ESCOLA DE DOUTORAMENTO
INTERNACIONAL DA USC

Yeneva
Alves Iglesias

Tese de doutoramento

Desenvolvemento dun método óptico para a determinación de nanomateriais metálicos

Santiago de Compostela, 2023

Programa de Doutoramento en Ciencia e Tecnoloxía Química

TESE DE DOUTORAMENTO

DESENVOLVEMENTO DUN MÉTODO ÓPTICO PARA A DETERMINACIÓN DE NANOMATERIAIS METÁLICOS

YENEVA ALVES IGLESIAS

ESCOLA DE DOUTORAMENTO INTERNACIONAL DA UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN CIENCIA E TECNOLOXÍA QUÍMICA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2023

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

DECLARACIÓN DO AUTOR DA TESE

DESENVOLVEMENTO DUN MÉTODO ÓPTICO PARA A DETERMINACIÓN DE NANOMATERIAIS METÁLICOS

Dna. YENEVA ALVES IGLESIAS

Presento a miña tese, seguindo o procedemento axeitado ao Regulamento, e declaro que:

1) A tese abarca os resultados da elaboración do meu traballo.
2) De ser o caso, na tese faise referencia ás colaboracións que tivo este traballo.
3) Confirmo que a tese non incorre en ningún tipo de plaxio doutros autores nin de traballos presentados por min para a obtención doutros títulos.
4) A tese é a versión definitiva presentada para a súa defensa e coincide a versión impresa coa presentada en formato electrónico.

E comprométome a presentar o Compromiso Documental de Supervisión no caso de que o orixinal non estea na Escola.

En Santiago de Compostela, 04 de xullo de 2023

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR / TITOR DA TESE

DESENVOLVEMENTO DUN MÉTODO ÓPTICO PARA A DETERMINACIÓN DE NANOMATERIAIS METÁLICOS

D. JESÚS SANMARTÍN MATALOBOS

Dna. PILAR BERMEJO BARRERA

INFORMA/N:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por Dna. YENEVA ALVES IGLESIAS, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

De acordo co indicado no Regulamento de Estudos de Doutoramento, declara tamén que a presente tese de doutoramento é idónea para ser defendida en base á modalidade de Monográfica con reproducción de publicaciones, nos que a participación do/a doutorando/a foi decisiva para a súa elaboración e as publicacións se axustan ao Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, 04 de xullo de 2023

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Índice

Resumo

Abreviaturas

Capítulo 1: Introdución 1

1.1. A Nanotecnoloxía: unha visión máis de cerca 1

1.2. As nanopartículas: propiedades, aplicacións e toxicidade ..4

1.2.1. As nanopartículas de CuO 9

1.2.2. As nanopartículas de CdSe 12

1.3. Os Quantum Dots 18

1.3.1. Qué son estas estruturas? 18

1.3.2. Propiedades máis relevantes dos QDs 25

1.3.3. Aplicacións máis importantes 27

1.3.4. Toxicidade en diferentes escenarios 34

1.4. Química superficial: enlaces metal-ligando 39

1.5. Métodos analíticos para a detección e cuantificación dos QDs en augas 50

1.5.1. ICP-MS 51

1.5.2. ICP-AES 52

1.5.3. Cromatografía de exclusión por tamaños 53

1.5.4. Single-Particle ICP-MS 55

1.5.5. CZE-ICP-MS 57

1.5.6. Espectroscopía de fluorescencia 58

Capítulo 2: Obxectivos e hipótese 60

2.1. Antecedentes, obxectivos e hipótese 60

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.1.1. Deseño dos ligandos orgánicos 64

2.1.2. Síntese e caracterización dos ligandos na súa forma libre 64

2.1.3. Estudo das propiedades fluorescentes dos ligandos na súa forma libre 65

2.1.4. Estudo da influenza de diferentes factores nas propiedades fluorescentes dos ligandos na súa forma libre 65

2.1.5. Estudo da inmobilización sobre papel de celulosa dalgún dos ligandos libres preparados..... 66

2.1.6. Estudo da influenza de diferentes factores sobre as propiedades fluorescentes do sistema construído por ligandos e nanomateriais 66

Capítulo 3: Metodoloxía 68

3.1. Técnicas de caracterización 68

3.1.1. Resonancia magnética nuclear de ^{1}H 68

3.1.2. ATR-FTIR 68

3.1.3. Análise elemental 69

3.1.4. Espectroscopía UV-Vis 69

3.1.5. Reflectancia difusa 69

3.1.6. Espectroscopía de fluorescencia 69

3.1.7. Estudos μ-XRF 69

3.1.8. Microscopía electrónica de barrido (SEM) 70

3.1.9. Rectas de calibrado 70

3.1.10. Limpeza do material 71

3.2. Reactivos e disolucións 72

3.2.1. Reactivos e disolucións xerais 72

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.2.2. Patróns e disolucións patrón 73

3.3. Instrumentación e materias 74

3.3.1. Instrumentos 74

3.3.2. Materiais e aparatos 75

3.4. Síntese e caracterización dos compostos 76

3.4.1. Síntese de CdSe-Cys QDs 76

3.4.2. Síntese de DsA 79

3.5. Síntese dos ligandos orgánicos 82

3.5.1. Síntese do ligando H_3L^1 82

3.5.2. Síntese do ligando H_2L^2 84

3.5.3. Síntese do ligando H_3L^3 86

3.6. Síntese dos complexos metálicos 89

3.6.1. Síntese de $Cu_2(HL^1)_2(H_2O)_4 \cdot 6H_2O$ 89

3.6.2. Síntese de $Cd_2(HL^1)_2(H_2O)_4 \cdot 2H_2O$ 89

3.6.3. Síntese de $CuL^2(H_2O)_2 \cdot 4(H_2O)$ 90

3.6.4. Síntese de $CdL^2(H_2O)_2 \cdot H_2O$ 91

3.6.5. Síntese de $Cu_2(HL^3)_2(H_2O)_4 \cdot 10H_2O$ 91

3.6.6. Síntese de $Cd_2(HL^3)_2(H_2O)_4 \cdot 8H_2O$ 92

3.7. Estudos de difracción de raios X 94

3.8. Estudos da interacción dos ligandos con ións Cu^{2+} e Cd^{2+} 97

3.8.1. Determinación das constantes de afinidade (K_b) 97

3.8.2. Determinación das constantes de "quenching" (K_{SV}) 98

3.9 Estudos da interacción de H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3 con NMs de CuO e CdSe 100

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.9.1. Determinación da constante de "quenching" (K_{SV})..... 100

3.9.2. Determinación do número de dominios enlazantes "n" 101

3.9.3. Estudos dos ligandos como quimiosensores na detecciónsde NMs en disolución etanol-auga 101

3.9.4. Determinación dos valores de LOD e LOQ 102

3.9.5. Estudos de selectividade dos ligandos.....102

3.9.6. Estudos de inmobilización H_3L^3 en papel de celulosa .103

3.9.7. Medidas de reflectancia difusa de H_3L^3-celulosa 104

3.9.8. Medidas de coordenadas RGB de H_3L^3-celulosa 104

Capítulo 4: Quantum Dots de CdSe.....106

4.1. Síntese de CdSe-Cys QDs.....106

4.2. Caracterización estrutural de CdSe-Cys QDs 108

4.2.1. UV-Vis.....109

4.2.2. Espectroscopía de fluorescencia.....112

4.2.3. ATR-FTIR.....114

4.2.4. RMN-^{1}H.....117

4.2.5. SEM-EDX 120

Capítulo 5: Síntese e caracterización de DsA.....124

5.1. Síntese de DsA.....124

5.2. Caracterización de DsA: estrutura cristalina e xeometría optimizada.....126

5.3. Caracterización espectroscópica de DsA.....132

5.3.1. UV-Vis.....132

5.3.2. ATR-FTIR.....135

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.3.3. RMN-^{1}H.....138

5.3.4. Espectroscopía de fluorescencia.....140

Capítulo 6: Estudo de H_3L^1.....140

6.1. Síntese de H_3L^1.....140

6.2. Caracterización espectroscópica de H_3L^1.....141

6.2.1. ATR-FTIR.....141

6.2.2. UV-Vis.....142

6.2.3. RMN-^{1}H.....143

6.2.4. Espectroscopía de fluorescencia.....144

6.3. Estudo da interacción de H_3L^1 con Cu^{2+} e Cd^{2+}.....147

6.3.1. Síntese dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_3L^1.....148

6.3.2. Caracterización dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_3L^1 149

6.3.3. ATR-FTIR.....149

6.3.4. UV-Vis.....149

6.3.5. RMN-^{1}H.....151

6.3.6. Espectroscopía de fluorescencia.....153

6.4. Determinación das constantes de enlace de H_3L^1 con ións Cu^{2+} e Cd^{2+} 154

6.5. Estudo da interacción de H_3L^1 con NMs de CuO e CdSe 157

6.5.1. ATR-IR 158

6.5.2. RMN-^{1}H.....162

6.5.3. μ-XRF 163

6.5.4. SEM-EDX 165

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.5.5. Espectroscopía de fluorescencia 168

6.6. H_3L^1 en disolución etanol-auga como quimiosensor na detección de NMs de CuO e CdSe 173

Capítulo 7: Estudo de H_2L^2 180

7.1. Síntese de H_2L^2 180

7.2. Caracterización de H_2L^2: estrutura cristalina 182

7.3. Caracterización espectroscópica de H_2L^2 189

7.3.1. ATR-FTIR 189

7.3.2. UV-Vis 190

7.3.3. RMN-^{1}H 192

7.3.4. Espectroscopía de fluorescencia 193

7.4. Estudo da interacción de H_2L^2 con Cu^{2+} e Cd^{2+} 196

7.4.1. Síntese dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_2L^2 197

7.4.2. Caracterización dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_2L^2 198

7.4.3. ATR-FTIR 198

7.4.4. UV-Vis 200

7.4.5. RMN-^{1}H 202

7.4.6. Espectroscopía de fluorescencia 203

7.5. Determinación das constantes de enlace de H_2L^2 con ións Cu^{2+} e Cd^{2+} 204

7.6. Estudo da interacción de H_2L^2 con NMs de CuO e CdSe 207

7.6.1. ATR-FTIR 208

7.6.2. RMN-^{1}H 212

7.6.3. μ-XRF 214

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.6.4. SEM-EDX....216

7.6.5. Espectroscopía de fluorescencia....219

7.7. H_2L^2 como quimiosensor na detección de NPs de CuO e CdSe en disolución etanol-auga....224

Capítulo 8: Estudo de H_3L^3....230

8.1. Síntese de H_3L^3....235

8.2. Caracterización de H_3L^3: estrutura cristalina e xeometría optimizada....236

8.3. Caracterización espectroscópica de H_3L^3....242

8.3.1. ATR-FTIR....242

8.3.2. UV-Vis....245

8.3.3. RMN-^{1}H....247

8.3.4. Espectroscopía de fluorescencia....248

8.4. Estudo da interacción de H_3L^3 con Cu^{2+} e Cd^{2+}....251

8.4.1. Síntese dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_3L^3....252

8.4.2. Caracterización dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_3L^3....253

8.4.3. ATR-FTIR....253

8.4.4. UV-Vis....253

8.4.5. Estudos teóricos: DFT....257

8.4.6. RMN-^{1}H....258

8.4.7. Espectroscopía de fluorescencia....260

8.5. Determinación das constantes de enlace de H_3L^3 con ións Cu^{2+} e Cd^{2+}....262

8.6. Estudo da interacción de H_3L^3 con NMs de CuO e CdSe....265

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.6.1. ATR-FTIR 266

8.6.2. RMN-^{1}H..... 270

8.6.3. μ-XRF 272

8.6.4. SEM-EDX 274

8.6.5. Espectroscopía de fluorescencia 278

8.6.6. Estudos teóricos: DFT 283

8.7. H_3L^3 en disolución etanol-auga como quimiosensor na detección de NMs de CuO e CdSe 288

8.8. H_3L^3 inmobilizado en papel de celulosa como quimiosensor na detección de NPs de CuO e CdSe-Cys QDs 294

8.8.1. Inmobilización de H_3L^3 en papel de celulosa 294

8.8.2. Estudo de H_3L^3 inmobilizado en papel como sensor na detección de NPs de CuO e CdSe-Cys QDs 296

8.8.3. Detección de NPs de CuO e CdSe-Cys QDs con espectrofotometría UV-Vis/NIR 300

Capítulo 9: Conclusións 306

Capítulo 10: Relación de publicacións 312

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Resumo

A produción e uso masivo de nanomateriais (NMs) en múltiples ámbitos, tanto industriais como tecnolóxicos e sanitarios, provocou que os investigadores nos preocupásemos polos posíbeis efectos negativos que poden ter ditos NMs sobre a saúde humana. Esta preocupación provocou que nos últimos anos se levasen a cabo estudos de nanotoxicoloxía e nanoseguridade, ciencias que requiren métodos nanometrolóxicos fiables.

A finalidade desta tese doutoral é a síntese, caracterización e estudo de ligandos orgánicos que actúen como receptores para levar a cabo a determinación de nanomateriais en medios acuosos ou alcois. Esta investigación céntrase no uso da espectroscopía de fluorescencia e de UV-Vis para a detección de nanopartículas CuO e CdSe, así como quantum dots de CdSe funcionalizados con cisteína, empregando receptores capaces de interaccionar con eles, o que determinará un cambio nas súas propiedades ópticas.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Abreviaturas

a	ancha (en IR)
ATR	reflectancia total atenuada
c	cuadruplete (en RMN)
d	doblete (en RMN)
DFT	teoría do funcional da densidade
DMSO	dimetilsulfóxido
EDX	enerxía dispersiva de raios X
f	forte (en IR)
FTIR	espectroscopía infravermella con transformada de Fourier
J	constante de acoplamiento (en RMN)
M	media (en IR), multiplete (en RMN)
Mm	masa molecular
NIR	infravermello próximo
NMs	nanomateriais
NPs	nanopartículas
QDs	quantum dots
RMN	resonancia magnética nuclear
s	singlete (en RMN)
SEM	microscopía electrónica de barrido
t	triplete (en RMN)
UV-Vis	ultravioleta visible
μ-XRF	fluorescencia de raios X

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo 1

Introdución

1.1. A Nanotecnoloxía: unha visión máis de cerca

Nos últimos anos, os avances no desenvolvemento científico a escala atómica permitiron fortalecer un novo coñecemento, a nanotecnoloxía. Trátase dunha ciencia con carácter transdisciplinario, a cal permite converxer con outros tipos de coñecementos.[1] A nanotecnoloxía traballa na escala nanométrica (figura 1.1.1), ou o que é o mesmo, en tamaños mil veces máis pequenos que, por exemplo, un cabelo humano o que lle permite traballar con átomos, moléculas e células.

[1]Allhoff, F.; Lin, P.; Moore, D., *What is nanotechnology and why does it matter*. Wiley-Blackwell: Malden, MA, **2010**.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

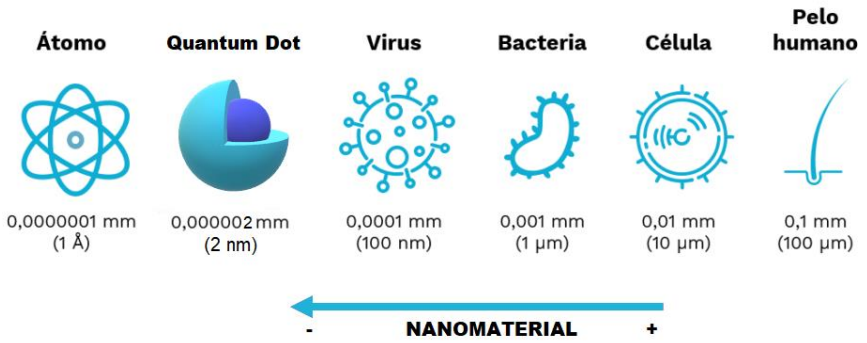


Figura 1.1.1: Escala nanométrica.

A nanotecnoloxía insírese directamente no campo do deseño, é dicir, conforma e sintetiza materiais a través do control a nanoescala da materia, para construír nanopartículas que teñan diferentes utilidades ás da materia orixinal.[1,2]

Esta tecnoloxía aproveita os novos fenómenos físicos relacionados cos efectos cuánticos que se presentan a esa escala de manipulación da materia. Constitúe unha nova tecnoloxía converxente, o que estimula o aumento da potencialidade das súas aplicacións. As propiedades electrónicas, magnéticas, ópticas e mecánicas das nanopartículas dependen de maneira directa do seu tamaño e pódense modificar variando a súa forma e dimensións. Por este motivo as nanopartículas resultan moi atractivas para fabricar dispositivos electrónicos e están destinadas a ter un papel realmente importante nas novas tecnoloxías do século XXI.[2]

[2]Zhuang, J.; Gentry, R. W.; Environmental Application and Risks of Nanotechnology: A Balanced View. In *Biotechnology and Nanotechnology Risk Assessment: Minding and Managing the Potential Threats around Us*, American Chemical Society: **2011**; 1079, 41-67.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Este é o principio de toda esta revolución chamada nanotecnoloxía, e aínda que o premio Nobel de Física 1965 Richard Feynman expuxo unha idea sobre a manipulación da materia a escala nanométrica, na súa famosa conferencia chamada "N*o fondo hai espazo dabondo*", tivo problemas para demostrala, xa que naquela época non dispoñía dos recursos tecnolóxicos para facelo. A pesar diso, é coñecido como o pai da nanotecnoloxía.[3]

Como consecuencia directa do desenvolvemento da nanotecnoloxía xorden os nanomateriais. As súas aplicacións esténdense a case todos os sectores industriais, no ámbito da cosmética, en preparados químicos industriais e incluso na elaboración de fármacos.[4] Debido ao seu uso xeneralizado, tanto os consumidores como os traballadores e o medio ambiente poden verse expostos a eles de formas moi distintas.[5]

A nanociencia, nanotecnoloxía e nanobiotecnoloxía non serían tan emocionantes como o son hoxe en día sen as nanoestruturas semicondutoras. Estes materiais reciben o nome de nanopartículas (NPs), dentro das cales atópanse principalmente os quantum dots (QDs) e as nanopartículas metálicas. Estudos levados a cabo ao longo deste século sobre estas nanoestruturas cristalinas contribuíron, de maneira moi significativa, ao avance e comprensión das propiedades estruturais,

[3]Bhushan, B.; Introduction to Nanotechnology. In *Springer Handbook of Nanotechnology*, Bhushan, B., Ed. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2017**; Chapter 1, 1-19.

[4]Zhang, F.; Grand Challenges for Nanoscience and Nanotechnology in Energy and Health. *Frontiers in chemistry* **2017,** 5, 80.

[5]Kahru, A.; Dubourguier, H. C.; From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology* **2009,** 269 (2), 105-119.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ópticas, electrónicas e magnéticas destes quantum dots e nanopartículas metálicas, afianzando unha vez máis a importancia da nanotecnoloxía.[4,6]

1.2. As nanopartículas: propiedades, aplicacións e toxicidade

Na actualidade, estanse levando a cabo numerosos estudos sobre este tipo de nanoestruturas, debido a súa extensa variedade de aplicacións. A importancia destes materiais descubriuse cando numerosos investigadores atoparon que o tamaño influía nas propiedades de dito material, por exemplo nas características ópticas do mesmo. Un exemplo son as NPs de Au, as cales en función do tamaño e forma, mostran cores e propiedades distintas. En función do radio, do grosor da nanocápsula e do porcentaxe de ouro presente a cor da disolución cambia, polo que a alteración de calquera destes tres factores inflúe de maneira directa nas propiedades de absorción, motivo polo cal obsérvanse diferentes cores.[7-9]

A maioría das NPs presentan unha forma esférica pero, nos últimos anos xurdiron novas técnicas de nanofabricación, dando lugar a

[6]Bera, D.; Qian, L.; Tseng, T.-K., *et al.*; Quantum Dots and Their Multimodal Applications: A Review. *Materials* **2010,** 3 (4), 2260-2345.

[7]Khan, I.; Saeed, K.; Khan, I.; Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry* **2019,** 12 (7), 908-931.

[8]Mohanraj, V. J.; Chen, Y.; Nanoparticles – A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research **2006**, 5 (1), 561-573.

[9]Garg, A.; Visht, S.; Kumar, P., et al.; Formulation, Characterization and Application on Nanoparticle: A Review. Der Pharmacia Sinica **2011**, 2 (2), 17-26.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

creación de NPs con diversos tamaños e formas, con propiedades xeométricas, físicas e químicas únicas.

Un exemplo son os "*nanorods*". Estas nanoestruturas son empregadas como un novo axente de contraste, tanto para a imaxe molecular como para a terapia fototérmica contra o cancro. Outro exemplos son os "*nanoworms*" superparamagnéticos, baseados en óxido de ferro, os cales están sendo estudados para empregalos na segmentación de tumores.[10-12]

Entre os campos mais prometedores están o biomédico, o electrónico e o óptico. Aínda que de forma xeral, as nanopartículas empréganse fundamentalmente no perfeccionamento e innovación de materiais xa existentes. Algunhas das aplicacións máis comúns son como sensores químicos, vidros autolimpiables, tintas magnéticas e condutoras, no tratamento de augas con procesos fotocatalíticos, en recubrimentos téxtiles repelentes de auga e sucidade; na área da electrónica, etc.[10-12]

Debido ao rápido desenvolvemento da nanotecnoloxía, a fabricación de nanomateriais con diversas formas e diámetros creceu de maneira exponencial en moi pouco tempo. Un claro exemplo son as NPs de TiO_2 e as NPs de ZnO (figura 1.2.1), empregadas con frecuencia como aditivos funcionais en diversos produtos cosméticos (principalmente en

[10]Akabri, B.; Tavandashti, M.; Zandrahimi, M.; Particle size characterization of nanoparticles - A practical approach. Choice Reviews Online **2010**, 47 (10), 47-5389.

[11]Luo, X.; Morrin, A.; Killard, A. J., et al.; Application of Nanoparticles in Electrochemical Sensors and Biosensors. Electroanalysis **2006**, 18 (4), 319-326.

[12]Xu, R.; Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement. Particuology **2008**, 6 (2), 112-115.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

cremas solares) para combater o envellecemento, debido á súa capacidade para absorber a radiación ultravioleta.[13-18]

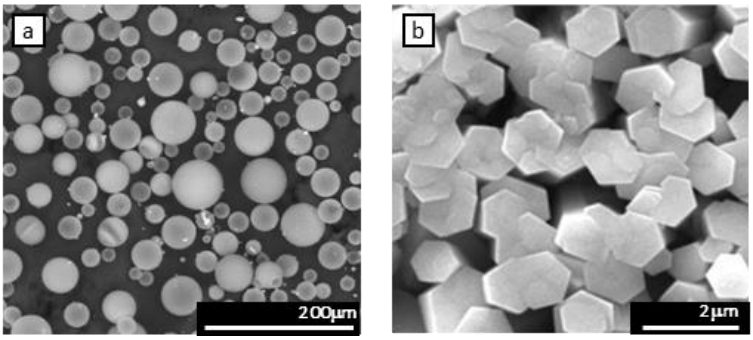


Figura 1.2.1: Fotografía realizada por microscopía SEM dunha mostra de (a)NPs de TiO_2 e (b) NPs de ZnO.

Hoxe en día coñécense miles de nanopartículas e diferentes materiais nanoestruturados e no futuro descubriranse máis, polo que é necesario avaliar a posible toxicidade destes materiais tanto en plantas, animais, seres humanos e no medio ambiente. Debido ao seu pequeno

[13]Kim, S.; An, Y.-J.; Effect of ZnO and TiO2 nanoparticles preilluminated with UVA and UVB light on Escherichia coli and Bacillus subtilis. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2012,** 95 (1), 243-253.

[14]Labille, J.; Feng, J.; Botta, C., *et al.*; Aging of TiO 2 nanocomposites used in sunscreen. Dispersion and fate of the degradation products in aqueous environment. *Environmental Pollution* **2010,** 158 (12), 3482-3489.

[15]Tyner, K. M.; Wokovich, A. M.; Godar, D. E., *et al.*; The state of nano-sized titanium dioxide (TiO2) may affect sunscreen performance. *International Journal of Cosmetic Science* **2011,** 33 (3), 234-244.

[16]Lewicka, Z. A.; Yu, W. W.; Oliva, B. L., *et al.*; Photochemical behavior of nanoscale TiO2 and ZnO sunscreen ingredients. *Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry* **2013,** 263, 24-33.

[17]Alka, L.; Anurag, V.; Himanshi, J., *et al.*; Nanotechnology-Based Cosmeceuticals. *ISRN dermatology* **2014,** 2014, 843687-14.

[18]Ma, H.; Williams, P. L.; Diamond, S. A.; Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles – A review. *Environmental Pollution* **2013,** 172, 76-85.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

tamaño e a gran relación entre a superficie e o volume, as nanopartículas teñen propiedades únicas en comparación coas partículas a nivel macromolecular. A composición química, o tamaño, a forma, a carga superficial e a área, xunto coa forma de entrada destes materiais nanoestruturados nos organismos vivos, poden influír de forma significativa na súa actividade biolóxica e provocar a súa vez, posíbeis efectos adversos.[19]

As NPs que conteñen óxido de cobre empregáronse amplamente en fluídos de transferencia de calor, como axentes antimicrobianos e en semiconductores. Con todo, demostrouse que as CuO NPs de pequeno tamaño afectan en gran medida á integridade da membrana celular e inducen estrés oxidativo, o que provoca unha elevada citotoxicidade e xenotoxicidade.[20]

Os impactos sobre as condicións ambientais naturais e as propiedades físico-químicas da toxicidade das nanopartículas de perovskita tamén se estudaron en varias investigacións.[21,22] Descubriuse que o destino e a toxicidade das nanopartículas de perovskita de chumbo nos microorganismos do chan estaban influídos polo pH, o ácido húmico e os cationes divalentes.[22] En xeral, a formación de agregados de

[19]Tan, K. X.; Barhoum, A.; Pan, S., *et al.*; Risks and toxicity of nanoparticles and nanostructured materials. **2018**, 121-139.

[20]Ahamed, M.; Siddiqui, M. A.; Akhtar, M. J., *et al.*; Genotoxic potential of copper oxide nanoparticles in human lung epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2010,** 396 (2), 578-583.

[21]Zhai, Y.; Hunting, E. R.; Wouterse, M., *et al.*; Importance of exposure dynamics of metal-based nano-ZnO, -Cu and -Pb governing the metabolic potential of soil bacterial communities. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2017,** 145, 349-358.

[22]Zhai, Y.; Wang, Z.; Wang, G., *et al.*; The fate and toxicity of Pb-based perovskite nanoparticles on soil bacterial community: Impacts of pH, humic acid, and divalent cations. *Chemosphere* **2020,** 249, 126564.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

perovskita, os ións Pb^{2+} liberados e a interacción entre a comunidade microbiana cos materiais con chumbo en diferentes medios de exposición contribúen á toxicidade xeral das nanopartículas de perovskita.[23]

Tamén cabe mencionar as NPs de HgSe, xa que hoxe en día aínda non se coñece con seguridade a súa toxicidade. O mercurio (Hg) é un dos elementos tóxicos máis frecuentes que está presente na natureza en diferentes formas moleculares. O papel do selenio (Se) na intoxicación por Hg, xa que exerce un efecto protector contra a toxicidade das especies de Hg, foi amplamente estudado durante décadas.[24,25] Varios estudos mostraron evidencias que suxiren a formación de nanopartículas de seleniuro de mercurio como o produto metabólico final no mecanismo de desintoxicación do Hg.[26-28]

Con todo, a información dispoñible ata o momento sobre o proceso metabólico e a toxicidade das NPs de HgSe é preliminar, debido

[23]Ren, M.; Qian, X.; Chen, Y., *et al.*; Potential lead toxicity and leakage issues on lead halide perovskite photovoltaics. *Journal of Hazardous Materials* **2022,** *426*, 127848.

[24]Yoneda, S.; Suzuki, K. T.; Detoxification of Mercury by Selenium by Binding of Equimolar Hg–Se Complex to a Specific Plasma Protein. *Toxicology and Applied Pharmacology* **1997,** 143 (2), 274-280.

[25]García-Sevillano, M. A.; Rodríguez-Moro, G.; García-Barrera, T., *et al.*; Biological interactions between mercury and selenium in distribution and detoxification processes in mice under controlled exposure. Effects on selenoprotein. *Chemico-Biological Interactions* **2015,** *229*, 82-90.

[26]Gailer, J.; George, G. N.; Pickering, I. J., *et al.*; Structural Basis of the Antagonism between Inorganic Mercury and Selenium in Mammals. *Chemical Research in Toxicology* **2000,** *13* (11), 1135-1142.

[27]Khan, M. A. K.; Wang, F.; Chemical Demethylation of Methylmercury by Selenoamino Acids. *Chemical Research in Toxicology* **2010,** 23 (7), 1202-1206.

[28]Asaduzzaman, A. M.; Schreckenbach, G.; Degradation Mechanism of Methyl Mercury Selenoamino Acid Complexes: A Computational Study. *Inorganic Chemistry* **2011,** 50 (6), 2366-2372.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

principalmente á falta de patróns, estándares e materiais axeitados que poidan utilizarse en estudos *in vitro* e *in vivo*.[29]

Cid-Barrio *et al.* foron capaces de elaborar patróns para a detección e cuantificación das NPs de HgSe, os cales presentaban unha notable fluorescencia. Demostraron que as NPs de HgSe son internalizadas eficientemente polas células humanas e almacenadas nos seus propios citosoles. Un dato curioso é que, o Hg en forma de NPs de HgSe non induce ningún efecto negativo sobre a viabilidade e proliferación celular a concentracións ás que as especies químicas orgánicas e inorgánicas baseadas en Hg se coñece que inducen unha citotoxicidade aguda.[30]

Esta tese doutoral, dentro do estudo de diferentes nanomateriais, céntrase no estudo e determinación de nanopatículas de CuO, CdSe e dun tipo de quantum dots, dos cales se fala máis adiante neste capítulo.

1.2.1. As *nanopartículas de CuO*

Os óxidos metálicos son materiais tecnolóxicos de gran importancia, xa que son empregados nunha gran variedade de aplicacións, desde catalizadores ata na fabricación de células fotovoltaicas.[31,32] Debido

[29]Lewinski, N.; Colvin, V.; Drezek, R.; Cytotoxicity of Nanoparticles. *Small* **2008,** 4 (1), 26-49.

[30]Cid-Barrio, L.; Bouzas-Ramos, D.; Salinas-Castillo, A., *et al.*; Quantitative assessment of cellular uptake and differential toxic effects of HgSe nanoparticles in human cells. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **2020,** 35 (9), 1979-1988.

[31]Zhang, F.; Grand Challenges for Nanoscience and Nanotechnology in Energy and Health. *Frontiers in chemistry* **2017,** 5, 80.

[32]Grigore, M. E.; Biscu, E. R.; Holban, A. M., *et al.*; Methods of Synthesis, Properties and Biomedical Applications of CuO Nanoparticles. *Pharmaceuticals* **2016,** 9 (4), 75.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ás múltiples aplicacións que presentan en tecnoloxías avanzadas,[33,34] nos últimos anos moitos grupos de investigación centráronse máis na síntese de nanopartículas, e especialmente de CuO (figura 1.2.2). Estas nanopartículas atraeron unha maior atención, debido a que o cobre é un dos elementos máis importantes e máis usados no desenvolvemento de tecnoloxías e conséguese facilmente. Ademáis, este tipo de NPs están consideradas, de forma xenérica, como non tóxicas para os seres vivos. De feito, unha das súas aplicacións máis comúns é o seu uso no tratamento de augas, como un adsorbente moi eficaz de diferentes contaminantes.[35]

O interese crecente que existe polas NPs de CuO débese esencialmente ás súas propiedade ópticas, catalíticas, mecánicas e eléctricas.[33,34]

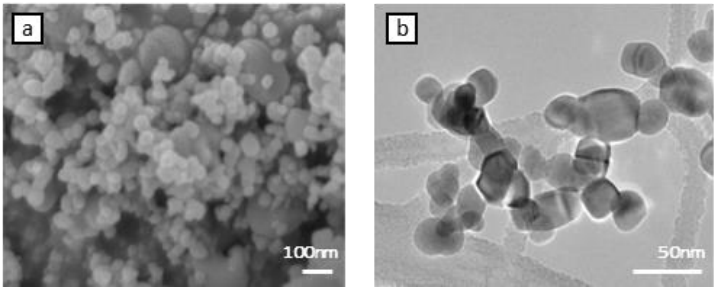


Figura 1.2.2: (a) Imaxe realizada por microscopía SEM e (b) imaxe realizada por microscopía TEM das NPs de CuO.

[33]Ahamed, M.; Alhadlaq, H. A.; Khan, M. A. M., *et al.*; Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activity of Copper Oxide Nanoparticles. *Journal of Nanomaterials* **2014,** 2014.

[34]El-Trass, A.; ElShamy, H.; El-Mehasseb, I., *et al.*; CuO nanoparticles: Synthesis, characterization, optical properties and interaction with amino acids. *Applied Surface Science* **2012,** 258 (7), 2997-3001.

[35]Assadian, E.; Zarei, M. H.; Gilani, A. G., *et al.*; Toxicity of Copper Oxide (CuO) Nanoparticles on Human Blood Lymphocytes. *Biological Trace Element Research* **2018,** 184 (2), 350-357.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Outra das aplicacións máis relevantes, e de especial interese, é a súa actividade antimicrobiana. As propiedades bactericidas destas nanopartículas depende fundamentalmente do seu tamaño, estabilidade e da concentración. Estas NPs tamén son moi empregadas na industria cosmética e téxtil, polo seu amplo espectro antimicrobiano e antifúngico.[33,36]

Desgraciadamente, está a xurdir certa preocupación polos posibles efectos adversos que a súa liberación podería ter sobre a saúde e o medio ambiente.[35] Varios estudos afirman que estas NPs poderían ter impactos negativos sobre diferentes organismos vivos.[37–39]

Unha cuestión adicional, relacionada coa súa presenza na natureza é que aínda non se coñece en profundidade o seu comportamento nas contornas naturais, especialmente a medio e longo prazo. Avaliar adecuadamente o seu potencial impacto é un factor clave. É de coñecemento xeral, que a superficie dos NMs desempeña un papel fundamental á hora de determinar tanto os seus beneficios como a súa nocividade. Así, todas as interaccións que se produzan na súa superficie marcarán o seu comportamento ambiental, tanto en termos de reactividade como de evolución e inmobilización. En consecuencia,

[36]Delgado, K.; Quijada, R.; Palma, R., *et al.*; Polypropylene with embedded copper metal or copper oxide nanoparticles as a novel plastic antimicrobial agent. *Letters in Applied Microbiology* **2011,** 53 (1), 50–54.

[37]Naz, S.; Gul, A.; Zia, M.; Toxicity of copper oxide nanoparticles: a review study. *IET Nanobiotechnology* **2020,** 14 (1), 1–13.

[38]Navarro Pacheco, N. I.; Roubalova, R.; Dvorak, J., *et al.*; Understanding the toxicity mechanism of CuO nanoparticles: the intracellular view of exposed earthworm cells. *Environmental Science: Nano* **2021,** 8 (9), 2464–2477.

[39]Zhao, J.; Ren, W.; Dai, Y., *et al.*; Uptake, Distribution, and Transformation of CuO NPs in a Floating Plant Eichhornia crassipes and Related Stomatal Responses. *Environmental Science & Technology* **2017,** 51 (13), 7686–7695.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

parece necesario seguir profundando na investigación da súa química de superficie, e particularmente na química de coordinación.[40-43]

1.2.2. As *nanopartículas de CdSe*

As nanopartículas semicondutoras calcoxénicas e as estruturas de autoensamblaxe que forman, convertéronse nestes últimos anos no grupo de nanomateriais semicondutores máis explorado e estudado debido á interese física relacionada co confinamento cuántico, a química de superficie e a variedade de aplicacións que presentan.

O desenvolvemento dos nanomateriais de seleniuro de cadmio remóntase 20 anos atrás, centrada en gran medida no control do tamaño e a forma.[44-46] O interese crecente nestes materiais foi o resultado das súas propiedades ópticas, as cales dependen directamente do tamaño.[47,48] Este

[40]Peng, C.; Xu, C.; Liu, Q., *et al.*; Fate and Transformation of CuO Nanoparticles in the Soil–Rice System during the Life Cycle of Rice Plants. *Environmental Science & Technology* **2017,** 51 (9), 4907-4917.

[41]Navratilova, J.; Praetorius, A.; Gondikas, A., *et al.* Detection of Engineered Copper Nanoparticles in Soil Using Single Particle ICP-MS *International Journal of Environmental Research and Public Health* [Online], 2015, p. 15756-15768.

[42]Sanmartín-Matalobos, J.; García-Deibe, A. M.; Fondo, M., *et al.*; Exploration of an easily synthesized fluorescent probe for detecting copper in aqueous samples. *Dalton Transactions* **2017,** 46 (45), 15827-15835.

[43]Sanmartín-Matalobos, J.; García-Deibe, A.; Zarepour-Jevinani, M., *et al.*; Exploring the Chelating Potential of an Easily Synthesized Schiff Base for Copper Sensing. *Crystals* **2020,** 10 (3), 235.

[44]Klimov, V. I.; Mikhailovsky, A. A.; Xu, S., *et al.*; Optical Gain and Stimulated Emission in Nanocrystal Quantum Dots. *Science* **2000,** 290 (5490), 314-317.

[45]Alivisatos, A. P.; Semiconductor Clusters, Nanocrystals, and Quantum Dots. *Science* **1996,** 271 (5251), 933-937.

[46]Peng, X.; Schlamp, M. C.; Kadavanich, A. V., *et al.*; Epitaxial Growth of Highly Luminescent CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals with Photostability and Electronic Accessibility. *Journal of the American Chemical Society* **1997,** 119 (30), 7019-7029.

[47]Trindade, T.; O'Brien, P.; Pickett, N. L.; Nanocrystalline Semiconductors: Synthesis, Properties, and Perspectives. *Chemistry of Materials* **2001,** 13 (11), 3843-3858.

[48]Colvin, V. L.; Schlamp, M. C.; Alivisatos, A. P.; Light-emitting diodes made from cadmium selenide nanocrystals and a semiconducting polymer. *Nature* **1994,** 370 (6488), 354-357.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

feito supón que os nanomateriais de CdSe sexan unha opción moi atractiva na realización de etiquetaxe biolóxica, no campo da biomedicina.[49] Tamén son moi empregadas na manufacturación de dispositivos optoelectrónicos, diodos láser, nanosensores e cabe destacar o seu uso na fabricación de células solares de alta eficiencia.[50]

O incremento no consumo destas NPs en diversos sectores como o electrónico, a agricultura, a medicina, a industria farmacéutica, etc provocou un aumento considerable na produción de residuos. Estes residuos rematan, na súa gran maioría, no en ecosistemas mariños danando aos organismos vivos que viven. Un exemplo son as plantas mariñas, as cales serven de alimento para diversas especies acuáticas. Polo tanto, os estudos nanotoxicolóxicos céntranse non só nas características físicas e químicas dos nanomateriais, senón que tamén na saúde dos organismos afectados por ditas NPs.[51]

Diversos estudos científicos demostraron que as nanopartículas se adhiren á superficie da parede celular e ás membranas celulares facilitando a súa penetración nas propias células e provocando diferentes efectos adversos.[52] Un exemplos son as NPs de CdSe, as cales liberan ións Cd^{2+} ao medio a medida que se van degradando, contaminando ás células. O impacto citotóxico do Cd^{2+} está amplamente estudado e probado.[53]

[49]Tai, G. a.; Zhou, J.; Guo, W.; Inorganic salt-induced phase control and optical characterization of cadmium sulfide nanoparticles. *Nanotechnology* **2010,** *21* (17), 175601.

[50]Chan, W. C. W.; Nie, S.; Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. *Science* **1998,** *281* (5385), 2016–2018.

[51]Fischer, H. C.; Chan, W. C. W.; Nanotoxicity: the growing need for in vivo study. Current Opinion in Biotechnology 2007, 18 (6), 565–571.

[52]Siddiqi, K. S.; Husen, A.; Plant Response to Engineered Metal Oxide Nanoparticles. Nanoscale Research Letters 2017, 12 (1), 92.

[53]Benavides, M. P.; Gallego, S. M.; Tomaro, M. L.; Cadmium toxicity in plants. Braz. J. Plant Physiol. 2005, 17, 21–34.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tarrahi *et al.* levaron a cabo unha serie de estudos biolóxicos para determinar a toxicidade das NPs de CdSe en plantas mariñas. Chegaron á conclusión de que estas NPs son altamente tóxicas para as plantas e ademáis, son un estimulante para o seu sistema de defensa, o que provoca a eliminación das especies reactivas de osíxeno (ROS) que producen as propias plantas.[54]

Comprender a estabilidade destas nanopartículas en diferentes medios, é un primeiro paso esencial para a avaliación dos seus riscos.[55-59] Demostrouse que a súa estabilidade inflúe directamente na súa toxicidade,[29,60,61] o que aumenta a necesidade de comprender o comportamento das suspensións das nanopartículas de CdSe. En xeral, a estabilidade está definida principalmente por propiedades químicas e

[54]Tarrahi, R.; Movafeghi, A.; Khataee, A., *et al.*; Evaluating the Toxic Impacts of Cadmium Selenide Nanoparticles on the Aquatic Plant Lemna minor. *Molecules* **2019,** *24* (3), 410.

[55]Dhawan, A.; Taurozzi, J. S.; Pandey, A. K., et al.; Stable Colloidal Dispersions of C60 Fullerenes in Water: Evidence for Genotoxicity. Environmental Science & Technology **2006**, 40 (23), 7394-7401.

[56]Franklin, N. M.; Rogers, N. J.; Apte, S. C., *et al.*; Comparative Toxicity of Nanoparticulate ZnO, Bulk ZnO, and ZnCl2 to a Freshwater Microalga. *Envir. Sci. & Tech.* **2007,** *41* (24), 8484-8490.

[57]Handy, R. D.; von der Kammer, F.; Lead, J. R., *et al.*; The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology* **2008,** *17* (4), 287-314.

[58]Nowack, B.; Bucheli, T. D.; Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution* **2007,** 150 (1), 5-22.

[59]Simonet, B. M.; Valcárcel, M.; Monitoring nanoparticles in the environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2009,** 393 (1), 17-21.

[60]Aldana, J.; Wang, Y. A.; Peng, X.; Photochemical Instability of CdSe Nanocrystals Coated by Hydrophilic Thiols. *Journal of the American Chemical Society* **2001,** *123* (36), 8844-8850.

[61]Mulvihill, M. J.; Habas, S. E.; Jen-La Plante, I., *et al.*; Influence of Size, Shape, and Surface Coating on the Stability of Aqueous Suspensions of CdSe Nanoparticles. *Chemistry of Materials* **2010,** *22* (18), 5251-5257.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

físicas, nas que están incluídas o tamaño,[60-63] a forma, a composición,[56,64-66] e o recubrimento da superficie.[67-70]

Estudos preliminares sobre os efectos dos ligandos na estabilidade dos nanomateriais de CdSe demostraron o importante papel que desempeñan tanto o pH como a fotoquímica.[60,62] Aldana *et al*. empregando a espectroscopía UV-Vis puideron caracterizar a estabilidade relativa das nanopartículas de CdSe, con diferentes tamaños e con tioles de cadea curta sobre a súa superficie. A conclusión á que chegaron foi que as partículas máis pequenas eran estables nun rango de pH máis amplo, debido ás fortes interaccións entre a superficie das nanopartículas e os ligandos de recubrimento.[62] Estes resultados, xunto con traballos anteriores realizados sobre outros tioles hidrofóbicos en solucións orgánicas,[60] apuntan á importancia primordial da interacción CdSe NPs-

[62]Aldana, J.; Lavelle, N.; Wang, Y., *et al.*; Size-Dependent Dissociation pH of Thiolate Ligands from Cadmium Chalcogenide Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* **2005,** 127 (8), 2496-2504.

[63]Liu, J.; Aruguete, D. M.; Murayama, M., *et al.*; Influence of Size and Aggregation on the Reactivity of an Environmentally and Industrially Relevant Nanomaterial (PbS). *Environmental Science & Technology* **2009,** 43 (21), 8178-8183.

[64]Puzyn, T.; Leszczynska, D.; Leszczynski, J.; Toward the Development of "Nano-QSARs": Advances and Challenges. *Small* **2009,** 5 (22), 2494-2509.

[65]Adams, L. K.; Lyon, D. Y.; Alvarez, P. J. J.; Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO2, SiO2, and ZnO water suspensions. *Water Research* **2006,** 40 (19), 3527-3532.

[66]Kirchner, C.; Liedl, T.; Kudera, S., *et al.*; Cytotoxicity of Colloidal CdSe and CdSe/ZnS Nanoparticles. *Nano Letters* **2005,** 5 (2), 331-338.

[67]Dederichs, T.; Möller, M.; Weichold, O.; Temperature-Dependent Colloidal Stability of Hydrophobic Nanoparticles Caused by Surfactant Adsorption/Desorption and Depletion Flocculation. *Langmuir* **2009,** 25 (18), 10501-10506.

[68]Faure, A.-C.; Dufort, S.; Josserand, V., *et al.*; Control of the in vivo Biodistribution of Hybrid Nanoparticles with Different Poly(ethylene glycol) Coatings. *Small* **2009,** 5 (22), 2565-2575.

[69]Ji, X.; Copenhaver, D.; Sichmeller, C., *et al.*; Ligand Bonding and Dynamics on Colloidal Nanocrystals at Room Temperature: The Case of Alkylamines on CdSe Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* **2008,** 130 (17), 5726-5735.

[70]Schrier, J.; Wang; On the Size-Dependent Behavior of Nanocrystal–Ligand Bonds. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006,** 110 (24), 11982-11985.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ligando para ditar a estabilidade das propias suspensións de nanopartículas.

1.3. Os Quantum Dots

1.3.1. *Qué son estas estruturas?*

Os quantum dots son esencialmente nanopartículas semicondutoras fluorescentes.[71] Esta estruturas nanocristalinas semicondutoras poden conter dende un só electrón ata varios miles[72] e presentan radios que abarcan dende 1 ata os 10 nm aproximadamente. O seu tamaño, forma e interaccións pódense deseñar e controlar con precisión mediante o uso de tecnoloxías avanzadas de nanofabricación.[73]

Este tipo de nanopartículas semicondutoras exemplifican unha importante tendencia na física da materia condensada, na cal os investigadores céntranse en estudar obxectos feitos polo home en lugar de átomos ou núcleos. Como nun átomo, os niveis de enerxía nun punto cuántico están cuantificados debido ó confinamento dos electróns.[74]

[71]Jin, Y.; Gao, X.; Plasmonic fluorescent quantum dots. *Nature nanotechnology* **2009,** 4 (9), 571-576.

[72]Fölsch, S.; Martínez-Blanco, J.; Yang, J., *et al.*; Quantum dots with single-atom precision. *Nature nano* **2014,** 9 (7), 505-508.

[73]Rogach, A. L., *Semiconductor Nanocrystal Quantum Dots: Synthesis, Assembly, Spectroscopy and Applications*. SpringerWienNewYork: Austria, **2008**; 35-37.

[74]Ozkan, M.; Quantum dots and other nanoparticles: what can they offer to drug discovery? *DDT* **2004,** 9, 1065-1071.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Estes materiais nanométricos defínense como partículas con dimensións físicas máis pequenas que o radio de Bohr do excitón.[75,76] Nun semicondutor a excitación dun electrón dende a banda de valencia á banda de condución produce unha carga positiva ou un "*oco*" en dita banda de valencia. O par formado polo "*electrón-oco*" é o que recibe o nome de excitón, sendo a distancia existente entre ambas cargas o que se relaciona directamente co radio de Bohr do excitón.[53]

A estrutura xeral dos QDs (figura 1.3.1) pódese describir como un núcleo de composición uniforme recuberto por unha codia, formada xeralmente por un composto diferente ao do propio núcleo. Estes nanomateriais son os denominados "*core/shell*" quantum dots, CS QDs. Á hora de funcionalizar estes materiais nanoestruturados os ligandos interaccionan cos elementos presentes na codia, o que lles confire propiedades como hidrosolubilidade, biocompatibilidade, etc.

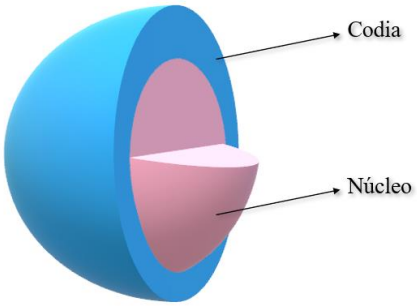


Figura 1.3.1: Estrutura simplificada dun quantum dot binario.

[75]Chan, W. C. W.; Maxwell, D. J.; Gao, X., *et al.*, Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging. Elsevier Ltd: England, **2002**; 13, 40-46.

[76]Tigaa, R. A.; Lucas, G. J.; de Bettencourt-Dias, A.; ZnS Nanoparticles Sensitize Luminescence of Capping-Ligand-Bound Lanthanide Ions. *Inorganic Chemistry* **2017,** 56 (6), 3260-3268.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Existen múltiples maneiras á hora de clasificar estes materiais nanoestructurados. En función do número de elementos que conformen a estrutura do QD pódense clasificar como simples ou unitarios, binarios, ternarios, etc.[77]

Os QDs simples ou unitarios[78,79] son materiais formados por un único elemento, como os QDs de Si ou de Ge, cunha estrutura uniforme.

Os binarios[80–82] son os máis comúns, dentro dos cales os formados por anfíxenos de metais como Cd, Pb ou Zn son os máis habituais. Por último, os QDs ternarios son pouco comúns, e como o seu propio nome indica, consisten en nanoestruturas formadas por compostos de tres elementos, como por exemplo CdTeSe, $Cd_xMo_{1-x}Se$[83] ou CdSAg.[84]

Os QDs máis comúns son os que presentan unha estrutura como a que se mostra na figura 1.3.1, os denominados CS QDs. Con respecto a estes materiais, o método de clasificación máis empregado baséase nas posicións relativas dos estados de menor enerxía para o electrón ($1S_e$) e o

[77]Bera, D.; Qian, L.; Tseng, T.-K., *et al.*; Quantum Dots and Their Multimodal Applications: A Review. *Materials* **2010,** 3 (4), 2260-2345.

[78]Franceschetti, A.; Zunger, A.; Pseudopotential calculations of electron and hole addition spectra of InAs, InP, and Si quantum dots. *Physical review. B, Condensed matter* **2000,** 62 (4), 2614-2623.

[79]Dvurechenskii, A. V.; Nenashev, A. V.; Yakimov, A. I.; Electronic structure of Ge/Si quantum dots. *Nanotechnology* **2002,** 13 (1), 75-80.

[80]Yuan, D.; Xiao, L.; Luo, J., *et al.*; High-Throughput Screening and Optimization of Binary Quantum Dots Cosensitized Solar Cell. *Appl. Mater. Interfaces* **2016,** 8 (Generic), 18150-18156.

[81]Ghasemi, Y.; Peymani, P.; Afifi, S.; Quantum dot: magic nanoparticle for imaging, detection and targeting. *Acta bio-medica de l'Ateneo Parmense* **2009,** 80 (2), 156.

[82]Levchenko, I.; Rider, A.; Ostrikov, K.; Control of core-shell structure and elemental composition of binary quantum dots. *Applied Physics Letters* **2007,** 90 (19), 193110-3.

[83]Han, J. S.; Liu, Y.; Wang, Y., *et al.*; Construction of ternary CdxMo1-xSe quantum dots for enhanced photocatalytic hydrogen production. *J. Mater. Sci.* **2020,** 55 (3), 1117-1125.

[84]Ordenes-Aenishanslins, N.; Anziani-Ostuni, G.; Monras, J. P., *et al.*; Bacterial Synthesis of Ternary CdSAg Quantum Dots through Cation Exchange. *Microorganisms* **2020,** 8 (5), 19.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

oco ($1S_h$)[85] tanto no núcleo como na codia. Este sistema de clasificación recoñece catro tipos de QDs: tipo I, tipo I inverso, tipo II e tipo II inverso.

- Tipo I (CdSe/ZnS): neste tipo a banda de condución da codia é de maior enerxía que a correspondente do núcleo, mentres que a banda de valencia da codia é de menor enerxía que a do núcleo. Como resultado a parella "e^-oco" atópase no núcleo do punto cuántico, polo que as funcións de onda dos electróns e dos ocos neste caso tenden a estar confinadas no propio núcleo. Os QDs de tipo I exhiben unha alta fotoluminiscencia xa que o confinamento de ambos portadores no núcleo aumenta o solapamento das súas funcións de onda, reducíndose o quenching de fotoluminiscencia.[85-87]
- Tipo I inverso (ZnSe/CdSe): a aliñación das bandas de valencia e de condución é similar ás de tipo I pero neste caso o confinamento de ambos portadores ten lugar na codia e non no núcleo do punto cuántico. Esto débese a que as funcións de onda dos electróns e dos ocos atópanse principalmente na codia xa que neste tipo de

[85]Cao, J.; Jiang, Z.-J.; Thickness-dependent Shell Homogeneity of ZnSe/CdSe Core/Shell Nanocrystals and Their Spectroscopic and Electron- and Hole-transfer Dynamics Properties. *Journal of physical chemistry. C* **2020,** *124* (22), 12049-12064.

[86]Kim, S.; Fisher, B.; Eisler, H.-J., *et al.*; Type-II Quantum Dots: CdTe/CdSe(Core/Shell) and CdSe/ZnTe(Core/Shell) Heterostructures. *Journal of the American Chemical Society* **2003,** *125* (38), 11466-11467.

[87]Huang, K.; Demadrille, R.; Silly, M. G., *et al.*; Internal Structure of InP/ZnS Nanocrystals Unraveled by High-Resolution Soft X-ray Photoelectron Spectroscopy. *ACS Nano* **2010,** *4* (8), 4799-4805.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

semicondutores é aí onde se atopa o estado de menor enerxía para ambos portadores de carga.[85,88]

- Tipo II (CdTe/CdSe): nos QDs de tipo II, as bandas de valencia e de condución do núcleo presentan unha enerxía menor que as correspondentes da codia. Os estados $1S_e$ e $1S_h$ non están ubicados na mesma zona, é dicir, localízanse no núcleo e na codia respectivamente. Como consecuencia disto, prodúcese a separación das funcións de onda de ambos portadores, polo que a vida útil radiativa que presentan é relativamente máis larga. Este feito supón que sexan moi apropiados para empregalos en aplicacións fotovoltaicas ou de fotocondución, onde os QDs actúan como cromóforos emisores.[86,89-91]
- Tipo II inverso (CdS/ZnSe): nestes materiais nanométricos acontece o mesmo que nos de tipo II, pero de xeito inverso. Os estados $1S_e$ e $1S_h$ localízanse na codia e no núcleo, respectivamente. Existen discrepancias na bibliografía á hora de facer unha distinción entre o tipo II e o tipo II inverso xa que en moitos estudos este grupo non

[88]Jin, X.; Bai, J.; Gu, X., *et al.*; Efficient light-emitting diodes based on reverse type-I quantum dots. *Optical materials express* **2017,** 7 (12), 4395-4407.

[89]Vasudevan, D.; Gaddam, R. R.; Trinchi, A., *et al.*; Core–shell quantum dots: Properties and applications. *J Alloys and Compounds* **2015,** 636, 395-404.

[90]Zhu, J.; Wang, S.-N.; Li, J.-J., *et al.*; The effect of core size on the fluorescence emission properties of CdTe@CdS core@shell quantum dots. *Journal of Luminescence* **2018,** 199, 216-224.

[91]Piryatinski, A.; Ivanov, S. A.; Tretiak, S., *et al.*; Effect of quantum and dielectric confinement on the exciton-exciton interaction energy in type II core/shell semiconductor nanocrystals. *Nano Letters* **2007,** 7 (1), 108-115.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

se subdivide, senón que se interpreta como un único tipo.[92]

Na figura 1.3.2 amósase de xeito esquemático o movemento electrónico que ten lugar en cada un dos catro tipos.

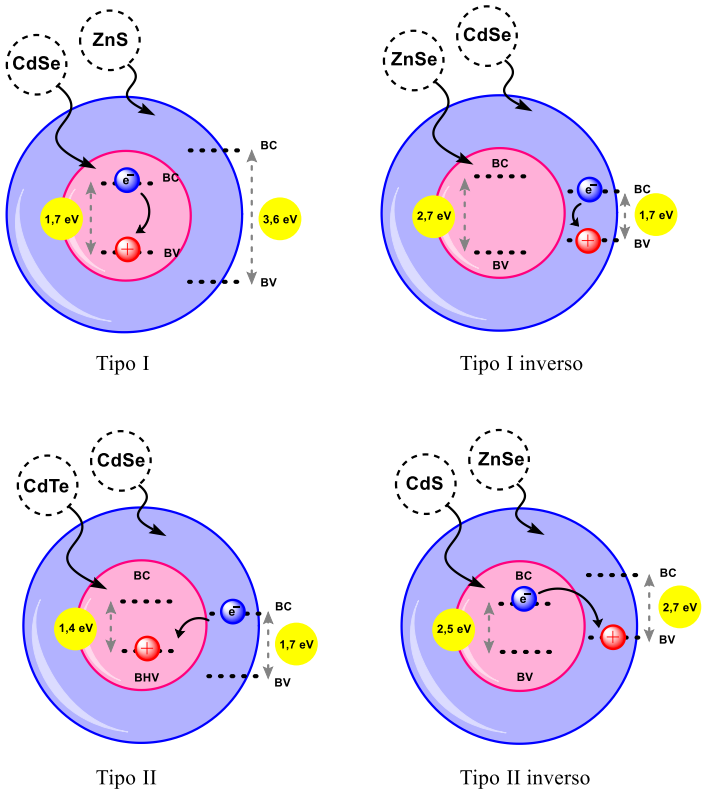


Figura 1.3.2: Esquema dos catro tipos de QDs binarios.

[92]Chuang, C.-H.; Lo, S. S.; Scholes, G. D., *et al.*; Charge Separation and Recombination in CdTe/CdSe Core/Shell Nanocrystals as a Function of Shell Coverage: Probing the Onset of the Quasi Type-II Regime. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2010,** 1 (17), 2530-2535.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Debido a que o movemento electrónico está restrinxido ás tres dimensións, un punto cuántico é as veces coñecido como un sistema de dimensión cero. A condutancia a través dun punto cuántico caracterízase pola coherencia cuántica que presenta. Os QDs pertencen a unha clase de sistemas chamados mesoscópicos, por *van Kampen*,[93] os cales son uns sistemas intermedios entre os microscópicos (como os núcleos e átomos) e a materia macroscópica.[94] Un sistema denomínase mesoscópico cando a lonxitude da coherencia de fase do electrón L_ϕ (distancia que o electrón viaxa sen perder a coherencia de fase) é maior ou comparable ao tamaño do sistema L. A coherencia de fase vese afectada polo axuste do electrón a súa contorna, e os procesos de ruptura de fase implican un cambio no estado do medio. Na maioría dos casos, a coherencia de fase pérdese nas dispersións inelásticas.[95]

Os QDs descríbense a miúdo como átomos artificiais, esta descrición ten a súa orixe nas dimensións e número de átomos que existen neste sistema, o cal depende dunha serie de factores, incluíndo o tipo de enlace e a forza da unión entre átomos. Para os átomos illados obsérvanse picos de emisión luminescentes, pero para unha nanopartícula composta de aproximadamente 100-10000 átomos, obsérvanse distintos espectros de liñas ópticas estreitas.[96]

[93]van Kampen, N. G., *Stochastic Processes in Physics and Chemistry*. North Holland Publishing Company: Amsterdam, **1981**; Vol. 1, 465.

[94]E. Akkermans, G. M., J.-L. Pichard, Jean Zinn-Justin, *Mesoscopic Quantum Physics*. Amsterdam, **1996**; 61, 840.

[95]Alhassid, Y.; The statistical theory of quantum dots. *Mod. Phys.* **2000,** 72 (4), 895-968.

[96]Lan, H.; Ding, Y.; Ordering, positioning and uniformity of quantum dot arrays. *Nano Today* **2012,** 7 (2), 94-123.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.3.2. *Propiedades máis relevantes dos QDs*

Os QDs son un exemplo de materiais nanoestruturados, os cales benefícianse do efecto cuántico fortemente dependente do tamaño dos propios nanocristais.[97] Existe unha dependencia con respecto ao tamaño dos espectros de absorción e luminescencia dos nanocristais. Esta dependencia ten a súa orixe no efecto cuántico que presentan, o cal modifica drasticamente a enerxía do espectro das cuasipartículas tridimensionalmente confinadas. Tanto as propiedades ópticas lineais como as non lineais, destes pequenos nanocristais semicondutores, xorden como resultado das transicións entre os niveis de tamaño cuántico dos electróns e os ocos ("*gaps*").[98,99]

Os rápidos avances na síntese dos QDs e a fotofísica[100] supuxeron un enorme adianto no control sobre o tamaño, forma e composición destas nanopartículas. Os QDs conteñen portadores de carga, cuxo confinamento significa que ocupan niveis discretos de enerxía similares ós electróns dun átomo. O forte confinamento que experimentan os portadores de carga tamén inflúe nos diversos mecanismos que interveñen no transporte de cargas, incluíndo a deslocalización, o rango variable de salto,[101] a relaxación lenta do portador e as interaccións entre

[97]Sargent, E. H.; Konstantatos, G.; Nanostructured materials for photon detection. *Nature Nanotechnology* **2010,** 5 (6), 391-400.

[98]Efros, A. L.; Rosen, M.; The Electronic Structure of Semiconductor Nanocrystals. *Annual Review of Materials Science* **2000,** 30 (1), 475-521.

[99]Brus, L. E.; A simple model for the ionization potential, electron affinity, and aqueous redox potentials of small semiconductor crystallites. *The Journal of Chemical Physics* **1983,** 79 (11), 5566-5571.

[100]Brus, L.; Electronic wave functions in semiconductor clusters: experiment and theory. *The Journal of Physical Chemistry* **1986,** 90 (12), 2555-2560.

[101]Yu, D.; Wang, C.; Wehrenberg, B. L., *et al.*; Variable Range Hopping Conduction in Semiconductor Nanocrystal Solids. *Physical review letters* **2004,** 92 (21), 216802.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

electróns e ocos ("*gaps*") presentes.[102,103] En termos máis xerais, a multiplicación destes portadores ("*efecto multi-carrier*") pode supoñer unha mellora no procesamento de sinais ópticos e na recolección de enerxía fotovoltaica.[97]

En termos de espectroscopía electrónica, os QDs amosan un espectro electrónico que consiste en estados atómicos ben separados. O espazo entre estados aumenta a medida que o tamaño destes materiais se vai reducindo.[98,100] Cando se traballa con QDs cun tamaño moi pequeno, o espazo entre estados electrónicos é moito maior que a enerxía térmica dispoñible, debido ao forte confinamento. Neste réxime de forte confinamento, os QDs teñen unha lonxitude de onda de emisión que é unha función pronunciada do seu tamaño. De aquí xorde a iniciativa da creación de QDs que actúen como láseres, nos cales a cor de saída pode ser controlada manipulando facilmente o tamaño e composición dos QDs.[104]

No caso dos dispositivos electrónicos, os quantum dots que actúan como transistores dun só electrón,[105] a enerxía electrostática finita que se orixina como consecuencia de engadir a carga dun electrón ao propio QD, provoca a obtención duns espectros de adición electrónica cunha clara pegada dixital.[106] Dispositivos ópticos como os láseres de

[102]Schaller, R. D.; Klimov, V. I.; High Efficiency Carrier Multiplication in PbSe Nanocrystals: Implications for Solar Energy Conversion. *Physical review letters* **2004,** *92* (18), 186601.

[103]Ellingson, R. J.; Beard, M. C.; Johnson, J. C., *et al.*; Highly Efficient Multiple Exciton Generation in Colloidal PbSe and PbS Quantum Dots. *Nano Letters* **2005,** 5 (5), 865-871.

[104]Klimov, V. I.; Mikhailovsky, A. A.; McBranch, D. W., *et al.*; Quantization of Multiparticle Auger Rates in Semiconductor Quantum Dots. *Science* **2000,** 287 (5455), 1011-1013.

[105]Ashoori, R. C.; Electrons in artificial atoms. *Nature* **1996,** 379, 413-419.

[106]Hawrylak, P.; Gould, C.; Sachrajda, A., *et al.*; Collapse of the Zeeman gap in quantum dots due to electronic correlations. *Physical Review B* **1999,** 59 (4), 2801-2806.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

monoexcitación, en cuxa fabricación se empregan QDs[107], implican a adición/substracción de excitóns. A diferenza dos electróns, os excitóns teñen carga neutra e os seus espectros de "eliminación/adición" son menos obvios.[108]

Estes nanocristais semiconductores presentan unhas propiedades ópticas moi ventaxosas polas cales son empregados en múltiples aplicacións. A dependencia das propiedades ópticas con respecto ao seu tamaño, foi descuberta de forma independente hai máis de catro décadas en dous materiais diferentes: en vidros dopados con semiconductores por *Ekimov*[109] e en solucións coloidais por *Henglein*.[110] En ámbolos dous casos, demostrouse que a cor dos nanocristais está fortemente ligada de forma directa ao seu tamaño. Ademais, o tamaño dos nanocristais está controlado pola difusión dos átomos ou ións ao núcleo de crecemento e ao grao de súper saturación.[98,111]

1.3.3. *Aplicacións máis importantes*

Os quantum dots son unha nova clase de fluoróforos inorgánicos que están a gañar un amplo recoñecemento como resultado das súas propiedades fotofísicas excepcionais.[112] A súa aplicación estase

[107]Grundmann, M.; Christen, J.; Ledentsov, N. N., *et al.*; Ultranarrow Luminescence Lines from Single Quantum Dots. *Physical Review Letters* **1995,** 74 (20), 4043-4045.

[108]Fafard, S.; Hinzer, K.; Raymond, S., *et al.*; Red-Emitting Semiconductor Quantum Dot Lasers. *Science* **1996,** 274 (5291), 1350-1353.

[109]Ekimov, A. I.; Onushchenko, A. A.; Quantum size effect in three-dimensional microscopic semiconductor crystals. *Jetp Letters* **1981,** 34 (6), 345-348.

[110]Henglein, A.; Photo-Degradation and Fluorescence of Colloidal-Cadmium Sulfide in Aqueous Solution. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* **1982,** 86 (4), 301-305.

[111]Tahara, H.; Kanemitsu, Y.; Coherent Spectroscopy of Multiple Excitons in Colloidal 4 Nanocrystal Quantum Dots. *ChemNanoMat* **2019,** 5, 977 –984.

[112]Jamieson, T.; Bakhshi, R.; Petrova, D., *et al.*; Biological applications of quantum dots. *Biomaterials* **2007,** 28 (31), 4717-4732.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

estendendo rapidamente ás tecnoloxías existentes e emerxentes, desenvolvendo un papel importante en moitas áreas.

Estes fluoróforos inorgánicos supoñen a creación dunha nova clase de sondas fluorescentes, as cales poden empregarse nunha enorme multitude de campos. Destacan os campos da biomedicina e da biotecnoloxía,[113] xa que este tipo de semicondutores son empregados en etiquetado biolóxico, no proceso de realización de bioimaxes *in vivo* e na codificación óptica multicolor de biomoléculas, entre outros.[114]

Dende que as propiedades ópticas destes semicondutores poden ser modificadas en función do seu tamaño, desenvolvéronse unha enorme variedade de QDs que emiten na rexión do visible e na rexión do infravermello próximo.[114] Os efectos de confinamento cuántico dan lugar a unha óptica e propiedades electrónicas únicas, dándolles numerosas vantaxes sobre os fluoróforos actuais, como as tinguiduras orgánicas, proteínas fluorescentes e quelatos de lantánido. As propiedades que inflúen de xeito particular no comportamento dos fluoróforos, e, polo tanto, na súa aplicabilidade a diferentes situacións son o ancho do espectro de excitación, o ancho do espectro de emisión, a fotoestabilidade e a decadencia dos propios QDs.[112] As tinguiduras convencionais presentan espectros de excitación estreitos, e requiren ser excitadas mediante o uso dunha lonxitude de onda específica, que varía en función do tipo de tinguidura.[75] Os QDs teñen uns espectros de absorción moitos máis amplos, permitindo que dita excitación se realice a través dunha

[113]Lim, Y. T.; Kim, S.; Nakayama, A., *et al.*; Selection of Quantum Dot Wavelengths for Biomedical Assays and Imaging. *Molecular Imaging* **2003,** *2* (1), 50-64.

[114]Jin, T.; Fujii, F.; Yamada, E., *et al.*; Control of the Optical Properties of Quantum Dots by Surface Coating with Calix[n]arene Carboxylic Acids. *Journal of the American Chemical Society* **2006,** *128* (29), 9288-9289.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ampla gama de lonxitudes de onda. Esta propiedade permite excitar simultaneamente varios QDs de diferentes cores utilizando unha soa lonxitude de onda.[114,115]

Podemos afirmar que os quantum dots abren un novo camiño de aplicacións dentro da física cuántica. Permiten o control individual do estado dun electrón e cunha distribución de quantum dots adecuada, pódese controlar que ondas se poden propagar e cales non. Ademais, as distribucións de quantum dots poderíanse utilizar tamén para fabricar amplificadores ou filtros de frecuencia moi selectivos, entre outros moitos dispositivos de características similares.[116]

Entre os distintos tipos de QDs que existen hoxe en día, CdSe e CdSe-ZnS son os que se empregan cunha maior frecuencia en bioloxía. Estes QDs mostran unha fotoluminiscencia variable en función do tamaño, distribuída en toda a rexión visible do espectro electromagnético, o que os converte en substitutos ideais dos colorantes orgánicos.[117]

O comportamento dos QDs en sistemas de tipo biolóxico non depende das propiedades químicas da superficie externa, senón que depende da propia estrutura nanocristalina. Os grupos funcionais e biomoléculas presentes na superficie externa dos QDs son os responsables do comportamento biolóxico destes materiais. Estas nanoestruturas están nunha multitude de aplicacións médicas e

[115]Wang, F.; Tan, W. B.; Zhang, Y., *et al.*; Luminescent nanomaterials for biological labelling. *Nanotechnology* **2006,** *17* (1), R1-R13.

[116]Lan, H.; Ding, Y.; Ordering, positioning and uniformity of quantum dot arrays. *Nano Today* **2012,** 7 (2), 94-123.

[117]Biju, V.; Itoh, T.; Anas, A., *et al.*; Semiconductor quantum dots and metal nanoparticles: syntheses, optical properties, and biological applications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2008,** 391 (7), 2469-2495.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

biotecnolóxicas, xa que presentan unha serie de vantaxes con respecto aos fluoróforos orgánicos. Estas vantaxes sobre os fluoróforos atópanse na alta luminescencia que presentan, a estabilidade contra o fotoblanqueo e un rango de lonxitudes de onda de fluorescencia moi amplo, dende a cor azul ao infravermello, dependendo do tamaño da partícula.[118]

Con todo, os QDs agréganse facilmente e perden luminescencia nun ambiente intracelular, mesmo baixo un ambiente ácido (pH < 5)[119] ou condicións isotónicas. Polo tanto, a completa substitución das sondas fluorescentes orgánicas convencionais por QDs é unha tarefa moi difícil e que está en desenvolvemento. A pesar disto, existen estudos[75,115] que presentaron algunhas melloras en canto a evitar a agregación en condicións intracelulares, mediante a conxugación de biomoléculas con determinados QDs, e algunhas destas son utilizadas na tinción inmunohistoquímica.[120]

As aplicacións biomédicas requiren unha alta solubilidade dos QDs en auga. Unha estratexia sería sintetizalos directamente nun medio acuoso, pero os rangos de tamaño dispoñibles son moi limitados e

[118]Hoshino, A.; Fujioka, K.; Oku, T., *et al.*; Physicochemical Properties and Cellular Toxicity of Nanocrystal Quantum Dots Depend on Their Surface Modification. *Nano Letters* **2004,** 4 (11), 2163-2169.

[119]Hanaki, K.-i.; Momo, A.; Oku, T., *et al.*; Semiconductor quantum dot/albumin complex is a long-life and highly photostable endosome marker. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2003,** 302 (3), 496-501.

[120]Mattoussi, H.; Clapp, A. R.; Goldman, E. R., *et al.*; Self-assembled nanoscale biosensors based on quantum dot FRET donors. *Nature Materials* **2003,** 2 (9), 630-638.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

mostran, ademais, unha distribución moi ampla.[121,122] Pola contra, os quantum dots fabricados a partir de estratexias sintéticas, empregando disolventes orgánicos a altas temperaturas, amosan monodispersidade. Presentan un rango moi amplo de emisión, dende o ultravioleta ata o infravermello próximo, simplemente cambiando o tamaño, a composición e/ou estrutura.[123,124] A pesar disto, estes QDs presentan o inconveniente de que son insolubles en auga.

Coa proposta de solucionar este problema Yu *et al.*,[125] elaboraron tres estratexias (figura 1.3.3), cuxo obxectivo era conseguir que os QDs fosen solubles en auga, e deste xeito, acadar a biocompatibilidade.

As estratexias propostas consistían no intercambio de ligandos, na formación de interaccións de carácter hidrofóbico ou na encapsulación dos QDs cunha capa de sílice. Con respecto á primeira estratexia que consistía no intercambio de ligandos, estudouse de que xeito estaban sintetizados estes QDs en disolventes orgánicos.

[121]Wang, Y.; Tang, Z.; Correa-Duarte, M. A., *et al.*; Mechanism of Strong Luminescence Photoactivation of Citrate-Stabilized Water-Soluble Nanoparticles with CdSe Cores. *J Phys Chem* **2004,** 108 (40), 15461-15469.

[122]Zhuang, J.; Zhang, X.; Wang, G., *et al.*; Synthesis of water-soluble ZnS : Mn2+ nanocrystals by using mercaptopropionic acid as stabilizer. *Journal of Materials Chemistry* **2003,** 13 (7), 1853-1857.

[123]Bailey, R. E.; Nie, S.; Alloyed Semiconductor Quantum Dots: Tuning the Optical Properties without Changing the Particle Size. *Journal of the American Chemical Society* **2003,** 125 (23), 7100-7106.

[124]Michalet, X.; Pinaud, F. F.; Bentolila, L. A., *et al.*; Quantum Dots for Live Cells, in Vivo Imaging, and Diagnostics. *Science* **2005,** 307 (5709), 538-544.

[125]Yu, W. W.; Chang, E.; Drezek, R., *et al.*; Biochemical and biophysical research communications. *Biochem and Biophys R Comm* **2006,** 348, 781-786.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

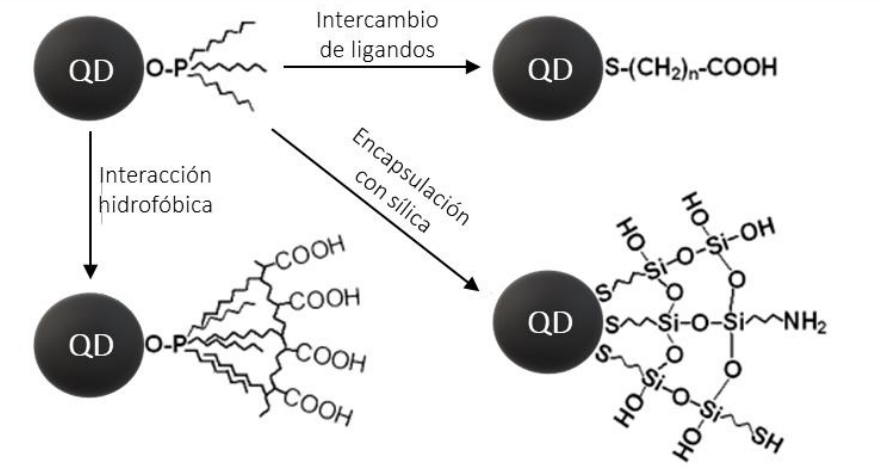


Figura 1.3.3: Estratexias para a solubilización dos QDs en auga.

Estes materiais presentan comunmente ligandos de superficie hidrofóbicos como o óxido de trioctilfosfina (TOPO), trioctilfosfina (TOP),[126,127] acedo tetradecilfosfónico (TDPA),[128,129] etc. Estes ligandos hidrofóbicos poden ser substituídos por algunhas moléculas bifuncionais, as cales presentan un extremo hidrofóbico e un extremo hidrófilo. O extremo hidrofóbico reacciona cos átomos da superficie e o extremo hidrófilo é o que presenta reactividade coas biomoléculas. Algúns exemplos de moléculas bifuncionais, solubles en auga, máis utilizadas son

[126]Peng, X.; Wickham, J.; Alivisatos, A. P.; Kinetics of II-VI and III-V Colloidal Semiconductor Nanocrystal Growth: "Focusing" of Size Distributions. *Journal of the American Chemical Society* **1998,** 120 (21), 5343-5344.

[127]Yu, W. W.; Qu, L.; Guo, W., *et al.*; Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. *Chemistry of Materials* **2003,** 15 (14), 2854-2860.

[128]Wickham, J.; Alivisatos, A. P.; Kadavanich, A., *et al.*; Shape control of CdSe nanocrystals. *Nature* **2000,** 404 (6773), 59-61.

[129]Peng, Z. A.; Peng, X.; Mechanisms of the Shape Evolution of CdSe Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* **2001,** 123 (7), 1389-1395.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

os acedos mercaptocarbónicos,[50] o 2- aminoetanotiol,[130] o ditiotreitol,[131] o acedo dihidrolipoico,[132] etc.

Este intercambio de ligandos altera inevitablemente os estados químicos e físicos dos átomos da superficie dos quantum dots, e na maioría dos casos diminúe drasticamente a eficiencia cuántica dos mesmos.[125] A pesar disto, atopouse que ao traballar con determinados fosfolípidos como o 1,2-dipalmitol-sn-glicero-3-fosfocolina, estes podían encapsular os QDs formando unha micela. Estas interaccións de carácter hidrofóbico tiñan lugar entre as terminacións hidrofóbicas do fosfolípido e os ligandos de superficie dos QDs. Deste xeito, a parte hidrofílica do fosfolípido quedaba orientada cara o exterior, proporcionándolle solubilidade aos QDs en medios acuosos.[133,134]

A segunda estratexia consistía en encapsular ós QDs empregando unha capa de sílice para convertelos en biocompatibles. A maiores incorporábanse moléculas funcionais de organosilicona, as cales contiñan grupos amino e grupos tiol (-NH_2 e -SH) para o seu uso en aplicacións biomédicas.[135] Pero esta estratexia presentaba a súa vez un inconveniente,

---

[130]Wuister, S. F.; Swart, I.; van Driel, F., *et al.*; Highly Luminescent Water-Soluble CdTe Quantum Dots. *Nano Letters* **2003,** 3 (4), 503-507.

[131]Pathak, S.; Choi, S.-K.; Arnheim, N., *et al.*; Hydroxylated Quantum Dots as Luminescent Probes for in Situ Hybridization. *Journal of the American Chemical Society* **2001,** 123 (17), 4103-4104.

[132]Mattoussi, H.; Mauro, J. M.; Goldman, E. R., *et al.*; Self-Assembly of CdSe–ZnS Quantum Dot Bioconjugates Using an Engineered Recombinant Protein. *Journal of the American Chemical Society* **2000,** 122 (49), 12142-12150.

[133]Dubertret, B.; Skourides, P.; Norris, D. J., *et al.*; In Vivo Imaging of Quantum Dots Encapsulated in Phospholipid Micelles. *Science* **2002,** 298 (5599), 1759-1762.

[134]Fan, H.; Leve, E. W.; Scullin, C., *et al.*; Surfactant-Assisted Synthesis of Water-Solube and Biocompatible Semiconductor Quantum Dot Micelles. *Nano Letters* **2005,** 5 (4), 645-648.

[135]Gerion, D.; Pinaud, F.; Williams, S. C., *et al.*; Synthesis and Properties of Biocompatible Water-Soluble Silica-Coated CdSe/ZnS Semiconductor Quantum Dots. *The Journal of Physical Chemistry B* **2001,** 105 (37), 8861-8871.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

xa que a superficie dos QDs experimentaba un cambio unha vez que as moléculas de organosilicona eran introducidas, resultando no descenso da súa eficiencia cuántica.[136] Sen embargo, Selvan *et al.*[137] publicaron un estudo onde presentaban unha forma sinxela para encapsular os QDs empregando sílice mediante microemulsión inversa. Neste estudo sinalaban que era posible conseguir que a eficiencia cuántica aumentase si se incrementaba o espesor da capa de sílice, controlando o tempo invertido no recubrimento e se se empregaban diferentes silanos de partida.

Con todo, seguen existindo importantes desafíos que deben ser comprendidos e definidos máis plenamente, antes de que poidan ser validados.

