

UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

**SÍNTESIS DE PUNTOS CUÁNTICOS  
DE CARBONO OBTENIDOS A PARTIR  
DE CÁSCARA DE CHONTADURO:  
FUNCIONALIZACIÓN CON  
BIOMOLÉCULAS Y APLICACIÓN EN  
LA DETECCIÓN DE IONES  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$   
y  $\text{As}^{3+}$**

**Brayan Stiven Gómez Piñeros**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias, Departamento de Química  
Bogotá, Colombia

2024



# **SÍNTESIS DE PUNTOS CUÁNTICOS DE CARBONO OBTENIDOS A PARTIR DE CÁSCARA DE CHONTADURO: FUNCIONALIZACIÓN CON BIOMOLÉCULAS Y APLICACIÓN EN LA DETECCIÓN DE IONES $\text{Hg}^{2+}$ , $\text{Pb}^{2+}$ y $\text{As}^{3+}$**

**Brayan Stiven Gómez Piñeros**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

**Doctor en Ciencias-Químicas**

Directora:

Ph.D., Gilma Granados Oliveros

Línea de Investigación:

Nanomateriales con aplicación ambiental

Grupo de Investigación:

Nano-inorgánica

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química

Bogotá, Colombia

2024

IV Síntesis de puntos cuánticos de carbono obtenidos a partir de cáscara de  
chontaduro: Funcionalización con biomoléculas y aplicación en la detección de iones  
 $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$

---

(Dedicatoria)

*A mi familia*

*Por ser el motor que día a día me ha dado fuerza para continuar en este arduo, pero fructífero camino, porque nunca dejaron de creer en mí y en este propósito. Gracias a ellos hoy he podido terminar esta investigación y escribir mi tesis.*

*A mi esposa*

*Por su comprensión, apoyo y amor. Porque cada día y cada segundo me motivaste a dar lo mejor de mí, porque nunca dejaste de creer y cuando no podía me dabas ese soplo de inspiración y de lucha.*

*Gracias a ustedes hoy es posible.*

## **Agradecimientos**

Los autores agradecen al grupo de investigación Nuevos Materiales Nano y Supramoleculares del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia por las mediciones de fluorescencia estacionaria y al profesor Sebastián Bello del Laboratorio de Fotoquímica de la Universidad Federal de Río de Janeiro por las mediciones de fluorescencia resuelta en el tiempo.



## Resumen

### SÍNTESIS DE PUNTOS CUÁNTICOS DE CARBONO OBTENIDOS A PARTIR DE CÁSCARA DE CHONTADURO: FUNCIONALIZACIÓN CON BIOMOLÉCULAS Y APLICACIÓN EN LA DETECCIÓN DE IONES $\text{Hg}^{2+}$ , $\text{Pb}^{2+}$ y $\text{As}^{3+}$

En diversos países a nivel mundial donde se practican actividades industriales, los iones mercurio ( $\text{Hg}^{2+}$ ), plomo ( $\text{Pb}^{2+}$ ) y arsénico ( $\text{As}^{3+}$ ) altamente tóxicos se liberan incontrolablemente al medio ambiente. Detectar los iones  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  con buena sensibilidad y selectividad es de gran importancia. En este trabajo, se reporta por primera vez la obtención de manera fácil y de bajo costo de puntos cuánticos de carbono dopados con nitrógeno (N-CQDs) a partir de cáscaras de chontaduro (*Bactris gasipaes*), mediante la síntesis en un solo paso asistida por microondas. Estos materiales mostraron alta solubilidad en agua y un rendimiento cuántico de fluorescencia en el visible del 20,5%. Se realizó la modificación de la superficie de los N-CQDs con *L*-cisteína (N-CQDs/CYS), *L*-histidina (N-CQDs/HIS) y *L*-fosfoserina (N-CQDs/FOS), mediante una reacción química (conocida como acoplamiento de amida) entre los grupos amino de los aminoácidos y los grupos carboxilo de los N-CQDs, este acoplamiento fue caracterizado mediante FT-IR y XPS. Las nanopartículas de N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS también exhibieron alta solubilidad en agua, y se caracterizaron mediante UV-VIS y fluorescencia, obteniendo un rendimiento cuántico de fotoluminiscencia ( $\Phi_{\text{FL}}$ ) del 25,4 %, 23,0%, 19,9% y una superficie con grupos tiol (de la *L*-cisteína), grupos imidazol (de la *L*-histidina) y grupos fosfato (de la *L*-fosfoserina) correspondientemente.

Los N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS detectaron eficientemente los iones  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  respectivamente (en medio acuoso) lo cual se comprobó por medio de la disminución de su fluorescencia, reportando para los N-CQDs/CYS una sensibilidad de  $4,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  con un límite de detección (LD) de  $0.20 \mu\text{M}$ , para los N-CQDs/HIS una sensibilidad de  $1,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  con un LD de  $0.070 \mu\text{M}$  y para los N-CQDs/FOS una



sensibilidad de  $3,0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  con un LD de  $0.34 \mu\text{M}$ . Los N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS evidenciaron una mayor selectividad a los iones  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  correspondientemente sin interferentes significativos que los afecten, excepto para los N-CQDs/HIS que tuvieron como interferentes el  $\text{Cu}^{2+}$  y el  $\text{Cd}^{2+}$ .

La funcionalización estratégica en la superficie de los N-CQDs con aminoácidos *L*-cisteína, *L*-histidina y *L*-fosfoserina, les brindó una eficiente detección, elevada sensibilidad y selectividad a los N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS. Se realizaron mediciones de fluorescencia resuelta en el tiempo para estudiar la forma en que ocurría el apagado de la fluorescencia, cuando estaban los iones  $\text{Hg}^{2+}$  presentes en los N-CQDs/CYS se evidenció un mecanismo de *quenching* de fluorescencia estático, debido a la formación de un complejo de coordinación no fluorescente en el estado basal entre los iones  $\text{Hg}^{2+}$  y el grupo tiolato de los N-CQDs/CYS. Asimismo, la presencia de los iones  $\text{Pb}^{2+}$  en los N-CQDs/HIS genera un *quenching* de fluorescencia estático debido a la formación de un complejo de coordinación entre los iones  $\text{Pb}^{2+}$  y el grupo imidazol de los N-CQDs/HIS. Finalmente, la presencia de los iones  $\text{As}^{3+}$  en los N-CQDs/FOS generó también un *quenching* de fluorescencia estático debido a la coordinación de los iones  $\text{As}^{3+}$  al grupo fosfato de los N-CQDs/FOS. Los resultados indican que los nuevos materiales N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS, al ser modificados superficialmente dirigieron la selectividad a los iones  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  correspondientemente, dotándolos de gran potencial para ser usados en la detección fluorescente de manera selectiva, sensible, de estos iones en medio acuoso de una forma fácil y económica.

**Palabras clave: Chontaduro, Quenching Estático, Fluorescencia, Puntos Cuánticos de Carbono**



## Abstract

### **SYNTHESIS OF CARBON QUANTUM DOTS FROM PEACH PALM PEELS: FUNCTIONALIZATION WITH BIOMOLECULES AND APPLICATION IN $\text{Hg}^{2+}$ , $\text{Pb}^{2+}$ and $\text{As}^{3+}$ IONS DETECTION**

In many countries around the world where industrial activities are practiced, highly toxic mercury ( $\text{Hg}^{2+}$ ), lead ( $\text{Pb}^{2+}$ ) and arsenic ( $\text{As}^{3+}$ ) ions are released uncontrollably into the environment. Establishing an effective strategy for the determination of  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{As}^{3+}$  with good sensitivity and selectivity is of great importance.

In this work, the easy and low-cost preparation of nitrogen-doped carbon quantum dots (N-CQDs) from peach palm peels (*Bactris gasipaes*) is reported for the first time by using a one-step microwave-assisted synthesis. These materials showed high water solubility and a visible fluorescence quantum yield of 20.5%. The surface of the N-CQDs was modified with L-cysteine (N-CQDs/CYS), L-histidine (N-CQDs/HIS) and L-phosphoserine (N-CQDs/FOS), using a chemical reaction (known as amide coupling) between the amino groups of the amino acids and the carboxyl groups of the N-CQDs. This coupling was characterized by FT-IR and XPS. The N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS and N-CQDs/FOS nanoparticles also exhibited high water solubility and were characterized by UV-VIS and fluorescence, showing a photoluminescence quantum yield ( $\Phi_{\text{FL}}$ ) of 25.4%, 23.0%, 19.9% and a surface with thiol groups (from L-cysteine), imidazole groups (from L-histidine) and phosphate groups (from L-phosphoserine) respectively.

The N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS and N-CQDs/FOS efficiently detected  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{As}^{3+}$  ions respectively (in aqueous medium) through the decrease in their fluorescence, reporting for the N-CQDs/CYS a sensitivity of  $4.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  with a detection limit (LD) of

0.20 $\mu$ M, for the N-CQDs/HIS a sensitivity of  $1.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  with a LD of 0.070 $\mu$ M and for the N-CQDs/FOS a sensitivity of  $3.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  with a LD of 0.34 $\mu$ M. The N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS and N-CQDs/FOS were correspondingly selective for  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{As}^{3+}$  ions with no significant interfering agents, except for the N-CQDs/HIS which had  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  as interfering agents.

The strategic functionalization of the N-CQDs surface with L-cysteine, L-histidine and L-phosphoserine amino acids provided N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS and N-CQDs/FOS with efficient detection, high sensitivity and selectivity. Time-resolved fluorescence measurements were performed to study the way in which fluorescence quenching occurred. When  $\text{Hg}^{2+}$  ions were present in the N-CQDs/CYS, a static fluorescence quenching mechanism was evidenced, due to the formation of a non-fluorescent coordination complex in the ground state between the  $\text{Hg}^{2+}$  ions and the thiolate group of the N-CQDs/CYS. Likewise, the presence of  $\text{Pb}^{2+}$  ions in the N-CQDs/HIS generates a static fluorescence quenching due to the formation of a coordination complex between the  $\text{Pb}^{2+}$  ions and the imidazole group of the N-CQDs/HIS. Finally, the presence of  $\text{As}^{3+}$  ions in the N-CQDs/FOS also generated a static fluorescence quenching due to the coordination of the  $\text{As}^{3+}$  ions to the phosphate group of the N-CQDs/FOS. These results indicate that the new N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS and N-CQDs/FOS materials which were surface modified, guided the selectivity to the  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{As}^{3+}$  ions respectively, providing them great potential to be used in the selective and sensitive fluorescent detection of these ions in aqueous medium in an easy and economical way.

**Keywords:** Peach palm, static quenching, fluorescence, carbon quantum dots.



# Contenido

	Pág.
<b>1. Marco teórico y estado del arte</b> .....	<b>5</b>
1.1 Fundamentos de los CQDs .....	5
1.2 CQDs: dopaje y funcionalización .....	6
1.3 Métodos de síntesis y precursores de los CQDs .....	8
1.3.1 Cáscara de chontaduro y posible mecanismo de formación para la obtención de los CQDs .....	10
1.4 Propiedades ópticas de los CQDs .....	11
1.4.1 Disminución de la fluorescencia de los CQDs por iones metálicos .....	13
1.4.2 Modelo de Stern-Volmer y parámetros analíticos .....	14
1.5 Detección de los iones $\text{Hg}^{2+}$ , $\text{Pb}^{2+}$ y $\text{As}^{3+}$ usando CQDs .....	15
1.5.1 CQDs usados para la detección de iones $\text{Hg}^{2+}$ .....	15
1.5.2 CQDs usados para la detección de iones $\text{Pb}^{2+}$ .....	16
1.5.3 CQDs usados para la detección de iones $\text{As}^{3+}$ .....	17
<b>2. Metodología</b> .....	<b>19</b>
2.1 Materiales y reactivos .....	19
2.2 Síntesis de los N-CQDs .....	19
2.2.1 Funcionalización de los N-CQDs .....	20
2.3 Caracterización de los N-CQDs y de los N-CQDs funcionalizados .....	21
2.4 Aplicación de los N-CQDs funcionalizados .....	23
2.5 Evaluación del efecto de otros iones en las propiedades fluorescentes de los N-CQDs funcionalizados .....	23
2.6 Determinación del mecanismo de detección de los N-CQDs funcionalizados ..	24
<b>3. Resultados y discusión</b> .....	<b>27</b>
3.1 Caracterización .....	27
3.2 Aplicación de los N-CQDs/CYS en la detección de los iones $\text{Hg}^{2+}$ .....	45
3.3 Evaluación del efecto de otros iones en las propiedades fluorescentes de los N-CQDs/CYS .....	46
3.4 Determinación del mecanismo de detección de $\text{Hg}^{2+}$ de los N-CQDs/CYS .....	50
3.5 Aplicación de los N-CQDs/HIS en la detección de los iones $\text{Pb}^{2+}$ .....	52
3.6 Evaluación del efecto de otros iones en las propiedades fluorescentes de los N-CQDs/HIS .....	53
3.7 Determinación del mecanismo de detección de $\text{Pb}^{2+}$ de los N-CQDs/HIS .....	56
3.8 Aplicación de los N-CQDs/FOS en la detección de los iones $\text{As}^{3+}$ .....	58
3.9 Evaluación del efecto de otros iones en las propiedades fluorescentes de los N-CQDs/FOS .....	59
3.10 Determinación del mecanismo de detección de $\text{As}^{3+}$ de los N-CQDs/FOS .....	62

<b>4. Conclusiones y recomendaciones .....</b>	<b>69</b>
4.1 Conclusiones .....	69

## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 1-1:</b> Representación esquemática de los CQDs.....	6
<b>Figura 1-2:</b> Representación esquemática de los N-CQDs.....	7
<b>Figura 1-3:</b> Representación esquemática de la funcionalización a través de una reacción de acoplamiento de amida .....	8
<b>Figura 1-4:</b> Etapas para la obtención de CQDs a partir de precursores carbonáceos. 11	11
<b>Figura 1-5:</b> Espectros de absorción y fluorescencia de CQDs con diferente grado de oxidación. 12	12
<b>Figura 1-6:</b> Emisión multicolor en función del grado de oxidación y sus diferentes trampas de energía superficiales.....	13
<b>Figura 1-7:</b> Estructuras de las diferentes biomoléculas (aminoácidos) con las que se funcionalizaron los N-CQDs, (A) <i>L</i> -cisteína, (B) <i>L</i> -histidina y (C) <i>L</i> -fosfoserina.....	18
<b>Figura 2-1:</b> Esquema de la síntesis de los N-CQDs en medio acuoso. ....	20
<b>Figura 2-2:</b> Esquema de la síntesis de los CQDs en medio acuoso. ....	20
<b>Figura 2-3:</b> Esquema de la activación y posterior reacción de acoplamiento de amida de los N-CQDs. ....	21
<b>Figura 2-4:</b> Diagrama metodológico general. ....	25
<b>Figura 3-1:</b> (A) Espectros UV-VIS y de fluorescencia excitando a 360 nm. (B) Espectros de fluorescencia excitando a diferentes longitudes de onda. ....	30
<b>Figura 3-2:</b> (A) Curvas de decaimiento de los N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS excitando a 340 nm. (B) Fotos de una dispersión acuosa de los N-CQDs/CYS bajo luz del sol (izquierda) e irradiación UV (derecha).....	31
<b>Figura 3-3:</b> Difractogramas de los CQDs, N-CQDs, N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS. ....	32
<b>Figura 3-4:</b> (A) Imagen TEM y HRTEM (recuadro) y (B) Distribución de tamaño de los N-CQDs; (C) Imagen TEM y HRTEM (recuadro) y (D) Distribución de tamaño de los N-CQDs/CYS; (E) Imagen TEM y HRTEM (recuadro) y (F) Distribución de tamaño de los N-CQDs/HIS y (G) Imagen TEM y HRTEM (recuadro) y (H) Distribución de tamaño de los N-CQDs/FOS. ....	33
<b>Figura 3-5:</b> Espectros FT-IR de (A) CQDs, (B) N-CQDs, (C) N-CQDs/CYS, (D) N-CQDs/HIS y (E) N-CQDs/FOS. ....	36
<b>Figura 3-6:</b> Distribuciones de potenciales Z de (A) CQDs, (B) N-CQDs, (C) N-CQDs/CYS, (D) N-CQDs/HIS y (E) N-CQDs/FOS. ....	37



- Figura 3-7:** (A) Espectro XPS completo de los N-CQDs. (B-D) Espectro XPS de alta resolución del C1s, N1s y O1s de los N-CQDs. .... 38
- Figura 3-8:** (A) Espectro XPS completo de los N-CQDs/CYS. (B-E) Espectro XPS de alta resolución del S2p, C1s, N1s y O1s de los N-CQDs/CYS..... 40
- Figura 3-9:** (A) Espectro XPS completo de los N-CQDs/HIS. (B-D) Espectro XPS de alta resolución del C1s, N1s y O1s de los N-CQDs/HIS..... 42
- Figura 3-10:** (A) Espectro XPS completo de los N-CQDs/FOS. (B-E) Espectro XPS de alta resolución del P2p, C1s, N1s y O1s de los N-CQDs/FOS. .... 44
- Figura 3-11:** Esquema de las estructuras simplificadas de los (A) N-CQDs/CYS. (B) N-CQDs/HIS y (C) N-CQDs/FOS..... 45
- Figura 3-12:** (A) Intensidad del espectro de fluorescencia de los N-CQDs/CYS a diferentes concentraciones de  $\text{Hg}^{2+}$  de 0 y 35  $\mu\text{M}$ . (B) Fotos de una dispersión acuosa de los N-CQDs/CYS con y sin presencia de  $\text{Hg}^{2+}$ . (C) Relación de Stern Volmer entre la intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/CYS y la concentración de  $\text{Hg}^{2+}$ . (D) Intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/CYS después de agregar diferentes iones metálicos. 49
- Figura 3-13:** (A) Curvas de decaimiento fluorescente. (B) Espectros de absorción. (C) FT-IR normalizado de N-CQDs/CYS y N-CQDs/CYS +  $\text{Hg}^{2+}$ . (D) Esquema simplificado del mecanismo detección de  $\text{Hg}^{2+}$  por los N-CQDs/CYS..... 52
- Figura 3-14:** (A) Intensidad del espectro de fluorescencia de los N-CQDs/HIS a diferentes concentraciones de  $\text{Pb}^{2+}$  de 0 y 35  $\mu\text{M}$ . (B) Relación de Stern Volmer entre la intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/HIS y la concentración de  $\text{Pb}^{2+}$ . (C) Intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/HIS después de agregar diferentes iones metálicos. 55
- Figura 3-15:** (A) Curvas de decaimiento fluorescente. (B) Espectros de absorción. (C) Esquema simplificado del mecanismo detección de  $\text{Pb}^{2+}$  por los N-CQDs/HIS..... 58
- Figura 3-16:** (A) Intensidad del espectro de fluorescencia de los N-CQDs/FOS a diferentes concentraciones de  $\text{As}^{3+}$  de 0 y 35  $\mu\text{M}$ . (B) Relación de Stern Volmer entre la intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/FOS y la concentración de  $\text{As}^{3+}$ . (C) Intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/FOS después de agregar diferentes iones metálicos. 61
- Figura 3-17:** (A) Espectros de absorción. (B) Curvas de decaimiento fluorescente. (C) Espectros RMN  $^{31}\text{P}$  normalizados. (D) Esquema simplificado del mecanismo detección de  $\text{As}^{3+}$  por los N-CQDs/FOS..... 64



## Lista de tablas

**Pág.**

<b>Tabla 3-1:</b> Dureza absoluta experimental ( $\eta$ ) [110]. .....	47
--	----

# Lista de Símbolos y abreviaturas

## Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término
$A_s$	Absorbancia del estándar
$A_x$	Absorbancia de la muestra
$As^{3+}$	Iones Arsénico
$CdCl_2$	Cloruro de Cadmio
$cm^{-1}$	Recíproca de centímetros
$CoCl_2$	Cloruro de Cobalto
$CuCl_2$	Cloruro de Cobre
$eV$	Electronvoltios
$h$	Horas
$HgCl_2$	Cloruro de Mercurio
$Hg^{2+}$	Iones Mercurio
$HNO_3$	Ácido Nítrico
$H_3BO_3$	Ácido Bórico
$I$	Intensidad de fluorescencia en presencia del quencher
$I_0$	Intensidad de fluorescencia en ausencia del quencher
$I_s$	Área bajo el pico de emisión del estándar
$I_x$	Área bajo el pico de emisión de la muestra

<b>Símbolo</b>	<b>Término</b>
<i>kDa</i>	kiloDalton
<i>K<sub>sv</sub></i>	Constante de Stern Volmer
<i>mmol</i>	Milimoles
<i>MnCl<sub>2</sub></i>	Cloruro de Manganeso
<i>M<sup>-1</sup></i>	Recíproca de molaridad
<i>mV</i>	Milivoltios
<i>n</i>	Índice de refracción del disolvente
<i>ns</i>	Nanosegundos
<i>PbCl<sub>2</sub></i>	Cloruro de Plomo
<i>Pb<sup>2+</sup></i>	Iones Plomo
<i>[Q]</i>	Concentración del quencher
<i>t<sub>FL</sub></i>	Tiempo de vida de fluorescencia promedio
<i>ZnCl<sub>2</sub></i>	Cloruro de Zinc

### **Símbolos con letras griegas**

<b>Símbolo</b>	<b>Término</b>
$\eta$	Dureza
$\lambda_{ex}$	Longitud de onda de excitación
$\mu\text{g/L}$	Microgramo por litro
$\mu\text{M}$	Micromolar
$\tau_{FL}$	Tiempo de vida de fluorescencia promedio
$\tau_1$	Componente rápido
$\tau_2$	Componente lento

<b>Símbolo</b>	<b>Término</b>
$\sigma_{blanco}$	Desviación estándar del blanco
$\Phi_{FL}$	Rendimiento Cuántico de Fluorescencia
$\Phi_s$	Rendimiento Cuántico del estándar
$\Phi_x$	Rendimiento Cuántico de la muestra

## Abreviaturas

<b>Abreviatura</b>	<b>Término</b>
CQDs	Carbon Quantum Dots
CYS	<i>L</i> -cisteína
EDA	Etilendiamina
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida
FOS	<i>L</i> -fosfoserina
FT-IR	Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier
HIS	<i>L</i> -histidina
HR-TEM	Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución
HSAB	Hard Soft Acid Base
LD	Límite de detección
N-CQDs	Nitrogen Carbon Quantum Dots
N-CQDs/CYS	Puntos Cuánticos de carbono dopados con nitrógeno y funcionalizados con <i>L</i> -cisteína
N-CQDs/FOS	Puntos Cuánticos de carbono dopados con nitrógeno y funcionalizados con <i>L</i> -fosfoserina
N-CQDs/HIS	Puntos Cuánticos de Carbono dopados con Nitrógeno y funcionalizados con <i>L</i> -histidina

**Abreviatura Término**

---

<i>NHS</i>	N-hidroxisuccinimida
<i>NPs</i>	Nanopartículas
<i>PL</i>	Fotoluminiscencia
<i>TEF</i>	Transferencia Electrónica Fotoinducida
<i>UV-VIS</i>	Ultravioleta Visible
<i>XPS</i>	Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X
<i>XRD</i>	Difracción de Rayos X

# Introducción

Los metales pesados son elementos de naturaleza metálica que pertenecen a las familias de los metales de transición, metaloides, actínidos y lantánidos (reporte técnico de la IUPAC) [1]. Se caracterizan por tener pesos atómicos entre 63.5 y 200.6 g/mol, alta densidad (generalmente mayor a 4 g/cm<sup>3</sup>), y toxicidad a bajas concentraciones. Entre los metales pesados se encuentran por ejemplo el hierro, cobre, zinc, mercurio, plomo, arsénico, entre otros [2,3]. Por lo general, se considera que estos metales son perjudiciales, pero muchos resultan esenciales para el crecimiento de plantas y animales. Por otro lado, el mercurio, plomo y arsénico se caracterizan por ser metales pesados sumamente tóxicos incluso a concentraciones tan bajas como 15 µg/L [4–6].

