

DISEÑO, SÍNTESIS Y APLICACIÓN DE PUNTOS CUÁNTICOS BIOCONJUGADOS: SU UNIÓN A  
MOLÉCULAS DE INTERÉS BIOLÓGICO

Por:

**CARLOS ANDRÉS MARTÍNEZ BONILLA**

*Químico, UIS*

*Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular*



UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES  
FACULTAD DE FISCOQUÍMICAS  
MAESTRÍA EN INGENIERÍA DE MATERIALES  
BUCARAMANGA  
2016

**DISEÑO, SÍNTESIS Y APLICACIÓN DE PUNTOS CUÁNTICOS BIOCONJUGADOS: SU UNIÓN A  
MOLÉCULAS DE INTERÉS BIOLÓGICO**

Por:

**CARLOS ANDRÉS MARTÍNEZ BONILLA**

*Químico, UIS*

Trabajo de investigación para optar por el título de  
**Magíster en Ingeniería de Materiales**

Director:

**VLADÍMIR V. KOUZNETSOV,**

*PhD., DSc. Profesor titular Escuela de Química, UIS*

*Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular*



**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES  
FACULTAD DE FISICOQUÍMICAS  
MAESTRÍA EN INGENIERÍA DE MATERIALES  
BUCARAMANGA  
2016**

## *Dedicatoria*

*A mis padres, Olga Fanny Bonilla Díaz y  
Guillermo Martínez Meléndez*

*A Nathalie, por brindarme todo su amor,  
cariño y cuidado*

### **Agradecimientos:**

El más especial agradecimiento al Profesor Vladimir Kouznetsov, por confiar en mí y plantar la idea para hacer algo diferente. Es sin duda un ejemplo a seguir, al mostrarme el amor propio, sentido de pertenencia y empeño que debe tener un científico frente al área en el cual se desempeña.

A COLCIENCIAS y CENIVAM por el apoyo financiero de la investigación bajo el proyecto Bio-Red-CENIVAM RC-0575-2012.

Al profesor Ángel M. Meléndez R. por su colaboración en el desarrollo de las aplicaciones. A Andrea y Mónica por su tiempo desarrollando dichos procesos.

A Mary Helena T., por brindarme su valiosísima ayuda y enseñarme el análisis por RMN avanzado. Del mismo modo al laboratorio de RMN del PTG por su colaboración. Al profesor Rafael Cabanzo por la toma de los espectros de fluorescencia.

A los miembros del LQOBio y los buenos amigos. Del mismo modo a Luis E. Cortes (Bopchis) y Franci Andrea Olivar por brindarme su verdadera amistad.

A Sergio, Eduardo, Eliana y Verónica, por brindarme su amistad durante este largo camino.

## TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	15
1. OBJETIVOS.....	19
1.1. OBJETIVO GENERAL.....	19
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
2. FUNDAMENTO TEÓRICO .....	20
2.1. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS QDS.....	20
3. ESTADO DEL ARTE .....	24
3.1. PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO DE LOS BIOSENSORES.....	24
3.2. TOXICIDAD EN LOS QDS .....	24
3.3. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE QDS.....	26
3.3.1. Síntesis organometálica coloidal – OCS. ....	27
3.3.2. Síntesis acuosa coloidal – ACS. ....	29
3.4. APLICACIONES DE LOS QDS .....	30
4. METODOLOGÍA .....	32
4.1. MATERIALES Y REACTIVOS.....	32
4.2. MONITOREO Y PURIFICACIÓN EN SÍNTESIS ORGÁNICA .....	32
4.3. EQUIPOS EMPLEADOS.....	32
4.4. SECCIÓN EXPERIMENTAL .....	33
4.4.1. Síntesis de QDs de CdE-ligando (E: Se, Te).....	33
4.4.2. Síntesis de QDs recubiertos CdE/ZnS-ligando (E: Se, Te). ....	34
4.4.3. Síntesis de QDs bioconjugados con los componentes principales de aceites esenciales 1a-d. ....	34
4.4.4. Síntesis de los 2-cloroacetatos 2a-d y las sales de Bunte 3a-d a partir de los componentes principales de aceites esenciales 1a-d.....	35
4.4.5. Síntesis de QDs bioconjugados a partir de las sales de Bunte 3a-d. ....	37
4.5. APLICACIONES – SENSIBILIZACIÓN DE NANOTUBOS TRANSPARENTES DE TIO <sub>2</sub> CON QDS .....	37
4.5.2. Preparación de fotoánodo tipo TNTs/CdS/CdTe. ....	38
4.6. APLICACIONES - BIOCONJUGADO DE NANOTUBOS DE TIO <sub>2</sub> /QDS/ÁCIDO FÓLICO PARA LA DETECCIÓN DE CÉLULAS CANCERÍGENAS. ....	39
4.6.1. Caracterización foto-electroquímica de los QDs. ....	39
5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	40
5.1. DISEÑO DE QDS: COMPOSICIÓN .....	40
5.2. DISEÑO DE QDS: TIPO DE LIGANDOS .....	41

5.3.	DISEÑO DE QDS: TIPO DE CAPA.....	43
5.4.	SÍNTESIS DE QDS EN MEDIO ACUOSO COLOIDAL - ACS. ....	44
5.5.	CARACTERIZACIÓN DE LOS QDS SINTETIZADOS POR ACS.....	53
5.6.	ANÁLISIS DE TAMAÑO Y $d_H$ DE LOS NANOCRISTALES: USO DE UV-VIS, DRX, DLS Y DOSY	59
5.7.	FUNCIONALIZACIÓN DE LOS QDS: PROCESO DE BIOCONJUGACIÓN .....	64
5.8.	SÍNTESIS ALTERNATIVA DE QDS BIOCONJUGADOS: USO DE LAS SALES DE BUNTE ...	69
6.	<b>APLICACIONES DE LOS QDs SINTETIZADOS</b> .....	71
6.1.	APLICACIÓN – SENSIBILIZACIÓN DE NANOTUBOS TRANSPARENTES DE TIO <sub>2</sub> CON QDS	71
6.2.	APLICACIÓN – SENSIBILIZACIÓN DE NANOTUBOS TRANSPARENTES DE TIO <sub>2</sub> CON QDS	
	APLICADOS A DETECCIÓN DE CÉLULAS CANCERÍGENAS. ....	73
7.	<b>CONCLUSIONES</b> .....	77
8.	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	78
	<b>REFERENCIAS</b> .....	79
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	86
	<b>ANEXOS</b> .....	88

## LISTADO DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representación esquemática de los niveles de energía en semiconductores macroscópicos, nanocristales y átomos (a), y la relación de dimensiones entre el radio de Bohr del excitón y el tamaño de partícula (b), (c). Adaptado de [12].	20
<b>Figura 2.</b> Color emitido por QDs compuestos de CdTe/ZnS-TGA en función del tamaño bajo luz UV ( $\lambda_{ex} = 365$ nm).	21
<b>Figura 3.</b> Arquitectura básica y ensamble de los QDs compuestos de núcleo, capa y ligandos.	22
<b>Figura 4.</b> Representación del fenómeno de FRET en QD-BC.	24
<b>Figura 5.</b> Representación esquemática de la toxicidad de los QDs por lixiviación de iones $Cd^{n+}$ al ambiente celular y su afecto sobre el ADN.	25
<b>Figura 6.</b> QDs emergentes en respuesta a la constante demanda de NPs más estables y menos tóxicas.	26
<b>Figura 7.</b> Representación esquemática de los métodos de síntesis de QDs compuestos de CdSe por OCS (a) y ACS (b).	28
<b>Figura 8.</b> Fotografías de LEDs basados en QDs de color (a) azul, (b) verde y (c) rojo. Adaptado de [71], [72] and [73], respectivamente.	30
<b>Figura 9.</b> Clasificación de los QDs de acuerdo con el tipo de capa generada sobre su superficie.	44
<b>Figura 10.</b> Reacción de reducción para el calcogenuro E (a) y aspecto físico de la reacción de reducción (b).	45
<b>Figura 11.</b> Resultados de la QY para la fuente de $Cd^{2+}$ (a) y fuente del calcogenuro E (b).	46
<b>Figura 12.</b> Espectros de UV-vis y fluorescencia de los QDs de CdTe-TGA (a). Aspecto físico de la reacción con el método de ACS (b).	47
<b>Figura 13.</b> Representación esquemática de la estructura química de los ligandos TGA (a), MPA (b), DHLA (c) y L-Cys (d) sobre la superficie de los QDs.	47
<b>Figura 14.</b> Resultados de la evaluación del ligando (a) y la relación molar (b) en la QY de los QDs.	48
<b>Figura 15.</b> Disposición espacial de los ligandos y calcogenuros sobre la superficie de los QDs.	49
<b>Figura 16.</b> Resultados de la evaluación del tiempo de reacción en la QY (a) y aspecto físico de los mismos bajo luz UV ( $\lambda_{ex} = 365$ nm) (b).	50
<b>Figura 17.</b> Espectros de UV-vis (a) y de fluorescencia (b) para los QDs en función del tiempo de reacción.	51
<b>Figura 18.</b> Espectros de UV-vis y de fluorescencia (a) para los QDs de CdTe-TGA y CdTe/ZnS-TGA. Resultados de la evaluación del número de monocapas de ZnS en la QY (b).	52

<b>Figura 19.</b> Espectros IR de los QDs de CdTe-TGA y CdTe/ZnS-TGA. ....	53
<b>Figura 20.</b> Perfiles de difracción para los QDs de CdTe-TGA <b>(a)</b> y CdTe/ZnS-TGA <b>(b)</b> . ....	54
<b>Figura 21.</b> Superposición de los espectros de RMN <sup>1</sup> H de los QDs y del ligando TGA libre. ...	55
<b>Figura 22.</b> Espectros de RMN <sup>13</sup> C de los QDs y del ligando TGA libre, al igual que el espectro DEPT-135 para los QDs. ....	56
<b>Figura 23.</b> Espectro HSQC para los QDs. ....	56
<b>Figura 24.</b> Cuantificación del número de ligandos por RMN <sup>1</sup> H a partir de la adición de un estándar interno. ....	57
<b>Figura 25.</b> Superposición de los espectros DOSY para los QDs de CdTe/ZnS-TGA y el ligando libre. ....	59
<b>Figura 26.</b> Representación esquemática de la morfología y tamaño de nanopartículas que son medidas diferentes técnicas. ....	60
<b>Figura 27.</b> Representación esquemática del tipo de medición que pueden ser realizar con diferentes técnicas sobre el tamaño de NPs. ....	61
<b>Figura 28.</b> Representación del incremento esperado para los QDs tipo core-shell y el incremento medido por DRX. ....	62
<b>Figura 29.</b> Dispersión de los tamaños de los QDs por DOSY <b>(a)</b> y DLS <b>(b)</b> . ....	63
<b>Figura 30.</b> Componentes principales de aceites esenciales empleados en la BC. ....	64
<b>Figura 31.</b> Monitoreo por TLC <b>(a)</b> y aspecto físico de la BC antes y después de la reacción <b>(b)</b> . ....	65
<b>Figura 32.</b> Espectro IR del producto BC con carvacrol. ....	66
<b>Figura 33.</b> Superposición de los espectros DOSY para el QDs conjugado y el carvacrol <b>1a</b> . ...	67
<b>Figura 34.</b> Resultados de la evaluación del efecto de los compuestos <b>1a-d</b> sobre la QY. ....	67

## LISTADO DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición del núcleo de diversos QDs y su rango de emisión. ....	40
<b>Tabla 2.</b> Relación de ligandos seleccionados y con el valor de los parámetros moleculares calculados.....	42
<b>Tabla 3.</b> Resultados de los cálculos realizados en la determinación indirecta de tamaño de los QDs preparados. ....	61

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Reacción general de BC de los QDs sintetizados por ACS. ....	35
<b>Esquema 2.</b> Ruta de síntesis de las sales de Bunte <b>3a-d</b> a partir de los compuestos <b>1a-d</b> . ...	35
<b>Esquema 3.</b> Ruta de síntesis directa de QDs-BC a partir de las sales de Bunte <b>3a-d</b> . ....	37
<b>Esquema 4.</b> Esquema de síntesis para los QDs compuestos de CdE bajo el método ACS. ....	45
<b>Esquema 5.</b> Síntesis de monocapas de ZnS sobre los QDs de mayor QY bajo el método ACS. ....	51
<b>Esquema 6.</b> Reacción de BC de los QDs con los compuestos <b>1a-d</b> utilizando la química de las carbodiimidas.....	64
<b>Esquema 7.</b> Mecanismo de reacción para el proceso de BC. ....	65
<b>Esquema 8.</b> Posible atenuación de la luminiscencia de los QDs-BC por acción de los componentes principales de aceites esenciales como aceptores de e <sup>-</sup> . ....	68
<b>Esquema 9.</b> Síntesis de sales de Bunte a partir de halogenuros de alquilo y tiosulfato de sodio, y su producto de hidrólisis. ....	69
<b>Esquema 10.</b> Ruta de síntesis propuesta para la obtención de las sales de Bunte <b>3a-d</b> .....	70
<b>Esquema 11.</b> Síntesis directa de QDs-BC a partir de las sales de Bunte <b>3a-d</b> . ....	70
<b>Esquema 12.</b> Hipótesis de trabajo en la aplicación de sensibilización de membranas de TiO <sub>2</sub> con QDs conjugados con ácido fólico (AF). ....	73
<b>Esquema 13.</b> Reacción de conjugación de los QDs con el AF. ....	73

## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo A.</b> Relación de cálculos para la generación de monocapas de ZnS.....	88
<b>Anexo C.</b> Medición de la eficiencia cuántica QY para los QDs sintetizados.....	89
<b>Anexo D.</b> Medición de la relación ligando/QDs usando RMN <sup>1</sup> H. ....	91
<b>Anexo E.</b> Cálculo del tamaño del cristalito para los QDs por DRX.....	92
<b>Anexo F.</b> Espectros de IR y UV-vis para los QDs con los ligandos MPA, L-Cys y DHLA. ....	92
<b>Anexo G.</b> Espectros de UV-vis, IR y RMN (DOSY) para los QDs-BC.....	94
<b>Anexo H.</b> Espectros de IR y RMN para los cloroacetatos <b>2a-d</b> , y espectros IR para las sales de Bunte <b>3a-d</b> .....	98

## RESUMEN

TÍTULO: DISEÑO, SÍNTESIS Y APLICACIÓN DE PUNTOS CUÁNTICOS BIOCONJUGADOS: SU UNIÓN A MOLÉCULAS DE INTERÉS BIOLÓGICO\*

AUTORA: CARLOS ANDRÉS MARTÍNEZ BONILA\*\*

PALABRAS CLAVE: puntos cuánticos, eficiencia cuántica, bioconjugación, *core-shell*, sales de Bunte.

### DESCRIPCIÓN

El desarrollo nanotecnológico de nuevos materiales envuelve el descubrimiento o diseño de materiales a escala nanométrica con propiedades físicas y químicas que puedan ser fácilmente controladas. Este control permite que dichas propiedades sean modificadas en función de la aplicación. Uno de los ejemplos más apropiados de nanopartículas (NPs) con este propósito son los puntos cuánticos o *quantum dots* (QDs), un tipo de nanocristal semiconductor fluorescente que tiene la posibilidad, debido a sus propiedades ópticas y electrónicas únicas, de ser usado en numerosas aplicaciones tecnológicas en áreas como la nanomedicina, biosensores, procesos fotovoltaicos, patología molecular y administración de fármacos. En la presente investigación se reportan el diseño, síntesis y aplicación de QDs bioconjugados con cuatro componentes principales de aceites esenciales como carvacrol, geraniol, eugenol y resorcinol. El diseño de la estructura de los QDs fue realizado analizando la composición, tipo de ligando, y tipo de capa. El método de síntesis acuosa coloidal (ACS) fue seleccionado como el método más apropiado para la síntesis de QDs compuestos de CdTe/ZnS-TGA. Los QDs sintetizados fueron caracterizados por IR, RMN, UV-vis, DLS y DRX, mostrando eficiencias cuánticas entre 15 y 69 %, con tamaños entre 2.51 y 4.32 nm, y una monocapa de ZnS de 0.38 nm de grosor. La bioconjugación fue realizada utilizando la química de las carbodiimidas y confirmada por experimentos DOSY. Además, una ruta alternativa para la síntesis directa de QDs bioconjugados fue diseñada y desarrollada usando las sales de Bunte como sustitutos de ligandos tipo tiol. Dos aplicaciones basadas en los QDs preparados fueron desarrolladas, la primera es la sensibilización de nanotubos de TiO<sub>2</sub> transparentes, y la segunda fabricación de un biosensor basado en el bioconjugado de nanotubos de TiO<sub>2</sub>/QDs/ácido fólico para la detección de células cancerígenas.

---

\* Trabajo de grado, modalidad investigación.

\*\* Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de los Materiales. Director: Vladimir V. Kouznetsov.

## ABSTRACT

TITLE: DESIGN, SYNTHESIS AND APPLICATION OF BIOCONJUGATED QUANTUM DOTS: ITS BINDING TO MOLECULES OF BIOLOGICAL INTEREST\*

AUTHOR: CARLOS ANDRÉS MARTÍNEZ BONILA\*\*

KEY WORDS: quantum dots, quantum yield, bioconjugation, core-shell, Bunte salts.

### DESCRIPTION

Nanotechnological development of new materials involves the discovery or design of materials at small length scales with controlled-physical and chemical properties than can be tuned or modified in function of their applications. One of the most suitable examples of nanoparticles (NPs) used for this purpose are quantum dots (QDs), a type of colloidal fluorescent semiconducting nanocrystalline material that has the possibility, due to their unique optical and electronic properties, to be used in numerous technological applications such as biosensing, *in vivo* imaging techniques, photovoltaics, nanomedicine, molecular pathology and drug delivery. Herein, we report the design, synthesis and applications of bioconjugated QDs with four main essential oil components such as carvacrol, geraniol, eugenol and resorcinol. The design of QDs structure was accomplished analyzing the composition, type of ligands and type of shell. Aqueous colloidal synthesis (ACS) was chosen as the most appropriate method for CdTe/ZnS-TGA QDs synthesis. Synthesized QDs were characterized by IR, NMR, UV-vis, DLS and XRD, showing quantum yields between 15 and 69 %, and sizes between 2.51 and 4.32 nm with a monolayer of 0.38 nm thickness composed of ZnS. Bioconjugation of QDs was accomplished using carbodiimide chemistry and confirmed by DOSY experiments. Also an alternative synthetic route was designed and developed using Bunte salts as thiols surrogates for the direct synthesis of bioconjugated QDs. QDs-sensitized transparent TiO<sub>2</sub> nanotubes for solar cells and a QDs/folic acid/TiO<sub>2</sub> nanotubes biosensor for cancer cells detection were two of the developed applications that exploit the unique properties of synthesized QDs.

---

\* Dissertation, research mode.

\*\* Faculty of Physicochemical Engineering. School of Metallurgical Engineering and Materials Science.  
Advisors: Vladimir V. Kouznetsov.

## INTRODUCCIÓN

Los nanomateriales y la nanotecnología, dos campos de investigación relativamente nuevos han pasado a formar parte del eje central del desarrollo tecnológico mundial. Extrayéndose del ámbito académico, dichos campos han superado sus expectativas debido a la capacidad única de fabricar estructuras novedosas que hacen parte de materiales y dispositivos aplicados en diferentes áreas del conocimiento. En este sentido, se destacan sectores como el energético, la nanomedicina y optoelectrónica, áreas que han logrado de manera razonable satisfacer las necesidades tecnológicas de la humanidad manteniendo un balance neutro o favorable frente al medio ambiente.

En general, la *nanociencia* alude a la aplicación de los conocimientos científicos para controlar la materia a escala nanométrica. Este control involucra la manipulación de entidades llamadas *nanopartículas* (NPs) con tamaños entre 10-100 nm. Materiales con tamaños reducidos a dicha escala muestran propiedades diferentes comparadas con el material macroscópico. A medida que el tamaño del sistema decrece, los fenómenos cuánticos se hacen más evidentes, generando así una marcada alteración en las propiedades electrónicas del material. Al mismo tiempo, ocurre un incremento significativo en la relación área superficial: volumen, hecho que causa cambios en las propiedades mecánicas, térmicas y catalíticas del material. Todas estas características propias de materiales nanométricos son quienes permiten el desarrollo de aplicaciones únicas.

Las NPs pueden ser clasificadas de acuerdo con el material del cual están compuestos:

- Metálicas, como nanopartículas de Au y Ag.
- Semiconductoras, como fullerenos, grafeno y puntos cuánticos.
- Poliméricas, como nanoesferas y nanocápsulas.

En este grupo, las NPs de nanocristales semiconductores han tenido un gran impacto en ciencias como la química, biología, ingeniería y medicina. Inicialmente, aparecieron heteroestructuras en las cuales una de sus dimensiones (2D) era de escala nanométrica, estos materiales fueron descubiertos en los años 70s y recibieron el nombre de pozos cuánticos (*quantum wells*).<sup>1</sup> Diversos científicos evaluaron la posibilidad de seguir reduciendo los tamaños tanto en dos como tres dimensiones, esto llevó al confinamiento de estructuras en una dimensión o 1D llamadas cables cuánticos o *quantum wires* y cero dimensión llamadas puntos cuánticos o *quantum dots* (QDs). En los QDs, todas sus dimensiones se encuentran en la escala nanométrica, hecho que favorece el confinamiento electrónico haciendo que estos materiales se comporten como átomos artificiales y muestren propiedades únicas. Las propiedades antes mencionadas hablan de una marcada

fotoestabilidad, amplio espectro de excitación, un estrecho y simétrico espectro de emisión.<sup>2-4</sup>

Desde entonces, el interés de científicos tanto experimentales como teóricos creció exponencialmente permitiendo explorar potenciales aplicaciones tecnológicas. La posibilidad de modificar la superficie los QDs acopló dos tendencias en el desarrollo de nuevos materiales. La primera, generar QDs estables, solubles en medios específicos con propiedades definidas; y la segunda corresponde al anclaje de moléculas o estructuras sobre la superficie de los QDs que actúen como soporte, principios activos o unidades farmacofóricas en procesos específicos favoreciendo así su actividad y disponibilidad al hacer parte de NPs. Esta última tendencia es conocida como *conjugación*, y es ampliamente utilizada en estudios biológicos donde es conocida como *bioconjugación* (BC).<sup>5</sup>

De otro lado, Colombia, una de las fuentes de mayor biodiversidad mundial cuenta con un reservorio de especies vegetales aromáticas capaces de generar aceites esenciales (AEs). En este contexto, estudios recientes mostraron que existen más de 200 especies bajo la denominación de plantas aromáticas en donde entre el 50 y 60% corresponden a especies nativas, y el 20 a 40% a especies naturalizadas.<sup>6</sup> Los AEs están compuestos mayoritariamente de metabolitos secundarios, productos naturales que la planta biosintetiza para garantizar su supervivencia. Éstos actúan como componentes estructurales especializados en procesos de recepción de energía solar o en la defensa química de la planta contra depredadores como insectos y mamíferos o microorganismos como bacterias, virus y hongos. Los componentes principales de la mayoría de AEs son principios activos que tienen la capacidad de actuar como remedios vegetales endógenos o como agentes volátiles encargados de la atracción de insectos asociados a procesos de polinización. Pese a su riqueza natural, nuestro país importa cerca del 100% de los AEs que utiliza la industria cosmética y agropecuaria, estos AEs son una fuente renovable de diferentes clases de sustancias químicas como alcoholes, ácidos, ésteres, fenoles y terpenos. Asimismo, el desarrollo de nuevos materiales a partir de procesos de investigación que involucren la utilización de materiales renovables como AEs y compuestos de escala nanométrica establece un avance en el área de los nanocompuestos al conjugar las bondades dichas materias primas.

En este punto, la presente investigación expone los resultados en el diseño, síntesis y aplicación de QDs-BC. El análisis y selección de la composición, tipo de ligando y tipo de capa abarcó el diseño de los QDs. La síntesis de los QDs diseñados fue realizada utilizando el método de síntesis acuosa coloidal o ACS. Todas las nanopartículas sintetizadas fueron caracterizadas por técnicas como IR, UV-vis, fluorescencia, RMN, DLS y DRX. El proceso de BC permitió anclar covalentemente los componentes principales de AEs a los QDs, confirmando dicha modificación a través de experimentos DOSY. Se desarrollaron dos aplicaciones basadas en los QDs sintetizados, la primera consistió en la sensibilización de nanotubos de TiO<sub>2</sub> transparentes utilizados como fotoánodos en celdas solares, y la segunda en la fabricación de un biosensor basado en el bioconjugado nanotubos de TiO<sub>2</sub>/QDs/ácido fólico para la detección de células cancerígenas.

La presente investigación contó con el financiamiento de Colciencias a través del proyecto Bio-Red-Co CENIVAM RC-0572-2012, generando la producción científica detallada a continuación:

➤ **Capítulo de libro**

Título de libro: *Green Nanotechnology - Overview and Further Prospects*.

Título de capítulo: *"Green" Quantum Dots: Basics, Green Synthesis, and Nanotechnological Applications*.

Autores: **Carlos A. Martínez Bonilla** and Vladimir V. Kouznetsov.

ISBN 978-953-51-2409-2.

DOI: 10.5772/62327.

Estado: publicado.

➤ **Artículos**

Título de artículo: *Colloidal quantum dots for fluorescent labels of proteins*.

Autores: P Gladyshev, V Kouznetsov, **C. A. Martinez Bonilla**, S Dezhurov, D Krilsky, A Vasiliev, O Morenkov, V Vrublevskaaya, P Tsygankov, S Ibragimova, A Rybakova.

Revista: *Journal of Physics: Conference Series -Moscow Engineering Physics Institute*.

Estado: sometido.

Título de artículo: *Fabrication of transparent TiO<sub>2</sub> nanotube-based photoanodes for CdS/CdTe quantum co-sensitized solar cells*.

Autores: Andrea Cárdenas, Andrés F Gualdrón-Reyes, **Carlos A Martínez Bonilla**, Vladimir V Kouznetsov and A M Meléndez.

Revista: *Journal of physics: IOP Conference Series*.

Estado: sometido.

➤ **Congresos**

Título de ponencia: *Synthesis of Bunte salts from renewable materials: construction of water-soluble ligands for the suitable synthesis of CdTe quantum dots and its analysis by <sup>1</sup>H NMR and DOSY experiments.*

Autores: **Martínez Bonilla C A**, Torres M H, Molina D R, and Kouznetsov V V.

Congreso: Third Iberoamerican Organic Chemistry Symposium (SIBEAQO-III) 2016.

Lugar: Porto, Portugal.

Tipo de ponencia: poster.

Fecha: 23-26 septiembre de 2016.

Título de ponencia: *Conjugation of thiol ligands to CdTe quantum dots: analysis by <sup>1</sup>H NMR and DOSY.*

Autores: **Martínez Bonilla C A**, Torres M H, Molina D R, and Kouznetsov V V.

Congreso: Applied Nanotechnology & Nanoscience International Conference 2016.

Lugar: Barcelona, España.

Tipo de ponencia: poster.

Fecha: 9-11 de noviembre de 2016.

Título de ponencia: *Propiedades fotoelectroquímicas de electrodos transparentes de nanotubos de TiO<sub>2</sub>/ITO modificados con CdTe bajo iluminación visible.*

Autores: Andrea Cárdenas, Andrés F. Gualdrón-Reyes, **Carlos A. Martínez Bonilla**, Vladimir V. Kouznetsov, Ángel M. Meléndez.

Congreso: II Congreso colombiano de electroquímica, 2° Simposio en nanociencia y nanotecnología.

Lugar: Bucaramanga, Santander.

Tipo de ponencia: poster.

Fecha: 4-7 octubre de 2016.

Título de ponencia: *Caracterización foto(electro)química de puntos cuánticos de CdTe modificados con ácido tioglicólico.*

Autores: Mónica J. Mendoza-Castro, David. A. Miranda, **Carlos A. Martínez Bonilla**, Vladimir Kouznetsov, Ángel M. Meléndez.

Congreso: II Congreso colombiano de electroquímica, 2° Simposio en nanociencia y nanotecnología

Lugar: Bucaramanga, Santander.

Tipo de ponencia: poster.

Fecha: 4-7 octubre de 2016.

## 1. OBJETIVOS

### 1.1. OBJETIVO GENERAL

Diseñar, sintetizar y evaluar puntos cuánticos (QDs, *Quantum Dots*) bioconjugados a partir de nanomateriales semiconductores y los componentes principales de aceites esenciales provenientes de plantas aromáticas, evaluando su funcionamiento como señalizadores celulares y agentes de sensibilización en celdas solares.

### 1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

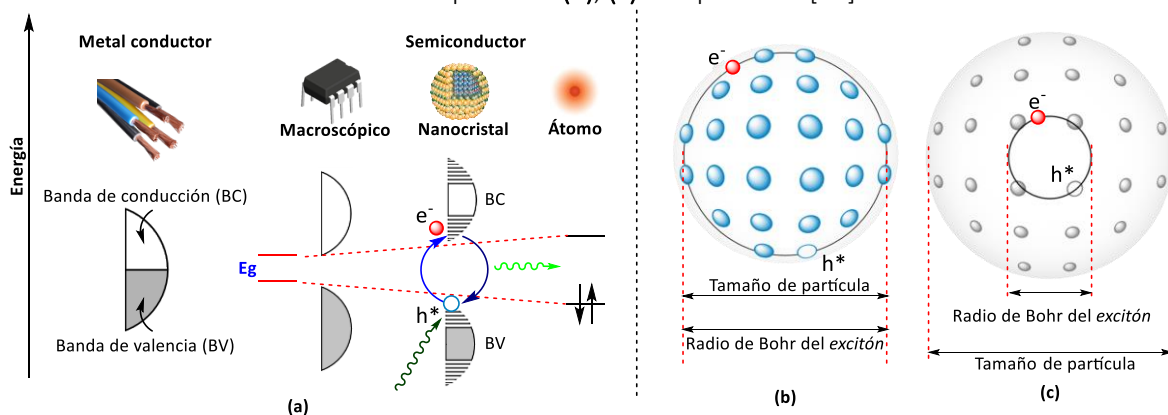
- Diseñar la arquitectura de los QDs: tipo de núcleo, capa y la configuración de los ligandos.
- Desarrollar un protocolo de síntesis que permita la obtención eficiente de QDs tipo *core-shell* con características como estabilidad y eficiencia cuántica apropiadas para su respectiva modificación superficial.
- Bioconjugar los QDs preparados con aceites esenciales y/o sus componentes principales haciendo uso de las herramientas de la síntesis orgánica.
- Identificar las características estructurales de los QDs preparados a través de la caracterización por medio de técnicas espectroscópicas y fisicoquímicas.
- Sensibilizar la superficie del material de soporte apropiado con QDs en el fotoánodo de una celda solar convencional, evaluando su comportamiento como celda solar.
- Sensibilizar con los QDs la superficie del material de soporte apropiado para la detección de células cancerígenas.

## 2. FUNDAMENTO TEÓRICO

### 2.1. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LOS QDS

Dentro del conjunto de nanopartículas clasificadas por su tamaño, los QDs emergen como el material semiconductor clave en la ya establecida ciencia de los nanomateriales. Los QDs son nanoestructuras cristalinas luminiscentes compuestas de átomos de los grupos II–VI (CdSe, ZnS, CdTe), grupos III–V (InP, InAs) y grupos IV–VI (PbSe, PbS) de la tabla periódica. Técnicamente, estos nanomateriales tienen características estructurales justo entre átomos aislados y el material macroscópico (*bulk material*) como consecuencia del rango de su nanoescala entre 1-10 nm. A este nivel las propiedades físicas, químicas y electrónicas cambian drásticamente debido a los *efectos cuánticos*, una consecuencia del *confinamiento cuántico*. Este confinamiento confiere un comportamiento que está asociado con la migración electrónica en los semiconductores nanocristalinos. Una vez ocurrida la absorción de luz, los electrones ( $e^-$ ) y huecos ( $h^*$ ) generados se perciben uno al otro a través de atracciones coulómbicas y un par electrón-hueco es formado, este par recibe el nombre de *excitón*. La separación física promedio entre el electrón y el hueco representa el radio de *Bohr* del excitón, el cual es característico para cada material. Si el tamaño del material semiconductor se hace más pequeño, es decir, cercano a la escala natural de radio de Bohr de su excitón, la cuantización de los estados electrónicos se hace presente. En otras palabras, los niveles energéticos antes continuos cambian a discretos (figura 1a).<sup>7</sup>

**Figura 1.** Representación esquemática de los niveles de energía en semiconductores macroscópicos, nanocristales y átomos (a), y la relación de dimensiones entre el radio de *Bohr* del excitón y el tamaño de partícula (b), (c). Adaptado de [12].



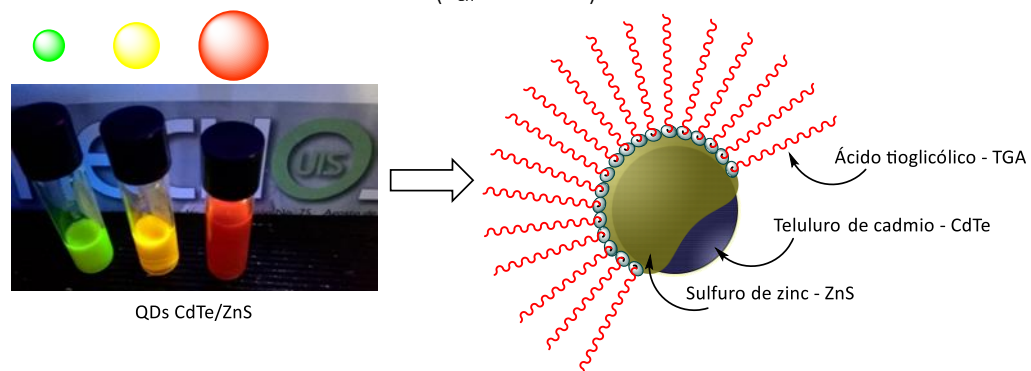
Fuente: autor.

En este contexto, los niveles discretos se refieren a separaciones finitas entre los niveles de energía debido al número de átomos por NP y a los efectos del confinamiento cuántico de los electrones y huecos en los QDs con tamaños menores a los del radio de Bohr de su excitón (figura 1b, c). Los niveles electrónicos bajo el confinamiento cuántico tienden a comportarse como los niveles de enlaces moleculares localizados, en donde los electrones presentes en dichos niveles se comportan siguiendo el modelo de la partícula en una caja.<sup>8</sup> A continuación se presenta la ecuación 1, ésta permite calcular la energía del *band gap* de los QDs ( $E_{g,QD}$ ) y representa una aproximación razonable de las expresiones empíricas:

$$E_{g,QD} = E_{g,M} + \left(\frac{h^2}{8R^2}\right)\left(\frac{1}{m_e} + \frac{1}{m_h}\right) - \left(\frac{1.8e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon R}\right) \quad \text{Ec. 1}$$

donde  $E_{g,M}$  es la energía del *band gap* del material macroscópico,  $R$  es el radio de los QDs,  $m_e$  es la masa efectiva del electrón en el sólido,  $e$  es la carga el electrón,  $h$  es la constante de Planck,  $m_h$  es la masa efectiva del hueco o vacancia electrónica en el sólido, y  $\epsilon$  es la constante dieléctrica del material y del vacío ( $\epsilon_0$ ).<sup>9</sup> Esta ecuación está compuesta de dos contribuciones, la primera representada por el segundo término del lado derecho de la ecuación, el cual tiene la forma de la energía de la partícula en una caja para el excitón, mientras que el tercer término representa la atracción coulombica entre el par hueco-electrón. Como consecuencia, la  $E_{g,QD}$  está relacionada con el tamaño de los QDs, a media que disminuye el tamaño de la partícula, la energía del band gap aumenta generando una dependencia del color de los puntos cuánticos del mismo material con el tamaño (ver figura 2). Una pequeña variación en el tamaño del QD genera un cambio en su  $E_{g,QD}$  y por ende, del color que emite. El color puede ser controlado con marcada precisión si se controlan variables como: material semiconductor, método de síntesis, tiempo y temperatura de reacción, y tipo de ligando.