1.3.4. *Toxicidade en diferentes escenarios*

En termos de toxicidade, os quantum dots pertencen a un grupo heteroxéneo de materiais moi amplo, polo que non é sinxelo facer afirmacións xerais sobre a toxicidade destes semicondutores. Non existe unha fórmula xenérica en canto a composición do seu núcleo, superficie, tamaño e forma, e sobre a química que presentan en dita superficie externa.

En xeral existen discrepancias na literatura existente sobre a toxicidade dos QDs, as cales pódense asociar a varios factores: a falta de estudos baseados na toxicoloxía, a variedade de concentración nas doses ou exposicións aos QDs e a ampla variedade de propiedades físico-

[136]Rogach, A. L.; Nagesha, D.; Ostrander, J. W., *et al.*; "Raisin Bun"-Type Composite Spheres of Silica and Semiconductor Nanocrystals. *Chemistry of Materials* **2000,** *12* (9), 2676-2685.

[137]Selvan, S. T.; Tan, T. T.; Ying, J. Y.; Robust, Non-Cytotoxic, Silica-Coated CdSe Quantum Dots with Efficient Photoluminescence. *Advanced Materials* **2005,** *17*, 1620-1625.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

químicas que amosan estes semicondutores.[138] Ademais, a súa toxicidade tamén foi cuestionada debido á discrepancia entre os resultados obtidos dos estudos levados a cabo *in vitro* e *in vivo* sobre os CdSe QDs.[139] Aínda que a toxicidade deste tipo de QDs non se demostrou de forma indiscutíbel mediante experimentos *in vivo* en modelos animais, os experimentos *in vitro* demostraron que as QDs poden causar citotoxicidade ao liberar ións Cd^{2+} en disolución e xerar especies con radicais libres. Deste xeito, un coñecemento máis profundo da química superficial destes nanomateriais é esencial, para comprender mellor como poden interaccionar con sistemas biolóxicos como proteínas, péptidos, oligonucleótidos e ácidos húmicos ou con substancias orgánicas sintéticas, como ligandos que conteñen grupos tioles. Tanto as especies naturais como as sintéticas poden aportar densidade de electróns dentro da esfera de coordinación do ión metálico, coa consecuente desestabilización dos enlaces na rede superficial dos QDs, o que conduce á liberación de ións na disolución.

Como xa se mencionou con anterioridade, os QDs estanse estudando de xeito intensivo para o seu desenvolvemento en aplicacións no campo da medicina, como biosensores e axentes de contraste sobre todo. Estas estruturas nanocristalinas consisten en combinacións binarias de semicondutores (por exemplo CdTe ou CdSe) e amosan propiedades de confinamento cuántico únicas, incluída a fotolumniscencia por axuste de tamaño. Os QDs a miúdo recóbrense cunha capa superficial (por

[138]Hardman, R.; A Toxicologic Review of Quantum Dots: Toxicity Depends on Physicochemical and Environmental Factors. *Environmental Health Perspectives* **2006,** *114* (2), 165-172.

[139]Tsoi, K. M.; Dai, Q.; Alman, B. A., *et al.*; Are Quantum Dots Toxic? Exploring the Discrepancy Between Cell Culture and Animal Studies. *Accounts of Chemical Research* **2013,** *46* (3), 662-671.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

exemplo ZnS) a cal, actúa para protexer o núcleo e evitar a lixiviación neste caso do Cd e aumentar a fotoluminiscencia.[140,141] Con respecto a súa toxicidade, existen estudos que afirman que podería estar correlacionada coa físico-química das propiedades dos materiais que conforman o núcleo/superficie externa do punto cuántico, o tamaño, a carga da superficie, a natureza dos ligandos, a posible interacción con moléculas presentes no medio, etc.[142]

Os QDs poden presentar diferentes tipos de ligandos enlazados á súa superficie. Un exemplo común son ligandos de tipo hidrofóbico, o que se traduce nunha solubilidade en fases de tipo orgánico. Outra posibilidade é modificar a súa superficie externa para que sexan solubles en medios acuosos e, ademais, biocompatibles co corpo humano, de cara ó seu uso en aplicacións no campo da medicina. Ligandos como oligonucleótidos, péptidos e anticorpos ("*targeting ligands*") dirixen ao propio punto cuántico cara unha dirección específica dentro do corpo humano ou mesmamente dentro dunha célula. A unión de ligandos bifuncionais tamén é posible, como xa se mencionou con anterioridade. Con todo, podemos afirmar que a cantidade de modificacións e formulacións posíbeis nestas nanoestruturas é moi extensa e variada.[139]

[140]Petryayeva, E.; Algar, W. R.; Medintz, I. L.; Quantum Dots in Bioanalysis: A Review of Applications across Various Platforms for Fluorescence Spectroscopy and Imaging. *Applied Spectroscopy* **2013,** 67 (3), 215-252.

[141]Rosenthal, S. J.; Chang, J. C.; Kovtun, O., *et al.*; Biocompatible Quantum Dots for Biological Applications. *Chemistry & Biology* **2011,** 18 (1), 10-24.

[142]Oh, E.; Liu, R.; Nel, A., *et al.*; Meta-analysis of cellular toxicity for cadmium-containing quantum dots. *Nature nanotechnology* **2016,** 11 (5), 479-486.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Con respecto á biocompatibilidade destes semicondutores, Shionara *et al.*[143] estudaron a toxicidade ocasionada por quantum dots recubertos de ácido mercapto-undecanoico (MUA), debido a súa solubilidade en medios acuosos. Neste estudo avaliaron o dano celular causado por estes quantum dots. Levaron a cabo un ensaio de viabilidade celular para determinar a diferenza no dano celular ocasionado en función do tamaño e cor dos MUA-QDs, empregando diferentes tipos de células. De forma xeral, os resultados que obtiveron amosaban un descenso na viabilidade celular ao aumentar a concentración dos MUA-QDs, resultando na apoptose celular nun período de incubación de entre 4-6 horas.

Os quantum dots tamén están sendo empregados en diferentes estudos para detectar células cancerígenas, conxugando anticorpos a súa superficie externa.[144] Actualmente, o desenvolvemento de terapias para combater o cancro empregando este tipo de nanoestruturas está adquirindo unha enorme interese. A toxicidade asociada aos QDs, e máis concretamente aos que conteñen cadmio (Cd) no seu núcleo, demostrouse que é máis elevada que noutros tipos de quantum dots que non conteñan este metal. Esta aseveración está relacionada directamente coa presencia de Cd, o cal provoca a creación de osíxeno reactivo en exceso (ROS),[145] afectando de xeito indirecto á integridade dos ácidos

[143]Shiohara, A.; Hoshino, A.; Hanaki, K. i., *et al.*; On the Cyto-Toxicity Caused by Quantum Dots. *Microbiology and Immunology* **2004,** 48 (9), 669-675.

[144]Wang, Y.; Tang, M.; Review of in vitro toxicological research of quantum dot and potentially involved mechanisms. *Science of the Total Environment* **2018,** 625, 940-962.

[145]Soenen, S. J.; Parak, J. W.; Rejman, J., *et al.*, (Intra)Cellular Stability of Inorganic Nanoparticles: Effects on Cytotoxicity, Particle Functionality, and Biomedical Applications. ACS Publications: Charlottesville, Va, **2013**.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

nucleicos, proteínas e membranas celulares[146,147] entre outros. Recentemente, realizouse un estudo neste campo de investigación, empregando células do tipo HepG2. Este tipo de células pertencen a unha liña celular do carcinoma hepatocelular humano, empregada como modelo para tecido hepático humano.[148] Demostrouse que neste tipo de células,[149] ao estar en contacto con QDs cun núcleo de CdS, alterábase a abundancia das transcricións xenéticas que codifican os produtos asociados coa apoptose, co estrés oxidativo e coa autofaxia.[150]

Nesta mesma liña de investigación, Chen *et al.*[151] estudaron a citotoxicidade asociada ós quantum dots cun núcleo/superficie de CdTe/CdS e tamén de CdTe/CdS/ZnS, sendo este último o recubrimento máis externo presente. Os resultados que obtiveron mostraban que a citotoxicidade dos CdTe QDs non só era consecuencia directa da liberación de ions Cd^{2+} senón que, tamén proviña da distribución intracelular dos propios QDs nas células e os efectos asociados á escala do seu tamaño nanométrico.

[146]Zhang, T.; Hu, Y.; Tang, M., *et al.*; Liver Toxicity of Cadmium Telluride Quantum Dots (CdTe QDs) Due to Oxidative Stress in Vitro and in Vivo. *International journal of molecular sciences* **2015,** *16* (10), 23279-23299.

[147]He, K.; Liang, X.; Wei, T., *et al.*; DNA damage in BV-2 cells: An important supplement to the neurotoxicity of CdTe quantum dots. *Journal of Applied Toxicology* **2019,** 39 (3), 525-539.

[148]Kato, S.; Itoh, K.; Yaoi, T., *et al.*; Organ distribution of quantum dots after intraperitoneal administration, with special reference to area-specific distribution in the brain. *Nanotechnology* **2010,** *21* (33), 335103.

[149]Paesano, L.; Perotti, A.; Buschini, A., *et al.*; Data on HepG2 cells changes following exposure to cadmium sulphide quantum dots (CdS QDs). *Data in Brief* **2017,** *11* (C), 72-97.

[150]Paesano, L.; Marmiroli, M.; Bianchi, M. G., *et al.*; Differences in toxicity, mitochondrial function and miRNome in human cells exposed in vitro to Cd as CdS quantum dots or ionic Cd. *Journal of Hazardous Materials* **2020,** 393, 122430.

[151]Chen, N.; He, Y.; Su, Y., *et al.*; The cytotoxicity of cadmium-based quantum dots. *Biomaterials* **2012,** 33 (5), 1238-1244.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.4. Química superficial: enlaces metal-ligando

Dentro do campo que envolve toda a química superficial dos quantum dots, é importante ter en conta de que xeito se producen as interaccións entre os ligandos obxecto de estudo e a superficie dos QDs. Existen diferentes tipos de interaccións posíbeis,[152,153] como se mostra na figura 1.4.1, aínda que esta investigación está centrada naquelas que basean na existencia de enlaces metal-ligando.

O proceso de intercambio de ligandos consiste na substitución dos ligandos presentes na superficies destes materiais nanocristalinos por outros ligandos de interese.[154,155] Este procedemento emprégase cando se desexa modificar as propiedades superficiais dos QDs, como por exemplo mellorar a súas propiedades ópticas, solubilidade en auga, controlar a distancia á que se atopan os QDs entre sí (aglomeración), etc.[156]

As reaccións que acontecen no procese de intercambio de ligando créese que teñen o seu fundamento no principio ABDB de Pearson (Ácido-

[152]Yin, Y.; Liu, J.; Yu, S., *et al.*; Interactions between engineered nanoparticles and dissolved organic matter : A review on mechanisms and environmental effects. *Journal of environmental sciences (China)* **2018,** *63* (1), 198-217.

[153]Philippe, A.; Schaumann, G. E.; Interactions of Dissolved Organic Matter with Natural and Engineered Inorganic Colloids: A Review. *Environmental science & technology* **2014,** *48* (16), 8946-8962.

[154]Green, M.; The nature of quantum dot capping ligands. *Journal of materials chemistry* **2010,** *20* (28), 5797-589.

[155]Boles, M. A.; Ling, D.; Hyeon, T., *et al.*; The surface science of nanocrystals. *Nature materials* **2016,** *15* (2), 141-153.

[156]Choi, J.; Choi, W.; Jeon, D. Y.; Ligand-Exchange-Ready CuInS2/ZnS Quantum Dots via Surface-Ligand Composition Control for Film-Type Display Devices. *ACS applied nano materials* **2019,** *2* (9), 5504-5511.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Base Duro-Blando). Este principio é moi eficaz predicindo en que dirección teñen lugar as reaccións químicas, clasificando os ácidos e bases de Lewis como duros e brandos. Os ácidos duros forman complexos estables con bases duras e os ácidos brandos con bases brandas.[157]

As unións que se producen entre os ligandos e a superficie destas nanoestruturas presentan un carácter dinámico, polo tanto, estas especies atópanse en equilibrio entre a superficie dos QDs e o disolvente do medio. Ditos equilibrios dinámicos dependen das interaccións entre o ligando e o disolvente, sendo ditas interaccións máis favorables en disolventes alifáticos, é dicir, disolventes polares, os cales favorecen a disolución dos ligandos e, como consecuencia, a súa disgregación da superficie.[158]

Estas moléculas divídense en tres grupos, en función do número de electróns doados falamos de ligandos de tipo X, tipo L ou tipo Z.[158,159]

[157]Pearson, G. R.; Hard and soft acids and bases. *J Am Chem Soc* **1963,** 85 (22), 3533-3539.

[158]Grisorio, R.; Quarta, D.; Fiore, A., *et al.*; The dynamic surface chemistry of colloidal metal chalcogenide quantum dots. *Nanoscale advances* **2019,** 1 (9), 3639-3646.

[159]Owen, J.; The coordination chemistry of nanocrystal surfaces. *Science (American Association for the Advancement of Science)* **2015,** 347 (6222), 615-616.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

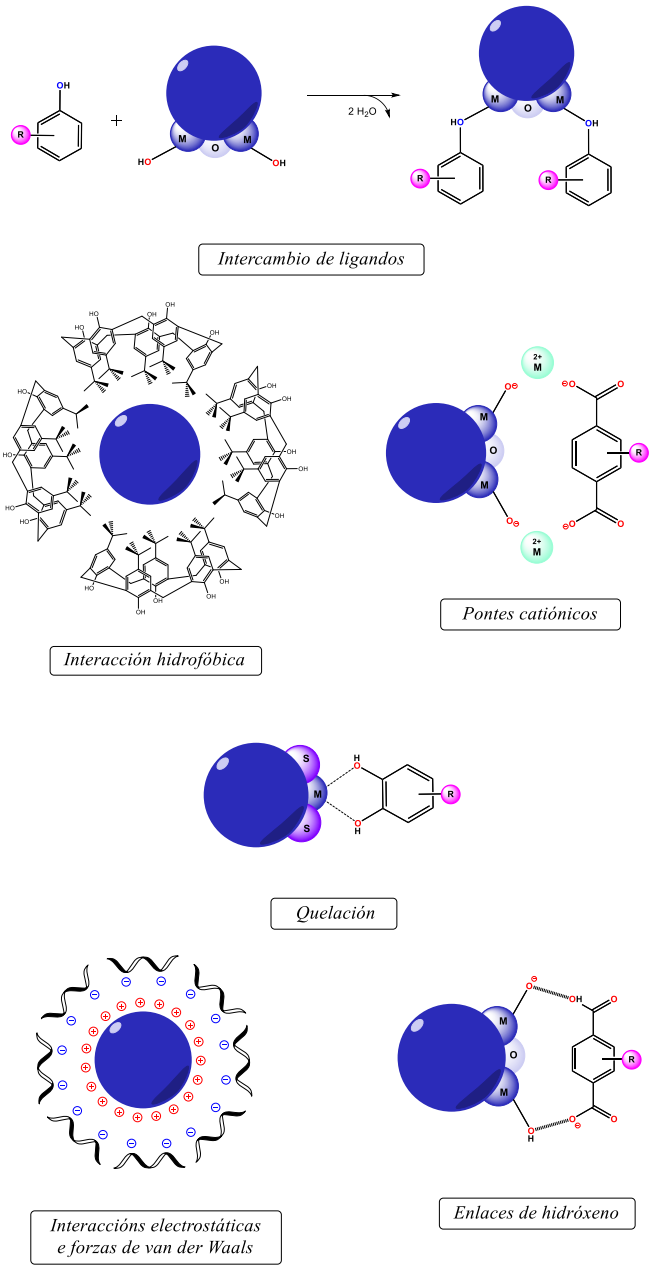


Figura 1.4.1: Descripción esquemática de diferentes tipos de interaccións sobre a superficie dos QDs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

As interaccións nanocristal-ligando determínanse fundamentalmente en función do tipo de ligando. Os ligandos de tipo X fan referencia á ligandos aniónicos, ou ligandos doadores de electróns. Algún exemplos son os carboxilatos ($RCOO^-$), tiolatos (RS^-), haloxenuros (Cl^-), etc. Os de tipo L son aqueles ligandos neutros, como por exemplo as aminas (RNH_2), fosfinas (R_3P), óxidos de fosfinas (R_3PO), etc. Por último, os de tipo Z son ligandos de tipo catiónico, ou aceptores de electróns, os cales interaccionan cos anións presentes na superficie dos QDs. Exemplos deste tipo de ligandos son CdX_2 e PbX_2.[160]

O proceso de intercambio de ligandos vese influenciado polo tipo de ligando empregado no mesmo. Un exemplo claro é a substitución de ligandos de tipo X por ligandos de tipo L en disolventes non polares, o que provoca que a neutralidade da carga da superficie dos QDs cambie. Este tipo de intercambio favorece un "desprazamento de tipo Z", é dicir, favorece a eliminación dos catións presentes na superficie xunto cos ligandos de tipo X en forma de complexo metálico neutro, manténdose deste xeito a neutralidade da carga dos quantum dots.[160] Pola contra, se se utilizan disolventes polares, o mantemento da neutralidade con respecto á superficies destas nanoestruturas cristalinas deixa de ter importancia. En conclusión, débese de realizar unha elección axeitada con respecto ó uso dos disolventes, dependendo de que ligandos se empreguen.[161]

[160]Anderson, N. C.; Hendricks, M. P.; Choi, J. J., *et al.*; On the Dynamic Stoichiometry of Metal Chalcogenide Nanocrystals: Spectroscopic Studies of Metal Carboxylate Binding and Displacement. *J Am Chem Soc* **2013,** 135 (Generic), 18536-18548.

[161]Shrestha, A.; Batmunkh, M.; Tricoli, A., *et al.*; Near-Infrared Active Lead Chalcogenide Quantum Dots: Preparation, Post-Synthesis Ligand Exchange, and Applications in Solar Cells. *Angewandte Chemie International Edition* **2019,** 58 (16), 5202-5224.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

De acordo con diferentes estudos[162-164] realizados nos últimos anos, os ligandos superficiais poden existir de tres formas diferentes na superficie dos nanocristais (figura 1.4.2): quimisorbidos, fisisorbidos ou libres, é decir, cando non existe ningún tipo de interacción entre estas moléculas e a superficie dos QDs.

Os ligandos quimisorbidos son aqueles que interaccionan coa superficie destes materiais nanoestruturados formando enlaces fortes, como poden ser interaccións de tipo hidrofóbico, pontes cantiónicas ou mediante quelación metal-ligando. Pola contra, os ligandos fisisorbidos[164,165] fan referencia a aqueles ligandos que interaccionan con dita superficie a través de forzas electrostáticas, como son as forzas de Van der Waals e as pontes de hidróxeno.

As interacció de tipo hidrofóbico prodúcense preferentemente entre as rexións polares e non polares dos QDs e ligandos orgánicos. Un caso particular e de interese son os QDs de carbono, os cales presentan superficies non polares.[166] Debido a isto, as fraccións aromáticas dos ligandos orgánicos sofren unha atracción cara a superficie deste QDs de

[162]Weir, M. P.; Toolan, D. T. W.; Kilbride, R. C., *et al.*; Ligand Shell Structure in Lead Sulfide–Oleic Acid Colloidal Quantum Dots Revealed by Small-Angle Scattering. *The journal of physical chemistry letters* **2019,** *10* (16), 4713-4719.

[163]Smock, S. R.; Williams, T. J.; Brutchey, R. L.; Quantifying the Thermodynamics of Ligand Binding to CsPbBr 3 Quantum Dots. *Angewandte Chemie (International ed.)* **2018,** *57* (36), 11711-11715.

[164]Fritzinger, B.; Capek, R. K.; Lambert, K., *et al.*; Utilizing Self-Exchange To Address the Binding of Carboxylic Acid Ligands to CdSe Quantum Dots. *Journal of the American Chemical Society* **2010,** *132* (29), 10195-10201.

[165]Griffin, F.; Fitzmaurice, D.; Preparation and Thermally Promoted Ripening of Water-Soluble Gold Nanoparticles Stabilized by Weakly Physisorbed Ligands. *Langmuir* **2007,** *23* (20), 10262-10271.

[166]Yang, K.; Xing, B.; Adsorption of fulvic acid by carbon nanotubes from water. *Environmental Pollution* **2009,** *157* (4), 1095-1100.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

carácter moi débil, debido a que se produce un efecto hidrófobo.[167] Outro tipo de interacción forte que se produce son as pontes catiónicas, as cales acontecen cando os grupos funcionais aniónicos ou polares (normalmente ligandos con grupos carboxilato) únense a un catión metálico multivalente que se adsorbe á superficie dun NM cargado negativamente. Zhang et al.[168] estudaron a estabilidade dos CdTe QDs recubertos de tioglicolato en electrólitos monovalentes e polivalentes. Repararon en que os QDs permanecían estables incluso nunha disolución de KCl de 150 mM, mentres que se producían aglomerados a concentracións relativamente baixas (≤2 mEq L^{-1}) de catións divalentes. Concluíron que os catións multivalentes (Ca^{2+}, Al^{3+}, etc.) poden reaccionar cos ligandos que recobren os QDs para formar complexos que actúan como ponte entre os QDs, o que induce á formación de aglomerados. O efecto de puente catiónico non só se produce entre adsorbatos e NMs, senon que tamén se pode dar entre ligandos orgánicos adxacentes, dando lugar á unha adsorción multicapa na superficies dos NMs.[169]

A quelación aniónica superficial orixínase cando a interacción entre a superficie dos QDs e o ligando adsorbato ten lugar a través dunha interacción do tipo bidentada directa.[170] Os ácidos fúlvico e húmico, así como os catecois, son bos exemplos de ligandos orgánicos con dous

[167]Sun, Q.; Xie, H.-B.; Chen, J., *et al.*; Molecular dynamics simulations on the interactions of low molecular weight natural organic acids with C60. *Chemosphere* **2013,** 92 (4), 429-434.

[168]Zhang, Y.; Chen, Y.; Westerhoff, P., *et al.*; Stability and Removal of Water Soluble CdTe Quantum Dots in Water. *Environmental Science & Technology* **2008,** 42 (1), 321-325.

[169]Mashayekhi, H.; Ghosh, S.; Du, P., *et al.*; Effect of natural organic matter on aggregation behavior of C60 fullerene in water. *Journal of Colloid and Interface Science* **2012,** 374 (1), 111-117.

[170]Liu, X.; Cheng, L.; Lei, J., *et al.*; Formation of Surface Traps on Quantum Dots by Bidentate Chelation and Their Application in Low-Potential Electrochemiluminescent Biosensing. *Chemistry – A European Journal* **2010,** 16 (35), 10764-10770.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

grupos fenólicos veciños, que forman un enlace quelatante moi forte a través dos átomos de O co ión metálico sobre a superficie dos QDs.[171-173]

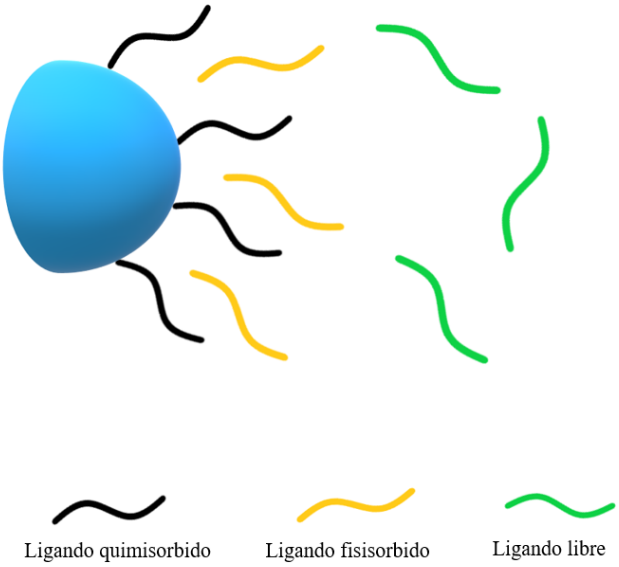


Figura 1.4.2: Esquema da forma na que se presentan os ligandos na superficie dos QDs.

Os ligandos superficiais están en contacto directo co medio de reacción, no que se atopan os QDs e teñen unha influenza importante sobre as propiedades superficiais destes materiais, e como consecuencia,

[171]Navarro, D. A. G.; Watson, D. F.; Aga, D. S., *et al.*; Natural Organic Matter-Mediated Phase Transfer of Quantum Dots in the Aquatic Environment. *Environmental Science & Technology* **2009,** 43 (3), 677-682.

[172]Navarro, D. A.; Banerjee, S.; Aga, D. S., *et al.*; Partitioning of hydrophobic CdSe quantum dots into aqueous dispersions of humic substances: Influence of capping-group functionality on the phase-transfer mechanism. *Journal of Colloid and Interface Science* **2010,** 348 (1), 119-128.

[173]Bloemen, M.; Debruyne, D.; Demeyer, P.-J., *et al.*; Catechols as ligands for CdSe–ZnS quantum dots. *RSC Advances* **2014,** 4 (20), 10208-10211.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

nas aplicacións dos mesmos.[174] Estas moléculas forman parte da superficie dos QDs polo que poden pasivar a superficie destes materiais chegando a illalos do medio.[160] Ademais, adquiren un papel importante no proceso de síntese dos QDs a través do control cinético do seu crecemento, forma e estrutura.[175]

As características dos quantum dots débense principalmente á química que envolve toda a súa superficie externa, polo que o proceso de intercambio de ligandos xoga un papel fundamental neste ámbito. Este proceso pódese levar a cabo mediante dous procedementos diferentes, en fase sólida ou en fase de disolución.[176]

O procedemento de intercambio de ligandos en fase sólida foi o método escollido por moitos investigadores,[177-182] aínda que segue presentando limitacións. Un exemplo é a perdida parcial de ligando ao longo de todo o proceso, ocasionado polo uso de disolventes próticos.

[174]Heuer-Jungemann, A.; Feliu, N.; Bakaimi, I., *et al.*; The Role of Ligands in the Chemical Synthesis and Applications of Inorganic Nanoparticles. *Chemical reviews* **2019,** *119* (8), 4819-4880.

[175]Yin, Y. a. A., A.P., Coloidal nanocrystal synthesis and the organic–inorganic interface. *Nature* 2005, p 664–670.

[176]You, H. R.; Park, J. Y.; Lee, D. H., *et al.*; Recent Research Progress in Surface Ligand Exchange of PbS Quantum Dots for Solar Cell Application. *Appl. Sci.-Basel* **2020,** *10* (3), 16.

[177]Zhitomirsky, D.; Voznyy, O.; Levina, L., *et al.*; Engineering colloidal quantum dot solids within and beyond the mobility-invariant regime. *Nature communications* **2014,** 5 (1), 3803.

[178]Ning, Z.; Voznyy, O.; Pan, J., *et al.*; Air-stable n-type colloidal quantum dot solids. *Nature materials* **2014,** *13* (8), 822-828.

[179]Tang, J.; Liu, H.; Zhitomirsky, D., *et al.*; Quantum Junction Solar Cells. *Nano letters* **2012,** *12* (9), 4889-4894.

[180]Voznyy, O.; Zhitomirsky, D.; Stadler, P., *et al.*; A Charge-Orbital Balance Picture of Doping in Colloidal Quantum Dot Solids. *ACS nano* **2012,** 6 (9), 8448-8455.

[181]Wang, X.; Koleilat, G. I.; Tang, J., *et al.*; Tandem colloidal quantum dot solar cells employing a graded recombination layer. *Nature photonics* **2011,** 5 (8), 480-484.

[182]Talapin, D. V.; PbSe Nanocrystal Solids for n- and p-Channel Thin Film Field-Effect Transistors. *Science (American Association for the Advancement of Science)* **2005,** *310* (5745), 86-89.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Neste método é necesario empregar un substrato sólido, onde se depositan os QDs e ten lugar o propio intercambio de ligandos. Ademais, este tipo de procedemento require unha gran cantidade de materiais e tempo.[176]

O método de intercambio de ligandos en fase de disolución simplifica o proceso de fabricación, o tempo e o coste , en comparación co método anterior.[183] Esta técnica emprega disolventes apróticos, para solventar as limitacións do método tradicional e baséase na creación dunha dispersión coloidal, empregando un disolvente polar, tras levar a cabo o intercambio. Este método permite eliminar calquera defecto superficial que se poda orixinar nos QDs.[176] Unha vez que o intercambio de ligandos se leva a cabo satisfactoriamente, o mecanismo de estabilización coloidal experimenta un cambio; a estabilización estérica substitúese por una estabilización de tipo electrostática.[155,184] A pesar disto, segue sendo un reto conseguir unha boa estabilización coloidal para diferentes sistemas de intercambio en disolución.[183]

Na maioría de estudos que se levaron a cabo nos últimos anos, empregan esta técnica de intercambio de ligandos en fase de disolución para substituír ligandos carboxilato de cadea larga. Existe unha ampla bibliografía na que empregan ligandos da mesma especie pero de cadea

[183]Gu, M.; Wang, Y.; Yang, F., *et al.*; Stable PbS quantum dot ink for efficient solar cells by solution-phase ligand engineering. *Journal of materials chemistry. A, Materials for energy and sustainability* **2019,** 7 (26), 15951-15959.

[184]Dirin, D. N.; Dreyfuss, S.; Bodnarchuk, M. I., *et al.*; Lead Halide Perovskites and Other Metal Halide Complexes As Inorganic Capping Ligands for Colloidal Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* **2014,** 136 (18), 6550-6553.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

corta[185,186] ou ligandos tipo haluro[187,188] na substitución. O motivo principal polo que se empregan grupos carboxilato de cadea corta é para aumentar a densidade do empaquetamento dos ligandos presentes na superficie dos QDs, obrigando aos oleatos de cadea larga a reacomodarse por causa do impedimento estérico ao introducir os novos ligandos no medio de reacción (figura 1.4.3). Este impedimento estérico ocasiona que a unión dos oleatos de cadea larga á superficie dos QDs se debilite en gran medida, facilitando así a súa substitución. Este enfoque permite mellorar a densidade e a monodispersidade dos QDs.

[185]Liu, M.; Che, F.; Sun, B., *et al.*; Controlled Steric Hindrance Enables Efficient Ligand Exchange for Stable, Infrared-Bandgap Quantum Dot Inks. *ACS energy letters* **2019,** 4 (6), 1225-1230.

[186]Kennehan, E. R.; Munson, K. T.; Doucette, G. S., *et al.*; Dynamic Ligand Surface Chemistry of Excited PbS Quantum Dots. *The journal of physical chemistry letters* **2020,** 11 (6), 2291-2297.

[187]Jo, J. W.; Kim, Y.; Choi, J., *et al.*; Enhanced Open-Circuit Voltage in Colloidal Quantum Dot Photovoltaics via Reactivity-Controlled Solution-Phase Ligand Exchange. *Advanced Materials* **2017,** 29 (43), 1703627-n/a.

[188]Liu, M.; Voznyy, O.; Sabatini, R., *et al.*; Hybrid organic–inorganic inks flatten the energy landscape in colloidal quantum dot solids. *Nature Materials* **2017,** 16 (1), 258-264.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

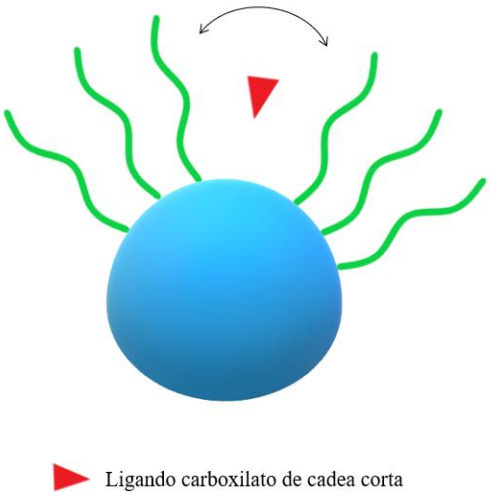


Figura 1.4.3: Intercambio de ligandos asistido mediante o uso de ligandos carboxilato de cadea corta.

O emprego de ligandos tipo haluro para substituír ligandos oleatos de cadea larga coñécese como pasivación de ligandos atómicos.[189] En múltiples estudos[188-192] conclúese que o uso de ligandos deste tipo ofrece beneficios con respecto á pasivación da superficie dos QDs e ao transporte electrónico. Supón un avance na fabricación de células solares

[189]Ning, Z.; Ren, Y.; Hoogland, S., *et al.*; All-Inorganic Colloidal Quantum Dot Photovoltaics Employing Solution-Phase Halide Passivation. *Advanced materials (Weinheim)* **2012,** 24 (47), 6295-6299.

[190]Lan, X.; Voznyy, O.; Kiani, A., *et al.*; Passivation Using Molecular Halides Increases Quantum Dot Solar Cell Performance. *Advanced materials (Weinheim)* **2016,** 28 (2), 299-304.

[191]Lan, X.; Voznyy, O.; García de Arquer, F. P., *et al.*; 10.6% Certified Colloidal Quantum Dot Solar Cells via Solvent-Polarity-Engineered Halide Passivation. *Nano Letters* **2016,** 16, 4630-4634.

[192]Tang, J.; Kemp, K. W.; Hoogland, S., *et al.*; Colloidal-quantum-dot photovoltaics using atomic-ligand passivation. *Nature materials* **2011,** 10 (10), 765-771.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

xa que o emprego deste tipo de ligandos aumenta considerablemente a eficiencia fotovoltaica dos QDs.

1.5. Métodos analíticos para a detección e cuantificación dos QDs en augas

Existe un problema real na detección e cuantificación dos quantum dots, tanto a nivel ambiental como en augas residuais, medios acuáticos, etc. A problemática está no seu tamaño nanométrico (≤ 10 nm), nas interferencias causadas por catións metálicos en disolución ou nas interferencias que provocan outras especies que se atopan no propio medio.

En vista ó mencionado nos anteriores apartados, está clara a gran importancia que presentan estas especies polo que tamén é de especial interese poder realizar estudos de detección e cuantificación dos QDs. Estes estudos axudarán a clarificar preguntas con relación a súa toxicidade e con respecto ós mecanismos de degradación que teñen lugar, entre outras cuestións. A continuación, descríbense algúns dos métodos analíticos máis comúns empregados na detección e cuantificación de QDs.[193]

[193]Sanmartín-Matalobos, J.; Bermejo-Barrera, P.; Aboal-Somoza, M., *et al.*; Semiconductor Quantum Dots as Target Analytes: Properties, Surface Chemistry and Detection. *Nanomaterials* **2022,** 12, 2501.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.5.1. *ICP–MS*

Un dos métodos analíticos máis empregados na detección e cuantificación dos diferentes QDs en disolución é o ICP – MS (espectrometría de masas atómica con plasma acoplado por indución).

Esta técnica consiste, de forma moi xeral, na ionización dos átomos empregando unha fonte de plasma. Unha vez levada a cabo a ionización dos distintos átomos, ditos ións son detectados e separados mediante a espectrometría de masas. A mostra en fase líquida é transportada por unha bomba peristáltica ata un sistema nebulizador onde é transformada en forma de aerosol pola acción dun gas, xeralmente argon. A partir deste momento, a mostra en forma de aerosol é conducida á zona de ionización, que consiste nun plasma xerado ao someter un fluxo de argon á acción dun campo magnético oscilante, inducido por unha corrente de alta frecuencia. Nestas condicións, os átomos presentes na mostra son ionizados e ditos ións pasan ao interior dun filtro cuadrupolar, onde son separados en función da relación carga/masa que presenten. Por último, cada unha das masas sintonizadas chegan ao detector e avalíase a súa abundancia na mostra.[194,195]

[194]Linge, K. L.; Jarvis, K. E.; Quadrupole ICP-MS: Introduction to Instrumentation, Measurement Techniques and Analytical Capabilities. *Geostandards and Geoanalytical Research* **2009,** 33 (4), 445-467.

[195]Ammann, A. A.; Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): a versatile tool. *Journal of Mass Spectrometry* **2007,** 42 (4), 419-427.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Esta técnica analítica descríbese en varios estudos[196-199] nos que levan a cabo a detección e cuantificacións de diferentes QDs, obtendo excelentes resultados. En ditos estudos, a concentración das disolucións dos QDs aparecen expresadas en unidades de μM.

De forma xeral, cando se fala de sensibilidade, con respecto á absorbancia óptica como método de cuantificación dos QDs, esta está limitada ó rango de concentración nanomolar. Pola contra, o ICP-MS proporciona unha sensibilidade a nivel picomolar. Con esta técnica é posíbel detectar cuantitativamente as concentracións de ións presentes no medio.[199]

1.5.2. ICP-AES

A espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado por indución (ICP-AES) é unha espectroscopía de emisión que cuantifica a porcentaxe de masa dos metais no propio analito ou analitos. A ICP-AES baséase en excitar os átomos ou ións metálicos presentes no analito empregando un plasma de argon, e posteriormente, coa axuda dun espectrómetro resólvese e cuantifícase a radiación electromagnética

[196]Montoro Bustos, A. R.; Garcia-Cortes, M.; González-Iglesias, H., *et al.*; Sensitive targeted multiple protein quantification based on elemental detection of Quantum Dots. *Analytica Chimica Acta* **2015,** 879, 77-84.

[197]Montoro Bustos, A. R.; Trapiella-Alfonso, L.; Encinar, J. R., *et al.*; Elemental and molecular detection for Quantum Dots-based immunoassays: A critical appraisal. *Biosensors & bioelectronics* **2012,** 33 (1), 165-171.

[198]Zheng, L.-N.; Wang, M.; Wang, B., *et al.*; Determination of quantum dots in single cells by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta* **2013,** 116, 782-787.

[199]Sewell, S. L.; Higgins, M. M.; Bell, C. S., *et al.*; Quantification of Quantum Dot Concentration Using Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS). *Journal of biomedical nanotechnology* **2011,** 7 (5), 685-690.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

emitida por ditos átomos/ións excitados.[200,201] Este tipo de espectroscopía é unha técnica moi empregada na cuantificación de nanopartículas e QDs xa que presenta unha serie de beneficios como a detección a niveis por debaixo de ppms, alta precisión e un rango dinámico de ordes de magnitude.[202,203]

En varios estudos levados a cabo, onde un dos obxectivos era a cuantificación de NPs e QDs, dita cuantificación levouse a cabo empregando diferentes técnicas analíticas de detección. Unha delas foi a ICP-AES e os resultados obtidos con esta técnica en particular foron significativamente mellores que os obtidos nos outros casos.[204-207]

1.5.3. *Cromatografía de exclusión por tamaños*

A cromatografía de exclusión por tamaños (SEC) é unha técnica de carácter analítico empregada con frecuencia neste tipo de estudos de detección e cuantificación. Moita da información da que se dispón hoxe

[200]Pramanik, S.; Das, P.; Metal-Based Nanomaterials and Their Polymer Nanocomposites. In *Nanomaterials and Polymer Nanocomposites*, Elsevier: US, **2019**; 101-105.

[201]Boumans, P. W. J. M.; Inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy: Its present and future position in analytical chemistry. *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie* **1979,** 299 (5), 337-361.

[202]Marquis, B. J.; Love, S. A.; Braun, K. L., *et al.*; Analytical methods to assess nanoparticle toxicity. *Analyst (London)* **2009,** 134 (3), 425-439.

[203]Savage, R. N. G.; Hieftje, M.; Development and Characterization of a Miniature Inductively Coupled Plasma Source for Atomic Emission Spectrometry. *Analytical Chemistry* **1979,** 51 (3), 408-413.

[204]Albanese, A.; Tsoi, K. M.; Chan, W. C. W.; Simultaneous Quantification of Cells and Nanomaterials by Inductive-Coupled Plasma Techniques. *Jala* **2013,** 18 (1), 99-104.

[205]Bednar, A. J.; Poda, A. R.; Mitrano, D. M., *et al.*; Comparison of on-line detectors for field flow fractionation analysis of nanomaterials. *Talanta* **2013,** 104, 140-148.

[206]Hauck, T. S.; Anderson, R. E.; Fischer, H. C., *et al.*; In vivo Quantum-Dot Toxicity Assessment. *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **2010,** 6 (1), 138-144.

[207]Fischer, H. C.; Fournier-Bidoz, S.; Chan, W. C. W., *et al.*; Quantitative detection of engineered nanoparticles in tissues and organs: An investigation of efficacy and linear dynamic ranges using ICP-AES. *Nanobiotechnology* **2007,** 3 (1), 46-54.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

en día é grazas a posibilidade de axustar técnicas como a SEC a outros métodos detección como poden ser a espectroscopía UV-Visible, fluorescencia ou ICP-MS, entre outros.[208]

Este tipo de cromatografía emprégase tipicamente na separación de macromoléculas en disolución, xa que se trata dunha técnica de cromatografía líquida en columna. Neste tipo de cromatografía, a fase estacionaria consiste nun material poroso o cal permite que se produza unha elución diferencial dos diferentes solutos, en función dos seus tamaños moleculares. O material poroso que conforma a fase estacionaria debe de ser inerte, estable, resistente e cun tamaño de partícula e de poro uniformes. Está composto por pequenas partículas de sílice ou de polímeros, normalmente cun diámetro entre 5 e 10 μm. As moléculas de soluto quedan atrapadas na rede de poros en función do seu tamaño, polo que os analitos de menor tamaño presentan tempos de elución maiores que aqueles cun tamaño de partícula superior. A diferenza doutros modos de cromatografía, a SEC baséase na ausencia de interaccións entre o analito e a fase estacionaria.[209-212]

---

[208]Pitkänen, L.; Striegel, A. M.; Size-exclusion chromatography of metal nanoparticles and quantum dots. *TrAC, Trends in analytical chemistry (Regular ed.)* **2016,** 80, 311-320.

[209]Alamo-Nole, L.; Bailon-Ruiz, S.; Perales-Perez, O., *et al.*; Preparative size-exclusion chromatography for separation and purification of water-stable Cd-based quantum dots. *Analytical Methods* **2012,** 4, 3127-3132.

[210]Arita, T.; Yoshimura, T.; Adschiri, T.; Size exclusion chromatography of quantum dots by utilizing nanoparticle repelling surface of concentrated polymer brush. *Nanoscale* **2010,** 2 (8), 1467-1473.

[211]Krueger, K. M.; Al-Somali, A. M.; Falkner, J. C., *et al.*; Characterization of Nanocrystalline CdSe by Size Exclusion Chromatography. *Analytical Chemistry* **2005,** 77 (11), 3511-3515.

[212]Owens, S. A.; Carpenter, M. C.; Sonne, J. W. H., *et al.*; Reversed-Phase HPLC Separation of Water-Soluble, Monolayer-Protected Quantum Dots. *The Journal of Physical Chemistry C* **2011,** 115 (39), 18952-18957.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Nun estudo levado a cabo por Paydary and Larese-Casanova no ano 2015, empregouse este método analítico para levar a cabo a separación e cuantificacións de quantum dots de CdSe/ZnS dos seus correspondentes ións métalicos en disolución, Cd^{2+} e Zn^{2+}. Os resultados que obtiveron en dito estudo foron moi prometedores, xa que conseguiron separar todos os QDs dos seus respectivos catións metálicos, cunha diferenza nos tempos de retención de 5 minutos aproximadamente. Para conseguir estes resultados tiveron en conta dous factores: o tamaño de poro e o tamaño lonxitudinal da columna cromatográfica. Empregaron un tamaño de poro de 12,5 nm para conseguir aumentar a separación nos tempos de retención e unha columna de maior tamaño lonxitudinal (300 nm).[213]

1.5.4. *Single-Particle ICP-MS*

A técnica analítica *single-particle counting*[214-216] consiste no reconto de partículas individuais, permitindo cuantificar de forma non discriminatoria os QDs en función do seu propio rastro de refachos de fluorescencia ou "*fluorescence bursts*". Deste xeito parámetros como a composición, estrutura, modificacións presentes na codia, coeficiente de absorción (ϵ) e rendemento cuántico (Φ) non é necesario telos en conta para levar a cabo o estudo de cuantificación, xa que non son influíntes. O

[213]Paydary, P.; Larese-Casanova, P.; Separation and quantification of quantum dots and dissolved metal cations by size exclusion chromatography-ICP-MS. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **2015,** 95 (15), 1450-1470.

[214]Zhang, C.-y.; Johnson, L. W.; Simple and Accurate Quantification of Quantum Dots via Single-Particle Counting. *Journal of the American Chemical Society* **2008,** 130 (12), 3750-3751.

[215]Heyes, C. D.; Quantum dots in single molecule spectroscopy. In *Spectroscopy and Dynamics of Single Molecules: Methods and Applications*, Johnson, C. K., Ed. Elsevier Science BV: Amsterdam, **2019**; 163-228.

[216]Hu, J.; Li, Y.; Li, Y., *et al.*; Single Quantum Dot-Based Nanosensor for Sensitive Detection of O-GlcNAc Transferase Activity. *Analytical Chemistry* **2017,** 89 (23), 12992-12999.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

fundamento deste método baséase na detección de moléculas illadas, o que resulta na identificación individual de moléculas fluorescentes cunha alta relación sinal-ruído.[217,218]

Esta técnica supón unha alternativa fiable fronte a métodos máis tradicionais como pode ser a realización de espectros de absorción UV-Visible[219,220] e de fluorescencia.[221,222] Estas técnicas presentan unha desvantaxe importante polo feito de que é necesario empregar grandes cantidades de QDs purificados, con coeficientes de absorción (ϵ) e rendemento cuántico (Φ) específicos para poder levar a cabo as medidas.

No estudo realizado por Zhang and Johnson[214] emprégase esta mesma técnica e sinálase que o reconto de partículas individuais permite unha medición fiable destas nanoestructuras, non só en disolución acuosa senón que tamén en disolventes de tipo orgánico, onde se atopan xeralmente dispersas. Unha característica moi relevante desta técnica é a capacidade que presenta para determinar simultaneamente diferentes QDs a distintas concentracións nunha mestura. A maiores, tamén

[217]Pons, T.; Medintz, I. L.; Wang, X., *et al.*; Solution-Phase Single Quantum Dot Fluorescence Resonance Energy Transfer. *Journal of the American Chemical Society* **2006,** *128* (47), 15324-15331.

[218]Zhang, C.-Y.; Yeh, H.-C.; Kuroki, M. T., *et al.*; Single-quantum-dot-based DNA nanosensor. *Nature Materials* **2005,** *4* (11), 826-831.

[219]Yu, W. W.; Qu, L.; Guo, W., *et al.*; Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. *Chemistry of Materials* **2003,** 15 (14), 2854-2860.

[220]Schmelz, O.; Mews, A.; Basché, T., *et al.*; Supramolecular Complexes from CdSe Nanocrystals and Organic Fluorophors. *Langmuir* **2001,** 17 (9), 2861-2865.

[221]Wu, Y.; Lopez, G. P.; Sklar, L. A., *et al.*; Spectroscopic characterization of streptavidin functionalized quantum dots. *Analytical Biochemistry* **2007,** 364 (2), 193-203.

[222]Lakowicz, J. R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer New York: New York, **2006**; 954.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

reportan que é posíbel detectar con este método QDs que só presenten estrutura nuclear.

1.5.5. *CZE-ICP-MS*

Dentro da variedade dos métodos analíticos empregados na identificación e cuantificación dos QDs, levouse a cabo un estudo[223] no ano 2018 onde empregaban o CZE-ICP-MS, obtendo uns resultados moi prometedores. Este método analítico consiste en axustar a técnica de electroforese en zona capilar a un ICP-MS. Ata o momento, só se empregara esta técnica para levar a cabo caracterizacións e separacións de nanopartículas.[224,225]

Recentemente, Meng *et al.*[223] realizaron un estudo moi prometedor no que empregaban este método para a identificación e cuantificación de CdTe QDs, xunto cos produtos que se formaban pola degradacións dos mesmos. Segundo os autores, a clave para obter unha boa separación son as disolucións tampón empregadas, tanto a disolución tampón de funcionamento do equipo como a disolución tampón das mostras, sendo Na_2HPO_4 (pH 9,0) e $Na_2B_4O_7$-H_3BO_3 (pH 9,0) respectivamente. Ademais, os resultados que obtiveron confirmaban que o método descrito supón unha estratexia novidosa no entendemento da toxicidade e da degradación destes QDs. A maiores tamén se reportaron

[223]Meng, P.; Xiong, Y.; Wu, Y., *et al.*; A novel strategy to evaluate the degradation of quantum dots: identification and quantification of CdTe quantum dots and corresponding ionic species by CZE-ICP-MS. *Chemical Comm* **2018,** 54 (42), 5342-5345.

[224]Liu, L.; He, B.; Liu, Q., *et al.*; Identification and Accurate Size Characterization of Nanoparticles in Complex Media. *Angewandte Chemie* **2014,** *126* (52), 14704-14707.

[225]Franze, B.; Engelhard, C.; Fast Separation, Characterization, and Speciation of Gold and Silver Nanoparticles and Their Ionic Counterparts with Micellar Electrokinetic Chromatography Coupled to ICP-MS. *Analytical Chemistry* **2014,** *86* (12), 5713-5720.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

resultados salientables na busca de métodos de purificación e nos procesos de control da síntese destes QDs.

1.5.6. *Espectroscopía de fluorescencia*

O fenómeno de luminescencia ten lugar cando un número de moléculas absorben fotóns, dunha determinada lonxitude de onda, e son excitadas dende o estado electrónico fundamental S_0 a un estado electrónico excitado S_n ($n \geq 1$) da mesma multiplicidade. As moléculas que se atopan en dito estado electrónico excitado descenderán ao estado S_0 producíndose, en primeiro lugar, o fenómeno coñecido como conversión interna. A molécula descende dende o estado electrónico excitado S_n ao S_1 (cando se atopa nun estado excitado superior), disipando parte da súa enerxía en forma de fotóns. Unha vez que se atopa no estado S_1, caerá ao estado electrónico fundamental S_0 emitindo un fotón, cunha taxa de radiación constante nun tempo da orde dos 10^{-9} s, fenómeno coñecido como fluorescencia.[226,227]

Nestas ultimas décadas, cada vez publícanse máis estudos que demostran o potencial da espectroscopía de fluorescencia como ferramenta de control e detección, tanto en sistemas naturais como en sistemas artificiais ou sintéticos.[228] Esta técnica espectroscópica empregouse con éxito na caracterización de materia orgánica en auga de

[226]Albani, J. R., *Principles and Applications of Fluorescence Spectroscopy*. Blackwell Publishing Ltd: **2007**; 266.

[227]Lakowicz, J. R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer New York: New York, **2006**; 954.

[228]Carstea, E.; Bridgeman, J.; Baker, A., *et al.*; Fluorescence spectroscopy for wastewater monitoring: A review. *Water Research* **2016,** 95, 205-219.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

mar,[229,230] auga doce,[231,232] auga de estuario,[233] etc. Tamén existen estudos que empregaron este método para avaliar procesos de tratamento de auga potable[234,235] ou incluso, para detectar pesticidas en mostras de auga de mar[236]. Finalmente, existen antecedentes[237-240] nos que se describe a utilización desta técnica para detectar e cuantificar QDs de grafeno.

[229]Conmy, R. N.; Coble, P. G.; Castillo, C. E. D.; Calibration and performance of a new in situ multi-channel fluorometer for measurement of colored dissolved organic matter in the ocean. *Continental Shelf Research* **2004,** *24* (3), 431-442.

[230]Drozdowska, V.; The lidar investigation of the upper water layer fluorescence spectra of the Baltic Sea. *The European Physical Journal Special Topics* **2007,** *144* (1), 141-145.

[231]Spencer, R. G. M.; Pellerin, B. A.; Bergamaschi, B. A., *et al.*; Diurnal variability in riverine dissolved organic matter composition determined byin situ optical measurement in the San Joaquin River (California, USA). *Hydrological processes* **2007,** *21* (23), 3181-3189.

[232]Carstea, E. M.; Baker, A.; Pavelescu, G., *et al.*; Continuous fluorescence assessment of organic matter variability on the Bournbrook River, Birmingham, UK. *Hydrological Processes* **2009,** *23* (13), 1937-1946.

[233]Huguet, A.; Vacher, L.; Relexans, S., *et al.*; Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic geochemistry* **2009,** *40* (6), 706-719.

[234]Cumberland, S.; Bridgeman, J.; Baker, A., *et al.*; Fluorescence spectroscopy as a tool for determining microbial quality in potable water applications. *Environmental Technology* **2012,** *33* (6), 687-693.

[235]Shutova, Y.; Baker, A.; Bridgeman, J., *et al.*; Spectroscopic characterisation of dissolved organic matter changes in drinking water treatment: From PARAFAC analysis to online monitoring wavelengths. *Water Research* **2014,** *54*, 159-169.

[236]Ferretto, N.; Tedetti, M.; Guigue, C., *et al.*; Identification and quantification of known polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides in complex mixtures using fluorescence excitation–emission matrices and parallel factor analysis. *Chemosphere* **2014,** *107*, 344-353.

[237]Benítez-Martínez, S.; Valcárcel, M.; Fluorescent determination of graphene quantum dots in water samples. *Analytica Chimica Acta* **2015,** *896*, 78-84.

[238]Benítez-Martínez, S.; López-Lorente, A. n. I.; Valcárcel, M.; Graphene Quantum Dots Sensor for the Determination of Graphene Oxide in Environmental Water Samples. *Analytical Chemistry* **2014,** *86* (24), 12279-12284.

[239]Medina-Sánchez, M.; Miserere, S.; Marín, M., *et al.*; On-chip electrochemical detection of CdS quantum dots using normal and multiple recycling flow through modes. *Lab Chip* **2012,** *12* (Generic), 2000-2005.

[240]Lewinski, N. A.; Zhu, H.; Jo, H.-J., *et al.*; Quantification of Water Solubilized CdSe/ZnS Quantum Dots in Daphnia magna. *Environmental Science & Technology* **2010,** *44* (5), 1841-1846.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

En xeral, a utilización da espectroscopía de fluorescencia molecular leva aparellado un procesamento sinxelo da mostra, un baixo coste, unha resposta rápida, unha alta sensibilidade, e unha alta selectividade baseada no deseño da unión molecular sensor-analito. Estas avantaxes, xunto coa necesidade de dispor de métodos fiables e asumibles de detección e cuantificación de nanomateriais en mostras acuosas, impulsaron a investigación que a continuación se recolle.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo 2

Obxectivos e hipótese

2.1. Antecedentes, obxectivos e hipótese

Na actualidade, como xa se indicou na introdución (seccións 1.2 e 1.3), o estudo dos nanomateriais é unha área de intensa investigación científica, debido a súa extensa variedade de aplicacións (figura 2.1.1).[31-33,49,50,112,113] Entre os campos mais prometedores están o biomédico,

[31]Zhang, F.; Grand Challenges for Nanoscience and Nanotechnology in Energy and Health. Frontiers in chemistry **2017**, 5, 80.

[32]Grigore, M. E.; Biscu, E. R.; Holban, A. M., et al. Methods of Synthesis, Properties and Biomedical Applications of CuO Nanoparticles. *Pharmaceuticals (Basel)* **2016**, 9 (4), 75.

[33]Ahamed, M.; Alhadlaq, H. A.; Khan, M. A. M., *et al.*; Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activity of Copper Oxide Nanoparticles. *Journal of Nanomaterials* **2014,** 2014.

[49]Tai, G. a.; Zhou, J.; Guo, W.; Inorganic salt-induced phase control and optical characterization of cadmium sulfide nanoparticles. *Nanotechnology* **2010,** *21* (17), 175601.

[50]Chan, W. C. W.; Nie, S.; Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. *Science* **1998,** 281 (5385), 2016-2018.

[112]Jamieson, T.; Bakhshi, R.; Petrova, D., *et al.*; Biological applications of quantum dots. *Biomaterials* **2007,** 28 (31), 4717-4732.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

electrónico e óptico. Aínda que polo xeral os nanomateriais empréganse, fundamentalmente, no perfeccionamento e innovación de materiais xa existentes.

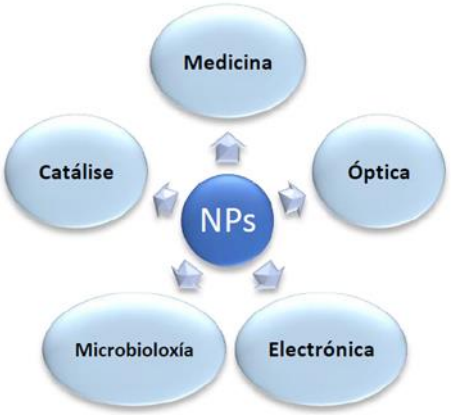


Figura 2.1.1: Esquema das aplicaciones das NPs de CuO

Algunhas das aplicacións máis comúns son como sensores químicos, vidros que se limpan automaticamente eles sos, tintas magnéticas e condutoras, no tratamento de augas con procesos fotocatalíticos, en recubrimentos téxtiles repelentes de auga e sucidade; na área da electrónica para crear memorias de alta densidade, pantallas con dispositivos de emisión baseados en óxidos condutores, etc.[159,160] Debido ao rápido desenvolvemento da nanotecnoloxía, a fabricación de

[113]Lim, Y. T.; Kim, S.; Nakayama, A., *et al.*; Selection of Quantum Dot Wavelengths for Biomedical Assays and Imaging. *Molecular Imaging* **2003,** 2 (1), 50-64.

[159]Luo, X.; Morrin, A.; Killard, A. J., *et al.*; Application of Nanoparticles in Electrochemical Sensors and Biosensors. *Electroanalysis* **2006,** 18 (4), 319-326.

[160]Xu, R.; Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement. *Particuology* **2008,** 6 (2), 112-115.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

nanomateriais con diversas formas e diámetros creceu de maneira exponencial en moi pouco tempo. Un claro exemplo son as NPs de TiO_2 e as NPs de ZnO, empregadas con frecuencia como aditivos funcionais en diversos produtos cosméticos (principalmente en cremas solares) para combater o envellecemento, debido á súa capacidade para absorber a radiación ultravioleta (UV).[161-166]

En contraste coa extensa variedade de aplicacións, é pouca a información da que se dispón sobre o destino dos nanomateriais que, dado o seu tamaño reducido, moitos temen que se estendan e acumulen nos organismos vivos e danen, de maneira directa, os ecosistemas e a biodiversidade. Os nanomateriais poden introducirse con gran facilidade no corpo humano e, por exemplo, afectar as proteínas celulares e ao sistema inmunolóxico. O informe anual da ONU sobre o medio ambiente de 2006, cualifica á nanotecnoloxía como un desafío emerxente: "Ten un enorme potencial para xerar beneficios sociais, económicos e ambientais (...). Con todo, o seu impacto ambiental é, en gran medida, descoñecido(...).

---

[161]Kim, S. W.; An, Y. J.; Effect of ZnO and TiO_2 nanoparticles preilluminated with UVA and UVB light on Escherichia coli and Bacillus subtilis. *Appl Microbiol Biotechnol* **2012,** 95 (1), 243-53.

[162]Labille, J.; Feng, J.; Botta, C., *et al.*; Aging of TiO(2) nanocomposites used in sunscreen. Dispersion and fate of the degradation products in aqueous environment. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* **2010,** 158 (12), 3482-9.

[163]Tyner, K. M.; Wokovich, A. M.; Godar, D. E., *et al.*; The state of nano-sized titanium dioxide (TiO2) may affect sunscreen performance. *Int J Cosmet Sci* **2011,** 33 (3), 234-44.

[164]Lewicka, Z.; Yu, W.; Oliva, B., *et al.*; Photochemical behavior of nanoscale TiO2 and ZnO sunscreen ingredients. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2013,** 263, 24–33.

[165]Lohani, A.; Verma, A.; Joshi, H., *et al.*; Nanotechnology-based cosmeceuticals. *ISRN Dermatol* **2014,** 2014, 843687.

[166]Ma, H.; Williams, P. L.; Diamond, S. A.; Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles--a review. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* **2013,** 172, 76-85.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Fai falla unha investigación máis sistemática e políticas específicas para o sector". Estados Unidos e Europa dedican 7700 millóns de euros a investigar beneficios potenciais da nanotecnoloxía, pero só 30 millóns de euros a avaliar os seus riscos.[167-170] Na sección 1.5 da introdución descríbense algúns dos métodos analíticos máis comúns empregados na detección e cuantificación de QDs.

Esta tese doutoral ten como obxectivo xeral o deseño, síntese, caracterización e estudo de ligandos orgánicos, que poidan actuar como receptores para levar a cabo a determinación de nanomateriais, tales como nanopartículas de CuO, NPs de CdSe e quantum dots de CdSe recubertos de cisteína, en medios acuosos ou en alcois. Deseñaranse ligandos que porten un fluoróforo, e que dispoñan dun dominio enlazante axeitado para interaccionar cos ións metálicos da superficie dos nanomateriais.

A variación na intensidade da fluorescencia do ligando, como consecuencia da interacción cos nanomateriais, usarase para a súa determinación. A maiores, explorarase a inmobilización dalgún destes

---

[167]Sanmartín, J.; García-Deibe, A.; Fondo, M., *et al.*; Exploration of an Easily Synthesized Fluorescent Probe for Detecting Copper in Aqueous Samples. *Dalton Trans.* **2017,** *46*, 15827-15835.

[168]Baek, Y. W.; An, Y. J.; Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb2O3) to Escherichia coli, Bacillus subtilis, and Streptococcus aureus. *The Science of the total environment* **2011,** 409 (8), 1603-8.

[169]Ivask, A.; Juganson, K.; Bondarenko, O., *et al.*; Mechanisms of toxic action of Ag, ZnO and CuO nanoparticles to selected ecotoxicological test organisms and mammalian cells in vitro: a comparative review. *Nanotoxicology* **2014,** *8 Suppl* 1, 57-71.

[170]Chang, Y. N.; Zhang, M.; Xia, L., *et al.*; The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. *Materials (Basel)* **2012,** 5 (12), 2850–2871.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ligandos sobre papel de celulosa co obxectivo de obter unha resposta rápida, un funcionamento sinxelo e un coste baixo na detección dos diferentes NMs.

Co obxectivo xeral mencionado, os obxectivos específicos desta tese son:

2.1.1. *Deseño dos ligandos orgánicos*

Neste proxecto preténdese deseñar varios ligandos, axeitados para que a interacción que se produza cos NMs sexa a máis favorable posible.

O deseño dos ligandos comezará seleccionando o/os dominios enlazantes da súa estrutura molecular para que se poda levar a cabo a interacción cos NMs desexados (CuO NPs CdSe NPs e CdSe-Cys QDs), tendo en conta a diferente acidez dos ións Cu^{2+} (intermedio) e Cd^{2+} (brando) cos que se pretende a interacción. Ademais, dotarase á especie precursora do ligando de grupos funcionais axeitados para unirse ao fluoróforo, e de ser o caso a papel de celulosa.

En canto ao fluoróforo, elixirase unha especie comercial que conte cun grupo funcional axeitado para unirse á especie precursora do ligando, que contén o dominio enlazante destinado a actuar como un receptor dos nanomateriais.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.1.2. *Síntese e caracterización dos ligandos na súa forma libre*

Unha vez deseñados os ligandos, os cales actuarán como receptores para detección de NMs, levaremos a cabo a súa síntese e para levala a cabo, empregaremos diferentes estratexias buscando obter o maior rendemento posíbel. Posteriormente continuaremos coa caracterización dos mesmos e para isto empregaremos diferentes técnicas difractométricas e espectroscópicas, tales como difracción de raios X (DRX), resonancia magnética de protón (RMN-^{1}H), espectroscopía infravermella (IR), espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis) e espectroscopía de fluorescencia, para poder comparar máis adiante como se ve afectada a intensidade de fluorescencia con respecto á detección dos NMs mediante estes receptores.[167,171]

2.1.3. *Estudo das propiedades fluorescentes dos ligandos na súa forma libre*

En primeiro lugar levarase a cabo un estudo de fluorescencia dos ligandos sintetizados na súa forma libre, sen modificación do pH e a temperatura ambiente.

[171]Sanmartín-Matalobos, J.; García-Deibe, A.; Zarepour-Jevinani, M., *et al.*; Exploring the Chelating Potential of an Easily Synthesized Schiff Base for Copper Sensing. *Crystals* **2020,** 10 (3), 235.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.1.4. *Estudo da influenza de diferentes factores nas propiedades fluorescentes dos ligandos na súa forma libre*

A continuación variaranse pH e temperatura, co fin de achar as condicións instrumentais nas que os ligandos emiten fluorescencia con maior intensidade.

2.1.5. *Estudo da inmobilización sobre papel de celulosa dalgún dos ligandos libres preparados*

Estudaranse diferentes estratexias que permitan a inmobilización dalgún dos ligandos sobre papel de celulosa, así como técnicas que permitan verificar a súa fixación.[172]

2.1.6. *Estudo da influenza de diferentes factores sobre as propiedades fluorescentes do sistema construído por ligando e nanomateriais*

Estudarase de que forma factores como o pH do medio, a concentración dos NMs, a presencia de interferentes no medio de reacción, ou os cambios de temperatura, afectan á intensidade de fluorescencia do sistema constituído por nanomateriais e ligando, en disolución e inmobilizado sobre papel de celulosa.

---

[172]Jeon, C. H.; Park, C.; Lee, C., *et al.*; Simple immobilization of mercury ion chemosensors to solid substrate. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2017,** 57, 370-376

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Empregáranse as técnicas mencionadas na caracterización dos ligandos orgánicos e, a maiores, segundo o caso, empregaranse técnicas como a microscopía electrónica de barrido (SEM), difracción de raios X, difracción en po cristalino, espectroscopía de raios X de enerxía dispersiva, análise elemental, reflectancia difusa, UV-Vis e infravermello entre outras

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo 3

Metodoloxía

3.1. Técnicas de caracterización

3.1.1. *Resonancia magnética nuclear de ^{1}H*

Todos os materiais de partida e reactivos estaban dispoñibles no mercado e empregáronse sen más purificación. Os espectros de RMN-^{1}H (400 MHz) medíronse en disolventes deuterados cun espectrómetro Varian Inova 400. Os valores J indícanse en Hz.

3.1.2. ATR-FTIR

Os espectros medíronse na rexión de números de onda de 4000 a 400 cm^{-1}, empregando un espectrómetro FT-IR PerkinElmer Spectrum Two acoplado con ATR de diamante, que consiste nun disco de diamante como o elemento de reflexión interna.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.1.3. *Análise elemental*

As análises elementais realizáronse nun analizador elemental FISONS, modelo EA 1108.

3.1.4. *Espectroscopía* UV-Vis

As medidas de absorbancia en disolución lévanse a cabo nun espectrofotómetro de absorción molecular UV-Vis, V-780 UV-Visible/NIR Spectrophotometer Jasco. As medidas realizanse en modo barrido espectral medindo o espectro desde 200 a 800 nm tomando datos cada 1nm a unha velocidade de 400 nm/min.

3.1.5. *Reflectancia difusa*

Os espectros de reflectancia difusa medíronse nun espectrofotómetro UV/Vis/NIR PerkinElmer LAMBDA 1050+, equipado cunha esfera integradora.

3.1.6. *Espectroscopía de fluorescencia*

Os espectros de fluorescencia realizáronse nun espectrómetro de fluorescencia, RF-600 Spectro Fluorophotometer Shimadzu. As medidas realizáronse tomando datos cada 2 nm a unha velocidade de 600 nm/min, e cunha anchura de abertura de entrada e saida de 5 nm.

3.1.7. *Estudos* XRF

A fluorescencia de raios X mediuse en baleiro (19,6 mbar) empregando un sistema M4 TORNADO (BRUKER), co tubo Rh,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

funcionando a 50kV e 200 μA. Os mapas de fluorescencia recolléronse durante un tempo total de 2 ms por píxel, cun tamaño de píxel de 20 μm.

Para a realización dos espectros XRF, preparáronse unha serie de pastillas con cada un dos compostos derivados da interacción entre ligando e nanomateriais. Preparando unha disolución do ligando a un valor de pH axeitado, e unha suspensión de nanomateriais a pH neutro, nunha proporción molar de 2:1 respectivamente. Unha vez mesturadas ambas disolucións, axitouse a temperatura ambiente durante unhos 15 minutos. Transcorrido ese tempo, evaporouse o disolvente (EtOH absoluto) e secouse na estufa para a posterior formación das pastillas.

3.1.8. *Microscopía electrónica de barrido* (SEM)

Para investigar o tamaño e a morfoloxía aplicouse a microscopía electrónica de barrido (SEM), a cal levouse a cabo nun ZEISS FESEM *ULTRA Plus* con microanálise EDX. A observación das mostras realizouse en modo STEM, partindo dunha mostra preparada nun portamostras. Finalmente, o microanálise EDX xera un mapa cualitativo e semicuantitativo de distribución de elementos químicos e perfiles de concentración dun elemento químico entre dous puntos.

3.1.9. *Rectas de calibrado*

Para levar a cabo as calibracións analíticas foi necesario a preparación dunha serie de disolucións cun volume total de 4 mL cada unha, utilizando unha mestura de etanol absoluto e auga (80:20) como disolvente. A concentración do ligando orgánico, en cada caso, era constante mentres que a concentración do nanomaterial ía aumentando

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

gradualmente ata que o efecto do *quenching* era constante. O pH das disolucións de H_3L^1 e H_3L^3 basificouse cunha disolución de NaOH 0,1M (valores de 9 a 11), mentres que o pH da disolución de H_2L^2 acidificouse cunha disolución de HNO_3 0,1M (en función do pH máis axeitado para traballar con cada un dos ligandos). Ademais, todas as disolucións se axitaron, mediante ultrasonidos, durante 1 minuto cada una, antes de facer as medidas no espectrofotómetro de fluorescencia.

3.1.10. *Limpeza do material*

Todo o material de vidro empregado someteuse a un proceso de lavado. En términos xerais, todo o material lavouse con auga e xabón, e posteriormente con acetona, deixándoo secar no estufa a 60 °C.

De xeito particular, todo o material que estivo en contacto con NPs lávase con auga e xabón e somérxese durante 48 h mínimo nun tanque de ácido nítrico ao 10%. Pasado dito tempo, lávase de novo con abundante auga ultrapura e déixase secar.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.2. Reactivos e disolucións

3.2.1. *Reactivos e disolucións xerais*

- → Etanol absoluto, Panreac (Barcelona, España).
- → Hexano, Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania).
- → Acetato de etilo, Fisher Chemical (Massachusetts, Estados Unidos).
- → Metanol, Honeywell Fluka Analytical (Nueva Jersey, Estados Unidos).
- → 4-carboxi-2-hidroxibenzaldehido, Sigma-Aldrich.
- → 2-aminobencilamina, Sigma-Aldrich
- → Cloruro de Dansilo, Sigma-Aldrich.
- → Silica gel, Sigma-Aldrich.
- → Lana de vidrio lavada químicamente pura, Panreac.
- → Arena de mar lavada, Panreac.
- → (3-aminopropil)trietoxisilano, Sigma-Aldrich.
- → N-hidroxisuccinimida, Sigma-Aldrich.
- → N-(3-dimetilaminopropil)-N´-etilcarbodiimida clorhidrato, Sigma-Aldrich.
- → N,N'-dimetilformamida, Panreac.
- → Trietilamina, Honeywell Fluka Analytical.
- → Dimetilsulfóxido deuterado, Scharlau (Barcelona, España).
- → Ácido nítrico 60%, Sigma-Aldrich.
- → Metanol hipergrado para LC-MS LiChrosolv, Merk (Darmstadt, Alemania).
- → Auga ultrapura miliQ®.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

→ $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, Thermo Scientific Chemicals
→ L-cysteina hidrocloruro, Sigma-Aldrich.
→ Se en polvo, Sigma-Aldrich.
→ Borohidruro de sodio, Sigma-Aldrich.

3.2.2. *Patróns e disolucións patrón*

→ Patrón Cu 1000µg/ml disolución ao 2% HNO_3, PerkinElmer (Massachusetts, EE.UU).
→ Patrón Fe, 1000µg/ml, disolución ao 2% HNO_3, PerkinElmer.
→ Patrón Na, 1000µg/ml, disolución ao 2% HNO_3, PerkinElmer.
→ Patrón Se, 1000µg/ml, disolución ao 2% HNO_3, PerkinElmer.
→ Patrón Cd, 1000µg/ml, disolución ao 2-3% HNO_3, CertPUR®Merck (Darmstadt, Alemania).
→ Patrón Mg, 1000µg/ml, disolución ao 2-3% HNO_3, CertPUR®Merck.
→ Patrón Ca, 1000µg/ml, disolución ao 2-3% HNO_3, CertPUR®Merck.
→ Patrón Al, 1000µg/ml, disolución ao 2% HNO_3, Scharlau (Barcelona, España).
→ Patrón K, 1000µg/ml, disolución ao 2% HNO_3, Scharlau.
→ Patrón NPs ZnO ≤40nm, Aldrich (Steinheim, Alemania).
→ Patrón NPs TiO_2 <150nm, Aldrich.
→ Patrón NPs Cu 40-60nm, Aldrich.
→ Patrón NPs CuO <50, Aldrich.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A partir dos patróns anteriores preparáronse diferentes disolucións de NPs e QDs de concentración 20mg/L en agua ultrapura miliQ®. O resto de disolucións de menor concentración preparáronse empregando a cantidade necesaria destes patróns e diluíndo con auga ultrapura miliQ®.

3.3. Instrumentación e materiais

3.3.1. *Instrumentos*

- → Espectrofotómetro UV-vis JASCO V-730 (Tokyo, Japón).
- → Espectrofotómetro LAMBDA UV-vis-NIR Perkin Elmer 1050+ con esfera integradora (Massachusetts, Estados Unidos).
- → Espectrofotómetro de fluorescencia Shimadzu RF-6000 (Kyoto, Japón).
- → Espectrómetro Varian Inova 400 (California, Estados Unidos).
- → Espectrómetro FT-IR-4600 Jasco.
- → Balanza analítica modelo SI-234 de precisión ±0,1mg, Baxtran (Girona, España).
- → Lámpara UV-vis 254/365 nm, Vilber Lourmat (Collégien, Francia).
- → Rotavapor Buchi R-210 (Flawil, Suiza).
- → Estufa Heraeus (Hanau, Alemania).
- → Ultrasonidos Branson 1510 (Carouge, Suiza).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

→ Teléfono móvil Xiaomi Mi 10T Lite con cámara cuádruple de 64 Megapíxeles e sistema operativo MIUI 12, con aplicación RGB Color Detector, capaz de capturar e recoñecer colores en código RGB.

3.3.2. *Materiais e aparatos*

→ Papel de filtro.
→ Papel comercial cuantitativo Whatman de grado 2 e de diámetro 55 mm.
→ Material de vidro: vasos de precipitados, matraces, balóns de 250 ml e 50 ml, cristalizadores, pipetas Pasteur, viales de vidro e columna cromatográfica.
→ Micropipetas de diversos volúmenes.
→ Material desbotable: puntas de micropipetas.
→ Papel medidor pH.
→ Cubetas de cuarzo Hellma de 10mm de paso óptico.
→ Axitador magnético.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.4. Síntese e caracterización dos compostos

3.4.1. *Síntese de CdSe-Cys QDs*

O procedemento experimental realizouse sobre a base dos estudos levados a cabo por Santos et al.[173]

En primeiro lugar, preparouse o precursor de selenio nun matraz de fondo redondo de tres bocas, disolvendo 0,4 mmol de selenio e 1 mmol de borohidruro de sodio en 10 mL de agua destilada, baixo unha atmósfera de argón con axitación constante. Esta solución mantívose nun baño de xeo durante 2h, ata que se o selenio se reduciu por completo. A disolución de partida era incolora, como se pode ver na figura 2.5.1(a). Pasadas as 2 h de reacción, o selenio reduciuse por completo a Se^{2-} polo que se produciu un cambio na cor da disolución, tornou de incolora a marrón, como se amosa nas figuras 2.5.1 (b) e 2.5.1 (c).

Nun segundo matraz de reacción, engadíronse 0,4 mmol de nitrato de cadmio e 2 mmol de L-cisteína en forma de hidrocloruro en 80 mL de agua destilada. Esta disolución é totalmente incolora e é necesario axustar o valor de pH a 10,0 mediante a adición dunha disolución de hidróxido de sodio 0,1 M. A continuación, engadiuse a disolución do

[173]Santos, C. I. d. L.; Carvalho, M. S.; Raphael, E., *et al.*; Synthesis, Optical Characterization, and Size Distribution Determination by Curve Resolution Methods of Water-Soluble CdSe Quantum Dots. *Materials Research* **2016,** 19.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

precursor de selenio (marrón) a este segundo matraz de reacción, e a disolución resultante torna de cor inmediatamente tras a adición, a unha cor amarela, a cal se intensifica en cuestión de minutos. Tras a adición, conéctase a axitación e quéntase ata acadar os 100 °C. A figura 2.5.2 amosa a evolución da tonalidade da disolución co tempo.

Figura 2.5.1: a) Redución de selenio ao inicio da reacción. b) Redución do selenio pasadas 2 h de reacción. c) Vista ampliada da imaxe (b).

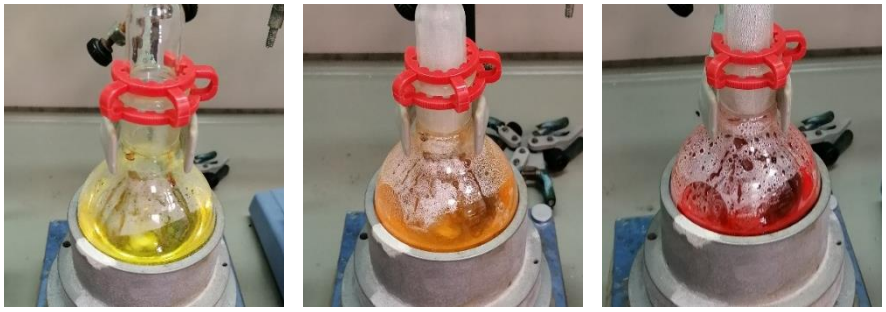


Figura 2.5.2: etapas da reacción de formación dos CdSe-Cys QDs a temperatura de refluxo, despois de 5 min. (disolución amarela), 10 min. (disolución laranxa) e 35 min. (disolución vermella).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

O crecemento das partículas de CdSe-Cys QDs, conforme pasa o tempo de reacción, monitorizouse mediante espectroscopía UV-Vis. Para seguir o progreso de crecemento, extraéronse alícuotas do medio de reacción a intervalos de tempo regulares. Ditas alícuotas foi necesario diluílas ata un cuarto do seu volume orixinal antes de rexistrar o seu espectro de absorción. O tamaño de partícula (D) obtívose aplicando a seguinte fórmula,[174] dependente da lonxitude de onda de absorción (λ_{abs}) da primeira banda:

$$D = (1.6122 \times 10^{-9}) \lambda^4 - (2.6575 \times 10^{-6}) \lambda^3 + (1.6242 \times 10^{-3}) \lambda^2 - (0.4277) \lambda + (41.57)$$

Unha vez acadado o tamaño de partícula desexado, entre 2 e 10 nm, arrefríase o matraz de reacción nun baño de xeo para evitar o crecemento das partículas de nanomaterial. A continuación, esta disolución de nanocristais concéntrase ata unha quinta parte do seu volume. Para eliminar as impurezas e outros produtos secundarios de reacción, engadéronse pequenas porcións de acetona á disolución, ata que se observa que dita disolución se enturbia. Para separar ambas fases a disolución centrifúgase durante 5 min a 1500 rpm. Sepárase o sobrenadante da disolución resultante, na que precipita CdSe-Cys QDs (figura 2.5.3). Este proceso repítese tres veces. As nanopartículas resultantes secáronse entre 60-40 °C nunha estufa.

[174]Liu, P.; Wang, Q.; Li, X.; Studies on CdSe/l-cysteine Quantum Dots Synthesized in Aqueous Solution for Biological Labeling. *The Journal of Physical Chemistry C* **2009,** 113 (18), 7670-7676.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 2.5.3: Precipitación dos CdSe-Cys QDs tras o proceso de centrifugación.

CdSe-Cys QDs: Rendemento = 0.07 g. RMN-^{1}H (400 MHz, D_2O, δ en ppm): 3.66 (t, 1H), 3.17 (dd, 1H), 2.96 (dd, 1H). ATR-FTIR (ν en cm^{-1}): ν(HNH) 3222, $\nu_{as}(COO^-)$ 1557, $\nu_s(COO^-)$ 1393, ν(CO) 1302. UV-Vis (auga, λ en nm): 451. Fluorescencia: λ_{em} = 632 nm (λ_{ex} = 400 nm, apertura de 15 nm).