El mercurio, es conocido como la neurotoxina más potente que afecta la fisiología humana, siendo los iones Hg<sup>2+</sup> su forma más letal. De hecho, el envenenamiento por mercurio, estrechamente ligado a la contaminación ambiental, se ha asociado con diversas enfermedades del sistema nervioso central [7–9]. El plomo es ampliamente utilizado en pigmentos, tuberías de agua, baterías de almacenamiento, etc. Específicamente, los iones Pb<sup>2+</sup> se acumulan fácilmente en el sistema nervioso y cardiovascular humano generando problemas en la salud [10]. Por otro lado, los iones As<sup>3+</sup> han evidenciado una amplia gama de acciones venenosas [6]. Debido a su alta toxicidad, obtener un método de detección económico, fácil de usar y con buena selectividad a estos iones metálicos pesados es sumamente importante.

Técnicas tradicionales que incluyen, espectroscopia de absorción/emisión atómica, espectroscopia Auger, espectrometría de masas y espectroscopia de absorción de rayos X, requieren de equipos sofisticados y la preparación de las muestras tiende a ser compleja. Además, se caracterizan por ser costosos, de difícil acceso y largos tiempos de análisis. Por otra parte, La detección de metales pesados usando sensores ópticos tiene varias ventajas, como lo son su rápido y bajo costo de análisis, y no requerir de equipos sofisticados o de difícil acceso [11–13].



Hasta el momento, se han desarrollado diferentes sensores ópticos para la detección de iones metálicos pesados, como por ejemplo moléculas orgánicas, nanopartículas (NPs) metálicas y puntos cuánticos inorgánicos [13–15]. Sin embargo, todos estos materiales mencionados tienen diferentes desventajas ya que pueden sufrir de complejas rutas de síntesis que involucran precursores caros o tóxicos. Además, también pueden poseer baja estabilidad a la luz y al agua, siendo susceptibles a aglomerarse en medio acuoso y foto-oxidarse perdiendo así sus propiedades ópticas [16,17].

Es importante resaltar que nuestro grupo de investigación patentó por primera vez en Colombia el único método de detección óptico de iones mercurio usando puntos cuánticos, que serán de gran utilidad para investigar problemáticas ambientales en el país relacionadas al mercurio [18].

Los puntos cuánticos de carbono o por sus siglas en inglés CQDs (Carbon Quantum Dots), son un nuevo miembro de nanopartículas de carbono que han atraído mayor interés de los investigadores [10]. Se caracterizan por tener una estructura esférica con un tamaño inferior a los 10 nm, tienen diferentes propiedades ópticas (absorción y fluorescencia) y se destacan por presentar elevada fluorescencia en el visible. Además, de que la fluorescencia emitida depende de la longitud de onda de excitación [19]. Adicionalmente, se resalta el hecho de que los CQDs pueden ser preparados de manera sencilla y directa con materiales precursores económicos, renovables y ambientalmente amigables [20,21].

Los CQDs pueden ser obtenidos a partir de carbón [21], nanotubos de carbono [22], moléculas orgánicas y biopolímeros [23–25]. Recientemente se han dedicado grandes esfuerzos en la obtención de estas nanopartículas a partir de fuentes naturales como vegetales y frutas [12,26,27]. Sin embargo, todavía hay pocos trabajos en el aprovechamiento de residuos provenientes de fuentes naturales, como las cáscaras de frutas para la obtención de CQDs y ninguno utilizando cáscara de chontaduro (*Bactris gasipaes*), siendo estrategias de síntesis verde, económica y de baja toxicidad [27].

La cáscara de chontaduro es un residuo orgánico que tienen dentro de su composición diferentes compuestos que bajo condiciones adecuadas pueden ser precursores carbonáceos de CQDs [28]. Adicionalmente, los CQDs pueden ser obtenidos a partir de

calentamiento por irradiación con microondas de una fuente carbonácea, presentando diferentes ventajas en la síntesis como, por ejemplo, calentamiento rápido y homogéneo que genera un ahorro de tiempo y energía, optimización de rendimientos y condiciones de reacción [29–31].

Además, para mejorar las propiedades ópticas, los CQDs pueden ser dopados con nitrógeno para formar los N-CQDs [32]. Sin embargo, estos CQDs no poseen sitios de reconocimiento superficial que generen cierta afinidad a un analito de interés, por tal motivo, para aumentar la afinidad hacia un analito, los N-CQDs pueden ser modificados superficialmente (funcionalizados) con moléculas estratégicas dotándolos de mayor selectividad y reconocimiento hacia un analito para su posterior detección [21,33]. La funcionalización de los N-CQDs se puede hacer con biomoléculas, en este caso aminoácidos como *L*-cisteína (CYS) una base blanda, *L*-histidina (HIS) una base intermedia o *L*-fosfoserina (FOS) una base dura, lo que les podrían brindar mayor afinidad a los iones metálicos como  $\text{Hg}^{2+}$  (ácido blando),  $\text{Pb}^{2+}$  (ácido intermedio) o  $\text{As}^{3+}$  (ácido duro) respectivamente. Esta mayor afinidad química se debe a la fuerte estabilidad que tiene los ácidos blandos, intermedios y duros con sus correspondientes bases blandas, intermedias y duras, que viene descrito en la teoría de Pearson, por sus siglas en inglés HSAB (Hard-Soft-Acid Base) [34–36].

Las destacadas propiedades de los N-CQDs, como su elevada fluorescencia y solubilidad, estabilidad en agua y a la irradiación con luz, además, de la posibilidad de ser funcionalizados superficialmente con biomoléculas estratégicas y la variación de sus propiedades ópticas (fluorescencia) en presencia de iones metálicos pesados, los hacen buenos candidatos para ser usados eficientemente en la detección fluorescente de los iones  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  de una forma sencilla y económica [37]. Sumado a lo anterior, los N-CQDs pueden ser sintetizados de forma sencilla usando precursores económicos, disponibles y de muy baja toxicidad, en contraste a los demás sensores basados en moléculas orgánicas, nanopartículas metálicas y puntos cuánticos inorgánicos.

Basado en todo lo anterior, en este trabajo se obtuvieron por primera vez puntos cuánticos de carbono dopados con nitrógeno (N-CQDs) a partir de las cáscaras de chontaduro (*Bactris gasipaes*) mediante irradiación con microondas. La superficie de los N-CQDs se funcionalizó mediante una reacción de acoplamiento de amida con aminoácidos como la

*L*-cisteína (N-CQDs/CYS), *L*-histidina (N-CQDs/HIS) y *L*-fosfoserina (N-CQDs/FOS), formando tres materiales N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS, que se aplicaron en la detección fluorescente de los iones  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  respectivamente, de manera sencilla y económica.

# 1. Marco teórico y estado del arte

## 1.1 Fundamentos de los CQDs

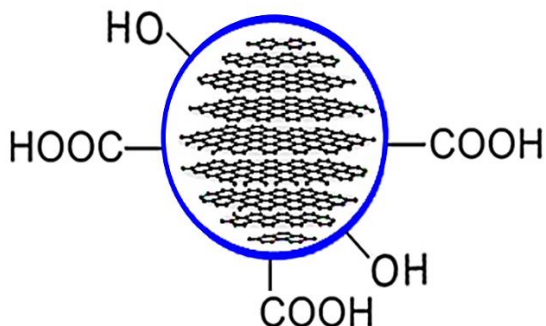
Los puntos cuánticos de carbono o por sus siglas en inglés CQDs (Carbon Quantum Dots) fueron descubiertos por primera vez aproximadamente hace 15 años [38]. Su descubrimiento fue un evento accidental, debido a que se obtuvieron de la síntesis de nanotubos de carbono por el método de arco-descarga. Los investigadores reportaron que habían obtenido carbono fluorescente y que diferentes fracciones de este material emitían diferentes colores. Adicionalmente, ellos hicieron reaccionar el material con  $\text{HNO}_3$ , reportando que había mejorado su solubilidad en agua y su fluorescencia. Ellos denominaron a este nuevo material como nanocristales de carbono [39].

Desde el momento de su descubrimiento los CQDs se han estudiado ampliamente, logrando elucidar algunas características importantes. No obstante, es importante resaltar que aún hay mucho por investigar y muchas de sus propiedades no tienen aún una explicación clara. Los CQDs son nanopartículas generalmente esféricas, fluorescentes y con un tamaño por lo general inferior a 10 nm [40]. Debido a su pequeño tamaño estas NPs de carbono, sufren del efecto de confinamiento cuántico. El confinamiento cuántico es un fenómeno que se da cuando partículas o un sistema de partículas cuánticas están limitadas en un espacio muy pequeño, por lo general nanométrico, bajo estas condiciones la energía de las partículas o del sistema dependen del tamaño afectando así sus propiedades ópticas [19]. Adicionalmente, debido a su tamaño nanométrico, la química de su superficie juega un papel fundamental, modificando considerablemente sus propiedades ópticas, eléctricas, estructurales y de solubilidad [32,41,42].

Los CQDs están compuestos de un núcleo carbonáceo, conformado por capas apiladas con estructura tipo grafeno [19]. Además de su núcleo rico en carbono éstos materiales pueden tener una superficie con grupos funcionales basados en oxígeno y/o nitrógeno [43–

45], como se puede ver en la figura 1-1. Estos grupos funcionales le aportan cierta solubilidad, estabilidad y modifican considerablemente las propiedades ópticas de los materiales.

**Figura 1-1:** Representación esquemática de los CQDs.



Nombre de la fuente: Autores

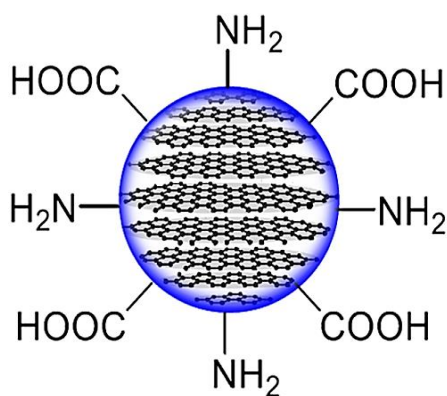
No hay que confundir a los CQDs con los puntos cuánticos de grafeno o por sus siglas en inglés GQDs (*Graphene Quantum Dots*). Aunque los GQDs han sido percibidos como entidades morfológicas distintas, su estructura y propiedades fotofísicas son similares a las de los CQDs. La mayor distinción entre GQDs y los CQDs se debe a la forma general de las nanopartículas, por un lado, los CQDs se constituyen por nanopartículas con forma isotrópicas (esféricas) que comprenden varias capas de grafeno, mientras que los GQDs tienen nanopartículas que adoptan forma de disco, comprendidas por pocas capas de grafeno. Adicionalmente, varios estudios destacan el uso principal de los métodos *top-down* (de arriba hacia abajo) para la fabricación de GQDs, en comparación con las técnicas de síntesis química *bottom-up* (de abajo hacia arriba) empleadas en el caso de los CQDs a partir de precursores moleculares [19].

## 1.2 CQDs: dopaje y funcionalización

Como ya se mencionó, los CQDs tienen un núcleo carbonáceo por lo general de tipo grafitico, compuesto de carbonos con hibridación  $\text{sp}^2$  y tienen fragmentos aromáticos provenientes de las capas tipo grafénicas [19,46]. Por otro lado, su superficie puede tener grupos funcionales que provienen de los heteroátomos de los precursores. Por lo general,

los precursores de los CQDs son ricos en carbono y oxígeno, pero tienen bajo contenido de nitrógeno (N). Lo anterior conlleva a que estas NPs tengan baja solubilidad, estabilidad y deficientes propiedades ópticas [21,33]. Por tal razón, los CQDs deben doparse con moléculas ricas en nitrógeno, como aminas. Los CQDs dopados con nitrógeno N-CQDs (ver Figura 1-2) por lo general tienen elevadas propiedades ópticas (fluorescencia) provenientes de los electrones no enlazantes de los grupos funcionales auxocromos principalmente amino ( $\text{NH}_2$ ) [33,42].

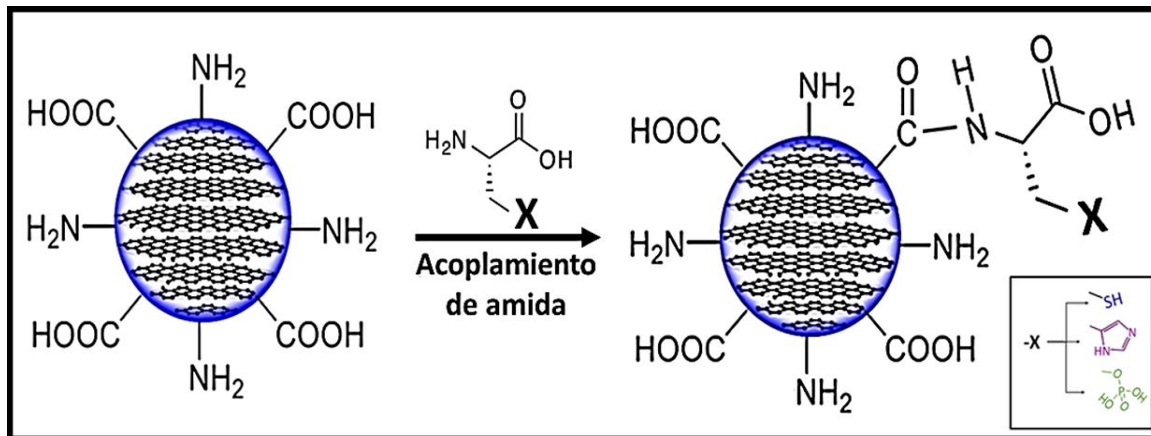
**Figura 1-2:** Representación esquemática de los N-CQDs.



Nombre de la fuente: Autores

La desventaja de los CQDs o N-CQDs en aplicaciones como sensores, es que comúnmente tienen una superficie rica en grupos funcionales tales como,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ , que les generan bajo reconocimiento a un analito o sitio de interés. Por tal razón, estos materiales pueden ser modificados superficialmente (funcionalizados) con moléculas que tengan cierta afinidad química a un analito para una aplicación en específico [21,33]. Para esto, las moléculas se pueden funcionalizar por medio de enlaces covalentes o no covalentes. En la modificación superficial por enlaces covalentes tenemos reacciones de acoplamiento de amida [47], esterificación [48], silanización [49], y sulfonación [50]. Por otro lado, por enlaces no covalentes, tenemos, modificación vía coordinación, interacción  $\pi$  y electrostática [33]. Todas estas estrategias de funcionalización de CQDs se han trabajado en la literatura, pero las que se usan con mayor frecuencia son las modificaciones covalentes, en especial la de acoplamiento de amida, como se puede ver en la figura 1-3.

**Figura 1-3:** Representación esquemática de la funcionalización a través de una reacción de acoplamiento de amida



Nombre de la fuente: Autores

### 1.3 Métodos de síntesis y precursores de los CQDs

La preparación de CQDs es muy versátil, éstos materiales se pueden obtener por diversos métodos y a partir de diferentes precursores. Como métodos de síntesis tenemos los métodos físicos y químicos. Entre los métodos físicos, está la síntesis por ablación láser y tratamiento con plasma [51,52]. Por otro lado, entre los métodos químicos tenemos la síntesis hidrotérmica, pirolisis y microondas. Cabe resaltar que en la actualidad los métodos químicos son los más usados [30,53,54], El calentamiento por irradiación con microondas parece ser más efectivo en comparación con el calentamiento convencional hidrotérmico, debido a que la irradiación con microondas proporciona un calentamiento interno energéticamente eficiente mediante el acoplamiento directo de la energía de microondas con los dipolos presentes en la mezcla de reacción, como por ejemplo el solvente que puede ser agua. Esta interacción directa da como resultado velocidades de calentamiento rápidas que no son reproducibles con el calentamiento convencional hidrotérmico [31], presentando diferentes ventajas en la síntesis como, por ejemplo, calentamiento rápido y homogéneo que genera un ahorro de tiempo y energía, optimización de rendimientos y condiciones de reacción [29–31].

Hoy en día, diferentes moléculas químicas, carbohidratos, polímeros y carbón se han usado como precursores para la obtención de CQDs. Por ejemplo, se ha reportado la

síntesis de CQDs a partir de ácido cítrico [52], ácido fólico [55], ácido ascórbico [56], glucosa [57], quitosán [58], polietilenglicol (PEG) [59], y carbón [60]. Pero el gran desafío se ha dirigido en la obtención de CQDs a partir de fuentes naturales como frutas y más aún en sus residuos, como por ejemplo las cáscaras.

Wang et al [56]., obtuvieron puntos cuánticos de carbono dopados con boro (B-CQDs) a partir de ácido ascórbico y ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) usando como solvente agua. La síntesis se realizó por el método hidrotermal, usando la autoclave y calentando a 180 °C por 9 h. Los B-CQDs obtenidos tuvieron un diámetro de 10 nm y una elevada fluorescencia. Siguiendo el enfoque anterior, Mohapatra et al [61]., prepararon puntos cuánticos de carbono dopados con nitrógeno y azufre (N, S-CQDs) por el método hidrotermal a partir de ácido 3-mercaptopropiónico y diferentes poliaminas (etilendiamina, dietilentriamina y trietilentetraamina), observando un aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\Phi_{FL}$ ) de las NPs a medida que se dopaba con la poliamina de mayor contenido de nitrógeno, manteniendo las mismas concentraciones.

Por otra parte, Sahu et al [46]., sintetizaron CQDs por el método hidrotermal, calentando a 120 °C por menos de 150 min, utilizando como precursor jugo de naranja que es rico en ácido ascórbico, ácido cítrico, y fructosa. Los CQDs obtenidos tuvieron un  $\Phi$  del 26 %, una alta fotoestabilidad y baja toxicidad. Siguiendo un enfoque parecido, Wang et al [27]., prepararon CQDs por un método verde e hidrotermal de un solo paso a partir de papaya como fuente natural de carbono. Las NPs de carbono obtenidas, tuvieron un  $\Phi$  del 18,98 % y fueron solubles en agua. Bandi et al [62]., obtuvieron N-CQDs usando como precursores bayas azules y la etilendiamina (EDA) como fuente de nitrógeno. Las NPs mencionadas fueron obtenidas por el método hidrotermal calentando a 180 °C en la autoclave por 10 h. La superficie de los N-CQDs obtenidos, poseían grupos funcionales ricos en nitrógeno como  $-NH_2$ , confiriéndoles excelentes propiedades fluorescentes con un elevado  $\Phi$  del 33,15 %.