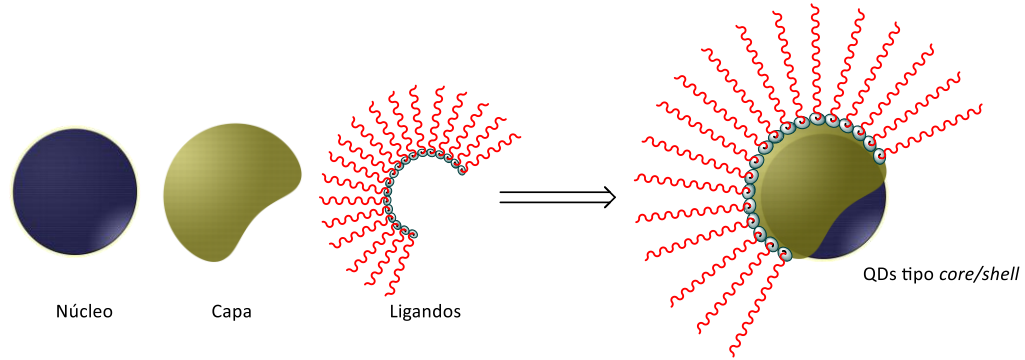
**Figura 2.** Color emitido por QDs compuestos de CdTe/ZnS-TGA en función del tamaño bajo luz UV ( $\lambda_{ex} = 365 \text{ nm}$ ).



Fuente: autor.

Por otra parte, la arquitectura funcional de los QDs consiste en un núcleo inorgánico responsable de las propiedades ópticas y del carácter semiconductor, una capa de otro material semiconductor, y ligandos estabilizantes sobre la superficie de la NP (figura 3).

**Figura 3.** Arquitectura básica y ensamble de los QDs compuestos de núcleo, capa y ligandos.



Estos QDs exhiben propiedades fisicoquímicas tales como una alta fotoestabilidad, amplios espectros de absorción, espectros de emisión simétricos y estrechos, bajas velocidades en el decaimiento excitónico, y una amplia sección transversal de absorción. La emisión de longitudes de onda en la región IR, UV y visible está directamente relacionada con su tamaño, composición química y superficie química. Adicionalmente, los QDs de alta calidad tienen grandes coeficientes de absorción molar ( $0,5-5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Esta característica es una cualidad ideal para aplicaciones en biosensores ultrasensibles.<sup>10</sup> Mientras que los QDs tienen estas propiedades únicas en todas sus tres dimensiones, NPs como nanocables o nanotubos tienen propiedades ordinarias en al menos una de sus dimensiones.

Pese a los modelos utilizados para explicar las propiedades de los QDs, la distribución de niveles energéticos en bandas es una aproximación simplificada del sistema real de los QDs. Debido a su gran relación superficie/volumen es necesario tener en cuenta las imperfecciones de la red y la presencia de valencias incompletas en átomos inmovilizados. Estas imperfecciones llamadas también *estados superficiales* tienen sus propios niveles energéticos ubicados dentro de la región del *band gap*, siendo las responsables de uno de los principales problemas asociados con el desempeño de los dispositivos basados en QDs. Los problemas en mención corresponden a la intermitencia en la emisión o *blinking* y la baja luminiscencia correlacionada a la eficiencia cuántica o *quantum yield* (QY).<sup>11</sup> Este último parámetro, QY, indica la calidad de los QDs y relaciona la cantidad de fotones emitidos con la cantidad de fotones absorbidos jugando un rol de vital importancia en la luminiscencia de

los nanocristales, pues es afectada por los estados superficiales y procesos de recombinación radiativa.<sup>12</sup>

Con el objetivo de minimizar o idealmente eliminar la inestabilidad causada por los estados superficiales, diversos investigadores han propuesto *pasivar* la superficie de los QDs al combinar dos o más semiconductores formando una capa que rodea el núcleo hecho de nanocristal nativo. Este tipo de QDs es denominado *core-shell* (núcleo-capa).<sup>13</sup> Una característica primordial de este tipo de capas es que debe estar compuesta de un material semiconductor que tenga un *band gap* mayor al del núcleo. Adicionalmente, la capa juega dos roles cruciales, en uno actúa como barrera física separando el núcleo inorgánico del alrededor, en el segundo satura los estados superficiales suprimiendo los defectos superficiales de los nanocristales.

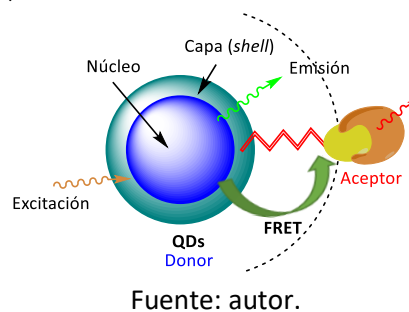
En general, los QDs absorben energía con longitudes de onda preferiblemente mayor a la de su primer pico de excitación el cual es denominado pico de absorción inicial, y depende del tamaño y composición del nanocristal. La longitud de onda del pico de emisión tiene una longitud de onda ligeramente mayor a la del primer pico de absorción, esta diferencia energética se conoce como desplazamiento de Stokes.<sup>14</sup> Otra característica interesante relacionada con la física de los QD es que la longitud de onda del pico de emisión es totalmente independiente de la longitud de onda de la luz que genera la excitación electrónica. Esto significa que QDs de diferente tamaño (con diferentes valores en el pico de absorción inicial) pueden ser excitados por una única longitud de onda de luz incidente, siempre y cuando esta longitud de onda sea más corta que su longitud de onda máxima de excitación.<sup>15</sup>

### 3. ESTADO DEL ARTE

#### 3.1. PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO DE LOS BIOSENSORES

Los biosensores son materiales cuyo principio de diseño es interactuar con un agente externo, ya sea por medios físicos o químicos, emitiendo una señal de respuesta característica que permita correlacionar su localización, ambiente químico o físico con el proceso biológico de estudio. La señal emitida por el biosensor deberá ser de fácil detección, siendo las señales de tipo óptico las más utilizadas. Debido a las notables propiedades ópticas de los QDs, se ha volcado el interés científico hacia la generación de nuevos agentes fluoróforos basados en semiconductores cristalinos.<sup>16</sup> El puente de comunicación entre el ambiente externo y los QDs son las diversas modificaciones que se pueden realizar en su superficie, fragmentos proteicos, péptidos, fosfolípidos y dendrímeros son algunos de los ejemplos BC de los QDs. El principal mecanismo fotofísico por el que los QDs transfieren la energía utilizada para su detección y reportan su presencia está relacionado con la transferencia de energía de resonancia de Förster o *Förster resonance energy transfer* (FRET). La FRET es un fenómeno en el cual la energía propia de la fotoexcitación es transferida desde un fluoróforo donador (QDs) hasta una molécula que actúa como aceptor. Este tipo de energía transferida corresponde a energía no-radiativa, es decir en ausencia de fotones, y ocurre a un radio específico respecto al donador. La velocidad de la transferencia energética está directamente influenciada por dos factores, la superposición espectral de la emisión del donador y la absorción del aceptor, y el arreglo espacial donador-aceptor (ver figura 4).<sup>17</sup>

Figura 4. Representación del fenómeno de FRET en QD-BC.

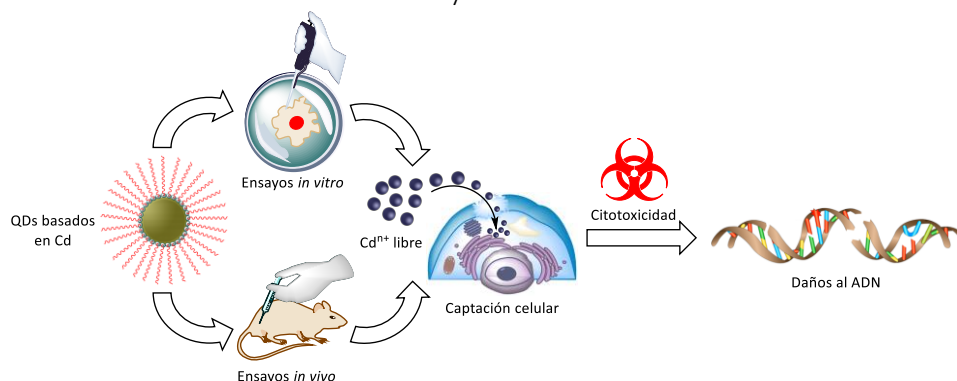


#### 3.2. TOXICIDAD EN LOS QDS

Existe un aspecto específico que debe ser superado por las investigaciones basadas en QDs para avanzar hacia aplicaciones fundamentales en medio ambiente y biología, ésta trata acerca de la toxicidad asociada a los QDs. Los QDs basados en compuestos de cadmio (Cd)

son las NPs más estudiadas y aplicaciones como biosensores *in vivo* o intracelulares han demostrado el marcado perfil de toxicidad de los QDs basados Cd y otros metales pesados como In, Hg y Pb. Estos efectos han sido detectados incluso en periodos de tiempo prolongados.<sup>19,20</sup> La toxicidad en mención está relacionada con la lixiviación de iones de Cd desde el núcleo al medio ambiente celular por la oxidación del aire o la acción de radiación UV, dando como resultado la muerte celular debido al daño ocasionado al ADN (figura 5).

**Figura 5.** Representación esquemática de la toxicidad de los QDs por lixiviación de iones  $Cd^{n+}$  al ambiente celular y su afecto sobre el ADN.

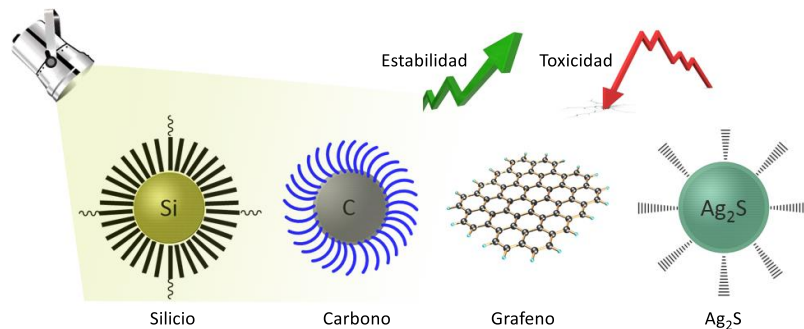


Fuente: autor.

Toxicidad neurológica y genitourinaria están también relacionadas con la liberación de iones de Cd. Sumado a esto, estudios previos muestran que el destino de los productos de descomposición de los QDs aún no está esclarecido. Para medir el nivel de afectación, cuidadosos métodos de determinación de la citotoxicidad de QDs están siendo desarrollados pues los métodos utilizados convencionalmente para sustancias químicas y fármacos, son en la mayoría de los casos inapropiados al obviar características fisicoquímicas como tamaño, color, defectos superficiales, naturaleza del ligando estabilizante y asociaciones intracelulares. Una situación particular ocurre cuando la citotoxicidad de los QDs es medida en cultivos celulares. Bajo la irradiación UV empleada en la localización del biosensor se observa un marcado incremento en la toxicidad. Este efecto está relacionado con la energía de la radiación UV, la cual es cercana al valor de la energía de disociación de los enlaces químicos y promueve la disolución de partículas del semiconductor en un proceso conocido como fotólisis.<sup>21</sup> En contraste, bajo la ausencia de radiación UV, QDs con ligandos estables en la superficie (ej. recubrimientos poliméricos) parecen ser no tóxicos en células y animales.<sup>22</sup> Dentro del conjunto de todas las propiedades físicas y químicas de los QDs, el diámetro hidrodinámico ( $d_H$ ) define la citotoxicidad de este tipo de nanocristales.<sup>23</sup> Se ha demostrado que NPs con un  $d_H$  menor a 5.5 nm son rápidamente eliminadas de ratones a

través de depuración renal cuando son realizados ensayos *in vivo*. Este valor de  $d_H$  sugiere un valor límite a tener en cuenta en el diseño de QDs basado en propiedades con fin de conseguir una biocompatibilidad aceptable. En aplicaciones medioambientales, se ha encontrado una aguda toxicidad como el principal inconveniente debido a la formación de especies reactivas de oxígeno ROS.<sup>24</sup> A pesar de esta situación, numerosos esfuerzos han sido realizados para reducir la toxicidad de los QDs manteniendo las propiedades ópticas y físicas inalteradas. Básicamente, la cobertura del núcleo, puede en algún grado, controlar la toxicidad relacionada con la liberación de iones. Una de las modificaciones superficiales más prometedoras consiste en el recubrimiento con ligandos de tipo orgánico solubles en agua como biotina, ácido fólico, péptidos, albúmina de suero bovino, y anticuerpos buscando ser *bioreconocidos* por estructuras celulares.<sup>25</sup> Sumada a la toxicidad, el difícil reconocimiento celular y la continua demanda de QDs más biocompatibles, se han hecho presentes en el ambiente científico nuevas alternativas conocidas como “QDs verdes” direccionando el sentido de la investigación biológica actual. Esta nueva línea de investigación ha cambiado su énfasis hacia la fabricación de QDs libres de Cd tales como nanopartículas de silicio, carbono/grafeno y Ag<sub>2</sub>S (figura 6).<sup>26,27</sup>

**Figura 6.** QDs emergentes en respuesta a la constante demanda de NPs más estables y menos tóxicas.



Fuente: autor.

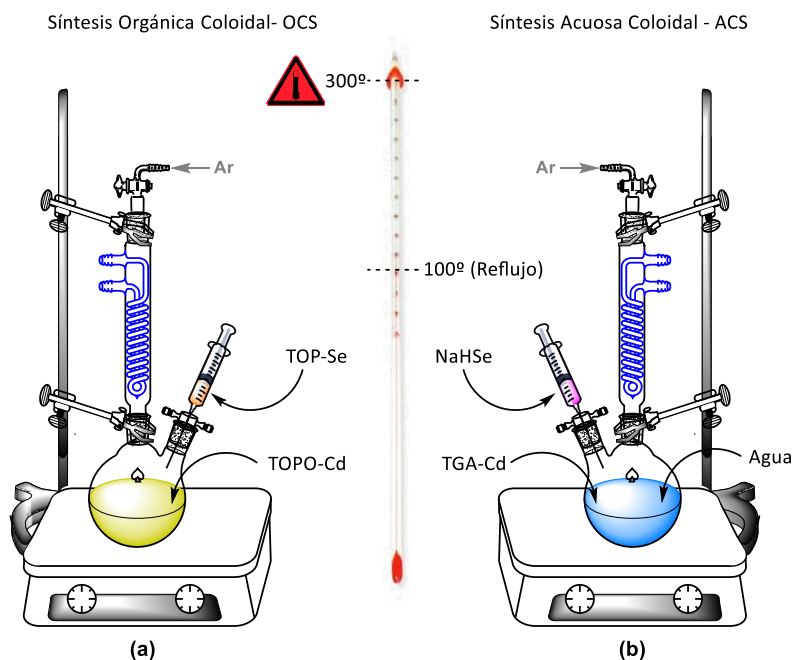
### 3.3. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE QDS

Desde la aparición de los nanocristales semiconductores descrita por Brus<sup>28a</sup> y Ekimov<sup>28b</sup>, a inicios de los años 80s, diversos métodos de preparación han sido propuestos. En el inicio, la preparación de QDs estaba basada principalmente en métodos físicos y el objetivo central era la pureza de los productos. Después de dos décadas de investigación, estudios pioneros que describieron el mecanismo de formación de los QDs han permitido la optimización de los métodos de síntesis existentes. Actualmente existen dos métodos de síntesis (otros usan variaciones menores de estos dos) para producir QDs. Cada método explota los diferentes

aspectos de la química para producir QDs con propiedades ópticas ideales como gran QY, espectros de emisión estrechos, amplio rango de absorción y estabilidad frente al fotoblanqueo.<sup>29</sup> Los métodos en mención corresponden a la síntesis organometálica coloidal (OCS), y la síntesis acuosa coloidal (ACS).

**3.3.1. Síntesis organometálica coloidal – OCS.** La OCS es el primer método desarrollado en medio coloidal a alta temperatura el cual hace uso de solventes de alto punto de ebullición como óxido de n-trioctilfosfina (TOPO), trioctilfosfina (TOP) o hexadecilamina (HDA), todos estos solventes disponen de largas cadenas alquílicas. La OCS fue propuesta inicialmente por el grupo de Murray al comienzo de los 80s y rápidamente se convirtió en una investigación esencial para los estudios venideros. En una síntesis típica por OCS, se utilizan altas temperaturas ( $\approx 300^{\circ}\text{C}$ ) en conjunto con solventes coordinantes como TOPO/HDA, y precursores como metales y calcogenuros (figura 7a).<sup>2</sup> Básicamente, los solventes coordinantes funcionan como disolvente y ligando, y es comúnmente una mezcla de surfactantes como TOP/TOPO y HDA. Durante el proceso de síntesis estos ligandos enlazan sus grupos funcionales (fosfinas, óxidos de fosfina y aminas) a la superficie de los QDs dejando las largas cadenas alquílicas dirigidas hacia la solución. Como consecuencia, la monocapa formada por las cadenas alquílicas le confiere una marcada hidrofobicidad a los QDs haciéndolos solubles en solventes no polares como tolueno, cloroformo y hexano.

**Figura 7.** Representación esquemática de los métodos de síntesis de QDs compuestos de CdSe por OCS (a) y ACS (b).



Fuente: autor.

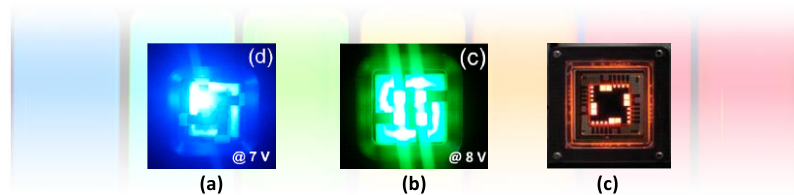
Una mirada profunda a la OCS revela la descomposición térmica debido a la alta temperatura de los precursores organometálicos (TOPO-Cd y TOP-Se, como ejemplo) formados previamente en un proceso conocido como pirólisis.<sup>31</sup> Un requerimiento de este método de síntesis es la necesidad de realizar las reacciones bajo atmósfera inerte en conjunto con la rápida inyección de los precursores metálicos a alta temperatura. Algunos estudios discuten acerca de la importancia de la inyección a alta temperatura, concluyendo que los QDs producidos por este tipo de inyección tiene una alta QY pero pobres atributos para la detección en comparación con los QDs sintetizados a temperatura ambiente.<sup>31</sup> A pesar de las destacadas propiedades de los QDs preparados por OCS, esta síntesis involucra el uso de condiciones alejadas de la química verde, la cual busca mitigar o evitar el uso de sustancias químicas peligrosas e inestables al igual que grandes requerimientos energéticos. A manera de ejemplo, dimetilcadmio [Cd(Me)<sub>2</sub>] y vapores de calcogenuro como H<sub>2</sub>Te son empleados en la síntesis por OCS, estas sustancias son extremadamente tóxicas y volátiles además pirofóricas.

**3.3.2. Síntesis acuosa coloidal – ACS.** En el método de ACS (figura 7b), la reacción es llevada a cabo en medio acuoso en donde los precursores son preparados a temperatura ambiente.<sup>32</sup> La fuente de calcogenuro, denotado como NaHE (E = Se, Te), se produce fácilmente a partir de selenio (Se) o telurio (Te) metálico en presencia de borohidruro de sodio (NaBH<sub>4</sub>) como agente reductor. En ACS no es necesaria una rigurosa atmosfera inerte, pues precursores de la fuente de calcogenuro como el Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> han demostrado ser estables bajo condiciones ambientales. Después de la inyección o adición de los precursores la reacción es puesta a reflujo (95-100 °C) para promover el crecimiento de los QDs.<sup>33</sup> Este es un ejemplo de síntesis de nanopartículas operada a baja temperatura en comparación con los necesarios 300 °C para la OCS, existen incluso reportes de síntesis por ACS a temperatura ambiente o temperaturas bajo cero.<sup>34,35</sup> Durante el proceso de síntesis los ligandos tipo tiol comúnmente empleados en la ACS enlazan su grupo funcional -SH a la superficie de los QDs dejando los grupos hidrofílicos hacia la solución. Este tipo de ensamble le confiere dos propiedades, una gran solubilidad en agua y la posibilidad de procesos de bioconjugación. Adicionalmente, comparado con la OCS, la ACS es preferida como método base para la preparación de QDs en estudio biológicos debido a que es posible obtener buena reproducibilidad, baja toxicidad, menor costo de producción en condiciones ambientalmente amigables. Inicialmente la calidad de los QDs producidos por ACS era baja (baja QY y gran distribución de tamaños) en comparación con los QDs producidos por OCS. No obstante, esfuerzos continuos y perfeccionamientos experimentales han permitido obtener QDs con propiedades iguales o superiores a los QDs preparados en medio orgánico.

### 3.4. APLICACIONES DE LOS QDS

En los últimos 20 años, los QDs han emergido desde la curiosidad del laboratorio hasta convertirse en una importante herramienta en áreas como la biología, optoelectrónica y más. Esencialmente, la alta estabilidad de los QDs permite que sean particularmente utilizados en experimentos biológicos, en donde el fotoblanqueo (pérdida del color de un fluoróforo cuando es iluminado) es una importante limitante en los fluoróforos orgánicos utilizados comúnmente. Adicionalmente, la posibilidad de excitar QDs de diferente color con un mismo haz de luz, permite de manera simultánea, visualizar diversos tejidos en una misma muestra biológica. En optoelectrónica, el estrecho espectro de emisión convierte a los QDs en materiales ideales para la creación de LEDs de color saturado (*light-emitting diode*, LED de alta definición), fotodetectores o celdas solares.<sup>36</sup> Todos estos ejemplos de aplicaciones de QDs en optoelectrónica tienen ventaja sobre los demás materiales debido a su bajo costo y rápido ensamblaje. La primera demostración de LEDs basados en QDs fue reportado por Alivisatos en 1994, y abrió la puerta a continuas mejoras en el desarrollo de una estructura ideal.<sup>37</sup> El desempeño de los LEDs basados en QDs ha sido ampliamente mejorado paso a paso como resultado de la acumulación de proyectos de investigación y conocimiento fundamental. Comparados con los LEDs convencionales, estas nuevas estructuras ofrecen ventajas como pureza del color, estabilidad y costo de producción, mientras que los niveles de eficiencia se mantienen constantes (figura 8).

**Figura 8.** Fotografías de LEDs basados en QDs de color (a) azul, (b) verde y (c) rojo. Adaptado de [38], [39] y [40], respectivamente.



Fuente: referencias 38, 39 y 40.

Desde el descubrimiento del fenómeno de disociación fotocatalítica del agua sobre electrodos de  $\text{TiO}_2$ , numerosas investigaciones han enfocado sus esfuerzos hacia el mejoramiento de las propiedades de fotoelectrodos basados en este material, especialmente en aspectos como la eficiencia fotocatalítica.<sup>41</sup> La poca eficiencia en la absorción de luz solar hace que los nanomateriales compuestos de  $\text{TiO}_2$  tengan que ser asociados a estructuras como colorantes o semiconductores con un *band gap* menor al del  $\text{TiO}_2$  (3.2 eV). En este punto aparecen los QDs como materiales promisorios para mejorar las

propiedades de estructuras como arreglos de nanotubos compuestos de TiO<sub>2</sub>, los cuales han demostrado buenos desempeños cuando son empleados como fotoelectrodos. La principal ventaja que poseen los QDs sobre los demás sensibilizadores reside en la posibilidad de cambiar el valor del *band gap* de acuerdo con el tamaño de las NPs manteniendo la misma identidad química. Varios QDs han sido utilizados como sensibilizadores de nanotubos de TiO<sub>2</sub> para la absorción de luz visible incluyendo CdS,<sup>42</sup> PbS,<sup>43</sup> CdSe,<sup>44</sup> InP,<sup>45</sup> y CdTe. Este último material semiconductor fue utilizado en esta aplicación mostrando un aumento del 30% en la respuesta de la absorción de luz visible por parte del fotoelectrodo, además se observó una marcada influencia del tamaño de los QDs con la capacidad de absorción, siendo las nanopartículas de 4 nm de diámetro las que mostraron los mejores resultados.<sup>41</sup>

Uno de los campos de mayor aplicación de los QDs corresponde a las aplicaciones biológicas, especialmente las relacionadas con la señalización celular aprovechando la luminiscencia de los QDs y su capacidad de conjugación.<sup>46</sup> Con fines terapéuticos y de diagnóstico diversas sondas fluorescentes o *fluorescents probes* (FP) basadas en QDs han sido evaluadas como señalizadores celulares en estudios *in vitro* e *in vivo*, ganando especial interés aquellas evaluadas en células cancerígenas. La bioconjugación con biocompuestos como ácido fólico o pequeños fragmentos de anticuerpos han centrado la atención en el marcaje de células y tejidos cancerígenos ya que permiten el rastreo en sistemas biológicos por periodos prolongados, debido a la fotoestabilidad de los QDs durante el tiempo del análisis.<sup>47</sup>

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1. MATERIALES Y REACTIVOS

Todos los materiales y reactivos (grado síntesis) empleados en los experimentos fueron adquiridos de las marcas Merck, Sigma-Aldrich, Mallinckrodt y J.T. Baker. Éstos fueron utilizados sin purificación previa. Las soluciones acuosas fueron preparadas utilizando agua ultra pura (doblemente destilada, 12 M $\Omega$ -cm @ 25 °C).

### 4.2. MONITOREO Y PURIFICACIÓN EN SÍNTESIS ORGÁNICA

La composición y monitoreo de las reacciones, al igual que el análisis preliminar de la pureza de los compuestos orgánicos sintetizados se realizó mediante cromatografía en capa fina (TLC) sobre cromatoplasmas de Silufol UV254 de 0.25 mm de espesor, reveladas en una cámara de luz ultravioleta (UV) de  $\lambda_{ex} = 254$  nm o cámara de yodo. La purificación de cada uno de los compuestos orgánicos sintetizados se efectuó mediante cromatografía en columna (CC), utilizando como fase estacionaria (soporte sólido) gel de sílice 60 Mesh y como eluyentes mezclas pertinentes de éter de petróleo/acetato de etilo aplicando aumento gradual de polaridad.

### 4.3. EQUIPOS EMPLEADOS

Los espectros de infrarrojo (IR) fueron obtenidos en un espectrofotómetro Lumex Infralum-FT con transformada de Fourier, incorporando las sustancias como pastillas (comprimidos) de KBr o películas delgadas sobre porta-muestras apropiado. La toma de los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN)  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DOSY y 2D se realizó en un espectrómetro Bruker Avance-400 utilizando cloroformo ( $\text{CDCl}_3$ , estándar interno TMS 0.03 % v/v), óxido de deuterio ( $\text{D}_2\text{O}$ ) o dimetil sulfóxido deuterado ( $\text{DMSO-}d_6$ ) como disolventes. Los espectros UV-vis (ultravioleta-visible) fueron tomados en el espectrofotómetro UV-2400PC (Shimadzu). Los espectros de fluorescencia fueron tomados en el espectrofluorímetro PTI/QM-40. El tamaño de las nanopartículas y su distribución fueron medidos en un analizador por dispersión dinámica de la luz (DLS) Zetasizer Nano ZS (Malvern). Para los espectros de UV-Vis, fluorescencia y DLS fue utilizada una celda de cuarzo de camino óptico de 10 mm cuadrada con sus cuatro caras transparentes. Los difractogramas fueron tomados en un difractor de rayos-X D8 Advance (Bruker) con geometría DaVinci de muestras policristalinas modo polvo.

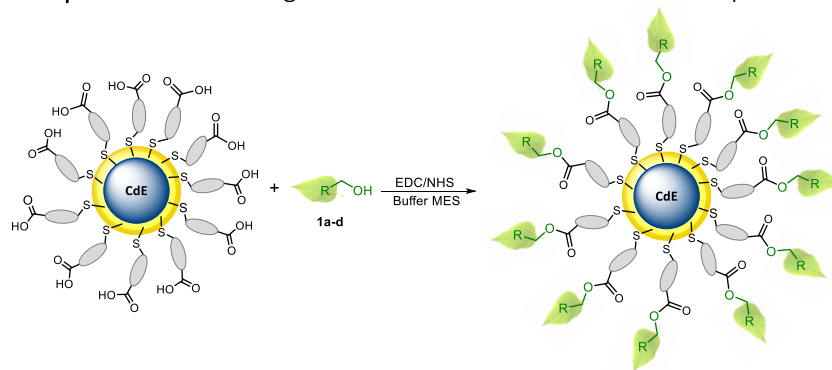
#### 4.4. SECCIÓN EXPERIMENTAL

**4.4.1. Síntesis de QDs de CdE-ligando (E: Se, Te).** Los puntos cuánticos fueron sintetizados en medio acuoso siguiendo el procedimiento descritos por Ramirez<sup>48a</sup> y Weiss<sup>48b</sup> con algunas modificaciones. En un balón de fondo redondo de tres bocas de 250 mL se depositó la respectiva fuente de Cd (CdO ó CdCl<sub>2</sub>, 4mmol) disuelta en agua doblemente destilada previamente desgasificada (200 mL). Una vez disuelto, se adiciona el ligando (5.2 mmol) bajo vigorosa agitación. Los ligandos denotados como ácido tioglicólico (TGA), ácido mercaptopropiónico (MPA) y L-cisteína (L-Cys) forman rápidamente el respectivo carboxilato con los iones Cd<sup>2+</sup>. La solución resultante debe ser una dispersión de color blanquecino. Seguidamente se ajusta lentamente el pH hasta un valor de 10 con NaOH 2M, pasando a ser una solución transparente. En paralelo, se prepara el NaHE (E: Se, Te) o fuente de calcogenuro mezclado en un recipiente bajo atmosfera inerte 0.2 mmol de calcogenuro E (Se, SeO<sub>2</sub>, Te), 0.6 mmol de borohidruro de sodio (NaBH<sub>4</sub>) y 5 mL de agua. Por un periodo de tiempo de 3 h, esta solución es agitada vigorosamente hasta obtener una coloración violeta translúcida, en este punto el calcogenuro ha sido reducido completamente hasta NaHE, siendo apta la solución para realizar la inyección y nucleación de los QDs. La relación molar entre los componentes es 1/0.05/1.3/0.15 para Cd<sup>2+</sup>/Te/ligando/NaBH<sub>4</sub>, respectivamente. La solución resultante tras la rápida inyección del NaHE es calentada hasta 100 °C por 0.5, 1, 3, 4, 6 y 10 h. Una vez terminado el tiempo de reacción, la reacción se lleva a temperatura ambiente precipitando los QDs con la adición de acetona (150mL). La purificación de las NPs obtenidas es realizada a través de precipitaciones y dispersiones sucesivas utilizando acetona y agua. En cada lavado se dispersan y precipitan separándolas por centrifugación (5000ppm, 15min). Finalmente, los puntos cuánticos son secados utilizando vacío o re-dispersados en solución acuosa según su aplicación.

**4.4.2. Síntesis de QDs recubiertos CdE/ZnS-ligando (E: Se, Te).** En la generación de QDs tipo *core-shell*, monocapas de sulfuro de zinc (ZnS) se hacen crecer sobre la superficie de las NPs siguiendo el procedimiento descrito por Zhou y col., con algunas modificaciones.<sup>49</sup> En una síntesis típica de monocapas, una dispersión de QDs es medida por UV-Vis determinando la absorbancia a la longitud de onda de su primer pico excitónico. Este valor permite calcular el tamaño de la nanopartícula y la concentración de la solución utilizando la relación descrita por Yu y col. (Sección 5.6, Ec. 4).<sup>50</sup> Una vez determinada la concentración, se realizan los cálculos para conocer las cantidades de precursores de Zn como ZnCl<sub>2</sub>, S como Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O y TGA necesarias para hacer una monocapa de 0.33 nm de espesor (valor promedio).<sup>51</sup> El procedimiento de crecimiento de cada monocapa se realiza por pasos individuales, es decir, inyectando, reaccionando, separando y re-disolviendo para la siguiente capa. El procedimiento de purificación de este tipo de NPs es similar al utilizado para en la síntesis del núcleo, se realizan precipitaciones y dispersiones sucesivas utilizando acetona y agua. En el anexo 10.1 se encuentra una detallada descripción de las relaciones y cálculos utilizados para la generación de 1, 2 y hasta 3 monocapas de ZnS.

**4.4.3. Síntesis de QDs bioconjugados con los componentes principales de aceites esenciales 1a-d.** El proceso de bioconjugación fue llevado a cabo utilizando la química de las carbodiimidas, un protocolo aplicable a reacciones de esterificación y amidación. El protocolo en mención utiliza intermediarios de reacción generados *in situ* a partir del hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) y la *N*-hidroxisuccinimida (NHS), estos favorecen las reacciones de adición/eliminación sobre ácidos carboxílicos por parte de alcoholes y aminas. En una síntesis típica, se prepara una solución coloidal de los QDs en un buffer del ácido 2-(*N*-morfolino)etanesulfónico - MES (20 mL, 0.5 M, pH 5-6). La concentración de los QDs es determinada por UV-vis, y de acuerdo con el número de milimoles de QDs se adiciona el EDC/NHS/R-OH manteniendo una relación molar 10/10/1, respectivamente. De este modo, bajo agitación constante se adiciona el EDC (0.66 mmol) y la NHS (0.66 mmol), permitiendo a la solución resultante reaccionar por 2h. La mezcla de reacción es tratada con 0.066 mmol del componente principal del aceite esencial, denotados como R-OH **1a-d** para el carvacrol, geraniol, eugenol y resorcinol, respectivamente. Finalmente, la mezcla de reacción es agitada durante la noche, precipitando los productos conjugados con la adición de acetona (100 mL) y purificados por centrifugación.

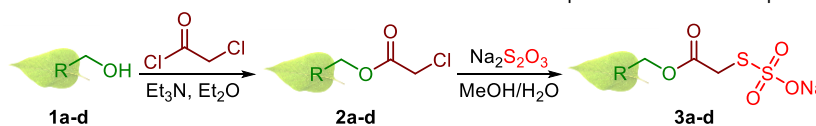
**Esquema 1.** Reacción general de BC de los QDs sintetizados por ACS.



Fuente: autor.

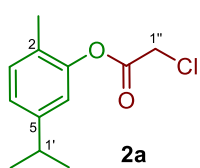
**4.4.4. Síntesis de los 2-cloroacetatos 2a-d y las sales de Bunte 3a-d a partir de los componentes principales de aceites esenciales 1a-d.** La preparación de los 2-cloroacetatos 2a-d y las sales de Bunte 3a-d está enmarcada en una ruta alternativa para producir QDs bioconjugados (Esquema 2). Esta ruta incluye la generación directa de los productos en mención a partir de la reacción de cloroacetilación de los compuestos 1a-d, los cuales son convertidos a las respectivas sales de Bunte 3a-d.

**Esquema 2.** Ruta de síntesis de las sales de Bunte 3a-d a partir de los compuestos 1a-d.

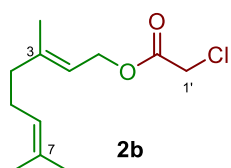


Fuente: autor.

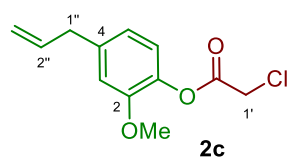
*Procedimiento general para la síntesis de 2a-d.* En balón de fondo redondo son depositados 5 mmol de respectivo alcohol 1a-d, 5 mmol de trietilamina (Et<sub>3</sub>N) y 100 mL de éter dietílico (Et<sub>2</sub>O), manteniendo la mezcla de reacción por 2h. La adición del cloruro de cloroacetilo (7,5 mmol) se realiza de manera controlada a 0°C a través de embudo de adición con regulador de presión (1mL/10 min). Una vez adicionado en agente acilante, la reacción es dejada bajo agitación a temperatura ambiente, monitoreando la finalización de la misma por TLC. La extracción de los productos de reacción se realiza eliminando primero el solvente a través de rotoevaporación, para después extraer con acetato de etilo (3x50 mL) lavando la fase orgánica con soluciones de HCl 1N, NaCO<sub>3</sub> y salmuera. Los productos de reacción fueron purificados mediante CC utilizando mezclas pertinentes de éter de petróleo/acetato de etilo.