3.4.2. *Síntese de DsA*

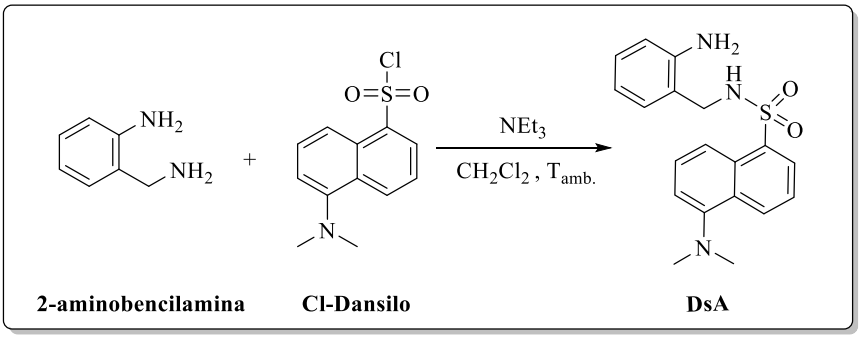


Figura 2.5.4: Esquema de reacción de DsA.

A unha disolución de cloruro de dansilo (0,6339 g, 2,35 mmol) en 60 mL CH_2Cl_2, engádeselle unha disolución de 2-aminobencilamina

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(0,3162 g, 2,59 mmol) en CH_2Cl_2 (40mL), obténdose unha suspensión amarela. A mestura axítase a temperatura ambiente a medida que se engade unha disolución de trietilamina (0,2631 g, 2,59 mmol), dando lugar a que dita suspensión se solubilice por completo e torne de cor a un amarelo máis escuro (figura 2.5.5). Dita disolución deixouse axitando a temperatura ambiente durante 18 h. O esquema da reacción móstrase na figura 2.5.4. Unha vez completadas as 18 h (figura 2.5.6 (a)) de reacción, concéntrase no rotavapor ata 1/3 do seu volume. Engádeselle unha pequena cantidade de éter dietílico (~10 mL) ata que dita disolución se enturbia, dando lugar á formación dun precipitado marrón claro. Dito precipitado correspóndese coa 2-aminobencilamina que quedou sen reaccionar. Déixase en axitación durante 15 minutos e posteriormente fíltrase a baleiro para separar ambas fases. O filtrado concéntrase ata sequidade. Realízase un lavado con auga destilada para separar o clorohidrato de trietilamina que se forma durante a rección. Déixase en axitación durantes uns 30 minutos e fíltrase a baleiro. O precipitado obtido de cor amarela sécase e pésase (figura 2.5.6 (b)). Rendemento: 95%; Mm: 355,30 g·mmol^{-1}. RMN-^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6, δ ppm): 2.79 (d, J = 9.1 Hz, 6H); 3.80 (d, J = 6.0 Hz, 2H); 4.83 (s, 2H); 6.38 (t, J = 7.4 Hz, 1H); 6.54 (d, J = 7.9 Hz, 1H); 6.88 (t, J = 7.3 Hz, 2H); 7.23 (d, J = 7.6 Hz, 1H); 7.55 (q, J = 7.9 Hz, 2H); 8.08 (d, J = 7.1 Hz, 1H); 8.22 (t, J = 4.7, 2.8 Hz, 1H); 8.2 (d, J = 8.7 Hz, 1H); 8.43 (d, J = 8.5 Hz, 1H). ATR-FTIR (ν en cm^{-1}): 3472 a (ν_{as} HNH), 3384 m (ν_s HNH), 3323 m (ν NH), 1632 m (δ HNH), 1309 f (ν_{as} OSO), 1143 f (ν_s OSO). UV-Vis (etanol absoluto, 4,02·10^{-5} mol L^{-1}, λ en nm, ε en paréntese) 254 (62281 M^{-1}cm^{-1}), 294 (14754 M^{-1}cm^{-1}), 346 (19322 M^{-1}cm^{-1}). Fluorescencia λ/nm: λ_{em} = 520 (λ_{ex} = 340, etanol absoluto, ancho de rendixa 5 nm). Análise elemental (experimental): C 63,8; H 5,9; N 11,8; S 8,5%; Teórico para $C_{19}H_{21}N_3O_2S$: C 64,2; H 6,0; N 11,8; O 9,0; S 9,0%.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

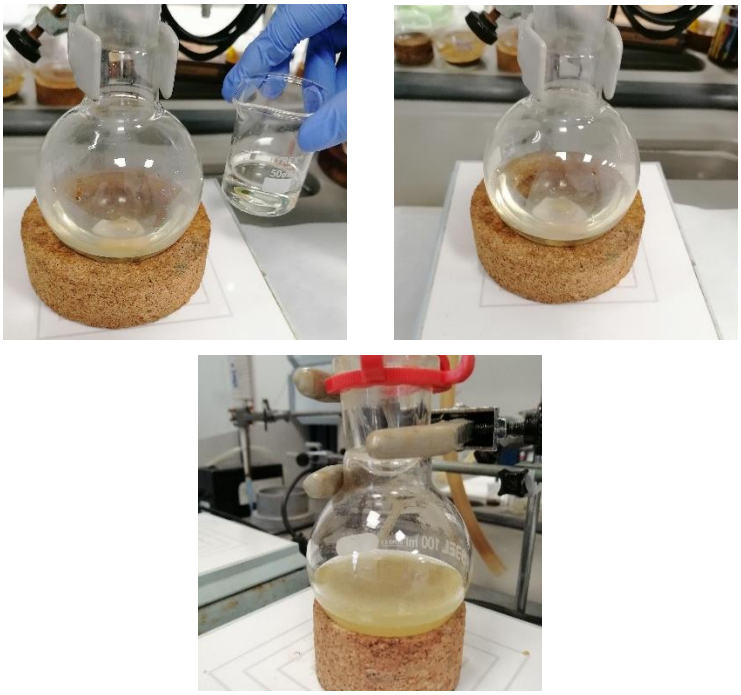


Figura 2.5.5: a) Fotografía antes de mesturar os reactivos de partida. b) Fotografía tras mesturar Ds-Cl con 2-aminobencilamina. c) Fotografía tras a adicción de trietilamina.

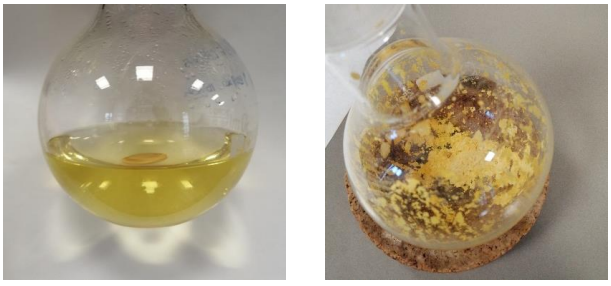


Figura 2.5.6: a) Fotografía da disolución de reacción pasadas as 18h de reacción. b) Fotografía do precipitado resultante xa purificado despois de levalo ata sequidade.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.5. Síntese dos ligandos orgánicos

3.5.1. *Síntese do ligando H_3L^1*

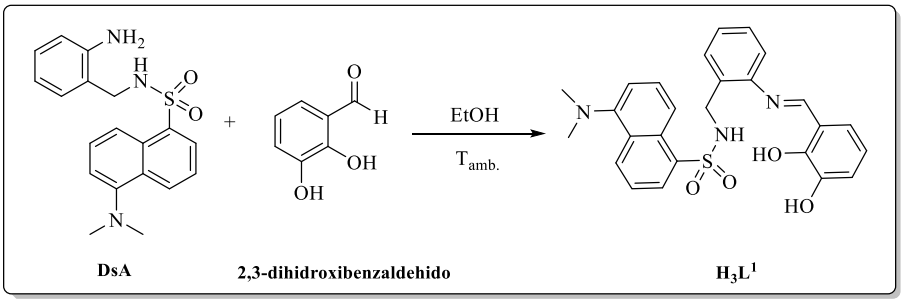


Figura 2.6.1: Esquema de reacción de H_3L^1.

Prepárase unha disolución de DsA (0,28 mmol, 0,1 g) en EtOH absoluto (20 mL) nun balón de fondo redondo de 250 mL. A continuación, engádese unha disolución de 2,3-dihidroxibenzaldehido (0,28 mmol, 0,04g) en EtOH absoluto (40 mL), como se amosa na figura 2.6.2 (a). Obténse unha mestura de color laranxa intenso (figura 2.6.2 (b)), a cal se deixa en axitación a temperatura ambiente durante 14 horas. A medida que avanza a reacción, a disolución se escurece (figura 2.6.3 (a)), resultando nun produto de color laranxa avermellado. O seguimento da reacción levouse a cabo mediante RMN-^{1}H. Por último, levouse a disolución ata sequidade, obtendo un precipitado vermello, como se mostra na figura 2.6.3 (b). Rendemento: 67%. Mm: 475,42 g mmol^{-1}. RMN-1H (250 MHz, DMSO-d_6, δ ppm) δ 12.61 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.49 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.36 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.28 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.01 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.50 (dt, J = 15.7, 7.9 Hz, 2H), 7.22 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 7.05 (dd, J = 15.3, 7.6 Hz,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3H), 6.94 (s, J = 7.7 Hz, 1H), 6.79 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 4.22 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 2.80 (d, J = 10.2 Hz, 6H). ATR-FTIR (ν en cm^{-1}): 3276 m (ν OH/ν NH), 1615 f (ν CN), 1318 f (ν_{as} OSO), 1139 f (ν_{s} OSO). UV-Vis (etanol absoluto, 10^{-3} mol L^{-1}, λ en nm, ε en paréntese) 214 (2949 $M^{-1}cm^{-1}$), 250 (1974 $M^{-1}cm^{-1}$), 314 (722 $M^{-1}cm^{-1}$). Fluorescencia λ/nm: λ_{em} = 520 (λ_{ex} = 248, etanol absoluto, ancho de rendixa 5 nm). Análise elemental (experimental): C 66,2; H 4,9; N 8,3; S 6,8%; Teórico para $C_{26}H_{25}N_3O_4S$: C 65,7; H 5,3; N 8,8; O 13,5; S 6,7%.

Figura 2.6.2: a) Fotografía da disolución antes de mesturar os reactivos de partida. b) Fotografía da disolución inmediatamente despois de mesturar os reactivos de partida.

Figura 2.6.3: a) Fotografía da disolución de reacción pasadas as 14h de reacción. b) Fotografía do precipitado resultante xa purificado despois de levalo ata sequidade.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.5.2. *Síntese do ligando H_2L^2*

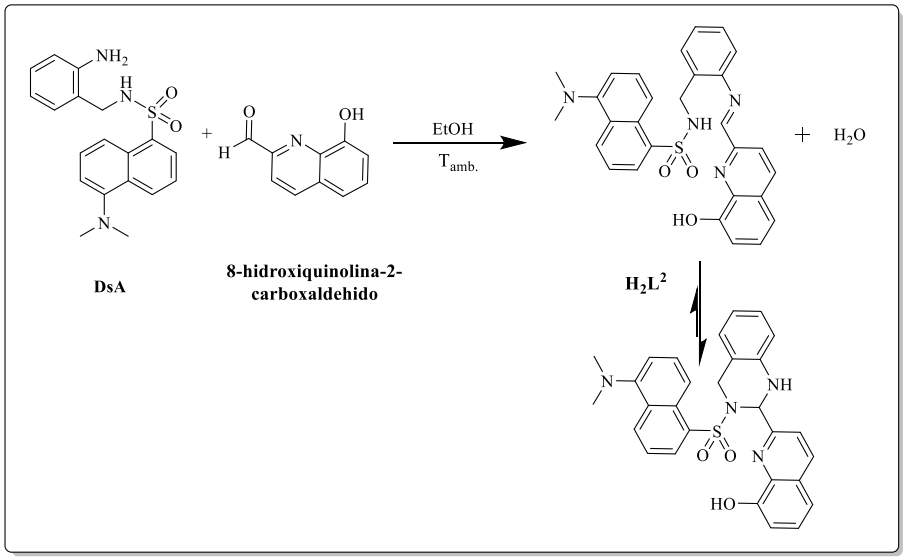


Figura 2.6.4: Esquema de reacción de H_2L^2.

A unha disolución de DsA (0,1 g, 0,28 mmol) en EtOH absoluto (30 mL) nun balón de fondo redondo de 250 mL, mentres está encendida a axitación magnética, engádeselle (nunha relación molar de 1:1) unha disolución de 8-hidroxi-2-quinolinacarboxaldehído (0,0487 g, 0,28 mmol) xunto con 10 mL de EtOH absoluto. O esquema da reacción amósase na figura 2.6.4. Dita mestura, de cor amarelo, (figura 2.6.5 (a)) déixase en axitación a temperatura ambiente durante 20 h. Non se aprecian cambios de cor significativos durante o tempo de reacción (figura 2.6.5 (b)). O seguimento da reacción levouse a cabo mediante RMN-^{1}H. Por último, a evaporación da disolución ata sequidade, da lugar á obtención do ligando H_2L^2, en forma de precipitado amarelo (figura 2.6.6). O que se obtivo de forma maioritaria foi o derivado ciclado, unha tetrahidroquinazolina.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Rendemento: 96%; Mm: 510,47 g·mmol^{-1}. RMN-^{1}H (250 MHz, DMSO-d_6, δ ppm) δ 9.35 (s, 1H), 8.46 (d, 1H), 8.33 (dd, J = 18.0, 8.3 Hz, 3H), 7.62 (m, 3H), 7.45 (dd, J = 14.1, 6.5 Hz, 1H), 7.36 (m, 1H), 7.33 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.26 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.14 (m, 1H), 6.93 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.75 (m, J = 7.6, 2.8 Hz, 2H), 6.60 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.48 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 4.32 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 4.19 (d, J = 16.7 Hz, 1H), 2.79 (m, 6H). ATR-FTIR (ν en cm^{-1}): 3381 m (ν OH), 3345 f (ν NH), 1607 (δ NH), 1587 (ν CN_{quin}), 1305 mf (ν_{as} OSO), 1139 mf (ν_s OSO). UV-Vis (etanol absoluto, λ en nm, ε en paréntese) 212 (2465 M^{-1}cm^{-1}), 250 (2418 M^{-1}cm^{-1}), 320 (347 M^{-1}cm^{-1}). Fluorescencia λ/nm: λ_{em} = 530 (λ_{ex} = 376, etanol absoluto, ancho de rendixa 5 nm). Análise elemental (experimental): C 67,5; H 5,2; N 10,7; S 5,9%; Teórico para $C_{29}H_{26}N_4O_3S$: C 68,2; H 5,1; N 11,0; O 9,4; S 6,3%.

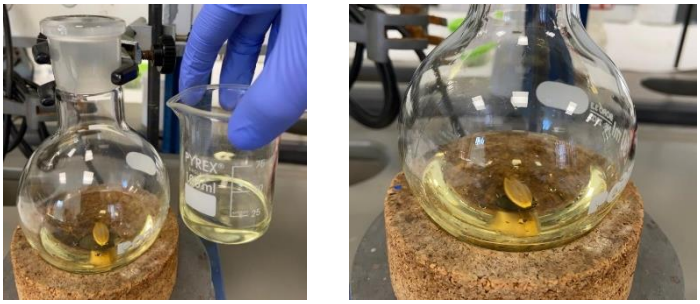


Figura 2.6.5: a) Fotografía da disolución antes de mesturar os reactivos de partida. b) Fotografía da disolución que contén H_2L^2, pasadas 20h axitando a temperatura ambiente.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

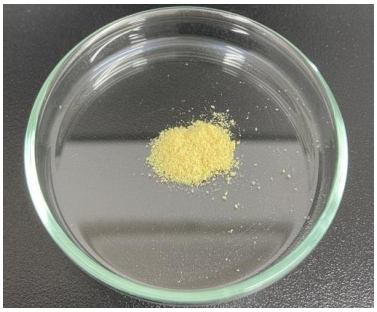


Figura 2.6.6: Fotografía do precipitado despois de levalo ata sequidade.

3.5.3. *Síntese do ligando H_3L^3*

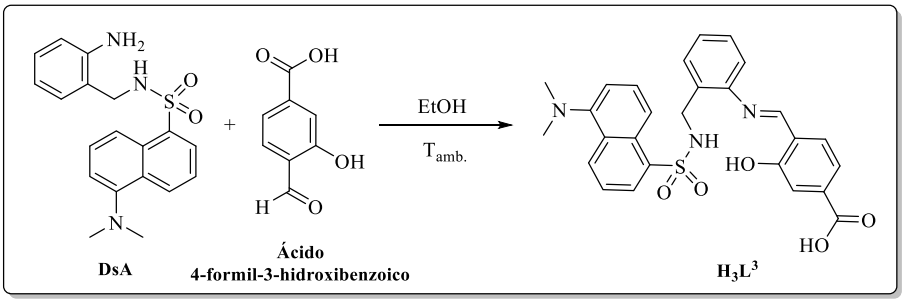


Figura 2.6.7: Esquema de reacción do ligando H_3L^3.

Nun balón de fondo redondo de 250 mL prepárase unha disolución do composto DsA (0,104 g, 0,29 mmol) en EtOH absoluto (60 mL) e a continuación, mentres está conectada a axitación magnética, engádeselle nunha relación molar de 1:1, unha disolución de 4-carboxi-2-hidroxibenzaldehido (0,034 g, 0,29 mmol) xunto con 30 mL EtOH absoluto. O esquema da reacción amósase na figura 2.6.7. Obtense unha mestura de cor amarela (figura 2.6.8 (a)) que se deixa en axitación a temperatura ambiente durante 24h. Durante ese tempo realizouse un

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

seguimento do estado da reacción mediante TLC (empregando como eluínte unha mestura de hexano e acetato de etilo nunha proporción 50:50). Pasadas 24 h obsérvase un cambio de cor, como se pode apreciar na figura 2.6.8 (b). Concéntrase a disolución de cor amarela intensa no rotavapor ata sequidade, obténdose un precipitado de cor amarelo alaranxado. A continuación engádeselle uns 10 mL de hexano para lavar o precipitado. Fíltrase a baleiro e obtense un precipitado de cor alaranxado que se deixa secar na estufa durante un par de horas. A purificación de dito ligando realízase mediante cromatografía en columna, empregando acetato de etilo e hexano (50:50) para extraer a DsA que non reaccionou e metanol para extraer o ligando H_3L^3. O precipitado resultante amósase na figura 2.6.9. Rendemento: 82%; Mm: 503,43 g·mol^{-1}; RMN-^{1}H (400 MHz, dmso-d_6) δ 13.18 (s, 1H), 12.29 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.38 (t, 1H), 8.36 (d, 1H), 8.26 (d, 2H), 8.02 (d, 1H), 7.72 (d, 1H), 7.49 (d, 1H), 7.48 (t, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.27 (d, 1H), 7.23 (t, 1H), 7.19 (d,1H), 7.09 (d, 1H), 7.08 (t, 1H), 4.19 (d, 2H), 2.81 (s, 6H). ATR-FTIR (ν en cm^{-1}): 3283 m (ν NH), 1686 mf (ν CO), 1613 m (ν CN), 1317 f (ν_{as} OSO), 1146 f (ν_s OSO). UV-Vis (etanol absoluto, λ en nm, ε en paréntese) 224 (2770 M^{-1}cm^{-1}), 248 (1743 M^{-1}cm^{-1}), 260 (1550 M^{-1}cm^{-1}), 340 (711 M^{-1}cm^{-1}). Fluorescencia λ/nm: λ_{em} = 510 (λ_{ex} = 400, etanol absoluto, ancho de rendixa 5 nm). Análise elemental (experimental): C 57.0; H 4.8; N 7.3; S 5.3%; Teórico para $C_{27}H_{25}N_3O_5S{\cdot}HCl{\cdot}H_2O$: C, 58.0; H, 5.4; N, 7.5; S, 5.7%.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

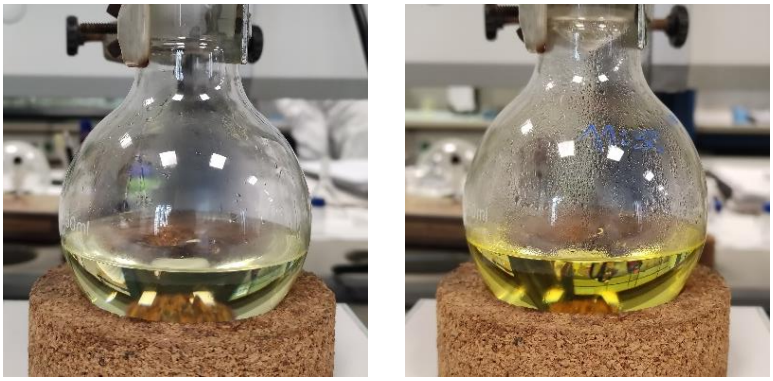


Figura 2.6.8: a) Fotografía unha vez mesturado os reactivos de partida. b) Fotografía da reacción do ligando H_3L^3 pasadas 24h axitando a temperatura ambiente.

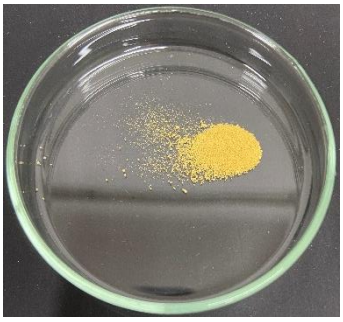


Figura 2.6.9: Fotografía do precipitado resultante, despois de levalo ata sequidade.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.6. Síntese dos complexos metálicos

3.6.1. *Síntese de $Cu_2(HL^1)_2(H_2O)_4 \cdot 6H_2O$*

O complexo de cobre(II) obtívose a temperatura ambiente por oxidación electroquímica dun ánodo metálico mergullado nunha disolución de acetonitrilo (75 mL) de H_3L^1 (0,05 g, 0,01 mmol), á que se lle engadiu perclorato de tetraetilamonio (~20 mg) como electrólito. *Precaución: Aínda que non se atopou ningún problema neste traballo, todos os compostos de perclorato son potencialmente explosivos e deben manipularse en pequenas cantidades e con moito coidado.* Electrolizouse durante aproximadamente 1h e 8 min a unha intensidade de corrente de 5,0 mA e unha tensión inicial de 5,8 V. A suspensión obtida concentrouse no rotavapor ata sequidade, obténdose un precipitado de cor verde. A continuación, o sólido pulverulento lavouse con auga desionizada, filtrouse e secouse ao aire. Rendemento = 77%. Mm: 1407,992 g mol^{-1}. ATR-FTIR (ν en cm^{-1}): 3430 a (ν OH), 1606 (ν CN), 1265 f (ν_{as} OSO), 1122 f (ν_s OSO). UV-Vis (etanol, λ en nm) 214, 264, 356, 466. Fluorescencia λ/nm: λ_{em}= 524 (λ_{ex}= 248, etanol, apertura de 15 nm). Análise elemental (experimental): C 54,7; H 5,1; N 7,3; S 5,6%; calculado para $C_{54}H_{54}Cu_2N_6O_{12}S_2$ $6H_2O$: C 54,5; H 4,8; Cu 11,1; N 7,3; O 16,8; S 5,6%.

3.6.2. *Síntese de $Cd_2(HL^1)_2(H_2O)_4 \cdot 2H_2O$*

O complexo de cadmio(II) obtívose a temperatura ambiente por oxidación electroquímica dun ánodo metálico mergullado nunha disolución de acetonitrilo (75 mL) de H_3L^1 (0,05 g, 0,01 mmol). Engadiuse perclorato de tetraetilamonio (~20 mg) como electrólito. Electrolizouse

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

durante aproximadamente 1h e 8 min a unha intensidade de corrente de 5,0 mA e unha tensión inicial de 7,0 V. A suspensión obtida concentrouse no rotavapor ata sequidade, obténdose un precipitado de cor laranxa escuro. A continuación, o sólido pulverulento lavouse con auga desionizada, filtrouse e secouse ao aire. Rendemento = 63%. Mm: 1373.698 $g \cdot mol^{-1}$ .RMN-^{1}H (400 MHz, dmso-d_6, δ en ppm): 8,58 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 3,99 (s, 2H), 2,82 (s, 6H), rexión aromática comprendida no rango entre 7.0-8.3 ppm. ATR-FTIR (ν en cm-1): 3364 a (ν OH), 1609 (ν CN), 1250 f (ν_{as} OSO), 1142 f (ν_{s} OSO). UV-Vis (etanol, λ en nm) 224, 250, 333, 435 ombro. Fluorescencia λ/nm: λ_{em}= 520 (λ_{ex}= 248, etanol, apertura de 15 nm). Análise elemental (experimental): C 50,5; H 4,8; N 6,5; S 5,4%; calculado para $C_{52}H_{54}Cd_2N_6O_{12}S_2 \cdot 2H_2O$: C 50,2; H 4,4; Cd 18,1; N 6,8; O 15,4; S 5,2 %.

3.6.3. *Síntese de $CuL^2(H_2O)_2 \cdot 4(H_2O)$*

O obtívose a temperatura ambiente por oxidación electroquímica dun ánodo metálico mergullado nunha disolución de acetonitrilo (75 mL) de H_2L^2 (0,05 g, 0,10 mmol), á que se lle engadiu perclorato de tetraetilamonio (~20 mg) como electrólito. Electrolizouse durante aproximadamente 1h e 3 min a unha intensidade de corrente de 5,0 mA e unha tensión inicial de 8,5 V. A suspensión obtida concentrouse no rotavapor ata sequidade, obténdose un precipitado de cor verde escuro. A continuación, o sólido pulverulento lavouse con auga desionizada, filtrouse e secouse ao aire. Rendemento = 72%. Mm: 739,046 $g\ mol^{-1}$. ATR-FTIR (ν en cm^{-1}): 3385 a (ν OH), 1586 (ν $CN_{imínico}$), 1575 (ν $CN_{quinolina}$), 1354 f (ν_{as} OSO), 1112 f (ν_{s} OSO). UV-Vis (etanol, λ en nm) 215, 265, 332, 583 ombro. Fluorescencia λ/nm: λ_{em}= 535 (λ_{ex}= 376, etanol, apertura de 15 nm). Análise

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

elemental (experimental): C 57,8; H 5,0; N 9,3; S 5,6%; calculado para $C_{29}H_{28}CuN_4O_5S$ $4H_2O$: C 57,3; H 4,6; Cu 10,45; N 9,2; O 13,15; S 5,3%.

3.6.4. *Síntese de* $CdL^2(H_2O)_2{\cdot}H_2O$

O complexo obtívose a temperatura ambiente por oxidación electroquímica dun ánodo metálico mergullado nunha disolución de acetonitrilo (75 mL) de H_2L^2 (0,05 g, 0,10 mmol), á que se lle engadiu perclorato de tetraetilamonio (~20 mg) como electrólito. Electrolizouse durante aproximadamente 1h e 3 min a unha intensidade de corrente de 5,0 mA e unha tensión inicial de 7,6 V. A suspensión obtida concentrouse no rotavapor ata sequidade, obténdose un precipitado de cor marrón. A continuación, o sólido pulverulento lavouse con auga desionizada, filtrouse e secouse ao aire. Rendemento = 59%. Mm: 721,899 $g{\cdot}mol^{-1}$ .RMN-^{1}H (400 MHz, dmso-d_6, δ en ppm): 9,02 (d, 1H), 8,61 (d, 1H), 8,48 (d, 1H), 8,27 (d, 1H), 8,04 (d, 1H), 7,91 (d, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,47 (d, 1H), 7,46 (t, 1H), 7,39 (t, 1H), 7,37 (t, 1H), 7,30 (t, 1H), 7,12 (d, 1H), 7,09 (t, 1H), 6,87 (t, 2H), 6,74 (d, 1H), 4,31 (s, 2H), 2,80 (s, 6H). ATR-FTIR (ν en cm^{-1}): 3365 a (ν OH), 1589 m (ν $CN_{imínico}$), 1573 m (ν $CN_{quinolina}$), 1333 f (ν_{as} OSO), 1103 f (ν_s OSO). UV-Vis (etanol, λ en nm) 212, 267, 316, 500. Fluorescencia λ/nm: λ_{em}= 546 (λ_{ex}= 376, etanol, ancho de banda de 15 nm). Análise elemental (experimental): C 53,7; H 5,0; N 8,5; S 4,7%; calculado para $C_{29}H_{28}CdN_4O_5S{\cdot}H_2O$: C 53,0; H 4,3; Cd 17,1; N 8,5; O 12,2; S 4,9%.

3.6.5. *Síntese de* $Cu_2(HL^3)_2(H_2O)_4{\cdot}10H_2O$

Método 1: O complexo de cobre(II) obtívose a temperatura ambiente por oxidación electroquímica dun ánodo metálico mergullado

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

nunha disolución de acetonitrilo (75 mL) de H_3L^3 (0,05 g, 0,01 mmol). Engadiuse perclorato de tetraetilamonio (~20 mg) como electrólito. Electrolizouse durante aproximadamente 1h e 3 min a unha intensidade de corrente de 5,0 mA e unha tensión inicial de 9,4 V. A suspensión obtida concentrouse no rotavapor ata sequidade, obténdose un precipitado de cor verde escuro. A continuación, o sólido pulverulento lavouse con auga desionizada, filtrouse e secouse ao aire. Rendemento = 54%.

Método 2: Engadiuse unha disolución de etanol (60 mL) de H_3L^3 (0,04 g, 0,08 mmol) a 50 mL dunha disolución de etanol de $Cu(OAc)_2$ H_2O (0,0158 g, 0,0794 mmol). A disolución resultante axitouse nun matraz de fondo redondo de 250 mL durante 3 h a temperatura ambiente. A cor da disolución cambiou de amarelo pálido a marrón escuro durante o tempo de reacción. A suspensión obtida evaporouse ata sequidade. Posteriormente, o sólido obtido lavouse con éter dietílico, filtrouse e secouse ao aire. Rendemento = 37%. Mm: 1382,4 g mol^{-1}. ATR-FTIR (ν en cm^{-1}): 3393 a (ν OH, ν NH), 1612 m (ν CN), 1574 f (ν_{as} OCO), 1392 f (ν_s OCO), 1314 f (ν_{as} OSO), 1119 f (ν_s OSO). UV-Vis (etanol, λ en nm) 219, 244, 336, 414. Fluorescencia λ/nm: λ_{em}= 530 (λ_{ex}= 400, etanol, apertura de 15 nm). Análise elemental (experimental): C 46,9; H 5,3; N 6,3; S 4,6%; calculado para $C_{54}H_{54}Cu_2N_6O_{14}S_2$ $10H_2O$: C 46,9; H 5,4; N 6,1; S 4,6%.

3.6.6. *Síntese de $Cd_2(HL^3)_2(H_2O)_4{\cdot}8H_2O$*

Método 1: Este complexo obtívose a temperatura ambiente por oxidación electroquímica dun ánodo metálico mergullado nunha disolución de acetonitrilo (75 mL) de H_3L^3 (0,05 g, 0,01 mmol). Engadiuse perclorato de tetraetilamonio (~20 mg) como electrólito. Electrolizouse

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

durante aproximadamente 1h e 3 min a unha intensidade de corrente de 5,0 mA e unha tensión inicial de 10,6 V. Esta suspensión concentrouse no rotavapor ata sequidade, obténdose un precipitado de color amarelo escuro. A continuación, o sólido pulverulento obtido lavouse con auga desionizada, filtrouse e secouse ao aire. Rendemento = 39%.

Método 2: Engadiuse unha disolución etanólica de $Cd(OAc)_2$ $2H_2O$ (40 mL, 0,0212 g, 0,0794 mmol) a unha disolución etanólica (60 mL) de H_3L[3] (0,0400 g, 0,0794 mmol). A disolución resultante someteuse a refluxo durante 4 h. Durante este tempo de reacción, a disolución coloreada tornou de amarelo verdoso a amarelo intenso. Evaporouse ao baleiro ata sequidade. A continuación, o sólido obtido lavouse con éter dietílico, filtrouse e secouse ao aire. Rendemento: 41 %. Mm: 1444,1 $g \cdot mol^{-1}$. RMN 1H (400 MHz, dmso-d_6, δ en ppm): 8,60 (d, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 8,17 (d, 1H), 7,49 (t, 1H), 7,43 (t, 1H), 7,27 (d, H), 7,27 (d, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,15 (d, 1H), 7,07 (t, 1H), 7,07 (t, 1H), 6,97 (d, 1H), 6,97 (d, 1H), 3,97 (s, 2H), 2,81 (s, 6H). ATR-FTIR (ν en cm-1): 3347 a (ν OH, ν NH), 1614 m (ν CN), 1574 f (ν_{as} OCO), 1394 f (ν_s OCO), 1316 f (ν_{as} OSO), 1143 f (ν_s OSO). UV-Vis (etanol, λ en nm) 217, 261, 349, 410 ombro. Fluorescencia λ/nm: λ_{em}= 520 (λ_{ex}= 400, etanol, apertura de 15 nm). Análise elemental (experimental): C 45,1; H 5,0; N 5,5; S 4,4%; calculado para $C_{54}H_{54}Cd_2N_6O_{14}S_2 \cdot 8H_2O$: C 44,9; H 4,9; N 5,8; S, 4,4%.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.7. Estudos de difracción de raios X

Obtivéronse cristais adecuados para o seu estudo mediante técnicas de difracción de raios-X de monocristal de DsA, H_2L^2 e $[H_4L^3]$ Cl·0,92H_2O, tal e como se describe na correspondente sección. Os principais datos experimentais da recollida, así como algúns datos cristalográficos y do seu refinado resúmense na táboa 2.8.1.

Os datos de difracción tomáronse a 100 K. Para DsA recolléronse nun difractómetro *Enraf Nonius Turbo* CAD4, utilizando como método de medida, barridos ω/2θ, empregando radiación de Cu-K_α (λ = 1,54184 Å) con monocromador de grafito. No caso de$[H_4L^3]$ Cl· 0,92H_2O e H_2L^2 os datos de difracción foron recollidos nun difractómetro *Bruker* X8 *Kappa* APEX *II*, utilizando como método de medida, barridos ω y φ, neste caso utilizando radiación de Mo-K_α (λ = 0,71073 Å) con monocromador de grafito. Os datos foron procesados con software CAD4-*Express*. En todos os casos, os datos brutos foron inicialmente procesados có software APEX *II*.[175] Todos os datos cristalográficos foron corrixidos para os efectos de Lorentz e de polarización. Así mesmo, realizáronse correccións de

[175]Sheldrick, G.M. APEX-II, SAINT-Plus and TWINABS. Bruker-Nonius AXS Inc., Madison. **2004**.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

absorción utilizando un método semi-empírico de tipo "multi-scan", e aplicando o software SADABS.[176,177]

As estruturas foron resoltas por métodos directos empregando *SHELXT*,[178] e posteriormente refinadas por técnicas de mínimos cuadrados de matriz completa basadas en F^2, utilizando o software *SHELXL*.[179] Todos os átomos diferentes de hidróxeno, incluidos os contraións e moléculas de solvato, foron refinados anisotrópicamente. Na gran maioría dos casos, os átomos de hidróxeno foron incluidos nos cálculos do factor de estructura en posicións xeométricamente idealizadas. Concretamente, aqueles átomos de hidróxeno potencialmente implicados en enlaces de H clásicos foron localizados en mapas de Fourier, e posteriormente refinados con factores térmicos en función dos átomos aos que están unidos.

[176]SADABS-Bruker AXS area detector scaling and absorption correction. Version 2008/1, University of Göttingen, Germany. **2008**.

[177]Blesing, R. H.; An empirical correction for absorption anisotropy. *Acta Cryst.* **1995,** A51, 33-38.

[178]Sheldrick, G. M.; Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Cryst.* **2015,** *C71*, 3-8.

[179]Sheldrick, G. M.; SHELXT - Integrated space-group and crystal-structure determination *Acta Cryst.* **2015,** A71, 3-8.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 2.8.1: Datos cristalográficos e condicións experimentais aplicadas na determinación das estruturas cristalinas de DsA, $[H_4L^3]$ Cl·0.92H_2O e H_2L^2.

	DsA	$[H_4L^3]$ Cl·0.92H_2O	H_2L^2
Fórmula empírica	$C_{19}H_{21}N_3O_2S$	$C_{27}H_{27.83}ClN_3O_{5.92}S$	$C_{29}H_{26}N4O_3S$
Peso fórmula (g/mol)	355.45	556.52	510.60
Wavelength (Å)	1.54178	0.71073	0.71073
Sist. cristalino	Monoclinic	Triclinic	Monoclinic
Grupo espacial	*C*2/*c*	*P*-1	$P2_1/c$
a (Å)	16.6384(3)	9.8245(3)	21.9308(16)
b (Å)	9.5135(2)	16.0619(5)	11.3445(8)
c (Å)	22.8392(5)	17.8841(6)	21.4810(16)
α (º)	90	101.4218(15)	90
β (º)	108.1050(10)	102.8605(16)	115.833(2)
γ (º)	90	104.0848(15)	90
Volumen ($Å^3$)	3436.21(12)	2571.94(14)	4810.3(6)
Z	8	4	8
Dens. calc. (Mg/m^3)	1.374	1.437	1.410
Coef, de absor. μ (mm^{-1})	1.820	0.278	0.176
F(000)	1504	1165	2144
Dimensións (mm^3)	0.09 x 0.09 x 0.04	0.165 x 0.112 x 0.026	0.27 x 0.07 x 0.04
Rango de $2\theta_{max}$/º	4.073 - 74.486	2.214 - 28.333	2.081 - 28.282
Rango de índices	$-20 \le h \le 20$, $-11 \le k \le 11$, $-28 \le l \le 28$	$-13 \le h \le 13$, $-21 \le k \le 21$, $-23 \le l \le 23$	$-29 \le h \le 29$, $-15 \le k \le 15$, $-27 \le l \le 28$
Refl. Totales	43634	106750	130541
Refl. Únicas (R_{int})	3504 (0.0600)	12816 (0.0677)	11929 (0.0623)
Completitude para θ	100 %	99.9 %	99.9 %
Datos/restric./parám.	3504 / 0 / 240	12816 / 499 / 891	11929 / 0 / 687
Bondade do axuste de F^2	1.099	1.095	0.987
R_1, wR_2 [$I > 2\sigma(I)$]	0.0430, 0.0932	0.0590, 0.1320	0.0398,0.0920
R_1, wR_2 (todos os datos)	0.0484, 0.0959	0.0741, 0.1392	0.0532, 0.1000
Máximos residuos ($e.Å^{-3}$)	0.396 e -0.3637	0.733 e -0.754	0.355 e -0.547

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.8. Estudos da interacción de H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3 con ións Cu^{2+} e Cd^{2+}

3.8.1. *Determinación das constantes de afinidade* (K_b)

Preparáronse disolucións patrón en EtOH/H_2O (80:20) a pH neutro, unha de cada ligando (10^{-4}M) e dúas de *quenchers*, $Cu(OAc)_2{\cdot}H_2O$ e $Cd(OAc)_2{\cdot}2H_2O$ (10^{-3}M) a partir das cales se obtiveron as disolucións sobre as que realizaron as medidas[180]. A partir destas disolucións patrón obtivéronse 11 disolucións de estudo cun volume total de 3 mL, como se mostra na táboa 2.9.1. Realizáronse medidas de absorbancia e fluorescencia. Cos datos obtidos con ambas técnicas, e empregando a ecuación de Benesi–Hildebrand (figura 2.9.1), calculáronse os valores de K_b de cada ligando en presenza de ións Cu^{2+} e Cd^{2+}.

$$\frac{1}{A-A_0}=\frac{1}{A'-A_0}+\frac{1}{K(A'-A_0)[M^{2+}]} \qquad \frac{1}{F-F_0}=\frac{1}{K\ (F_{max}-F_0)[M^{n+}]}+\frac{1}{F_{max}-F_0}$$

Figura 2.9.1: Ecuacións de Benesi–Hildebrand para o cálculo de K_b.

[180]Li, Y.; Wu, J.; Jin, X., *et al.*; A bimodal multianalyte simple molecule chemosensor for Mg2+, Zn2+, and Co2+. *Dalton Transactions* **2014,** *43* (4), 1881-1887.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

K_b	$[H_nL^x]$ = 100 μM
	$[M^{2+}]$ = 1000 μM

Nº Dison	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
H_nL^x/mL	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
M^{2+}/mL	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
$[M^{2+}]$/μM	0	33,3	66,7	100	133,3	166,7	200	233,3	266,7	300	333,3

Táboa 2.9.1: Datos para o cálculo de K_b.

3.8.2. *Determinación das constantes de "quenching" (K_{SV})*

A determinación de K_{SV} realizouse a 293 K (20 °C), 303 K (30 °C), e 313 K (40 °C) para a interacción de cada ligando, H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3, cos ións metálicos, Cu^{2+} e Cd^{2+}, co fin de achar que tipo de *quenching* ten lugar, estático ou dinámico.[181]

En primeiro lugar preparáronse as disolucións patrón, a partir das cales se elaboraron as disolucións obxecto de estudo; unha disolución de cada ligando (10^{-4} M), e dúas disolucións das sales metálicas, $Cu(OAc)_2{\cdot}H_2O$ e $Cd(OAc)_2{\cdot}2H_2O$ (10^{-3}M), (10^{-3} M). Empregouse unha concentración do ligando marcadamente menor ca do *quencher* para que a diminución do sinal de fluorescencia sexa ao redor dun 80%. O disolvente empregado en todos os casos foi EtOH/H_2O, nunha proporción 80:20. Preparáronse 8

[181]Alves, J. Q.; Máximo, L. N. C.; Franco, L. P., *et al.*; Fluorescence-quenching CdTe quantum dots applied for identification of cocaine-structure analogues. *Analytical Methods* **2019,** *11* (2), 185-191.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

disolucións por triplicado (para así contar con tres réplicas), cun volume de ligando fixo, ao que se lle engadiu un volume de *quencher* variable (táboa 2.9.2).

Para traballar a unha temperatura determinada, colocouse o pousatubos que contiña todos os tubos de ensaio coas disolucións (cun volume total de 3 mL), dentro dun baño termostatizado, onde se deixaron aproximadamente 10 minutos. Realizáronse medidas de fluorescencia e empregouse a ecuación de Stern-Volmer que se amosa na figura 2.9.2 para calcular o valor da K_{SV} de cada ligando en presenza de ambos ións.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q]$$

Figura 2.9.2: Ecuación de Stern-Volmer para o cálculo de K_{SV}.

K_{SV}	$[H_nL^x]$ = 100 µM
	$[M^{2+}]$ = 1000 µM

Nº Dison	1	2	3	4	5	6	7	8
H_nL^x/mL	1	1	1	1	1	1	1	1
M^{2+}/mL	0	0,15	0,30	0,60	0,90	1,20	1,50	1,80
$[M^{2+}]$/µM	0	50	100	200	300	400	500	600

Táboa 2.9.2: Datos para o cálculo de K_{SV}.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.9. Estudos da interacción de H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3 con NMs de CuO e CdSe

3.9.1. *Determinación da constante de "quenching"* (K_{SV})

A determinación de K_{SV} realizouse a 293 K (20 °C), 303 K (30 °C), e 313 K (40 °C) para a interacción de cada ligando, H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3, con CuO NPs, CdSe NPs e CdSe-Cys QDs, co fin de achar o tipo de *quenching*, estático ou dinámico.[181] Na figura 2.10.1 e táboa 2.10.1 amósanse a ecuación e os datos empregados nas medidas realizadas de acordo co procedemento descrito na sección anterior.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q]$$

Figura 2.10.1: Ecuación de Stern-Volmer para o cálculo de K_{SV}.

K_{SV}	$[H_nL^x]$ = 100 µM
	$[M^{2+}]$ = 1000 µM

Nº Dison	1	2	3	4	5	6	7	8
H_nL^x/mL	1	1	1	1	1	1	1	1
Quencher/mL	0	0,15	0,30	0,60	0,90	1,20	1,50	1,80
[Quencher]/µM	0	50	100	200	300	400	500	600

Táboa 2.10.1: Datos para o cálculo de K_{SV}.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.9.2. *Determinación do número de dominios enlazantes "n"*

O número dominios enlazantes (*n*) de H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3 na superficie dos nanomateriais determinouse empregando a ecuación de Scatchard, a cal se amosa a continuación:

$$\log\left(\frac{F_0 - F}{F}\right) = \log K_B + n \log[Q]$$

Na *ecuación de Scatchard*, F_0 e F son a intensidade da fluorescencia dos ligandos, en ausencia e presencia dos diferentes NMs, respectivamente; K_b é a constante de enlace (cuxo valor coincide co valor da constante de *Stern-Volmer* K_{SV}, en términos de *quenching* estático); [Q] correspóndese coa concentración do NMs correspondente en cada caso; *n* é o valor da pendente da recta.

3.9.3. *Estudos dos ligandos como quimiosensores na detecciόns de NMs en disolución etanol-auga*

Para a realización destes estudos, elaboráronse disolucións de concentración coñecida con cada un dos tres ligandos H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3. Nos tres casos, realizáronse dous calibrados onde a concentración dos NMs ía aumentando progresivamente, e mediuse a intensidade da fluorescencia de cada unha destas disolucións, comprobándose a súa diminución. Ambos calibrados realizáronse elaborando disolucións en EtOH/H_2O (80:20), cun volume de ligando fixo e variando o volume dos tres tipos de NMs (CuO NPs, CdSe NPs e CdSe-Cys QDs). A concentración do ligando debe de ser marcadamente menor ca do *quencher* para que a

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

diminución do sinal de fluorescencia sexa ao redor dun 80%. As concentracións dos NMs ían dende 0,06 ata 11,40 ppm, cando a concentración de ligando era 0,126 ppm, e dende 16 ata 250 ppbs, cando a concentración de ligando era 1,26 ppb.

3.9.4. *Determinación dos valores de LOD e LOQ*

O límite de detección (LOD) e o límite de cuantificación (LOQ) dos ligandos expresáronse de acordo coas seguintes ecuacións: $LOD = 3 \cdot SD/m$ e $LOQ = 10 \cdot SD/m$, onde SD é a desviación estándar da resposta, e m é a pendente da recta de calibrado.

Para a realización destes cálculos leváronse a cabo dous tipos de calibrados (descritos no apartado anterior), no primeiro empregando concentracións de NMs da orde de ppm, e o segundo empregando concentracións da orde de ppb. Para a determinación do LOD e LOQ preparáronse 10 disolucións en EtOH-H_2O (80:20) cunha concentración de 0,126 ppms e outras 10 disolucións cunha concentración de 1,26 ppbs que se corresponden cos brancos. Unha vez obtidos os 10 valores de fluorescencia dos 10 brancos para cada concentración, calcúlanse as desviacións estándar (SD) correspondentes, e con estes os LOD e LOQ.

3.9.5. *Estudos de selectividade dos ligandos*

Estudouse a selectividade de H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3 como sondas fluorescentes tanto para as NPs CuO como para as NPs CdSe. Como criterio de interferencia, empregouse unha variación do ±10% da intensidade da fluorescencia á concentración respectiva das NPs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A selectividade probouse en presenza dealgúns NMs metálicos e de óxidos metálicos comúns, como NPs de Cu, NPs de ZnO e NPs de TiO_2. Ademais, a selectividade probouse en presenza dalgúns ións metálicos comúns na auga, como os seguintes ácidos duros: Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} e Al^{3+}.

Todos os estudos de interferentes, realizáronse en 4 mL dunha disolución de EtOH/H_2O (80:20 v/v). Nos estudos co ligando H_3L^1 empregouse un valor de pH 11, e unha λ_{ex} = 248 nm. Co ligando H_2L^2 empregouse un valor de pH 4, e unha λ_{ex} = 374 nm. Por último, nos estudos de interferentes co ligando H_3L^3 empregouse un valor de pH 11, e unha λ_{ex} = 400 nm.

3.9.6. *Estudos de inmobilización H_3L^3 en papel de celulosa*

A inmobilización de H_3L^3 en papel leva a cabo de acordo co seguinte procedemento[182].

Primeiro prepárase unha disolución de 20 mL ao 1% en peso de APTMS en EtOH e mergúllase o papel durante 2 horas a temperatura ambiente. Posteriormente lávase con cantidades copiosas de EtOH e sécase a baleiro nun baño de auga a 40 °C. Seguidamente, disólvense cantidades estequiometrias (0,1 mmol) de H_3L^3, EDC·HCl e NHS en 20 mL de DMF, deixándoo reaccionar durante 3 horas a temperatura ambiente

[182]Jeon, C. H.; Park, C. S.; Lee, C. S.; Ha, T. H. Simple immobilization of mercury ion chemosensors to solid substrate. J. Ind. Eng. Chem. 2018, 57, 370-376.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

con axitación. Pasado ese tempo engádense 0,3 mmol de TEA e mergúllase o papel durante 3 horas a temperatura ambiente. Lávase o papel con cantidades copiosas de auga destilada para eliminar as impurezas e posteriormente con EtOH. Sécase a baleiro nun baño a 40 °C.

3.9.7. *Medidas de reflectancia difusa de H_3L^3-celulosa*

As medidas de absorbancia sobre o papel realízanse cun espectrofotómetro de absorción molecular que leva axustado unha esfera integradora. As medidas realízanse en modo barrido espectral medindo desde 250 a 500 nm tomando datos cada 1nm a unha velocidade de 266 nm/min. Antes de realizar as medidas realízase un *autozero* coa referencia que leva o propio equipo.

3.9.8. *Medidas de coordenadas RGB de H_3L^3-celulosa*

Tómanse fotografías do papel co teléfono móbil utilizando unha lámpada UV-Vis cunha lonxitude de onda de 365 nm sempre á mesma distancia e con escuridade total. Para medir as coordenadas RGB utilízase a aplicación *RGB Color Detector*. Obtéñense coordenadas de cinco puntos de distintas partes do papel. Das tres coordenadas elíxese a R, xa que é coa que se observan mellores resultados e obtense un rango lineal medible.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo 4

Quantum Dots de CdSe

4.1. Síntese de CdSe-Cys QDs

Os métodos mais comunmente empregados para a síntese directa de QDs en solución acuosa son o método de refluxo e o método de radiación por microondas, aos que hai que engadir a mais recentemente desenvolvida vía hidrotermal.[183] A síntese directa acuosa de CdSe QDs, mediante a aplicación de diferentes grupos tiol como axentes estabilizantes, proporciona unha alternativa eficaz ás vías sintéticas amplamente utilizadas en disolventes orgánicos. O uso de tioles permite

[183]Wei, C.; Li, J.; Gao, F., *et al.*; One-Step Synthesis of High-Quality Water-Soluble CdSe Quantum Dots Capped by N-Acetyl-L-cysteine via Hydrothermal Method and Their Characterization. *Journal of Spectroscopy* **2015,** 2015, 369145.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

controlar a cinética de síntese dos QDs, proporcionar estabilidade, solubilidade e funcionalidade superficial ás nanopartículas.

A síntese de CdSe-Cys QDs realizouse sobre a base de estudos levados a cabo con anterioridade por Liu[184] e por *Santos*[185], que indican que as ecuacións do proceso son as seguintes:

$$Se + 2\ NaBH_4 + 3{,}5\ H_2O \rightarrow NaHSe + 0{,}5\ Na_2B_4O_7 + 7\ H_2 \quad (1)$$
$$Cd^{2+} + cys \rightarrow Cd(cys)^{2+} \quad (2)$$
$$Cd(cys)^{2+} + HSe^- + OH^- \rightarrow CdSe(cys) + H_2O \quad (3)$$
$$nCdSe(cys) \rightarrow CdSe(cys)n \quad (4)$$

Na obtención de NaHSe (1) emprégase unha relación molar 1:2,5 de Se:$NaBH_4$, mentras que na obtención de $Cd(cys)^{2+}$ (2) usouse unha relación molar 1:5 de Cd^{2+}:cys. Finalmente, a reacción a refluxo entre os produtos das reaccións (1) e (2) conduce a obtención de CdSe-cys QDs, polo que a relación Se:Cd^{2+} é 1:1, e Se:cys é 1:5. O complexo $Cd(cys)^{2+}$ fórmase utilizando as propiedades quelantes da cisteina (ecuación 2) e, a continuación prodúcese unha intensa competencia polo Cd^{2+} entre Se^{2-} e cys (ecuación 3). Esta competencia está controlada polas estabilidades dos

[184]Liu, P.; Wang, Q.; Li, X.; Studies on CdSe/l-cysteine Quantum Dots Synthesized in Aqueous Solution for Biological Labeling. *The Journal of Physical Chemistry C* **2009,** 113 (18), 7670-7676.
[185]Santos, C. I. d. L.; Carvalho, M. S.; Raphael, E., et al.; Synthesis, Optical Characterization, and Size Distribution Determination by Curve Resolution Methods of Water-Soluble CdSe Quantum Dots. Materials Research **2016,** 19 (6), 1407-1416.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

complexos que se poden formar, que están controladas principalmente polas concentracións dos respectivos reactivos, Se^{2-} e cys. CdSe ten unha maior estabilidade ($K_{sp} = 6,3 \times 10^{-36}$) que o complexo $Cd(cys)^{2+}$. Coa adición de HSe^-, a nucleación de CdSe-cis progresa por desprazamento de L-cisteína por Se^{2-}. Dende o punto de vista enerxético, é máis favorable a incorporación de Se^{2-} a complexos $Cd(cys)^{2+}$ que o desprazamento total de L-cisteína nos complexos $Cd(cys)^{2+}$ para formar partículas máis grandes. Durante a nucleación, existe un límite a partir do cal a cantidade en exceso de Se^{2-} determinará a formación de nanopartículas que permanecen na solución ou de especies que precipitan debido ao desprazamento total da L-cisteína na superficie. Por tanto, a relación Se^{2-}:cys é un factor determinante na distribución de tamaño de CdSe-cys QDs, como tamén o é a relación $Se:Cd^{2+}$, que debe encontrarse entre 0,5:1 e 1:1. A aglomeración de CdSe-cys QDs en especies máis grandes e masivas, evítase debido á barreira estérica introducida pola L-cisteina e pola a carga superficial neta negativa das partículas de CdSe-cys QDs.

4.2. Caracterización estrutural de CdSe-Cys QDs

A caracterización estrutural de CdSe-cys QDs levouse a cabo mediante diferentes técnicas analíticas, tales como espectroscopía UV-Vis, espectroscopía de fluorescencia molecular, espectrometría infravermella (ATR), RMN-^{1}H, e mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.2.1. UV-Vis

Tendo en consideración que os efectos de confinamento cuántico determinan as propiedades ópticas dos QDs, e que o grao de confinamento electrónico está altamente correlacionado co tamaño das partículas, a espectroscopía UV-Vis revélase como unha ferramenta extraordinariamente útil no estudo dos QDs.

Unha primeira evidencia da formación de partículas de QDs podémola obter coa observación dun desprazamento cara ao azul no espectro de absorbancia da disolución na que se leva a cabo a súa síntese. Débese ter en conta que no espectro de po de CdSe obsérvase unha característica banda cunha $\lambda_{máx}$ de aproximadamente 712 nm, mentres que no espectro de CdSe-cys QDs obsérvase unha transición excitónica cunha $\lambda_{máx}$ de aproximadamente 425 nm (figura 3.2.1). Esta abrupta banda situada na cola da absorción é mais evidente cando os cristais son más grandes, e redúcese ata desaparecer a medida que o tamaño dos nanocristais se achega ao tamaño do diámetro Bohr do excitón.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

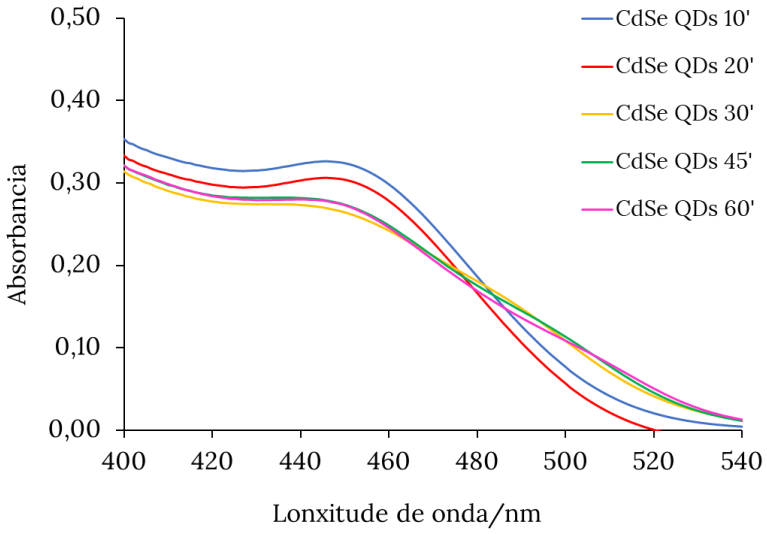


Figura 3.2.1: Espectros de absorción UV-Vis da disolución de QDs CdSe-Cys despois de 10, 20, 30, 45 e 60 minutos a refluxo.

A reacción de formación de CdSe-cys QDs experimenta cambios de cor debido ao crecemento das propias nanopartículas conforme pasa o tempo de reacción (figura 3.2.1). Nun primeiro momento, a disolución torna de cor amarelo (λ_{abs} = 420-440 nm). A medida que pasa o tempo, os quantum dots van crecendo e a disolución torna a unha tonalidade alaranxada (λ_{abs} = 440-470 nm), ata acadar unha cor vermella intensa (λ_{Abs} = 470-500 nm). O tamaño de partícula controlouse durante todo el proceso de síntese mediante espectroscopía UV-Vis. A variación da lonxitude de onda da primeira banda excitónica de absorción (λ_{abs}) co

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

tamaño de partícula (figura 3.2.2), descrita por Peng e col.,[186] permitiú realizar unha estimación do tamaño das partículas de CdSe-cys QDs. A curva contén valores no intervalo de tamaños comprendido entre 1 y 9 nm, e λ_{abs} entre 310 y 690 nm, respectivamente, e está de acordo coa seguinte función de axuste polinómico:

$$D = (1.6122 \text{ X } 10^{-9})\lambda^4 - (2.6575 \text{ X } 10^{-6})\lambda^3 + (1.6242 \text{ X } 10^{-3})\lambda^2 - (0.4277)\lambda + (41.57)$$

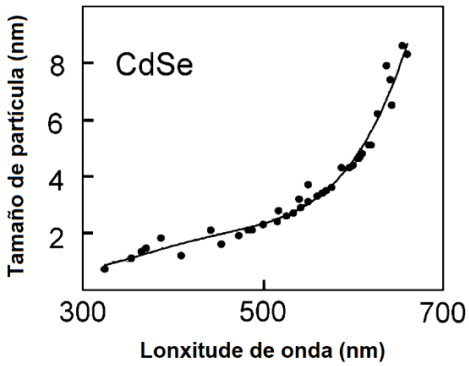


Figura 3.2.2: Curva de tamaño dos nanocristais de CdSe fronte a λ_{abs}.[186]

[186]Yu, W. W.; Qu, L.; Guo, W., *et al.*; Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe and CdS Nanocrystals. *Chemistry of Materials* **2004,** *16* (3), 560-560.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Así, a espectroscopía UV-Vis permite observar unha banda ao redor dos 450 nm no espectro de CdSe-cys QDs, o que permite estimar o tamaño das partículas nuns 2 nm (figura 3.2.1).

4.2.2. Espectroscopía de fluorescencia

A espectroscopía de fluorescencia é unha ferramenta útil para entender os cambios estruturais que acontecen na interfase NM-ligando, medindo a variación que se produce na intensidade de fluorescencia.[187-195] Dado que o decaemento ou o aumento da fluorescencia depende en gran

[187]Ahmed, M. A.; Imam, N. G.; El-Dek, S. I., et al.; Fluorescence and spectroscopic characterization of multiferroic quantum dots of La:BiFeO3. J. Supercond. Nov. Magn. **2015,** 28, 2417–2424.
[188]Estupiñan Lopez, C.; Dominguez, C.; Filho, P., et al.; A pH Dependence Study of CdTe Quantum Dots Fluorescence Quantum Yields Using Eclipsing Thermal Lens Spectroscopy. Journal of Luminescence **2016,** 174.
[189]Yashima, S.; Sugimoto, H.; Takashina, H., et al.; Fluorescence Enhancement and Spectral Shaping of Silicon Quantum Dot Monolayer by Plasmonic Gap Resonances. The Journal of Physical Chemistry C **2016,** 120 (50), 28795-28801.
[190]Munro, T.; Liu, L.; Glorieux, C., et al.; CdSe/ZnS quantum dot fluorescence spectra shape-based thermometry via neural network reconstruction. J. Appl. Phys. **2016,** 119, 214903.
[191]Lyons, T. Y.; Williams, D. N.; Rosenzweig, Z.; Addition of Fluorescence Lifetime Spectroscopy to the Tool Kit Used to Study the Formation and Degradation of Luminescent Quantum Dots in Solution. Langmuir **2017,** 33 (12), 3018-3027.
[192]Saha, D.; Negi, D. P. S.; Spectroscopic investigations on the interaction of thioacetamide with ZnO quantum dots and application for its fluorescence sensing. Spectrochim. Acta A **2018,** 189, 516–521.
[193]Chhabra, V. A.; Kaur, R.; Kumar, N., et al.; Synthesis and spectroscopic studies of functionalized graphene quantum dots with diverse fluorescence characteristics. RSC Advances **2018,** 8 (21), 11446-11454.
[194]Zhou, Z.-H.; Yang, F.; Li, D., et al.; pH dependent time-resolved fluorescence spectra of ZnSe quantum dots based on glutathione ligands. Spectrosc. Spectr. Anal. **2021,** 41, 3178–3183.
[195]Kim, S. H.; Man, M. T.; Influence of Size and Shape Anisotropy on Optical Properties of CdSe Quantum Dots. **2020,** 10 (8).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

medida da distancia, no caso das NPs [196] e tamén para os QDs,[192,197] a fluorescencia pode aportar información sobre a dinámica e o mecanismo de absorción da propia interfase NM-ligando. Ademais, dado que os QDs de diferentes tamaños deberían emitir en diferentes posicións do espectro, esta técnica pode axudar na determinación das distribucións de tamaño dos QDs no transcurso da síntese.[184]

O seguimento do progreso da síntese controlouse durante todo o proceso extraendo alícuotas do medio de reacción a intervalos de tempo regulares, e someténdoos a análise de fluorescencia. Mediuse a fluorescencia de cada mostra de CdSe-Cys QDs transcorridos 10, 20, 30, 45 e 60 min da síntese. Dado que unha emisión con maior λ asóciase cun maior tamaño de partícula, este procedemento axudou a determinar as distribucións de tamaño dos QDs ao longo da síntese.[184] Na figura 3.2.3 obsérvase unha ampla banda de emisión de fluorescencia no rango de 500 nm a 750 nm, cunha $\lambda_{máx}$ a aproximadamente 630 nm, cando unha disolución en etanol de CdSe-cys QDs se excitou cunha λ duns 400 nm e un ancho de banda de 15 nm, o que evidencia a obtención dos nanocristais.

[196]Schneider, G.; Decher, G.; Nerambourg, N., et al.; Distance-dependent fluorescence quenching on gold nanoparticles ensheathed with layer-by-layer assembled polyelectrolytes. Nano Lett **2006,** 6 (3), 530-6.
[197]Noblet, T.; Dreesen, L.; Hottechamps, J., et al.; A global method for handling fluorescence spectra at high concentration derived from the competition between emission and absorption of colloidal CdTe quantum dots. Physical Chemistry Chemical Physics **2017,** 19 (39), 26559-26565.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

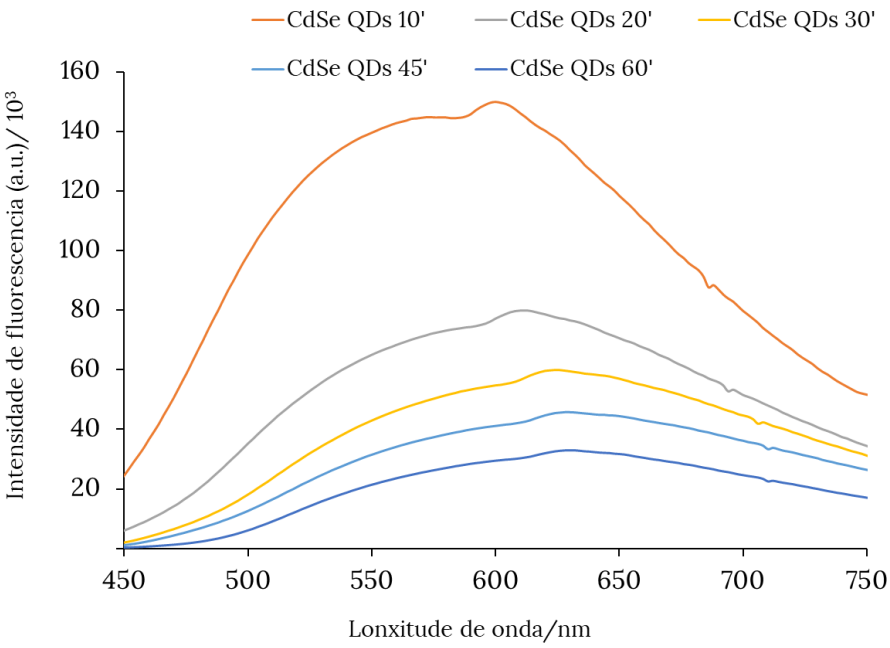


Figura 3.2.3: Espectros de fluorescencia da disolución de CdSe-Cys QDs despois de 10, 20, 30, 45 e 60 minutos a refluxo.

4.2.3. ATR-FTIR

A técnica de FT-IR axuda a obter unha visión dos grupos funcionais presentes na superficie dos NMs funcionalizados. Os cambios que afectan ao número de onda e á intensidade das bandas permiten diferenciar que grupos funcionais dos ligandos superficiais poderían estar a interactuar cos NMs.

Os ligandos orgánicos non coordinados que conteñen un grupo funcional carboxilo, como ocorre coa cisteína, mostran unha banda moi ampla para o νO-H na rexión ao redor dos 3300-2500 cm^{-1}, que se

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

superpón ás bandas ν C-H (estreitas e agudas) tanto dos grupos alquílicos como dos aromáticos. A amplitude da banda de tensión ν O-H dos ácidos carboxílicos está relacionada cos dímeros por enlaces de hidróxeno, que adoitan formar os ácidos carboxílicos. A banda de flexión δ O-H está presente nas rexións de 950-910 cm^{-1} e 1440-1395 cm^{-1}, aínda que a banda presente arredor dos 1440-1395 pode non ser distinguible das bandas de flexión do C-H, presentes na mesma rexión.[198] Mentres que a tensión ν C-O dun ácido carboxílico aparece na rexión 1320-1210 cm^{-1}, o ν C=O aparece como unha banda intensa na rexión de 1760-1690 cm^{-1}. A posición exacta desta banda depende de se o ácido carboxílico é saturado ou insaturado, dimerizado ou presenta algúnha enlace de H. Oluwafemi et al.[199] afirman que as bandas a 1754 e 1294 cm^{-1}, que corresponden ao ν COO^- asimétrico e simétrico, respectivamente, da cisteína, se desprazan a números de onda máis baixos como consecuencia da unión á superficie de partículas de CdSe. O cambio na posición da banda ν COO débese probablemente a un cambio no momento dipolar, cando a cisteína interactúa cunha superficie metálica cunha alta densidade de electróns. No espectro ATR-FTIR de CdSe-Cys QDs (figura 3.2.4), obsérvase a presenza de ν COO^- asimétrico e simétrico, a 1557 e 1393 cm^{-1}, respectivamente.

[198]McMurry, J. E., Organic Chemistry. Cengage Learning: Andover, UK, **2016**; Vol. 9th ed.
[199]Oluwafemi, S. O.; Revaprasadu, N.; Ramirez, A. J.; A novel one-pot route for the synthesis of water-soluble cadmium selenide nanoparticles. Journal of Crystal Growth **2008,** 310 (13), 3230-3234.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

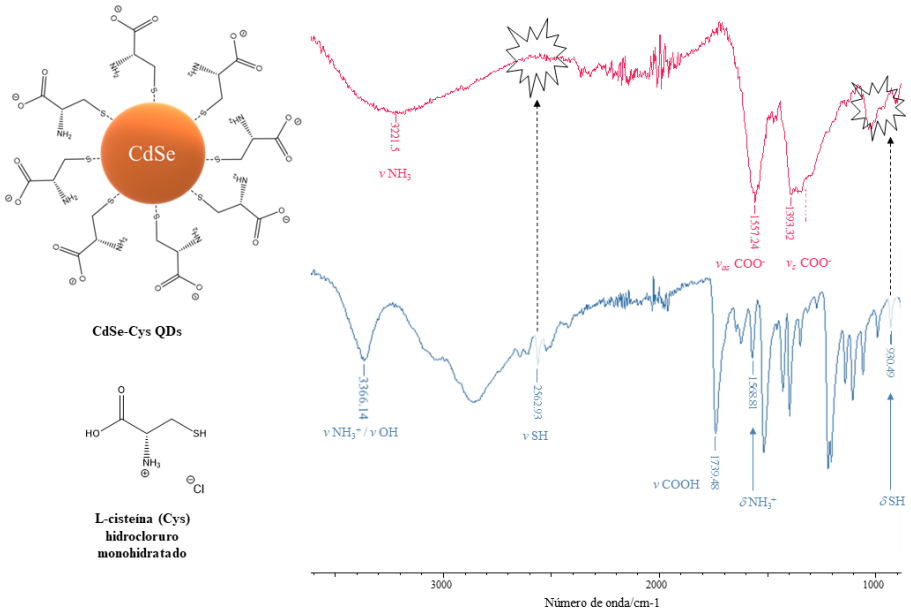


Figura 3.2.4: ATR-FTIR de CdSe-Cys QDs (superior) e ATR-FTIR da L-cisteína (inferior), incluído con fins comparativos.

A císteína, na súa forma libre presenta ademais, dúas bandas características, unha ao redor de 2550 cm^{-1} debida á vibración ν SH, e outra ao redor de 950 cm^{-1} debida á flexión SH. A figura 3.2.4 amosa claramente a ausencia de νSH e δSH no espectro ATR-FTIR de CdSe-cys QDs, o que evidencia que a interacción se orixinou a través do grupo tiol da cisteína e os ións Cd^{2+} na superficie dos QDs. A desaparición νSH e δSH proporciona unha forte evidencia da escisión do enlace S-H, e a subseguinte formación de novos enlaces S-Cd do complexo tiolato de Cd na superficie das partículas de CdSe. Ademais, no espectro ATR-FTIR de CdSe-Cys QDs, obsérvase a presenza dunha banda ao redor de 3221 cm^{-1} atribuíble a νNH.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.2.4. *RMN - ^1H*

A espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) permite a caracterización non destrutiva da mostra, proporcionando información rápida e notable sobre a contorna química dos núcleos analizados, o que serve para evidenciar a interacción entre as partícula e os ligandos. Así, Bonilla et al[200] reportaron que os sinais de ^1H e ^{13}C nos espectros de QDs desprazáronse na súa posición a campo máis baixo (frecuencias máis altas) en comparación cos sinais do ligando libre, como resultado da proximidade e o ambiente anisotrópico da superficie dos QDs. Ademais, é posible cuantificar os ligandos adsorbidos á superficie dos QDs analizando aqueles sinais orixinados polos protóns dos ligandos que interaccionan coa propiasuperficie do QD, comparando cun patrón interno[201].

[200]Bonilla, C. A. M.; Flórez, M.-H. T.; Molina Velasco, D. R., et al.; Surface characterization of thiol ligands on CdTe quantum dots: analysis by 1H NMR and DOSY. New Journal of Chemistry **2019,** 43 (22), 8452-8458.
[201]Morris-Cohen, A. J.; Vasilenko, V.; Amin, V. A., et al.; Model for Adsorption of Ligands to Colloidal Quantum Dots with Concentration-Dependent Surface Structure. ACS Nano **2012,** 6 (1), 557-565.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

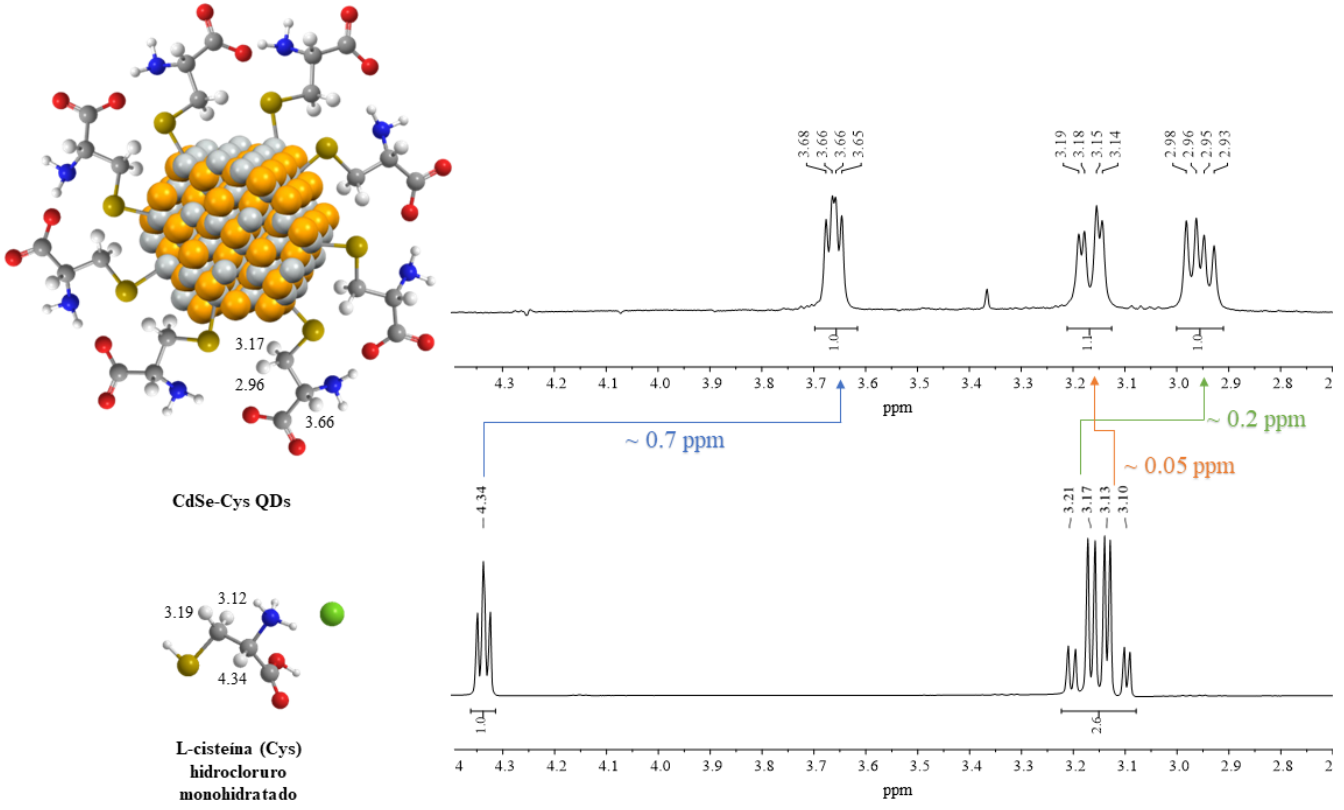


Figura 3.2.5: RMN-^{1}H dos CdSe-Cys QDs.(superior) e RMN-^{1}H da L-cistéina (inferior), incluído con fins comparativos.

A análise dos espectros de RMN-^{1}H en D_2O de CdSe-cys QDs (figura 3.2.5) e L-cisteína mostra claramente os sinais característicos dos protóns dos grupos metanotriilo (3,66 ppm) e metileno (a 3,17 e 2,96 ppm). A interacción entre a partícula de CdSe e a cisteína en forma aniónica dá lugar a un desprazamentos significativo dos seus sinais. Así, o protón do grupo metanotriilo desprázase 0,7 ppm a campo alto, e o mesmo ocorre cun dos protóns do grupo metileno, aínda que en menor medida (0,2 ppm). O protón restante do grupo metileno desprázase na dirección oposta, uns 0,05 ppm cara cambo baixo.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.2.5. *SEM-EDX*

A microscopía electrónica de barrido (SEM) proporciona imaxes detalladas e de alta resolución do nanomaterial mediante o varrido dun feixe de electróns enfocado a través da superficie e a detección do sinal dos electróns secundarios ou retrodispersados. Isto permite a miúdo estudar o tamaño e a forma das partículas do nanomaterial.[202-203] Un analizador EDX (espectroscopía de raios X de enerxía dispersiva) emprégase para acadar unha identificación elemental e unha información de composición non cuantitativa (% de peso do constituínte no nanocristal),[204] así como a distribución de elementos nos nanomateriales (análises de mapeo).[205-206] A mostra irrádiase con electróns que dan lugar á emisión de raios X característica dos elementos presentes. As emisións enerxéticas tradúcense en picos espectrais de intensidade variable, dando lugar a un perfil espectral que identifica os diferentes elementos

[202]Zhou, Z.-H.; Yang, F.; Li, D., et al.; pH dependent time-resolved fluorescence spectra of ZnSe quantum dots based on glutathione ligands. Spectrosc. Spectr. Anal. **2021,** 41, 3178–3183.
[203]Samadi-Maybodi, A.; Tirbandpay, R.; Synthesis, optical properties and tuning size of CdSe quantum dots by variation capping agent. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy **2021,** 250, 119369.
[204]Begum, A.; Sonkar, S. K.; Saxena, M., et al.; Nanocomposites of carbon quantum dots–nickel(ii) dithiolene as nanolights. Journal of Materials Chemistry **2011,** 21 (48), 19210-19213.
[205]Nguyen, V.-H.; Mousavi, M.; Ghasemi, J. B., et al.; Novel p–n Heterojunction Nanocomposite: TiO2 QDs/ZnBi2O4 Photocatalyst with Considerably Enhanced Photocatalytic Activity under Visible-Light Irradiation. The Journal of Physical Chemistry C **2020,** 124 (50), 27519-27528.
[206]Cryer, M. E.; Halpert, J. E.; Room Temperature Mid-IR Detection through Localized Surface Vibrational States of SnTe Nanocrystals. ACS Sensors **2018,** 3 (10), 2087-2094.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

inorgánicos presentes na mostra. O tamaño dos picos do espectro é directamente proporcional á concentración dos elementos na mostra.

A figura 3.2.6 mostra o espectro EDX de CdSe-cys QDs. O pico de silicio débese ao soporte da mostra, e non á mostra en si mesma, pero os demais picos poñen de manifesto a presenza de Cd, Se, O, Na, C, N e S na composición elemental da mostra, o que concorda cunha partícula de CdSe superficialmente recuberta de cisteína en forma de carboxilato sódico, (O, Na, C, N e S). Utilizouse o SEM-EDX para xerar un mapa das distribucións dos elementos nas partículas de CdSe-cys QDs (figura 3.2.7). A análise EDX mostra a presenza de elementos Cd, Se, O, Na, C, N e S cun patrón de distribución espacial moi similar e uniforme, o que apoia a existencia da interacción da cisteína aniónica coa superficie da partícula de CdSe.

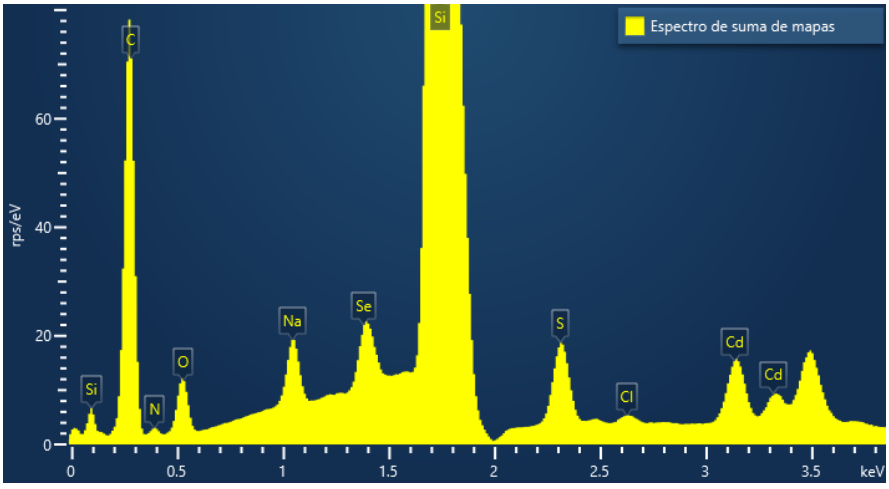


Figura 3.2.6: Espectro EDX dunha mostra de CdSe-Cys QDs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

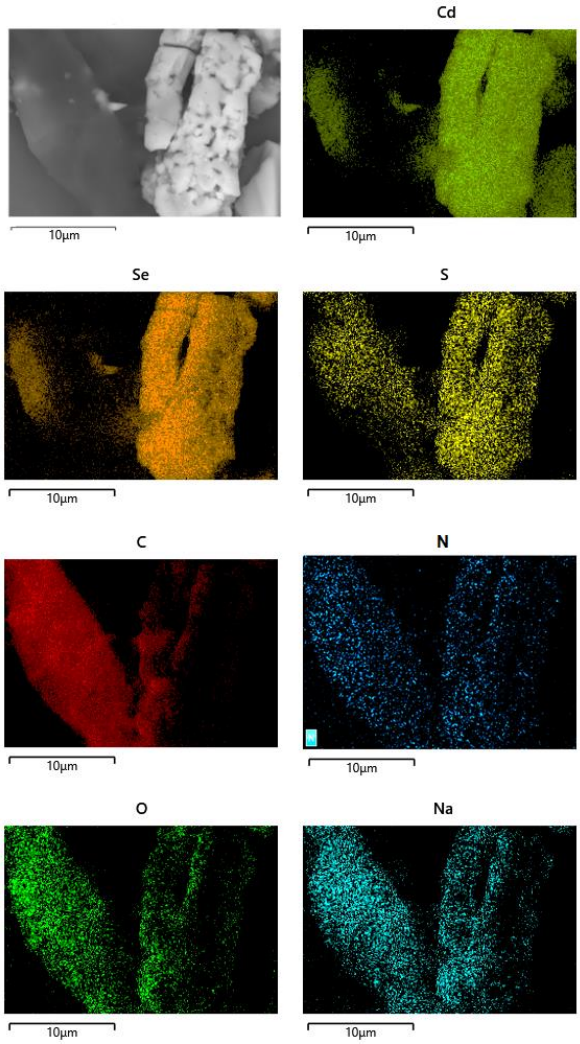


Figura 3.2.7: Fotografía de tipo SEM/EDX dunha mostra de CdSe-Cys QDs con medidas do tamaño.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo 5

Síntese e caracterización de DsA

5.1. Síntese de DsA

O reactivo comercial 2-aminobencilamina reacciona selectivamente a través do seu grupo aminometil co cloruro de dansilo, en presencia de trietilamina, para formar N-(2-aminobencil)-5-(dimetilamino)naftaleno-1-sulfonamida (DsA). Esta reacción, en relación molar 1:1:1, lévase a cabo a temperatura ambiente para evitar a dansilación dos dous grupos amino. A trietilamina proporciona o medio básico, desprotonando o grupo aminometil o que inicialmente da lugar á formación dun precipitado branquecino NEt_3·HCl que acaba por redisolverse no propio medio de reacción. Pasado o tempo de reacción, e evaporada a sequidade a disolución, é necesario levar a cabo dous lavados, un con éter etílico para separar a 2-aminobencilamina que queda sen reaccionar, e un segundo lavado con auga destilada para separar o hidrocloruro de trietilamina que se formara no medio de reacción. .