Pocas son las publicaciones en las que se han usado cáscara de frutas como fuente de carbono para la obtención de CQDs a pesar de que es un residuo que por lo general se desecha en la basura. Lo anterior está impulsando en la actualidad a la obtención de los CQDs a partir de estos residuos. Teniendo en cuenta lo mencionado, Prasannan et al [63]., obtuvieron CQDs a partir de cáscara de naranjas por un método de carbonización



hidrotermal a una temperatura promedio de 180 °C. Las NPs obtenidas tuvieron naturaleza amorfa, una fluorescencia con un  $\Phi$  del 36 % y una superficie rica en grupos funcionales oxigenados como -OH y -COOH. De manera parecida, Zhou et al [54]., prepararon CQDs a través de pirolisis de cáscara de patilla utilizando baja temperatura. Los CQDs obtenidos tuvieron un  $\Phi$  del 7,1 % y un tamaño de partícula de 2 nm. Por otro lado, Lu et al [13]., reportaron una estrategia de preparación de CQDs solubles en agua, verde, simple y económica con un  $\Phi$  del 6,9%. Los CQDs fueron sintetizados a partir de cáscara de pomelo por el método hidrotermal, utilizando autoclave y calentamiento a 200 °C por un periodo de 3 h. Las NPs obtenidas tuvieron un tamaño en el rango de 2 a 4 nm, con una superficie rica en grupos funcionales oxigenados como -OH y -COOH.

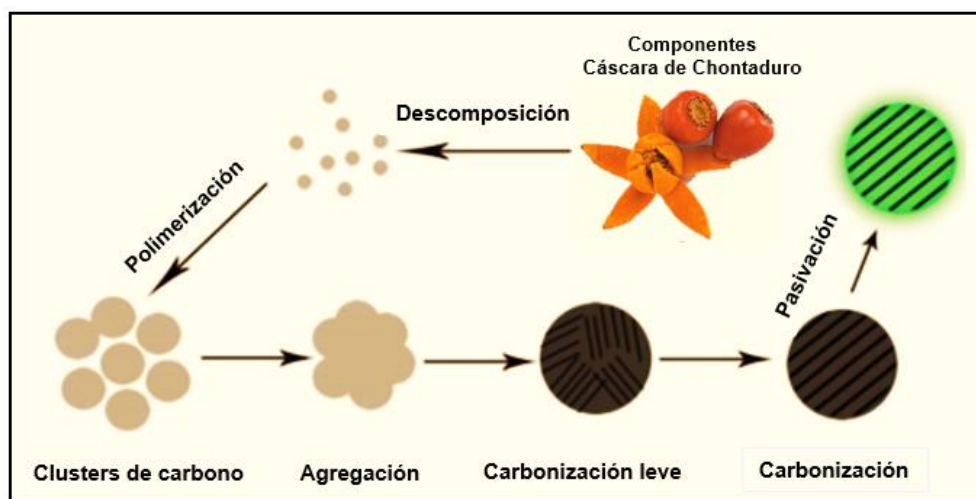
Como se puede observar, hasta la fecha no hay reportes de obtención de CQDs o N-CQDs a partir de chontaduro o de su cáscara a pesar de que es un residuo orgánico con elevado contenido carbonáceo que puede ser utilizado en la síntesis de estos materiales. A continuación, se hablará más detalladamente de la cáscara de chontaduro y su posible estrategia de uso como precursor en la obtención de los CQDs.

### **1.3.1 Cáscara de chontaduro y posible mecanismo de formación para la obtención de los CQDs**

El chontaduro (*Bactris gasipaes*) es una fruta autóctona de países tropicales, su cáscara por lo general no es usada con ningún fin y es desechada a la basura como un residuo orgánico. La cáscara de chontaduro corresponde al 11% del peso total del fruto y tiene un gran contenido de pigmentos (59,31 mg  $\beta$ -caroteno/100 g), fenoles (23,40 mg ácido gálico/100 g), ácidos grasos (13,47 %), proteínas (6,18 %), carbohidratos (62,81 %) y fibras (19,28 %) [28,64]. Los compuestos ya mencionados bajo condiciones adecuadas pueden ser precursores carbonáceos de los CQDs. Aunque los mecanismos de formación para la obtención de los CQDs aún no son muy claros, algunos investigadores han elucidado posibles mecanismos proponiendo diferentes etapas. Liu et al [65]., han propuesto cinco etapas para la obtención de CQDs dopados, como se puede observar en la figura 1-4. El proceso inicia con la descomposición de los precursores en moléculas con menor peso molecular, en la segunda etapa sucede una polimerización a través de los diferentes grupos funcionales, en la tercera etapa los polímeros se empiezan a agregar mediante

interacciones no covalente y covalentes formando *clústers* de carbono, en la cuarta etapa especialmente a mayores temperaturas los *clústers* de carbono se comienzan a carbonizar formando núcleos de carbono y finalmente en la quinta etapa estos núcleos de carbono son pasivados mediante la formación de grupos funcionales en la superficies de las NPs formando los CQDs dopados. Basado en todo lo anterior, los compuestos de la cáscara de chontaduro pueden sufrir una descomposición, polimerización, agregación, carbonización y pasivación en presencia de agua, aminas y calentamiento por irradiación con microondas para obtener posiblemente los N-CQDs.

**Figura 1-4:** Etapas para la obtención de CQDs a partir de precursores carbonáceos.



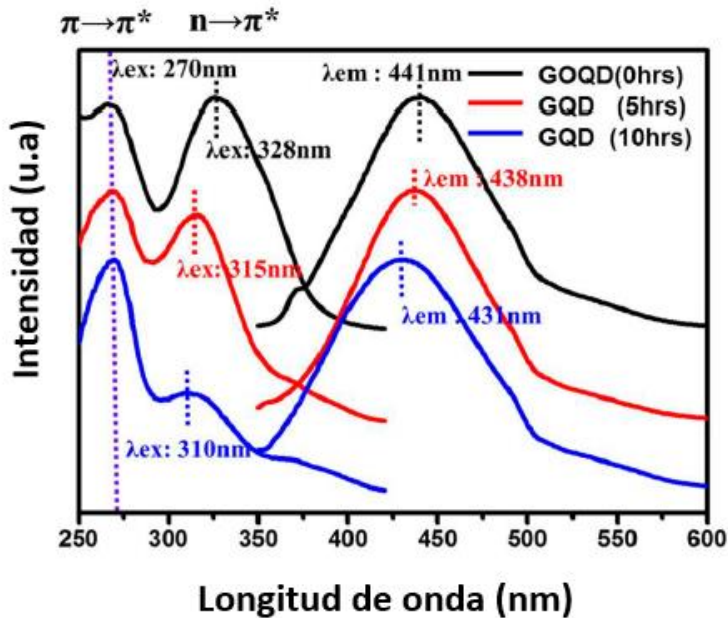
Nombre de la fuente: Adaptado de multifunctional N,S co-doped carbon quantum dots with pH- and thermo-dependent switchable fluorescent properties and highly selective detection of glutathione

## 1.4 Propiedades ópticas de los CQDs

Los CQDs tienen propiedades ópticas muy interesantes provenientes de su tamaño nanométrico y su enorme área superficial propensa a la oxidación [21]. Como ya se mencionó, los CQDs son nanopartículas comprendidas por un núcleo carbonáceo constituidos por varios planos grafénicos apilados entre sí [19]. Estos planos grafénicos tienen una alta conjugación proveniente de los enlaces  $\pi$  de los anillos aromáticos que los dota de una transición electrónica  $\pi$ - $\pi^*$  bien definida e intensa que por lo general se encuentra alrededor de una longitud de onda de absorción de 270 nm, no obstante, esta longitud de onda de absorción es dependiente del tamaño de los CQDs debido al efecto

de confinamiento cuántico. Adicionalmente, la presencia de grupos funcionales ( $-NH_2$ ,  $-COOH$  y  $-OH$ ) generan una transición debida a los electrones no enlazantes de estos grupos funcionales unidos a los anillos aromáticos, esta transición es conocida como  $n-\pi^*$  produciendo bandas de absorción de baja intensidad que por lo general son anchas. La banda de absorción mencionada se encuentra alrededor de los 350 nm, sin embargo, su longitud de onda de absorción es dependiente del tamaño de los CQDs como también de su grado y naturaleza de oxidación [19,41], como se puede observar en la figura 1-5.

**Figura 1-5:** Espectros de absorción y fluorescencia de CQDs con diferente grado de oxidación.

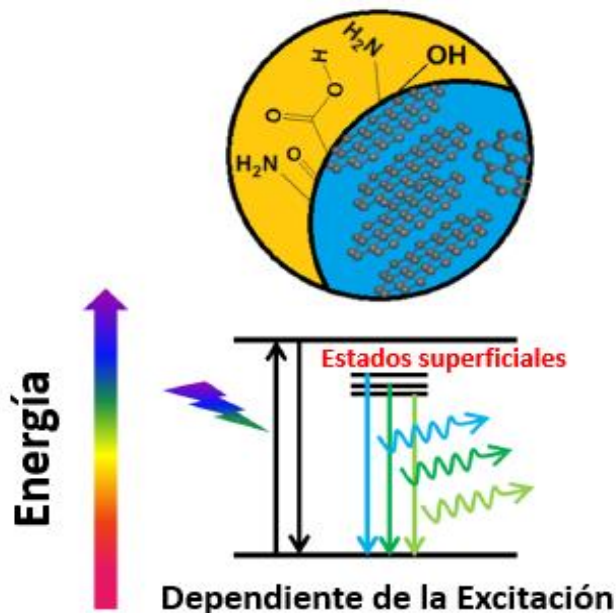


Nombre de la fuente: Balancing light absorptivity and carrier conductivity of graphene quantum dots for high-efficiency bulk heterojunction solar cells.

Los CQDs tiene dos transiciones, la  $\pi-\pi^*$  y  $n-\pi^*$  que están relacionadas con su fluorescencia, sin embargo, la transición  $n-\pi^*$  de los grupos funcionales sobre la superficie de las NPs son la principal fuente de fluorescencia en el visible, el dopaje de los CQDs con nitrógeno favorece la fluorescencia de los CQDs en el visible [33]. Por lo general los CQDs fluorescen en el azul, pero al igual que la absorción, esta fluorescencia es dependiente del tamaño de los CQDs, dopaje (oxidación) y funcionalización [32], como se puede representar en la figura 1-6. Los CQDs tienen diferentes tamaños y grados de oxidación

lo que genera bandas de absorción anchas y fluorescencia dependiente de la longitud de onda de excitación (emisión multicolor) [19,66]. Aunque esta propiedad por lo general es atractiva también hace que los CQDs tengan rendimiento de fluorescencia bajos debido a los diferentes estados de energía superficiales.

**Figura 1-6:** Emisión multicolor en función del grado de oxidación y sus diferentes trampas de energía superficiales.



Nombre de la fuente: Balancing light absorptivity and carrier conductivity of graphene quantum dots for high-efficiency bulk heterojunction solar cells.

### 1.4.1 Disminución de la fluorescencia de los CQDs por iones metálicos

Una de las características más importantes de los CQDs es su fluorescencia, la cual es susceptible a la presencia de diferentes iones metálicos sobre sus cercanías y por lo general tiende a disminuir. La superficie de los CQDs puede ser rica en grupos funcionales (dopaje) o en moléculas (funcionalización), estos elementos sobre la superficie pueden dotar a los CQDs de selectividad a un ion metálico de interés debido a una mayor afinidad de coordinación del ion con este elemento [33]. La coordinación de los iones metálicos con cualquier elemento unido a la superficie de los CQDs ya sea (grupos funcionales o moléculas) pueden generar principalmente una disminución (*quenching*) en la fluorescencia [37]. El *quenching* de la fluorescencia por un ion metálico de interés puede

seguir principalmente dos caminos: un *quenching* estático o un *quenching* dinámico. En el *quenching* estático la disminución de fluorescencia es un evento que se da en el estado basal entre los CQDs y los iones metálicos, debido a la formación de un complejo no fluorescente entre estos. Sumado a esto, en el *quenching* estático el tiempo de vida media de la fluorescencia de los CQDs no cambia en presencia de los iones metálicos, además de que la fluorescencia de los CQDs incrementa al aumentar la temperatura [67].

Por otro lado, el *quenching* dinámico o colisional se caracteriza por que la disminución de la fluorescencia es un evento que se da en el estado excitado del fluoróforo (CQDs). Adicionalmente, en el *quenching* dinámico hay una disminución del tiempo de vida media de fluorescencia en presencia de los iones metálicos, además de que la fluorescencia disminuye al aumentar la temperatura [67].

Otros mecanismos de *quenching* menos frecuentes se pueden presentar en los CQDs, entre ellos tenemos el de Transferencia de Energía Resonante Förster o por sus siglas en inglés (FRET), filtro interno y Transferencia Electrónica Fotoinducida o por sus siglas en inglés (TEF). En la FRET el *quenching* de fluorescencia es debido a la transferencia de energía entre los CQDs (fluoróforo donador) a un cromóforo aceptor. En el mecanismo de *quenching* por filtro interno la disminución de la fluorescencia se da principalmente por la atenuación del haz de excitación generado por el solapamiento del espectro de absorción de los CQDs y el ion metálico, y finalmente en TEF la disminución de la fluorescencia se debe a otros canales de decaimiento no radiativos, con la separación del excitón en un electrón y un hueco inducida por fotones, y su posterior transferencia a través del material [67,68]

### 1.4.2 Modelo de Stern-Volmer y parámetros analíticos

Como ya se mencionó, los iones metálicos (analitos) pueden generar un efecto sobre la intensidad de fluorescencia de los CQDs, frecuentemente estos analitos actúan como especies denominadas en inglés *QUENCHERS*, que favorece el proceso de desactivación fotofísica de la fluorescencia. Estos efectos son característicos de procesos que siguen el modelo de Stern-Volmer, llamado así por Otto Stern y Max Volmer. Este modelo sugiere

que un aumento de la concentración del *quencher* [Q], genera una disminución de la intensidad de fluorescencia, como se puede observar en la ecuación (1) [69][70]:

$$I_0/I = 1 + K_{sv} [Q] \quad (1)$$

Donde  $I_0$  es la intensidad de fluorescencia en ausencia del *quencher*,  $I$  es la intensidad de fluorescencia en presencia del *quencher*,  $K_{sv}$  es la constante de Stern Volmer, que es equivalente a la sensibilidad analítica del fluoróforo (CQDs) por el *quencher*, finalmente  $[Q]$  es la concentración del *quencher*. Vale la pena mencionar, que para este trabajo los *quenchers* serán equivalentes a los analitos de estudio ( $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$ ). Adicionalmente, este modelo puede servir como curva de calibración en un rango lineal de trabajo. El rango lineal, es un rango de concentraciones en donde la intensidad de fluorescencia de los CQDs varía linealmente en función de la concentración del analito ajustándose adecuadamente al modelo mencionado.

Por otro lado, es importante determinar el límite de detección experimental del analito. El límite de detección de analito está relacionado con la sensibilidad analítica ( $K_{sv}$ ) y la desviación estándar del blanco ( $\sigma_{\text{blanco}}$ ). Como se puede observar en la ecuación (2) [71]:

$$LD = 3\sigma_{\text{blanco}} (K_{sv})^{-1} \quad (2)$$

## 1.5 Detección de los iones $\text{Hg}^{2+}$ , $\text{Pb}^{2+}$ y $\text{As}^{3+}$ usando CQDs

La alta toxicidad, sumado a las notables problemáticas ambientales y de salud que han generado los iones  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  en Colombia y el mundo, han originado una búsqueda en la detección de estos iones de manera sencilla, económica y de baja toxicidad. Los CQDs son buenos candidatos para la detección de estos iones metálicos pesados, es por ello que diferentes investigadores han preparado CQDs para la detección estos iones, tal como se describirá a continuación.

### 1.5.1 CQDs usados para la detección de iones $\text{Hg}^{2+}$

Liu et al [72]., sintetizaron N-CQDs a partir de ácido cítrico e hidróxido de amonio por un método hidrotermal. Los N-CQDs exhibieron una fluorescencia con un  $\Phi$  del 40,5 % y baja

toxicidad. Estas NPs de carbono se utilizaron como sensores fluorescentes para la detección de iones  $\text{Hg}^{2+}$ , con un rango lineal de 0 – 8  $\mu\text{M}$  y un LD de 0,087  $\mu\text{M}$ . El mecanismo de detección propuesto se debe según ellos, a la fuerte afinidad entre los iones  $\text{Hg}^{2+}$  y los grupos  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OH}$  y  $-\text{COOH}$ , generando un *quenching* por medio de la transferencia electrónica fotoinducida (TEF). Mohapatra et al [61]., prepararon, N, S-CQDs por un método hidrotermal. Estas NPs fluorescentes tuvieron un  $\Phi$  del 69% y detectaron iones  $\text{Hg}^{2+}$  a partir de la disminución de su fluorescencia, con un LD de 3 nM. El mecanismo de detección propuesto se debe a la afinidad de los grupos funcionales con azufre de los N, S-CQDs y los iones  $\text{Hg}^{2+}$ , generando un *quenching* dinámico por TEF. Por otra parte, Huang et al [73]., sintetizaron CQDs con un alto contenido de nitrógeno a partir de jugo de fresa por un método hidrotermal. Los CQDs obtenidos, detectaron los iones  $\text{Hg}^{2+}$  por medio de la variación de su fluorescencia debido según ellos, a la fuerte afinidad del  $\text{Hg}^{2+}$  por los grupos  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{COOH}$  y  $-\text{OH}$ . De manera similar, Lu et al [13]., usaron CQDs obtenidos a partir de cáscara de pomelo para la detección de  $\text{Hg}^{2+}$ . Según la publicación, la selectividad a los iones mercurio se debió a la alta proporción de grupos  $-\text{COOH}$  en la superficie de los CQDs, obteniendo un LD de 0,23 nM.

### 1.5.2 CQDs usados para la detección de iones $\text{Pb}^{2+}$

Qian et al [74]., prepararon NPs de carbono funcionalizados con un aptámero (Apt) de ADN rico en guanina, soportados en óxido de grafeno (OG), denominado (OG/NPs/Apt). Esta nanoestructura no fluorescente detectó iones  $\text{Pb}^{2+}$  con un LD de 0,6 nM. En este caso se generó un aumento de la fluorescencia por la fuerte afinidad del Apt por los iones  $\text{Pb}^{2+}$ . Por otro lado, Gupta et al [5]., detectaron iones  $\text{Pb}^{2+}$  por un método fluorescente, usando CQDs obtenidos a partir de agar de papa dextrosa por síntesis de microondas. La detección se dio a través de la fuerte afinidad de estos iones por los grupos oxigenados ( $-\text{OH}$  y  $-\text{COOH}$ ) en la superficie de las NPs, dotándolos de selectividad y un LD muy bajo de 0,1 nM. Kumar et al [12]., prepararon CQDs a través del método hidrotermal y utilizando como fuente natural de carbono y nitrógeno la albahaca. Estas NPs tuvieron un  $\Phi$  del 9,3 % y fueron exploradas como sensores fluorescentes para la detección de iones  $\text{Pb}^{2+}$  de manera selectiva. La fuerte afinidad de estos iones por los grupos  $-\text{NH}_2$  producen una disminución de la fluorescencia en los CQDs, debido al *quenching* por TEF. Adicionalmente, el LD

obtenido por los CQDs fue de 0,59 nM. Finalmente, Bandi et al [62]., obtuvieron N-CQDs a partir de bayas azules y EDA. Estos materiales tuvieron un  $\Phi$  del 33,15 % y una superficie rica en grupos oxigenados y nitrogenados, además fueron usados para la detección de  $Pb^{2+}$ . El LD alcanzado fue de 9,64 nM con un rango lineal de 0 – 200 nM.

### 1.5.3 CQDs usados para la detección de iones $As^{3+}$

Zhang et al [75]., sintetizaron N,Ce-CQDs funcionalizados con un aptámero basado en una cadena sencilla de ADN, denominados N,Ce-CQDs/Apt. Estos materiales fluorescentes fueron usados como sensores para la detección de  $As^{3+}$ . En este caso, la fluorescencia de los N,Ce-CQDs/APt aumentó en presencia de estos iones debido según ellos, a la fuerte afinidad del Apt con el  $As^{3+}$ , dejando libres a los CQDs. Pooja et al [76]., prepararon N,S-CQDs a partir de ácido cítrico y cisteamina por medio de pirolisis asistida por microondas, funcionalizando posteriormente los N,S-CQDs prístinos con ditiotreitól. Estas NPs detectaron iones  $As^{3+}$  a través de la disminución de su fluorescencia generada por la fuerte afinidad del grupo tiol del ditiotreitól por el  $As^{3+}$ , confiriéndole selectividad hacia este ion.

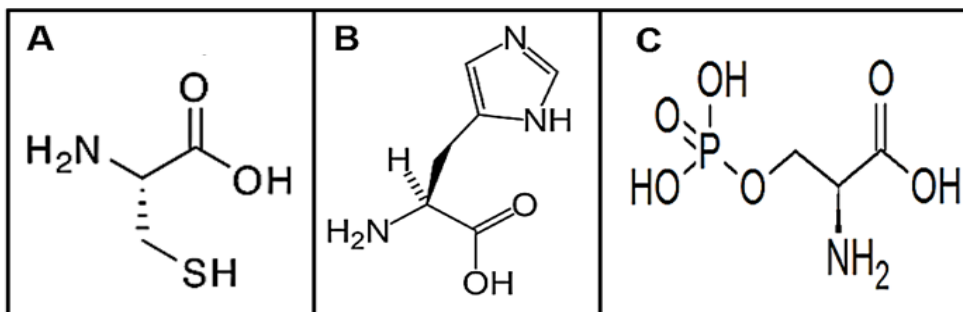
Por otra parte, Radhakrishnan et al [6]., prepararon CQDs a partir de la síntesis verde hidrotermal de la fruta opuntia. Posteriormente con el fin de pasivar y de mejorar las propiedades ópticas y la solubilidad, los CQDs prístinos fueron funcionalizados con glutatión (Glu), formando CQDs/Glu. Estas NPs se usaron como sensores fluorescentes de  $As^{3+}$ , obteniendo un LD de 2,3 nM. La disminución de su fluorescencia en presencia de los iones  $As^{3+}$  y su selectividad fue generada por la interacción superficial de los grupos funcionales oxigenados (-OH y -COOH) con estos iones a través un *quenching* por TEF.