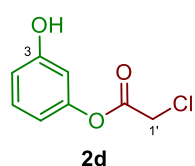
**5-Isopropil-2-metilfenil 2-cloroacetato (2a):** aceite amarillo (0.97 g, 4.27 mmol, 89 %),  $R_f$  [hexano] = 0.3; IR-FT (película líquida,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2962, 2885, 1774, 1574, 1512, 1419, 1250, 1142, 941; RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta(\text{ppm})$ : 7.17 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, 3- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.06 (dd, 1H,  $J = 7.8, 1.2$  Hz, 4- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.91 (d, 1H,  $J = 1.2$  Hz, 6- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 4.32 (s, 2H, 1''), 2.89 (hept, 1H,  $J = 6.9$  Hz, 1'), 2.16 (s, 3H, 2- $\text{CH}_3$ ), 1.24 (d, 6H,  $J = 6.9$  Hz, 1''-( $\text{CH}_3$ ) $_2$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta(\text{ppm})$ : 165.8, 148.9, 148.4, 131.2, 127.0, 124.8, 119.4, 40.9, 33.7, 24.0, 15.8.



**(E, Z)-3,7-Dimetilocta-2,6-dien-1-il 2-cloroacetato (2b):** aceite amarillo (0.88 g, 3.81 mmol, 80 %),  $R_f$  [hexano] = 0.4; IR-FT (película líquida,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2962, 2931, 2854, 1759, 1450, 1296, 1174, 957; RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta(\text{ppm})$ : 5.33 (t, 1H,  $J = 7.3$  Hz, 2-H), 5.04 (t, 1H,  $J = 6.1$  Hz, 6-H), 4.68 (d, 2H,  $J = 7.3$  Hz, 1-H), 4.04 (s, 2H, 1'), 2.10-2.01 (m, 4H, 4-H and 5-H), 1.69 (s, 3H, 7- $\text{CH}_3$ ), 1.65 (s, 3H, 3- $\text{CH}_3$ ), 1.57 (s, 3H, 3- $\text{CH}_3$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta(\text{ppm})$ : 167.4, 143.7, 132.0, 123.6, 117.4, 77.16, 63.1, 41.1, 39.6, 26.2, 25.7, 17.7, 16.5.



**4-Alil-2-metoxifenil 2-cloroacetato (2c):** aceite transparente (1.22 g, 5.08 mmol, 90 %),  $R_f$  [hexano] = 0.7; IR-FT (película líquida,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3070, 3008, 2962, 2839, 1296, 1774, 1605, 1265, 926; RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta(\text{ppm})$ : 6.98 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, 5- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.80 (s, 1H, 3- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.78 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, 6- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.01-5.90 (m, 1H, 2''), 5.13-5.04 (m, 2H, 3''), 4.33 (s, 2H, 1'), 3.81 (s, 3H, 2- $\text{OCH}_3$ ), 3.38 (d, 2H,  $J = 6.7$  Hz, 1''); RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta(\text{ppm})$ : 165.7, 150.6, 139.7, 137.0, 122.2, 120.8, 116.4, 112.9, 55.9, 40.8, 40.2, 14.2.

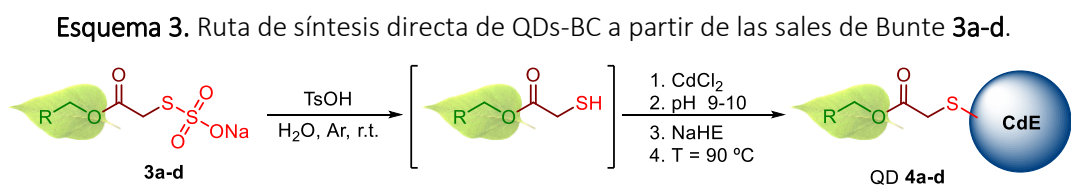


**3-Hidroxifenil 2-cloroacetato (2d):** aceite amarillo (0.71 g, 3.83 mmol, 65 %),  $R_f$  [hexano] = 0.4; IR-FT (película líquida,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3410, 3008, 2962, 1759, 1605, 1481, 1157, 972; RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta(\text{ppm})$ : 7.19 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H, 5- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.71 (dd,  $J = 8.1, 1.8$  Hz, 1H, 6- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.64 (dd,  $J = 8.2, 1.8$  Hz, 1H, 4- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.61 (t,  $J = 1.8$  Hz, 1H, 2- $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.15 (br. s, 3-OH), 4.28 (s, 2H, 1'); RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta(\text{ppm})$ : 166.5, 157.0, 151.1, 130.3, 113.9, 112.9, 108.8, 41.0.

*Procedimiento general para la síntesis de las sales de Bunte 3a-d.* Para la síntesis de los compuestos **3a-d** fue adaptado el procedimiento descrito por Reeves y col.<sup>52</sup> En un balón de fondo redondo se mezclan 4.0 mmol del respectivo producto cloroacetilado **2a-b** y 2.4 mmol de bisulfito de sodio pentahidratado ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) en presencia de 20 mL de una mezcla MeOH/agua (3:1). La solución resultante es calentada hasta  $65^\circ\text{C}$  por 2h, para luego eliminar el MeOH con ayuda de rotoevaporación. El sólido resultante es disuelto en 20 mL de MeOH

y filtrado a través de un embudo capafiltrante eliminando  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  que no reaccionó y  $\text{NaBr}$  formado. El filtrado es concentrado con la consecuente formación de un sólido blanco, el cual es lavado sucesivamente con n-hexano y secado al vacío.

**4.4.5. Síntesis de QDs bioconjugados a partir de las sales de Bunte 3a-d.** El uso de sales de Bunte en la generación de nanomateriales ha sido reportado en la síntesis directa de nanopartículas de plata<sup>53</sup> y oro,<sup>54</sup> sin embargo, no existe reporte alguno para la síntesis de QDs. El protocolo de síntesis realizado está adaptado del reporte de Cutler<sup>53</sup> y Lin.<sup>55</sup> En un balón de fondo redondo son disueltos bajo atmósfera inerte 3 mmol de la respectiva sal de Bunte **3a-d** y 0.51 mmol de ácido p-toluensulfónico (TsOH) en 30 mL de agua desgasificada. Tras una hora de reacción se adicionan 1.17 mmol de  $\text{CdCl}_2$ , ajustando lentamente el pH hasta 9-10 con una solución de  $\text{NaOH}$  2M. En paralelo se prepara el  $\text{NaHE}$  siguiendo el mismo procedimiento descrito en la sección 4.4.1. La relación molar sal de Bunte/TsOH/ $\text{Cd}^{2+}$ /E/ $\text{NaBH}_4$  es 1/0.17/0.5/0.025/0.075, respectivamente. Tras la rápida inyección del  $\text{NaHE}$ , la mezcla de reacción es calentada hasta  $90^\circ\text{C}$  por 3 horas para promover el crecimiento de las NPs, las cuales fueron precipitadas con acetona y purificadas por centrifugación.



#### 4.5. APLICACIONES – SENSIBILIZACIÓN DE NANOTUBOS TRANSPARENTES DE $\text{TiO}_2$ CON QDS

Las aplicaciones de la presente tesis fueron desarrolladas en conjunto con el Centro de Materiales y Nanociencias (CMN) dirigido por el profesor Ángel M. Meléndez y su grupo científico.

**4.5.1. Preparación de fotoánodos de nanotubos transparentes de TiO<sub>2</sub>.** Antes de la anodización, láminas de TiO<sub>2</sub> (99.5 % de pureza, dimensiones 2.5x2.0 cm) fueron pulidas con diferentes lijas de SiC, sonicadas separadamente en etanol y acetona, y lavadas con agua desionizada. Las muestras fueron anodizadas en una solución electrolítica de NH<sub>4</sub>F (0.45% p/p), agua (2% p/p) en etilenglicol aplicando un potencial de sesgo de 60V. Terminado el proceso, las láminas fueron secadas a 100°C y calcinadas a 400°C por 2h con una rampa de calentamiento de 3°C/min. Para la obtención de nanotubos de TiO<sub>2</sub> (TNTs) en forma membrana, una segunda anodización fue llevada a cabo por 15 min bajo las mismas condiciones iniciales. El material obtenido fue sumergido en una solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% p/p) durante 2min. Las membranas de TNTs fueron removidas de las láminas de TiO<sub>2</sub> y depositadas sobre láminas transparentes conductoras de ITO (*indium tin oxide*) para preparar los respectivos fotoánodos utilizando un adhesivo tipo sol-gel dopado con boro. Finalmente, los fotoánodos fueron secados a 100°C y calcinados hasta 400°C con una rampa de calentamiento de 3°C/min.<sup>56</sup> Los fotoánodos fueron caracterizados por SEM, XPS, DRX y un potenciostato PGSTAT 302N.

**4.5.2. Preparación de fotoánodo tipo TNTs/CdS/CdTe.** Una dispersión acuosa de QDs compuestos de CdTe-TGA con tamaños de  $\approx 4,2$  nm fue preparada para sumergir los fotoánodos de TNTs por 2, 4 y 6 h con fin de depositar diferentes cantidades de QDs sobre los TNTs. Para determinar el comportamiento fotovoltaico de los fotoánodos de TNTs/CdS/CdTe, se elaboró una celda solar ensamblando el fotoánodo con cátodos compuestos de sulfuro de cobalto (CoS). Las celdas solares fueron llenadas con una solución de polisulfito compuesta de 1.0M Na<sub>2</sub>S y 1.0M S. Curvas típicas de corriente vs voltaje fueron adquiridas utilizando potenciostato Autolab PGSTAT 204 bajo iluminación solar simulada (AM 1.5G, 75 mW/cm<sup>2</sup>) con un simulador Suntest CPS+ (ATLAS, GmbH). El área de exposición de los fotoanodos fue de 0.15 cm<sup>2</sup>.

#### 4.6. APLICACIONES - BIOCONJUGADO DE NANOTUBOS DE $\text{TiO}_2$ /QDS/ÁCIDO FÓLICO PARA LA DETECCIÓN DE CÉLULAS CANCERÍGENAS.

**4.6.1. Caracterización foto-electroquímica de los QDs.** Se prepararon electrodos de pasta de carbono a partir de la dispersión homogénea de QDs de CdTe-TGA de diferente tamaño (1.5-4.2 nm) en una mezcla de carbono (grafito en polvo) y un aglomerante orgánico líquido (aceite de silicón), la presencia de esta sustancia garantiza que la reacción se da entre la superficie electrodo/solución. Se determinaron las propiedades fotoelectroquímicas del material con el fin de determinar el tipo de semiconductor al que corresponden los QDs analizados. Se realizaron medidas de potencial a circuito abierto (OCP) en ausencia y en presencia de luz.

## 5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El diseño de nanomateriales como los QDs involucra la selección de tres de sus componentes principales: la sustancia química que compondrá el *núcleo*, el tipo de *ligando* estabilizante y la(s) *capa(s)* de material semiconductor que se dispone sobre dicho núcleo buscando mejores las propiedades químicas y ópticas.

### 5.1. DISEÑO DE QDS: COMPOSICIÓN

La tabla 1 muestra los diversos QDs organizados de acuerdo con su composición química, en esta se destacan las regiones del espectro electromagnético en las cuales emiten. Sin lugar a duda, las propiedades ópticas de los QDs se derivan de su composición ya que esta determina el *band gap* del material semiconductor, la afinidad por el ligando, la predisposición a defectos superficiales, su facilidad de síntesis, e importantemente, la dependencia de sus propiedades en función del tamaño de la nanopartícula.

**Tabla 1.** Composición del núcleo de diversos QDs y su rango de emisión.

Composición del núcleo	Región de emisión	Referencia
<b>Cadmio</b>		
CdTe	Visible	32
CdS	UV, visible (EDT)*	57
CdSe	Visible	58
<b>Zinc</b>		
ZnO	UV, visible (EDT)*	59
ZnSe	UV, visible (EDT)*	60
ZnTe	UV, visible (EDT)*	61
ZnS	UV	62
<b>Indio</b>		
InP	UV, visible, IR cercano	63
InAs	IR	64
<b>Galio</b>		
GaP	UV, visible (EDT)	63
GaInP <sub>2</sub>	UV, visible (EDT)	63
<b>Plomo</b>		
PbSe	IR cercano y medio (EDT)	65
PbS	IR	66

\*Emisión dependiente del tamaño: EDT

Fuente: columna de referencias.

Dentro de este numeroso grupo se destacan el CdSe, CdTe y PbS como componentes del núcleo de QDs por mostrar las mejores propiedades ópticas, físicas y químicas cuando han sido evaluados en aplicaciones biológicas u optoelectrónicas.<sup>67</sup> La introducción de la

preparación de QDs compuestos de calcogenuros de cadmio (CdE, E = S, Se, Te) por OCS (ver Sección 3.3.1) trajo consigo cambios radicales a las investigaciones basadas en QDs.<sup>2</sup> Desde este momento los QDs compuestos de CdE han sobresalido sobre sus pares principalmente por la facilidad de preparación, modificando paso a paso sus características a través de mejoras continuas en el proceso de síntesis. Algunas de las propiedades que destacan a las NPs de CdE es que muestran una dependencia de las propiedades con el tamaño, amplios espectros de absorción, estrechos y simétricos espectros de emisión, presentando también independencia de la emisión respecto a la longitud de onda de excitación. Actualmente los avances en la síntesis de QDs compuestos de CdE ha pasado de realizarse en solventes altamente tóxicos e inestables a temperaturas cercanas a 300 °C hasta reacciones en agua a 100 °C.<sup>68</sup> Teniendo en cuenta los aspectos anteriormente descritos, se seleccionó como material semiconductor del núcleo de los QDs del presente proyecto a los calcogenuros de cadmio CdE (E = Se, Te)

## 5.2. DISEÑO DE QDS: TIPO DE LIGANDOS

Dentro de los componentes principales de los QDs, la naturaleza química del ligando es uno de los parámetros claves en el diseño de QDs, principalmente por que contribuyen a la estructura electrónica y solubilidad final de la NP contemplada. Este parámetro, por ende, juega un influyente papel en las propiedades ópticas y estabilidad del nanocrystal. En general, los ligandos proveen estabilidad coloidal, control de la morfología y distribución de tamaño de la nanopartícula, al igual que control en el crecimiento y aglomeración.

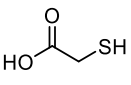
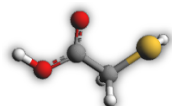
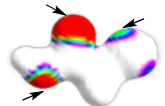
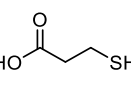
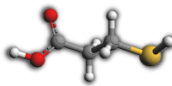
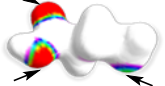
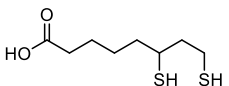
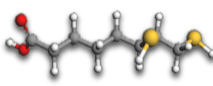
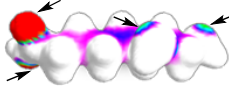
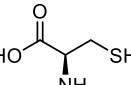
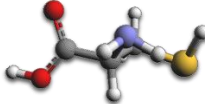
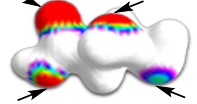
El tipo de ligando está directamente relacionado con el método de síntesis y la aplicación final de los QDs. Por ejemplo, organofosforados de cadena larga, aminas primarias, ácidos carboxílicos, alcoholes y tioles son ligandos comúnmente utilizados en la síntesis de QDs.<sup>69,70</sup> Dentro de este grupo, las aminas, alcoholes y ácidos carboxílicos ofrecen la posibilidad de bioconjugación, objetivo final del presente proyecto. Este proceso que involucra el enlace de biomoléculas como péptidos, carbohidratos, virus/anticuerpos, fragmentos de ADN y productos naturales a través de interacciones electroestáticas o enlaces covalentes.

Teniendo en cuenta el paralelo presentado en la sección 3.3, donde se describe detalladamente las condiciones de los métodos de OCS y ACS, la selección del tipo de ligando está direccionada hacia la escogencia de un agente estabilizante que actúe como ligando en un método de síntesis fácil, amigable con el medio ambiente que permita la obtención de QDs de calidad aptos para el proceso de bioconjugación. Por tal razón, se seleccionan los tioles como los ligandos más apropiados para la generación de QDs aptos para su

bioconjugación bajo condiciones suaves. A pesar de las notables propiedades de los QDs preparados con ligandos organofosforados, éstos son descartados debido a que en el proceso de síntesis se utilizan condiciones no-verdes tales como sustancias peligrosas (tóxicas/pirofóricas/volátiles) y altos requerimientos energéticos.

Los ligandos seleccionados se muestran en la tabla 2, denotados como ácido tioglicólico (TGA), ácido mercaptopropiónico (MPA), ácido dihidrolipoico (DHHLA) y la L-cisteína (L-Cys). Éstos han sido utilizados en la síntesis de QDs bajo el método de ACS. Las estructuras de este tipo de ligandos contiene uno o dos grupos tiol (-SH) terminales, una cadena lineal hidrocarbonada  $[-(\text{CH}_2)_n-]$  de 1, 2 y 4 eslabones, y un grupo carboxilo terminal (-COOH). Parámetros como el coeficiente de partición octanol/agua (LogP), el área superficial polar (TPSA) y el mapa de superficie de densidad electrónica (EDS) permiten correlacionar el comportamiento de este tipo de ligandos en el proceso de nucleación y crecimiento de las NPs. Estos parámetros pueden ser calculados en plataformas *on-line* de acceso libre como *Molinspiration*.<sup>71</sup> El LogP relaciona lipofilidad, es decir la afinidad de una molécula por un ambiente lipofílico (apolar, como el octanol) y el agua (polar). El ligando más hidrofóbico es el DHHLA, pues muestra el mayor LogP calculado (cLogP), mientras la L-Cys muestra ser más hidrofílico, seguido del TGA.

**Tabla 2.** Relación de ligandos seleccionados y con el valor de los parámetros moleculares calculados.

Ligando	Estructura	cLogP	TPSA (Å)	EDS	
Ácido tioglicólico <b>TGA</b>		-0.12	37.30		
Ácido mercapto-Propiónico <b>MPA</b>		0.15	37.30		
Ácido dihidrolipoico <b>DHHLA</b>		2.01	37.30		
L-Cisteína <b>L-Cys</b>		-2.71	63.32		

Fuente: autor.

Teniendo en cuenta los anteriores valores, es posible suponer que el comportamiento en la síntesis estará determinado por la hidrofiliidad, pues cuanto mayor sea la tendencia de

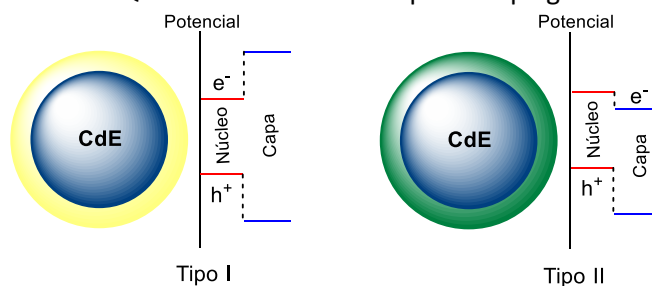
estos ligandos por estar en las regiones acuosas (o más polares), mayor será la capacidad de estabilizar y dispersar homogéneamente los sustratos para promover el crecimiento ordenado. La TPSA, al igual que la EDS, describen la magnitud y ubicación de la regiones polares en el ligando, respectivamente. Las regiones polares están encargadas de las interacciones ligando-catión ( $L-M^{n+}$ ) durante el proceso de síntesis. En nuestro caso, no se observa una variación significativa para el TGA, MPA y DHLA, pues arrojan en mismo valor en los tres casos. Este resultado está relacionado con el tipo de cálculo que realiza el *software* utilizado, en donde a partir de las contribuciones de grupos funcionales realiza aporte al parámetro en cuestión. No obstante, la L-Cys muestra un valor grande para el TPSA, este aumento está relacionado con la presencia del grupo amino en la posición  $\alpha$  el aminoácido, el favorecería las interacciones  $L-M^{n+}$ .

### 5.3. DISEÑO DE QDS: TIPO DE CAPA

El ambiente en el cual están inmersos los QDs en diversas aplicaciones afecta notoriamente su estructura electrónica y propiedades ópticas. Para preservar la integridad del núcleo responsable de las características únicas de este tipo de nanomateriales, una capa de otro material semiconductor es generada en su superficie. Esta capa o *shell* es responsable de la pasivación química de la superficie del núcleo. En todos los casos, el nuevo material dispuesto en la superficie tiene un mayor *bandgap* respecto al material del núcleo, lo cual favorece el confinamiento electrónico. Se ha reportado que la generación de capas individuales o monocapas libres de defectos estructurales es la mejor solución para optimizar las propiedades ópticas de QDs de CdE, evitando así el fotoblanqueo y la pérdida de luminiscencia.

Este campo ha llevado a los investigadores a desarrollar una especie de ingeniería en el tipo, forma y naturaleza de la capa. Existen dos tipos de estructuras *core-shell* denotadas como tipo I y tipo II, se diferencian básicamente por la posición de las bandas de conducción y valencia respecto al *band gap* del material de núcleo (figura 9).

**Figura 9.** Clasificación de los QDs de acuerdo con el tipo de capa generada sobre su superficie.



Fuente: autor.

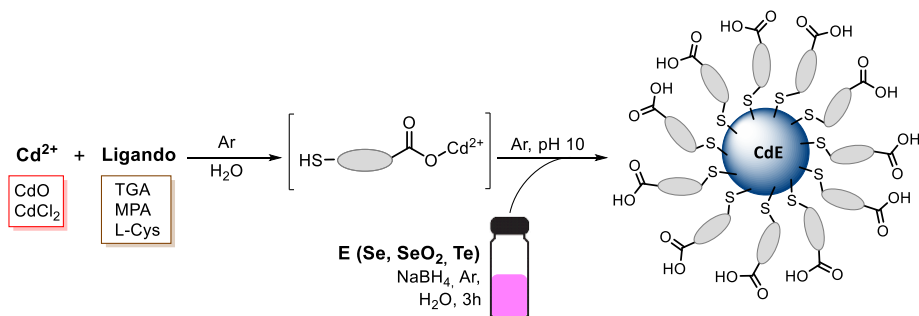
Mientras que en los QDs tipo I las transiciones electrónicas ocurren en el núcleo, en los tipo II existe la posibilidad de que el electrón excitado se ubique en la banda de valencia de la capa y no del núcleo. Esta posibilidad ha sido aprovechada en diversas aplicaciones donde se ven favorecidas las transiciones electrónicas al disminuir el *bandgap*. Diversos semiconductores han sido utilizados como materiales capa, incluyendo el ZnS, CdS, ZnSe y InP. De este grupo se destaca el ZnS por ser no tóxico, químicamente estable y poseer un amplio *bandgap* (3.8 eV). Teniendo en cuenta los beneficios de la generación de una capa de material semiconductor sobre el núcleo de los QDs, se seleccionó el ZnS, como el material no-tóxico más apropiado para protección de las NPs del presente proyecto.

En resumen, los aspectos tenidos en cuenta para el diseño los QDs permitieron seleccionar el CdE (E = Se, Te) como el material que compondrá el núcleo de los QDs, disponiendo en primera instancia sobre su superficie ligandos tipo tiol, para luego hacer crecer monocapas de ZnS siguiendo el método de ACS. Esta selección permitirá la obtención de NPs con marcada luminiscencia aptas para el proceso de bioconjugación.

#### 5.4. SÍNTESIS DE QDS EN MEDIO ACUOSO COLOIDAL - ACS.

Los QDs fueron preparados utilizando el método de ACS (Sección 3.3.2, Esquema 4), evaluando las diferentes fuentes de Cd, calcogenuro y tipo de ligando en búsqueda de la configuración que mostrara la mayor QY. Como se ha descrito en la Sección 2.1, la QY indica la calidad de los QDs y relaciona la cantidad de fotones emitidos con la cantidad de fotones absorbidos en el proceso de fluorescencia. Para cada variable: tipo de fuente, relación molar, ligando, tiempo de reacción y número monocapas fue medida la QY (ver anexo 10.2), utilizándola como parámetro de selección en la optimización de las propiedades de los QDs.

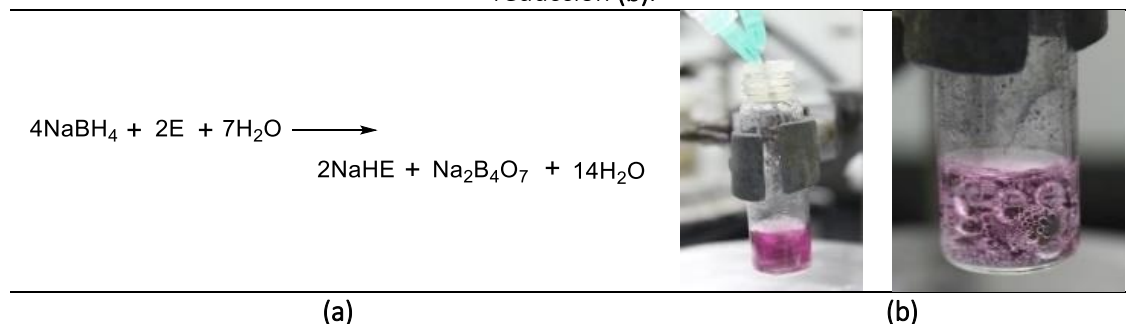
**Esquema 4.** Esquema de síntesis para los QDs compuestos de CdE bajo el método ACS.



Fuente: autor.

Una mención especial requiere la preparación del NaHE, en donde el calcogenuro es reducido por la acción del NaBH<sub>4</sub> (figura 10). Durante las primeras etapas de síntesis se observó la susceptibilidad de esta reacción por factores como la presencia de atmósfera inerte, la velocidad de agitación, escala de la reacción, oxígeno presente en el agua, y hasta la geometría del reactor en cual es llevada a cabo dicho proceso.

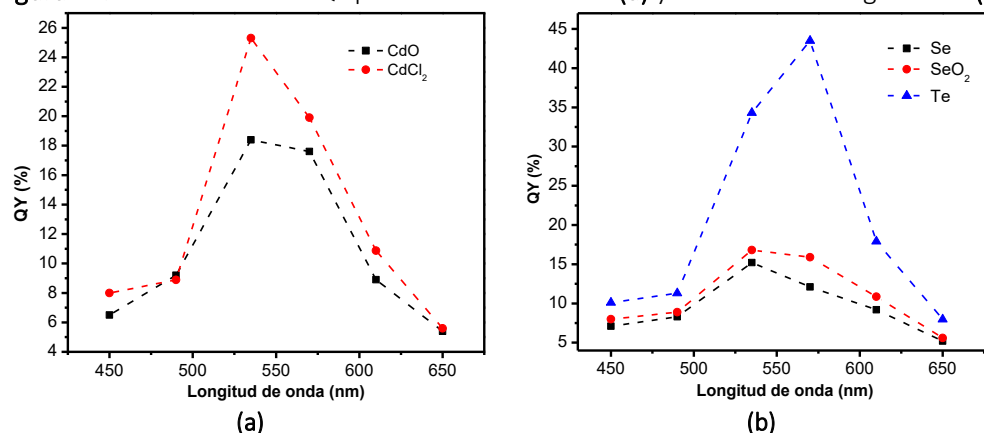
**Figura 10.** Reacción de reducción para el calcogenuro E (a) y aspecto físico de la reacción de reducción (b).



Fuente: autor.

Especial atención requiere este aspecto pues de la preparación de esta solución depende la calidad de los QDs. Esta situación se evidenció al replicar el reporte de Ramírez<sup>48a</sup> para la síntesis de QDs compuestos de CdSe-TGA. En este reporte obvian condiciones como la ausencia de oxígeno (desgasificación) en el agua y la geometría del reactor, como resultado se obtuvieron nanopartículas con ausencia total de luminiscencia bajo luz ultravioleta ( $\lambda = 365 \text{ nm}$ ). Un indicativo de que la reducción se llevó a cabo de manera eficiente es la aparición de una coloración homogénea de color violeta transparente en la mezcla de reacción (figura 10b), en este punto ya es posible realizar la inyección e iniciar el proceso de nucleación y crecimiento de las NPs. Por tal razón se recomienda realizar la reacción de reducción bajo una cuidadosa atmósfera inerte, agitación mayor a 2000 rpm, utilizando agua previamente desgasificada en un reactor de fondo plano.

Figura 11. Resultados de la QY para la fuente de  $\text{Cd}^{2+}$  (a) y fuente del calcogenuro E (b).

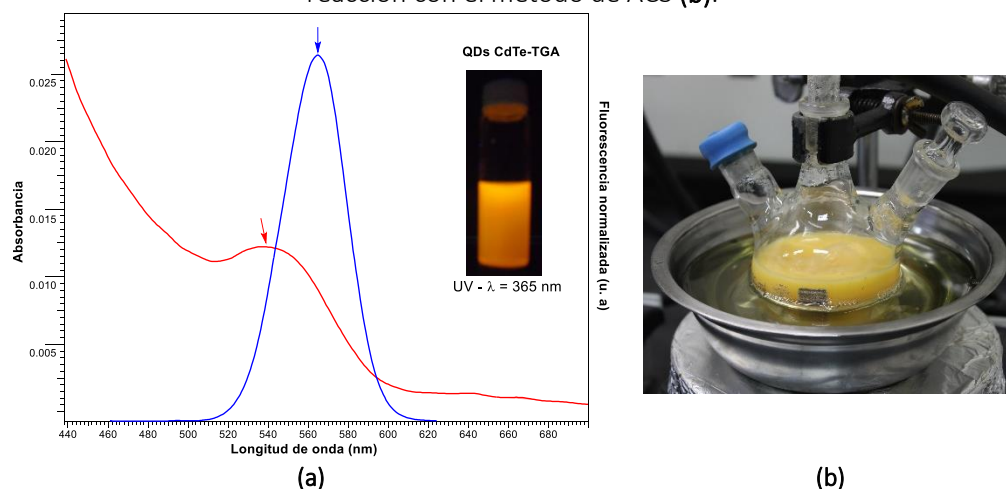


Fuente: autor.

En vista de la clara influencia de las variables de síntesis sobre la generación de QDs a través de método ACS, hemos investigado en primera instancia la influencia que tiene la fuente de  $\text{Cd}^{2+}$  sobre la calidad de los QDs. La gráfica 11a muestra la QY para el CdO y CdCl<sub>2</sub>, utilizando como reacción modelo el TGA como ligando, Te como calcogenuro y la relación molar 1:0.5:1.3  $\text{Cd}^{2+}$ /Te/TGA bajo 3 horas de reacción. Se observa una mayor QY para el CdCl<sub>2</sub> con un valor de 25 % respecto al CdO con 18 %. Este resultado podría estar relacionado con la baja solubilidad del CdO en agua (0.0021 g/L), hecho que no le permite reaccionar en solución homogénea. Del mismo modo fue evaluada la fuente de calcogenuro E = Se, SeO<sub>2</sub>, Te, obteniendo los mejores resultados para los QDs compuestos de CdTe-TGA con una QY de 43% (ver figura 11b). La reducción del Se y SeO<sub>2</sub> fue incompleta, pese a tomar 48h de reacción bajo atmósfera inerte, se observaron restos del calcogenuro metálico sin reaccionar. En la búsqueda de evidencia en la reducción del Se tanto de su especie metálica ( $\text{Se}^0$ ) como en forma de óxido ( $\text{SeO}_2$ ), se realizó la mezcla de las respectivas reacciones de reducción con una solución acuosa que contenía cationes  $\text{Cd}^{2+}$  en una relación molar 2:1 (Cd/Se), esta reacción tiene como finalidad la formación de un precipitado instantáneo que demostrara la presencia en forma aniónica del Se. Tras 2h de reacción solo se observó la generación de una solución turbia en ambos casos, lo cual indica la poca formación del CdSe por la baja concentración de iones  $\text{Se}^{2-}$ .

La figura 12a muestra el espectro de absorbancia y fluorescencia para los QDs obtenidos, en ésta se observa la posición del primer pico excitónico en 540 nm y la posición de la banda de emisión en 564 nm. Se destaca la simetría del espectro de emisión, con una anchura máxima a la altura media o *full width at half maximum* (FWHM) de 43 nm.

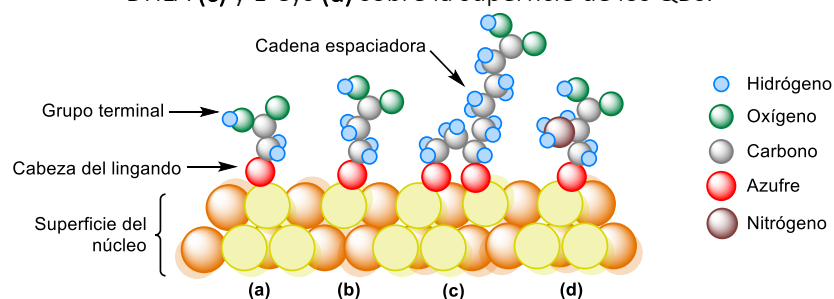
**Figura 12.** Espectros de UV-vis y fluorescencia de los QDs de CdTe-TGA (a). Aspecto físico de la reacción con el método de ACS (b).



Fuente: autor.

Diversos investigadores han analizado la influencia de los ligandos en la síntesis organometálica de QDs,<sup>69</sup> estos estudios sugieren que la máxima QY depende en gran medida de tipo ligando y el post-tratamiento de la nanopartícula. En el caso de los QDs sintetizados con tioles hidrofílicos, tres procesos asociados determinan la estabilidad fotoquímica de dichas nanopartículas. El primero de ellos, la oxidación fotocatalítica de los tioles en la superficie de los QDs, determina el tipo y número de defectos superficiales afectando directamente la luminiscencia. El segundo está asociado a la auto-fotooxidación del núcleo semiconductor, este hecho afecta desorción de ligandos en los QDs y promueve la agregación. Por último, el proceso de precipitación durante la purificación determina el número final de ligandos estabilizantes en la superficie.

**Figura 13.** Representación esquemática de la estructura química de los ligandos TGA (a), MPA (b), DHLA (c) y L-Cys (d) sobre la superficie de los QDs.

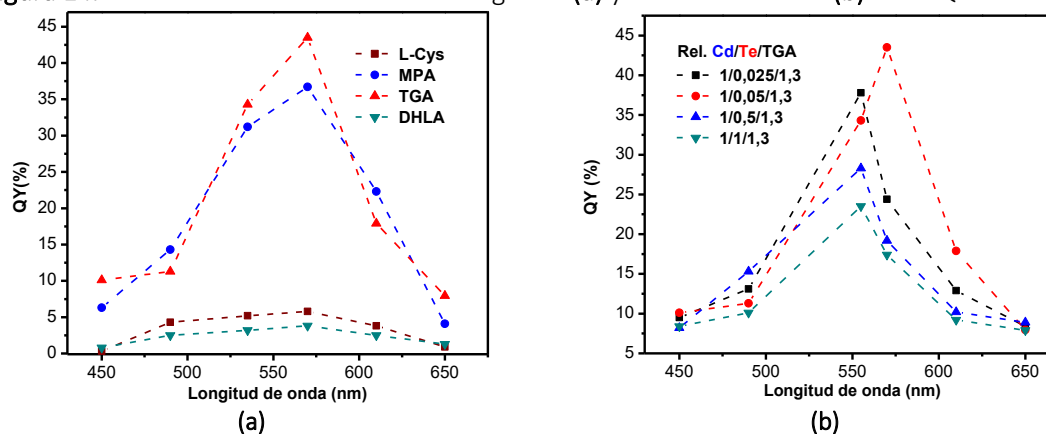


Fuente: autor.

Durante el intercambio constante entre ligandos libres y asociados en disolución, una precipitación repentina por la adición de un solvente polar como acetona o metanol podría

generar vacancia en la superficie, sitios en donde hay ausencia de ligandos ahora en solución. En la presente investigación cuatro ligandos tipo tiol fueron usados, todos estos conservan características estructurales como grupos -SH y -COOH, y difieren en la longitud de la cadena de grupos -(CH<sub>2</sub>)- espaciadora y la presencia de grupos polares como -NH<sub>2</sub>. La figura 14a muestra la QY para cada ligando, siendo el TGA el mejor resultado con una eficiencia del 43%.