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.2. Caracterización de DsA: estrutura cristalina e xeometría optimizada

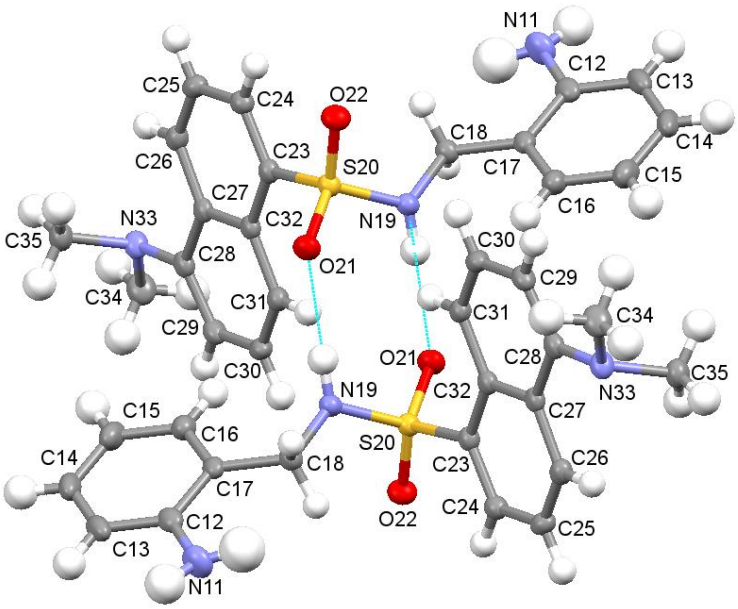


Figura 4.2.1: Estrutura molecular de DsA. Na imaxe amósase a interacción NH···O entre dúas moléculas veciñas.

A estrutura cristalina de DsA amósase na figura 4.2.1. Os detalles da recollida de datos do cristal e do refinamento da estrutura están resumidos na táboa 2.8.1, no capítulo 2. Os cristais da DsA consisten en moléculas cristalograficamente independentes, cuxos principais

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

parámetros xeométricos recollidos nas táboas 4.2.1 e 4.2.2, están dentro dos rangos típicos observados para outros derivados de dansilo.[207-210]

Táboa 4.2.1: Lonxitudes de enlace [Å] e ángulos [°] de DsA.

DsA			
N(11)-C(12)	1,379(3)	N(33)-C(34)	1,453(2)
C(18)-N(19)	1,459(2)	N(19)-C(18)-C(17)	113,01(16)
N(19)-S(20)	1,6135(17)	C(18)-N(19)-S(20)	120,30(14)
S(20)-O(22)	1,4318(14)	O(22)-S(20)-O(21)	118,47(8)
S(20)-O(21)	1,4427(14)	N(19)-S(20)-C(23)	108,22(9)
S(20)-C(23)	1,7775(19)	C(28)-N(33)-C(35)	114,86(15)
C(28)-N(33)	1,420(2)	C(28)-N(33)-C(34)	115,10(16)
N(33)-C(35)	1,463(2)	C(35)-N(33)-C(34)	110,49(16)

[207]Bhatt, P.; Govender, T.; Krugera, H. G., *et al.*; N-Benzyl-5-(dimethylamino)naphthalene-1-sulfonamide. *Acta Cryst.* E67, o2458–o2459.

[208]Qiu, L.; Jiang, P.; He, W., *et al.*; Structural and fluorescent study of zinc complexes of dansyl aminoquinoline. *Inorg. Chim. Acta* **2007,** 360, 431–438.

[209]Zhou, S.; Zhou, Z.-Q.; Zhao, X.-X., *et al.*; A dansyl based fluorescence chemosensor for Hg2+ and its application in the complicated environment samples. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015,** 148 (348–354.).

[210]Patrascu, B.; Mocanu, S.; Coman, A., *et al.*; Synthesis of Fluorescent Dansyl Derivatives of Methoxyamine and Diphenylhydrazine as Free Radical Precursors. *Int. J. Mol. Sci.* **2020,** 21, 3559/1-3559/9.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 4.2.2: Ángulos de torsión [°] de DsA.

DsA	
C(18)-N(19)-S(20)-C(23)	64,68(16)

Táboa 4.2.3: Enlaces de hidróxeno de DsA [Å e °.].

D-H···A	**d(D-H)**	**d(H···A)**	**d(D···A)**	**< (DHA)**
C(18)-H(17A)...O(22)$^{\#1}$	0,99	2,38	3,343(2)	163,9
C(34)-H(34B)...O(22)$^{\#2}$	0,98	2,47	3,231(2)	134,6
N(19)-H(19A)...O(21)$^{\#3}$	0,89(3)	2,15(3)	2,974(2)	154(2)
N(11)-H(11B)...O(21)$^{\#4}$	0,88(3)	2,32(3)	3,143(2)	156(3)
C(18)-H(17A)...O(22)$^{\#1}$	0,99	2,38	3,343(2)	163,9
C(34)-H(34B)...O(22)$^{\#2}$	0,98	2,47	3,231(2)	134,6
N(19)-H(19A)...O(21)$^{\#3}$	0,89(3)	2,15(3)	2,974(2)	154(2)
N(11)-H(11B)...O(21)$^{\#4}$	0,88(3)	2,32(3)	3,143(2)	156(3)

Transformacións de simetría empregadas para xerar átomos equivalentes:

$^{\#1}$ *-x+1/2, -y+3/2, -z+1* $^{\#2}$ *x, -y+1, z-1/2* $^{\#3}$ *-x+1/2, -y+1/2, z+1* $^{\#4}$ *x+1/2, y+1/2, z*

Os enlaces intermoleculares mutuos N(19)-H(19A)---O(21)$^{\#3}$ son responsables da conexión entre dous moléculas veciñas para formar dímeros mediante enlaces de H. Os átomos de osíxeno do grupo sulfonamida conéctanse ademais a outras moléculas veciñas a través do

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

grupo amino N(11) H(11B)---O(21)$^{\#4}$ (táboa 4.2.3), como se observa tipicamente en compostos derivados de dansilo[207] e tamén de tosilo[211].

Tomando como punto de partida a información cristalográfica anterior, obtívose a xeometría optimizada M062X/6-31G* para unha soa unidade de DsA (representada como I na figura 4.2.2). Na superposición incluída na figura 4.2.2 pode constatarse que existe unha boa concordancia entre a estrutura experimentalmente obtida e a calculada, con diferencias de lonxitude e ángulos de enlace inferiores a 0,05 Å e 3,5° respectivamente (táboa 4.2.4). Unha análise conformacional apoia que a preferencia pola estrutura cristalina obtida experimentalmente, está relacionada coa estabilización debida ao enlace de hidróxeno entre moléculas adxacentes na fase sólida (figura 4.2.2, táboa 4.2.4). Dado que DsA ten unha certa variabilidade conformacional, debido á rotación ao redor da unidade CH_2-NH-SO_2-, tamén se modelizaron outros confórmeros estables (II, III e IV, os cales se mostran na figura 4.2.2).

[211]Sanmartín, J.; Novio, F.; García-Deibe, A. M., *et al.*; Trimorphism of an asymmetric disulfonamide Schiff base. *New J. Chem.* **2007,** *31* (9), 1605-1612.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

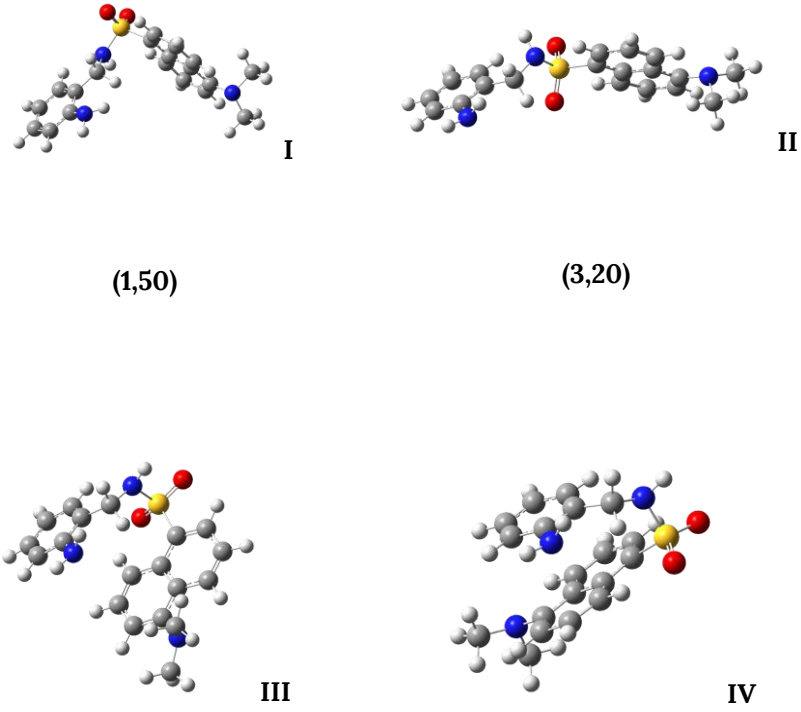


Figura 4.2.2: Confórmeros estables de DsA calculados usando (M062X/6-31G. As enerxías relativas (entre parénteses) están en kcal/mol. Amósase a superposición da estrutura experimental coa calculada (inferior).*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 4.2.4: Lonxitudes de enlace [Å], ángulos de enlace e ángulos diedros [°] medidos e calculados teoricamente para DsA.

	DsA Datos cristal	**DsA M062X/6-31G***
N(11)-C(12)	1,379(3)	1,3993
C(18)-N(19)	1,459(2)	1,4608
N(19)-S(20)	1,6135(17)	1,6666
S(20)-O(22)	1,4318(14)	1,4526
S(20)-O(21)	1,4427(14)	1,4512
S(20)-C(23)	1,7775(19)	1,7913
C(28)-N(33)	1,420(2)	1,4176
N(33)-C(35)	1,463(2)	1,4630
N(33)-C(34)	1,453(2)	1,4518
N(19)-C(18)-C(17)	113,01(16)	111,77
C(18)-N(19)-S(20)	120,30(14)	117,06
O(22)-S(20)-O(21)	118,47(8)	121,66
N(19)-S(20)-C(23)	108,22(9)	104,69
C(28)-N(33)-C(35)	114,86(15)	113,41
C(28)-N(33)-C(34)	115,10(16)	115,74
C(35)-N(33)-C(34)	110,49(16)	110,67
C(18)-N(19)-S(20)-C(23)	64,68(16)	56,53

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Resulta chamativo que o confórmero IV, no que se observa interacción π-stacking, resulte incluso máis estable que o confórmero I, e que sen embargo sexa o confórmero I o obtido experimentalmente. Este resultado suxire que a preferencia pola estrutura cristalina I está probablemente relacionada coa estabilización que lle aporta o enlace de hidróxeno entre moléculas adxacentes na fase sólida.

5.3. Caracterización espectroscópica de DsA

Realizouse a caracterización de DsA mediante as seguintes técnicas espectroscópicas: UV-Vis, ATR-FTIR, RMN-^{1}H e espectroscopía de fluorescencia molecular. Con respecto á caracterización mediante as técnicas de ATR-FTIR e UV-Vis, a asignación das bandas máis significativas de ámbolos dous espectros de DsA, levouse a cabo tomando como referencia os espectros calculados, empregando a Teoría do Funcional da Densidade. A asignación das sinais dos espectros de RMN e fluorescencia realizouse acorde coa bibliografía dispoñible.

5.3.1. UV-Vis

Os espectros electrónicos, tanto o calculado teoricamente como o obtido experimentalmente para DsA, amósanse na figura 4.3.1. Os datos calculados, xunto cos orbitais naturais de transición, recóllense na táboa 4.3.1.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

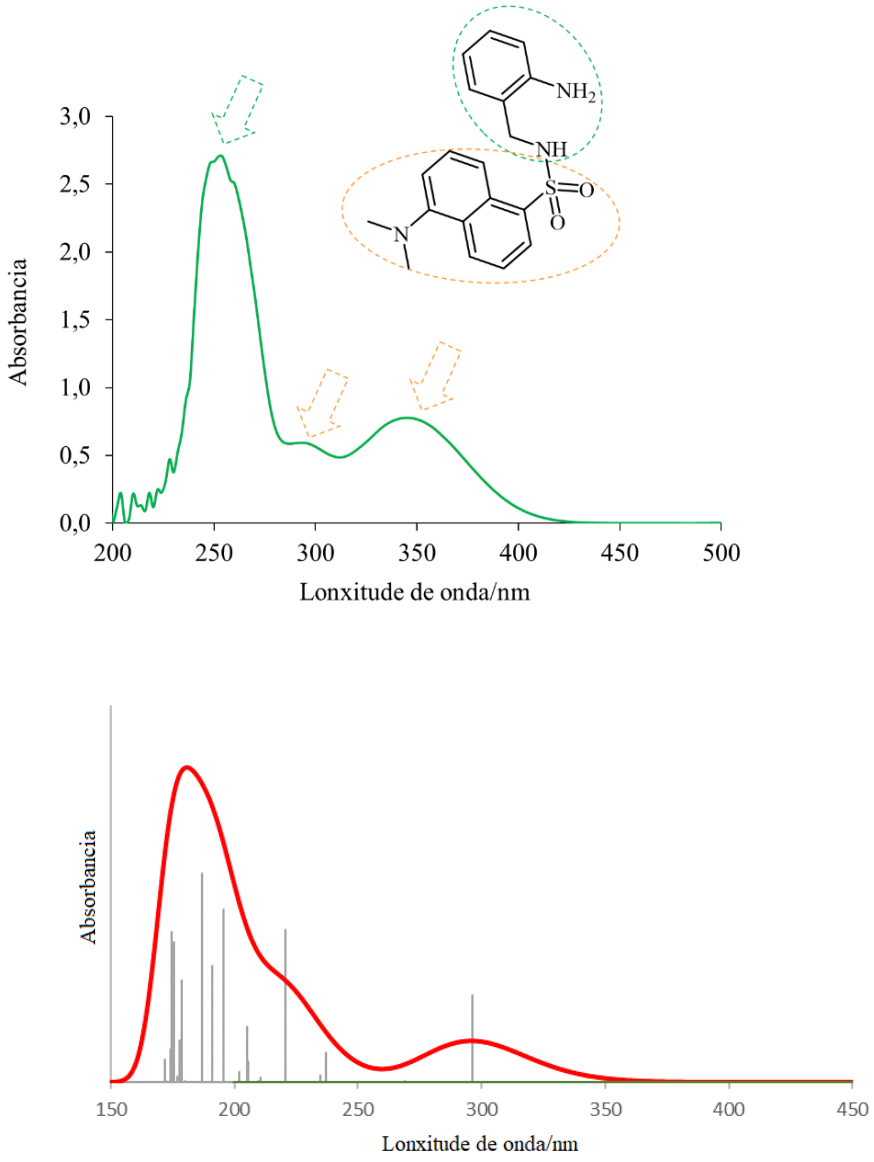
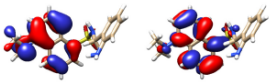
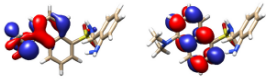
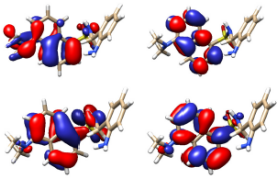
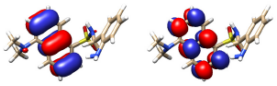
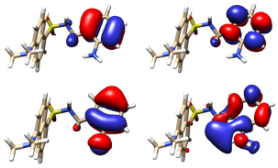


Figura 4.3.1: Espectros UV-Vis experimental (superior) e teórico (inferior) de DsA. No espectro obtido experimentalmente amósase a asignación das bandas a cada grupo funcional correspondente da molécula.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 4.3.1: Orbitais moleculares que están involucrados nas principais transicións, dando lugar ao espectro UV-Vis da molécula de DsA.

Lonxitude de onda (nm)	Intensidade do oscilador	Orbitais moleculares		Orbitales de transición naturales[a]	
296,2	(0,1719)	HOMO-1 → LUMO	95,9%		(96%)
220,8	(0,3030)	HOMO-1 → LUMO+1 HOMO-4 → LUMO HOMO-3 → LUMO+1 HOMO-3 → LUMO	38,3% 31,9% 13,1% 7,5%		(56%) (39%)
195,8	(0,3430)	HOMO-3 → LUMO+1 HOMO-6 → LUMO HOMO-4 → LUMO	46,3% 25,2% 9,3%		(50%) (37%)
187,1	(0,4146)	HOMO-4 → LUMO+1 HOMO-3 → LUMO+1 HOMO-1 → LUMO+3	73,4% 8,8% 6,2%		(83%)
174,6	(0,2974)	HOMO-2 →LUMO+2 HOMO → LUMO+4 HOMO → LUMO+5 HOMO-8 → LUMO	55,4% 9,0% 7,7% 7,1%		(55%) (18%)

[a]*As contribucións dos pares NTO representados ás transicións electrónicas indícanse entre parénteses.*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

O espectro electrónico experimental de DsA mostra tres bandas de absorción centradas ao redor de 345, 300 e 250 nm. Do mesmo modo, o espectro electrónico teórico amosa tres sinais máis intensas situadas ao redor de 295, 220 e 175 nm. Como se pode apreciar na figura 4.3.1, estas bandas aparecen desprazadas cara lonxitudes de onda máis baixas, unhos 50-70 nm con respecto ás bandas observadas experimentalmente. A análise dos orbitais moleculares implicados nas transicións electrónicas máis intensas e na representación dos correspondentes orbitais naturais de transición (táboa 4.3.1) indican que a banda a 295 nm corresponde principalmente a una transición π - π^* na rexión dansílica, e a banda a 220 nm corresponde a transicións n - π^* e π - π^* fortemente mesturadas, tamén na unidade dansílica. Por último, entre as diversas transicións que contribúen á banda intensa a lonxitudes de onda más baixas, as máis intensas centradas a 175 nm son dúas transicións π - π^* situadas na rexión do dansilo e unha transición π - π^* claramente centrada na fracción correspondente á anilina.

5.3.2. ATR-FTIR

A asignación das bandas máis importantes e representativas do espectro ATR-FTIR de DsA amósase na figura 4.3.2, xunto co correspondente espectro calculado de xeito teórico. As bandas máis destacábeis son as bandas ao redor de 3472 e 3383 cm^{-1}, correspondentes aos modos de vibración ν_{as}HNH e ν_{s}HNH respectivamente; a banda a 3322 cm^{-1}, atribuíbel ao modo νNH; a banda a 1632 cm^{-1}, correspondente co modo de vibración δHNH; e por último, as bandas a 1309 e 1142 cm^{-1}, atribuíbeis aos modos ν_{as}OSO e ν_{s}OSO respectivamente. Unha asignación mais detallada pode verse na táboa 4.3.2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

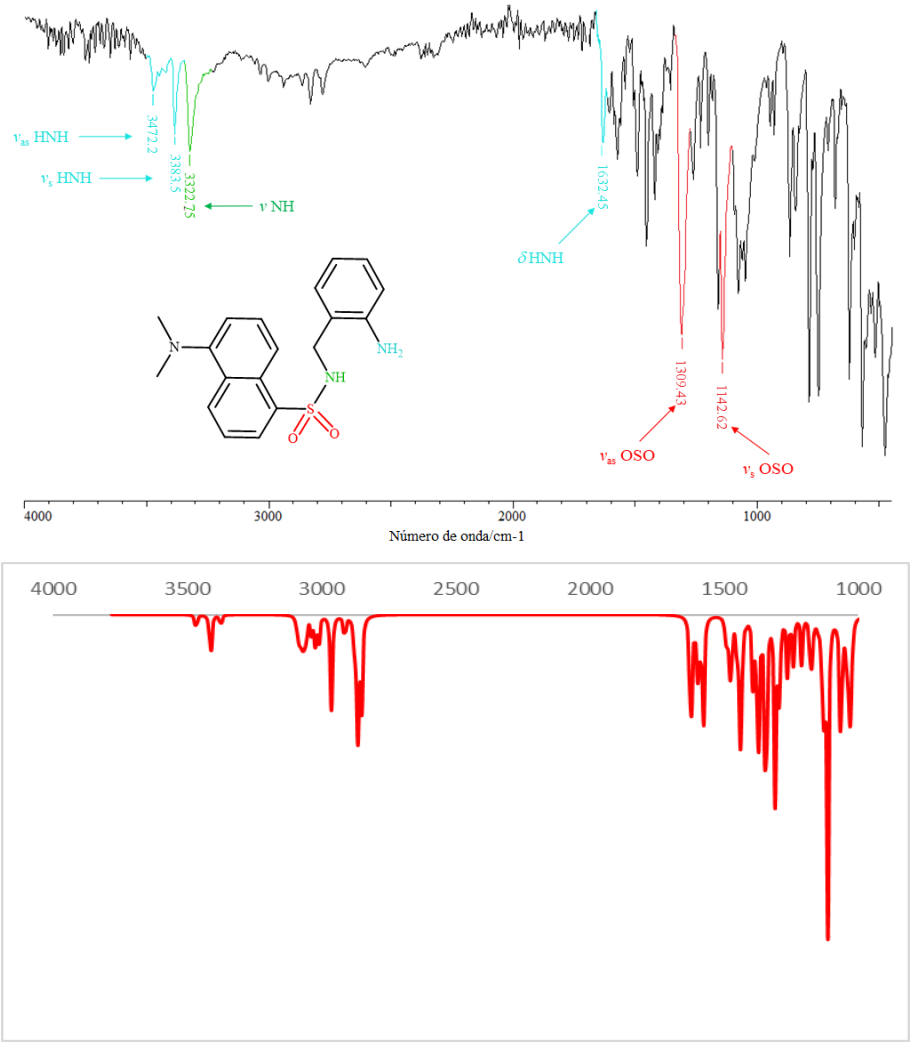


Figura 4.3.2: a)Espectro ATR-FTIR experimental de DsA. b)Espectro ATR-FTIR teórico de DsA. Inclúese a asignación das sinais dos grupos funcionais máis importantes da molécula.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 4.3.2: Datos experimentais e teóricos das frecuencias de vibración (cm^{-1}) de DsA.

Valores experimentais	**Valores teóricos**	**Asignación dos modos normais de vibración**[a]
1048	1031	N-CH_3 flexión (dansilo) + respiración do anel (dansilo)
1076	1071	N-C tensión (anilina) + NCH_3 balanceo (dansilo)
1142	1113	O=S=O tensión simétrica + ring C-H flexión (anilina + dansilo)
1159	1130	Anel C-H flexión (anilina)
1200	1173	Anel C-H flexión (anilina)
1231	1212	Anel C-H flexión (anilina)
1261	1272	Anel C-H flexión (anilina)
	1296	Anel C-H flexión (dansilo)
1310	1310	N-H flexión (anilina) + CH_2 torsión (anilina)+ O=S=O tensión asimétrica
1354	1346	C=C tensión asimétrica (dansilo)
	1349	CH_2 oscilación (anilina)
	1375	N-H flexión (anilina) + anel C-H flexión (dansilo)
1420	1395	N-H flexión (anilina) + anel C-H flexión (dansilo)
1452	1438	Anel C-H flexión (anilina) + anel C-H flexión (dansilo)
	1440	Anel C-H flexión (dansilo) + anel C-H flexión (anilina)
1493	1482	Anel C-H flexión (anilina)
1572	1578	C=C tensión asimétrica (dansilo)
	1601	NH_2 flexión (anilina) + C=C tensión asimétrica (anilina)
1630	1624	NH_2 flexión (anilina) + C=C tensión asimétrica (anilina)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Valores experimentais	**Valores teóricos**	**Asignación dos modos normais de vibración**[a]
2779	2840	CH_3 tensión simétrica (anilina $-CH_2-$)
	2853	CH_3 tensión simétrica (dansilo N-CH_3)
2830	2865	CH_3 tensión simétrica (dansilo N-CH_3)
	2913	CH_2 tensión asimétrica (anilina)
	2961	CH_3 tensión asimétrica (dansilo N-CH_3)
2940	2964	CH_3 tensión asimétrica (dansilo N-CH_3)
	3066	Anel C-H tensión asimétrica (anilina)
3035	3078	Anel C-H tensión simétrica (anilina)
3323	3367	N-H tensión (anilina)
3383	3389	NH_2 tensión simétrica (anilina)
3470	3484	NH_2 tensión asimétrica (anilina)

[a] *O erro medio destas asignacións é de 21cm^{-1}.*

5.3.3. *RMN-^{1}H*

O espectro de RMN-^{1}H da DsA amósase na figura 4.3.3. Como sinais máis significativas da formación do composto pódense destacar: un singlete a 2.84 ppm que indica a presencia dos seis protóns dos grupos metilo, un doblete a 3.85 ppm que se corresponde cos protóns do grupo metileno, un singlete a 4.87 ppm asociado á amina primaria e por último, un triplete a 8.24 ppm asociado ao protón sulfonamídico, o que confirma a formación do composto. A observación destas sinais é unha clara evidencia da dansilación selectiva do grupo aminometil. A maiores, baseándonos en

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

estudos previos de compostos semellantes,[211,212] tamén se realizou a asignación do resto de protóns aromáticos de DsA.

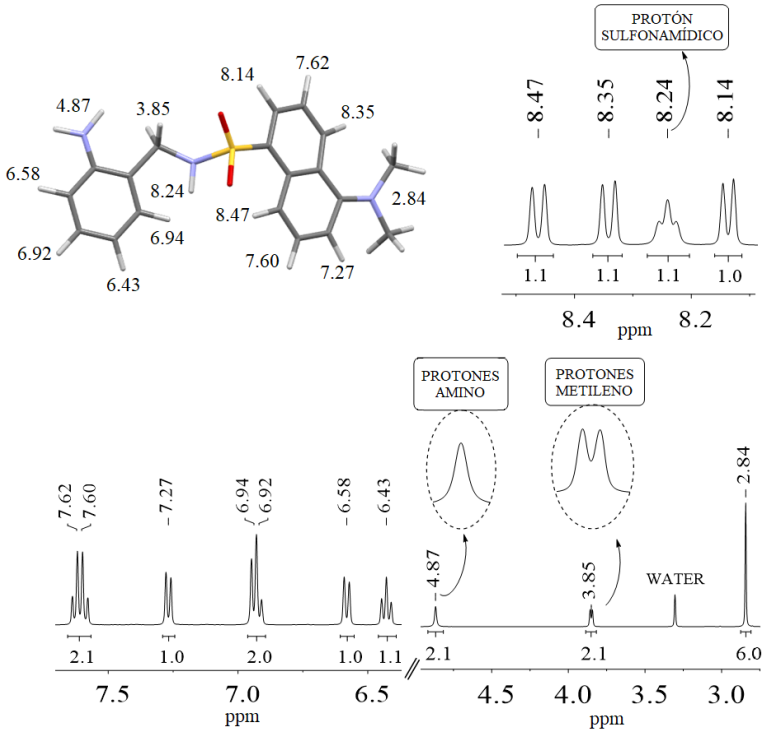


Figura 4.3.3: Espectro de RMN-^{1}H de DsA (en dmso-d6), cun modelo 3D da molécula onde se mostran os valores do desprazamento químico de cada protón.

[212]Lin, K.-K.; Wu, S.-C.; Hsu, K.-M., *et al.*; A N-(2-Aminophenyl)-5-(dimethylamino)-1-naphthalenesulfonic Amide (Ds-DAB) Based Fluorescent Chemosensor for Peroxynitrite. *Organic Letters* **2013,** 15 (16), 4242-4245.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.3.4. *Espectroscopía de fluorescencia*

O espectro de fluorescencia realizouse empregando unha disolución en etanol de DsA, a pH neutro. Dita disolución emite un máximo de fluorescencia a unha lonxitude de onda ao redor dos 520 nm (de cor verde) cando se expón a luz UV, a unha lonxitude de onda de 340 nm (figura 4.3.4). A emisión de fluorescencia asociase coa característica banda de transferencia de carga entre o grupo dimetilamino doador e o grupo sulfonilo[213].

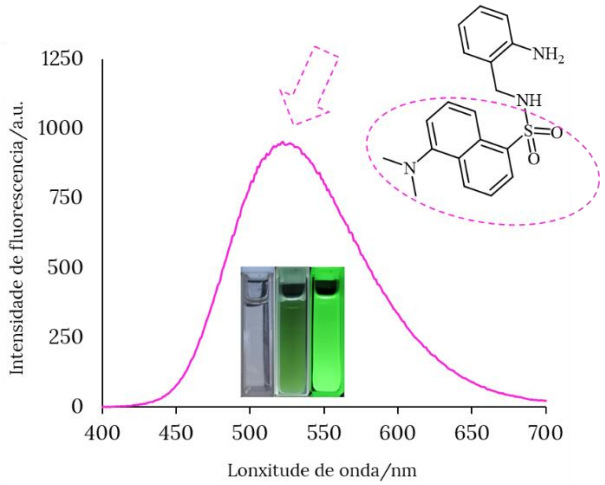


Figura 4.3.4: Espectro de fluorescencia de DsA en etanol (ancho de rendixa 5 nm), coa asignación da banda de emisión á fracción dansilo da molécula. Fotografía dunha disolución de DsA en etanol baixo luz natural e baixo as λ_{exc} 245 e 365 nm respectivamente.

[213]Srivastava, P.; Ali, R.; Razi, S. S., *et al.*; A simple blue fluorescent probe to detect Hg2+ in semiaqueous environment by intramolecular charge transfer mechanism. *Tetrah. Lett.* **2013,** 54, 3688–3693.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo 6

Estudo de H_3L^1

6.1. Síntese de H_3L^1

O ligando base de Schiff H_3L^1 pode obterse mediante un simple procedemento que consiste na adición nucleofílica de DsA ao 2,3-dihidroxibenzaldehido. A reacción ten lugar en relación molar 1:1, durante 24h a temperatura ambiente, evitándose así reaccións non desexadas. H_3L^1 obtívose como un sólido pulverulento alaranxado. Todos os datos da súa síntese e caracterización espectroscópica están recollidos no capítulo 2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.2. Caracterización espectroscópica de H_3L^1

A caracterización espectroscópica de H_3L^1 levouse a cabo mediante as seguintes técnicas analíticas: ATR-FTIR, UV-Vis, RMN de ^1H, e espectroscopía de fluorescencia. A asignación das bandas dos espectros de ATR-FTIR e UV-Vis, así como as sinais dos espectros de RMN e fluorescencia, levouse a cabo empregando como referencia a bibliografía dispoñible, así como a dilatada experiencia do Grupo de investigación con estes sistemas.

6.2.1. ATR-FTIR

O espectro de ATR-FTIR mostra de maneira inequívoca a presenza dunha banda aguda e forte sobre 1615 cm^{-1}, a cal se corresponde coa vibración de tensión do grupo imino, ν CN. A ausencia das dúas bandas a 3473 e 3383 cm^{-1} que corresponden aos modos ν_{as} HNH e ν_s HNH respectivamente, é unha clara evidencia de que a condensación entre o grupo amino de DsA e o grupo aldehido do 2,3-dihidroxibenzaldehido tivo lugar. O espectro IR, obtido experimentalmente para H_3L^1, amósase na figura 5.2.1.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

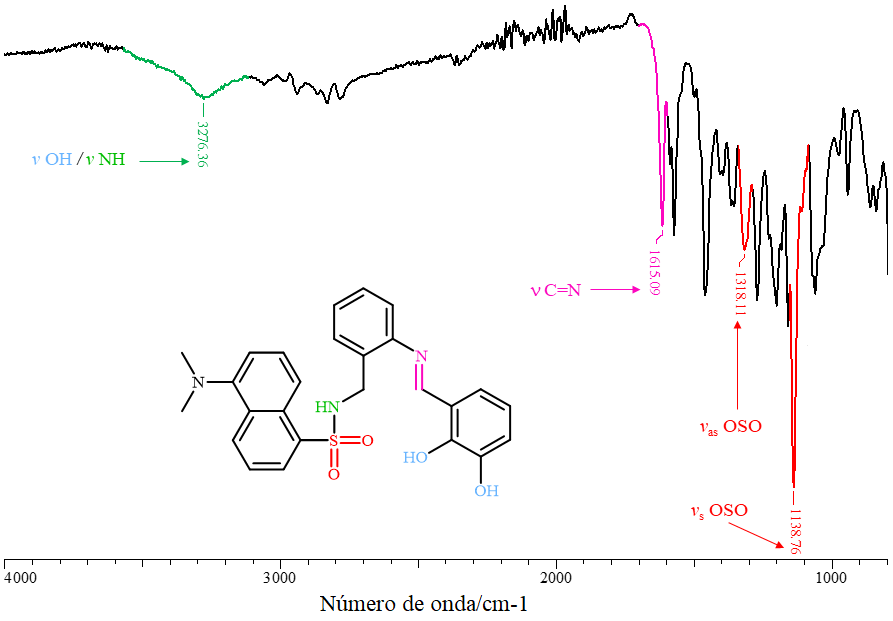


Figura 5.2.1: Espectro ATR-FTIR do ligando H_3L^1 coa asignación das bandas correspondentes aos grupos funcionais máis importante.

6.2.2. UV-Vis

Na figura 5.2.2 amosase o espectro UV-Vis do ligando obtido experimentalmente, realizado en etanol absoluto, onde se sinalan con frechas de diferentes cores as bandas e as fraccións da estrutura do ligando coas que se corresponden. Segundo a bibliografía dispoñible, e a experiencia do grupo de investigación na caracterización de ligandos similares a H_3L^1, proponse que as bandas en torno a 250 e 320 nm se correspondan maioritariamente coa fracción procedente do cloruro de dansilo, mentres que a banda a 214 nm debe correspónderse maioritariamente coa fracción procedente do aldehido.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

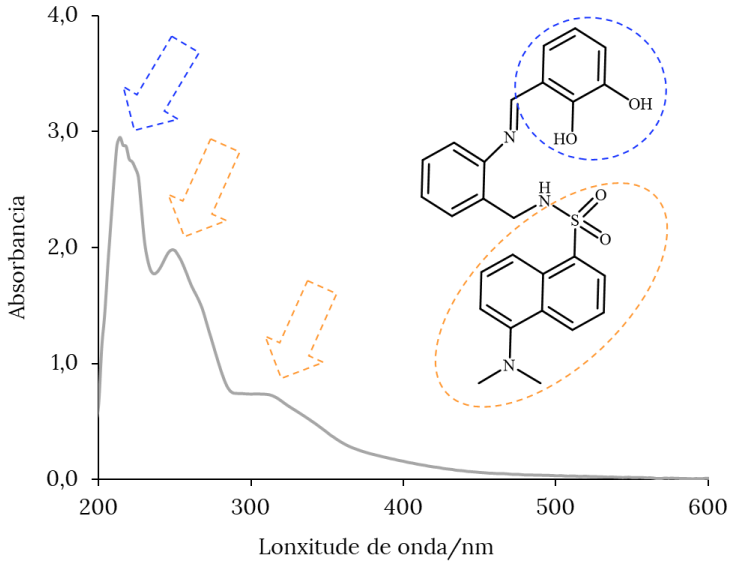


Figura 5.2.2: *Espectro de* UV-Vis *de* H_3L^1.

6.2.3. RMN-^1H

Con respecto ao espectro de RMN de ^1H (figura 5.2.3) amósase unha completa asignación, baseada na bibliografía[214,215] para cada unha das sinais que aparecen. A sinal máis significativa é o singlete correspondente a un protón que aparece a 8,59 ppm, a cal se corresponde co protón do grupo imino do ligando. Ademais, cabe destacar a desaparición da sinal do

[214]Sanmartín-Matalobos, J.; Portela-García, C.; Fondo, M., *et al.*; A simple route to dinuclear complexes containing unusual μ-Nsulfonamido bridges. *J. Coord. Chem.* **2016,** 69 (8), 1358-1370.

[215]Sanmartín-Matalobos, J.; Bermejo-Barrera, P.; Pérez-Juste, I., *et al.*; Experimental and Computational Studies on the Interaction of a Dansyl-Based Fluorescent Schiff Base Ligand with Cu2+ Ions and CuO NPs. *Int. J. Mol. Sci.* **2022,** 23 (19), 11565.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

grupo amino de DsA a 4,83 ppm, o que constitúe unha clara evidencia da formación do ligando H_3L^1.

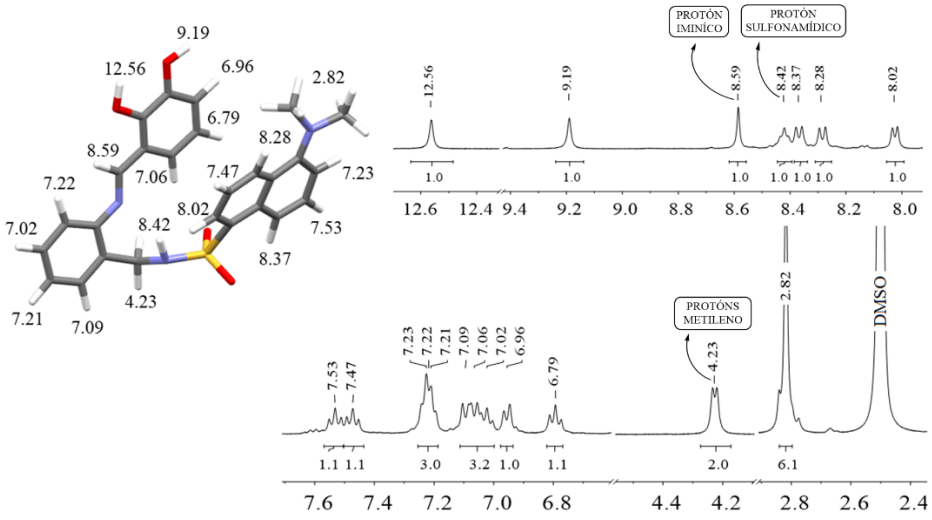


Figura 5.2.3: Espectro de RMN de ^1H de H_3L^1, coa asignación correspondente.

6.2.4. *Espectroscopía de fluorescencia*

A figura 5.2.4 amosa que H_3L^1 emite fluorescencia tanto en forma de po como en disolución. Baixo unha fonte de luz UV a 365 nm, H_3L^1 emite unha fluorescencia vermella en forma de po, e verde en disolución etanólica.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

H_3L Luz natural | H_3L Radiación UV (λ=365nm) | H_3L Luz natural | H_3L Radiación UV (λ = 365nm)

Figura 5.2.4: Efecto da luz UV (365 nm) sobre unha mostra sólida (esquerda) do ligando H_3L^1 e sobre unha disolución súa en etanol absoluto (dereita).

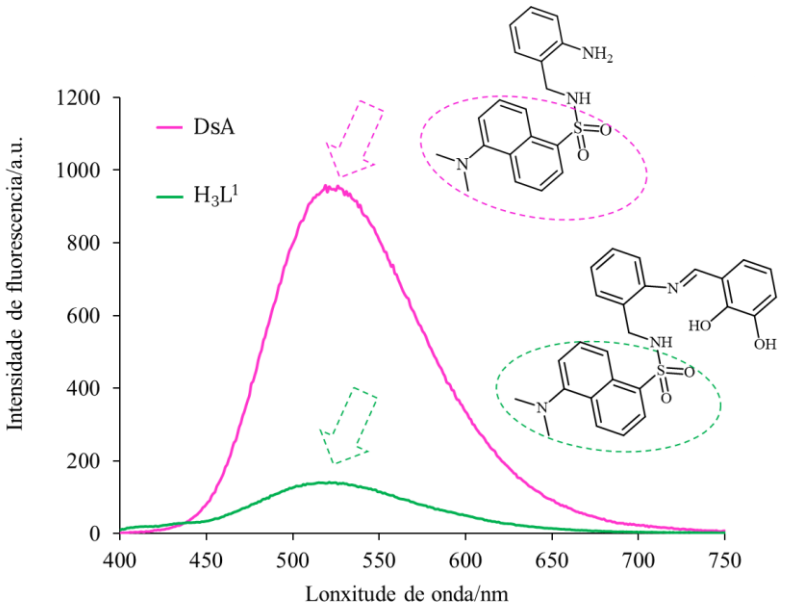


Figura 5.2.5: Espectros de fluorescencia de DsA ($\lambda_{máx}$ = 520) e H_3L^1 ($\lambda_{máx}$ = 520) en etanol absoluto, obtidos nas mesmas condicións.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Na figura 5.2.5 pódese ver a banda de fluorescencia de H_3L^1, menos intensa que a do seu precursor, DsA, nas mesmas condicións de medida. Dita banda, con $\lambda_{máx}$ = 520, relacionase co residuo dansilo, e asóciase coa característica banda de transferencia de carga entre o grupo dimetilamino doador e o grupo sulfonilo.

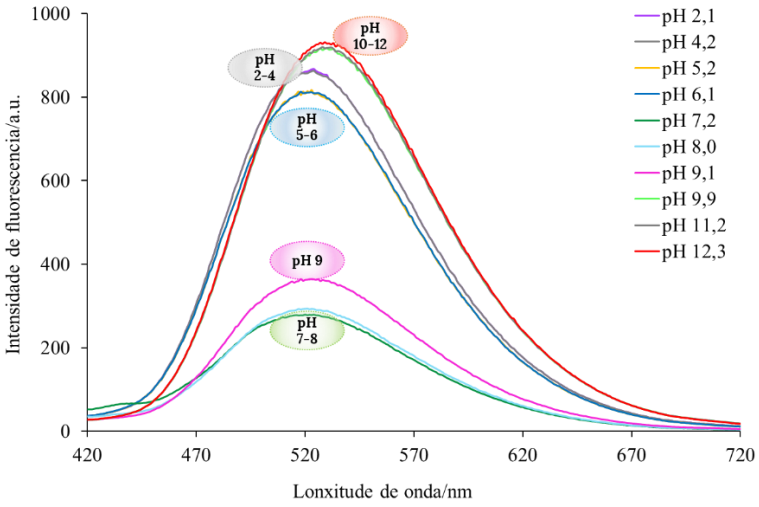


Figura 5.2.6: Influencia do pH (2,1-12,3) no espectro de fluorescencia de H_3L^1 ($4{,}44\cdot10^{-4}$ M) baixo luz visible (λ_{exc} = 400 nm), empregando etanol absoluto como disolvente.

Realizouse un estudo de como inflúe a variación do pH no espectro de fluorescencia de H_3L^1 en disolución, empregando como disolvente etanol absoluto (figura 5.2.6). O uso deste disolvente polar xustifícase pola elevada intensidade da emisión, e o desprazamento de Stokes (ao redor de 120 nm) que se obteñen nas medidas. Unha disolución etanólica de H_3L^1 a pH neutro emite unha fluorescencia verde, con $\lambda_{máx}$ a uns 520 nm, cando se expón a luz visible cunha lonxitude de onda de 400 nm. O estudo da influencia do pH no espectro de fluorescencia de H_3L^1, mostrou un

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

aumento na intensidade de fluorescencia a valores de pH moi ácidos e moi básicos, o que concorda coa protonación/desprotonación de H_3L^1. A desprotonación dos grupos fenol e sulfonamida require valores de pH elevados, xa que o pK_a destes grupos sitúase ao redor de 9. Valores de pH entre 10 - 12 dan lugar a un desprazamento batocrómico de λ_{em} (532 nm). Ademais, valores de pH de ao redor de 6 (e inferiores) dan lugar á protonación do grupo dimetilamino, que vai acompañada tamén dun desprazamento batocrómico de λ_{em} (525 nm), menos evidente que no caso anterior. Isto pode deberse ao aumento do poder de atracción de electróns do grupo sulfonilo tras a protonación do átomo de nitróxeno da amina.

6.3. Estudo da interacción de H_3L^1 con Cu^{2+} e Cd^{2+}

H_3L^1 incorpora un dominio enlazante N,N,O que lle permite a formación de enlaces de coordinación con metais de acidez de Lewis media, como é o caso do ión Cu^{2+}, pero que tamén é apropiado para coordinar ácidos de Lewis brandos, como é o caso do ión Cd^{2+}. H_3L^1, a través dos átomos de O dadores do grupo sulfonamido, pode participar tamén na coordinación mediante enlaces, en xeral, mais débiles que os anteriores.

Para gañar un mellor entendemento do comportamento coordinativo de H_3L^1 fronte a Cu^{2+} ou Cd^{+2}, sintetizáronse os complexos por dúas vías alternativas, mediuse a afinidade do ligando polos citados metais, e analizáronse os cambios espectrais derivados da coordinación.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Os complexos moleculares que se obtiveron foron investigados en disolución, mediante técnicas espectroscópicas como RMN, UV-Vis e fluorescencia. En estado sólido, a interacción foi estudada mediante técnicas como análise elemental e ATR-FTIR. Deste xeito, teremos unha referencia fiábel que servirá de apoio para poder interpretar os datos espectroscópicos obtidos, como resultado do estudo da interacción entre o ligando H_3L^1 cos nanomateriais de CdSe e CuO.

6.3.1. *Síntese dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_3L^1*

A síntese dos complexos levouse a cabo seguindo dúas vías alternativas, o método electroquímico, e a reacción coa sal metálica, obténdose mellores rendementos co método electroquímico. A elección da estequiometría 1:1 metal–ligando, fundaméntase na semellante acidez dos protóns fenólico e sulfonamídico (pK_a aproximadamente 9) de H_3L^1, o que propicia a conducta dianiónica do ligando. Esta conducta xa foi descrita noutros ligandos N,N,O-dadores que como H_3L^1 conteñen un OH fenólico e un NH sulfonamídico, e que deron lugar a complexos dinucleares con pontes sulfonamídicos.[214,216]

[216]Sanmartín-Matalobos, J.; Fondo, M.; Zarepour-Jevinani, M., *et al.*; Taking Advantage of the Coordinative Behavior of a Tridentate Schiff Base Ligand towards Pd2+ and Cu2+. *Crystals* **2019**, 9, 407.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.3.2. *Caracterización dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_3L^3*

Os resultados da análise CHNS (capítulo 2) mostraron que os complexos de cobre(II) e cadmio(II) se obtiveron cunha estequiometría 1:1 (metal:ligando). Isto é coherente coa formación de complexos dinucleares do tipo $M_2L_2(H_2O)_x{\cdot}nH_2O$, con ponte sulfonamídica.

6.3.3. *ATR-FTIR*

O espectros IR dos complexos de cobre(II) e cadmio(II) mostraron unha banda ancha centrada ao redor de 3440 cm^{-1} atribuíble a ν(OH), que evidenciou a obtención dos complexo hidratados (figura 5.3.1). Os lixeiros desprazamentos de ν (C=N), $\nu_{as}(SO_2)$ e $\nu_s(SO_2)$ cara números de onda máis baixos é un sinal de que a coordinación ten lugar a través dos átomos de O_{fenol}, N_{imino} e $N_{sulfonamida}$ do ligando.

6.3.4. *UV-Vis*

Os espectros electrónicos dos complexos de cobre(II) e cadmio (II) (figura 5.3.2) mostran tres sinales dominantes ao redor de 211, 245 e 336 nm que aparecen desprazadas cara ao azul con respecto ao ligando libre (224, 248 e 340 nm). A complexación metálica de H_3L^1 con Cu^{2+} e Cd^{2+} achega unha nova banda de absorción (moi pouco marcada) ao redor de 430-450 nm, que se asignou a unha transferencia de carga ligando-metal (LMTC).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

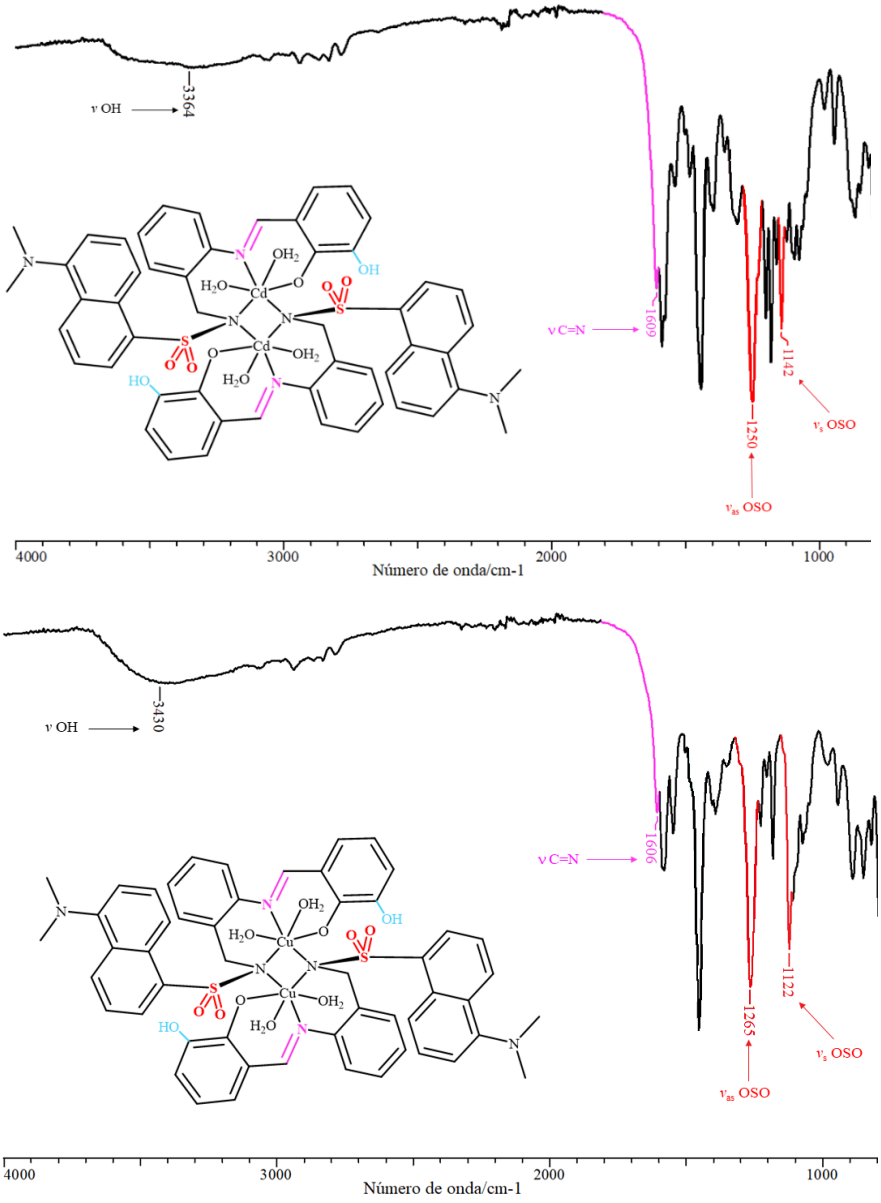


Figura 5.3.1: Vista dos espectros ATR-FTIR do complexo de cadmio(II) (superior) e do complexo de cobre(II) (inferior), coa asignación dos sinais dos grupos funcionais máis notables das moléculas en cada un dos esquemas correspondentes.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

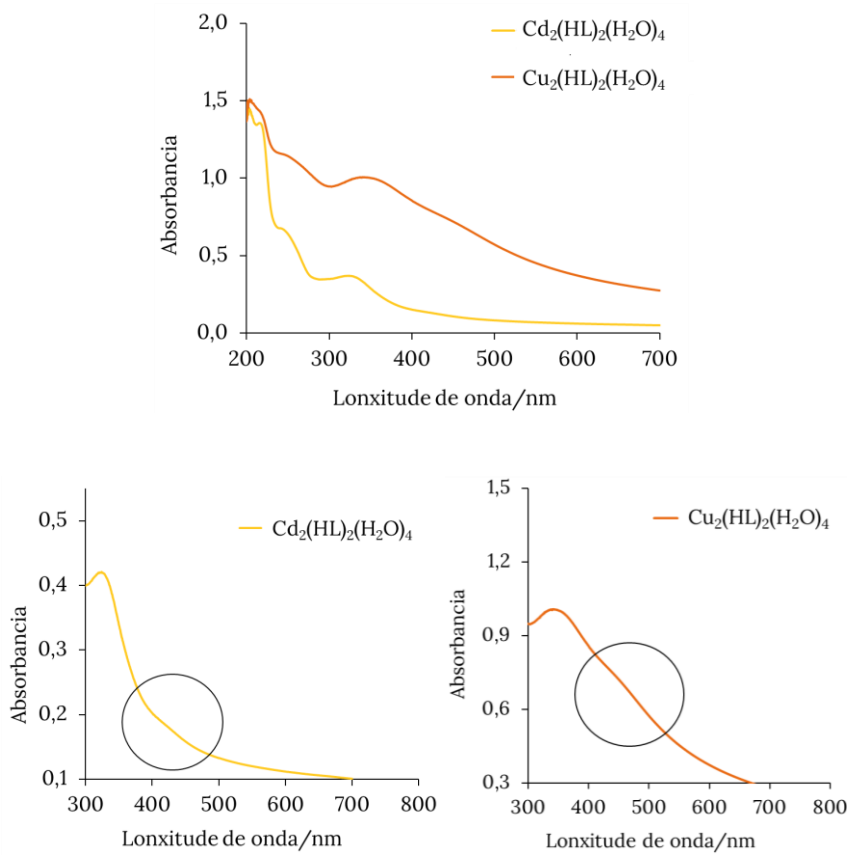


Figura 5.3.2: Superior: Vista dos espectros UV-Vis dos complexos de cadmio(II) e cobre(II) en etanol. Inferior: Ampliación dos espectros dos complexos de cadmio(II) e cobre(II) na rexión de 360-660 nm para ver máis facilmente a nova banda de absorción (coma un ombreiro, sinalizada cun círculo negro) a uns 430-450 nm (LMTC).

6.3.5. RMN-^1H

O espectro de RMN de ^1H do complexo de cadmio(II) revelou a existencia dun comportamento quelatante do ligando H_3L^1 a través do átomo de O do grupo fenol, do N do grupo imino e do N sulfonamídico. No

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

espectro de RMN de ^{1}H amosado na figura 5.3.4 pódese observar a ausencia das sinais que corresponden ao grupo OH do fenol (12.56 ppm), e ao grupo NH sulfonamídico (8.42 ppm), así como o movemento da sinal CH=N a campo alto (~ 0.3 ppm) que se observaba a 8.59 ppm en H_3L^1. Isto é coherente coa formación dun complexo de cadmio cunha ponte sulfonamídica. As sinais aromáticas entán comprendidas no rango 7.0-8.3 ppm.

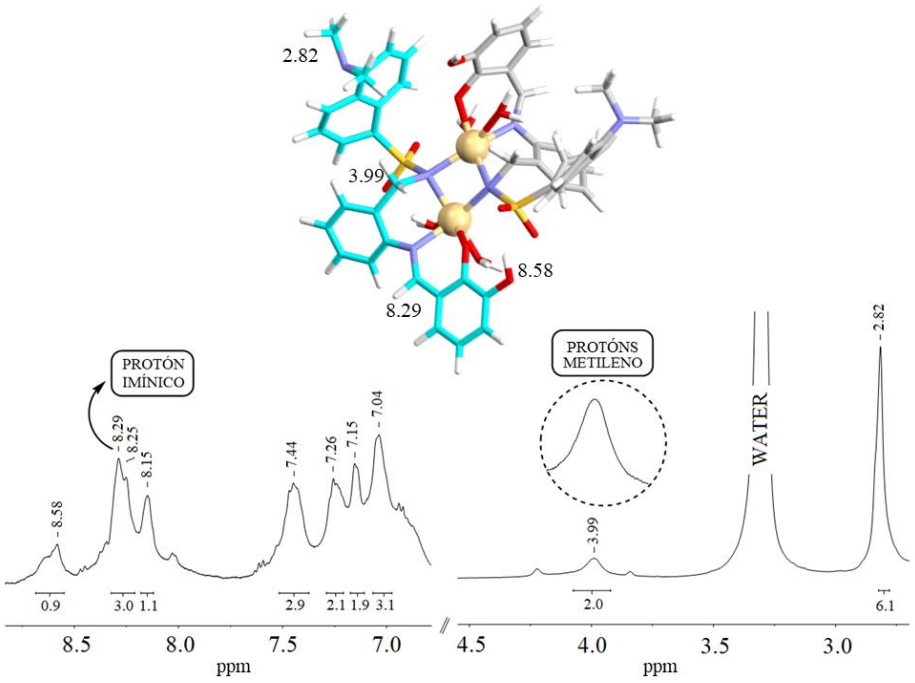


Figura 5.3.4: Vista do espectro de RMN-^{1}H do complexo dinuclear de cadmio(II) (en dmso-d_6), cunha asignación de sinais nun modelo 3D da molécula.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.3.6. *Espectroscopía de fluorescencia*

Unha disolución en etanol absoluto do complexo de cadmio(II) pH neutro presenta un máximo de emisión fluorescente ao redor dos 514 nm (λ_{ex} = 248 nm), o que supón un leve desprazamento cara o azul na λ_{em} (efecto hipsocrómico) cando se compara coa lonxitude de onda de emisión obtida para unha disolución en etanol absoluto do H_3L^1 (520 nm). En contraposición, observouse un desprazamento cara o vermello na λ_{em} (efecto batocrómico) dunha disolución de etanol absoluto de complexo de cobre(II) (λ_{em} = 526 nm) cando o se compara co obtido para unha disolución en etanol absoluto de H_3L^1 (figura 5.3.5).

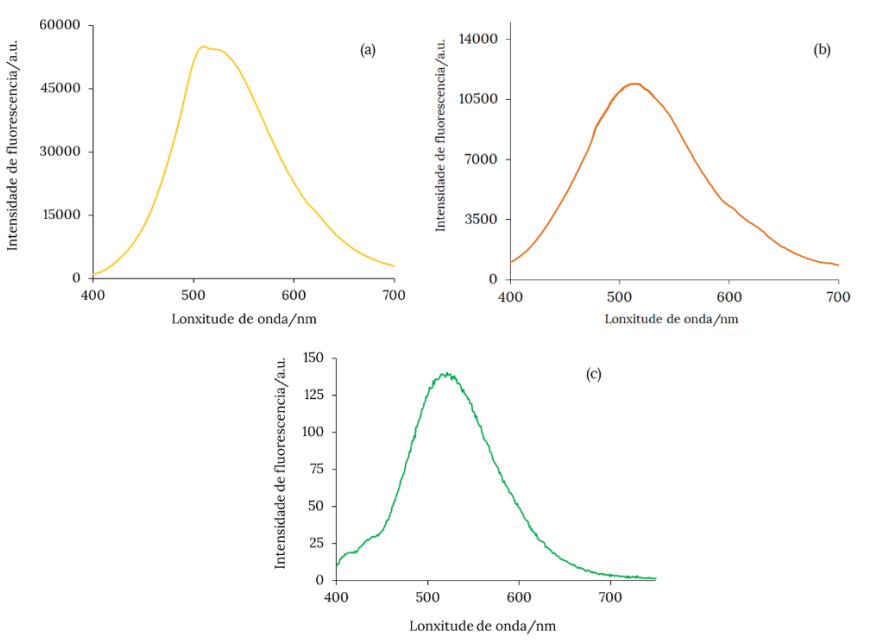


Figura 5.3.5: Vista dos espectros de fluorescencia de (a) complexo de cadmio (II) (λ_{em} = 520 nm), (b) complexo de cobre (II) (λ_{em} = 524 nm) e (c) H_3L^1 (λ_{em} = 525 nm) en disolución de etanol.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.4. Determinación das constantes de enlace de H_3L^1 con ións Cu^{2+} e Cd^{2+}

A determinación das constantes de enlace (K_b) de H_3L^1 cos ións Cu^{2+} e Cd^{2+} realizouse co fin de cuantificar a afinidade do ligando por estes ións. A determinación do valor de K_b, a temperatura ambiente, levouse a cabo mediante espectroscopía de fluorescencia e UV-Vis. K_b obtívose a partir da ecuación de Benesi–Hildebrand[217] (figura 5.4.1) para complexos metálicos cunha relación estequiométrica de 1:1, na que $K_b = b/m$ ($y = \boldsymbol{m}x + \boldsymbol{b}$). A estequiometria metal:ligando que se empregou na determinación da K_b obtívose mediante análise elemental. A táboa 5.4.1 amosa que a afinidade do H_3L^1 por ións Cu^{2+} (ácido intermedio) é aproximadamente dúas veces máis alta que a afinidade por ions Cd^{2+} (ácido brando), independentemente da técnica espectroscópica empregada.

Os valores que se obtiveron para a constante de enlace (K_b) do H_3L^1 con Cu^{2+} e Cd^{2+} mediante espectroscopía UV-Vis foron $7{,}718 \times 10^3$ e $3{,}140 \times 10^3$ M^{-1}, respectivamente. Nun novo estudo, utilizando a mesma ecuación, pero empregando como técnica a espectroscopía de fluorescencia, os valores que se obtiveron para a K_b do ligando H_3L^1 con Cu^{2+} e Cd^{2+} foron $7{,}549 \times 10^3$ e $3{,}415 \times 10^3$ M^{-1}, respectivamente. A

[217]Alves, J. Q.; Máximo, L. N. C.; Franco, L. P., *et al.*; Fluorescence-quenching CdTe quantum dots applied for identification of cocaine-structure analogues. *Anal. Methods* **2019,** *11*, 185-191.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

semellanza entre os valores de K_b obtidos apoia a validez dos datos obtidos.

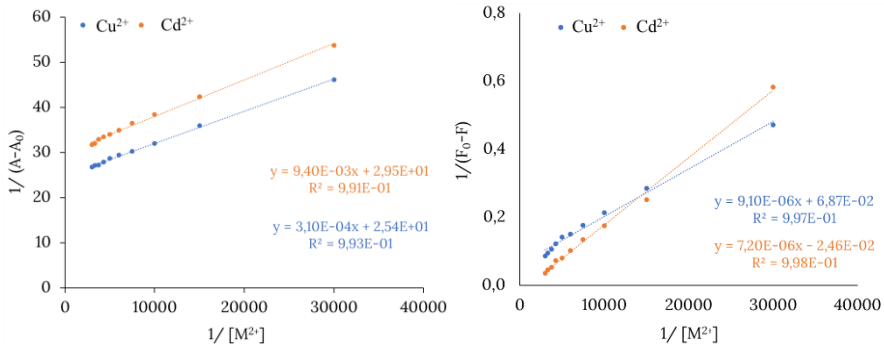


Figura 5.4.1: Representacións da ecuación de Benesi-Hildebrand usando os datos espectroscópicos de UV-Vis (esquerda) e de fluorescencia (dereita) para unha valoración de H_3L^1 (10^{-4} M) con Cd^{2+} e Cu^{2+} (10^{-3} M) nunha disolución 80:20 de etanol:agua.

Táboa 5.4.1: Valores da ΔG, KSV e Kb para a reaccións de H3L1 con Cu2+ e Cd2+ (en proporción molar 1:1). Os valores das constantes de enlace obtivéronse a partir da intensidade da emisión de fluorescencia e da absorción UV-Vis.

Especies	ΔG_{Ksv} kJ mol^{-1} (kJ mg^{-1})	$K_{b\ FL}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{b\ UV\text{-}Vis}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 293\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 303\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 313\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})
Cu^{2+}	-22,15 (-22,39)	7549	7718	8865 (9767)	7434 (9231)	6228 (8793)
Cd^{2+}	-19,53 (-19,90)	3415	3140	3027 (3511)	2554 (2794)	2134 (2123)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Debido a diminución de fluorescencia que experimenta H_3L^1, como resultado da reacción con ámbolos dous catións Cu^{2+} e Cd^{2+}, decidiuse estudar o mecanismo de quenching empregando a ecuación de Stern-Volmer[218] $I_0/I = 1+K_{SV}[M^{2+}]$.

A figura 5.4.2 amosa que o valor da constante de de Stern-Volmer (K_{SV} = *pendente da recta*) diminúe ao incrementar a temperatura, o cal é unha clara evidencia de que o mecanismo de "*quenching*" é de tipo estático. Débese ter en conta que nos casos de "*quenching*" estático ($\tau_0/\tau = 1$), o valor da K_{SV} coincide coa valor da K_b para formación do complexo. As constantes de Stern-Volmer (K_{SV}) de H_3L^1 con Cu^{2+} e Cd^{2+}, a temperatura ambiente foron 8.865×10^3 e 3.027×10^3 M^{-1}, respectivamente. Polo tanto, os valores de afinidade de H_3L^1 por Cu^{2+} e Cd^{2+}, obtidos coas ecuacións de Stern-Volmer e de Benesi–Hildebrand son semellantes, o cal apoia a validez das medidas. Os valores de ΔG, que se determinaron a partir de K_{SV} (táboa 5.4.1), indican que o complexo dimérico de cobre(II) (-22,15 kJ mol^{-1}) e mais estable que o complexo dimérico de cadmio(II) (-19,53 kJ mol^{-1}).

[218]Lakowicz, J. R.; Principles of Fluorescence Spectroscopy, Third Edition. **2006**.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

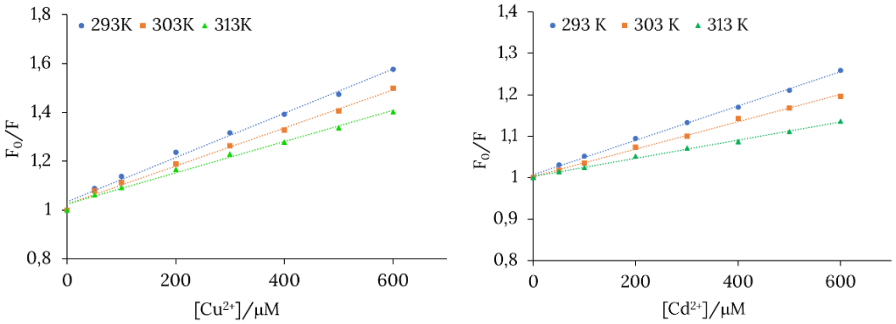


Figura 5.4.2: Representacións da intensidade da fluorescencia de H_3L^1 (10^{-4} M) fronte á concentración de Cu^{2+} (esquerda) e Cd^{2+} (dereita) nunha disolución 80:20 de etanol:agua. As pendentes das rectas a 293, 303 e 313 K son as constantes de Stern-Volmer (K_{SV}).

6.5. Estudo da interacción de H_3L^1 con NMs de CuO e CdSe.

Leváronse a cabo diferentes estudos para investigar a interacción de H_3L^1 con CuO NPs, CdSe NPs e CdSe-Cys QDs. Preparáronse suspensións en etanol con cada un dos tres tipos de nanomateriais a estudar, engadindo unha pequena cantidade de NaOH ata conseguir un valor de pH entre 10-12. As técnicas empregadas para estudar os produtos de reacción CuO-H_3L^1 NPs, CdSe-H_3L^1 NPs e CdSe-Cys-H_3L^1 QDs foron: ATR-FTIR, RMN-^{1}H (onde é aplicábel), µ-XRF, SEM-EDX e espectroscopía de fluorescencia.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.5.1. *ATR-FTIR*

Nos espectros de ATR-FTIR de CuO-H_3L^1 NPs, CdSe-H_3L^1 NPs e CdSe-Cys-H_3L^1 QDs pódese observar a ausencia da banda ao redor de 3283 cm^{-1}, banda que se corresponde cos modos de vibración νNH/νOH, o que nos proporciona unha evidencia clara da tridesprotonación do ligando base de Schiff. Ademais, pódese observar unha banda ao redor de 1614 cm^{-1} aguda e forte, que se corresponde co grupo imínico. A semellanza entre o espectro de ATR-FTIR de CuO-H_3L^1 NPs co do complexo $Cu_2(HL^1)_2(H_2O)_4{\cdot}6H_2O$ ao igual que os espectros de CdSe-H_3L^1 NPs e CdSe-Cys-H_3L^1 QDs co do complexo $Cd_2(HL^1)_2(H_2O)_4{\cdot}2H_2O$ (figuras 5.5.1-5.5.3) é unha evidencia de que a interacción entre H_3L^1 e os NMs ten lugar vía coordinación metal-ligando a través dos átomos O_{phenol}, N_{imino} e $N_{sulfonamídico}$.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

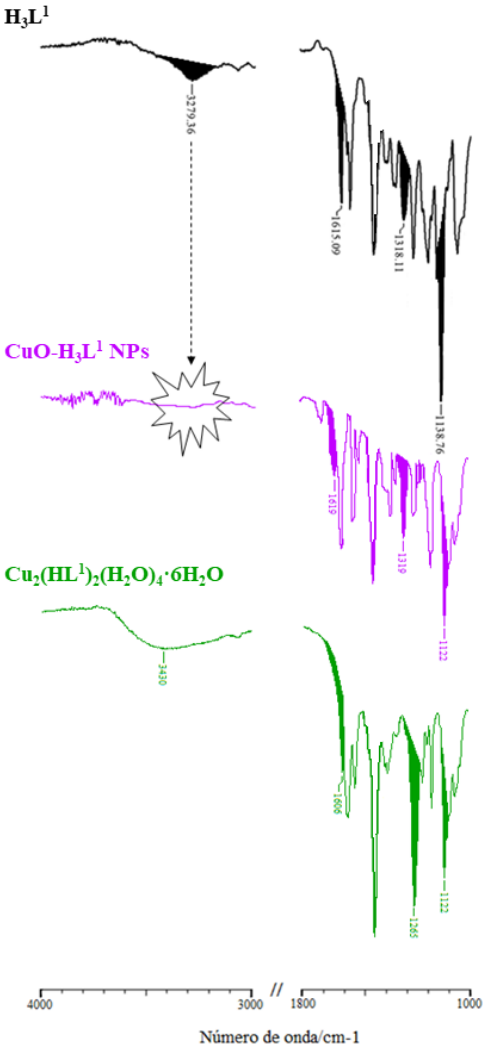


Figura 5.5.1: *Espectros* ATR-FTIR *do* H_3L^1 (*superior*), *CuO*-H_3L^1 NPs (*medio*) *e* $Cu_2(HL^1)_2(H_2O)_4{\cdot}6H_2O$ (*inferior*).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

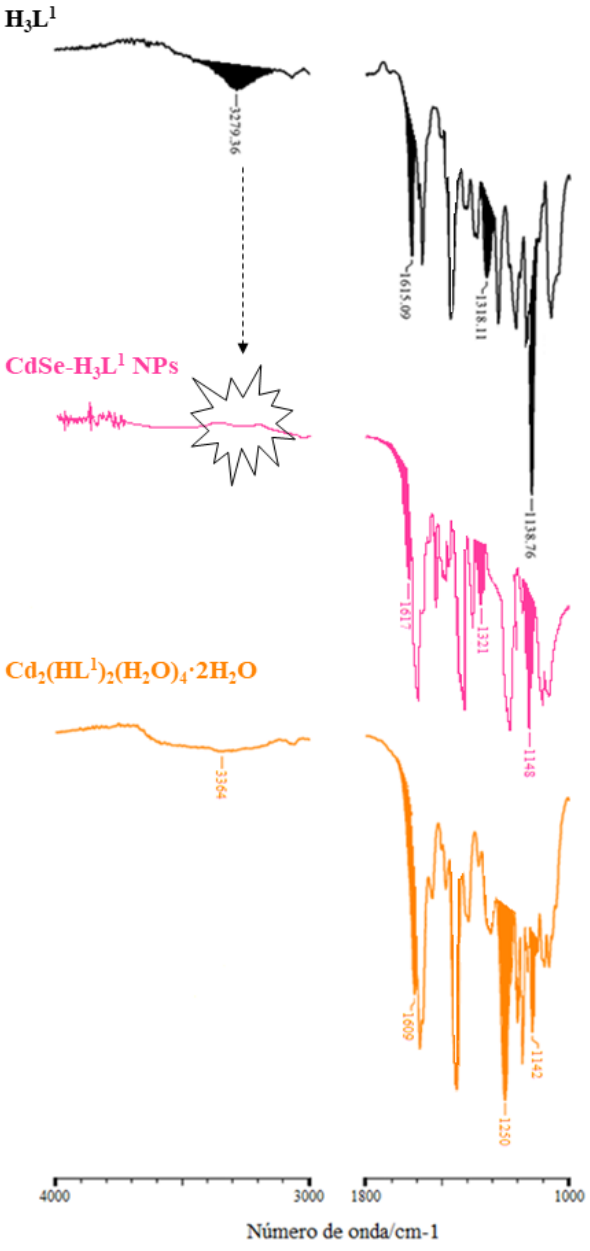


Figura 5.5.2: *Espectros ATR-FTIR do* H_3L^1 *(superior),* $CdSe-H_3L^1$ *NPs (medio) e* $Cd_2(HL^1)_2(H_2O)_4{\cdot}2H_2O$ *(inferior).*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

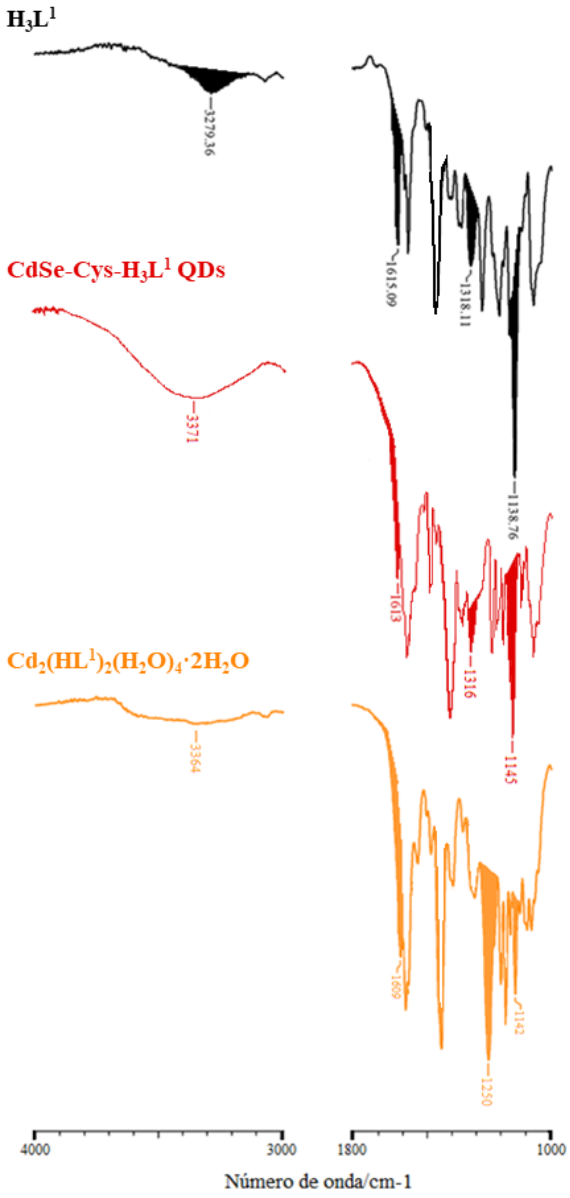


Figura 5.5.3: *Espectros* ATR-FTIR *do* H_3L^1 (*superior*), *CdSe-Cys-*H_3L^1 QDs (*medio*) *e* $Cd_2(HL^1)_2(H_2O)_4{\cdot}2H_2O$ (*inferior*).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.5.2. *RMN-^{1}H*

O espectro de RMN de ^{1}H de CdSe-Cys-H_3L^1 QDs amosa os sinais de protón que se prevían, os cales están de acordo co observado nos espectros de CdSe-Cys QDs e de H_3L^1 en forma libre, (figura 5.5.4). A análise da rexión comprendida entre 2,8-4,6 ppm denota os sinais característicos dos protóns dos grupos metilo e metileno de H_3L^1 a 2,86 e 4,25 ppm respectivamente, mentres que o protón metanotriilo da L-Cys é observado a 4,48 ppm. A interacción entre CdSe-Cys QDs e H_3L^1 non resulta en cambios moi significativos nos desprazamentos químicos dos seus sinais. A presenza de dúas sinais novas a aproximadamente a 3.2 e 3.9 ppm relaciónase cunha hidrólise parcial do ligando. Ademais, pódese observar a ausencia dun dos sinais dos protóns metilénicos da L-Cys debido ao solapamento que experimenta co protón do grupo metilo do disolvente deuterado (metanol-d_4).

Baseándonos nos valores de integración correspondentes, é posíbel deducir que a relación molar Cys:H_3L^1 está ao redor dos 20:1 aproximadamente na superficie dos QDs. As semellanzas que existen entre o RMN-^{1}H da especie CdSe-Cys-H_3L^1 QDs e o complexo de $Cd_2(HL^1)_2(H_2O)_4{\cdot}2H_2O$ (figura 5.3.4) apoia a idea de que a interacción que se produce, na superficie das partículas de CdSe-Cys QDs co H_3L^1, ten lugar vía coordinación metal-ligando. É necesario ter en conta que algunhas das diferenzas que existen nos desprazamentos químicos de CdSe-Cys-H_3L^1 QDs e $Cd_2(HL^1)_2(H_2O)_4{\cdot}2H_2O$, son por causa do disolvente deuterado que se empregou en cada caso, unha mestura 1:1 metanol-d_4:D_2O e dmso-d_6 respectivamente. O motivo para empregar dous disolvente deuterados é que ambas especies presentan solubilidades moi diferentes.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

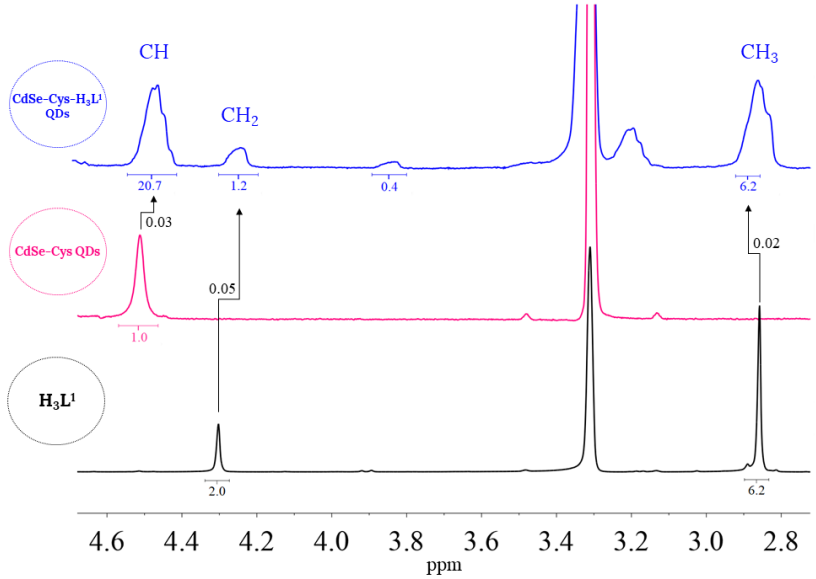


Figura 5.5.4: *Espectros de* RMN-^{1}H *de CdSe-Cys-* H_3L^1 QDs, *CdSe-Cys QDs en metanol-*d_4: D_2O (1:1) *e* H_3L^1 *en metanol-*d_4 *(rango: 4,6-2,8 ppm). Incluíronse os espectros de CdSe-Cys QDs (medio) e* H_3L^1 *(inferior) con fins comparativos. Incluíronse tamén os valores de integración debaixo de cada unha das sinais.*

6.5.3. μ-XRF

O análise mediante μ-XRF indica que as mostras policristalinas de CuO-H_3L^1 NPs (figura 5.5.5) conteñen o metal correspondente en cada caso e xofre nunha proporción 31:1 en peso, o cal é coherente cunha relación molar 15:1 (CuO:H_3L^1). O mapeado que se obtén empregando esta técnica, μ-XRF, emprégase para comprobar a homoxeneidade da distribución de cobre e xofre dentro dunha mostra de CuO-H_3L^1 NPs (figura 5.5.6), feito que apoia a existencia dun enlace entre CuO NPs e H_3L^1.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

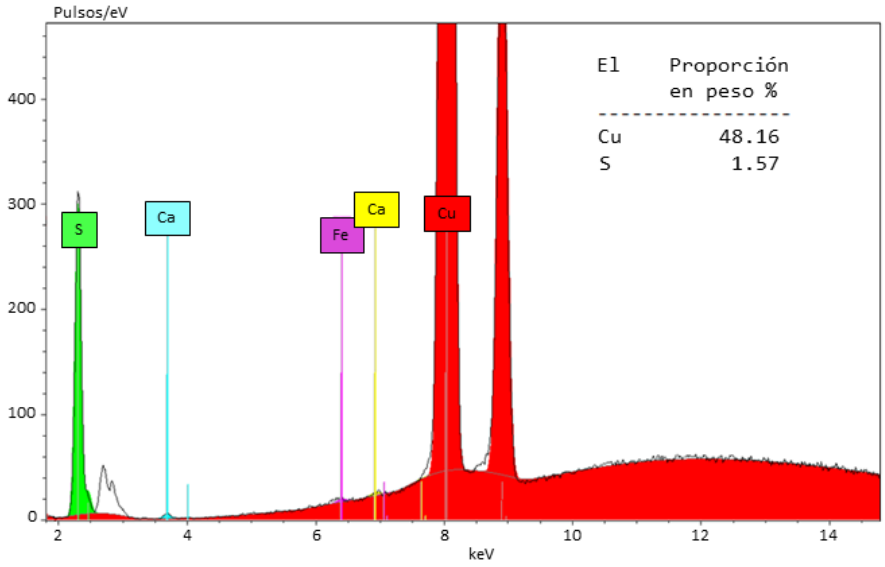


Figura 5.5.5: Espectro XRF de NPs de CuO-H_3L^1. Eixo X: enerxía (keV). Eixo Y: intensidade. Os picos corresponden á emisión dos raios X característicos dos elementos químicos.