Como se ha mencionado, se han utilizado una variedad de CQDs sin dopar ricos en grupos oxigenados (-OH y -COOH) y N-CQDs dopados ricos en  $-NH_2$ . Estas NPs de carbono se han obtenido a través de diferentes fuentes de carbono y se han aplicado en la detección de iones  $Hg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  y  $As^{3+}$ . Lo que se puede observar es que no se proporciona una explicación clara de la selectividad a cada uno de estos iones u otros basada en una teoría química aceptada. Adicionalmente, se ha reportado que los grupos  $-NH_2$ ,  $-OH$  y  $-COOH$ , tienen una afinidad indiscriminada a una variedad de iones metálicos [37].



Por otro lado, la teoría HSAB puede explicar la afinidad entre ácidos y bases de Lewis. Los iones metálicos son ácidos de Lewis que tienen una gran afinidad a bases de Lewis en específico. Por ejemplo, los iones  $\text{Hg}^{2+}$  son ácidos de Lewis blandos que tienen una gran afinidad a bases de Lewis blandas. La *L*-cisteína (CYS) es un aminoácido que puede actuar como una base blanda, gracias a que en su estructura contiene un grupo tiol con gran afinidad a los ácidos blandos, como los iones  $\text{Hg}^{2+}$ . De forma parecida, los iones  $\text{Pb}^{2+}$  actúan como ácidos intermedios que tienen gran afinidad a bases de Lewis intermedias. La *L*-histidina (HIS) es un aminoácido que puede actuar como una base intermedia, debido a que en su estructura posee un grupo imidazol con gran afinidad a los ácidos intermedios, como los iones  $\text{Pb}^{2+}$ . Finalmente, los iones  $\text{As}^{3+}$  son ácidos duros con gran afinidad a bases duras. La *L*-fosfofoserina (FOS) es una biomolécula que puede actuar como una base dura, debido a los grupos fosfatos de su estructura con gran afinidad a ácidos duros, como los iones  $\text{As}^{3+}$  [34–36,77]. Las estructuras de las biomoléculas mencionadas se pueden observar en la figura 1-7.

**Figura 1-7:** Estructuras de las diferentes biomoléculas (aminoácidos) con las que se funcionalizaron los N-CQDs, (A) *L*-cisteína, (B) *L*-histidina y (C) *L*-fosfofoserina.



Nombre de la fuente: Autores

Basado en lo descrito, en este trabajo se obtuvo por primera vez puntos cuánticos de carbono dopados con nitrógeno (N-CQDs) a partir de las cáscaras de chontaduro (*Bactris gasipaes*) mediante irradiación con microondas. La superficie de los N-CQDs se funcionalizó mediante una reacción de acoplamiento de amida con diferentes aminoácidos como la *L*-cisteína (N-CQDs/CYS), *L*-histidina (N-CQDs/HIS) y *L*-fosfofoserina (N-CQDs/FOS), formando tres materiales N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS, que se aplicaron exitosamente en la detección fluorescente de los iones  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$ .

## 2. Metodología

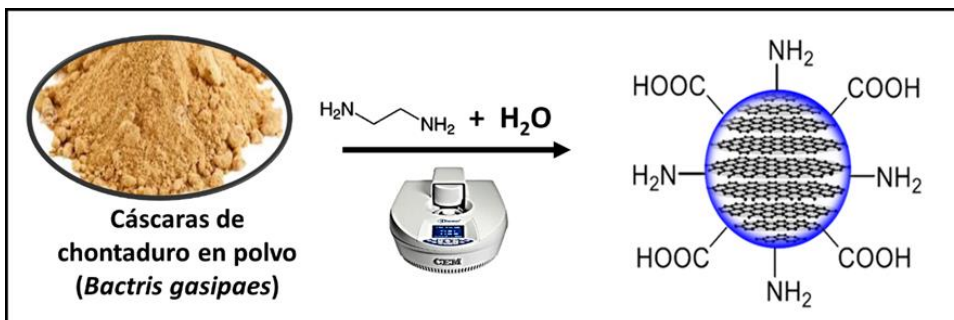
### 2.1 Materiales y reactivos

*L*-cisteína, *L*-histidina, *L*-fosfoserina, etilendiamina, carbodiimida de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) (EDC), *N*-hidroxisuccinimida (NHS), HgCl<sub>2</sub>, CoCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub>, PbCl<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, MnCl<sub>2</sub> y CdCl<sub>2</sub>, y sulfato de quinina fueron adquiridos a Sigma–Aldrich. Las cáscaras de chontaduro (*Bactris gasipaes*) (250 g) se recolectaron en un mercado central de Bogotá, D. C., Colombia, se lavaron con agua destilada, se cortaron en trozos pequeños y posteriormente se secaron por liofilización para obtener un polvo homogéneo.

### 2.2 Síntesis de los N-CQDs

La síntesis de los N-CQDs se realizó por medio del siguiente procedimiento: 1,8 g de cáscaras de chontaduro (*Bactris gasipaes*) (polvo homogéneo), 4,5 mL de etilendiamina (67,0 mmol) y 15,5 mL de agua destilada se adicionaron en un reactor de borosilicato, que se introdujo en un reactor de microondas Anton Paar (monowave 200). La reacción se ajustó a una temperatura de 170°C y se dejó bajo agitación magnética durante 2 horas [13,78]. La purificación de los N-CQDs se realizó centrifugando a 10000 rpm durante 30 minutos para eliminar las partículas más grandes, luego se filtraron usando microfiltros de 0,45 µM para remover las partículas más pequeñas. Posteriormente, los N-CQDs se dializaron durante 12 horas utilizando una membrana de diálisis con un tamaño de poro de 3,5 kDa para eliminar los precursores que no reaccionaron. Por último, los N-CQDs se liofilizaron durante 24 horas hasta obtener los N-CQDs en polvo. El proceso anteriormente descrito se realizó tres veces hasta obtener un peso final de 1,3 g de N-CQDs, con un rendimiento de la reacción del 24%.

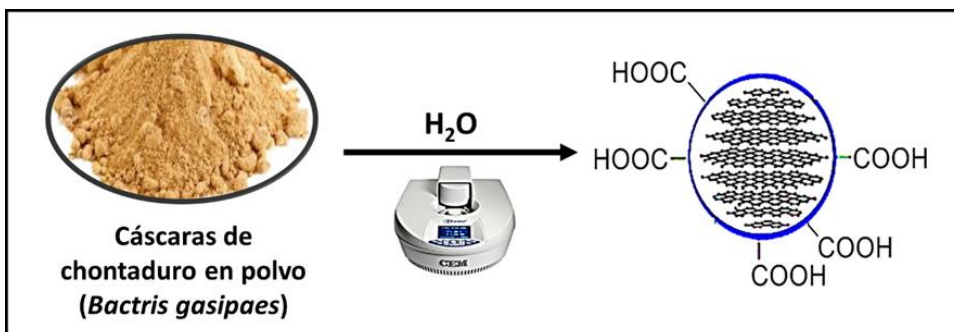
**Figura 2-1:** Esquema de la síntesis de los N-CQDs en medio acuoso.



Nombre de la fuente: Autores

Los CQDs sin dopar con nitrógeno se sintetizaron y purificaron utilizando el mismo procedimiento empleado para los N-CQDs pero sin utilizar etilendiamina durante la síntesis. En este caso se obtuvo un bajo rendimiento de reacción (1%).

**Figura 2-2:** Esquema de la síntesis de los CQDs en medio acuoso.



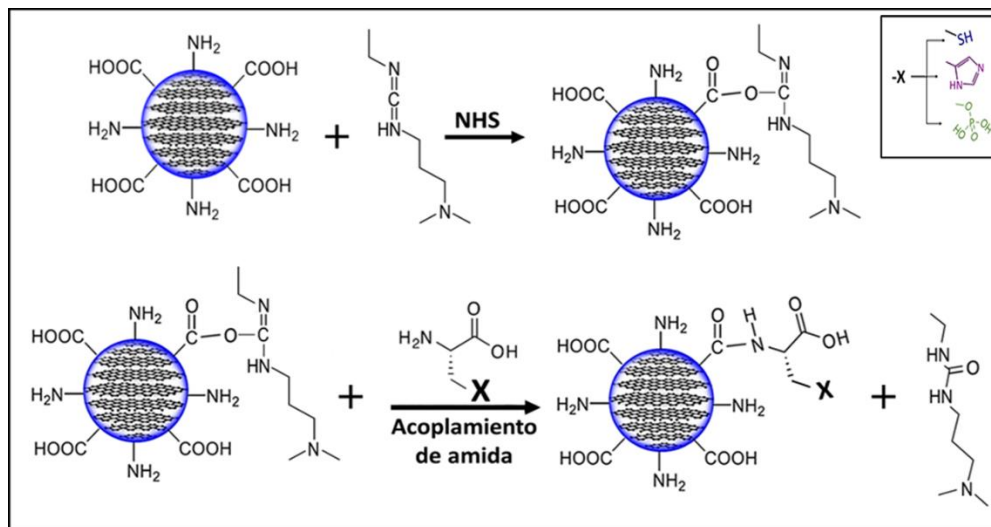
Nombre de la fuente: Autores

### 2.2.1 Funcionalización de los N-CQDs

La superficie de los N-CQDs se modificó adecuadamente con *L*-cisteína (N-CQDs/CYS), *L*-histidina (N-CQDs/HIS) y *L*-fosfoserina (N-CQDs/FOS), mediante una reacción química (conocida como acoplamiento de amida) entre los grupos amino de los aminoácidos y los grupos carboxilo de los N-CQDs (ver figura 2-3). Los N-CQDs modificados con *L*-cisteína (N-CQDs/CYS), se prepararon mediante el siguiente procedimiento: Para la activación de los N-CQDs se mezclaron 300 mg de N-CQDs con una solución compuesta de 300 mg

(2,4 mmol) de EDC, 30 mg (0,3 mmol) de NHS y 60 mL de agua bajo agitación magnética durante 4 horas a temperatura ambiente. Se agregaron 100 mg (0,8 mmol) de *L*-cisteína a 10 mL de un tampón de fosfato (pH = 7). Esta solución se mezcló con la solución activada con EDC/NHS y se dejó reaccionar durante 4 horas [30,33]. Los N-CQDs/CYS se purificaron siguiendo el mismo procedimiento descrito para la muestra de N-CQDs. Los N-CQDs modificados con *L*-histidina (N-CQDs/HIS) y *L*-fosfoserina (N-CQDs/FOS) se prepararon y purificaron (cada uno por separado) efectuando el mismo procedimiento descrito para los N-CQDs modificados con *L*-cisteína (N-CQDs/CYS), reemplazando la *L*-cisteína por *L*-histidina y *L*-fosfoserina correspondientemente.

**Figura 2-3:** Esquema de la activación y posterior reacción de acoplamiento de amida de los N-CQDs.



Nombre de la fuente: Autores

## 2.3 Caracterización de los N-CQDs y de los N-CQDs funcionalizados

Se empleó un espectrofotómetro UV-Vis EMC-11-UV con lámpara de tungsteno para medir los espectros de absorción UV-Vis. Para medir los espectros de fluorescencia se empleó un espectrofotómetro Cary Eclipse, con una lámpara de xenón como fuente de excitación. El rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\Phi_{FL}$ ) se determinó con la ecuación 3.

$$\Phi_x = \Phi_s \left( \frac{A_s}{A_x} \right) \left( \frac{I_x}{I_s} \right) \left( \frac{n_x^2}{n_s^2} \right) \quad (3)$$

Donde  $S$  y  $x$  corresponden a valores de soluciones estándar y de la muestra, respectivamente.  $A$  es la absorbancia en la longitud de onda de excitación,  $I$  es el área bajo el pico de emisión y  $n$  es el índice de refracción del disolvente [27]. En este caso se utilizó sulfato de quinina disuelto en ácido sulfúrico (0,05 M) como estándar ( $\Phi_{\text{FL}} = 0,546$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 360$  nm).

Las mediciones de difracción de rayos X se realizaron en un Difractómetro Multipropósito PAnalytical X'Pert3, con tubos de generación de rayos X con ánodos de Cu (cobre), Mo (molibdeno) y Fe (hierro), operando a 45kV y 40mA con un  $\lambda = \text{Cu-K}\alpha$ . (1,54Å).

Las imágenes de Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución (HR-TEM) se tomaron utilizando un microscopio Tecnai F20 Super Twin TMP, fuente de emisión de campo, resolución de 0,1 nm a 200 Kv, aumento máximo en TEM 1.0 MX, GATAN. Cámara estadounidense 1000XP-P.

Los espectros infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) se midieron utilizando un espectrómetro Thermo Scientific Nicolet iS10. Los experimentos de espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS) se realizaron utilizando la plataforma de caracterización de superficies XPS/ISS/UPS-ACenteno construida por SPECS (Alemania), equipada con un analizador de energía PHOIBOS 150 2D-DLD. Para las mediciones se utilizó una fuente de rayos X monocromatizada Al  $\text{K}\alpha$  (FOCUS 500) operada a 100 W. Para el análisis de datos se utilizaron el programa CasaXPS y la biblioteca SPECS Prodigy para valores RSF. El potencial Zeta se midió en el equipo Horiba SZ-100.

Se utilizó el sistema ALBA Time-Related Single Photon Counter (TCSPC) para medir la fluorescencia resuelta en el tiempo. Como fuente de excitación se utilizó un diodo láser de 340 nm, que emitía pulsos de luz con una anchura de 60 ps y una potencia máxima de 300 mW.

## 2.4 Aplicación de los N-CQDs funcionalizados

El efecto de  $\text{Hg}^{2+}$  en la fluorescencia de N-CQDs/CYS fue estudiado a varias concentraciones de los iones  $\text{Hg}^{2+}$ . Para lo anterior se prepararon diferentes mezclas de una dispersión acuosa de N-CQDs/CYS y una solución acuosa de iones  $\text{Hg}^{2+}$  a diferentes concentraciones, obteniendo un volumen de 3 mL y una concentración final de N-CQDs/CYS de 50 mg/L y de iones  $\text{Hg}^{2+}$  (0 a 35  $\mu\text{M}$ ). Las mezclas se agitaron y se dejaron en la oscuridad durante 10 min a temperatura ambiente, luego se midieron los espectros de fluorescencia ( $\lambda_{\text{ex}} = 360 \text{ nm}$ ).

La disminución de la fluorescencia de la muestra de N-CQDs/CYS inducida por los iones  $\text{Hg}^{2+}$  en diversas concentraciones (0 a 35  $\mu\text{M}$ ) se analizó a través del siguiente procedimiento: se añadió una solución acuosa de iones  $\text{Hg}^{2+}$  a una dispersión acuosa de N-CQDs/CYS (50 mg/L), hasta completar un volumen final de 3 mL. La mezcla se agitó y se dejó en la oscuridad durante 10 minutos a temperatura ambiente y luego se midió el espectro de fluorescencia ( $\lambda_{\text{ex}} = 360 \text{ nm}$ ). El análisis de las muestras de N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS se efectuó siguiendo el mismo procedimiento descrito para la muestra de N-CQDs/CYS, reemplazando la solución acuosa de los iones  $\text{Hg}^{2+}$  por soluciones de  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  correspondientemente.

## 2.5 Evaluación del efecto de otros iones en las propiedades fluorescentes de los N-CQDs funcionalizados

Se evaluaron los iones metálicos ( $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$ ) como posibles interferentes en las propiedades fluorescentes de los N-CQDs funcionalizados. Se preparó una mezcla compuesta por una dispersión acuosa de N-CQDs/CYS (50 mg/L) y una solución acuosa de iones metálicos (35  $\mu\text{M}$ ), con un volumen final de 3 mL. La mezcla se agitó y se dejó en oscuridad durante 10 minutos a temperatura ambiente y luego se midió el espectro de fluorescencia ( $\lambda_{\text{ex}} = 360 \text{ nm}$ ). El análisis de las muestras de N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS se efectuó con los mismos los iones metálicos y siguiendo el procedimiento descrito para la muestra de N-CQDs/CYS.

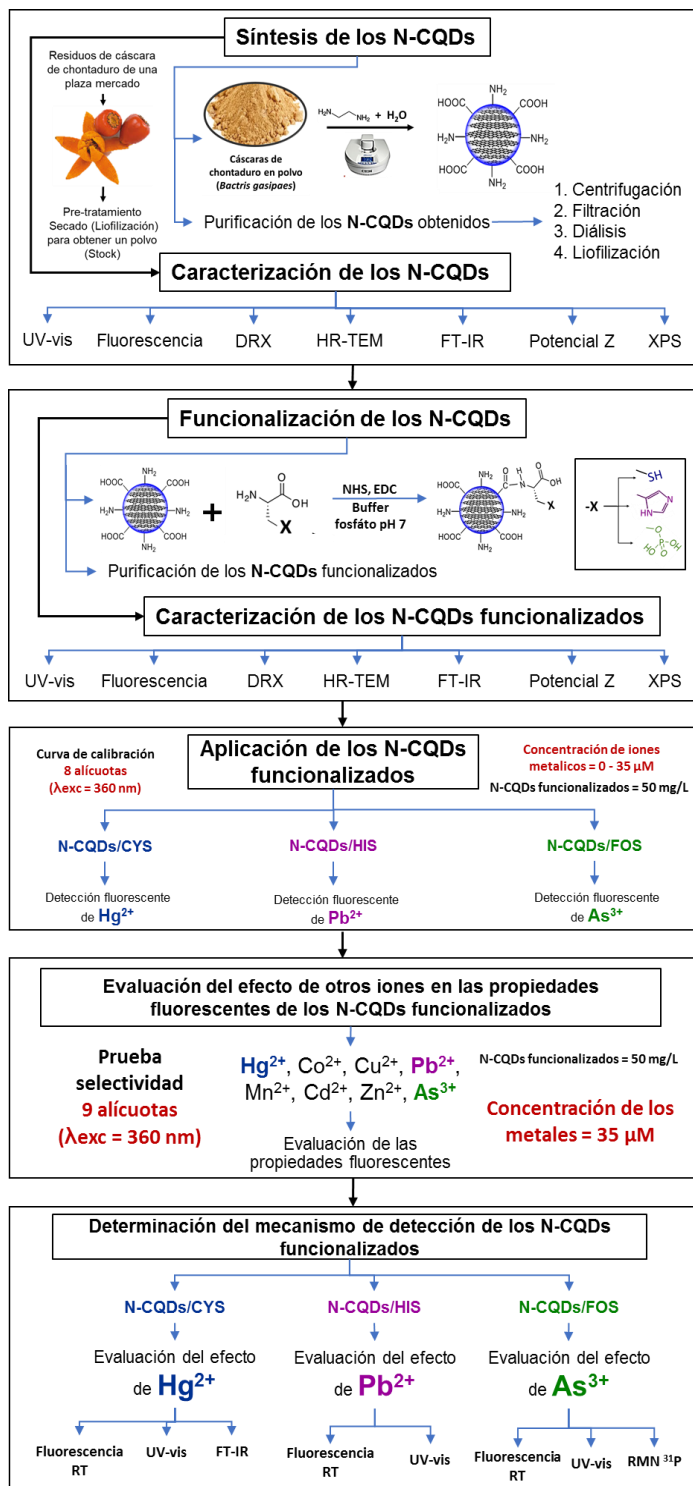
## 2.6 Determinación del mecanismo de detección de los N-CQDs funcionalizados

Finalmente, la determinación del mecanismo de detección de los iones  $\text{Hg}^{2+}$  por los N-CQDs/CYS, los iones  $\text{Pb}^{2+}$  por los N-CQDs/HIS y los iones  $\text{As}^{3+}$  por los N-CQDs/FOS, se llevó a cabo empleando diferentes técnicas, como espectroscopia de fluorescencia dependiente del tiempo y UV-Vis. Asimismo, se tuvo en cuenta el análisis de selectividad de los diferentes iones en las propiedades fluorescentes de los N-CQDs funcionalizados para proponer el mecanismo que más se ajustaba. De manera adicional para los N-CQDs/CYS se hizo FT-IR en presencia de  $\text{Hg}^{2+}$  y para los N-CQDs/FOS se hizo RMN  $^{31}\text{P}$  en agua deuterada y en presencia de  $\text{As}^{3+}$  con el fin de proponer el sitio de coordinación principal de estos materiales.

La espectroscopia de fluorescencia dependiente del tiempo es una técnica de fluorescencia laser ultrarrápida que se utilizó para determinar los tiempos de vida media de fluorescencia de los N-CQDs funcionalizados en presencia de los iones metálicos pesados, estos valores nos permitieron determinar qué tipo *quenching* de fluorescencia se estaba generando. Las medidas de UV-VIS en presencia de los iones metálicos corroboraron el mecanismo de *quenching* indicando si se formaba un complejo de coordinación. Por otra parte, el FT-IR nos indicó con más certeza que grupo funcional de los N-CQDs/CYS estaban interaccionando con el  $\text{Hg}^{2+}$  debido a la variación de sus señales (corrimientos o ensanchamientos). Con todo lo anterior, fue posible proponer los mecanismos de detección de  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  en los materiales obtenidos.