**Figura 14.** Resultados de la evaluación del ligando (a) y la relación molar (b) en la QY de los QDs.



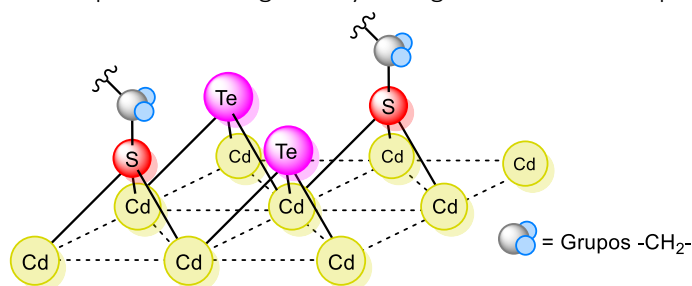
Fuente: autor.

Este resultado es similar al reportado por Shen y col.,<sup>72</sup> para la síntesis de QDs compuestos de CdTe-TGA. La longitud en la cadena espaciadora tiene un pequeño efecto negativo sobre la QY, pues se observa una disminución del 7 % en la QY cuando es utilizado el MPA. Caso especial representa el uso del DHLA y la L-Cys como ligandos, pese a encontrar reportes previos en donde consiguen la generación de QDs con estos ligandos, la luminiscencia de estas nanopartículas bajo las condiciones de la reacción modelo es mínima (QY < 6 %) o ninguna. El resultado obtenido para el DHLA, un ligando con motivos estructurales ideales tales como una cadena espaciadora de cuatro carbonos y dos grupos -SH (bidentado), demuestra la necesidad de ligandos con un rango de hidrofobicidad definido el cual podría estar entre un cLogP de  $\approx -0.12$  a  $0.15$ . Sumado a esto, la revisión de los valores de  $pK_a$  para los grupos -SH de los ligandos evaluados revela que el valor más bajo, y por ende más ácido y reactivo, corresponde al TGA con un  $pK_a$  de 9.3, mientras que para el resto de los ligandos es  $>10$ . Sin embargo, es necesario mencionar que la velocidad de oxidación de los ligandos tipo alcanotiol decrece a medida que aumenta el número de carbonos, lo cual limitaría el uso de QDs compuestos de CdTe-TGA en aplicaciones a largo plazo.<sup>69</sup>

Dentro del proceso de nucleación y posterior crecimiento, la disponibilidad de calcogenuro en el medio de reacción determina la calidad de las NPs al favorecer o inhibir la presencia de defectos superficiales. Una alta relación molar  $Cd^{2+}/Te^{2-}$  implicaría ausencia de material para

promover el crecimiento, mientras que una relación baja propiciaría la interacción tiocompuesto- $\text{Te}^{2+}$  debido al exceso de calcogenuro en el medio de reacción. En la búsqueda de condiciones que permitan aumentar la QY, fueron evaluadas varias relaciones molares  $\text{Cd}^{2+}/\text{Te}^{2-}$  bajo la reacción modelo. En nuestros experimentos la relación molar variaba desde 1:0.025 hasta 1:1. Los resultados obtenidos en la figura 14b muestran una dependencia de la QY por el radio estequiométrico  $\text{Cd}^{2+}/\text{Te}^{2-}$  de los precursores utilizados en la síntesis. Comparado con la QY obtenida con las otras tres relaciones, los QDs preparados con un radio molar de 1:0.05 mostraron la mayor QY.

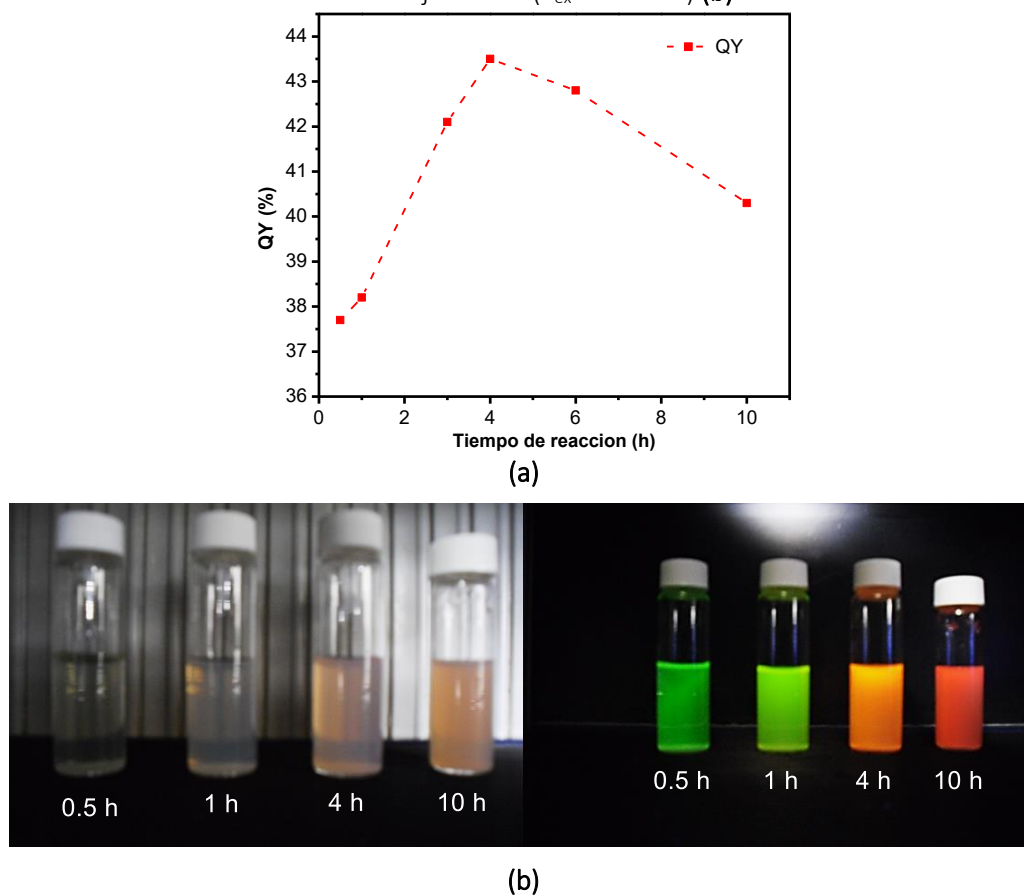
**Figura 15.** Disposición espacial de los ligandos y calcogenuros sobre la superficie de los QDs.



Fuente: autor.

Tenido en cuenta que en el proceso de nucleación y crecimiento ocurre la formación de estructuras cristalinas, la relación molar encontrada parece alta, es decir menor cantidad de  $\text{Te}^{2+}$  respecto al  $\text{Cd}^{2+}$ . Sin embargo, en el año 2003, Borchert reportó que los QDs con gran luminiscencia compuestos de CdTe poseen pocos átomos de Te en la superficie, en comparación con los QDs de baja luminiscencia.<sup>73</sup> En la misma entrega, demostraron a partir de mediciones con espectroscopia fotoelectrónica sincrotónica o *synchrotron photoelectron spectroscopy* (*synchrotron XPS*) que sobre la superficie de los QDs más luminiscente se forma una delgada capa de sulfuro de cadmio (CdS) entre los átomos de cadmio del núcleo y los átomos de azufre del ligando (figura 15).

Figura 16. Resultados de la evaluación del tiempo de reacción en la QY (a) y aspecto físico de los mismo bajo luz UV ( $\lambda_{ex} = 365 \text{ nm}$ ) (b).



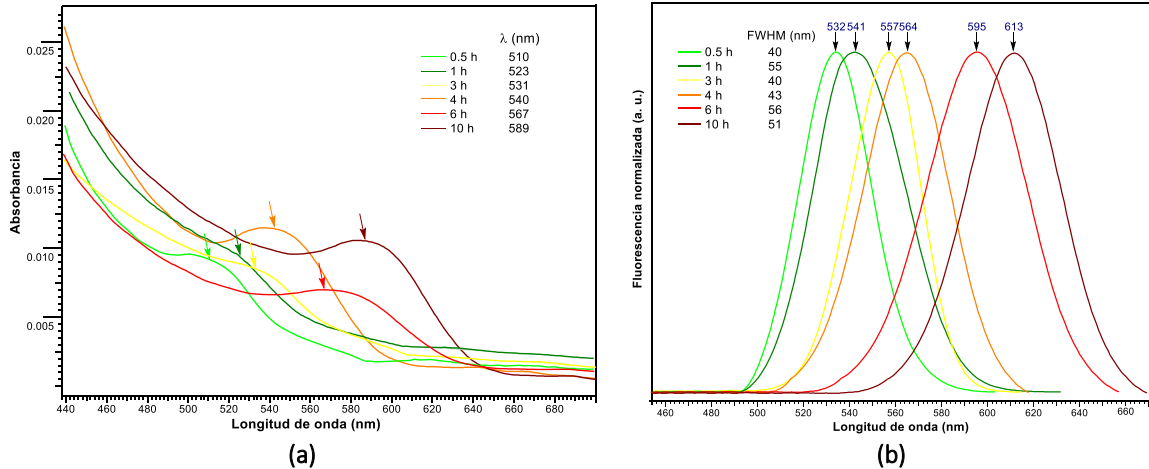
Fuente: autor.

El tiempo de reacción determina el periodo que tienen las partículas una vez iniciado el proceso de nucleación para crecer. Esta variable, tiempo de reacción, está directamente relacionada con una de las características que destacan a los QDs sobre la mayoría de las NPs semiconductoras y es la dependencia de la longitud de onda de emisión con el tamaño del nanocristalito. Para investigar el tiempo de reacción que generara los nanopartículas con la mejor QY se monitoreó la reacción modelo desde 0.5 h hasta 10 h. El mejor resultado se obtuvo a las 4 horas de reacción (QY 43 %). La figura 16b muestra el aspecto físico de los QDs compuestos de CdTe-TGA en función del tiempo de reacción bajo luz ambiental y UV ( $\lambda = 365 \text{ nm}$ ).

La posición del primer pico excitónico y el pico de emisión de los QDs sintetizados en función del tiempo de reacción se muestran en los espectros de UV y fluorescencia de las figuras 17a y 17b, respectivamente. Se observa con el aumento de tiempo de reacción un corrimiento hacia longitudes de onda mayor (menor energía), lo cual sugiere el crecimiento de las NPs. En

comparación con los QDs obtenidos en medio organometálico a temperaturas entre 280-300 °C que muestran un FWHM entre a 18-20 nm, los QDs preparados en nuestra investigación poseen mayor FWHM estando entre 40 y 56 nm. Este valor está asociado con la distribución de tamaños de las nanopartículas, valores pequeños indican distribuciones estrechas centrando la mayoría de los nanocristales a un valor fijo de tamaño.

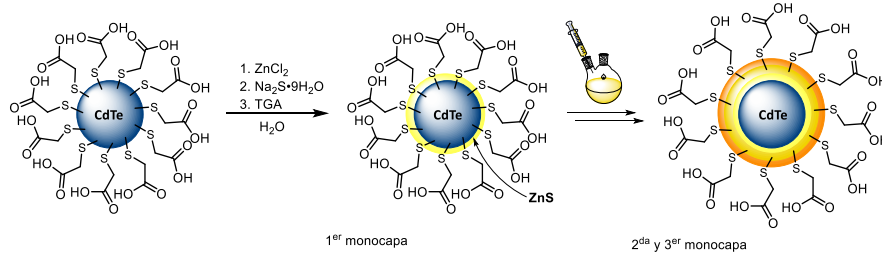
**Figura 17.** Espectros de UV-vis (a) y de fluorescencia ( $\lambda_{ex} = 400$  nm) (b) para los QDs en función del tiempo de reacción.



Fuente: autor.

Hasta el momento, en el proceso de diseño y síntesis de QDs, hemos recopilado experimentos y resultados que nos permiten obtener nanocristales de CdTe a partir de CdCl<sub>2</sub> y Te como precursores con una relación molar 1/0.05/1.3 (Cd/Te/TGA) utilizando el TGA como ligando estabilizador por un tiempo de reacción de 4h, todo lo anterior con una QY del 43%. El paso final en la síntesis de los QDs consiste en la generación de monocapas de ZnS sobre la superficie con el fin de reducir los defectos superficiales y confinar el material del núcleo manteniendo sus propiedades químicas y ópticas. Para tal fin se realizó la síntesis de monocapas de ZnS utilizando como sustratos el ZnCl<sub>2</sub> y el Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O (esquema 5).

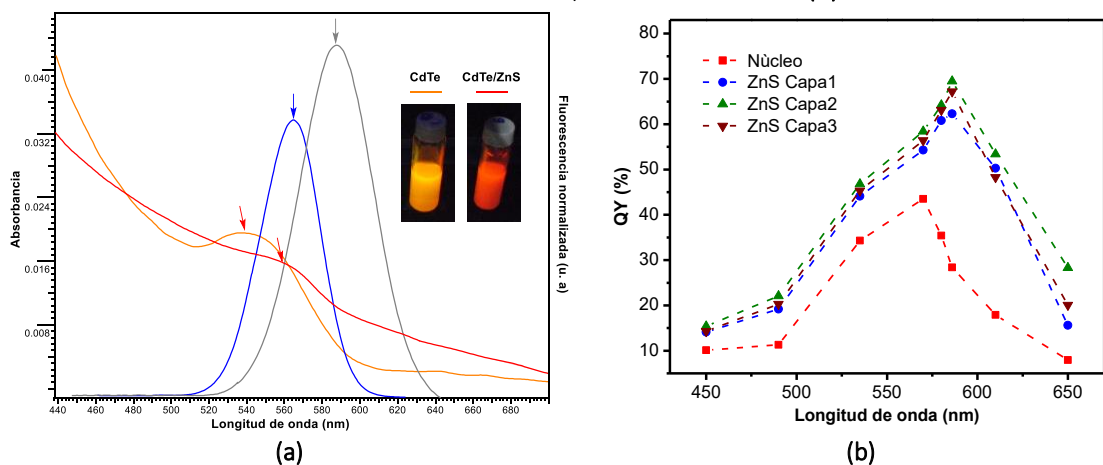
**Esquema 5.** Síntesis de monocapas de ZnS sobre los QDs de mayor QY bajo el método ACS.



Fuente: autor.

La figura 18a,b muestra los resultados obtenidos, la banda y forma del espectro UV de los nanocristales recubiertos es modificado, llevando la absorción desde 540 hasta 562 nm. La posible formación de una aleación del tipo  $Cd_xZn_{1-x}TeS_{1-y}$  es descartada para el corrimiento observado, pues la absorción para este tipo de aleaciones presenta un perfil diferente, es decir, un corrimiento hacia longitudes de onda menores tanto en UV como la fluorescencia.<sup>74</sup> Del mismo modo, el pico de emisión es corrido desde 564 hasta 591 nm como un indicativo del crecimiento de la nanopartícula. Se observa también una mayor emisión la cual es reflejada en el área bajo la curva del espectro de emisión previa normalización, llevando la QY desde 43 % hasta 69 % cuando dos monocapas son generadas sobre los QDs. La tercera monocapa parece no tener influencia significativa sobre la luminiscencia de los QDs. El cambio del FWHM desde 43 hasta 49 nm por la adición de las monocapas de ZnS demuestra que no se altera de gran manera la dispersión del tamaño de los nanocristales. A modo de comparación, algunos QDs tipo *core-shell* han mostrado luminiscencias de hasta 80 % con la generación de capas de materiales semiconductores de diferente tipo como CdTe/CdS/ZnS, los resultados obtenidos luego de esta modificación manifiesta la mejora considerable que reciben las propiedades ópticas de los QDs al hacer crecer capas sobre su superficie.

**Figura 18.** Espectros de UV-vis y de fluorescencia (a) para los QDs de CdTe-TGA y CdTe/ZnS-TGA. Resultados de la evaluación del número de monocapas de ZnS en la QY (b).

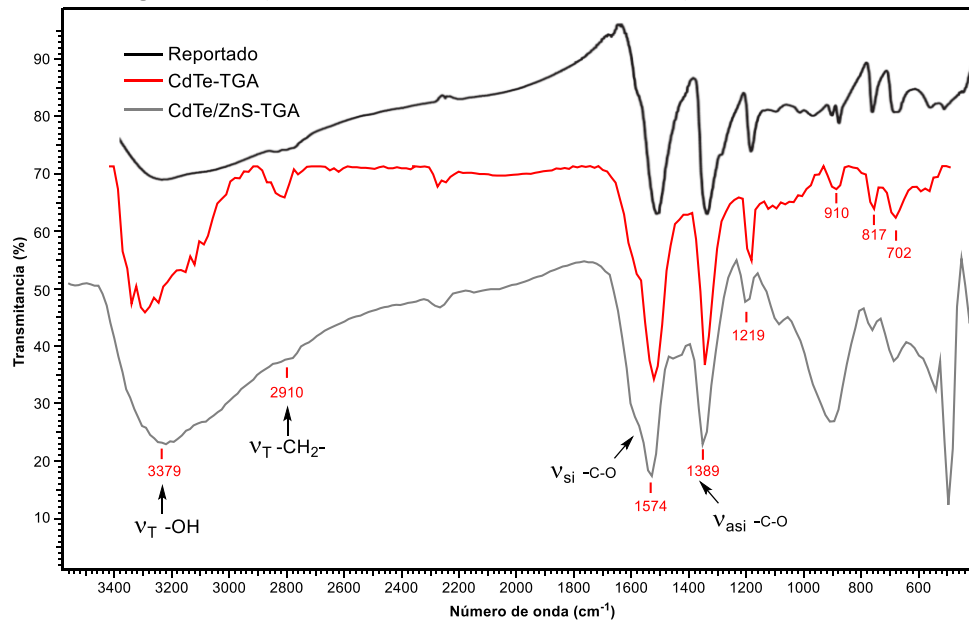


Fuente: autor.

## 5.5. CARACTERIZACIÓN DE LOS QDS SINTETIZADOS POR ACS

El análisis por espectroscopia IR permitió en primera instancia corroborar rasgos estructurales de los QDs sintetizados. La inspección de las señales en los espectros IR (figura 19) muestra una banda en la región propia del grupo -COOH en 3350-3100  $\text{cm}^{-1}$  (vib. tensión). La aparición de una pequeña banda característica de la vibración los grupos -CH<sub>2</sub>- en 2910  $\text{cm}^{-1}$  y la ausencia de la señal característica del grupo -SH libre en 2650-2540  $\text{cm}^{-1}$  confirman la presencia del ligando y la confirmación de la formación de un enlace covalente entre el mismo y el nanocrystal de manera preliminar. Las señales para las vibraciones simétricas y asimétricas del enlace -C-O aparecen en 1574 y 1386  $\text{cm}^{-1}$ , estas señales indican que parte de los grupos -COOH de la superficie de los QDs se encuentra en forma del anión carboxilato. Del mismo, la señal de vibración del enlace C-S aparece en 702  $\text{cm}^{-1}$ . Adicionalmente, las bandas en la región de la huella digital son similares tanto para el CdTe, como para el CdTe/ZnS.

Figura 19. Espectros IR de los QDs de CdTe-TGA y CdTe/ZnS-TGA.

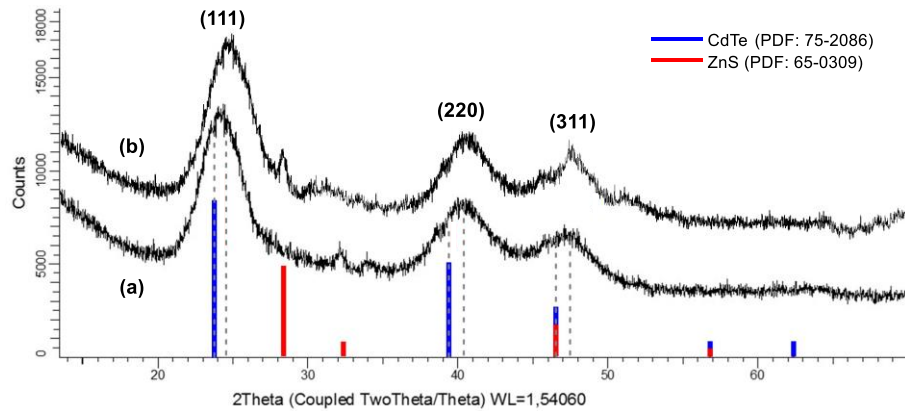


Fuente: autor.

El análisis por difracción de rayos X (DRX) modo polvo permitió confirmar la estructura del núcleo inorgánico al exhibir un perfil de difracción que concuerda con las señales características para el CdTe con estructura cúbica (PDF 75-2086) (figura 20a). Los tres picos de difracción observados en 24.1, 40.1 y 48.6° ( $2\theta$ ) corresponden a los planos (111), (220) y (311) de la estructura cúbica centrada en las caras (CCC) del CdTe. El ensanchamiento de los picos del DRX es una muestra fehaciente de que la muestra corresponde a nanocristalitos de CdTe, es decir, partículas de

tamaños en el rango nanométrico. La ausencia de picos pertenecientes a impurezas (ej. CdO o Cd(OH)<sub>2</sub>) sirve como indicio para establecer que los QDs producidos son de alta pureza. Luego de hacer crecer sobre la superficie de los QDs monocapas de ZnS, el espectro de DRX del producto final (figura 20b) muestra corrimiento de las posiciones de los picos hacia valores de ángulo mayores. Este hecho está relacionado con la tendencia hacia ocupar las posiciones de los picos de difracción del ZnS (PDF 05-0566), lo cual confirma la formación de estructuras tipo *core-shell* de CdTe/ZnS-TGA. Sin embargo, diversos autores reconocen que este corrimiento no solo ocurre por la presencia del ZnS, si no que una delgada capa de CdS promueve también el corrimiento de las señales hacia ángulos mayores. Cuando el corrimiento es muy marcado, es posible que procesos de descomposición del ligando se den en la superficie de la NP.

**Figura 20.** Perfiles de difracción para los QDs de CdTe-TGA (a) y CdTe/ZnS-TGA (b).

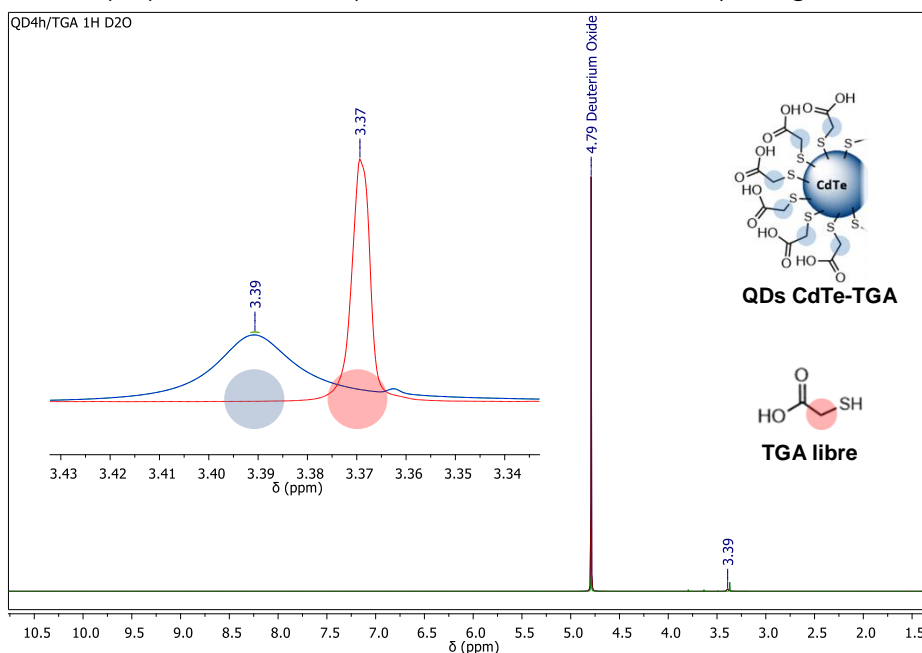


Fuente: autor.

La herramienta más poderosa y comúnmente empleada para identificar los ligandos en la superficie de QDs en estado coloidal es la RMN (Resonancia Magnética Nuclear). Esta técnica se destaca sobre las demás porque permite identificar de manera confirmatoria la presencia y configuración del ligando en el sistema. Además de ser no destructiva, permiten distinguir entre los ligandos libres y anclados en solución sin perturbar el equilibrio entre estos. El ensanchamiento y corrimiento de las señales características del ligandos son algunas de las herramientas que permiten realizar dicha distinción usando RMN monodimensional o 1D. Del mismo modo, la presencia de coherencias e interacciones específicas en RMN bidimensional o 2D permiten conocer información como el radio hidrodinámico ( $r_H$ ) de la NP, la cantidad y densidad de ligandos por nanopartícula, al igual que el tipo de enlace núcleo-ligando.

La figura 21 muestra el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para los QDs de mayor luminiscencia superpuesto con el espectro del ligando libre empleado (TGA). Se observa una única señal para los protones metilénicos ( $-\text{CH}_2-$ ) del TGA en 3.37 ppm, ligeramente desplazada hacia campos más bajos aparece también la señal de los protones metilénicos en 3.39 ppm correspondientes a los ligandos anclados al núcleo de la NP. Se diferencian primero por el corrimiento de la señal, y principalmente por el ensanchamiento de la misma. Este ensanchamiento está asociado al ambiente heterogéneo que tiene cada ligando de acuerdo con su posición en cada plano del nanocrystal, al igual que la proximidad con la superficie de la nanopartícula. No se registran las señales de los protones del grupo  $-\text{COOH}$  debido a su rápido intercambio con el solvente utilizado ( $\text{D}_2\text{O}$ ).

**Figura 21.** Superposición de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de los QDs y del ligando TGA libre.

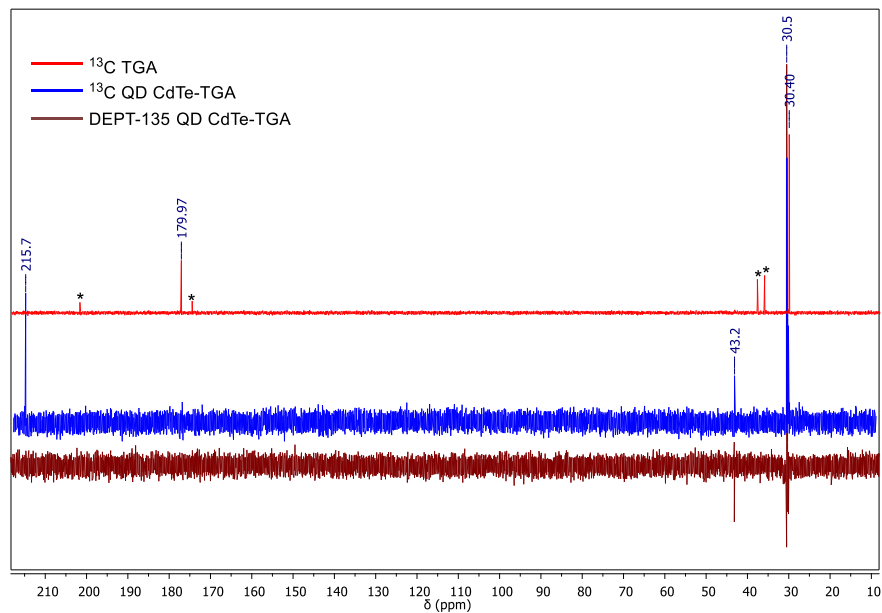


Fuente: autor.

El análisis de los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  permitió corroborar la presencia y corrimiento ejercido sobre la señal del carbono metilénico de los ligandos, pasando desde 30.40 ppm en su forma libre hasta 43.2 ppm en su forma enlazada. Adicionalmente, se observa en el espectro DEPT-135 una fase negativa típica para los grupos  $-\text{CH}_2-$  (figura 22). Las señales en 30.5 y 215 ppm corresponde a la acetona utilizada como estándar interno para establecer el corrimiento químico respecto al solvente  $\text{D}_2\text{O}$  en RMN  $^{13}\text{C}$ . La intensidad de las señales en estos espectros es menor comparado con los espectros de  $^1\text{H}$  debido a la poca abundancia natural de los  $^{13}\text{C}$  presentes, sin embargo, es lo suficientemente intensa como para ser

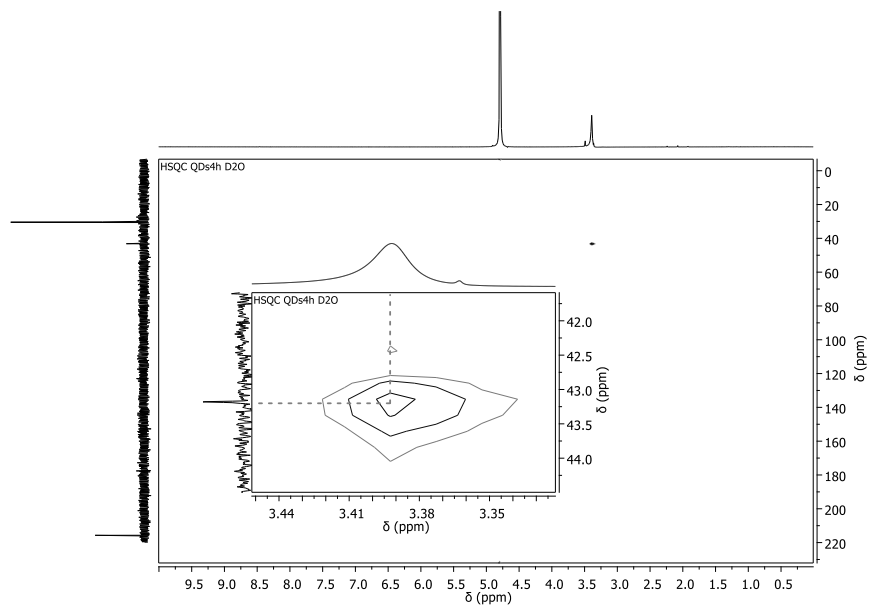
observada. La conectividad entre la señal del espectro de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  es revelada con el espectro 2D HSQC (figura 23).

**Figura 22.** Espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  de los QDs y del ligando TGA libre, al igual que el espectro DEPT-135 para los QDs.



Fuente: autor.

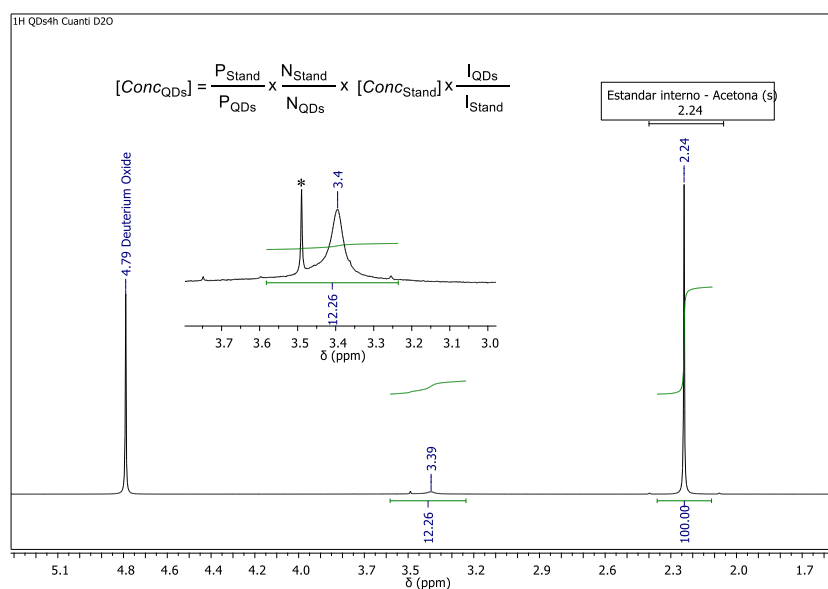
**Figura 23.** Espectro HSQC para los QDs.



Fuente: autor.

Además de permitir el análisis cualitativo e identificar la presencia de los ligandos en los QDs, RMN permite cuantificar y calcular la densidad del número de ligandos atados a la superficie de los QDs. La principal ventaja de este método consiste en que se generan señales analíticas cuantificables propias de ligando. Para realizar la cuantificación se seleccionan las señales provenientes del ligando atados a la superficie de los QDs y se adiciona un estándar interno. Este estándar debe ser una sustancia de alta pureza, químicamente inerte con respecto a los QDs y al ligando, y debe poseer protones resonantes a diferente corrimiento químico al de los ligandos. En nuestra investigación utilizamos 5µL de acetona como estándar interno, realizando el cálculo de la concentración de los ligandos teniendo en cuenta la relación utilizada para análisis cuantitativos por RMN (inserto, figura 24). En esta relación  $P_{Stand}$  y  $P_{QDs}$  corresponde a la pureza del estándar y de los QDs,  $N_{Stand}$  y  $N_{QDs}$  se refieren al número de protones resonantes para cada sustancia, 2 y 6 para el ligando y la acetona, respectivamente; la concentración del estándar interno es  $[Conc_{Stand}]$ , y la relación de las integrales tanto de la señal del QD como del estándar es  $I_{QDs}/I_{Stand}$ . La concentración encontrada para los ligandos en los QDs corresponde a 49.4 mM, de modo que si la concentración de los QDs es 323.0 µM, el número de ligandos por cada QD corresponde a 153. Este valor es acorde a reportes donde se han calculado el número de ligandos haciendo uso de esta técnica analítica.<sup>75</sup> En el anexo 10.3 se encuentra una descripción detallada de las condiciones y cálculos realizados para la determinación la concentración de los ligandos y la relación ligando/QD.

**Figura 24.** Cuantificación del número de ligandos por RMN  $^1H$  a partir de la adición de un estándar interno.



Fuente: autor.

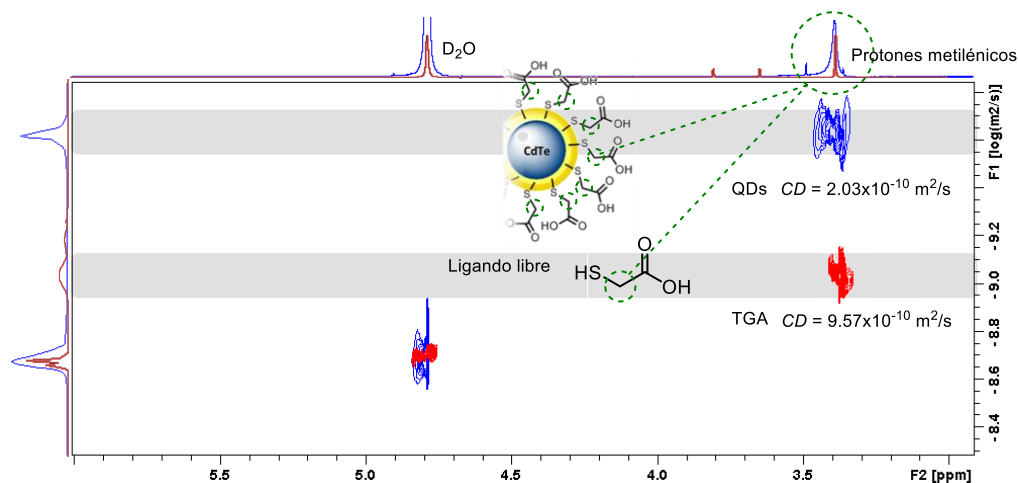
Nuestra caracterización por RMN finaliza con el análisis por *Diffusion Ordered Spectroscopy* o DOSY, una valiosa herramienta que permite determinar y confirmar la conectividad del ligando con el núcleo inorgánico a través de la medición del coeficiente de difusión ( $CD$ ). En el caso de muestras en las cuales se encuentran ligandos anclados y libres en equilibrio, DOSY tiene la capacidad de diferenciar entre las especies adsorbidas y las especies libres en solución. Para minimizar el error en la medición del  $CD$ , los ligandos adsorbidos no deberán presentar intercambio químico con las especies libres. En la práctica, esto se cumple si se permite a la solución entrar en equilibrio por un periodo de tiempo  $> 50s$ . El  $CD$  está inversamente relacionado con el  $r_H$  de las partículas en solución a través de la ecuación de Stokes–Einstein:

$$d_H = 2 \cdot r_H = \frac{k_B T}{3\pi\eta \cdot CD} \quad \text{Ec. 2}$$

donde  $d_H$  es el diámetro hidrodinámico,  $k_B$  es la constante de Boltzmann,  $T$  la temperatura,  $\eta$  la viscosidad del medio, y  $CD$  el coeficiente de difusión de la partícula misma. De este modo, partículas grandes se difunden más lentamente un solvente dado mostrando menores  $CD$  en comparación con partículas de menor tamaño. Las mediciones del  $r_H$  por DOSY son una alternativa rápida y económica al casi inaccesible análisis por microscopía electrónica de transmisión de alta resolución o HR-TEM, la técnica más apropiada para determinar la forma, tamaño y dispersión de partículas a escala nanométrica.

