes químicos de guerra.

Con el sistema de detección desarrollado se puede diferenciar, por primera vez en fase gas, 130 ppbV de agente nervioso (DMMP) con un tiempo de respuesta inferior a dos minutos. Ambas características aventuran un futuro sistema de detección tremendamente sensible y selectivo, fiable, barato y de fácil manejo, en resumen, el sistema de detección óptimo para este tipo de aplicaciones.

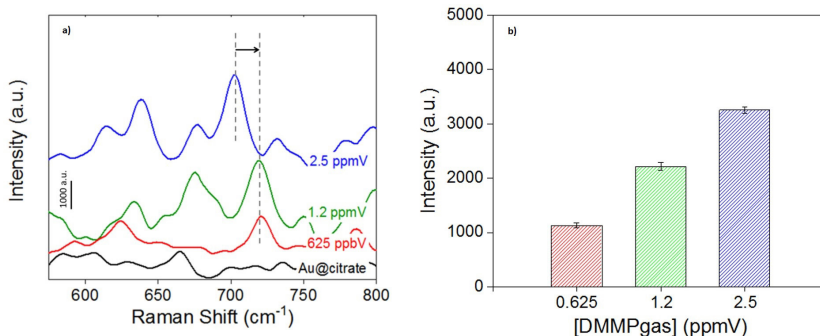


Fig. 7. a) Espectro SERS del DMMP sobre AuNP@citrate cuando se alimentan diferentes concentraciones de DMMP: 625ppbV, 1,2 ppmV y 2,5 ppmV. b) Representación de la intensidad del pico PC del DMMP sobre AuNP@citrate para las tres concentraciones estudiadas. (Fuente: Referencia [13]).

Referencias

[1] Monografía SOPT, consultada en Agosto 2017, http://www.tecnologiaenno vacion.defensa.gob.es/Lists/Publicaciones/Attachments/11/monografia_sopt_11.pdf.

[2] A history of chemical warfare. Coleman, K. Basingstoke, UK: Palgrave Macmillan. 2015.

[3] Detection of gas-phase chemical warfare agents using field-portable gas chromatography–mass spectrometry systems: instrument and sampling strategy considerations. Smith P.A, Koch D, Hook G.L, Erickson R.P, Jackson Lepage C.R, Wyatt H.D.M, Betsinger G, Eckenrode B.A. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2004; 23(4):296-306.

[4] Miniaturized Low-Cost Ion Mobility Spectrometer for Fast Detection of Chemical Warfare Agents. Zimmermann S, Barth S, Baether W.K.M, Ringer J. *Analytical Chemistry*. 2008; 80(17):6671-76.

[5] Tailored surface-enhanced Raman nanopillar arrays fabricated by laser-assisted replication for biomolecular detection using organic semiconductor lasers. Liu S, Lebedkin S, Besser H, Pflöging W, Prinz S, Wissmann M, Schwab P.M, Nazarenko I, Guttman M, Kappes M.M. *ACS Nano*, 2014; 9: 260-70.

[6] <https://www.opcw.org/>, consultada en Agosto 2017.

[7] Detection of nerve gases using surface-enhanced Raman scattering substrates with high droplet adhesion. Hakonen A, Rindzevicius T, Schmidt M.S, Andersson P.O, Juhlin L, Svedendahl M, Boisen A, Käll M. *Nanoscale*, 2016; 8: 1305-08.

[8] Highly sensitive SERS Quantification of Organophosphorous Chemical Warfare Agents: A Major Step towards the Real Time Sensing in the Gas Phase. Lafuente M, Pellejero I, Sebastián V, Urbiztondo M.A, Mallada R, Pina M.P, Santamaría J. Highly sensitive SERS Quantification of Organophosphorous En revision 2018.

[9] Surface-enhanced Raman spectroscopy of benzenethiol adsorbed from the gas phase onto silver film over nanopillar surfaces: determination of the sticking probability and detection limit time. Biggs K.B, Camden J.P, Anker J.N, Duyn R.P.V, *J. Phys. Chem. A*. 2009. 113: 4581-86.

[10] Surface-Enhanced Raman Detection of Nerve Agent Simulant (DMMP and DIMP) Vapor on Electrochemically Prepared Silver Oxide Substrates. Taranenko N, Alarie J.P, Stokes D.L, Vo-Dinh T. *J. Raman Spectrosc.* 1996; 27: 379-84.