En el diagrama metodológico de la figura 2-4 se resume y se detallan cada una de las etapas desarrolladas en este estudio.

Figura 2-4: Diagrama metodológico general.



Nombre de la fuente: Autores





## 3. Resultados y discusión

### 3.1 Caracterización

Una mezcla de polvo de cáscaras de chontaduro con etilendiamina y agua se calentó a 170 °C bajo irradiación de microondas durante 2 horas para obtener los N-CQDs. Posteriormente, los N-CQDs se modificaron superficialmente con *L*-cisteína, *L*-histidina y *L*-fosfoserina en reacciones diferentes a través de una reacción de acoplamiento amida. También se preparó una muestra de referencia de CQDs (puntos cuánticos de carbono sin dopar con nitrógeno) para seguir las reacciones y estudiar los cambios espectrales (UV-VIS, fluorescencia y FT-IR). Para la caracterización óptica de los puntos cuánticos de carbono obtenidos a partir de cáscara de chontaduro se usó UV-VIS, fluorescencia y fluorescencia resuelta en el tiempo.

En la figura 3-1A se reporta en color negro los espectros de absorción de los CQDs, N-CQDs y N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS en los cuales se puede observar que la banda  $\pi$ - $\pi^*$  es atribuida al C=C del carbono gráfico que está alrededor de 270 nm se va moviendo levemente hacia el rojo, disminuyendo su intensidad relativa a medida que los CQDs son dopados con nitrógeno y posteriormente funcionalizados. Asimismo, la banda  $n$ - $\pi^*$  a 443 nm (originada por trampas de energía de estados superficiales) también se mueve ligeramente hacia el rojo, pero en este caso su intensidad relativa aumenta, lo que nos indica que los materiales se están volviendo ricos con heteroátomos y grupos funcionales superficiales auxocromos como aminas y amidas, dotándolos de una mayor absorción en el visible [32,33,41].

Adicionalmente, en la figura 3-1A tenemos en color rojo los espectros de fluorescencia de los CQDs, N-CQDs y N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS en los que se puede

observar los máximos de emisión a 443 nm, 448 nm, 452 nm y 457 nm correspondientemente, acompañados de un incremento en el rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\Phi_{\text{FL}}$ ) de los materiales una vez los CQDs son dopados con nitrógeno y posteriormente funcionalizados, siendo del 12,2%, 20,5%, 25,4%, 23,0% y 19,9% para el CQDs, N-CQDs, N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS respectivamente. La incorporación de grupos auxocromos como (aminas y amidas) que incrementan el coeficiente de absortividad molar de material por lo general vienen acompañado de un incremento en el  $\Phi_{\text{FL}}$  (relación de Strickler Berg), adicionalmente las amidas dotan de rigidez estructural a los N-CQDs funcionalizados [33,79].

Cabe resaltar que al funcionalizar los N-CQDs con *L*-fosfoserina, no se observa un incremento en el  $\Phi_{\text{FL}}$  con respecto a los N-CQDs. Lo anterior se debe a que el fosfato de la *L*-fosfoserina al ser un grupo fuertemente electroattractor puede favorecer el proceso de transferencia electrónica fotoinducida (TEF) frente al proceso de recombinación radiativa fluorescente [80,81].

En la figura 3-1B tenemos los espectros de fluorescencia de los CQDs, N-CQDs y N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS en donde podemos observar que el máximo de emisión se desplaza hacia longitudes de onda más largas a medida que la longitud de onda de excitación aumenta de 340 nm a 440 nm, esta propiedad es característica de los puntos cuánticos de carbono (emisión multicolor), que se atribuye principalmente a efectos de confinamiento cuántico, ya que el tamaño de las partículas son polidispersas. Además, la introducción de heteroátomos y grupos funcionales genera diferentes estados emisivos de trampas superficiales [60].

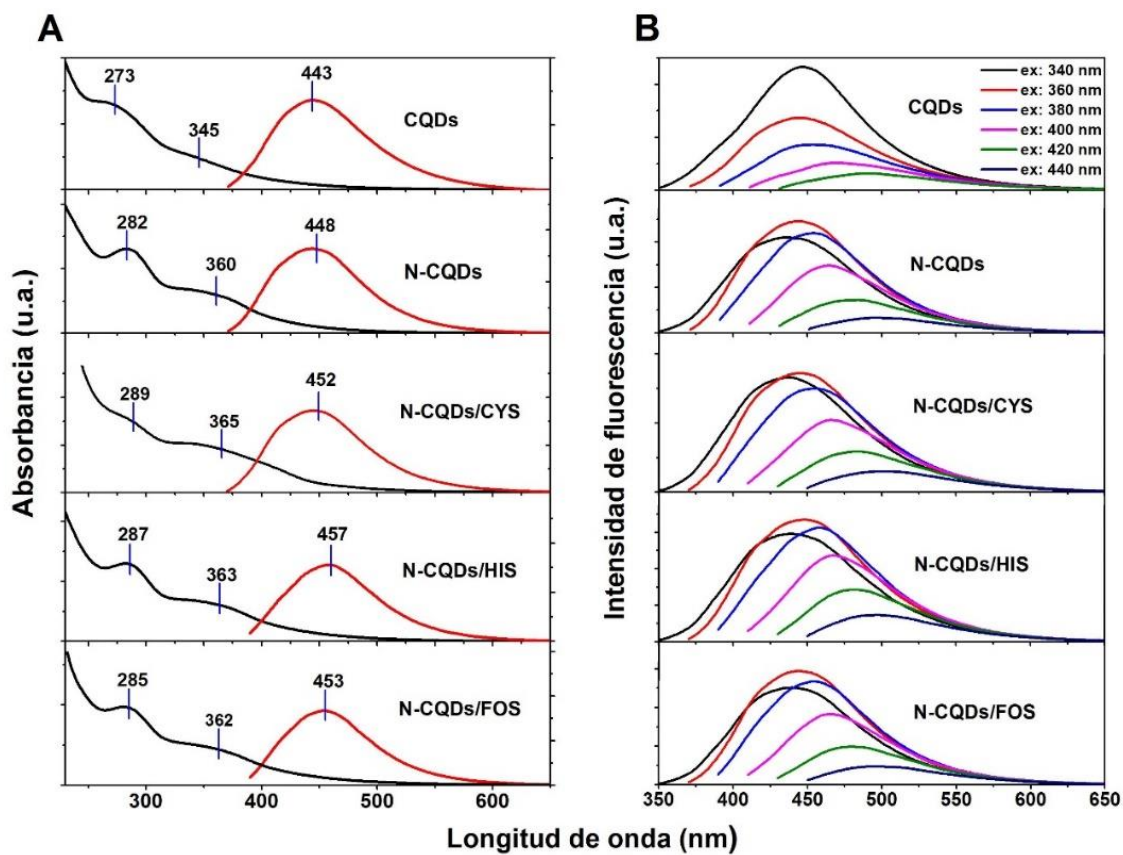
La figura 3-2A representan las curvas de decaimiento fotoluminiscente de los N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS a una longitud de onda de excitación de 340 nm y emisión de 450 nm. Las curvas de decaimiento se ajustan muy bien a un decaimiento biexponencial (ver ecuación 4), el tiempo de vida de fluorescencia promedio ( $\tau_{\text{FL}}$ ) se calculó con la ecuación 5. El recuadro en la figura 3-2A muestra los tiempos de vida de PL y los parámetros de ajuste calculados con las curvas de decaimiento de PL.

$$y = A_1 \exp\left(\frac{-x}{\tau_1}\right) + A_2 \exp\left(\frac{-x}{\tau_2}\right) + y_0 \quad (4)$$

$$\tau_{FL} = \frac{\sum_i A_i \tau_i^2}{\sum_i A_i \tau_i} \quad (5)$$

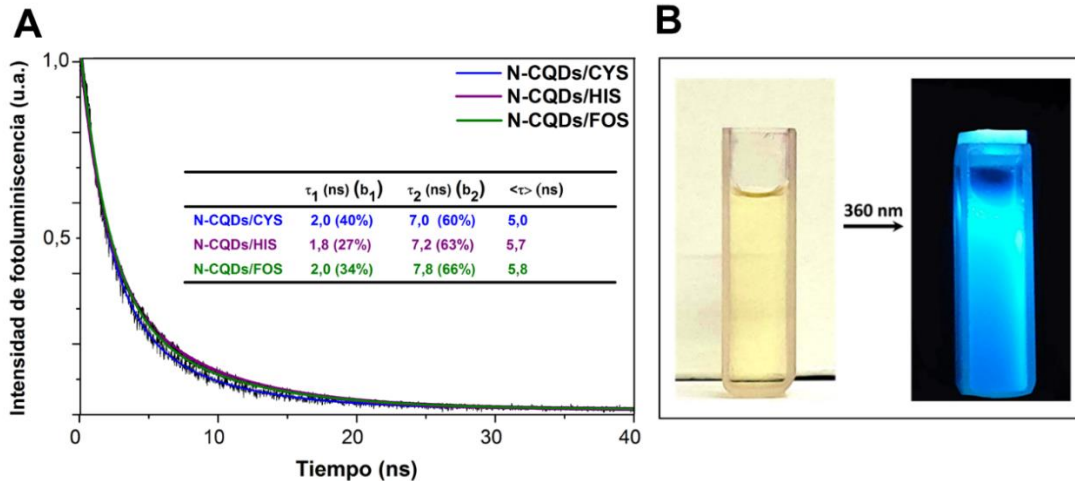
Las curvas de decaimiento reflejan dos procesos distintos de relajación excitónica: un componente rápido ( $\tau_1$ ) asociado a estados de emisión intrínsecos del núcleo de grafito [82,83], y un componente lento ( $\tau_2$ ) relacionado con la recombinación de excitones a través de estados de trampa principalmente superficiales y podría indicar una superficie rica en grupos funcionales. Los tiempos de vida útil promedio de PL de los N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS son de 5,0 ns, 5,7 ns y 5,8 ns los cuales concuerdan con reportes similares [84]. Podemos observar una relación inversamente proporcional entre estos tiempos y sus rendimientos cuánticos de fluorescencia ( $\Phi_{FL}$ ), lo que se ajusta muy bien debido a que el aumento del tiempo de vida se debe a una mayor importancia del proceso de relajación lento ( $\tau_2$ ) relacionado con la recombinación de excitones a través de estados de trampa principalmente superficiales, lo que muy probablemente puede aumentar los procesos de recombinación no radiativos mediante TEF inducido por grupos electroattractores. La Figura 3-2B muestra una imagen digital de N-CQDs/CYS disueltos en agua, con un color amarillo pálido bajo la luz solar y con una luminiscencia azul brillante bajo excitación a 360 nm, para el caso de los N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS se obtuvieron apariencias físicas similares a las ya mencionadas. Los resultados de UV-Vis y fluorescencia de los puntos cuánticos de carbono dopados con nitrógeno y funcionalizados con *L*-cisteína, *L*-histidina y *L*-fosfoserina se alinean muy bien con los obtenidos a partir de biomasa [85] y moléculas pequeñas [86].

**Figura 3-1:** (A) Espectros UV-VIS y de fluorescencia excitando a 360 nm. (B) Espectros de fluorescencia excitando a diferentes longitudes de onda.



Nombre de la fuente: Autores

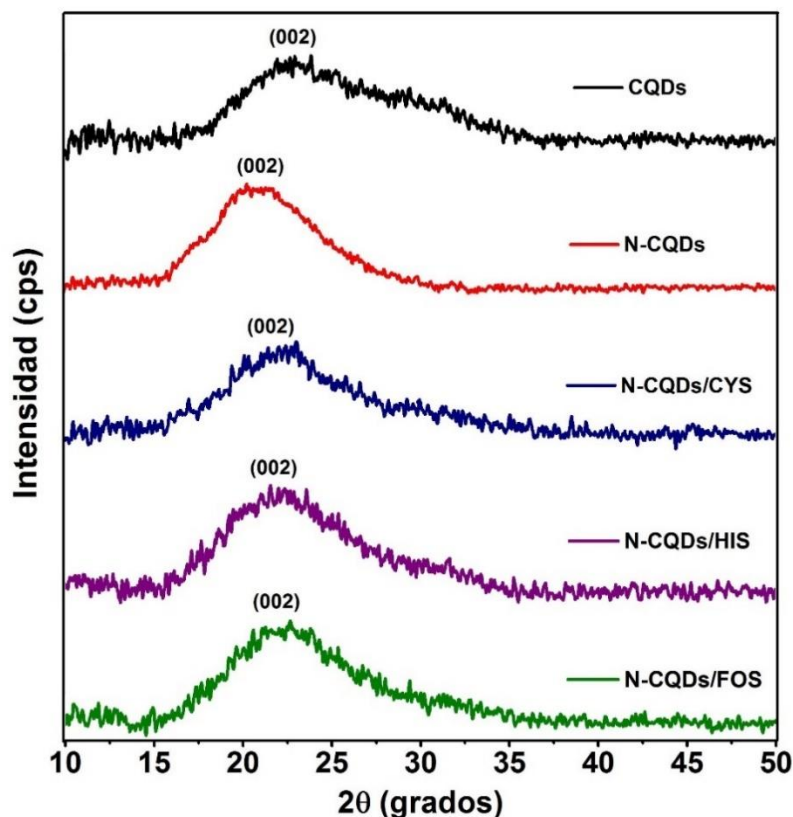
**Figura 3-2:** (A) Curvas de decaimiento de los N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS excitando a 340 nm. (B) Fotos de una dispersión acuosa de los N-CQDs/CYS bajo luz del sol (izquierda) e irradiación UV (derecha).



Nombre de la fuente: Autores

La caracterización morfológica y estructural de los puntos cuánticos de carbono se llevó a cabo mediante mediciones de XRD, HR-TEM, FT-IR, potencial Z y XPS. La figura 3-3 muestra los patrones de difracción de rayos X de las muestras de N-CQDs y N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS. Todas las muestras son amorfas, con un pico de difracción ancho centrado en  $2\theta$  de  $23^\circ$  para la muestra de CQDs y  $21^\circ$  para la muestra de N-CQDs, por otro lado, para todos los N-CQDs funcionalizados se mantuvo en  $22^\circ$ . Las distancias interplanares ( $d$ ) evidenciadas fueron de 0,38 nm, 0,40 nm y 0,39 nm, respectivamente, lo que coincide con el plano (002) de los puntos cuánticos de carbono grafitico amorfo [63,87]. Se han obtenido resultados similares para puntos cuánticos de carbono derivados de biomasa [88]. Cabe resaltar que la funcionalización superficial mediante la reacción de acoplamiento de amida no afectó las propiedades cristalinas del material.

**Figura 3-3:** Difractogramas de los CQDs, N-CQDs, N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS.

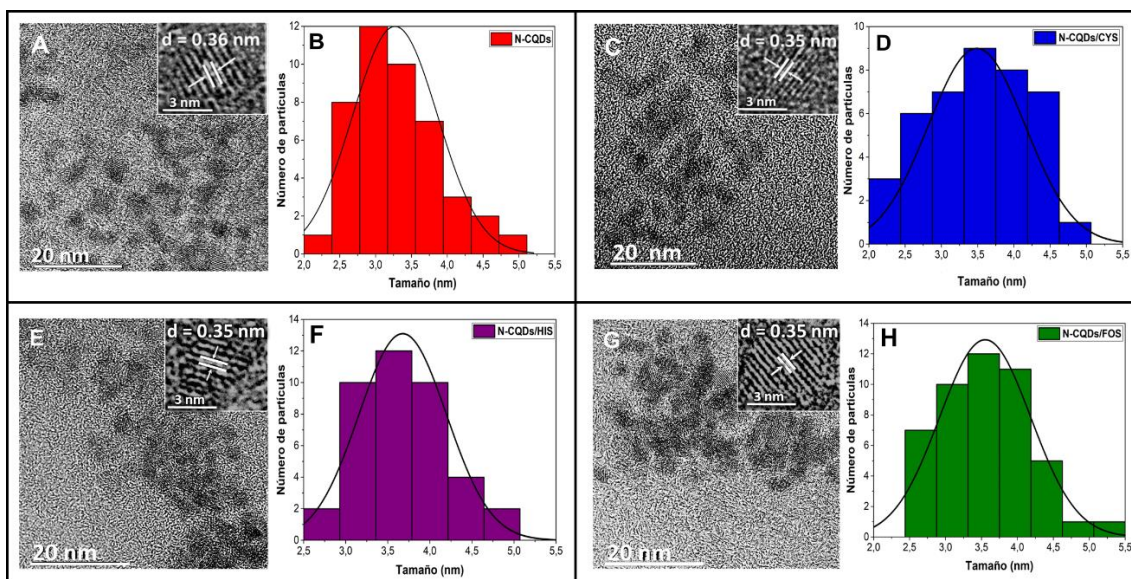


Nombre de la fuente: Autores

Las imágenes de TEM y HR-TEM de las muestras de N-CQDs y N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS. (Figuras 3-4A, C, E y G) revelan la obtención de partículas con formas esféricas y distribuciones de tamaño ligeramente polidispersas. El tamaño promedio de N-CQDs, NCQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS fue de  $3,3 \pm 0,6$  nm,  $3,5 \pm 0,7$  nm,  $3,7 \pm 0,5$  nm y  $3,6 \pm 0,6$  nm respectivamente, (Figura 3-4B, D, F y H). Se encontró que la distancia de espaciado interplanar de las áreas seleccionadas en las imágenes HR-TEM, y aplicando la Transformada Rápida de Fourier (FFT) del software ImageJ, son de 0,36 nm para los N-CQDs y 0,35 nm para los NCQDs funcionalizados. Estos valores coinciden con el espaciado reticular del plano de carbono gráfico (002), lo que confirma los resultados de los patrones de difracción de rayos X encontrados. Teniendo en cuenta

todo lo anterior podemos afirmar que no se obtuvieron cambios en su cristalinidad, tamaño, forma y características morfológicas cuando los N-CQDs fueron funcionalizados con *L*-cisteína, *L*-histidina y *L*-fosfoserina.

**Figura 3-4:** (A) Imagen TEM y HRTEM (recuadro) y (B) Distribución de tamaño de los N-CQDs; (C) Imagen TEM y HRTEM (recuadro) y (D) Distribución de tamaño de los N-CQDs/CYS; (E) Imagen TEM y HRTEM (recuadro) y (F) Distribución de tamaño de los N-CQDs/HIS y (G) Imagen TEM y HRTEM (recuadro) y (H) Distribución de tamaño de los N-CQDs/FOS.



Nombre de la fuente: Autores

Por otro lado, en la figura 3-5A, se muestra el espectro FT-IR de los CQDs evidenciando las bandas de absorción a  $3390$ ,  $2935$ ,  $1705$ ,  $1375$  y  $1089\text{ cm}^{-1}$  debido a la vibración de estiramiento de los enlaces O-H, C-H  $sp^2$  (núcleo gráfico), C=O, C-O-H y C-O-C respectivamente, lo que nos indica un material carbonáceo rico en grupos oxigenados como carboxilos sin aparente presencia de grupos aminos [63,89]. Asimismo, en la figura 3-5B tenemos el FT-IR de los N-CQDs en donde se puede observar las mismas bandas de absorción de los CQDs, además de las bandas a  $3380$ ,  $2852$ ,  $1460$  y  $1557\text{ cm}^{-1}$  del N-H, C-H  $sp^3$ , C-N y C=N correspondientemente [30,89], indicándonos que los N-CQDs fueron dopados correctamente con la etilendiamina aportando a su superficie grupos



---

aminos y adicionalmente incorporando nitrógeno dentro de la estructura grafitica. Lo anteriormente mencionado se puede corroborar con las medidas de potencial Z de los materiales en medio acuoso (ver figura 3-6), siendo negativo para los CQDs (-17 mV) debido principalmente a los grupos  $-\text{COO}^-$ , y positivo para los N-CQDs (+5,0 mV) debido principalmente a los grupos  $\text{NH}_3^+$ . Estos valores del potencial Z también nos sugieren que los materiales tienen una moderada estabilidad coloidal y solubilidad en medio acuoso [90].

En la figura 3-5C se presenta el FT-IR de los N-CQDs/CYS, en la cual se observan cambios pequeños pero significativos en las bandas de absorción con respecto a los N-CQDs que nos sugieren la correcta funcionalización de la cisteína a la superficie del N-CQDs. Por ejemplo, se puede observar que la banda  $1653\text{ cm}^{-1}$  (C=O del carboxilo) se transforma en dos bandas a  $1638$  (vibración de flexión N-H) y  $1560\text{ cm}^{-1}$  (vibración de estiramiento C=O de la amida) indicándonos un adecuado acoplamiento de amida [30,91]. Por otro lado, también podemos observar la disminución relativa de la banda a  $1375\text{ cm}^{-1}$  del C-O-H del carboxilo con respecto a la banda a  $1460$  del C-N debido a que muy probablemente la reacción de acoplamiento de amida se dio entre el carboxilo de los N-CQDs y el grupo aminos de la *L*-cisteína.