La figura 25 muestra la superposición de los espectros DOSY para los QDs de mayor luminiscencia (CdTe/ZnS-TGA, 4 h) y el ligando TGA, se observa que las señales de los protones metilénicos se encuentran en posiciones horizontales diferentes, lo que se traduce en  $CD$  diferentes. Para los QDs, el  $CD$  corresponde a  $2.03 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ , mientras que para el ligando libre es  $9.57 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ . Estos resultados confirman que efectivamente el ligando se encuentra enlazado al núcleo inorgánico, pues el  $CD$  es diferente para las todas las señales indicando que todos los protones resonantes están en realidad coordinados a la superficie de la nanopartícula y no solo como moléculas de ligando disueltas.

Figura 25. Superposición de los espectros DOSY para los QDs de CdTe/ZnS-TGA y el ligando libre.



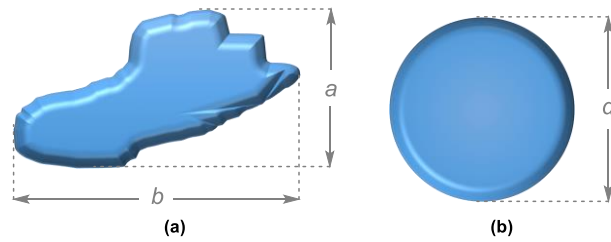
Fuente: autor.

En la sección 5.6, se encuentra un análisis detallado del cálculo del  $d_H$  para las partículas sintetizadas haciendo uso del  $CD$  extraído del espectro DOSY. Del mismo modo en el anexo 10.4 se encuentra una descripción detallada de las condiciones y cálculos realizados para la determinación del  $d_H$  por DOSY.

## 5.6. ANÁLISIS DE TAMAÑO Y $d_H$ DE LOS NANOCRISTALES: USO DE UV-VIS, DRX, DLS Y DOSY

La medición del tamaño de partícula es una de las más importantes etapas de análisis en la ciencia de los nanomateriales. La razón, el tamaño de partícula influye de gran manera sobre muchas de las propiedades químicas y físicas, además es un valioso indicador de calidad y desempeño de los nanomateriales. Las herramientas o técnicas de medición del tamaño de partícula en el laboratorio van desde el rustico tamizaje de material macroscópico hasta la adelantada y delicada medición de NPs por TEM. Dentro del conjunto de técnicas, solamente la microscopia o el análisis automatizado de imágenes tienen la capacidad de medir el tamaño de partícula describiendo y detallando múltiples variables asociadas. Un análisis microscópico tiene la capacidad de analizar partículas irregulares como la mostrada en la figura 26a refiriendo el diámetro más largo y corto, perímetro y área proyectada. El resto de técnicas no-microscópicas como UV-vis, DRX, DOSY, y DLS realizan la conveniente presunción de que cada partícula es esférica (figura 26b). Muchas de estas presunciones no son válidas si se trata de partículas con una gran relación aspecto/tamaño o elongadas como las morfologías tipo fibra o aguja, sin embargo, para el resto de los casos las mediciones de tamaño arrojan resultados congruentes.

**Figura 26.** Representación esquemática de la morfología y tamaño de nanopartículas que son medidas por diferentes técnicas.



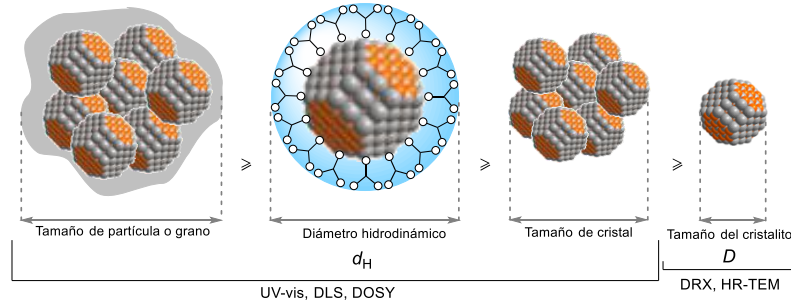
Fuente: autor.

Para el cálculo del tamaño de partícula las técnicas no-microscópicas hacen uso de principios físicos que permiten la determinación indirecta de esta propiedad. La espectroscopia UV-vis establece relaciones entre la longitud de onda de absorción y el tamaño de partícula medido por otro método más exacto y preciso. DRX hace uso de la relación entre el FWHM de los picos de difractograma con el diámetro del cristal a través de la ecuación de *Scherrer*:

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cdot \cos\theta} \quad \text{Ec. 3}$$

donde  $D$  es el diámetro del cristalito,  $k$  es un factor de forma,  $\theta$  es el ángulo de difracción de la reflexión, y  $\beta$  es el FWHM luego de la respectiva corrección instrumental. DLS hace uso de la dispersión de un láser a través de una solución coloidal, esta técnica mide la tasa de fluctuaciones de la intensidad lumínica y la utiliza para calcular las dimensiones promedio en  $x$ ,  $y$  y  $z$  a medida que la partícula flota en la solución dando una distribución de tamaños desde el más pequeño al más grande. Finalmente, DOSY utiliza la ecuación de *Stokes–Einstein* (Ec. 2) expuesta en la sección 5.5 la cual relaciona el  $CD$  con el diámetro hidrodinámico  $d_H$ . Es necesario mencionar la diferencia entre los términos tamaño de partícula, tamaño del cristal, tamaño del cristalito y diámetro hidrodinámico. La figura 27 corresponde a una representación esquemática de cada término. Técnicas como UV-vis, DLS y DOSY permiten calcular el tamaño de partícula, generalmente de mayor magnitud que el tamaño real del cristal o cristalito. Este último es medido por DRX o HR-TEM.

**Figura 27.** Representación esquemática del tipo de medición que puede ser realizado con las diferentes técnicas sobre el tamaño de NPs.



Fuente: autor.

En la presente investigación se realizó el análisis comparativo de la determinación del tamaño de los QDs por UV-vis haciendo uso de funciones empíricas, el  $d_H$  por DLS y DOSY, y el tamaño de los cristalitos por DRX. La función empírica que relacionan el tamaño de los QDs compuestos de CdTe con la posición del pico excitónico en el espectro de absorción UV-vis es descrita en la ecuación 4:

$$D = (9.8127 \times 10^{-7})\lambda^3 - (1.7174 \times 10^{-3})\lambda^2 - (1.0064 \times 10^{-7})\lambda - (194.84) \quad \text{Ec. 4}$$

En esta relación, los tamaños de cristalito fueron determinados por Peng y col., haciendo uso de TEM y relacionados con la fuerte dependencia de la longitud de onda  $\lambda$  (nm) con el tamaño de los QDs,  $D$ .<sup>30</sup> El  $d_H$  es medido por DLS y DOSY a través de dos fenómenos físicos diferentes. El primero, DLS; trata de la dispersión dinámica de la luz proveniente de un láser, mientras que el segundo, DOSY, lo calcula a partir de las diferencias en la movilidad de las partículas debido a la aplicación de gradientes de campo magnético en la secuencia de pulso específica para este tipo de experimento. La tabla 3 recopila los resultados obtenidos a partir de la medición con las técnicas de UV-vis, DLS, DOSY y DRX. El tamaño medido para el cristalito por DRX muestra un valor de 3.13 y 3.89 nm para los QDs de CdTe-TGA y CdTe/ZnS-TGA de mayor luminiscencia, respectivamente. El incremento teórico que debería tener el núcleo por la adición de las dos monocapas de ZnS es de  $\approx 1.31$  nm, sin embargo, solamente se observa un incremento de 0.76 nm, correspondiente a la diferencia entre el tamaño del cristalito con y sin recubrimiento.

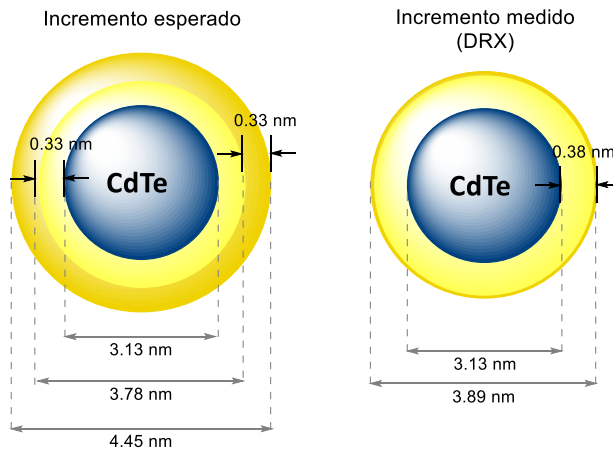
**Tabla 3.** Resultados de los cálculos realizados en la determinación indirecta de tamaño de los QDs preparados.

Técnica	Magnitud	Ecuación	Tipo de medición	QDs	Resultado (nm)
Uv-vis	$\lambda = 562 \text{ nm}$	Ec. 3 [Ref. 30]	Tamaño del cristal	CdTe/ZnS-TGA	3.34
DLS	$CD = 1.46 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$	<i>Stokes-Einstein</i>	$d_H$	CdTe/ZnS-TGA	5.45
DOSY	$CD = 2.03 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$	<i>Stokes-Einstein</i>	$d_H$	CdTe/ZnS-TGA	3.94
DRX	$\beta = 2,59^\circ$	<i>Scherrer</i>	Tamaño del cristalito	CdTe-TGA	3.13
	$\beta = 2,09^\circ$			CdTe/ZnS-TGA	3.86

Fuente: autor.

Este resultado sugiere dos posibles escenarios, el primero en el que la cantidad de material dispuesto para reaccionar sobre el núcleo en la primera monocapa es suficiente y cubre el área susceptible con ZnS. El segundo contempla que la segunda capa de ZnS no se forma o es lo suficientemente delgada como para asociarse a la primera monocapa (figura 28).

**Figura 28.** Representación del incremento esperado para los QDs tipo core-shell y el incremento medido por DRX.



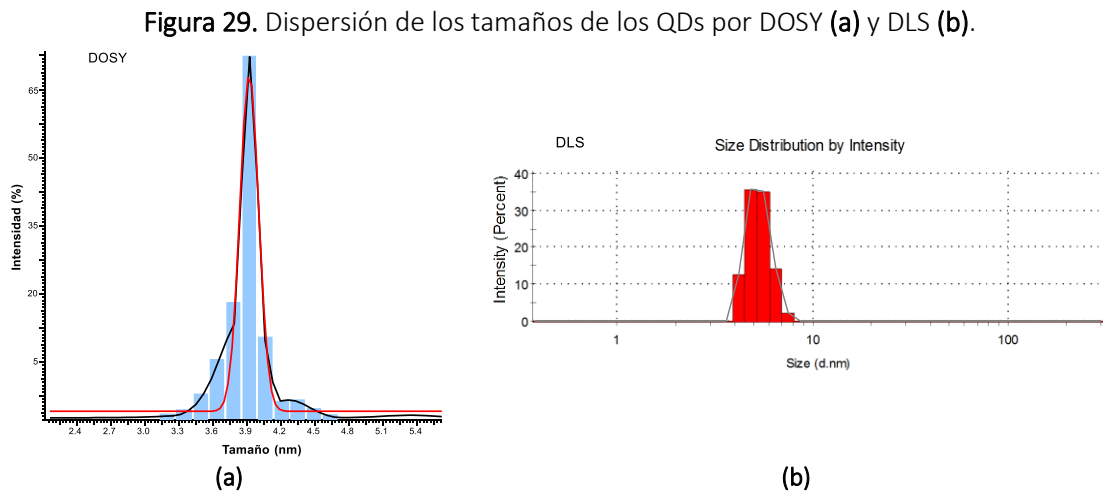
Fuente: autor.

En el anexo 10.5 se encuentra una descripción detallada del cálculo del tamaño de los QDs por DRX, al igual que la corrección instrumental realizada al valor de  $\beta$ .

La comparación entre el cálculo realizado por la técnica de UV-vis y el resultado obtenido por DRX revela una moderada exactitud, tomando el valor resultante por DRX como el más cercano al valor real. El resultado más distante es el obtenido por DLS y DOSY, en donde

además de contemplar el tamaño del nanocristalito se suman al  $d_H$  la capa de moléculas de agua y ligando que solvatan la partícula en suspensión coloidal. En diversas aplicaciones biológicas asociadas a la interacción de NPs con sistemas vivos la actividad, movilidad, capacidad de permeación y toxicidad está directamente relacionada con el  $d_H$  y no con tamaño del cristalito.<sup>10</sup>

Además de permitir conocer de manera rápida el  $d_H$  de NPs en solución, DOSY y DLS brindan la posibilidad de establecer la dispersión de partículas con determinado  $d_H$ . La traza vertical del espectro DOSY muestra una curva de tipo gaussiana en donde su posición central fija el  $CD$  de la mayoría de las partículas en solución. Del mismo modo, la DLS muestra una estadística de la dispersión del tamaño de acuerdo con la intensidad en la fluctuación de la dispersión de la luz. La figura 29a,b muestran la dispersión de tamaños obtenida por DOSY y DLS para los QDs compuestos de CdTe/ZnS-TGA, en estas técnicas es posible observar que ambos casos los QDs son monodispersos.

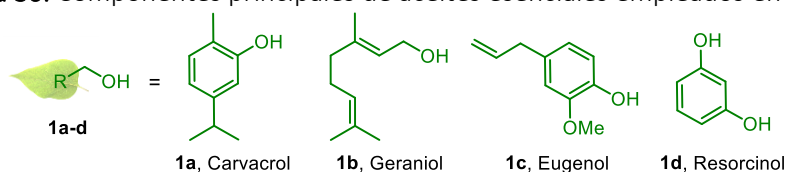


Fuente: autor.

## 5.7. FUNCIONALIZACIÓN DE LOS QDS: PROCESO DE BIOCONJUGACIÓN

El último paso en el proceso global de síntesis aborda la funcionalización de los ligandos dispuestos en la superficie de los QDs de mayor luminiscencia en un proceso de BC. La BC (sección 3.3.2) consiste en el anclaje a través de interacciones o enlaces químicos de estructuras o fragmentos de origen biológico como péptidos, carbohidratos, virus/anticuerpos, fragmentos de ADN y productos naturales. Para tal fin se seleccionaron cuatro componentes principales de AEs que son alcoholes o fenoles (figura 30) susceptibles a la reacción de esterificación con los grupos carboxilo de los ligandos sobre la superficie de los QDs.

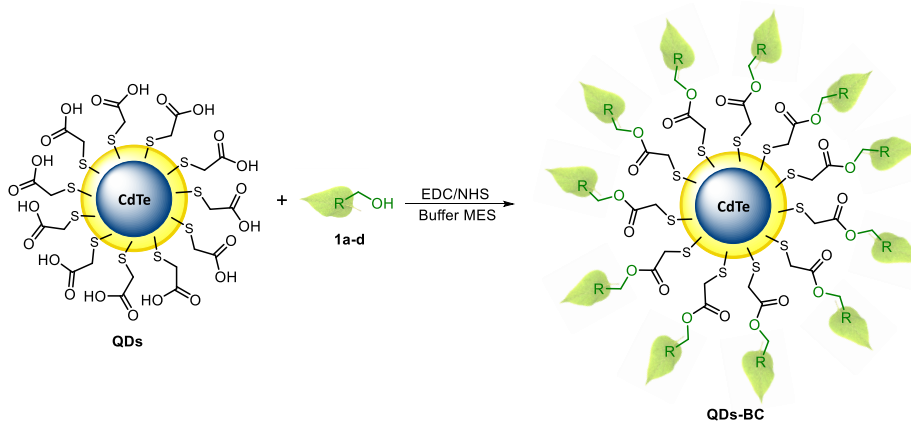
**Figura 30.** Componentes principales de aceites esenciales empleados en la BC.



Fuente: autor.

Dentro del conjunto de metodologías aplicadas a reacciones de esterificación y amidación, sobresale la química de las carbodiimidas por permitir la conjugación de ácidos carboxílicos de manera fácil y versátil. Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, se realizó la reacción de bioconjugación utilizando EDC/NHS con un buffer de MES (0.5 M, pH 5-6) como solvente (esquema 6) utilizando el protocolo reportado por Mase y col., para conjugación de QDs con algunas modificaciones (sección 4.4.3).<sup>76</sup>

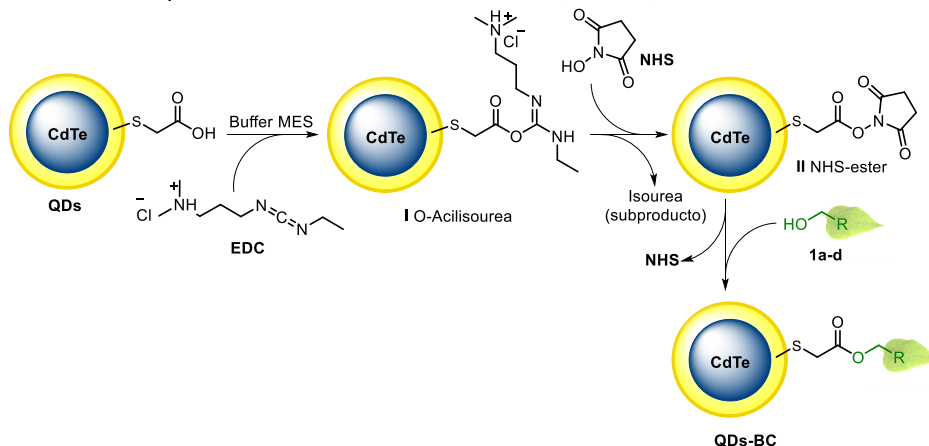
**Esquema 6.** Reacción de BC de los QDs con los compuestos **1a-d** utilizando la química de las carbodiimidas.



Fuente: autor.

El mecanismo que describe el proceso en el cual ocurre la BC consta de la formación inicial de un enlace éster con el EDC para formar la respectiva O-acilisourea (I, esquema 7).

Esquema 7. Mecanismo de reacción para el proceso de BC.

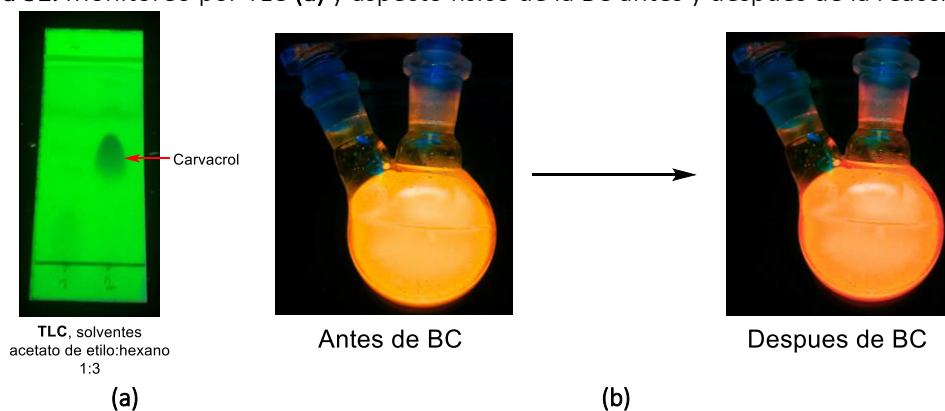


Fuente: autor.

Este intermedio tipo urea es inestable en solución acuosa y reacciona rápidamente con el NHS para formar el respectivo éster (II). El intermediario éster II es estable y reacciona con nucleófilos como los compuestos **1a-d**. Los productos finales son el respectivo éster (QDs-BC) y un subproducto del tipo isourea.

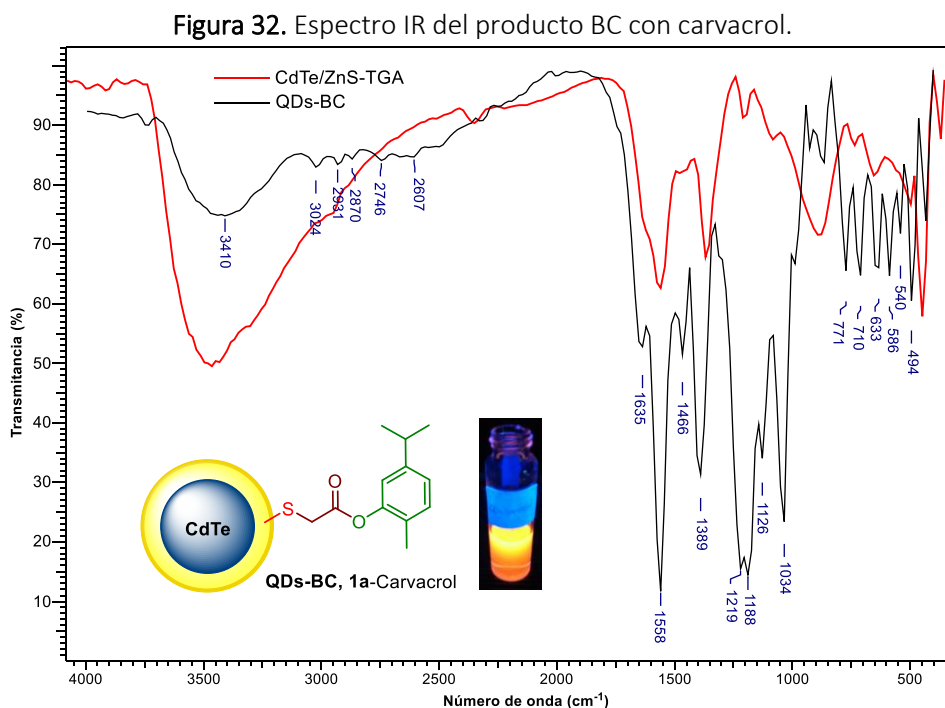
Tras finalizar el tiempo de reacción establecido (24 h), un monitoreo inicial por TLC reveló la desaparición de los compuestos **1a-d** para cada crudo de reacción. A manera de ejemplo la figura 31 muestra la TLC realizada para la conjugación del carvacrol, y aspecto físico de la reacción bajo luz ultravioleta antes y después de la conjugación.

Figura 31. Monitoreo por TLC (a) y aspecto físico de la BC antes y después de la reacción (b).



Fuente: autor.

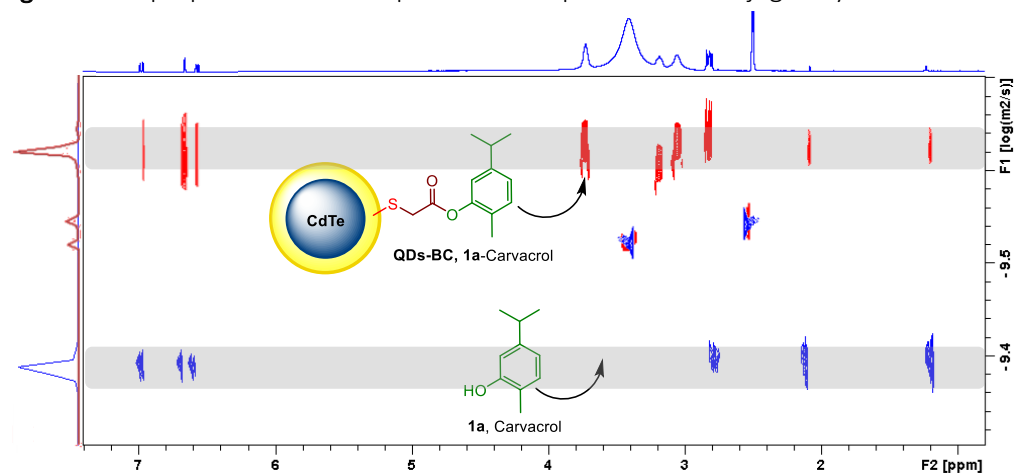
Con el fin de confirmar el proceso de esterificación, se realizó la caracterización por IR y RMN-DOSY de todos los QDs-BC (ver anexo 10.7). En todos los casos se observó la presencia de señales en los espectros IR correspondientes a la estructura de los compuestos **1a-d**. Como ejemplo seleccionado se muestra el espectro IR los QDs conjugados con **1a** (figura 32).



Fuente: autor.

La confirmación de la generación de un enlace químico entre los QDs y los compuestos **1a-d** fue realizado por experimentos DOSY. En estos se observó que las señales resonantes correspondientes a las estructuras de los compuestos **1a-d** tiene el mismo *CD* que las señales de los ligandos anclados al núcleo inorgánico. Los espectros DOSY, IR, Uv-vis y de fluorescencia de los productos BC pueden ser consultados en el anexo 10.7. A manera de ejemplo, la figura 33 muestra el espectro DOSY para los QDs conjugados con el compuesto **1a**. El *CD* para el producto conjugado tiene un valor de  $1.73 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$  el cual se traduce en un  $d_H$  de 4.58 nm.

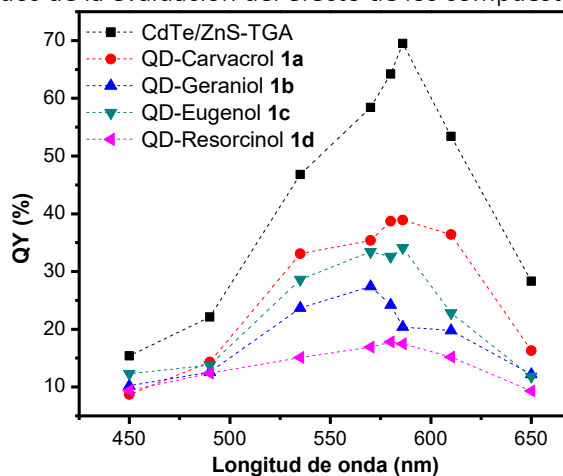
Figura 33. Superposición de los espectros DOSY para el QDs conjugado y el carvacrol **1a**.



Fuente: autor.

Del mismo modo que se evaluó la QY para el proceso de optimización en la síntesis de los QDs, se midió este parámetro de selección para cada QD-BC con el fin de observar el efecto que tienen estas estructuras orgánicas sobre la superficie de los QDs y su luminiscencia. La figura 34 muestra los resultados obtenidos donde se observa un marcado descenso en la QY para cada QD-BC; partiendo de una QY del 69 % para los QDs de CdTe/ZnS-TGA, la reducción va desde 44 % para el carvacrol (**1a**) hasta un 74 % para el resorcinol (**1b**). Pese al efecto observado de *atenuación* de la luminiscencia, el producto conjugado con mayor QY es el QD-carvacrol con un 39 %.

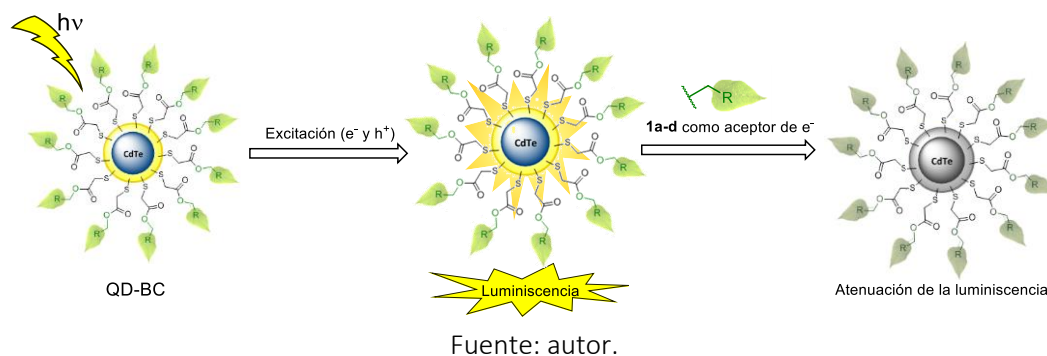
Figura 34. Resultados de la evaluación del efecto de los compuestos **1a-d** sobre la QY.



Fuente: autor.

Teniendo en cuenta los resultados expuestos anteriormente, es necesario analizar la viabilidad del proceso de bioconjugación realizado. El principio de diseño planteado al inicio de la investigación esbozó la hipótesis de conjugar en una sola estructura los QDs y los componentes principales de cuatro AEs, aprovechando las propiedades de cada componente. De los QDs, aprovechar sus propiedades ópticas y químicas, principalmente su luminiscencia. De los componentes principales de los AEs, sus propiedades como materiales fotosensibles asociados a la recepción de energía solar en procesos fotosintéticos. La conjugación de estos componentes generaría un material biosensor, es decir, una estructura capaz de interactuar con un agente externo, ya sea por medios físicos o químicos emitiendo una señal de respuesta característica que permita correlacionar su localización, ambiente químico o físico con el proceso biológico de estudio. Sin embargo, la reducción de la QY es un indicio que sugiere que los compuestos **1a-d** tienen un efecto antagonista sobre la luminiscencia de los QDs. Diversos estudios han demostrado la fototoxicidad de AEs, atribuyendo esta actividad biológica a los componentes principales.<sup>77</sup> Bajo la acción de la luz, estos compuestos pueden actuar como *prooxidantes* generando especies reactivas de oxígeno o ROS. Adicionalmente, la transferencia de energía desde especies oxidadas a partir de reacciones radicalarias promovidas por la luz y las ROS, generan especies como el oxígeno singlete capaz de degradar moléculas orgánicas. Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, los compuestos conjugados pueden tener dos posibles efectos sobre los QDs, el primero correspondería al carácter *prooxidante* que propiciaría la degradación de estructuras lábiles como los ligandos tipo tiol (-SH). El segundo efecto podría estar asociado a la captación de las especies generadas tras la excitación lumínica sobre el núcleo inorgánico, es decir, los compuestos utilizados en la conjugación actúan como antioxidantes *intrínsecos* atrapando electrones excitados.<sup>78</sup> Esta última posibilidad se ve reforzada por la marcada capacidad antioxidante del resorcinol **1d**, siendo el producto conjugado que presentó la mayor atenuación.

**Esquema 8.** Posible atenuación de la luminiscencia de los QDs-BC por acción de los componentes principales de aceites esenciales como aceptores de e<sup>-</sup>.

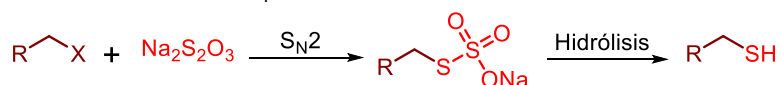


## 5.8. SÍNTESIS ALTERNATIVA DE QDS BIOCONJUGADOS: USO DE LAS SALES DE BUNTE

En la búsqueda de una ruta de síntesis que permita preparar QDs conjugados de manera directa se planteó la alternativa de anclar previamente los componentes **1a-d** a una estructura que sirviera como ligando para ser utilizado en la ACS. Esta estructura deberá contar con ciertas características tales como alta solubilidad y estabilidad en agua, fácil síntesis, y desprotección bajo condiciones controladas.

En el año de 2001, Murray y col., reportaron por primera vez la síntesis eficiente de NPs ( $D = 2.2$  nm) de oro recubiertas por ligandos tipo tiosulfato.<sup>54</sup> Este reporte se convirtió en el primer ejemplo del uso de sales de tiosulfato como ligandos en la síntesis acuosa de NPs. Estas sales conocidas como sales de Bunte fueron preparadas por primera vez en 1874 por Hans Bunte.<sup>79</sup> La preparación de este tipo de sales se realiza por la reacción de un halogenuro de alquilo en presencia de tiosulfato de sodio, el producto de reacción corresponde a un sólido cristalino de fácil purificación el cual es soluble en agua y bajo condiciones de hidrólisis produce el respectivo tiol (esquema 9). Las sales de Bunte se han convertido en una valiosa herramienta para la síntesis orgánica en la formación de enlaces C-S aplicada a la preparación de sulfuros (-S-).<sup>52</sup>

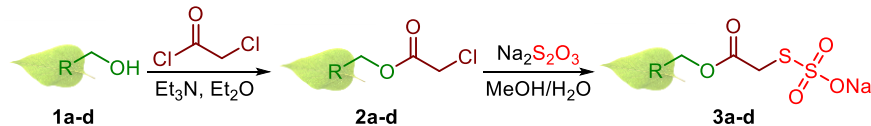
**Esquema 9.** Síntesis de sales de Bunte a partir de halogenuros de alquilo y tiosulfato de sodio, y su producto de hidrólisis.



Fuente: autor.

Teniendo en cuenta las propiedades de las sales de Bunte, su utilización en la síntesis de NPs y facilidad de preparación, se diseñó una ruta de síntesis que permitiera la obtención de estas sales a partir de los componentes **1a-d**. La ruta de síntesis (esquema 10) consiste de dos etapas lineales en donde en la primera de ellas ocurre la cloroacetilación de los componentes **1a-d** usando el cloruro de cloroacetilo para generar los respectivos cloroacetatos **2a-d**. El segundo paso consiste en la generación de las respectivas sales de Bunte **3a-d** por la reacción con el tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ). Los productos intermediarios y finales fueron caracterizados por IR y RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) (ver sección 4.4.4 y anexo 10.8). Las sales de Bunte **3a-d** fueron obtenidos como sólidos cristalinos que presentaron alta solubilidad acuosa y ausencia del olor característico de los tiocompuestos.

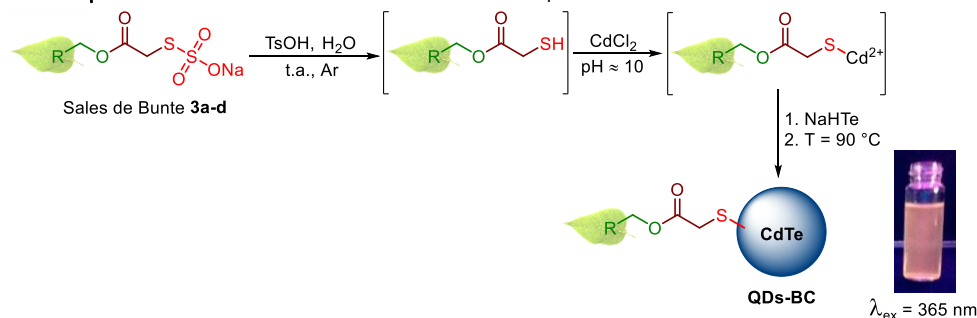
**Esquema 10.** Ruta de síntesis propuesta para la obtención de las sales de Bunte **3a-d**.



Fuente: autor.

Con el fin de evaluar por primera vez las sales de Bunte como sustitutos de los ligandos estabilizantes en la síntesis de QDs en medio acuoso coloidal, se llevó a cabo la reacción siguiendo el protocolo descrito en la sección 4.4.5. Para la hidrólisis *in situ* de las sales de Bunte se utilizó el ácido *p*-toluensulfónico (TsOH), empleado eficientemente por Yi y col., para la síntesis de sulfuros haciendo uso de la reacción de adición tipo aza-Michael.<sup>75</sup> Las partículas obtenidas por este método alternativo fueron purificadas a través de precipitación y disolución sucesivas con agua y acetona.

**Esquema 11.** Síntesis directa de QDs-BC a partir de las sales de Bunte **3a-d**.



Fuente: autor.