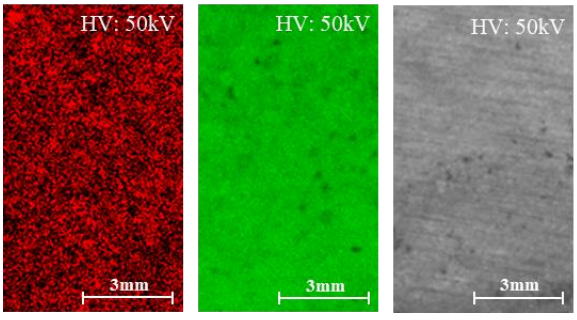


Figura 5.5.6: Mapeado μ-XRF da especie CuO-H_3L^1 NPs no que se mostra a distribución elemental de xofre (vermello) e cobre (verde) na superficie de mostra. Á esquerda inclúese unha imaxe µ-XRF da mostra (gris) en forma de pastilla para a súa comparación.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.5.4. SEM-EDX

Os tamaños e formas das especie CuO-H_3L^1 NPs e CdSe-Cys-H_3L^1 QDs foron analizados empregando SEM. Como se pode apreciar na figura 5.5.7, as nanopartículas CuO-H_3L^1 atópanse aglomeradas formando clústers. A combinación das dúas técnicas, SEM e EDX, empregouse para xerar "mapas" das distribucións de cada elemento. A figura 5.5.7 mostra unha micrografía da especie CuO-H_3L^1 NPs (superior) e un mapeado EDX do patrón de distribución de cada elemento: Cu, O, Na, C, N, e S (inferior). Hai que ter en conta que o ligando na súa composición inclúe átomos de O, Na, C, N, e S. A análise realizada mediante EDX mostra a presenza dos átomos de Cu, O, Na, C, N, e S cun patrón de distribución espacial moi similar, feito que apoia a existencia da interacción entre o ligando H_3L^1 con CuO NPs. De xeito semellante, a análise EDX de CdSe-Cys-H_3L^1 QDs (figura 5.5.8) evidencia a existencia dunha interacción entre os NMs e H_3L^1.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

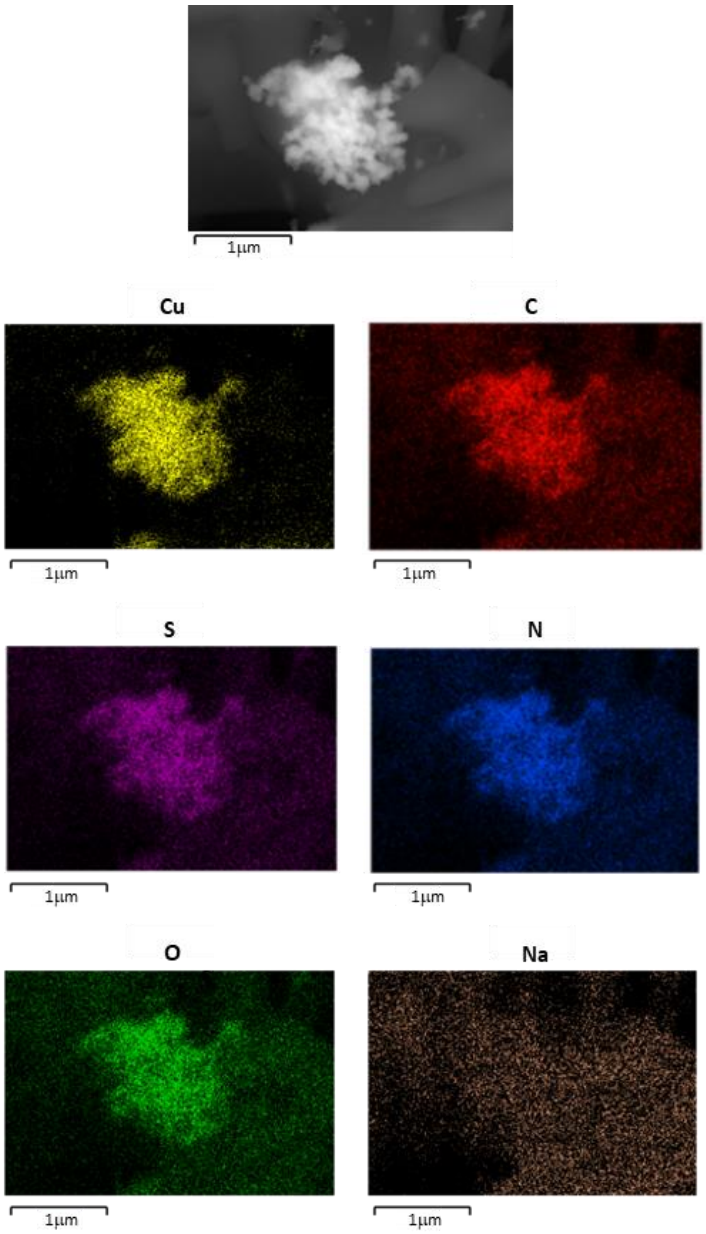


Figura 5.5.7: Micrografía SEM da especie CuO-H_3L^1 NPs (superior). Mapeado EDX do patrón de distribución dos elementos Cu, O, S, N, C e Na (inferior).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

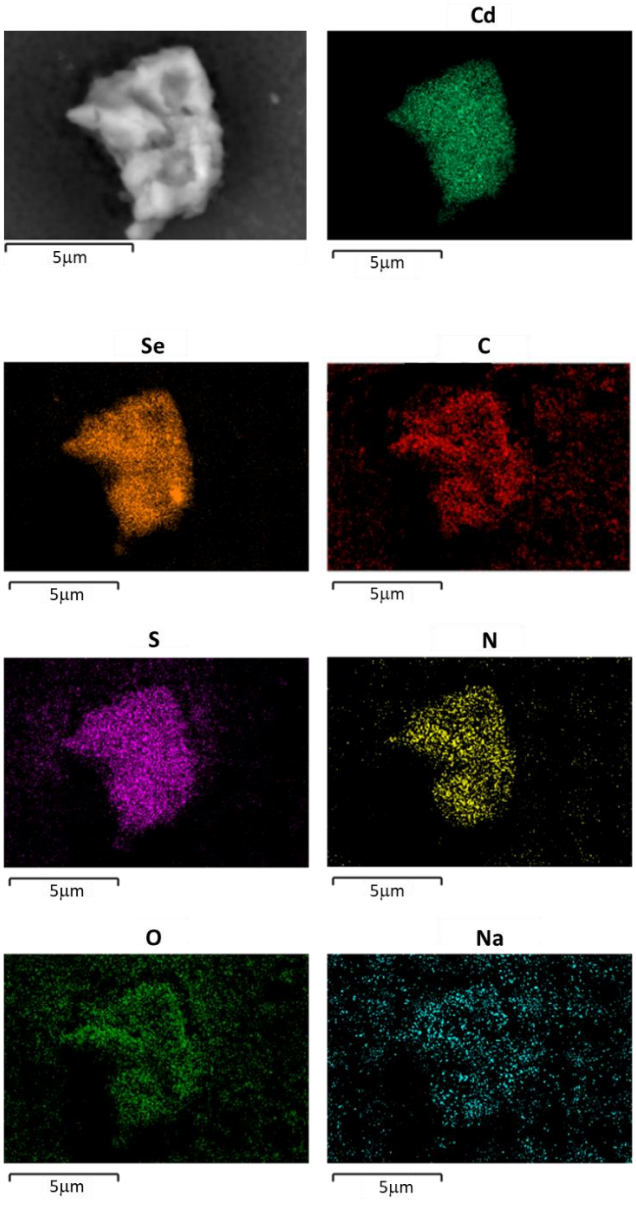


Figura 5.5.8: *Mapeado EDX do patrón de distribución dos elementos Cd*, O, S, N, *C*, *Se e Na dunha mostra de CdSe-Cys-*H_3L^1 QDs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.5.5. *Espectroscopía de fluorescencia*

Os espectros de fluorescencia das especies CuO-H_3L^1 NPs, CdSe-H_3L^1 NPs e CdSe-Cys-H_3L^1 QDs en disolución etanol:auga (80:20%) revelaron que se producía unha diminución na emisión fluorescente a 520 nm cando se compara co espectro de fluorescencia do ligando H_3L^1 en forma libre, baixo as mesmas condicións. Este mesmo efecto observouse tamén cando se comparaban as emisións fluorescentes dos complexos $Cu_2(HL^1)_2(H_2O)_4 \cdot 6H_2O$ e $Cd_2(HL^1)_2(H_2O)_4 \cdot 2H_2O$ coa do ligando H_3L^1 libre.

Empregouse a ecuación de Stern-Volmer para estudar o mecanismo da interacción que se produce entre o ligando H_3L^1 e os diferentes tipos de NMs (figura 5.5.9). Os resultados amosaron que o valor da constante de Stern-Volmer (K_{SV}) diminúe ao aumentar a temperatura, o que evidenciou que o "quenching" é de tipo estático, polo que $K_{SV} = K_b$. Hai que decatarse de que a K_b da reacción entre H_3L^1 e os NMs de CuO e CdSe (táboa 5.5.1) presenta uns valores moi similares aos calculados para a reacción entre H_3L^1 e os ións Cu^{2+} e Cd^{2+} (táboa 5.4.1). Polo tanto, a interacción que se produce na superficie dos NMs amosa similitudes coas reaccións de formación dos complexos metálicos en disolución. Os resultados mostran que a afinidade do H_3L^1 con respecto aos NMs estudados é a seguinte: CuO NPs > CdSe NPs > CdSe-Cys QDs. Os valores da enerxía libre de Gibbs, os cales foron determinados a partir da K_b, indican que a especie CuO-H_3L^1 NPs (-22,42 kJ mg^{-1}) é máis estábel que CdSe-H_3L^1 NPs (-20,30 kJ mg^{-1}) e CdSe-Cys-H_3L^1 QDs (-18,66 kJ mg^{-1}).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

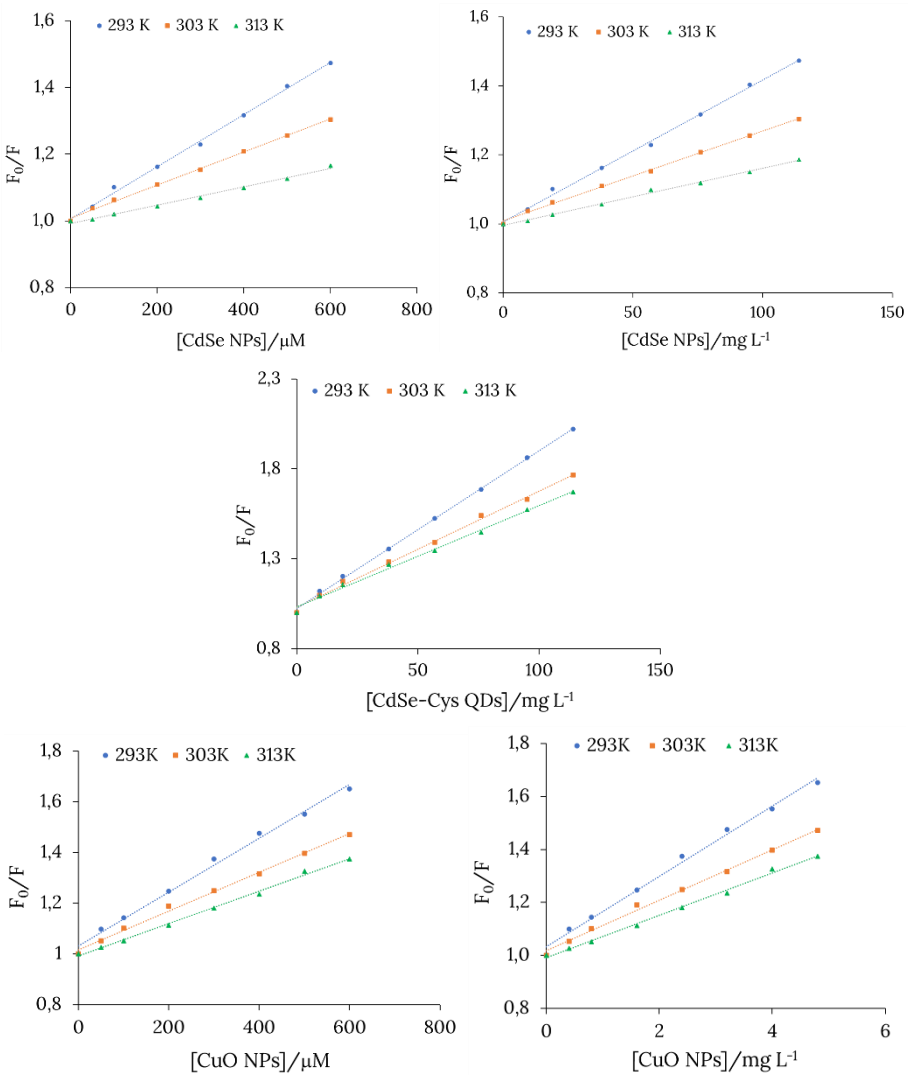


Figura 5.5.9: Representacións da Intensidades de fluorescencia de H_3L^1 (10^{-4} M) fronte á concentración dos NMs (en mol L^{-1} e mg L^{-1}): CdSe NPs(arriba), CdSe-Cys QDs (medio) e CuO NPs (abaixo) nunha disolución 80:20 etanol:agua. As pendentes das curvas a 293, 303 e 313K son as constantes de Stern-Volmer K_{SV} ás temperaturas citadas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 5.5.1: Valores de enerxía libre de Gibbs, constante de enlace e constante de Stern-Volmer para a reacción de H_3L^1 con NPs de CdSe, NPs de CuO e QDs de CdSe-Cys. As constantes de enlace obtivéronse a partir da intensidade da emisión de fluorescencia e da absorción UV-Vis.

Especies	ΔG_{Ksv} kJ mol^{-1} (kJ mg^{-1})	$K_{b\ FL}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{b\ UV\text{-}Vis}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 293\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 303\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 313\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})
CuO NPs	-22,34 (-22,42)	-	-	9554 (9877)	8166 (8654)	6465 (7231)
CdSe NPs	-19,87 (-20,30)	-	-	3476 (4135)	2886 (3477)	2214 (1996)
cys-CdSe QDs	(-18,66)	-	-	(2110)	(1670)	(1065)

O número dominios enlazantes (*n*) na superficie dos nanomateriais determinouse empregando a ecuación de Scatchard, a cal se amosa máis abaixo. Nesta ecuación F_0 e F son os parámetros relativos á fluorescencia de H_3L^1, na ausencia e presencia dos diferentes NMs, respectivamente; K_B é a constante de enlace (cuxo valor coincide co valor da constante de Stern-Volmer K_{SV}, en términos de *quenching* estático); por último, [Q] correspóndese coa concentración dos NMs[219].

A gráfica que se corresponde coa ecuación lineal de Scatchard para a unión de H_3L^1 aos diferentes NMs amósase na figura 5.5.10. O número de sitios de enlace (*n*) ten un valor de aproximadamente 5 a unha temperatura de 293 K, suxerindo a existencia de cinco sitios de enlace

[219]Moeno, S.; Nyokong, T.; Opposing responses elicited by positively charged phthalocyanines in the presence of CdTe quantum dots. *J. Photochem. Photobiol. A* **2009,** *201* (2-3), 228–236.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

para H_3L^1 na superficie das NPs de CuO e CdSe. Pola contra, o número de sitios de enlace é de aproximadamente 2 para H_3L^1 sobre a superficie dos QDs de CdSe-Cys. Isto non é unha sorpresa, considerando que moitos dos ións superficiais de cadmio estarán interaccionando cos átomos de xofre da propia cisteína.

A proporción con respecto á interacción aumenta lixeiramente en todos os casos ao aumentar a temperatura, probablemente porque este factor favorece a reactividade dos ións metálicos superficiais.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

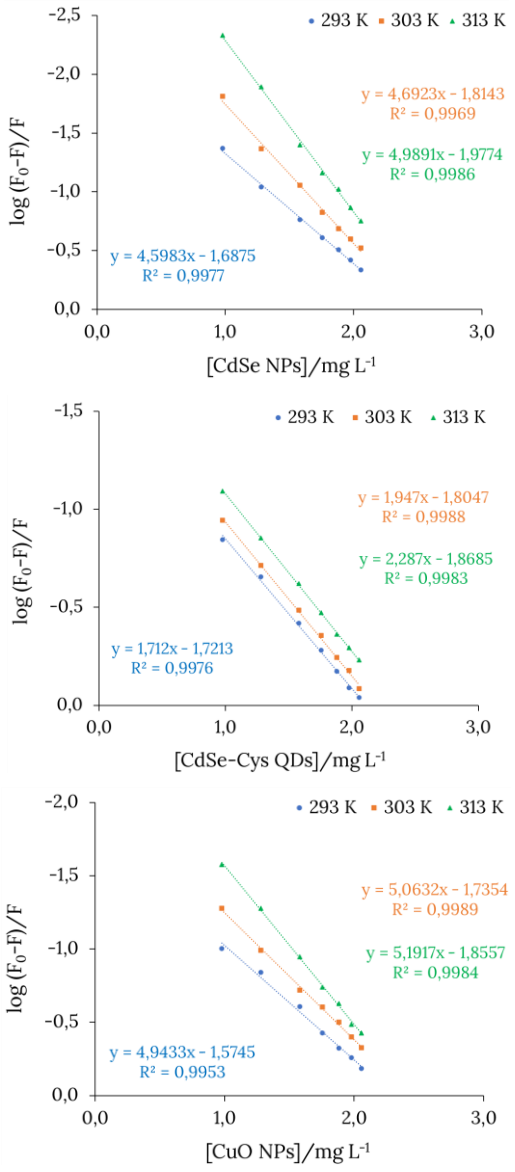


Figura 5.5.10: Gráfico de Scatchard para a unión de H_3L^1 a NPs de CuO (inferior), NPs de CdSe (medio) e QDs de CdSe-Cys (superior) a 293, 303 e 313 K e pH 11.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.6. H_3L^1 en disolución etanol-auga como quimiosensor na detección de NMs de CuO e CdSe

Para o estudo da utilidade do H_3L^1 como quimiosensor na detección de nanomateriais de CuO e CdSe, a niveis de concentración de ppm e ppb, seleccionáronse concentracións de ligando de 0,126 ppm e 1,26 ppb. A intensidade da fluorescencia dunha disolución EtOH:H_2O de H_3L^1 varía linealmente coas concentracións dos NMs non fluorescentes como son as NPs de CuO e CdSe, así como cos debilmente fluorescentes QDs de CdSe-Cys (λ_{em} 632 nm). Para [H_3L^1] = 0,126 ppm a emisión fluorescente varia linealmente dentro do rango 0-9,5; 0-11,5 e 0-10,5 ppm, coa adición gradual de NPs de CuO, NPs de CdSe e QDs de CdSe-Cys. Os valores de concentración dos NMs superiores aos indicados sobresaturan o sistema. Na figura 5.6.1 amósase a diminución de máis do 90%, 80% y 55% nas emisións de fluorescencia das disolucións de etanol-agua (80:20 v/v) de H_3L^1 (λ_{em} = 514 nm) ao engadir NPs de CuO (λ_{em} = 538 nm), NPs de CdSe (λ_{em} = 536 nm) e QDs de CdSe-Cys (λ_{em} = 536 nm), respectivamente.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

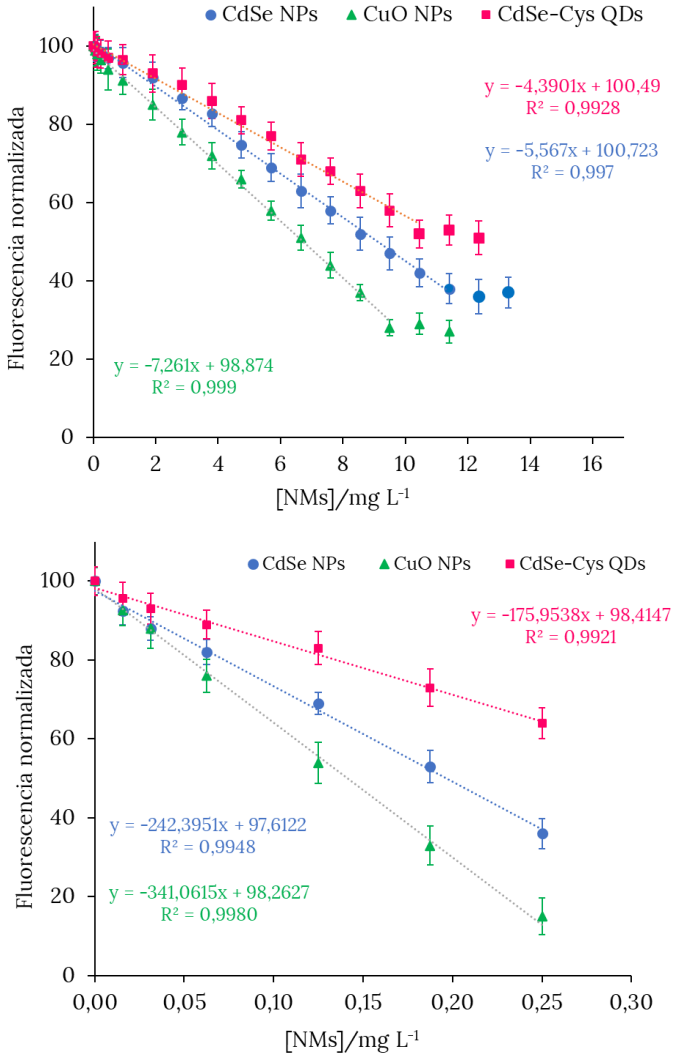


Figura 5.6.1: Curvas de calibrado da intensidade de emisión de fluorescencia de H_3L^1 *en disolución 80:20 etanol:agua a pH 11, con adición gradual de NMs (ata que a intensidade de fluorescencia deixa de diminuír). Enriba:* $[H_3L^1]$ *= 126 ppb. Abaixo:* $[H_3L^1]$ *= 1,26 ppb. Utilizouse NaOH 0,1 M para desprotonar* H_3L^1*. Volume final da solución = 4 mL. Cada disolución somerxeuse nun baño de ultrasonidos durante 1 min antes da medila.* λ_{exc} *= 248 nm.*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

O límite de detección (LOD) e o límite de cuantificación (LOQ) de H_3L^1 expresáronse como: LOD = 3·SD/m e LOQ = 10·SD/m, onde SD é a desviación estándar da resposta, e m é a pendente da curva de calibrado. O LOD dos NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys cunha [H_3L^1] = 0,126 ppm foi de 0,44, 0,57 e 0,72 ppm, respectivamente. O LOQ dos NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys cunha [H_3L^1] = 0,126 ppm foi de 1,46, 1,90 e 2,42 ppm, respectivamente. O LOD dos NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys cunha [H_3L^1] = 1,26 ppb foi de 34, 47 y 85 ppb, respectivamente. O LOQ dos NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys cunha [H_3L^1] = 1,26 ppb foi de 112, 158 e 218 ppb, respectivamente. O rango de traballo de H_3L^1 obtívose empregando o LOQ, como o valor mínimo que pode medirse, e o valor máis alto de [NMs] no que se mantén a linearidade, como o valor máximo. Polo tanto, os rangos de traballo para a detección das NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys cunha [H_3L^1] = 0,126 foron 1,4-9,5, 1,9-11,4 e 2,4-10,5 ppm, respectivamente.

Á vista da maior afinidade de H_3L^1 polas NPs de CuO e CdSe, en comparación cos QDs de CdSe-Cys estudouse a selectividade do H_3L^1 como sonda para as citadas NPs. Os estudos sobre os interferentes, realizáronse en 4 mL dunha disolución de etanol-agua en 80 : 20 v/v, a pH 11 e empregando unha λ_{ex} = 400 nm. Como criterio de interferencia, empregouse unha variación do ±10% da intensidade media da fluorescencia á concentración respectiva dos NMs. A selectividade do H_3L^1 como sonda para as NPs de CdSe probouse en presenza dalgúns NMs metálicos e de óxidos metálicos comúns, como NPs de Cu, NPs de CuO, NPs de ZnO e NPs de TiO_2, así como dalgúns ións metálicos comúns na auga, como os seguintes ácidos duros: Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} e Al^{3+} (figura 5.6.2).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

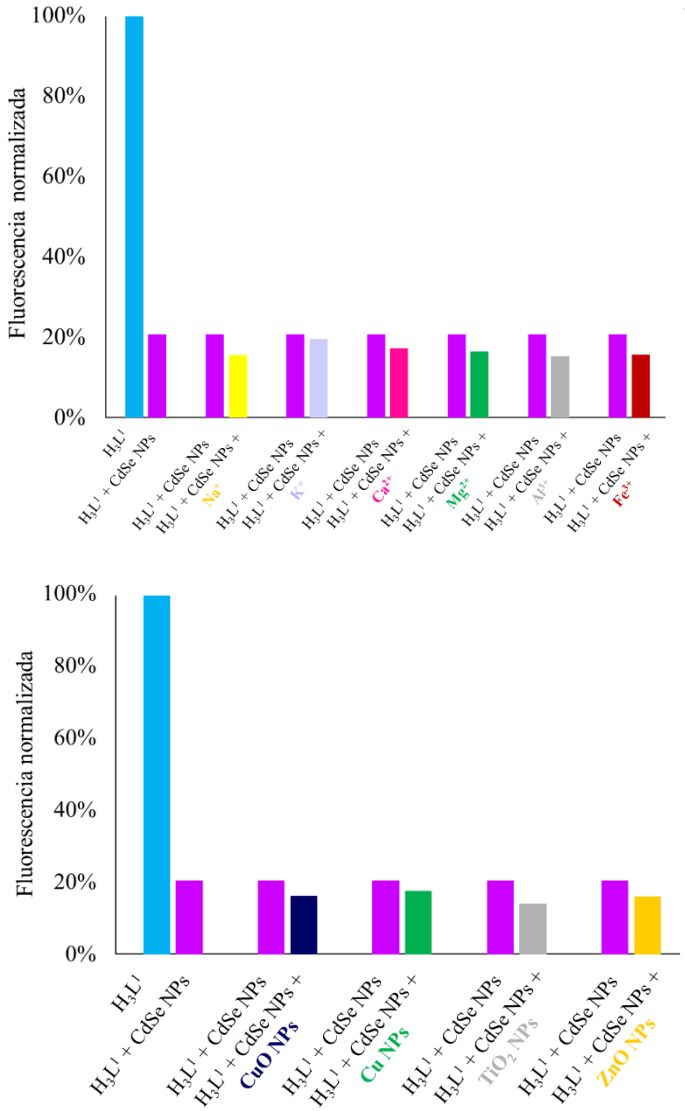


Figura 5.6.2: Diminución da emisión de fluorescencia de H_3L^1 (2,5 nM, 1, 26 ppb) fronte á adición de NPs de CdSe (8 ppm) en presenza de varias NPs (abaixo) e algúns dos ións metálicos máis comúns en auga (enriba).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Estos resultados mostraron que H_3L^1 posúe selectividade de cara ás NPs de CdSe en presenza de NPs de Cu, que poden ser toleradas nunha concentración de polo menos 8 ppm, cando a concentración de NPs de CdSe é de 8 ppm. Outros NMs comúns, como NPs de CuO, NPs de ZnO e NPs de TiO_2, poden tolerarse en concentracións de, polo menos, 4 ppm sen ser consideradas unha interferencia. Os ións metálicos como o Na^+, K^+ Mg^{2+} e Ca^{2+}, nunha concentración de 8 ppm, tampouco interfiren na detección das NPs de CdSe. Os ións Al^{3+} e Fe^{3+}, poden ser tolerados nunha concentración de, polo menos, 2 ppm sen causar interferencias.

A selectividade do H_3L^1 como sonda para NPs de CuO probouse en presenza de NPs de Cu, NPs de CdSe, NPs de ZnO e NPs de TiO_2, así como de ións metálicos como o Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} e Al^{3+} (figura 5.6.3). Estes resultados amosaron que H_3L^1 posúe unha alta selectividade cara as NPs de CuO, incluso en presenza de outros NMs comúns, como NPs de Cu e NPs de CdSe. Estas poden ser toleradas en concentracións de, polo menos, 8 ppm sen ser consideradas como interferencias, cando a concentración das NPs de CuO é de 8 ppm. As NPs de ZnO e TiO_2 poden tolerarse nunha concentración de 4 ppm. Con respecto aos ións metálicos Na^+, K^+, Mg^{2+} e Ca^{2+}, nunha concentración de 8 ppm, tampouco interfiren na detección das NPs de CuO. Os ións Al^{3+} e Fe^{3+} poden tolerarse en concentracións de, polo menos, 4 ppm sen interferir.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

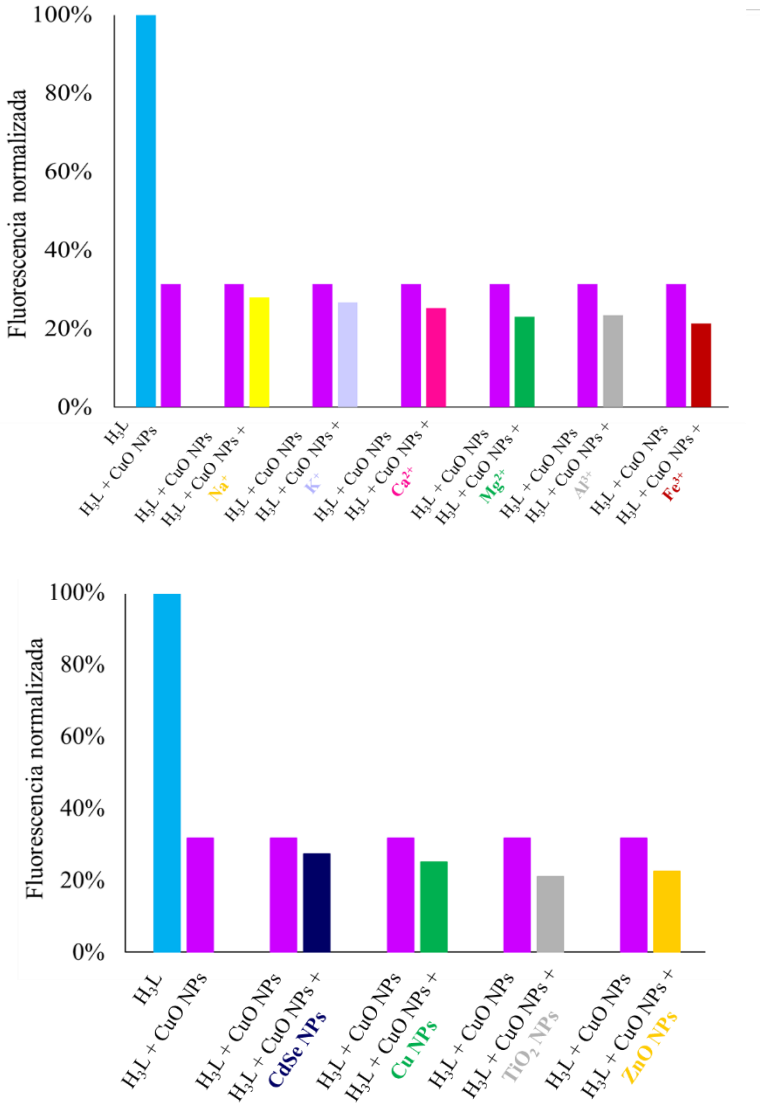


Figura 5.6.3: Diminución da emisión de fluorescencia de H_3L^1 (2,5 nM, 1, 26 ppb) fronte á adición de NPs de CuO (8 ppm) en presenza de varias NPs (abaixo) e algúns dos ións metálicos máis comúns en auga (enriba).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo 7

Estudo de H_2L^2

7.1. Síntese de H_2L^2

O ligando H_2L^2 pode obterse mediante un simple procedemento que consiste nunha adición nucleofílica de DsA a 8-hidroxiquinolina-2-carboxaldehido en etanol absoluto, que rapidamente da lugar a formación da correspondente imina. Sen embargo, co paso do tempo ocorre unha adición adición nucleofílica intramolecular do átomo de $N^{\delta-}$ do grupo amino ao centro electrofílico $C^{\delta+}$ da imina no tautómero de cadea de H_2L^2 que da lugar á obtención do tautómero de anelo de H_2L^2 . A reacción, que ten lugar en relación molar 1:1, levouse a cabo durante 20h a temperatura ambiente.

H_2L^2 obtívose como un sólido pulverulento amarelo, e tamén en forma cristalina, o que permitiu a resolución da súa estrutura cristalina mediante difracción de raios X de monocristal. A obtención dos cristais logrouse a partir dunha disolución MeOH:CH_2Cl_2 de H_2L^2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.2. Caracterización de H_2L^2: estrutura cristalina

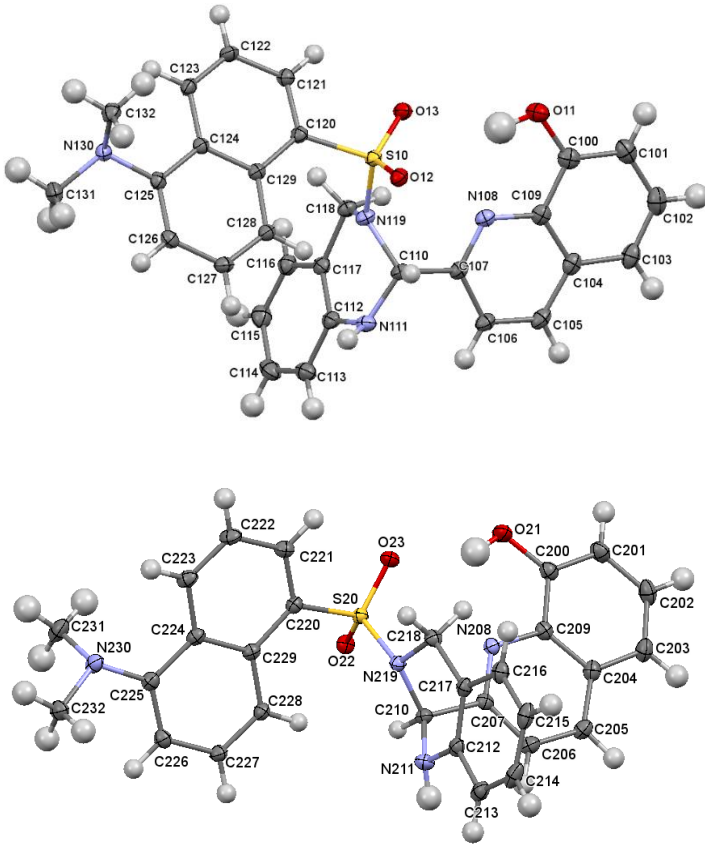


Figura 6.2.1: Diagramas de elipsoides (50% de probabilidade) para as estruturas moleculares dos dous enantiómeros de H_2L^2 [R-H_2L^2(superior) e S-H_2L^2(inferior)] presentes na estrutura cristalina resolta para o ligando, amosando o esquema de etiquetas empregado.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A difracción de rayos X dun monocristal de H_2L^2, obtido como se describiu anteriormente, permite confirmar a formación do tautómero contendo un heterociclo quiral derivado de 1,2,3,4-tetrahidroquinazolina por ciclación da base de Schiff deseñada, como se amosa na figura 6.2.1, e realizada có software Mercury.[220] O composto apareceu cristalizado no grupo espacial centrosimétrico $P2_1/c$, e polo tanto, como unha mestura racémica de ámbolos seus dous enantiómeros, R-H_2L^2 e S-H_2L^2. Na figura pode apreciarse que se utilizou un esquema de etiquetado similar para ambos isómeros, comezando por 1, para o isómero R, e por 2, para o enantiómero S.

Como tamén se pode deducir da mesma figura, os átomos de carbono asimétricos son C110 e C210, respectivamente para R-H_2L^2 e S-H_2L^2. Ámbolos dous átomos de C pertencen aos heterociclos dos residuos de tetrahidroquinazolina. Estes dous aneis presentan conformación de media silla, nas que estes átomos de carbono asimétricos son os que sobresaen dunha disposición bastante plana para os outros 5 átomos do heterociclo maioritariamente alifático. A modo de exemplo, C210 sobresae aproximadamente 0,68 Å, respecto do plano calculado por mínimos cadrados para os outros cinco átomos do heterociclo (N211, C112, C217 e C218) (figura 6.2.1.), que son prácticamente coplanares co ciclo aromático C212-C217.

[220]Mercury *Cambridge Crystallographic Data Centre* 2022.3.0.; Cambridge, Reino Unido, **2022**.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Respecto da disposición espacial global destas moléculas, poderían considerarse como formadas por tres residuos bicíclicos con disposición relativamente planar, e derivados de tetrahidroquinazolina, e 8-hidroxiquinolina, xunto cun grupo dansilo. Os planos calculados para cada un deles, poñen de manifesto a súa disposición relativamente perpendicular, formando entre os residuos de 8-hidroxiquinolina e tetrahidroquinazolina, un ángulo de aproximadamente 78º. Pola súa banda, este último heterociclo forma cós aneis do grupo dansilo un ángulo de *ca.* 77,4 º. En canto aos planos dos residuos de dansilo e quinolina, atópanse formando uns 29.7 º. Esta distribución espacial e os planos calculados se amosan con diferentes cores na figura 6.2.2.

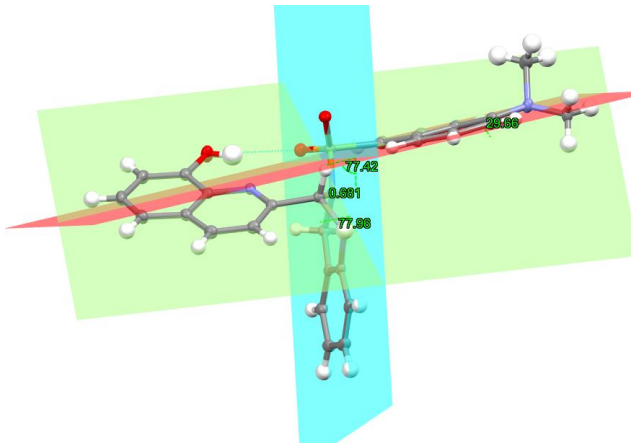


Figura 6.2.2: *Visión de e* S-H_2L^2 *amosando os ángulos formados polos planos calculados por mínimos cadrados, para os diferentes ciclos dos correspondentes residuos do ligando.*

Esta disposición é case especular no seu enantiómero, como reflexa a similitude dos ángulos de torsión das dúas moléculas, se ben de distinto signo, e recollidos na táboa 6.2.1. A mesma similitude pode

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

apreciarse en distancias e ángulos de enlace. Así mesmo, todos estes residuos están dentro dos rangos habituais para outros compostos tamén derivados de tetrahidroquinazolina,[221-225] 8-hidroxiquinolina,[222,226,227], ou dansilo.[228-232] As distancias e ángulos de enlace máis relevantes para ámbalas dúas moléculas preséntase na táboa 6.2.1.

[221]Çolak, A. T.; Taş, M.; İrez, G., *et al.*; Syntheses, Spectral, Thermal and Structural Characterization of 2-Phenyl-2-(1-hydroxyiminoethyl)-1,2,3,4-tetrahydroquinazoline and Its Novel Nickel(II) Complex. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie* **2007,** 633 (3), 504-508.
[222]García-Deibe, A. M.; Sanmartín-Matalobos, J.; González-Bello, C., *et al.*; Metal-assisted ring-closing/opening process of a chiral tetrahydroquinazoline. *Inorganic Chemistry* **2012,** 51 (3), 1278-1293.
[223]Fondo, M.; Portela-García, C.; Baleeiro-Tadiotto, A. H., *et al.*; A Useful Route to Metal Complexes of Poorly Coordinating Sulfonamides. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2015,** 2015 (16), 2744-2751.
[224]García-Deibe, A. M.; Portela-García, C.; Fondo, M., *et al.*; Controlling ring-chain tautomerism through steric hindrance. *RSC Advances* **2015,** 5 (72), 58327-58333.
[225]García-Santos, I.; Sanmartín, J.; García-Deibe, A. M., *et al.*; Structural and spectroscopic studies on some metal complexes of an 8-hydroxyquinoline derivative. *Inorganica Chimica Acta* **2010,** 363 (1), 193-198.
[226]Sanmartín-Matalobos, J.; Portela-García, C.; Martínez-Rodríguez, L., *et al.*; Structural variety of zinc and copper complexes based on a 2,3-disubstituted 1,2,3,4-tetrahydroquinazoline ligand. *Dalton Transactions* **2012,** 41 (23), 6998-7004.
[227]Raj, M.; Padhi, S. K.; Synthesis, Characterization, and Structure of Quinoline-based Benzimidazole Derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2019,** 56 (3), 988-997.
[228]Bhatt, P.; Govender, T.; Kruger, H. G., *et al.*; N-Benzyl-5-(dimethyl-amino)-naphthalene-1-sulfonamide. *Acta crystallographica. Section E, Structure reports online* **2011,** 67 (Pt 9), 2458-9.
[229]Qiu, L.; Jiang, P.; He, W., *et al.*; Structural and fluorescent study of zinc complexes of dansyl aminoquinoline. *Inorganica Chimica Acta* **2007,** 360 (2), 431-438.
[230]Zhou, S.; Zhou, Z.-Q.; Zhao, X.-X., *et al.*; A dansyl based fluorescence chemosensor for Hg2+ and its application in the complicated environment samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2015,** 148, 348-354.
[231]Patrascu, B.; Mocanu, S.; Coman, A., *et al.*; Synthesis of Fluorescent Dansyl Derivatives of Methoxyamine and Diphenylhydrazine as Free Radical Precursors. *International Journal of Molecular Sciences* **2020,** 21 (10), 3559.
[232]Sanmartín-Matalobos, J.; Bermejo-Barrera, P.; Alves-Iglesias, Y., *et al.*; Experimental and Computational Studies on the Interaction of a Dansyl-Based Fluorescent Schiff Base Ligand with Cu2+ Ions and CuO NPs. *Int. J. Mol. Sci.* **2022,** 23 (19), 11565.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 6.2.1: Principais distancias (Å) e ángulos (º) de enlace en H_2L^2.

Átomos do isómero R	Distancia	Átomos do isómero S	Distancia
O(11)-C(100)	1,360(2)	O(21)-C(200)	1,3590(19)
C(107)-N(108)	1,310(2)	C(207)-N(208)	1,3114(19)
N(108)-C(109)	1,362(2)	N(208)-C(209)	1,3624(19)
C(110)-N(111)	1,438(2)	C(210)-N(211)	1,4487(19)
C(110)-N(119)	1,4775(18)	C(210)-N(219)	1,4487(19)
N(111)-C(112)	1,416(2)	N(211)-C(212)	1,403(2)
C(118)-N(119)	1,4650(19)	C(218)-N(219)	1,4792(18)
N(119)-S(10)	1,6246(13)	N(219)-S(20)	1,6346(13)
S(10)-O(12)	1,4421(11)	S(20)-O(22)	1,4376(11)
S(10)-O(13)	1,4392(11)	S(20)-O(23)	1,4404(11)
S(10)-C(120)	1,7797(15)	S(20)-C(220)	1,7727(15)
C(125)-N(130)	1,4332(19)	C(225)-N(230)	1,4211(19)
Átomos	Ángulo	Átomos	Ángulo
O(11)-C(100)-C(101)	121,54(16)	O(21)-C(200)-C(201)	121,09(14)
C(107)-N(108)-C(109)	118,43(13)	C(207)-N(208)-C(209)	118,41(13)
C(112)-N(111)-C(110)	116,14(13)	C(212)-N(211)-C(210)	114,56(12)
C(118)-N(119)-C(110)	113,94(11)	C(218)-N(219)-C(210)	114,48(11)
C(118)-N(119)-S(10)	116,95(10)	C(218)-N(219)-S(20)	116,13(10)
C(110)-N(119)-S(10)	122,52(10)	C(210)-N(219)-S(20)	120,42(10)
O(13)-S(10)-O(12)	117,78(7)	O(23)-S(20)-O(22)	106,60(15)
N(119)-S(10)-C(120)	103,67(7)	N(219)-S(20)-C(220)	103,77(7)
C(125)-N(130)-C(131)	114,59(12)	C(225)-N(230)-C(231)	112,68(12)
C(131)-N(130)-C(132)	109,57(13)	C(231)-N(230)-C(232)	110,48(13)
Átomos	Torsión	Átomos	Torsión
C(110)-C(107)-N(108)-C(109)	171,29(13)	C(210)-C(207)-N(208)-C(209)	-177,47(12)
N(108)-C(107)-C(110)-N(111)	163,22(13)C	N(208)-C(207)-C(210)-N(211)	-149,43(13)
N(108)-C(107)-C(110)-N(119)	38,95(18)C	N(208)-C(207)-C(210)-N(219)	-29,77(17)
N(111)-C(110)-N(119)-S(10)	146,78(11)	N(211)-C(210)-N(219)-S(20)	-149,63(10)
C(118)-N(119)-S(10)-C(120)	72,90(12)	C(218)-N(219)-S(20)-C(220)	-83,44(11)
C(124)-C(125)-N(130)-C(131)	157,73(14)	C(224)-C(225)-N(230)-C(232)	-154,91(14)C

Átomos	D–H···A	d(D–H)	d(D···A)	<(DHA)
O11-H11··· N108	2,079	0,925	2,659	119,47
O11-H11··· O13	2,293	0,925	3,120	148,6
N111-H111··· O12*	2,321	0,915	3,029	134,0
O21- H21···N208	2,213	0,826	2,690	116,99
O21-H21··· O23	2,247	0,826	3,010	153,9

* [-x+2, -y, -z+1]	0.925	148.60	3.120

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Dado que as distancias O11-H11···O13 e O21-H21···O23 son lixeiramente superiores a 3,0 Å, pero máis intensas que as bifurcación cara aos átomos de nitróxeno próximos, e moi típico dos taútomeros abertos e de tipo base de Schiff, pode dicirse que son enlaces de H intramoleculares significativos pero non fortes que interconectan os residuos de quinolina e tetrahidroquinazolina (figura 6.2.2).

Respecto das interaccións intermoleculares, as máis significativas están relacionadas coa típica interrelación entre os grupos sulfonilo de pares de enantiómeros mediante un doble enlace de H mutuo, e relacionados por un centro de simetría (neste caso: -x+2, -y, -z+1). Neste caso non acontecen entre as dúas moléculas presentes na unidade asimétrica, senón só coa conformación espacial da amosada na parte superior da figura 6.2.1, xa que neste caso se apilan con interaccións de apilamento π-π entre os grupos dansilo e hidroxiquinola mutuamente. Estas interaccións poden apreciarse na parte central da seguinte figura.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

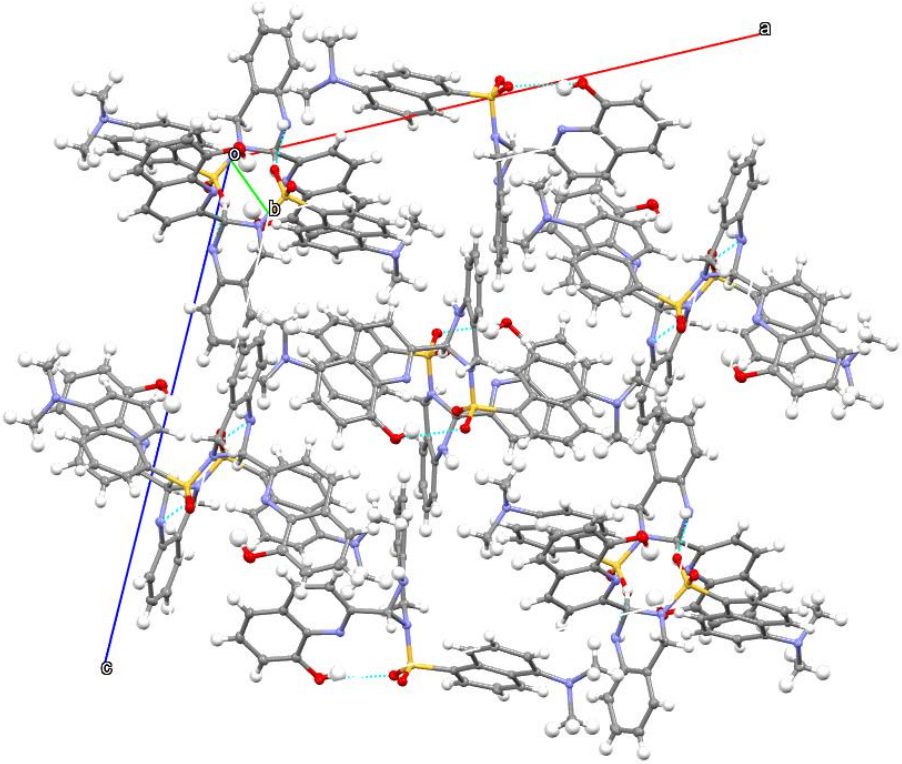


Figura 6.2.3: Visión do empaquetamento de H_2L^2 amosando os enlaces de H intra- e intermolecular como liñás discontinuas de cor azul clara, así como os apilamentos π-π.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.3. Caracterización espectroscópica de H_2L^2

A caracterización de H_2L^2 levouse a cabo mediante as seguintes técnicas espectroscópicas: ATR-FTIR, UV-Vis, RMN de ^1H, e espectroscopía de fluorescencia molecular. A asignación das bandas realizouse acorde coa bibliografía dispoñible.

7.3.1. ATR-FTIR.

O espectro de ATR-FTIR (figura 6.3.1) amosa unha banda a 1587 cm^{-1}, a cal se corresponde co dobre enlace C=N, característico do anelo de quinolina. A ausencia da banda característica do grupo imino e a presenza de dúas bandas a 3345 e 1607 cm^{-1}, as cales se corresponden cos modos de vibración νNH e δNH respectivamente, son unha proba da obtención do tautómero de anelo e non do tautómero de cadea de H_2L^2. Outras bandas características, como νOH, δOH, ν_{as}OSO e ν_sOSO obsérvanse a 3381, 1473, 1305 e 1139 cm^{-1}, respectivamente.[222]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

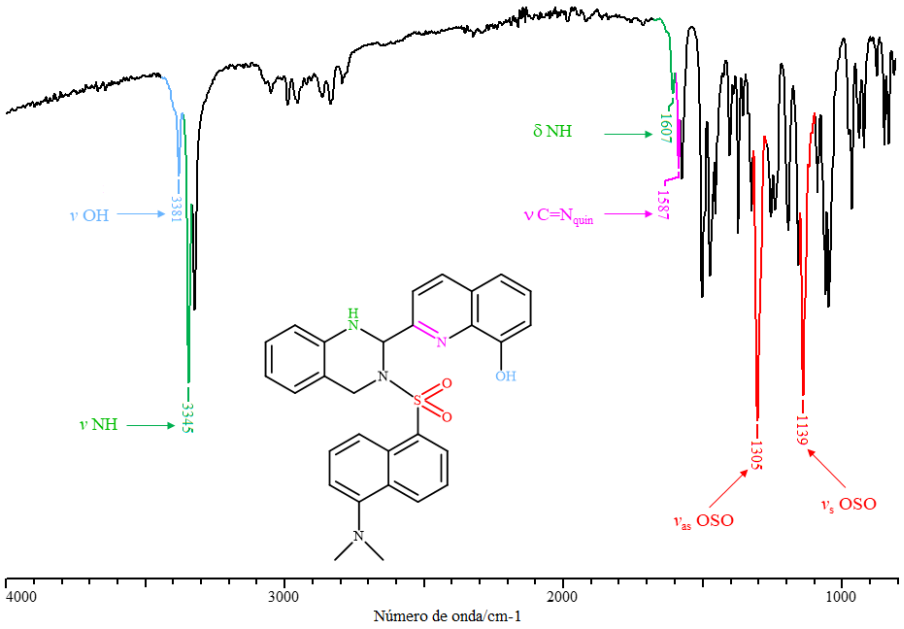


Figura 6.3.1: Espectro de ATR-FTIR do ligando H_2L^2 coa asignación das bandas dos grupos funcionais máis importante.

7.3.2. UV-Vis

O espectro electrónico de H_2L^2 (figura 6.2.2) mostra tres sinales dominantes, situadas ao redor de 330, 250 e 220 nm, semellantes ás observadas en H_3L^3. A analoxía co espectro de H_3L^3 é un indicio de que as tres bandas observadas corresponden a transicións mesturadas con orixe nos residuos constitutivos do ligando. Cabe propor que as bandas a 330 e 250 nm correspondan a transicións $\pi - \pi^*$ centradas principalmente na rexión de DsA. O maior desprazamento cara o vermello, en relación co espectro de H_3L^3, do máximo de absorción observado a 220 nm no espectro de H_2L^2, puidera deberse a unha transición fortemente

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

mesturada na que participan orbitais moleculares dos residuos DsA e 8-hidroxiquinolina.

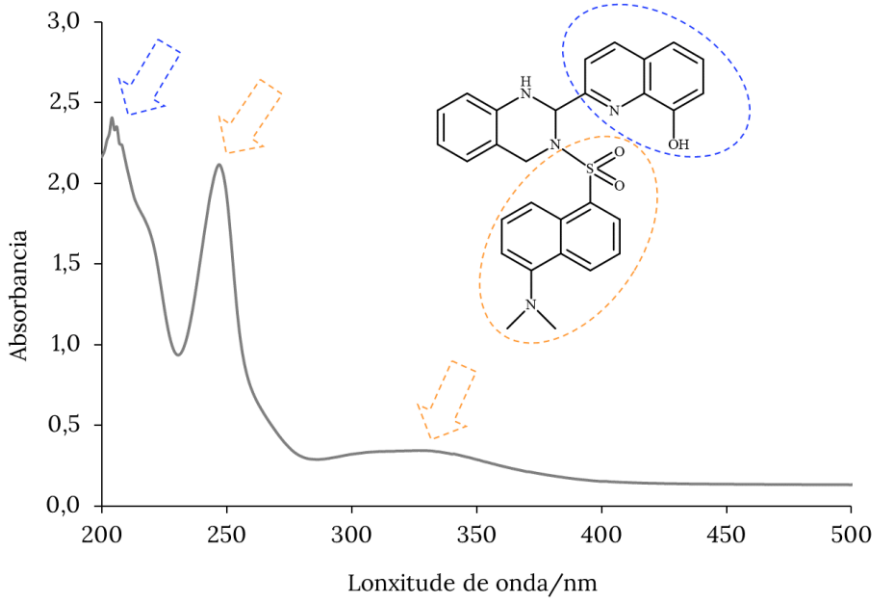


Figura 6.2.2: Espectro UV-Vis do H_2L^2 realizado en etanol absoluto. Sinálase con frechas de diferentes cores as bandas e as fraccións da estrutura do ligando coas que poden corresponderse.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.3.3. *RMN-^1H*

O espectro de RMN-^{1}H amósase na figura 6.2.3, na que se inclúe unha asignación completa, baseada na bibliografía.[222,233-235] Como sinais características deste ligando cabe destacar as seguintes: 9,31 ppm (OH), 7,31 ppm (NH), 6.59 ppm (CH), así como 4,36 e 4,17 ppm (CH_2), e 2.81 ppm (CH_3). Os protóns aromáticos atópanse no rango 6.48-8.48 ppm. A desaparición do sinal do grupo amino de DsA a 4,83 ppm, é unha clara evidencia da formación do ligando H_2L^2. A presenza dun carbono quiral (CH) na molécula fai que os protóns do grupo metileno sexan diastereotópicos (4,36 e 4,17 ppm).

[233]Sanmartín-Matalobos, J.; Portela-García, C.; Fondo, M., *et al.*; A simple route to dinuclear complexes containing unusual μ-Nsulfonamido bridges. *J. Coord. Chem.* **2016,** 69 (8), 1358-1370.
[234]Wantulok, J.; Szala, M.; Quinto, A., *et al.*; Synthesis, Electrochemical and Spectroscopic Characterization of Selected Quinolinecarbaldehydes and Their Schiff Base Derivatives. *Molecules* **2020,** 25 (9).
[235]Sanmartín, J.; Novio, F.; García-Deibe, A. M., *et al.*; Trimorphism of an asymmetric disulfonamide Schiff base. *New J. Chem.* **2007,** 31 (9), 1605-1612.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

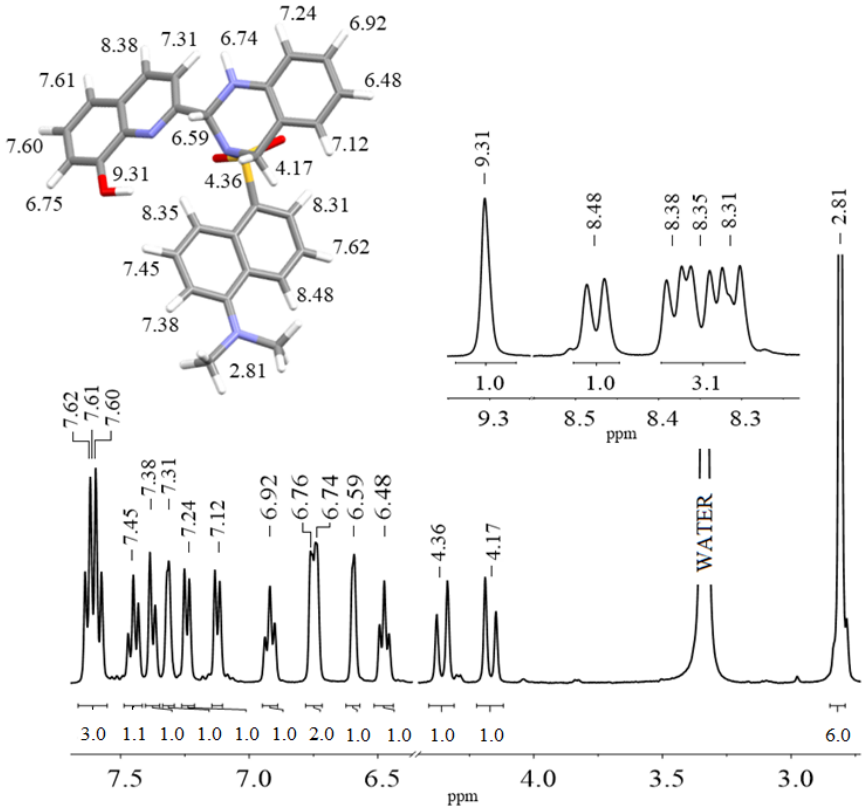


Figura 6.2.3: Espectro de RMN-^{1}H asignado do ligando H_2L^2.

7.3.4. *Espectroscopía de fluorescencia*

A figura 6.2.4 amosa que H_2L^2, tanto en forma de sólido pulverulento como en disolución, emite fluorescencia de cor verde, baixo unha fonte de luz UV (λ = 365 nm).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

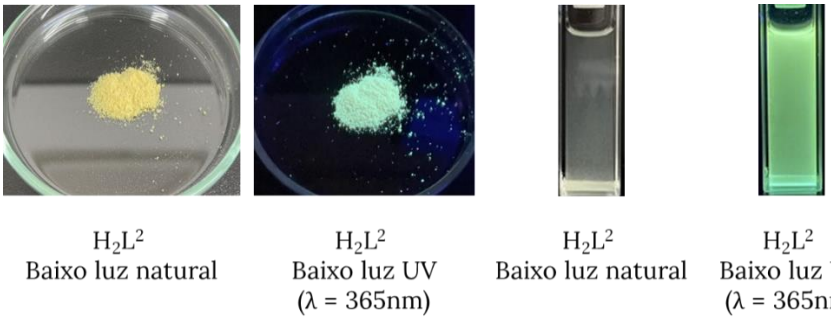


Figura 6.2.4: Efecto da luz UV (365 nm) sobre unha disolución en etanol absoluto (dereita) e a unha mostra sólida (esquerda) do ligando H_2L^2.

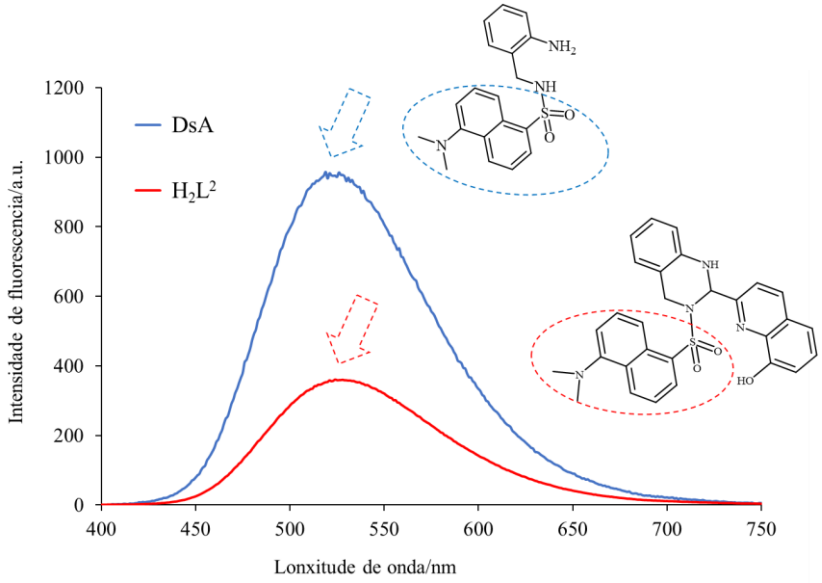


Figura 6.2.5: Espectros de fluorescencia de DsA ($\lambda_{máx}$ = 520) e H_2L^2 ($\lambda_{máx}$ = 530) en etanol absoluto, obtidos nas mesmas condicións.

Na figura 6.2.5 pódese ver a banda de fluorescencia de H_2L^2, menos intensa que a do seu precursor, DsA, nas mesmas condicións de medida. Dita banda, con $\lambda_{máx}$ = 530, relacionase co residuo dansilo, e asóciase coa

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

característica banda de transferencia de carga entre o grupo dimetilamino doador e o grupo sulfonilo.

Realizouse un estudo de como inflúe a variación do pH no espectro de fluorescencia de H_2L^2 en disolución, empregando como disolvente etanol absoluto (figura 6.2.6). O uso deste disolvente polar xustifícase pola elevada intensidade da emisión, e o pronunciado desprazamento de Stokes (ao redor de 150 nm) que se obten nas medidas.

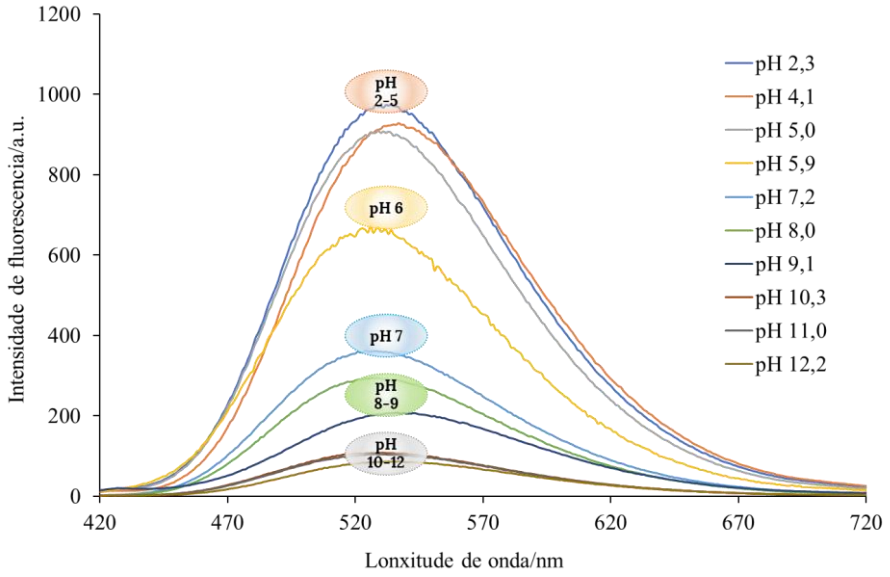


Figura 6.2.6: Influencia do pH no espectro de fluorescencia do H_2L^2 ($4{,}44\cdot10^{-4}$ M), empregando etanol absoluto como disolvente (pH 2,3-12,2) a temperatura ambiente (λ_{ex}= 376 nm, λ_{em} = 530 nm).

O estudo da influencia do pH no espectro de fluorescencia de H_2L^2 mostrou un aumento da intensidade de fluorescencia coa diminución do pH, o que concorda coa protonación do grupo dimetilamino a valores de

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

pH de ao redor de 6 (e inferiores). Pola contra, valores de pH superiores a 7 conducen a unha diminución paulatina da intensidade da emisión fluorescente, que é coherente coa desprotonación do grupo fenol, xa que o pK_a deste grupo sitúase ao redor de 9.

7.4. Estudo da interacción de H_2L^2 con Cu^{2+} e Cd^{2+}

H_2L^2 é un ligando que por presentar tautomería cadea-anelo pode coordinarse ao metal en forma de base de Schiff ou de tetrahidroquinazolina. De feito, a tautomería dos sistemas tetrahidroquinazolina/base Schiff pode controlarse mediante a coordinación metálica variando a estequiometría do ligando na reacción de formación do complexo. Así, e previsible que o tautómero de anel do ligando experimente unha reacción de apertura do anel ao formarse complexos dinucleares $M_2(L^2)_2$, mentres que nos complexos mononucleares $M(HL^2)_2$ é posible a estabilización do ligando en forma de tetrahidroquinazolina.[222,236,237]

H_2L^2, en forma de base Schiff dianiónica, dispón dun dominio enlazante O,N,N dador que lle permiten a formación de enlaces de

[236]Sanmartín-Matalobos, J.; Portela-García, C.; García-Deibe, A. M., *et al.*; Tuning the ring-chain tautomerism of a tetrahydroquinazoline/Schiff base system with unexpected methanol oxidation. *Polyhedron* **2013,** 65, 181-186.
[237]Sanmartín-Matalobos, J.; Portela-García, C.; Martínez-Rodríguez, L., *et al.*; Structural variety of zinc and copper complexes based on a 2,3-disubstituted 1,2,3,4-tetrahydroquinazoline ligand. *Dalton Transactions* **2012,** *41* (23), 6998-7004.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

coordinación con ácidos de Lewis medios, como é o caso do ión Cu^{2+}, pero tamén é apropiado para coordinar ácidos de Lewis brandos, como é o caso do ión Cd^{2+}. H_2L^2, a través do átomo dador de O, do grupo sulfonamido, tamén pode ser partícipe na formación de enlaces de coordinación, aínda que este tipo de enlaces son máis débiles que os descritos anteriormente.

Co obxectivo de poder adquirir un mellor coñecemento do comportamento coordinativo de H_2L^2 fronte ós ións Cu^{2+} e Cd^{+2}, sintetizáronse os seu correspondentes complexos metálicos. Mediuse a afinidade do ligando polos citados metais e ademais, analizáronse os cambios espectrais derivados da coordinación. Os complexos moleculares que se obtiveron foron investigados en disolución, mediante técnicas espectroscópicas como RMN de ^1H, UV-Vis e fluorescencia. En estado sólido, a interacción foi estudada mediante técnicas como análise elemental e ATR-FTIR. Deste xeito, teremos unha referencia fiábel que servirá de apoio para poder interpretar os datos espectroscópicos obtidos no estudo da interacción entre o ligando H_2L^2 e os nanomateriais de CdSe e CuO. Todos os detalles relacionadas coa síntese e caracterización atópanse no capítulo 2, apartado de metodoloxía.

7.4.1. *Síntese dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_2L^2*

A síntese dos complexos levouse a cabo seguindo dúas vías alternativas a temperatura ambiente, o método electroquímico e a reacción coa sal metálica, obténdose mellores rendementos co método electroquímico. A elección da estequiometría 1:1 metal–ligando está baseada na previsible apertura do anel tetrahidroquinazolina para da lugar a unha base de Schiff, que ten unhas mellores propiedades coordinativas

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

que o tautómero de anel. A conducta dianiónica N,N,O-dadora en compostos do tipo M_2L_2 xa foi descrita noutros ligandos N,N,O-dadores que como H_2L^2 conteñen un OH fenólico e un NH sulfonamídico, e que deron lugar a complexos dinucleares con pontes sulfonamídicos.[225,237,238]

7.4.2. *Caracterización dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_2L^2*

Os resultados da análise de CHNS mostraron que os complexos de cobre(II) e cadmio(II) se obtiveron cunha estequiometría metal-ligando 1:1. Isto é coherente coa formación dun complexo mononuclear ML.

7.4.3. *ATR-FTIR*

O espectros IR dos complexos de cadmio(II) e cobre(II) mostraron unha banda ancha centrada a 3365 e 3385 cm^{-1}, respectivamente, que é atribuíble a ν(OH) que evidenciou a obtención dos complexos hidratados (figura 6.3.1). Os desprazamentos de ν(NC), $\nu_{as}(SO_2)$ e $\nu_s(SO_2)$ cara números de onda máis baixos así como a ausencia de νOH a 3381 cm^{-1}, νNH a 3345 cm^{-1} δOH a 1473 cm^{-1}, δNH a 1607 cm^{-1} e δ(COH) a 1412 cm^{-1} son un claro sinal de que a coordinación ten lugar a través dos átomos de O_{fenol}, N_{imina}, $N_{sulfonamida}$ e N_{quin} do ligando na súa forma de base de Schiff.

[238]Sanmartín-Matalobos, J.; García-Deibe, A.; Zarepour-Jevinani, M., *et al.*; Exploring the Chelating Potential of an Easily Synthesized Schiff Base for Copper Sensing. *Crystals* **2020,** *10* (3).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

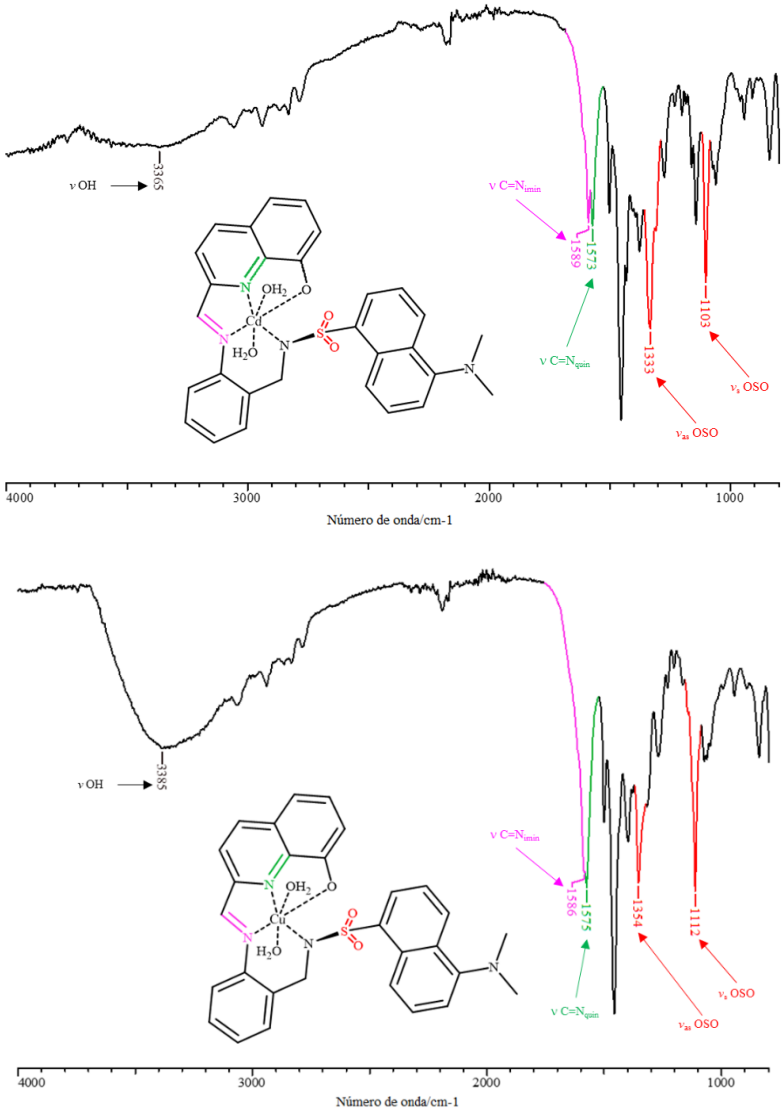


Figura 6.3.1: Vista dos espectros ATR-FTIR do complexo de cadmio(II) (superior) e do complexo de cobre(II) (inferior). Inclúese a asignación dos sinais dos grupos funcionais máis significativos das moléculas en cada un dos esquemas correspondentes.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Baseándonos nos resultados experimentais (análises CHNS e espectros infravermellos) e en estudos anteriores,[222,234,239] pódese postular para estos complexos metálicos unha estrutura dinuclear cunha ponte sulfonamídica. A estrutura é simétrica, cun centro de inversión situado no centro do cadrado distorsionado formado polos dominios enlazantes de ambas unidades de ligando.

7.4.4. UV-Vis

Os espectros electrónicos dos complexos de cobre(II) e cadmio (II) (figura 6.3.2) mostran tres sinales dominantes ao redor de 220, 245 e 335 nm que aparecen desprazadas cara ao azul entre 5 e 15 nm con respecto ao ligando libre (215, 260 e 350 nm).

[239]Sanmartín-Matalobos, J.; García-Deibe, A. M.; Fondo, M., *et al.*; Exploration of an easily synthesized fluorescent probe for detecting copper in aqueous samples. *Dalton Trans.* **2017,** *46*, 15827–15835.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

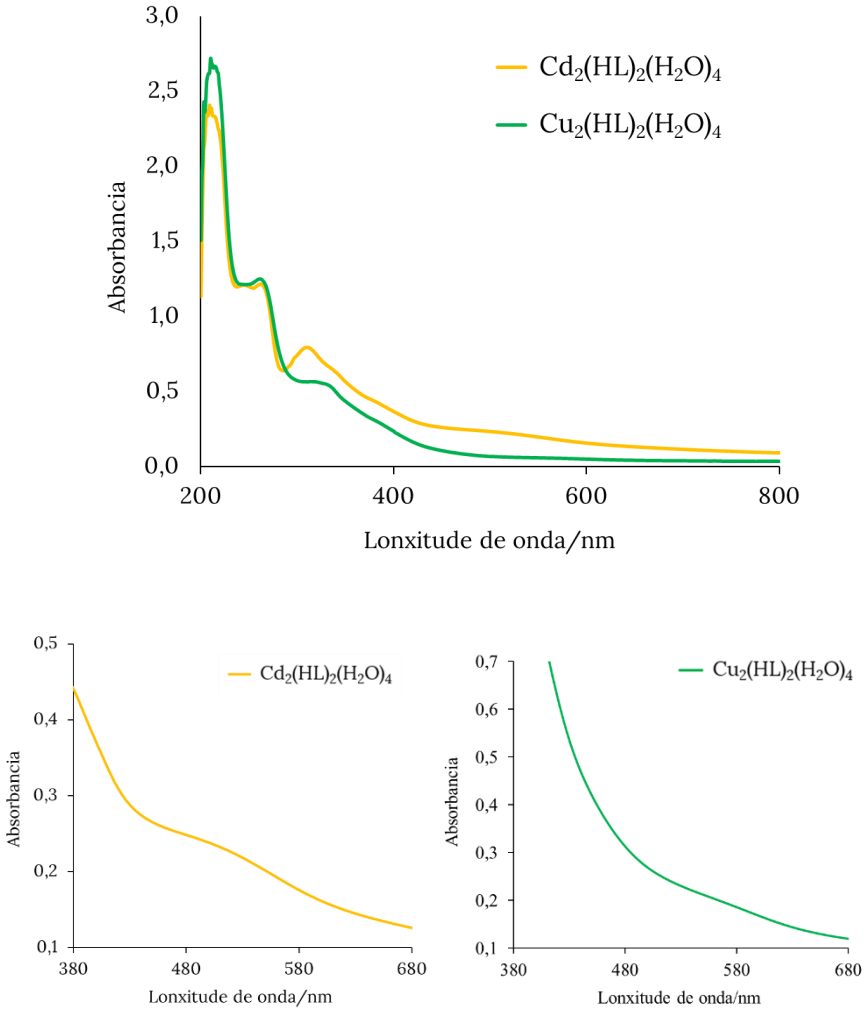


Figura 6.3.2: Superior: Vista dos espectros UV-Vis dos complexos de cadmio(II) e cobre(II) en etanol. Inferior: Ampliación dos espectros dos complexos de cadmio(II) e cobre(II) na rexión de 380-680 nm.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.4.5. *RMN-^1H*

O espectro de RMN-^{1}H do complexo de cadmio(II) revelou a existencia dun comportamento quelatante do ligando H_2L^2 a través dos átomos de O_{fenol}, N_{imina}, $N_{sulfonamida}$ e N_{quin}. No espectro amosado na figura 6.3.4 pódese observar a aparición dun singlete a 4.31 ppm, que se corresponde cos protóns do grupo metileno e outro singlete a 9.02 ppm, que se corresponde co protón do grupo imínico. A observación destas dúas sinais é unha clara evidencia da obtención do complexo co ligando en forma de base de Schiff.