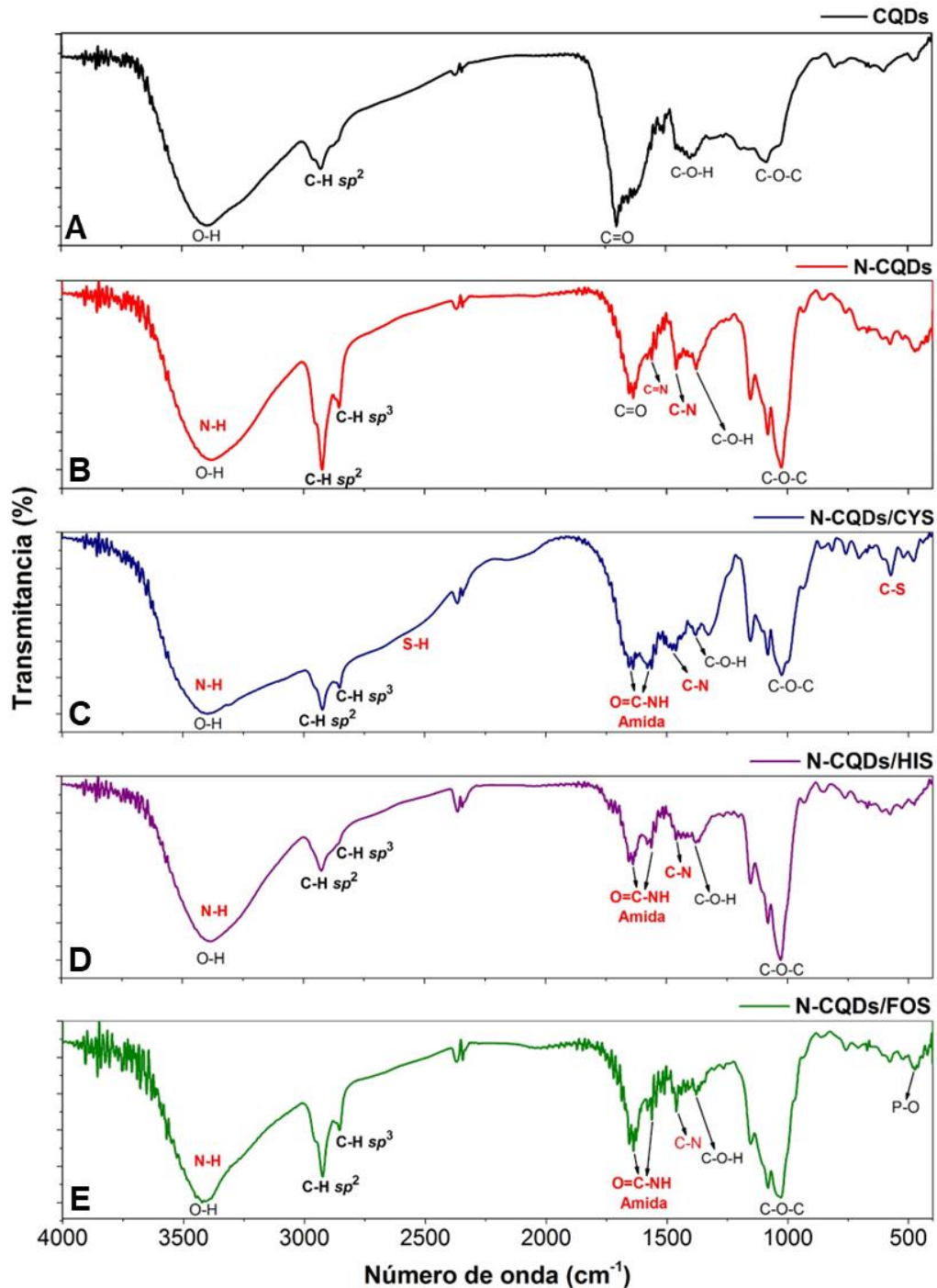
Adicionalmente, observamos en el FT-IR de los N-CQDs/CYS un hombro a  $2560\text{ cm}^{-1}$  (S-H) y una banda a  $601\text{ cm}^{-1}$  (C-S) indicándonos la presencia del grupo tiol de la cisteína en estos materiales [92,93], este resultado se puede corroborar debido al cambio del potencial Z en medio acuoso que presenta los N-CQDs (+5,4 mV) a potenciales negativos (-15 mV) cuando se funcionaliza, debido principalmente al grupo tiolato cargado negativamente de la cisteína en medio acuoso. Todo lo anterior nos indica una adecuada funcionalización de los N-CQDs con cisteína para formar los N-CQDs/CYS.

En el FT-IR de los N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS (Figura 3-5D y E), también podemos observar que la banda a  $1653\text{ cm}^{-1}$  (C=O del carboxilo) se transforma en dos bandas alrededor de  $1638$  (vibración de flexión N-H) y  $1560\text{ cm}^{-1}$  (vibración de estiramiento C=O de la amida) de la misma forma que los N-CQDs/CYS, indicándonos la correcta funcionalización de la *L*-histidina y *L*-fosfofoserina sobre los N-CQDs a través de la reacción de acoplamiento de amida [30,91]. Adicionalmente para el FT-IR de los N-CQDs/FOS

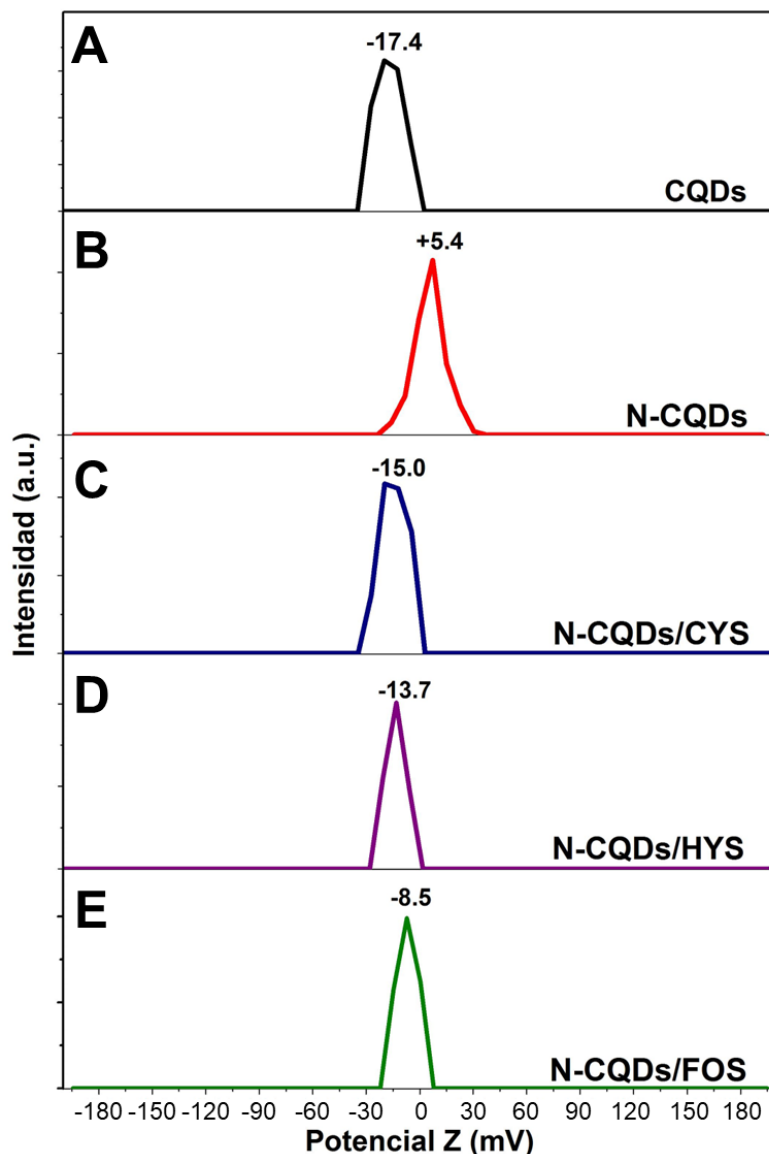
podemos observar una banda a  $490\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al estiramiento P-O, indicándonos la presencia del grupo fosfato de la fosfoserina [94]. Las demás bandas de los N-CQDs no cambiaron significativamente con la funcionalización de los N-CQDs con *L*-histidina y *L*-fosfoserina.

Por otro lado, el cambio del potencial Z en medio acuoso que presenta los N-CQDs (+5,4 mV) a potenciales negativos -14 mV y -9 mV cuando se funcionaliza con *L*-histidina y *L*-fosfoserina respectivamente, se deben principalmente al grupo carboxilato cargado negativamente de la *L*-histidina y al grupo fosfato cargado negativamente en medio acuoso de la *L*-fosfoserina, todo lo anterior nos corrobora la adecuada funcionalización de los N-CQDs.

**Figura 3-5:** Espectros FT-IR de (A) CQDs, (B) N-CQDs, (C) N-CQDs/CYS, (D) N-CQDs/HIS y (E) N-CQDs/FOS.



**Figura 3-6:** Distribuciones de potenciales Z de (A) CQDs, (B) N-CQDs, (C) N-CQDs/CYS, (D) N-CQDs/HIS y (E) N-CQDs/FOS.

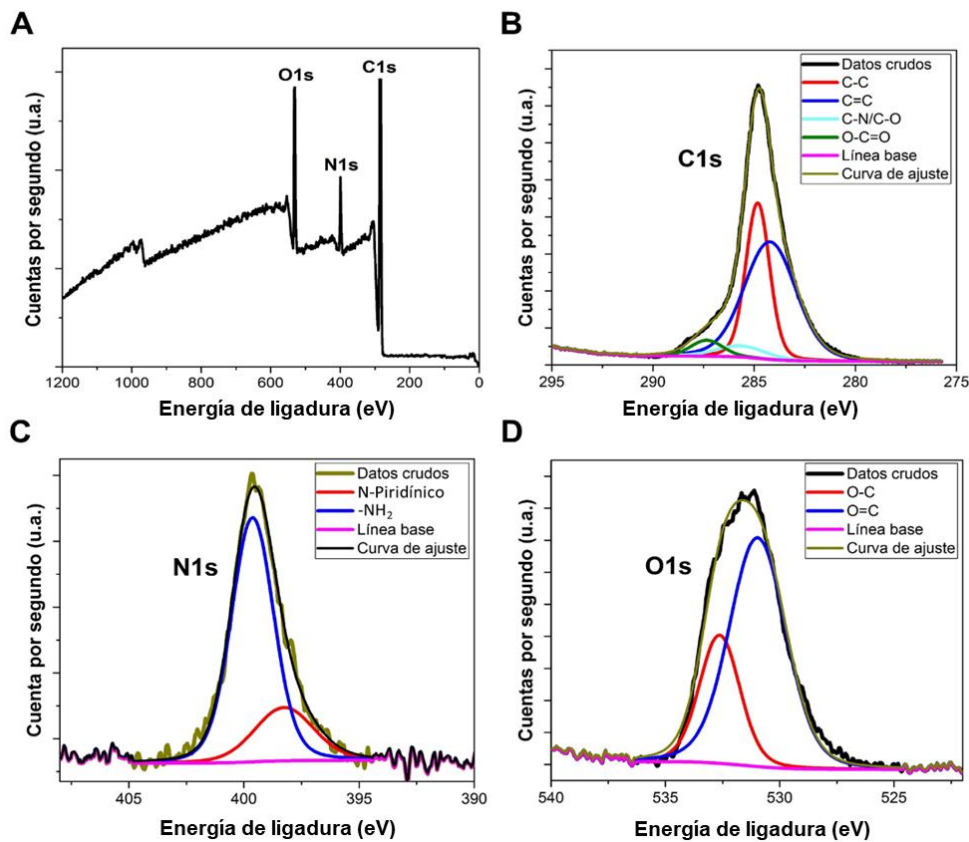


Nombre de la fuente: Autores

Adicional a la técnica de FT-IR se hicieron medidas de XPS para corroborar la estructura de los materiales. En la figura 3-7A tenemos el espectro general de XPS de los N-CQDs en el que claramente podemos evidenciar la presencia de carbono (284,8 eV), nitrógeno (399,9 eV) y oxígeno (531,9 eV). La figura 3-7B nos muestra el HR-XPS del C1s que se puede descomponer en cuatro picos, asignados a carbono  $sp^2$  (C=C, 284,2 eV) [95,96],

(C-C/C-H, 284,8 eV), (C-N/C-O, 285,4 eV) [96,97] y carbono carboxílico (O-C=O, 287,5 eV) [97,98] indicándonos la presencia de grafito, grupos aminos y carboxilos. La figura 3-7C nos muestra el HR-XPS del N1s que se puede descomponer en dos picos, asignados a (N-Piridínico, 398,5 eV) y (N-H, 399,7 eV) [99] indicándonos la incorporación de nitrógeno en el núcleo grafitico y la presencia de grupos aminos superficiales. La figura 3-7D nos muestra el HR-XPS del O1s que se puede descomponer en dos picos, asignados a oxígeno  $sp^2$  (O=C, 531,0 eV) y oxígeno  $sp^3$  (O-C, 532,6 eV) [100,101] lo que corrobora la presencia grupos carboxilos. Todo lo anterior sumado a FT-IR nos corrobora que la estructura de los N-CQDs consiste principalmente en un núcleo grafitico con una superficie rica en grupos funcionales aminos y carboxilos.

**Figura 3-7:** (A) Espectro XPS completo de los N-CQDs. (B-D) Espectro XPS de alta resolución del C1s, N1s y O1s de los N-CQDs.

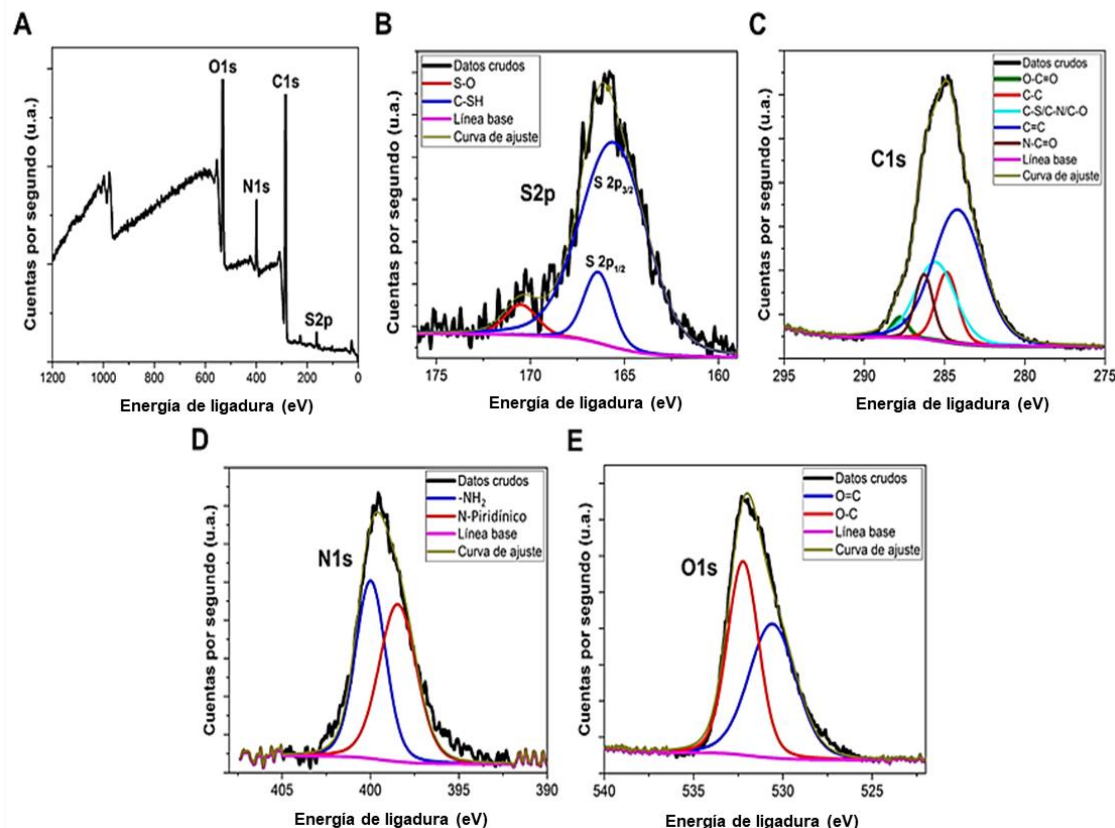


Nombre de la fuente: Autores

Por otro lado, en la figura 3-8A tenemos el espectro general de XPS de los N-CQDs/CYS en el que se evidencian claramente carbono, nitrógeno, oxígeno y la presencia de un nuevo pico debido al azufre (166,1 eV), como era de esperarse de su superficie funcionalizada con *L*-cisteína. La figura 3-8B nos muestra el HR-XPS del S2p que se puede observar en dos componentes, uno asignados al doblete ( $2p_{3/2}$ , 165,4 eV) y ( $2p_{1/2}$ , 166,5 eV) de -C-S-H [61] atribuido a la presencia del grupo tiol de la *L*-cisteína y por otro lado, un singlete (S=O, 170,3 eV) que puede ser debido a especies oxidadas de azufre [102]. La figura 3-8C nos muestra el HR-XPS del C1s que en este caso se puede descomponer en cinco picos, un pico adicional al C1s de los N-CQDs, estos cinco picos se asignaron a carbono  $sp^2$  (C=C, 284,2 eV), (C-C/C-H, 284,9 eV), (C-S/C-N/C-O, 285,6 eV) [96,97], el pico adicional del carbono de tipo amida (N-C=O, 286,3 eV) [103] y finalmente el carbono carboxílico (O-C=O, 287,8 eV) [104,105]. La aparición de C-S y N-C=O en la muestra N-CQDs/CYS demuestra la presencia de ligando y la formación de un enlace amida estable entre la *L*-cisteína y los N-CQDs. Por otro lado, la figura 3-8D nos muestra el HR-XPS del N1s en el que se podemos observar dos componentes, uno asignados a (N-Piridínico, 398,5 eV) [106] y el segundo en este caso asignado a (N-H/N-C=O, 400,0 eV) [95,106,107]. La presencia de grupos amida confirma la reacción entre el grupo carboxílico de los N-CQDS y los grupos amina de la *L*-cisteína. La figura 3-8E nos muestra el HR-XPS del O1s que se puede descomponer en dos picos, asignados a oxígeno  $sp^2$  (O=C, 530,6 eV) y oxígeno  $sp^3$  (O-C, 532,2 eV) [100,101], observando que las energías de enlace y las intensidades relativas cambiaron en comparación al XPS O1s de los N-CQDs, estas variaciones se atribuyen al enlace químico amida entre el grupo carboxílico de los N-CQDS y los grupos amina de la *L*-cisteína.

Todo lo anterior sumado a FT-IR nos corrobora que la estructura de los N-CQDs/CYS consiste en un núcleo grafitico con una superficie rica en grupos funcionales aminos, carboxilos, amidas y grupo tioles, indicándonos la correcta funcionalización de la *L*-cisteína a los N-CQDs por medio de la reacción de acoplamiento de amida para formar adecuadamente los N-CQDs/CYS.

**Figura 3-8:** (A) Espectro XPS completo de los N-CQDs/CYS. (B-E) Espectro XPS de alta resolución del S2P, C1s, N1s y O1s de los N-CQDs/CYS.



Nombre de la fuente: Autores

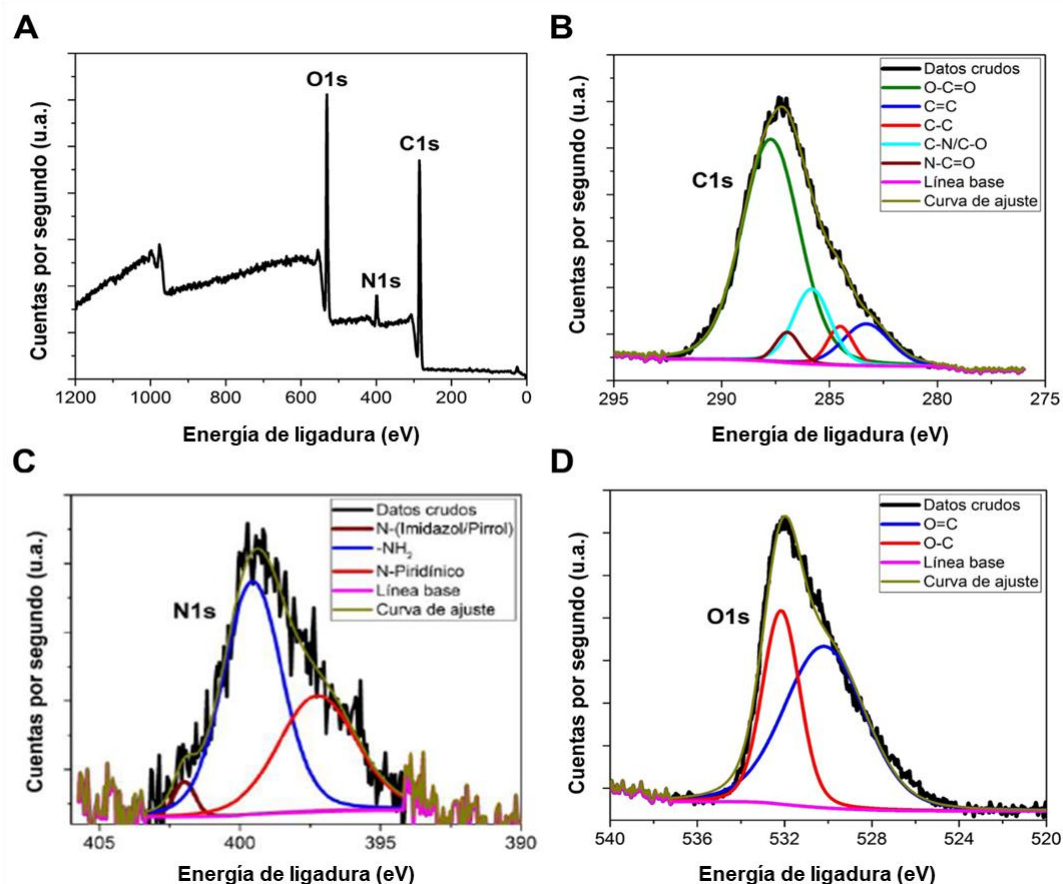
Tenemos el espectro general de XPS de los N-CQDs/HIS (Figura 3-9A) en el que evidenciamos la presencia de carbono, nitrógeno y oxígeno. La figura 3-9B nos muestra el HR-XPS del C1s que de la misma manera que el anteriormente mencionado se descomponer en cinco picos, un pico adicional al C1s de los N-CQDs, estos cinco picos se asignaron a carbono  $sp^2$  (C=C, 283,5 eV) [95,96], (C-C/C-H, 284,6 eV), (C-N/C-O, 285,8 eV) [96,97], el pico adicional del carbono de tipo amida (N-C=O, 286,9 eV) [103] y finalmente el carbono carboxílico (O-C=O, 287,7eV) [104,105]. La aparición N-C=O en la muestra N-CQDs/HIS demuestra la formación de un enlace amida estable entre la *L*-histidina y los N-CQDs. Por otro lado, la figura 3-9C nos muestra el HR-XPS del N1s en el que para este caso podemos evidencia tres componentes, uno adicional a los N1s de los otros materiales ya mencionados, que se atribuyen a (N-Piridínico, 397,3 eV) [106], (N-

H/N-C=O, 399,8 eV) [95,106,107] y el componente adicional (N-Imidazol/Pirrol, 401,9 eV) [106]. La presencia de grupos amida confirma la reacción entre el grupo carboxílico de los N-CQDS y los grupos amina de la *L*-histidina, sumado a esto la presencia del grupo imidazol es muy importante porque nos confirma este grupo funcional de la *L*-histidina una vez se funcionaliza, lo que no habíamos podido observar directamente con otras técnicas. Finalmente, la figura 3-9D nos muestra el HR-XPS del O1s que se puede descomponer en dos picos, asignados a oxígeno  $sp^2$  (O=C, 530,2 eV) y oxígeno  $sp^3$  (O-C, 532,2 eV) [100,101], observando una vez más que las energías de enlace y las intensidades relativas cambiaron en comparación al XPS O1s de los N-CQDs, se atribuyendo estas variaciones al enlace químico amida entre el grupo carboxílico de los N-CQDS y los grupos amina de la *L*-histidina.