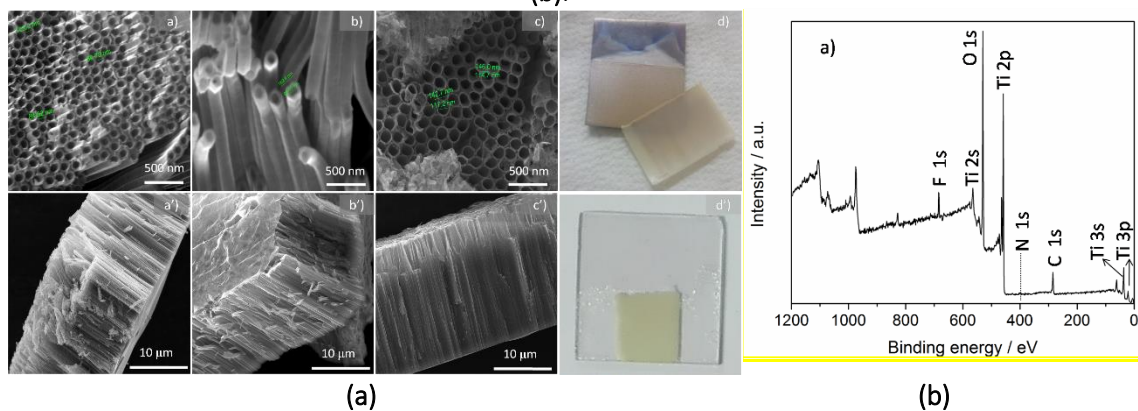
La medición de la luminiscencia de los QDs-BC generados a partir de las sales de Bunte mostró una QY entre 10-15 %. Además de su baja luminiscencia, el  $d_H$  medido fue el mayor registrado de todas la NPs analizadas por DOSY en la presente investigación con un valor de 12.62 nm ( $CD = 6,31 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ ). Estos resultados indican que los ligandos generados *in situ* a partir de las sales de Bunte afectan las propiedades de las NPs conjugadas. La influencia de la estabilización por este tipo de ligandos podría afectar de modo negativo el crecimiento de los QDs, pues la ausencia de un grupo carboxilo (-COOH) terminal altamente hidrofílico hace que no se dé la coalescencia necesaria para la formación de nanoagregados ligando-Cd<sup>2+</sup>. Sin embargo, la ruta diseñada representa una alternativa de síntesis novedosa para la conjugación directa de QDs la cual requiere optimización en la búsqueda del tipo de ligando más apropiado para la nucleación y crecimiento de QDs con mayores luminiscencias.

## 6. APLICACIONES DE LOS QDs SINTETIZADOS

### 6.1. APLICACIÓN – SENSIBILIZACIÓN DE NANOTUBOS TRANSPARENTES DE $\text{TiO}_2$ CON QDS

La sensibilización de materiales representa una alternativa para aumentar, direccionar o transformar alguna propiedad de un material de soporte carente de la misma. En el campo de la energía solar, la sensibilización es llevada a cabo sobre materiales de soporte para aumentar la capacidad de captar energía lumínica generando mayores fotocorrientes.<sup>80</sup> Inicialmente fue confirmada la generación del material de soporte por SEM que, en nuestra investigación en colaboración con el CMN, corresponde a membranas transparentes de TNTs. La figura 35 muestra las diferentes secciones de los nanotubos con 2h de crecimiento en el proceso de anodización. El diámetro promedio del poro fue de 85 nm con una longitud promedio de 20  $\mu\text{m}$ . Estructuras regularmente ordenadas de tipo tubular son observadas en las respectivas micrografías.

Figura 35. SEM para las membranas transparentes de TNTs con 2h de anodizado (a) y espectro XPS (b).



Fuente: autor.

El análisis por XPS (figura 36b) reveló la presencia de elementos como Ti, O, C, N y F en el ambiente químico de los TNTs, mostrando la existencia de especies en donde átomos de N y F son insertados en la red cristalina del semiconductor lo cual podría generar sensibilidad de los fotoánodos en la región visible.

El comportamiento fotoquímico de los TNTs fue analizado inicialmente, las mediciones por OCP revelaron un corrimiento fotopotencial hacia valores más negativos el cual indica la acumulación de electrones fotogenerados y un comportamiento como semiconductor *tipo n*. Una vez definido el comportamiento de los TNTs se realizó el montaje de la celda solar depositando primero los QDs de CdTe-TGA por 2, 4 y 6 h. Para mejorar el desempeño de la

celda solar, una capa de ZnS fue depositada, ésta permite la separación eficiente de cargas evitando procesos de recombinación con el electrolito. La tabla 4 muestra el comportamiento de la densidad de corriente para el circuito ( $J_{sc}$ ) de la celda solar ensamblada para cada tiempo de deposición. Del mismo modo se presenta el comportamiento del voltaje a circuito abierto ( $V_{oc}$ ) para los fotoánodos preparados. Con el incremento de tiempo de 2 a 4h deposición se observa también un incremento en de la  $J_{sc}$  y el  $V_{oc}$ , siendo el periodo de 4h el tiempo que arroja los mejores valores para ambas mediciones. Para el periodo de 6h se observa un descenso en la magnitud que podría estar asociado a la presencia excesiva de QDs o procesos disolución y aglomeración de los mismos.

**Tabla 4.** Resultados para los parámetros  $J_{sc}$ - $V_{oc}$  de los fotoánodos preparados.

Fotoánodo	$J_{sc}$ (mAcm <sup>-2</sup> )	$V_{oc}$ (V)	FF	$\eta$ (%)
TNT	0.33	-0.18	0.13	0.01
TNTs/CdTe (2h)	0.21	-0.18	0.13	0.01
TNTs/CdTe (4h)	1.04	-0.24	0.24	0.08
TNTs/CdTe (6h)	0.31	-0.22	0.33	0.03
TNTs/CdS	1.15	-0.27	0.29	0.12
TNTs/CdS/CdTe (4h)	1.39	-0.29	0.30	0.16

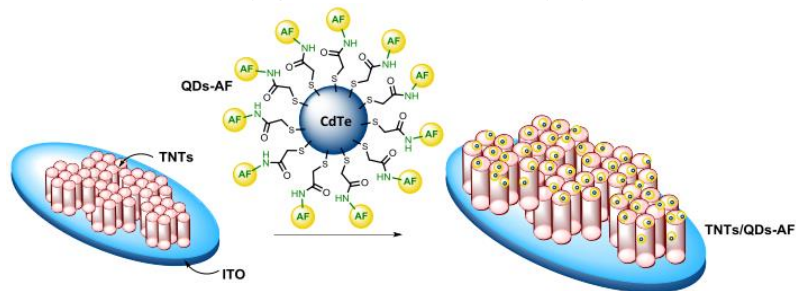
Fuente: autor.

Con el fin de fotogenerar una mayor cantidad de electrones bajo la iluminación artificial utilizada en la medición QDs de CdS fueron generados bajo el método SILAR (*Successive Ionic Layer Adsorption and Reaction*) antes de la deposición de los QDs de CdTe-TGA.<sup>81</sup> Se observó un aumento significativo en los valores para el  $J_{sc}$ - $V_{oc}$  debido a la presencia del CdS, el cual tiene la capacidad de transportar los electrones generados del núcleo de CdTe. Un incremento en el valor de  $J_{sc}$  está directamente relacionado con el incremento del factor de llenado o FF y la conversión de energía ( $\eta$ ). El fotoánodo que arrojó el mejor resultado corresponde al TNTs/CdS/CdTe (4h) con una eficiencia del 0.16 % y un FF aceptable de 30 %. Es notable el efecto del CdS sobre el desempeño de la celda solar, ya que el valor individual de  $\eta$  para el fotoánodo de TNTs/CdS es menor que el obtenido para los TNTs/CdS/CdTe (4h), este resultado sugiere un efecto sinérgico que mejora el desempeño de la celda solar ensamblada.

## 6.2. APLICACIÓN – SENSIBILIZACIÓN DE NANOTUBOS TRANSPARENTES DE TiO<sub>2</sub> CON QDS APLICADOS A DETECCIÓN DE CÉLULAS CANCERÍGENAS.

Pese a que esta aplicación se encuentra en pleno desarrollo dentro de nuestro grupo de investigación y el CMN, presentaremos el objetivo trazado y algunos avances del mismo. La hipótesis que soporta esta aplicación establece que es posible utilizar un fotoánodo funcionalizado con ácido fólico como material activo en un biosensor fotoelectroquímico para la detección de células cancerígenas. La sensibilización de este material activo se realizará inicialmente con los QDs sintetizados y luego con QD-BC con ácido fólico (AF). Los QDs se depositarán sobre la superficie de una membrana de TNTs dispuesta sobre un ITO (esquema 12).

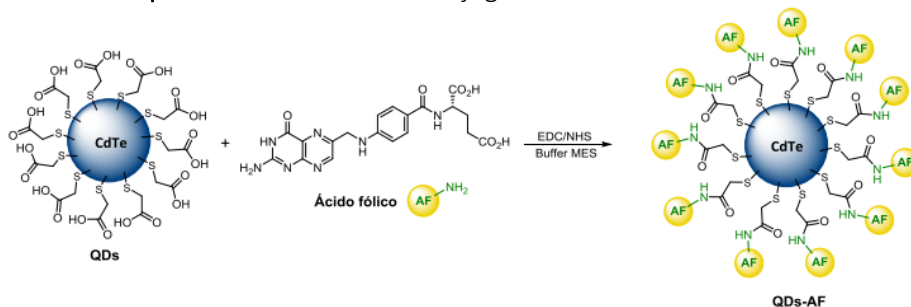
**Esquema 12.** Hipótesis de trabajo en la aplicación de sensibilización de membranas de TiO<sub>2</sub> con QDs conjugados con ácido fólico (AF).



Fuente: autor.

Para el desarrollo del fotoánodo propuesto, es necesario realizar previamente la conjugación del AF con los QDs sintetizados utilizando el procedimiento descrito en la sección 4.4.3. Del mismo modo que se realizó la conjugación para los componentes principales de los AEs **1a-d**, se utilizara la química de las carbodiimidas para realizar la reacción de amidación entre los grupo -COOH de los QDs y el grupo amino primario (-NH<sub>2</sub>) del AF (esquema 13).

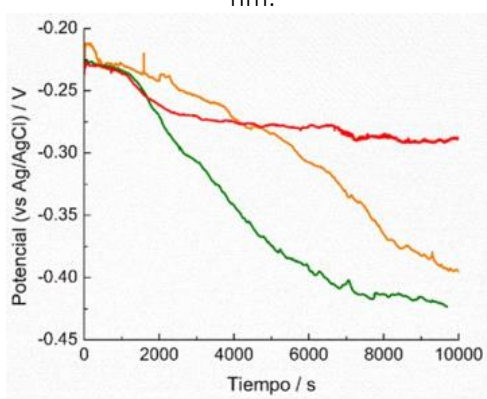
**Esquema 13.** Reacción de conjugación de los QDs con el AF.



Fuente: autor.

Para conocer la respuesta fotoelectroquímica de los fotoánodos propuestos es necesario primero analizar la estabilidad, la reactividad y las propiedades fotoelectroquímicas de los QDs sintetizados. Para ello, el CMN ha analizado por OCP tres QDs de diferente tamaño detallando el proceso de disolución química, a manera de avance la figura 35 muestra los resultados encontrados. El CMN encontró que durante los primeros 1500 segundos se produce la disolución química de los QDs, seguido de un proceso *redox* espontaneo donde se reduce el cadmio presente en la solución a cadmio metálico y se oxidaban los iones sulfuro para producir azufre elemental.

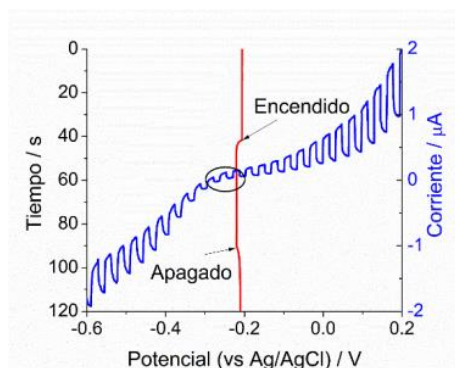
**Figura 36.** OCP de los QDs de CdTe-TGA de diferente tamaño (---) 1.5 nm, (---) 3,50 nm y (---) 4,2 nm.



Fuente: autor.

Del mismo modo se determinaron las propiedades fotoelectroquímicas de los QDs con el fin de conocer el tipo de semiconductor al que corresponden los QDs sintetizados. Se realizaron medidas de OCP en ausencia y en presencia de luz, encontrándose que el semiconductor corresponde a un *tipo n*, ya que el potencial decayó cuando el material se encontraba en presencia de luz. Sin embargo, se observó que el material presentó un comportamiento de interruptor debido a la naturaleza foto-oxidante de los ligandos tipo tiol, este comportamiento está asociado a la presencia de estados superficiales “trampa” que permiten que el semiconductor se descargue e invierta su semiconductividad.

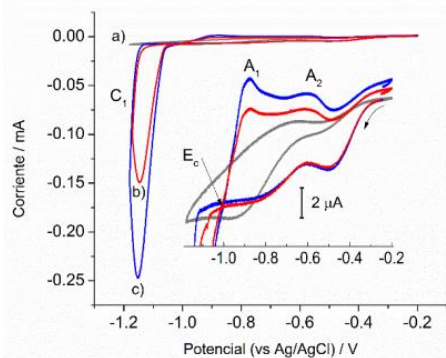
**Figura 37.** Comportamiento del OCP cuando los QDs son iluminados con un LED de color celeste. Medidas de fotocorriente obtenidas a una velocidad de barrido de  $10 \text{ mVs}^{-1}$  en NaOH 1M.



Fuente: autor.

El último avance de esta aplicación corresponde al análisis de la reactividad de los QDs sintetizados. El CMN estableció a través de mediciones electroquímicas que los QDs muestran el pico de reducción del cadmio, así como el correspondiente a la evolución a hidróxido de cadmio y óxido de cadmio, lo anterior debido a la presencia de los iones hidroxilo en la solución (figura 38).

**Figura 38.** Voltamperogramas representativos de un CPE (a) y QDs de 1.5 nm dispersos en un CPE en contacto con una solución  $10^{-3} \text{ M Na}_2\text{S}$  en 1 M NaOH. Velocidad de barrido  $0.010 \text{ Vs}^{-1}$  (b,c).

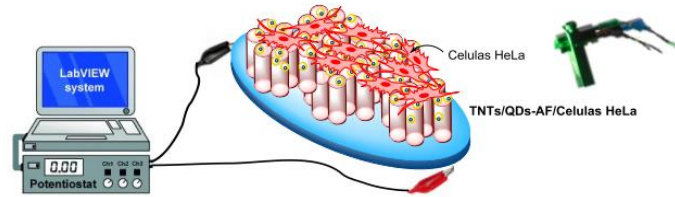


Fuente: autor.

Una vez conocidas las características electroquímicas de los QDs y su respectivo conjugado QDs-AF, el proyecto plantea realizar la deposición de los QDs-BC sobre las membranas de TNTs para conocer su respuesta a las mediciones electroquímicas. Luego, un cultivo células HeLa (cultivo células cancerígenas de cáncer cérvico-uterino) serán incubados sobre las membranas TNTs sensibilizadas con los conjugados QDs-AF. Una vez acoplado el ensamble, se realizarán medidas donde se pueda apreciar una fotocorriente detectable y estable. Se espera que le ensamble en mención sirva como biosensor fotoelectroquímico debido a la

presencia del AF el cual es una importante vitamina que se asocia específicamente a los receptores folato anclados en la membrana celular. La respuesta de los conjugados QDs-AF en células cancerígenas con sobre-expresión de receptores folato podría servir como punto focal en la distinción y detección de células malignas frente a células normales.

**Figura 39.** Representación esquemática del ensamble propuesto para detección de células cancerígenas (HeLa) a partir de la sensibilización con el conjugado QDs-AF.



Fuente: autor.

## 7. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron QDs bioconjugados a partir de dos etapas, la primera involucró el diseño y síntesis del núcleo del nanomaterial empleando el método de ACS. La segunda etapa involucró el proceso de conjugación con los componentes principales de aceites esenciales haciendo uso de herramientas de la síntesis orgánica como lo es la química de las carbodiimidas. Las características estructurales de las NP fueron analizadas, mostrando tamaños nanométricos y una organización jerárquica conformada por un núcleo y capa inorgánica rodeada de ligandos orgánicos enlazados que actúan como agentes estabilizantes.
- Se diseñó una metodología eficiente que permite la obtención de QDs luminiscentes, analizando la influencia de las variables de síntesis en la calidad final de las NPs. De mismo se diseñó un método para la bioconjugación con alcoholes y fenoles que puede ser extrapolado a cualquier molécula que pueda hacer parte de reacciones de esterificación o amidación.
- Los QDs preparados presentaron una QY entre 10 y 68 %, siendo el mejor resultado para los QDs recubiertos por ZnS y compuestos de CdTe-TGA; por ende, los materiales sintetizados además de ser estructuras estables pueden ser utilizados en aplicaciones que involucren el uso de agentes luminiscentes para procesos de sensibilización de nuevos materiales.
- El resultado referente a la QY de los productos conjugados reveló la marcada influencia que tiene el tipo de estructura sobre la luminiscencia del núcleo de la NP. La capacidad de captar electrones provenientes del proceso de excitación lumínica puede marcar el comportamiento final de la NP conjugada.
- El diseño de una ruta alternativa para la síntesis de productos conjugados permitió, por primera vez, establecer un protocolo que implica la síntesis directa de QDs a partir de sales organometálicas en medio acuoso. Éste se convierte en el primer reporte hecho hasta el momento acerca del uso de las sales de Bunte en la síntesis directa de QDs de BC.
- Se realizó la sensibilización con QDs de fotoánodos compuestos de nanotubos de TiO<sub>2</sub> en celdas solares, éstos mostraron una mejora en la conversión de energía al depositar sobre su superficie material luminiscente que propicie un aumento en la densidad de corriente.

## 8. RECOMENDACIONES

- Para el proceso de BC conjugación se recomienda realizar un análisis preliminar in silico sobre las moléculas de interés en donde se identifiquen parámetros como energías asociadas a los niveles energéticos (HOMO y LUMO) y afinidad electrónica con el fin de reducir las posibilidades de disminución de la luminiscencia de los QDs base.
- Para la optimización de la síntesis directa de QD-BC haciendo uso de las sales de Bunte, se recomienda evaluar moléculas que contengan un grupo -COOH terminal, con el fin de verificar si el efecto de coalescencia permite mejorar la nucleación y crecimiento de los QDs-BC.

## REFERENCIAS

1. R. Dingle, W. Wiegmann, C. H. Henry. Quantum states of confined carriers in very thin  $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As-GaAs-Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$  heterostructures. *Phys. Rev. Lett.*, **1974**, 33 (4), 827-830.
2. C. B. Murray, D. J. Norris, M. G. Bawendi. Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = S and Se and Te) semiconductor nanocrystallites. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115 (19), 8706-8715.
3. C. H. M. Chuang, P. R. Brown, V. Bulović, M. G. Bawendi. Improved performance and stability in quantum dot solar cells through band alignment engineering. *Nat. Mater.* **2014**, 13 (8), 796-801.
4. K. A. Sablon, J. W. Little, V. Mitin, A. Sergeev, N. Vagidov, K. Reinhardt. Strong enhancement of solar cell efficiency due to quantum dots with built-in charge. *Nano Lett.* **2011**, 11 (6), 2311-2317.
5. Q. Huo. A perspective on bioconjugated nanoparticles and quantum dots. *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* **2007**, 59 (1), 1-10.
6. E. E. Stashenko. Aceites esenciales. División de publicaciones UIS, **2009**, 13-15.
7. A. P. Alivisatos, W. Gu, C. Larabell. Quantum dots as cellular probes. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2005**, 7, 55-76.
8. T. Kippeny, L. A. Swafford, S. J. Rosenthal. Semiconductor nanocrystals: a powerful visual aid for introducing the particle in a box. *J. Chem. Educ.* **2002**, 79 (9), 1094-1100.
9. H. S. Mansur. Quantum dots and nanocomposites. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotech.* **2010**, 2 (2), 113-129.
10. Chang, S.; Kang, B.; Liu, X.; Dai, Y.; Chen, D. Physicochemical Properties and Cellular Toxicity of Nanocrystal Quantum Dots Depend on Their Surface Modification. *Acta Biochim Biophys Sin.* **2012**, 44, 241-248.
11. C. Carrillo Carrion, S. Cardenas, B. M. Simonet, M. Valcarcel. Quantum dots luminescence enhancement due to illumination with UV/Vis light. *Chem. Commun.* **2009**, 21, 5214-5226.
12. C. S. S. R. Kumar. *Nanomaterials for the Life Sciences Vol.6: Semiconductor Nanomaterials.* **2010**, Wiley-vch: Weinheim, Alemania, 331-338.
13. Dabbousi, B. O.; Rodriguez-Viejo, J.; Mikulec, F. V.; Heine, J. R.; Mattoussi, H.; Ober, R.; Jensen, K. F.; Bawendi, M. G. (CdSe)ZnS Core-Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites. *J. Phys. Chem. B.* **1997**, 101 (46), 9463-9475.
14. A. Bagga, P. K. Chattopadhyay, S. Ghosh. Stokes shift in quantum dots: origin of dark exciton. *International Workshop on Physics of Semiconductor Devices; IEEE*, **2007**; 876-879.

15. A. P. Alivisatos. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. *Science*. **1996**, 271 (5251), 933-937.
16. R. C. Somers, M. G. Bawendi, D. G. Nocera. CdSe nanocrystal based chem-/bio-sensors. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36 (4), 579-591.
17. K. D. Wegner, Z. Jin, S. Lindén, T. L. Jennings, N. Hildebrandt. Quantum-dot-based Förster resonance energy transfer immunoassay for sensitive clinical diagnostics of low-volume serum samples. *ACS Nano*. **2013**, 7 (8), 7411-7419.
18. C. Kirchner, T. Liedl, S. Kudera, T. Pellegrino, A. M. Javier, H. E. Gaub, S. Stolzle, N. Fertig, W. J. Parak. Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles. *Nano Lett.* **2005**, 5 (2), 331-338.
19. Nath, D.; Banerjee, P. Green Nanotechnology - A New Hope for Medical Biology. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2013**, 36 (3), 997-1014.
20. Chen, N.; He, Y.; Su, Y.; Li, X.; Huang, Q.; Wang, H.; Zhang, X.; Tai, R.; Fan, C. The Cytotoxicity of Cadmium-Based Quantum Dots. *Biomaterials* **2012**, 33 (5), 1238-1244.
21. Su, Y.; He, Y.; Lu, H.; Sai, L.; Li, Q.; Li, W.; Wang, L.; Shen, P.; Huang, Q.; Fan, C. The Cytotoxicity of Cadmium Based, Aqueous Phase - Synthesized, Quantum Dots and Its Modulation by Surface Coating. *Biomaterials* **2009**, 30 (1), 19-25.
22. Ballou, B.; Lagerholm, B. C.; Ernst, L. A.; Bruchez, M. P.; Waggoner, A. S. Noninvasive Imaging of Quantum Dots in Mice. *Bioconjug. Chem.* **2004**, 15 (1), 79-86.
23. Choi, H. S.; Liu, W.; Misra, P.; Tanaka, E.; Zimmer, J. P.; Ito, B.; Bawendi, M. G.; Frangioni, J. V. Renal Clearance of Quantum Dots. *Nat. Biotechnol.* **2007**, 25 (10), 1165-1170.
24. Chang, S.; Kang, B.; Liu, X.; Dai, Y.; Chen, D. Physicochemical Properties and Cellular Toxicity of Nanocrystal Quantum Dots Depend on Their Surface Modification. *Acta Biochim Biophys Sin.* **2012**, 44, 241-248.
25. Selim, K. K.; Xing, Z.-C.; Choi, M.-J.; Chang, Y.; Guo, H.; Kang, I.-K. Reduced Cytotoxicity of Insulin-Immobilized CdS Quantum Dots Using PEG as a Spacer. *Nanoscale Res. Lett.* **2011**, 6 (1), 528.
26. Murphy, C. J. Sustainability as an Emerging Design Criterion in Nanoparticle Synthesis and Applications. *J. Mater. Chem.* **2008**, 18 (19), 2173.
27. Zhang, Z.; Zhang, J.; Chen, N.; Qu, L. Graphene Quantum Dots: An Emerging Material for Energy-Related Applications and beyond. *Energy Environ. Sci.* **2012**, 5 (10), 8869.
28. (a) Ekimov, A. A. Onushchenko. Quantum size effect in the optical-spectra of semiconductor microcrystals. *Sov. Phys. Semicond.* **1982**, 16, 775-778; (b) R. Rossetti, L. Brus, Electron-hole recombination emission as a probe of surface chemistry in aqueous CdS colloids. *J. Phys. Chem.* **1982**, 86 (23), 4470-4472.

29. A. Oudhia, P. Bichpuria. Green wet chemical route to synthesize capped CdSe quantum dots. *Bull. Mater. Sci.* **2014**, *37* (1), 15-18.
30. Dabbousi, B. O.; Rodriguez-Viejo, J.; Mikulec, F. V.; Heine, J. R.; Mattoussi, H.; Ober, R.; Jensen, K. F.; Bawendi, M. G. (CdSe)ZnS Core-Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites. *J. Phys. Chem. B.* **1997**, *101* (46), 9463-9475.
31. Mir, I. A.; Das, K.; Rawat, K.; Bohidar, H. B. Hot Injection versus Room Temperature Synthesis of CdSe Quantum Dots: A Differential Spectroscopic and Bioanalyte Sensing Efficacy Evaluation. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2016**, *494*, 162-169.
32. Z. A. Peng, X. G. Peng. Formation of high-quality CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals using CdO as precursor. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (1), 183-184.
33. D. Valerini, A. Cretí, M. Lomascolo, L. Manna, R. Cingolani, M. Anni. Temperature dependence of the photoluminescence properties of colloidal CdSe/ZnS core/shell quantum dots embedded in a polystyrene matrix. *Phys. Rev. B.* **2005**, *71* (23), 1-6.
34. Primera-Pedrozo, O. M.; Arslan, Z.; Rasulev, B.; Leszczynski, J. Room Temperature Synthesis of PbSe Quantum Dots in Aqueous Solution: Stabilization by Interactions with Ligands. *Nanoscale* **2012**, *4* (4), 1312.
35. Sun, Q.; Fu, S.; Dong, T.; Liu, S.; Huang, C. Aqueous Synthesis and Characterization of TGA-Capped CdSe Quantum Dots at Freezing Temperature. *Molecules* **2012**, *17* (12), 8430-8438.
36. Sun, Q.; Wang, Y. A.; Li, L. S.; Wang, D.; Zhu, T.; Xu, J.; Yang, C.; Li, Y. Bright, Multicoloured Light-Emitting Diodes Based on Quantum Dots. *Nat. Photonics* **2007**, *1* (12), 717-722.
37. 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.
38. Ki Bae, W.; Kwak, J.; Park, J. W.; Char, K.; Lee, C.; Lee, S. Highly Efficient Green-Light-Emitting Diodes Based on CdSe@ZnS Quantum Dots with a Chemical-Composition Gradient. *Adv. Mater.* **2009**, *21* (17), 1690-1694.
39. Yang, Y.; Zheng, Y.; Cao, W.; Titov, A.; Hyvonen, J.; Manders, J. R.; Xue, J.; Holloway, P. H.; Qian, L. High-Efficiency Light-Emitting Devices Based on Quantum Dots with Tailored Nanostructures. *Nat. Photonics* **2015**, *9*, 259-266.
40. Lee, K.-H.; Lee, J.-H.; Song, W.-S.; Ko, H.; Lee, C.; Lee, J.-H.; Yang, H. Highly Efficient, Color-Pure, Color-Stable Blue Quantum Dot Light-Emitting Devices. *ACS Nano* **2013**, *7* (8), 7295-7302.
41. Gao, X.; Li, H.; Sun, W.; Chen, Q.; Tang, F.; Peng, L. CdTe Quantum Dots-Sensitized TiO<sub>2</sub> Nanotube Array Photoelectrodes. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 7531-7535.

42. Vogel, R.; Hoyer, P.; Weller, H. Quantum-Sized PbS, CdS, Ag<sub>2</sub>S, Sb<sub>2</sub>S<sub>3</sub>, and Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> Particles as Sensitizers for Various Nanoporous Wide-Bandgap Semiconductors. *J. Phys. Chem.* **1994**, 98 (12), 3183–3188.
43. Plass R, Pelet S, Krueger J, Gratzel M, Bach U. Quantum dot sensitization of organic-inorganic hybrid solar cells. *J Phys Chem B.* **2002**; 106, 7578–80.
44. Robel, I.; Subramanian, V.; Kuno, M.; Kamat, P. V. Quantum Dot Solar Cells. Harvesting Light Energy with CdSe Nanocrystals Molecularly Linked to Mesoscopic TiO<sub>2</sub> Films. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128 (7), 2385–2393.
45. A. Zaban; O. I. Mičić, \*; B. A. Gregg, and; Nozik\*, A. J. Photosensitization of Nanoporous TiO<sub>2</sub> Electrodes with InP Quantum Dots. *Langmuir*, 1998, 14 (12), 3153–3156.
46. Frasco, M. F.; Chaniotakis, N. Bioconjugated Quantum Dots as Fluorescent Probes for Bioanalytical Applications. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, 396 (1), 229–240.
47. Smith, A. M.; Duan, H.; Mohs, A. M.; Nie, S. Bioconjugated Quantum Dots for in Vivo Molecular and Cellular Imaging. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, 60 (11), 1226–1240.
48. (a) S. O. Oluwafemi, N. Revaprasadu, A. J. Ramirez. A novel one-pot route for the synthesis of water-soluble cadmium selenide nanoparticles. *J. Cryst. Growth.* **2008**, 310 (13), 3230-3234; (b) J. M. Tsay, M. Pflughoefft, L. A. Bentolila, S. Weiss. Hybrid approach to the synthesis of highly luminescent CdTe/ZnS and CdHgTe/ZnS nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126 (7), 1926-1927.
49. Xu, S. C.; Yao, C. C.; Zhang, J. M.; Dai, Z.; Zheng, G.; Sun, B.; Sun, S. Q.; Han, Q.; Hu, F.; Zhou, H. M. Synthesis and Characterization of the Core-Shell CdTe/ZnS Quantum Dots. *Adv. Mater. Res.* **2009**, 60–61, 165–169.
50. Yu, W. W.; Qu, L.; Guo, W.; Peng, X. Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. *Chem. Mater.* **2003**, 15 (14), 2854–2860.
51. Samanta, A.; Deng, Z.; Liu, Y. Aqueous Synthesis of Glutathione-Capped CdTe/CdS/ZnS and CdTe/CdSe/ZnS Core/shell/shell Nanocrystal Heterostructures. *Langmuir* **2012**, 28 (21), 8205–8215.
52. Reeves, J. T.; Camara, K.; Han, Z. S.; Xu, Y.; Lee, H.; Busacca, C. A.; Senanayake, C. H. The Reaction of Grignard Reagents with Bunte Salts: A Thiol-Free Synthesis of Sulfides. *Org. Lett.* **2014**, 16 (4), 1196–1199.
53. Shon, Y. S.; Cutler, E. Aqueous Synthesis of Alkanethiolate-Protected Ag Nanoparticles Using Bunte Salts. *Langmuir* **2004**, 20 (16), 6626–6630.
54. Shon, Y. S.; Wuelfing, W. P.; Murray, R. W. Water-Soluble, Sulfonic Acid-Functionalized, Monolayer-Protected Nanoparticles and an Ionically Conductive

- Molten Salt Containing Them. *Langmuir* **2001**, *17* (4), 1255–1261; Lohse, S. E.; Dahl, J. A.; Hutchison, J. E. Direct Synthesis of Large Water-Soluble Functionalized Gold Nanoparticles Using Bunte Salts as Ligand Precursors. *Langmuir* **2010**, *26* (10), 7504–7511;
55. Lin, Y.; Lu, G.; Cai, C.; Yi, W. An Odorless Thia-Michael Addition Using Bunte Salts as Thiol Surrogates. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 27107–27111.
  56. Gualdrón A, Meléndez A, Niño M, González V, Carreño M. *Rev Acad Colomb Cienc Ex Fis Nat*, **2015**, *39*, 77.
  57. Yu, W.W.; Peng, X. Formation of High-Quality CdS and Other II-VI Semiconductor Nanocrystals in Noncoordinating Solvents: Tunable Reactivity of Monomers. *Angew. Chemie*, **2002**, *41*, 2368-2371.
  58. Kuno, M.; Lee, J.K. The Band Edge Luminescence of Surface Modified CdSe Nanocrystallites: Probing the Luminescing State. *J. Chem. Phys.* **1997**, *106*, 9869.
  59. Patra, M. K.; Manoth, M.; Singh, V. K.; Siddaramana Gowd, G.; Choudhry, V. S.; Vadera, S. R.; Kumar, N. Synthesis of Stable Dispersion of ZnO Quantum Dots in Aqueous Medium Showing Visible Emission from Bluish Green to Yellow. *J. Lumin.* **2009**, *129* (3), 320–324.
  60. Hines, M.A.; Guyot-Sionnest, P. Bright UV-Blue Luminescent Colloidal ZnSe Nanocrystals. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 3655-3657.
  61. Lincheneau, C.; Amelia, M.; Oszejca, M.; Boccia, A.; D'Orazi, F.; Madrigale, M.; Zaroni, R.; Mazzaro, R.; Ortolani, L.; Morandi, V.; et al. Synthesis and Properties of ZnTe and ZnTe/ZnS Core/shell Semiconductor Nanocrystals. *J. Mater. Chem. C* **2014**, *2* (16), 2877.
  62. Wang, Y. H.; Chen, Z.; Zhou, X. Q. Synthesis and Photoluminescence of ZnS Quantum Dots. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2008**, *8* (3), 1312–1315.
  63. Micic, O.I.; Sprague, J.R.; Curtis, C.J.; Jones, K.M.; Machol, J.L.; Nozik, A.J.; Giessen, H.; Fluegel, B.; Mohs, G.; Peyghambarian, N. Synthesis and Characterization of InP, GaP, and GaInP<sub>2</sub> Quantum Dots. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 7754-7759.
  64. Bruchez, M., Jr.; Moronne, M.; Gin, P.; Weiss, S.; Alivisatos, A.P. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels. *Science* **1998**, *281*, 2013-2016.
  65. Murray, C.B.; Sun, S.; Gaschler, W.; Doyle, H.; Betley, T.A.; Kagan, C.R. Colloidal Synthesis of Nanocrystals and Nanocrystal Superlattices. *IBM J. Res. Dev.* **2001**, *45*, 47.
  66. Ullrich, B.; Xi, H.; Wang, J. S. Photoluminescence Limiting of Colloidal PbS Quantum Dots. *Appl. Phys. Lett.* **2016**, *108* (8), 83110.

67. Klostranec, J. M.; Chan, W. C. W. Quantum Dots in Biological and Biomedical Research: Recent Progress and Present Challenges. *Adv. Mater.* **2006**, *18* (15), 1953–1964.
68. Gaponik, N.; Talapin, D. V.; Rogach, A. L.; Hoppe, K.; Shevchenko, V.; Kornowski, A.; Eychmüller, A.; Weller, H.; Shevchenko, E. V.; Eychmu, A. Thiol-Capping of CdTe Nanocrystals: An Alternative to Organometallic Synthetic Routes. *J. Phys. Chem. B* **2002**, 7177–7185.
69. Green, M. The Nature of Quantum Dot Capping Ligands. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20* (28), 5797.
70. Bonilla, C. A. M.; Kouznetsov, V. V. “Green” Quantum Dots: Basics, Green Synthesis, and Nanotechnological Applications. In *Green Nanotechnology - Overview and Further Prospects*; InTech, 2016.
71. Plataformas *on-line* de acceso libre: <http://www.molinspiration.com/> (accesada el 1 de julio de 2016).
72. Shen, M.; Jia, W.; You, Y.; Hu, Y.; Li, F.; Tian, S.; Li, J.; Jin, Y.; Han, D.; Sandra, J.; et al. Luminescent Properties of CdTe Quantum Dots Synthesized Using 3-Mercaptopropionic Acid Reduction of Tellurium Dioxide Directly. *Nanoscale Res. Lett.* **2013**, *8* (1), 253.
73. Borchert, H.; Talapin, D. V.; Gaponik, N.; McGinley, C.; Adam, S.; Lobo, A.; Möller, T.; Weller, H. Relations between the Photoluminescence Efficiency of CdTe Nanocrystals and Their Surface Properties Revealed by Synchrotron XPS. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107* (36), 9662–9668.
74. He, Y.; Lu, H. T.; Sai, L. M.; Su, Y. Y.; Hu, M.; Fan, C. H.; Huang, W.; Wang, L. H. Microwave Synthesis of Water-Dispersed CdTe/CdS/ZnS Core-Shell-Shell Quantum Dots with Excellent Photostability and Biocompatibility. *Adv. Mater.* **2008**, *20* (18), 3416–3421.
75. Morris-cohen, A. J.; Malicki, M.; Peterson, M. D.; Slavin, J. W. J.; Weiss, E. A. Chemical, Structural, and Quantitative Analysis of the Ligand Shells of Colloidal Quantum Dots. *Chem. Mater.* **2013**, *25*, 1155–1165.
76. Tu, V. A.; Kaga, A.; Gericke, K. H.; Watanabe, N.; Narumi, T.; Toda, M.; Brueckner, B.; Baldermann, S.; Mase, N. Synthesis and Characterization of Quantum Dot Nanoparticles Bound to the Plant Volatile Precursor of Hydroxy-Apo-10'-Carotenal. *J. Org. Chem.* **2014**, *79* (15), 6808–6815.
77. Kejlová, K.; Jírová, D.; Bendová, H.; Gajdoš, P.; Kolářová, H. Phototoxicity of Essential Oils Intended for Cosmetic Use. *Toxicol. Vitro.* **2010**, *24* (8), 2084–2089.