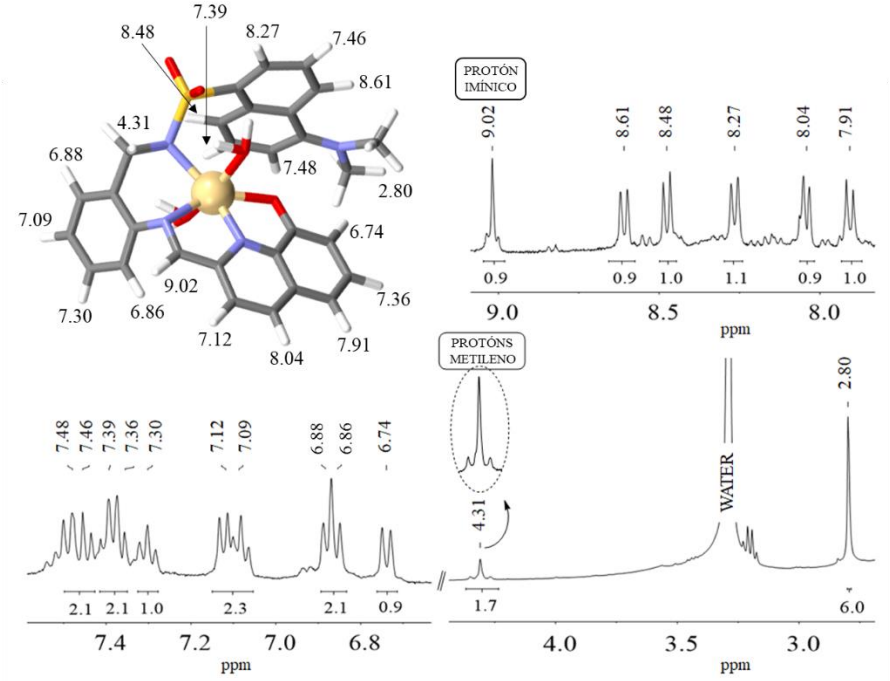


Figura 6.3.4: Vista do espectro de RMN-^{1}H do complexo mononuclear de cadmio(II) (en dmso-d_6). Inclúese a asignación das sinais nun modelo 3D da molécula.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.4.6. *Espectroscopía de fluorescencia*

Unha disolución en etanol absoluto do complexo cadmium(II) a pH neutro presenta un máximo de emisión fluorescence ao redor dos 546 nm (λ_{ex} = 376 nm), o que supón un desprazamento cara o vermello na λ_{em} (efecto batocrómico) cando se compara coa lonxitude de onda de emisión obtida para unha disolución en etanol absoluto do H_2L^2 (530 nm). Tamén se observou desprazamento cara o vermello na λ_{em} dunha disolución de etanol absoluto de complexo de cobre(II) (λ_{em} = 535 nm), pero máis leve cando se compara co obtido para unha disolución en etanol absoluto de H_3L^2 (figura 6.3.5).

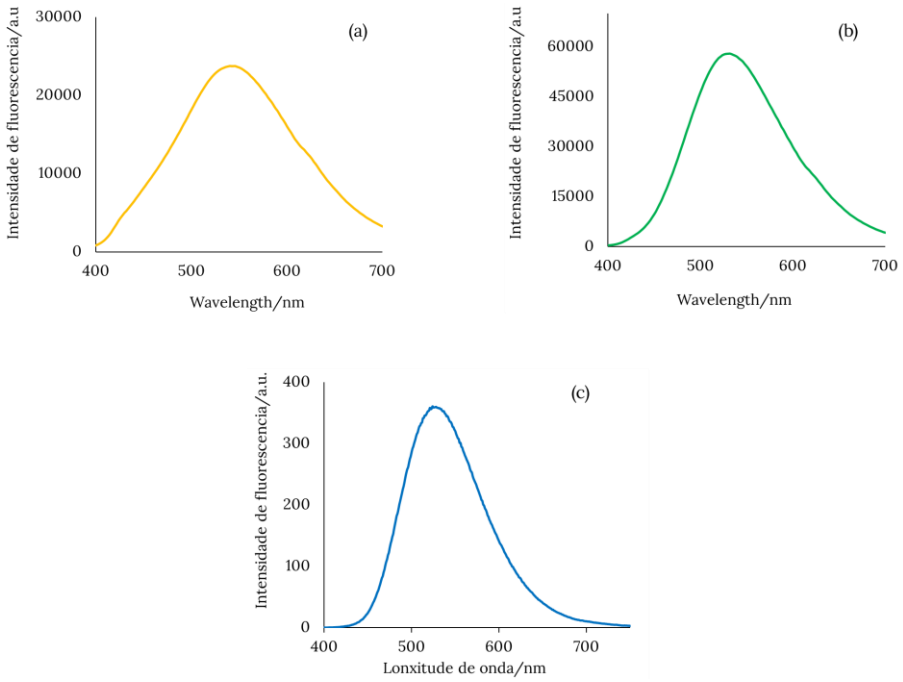


Figura 6.3.5: Vista dos espectros de fluorescencia do complexo de cadmio (II) (a) con λ_{em} = 546 nm e do complexo de cobre (II) (b) con λ_{em} = 535 nm, nunha disolución de etanol. Incluíuse o espectro do H_2L^2 (c) con λ_{em} = 530 nm con fins comparativos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.5. Determinación das constantes de enlace de H_2L^2 con ións Cu^{2+} e Cd^{2+}

A determinación das constantes de enlace (K_b) de H_2L^2 con ións Cu^{2+} e Cd^{2+} realizouse co fin de cuantificar a afinidade do ligando por estes ións. A determinación do valor de K_b, a temperatura ambiente, levouse a cabo mediante espectroscopía de fluorescencia e UV-Vis. Todos os resultados obtivéronse a partir da ecuación de Benesi–Hildebrand[240] (figura 6.5.1, K_b = intersección/pendente) para complexos metálicos cunha relación estequiométrica 1:1. A estequiometría metal:ligando que se empregou na determinación da K_b obtívose mediante análise elemental. A táboa 6.5.1 amosa que a afinidade de H_2L^2 polos ións Cu^{2+} (ácido intermedio) é moderadamente máis alta que a afinidade polos ions Cd^{2+} (ácido brando), independentemente da técnica espectroscópica empregada. Os valores que se obtiveron para a constante de enlace (K_b) de H_2L^2 con Cu^{2+} e Cd^{2+} mediante espectroscopía UV-Vis foron $6{,}380 \times 10^3$ e $4{,}295 \times 10^3$ M^{-1}, respectivamente. Nun novo estudo, utilizando a mesma ecuación, pero empregando como técnica a espectroscopía de fluorescencia, os valores que se obtiveron para a K_b do ligando H_2L^2 con Cu^{2+} e Cd^{2+} foron $6{,}106 \times 10^3$ e $4{,}148 \times 10^3$ M^{-1}, respectivamente. A semellanza entre os valores de K_b obtidos mediante espectroscopía UV-Vis e espectroscopía de fluorescencia, así a relación entre os mesmos (K_b Cd^{2+}/ K_b Cu^{2+} = 0.67), independentemente da técnica espectroscópica

[240]Alves, J. Q.; Máximo, L. N. C.; Franco, L. P., *et al.*; Fluorescence-quenching CdTe quantum dots applied for identification of cocaine-structure analogues. *Anal. Methods* **2019,** *11*, 185-191.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

empregada, apoia a validez dos datos obtidos. Os valores de ΔG, que se determinaron a partir de K_{SV} (táboa 6.5.1), indican que o complexo de cobre(II) (-21,66 kJ mol^{-1}) e mais estable que o complexo de cadmio(II) (-20,85 kJ mol^{-1}).

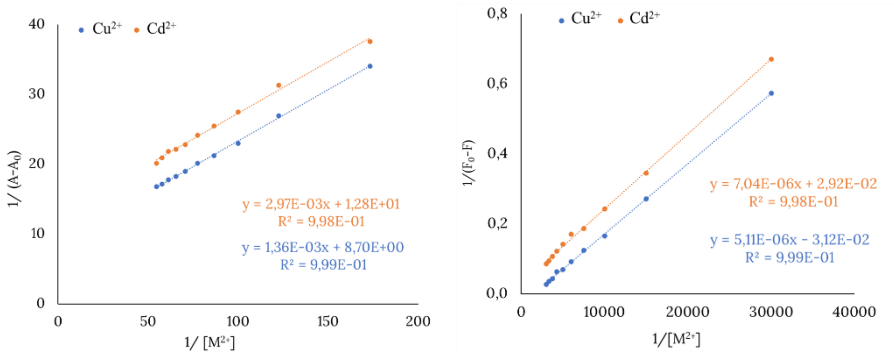


Figura 6.5.1: Diagrama de Benesi-Hildebrand a partir dos datos de valoración por UV-Vis (esquerda) e fluorescencia (dereita) de H_2L^2 (10^{-4} M) con Cd^{2+} e Cu^{2+} (10^{-3} M) nunha disolución 80:20 de etanol:auga.

Táboa 6.5.1: Valores da enerxía libre de Gibbs, constante de enlace e constante de "quenching" para a reacción de H_2L^2 cos ións Cu^{2+} e Cd^{2+} (en proporción molar 1:1). As constantes de enlace obtivéronse a partir da intensidade da emisión de fluorescencia e da absorción UV-Vis.

Especies	ΔG_{Ksv} kJ mol^{-1} ($kJ\ mg^{-1}$)	$K_{b\ FL}$ M^{-1} ($L\ mg^{-1}$)	$K_{b\ UV-Vis}$ M^{-1} ($L\ mg^{-1}$)	$K_{sv\ 293\ K}$ M^{-1} ($L\ mg^{-1}$)	$K_{sv\ 303\ K}$ M^{-1} ($L\ mg^{-1}$)	$K_{sv\ 313\ K}$ M^{-1} ($L\ mg^{-1}$)
Cu^{2+}	-21,66 (-22,10)	6106	6380	7250 (8660)	6690 (8230)	6240 (7750)
Cd^{2+}	-20,85 (-21,07)	4148	4295	5190 (5680)	4230 (4710)	3570 (3820)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Debido a diminución de fluorescencia que experimenta H_2L^2, como resultado da reacción con ámbolos dous catións Cu^{2+} e Cd^{2+}, decidiuse estudar o mecanismo de temperado (quenching) empregando a ecuación de Stern-Volmer[241]:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV}[M^{2+}]$$

A figura 6.5.2 amosa que o valor da constante de "quenching" (K_{SV} = pendente) diminúe ao incrementar a temperatura, o cal é unha clara evidencia de que o mecanismo de "quenching" é de tipo estático. Débese ter en conta que nos casos de "quenching" estático ($\tau_0/\tau = 1$), o valor da K_{SV} coincide coa valor da K_b para a formación do complexo. As K_{SV} de H_2L^2 con Cu^{2+} e Cd^{2+}, a temperatura ambiente foron $7{,}250 \times 10^3$ M^{-1} e $5{,}190 \times 10^3$ M^{-1}, respectivamente (táboa 6.5.1). Polo tanto, os valores de afinidade de H_2L^2 por Cu^{2+} e Cd^{2+} obtidos coa ecuación de Stern-Volmer, ainda que algo mais altos que os obtidos coa ecuación de Benesi–Hildebrand, son da mesma orde de magnitude, o que aporta solidez aos resultados obtidos.

[241]Lakowicz, J. R.; Principles of Fluorescence Spectroscopy, Third Edition. **2006**.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

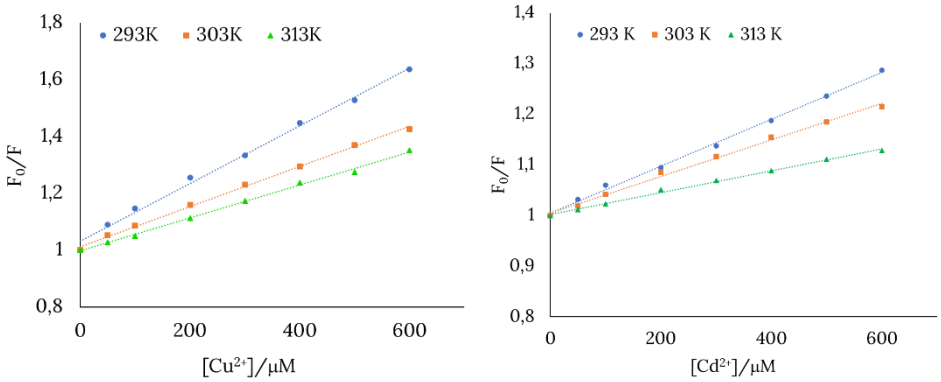


Figura 6.5.2: Diagramas das intensidades dos espectros de fluorescencia do H_2L^2 (10^{-4} M) fronte á concentración dos quenchers Cu^{2+} (esquerda) e Cd^{2+} (dereita) nunha disolución 80:20 de etanol:agua. As pendentes das curvas a 293, 303 e 313K son as constantes de Stern-Volmer K_{SV} ($K_{SV} = kq\,\tau$, donde τ é o tempo de vida do fluoróforo) ás temperaturas citadas.

7.6. Estudo da interacción de H_2L^2 con NMs de CuO e CdSe.

Leváronse a cabo diferentes estudos para estudar a interacción entre H_2L^2 con CuO NPs, CdSe NPs e CdSe-Cys QDs. Preparáronse suspensións en etanol con cada un dos tres tipos de nanomateriais a estudar, engadindo unha pequena cantidade de HCl ata conseguir un valor de pH 4 aproximadamente. As técnicas empregadas para estudar os produtos de reacción CuO-H_2L^2 NPs, CdSe-H_2L^2 NPs e CdSe-Cys-H_2L^2 QDs foron: ATR-FTIR, RMN-^{1}H (onde é aplicábel), μ-XRF, SEM-EDX e espectroscopía de fluorescencia.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.6.1. *ATR-FTIR*

Nos espectros de ATR-FTIR de CuO-H_3L^1 NPs, CdSe-H_3L^1 NPs e CdSe-Cys-H_3L^1 QDs pódese observar a ausencia das bandas ao redor de 3381 e 3345 cm^{-1}, bandas que se corresponde cos modos de vibración νOH e νNH respectivamente, o que nos proporciona unha evidencia clara da bidesprotonación do ligando base de Schiff. Ademais, pódese observar no ligando libre unha banda ao redor de 1607 cm^{-1} aguda e forte, que se corresponde coa amina secundaria, a cal desaparece nos espectros dos complexos metálicos e especies resultantes da interacción. A semellanza entre o espectro de ATR-FTIR de CuO-H_2L^2 NPs co do complexo $CuL^2(H_2O)_2{\cdot}4H_2O$ ao igual que os espectros de CdSe-H_3L^1 NPs e CdSe-Cys-H_3L^1 QDs co do complexo $CdL^2(H_2O)_2{\cdot}H_2O$ (figuras 6.6.1-6.6.3) é unha evidencia de que a interacción entre H_2L^2 e os NMs ten lugar vía coordinación metal-ligando a través dos átomos O_{phenol}, $N_{quinolina,}$ $N_{imínico}$ e $N_{sulfonamídico}$.[222,225,232]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

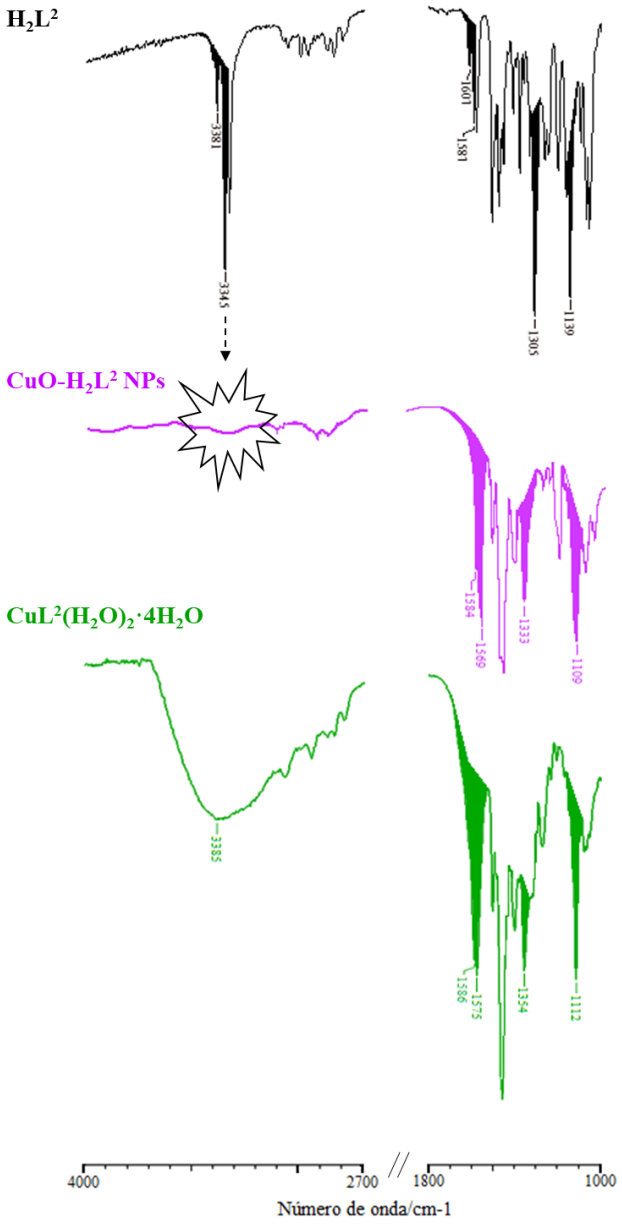


Figura 6.6.1: *Espectros ATR-FTIR do* H_2L^2 *(superior), CuO-* H_2L^2 *NPs (medio) e* $CuL^2(H_2O)_2{\cdot}4H_2O$ *(inferior).*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

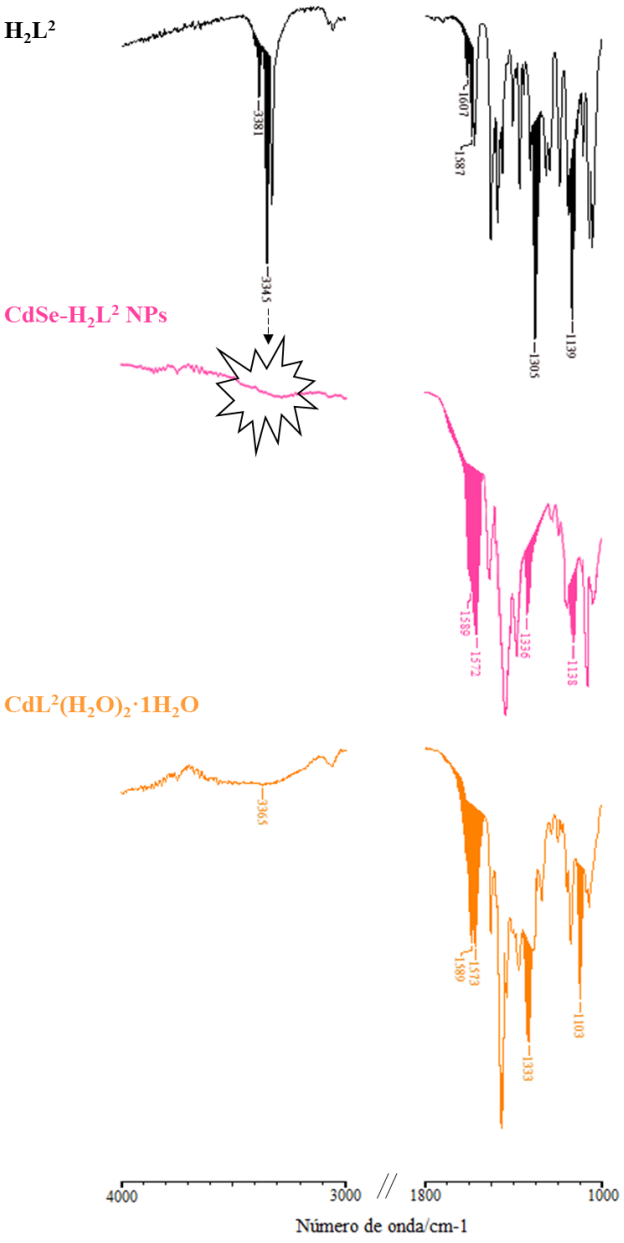


Figura 6.6.2: Espectros ATR-FTIR do H_2L^2 (superior), de CdSe-H_2L^2 NPs (medio) e $CdL^2(H_2O)_2{\cdot}H_2O$ (inferior).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

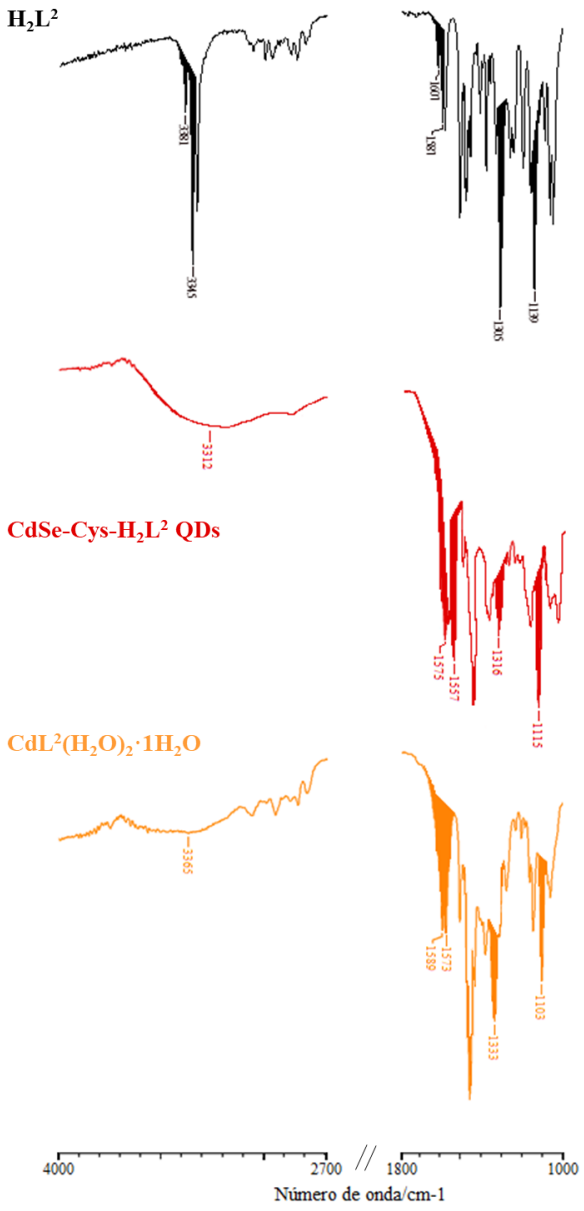


Figura 6.6.3: *Espectros ATR-FTIR do H_2L^2 (superior), CdSe-Cys-H_2L^2 QDs (medio) e $CdL^2(H_2O)_2{\cdot}1H_2O$ (inferior).*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.6.2. *RMN-^1H*

O espectro de RMN de ^1H de CdSe-Cys-H_2L^2 QDs (figura 6.6.4) amosa 16 sinais entre 6,40 e 9,60 ppm, das cales 15 corresponden aos protóns aromáticos e unha ao protón do C quiral (CH, 6.59 ppm) de L^2, en forma dianiónica. A ausencia dos protóns a 9,31 ppm (OH) e 7,31 ppm (NH) que flanquean ao N da quinolina evidenciou a bidesprotonación do ligando, o que é un indicio da súa coordinación a través do dominio enlazante ONN ao ión Cd^{2+} da superficie de CdSe-Cys. A presenza dun carbono quiral (CH) na molécula fai que os protóns do grupo metileno sexan diastereotópicos (4,42 e 4,11 ppm), evidenciándose así que o ligando mantén a súa forma de tautómero de anél tras da interacción con CdSe-Cys. Na rexión comprendida entre 2.7 e 5.0 ppm obsérvase tamén o sinal característico dos protóns do grupo metilo de L^2 (2,82 ppm). A interacción entre CdSe-Cys QDs e H_2L^2 resulta nun desprazamento (0,02 – 0,10 ppm) cara campo mais baixo das sinais a: 6,48, 6,59,7,62, 8,35, 8,38, 8,48 ppm; e cara campo mais alto (0,02 – 0,13 ppm) das sinais a: 6,74, 6,76, 6,92, 7,12, 7,38, 7,60, 7,61, 8,31 ppm de L^2. Ademais, obsérvase o protón metanotriilo de L-Cys a 4,54 ppm, o que evidencia a interacción entre CdSe-Cys QDs e H_2L^2. O solapamento do sinal dos protóns do grupo metileno da L-Cys cos protóns do grupo metilo do disolvente deuterado (metanol-d_4) impide a súa clara observación, sen embargo é posíbel deducir a súa presenza a como un leve ombreiro a 3,27 ppm. Baseándonos nos valores de integración correspondentes ao protón metanotriilo da L-Cys e metileno de L^2, é posíbel deducir que a relación molar entre Cys:H_2L^2 está ao redor de 20:1 na superficie dos QDs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

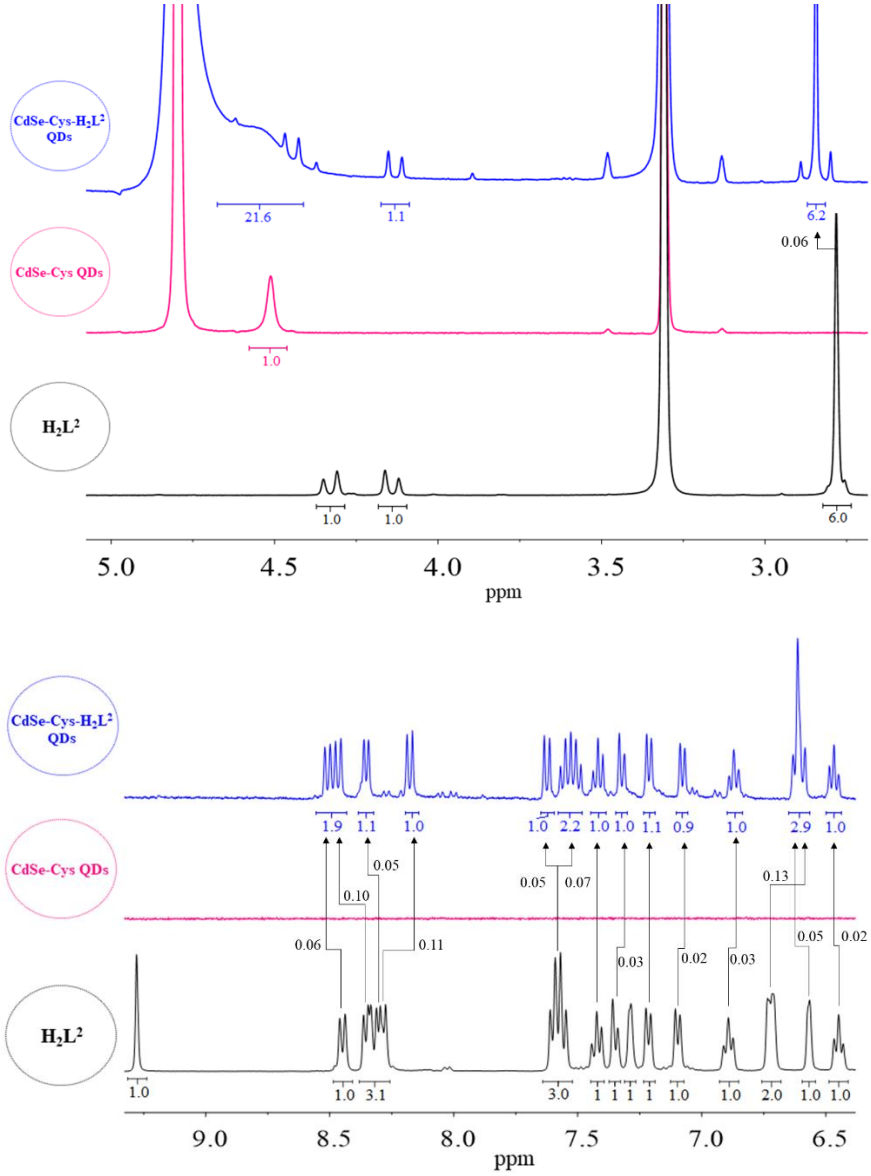


Figura 6.6.4: Superior: espectros de RMN-^{1}H de CdSe-Cys-H_2L^2 QDs, CdSe-Cys QDs e H_2L^2

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(rango: 5,0 a 2,7 ppm en metanol-d_4). Inferior: mesmos espectros no rango 9,3 a 6,5 ppm. Incluíronse os espectros dos CdSe-Cys QDs (medio) e H_2L^2 (inferior) a modo comparativo.

7.6.3. μ-XRF

O análise mediante μ-XRF (figura 6.6.5) indica que a mostra policristalina de CuO-H_2L^2 NPs contén cobre e xofre nunha proporción 6:1 en peso, o cal é coherente cunha relación molar 3:1 (CuO:H_2L^2). O mapeado que se obtén empregando esta técnica, μ-XRF, emprégase para comprobar a homoxeneidade da distribución de cobre e xofre dentro dunha mostra de CuO-H_2L^2 NPs (figura 6.6.6), feito que apoia a existencia dun enlace entre as NPs de CuO e o H_2L^2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

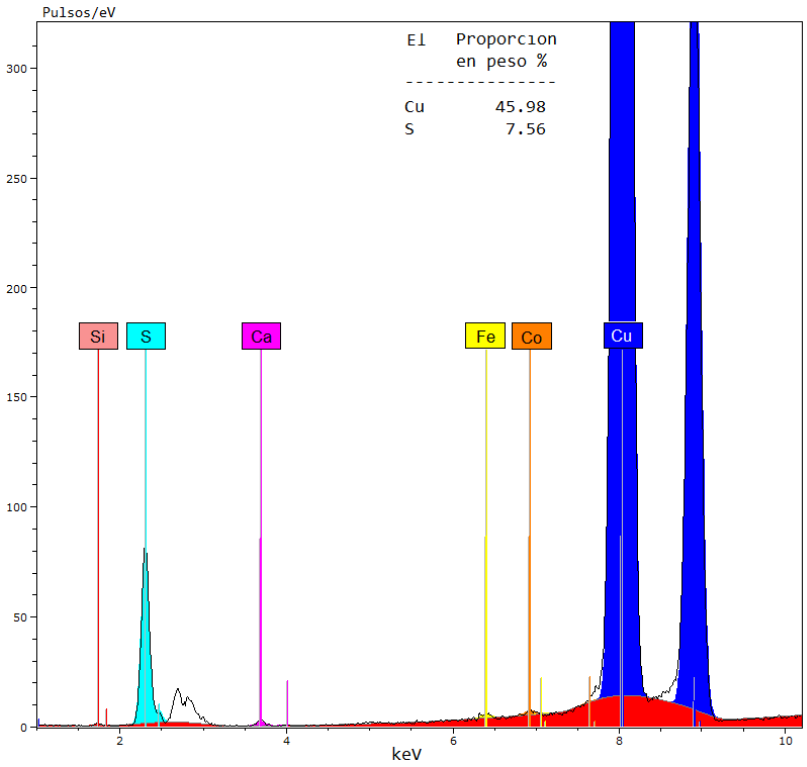


Figura 6.2.5: Espectro μ-XRF das NPs de CuO-H_2L^2. Eixo X: enerxía (keV), eixo Y: intensidade. Os picos corresponden á emisión dos raios X característicos dos elementos químicos. Inclúense os datos de %Cu e %S na mostra.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

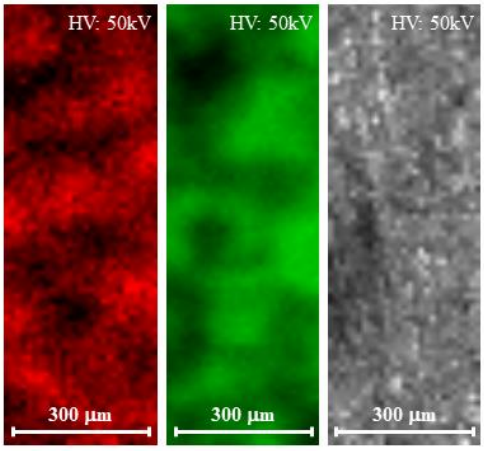


Figura 6.6.6: Mapeado μ-XRF da especie CuO-H_2L^2 NPs no que se mostra a distribución elemental de xofre (vermello) e cobre (verde) na superficie de mostra. Á esquerda inclúese unha imaxe μ-XRF da mostra (gris) en forma de pastilla con fins comparativos.

7.6.4. SEM-EDX

Os tamaños e formas das especie CuO-H_2L^2 NPs e CdSe-Cys-H_2L^2 QDs foron analizados empregando SEM. Como se pode apreciar na figura 6.6.7. As nanopartículas CuO-H_2L^2 atópanse aglomeradas formando clústers, cunha forma irregular. A combinación das dúas técnicas, SEM e EDX, empregouse para xerar "mapas" das distribucións de cada elemento. A figura 6.5.7 mostra unha micrografía da especie CuO-H_2L^2 NPs (superior) e un mapeado EDX do patrón de distribución de cada elemento: Cu, O, C, N, e S (inferior). A análise realizada mediante EDX mostra a presenza dos átomos de Cu, O, C, N, e S cun patrón de distribución espacial moi similar, feito que apoia a existencia da interacción entre o ligando H_2L^2 coas NPs de CuO. De xeito semellante, a análise EDX dos CdSe-Cys-H_2L^2QDs

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

reafirma que verdadeiramente se produce unha interacción entre os NMs e H_2L^2 (figuras 6.6.8-6.6.9).

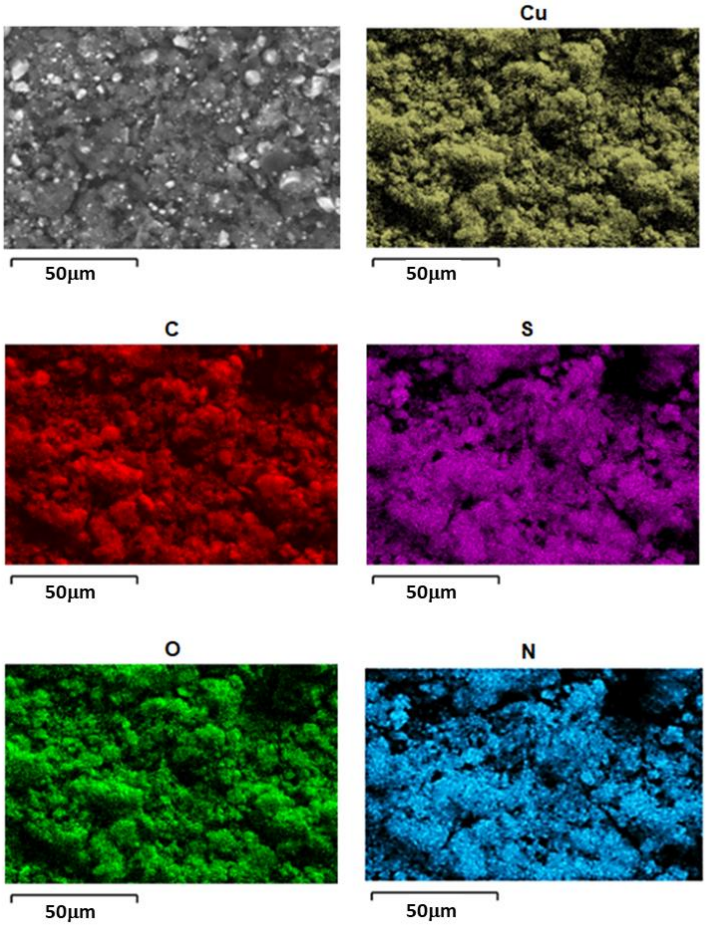


Figura 6.6.7: Micrografía SEM da especie CuO-H_2L^2 NPs (superior). Mapeado EDX do patrón de distribución dos elementos Cu, C, S, O e N (inferior).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

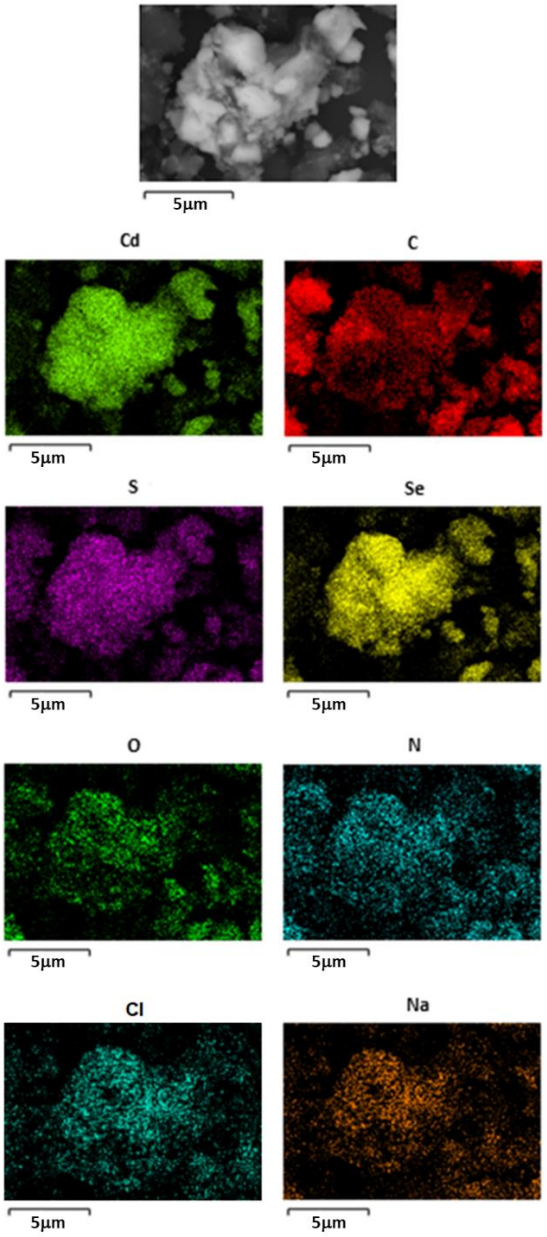


Figura 6.6.8: Mapeado EDX do patrón de distribución dos elementos Cd, C, O, S, N, Cl e Na dunha mostra de CdSe-Cys-H2L2 QDs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7.6.5. *Espectroscopía de fluorescencia*

Os espectros de fluorescencia das especies CuO-H_2L^2 NPs e CdSe-Cys-H_2L^2 QDs en disolución etanol-auga revelaron que se producía un atenuado *quenching* na emisión fluorescente observada a aproximadamente 530 nm, cando se compara co espectro de fluorescencia do ligando H_2L^2 en forma libre, baixo as mesmas condicións. Este mesmo efecto observouse cando se compararon as emisións fluorescentes dos complexos $CuL^2(H_2O)_2{\cdot}4(H_2O)$ e $CdL^2(H_2O)_2{\cdot}H_2O$ coa do ligando libre H_2L^2, no apartado 6.4.

Empregouse a ecuación de Stern-Volmer para estudar o mecanismo da interacción que se produce entre o ligando H_2L^2 e os diferentes tipos de NMs (figura 6.6.9). A diminución no valor da constante de quenching K_{SV} co aumento da temperatura evidenciou que este quenching é de tipo estático, polo que é posibel obter o valor da constante de enlace K_b coa medida de K_{SV}. A K_b da reacción entre H_3L^3 e os NMs de CuO e CdSe presenta valores do mesmo orde de magnitude que a dos calculados para a reacción entre o mesmo ligando e os ións Cu^{2+} e Cd^{2+} (táboa 6.6.1). Polo tanto, a interacción que se produce de H_2L^2 coa superficie dos NMs amosa similitudes coa reaccións de formación en disolución dos complexos metálicos. Os resultados mostran que a afinidade do H_2L^2 con respecto aos NMs estudados é a seguinte: CuO NPs > CdSe NPs > CdSe-Cys QDs. Os valores da enerxía libre de Gibbs, os cales foron determinados a partir da K_b, indican que a especie CuO- H_2L^2 NPs (-22,12 kJ mg^{-1}) é máis estábel que CdSe-H_2L^2 NPs (-21,19 kJ mg^{-1}) e CdSe-Cys-H_2L^2 QDs (-18,58 kJ mg^{-1}).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 6.6.1: Valores da enerxía libre de Gibbs e a constante de quenching para a reacción de H_2L^2 coas NPs de CdSe, as NPs de CuO e os QDs de CdSe-Cys.

Especies	ΔG_{Ksv} kJ mol^{-1} (kJ mg^{-1})	$K_{sv\ 293\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 303\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 313\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})
CuO NPs	-21,84 (-22,12)	7780 (8750)	6620 (7630)	5540 (6160)
CdSe NPs	-21,00 (-21,19)	5530 (5970)	4880 (5200)	3710 (4140)
CdSe-Cys QDs	(-18,58)	(2050)	(1600)	(1100)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

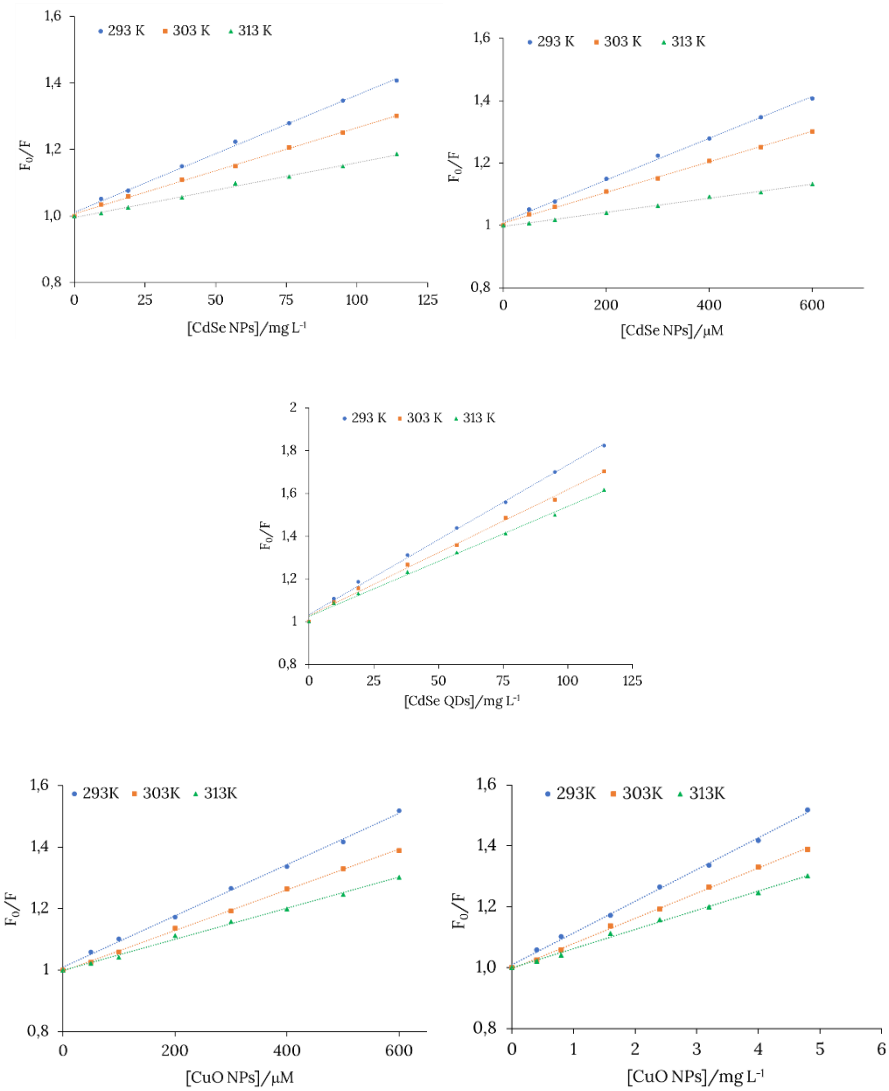


Figura 6.6.9: Diagramas de Stern-Volmer: Intensidades de fluorescencia de H_2L^2 (10^{-4} M) fronte á concentración dos nanomateriais (en mol L^{-1} e mg L^{-1}): CdSe NPs (arriba), CdSe-Cys QDs (medio) e CuO NPs (abaixo) nunha disolución 80:20 etanol:agua. As pendentes das curvas a 293, 303 e 313K son as constantes de Stern-Volmer K_{SV} ($K_{SV} = kq\tau$, onde τ é o tempo de vida do fluoróforo) ás temperaturas citadas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

O número dominios enlazantes (*n*) na superficie dos nanomateriais determinouse empregando a *ecuación de Scatchard*, a cal se amosa máis abaixo. Nesta ecuación F_0 e F son os parámetros relativos á fluorescencia de H_2L^2, na ausencia e presencia dos diferentes NMs, respectivamente; K_B é a constante de enlace (cuxo valor coincide co valor de K_{SV}, en términos de "quenching" estático); por último, [Q] correspóndese coa concentración do nanomaterial (*quencher*).[242] A gráfica que se corresponde coa ecuación lineal de Scatchard de H_2L^2 cos diferentes NMs amósase na figura 6.6.10.

$$\log\left(\frac{F_0 - F}{F}\right) = \log K_B + n \log[Q]$$

O número de sitios de enlace (*n*) ten un valor de aproximadamente 5 a unha temperatura de 293 K, suxerindo a existencia de cinco sitios de enlace para H_2L^2 na superficie das NPs de CuO e CdSe. Pola contra, o número de sitios de enlace é de aproximadamente 2 para H_2L^2 sobre a superficie dos CdSe-Cys QDs. Isto non é unha sorpresa, considerando que moitos dos ións superficiais de cadmio estarán interaccionando cos átomos de xofre da propia cisteína.

[242]Moeno, S.; Nyokong, T.; Opposing responses elicited by positively charged phthalocyanines in the presence of CdTe quantum dots. *J. Photochem. Photobiol. A* **2009,** 201 (2-3), 228–236.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

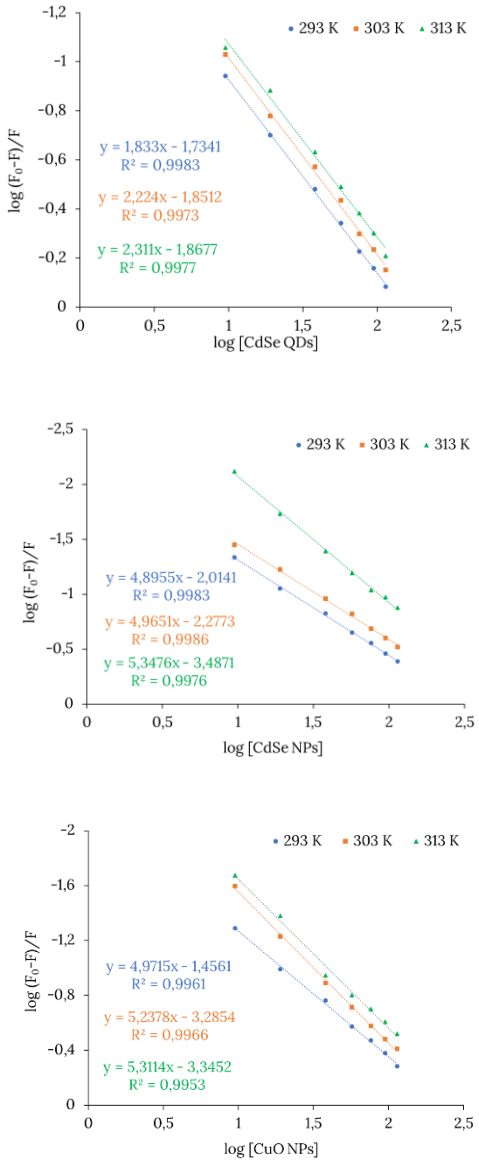


Figura 6.6.10: Gráfico de Scatchard para a unión de H_2L^2 a NPs de CuO (inferior), NPs de CdSe (medio) e CdSe-Cys QDs (superior) a 293, 303 e 313 K e pH 4.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A proporción con respecto á interacción aumenta lixeiramente en todos os casos ao aumentar a temperatura, probabelmente porque este factor favorece a reactividade dos ións metálicos superficiais.

7.7. H_2L^2 como quimiosensor na detección de NPs de CuO e CdSe en disolución etanol-auga

Para estudar a utilidade do H_2L^2 como quimiosensor na detección de nanomateriais de CuO e CdSe, a niveis de concentración de ppm e ppb, seleccionáronse concentracións de ligando de 0,126 ppm e 1,26 ppb. A intensidade da fluorescencia dunha disolución EtOH:H_2O de H_2L^2 varía linealmente coas concentracións dos NMs non fluorescentes como son as NPs de CuO e CdSe, así como cos debilmente fluorescentes QDs de CdSe-Cys (λ_{em} 632 nm).

A unha concentración de [H_2L^2] = 0,126 ppm a emisión fluorescente varía linealmente dentro do rango 0-9,50; 0-9,50 e 0-8,55 ppm, coa adición gradual de NPs de CuO, NPs de CdSe e CdSe-Cys QDs. Os valores de concentración dos NMs superiores aos indicados sobresaturan o sistema. Na figura 6.7.1 amósase a diminución dun 90%, 75% e 50% aproximadamente nas emisións de fluorescencia das disolucións de etanol-agua (nunha proporción 80:20 v/v) do H_2L^2 (λ_{em} = 530 nm) ao engadir NPs de CuO (λ_{em} = 516 nm), NPs de CdSe (λ_{em} = 516 nm) e CdSe-Cys QDs (λ_{em} = 516 nm), respectivamente.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

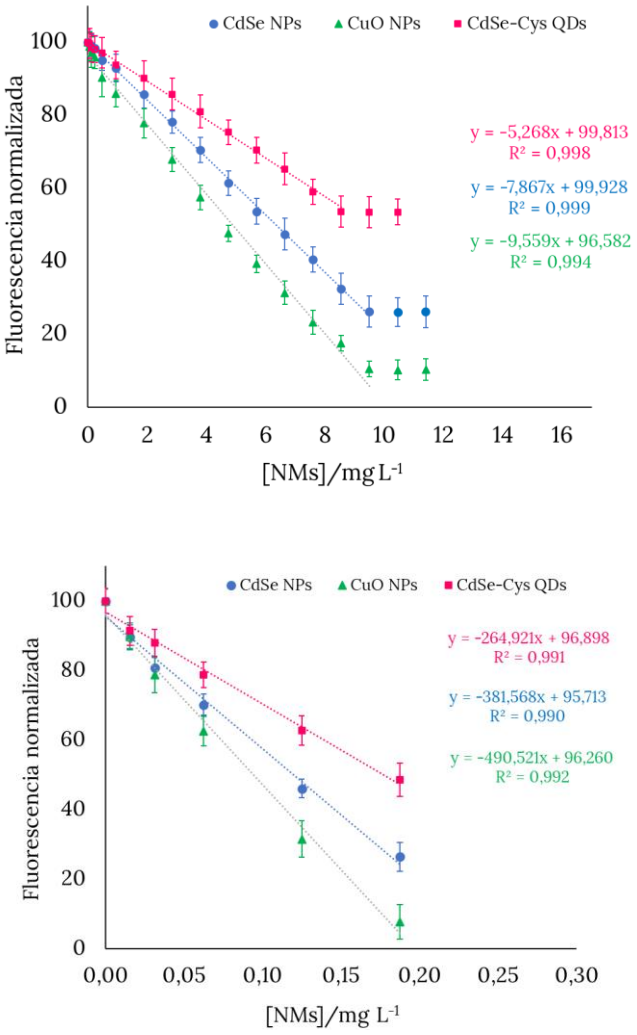


Figura 6.7.1: Curva de calibración do espectro de emisión de fluorescencia de H_2L^2 en disolución 80:20 etanol:agua a pH 4, con adición gradual de NMs (ata que a intensidade de fluorescencia deixa de diminuír).

O límite de detección (LOD) e o límite de cuantificación (LOQ) das NPs de CuO, CdSe e dos QDs de CdSe-Cys con [H_2L^2] = 0,126 ppm foi de

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

0,37, 0,45 e 0,67 ppm, respectivamente. O LOQ das NPs de CuO, CdSe e CdSe-Cys con $[H_2L^2]$ = 0,126 ppm foi de 1,23, 1,49 e 2,22 ppm, respectivamente. O LOD das NPs de CuO, CdSe e CdSe-Cys QDs con $[H_2L^2]$ = 1,26 ppb foi de 23, 30 y 43 ppb, respectivamente. O LOQ das NPs de CuO, CdSe e CdSe-Cys QDs con $[H_2L^2]$ = 1,26 ppb foi de 78, 100 e 145 ppb, respectivamente.

O rango de traballo de H_2L^2 obtívose empregando o LOQ, como o valor mínimo que pode medirse, e o valor máis alto de [NMs] no que se mantén a linearidade, como o valor máximo. Polo tanto, os rangos de traballo para a detección das NPs de CuO, NPs de CdSe e CdSe-Cys QDs con $[H_2L^2]$ = 0,126 ppm foron 1,2-9,5, 1,5-9,5 e 2,2-8,55 ppm, respectivamente.

Á vista da maior afinidade de H_2L^2 polas NPs de CuO e CdSe, en comparacións cos CdSe-Cys QDs estudouse a selectividade do H_2L^2 como sonda para as citadas NPs. Estes estudos de interferentes, realizáronse en 4 mL dunha disolución de etanol-agua en 80 : 20 v/v, a pH 4 e empregando unha λ_{ex} = 376 nm. Como criterio de interferencia, empregouse unha variación do ±10% da intensidade media da fluorescencia á concentración respectiva das NPs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

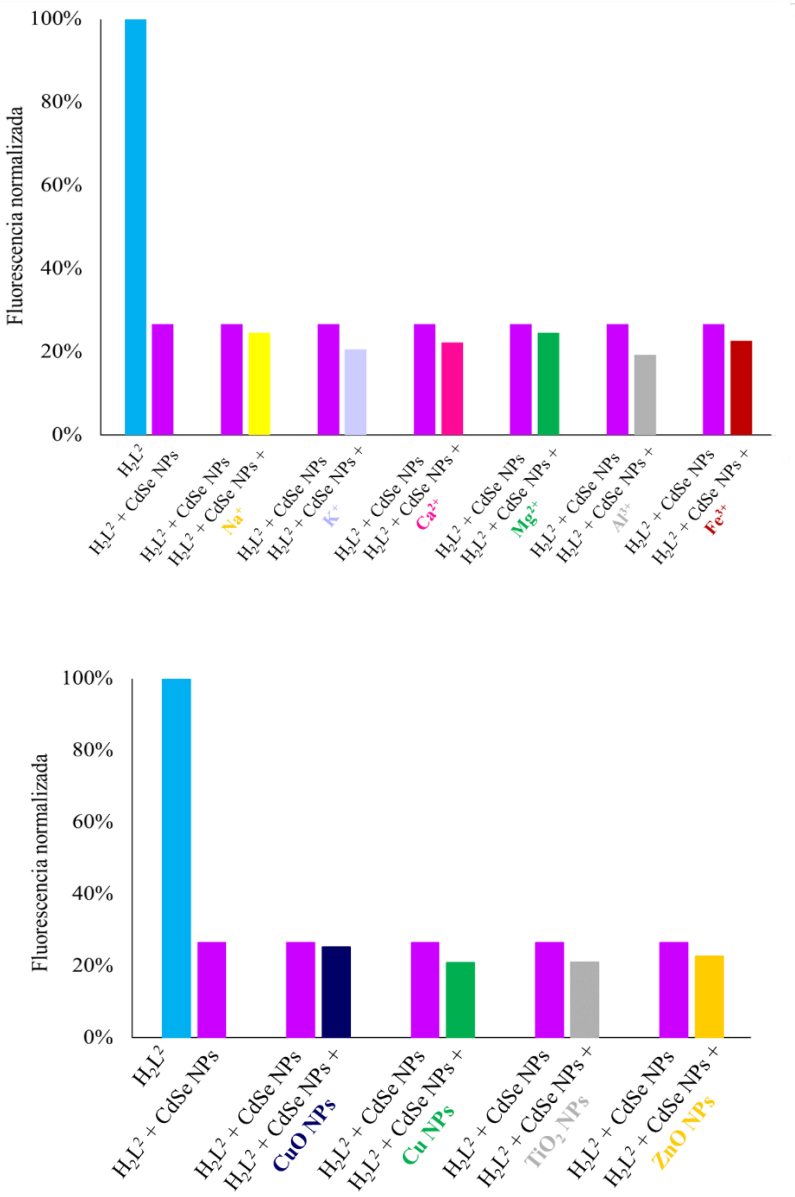


Figura 6.7.2: Diminución da emisión de fluorescencia de H_2L^2 (2,5 nM, 1, 26 ppb) fronte á adición de NPs de CdSe (8 ppm) en presenza dos ións metálicos máis comúns en auga (enriba) e de varias NPs (abaixo).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A selectividade do H_2L^2 como sonda para as NPs de CdSe probouse en presenza dalgúns NMs metálicos e de óxidos metálicos comúns, como NPs de Cu, NPs de ZnO, NPs de CuO e NPs de TiO_2, así como de algúns ións metálicos comúns na auga, como os seguintes ácidos duros: Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} e Al^{3+} (figura 6.7.2). Estos resultados mostraron que H_2L^2 posúe selectividade de cara á determinación de NPs de CdSe en presenza de NPs de Cu, que pode ser tolerado nunha concentración de polo menos 8 ppm, cando a concentración de NPs de CdSe é de 8 ppm. Outros NMs comúns, como as NPs de CuO, as NPs de ZnO e as NPs de TiO_2, poden tolerarse en concentracións de, polo menos, 4 ppm sen ser consideradas unha interferencia. Os ións metálicos como o Na^+ e K^+ nunha concentración de 8 ppm, tampouco interfiren na detección das NPs de CdSe. Os ións Mg^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} e Al^{3+} poden ser tolerados nunha concentración de, polo menos, 2 ppm sen causar interferencias.

A selectividade do H_2L^2 como sonda para as NPs de CuO probouse en presenza de NPs de Cu, NPs de CdSe, NPs de ZnO e NPs de TiO_2, así como de ións metálicos como o Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} e Al^{3+} (figura 6.7.3). Estes resultados amosaron que o H_2L^2 posúe unha alta selectividade cara as NPs de CuO, incluso en presenza de outros NMs comúns, como as NPs de Cu e as NPs de CdSe. Estas poden ser toleradas en concentracións de, polo menos, 8 ppm sen ser consideradas como interferencias, cando a concentración das NPs de CuO é de 8 ppm. As NPs de ZnO e TiO_2 poden tolerarse nunha concentración de 4 ppm. Con respecto aos ións metálicos Na^+, K^+, Mg^{2+} e Ca^{2+} , nunha concentración de 8 ppm, tampouco interfiren na detección das NPs de CuO. Os ións Fe^{3+} e Al^{3+} poden tolerarse en concentracións de, polo menos, 4 ppm sen interferir.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

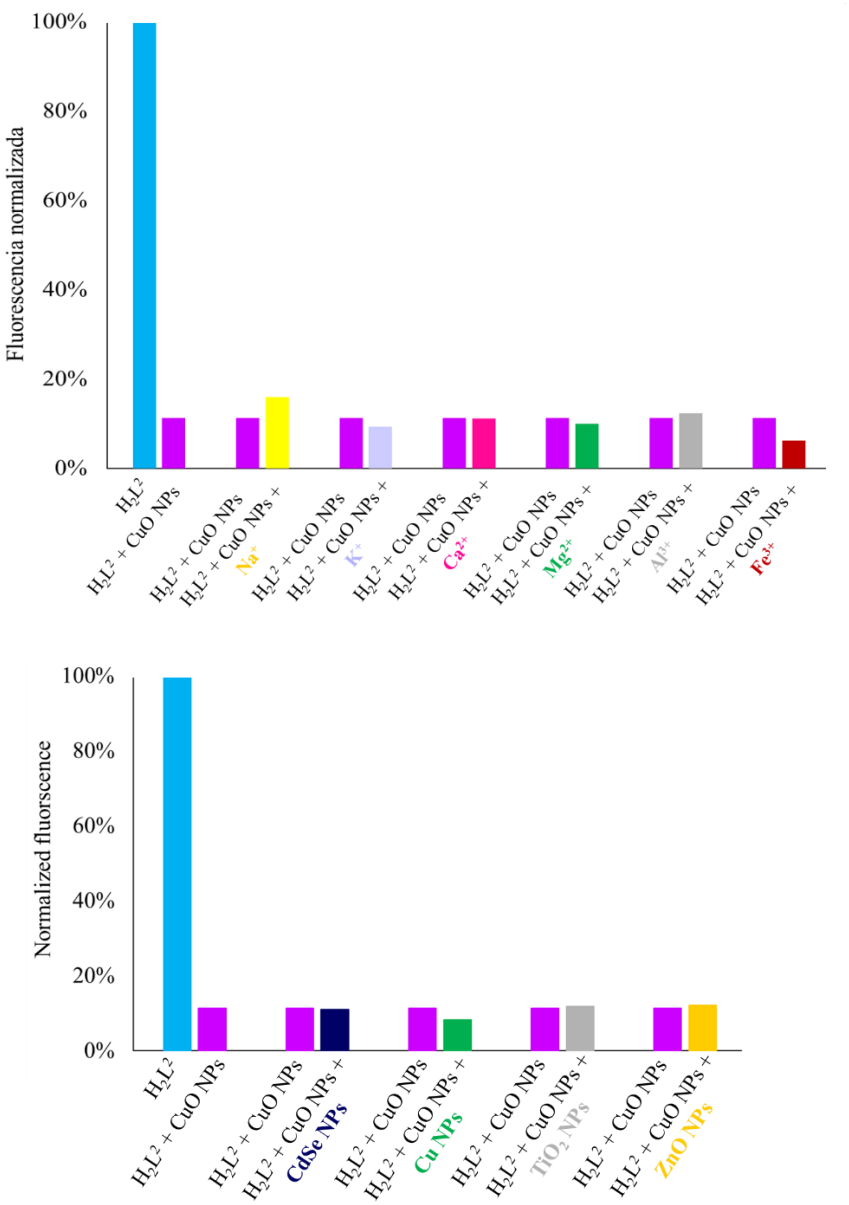


Figura 6.7.3: Diminución da emisión de fluorescencia do H_2L^2 (2,5 nM, 1, 26 ppb) fronte á adición de NPs de CuO (8 ppm) en presenza dos ións metálicos máis comúns en auga (enriba) e de varias NPs (abaixo).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo 8

Estudo de H_3L^3

Neste capítulo reprodúcense contidos das publicacións que se indican a continuación:

- **Synthesis and Characterization of a Dansyl-Based Fluorescent Probe for Analytical Purposes** †

by **Jesús Sanmartín-Matalobos** [1,*], **Pilar Bermejo-Barrera** [2], **Yeneva Alves-Iglesias** [1,2], **Ana M. García-Deibe** [1] and **Matilde Fondo** [1]

[1] Coordination and Supramolecular Chemistry Group (Suprametal), Institute of Materials (iMATUS), Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidade de Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

[2] Trace Element, Speciation and Spectroscopy Group (GETEE), Institute of Materials (iMATUS), Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology, Faculty of Chemistry, Universidade de Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias, s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

[*] Author to whom correspondence should be addressed.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

† Presented at the 25th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry, 15–30 November 2021; Available online: https://ecsoc-25.sciforum.net/.

Chem.Proc. **2022**, 8(1),76; https://doi.org/10.3390/ecsoc-25-11775

Full Journal Title: Chemistry Proceedings

Publisher: MDPI

Postal Address: MDPI, St. Alban-Anlage 66, 4052 Basel, Switzerland

ISSN (electronic): 2673-4583

❖ **Immobilization on Cellulose Paper of a Chemosensor for CdSe-Cys QDs** †

by **Yeneva Alves-Iglesias [1,2], Pilar Bermejo-Barrera [2], Ana María García-Deibe [1], Matilde Fondo [1] and Jesús Sanmartín-Matalobos [1,*]**

[1] Coordination and Supramolecular Chemistry Group (Suprametal), Institute of Materials (iMATUS), Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidade de Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

[2] Trace Element, Speciation and Spectroscopy Group (GETEE)—Institute of Materials (iMATUS), Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology, Faculty of Chemistry, Universidade de Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias, s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

[*] Author to whom correspondence should be addressed.

† Presented at the 26th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry, 15–30 November 2022; Available online: https://sciforum.net/event/ecsoc-26.

Chem.Proc. **2022**, 12(1),92; https://doi.org/10.3390/ecsoc-26-13561

Full Journal Title: Chemistry Proceedings

Publisher: MDPI

Postal Address: MDPI, St. Alban-Anlage 66, 4052 Basel, Switzerland

ISSN (electronic): 2673-4583

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

❖ **Semiconductor Quantum Dots as Target Analytes: Properties, Surface Chemistry and Detection**

by **Jesús Sanmartín-Matalobos** [1,*], **Pilar Bermejo-Barrera** [2], **Manuel Aboal-Somoza** [2], **Matilde Fondo** [1], **Ana M. García-Deibe** [1,*], **Julio Corredoira-Vázquez** [1] and **Yeneva Alves-Iglesias** [1,2]

[1] Coordination and Supramolecular Chemistry Group (SupraMetal), Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, Institute of Materials (iMATUS), Universidade de Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

[2] Trace Element, Speciation and Spectroscopy Group (GETEE), Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology, Faculty of Chemistry, Institute of Materials (iMATUS), Universidade de Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

[*] Authors to whom correspondence should be addressed.

Nanomaterials **2022**, *12*(14),2501; https://doi.org/10.3390/nano12142501

Full Journal Title: Nanomaterials

Publisher: MDPI

Postal Address: MDPI, St. Alban-Anlage 66, 4052 Basel, Switzerland

ISSN (electronic): 2079-4991

❖ **Detecting CdSe Nanomaterials with a Fluorescent Schiff Base Ligand**

by **Jesús Sanmartín-Matalobos** [1,*], **Pilar Bermejo-Barrera** [2], **Ignacio Pérez-Juste** [3], **Matilde Fondo** [1], **Ana M. García-Deibe** [1,*] and **Yeneva Alves-Iglesias** [1,2]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

[1] Coordination and Supramolecular Chemistry Group (SupraMetal), Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, Institute of Materials (iMATUS), Universidade de Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

[2] Trace Element, Speciation and Spectroscopy Group (GETEE), Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology, Faculty of Chemistry, Institute of Materials (iMATUS), Universidade de Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

[3] Departamento de Quíımica Física, Facultad de Química, Edificio de Ciencias Experimentales, Universidade de Vigo, 36310 Vigo, Spain

[*] Authors to whom correspondence should be addressed.

Chemosensors **2022**, 10(10),394; https://doi.org/10.3390/chemosensors10100394

Full Journal Title: Chemosensors

Publisher: MDPI

Postal Address: MDPI, St. Alban-Anlage 66, 4052 Basel, Switzerland

ISSN (electronic): 2227-9040

❖ **Experimental and Computational Studies on the Interaction of a Dansyl-Based Fluorescent Schiff Base Ligand with Cu^{2+} Ions and CuO NPs**

by **Jesús Sanmartín-Matalobos** [1], **Pilar Bermejo-Barrera** [2], **Ignacio Pérez-Juste** [3], **Matilde Fondo** [1], **Ana M. García-Deibe** [1,*] and **Yeneva Alves-Iglesias** [1,2]

[1] Coordination and Supramolecular Chemistry Group (SupraMetal), Institute of Materials (iMATUS), Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidade de Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

[2] Trace Element, Speciation and Spectroscopy Group (GETEE), Institute of Materials (iMATUS), Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Bromatology, Faculty of Chemistry, Universidade de Santiago de Compostela, Avenida das Ciencias s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

[3] Departamento de Química Física, Facultad de Química, Edificio de Ciencias Experimentales, Universidade de Vigo, 36310 Vigo, Spain

[*] Author to whom correspondence should be addressed.

Int.J.Mol.Sci. **2022**, 23(19),11565; https://doi.org/10.3390/ijms231911565

Full Journal Title: International Journal of Molecular Sciences

Publisher: MDPI

Postal Address: MDPI, St. Alban-Anlage 66, 4052 Basel, Switzerland

ISSN (electronic): 1422-0067

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.1. Síntese de H_3L^3

O ligando base de Schiff H_3L^3 pode obterse mediante un simple procedemento que consiste na adición nucleofílica de DsA ao ácido 4-formil-3-hidroxibenzoico. A reacción, que ten lugar en relación molar 1:1, levouse a cabo durante 24h a temperatura ambiente, evitándose desta maneira reaccións non desexadas que rebaixan enormemente o rendemento da síntese.

H_3L^3 obtívose como un sólido pulverulento alaranxado, e tamén en forma cristalina, o que permitiu a resolución da súa estrutura cristalina mediante difracción de raios X de monocristal. A obtención dos cristais logrouse a partir dunha disolución etanólica de H_3L^3 que contiña $[HNEt_3]Cl$ (un ácido débil, pKa de $HNEt_3^+$ = 10,75), o que dou lugar a que se obtivera o hidrocloruro de H_3L^3 hidratado, $[H_4L^3]Cl{\cdot}0.92H_2O$.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.2. Caracterización de H_3L^3: estrutura cristalina e xeometría optimizada

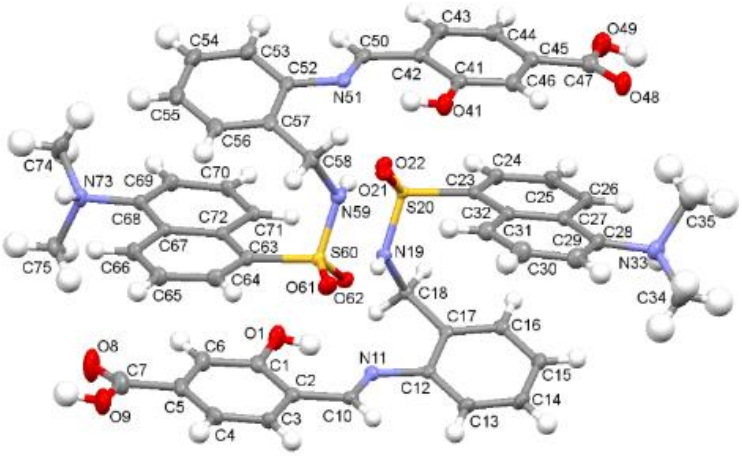


Figura 7.2.1: Estrutura molecular dos dous catións $[H_4L^3]^+$ presentes na unidade asimétrica de $[H_4L^3]Cl{\cdot}0{,}92{\cdot}H_2O$.

A estrutura molecular de dous catións $[H_4L^3]^+$ veciños móstrase na figura 7.2.1 como un diagrama de elipsoides, que inclúe un esquema de etiquetaxe. A unidade asimétrica de $[H_4L^3]Cl{\cdot}0{,}92\ H_2O$ está formada por dúas moléculas catiónicas de $[H_4L^3]^+$ cristalograficamente independentes, que mostran os seus átomos de nitróxeno amínicos protonados (N33 e N73), dous anións cloruro, e varias moléculas de auga desordenada (con sitios de baixa ocupación), que suman 0,92, por unidade asimétrica. Hai que sinalar que un dos anións cloruro, así como un dos residuos dansilo (C63-C75) están desordenados en dous sitios diferentes (0,832 e 0,168). Algúns dos parámetros cristalinos e datos de refinamento máis importantes están resumidos na táboa 2.8.1, capítulo 2. Os parámetros xeométricos (táboa 7.2.1) están dentro dos rangos típicos observados para

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

os residuos relacionados co DsA[243-246] e co ácido 4-formil-3-hidroxibenzoico[247-249].

As fortes ligazóns intramoleculares O(1)-H(1)···N(11) e O(41)-H(41)···N(51), así como as interaccións de tipo *π-stacking*, estabilizan a configuración destas dúas moléculas (táboas 7.2.2-7.2.3). Os enlaces intermoleculares mutuos entre N(19)-H(19)···O(61) e N(59)-H(59)···O(21) conectan as moléculas veciñas para formar dímeros con enlaces de H. O empaquetamento cristalino refórzase mediante interaccións entre os grupos HMe_2N^+- e HOOC- coas moléculas de auga solvatadas e cos anións cloruro.

---

[243]Bhatt, P.; Govender, T.; Krugera, H. G., *et al.*; The crystal structure of 2-[5-(dimethylamino)naphthalene-1-sulfonamido]phenyl 5-(dimethylamino)naphthalene-1-sulfonate. *Acta Cryst.* **2011,** *E*67, 2458–2459

[244]Qiu, L.; Jiang, P.; He, W., *et al.*; Structural and fluorescent study of zinc complexes of dansyl aminoquinoline. *Inorg. Chim. Acta* **2007,** 360, 431–438.

[245]Zhou, S.; Zhou, Z.-Q.; Zhao, X.-X., *et al.*; Hg(2+) mediated quinazoline ensemble for highly selective recognition of Cysteine. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015,** 148, 348–354.

[246]Patrascu, B.; Mocanu, S.; Coman, A., *et al.*; Synthesis of Fluorescent Dansyl Derivatives of Methoxyamine and Diphenylhydrazine as Free Radical Precursors. *Int. J. Mol. Sci.* **2020,** 21, 3559/1-3559/9.

[247]Celedón, S.; Roisnel, T.; Artigas, V., *et al.*; Palladium(ii) complexes of tetradentate donor-acceptor Schiff base ligands: Synthesis and spectral, structural, thermal and NLO properties. *New J. Chem.* **2020,** 44, 9190-9201.

[248]Fondo, M.; Doejo, J.; García-Deibe, A. M., *et al.*; A Ni8 metallacalix[4]arene and a Cu4 molecular rhomboid: Limiting the nuclearity of carboxysalen-like metal complexes. *CrystEngComm.* **2016,** 35, 6673 – 6682.

[249]Fondo, M.; Doejo, J.; García-Deibe, A. M., *et al.*; Carboxylic decorated Schiff base complexes as metallotectons for hydrogen bonded 3D networks. *Polyhedron* **2015,** 101, 78-85.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 7.2.1: Lonxitudes de enlace [Å], ángulos de enlace e ángulos diedros [°] medidos para a estrutura cristalina $[H_4L^3]Cl{\cdot}0{,}92\ H_2O$ e calculados teoricamente para o dímero H_3L^3.

	$[H_4L^3]Cl$ estrutura cristalina	**H_3L^3 dímero M062X/ 6-31G***		**$[H_4L^3]Cl$ estrutura cristalina**	**H_3L^3 dímero M062X/ 6-31G***
O(1)-C(1)	1,341(3)	1,3379	O(41)-C(41)	1,342(3)	1,3376
C(7)-O(8)	1,196(3)	1,2053	C(47)-O(48)	1,215(3)	1,2093
C(7)-O(9)	1,314(3)	1,3474	C(47)-O(49)	1,327(3)	1,3454
C(10)-N(11)	1,282(3)	1,2836	C(50)-N(51)	1,286(3)	1,2801
N(11)-C(12)	1,420(3)	1,4124	N(51)-C(52)	1,423(3)	1,4132
C(18)-N(19)	1,479(3)	1,4640	C(58)-N(59)	1,484(3)	1,4810
N(19)-S(20)	1,6116(18)	1,6571	N(59)-S(60)	1,6080(19)	1,6585
S(20)-O(22)	1,4375(16)	1,4526	S(60)-O(61)	1,4339(16)	1,4579
S(20)-O(21)	1,4385(16)	1,4531	S(60)-O(62)	1,4388(16)	1,4556
S(20)-C(23)	1,773(2)	1,7926	S(60)-C(63)	1,791(5)	1,7903
C(28)-N(33)	1,483(3)	1,4204	C(68)-N(73)	1,485(4)	1,4194
N(33)-C(35)	1,493(3)	1,4620	N(73)-C(74)	1,491(4)	1,4506
N(33)-C(34)	1,497(3)	1,4516	N(73)-C(75)	1,505(4)	1,4612
O(1)-C(1)-C(2)	122,2(2)	123,10	O(41)-C(41)-C(42)	122,6(2)	123,17
O(8)-C(7)-O(9)	123,6(2)	122,23	O(48)-C(47)-O(49)	123,1(2)	122,21
C(10)-N(11)-C(12)	123,46(19)	120,26	C(50)-N(51)-C(52)	121,9(2)	120,20
N(19)-C(18)-C(17)	111,27(16)	110,88	N(59)-C(58)-C(57)	112,60(17)	110,90
C(18)-N(19)-S(20)	121,09(15)	119,13	C(58)-N(59)-S(60)	120,65(16)	119,20
O(22)-S(20)-O(21)	117,74(10)	120,95	O(61)-S(60)-O(62)	117,94(10)	120,88
N(19)-S(20)-C(23)	106,47(10)	106,05	N(59)-S(60)-C(63)	107,4(3)	106,06
C(28)-N(33)-C(35)	112,9(2)	113,62	C(68)-N(73)-C(74)	114,8(3)	115,64
C(28)-N(33)-C(34)	113,8(2)	115,64	C(68)-N(73)-C(75)	110,6(3)	113,59
C(35)-N(33)-C(34)	110,5(2)	110,80	C(74)-N(73)-C(75)	110,5(3)	110,84
C(10)-N(11)-C(12)-C(13)	15,58	-40,07			
C(18)-N(19)-S(20)-C(23)	-47,85(18)	-49,48			
C(71)-N(72)-C(73)-C(74)	15,58	-40,07			
C(58)-N(59)-S(60)-C(63)	52,0(2)	49,52			

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

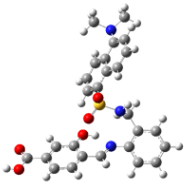
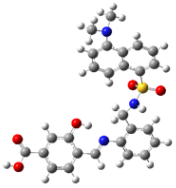
Táboa 7.2.2: Enlaces de hidróxeno de $[H_4L^3]Cl{\cdot}0{,}92\ H_2O$ [Å e º.]

D-H···A	d(D-H)	d(H···A)	d(D···A)	< (DHA)
O(1)-H(1)...N(11)	0,82(3)	1,83(3)	2,588(3)	153(3)
O(9)-H(9)...Cl(2^a)	0,92(3)	2,14(4)	3,051(2)	169(3)
O(9)-H(9)...Cl(2B^b)	0,92(3)	2,06(4)	2,923(14)	155(3)
O(9)-H(9)...Cl(2C^c)	0,92(3)	2,16(4)	2,975(17)	147(3)
O(9)-H(9)...Cl(2D^d)	0,92(3)	2,20(4)	3,10(3)	165(3)
N(19)-H(19)...N(11)	0,82(3)	2,61(3)	3,000(3)	111(2)
N(19)-H(19)...O(62)	0,82(3)	2,18(3)	2,975(2)	164(3)
N(33)-H(33)...Cl(1)	0,96(3)	2,09(3)	3,014(2)	160(3)
O(41)-H(41)...N(51)	0,84(3)	1,90(3)	2,650(3)	148(3)
O(49)-H(49)...Cl(1)#1	0,89(3)	2,14(3)	3,018(2)	172(3)
N(59)-H(59)...O(21)	0,79(3)	2,22(3)	2,983(2)	162(3)
N(59)-H(59)...N(51)	0,79(3)	2,55(3)	2,997(3)	118(2)
N(73^a)-H(73^a)...O11^a	1,00(4)	1,76(4)	2,726(4)	160(3)
O11^a-H11^a...Cl(2^a)#2	0,9583(10)	2,128(3)	3,085(2)	177(2)
O11^a-H21^a...O12^a	0,9583(10)	1,813(8)	2,743(4)	163(2)
O12^a-H12^a...Cl(2^a)	0,9585(10)	2,278(8)	3,196(3)	160,1(18)
O12^a-H22^a...O(48)#3	0,9585(10)	1,914(7)	2,858(3)	168(3)
O13^b-H13^b...Cl(2B^b)	0,9584(12)	2,24(9)	3,13(2)	154(18)
O13^b-H23^b...N(73B^b)	0,9584(11)	2,3(2)	2,82(2)	113(15)

Transformacións de simetría empregadas para xerar átomos equivalentes: #1 -x+1,-y+1,-z+2 #2 -x+1,-y,-z #3 x,y,z-1

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 7.2.3: M062x/6-31G Enerxías relativas (en kcal/mol) para os confórmeros estables de H_3L^3.*

Confórmero	**I**	 **II**	 **III**
Enerxía relativa (kcal/mol)	0,00	4,68	6,22

Tomando como punto de partida a información cristalográfica anterior, obtívose a xeometría optimizada M062X/6-31G* para unha soa unidade de H_3L^3 (representada como I na figura 7.2.2).

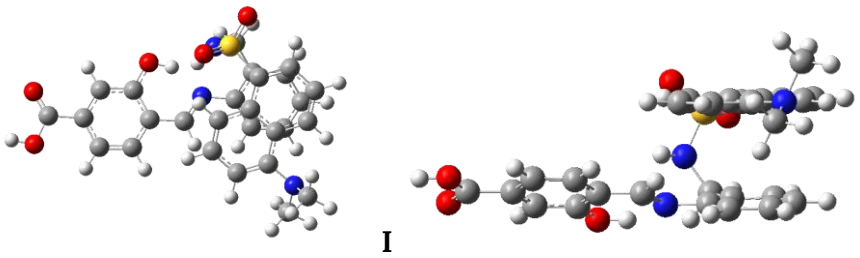


Figura 7.2.2: Dúas vistas diferentes para o confórmero calculado máis estable (I) de H_3L^3.

Dado que a xeometría experimental dispoñible para o ligando H_3L^3 corresponde á de dúas unidades veciñas no cristal de $[H_4L^3]Cl{\cdot}0{,}92\ H_2O$, obtivemos a estrutura teórica para o dímero de H_3L^3 (figura 7.2.3). Esta xeometría optimizada M062X/6-31G* mostra unha excelente

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

concordancia coa estrutura da unidade asimétrica do cristal de $[H_4L^3]Cl{\cdot}0{,}92\ H_2O$, con diferenzas de lonxitude e ángulos de enlace entre os valores experimentais e teóricos inferiores a 0,06 Å e 3,5°, respectivamente (táboa 7.2.1).