Todo lo anterior sumado a FT-IR nos corrobora que la estructura de los N-CQDs/HIS consiste en un núcleo grafitico con una superficie rica en grupos funcionales aminos, carboxilos, amidas y grupo imidazol, indicándonos la correcta funcionalización de la *L*-histidina a los N-CQDs por medio de la reacción de acoplamiento de amida para formar adecuadamente los N-CQDs/HIS.



**Figura 3-9:** (A) Espectro XPS completo de los N-CQDs/HIS. (B-D) Espectro XPS de alta resolución del C1s, N1s y O1s de los N-CQDs/HIS.



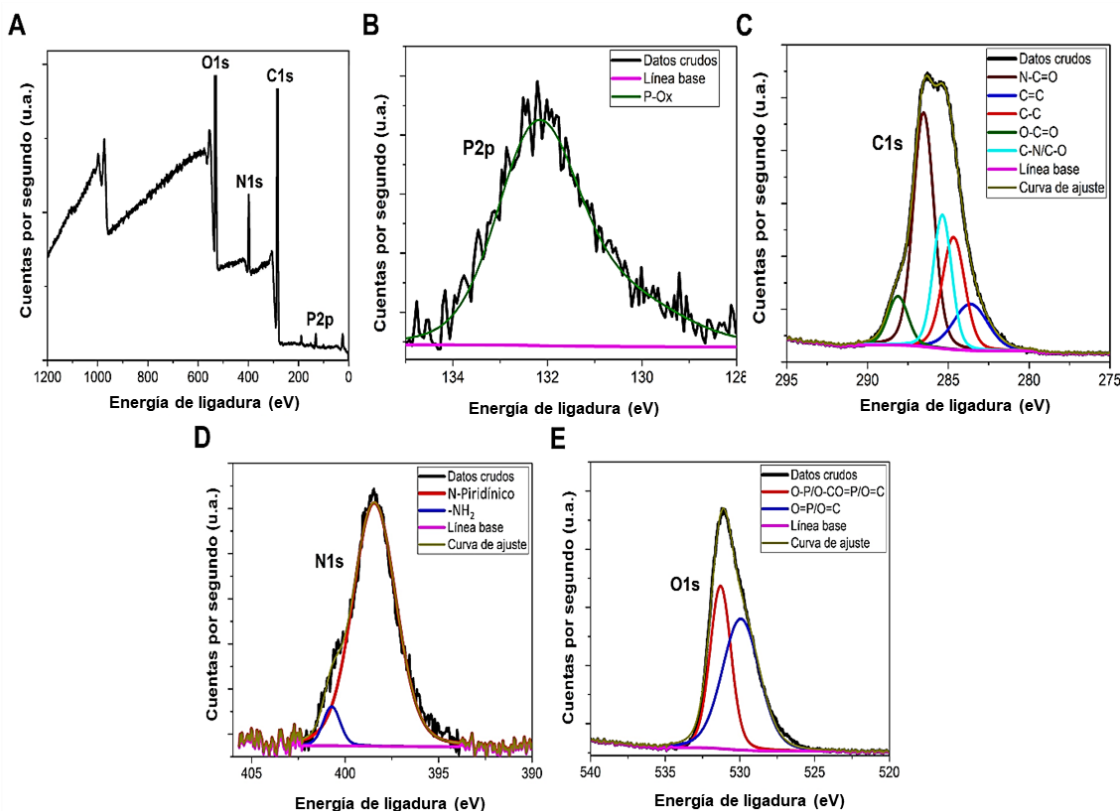
Nombre de la fuente: Autores

Finalmente, tenemos el espectro general de XPS de los N-CQDs/FOS (Figura 3-10A) en el que evidenciamos la presencia de carbono, nitrógeno, oxígeno y la presencia de un nuevo pico debido al fósforo (132,2 eV) [108,109], como se esperaba con la funcionalización con *L*-fosfoserina. La figura 3-10B nos muestra el HR-XPS del P2p, donde podemos observar un componente (P-Ox, 132,2 eV) debido a especies oxidadas de fósforo [109,110], lo mencionado al complementarse con la señal a 4,2 ppm característica de Ortofosfato Monoéster en el espectro RMN <sup>31</sup>P de los N-CQDs/FOS (ver figura 3-17C) [111], nos indican la presencia del grupo fosfato Monoéster de la *L*-fosfoserina. La figura 3-10C nos muestra el HR-XPS del C1s que en este caso de nuevo se puede descomponer

en cinco picos, un pico adicional al C1s de los N-CQDs, estos cinco picos se asignan a carbono  $sp^2$  (C=C, 283,7 eV) [95,96], (C-C/C-H, 284,7 eV), (C-N/C-O, 285,4 eV) [96,97], el pico adicional del carbono de tipo amida (N-C=O, 286,5 eV) [103] y finalmente el carbono carboxílico (O-C=O, 288,0 eV) [104,105]. La aparición de N-C=O en la muestra N-CQDs/HIS demuestra una vez más la formación de un enlace amida estable, esta vez entre la *L*-fosfoserina y los N-CQDs. Por otro lado, la figura 3-10D nos muestra el HR-XPS del N1s en el que podemos observar dos componentes, uno asignados a (N-Piridínico, 398,4 eV) [106] y el segundo en este caso asignado a (N-H/N-C=O, 400,7 eV) [95,106,107]. La presencia de grupos amida confirma la reacción entre el grupo carboxílico de los N-CQDS y los grupos amina de la *L*-fosfoserina. La figura 3-10E nos muestra el HR-XPS del O1s que se puede descomponer en dos picos, asignados a oxígeno  $sp^2$  (O=C/O=P, 529,9 eV) y oxígeno  $sp^3$  (O-C/O-P, 531,3 eV) [100,101,109], observando que las energías de enlace y las intensidades relativas cambiaron significativamente en comparación al XPS O1s de los N-CQDs, estas variaciones se atribuyen de nuevo al enlace químico amida entre el grupo carboxílico de los N-CQDS y los grupos amina en este caso de la *L*-fosfoserina, sumado a la presencia de (P=O y P-O) del fosfato de la *L*-fosfoserina indicando la correcta funcionalización.

Todo lo anterior sumado a FT-IR nos corrobora que la estructura de los N-CQDs/FOS consiste en un núcleo grafitico con una superficie rica en grupos funcionales aminos, carboxilos, amidas y grupo fosfato, indicándonos la correcta funcionalización de la *L*-fosfoserina a los N-CQDs por medio de la reacción de acoplamiento de amida para formar adecuadamente los N-CQDs/FOS.

**Figura 3-10:** (A) Espectro XPS completo de los N-CQDs/FOS. (B-E) Espectro XPS de alta resolución del P2p, C1s, N1s y O1s de los N-CQDs/FOS.

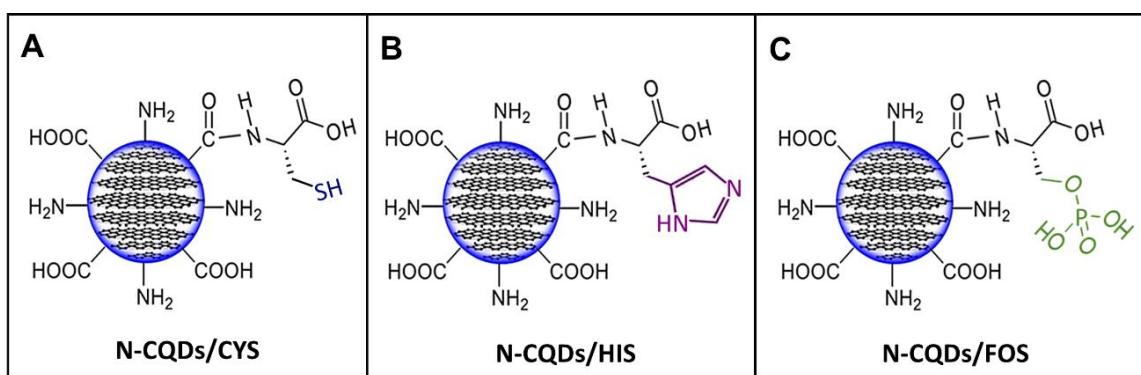


Nombre de la fuente: Autores

Teniendo en cuenta todos los resultados de caracterización, podemos indicar que los N-CQDs se obtuvieron a partir de la biomasa de cáscaras de chontaduro (*Bactris gasipaes*). Los materiales N-CQDs absorben y fluorescen considerablemente en la región visible. Además, poseen una estabilidad coloidal moderada. Las mediciones de DRX, HRTEM, FT-IR, XPS y potencial Z demuestran que los materiales N-CQDs tienen un núcleo de grafito semicristalino, con algunas incorporaciones de nitrógeno (N-Piridinico) y una superficie rica principalmente en grupos amino y carboxilos. Se pudo caracterizar y evidenciar un enlace químico amida entre los N-CQDs y la *L*-cisteína. Los N-CQDs/CYS con un núcleo grafitico poseen una superficie rica en grupos funcionales amino, carboxilos, amida y tiol. Por otro lado, también pudimos evidenciar un enlace químico de amida entre

los N-CQDs y la *L*-histidina. Los N-CQDs/HIS con un núcleo grafitico poseen una superficie rica en grupos funcionales amino, carboxilos, amida e imidazol. Finalmente, para el último material también se evidencio un enlace químico de amida entre los N-CQDs y la *L*-fosfoserina. Los N-CQDs/FOS con un núcleo grafitico poseen una superficie rica en grupos funcionales amino, carboxilos, amida y fosfato. La figura 3-11 muestra una estructura simplificada de N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS.

**Figura 3-11:** Esquema de las estructuras simplificadas de los (A) N-CQDs/CYS. (B) N-CQDs/HIS y (C) N-CQDs/FOS.



Nombre de la fuente: Autores

### 3.2 Aplicación de los N-CQDs/CYS en la detección de los iones $\text{Hg}^{2+}$

Teniendo en cuenta la fluorescencia de los N-CQDs/CYS obtenidos a partir de cáscara de chontaduro, con solubilidad en medio acuoso y su superficie estratégicamente funcionalizada con *L*-cisteína mediante la reacción de acoplamiento de amida; estos materiales fueron usados en la detección fluorescente de  $\text{Hg}^{2+}$ . Para lo anterior la disminución de la fluorescencia (en medio acuoso) de los N-CQDs/CYS fue estudiada a diferentes concentraciones de  $\text{Hg}^{2+}$ . La figura 3-12A muestra la disminución del espectro de fluorescencia de los N-CQDs/CYS a medida que incrementa la concentración de mercurio (0-35  $\mu\text{M}$ ), sin aparentes cambios en su longitud máxima de emisión.

La disminución de la fluorescencia de los N-CQDs/CYS en función de la concentración de  $\text{Hg}^{2+}$  se ajusta muy bien a la relación de Stern Volmer:

$$I_0/I = 1 + K_{sv} [Q] \quad (1)$$

Donde  $I_0$  e  $I$  es la intensidad de fluorescencia en presencia y ausencia de  $\text{Hg}^{2+}$  respectivamente.  $K_{sv}$  es la constante de Stern Volmer (sensibilidad de los N-CQDs/CYS en la detección de  $\text{Hg}^{2+}$ ) y  $[Q]$  en este caso es la concentración de los iones mercurio [112]. En la figura 3-12C podemos observar la curva de calibración de la disminución de la fotoluminiscencia (PL) en función de la concentración de  $\text{Hg}^{2+}$ , el rango lineal de la curva de calibración estuvo entre 0 y 35  $\mu\text{M}$ , mostrando un buen ajuste lineal con un coeficiente de correlación ( $R^2$ ) de 0,9998. La sensibilidad ( $K_{sv}$ ) fue  $4,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  con un límite de detección (LD) de 39  $\mu\text{g/L}$  o 0,20  $\mu\text{M}$ , ( $\text{LD} = 3\sigma/\text{sensibilidad}$ , donde  $\sigma$  es la desviación estándar del blanco) [113].

### 3.3 Evaluación del efecto de otros iones en las propiedades fluorescentes de los N-CQDs/CYS

Algunas investigaciones han mostrado excelentes resultados en la detección de  $\text{Hg}^{2+}$  mediante CQDs preparados a partir de diferentes fuentes de carbono de biomasa [13,114]. Sin embargo, esta es la primera vez que los puntos de carbono dopados con N derivados de cáscaras de frutas se modifican con *L*-cisteína (a través de una reacción de acoplamiento de amida) para aplicarse en la detección de  $\text{Hg}^{2+}$  mediante extinción de fluorescencia. El ligando de *L*-cisteína tiene una ventaja en la selectividad debido a la alta afinidad entre  $\text{Hg}^{2+}$  y el azufre del grupo tiol en la superficie de N-CQDs/CYS. En este contexto, evaluamos el efecto sobre la intensidad de fluorescencia de N-CQDs/CYS generada por otros iones metálicos ( $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{As}^{3+}$ ), como se muestra en la Figura 3-12D.

En la Figura 3-12D, podemos observar que únicamente los iones  $\text{Hg}^{2+}$  lograron disminuir la intensidad de fluorescencia significativamente un 80,5%, seguido por los iones  $\text{Co}^{2+}$  que únicamente la disminuyeron un 8,9%, los demás iones no afectaron de manera significativa la fluorescencia (menos del 5%). Adicionalmente, podemos observar que a medida que aumenta la dureza de Pearson de los iones, la intensidad de fluorescencia del material se

ve menos afectada, esta ligera tendencia nos indica que los N-CQDs/CYS tiene mayor afinidad por iones con baja dureza (ácidos blandos) como los iones  $\text{Hg}^{2+}$ , mientras que para los iones de elevada dureza (ácidos duros) la afinidad es insignificante, en la tabla 3-1 se consignan los valores de dureza de los diferentes iones usados, lo que corrobora la tendencia mencionada [115].

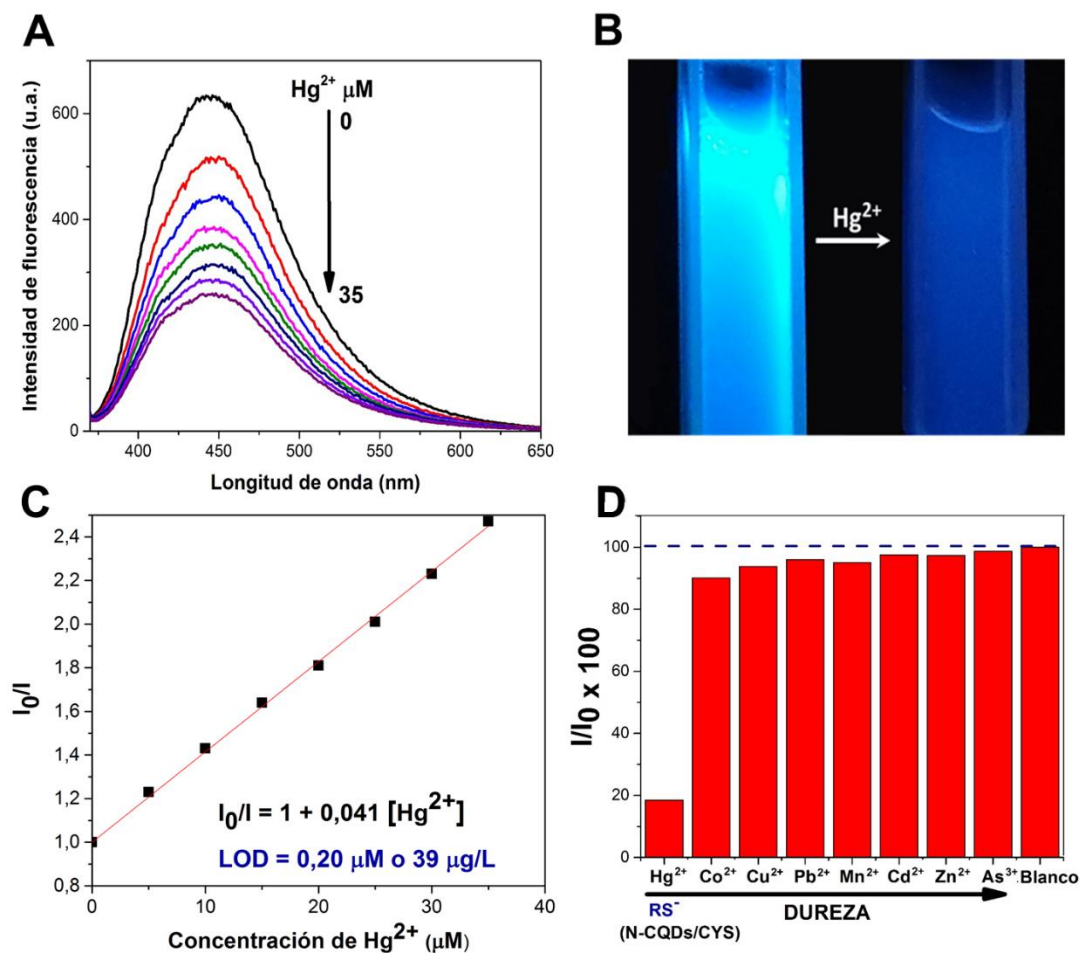
**Tabla 3-1:** Dureza absoluta experimental ( $\eta$ ) [115].

Ion	$\eta$ (eV)
$\text{Hg}^{2+}$	7.70
$\text{Co}^{2+}$	8.22
$\text{Cu}^{2+}$	8.27
$\text{Pb}^{2+}$	8.46
$\text{Mn}^{2+}$	9.02
$\text{Cd}^{2+}$	10.29
$\text{Zn}^{2+}$	10.88
$\text{As}^{3+}$	-

No se reporta la dureza del grupo tiolato ( $\text{RS}^-$ ) pero podemos presumir que está entre (6,00-6,20 eV) debido a que la dureza de ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\eta$ : 6,20 eV) >  $\text{RS}^-$  > ( $\text{RSR}$ ,  $\eta$ : 6,00 eV) [115]. Al funcionalizar estratégicamente los N-CQDs con *L*-cisteína le incorporamos al material una base blanda ( $\text{RS}^-$ ,  $\eta$ : 6,00-6,20 eV), que tienen mayor afinidad por los ácidos blandos ( $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\eta$ : 7,70 eV) formando complejos estables con un enlace de coordinación de carácter covalente [116], dirigiendo de esa forma la selectividad por los iones mercurio en medio acuoso. Lo anterior conlleva como veremos más adelante a que el mecanismo de detección de estos iones este controlado principalmente por la formación de un complejo de coordinación entre el grupo tiolato de los N-CQDs/CYS y los iones  $\text{Hg}^{2+}$ . En la figura 3-12B podemos observar como la intensidad de fluorescencia azul de los N-CQDs/CYS se va apagando a simple vista cuando se mezcla con una solución acuosa de los iones mercurio.