78. Li, L.; Zhang, Q.; Ding, Y.; Lu, Y.; Cai, X.; Yu, L. A Simple Fluorescence Quenching Method for the Determination of Vanillin Using TGA-Capped CdTe/ZnS Nanoparticles as Probes. *J. Fluoresc.* **2015**, *25* (4), 897–905.
79. Bunte, H. *Chem. Ber.* 1874, *7*, 646–648.
80. Zhao, K.; Pan, Z.; Zhong, X. Charge Recombination Control for High Efficiency Quantum Dot Sensitized Solar Cells. *J. Phys. Chem. Lett.* **2016**, *7* (3), 406–417.
81. Laverdant, J.; de Marcillac, W. D.; Barthou, C.; Chinh, V. D.; Schwob, C.; Coolen, L.; Benalloul, P.; Nga, P. T.; Maitre, A. Experimental Determination of the Fluorescence Quantum Yield of Semiconductor Nanocrystals. *Materials (Basel)*. **2011**, *4* (7), 1182–1193.

## BIBLIOGRAFÍA

A. P. Alivisatos, W. Gu, C. Larabell. Quantum dots as cellular probes. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2005**, 7, 55-76.

A. P. Alivisatos. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. *Science*. **1996**, 271 (5251), 933-937.

Borchert, H.; Talapin, D. V.; Gaponik, N.; McGinley, C.; Adam, S.; Lobo, A.; Möller, T.; Weller, H. Relations between the Photoluminescence Efficiency of CdTe Nanocrystals and Their Surface Properties Revealed by Synchrotron XPS. *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107 (36), 9662–9668.

Bonilla, C. A. M.; Kouznetsov, V. V. “Green” Quantum Dots: Basics, Green Synthesis, and Nanotechnological Applications. In *Green Nanotechnology - Overview and Further Prospects*; InTech, **2016**.

C. B. Murray, D. J. Norris, M. G. Bawendi. Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = S and Se and Te) semiconductor nanocrystallites. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115 (19), 8706-8715.

C. H. M. Chuang, P. R. Brown, V. Bulović, M. G. Bawendi. Improved performance and stability in quantum dot solar cells through band alignment engineering. *Nat. Mater.* **2014**, 13 (8), 796-801.

C. Kirchner, T. Liedl, S. Kudera, T. Pellegrino, A. M. Javier, H. E. Gaub, S. Stolzle, N. Fertig, W. J. Parak. Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles. *Nano Lett.* **2005**, 5 (2), 331-338.

Chang, S.; Kang, B.; Liu, X.; Dai, Y.; Chen, D. Physicochemical Properties and Cellular Toxicity of Nanocrystal Quantum Dots Depend on Their Surface Modification. *Acta Biochim Biophys Sin.* **2012**, 44, 241–248.

Chen, N.; He, Y.; Su, Y.; Li, X.; Huang, Q.; Wang, H.; Zhang, X.; Tai, R.; Fan, C. The Cytotoxicity of Cadmium-Based Quantum Dots. *Biomaterials* **2012**, 33 (5), 1238–1244.

Choi, H. S.; Liu, W.; Misra, P.; Tanaka, E.; Zimmer, J. P.; Iltis Ipe, B.; Bawendi, M. G.; Frangioni, J. V. Renal Clearance of Quantum Dots. *Nat. Biotechnol.* **2007**, 25 (10), 1165–1170.

E. E. Stashenko. Aceites esenciales. División de publicaciones UIS, **2009**, 13-15.

Q. Huo. A perspective on bioconjugated nanoparticles and quantum dots. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. **2007**, *59* (1), 1-10.

R. Dingle, W. Wiegmann, C. H. Henry. Quantum states of confined carriers in very thin  $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As-GaAs-Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$  heterostructures. *Phys. Rev. Lett.*, **1974**, *33* (4), 827-830.

Zhao, K.; Pan, Z.; Zhong, X. Charge Recombination Control for High Efficiency Quantum Dot Sensitized Solar Cells. *J. Phys. Chem. Lett.* **2016**, *7* (3), 406–417.

## ANEXOS

### Anexo A. Relación de cálculos para la generación de monocapas de ZnS.

La relación de ZnS/CdTe fue tomada de la referencia 49. El primer pico de excitación de medio a la solución acuosa de QDs compuestos de CdTe que desean ser modificados superficialmente con ZnS. Una vez determinado este valor se mide la absorbancia a esta longitud de onda. A manera de ejemplo, una solución de QDs (200 mL) compuestos de CdTe-TGA muestra absorbancia de  $A = 0.0626$  (u.a) cuando es medida a 540 nm (primer pico de excitación). Con este último valor es calculado el tamaño de los QDs utilizando la ecuación 4 (sección 5.6) dando como resultado 3.11 nm.

$$D = (9.8127 \times 10^{-7})\lambda^3 - (1.7174 \times 10^{-3})\lambda^2 - (1.0064 \times 10^{-7})\lambda - (194.84)$$

$$D = (9.8127 \times 10^{-7})(540)^3 - (1.7174 \times 10^{-3})(540)^2 - (1.0064 \times 10^{-7})(540) - (194.84)$$

$$D = 3.11 \text{ nm}$$

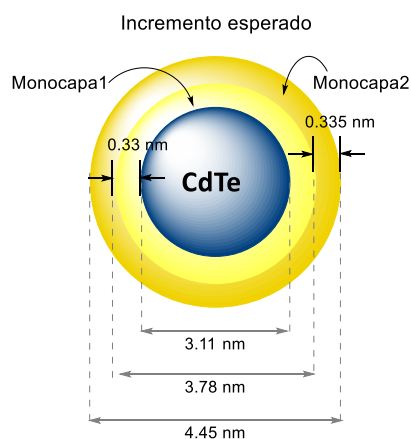
El tamaño es utilizado para calcular el coeficiente de absorción molar ( $\epsilon$ ) a partir de la relación:

$$\epsilon = 10043(D)^{2.12}$$

$$\epsilon = 10043(3.11)^{2.12}$$

$$\epsilon = 1.12 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

Usando la Ley de Beer ( $A = \epsilon \cdot l \cdot C$ ) se calcula la concentración dando como resultado  $5.61 \times 10^{-7}$  M. Entonces, para el volumen total (200 mL) hay 0.112  $\mu$ moles. El grosor promedio de las monocapas tiene un valor de 0.335 nm, así que la generación de la primera monocapa genera un incremento de 0.670 nm en el diámetro de los QDs. Asumiendo partículas esféricas, el volumen de la primer monocapa ( $V_{mc1}$ ) está dado por:



$$V_{mc1} = \frac{\pi}{6}(R_1^3 - r_1^3) = \frac{\pi}{6}((3.11 + 0.670)^3 - (3.11)^3)nm^3 = 12.55 nm^3$$

El volumen de la segunda monocapa ( $V_{mc2}$ ) será:

$$V_{mc2} = \frac{\pi}{6}(R_2^3 - r_2^3) = \frac{\pi}{6}((3.78 + 0.670)^3 - (3.78)^3)nm^3 = 17.88 nm^3$$

Si la densidad del ZnS es 4.09 g/mL o  $4.09 \times 10^{-21}$  g/nm<sup>3</sup>, la masa de la primera monocapa de ZnS será:

$$\begin{aligned} M_{mc1} &= V_{mc1} \cdot \rho_{ZnS} \\ M_{mc1} &= 12.55 nm^3 \cdot 4.09 \times 10^{-21} g/nm^3 \\ M_{mc1} &= 5.13 \times 10^{-20} g \end{aligned}$$

La relación molar CdTe:ZnS:TGA es 1:1.1:2, de modo que la cantidad de ZnS para 200 mL de solución que contienen 0.112  $\mu$ moles será:

$$\begin{aligned} ZnS_{mc1} &= 1.1 \cdot 5.13 \times 10^{-20} \cdot 0.112 \times 10^{-6} mol \cdot 6.023 \times 10^{23} \frac{g}{mol} = 3.28 \times 10^{-3} g \\ ZnS_{mc1} &= 3.28 \times 10^{-3} g \cdot /136.28 \frac{g}{mol} = 3.92 \times 10^{-5} moles de ZnS \end{aligned}$$

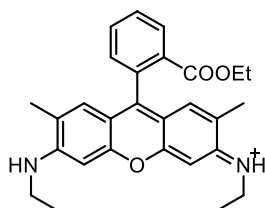
Si las soluciones que sirven como fuente de Zn, S y TGA tiene la concentración de 200 mM, la cantidad que debe adicionarse corresponde a 196, 196 y 392  $\mu$ L, respectivamente. Del mismo modo se realizan los cálculos para la segunda y tercera monocapa. Para la segunda monocapa: 279  $\mu$ L de solución de Zn, 279  $\mu$ L de solución de S y 558  $\mu$ L de solución de TGA. Para la tercera monocapa: 377  $\mu$ L de solución de Zn, 377  $\mu$ L de solución de S y 754  $\mu$ L de solución de TGA.

#### **Anexo B.** Medición de la eficiencia cuántica QY para los QDs sintetizados.

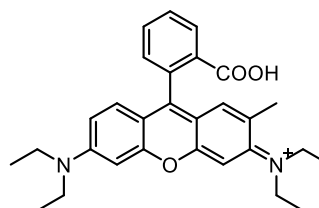
La medición de la QY fue realizada tomando como modelo el procedimiento descrito en la referencia 81. Es necesario mencionar que la QY medida corresponde a la eficiencia *relativa* haciendo uso de los espectros de UV-vis y fluorescencia. El otro tipo de eficiencia, la QY *absoluta* involucra el uso de esferas de integración y delicados cálculos para conocer todas las contribuciones de todos los procesos radiativos después de la excitación del fluoróforo. En el presente documento la mención de QY, hace siempre referencia a la QY relativa. Como fluoróforos de referencia fueron utilizados la Rhodamina 6G y B. Para validar la respuesta de los equipos utilizados se realizó la medición de la QY por método comparativo para la Rhodamina B utilizando la Rhodamina 6G como referencia la cual reporta un valor de 0.95 (95 %). El método comparativo consiste en la medición de la absorbancia y fluorescencia de para varias soluciones de la referencia y la muestra o analito, en donde la relación:

$$QY_m = QY_R \cdot \left(\frac{m_m}{m_R}\right) \cdot \left(\frac{n_m^2}{n_R^2}\right)$$

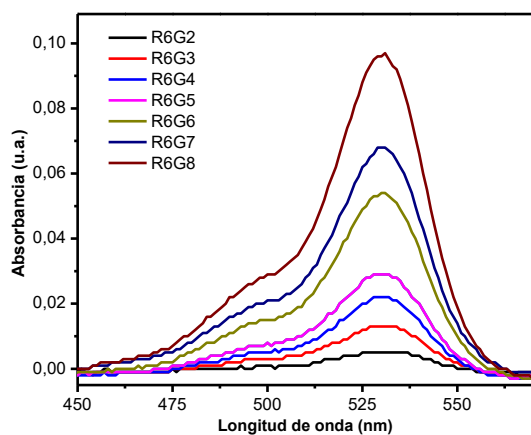
calcula la  $QY_m$  donde  $m_m$  y  $m_R$  son la pendiente de la línea obtenida por la gráfica de intensidad de la fluorescencia normalizada vs. absorbancia para cada caso.  $n$  es el índice de refracción de solvente en cual se disuelven la muestra y la referencia. La mención *normalizada* se refiere a la eliminación de la contribución a la fluorescencia del solvente empleado (etanol).



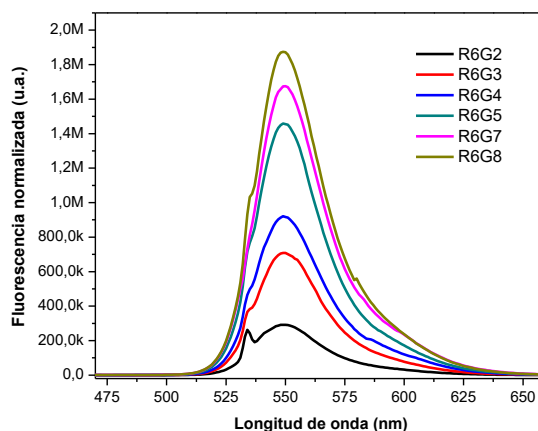
Rhodamina 6G



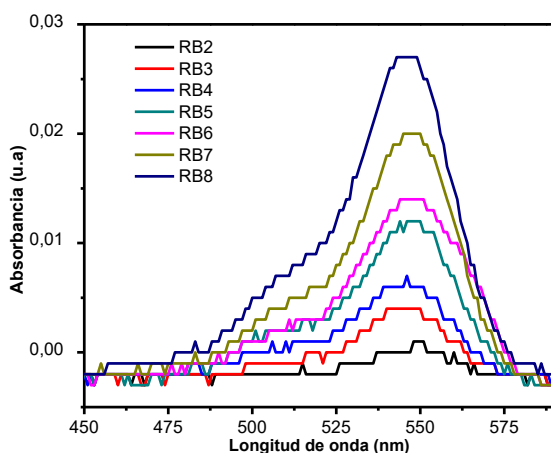
Rhodamina B



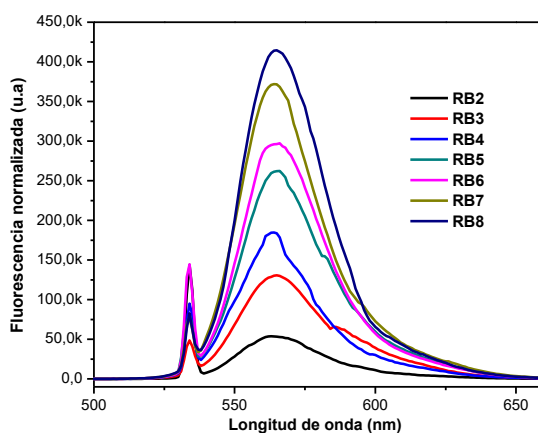
Uv-vis Rhodamida 6G



Fluorescencia normalizada 6G

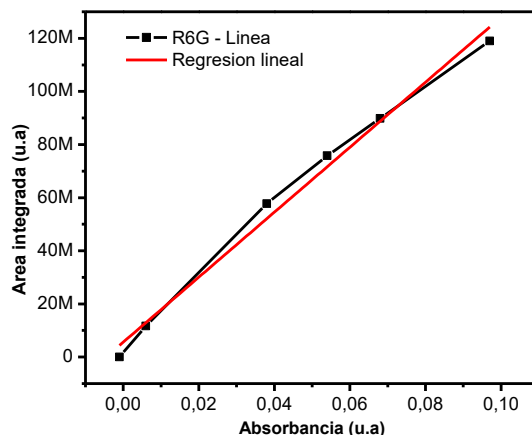
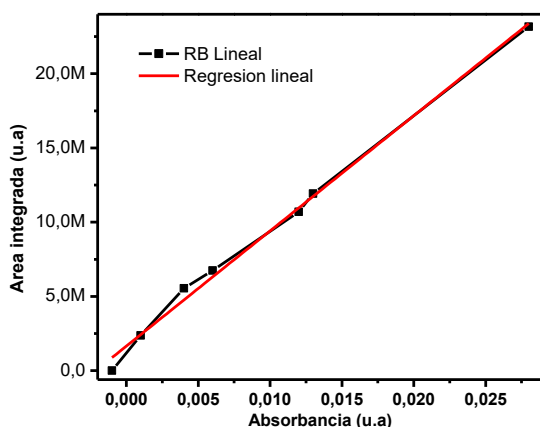


Uv-vis Rhodamida B



Fluorescencia normalizada B

Las gráficas de fluorescencia normalizada vs. absorbancia para las Rhodaminas son:



donde los valores para  $m_m$  y  $m_R$  son 888661687,5 y 1223086539,4 respectivamente, lo que arroja como resultado una QY de 0.69 (69 %) para la Rhodamina B. Una vez verificado el funcionamiento del método y los equipos, se procedió a medir la QY para los QDs sintetizados. Para evitar problemas de auto-agregación de las soluciones de QDs, los valores de absorbancia estuvieron siempre entre 0.1 y 0.03.

#### Anexo C. Medición de la relación ligando/QDs usando RMN $^1\text{H}$ .

Para el cálculo de la relación ligandos/QDs fue utilizada la RMN  $^1\text{H}$  y el método de adición interna. El estándar seleccionado fue acetona (5  $\mu\text{L}$ ). La siguiente relación permite calcular primero la concentración de los ligandos.

$$[\text{Conc}_{\text{Lig}}] = \frac{P_{\text{Stand}}}{P_{\text{QDs}}} \times \frac{N_{\text{Stand}}}{N_{\text{QDs}}} \times [\text{Conc}_{\text{Stand}}] \times \frac{I_{\text{QDs}}}{I_{\text{Stand}}}$$

#### 8.1. Cálculo del diámetro hidrodinámico $d_H$ a partir de los experimentos DOSY.

La traza horizontal de los espectros DOSY arroja el valor para el coeficiente de difusión de las nanopartículas y haciendo uso de la ecuación de Stokes–Einstein:

$$d_H = 2 \cdot r_H = \frac{k_B T}{3\pi\eta \cdot CD}$$

donde  $k_B = 1,38 \times 10^{-23}$  J/K,  $\eta = 1,0963$  mPa·S y  $T = 398$  K.

#### Anexo D. Cálculo del tamaño del cristalito para los QDs por DRX.

La ecuación de *Scherrer* permite calcular el tamaño del cristalito a partir de valor  $\beta$  extraído del perfil de difracción. Para la medición de  $\beta$  se seleccionó el plano cristalográfico (111) de la celda CCC del CdTe por ser quien representa mejor el tamaño del cristalito.

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cdot \cos\theta}$$

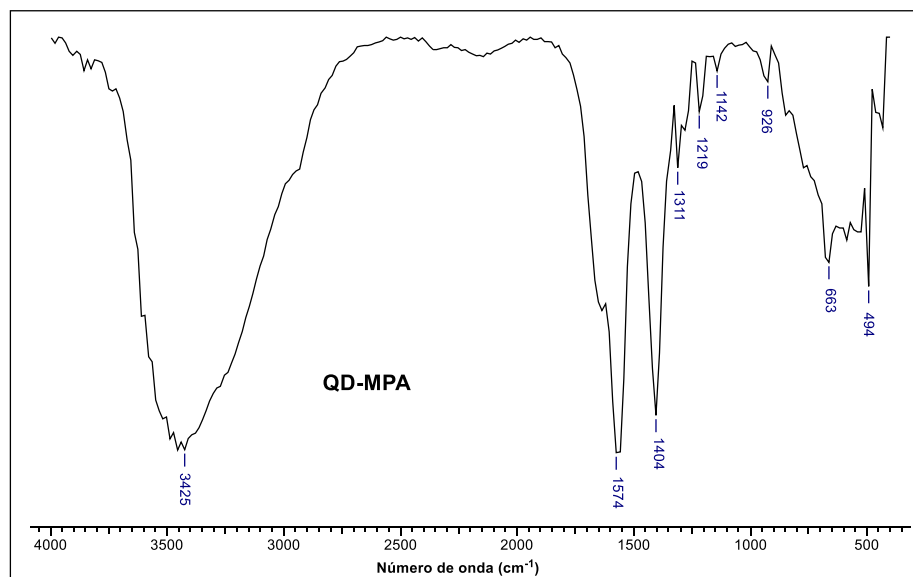
Antes de este cálculo es necesario realizar una corrección por el ensanchamiento que genera el componente instrumental  $\beta_i$  en la señal medida, de modo que el parámetro  $\beta$  se calcula así:

$$\beta = \beta_{obs} - \beta_i$$

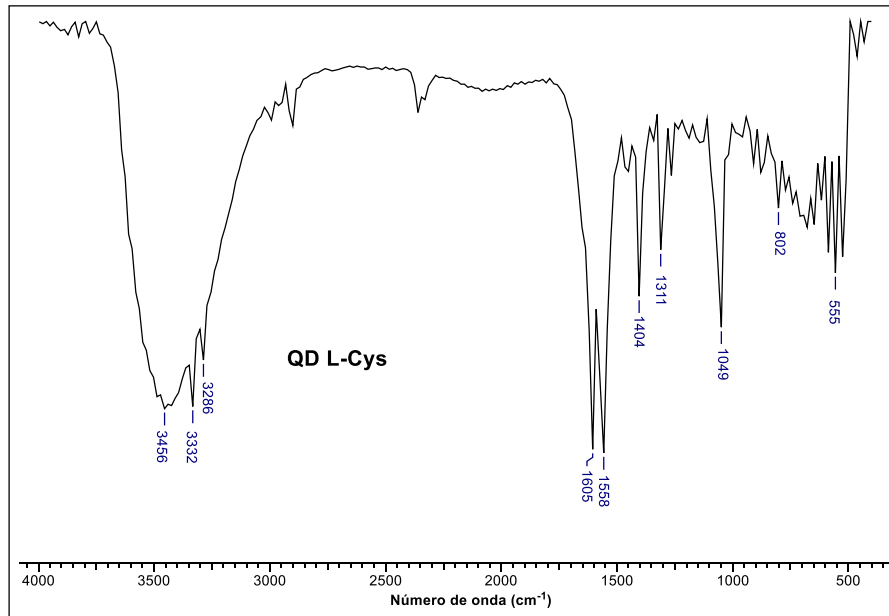
El valor registrado para  $\beta_i$  corresponde a  $0.55^\circ$  medido en una muestra de referencia libre de tensión residual asociada a la estructura cristalina.

#### Anexo E. Espectros de IR y UV-vis para los QDs con los ligandos MPA, L-Cys y DHLA.

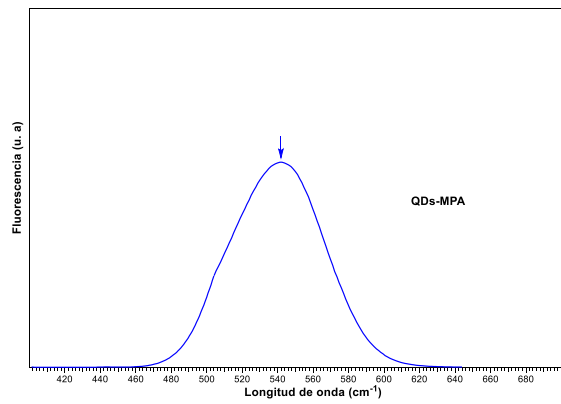
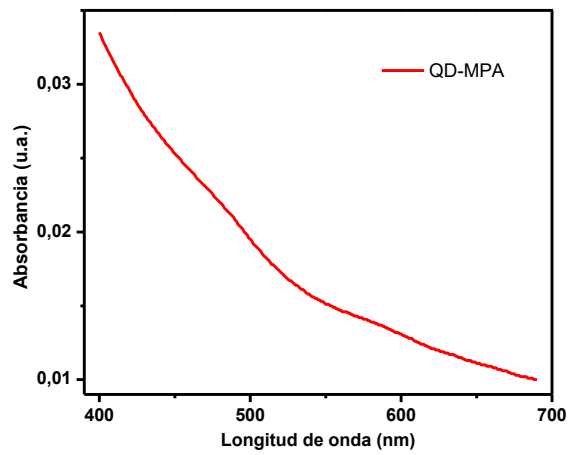
Espectro de IR para los QDs de CdTe-MPA.



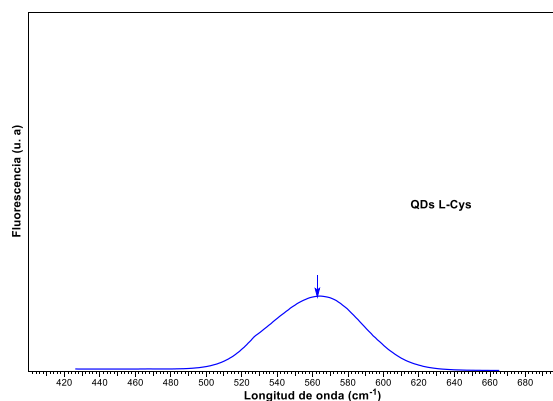
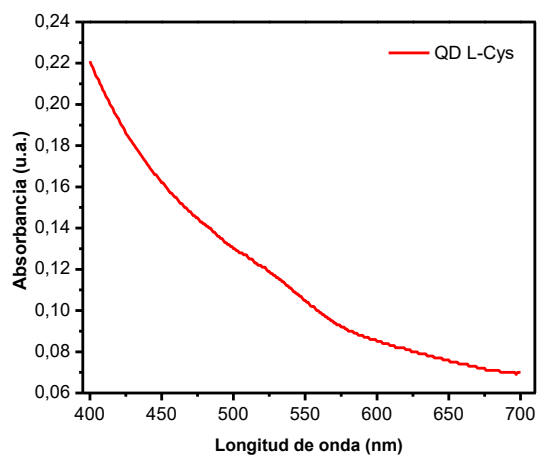
Espectro de IR para los QDs de CdTe L-Cys.



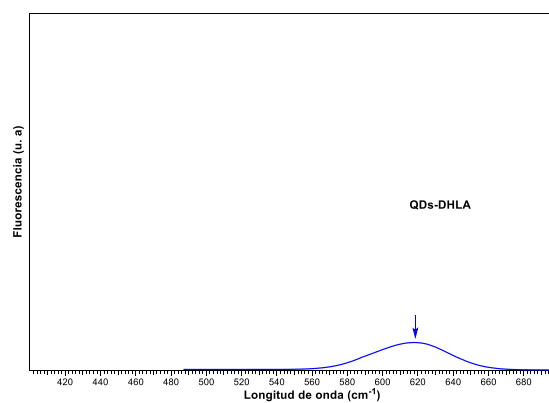
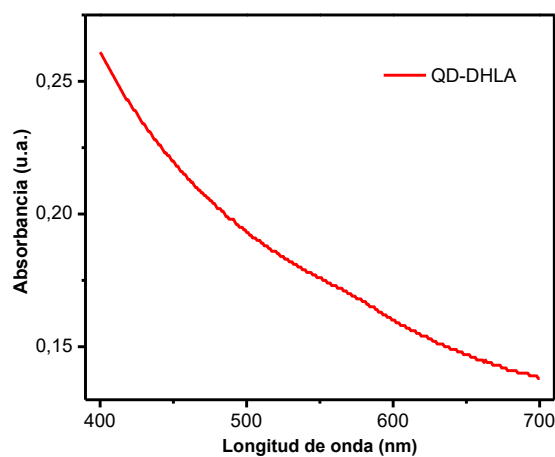
Espectros de UV-vis y fluorescencia para los QDs de CdTe-MPA.



Espectros de UV-vis y fluorescencia para los QDs de CdTe L-Cys.

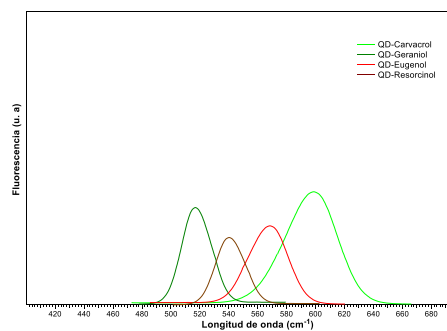
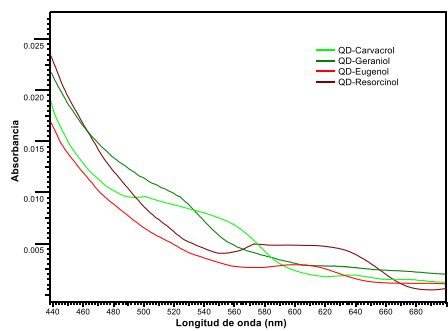


Espectros de UV-vis y fluorescencia para los QDs de CdTe-DHLA.

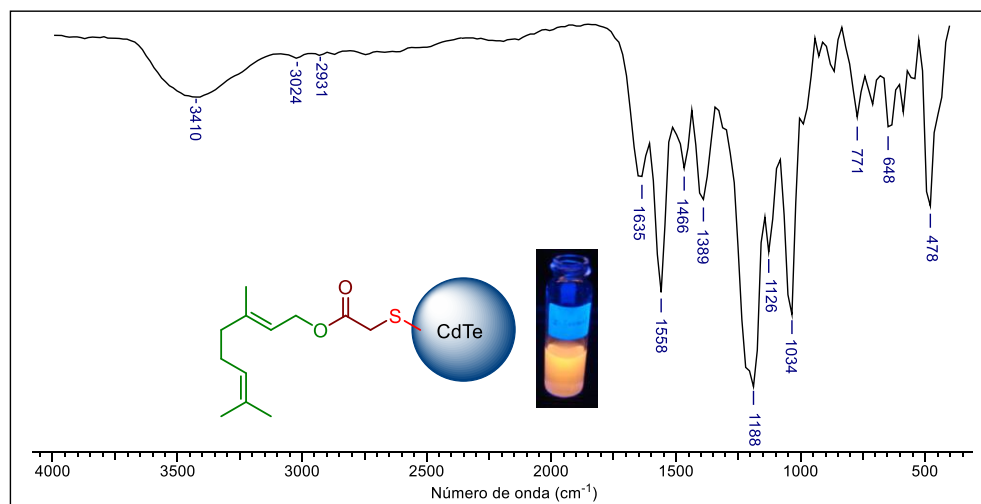


Anexo F. Espectros de UV-vis, IR y RMN (DOSY) para los QDs-BC.

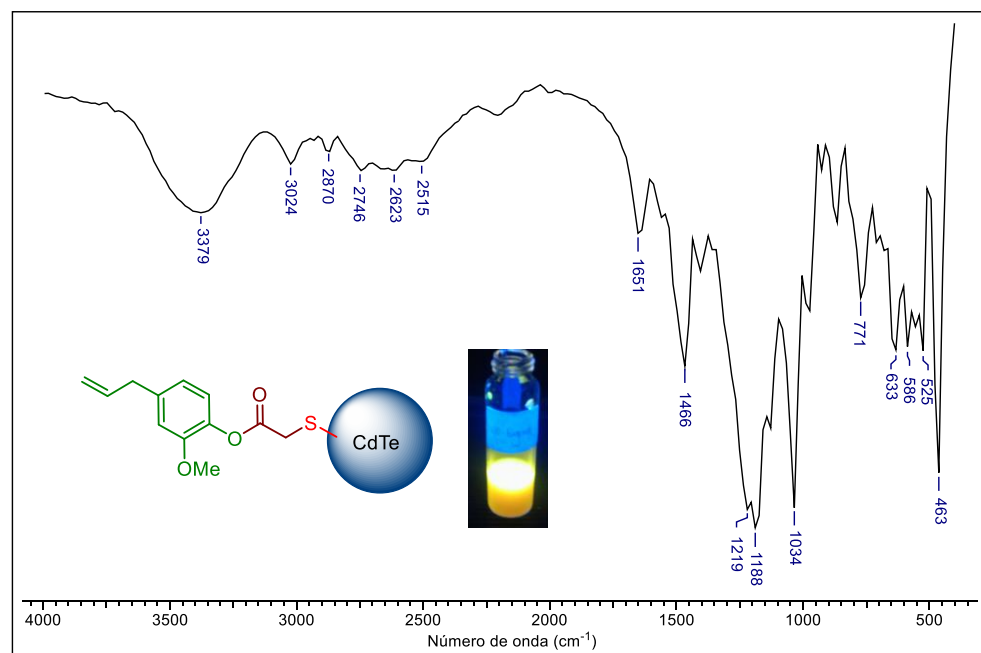
Espectros UV-vis y fluorescencia de los QDs-BC.



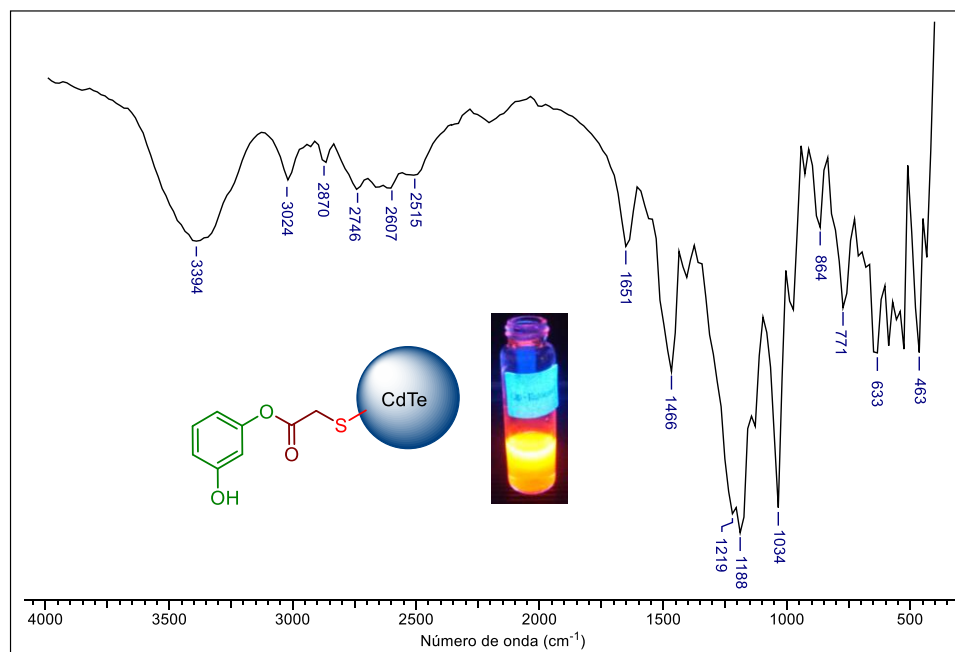
Espectro de IR QDs-BC con geraniol **1b**.



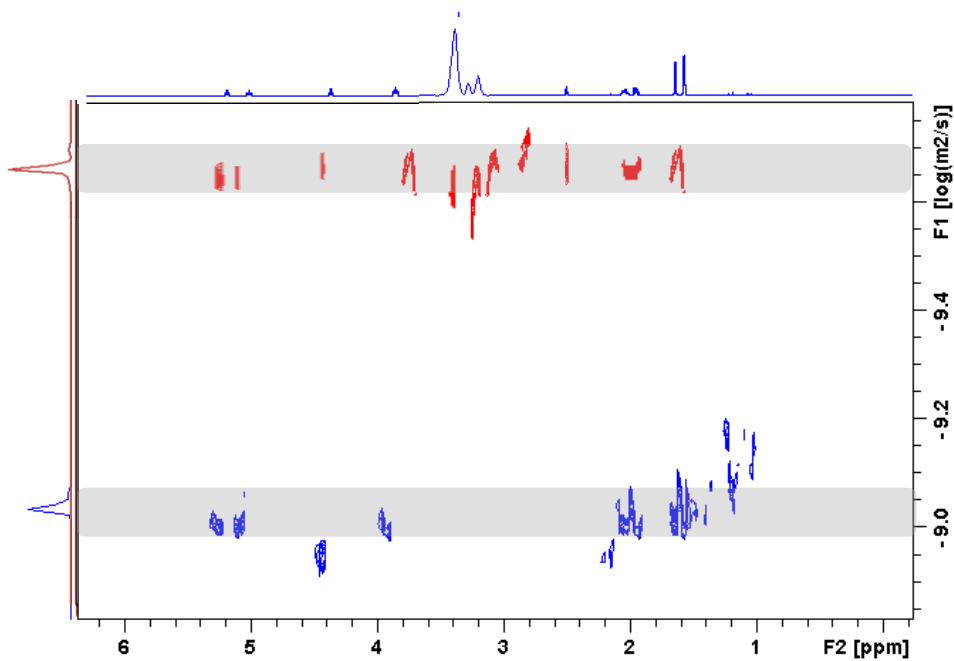
Espectro de IR QDs-BC con eugenol **1c**.