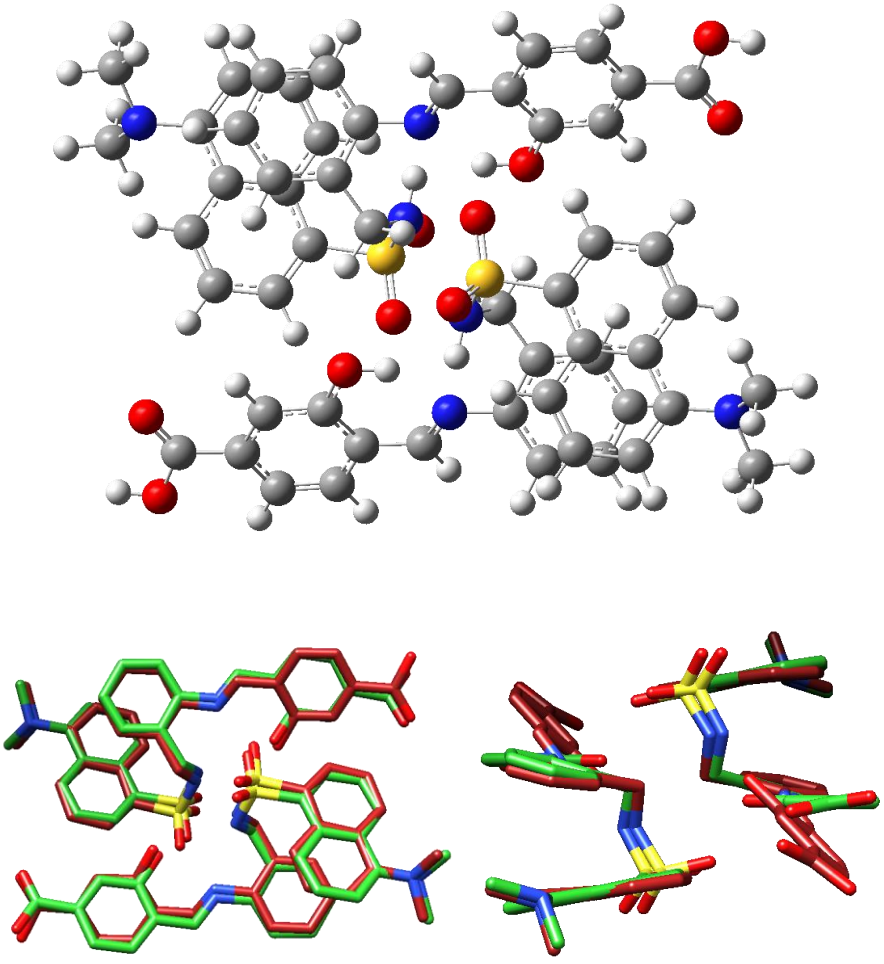


Figura 7.2.3: Estrutura optimizada M062x/6-31G para o dímero de H_3L^3. Superposición da estrutura de $[H_4L]Cl{\cdot}0{,}92H_2O$ e da xeometría teórica do dímero H_3L^3 (verde e vermello respectivamente).*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.3. Caracterización espectroscópica de H_3L^3

A caracterización espectroscópica de H_3L^3 levouse a cabo mediante as seguintes técnicas analíticas: ATR-FTIR, UV-Vis, RMN de ^1H, e espectroscopía de fluorescencia molecular. Empregáronse cálculos DFT (Teoría do Funcional da Densidade) para axudar á correcta asignación das bandas nos espectros IR e UV-Vis. A asignación das bandas dos espectros de ATR-FTIR e UV-Vis, levouse a cabo tomando como referencia os espectros calculados, empregando a Teoría do Funcional da Densidade. A asignación das sinais dos espectros de RMN e fluorescencia realizouse acorde coa bibliografía dispoñible.

8.3.1. ATR-FTIR

O espectro de ATR-FTIR (figura 7.3.1) mostra de maneira inequívoca a presenza dunha banda aguda e forte sobre 1613 cm^{-1}, a cal se corresponde coa formación do grupo imino. Ademais, a ausencia das dúas bandas a 3473 e 3383 cm^{-1} que se corresponden aos modos ν_{as} HNH e ν_s HNH respectivamente, é unha clara evidencia de que a condensación entre o grupo amino de DsA e o grupo aldehido do ácido 4-formil-3-hidroxibenzoico tivo lugar. Os espectros IR, tanto o calculado teoricamente como o obtido experimentalmente para H_3L^3, amósanse na figura 7.3.1. Na táboa 7.3.1 recóllese unha asignación detallada das bandas IR, tanto experimentalmente atopadas como das calculadas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

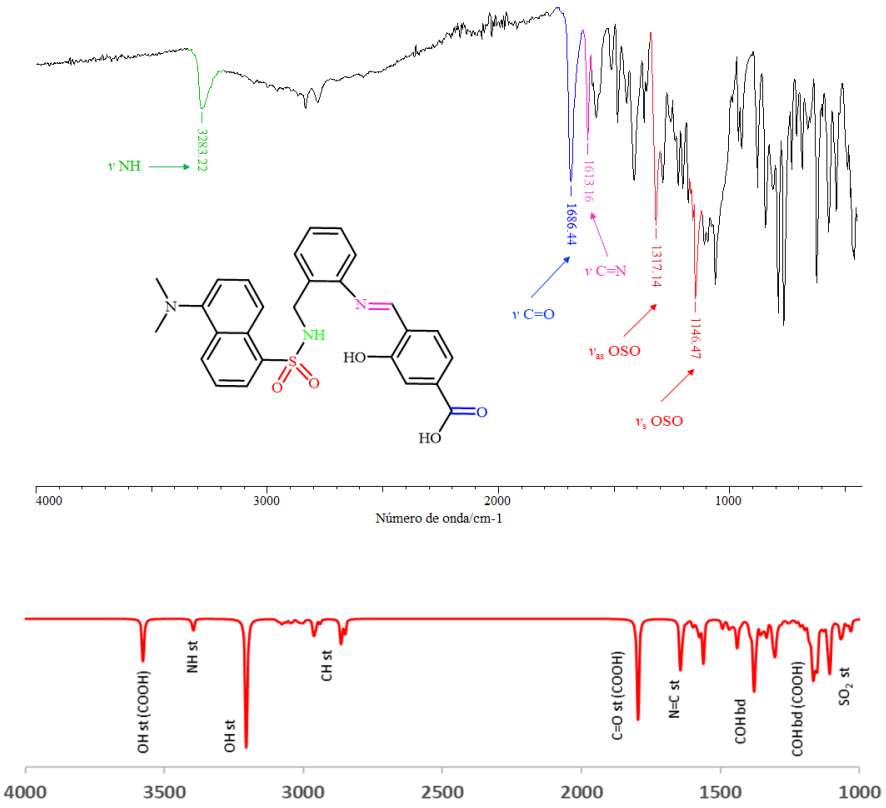


Figura 7.3.1: Superior: espectro ATR-FTIR do ligando H_3L^3 coa asignación das bandas dos grupos funcionais máis importante. Inferior: espectro calculado mediante DFT.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 7.3.1: Valores das frecuencias vibracionais (cm^{-1}) experimentais e calculadas para H_3L^3.

Valores experimentais	**Valores teóricos**	**Asignación dos modos normais de vibración[a]**
1052	1063	N-C tensión (anilina)
1145	1109	O=S=O tensión simétrica
1221	1164	C-O-H flexión (grupo COOH)
1317	1303	O=S=O tensión simétrica + N-H flexión + CH_2 flexión
1412	1377	C-O-H flexión (anel fenólico)
1483	1441	C=C tensión simétrica (anel fenólico) + C-O-H flexión (anel fenólico)
1576	1562	C=C tensión simétrica (anel fenólico) + C-O-H flexión (anel fenólico)
1613	1642	N=C tensión
1686	1796	C=O tensión (grupo COOH)
2781	2850	C-H tensión simétrica (N-CH_3 dansilo)
	2864	C-H tensión simétrica (N-CH_3 dansilo)
2833	2957	C-H tensión simétrica (N-CH_3 dansilo)
	2960	C-H tensión (N=C-H)
	2962	C-H tensión simétrica (N-CH_3 dansilo)
3283	3204	O-H tensión (anel fenólico)
	3396	N-H tensión (anilina)
	3575	O-H tensión (grupo COOH)

[a] *O erro medio para estas asignacións é de 43 cm^{-1}.*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.3.2. UV-Vis

Na figura 7.3.2 amosase o espectro UV-Vis do ligando obtido experimentalmente, realizado en etanol absoluto, onde se sinalan con frechas de diferentes cores as bandas e as fraccións da estrutura do ligando coas que se corresponden. A maiores das bandas de absorción intraligando características da fracción de DsA, obsérvase un ombro a aproximadamente 265 nm que se pode atribuír ao grupo imino[250] de H_3L^3. O espectro electrónico teórico de H_3L^3 (figura 7.3.2) mostra tres sinales dominantes situadas ao redor de 323, 263 e 224 nm que aparecen desprazadas cara ao azul con respecto ás observadas experimentalmente (340, 248 e 224 nm). A análise dos orbitais moleculares implicados en cada transición electrónica de H_3L^3 e os correspondentes orbitais de transición naturais (táboa 7.3.2), indica que as bandas a 323 e 263 nm corresponden a transicións π-π* centradas principalmente na rexión cuasiplanar hidroxibenzoico/anilina. O orbital ocupado para a transición a 263 nm mostra unha notable contribución dos orbitais centrados no grupo C=N. A banda con λ_{max} a 224 nm corresponde a unha transición fortemente mesturada que pode asignarse principalmente a unha transición π-π* centrada nos orbitais dos aneis aromáticos con interacción π-π.

[250]Beijnen, A. J. M. V.; Nolte, R. J. M.; Naaktgeboren, A. J., *et al.*; Helical configuration of poly(iminomethylenes). Synthesis and CD spectra of polymers derived from optically active isocyanides. *Macromolecules* **1983,** *16*, 1679-1689.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

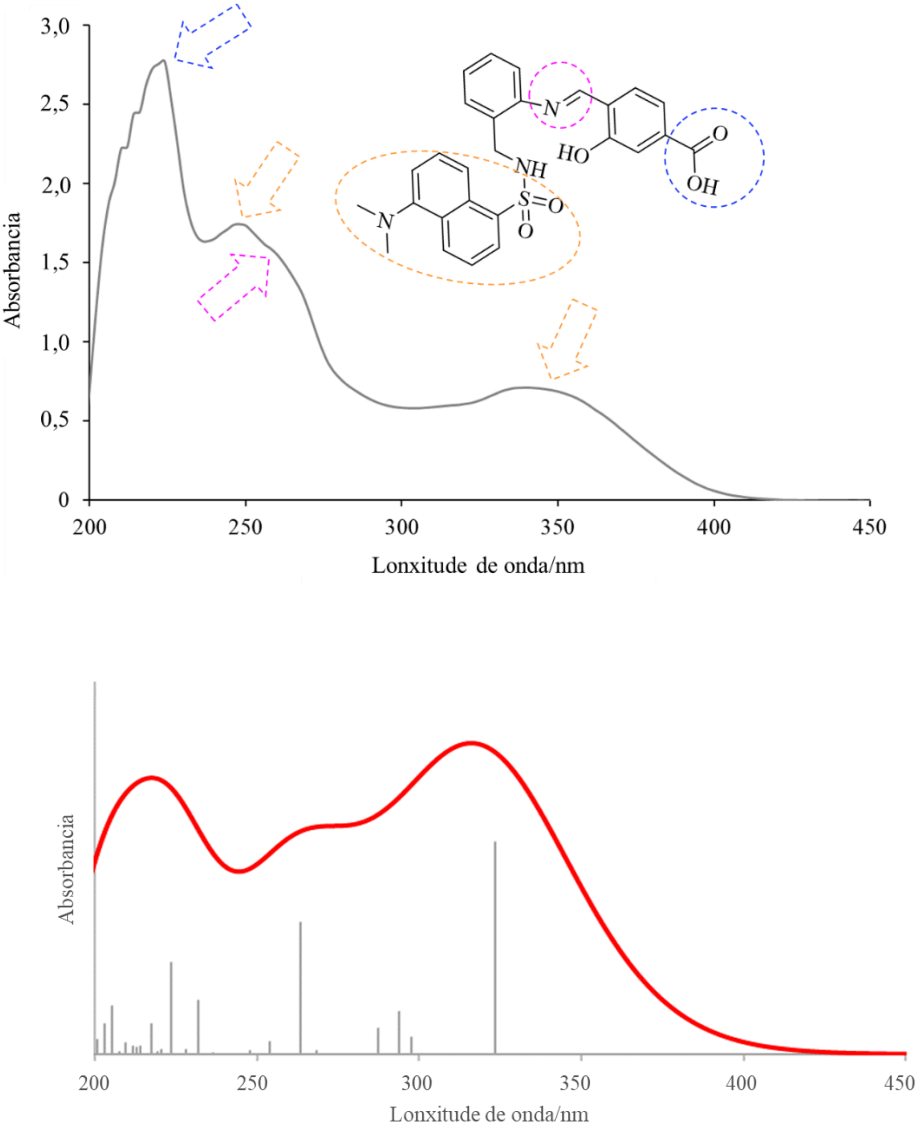
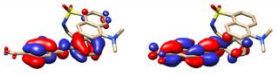
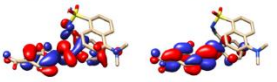
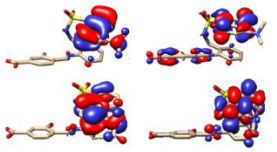


Figura 7.3.2: Superior: espectro UV-Vis do H_3L^3 obtido experimentalmente. Inferior: espectro UV-Vis teórico obtido mediante o programa M062X/6-31G. As líneas verticais correspóndense ás transicións electrónicas individuais (táboa 7.3.2).*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 7.3.2: Orbitais moleculares implicados nas tres transicións máis intensas que orixinan o espectro UV-Vis de H_3L^3.

Lonxitude de onda(nm)	Forza do oscilador	Orbitais moleculares		Orbitais naturais de transición [a]	
323,4	(0,42700)	HOMO-1 → LUMO HOMO → LUMO	72,3% 19,6%		(92%) [a]
263,3	(0,26370)	HOMO-6 → LUMO HOMO-2 → LUMO HOMO-10 → LUMO HOMO-1 → LUMO HOMO-9 → LUMO	26,7% 25,4% 12,3% 6,4% 6,1%		(84%)
223,7	(0,18510)	HOMO-4 → LUMO+1 HOMO → LUMO+2 HOMO-4 → LUMO HOMO-3 → LUMO+1 HOMO → LUMO+4	27,0% 25,1% 6,5% 5,7% 5,4%		(42%) (33%)

[a]A *contribución dos pares representados* ONT ás transicións electrónicas está entre paréntese.

8.3.3. RMN-^1H

Con respecto ao espectro de RMN de ^1H (figura 7.3.3) amósase unha completa asignación, baseada na bibliografía[251-253] para cada unha das sinais que aparecen. A sinal máis destacable e significativa é o singlete correspondente a un protón que aparece a 8,66 ppm, a cal se corresponde co protón do grupo imino do ligando. Ademais, cabe destacar a

[251]Sanmartín-Matalobos, J.; Portela-García, C.; Fondo, M., *et al.*; A simple route to dinuclear complexes containing unusual μ -Nsulfonamido bridges. *Journal of Coordination Chemistry* **2016,** 69 (8), 1358-1370.
[252]Wantulok, J.; Szala, M.; Quinto, A., *et al.*; Synthesis, Electrochemical and Spectroscopic Characterization of Selected Quinolinecarbaldehydes and Their Schiff Base Derivatives. *Molecules* **2020,** 25 (9).
[253]Sanmartín, J.; Novio, F.; García-Deibe, A. M., *et al.*; Trimorphism of an asymmetric disulfonamide Schiff base. *New J. Chem.* **2007,** 31 (9), 1605-1612.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

desaparición da sinal do grupo amino de DsA a 4,83 ppm, o que constitúe unha clara evidencia da formación do ligando H_3L^3.

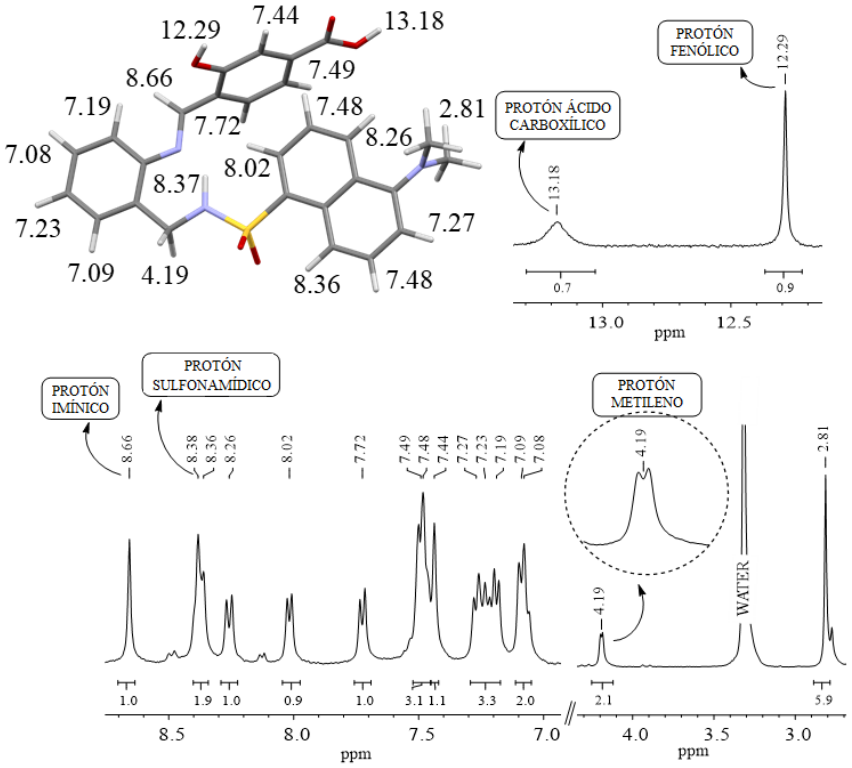


Figura 7.3.3: Espectro de RMN de1H asignado do ligando H_3L^3.

8.3.4. *Espectroscopía de fluorescencia*

A figura 7.3.4 amosa que H_3L^3 emite fluorescencia tanto en forma de po como en disolución. Baixo unha fonte de luz UV a 365 nm, H_3L^3 emite unha fluorescencia amarela en forma de po, e verde en disolución etanólica.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

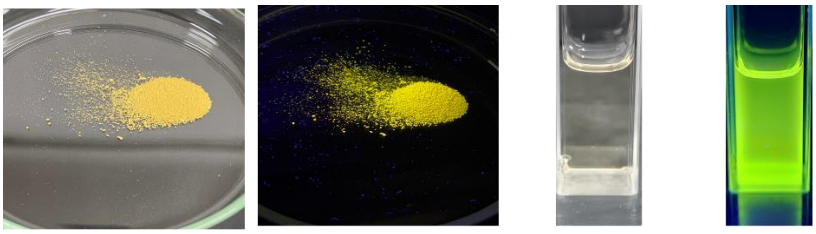


Figura 7.3.4: Efecto da luz UV (365 nm) sobre unha mostra sólida (esquerda) do ligando H_3L^3 e sobre unha disolución súa en etanol absoluto (dereita).

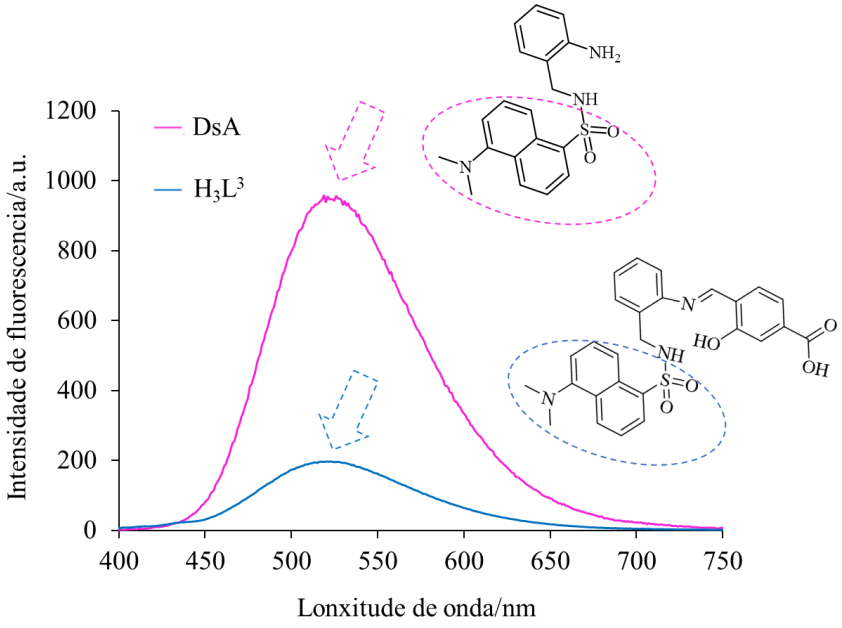


Figura 7.3.5: Espectros de fluorescencia de DsA ($\lambda_{máx}$ = 520) e H_3L^3 ($\lambda_{máx}$ = 510) en etanol absoluto, obtidos nas mesmas condicións.

Na figura 7.3.5 pódese ver a banda de fluorescencia de H_3L^3, menos intensa que a do seu precursor, DsA, nas mesmas condicións de medida.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Dita banda, con $\lambda_{máx}$ = 510, relacionase co residuo dansilo, e asóciase coa característica banda de transferencia de carga entre o grupo dimetilamino doador e o grupo sulfonilo.

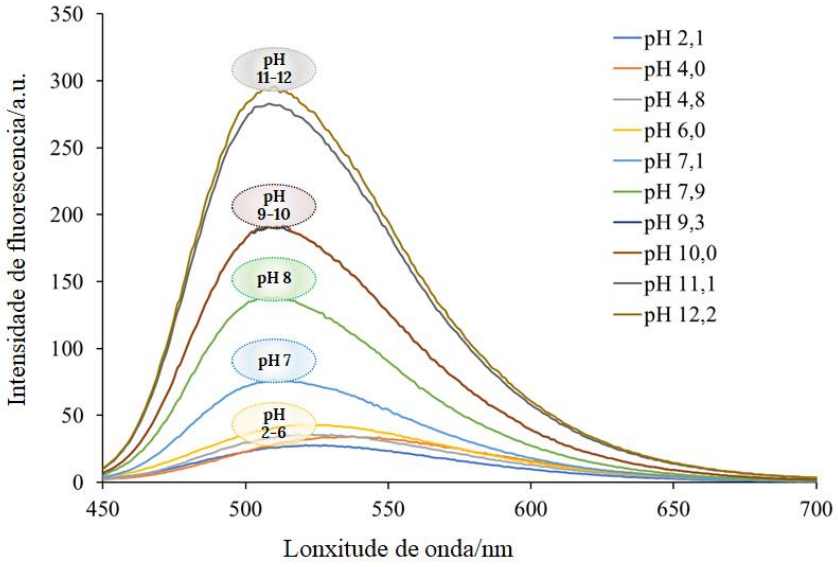


Figura 7.3.6: Influencia do pH no espectro de fluorescencia do H_3L^3 (4,44·10^{-4} M), empregando etanol absoluto como disolvente (pH 2,1-12,2) a temperatura ambiente.

Realizouse un estudo de como inflúe a variación do pH no espectro de fluorescencia de H_3L^3 en disolución, empregando como disolvente etanol absoluto (figura 7.3.6). O uso deste disolvente polar xustifícase pola elevada intensidade da emisión, e o pronunciado desprazamento de Stokes (ao redor de 110 nm) que se obteñen nas medidas. Unha solución etanólica de H_3L^3 a pH neutro emite unha fluorescencia verde, con $\lambda_{máx}$ a uns 510 nm, cando se expón a luz visible cunha lonxitude de onda de 400 nm. O estudo da influencia do pH no espectro de fluorescencia de H_3L^3

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

mostrou un aumento da intensidade de fluorescencia co aumento do pH, o que concorda coa desprotonación de H_3L^3. A monodesprotonación de H_3L^3 é esperable a valores de pH inferiores a 7, xa que o valor pK_a do grupo carboxílico sitúase ao redor de 4. A desprotonación dos grupos fenol e sulfonamida require valores de pH máis elevados, xa que o pK_a destes grupos sitúase ao redor de 9. Ademais, valores de pH ao redor de 6 (e inferiores) dan lugar á protonación do grupo dimetilamino, que vai acompañada dun desprazamento batocrómico de λ_{em} (525 nm). Isto pode deberse ao aumento do poder de atracción de electróns do grupo sulfonilo tras a protonación do átomo de nitróxeno da amina.

8.4. Estudo da interacción de H_3L^3 con Cu^{2+} e Cd^{2+}

H_3L^3 incorpora un dominio enlazante N,N,O que lle permite a formación de enlaces de coordinación con metais de acidez de Lewis media, como é o caso do ión Cu^{2+}, pero que tamén é apropiado para coordinar ácidos de Lewis brandos, como é o caso do ión Cd^{2+}. H_3L^3, a través dos átomos de O dadores do grupo sulfonamido, pode participar tamén na coordinación mediante enlaces, en xeral, mais débiles que os anteriores. A maiores, H_3L^3 posúe un grupo ácido que lle confire maior solubilidade en disolventes polares, e que permite a súa inmobilización en papel de celulosa para usalo como sensor fluorescente de nanomateriais con ións Cu^{2+} ou Cd^{+2} na súa composición.

Para gañar un mellor entendemento do comportamento coordinativo de H_3L^3 fronte a Cu^{2+} ou Cd^{+2}, sintetizáronse os complexos por dúas vías alternativas, mediuse a afinidade do ligando polos citados

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

metais, e analizáronse os cambios espectrais derivados da coordinación. Os complexos moleculares que se obtiveron foron investigados en disolución, mediante técnicas espectroscópicas como RMN, UV-Vis e fluorescencia. En estado sólido, a interacción foi estudada mediante técnicas como análise elemental e ATR-FTIR. Deste xeito, teremos unha referencia fiábel que servirá de apoio para poder interpretar os datos espectroscópicos obtidos como resultado do estudo da interacción entre o ligando H_3L^3 cos nanomateriais de CdSe e CuO. Todos os detalles relacionadas coa síntese e caracterización atópanse na sección experimental.

8.4.1. *Síntese dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_3L^3*

A síntese dos complexos levouse a cabo seguindo dúas vías alternativas, o método electroquímico, e a reacción coa sal metálica, obténdose mellores rendementos co método electroquímico. A elección da estequiometría 1:1 metal–ligando, fundaméntase na semellante acidez dos protóns fenólico e sulfonamídico (pK_a aproximadamente 9) de H_3L^3, o que propicia a conducta dianiónica do ligando. Esta conducta xa foi descrita noutros ligandos N,N,O-dadores que como H_3L^3 conteñen un OH fenólico e un NH sulfonamídico, e que deron lugar a complexos dinucleares con pontes sulfonamídicos.[251,254]

[254]Sanmartín-Matalobos, J.; Fondo, M.; Zarepour-Jevinani, M.; García-Deibe, A.M. Taking Advantage of the Coordinative Behavior of a Tridentate Schiff Base Ligand towards Pd^{2+} and Cu^{2+}. *Crystals* **2019**, 9, 407.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.4.2. *Caracterización dos complexos de Cu^{2+} ou Cd^{+2} con H_3L^3*

Os resultados da análise CHNS (sección experimental) mostraron que os complexos de cobre(II) e cadmio(II) obtivéronse cunha estequiometría 1:1 (metal:ligando). Isto é coherente coa formación dun complexo dinuclear M_2L_2 con ponte sulfonamido.

8.4.3. *ATR-FTIR*

O espectros IR dos complexos de cobre(II) e cadmio(II) mostraron unha banda ancha centrada ao redor de 3360 cm^{-1} atribuíble a ν(OH) que evidenciou a obtención dos complexo hidratados (figura 7.4.1). Os lixeiros desprazamentos de ν(NC), $\nu_{as}(SO_2)$ e $\nu_s(SO_2)$ a números de onda máis baixos (1-5 cm^{-1}) así como a ausencia de δ(COH) fenólico (1412 cm^{-1}) é un sinal de que a coordinación ten lugar a través dos átomos de O_{fenol}, N_{imino} e $N_{sulfonamida}$ do ligando. A observación de dúas bandas atribuíbles a ν_{as} (COO^-) e $\nu_s(COO^-)$ a uns 1574 e 1393 cm^{-1}, respectivamente, en lugar dunha única banda a 1686 cm^{-1} indica a desprotonación do grupo carboxílico do ligando nos seus complexos. A carga neta cero dos complexos pódese conseguir porque as unidades do ligando poden adoptar a forma zwitteriónica, na que o grupo carboxílico está desprotonado, mentres que o átomo de N da amina está protonado.

8.4.4. *UV-Vis*

Os espectros electrónicos dos complexos de cobre(II) e cadmio (II) (figura 7.4.2) mostran tres sinales dominantes ao redor de 219, 244 e 336 nm que aparecen desprazadas cara ao azul uns 5 nm con respecto ao ligando libre (224, 248 e 340 nm). A complexación metálica de H_3L^3 con

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Cu^{2+} e Cd^{2+} achega unha nova banda de absorción ao redor de 410 nm, que se asignou a unha transferencia de carga ligando-metal (LMTC). A observación dunha nova banda de absorción a uns 680 nm atribuíble a unha transición d-d ($^2Eg \leftarrow {}^2T_{2g}$) no espectro UV-Vis do complexo dinuclear de cobre(II) (figura 7.4.3), é un signo de hexa coordinación.[255] Por tanto, dúas moléculas de auga deben completar a esfera de coordinación ao redor de cada ión metálico ocupando as posicións vacantes deixadas polo ligando base Schiff dianiónico.

[255]Blasco, S.; Burguete, M. I.; Clares, M. P., *et al.*; Coordination of Cu2+ Ions to C2 Symmetric Pseudopeptides Derived from Valine. *Inorg. Chem.* **2010,** 49, 7841–7852

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

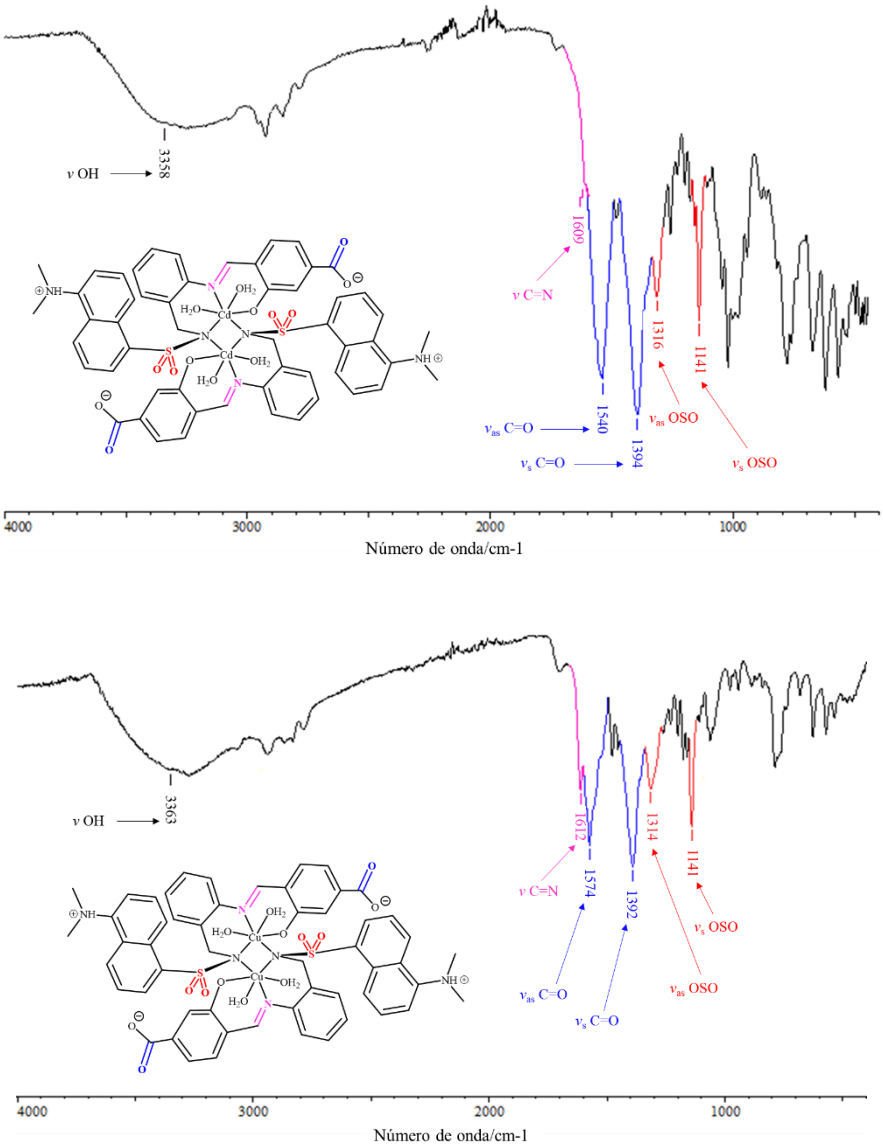


Figura 7.4.1: *Vista dos espectros* ATR-FTIR *do complexo de cadmio(II) (superior) e do complexo de cobre(II) (inferior), coa asignación dos sinais dos grupos funcionais máis notables das moléculas en cada un dos esquemas correspondentes.*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

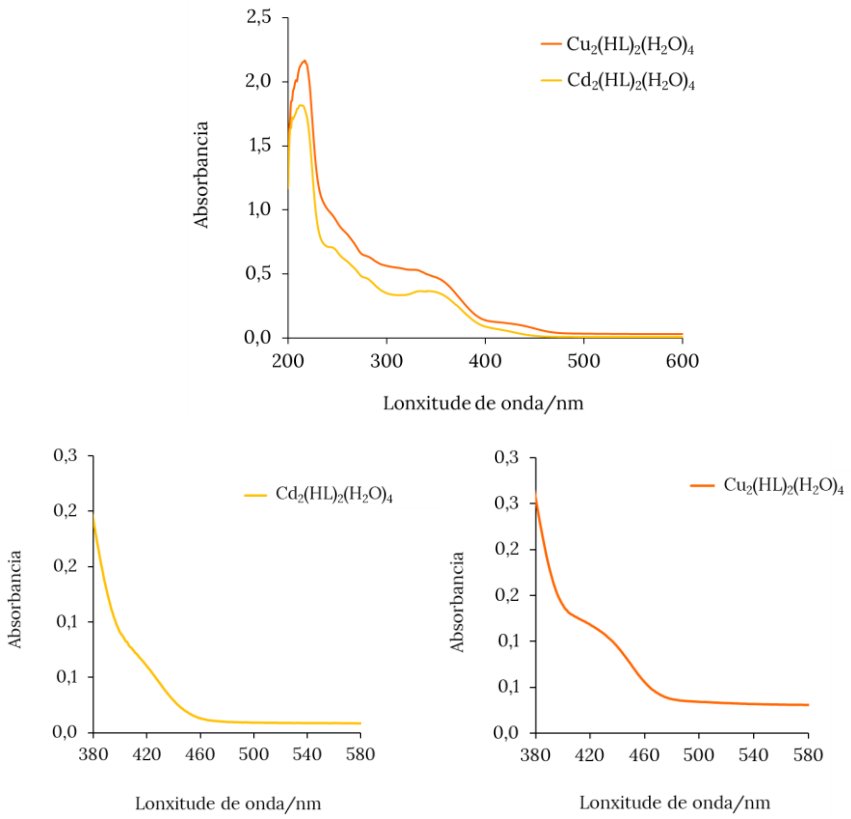


Figura 7.4.2: Superior: Vista dos espectros UV-Vis dos complexos de cadmio(II) e cobre(II) en etanol. Inferior: Ampliación dos espectros dos complexos de cadmio(II) e cobre(II) na rexión de 380-580 nm para ver más facilmente unha nova banda de absorción (como un ombro) a uns 410 nm (LMTC).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

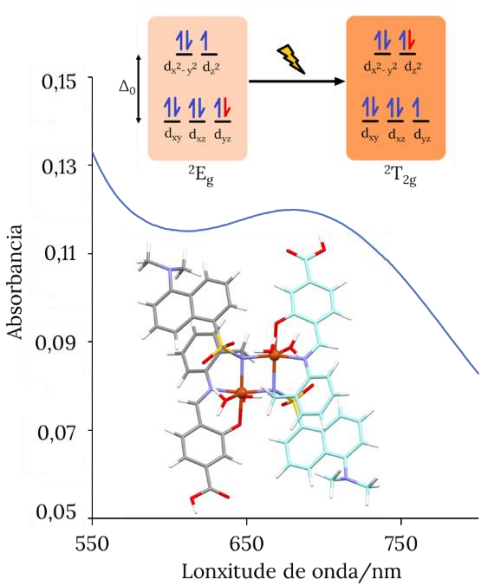


Figura 7.4.3: Vista da transición d-d no espectro UV-Vis do complexo dinuclear de cobre(II) (en etanol). Amósase un modelo 3D da molécula co ión Cu^{2+} *nun entorno octaédrico.*

8.4.5. *Estudos teóricos: DFT*

A estrutura xeométrica do complexo de cobre(II) analizouse mediante métodos teóricos. Baseándonos nos resultados experimentais (análises CHNS, espectros infravermellos e electrónicos) e en estudos anteriores,[251,254,256] puidemos obter a xeometría optimizada do complexo dinuclear cunha ponte sulfonamídica representado na figura 7.4.4. A

[256]Sanmartín-Matalobos, J.; García-Deibe, A. M.; Fondo, M., *et al.*; Exploration of an easily synthesized fluorescent probe for detecting copper in aqueous samples. *Dalton Trans.* **2017,** 46, 15827–15835.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

estrutura é simétrica, cun centro de inversión situado no centro do cadrado distorsionado formado polos dominios enlazantes de ambas as unidades de ligando. Unha análise detallada da contorna dos ións metálicos mostra un entorno de coordinación 6 que comprende un sitio de unión N,N,O dunha unidade de ligando, unha ponte N sulfonamídica da unidade de ligando veciña e dúas moléculas de auga que completan a súa esfera de coordinación.

8.4.6. RMN-^{1}H

O espectro de RMN de ^{1}H do complexo de cadmio(II) revelou a existencia dun comportamento quelatante do ligando H_3L^3 a través do átomo de O do grupo fenol, do N do grupo imino e do N sulfonamídico. No espectro de RMN de ^{1}H amosado na figura 7.4.5 pódese observar a ausencia das sinais que corresponden ao grupo OH do fenol (12.29 ppm), e ao grupo NH sulfonamídico (8.37 ppm), así como o movemento da sinal CH=N a campo alto (sobre 0.3 ppm) que se observaba a 8.63 ppm en H_3L^3. Isto é coherente coa formación dun complexo de cadmio cunha ponte sulfonamídica, isoestrutural co complexo $Cu_2(HL)_2(H_2O)_4{\cdot}10H_2O$, obtido por cálculos DFT.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

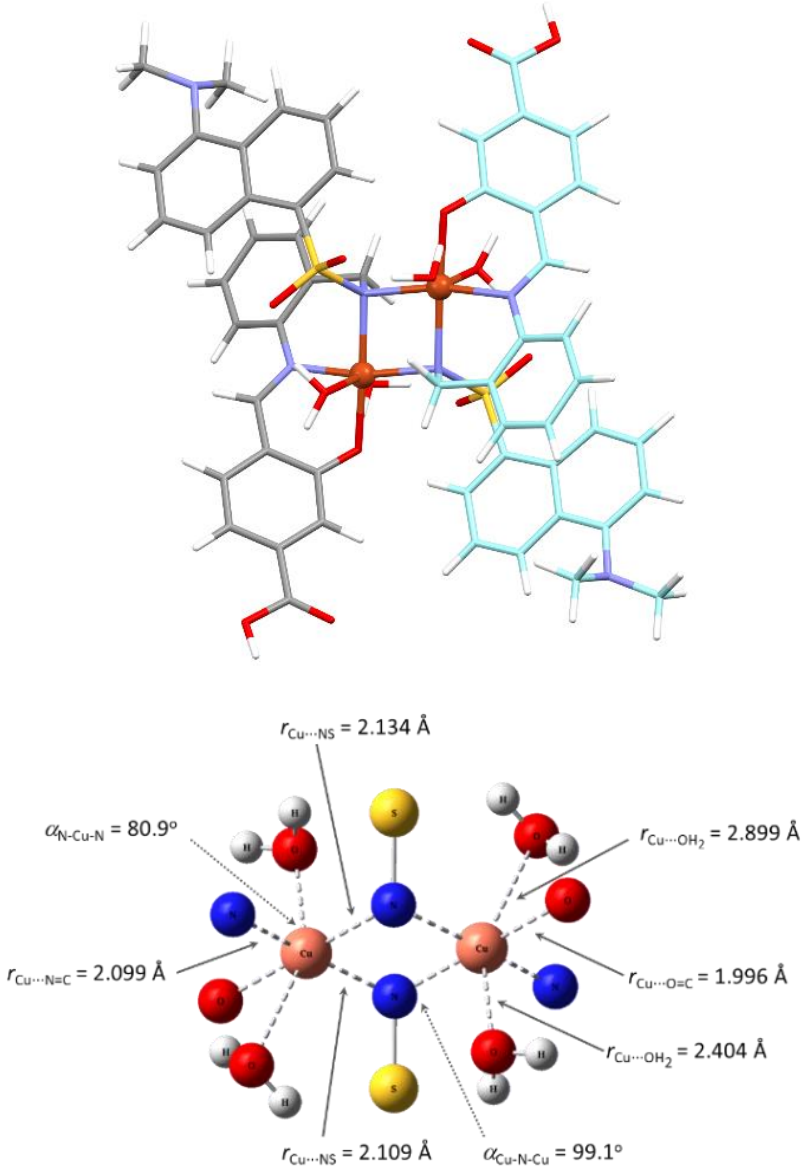


Figura 7.4.4: Superior: Estrutura optimizada (M062X/6-31G) de $Cu_2(HL^3)_2(H_2O)_4$. Inferiror: Entorno coordinativo dos ions cobre(II) con algunhas distancias e ángulos de enlace.*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

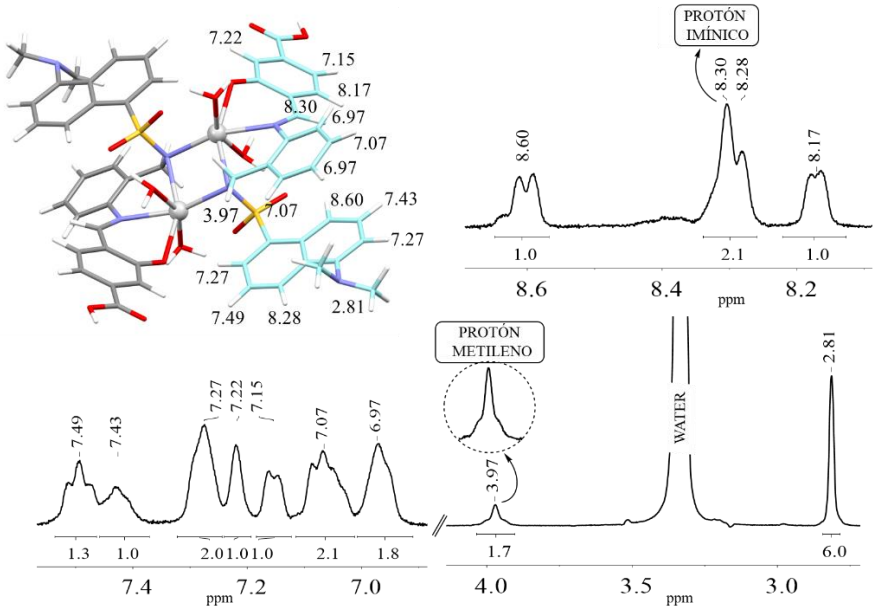


Figura 7.4.5: *Vista do espectro de* RMN-^{1}H *do complexo dinuclear de cadmio(II) (en dmso-*d_6*), cunha asignación de sinais nun modelo 3D da molécula.*

8.4.7. *Espectroscopía de fluorescencia*

Unha disolución en etanol absoluto do complexo de cadmio(II) a pH neutro presenta un máximo de emisión fluorescente ao redor dos 520 nm (λ_{ex} = 400 nm), o que supón un leve desprazamento cara o azul na λ_{em} (efecto hipsocrómico) cando se compara coa lonxitude de onda de emisión obtida para unha disolución en etanol absoluto do H_3L^3 (510 nm). En contraposición, observouse un desprazamento cara o vermello na λ_{em} (efecto batocrómico) dunha disolución de etanol absoluto de complexo de cobre(II) (λ_{em} = 530 nm) cando o se compara co obtido para unha disolución en etanol absoluto de H_3L^3 (figura 7.4.6).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

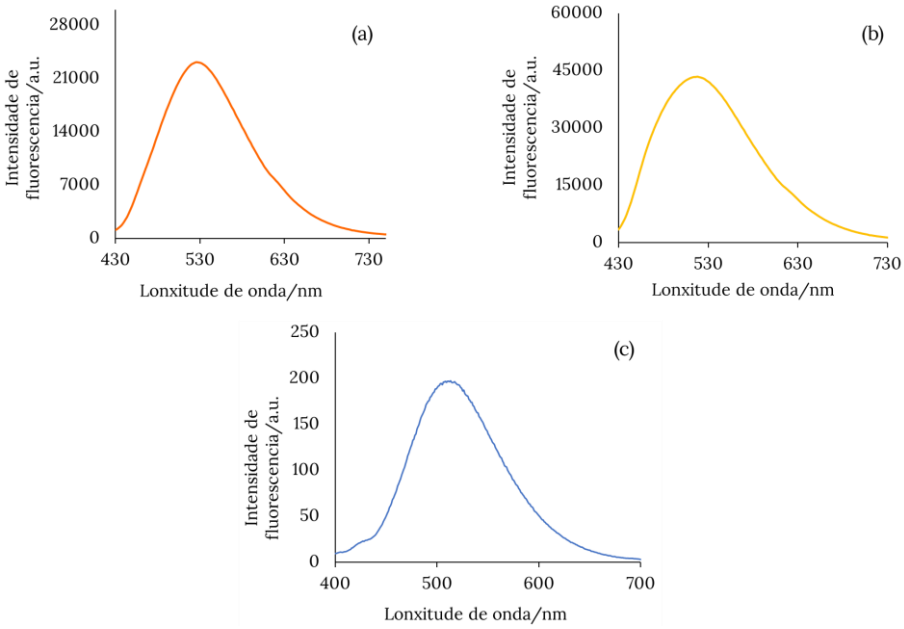


Figura 7.4.6: Vista dos espectros de fluorescencia de (a) complexo de cobre(II) (λ_{em} = 530 nm), (b) complexo de cadmio(II) (λ_{em} = 520 nm) e (c) H_3L^3 (λ_{em} = 510 nm) en disolución de etanol.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.5. Determinación das constantes de enlace de H_3L^3 con ións Cu^{2+} e Cd^{2+}

A determinación das constantes de enlace (K_b) de H_3L^3 cos ións Cu^{2+} e Cd^{2+} realizouse co fin de cuantificar a afinidade do ligando por estes ións. A determinación do valor de K_b, a temperatura ambiente, levouse a cabo mediante espectroscopía de fluorescencia e UV-Vis. K_b obtívose a partir da ecuación de Benesi–Hildebrand[257] (figura 7.5.1) para complexos metálicos cunha relación estequiométrica de 1:1, na que $K_b = b/m$ ($y = mx + b$). A estequiometria metal:ligando que se empregou na determinación da K_b obtívose mediante análise elemental. A táboa 7.5.2 amosa que a afinidade do H_3L^3 por ións Cu^{2+} (ácido intermedio) é dúas veces máis alta que a afinidade por ions Cd^{2+} (ácido brando), independentemente da técnica espectroscópica empregada.

Os valores que se obtiveron para a constante de enlace (K_b) do H_3L^3 con Cu^{2+} e Cd^{2+} mediante espectroscopía UV-Vis foron $8{,}459 \times 10^3$ e $3{,}686 \times 10^3$ M^{-1}, respectivamente. Nun novo estudo, utilizando a mesma ecuación, pero empregando como técnica a espectroscopía de fluorescencia, os valores que se obtiveron para a K_b do ligando H_3L^3 con Cu^{2+} e Cd^{2+} foron $7{,}190 \times 10^3$ e $3{,}709 \times 10^3$ M^{-1}, respectivamente. A

[257]Alves, J. Q.; Máximo, L. N. C.; Franco, L. P., *et al.*; Fluorescence-quenching CdTe quantum dots applied for identification of cocaine-structure analogues. *Anal. Methods* **2019,** *11*, 185-191.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

semellanza entre os valores de K_b obtidos apoia a validez dos datos obtidos.

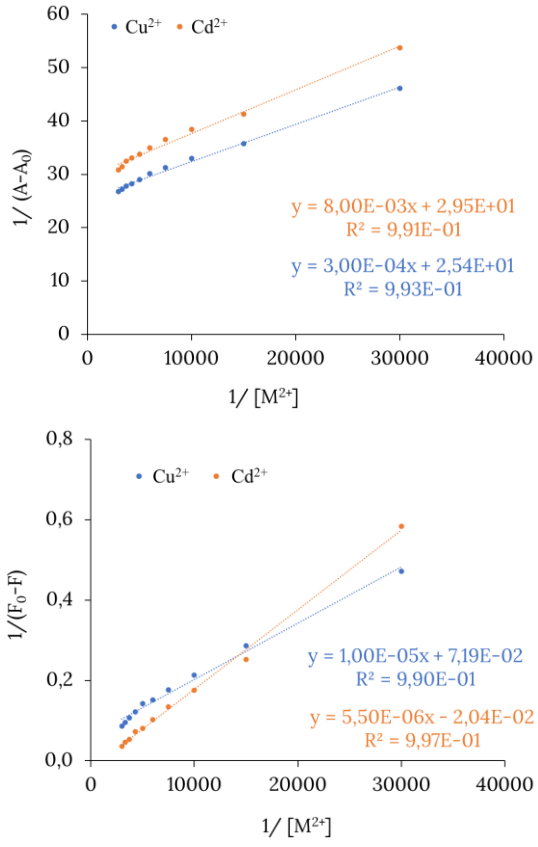


Figura 7.5.1: Representacións da ecuación de Benesi-Hildebrand usando os datos espectroscópicos de UV-Vis (esquerda) e de fluorescencia (dereita) para unha valoración de H_3L^3 (10^{-4} M) con Cd^{2+} e Cu^{2+} (10^{-3} M) nunha disolución 80:20 de etanol:agua.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 7.5.2: Valores da ΔG, K_{SV} e K_b para a reaccións de H_3L^3 con Cu^{2+} e Cd^{2+} (en proporción molar 1:1). Os valores das constantes de enlace obtivéronse a partir da intensidade da emisión de fluorescencia e da absorción UV-Vis.

Especies	ΔG_{Ksv} kJ mol^{-1} (kJ mg^{-1})	$K_{b\ FL}$ M^{-1}	$K_{b\ UV\text{-}Vis}$ M^{-1}	$K_{sv\ 293\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 303\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 313\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})
Cu^{2+}	-22.19 (-22.50)	7190	8459	9010 (10200)	7650 (9820)	6420 (9410)
Cd^{2+}	-19.63 (-20.02)	3709	3686	3150 (3690)	2780 (2940)	2200 (1950)

Debido a diminución de fluorescencia que experimenta H_3L^3, como resultado da reacción con ámbolos dous catións Cu^{2+} e Cd^{2+}, decidiuse estudar o mecanismo de quenching empregando a ecuación de Stern-Volmer[258] $I_0/I = 1+K_{SV}[M^{2+}]$).

A figura 7.5.3 amosa que o valor da constante de de Stern-Volmer (K_{SV} = pendente) diminúe ao incrementar a temperatura, o cal é unha clara evidencia de que o mecanismo de "quenching" é de tipo estático. Débese ter en conta que nos casos de "quenching" estático ($\tau_0/\tau = 1$), o valor da K_{SV} coincide coa valor da K_b para formación do complexo. As constantes de Stern-Volmer (K_{SV}) de H_3L^3 con Cu^{2+} e Cd^{2+}, a temperatura ambiente foron $9{,}010 \times 10^3$ e $3{,}150 \times 10^3$ M^{-1}, respectivamente. Polo tanto, os valores de afinidade de H_3L^3 por Cu^{2+} e Cd^{2+}, obtidos coas ecuacións de Stern-

[258]Lakowicz, J. R.; Principles of Fluorescence Spectroscopy, Third Edition. **2006**.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Volmer e de Benesi–Hildebrand son semellantes, o cal apoia a validez das medidas. Os valores de ΔG, que se determinaron a partir de K_{SV} (táboa 7.5.2), indican que o complexo dimérico de cobre(II) (-22,19 kJ mol^{-1}) e mais estable que o complexo dimérico de cadmio(II) (-19,63 kJ mol^{-1}).

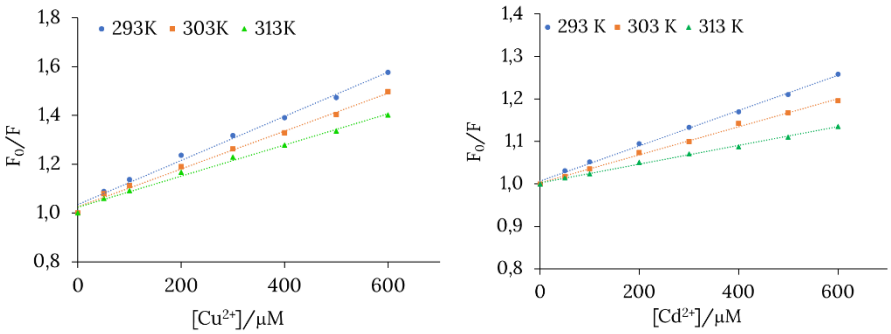


Figura 7.5.3: Representacións da intensidade da fluorescencia de H_3L^3 (10^{-4} M) fronte á concentración de Cu^{2+} (esquerda) e Cd^{2+} (dereita) nunha disolución 80:20 de etanol:agua. As pendentes das rectas a 293, 303 e 313 K son as constantes de Stern-Volmer (K_{SV}).

8.6. Estudo da interacción de H_3L^3 con NMs de CuO e CdSe.

Leváronse a cabo diferentes estudos para investigar a interacción de H_3L^3 con CuO NPs, CdSe NPs e CdSe-Cys QDs. Preparáronse suspensións en etanol con cada un dos tres tipos de nanomateriais a estudar, engadindo unha pequena cantidade de NaOH ata conseguir un valor de pH entre 10-12. As técnicas empregadas para estudar os produtos de reacción CuO-H_3L^3 NPs, CdSe-H_3L^3 NPs e CdSe-Cys-H_3L^3 QDs foron:

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ATR-FTIR, RMN-^{1}H (onde é aplicábel), μ-XRF, SEM-EDX, TEM, PXRD, espectroscopía de fluorescencia molecular e DFT.

8.6.1. ATR-FTIR

Comezando cos espectros de ATR-FTIR de CuO-H_3L^3 NPs, CdSe-H_3L^3 NPs e CdSe-Cys-H_3L^3 QDs, pódese observar a ausencia da banda ao redor de 3283 cm^{-1}, banda que se corresponde cos modos de vibración νNH/νOH, o que nos proporciona unha evidencia clara da bidesprotonación do ligando base de Schiff. Ademais, pódese observar unha banda ao redor de 1613 cm^{-1} aguda e forte, que se corresponde co grupo imínico. A semellanza entre o espectro de ATR-FTIR de CuO-H_3L^3 NPs co do complexo $Cu_2(HL)_2(H_2O)_4{\cdot}10H_2O$, ao igual que o espectro de CdSe-H_3L^3 NPs e CdSe-Cys-H_3L^3 QDs co do complexo $Cd_2(HL)_2(H_2O)_4{\cdot}8H2O$ (figuras 7.6.1-7.6.3) é unha evidencia de que a interacción entre H_3L^3 e os NMs ten lugar vía coordinación metal-ligando a través dos átomos O_{phenol}, N_{imino} e $N_{sulfonamídico}$.

As bandas que se amosan en torno a 1574 e 1391 cm^{-1} correspóndense cos modo $\nu_{as}(COO^-)$ e $\nu_s(COO^-)$ respectivamente. Este feito é unha sinal que evidencia a desprotonación do grupo carboxilo do ligando, o que é coherente coa formación da sal sódica do carboxilato.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

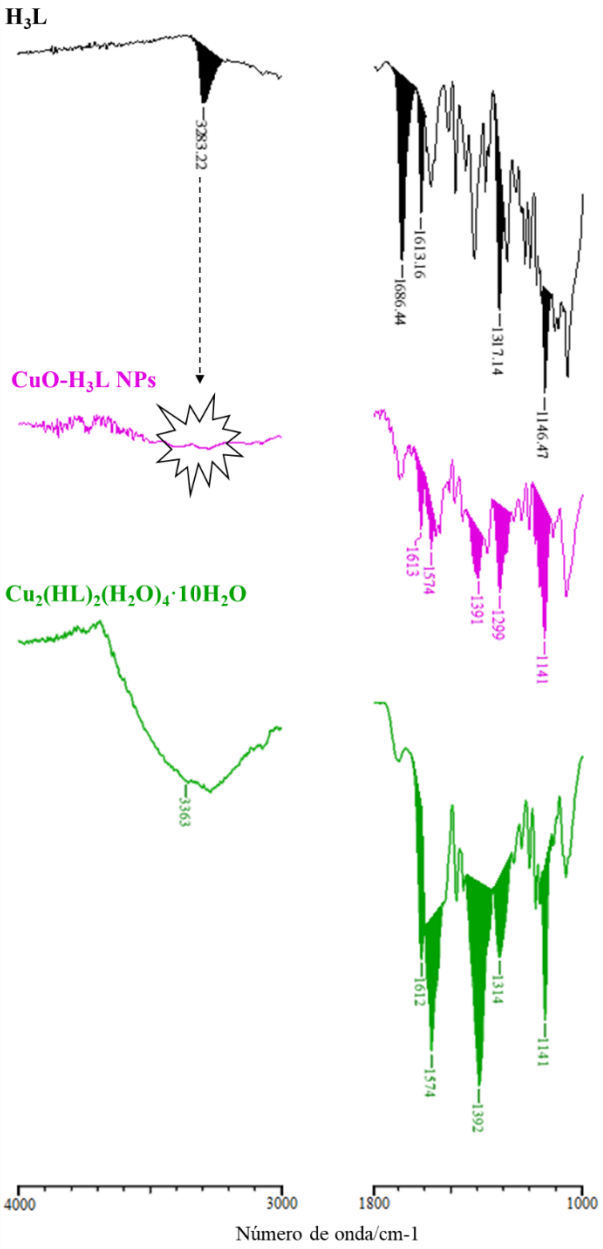


Figura 7.6.1: *Espectros* ATR-FTIR *do* H_3L^3 (*superior*), *CuO-*H_3L^3 NPs (*medio*) *e* $Cu_2(HL)_2(H_2O)_4{\cdot}10H_2O$ (*inferior*).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

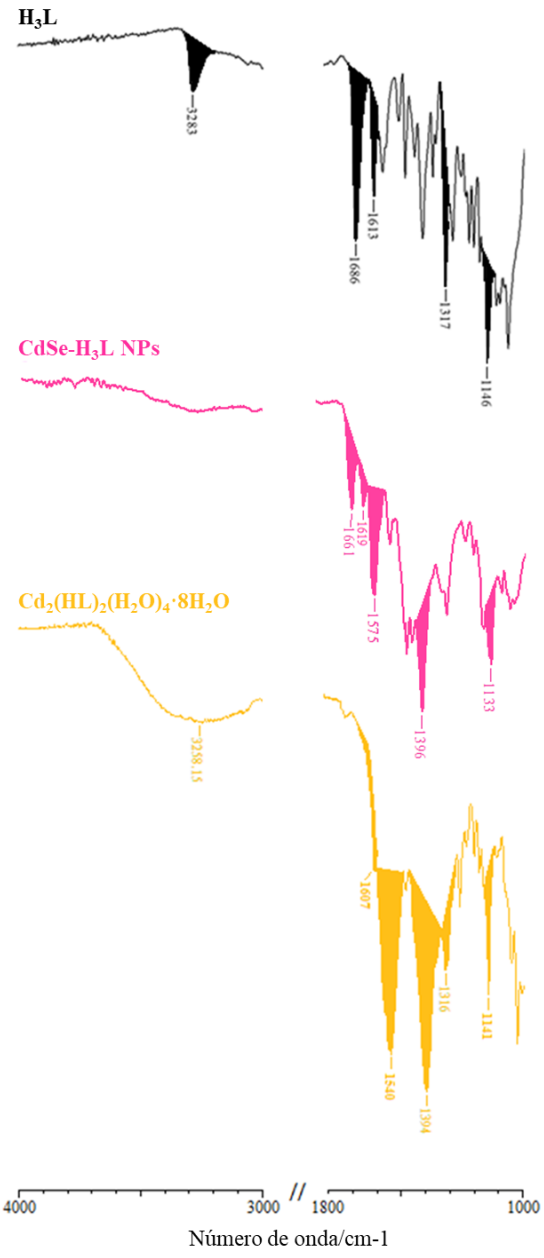


Figura 7.6.2: Espectros ATR-IR do H_3L^3 (superior), de CdSe-H_3L^3 NPs (medio) e $Cd_2(HL)_2(H_2O)_4{\cdot}8H_2O$ (inferior).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

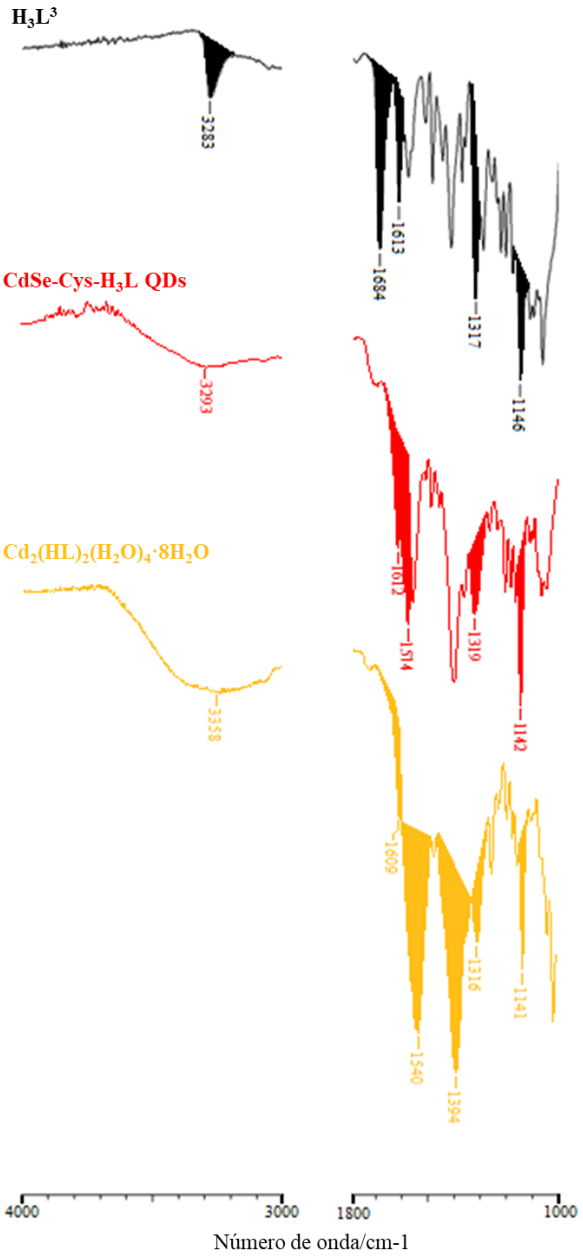


Figura 7.6.3: *Espectros ATR-FTIR do* H_3L^3 (*superior*), *CdSe-Cys-*H_3L^3 QDs (*medio*) *e* $Cd_2(HL)_2(H_2O)_4{\cdot}8H_2O$ (*inferior*).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.6.2. RMN-^1H

O espectro de RMN de ^1H de CdSe-Cys-H_3L^3 QDs amosa os sinais de protón que se prevían, os cales están de acordo co observado nos espectros de CdSe-Cys QDs e de H_3L^3 en forma libre, (figura 7.6.4). A análise da rexión comprendida entre 2,7-4,7 ppm denota os sinais característicos dos protóns metílicos e metileno de H_3L^3 a 2,87 e 4,28 ppm respectivamente, mentres que o protón metanotriilo da L-Cys é observado a 4,52 ppm. A interacción entre CdSe-Cys QDs e H_3L^3 non resulta en cambios significativos dos seus sinais. O único cambio que cabe a pena mencionar é o que experimenta o protón metanotriilo, o cal se despraza 0,05 ppm a campo baixo. Por outro lado, pódese observar a ausencia da sinal do protón metilénico da L-Cys debido ao solapamento que experimenta co protón do grupo metilo do disolvente deuterado (metanol-d_4).

Baseándonos nos valores de integración correspondentes, é posíbel deducir que a relación molar Cys:H_3L^3 está ao redor dos 20:1 na superficie dos QDs. As semellanzas que existen entre o RMN-^1H da especie CdSe-Cys-H_3L^3 QDs e o complexo de $Cd_2(HL^3)_2(H_2O)_4{\cdot}8H_2O$ apoia a idea de que a interacción que se produce, na superficie das partículas de CdSe-Cys QDs co H_3L^3, ten lugar vía coordinación metal-ligando. É necesario ter en conta que as diferenzas que existen nos desprazamentos químicos de CdSe-Cys-H_3L^3 QDs e $Cd_2(HL^3)_2(H_2O)_4{\cdot}8H_2O$, é por causa do disolvente deuterado que se empregou en cada caso, metanol-d_4 e dmso-d_6 respectivamente. O motivo para empregar dous disolvente deuterados é que ambas especies presentan solubilidades moi diferentes.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

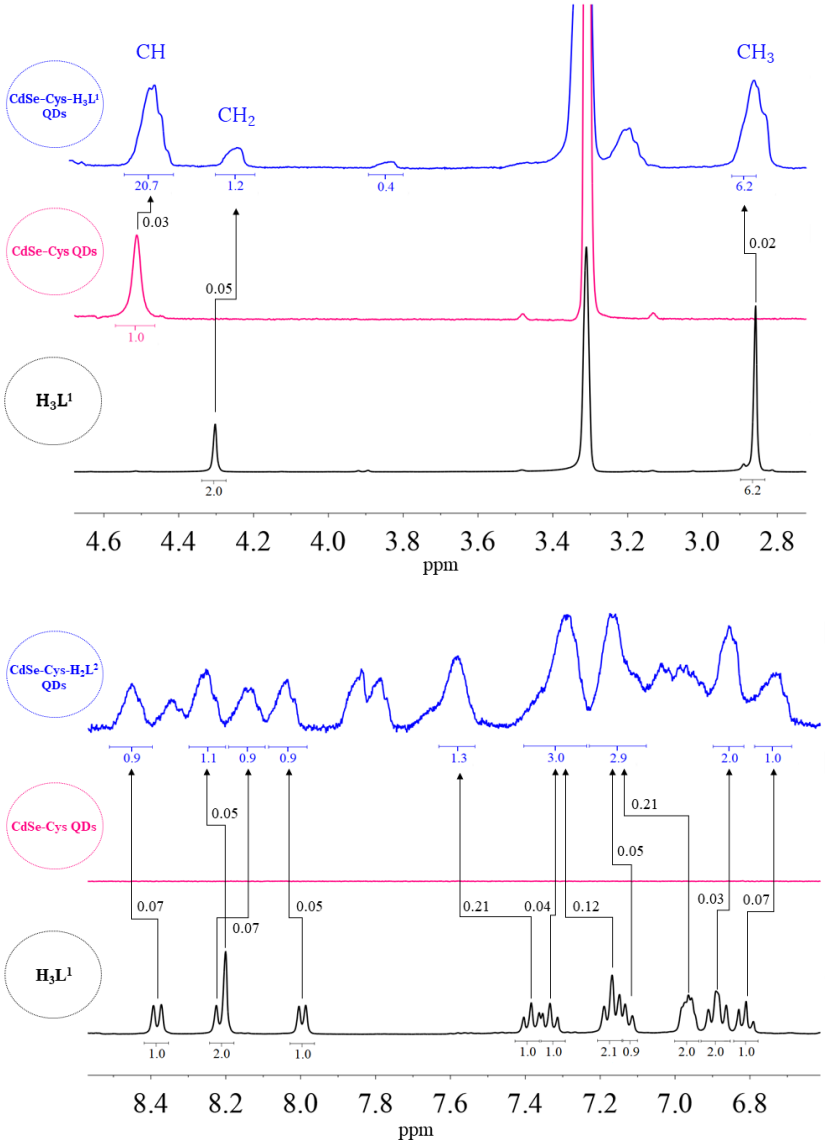


Figura 7.6.4: Espectros de RMN-^{1}H de CdSe-Cys- H_3L^1 QDs, CdSe-Cys QDs en metanol-d_4: D_2O (1:1) e H_3L^1 en metanol-d_4 (rangos: 4,6-2,8 e 8,4-6,8 ppm). Incluíronse os espectros de CdSe-Cys QDs (medio) e H_3L^1 (inferior) con fins comparativos. Incluíronse tamén os valores de integración debaixo de cada unha das sinais.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.6.3. µ-XRF

O análise mediante µ-XRF indica que as mostras policristalinas de CuO-H_3L^3 NPs (figura 7.6.5) e CdSe-H_3L^3 NPs (figura 7.6.6) conteñen o metal correspondente en cada caso e xofre nunha proporción 30:1 e 53:1 en peso, o cal é coherente cunha relación molar 15:1 (CuO:H_3L^3 e CdSe:H_3L^3). O mapeado que se obtén empregando esta técnica, µ-XRF, emprégase para comprobar a homoxeneidade da distribución de cobre e xofre dentro dunha mostra de CuO-H_3L^3 NPs (figura 7.6.7), feito que apoia a existencia dun enlace entre as CuO NPs e o H_3L^3. O mapeado µ-XRF da especie CdSe-H_3L^3 NPs que amosa a distribución elemental de cadmio e xofre que está presente na superficie da mostra ensínase na figura 7.6.8.

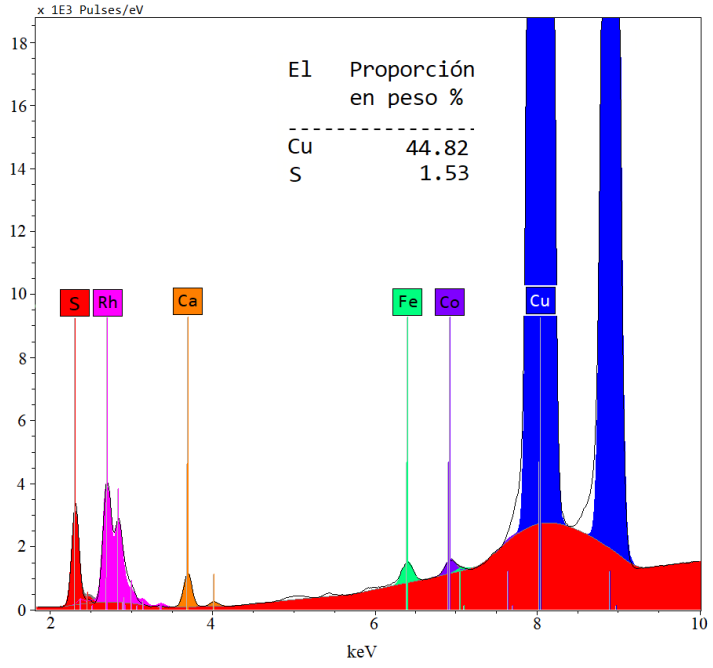


Figura 7.6.5: Espectro XRF de NPs de CuO-H_3L^3. Eixo X: enerxía (keV). Eixo Y: intensidade. Os picos corresponden á emisión dos raios X característicos dos elementos químicos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

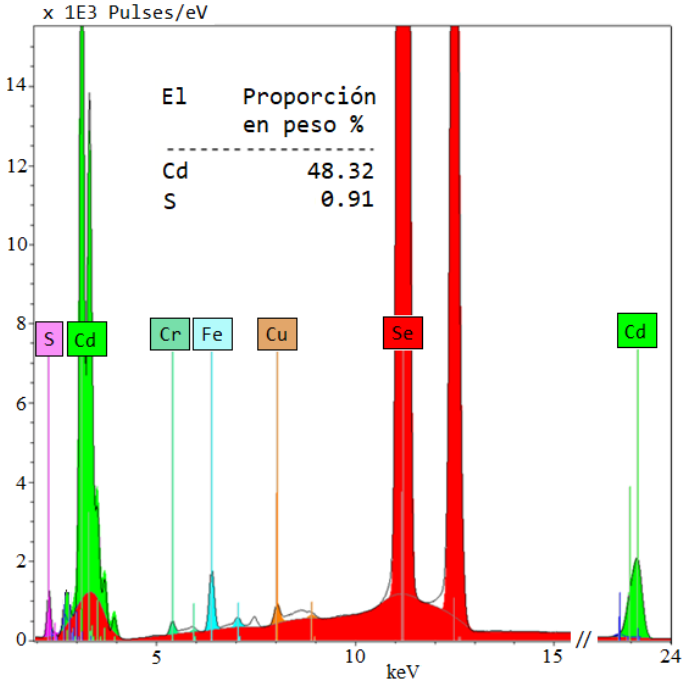


Figura 7.6.6: Espectro XRF de NPs de CdSe-H_3L^3. Eixo X: enerxía (keV), eixo Y: intensidade. Os picos corresponden á emisión dos raios X característicos dos elementos químicos.

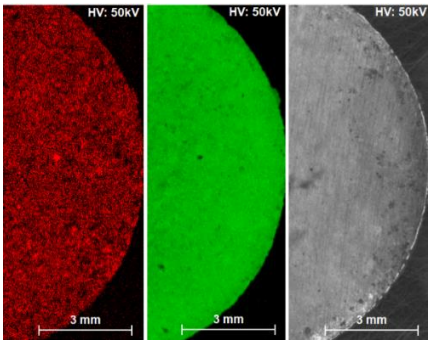


Figura 7.6.7: Mapeado μ-XRF da especie CuO-H_3L^3 NPs no que se mostra a distribución elemental de xofre (vermello) e cobre (verde) na superficie de mostra. Á esquerda inclúese unha imaxe µ-XRF da mostra (gris) en forma de pastilla para a súa comparación.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

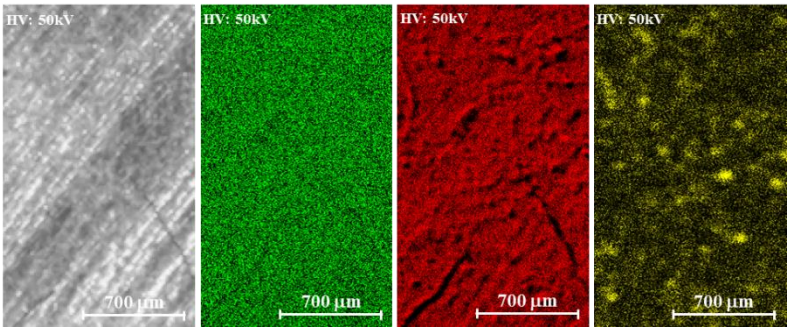


Figura 7.6.7: Mapeado XRF de CdSe-H_3L^3 NPs coa la distribución elemental de xofre (amarelo), selenio (vermello) e cobre (verde) na superficie da mostra. Inclúese unha imaxe de µ-XRF (gris) da mostra (como pellet) para a súa comparación

8.6.4. SEM-EDX

Os tamaños e formas das especie CuO-H_3L^3 NPs, CdSe-H_3L^3 NPs e CdSe-Cys-H_3L^3 QDs foron analizados empregando SEM. Como se pode apreciar na figura 7.6.9, as nanopartículas CuO-H_3L^3 atópanse aglomeradas formando clústers, os cales están formados por nanocristais dun tamaño de entre 70-40 nm, que máis ben teñen unha forma irregular. A combinación das dúas técnicas, SEM e EDX, empregouse para xerar "mapas" das distribucións de cada elemento. A figura 7.6.9 mostra unha micrografía da especie CuO-H_3L^3 NPs (superior) e un mapeado EDX do patrón de distribución de cada elemento: Cu, O, Na, C, N, e S (inferior). Hai que ter en conta que o ligando, en forma de sal sódica do carboxilato, está composto principalmente por átomos de O, Na, C, N, e S. A análise realizada mediante EDX mostra a presenza dos átomos de Cu, O, Na, C, N, e S cun patrón de distribución espacial moi similar, feito que apoia a existencia da interacción entre o ligando H_3L^3 con CuO NPs. De xeito semellante, a análise EDX de CdSe-H_3L^3 NPs (figura 7.6.10)e de CdSe-Cys-

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

H_3L^3 QDs (figura 7.6.11)evidencia a existencia dunha interacción entre os NMs e H_3L^3.

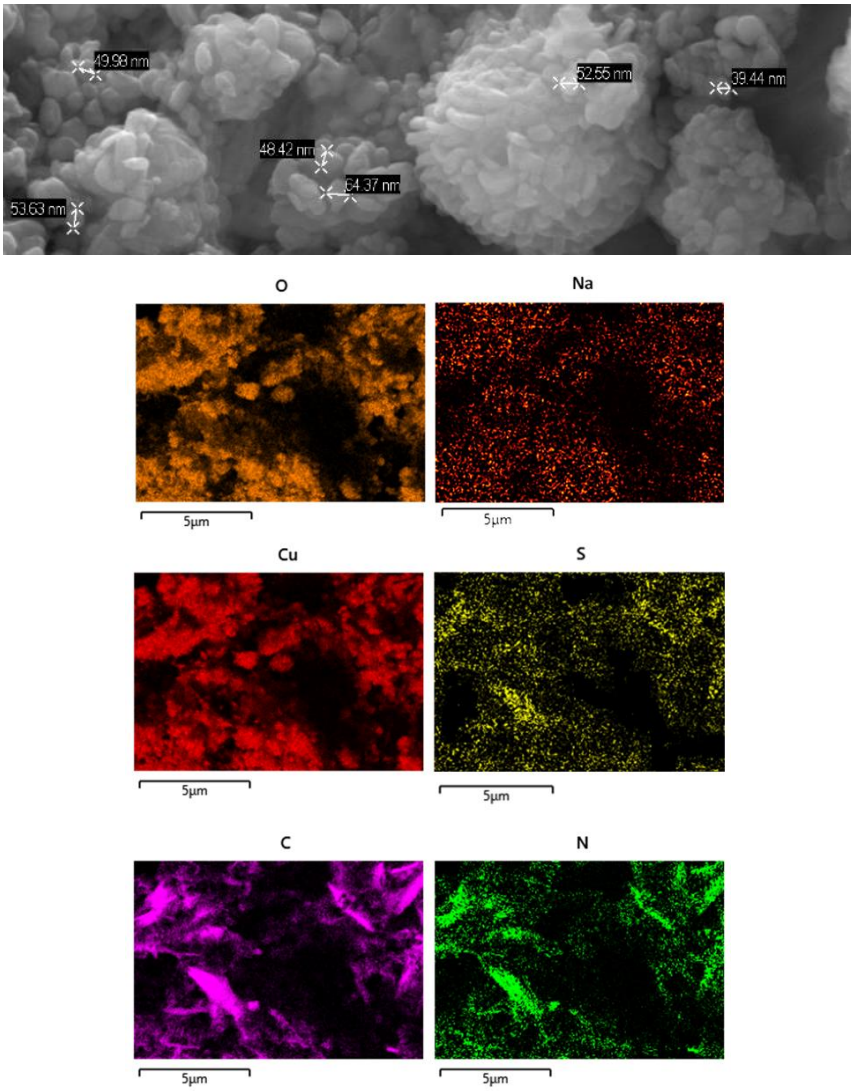


Figura 7.6.9: Micrografía SEM da especie CuO-H_3L^3 *NPs (superior). Mapeado EDX do patrón de distribución dos elementos Cu, O, S, N, C e Na (inferior).*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

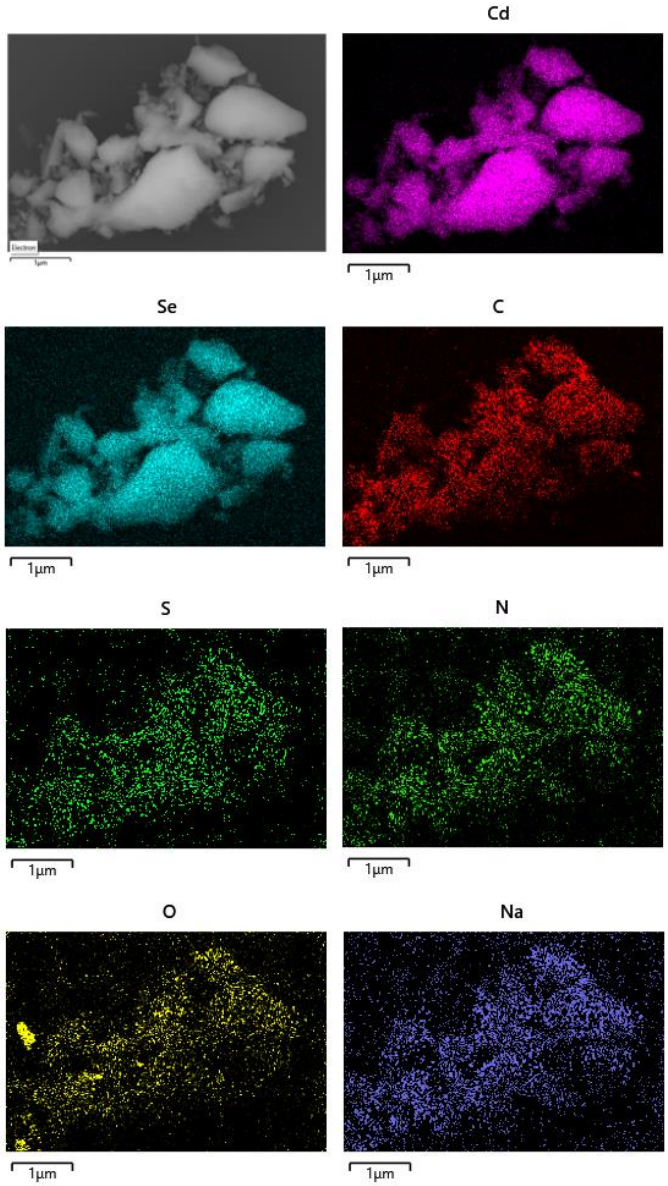


Figura 7.6.10: Mapeado EDX do patrón de distribución dos elementos Cd, O, S, N, C e Na dunha mostra de CdSe-H_3L^3 NPs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

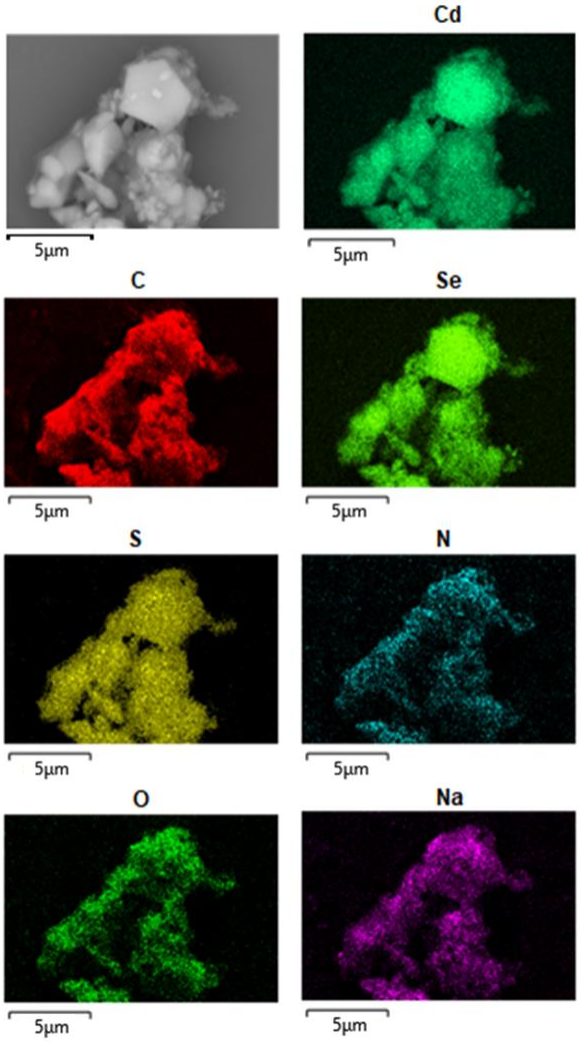
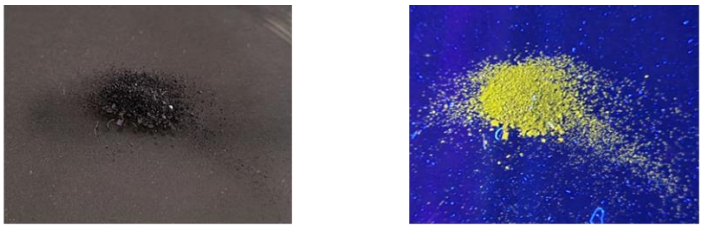


Figura 7.6.11: Mapeado EDX do patrón de distribución dos elementos Cd, O, S, N, C e Na dunha mostra de CdSe-Cys-H_3L^3 QDs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.6.5. *Espectroscopía de fluorescencia*

Unha mostra sólida de CuO-H_3L^3 NPs orixina unha emisión amarela fluorescente cando é colocada baixo unha luz UV de 365 nm (figura 7.6.12).



CuO-H_3L NPs
Luz natural

CuO-H_3L NPs
Radiación UV
(λ=365nm)

Figura 7.6.12: Efecto da luz UV (365 nm) sobre nunha mostra en forma de po de CuO-H_3L^3 NPs.

Os espectros de fluorescencia das especies CuO-H_3L^3 NPs, CdSe-H_3L^3 NPs e CdSe-Cys-H_3L^3 QDs en disolución etanol/auga revelaron que se producía unha diminución na emisión fluorescente a 520 nm cando se compara co espectro de fluorescencia do ligando H_3L^3 en forma libre, baixo as mesmas condicións. Este mesmo efecto observábase cando se comparaban as emisións fluorescentes dos complexos $Cu_2(HL^3)_2(H_2O)_4{\cdot}10H_2O$ e $Cd_2(HL^3)_2(H_2O)_4{\cdot}8H_2O$ coa do ligando H_3L^3 libre.

Empregouse a ecuación de Stern-Volmer para estudar o mecanismo da interacción que se produce entre o ligando H_3L^3 e os diferentes tipos de NMs (figura 7.6.13). Xa que o valor da constante de Stern-Volmer (K_{SV}) diminúe ao aumentar a temperatura, demostrouse que este "quenching" é de tipo estático, polo que $K_{SV} = K_b$. Hai que decatarse

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

de que a K_b da reacción entre o H_3L^3 cos NMs de CuO e CdSe (táboa 7.6.1) presenta uns valores moi similares aos calculados para a reacción entre o mesmo ligando e os ións Cu^{2+} e Cd^{2+} (táboa 7.5.2). Polo tanto, a interacción que se produce de H_3L^3 na superficie dos NMs amosa similitudes coa reaccións de formación dos complexos metálicos en disolución. Os resultados mostran que a afinidade do H_3L^3 con respecto aos NMs estudados é a seguinte: CuO NPs > CdSe NPs > CdSe-Cys QDs. Os valores da enerxía libre de Gibbs, os cales foron determinados a partir da K_b, indican que a especie CuO-H_3L^3 NPs (-22,34 kJ mg^{-1}) é máis estábel que CdSe-H_3L^3 NPs (-20,46 kJ mg^{-1}) e CdSe-Cys-H_3L^3 QDs (-18,87 kJ mg^{-1}).

Táboa 7.6.1: Valores de enerxía libre de Gibbs, constante de enlace e constante de Stern-Volmer para a reacción de H_3L^3 con NPs de CdSe, NPs de CuO e QDs de CdSe-Cys. As constantes de enlace obtivéronse a partir da intensidade da emisión de fluorescencia e da absorción UV-Vis.

Especies	ΔG_{Ksv} kJ mol^{-1} (kJ mg^{-1})	$K_{b\ FL}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{b\ UV\text{-}Vis}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 293\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 303\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})	$K_{sv\ 313\ K}$ M^{-1} (L mg^{-1})
CuO NPs	-22.41 (-22.34)	-	-	9840 -10900	8470 -9300	6920 -7980
CdSe NPs	-20.08 (-20.46)	-	-	3790 -4420	3150 -3600	2610 -2750
CdSe-Cys QDs	(-18.87)	-	-	-2300	-1800	-1230

O número dominios enlazantes (*n*) na superficie dos nanomateriais determinouse empregando a ecuación de Scatchard, a cal se amosa máis abaixo. Nesta ecuación F_0 e F son os parámetros relativos á fluorescencia de H_3L^3, na ausencia e presencia dos diferentes NMs,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

respectivamente; K_B é a constante de enlace (cuxo valor coincide co valor da constante de Stern-Volmer K_{SV}, en términos de "quenching" estático); por último, [Q] correspóndese coa concentración dos NMs[259].

A gráfica que se corresponde coa ecuación lineal de Scatchard para a unión de H_3L^3 aos diferentes NMs amósase na figura 7.6.14. O número de sitios de enlace (*n*) ten un valor de aproximadamente 5 a unha temperatura de 293 K, suxerindo a existencia de cinco sitios de enlace para H_3L^3 na superficie das NPs de CuO e CdSe. Pola contra, o número de sitios de enlace é de aproximadamente 2 para H_3L^3 sobre a superficie dos QDs de CdSe-Cys. Isto non é unha sorpresa, considerando que moitos dos ións superficiais de cadmio estarán interaccionando cos átomos de xofre da propia cisteína.

A proporción con respecto á interacción aumenta lixeiramente en todos os casos ao aumentar a temperatura, probabelmente porque este factor favorece a reactividade dos ións metálicos superficiais.

[259]Moeno, S.; Nyokong, T.; Opposing responses elicited by positively charged phthalocyanines in the presence of CdTe quantum dots. *J. Photochem. Photobiol. A* **2009,** *201* (2-3), 228–236.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

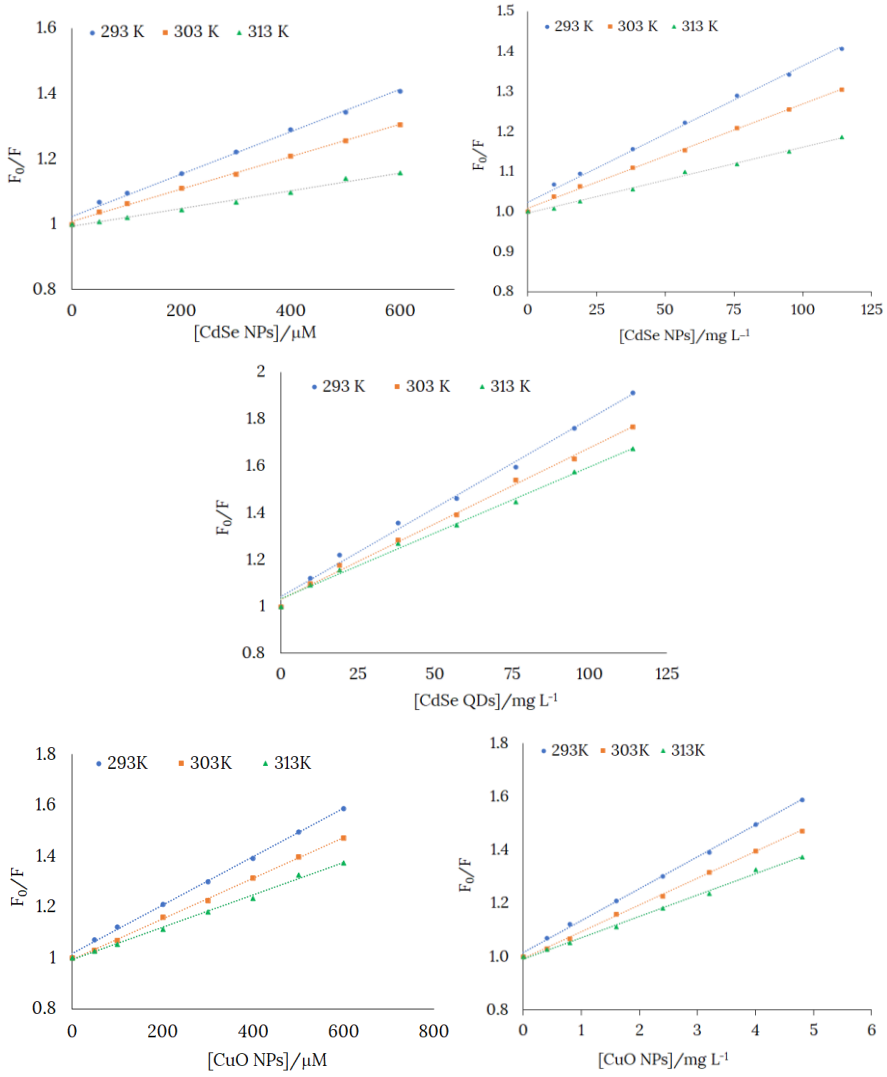


Figura 7.6.13: Representacións da Intensidades de fluorescencia de H_3L^3 (10^{-4} M) fronte á concentración dos NMs (en mol L^{-1} e mg L^{-1}): CdSe NPs(arriba), CdSe-Cys QDs (medio) e CuO NPs (abaixo) nunha disolución 80:20 etanol:agua. As pendentes das curvas a 293, 303 e 313K son as constantes de Stern-Volmer K_{SV} ás temperaturas citadas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

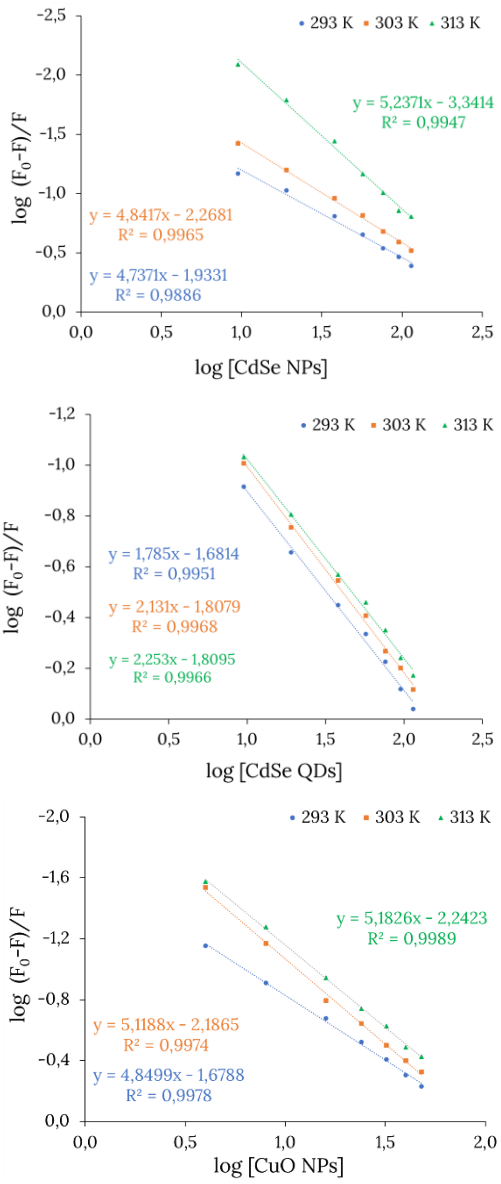


Figura 7.6.14: Gráfico de Scatchard para a unión de H_3L^3 a NPs de CdSe (superior), QDs de CdSe-Cys (medio) e NPs de CuO (inferior) a 293, 303 e 313 K e pH 11.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.6.6. *Estudos teóricos: DFT*

Consideráronse varios modelos para analizar a interacción que ten lugar entre CdSe NPs e CuO NPs con H_3L^3 (figuras 7.6.15 e 7.6.16). Os dous modelos máis grandes estudados comprenden a interacción dunha unidade de ligando cunha lámina de 32 unidades de CuO, e cunha lámina de 35 unidades de CdSe. Consideráronse estes modelos en particular porque os de maior tamaño vólvense pouco manexables e os de menor tamaño son pouco representativos. A xeometría destas superficies metálicas obtívose a partir das estruturas cristalográficas correspondentes e elixindo o plano que contén o maior número de átomos metálicos que poden interaccionar co ligando, é dicir, o plano (1,0,0) para CuO e o plano (0,0,1) para CdSe. O tamaño dos modelos máis grandes elixiuse para permitir unha interacción completa entre o H_3L^3 e a superficie das NPs. Prestouse unha especial atención a tratar de establecer a preferencia dunha interacción "dianiónica" (como anión fenolato e sulfonamido) ou "monoaniónica" (como fenolato) entre H_3L^3 e os ion metálicos nas superficies dos NMs.

Como resultado destes estudos podemos deducir que as interaccións da forma dianiónica do ligando mostran enerxías de estabilización máis elevadas (-273,4 kcal/mol para H_3L^3-CuO NPs e –197.6 kcal/mol para H_3L^3-CdSe NPs) que as correspondentes ás monoaniónicas (-170,0 kcal/mol para H_3L^3-CuO NPs e –110.2 kcal/mol para H_3L^3-CdSe NPs). Obsérvase unha tendencia similar para os diversos modelos considerados, mesmo cos modelos máis pequenos aquí empregados, que só consideran a interacción entre o ligando e unha única unidade de CuO (figuras 7.6.17 e 7.6.18). Estes resultados teóricos confirman que a interacción entre H_3L e a superficie dos NMs ten lugar a través dos átomos

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

de O_{fenol}, N_{imina} e $N_{sulfonamida}$ do ligando, tal e como ocorre para os complexos diméricos de cobre(II) e cadmio(II). Ademais, as interaccións dos ións Cu^{2+} e Cd^{2+} das superficies dos NMs cos átomos de osíxeno dos grupos carboxilato e sulfonamida parecen contribuír á estabilización dos sistemas estudados.

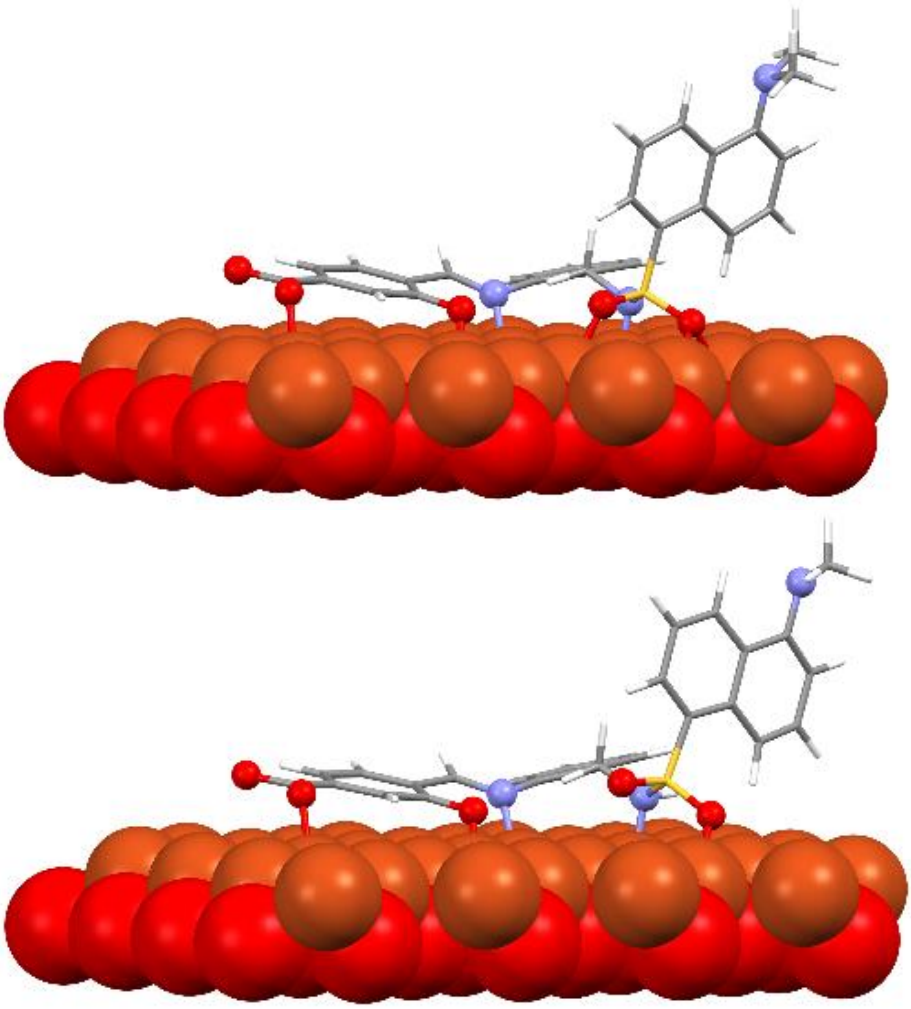


Figura 7.6.15: Modelo teórico (DFT) para a interacción H_3L^3-CuO NPs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

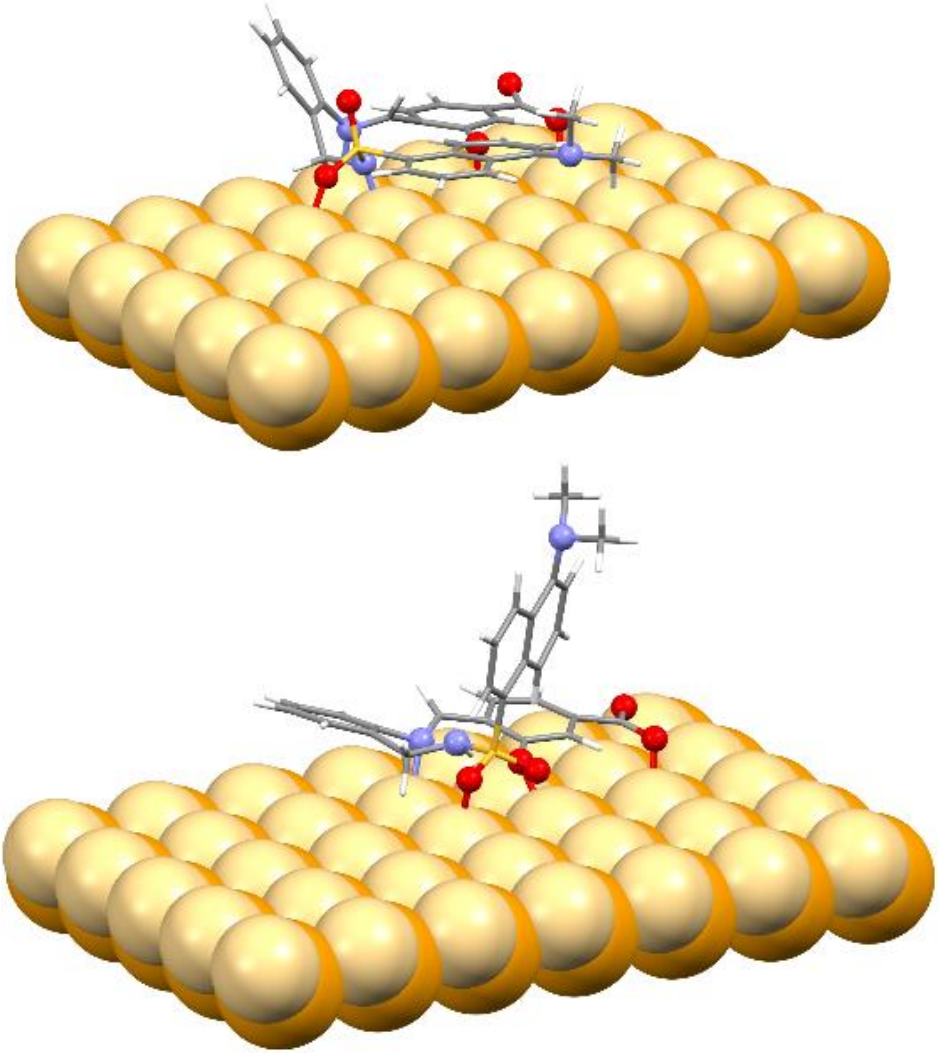


Figura 7.6.16: Modelo teórico (DFT) para a interacción H_3L^3-CdSe NPs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

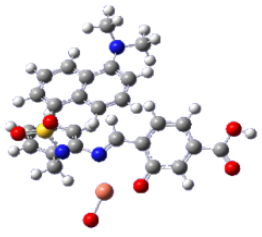
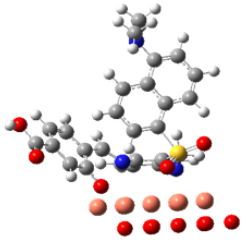
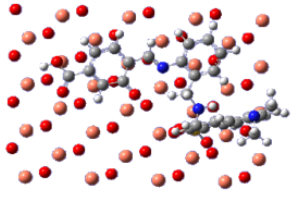
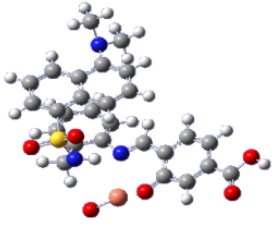
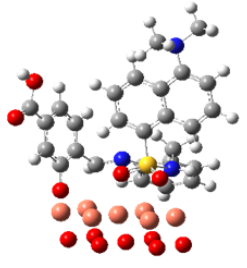
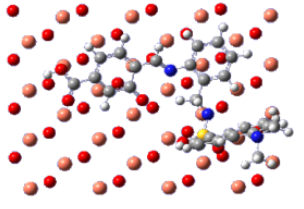
Tipo	1CuO	7CuO	32CuO
Bidentado			
	-61.2	-145.3	-170.0
Tridentado			
	-63.2	-189.5	-273.4

Figura 7.6.17: Estruturas xeométricas e enerxías de interacción (en kcal/mol) para a interacción H_3L^3-CuO NPs.

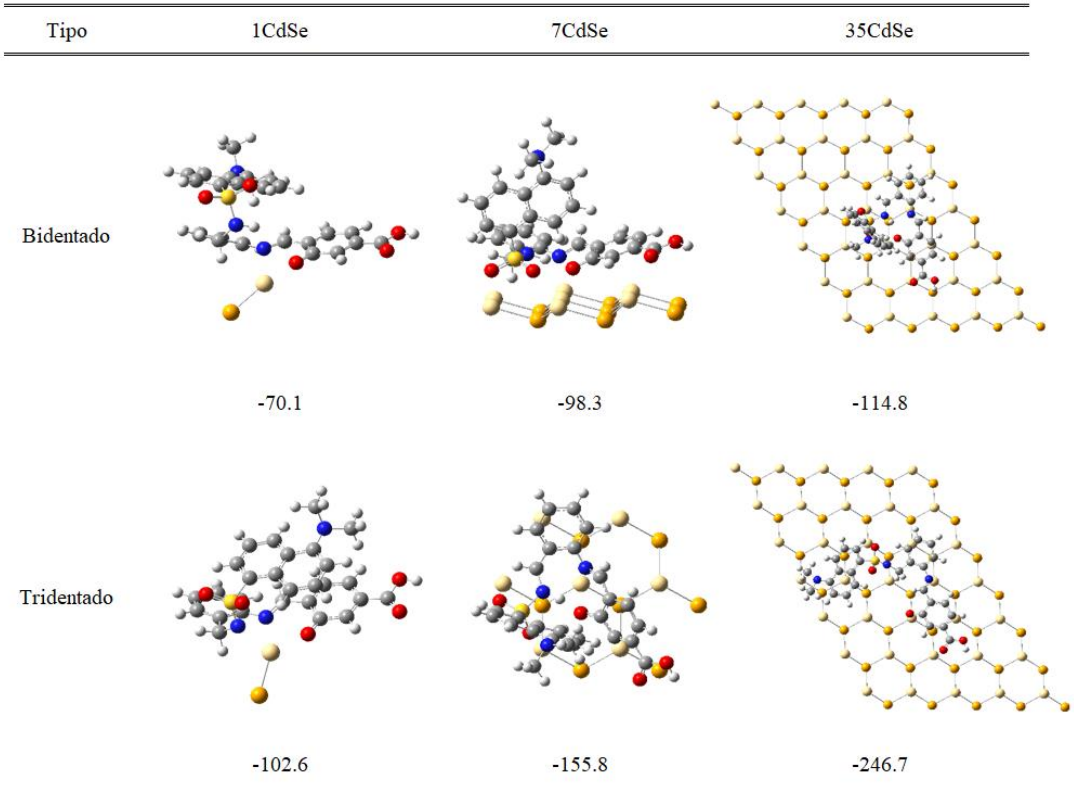


Figura 7.6.18: Estruturas xeométricas e enerxías de interacción (en kcal/mol) para as interacción H_3L^3–CdSe NPs.

Por último, dado que os modelos empregados aquí son de diferente tamaño, calculáronse as enerxías de interacción por unidade para o sistema H_3L^3-CuO (-8,54 kcal/mol) e para o modelo H_3L^3-CdSe (-7,71 kcal/mol). Estes valores indican que a interacción que ten lugar entre H_3L^3 e as NPs de CuO é probablemente máis favorable que coas NPs de CdSe.

8.7. H_3L^3 en disolucion etanol-auga como quimiosensor na detección de NMs de CuO e CdSe

Para o estudo da utilidade do H_3L^3 como quimiosensor na detección de nanomateriais de CuO e CdSe, a niveis de concentración de ppm e ppb, seleccionáronse concentracións de ligando de 0,126 ppm e 1,26 ppb. A intensidade da fluorescencia dunha disolución EtOH:H_2O de H_3L^3 varía linealmente coas concentracións dos NMs non fluorescentes como son as NPs de CuO e CdSe, así como cos debilmente fluorescentes QDs de CdSe-Cys (λ_{em} 632 nm). Para [H_3L^3] = 0,126 ppm a emisión fluorescente varia linealmente dentro do rango 0-9,5; 0-11,5 e 0-10,5 ppm, coa adición gradual de NPs de CuO, NPs de CdSe e QDs de CdSe-Cys. Os valores de concentración dos NMs superiores aos indicados sobresaturan o sistema. Na figura 7.7.1 amósase a diminución de máis do 90%, 80% y 55% nas emisións de fluorescencia das disolucións de etanol-agua (80:20 v/v) de H_3L^3 (λ_{em} = 520 nm) ao engadir NPs de CuO (λ_{em} = 538 nm), NPs de CdSe (λ_{em} = 536 nm) e QDs de CdSe-Cys (λ_{em} = 536 nm), respectivamente.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

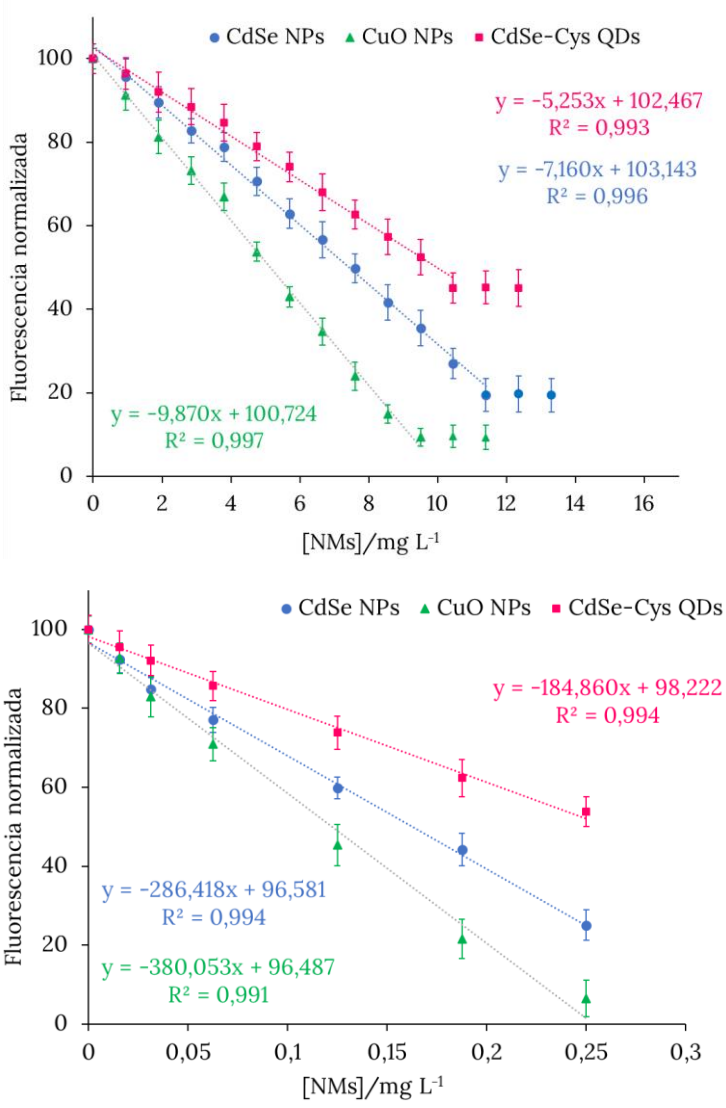


Figura 7.7.1: Curvas de calibrado da intensidade de emisión de fluorescencia de H_3L^3 en disolución 80:20 etanol:agua a pH 11, con adición gradual de NMs (ata que a intensidade de fluorescencia deixa de diminuír). Enriba: $[H_3L^3]$ = 126 ppb. Abaixo: $[H_3L^3]$ = 1,26 ppb. Utilizouse NaOH 0,1 M para desprotonar H_3L^3. Volume final da solución = 4 mL. Cada disolución somerxeuse nun baño de ultrasonidos durante 1 min antes da medila. λ_{exc} = 400 nm.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

O límite de detección (LOD) e o límite de cuantificación (LOQ) de H_3L^3 expresáronse como: LOD = 3·SD/m e LOQ = 10·SD/m, onde SD é a desviación estándar da resposta, e m é a pendente da curva de calibrado. O LOD dos NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys cunha [H_3L^3] = 0,126 ppm foi de 0,33, 0,46 e 0,63 ppm, respectivamente. O LOQ dos NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys cunha [H_3L^3] = 0,126 ppm foi de 1,09, 1,52 e 2,11 ppm, respectivamente. O LOD dos NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys cunha [H_3L^3] = 1,26 ppb foi de 30, 40 y 62 ppb, respectivamente. O LOQ dos NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys cunha [H_3L^3] = 1,26 ppb foi de 101, 134 e 207 ppb, respectivamente. O rango de traballo de H_3L^3 obtívose empregando o LOQ, como o valor mínimo que pode medirse, e o valor máis alto de [NMs] no que se mantén a linearidade, como o valor máximo. Polo tanto, os rangos de traballo para a detección dos NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys cunha [H_3L^3] = 0,126 foron 1,1-9,5, 1,5-11,4 e 2,1-10,5 ppm, respectivamente.

Á vista da maior afinidade de H_3L^3 polas NPs de CuO e CdSe, en comparación cos QDs de CdSe-Cys estudouse a selectividade do H_3L^3 como sonda para as citadas NPs. Os estudos sobre os interferentes, realizáronse en 4 mL dunha disolución de etanol-agua en 80 : 20 v/v, a pH 11 e empregando unha λ_{ex} = 400 nm. Como criterio de interferencia, empregouse unha variación do ±10% da intensidade media da fluorescencia á concentración respectiva dos NMs. A selectividade do H_3L^3 como sonda para as NPs de CdSe probouse en presenza de algunhos NMs metálicos e de óxidos metálicos comúns, como NPs de Cu, NPs de CuO, NPs de ZnO e NPs de TiO_2, así como dalgúns ións metálicos comúns na auga, como os seguintes ácidos duros: Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} e Al^{3+} (figura 7.7.2).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

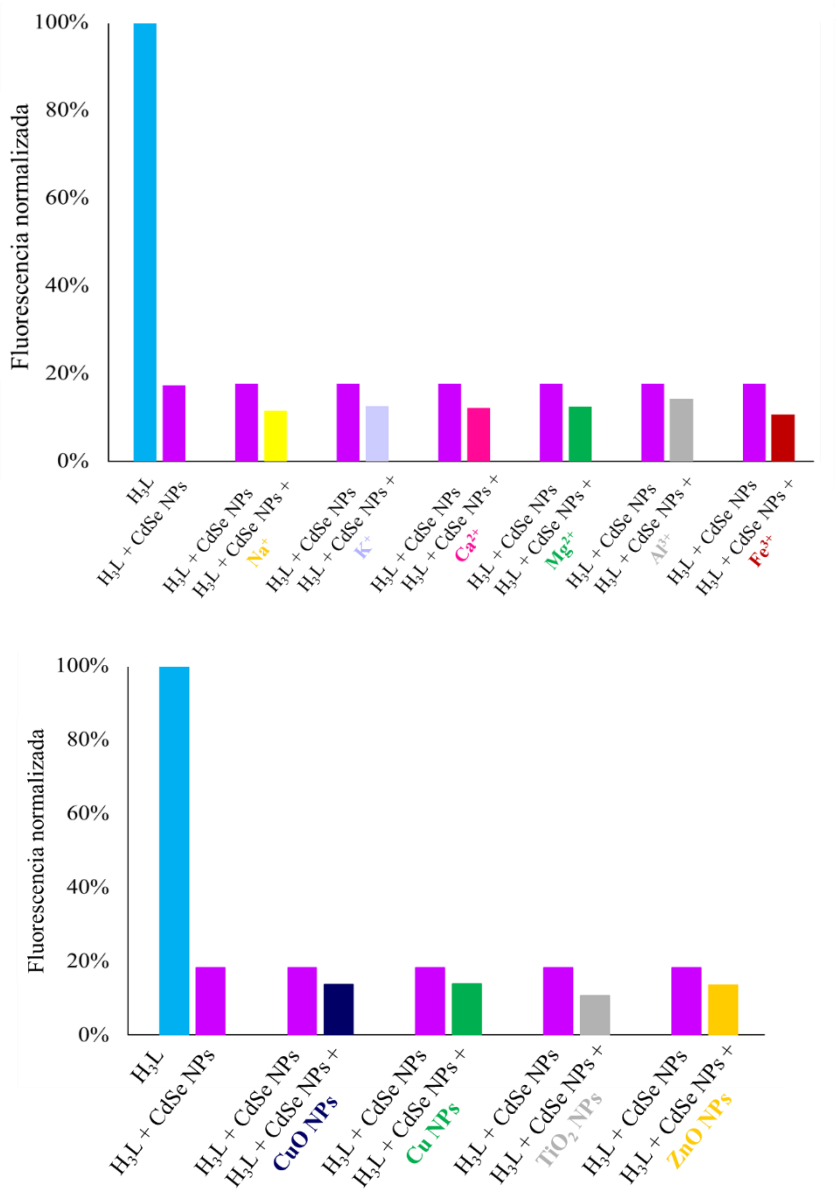


Figura 7.7.2: Diminución da emisión de fluorescencia de H_3L^3 (2,5 nM, 1, 26 ppb) fronte á adición de NPs de CdSe (8 ppm) en presenza de varias NPs (abaixo) e algúns dos ións metálicos máis comúns en auga (enriba).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Estos resultados mostraron que H_3L^3 posúe selectividade de cara ás NPs de CdSe en presenza de NPs de Cu, que poden ser toleradas nunha concentración de polo menos 8 ppm, cando a concentración de NPs de CdSe é de 8 ppm. Outros NMs comúns, como NPs de CuO, NPs de ZnO e NPs de TiO_2, poden tolerarse en concentracións de, polo menos, 4 ppm sen ser consideradas unha interferencia. Os ións metálicos como o Na^+, K^+ y Fe^{3+}, nunha concentración de 8 ppm, tampouco interfiren na detección das NPs de CdSe. Os ións Mg^{2+}, Ca^{2+} e Al^{3+} poden ser tolerados nunha concentración de, polo menos, 2 ppm sen causar interferencias.

A selectividade do H_3L^3 como sonda para NPs de CuO probouse en presenza de NPs de Cu, NPs de CdSe, NPs de ZnO e NPs de TiO_2, así como de ións metálicos como o Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} e Al^{3+} (figura 7.7.3). Estes resultados amosaron que H_3L^3 posúe unha alta selectividade cara as NPs de CuO, incluso en presenza de outros NMs comúns, como NPs de Cu e NPs de CdSe. Estas poden ser toleradas en concentracións de, polo menos, 8 ppm sen ser consideradas como interferencias, cando a concentración das NPs de CuO é de 8 ppm. As NPs de ZnO e TiO_2 poden tolerarse nunha concentración de 4 ppm. Con respecto aos ións metálicos Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} e Fe^{3+}, nunha concentración de 8 ppm, tampouco interfiren na detección das NPs de CuO. Os ións Al^{3+} poden tolerarse en concentracións de, polo menos, 4 ppm sen interferir.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

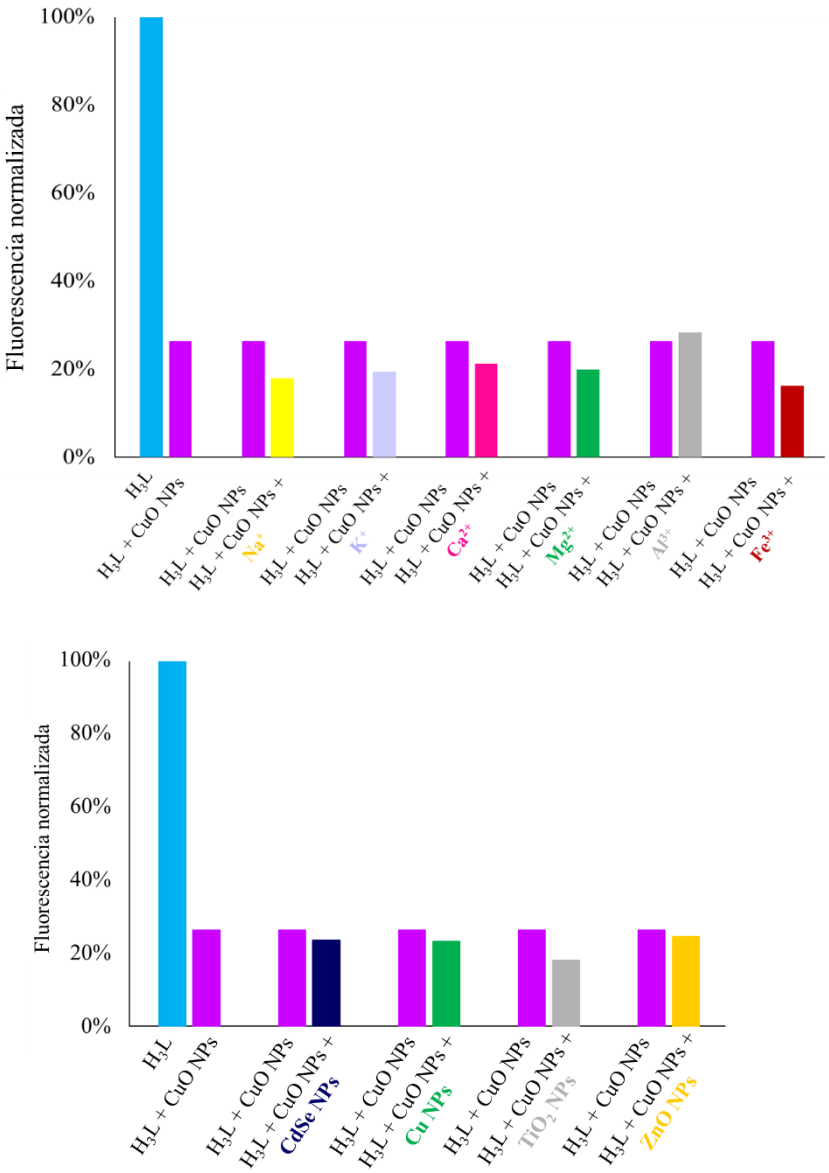


Figura 7.7.3: Diminución da emisión de fluorescencia de H_3L^3 (2,5 nM, 1, 26 ppb) fronte á adición de NPs de CuO (8 ppm) en presenza de varias NPs (abaixo) e algúns dos ións metálicos máis comúns en auga (enriba).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.8. H_3L^3 inmobilizado en papel de celulosa como quimiosensor na detección de NPs de CuO e CdSe-Cys QDs

Co fin de facilitar a detección dalgúns NMs en disolución, sen necesidade de utilizar un espectrofotómetro de fluorescencia, inmobilizamos H_3L^3 sobre papel de celulosa.

8.8.1. *Inmobilización de H_3L^3 en papel de celulosa*

Na inmobilización de H_3L^3 en papel de celulosa, seguimos un método[260] previamente descrito na sección de metodoloxía, que se ilustra na figura 7.8.1.

A inmobilización dá lugar a un lixeiro cambio de cor do papel, de branco a amarelo pálido, que é visible a primeira ollada (figura 7.8.2). No espectro de reflectancia difusa, o papel de celulosa co ligando inmobilizado mostra tres sinales dominantes situadas ao redor de 420, 330 e 270 nm que corresponden a tránsitos electrónicos entre orbitais de H_3L^3 (figura 7.8.3). Cando se compara o espectro de reflectancia difusa co de UV-Vis (en H_2O), é notorio os desprazamento cara o vermello (ao redor de 30 nm) da banda de absorción que no espectro de UV-Vis estaba centrada a 390 nm.

[260]Jeon, C. H.; Park, C. S.; Lee, C. S., *et al.*; Simple immobilization of mercury ion chemosensors to solid substrate. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2018,** 57, 370-376.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

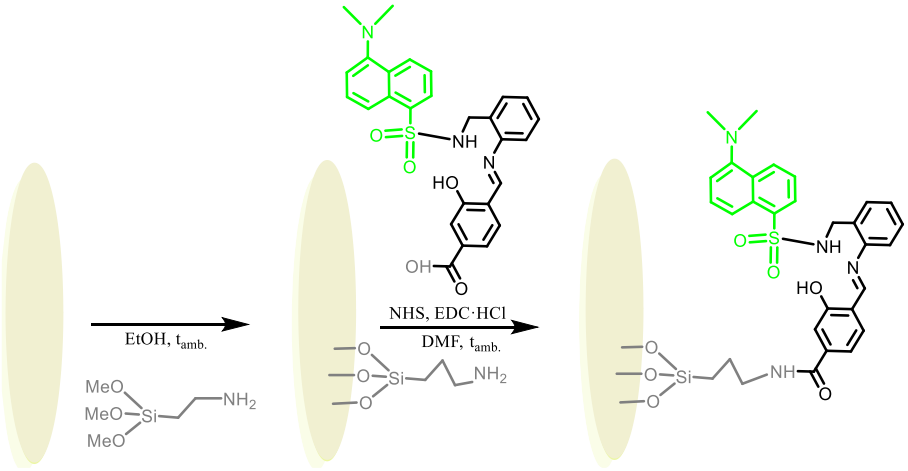


Figura 7.8.1. Esquema da inmobilización de H_3L^3 en papel de celulosa

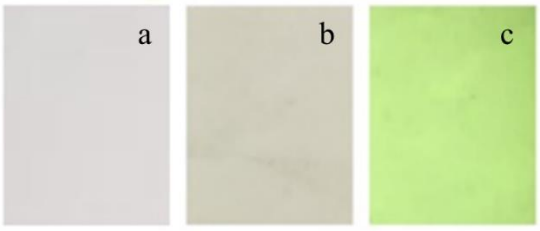


Figura 7.8.2.: a) Papel de celulosa comercial baixo luz visible. b) Papel de celulosa con H_3L^3 inmobilizado baixo luz visible. c) Papel de celulosa con H_3L^3 inmobilizado baixo luz UV (365 nm).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

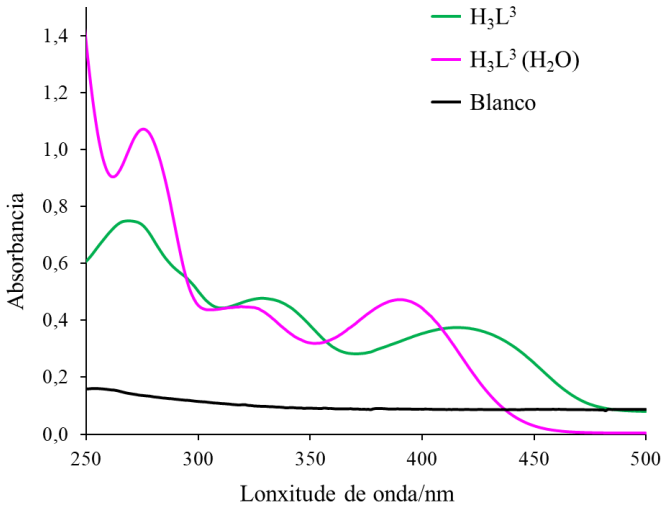


Figura 7.8.3. Vista do espectro de reflectancia difusa de H_3L^3 inmobilizado sobre papel de celulosa. O espectro de reflectancia difusa do papel de celulosa (negro) e o espectro UV-Vis do H_3L^3 en disolución acuosa (rosa) incluíronse para a súa comparación.

8.8.2. *Estudo de H_3L^3 inmobilizado en papel como sensor na detección de NPs de CuO e CdSe-Cys QDs*

As medidas ópticas relacionadas cos estudos de detección de NPs de CuO e QDs de CdSe-Cys realizáronse usando un teléfono intelixente (*smartphone*) e espectrofotometría UV-Vis/NIR.

O papel de celulosa modificado co ligando, ao mergullalo en disolucións acuosas de CdSe-Cys QDs e de NPs de CuO durante 15 minutos, mostra un cambio de cor de verde claro a verde escuro baixo luz ultravioleta de 365 nm, cando a concentración aumenta de 5 a 100 ppb (figura 7.8.4). Dado que os lixeiros cambios de cor non poden observarse facilmente a primeira ollada, dixitalizamos a información de cor das

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

fotografías (valor RGB) correspondentes ao papel baixo a radiación de excitación UV, para a súa análise mediante a aplicación de recoñecemento de cor dun *smartphone*.[261,262]

Tomáronse unha serie de fotos para tres réplicas de cada ensaio cun *smartphone* baixo luz ultravioleta de 365 nm Os valores RGB correspondentes a estas fotos obtivéronse a través dunha aplicación de recoñecemento de cor (*RGB Color Detector*), para a súa posterior análise estatística. Obtivéronse as coordenadas RGB de cinco puntos en diferentes partes do papel para tres réplicas. Dado que a coordenada R mostra unha resposta sensible a CdSe-Cys QDs e NPs de CuO, a resposta de intensidade de fluorescencia, como media dos valores das medicións realizadas, rexistrouse na canle vermella. Como mostran as figuras 7.8.4 e 7.8.5, existe unha boa relación lineal entre a coordenada vermella e a concentración tanto dos CdSe-Cys QDs (R^2 = 0,9857) como das NPs de CuO (R^2 = 0,9953).

[261]Yang, F.; Lin, D.; Pan, L., *et al.*; Portable Smartphone Platform Based on a Single Dual-Emissive Ratiometric Fluorescent Probe for Visual Detection of Isopropanol in Exhaled Breath. **2021,** *93* (43), 14506-14513.
[262]Feng, Y.; Hu, S.; Wang, Y., *et al.*; A multifunctional fluorescent probe for visualizing H(2)S in wastewater with portable smartphone via fluorescent paper strip and sensing GSH in vivo. *J Hazard Mater* **2021,** *406*, 124523.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

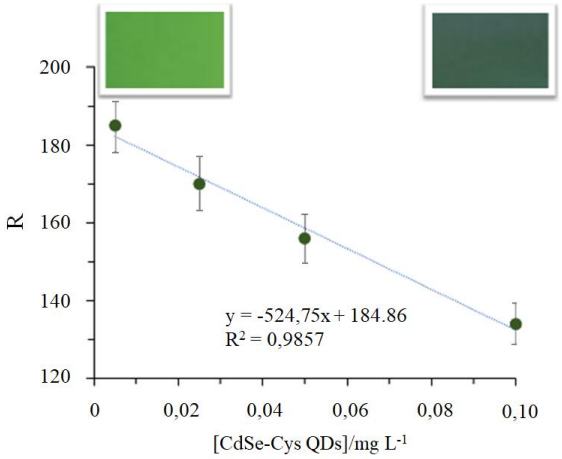


Figura 7.8.4: Variación da coordenada vermella no espazo RGB das imaxes fluorescentes (excitación a 365 nm) do papel de celulosa modificado polo ligando ao mergullalo nunha solución de CdSe-Cys QDs (5-100 ppb) durante 15 minutos. Incluíronse imaxes (baixo luz UV) do papel fluorescente para mostrar o cambio de cor.

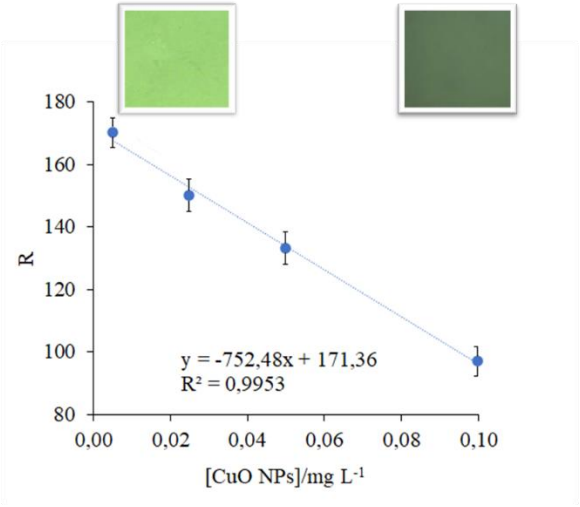


Figura 7.8.5: Variación da coordenada vermella no espazo RGB das imaxes fluorescentes (excitación a 365 nm) do papel de celulosa modificado polo ligando ao mergullalo nunha solución de CuO NPs (5-100 ppb) durante 15 minutos. Incluíronse imaxes (baixo luz UV) do papel fluorescente para mostrar o cambio de cor.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A sensibilidade avalíase a través dos parámetros límite de detección, e límite de cuantificación. O resultado do cálculo do LOD e LOQ para os CdSe-Cys QDs é de 15 e 50 ppb, respectivamente, mentres que para as NPs de CuO é de 10 e 35 ppb, respectivamente.

A precisión na reproducibilidade dos resultados e exactitude da medida avalíanse con ensaios interdía, realizando unha análise durante 3 días non consecutivos para os niveis de concentración establecidos. Na avaliación considéranse, como mínimo, un nivel baixo (0,05 mg L^{-1}) e un nivel alto (0,1 mg L^{-1}) dentro do rango lineal.

A desviación estándar relativa, *RSD = 100·SD/M*, onde *SD* é a desviación estándar da resposta e *M* a media aritmética das medidas, mide a precisión da media dos resultados. Adoptando como criterio de aceptación unha RSD≤ 15%, os resultados recollidos na táboa 7.8.1 indican unha alta precisión nas medidas dos CdSe-Cys QDs e das NPs de CuO. Na determinación da exactitude utilízase a porcentaxe de recuperación analítica, $AR = 100C_{med}/C_{adi}$ (onde C_{med} e C_{adi} son ás concentracións medida e adicionada, respectivamente) que proporciona unha medida da capacidade do procedemento para determinar cuantitativamente o analito adicionado á mostra. Adoptando como criterio de aceptación resultados no rango 80-120%, o procedemento pódese considerar exacto, especialmente na determinación cuantitativa das NPs de CuO. Os resultados pódense observar na táboa 7.8.1.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 7.8.1: Datos de desviación estándar relativa (RSD) e recuperación analítica (AR) na detección de NPs de CuO e QDs de CdSe-Cys cun "smartphone"

Analito	*0,05 mg L^{-1}*		*0,1 mg L^{-1}*	
	AR (%)	RSD (%)	AR (%)	RSD (%)
CuO NPs	102±1	1	99±1	1
QDs CdSe-Cys	119±3	3	95±1	1

8.8.3. *Detección de NPs de CuO e CdSe-Cys QDs con espectrofotometría UV-Vis/NIR*

Co fin de discernir o cambio de cor do papel de celulosa modificado con ligando, co aumento da concentración dos CdSe-Cys QDs e das NPs de CuO exploramos tamén o uso da espectrofotometría UV-Vis/NIR. O papel de celulosa modificado polo ligando ao ser mergullado en solucións acuosas de CdSe-Cys QDs e de NPs de CuO durante 2 horas presenta unha diminución continua da absorbancia de cada banda do espectro de reflectancia difusa, que mostra tres sinais dominantes situadas ao redor de 420, 330 e 270 nm (figuras 7.8.6 e 7.8.7).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

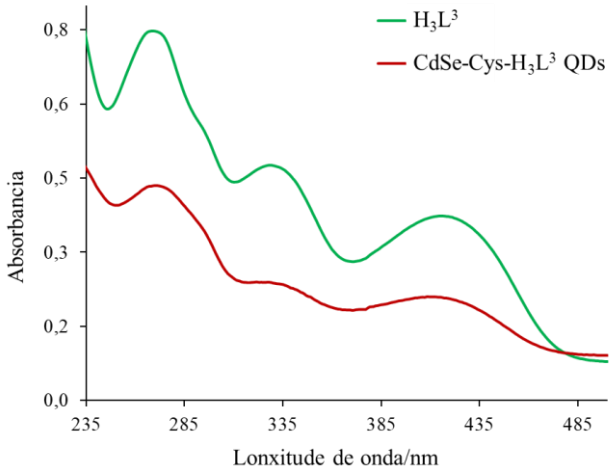


Figura 7.8.6: Vista do espectro de reflectancia difusa de H_3L^3 inmobilizado sobre papel de celulosa antes (verde escuro) e despois (verde claro) da interación con CdSe-Cys QDs.

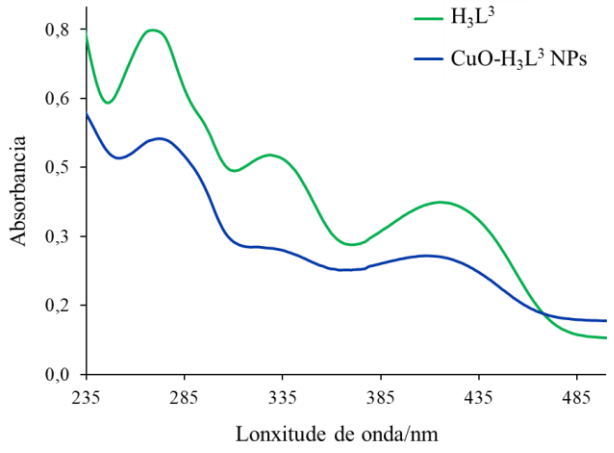


Figura 7.8.7: Vista do espectro de reflectancia difusa de H_3L^3 inmobilizado sobre papel de celulosa antes (verde) e despois (azul) da interacción con CuO NPs QDs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Como a diminución da absorbancia é máis clara na banda de 270 nm, utilizamos esta lonxitude de onda para estudar a resposta do papel de celulosa modificado con ligando á concentración dos CdSe-Cys QDs e das NPs de CuO. As figuras 7.8.8 e 7.8.9 mostran a diminución lineal da absorbancia da banda a 270 mm, cando a concentración dos CdSe-Cys QDs aumenta de 100 ppb a 2 ppm e a das NPs de CuO aumenta de 100 ppb a 1 ppm.

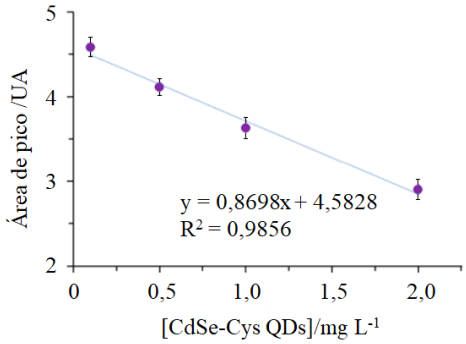


Figura 7.8.8: Diminución da absorbancia da banda a 270 mm, cando a concentración de CdSe-Cys QDs aumenta de 100 ppb a 2 ppm.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

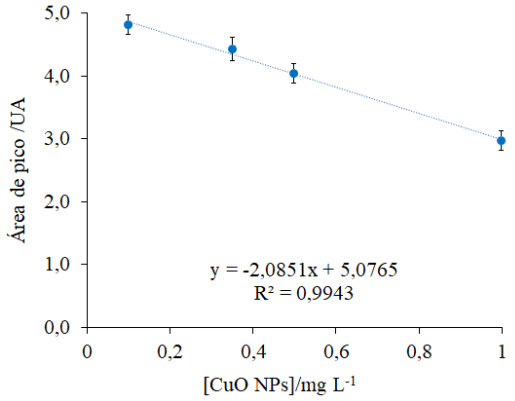


Figura 7.8.9: Diminución da absorbancia da banda a 270 mm, cando a concentración de CuO NPs aumenta de 100 ppb a 1 ppm

A sensibilidade avaliouse cos mesmo parámetros que anteriormente, límite de detección (LOD) e límite de cuantificación(LOQ). O resultado do cálculo do LOD e LOQ é de 245 e 815 ppb para os CdSe-Cys QDs, respectivamente, mentres que para as NPs de CuO é de 99 e 331 ppb, respectivamente.

A precisión na reproducibilidade dos resultados e a exactitude da medida avalíanse con ensaios interdía de desviación estándar relativa (*RSD*) e recuperación analítica (*AR*), respectivamente. Na avaliación considéranse, un nivel baixo (0,35 mg L^{-1}) e un nivel alto (1 mg L^{-1} para as NPs de CuO e 2 mg L^{-1} para os CdSe-Cys QDs) dentro do rango lineal, e realizáronse análises durante 3 días non consecutivos. Adoptando como criterio de aceptación unha RSD≤ 15%, e un AR no rango 80-120%, os resultados recollidos na táboa 7.8.2 indican unha alta precisión e unha exactitude aceptable nas medidas de CdSe-Cys QDs e CuO NPs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Táboa 7.8.2: Datos de desviación estándar relativa (RSD) e recuperación analítica (AR) na detección de NPs de CuO e QDs de CdSe-Cys con espectrofotometría UV-Vis/NIR

Analito	0,35 mg L^{-1}		1 mg L^{-1}	
CuO NPs	AR (%)	RSD (%)	AR (%)	RSD (%)
	92±4	4	98±3	3
Analito	1 mg L^{-1}		2 mg L^{-1}	
CdSe-Cys QDs	AR (%)	RSD (%)	AR (%)	RSD (%)
	110±4	3	97±1	6

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo 9

Conclusións

I. Sintetizáronse e caracterizáronse estruturalmente tres ligandos fluorescentes derivados de dansilo, H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3, que merecen ser explorados como sondas para a detección de nanomateriales baseados en metais pesados, tales como NPs de CuO, NPs de CdSe e QDs de CdSe-Cys. O estudo mediante métodos de teoría do funcional da densidade (DFT) permitiu realizar unha asignación detallada das bandas máis significativas dos espectros UV-Vis e infravermello de H_3L^3.

II. H_3L^3 foi inmobilizado en papel de celulosa mediante a formación dun enlace amida, que resulta da condensación dun ácido carboxílico e unha amina. Tres sinales dominantes localizadas ao redor de 270, 330 e 420 nm no espectro de reflectancia difusa do papel modificado con H_3L^3 demostraron a súa inmobilización.

III. A afinidade dos tres ligandos, H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3, por ións Cu^{2+} en disolución, dando lugar ao complexo metálico correspondente en cada caso, é similar á atopada na interacción con ións Cu^{2+} na

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

superficie das NPs de CuO. Os valores da enerxía libre de Gibbs obtidos corroboraron que tanto os complexos metálicos como o resultado da interacción entre o ligando e as NPs de CuO, presentan estabilidades similares. Resultados semellantes se atoparon no estudo da interacción de H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3 con ions Cd^{2+} e con NPs de CdSe. Atopouse que a afinidade dos tres ligandos con respecto aos NMs estudados era a seguinte: CuO NPs > CdSe NPs > CdSe-Cys QDs.

IV. A caracterización espectroscópica dos complexos metálicos permite propor que nos complexos $Cu_2(HL^1)_2(H_2O)_4{\cdot}6H_2O$, $Cd_2(HL^1)_2(H_2O)_4{\cdot}2H_2O$, $Cu_2(HL^3)_2(H_2O)_4{\cdot}10H_2O$ e $Cd_2(HL^3)_2(H_2O)_4{\cdot}8H_2O$ a coordinación ten lugar a través dos átomos de O_{fenol}, N_{imino} e $N_{sulfonamida}$ do correspondente ligando. A xeometría optimizada mediante DFT de $Cu_2(HL^3)_2(H_2O)_4$ mostra unha contorna de coordinación seis que comprende un sitio de unión N,N,O dunha unidade de ligando, unha ponte N sulfonamido da unidade de ligando veciña e dúas moléculas de auga que completan a súa esfera de coordinación. Sen embargo, nos complexos $CuL^2(H_2O)_2{\cdot}4(H_2O)$ e $CdL^2(H_2O)_2{\cdot}H_2O$ a coordinación semella ter a lugar a través dos átomos de O_{fenol}, N_{imina}, $N_{sulfonamida}$ e N_{quin} do ligando, na súa forma de base de Schiff.

V. Os resultados do estudos teóricos mediante DFT apoiaron a existencia de interacción das NPs de CuO e de CdSe con H_3L^3, a través dos átomos de O_{fenol}, N_{imina} e $N_{sulfonamida}$ do ligando en forma dianiónica (como anión fenolato e sulfonamida). Os átomos de O dos grupos carboxilato e sulfonamida contribúen á estabilización dos sistemas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

VI. Os estudos realizados indican que os ligandos H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3, empregan cinco sitios de unión na superficie das NPs de CuO e NPs de CdSe, mentres que na superficie dos CdSe-Cys QDs só utilizan dous sitios de unión. Ademais, determináronse as relacións molares nas que se produce a interacción entre os ligandos e os nanomateriais. A análise mediante μ-XRF indica que as especies CuO-H_3L^1 NPs e CuO-H_3L^3 NPs conteñen CuO e H_3L^1 en proporción molar 15:1, mentres que a especie CuO-H_2L^2 NPs contén CuO e H_2L^2 en proporción molar 3:1. Os estudos tamén amosaron que a especie CdSe-Cys QDs-H_3L^3 contén CdSe e H_3L^3 en relación molar 15:1, e que na superficie a relación molar Cys:H_3L^3 é 20:1, aproximadamente.

VII. Comprobouse que, a temperatura ambiente, H_3L^1 e H_3L^3 interaccionan rapidamente coas NPs de CuO e de CdSe así como cos QDs de CdSe-Cys a pH básico. Sen embargo, a interacción destes NMs con H_2L^2, ocorre mais favorablemente a pH ácido.

VIII. A intensidade de fluorescencia de H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3, en disolucións acuosas, diminúe linealmente co aumento da concentración de NMs de CuO e CdSe.

IX. Os límites de detección (LOD) obtidos empregando unha concentración de ligando de 0,126 ppm, para NPs de CuO, NPs de CdSe e QDs CdSe-Cys foron respectivamente, 0,44, 0,57 e 0,72 ppm con H_3L^1; 0,37, 0,45 e 0,67 ppm con H_2L^2; e 0,33, 0,46 e 0,63 ppm con H_3L^3.

X. Os límites de detección (LOD), obtidos empregando unha concentración de ligando de 1,26 ppb, para as NPs de CuO, NPs de

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CdSe e QDs CdSe-Cys, foron respectivamente, 34, 47 e 85 ppm con H_3L^1; 23, 30 e 43 ppb con H_2L^2; e 30, 40 e 62 ppb con H_3L^3.

XI. Os límites de cuantificación (LOQ), obtidos empregando unha concentración de ligando de 0,126 ppm, para as NPs de CuO, NPs de CdSe e QDs CdSe-Cys, foron respectivamente, 1,46, 1,90 e 2,42 ppm con H_3L^1; 1,23, 1,49 e 2,22 ppm con H_2L^2; 1,09, 1,52 e 2,11 ppm con H_3L^3.

XII. Os límites de cuantificación (LOQ), obtidos empregando unha concentración de ligando de 1,26 ppb para as NPs de CuO, NPs de CdSe e QDs CdSe-Cys, foron respectivamente, 112, 158 e 218 ppb con H_3L^1; 78, 100 e 145 ppb con H_2L^2; 101, 134 e 207 con H_3L^3.

XIII. Os rangos de traballo para a detección dos NMs de CuO, CdSe e CdSe-Cys empregando unha concentración de 0,126 ppm nos tres casos foron respectivamente, 1,4-9,5, 1,9-11,4 e 2,4-10,5 ppm con H_3L^1; 1,2-9,5, 1,5-9,5 e 2,2-8,6 ppm con H_2L^2; 1,1-9,5, 1,5-11,4 e 2,1-10,5 ppm con H_3L^3.

XIV. H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3, cunha concentración de 8ppm, posúen unha alta selectividade cara as NPs de CuO, incluso en presenza de outros NMs comúns, como NPs de Cu e NPs de CdSe. Estas poden ser toleradas en concentracións de, polo menos, 8 ppm sen ser consideradas como interferencias, cando a concentración das NPs de CuO é de 8 ppm. As NPs de ZnO e TiO_2 poden tolerarse nunha concentración de 4 ppm

XV. H_3L^1, H_2L^2 e H_3L^3, cunha concentración de 8ppm, posúen tamén unha alta selectividade de cara á determinación de NPs de CdSe en presenza de NPs de Cu, que poden ser toleradas nunha concentración de polo menos 8 ppm, cando a concentración de NPs

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

de CdSe é de 8 ppm. Outros NMs comúns, como as NPs de CuO, as NPs de ZnO e as NPs de TiO_2, poden tolerarse en concentracións de, polo menos, 4 ppm sen ser consideradas unha interferencia.

XVI. Os ións Na^+, K^+, Mg^{2+} e Ca^{2+}, nunha concentración de 8 ppm, non interfiren na detección das NPs de CdSe con H_3L^1. Sen embargo, os ións Al^{3+} e Fe^{3+}, poden ser tolerados nunha concentración de ≤ 2 ppm. Na detección de NPs de CdSe con H_2L^2, os ións Na^+ e K^+ non interfiren nunha concentración de ≤ 8 ppm. Os ións Mg^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} e Al^{3+} non interfiren en concentración ≤ 2 ppm. Os ións Na^+, K^+ e Fe^{3+} nunha concentración de ≤ 8 ppm non interfiren na detección das NPs de CdSe con H_3L^3. Os ións Mg^{2+}, Ca^{2+} e Al^{3+} poden ser tolerados nunha concentración de ≤ 2 ppm.

XVII. Na detección de NPs de CuO con H_3L^1, Na^+, K^+, Mg^{2+} e Ca^{2+} non interfiren nunha concentración ≤ 8 ppm. Os ións Fe^{3+} e Al^{3+} poden tolerarse en concentracións de ≤ 4 ppm. Na detección de NPs de CuO con H_2L^2, obtivéronse os mesmos resultados ca co ligando H_3L^1. Na^+, K^+, Mg^{2+} e Ca^{2+} non interfiren nunha concentración de ≤ 8 ppm, pero os ións Fe^{3+} e Al^{3+} poden tolerarse en concentracións de ≤ 4 ppm. Na detección de NPs de CuO con H_3L^3, Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} e Fe^{3+}, nunha concentración de ≤ 8 ppm, non interfiren. Os ións Al^{3+} poden tolerarse en concentracións de ≤ 4 ppm.

XVIII. Mediante o uso dun "*smartphone*", empregando unha aplicación de recoñecemento da cor RGB, rexistrouse o valor que especifica a intensidade relativa do vermello, verde e azul do ligando H_3L^3, inmobilizado en papel de celulosa. O uso da canle vermella (R) permitiu detectar CdSe-Cys QDs con LOD e LOQ de 15 ppb e 50 ppb.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

De igual maneira, detectouse NPs de CuO, con LOD e LOQ 10 e 35 ppb, respectivamente. Na determinación cuantitativa de CdSe-Cys QDs e CuO NPs obtívose alta precisión (RSD =1-3) e exactitude (AR = 95-119).

XIX. A espectrofotometría de reflectancia difusa permitiu tamén a detección de CdSe-Cys QDs e CuO NPs con H_3L^3 inmobilizado en papel de celulosa. O resultado do cálculo do LOD e LOQ é de 245 e 815 ppb para CdSe-Cys QDs, respectivamente, mentres que para CuO NPs é de 99 e 331 ppb, respectivamente. Na determinación cuantitativa de CdSe-Cys QDs e CuO NPs obtívose alta precisión (RSD =3-6) e exactitude (AR = 92-110).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Capítulo 10

Relación de publicacións

A continuación, recóllese a relación de publicacións que achegan contidos a esta tese, con indicación do factor de impacto das revistas na que se atopan no ano de publicación, a posición relativa na categoría a que pertencen e/ou outros indicios de calidade, así como a contribución da doutoranda e a autorización da revista/editorial para o uso da publicación na tese de doutoramento.

❖ **Synthesis and Characterization of a Dansyl-Based Fluorescent Probe for Analytical Purposes** †

Jesús Sanmartín-Matalobos*, Pilar Bermejo-Barrera, Yeneva Alves-Iglesias, Ana M. García-Deibe and Matilde Fondo
Chem. Proc. **2022**, 8(1), 76; https://doi.org/10.3390/ecsoc-25-11775

Chemistry Proceedings is an open access journal (ISSN: 2673-4583) dedicated to publishing findings resulting from conferences, workshops, and similar events, in all areas of chemistry. The conference organizers and proceedings editors are responsible for managing the peer-review process and selecting papers for conference proceedings. Articles published in Chemistry Proceedings will be Open-Access articles distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License (CC BY). **The copyright is retained by the author(s)**. MDPI will insert the following note at the end of the published text:

© 2023 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Contribución de Yeneva Alves-Iglesias ao artigo publicado: Metodoloxía, programas informáticos e investigación. Todos os autores leron e aceptaron a versión publicada do manuscrito.

Indicios de calidade:

- Citacións do artigo: 2 |
- Visualizacións do artigo: 563
- 1º ano de publicación do xornal (Chem. Proc.): 2020

❖ **Immobilization on Cellulose Paper of a Chemosensor for CdSe-Cys QDs** †

Yeneva Alves-Iglesias, Pilar Bermejo-Barrera, Ana María García-Deibe, Matilde Fondo and Jesús Sanmartín-Matalobos*
Chem. Proc. **2022**, 12(1), 92; https://doi.org/10.3390/ecsoc-26-13561

Chemistry Proceedings is an open access journal (ISSN: 2673-4583) dedicated to publishing findings resulting from conferences, workshops, and similar events, in all areas of chemistry. The conference organizers and proceedings editors are responsible for managing the peer-review process and selecting papers for conference proceedings. Articles published in Chemistry Proceedings will be Open-Access articles distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License (CC BY). **The copyright is retained by the author(s)**. MDPI will insert the following note at the end of the published text:

© 2023 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Contribución de Yeneva Alves-Iglesias ao artigo publicado: Metodoloxía, programas informáticos e investigación. Todos os autores leron e aceptaron a versión publicada do manuscrito.

Indicios de calidade:

- Visualizacións do artigo: 269
- 1º ano de publicación do xornal (Chem. Proc.): 2020

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

❖ **Semiconductor Quantum Dots as Target Analytes: Properties, Surface Chemistry and Detection**

Jesús Sanmartín-Matalobos*, Pilar Bermejo-Barrera, Manuel Aboal-Somoza, Matilde Fondo, Ana M. García-Deibe*, Julio Corredoira-Vázquez and Yeneva Alves-Iglesias
Nanomaterials **2022**, *12*(14), 2501; https://doi.org/10.3390/nano12142501

Nanomaterials (ISSN 2079-4991) is an international, peer-reviewed, open access journal published semimonthly online by MDPI. Articles published in Nanomaterials will be Open-Access articles distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License (CC BY). **The copyright is retained by the author(s)**. MDPI will insert the following note at the end of the published text:

© 2023 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Contribución de Yeneva Alves-Iglesias ao artigo publicado: Participación na redacción do borrador orixinal, preparación de figuras y visualización. Todos os autores leron e aceptaron a versión publicada do manuscrito.

Indicios de calidade:

- Citacións do artigo: 5
- Visualizacións do artigo: 1779

Scopus CiteScore

- Ano 2022
- CiteScore da revista: 7.4
- Área: Chemical Engineering (all) Percentil: 81
- Área: Materials Science (all) Percentil: 78

SCImago Journal Rank

- Ano: 2022
- Impacto SJR da revista: 0.811
- Cuartil maior: Q1
- Área: Chemical Engineering (miscellaneous) Cuartil: Q1 Posición na área: 61/325

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Área: Materials Science (miscellaneous) Cuartil: Q2 Posición na área: 153/597

❖ **Detecting CdSe Nanomaterials with a Fluorescent Schiff Base Ligand**

Jesús Sanmartín-Matalobos*, Pilar Bermejo-Barrera, Ignacio Pérez-Juste, Matilde Fondo, Ana M. García-Deibe* and Yeneva Alves-Iglesias
Chemosensors **2022**, 10(10),
394; https://doi.org/10.3390/chemosensors10100394

Chemosensors (ISSN: 2227-9040) is an international, scientific, peer-reviewed, open access journal on the science and technology of chemical sensors and related analytical methods and systems, published monthly online by MDPI. Articles published in Chemosensors will be Open-Access articles distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License (CC BY). **The copyright is retained by the author(s)**. MDPI will insert the following note at the end of the published text:

© 2023 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Contribución de Yeneva Alves-Iglesias ao artigo publicado: metodoloxía, programas informáticos, análise formal, investigación, participación na redacción do borrador orixinal. Todos os autores leron e aceptaron a versión publicada do manuscrito.

Indicios de calidade:

- Citacións do artigo: 1
- Visualizacións do artigo: 894

Scopus CiteScore

- Ano: 2022
- CiteScore da revista: 3.9
- Área: Analytical Chemistry Percentil: 52
- Área: Physical and Theoretical Chemistry Percentil: 50

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

SCImago Journal Rank

- Ano 2022
- Impacto SJR da revista: 0.52
- Cuartil maior: Q2
- Área: Analytical Chemistry Cuartil: Q2 Posición na área: 60/137
- Área: Physical and Theoretical Chemistry Cuartil: Q2 Posición na área: 80/182

❖ **Experimental and Computational Studies on the Interaction of a Dansyl-Based Fluorescent Schiff Base Ligand with Cu^{2+} Ions and CuO NPs**

Jesús Sanmartín-Matalobos, Pilar Bermejo-Barrera, Ignacio Pérez-Juste, Matilde Fondo, Ana M. García-Deibe* and Yeneva Alves-Iglesias
Int.J.Mol.Sci. **2022**, *23*(19), 11565; https://doi.org/10.3390/ijms231911565

International Journal of Molecular Sciences (ISSN 1422-0067; CODEN: IJMCFK; ISSN 1661-6596 for printed edition) is an international, peer-reviewed, open access journal providing an advanced forum for biochemistry, molecular and cell biology, molecular biophysics, molecular medicine, and all aspects of molecular research in chemistry, and is published semimonthly online by MDPI. Articles published in IJMS will be Open-Access articles distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License (CC BY). **The copyright is retained by the author(s)**. MDPI will insert the following note at the end of the published text:

© 2023 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Contribución de Yeneva Alves-Iglesias ao artigo publicado: metodoloxía, programas informáticos, análise formal, investigación, participación na redacción do borrador orixinal. Todos os autores leron e aceptaron a versión publicada do manuscrito.

Indicios de calidade:

- Citacións do artigo: 1
- Visualizacións do artigo: 736

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

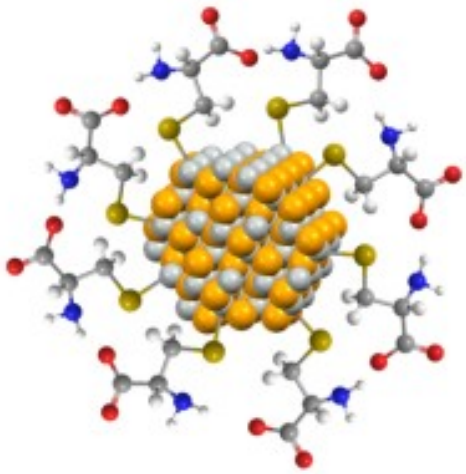
Scopus CiteScore

- Ano 2022
- CiteScore da revista: 7.8
- Área: Inorganic Chemistry Percentil: 87
- Área: Organic Chemistry Percentil: 85
- Área: Spectroscopy Percentil: 84
- Área: Physical and Theoretical Chemistry Percentil: 83
- Área: Computer Science Applications Percentil: 82
- Área: Molecular Biology Percentil: 67
- Área: Catalysis Percentil: 61

SCImago Journal Rank

- Ano 2022
- Impacto SJR da revista: 1.154
- Cuartil maior: Q1
- Área: Inorganic Chemistry Cuartil: Q1 Posición na área: 7/74
- Área: Spectroscopy Cuartil: Q1 Posición na área: 7/74
- Área: Physical and Theoretical Chemistry Cuartil: Q1 Posición na área: 25/182
- Área: Organic Chemistry Cuartil: Q1 Posición na área: 21/185
- Área: Computer Science Applications Cuartil: Q1 Posición na área: 134/782
- Área: Medicine (miscellaneous) Cuartil: Q1 Posición na área: 368/2502
- Área: Molecular Biology Cuartil: Q2 Posición na área: 136/418
- Área: Catalysis Cuartil: Q2 Posición na área: 18/60

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



A finalidade desta tese doutoral é a síntese, caracterización e estudo de ligandos orgánicos que actúen como receptores para levar a cabo a determinación de nanomateriais en medios acuosos ou alcois. Esta investigación céntrase no uso da espectroscopía de fluorescencia e de UV-Vis para a detección de nanopartículas CuO e CdSe, así como puntos cuánticos de CdSe funcionalizados con cisteína, empregando receptores capaces de interaccionar con eles, o que determinará un cambio nas súas propiedades ópticas.