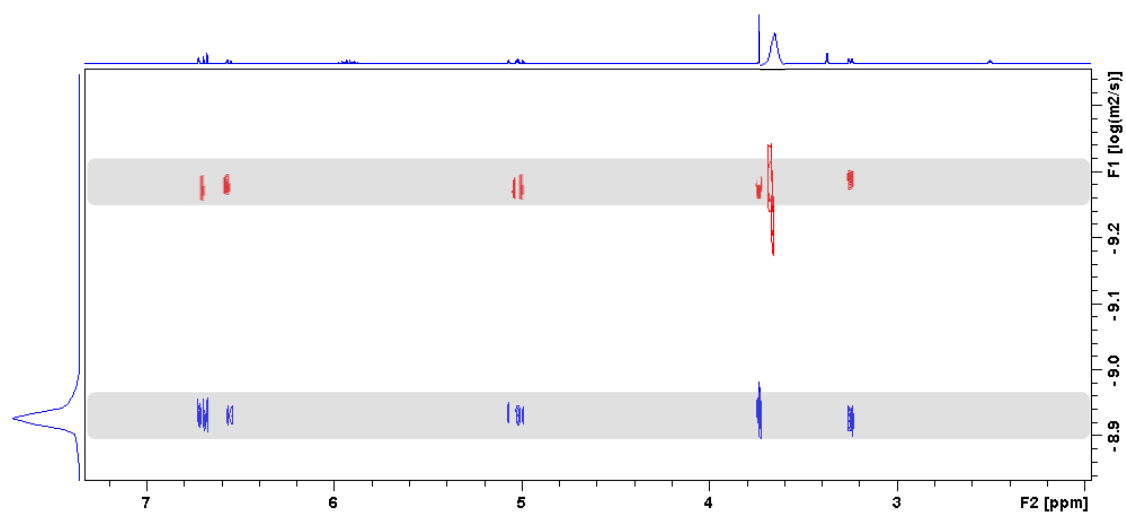
Espectro de IR QDs-BC con resorcinol **1d**.



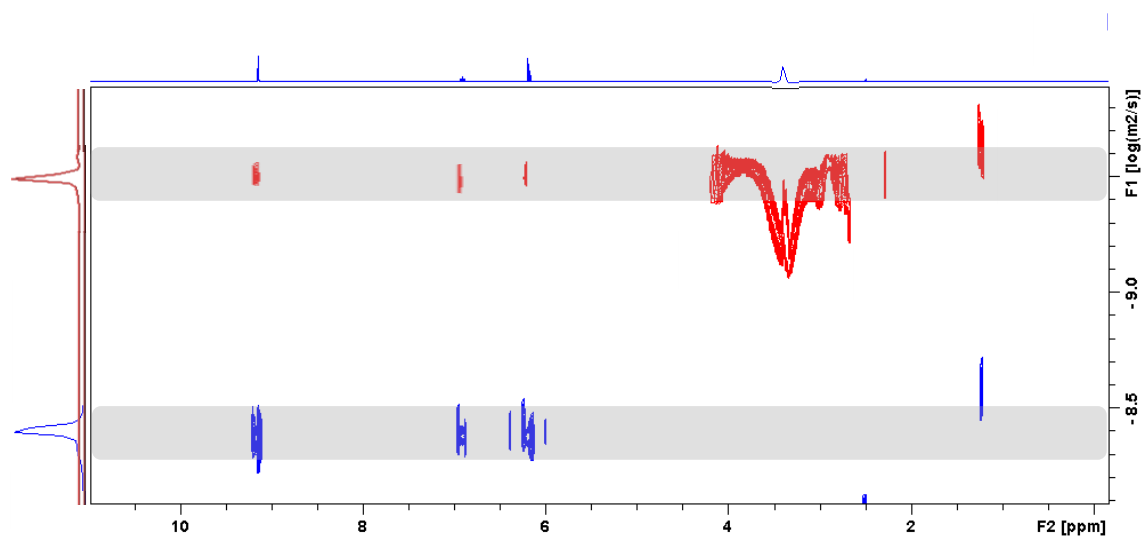
Espectro de RMN DOSY para los QDs-BC con geraniol **1b**.



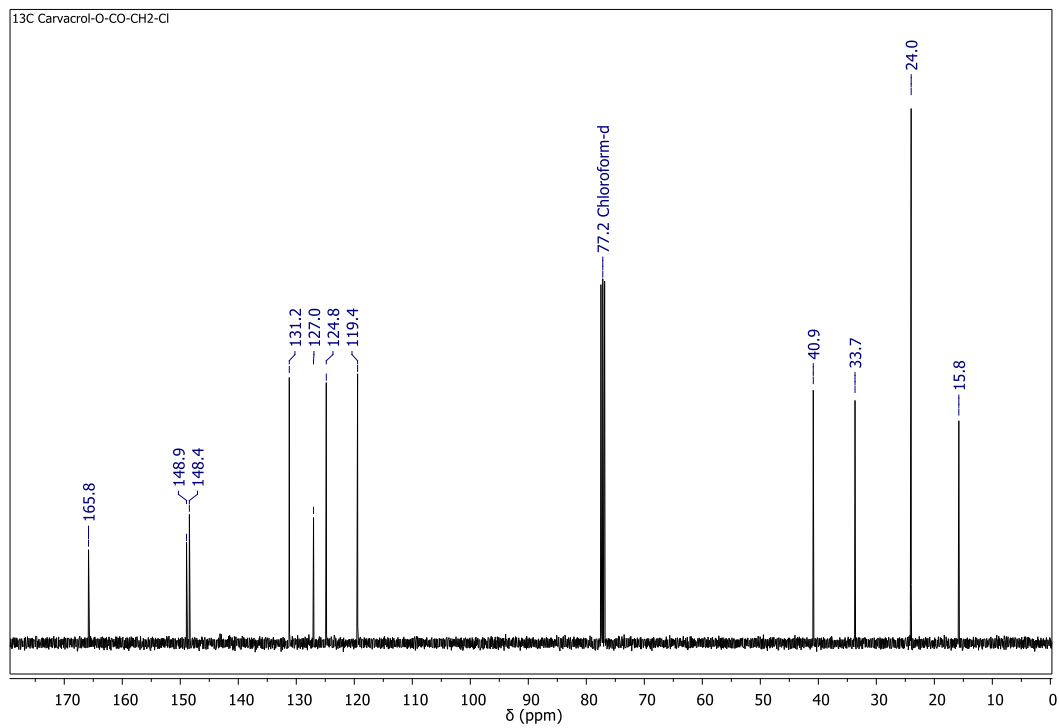
Espectro de RMN DOSY para los QDs-BC con eugenol **1c**.



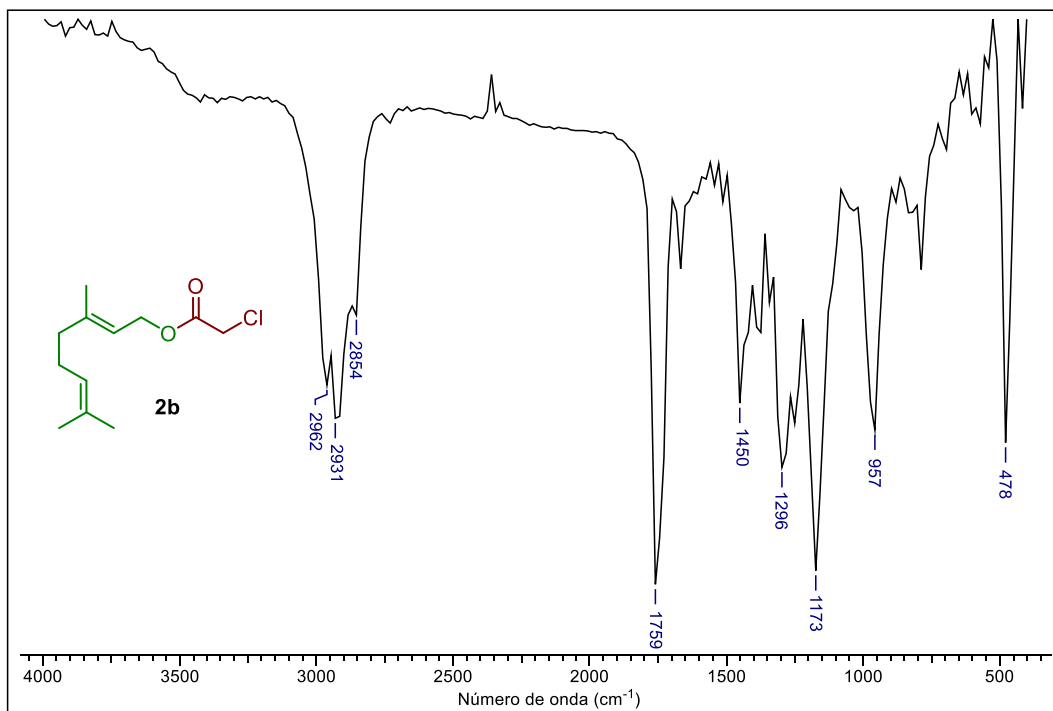
Espectro de RMN DOSY para los QDs-BC con resorcinol **1d**.



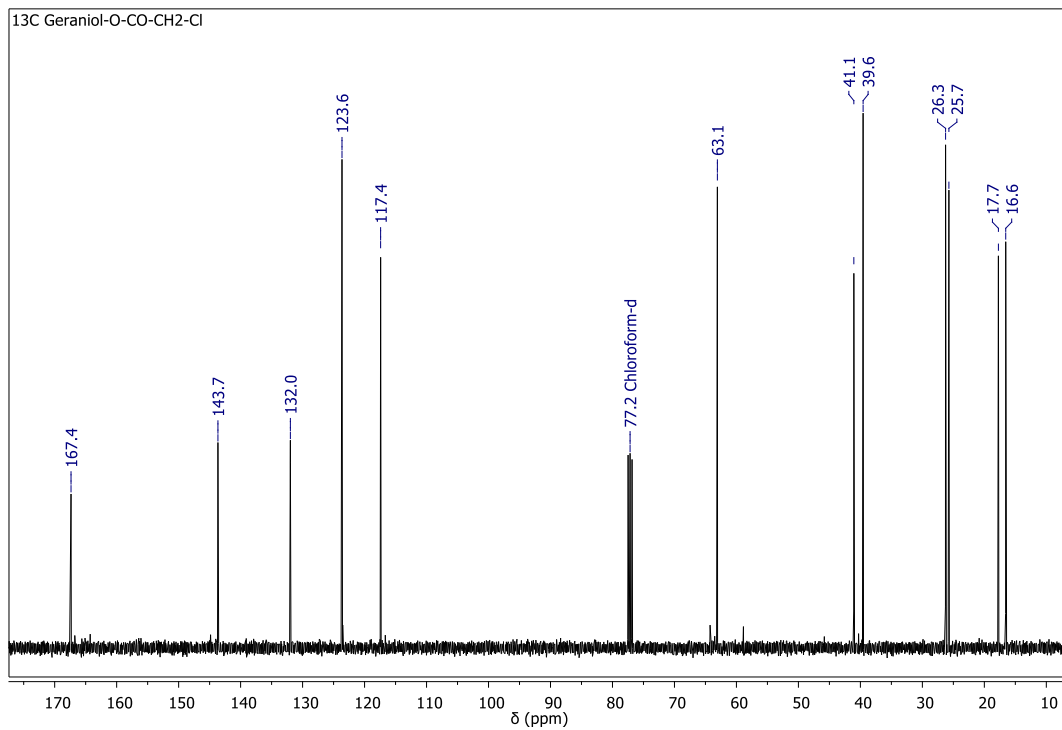
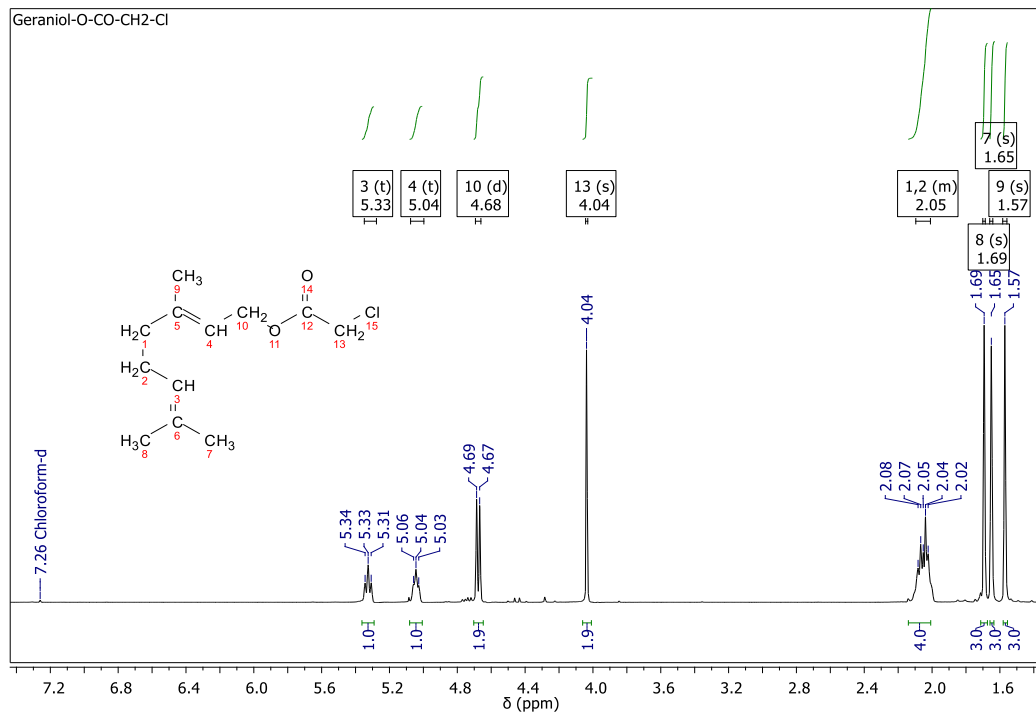




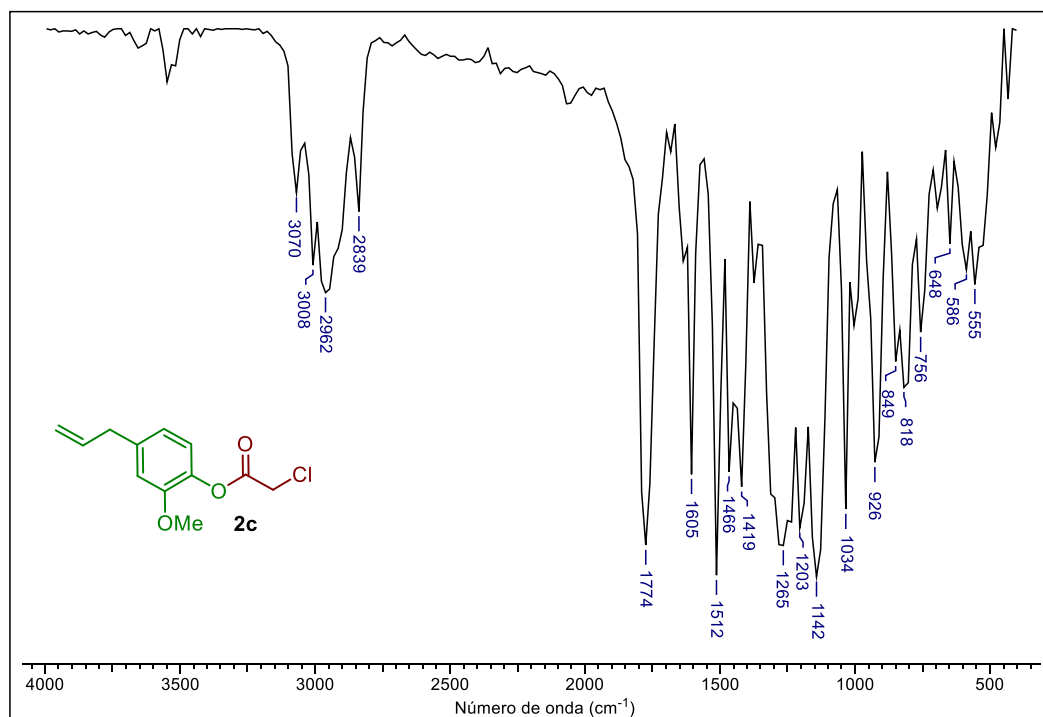
Espectro de IR para el cloroacetato **2b**.



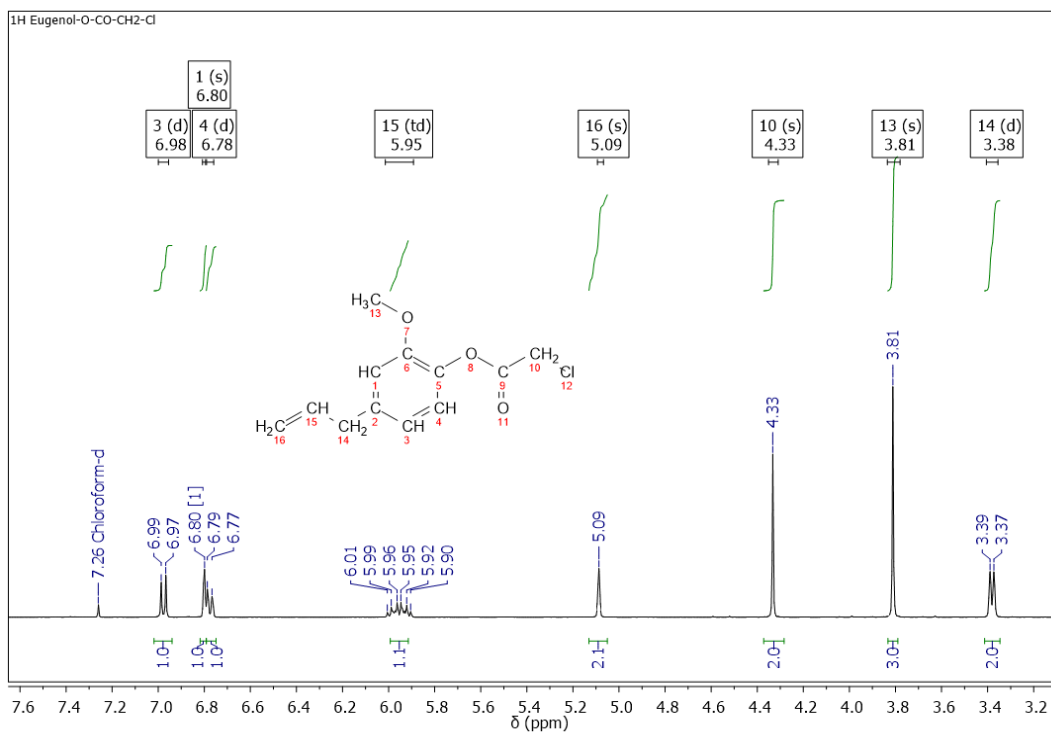
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  para el cloroacetato **2b**.

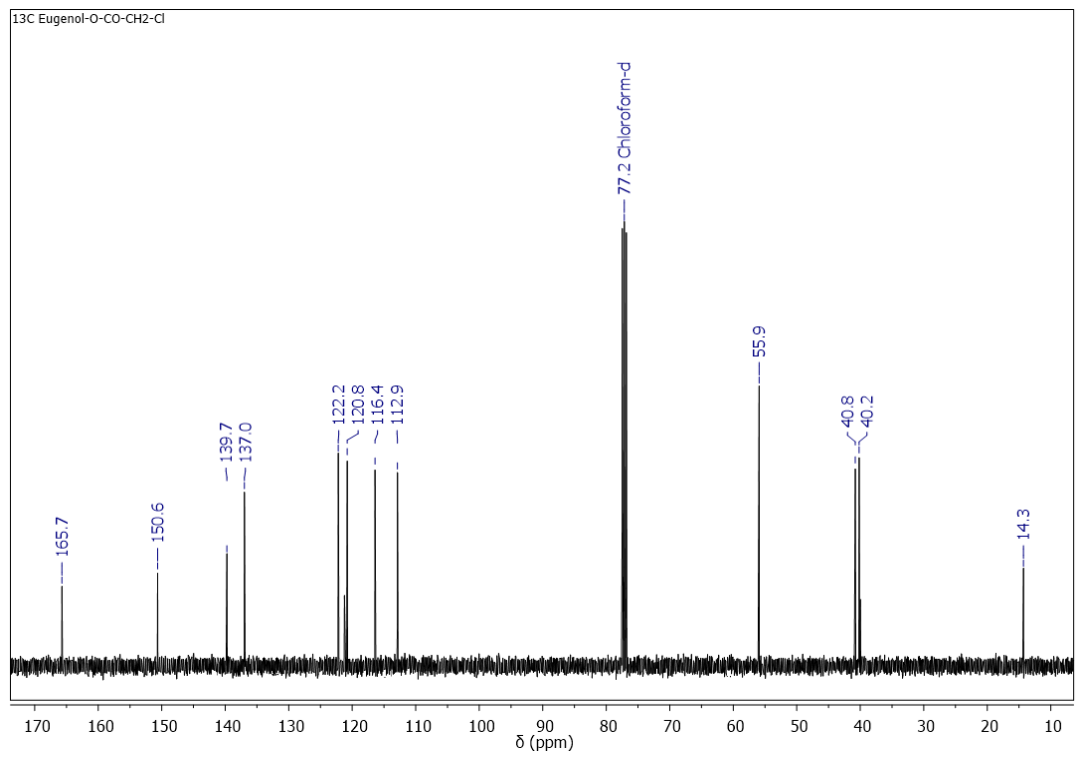


Espectro de IR para el cloroacetato **2c**.

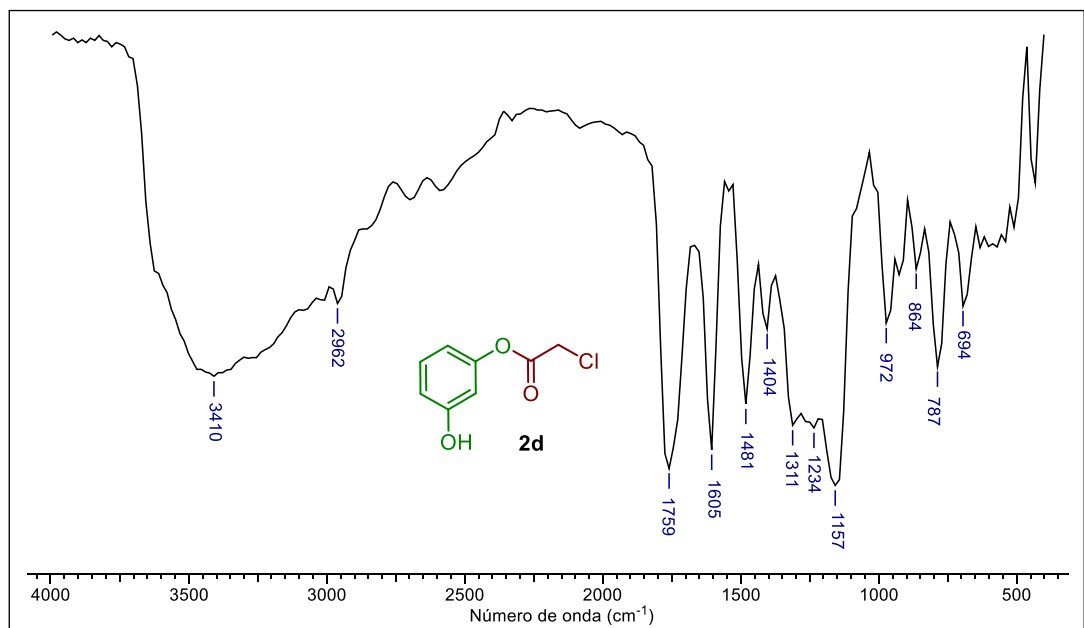


Espectro de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  para el cloroacetato **2c**.

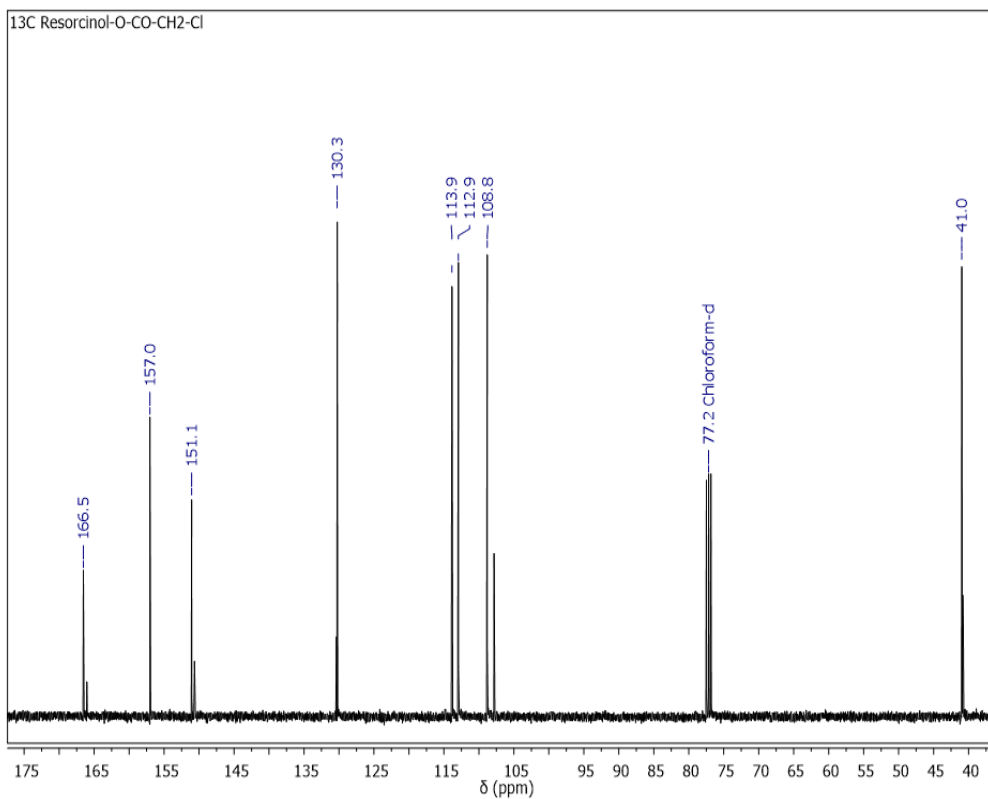
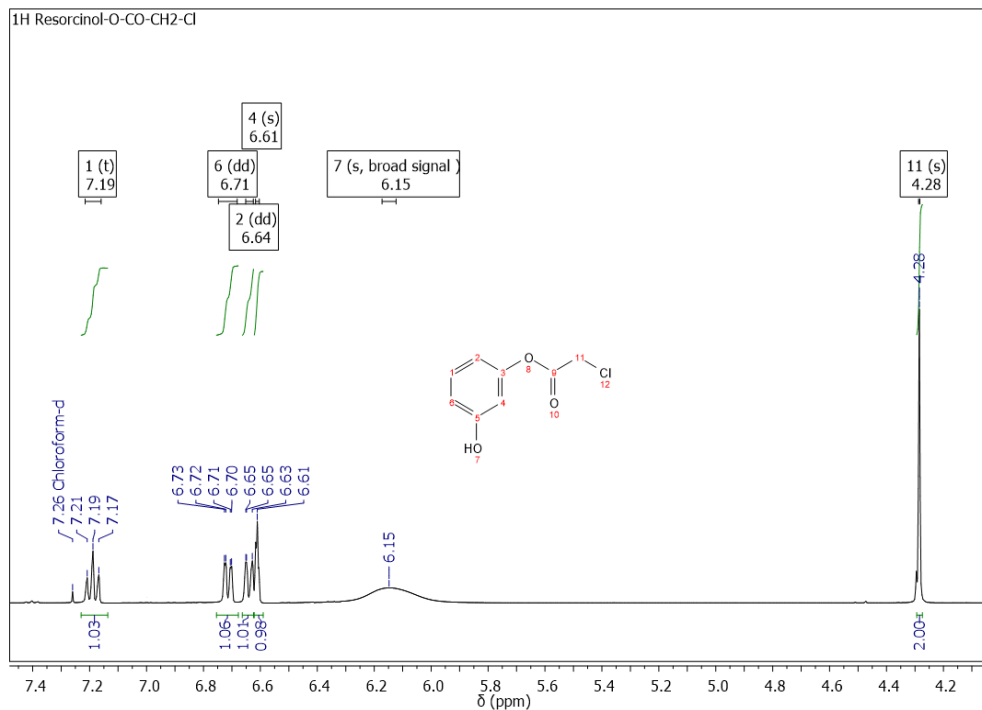




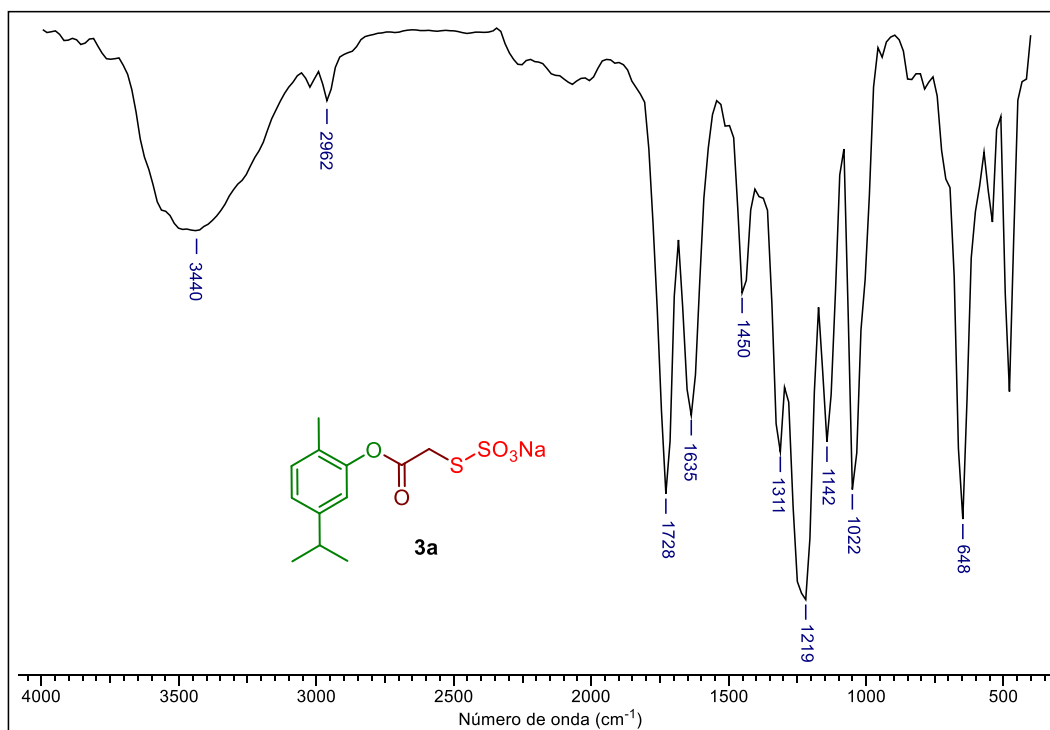
Espectro de IR para el cloroacetato **2d**.



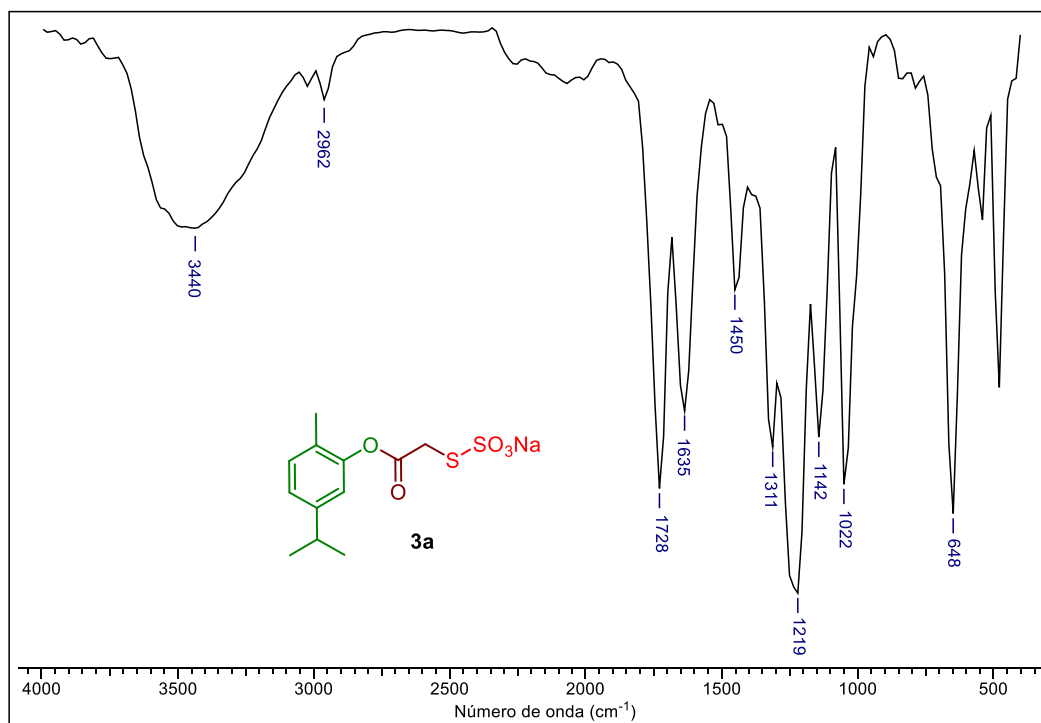
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  para el cloroacetato **2d**.



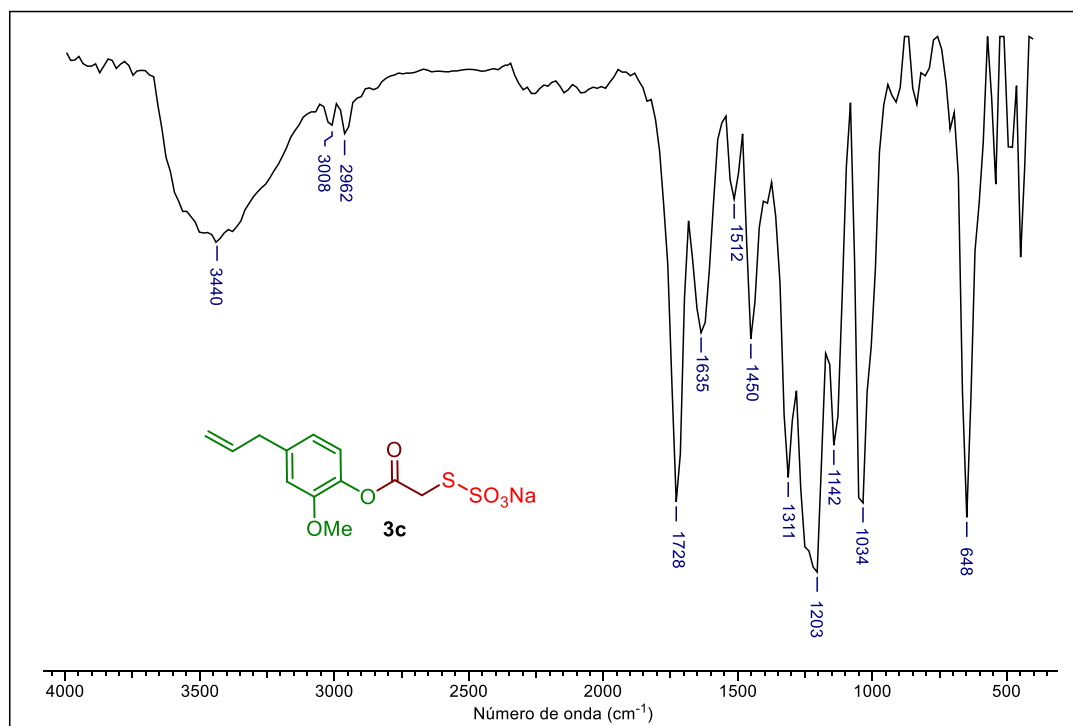
Espectro de IR para la sal de Bunte **3a**.



Espectro de IR para la sal de Bunte **3b**.



Espectro de IR para la sal de Bunte **3c**.



Espectro de IR para la sal de Bunte **3d**.