Otros sensores de iones metálicos basados en CQDs preparados a partir de biomasa y sin modificación posterior a la síntesis son superficialmente ricos en grupos que contienen oxígeno y  $\text{NH}_2$ , que son bases duras y podrían afectar la selectividad de  $\text{Hg}^{2+}$  [117–120]. La comparación de la dureza de los cationes y la basicidad de los ligandos o grupos funcionales en la superficie de los CQDs son características significativas para optimizar la detección fluorescente de iones metálicos [117] para mantener las ventajas de estos materiales obtenidos a partir de recursos de biomasa (de alto valor, económicos, renovables y respetuosos con el medio ambiente). En el presente estudio los N-CQDs/CYS obtenidos a partir de cáscaras de chontaduro mostraron una buena sensibilidad y selectividad a los iones mercurio, con gran potencial para ser usados en la detección fluorescente de manera cuantitativa de iones mercurio en medio acuoso. En la actualidad, estos son herramientas indispensables para determinar mercurio de una forma fácil y económica, particularmente en Colombia que presenta una mayor exposición al mercurio, como se ha indicado en la sección de introducción.

**Figura 3-12:** (A) Intensidad del espectro de fluorescencia de los N-CQDs/CYS a diferentes concentraciones de  $\text{Hg}^{2+}$  de 0 y 35  $\mu\text{M}$ . (B) Fotos de una dispersión acuosa de los N-CQDs/CYS con y sin presencia de  $\text{Hg}^{2+}$ . (C) Relación de Stern Volmer entre la intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/CYS y la concentración de  $\text{Hg}^{2+}$ . (D) Intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/CYS después de agregar diferentes iones metálicos.



Nombre de la fuente: Autores



### 3.4 Determinación del mecanismo de detección de $\text{Hg}^{2+}$ de los N-CQDs/CYS

El mecanismo de *quenching* de fluorescencia usualmente viene dado por efectos de filtro interno, transferencia de energía de resonancia de Förster (FRET), *quenching* dinámico y *quenching* estático [67,68]. Los iones  $\text{Hg}^{2+}$  en medio acuoso no absorben en el visible, de tal manera su espectro de absorción no se sobrelapa ni un poco con el espectro de absorción o fluorescencia de los N-CQDs/CYS, lo anterior indica que los iones  $\text{Hg}^{2+}$  no pueden atenuar el haz de excitación ni tampoco absorber la fluorescencia de los puntos de carbono, por lo tanto, se descarta que el mecanismo de *quenching* de fluorescencia sea el efecto de filtro interno. Adicionalmente, los iones  $\text{Hg}^{2+}$  tampoco fluorescen en el visible, de tal manera que el mecanismo de *quenching* FRET también puede descartarse.

Para determinar si el mecanismo de *quenching* es estático o dinámico podemos usar los tiempos de vida de fluorescencia de los N-CQDs/CYS, debido a que el tiempo de vida permanece casi constante en el proceso de *quenching* estático mientras que en el *quenching* dinámico cambia considerablemente [67,121]. Por lo tanto, la curva de decaimiento fluorescente de los N-CQDs/CYS y N-CQDs/CYS +  $\text{Hg}^{2+}$  fueron obtenidas para determinar el mecanismo de *quenching*. En la figura 3-13A podemos observar que la curva de decaimiento de los N-CQDs/CYS se ajusta muy bien a un decaimiento biexponencial ( $r^2 = 0,9963$ ), como ya se había mencionado antes, el primer canal tiene un tiempo de vida más corto  $\tau_1$  2,0 ns (40%) y el segundo un tiempo de vida más largo  $\tau_2$  7,0 ns (60%), el tiempo de vida promedio de fluorescencia de los N-CQDs/CYS fue de 5,0 ns. Después de la adición de los iones  $\text{Hg}^{2+}$  el tiempo de vida de los dos canales fluorescentes de los N-CQDs/CYS fue de  $\tau_1$  1,9 ns (35%) y  $\tau_2$  6,4 ns (65%) con un tiempo de vida promedio de fluorescencia de 4,8 ns. Como se puede observar el tiempo de vida promedio de los N-CQDs/CYS permaneció casi constante en la ausencia o presencia de los iones  $\text{Hg}^{2+}$ , lo que nos indica el mecanismo de *quenching* estático debido a la formación de un complejo de coordinación no fluorescente en el estado basal entre los N-CQDs/CYS y los iones  $\text{Hg}^{2+}$ .

Para corroborar el mecanismo de *quenching* estático se puede hacer fácilmente observando el espectro de absorción de los N-CQDs/CYS, debido a que el espectro de absorción permanece constante durante el proceso de *quenching* dinámico, mientras que en el proceso de *quenching* estático hay cambios debido a la formación del complejo de coordinación no fluorescente en el estado basal [67,86]. En la figura 3-13B podemos ver el espectro de absorción de los N-CQDs/CYS y N-CQDs/CYS +  $\text{Hg}^{2+}$ , podemos observar que el espectro de absorción de los N-CQDs/CYS +  $\text{Hg}^{2+}$  cambia, disminuyendo (efecto hipocrómico) en comparación al espectro de los N-CQDs/CYS, sugiriéndonos un mecanismo de *quenching* estático con la respectiva formación del complejo de coordinación no fluorescente ni cromóforo. La mayoría de las veces la modificación superficial de un material como por ejemplo la funcionalización de los N-CQDs con L-cisteína conducen a un mecanismo de *quenching* estático de la fluorescencia.

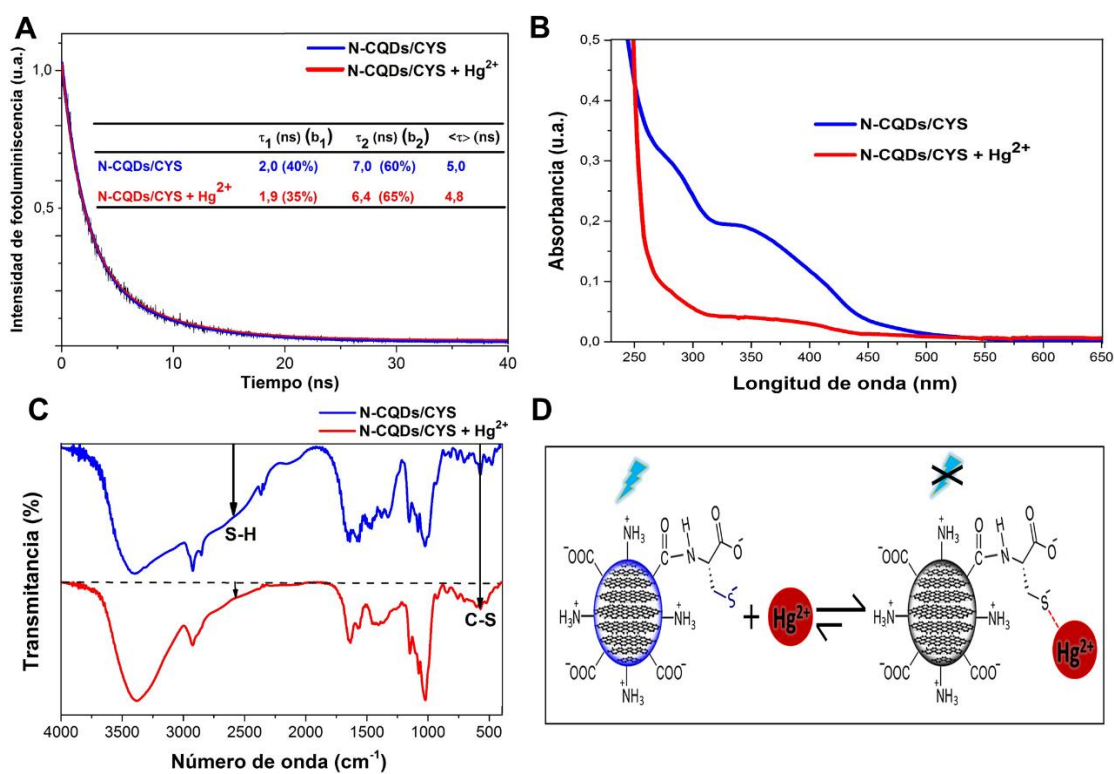
Debido a que los N-CQDs/CYS forman un complejo de coordinación con los iones  $\text{Hg}^{2+}$  es necesario conocer principalmente por donde se está coordinando, para inferir lo anterior en la figura 3-13C tenemos los espectros FT-IR normalizados de los N-CQDs/CYS y N-CQDs/CYS +  $\text{Hg}^{2+}$ , se puede evidenciar que en presencia de los iones  $\text{Hg}^{2+}$  el hombro a  $2560\text{ cm}^{-1}$  (R-S-H, grupo tiol) disminuye considerablemente hasta un punto de casi desaparecer, lo que nos indica la formación de un tiolato ( $\text{R-S}^-$ ) inducido por la coordinación de los iones  $\text{Hg}^{2+}$ , sugiriéndonos como se suponía que los iones  $\text{Hg}^{2+}$  (ácido blando,  $\eta$ : 7.70 eV) se coordinan a los N-CQDs/CYS principalmente a través del tiolato  $\text{R-S}^-$  (base blanda,  $\eta$ : 6,00-6,20 eV) de la L-cisteína debido a su gran afinidad.

Adicionalmente, también podemos observar un ensanchamiento de la banda a  $601\text{ cm}^{-1}$  (C-S). La coordinación de un átomo pesado como el mercurio al grupo tiolato le brinda rigidez al enlace (C-S) generando una disminución en su tiempo de vibración  $\Delta t$ , con un correspondiente ensanchamiento de su energía  $\Delta E$  (principio de indeterminación de Heisenberg), lo que explica el correspondiente ensanchamiento de su banda de absorción, corroborando la coordinación de los iones mercurio al tiolato [122].

Teniendo en cuenta todo lo anterior en la figura 3-13D tenemos un esquema simplificado proponiendo el mecanismo de detección de los iones mercurio por los N-CQDs/CYS. Como

se puede observar, se forma un complejo de coordinación no fluorescente en el estado basal entre los iones mercurio y el grupo tiolato de la cisteína funcionalizada de los N-CQDs/CYS mediante un mecanismo de *quenching* estático.

**Figura 3-13:** (A) Curvas de decaimiento fluorescente. (B) Espectros de absorción. (C) FT-IR normalizado de N-CQDs/CYS y N-CQDs/CYS +  $\text{Hg}^{2+}$ . (D) Esquema simplificado del mecanismo de detección de  $\text{Hg}^{2+}$  por los N-CQDs/CYS.



Nombre de la fuente: Autores

### 3.5 Aplicación de los N-CQDs/HIS en la detección de los iones $\text{Pb}^{2+}$

Teniendo en cuenta que los N-CQDs/HIS fueron exitosamente funcionalizados con *L*-histidina mediante la reacción de acoplamiento de amida; se procedió a usar estos materiales en la detección fluorescente de  $\text{Pb}^{2+}$ . Para ello la disminución de la fluorescencia de los N-CQDs/HIS fue estudiada a diferentes concentraciones de  $\text{Pb}^{2+}$ . La figura 3-13A muestra la disminución del espectro de fluorescencia de los N-CQDs/CYS a medida que

incrementa la concentración de plomo (0-35  $\mu\text{M}$ ), sin observan cambios aparentes en su longitud máxima de fluorescencia.

De igual manera que para los N-CQDs/CYS la disminución de la fluorescencia de los N-CQDs/HIS en función de la concentración de  $\text{Pb}^{2+}$  se ajustó muy bien a la relación de Stern Volmer (ecuación 1) [112]. En la figura 3-14B vemos la curva de calibración de la disminución de la fotoluminiscencia (PL) en función de la concentración de  $\text{Pb}^{2+}$ , el rango lineal de la curva de calibración se mantuvo entre 0 y 35  $\mu\text{M}$ , con un coeficiente de correlación ( $R^2$ ) de 0,9997. La sensibilidad ( $K_{sv}$ ) fue  $1,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  con un límite de detección (LD) de 15  $\mu\text{g/L}$  o 0,070  $\mu\text{M}$  [113].

### 3.6 Evaluación del efecto de otros iones en las propiedades fluorescentes de los N-CQDs/HIS

Algunas investigaciones han mostrado excelentes resultados en la detección de  $\text{Pb}^{2+}$  mediante CQDs preparados a partir de diferentes fuentes de carbono de biomasa [5,10,12]. Sin embargo, esta es la primera vez que los puntos de carbono dopados con nitrógenos, obtenidos de cáscaras de frutas se modifican con *L*-histidina (a través de una reacción de acoplamiento de amida) para aplicarse en la detección de  $\text{Pb}^{2+}$  mediante la disminución de su fluorescencia. El ligando de *L*-histidina tiene una ventaja en la selectividad debido a la afinidad entre  $\text{Pb}^{2+}$  y el nitrógeno del grupo imidazol en la superficie de N-CQDs/HIS. Por lo anterior, se evaluó el efecto sobre la intensidad de fluorescencia de N-CQDs/HIS generada por otros iones metálicos ( $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{As}^{3+}$ ), como se muestra en la figura 3-14C.

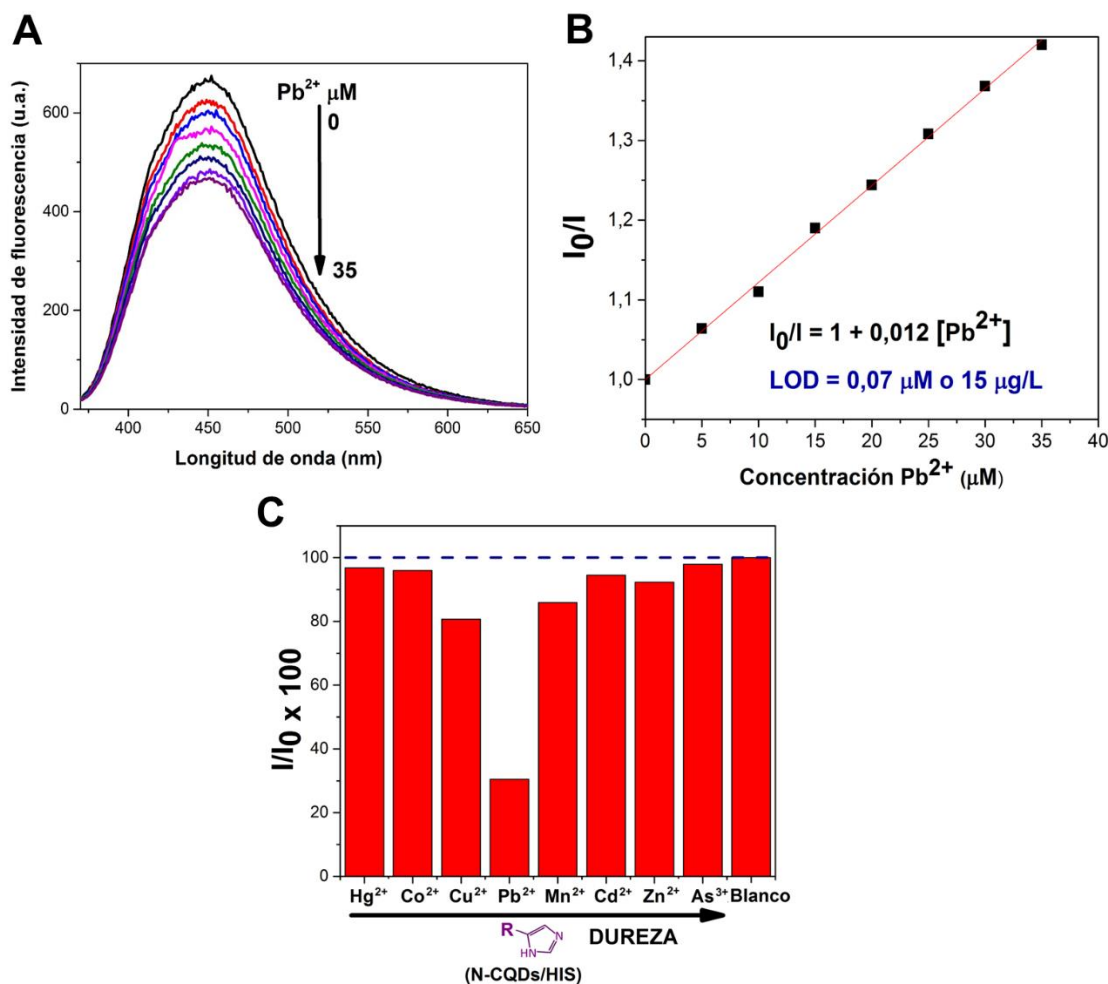
Los iones  $\text{Pb}^{2+}$  indujeron una fuerte disminución de la fluorescencia (70,0%), mientras que otros cationes no tuvieron efectos significativos, excepto los iones  $\text{Cu}^{2+}$  (19,3%) y  $\text{Mn}^{2+}$  (14,1%) que redujeron ligeramente la intensidad de PL. Adicionalmente, podemos observar que a medida que la dureza de Pearson de los iones tienen valores extremos (muy duros o blandos), la intensidad de fluorescencia del material se ve menos afectada, esta ligera tendencia nos indica que los N-CQDs/HIS tiene mayor afinidad por iones con dureza intermedia (ácidos intermedios) como los iones  $\text{Pb}^{2+}$ , mientras que para los iones con

elevada dureza o blandura la afinidad es pequeña, en la tabla 3-1 se consignan los valores de dureza de los diferentes iones usados, lo que corrobora la tendencia mencionada.

El grupo imidazol de la *L*-histidina es una base intermedia con una dureza que puede estar en el rango medio de la tabla 3-1 [34,115]. Al funcionalizar estratégicamente los N-CQDs con *L*-histidina le incorporamos al material una base intermedia, que tienen mayor afinidad por los ácidos intermedios, como por ejemplo el ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\eta$ : 8,46 eV) formando complejos estables, dirigiendo de esa forma una mayor selectividad por los iones plomo en medio acuoso. Sin embargo, debido a que la dureza del imidazol es intermedia y el  $\text{Cu}^{2+}$  ( $\eta$ : 8,27 eV) y  $\text{Mn}^{2+}$  ( $\eta$ : 9,02 eV) tienen una dureza cercana a la del  $\text{Pb}^{2+}$  ( $\eta$ : 8,46 eV) pudimos observar una mayor selectividad hacia el plomo, pero no de manera absoluta.

Pocos trabajos se han reportado para la detección de  $\text{Pb}^{2+}$  usando N-CQDs obtenidos a partir de cáscaras de frutas o funcionalizados estratégicamente, como se mencionó en la sección de introducción. Adicionalmente, a la fecha no hay ningún trabajo reportado en la obtención de N-CQDs a partir de cáscaras de chontaduro, o funcionalizados estratégicamente con *L*-histidina mediante una reacción de acoplamiento de amida, que se use para la detección fluorescente de  $\text{Pb}^{2+}$ , lo que resalta lo innovador de este trabajo. En el presente estudio los N-CQDs/HIS obtenidos a partir de cáscaras de chontaduro mostraron una buena sensibilidad y una elevada pero no absoluta selectividad a los iones plomo, con un elevado potencial para ser usados en la detección fluorescente de manera cuantitativa de iones plomo en medio acuoso, teniendo en cuenta posibles interferentes como  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ . En la actualidad, estos podrían ser herramientas indispensables para determinar plomo en Colombia de una forma fácil y económica.

**Figura 3-14:** (A) Intensidad del espectro de fluorescencia de los N-CQDs/HIS a diferentes concentraciones de  $\text{Pb}^{2+}$  de 0 y 35  $\mu\text{M}$ . (B) Relación de Stern Volmer entre la intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/HIS y la concentración de  $\text{Pb}^{2+}$ . (C) Intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/HIS después de agregar diferentes iones metálicos.



Nombre de la fuente: Autores

### 3.7 Determinación del mecanismo de detección de $\text{Pb}^{2+}$ de los N-CQDs/HIS

De manera similar que hicimos para los N-CQDs/CYS descartaremos algunos posibles mecanismos de detección de los iones plomo, primero que todo iones  $\text{Pb}^{2+}$  en medio acuoso no absorben en el visible, de tal manera su espectro de absorción no se puede sobrelapar con el espectro de absorción o fluorescencia de los N-CQDs/HIS, indicando que los iones  $\text{Pb}^{2+}$  no pueden atenuar el haz de excitación ni tampoco absorber la fluorescencia de los puntos cuánticos de carbono, por lo tanto, se descarta que el mecanismo de *quenching* de fluorescencia sea el efecto de filtro interno. Adicionalmente, los iones  $\text{Pb}^{2+}$  tampoco fluorescen en el visible, de tal manera que el mecanismo de *quenching* FRET también se descartó.

La curva de decaimiento fluorescente de los N-CQDs/HIS y N-CQDs/HIS +  $\text{Pb}^{2+}$  se obtuvieron para determinar el mecanismo de *quenching*. En la figura 3-15A se observa que la curva de decaimiento de los N-CQDs/HIS también se ajustó muy bien a un decaimiento biexponencial ( $r^2 = 0,9982$ ), el primer canal tiene un tiempo de vida más corto  $\tau_1$  1,8 ns (27%) y el segundo un tiempo de vida más largo  $\tau_2$  7,2 ns (63%), el tiempo de vida promedio de fluorescencia de los N-CQDs/CYS fue de 5,7 ns. Después de la adición de los iones  $\text{Pb}^{2+}$  el tiempo de vida de los dos canales fluorescentes de los N-CQDs/HIS fue de  $\tau_1$  1,9 ns (29%) y  $\tau_2$  7,6 ns (71%) con un tiempo de vida promedio de fluorescencia de 5,9 ns. Observando que el tiempo de vida promedio de los N-CQDs/HIS permaneció sin cambios significativos en la ausencia o presencia de los iones  $\text{Pb}^{2+}$ , lo que nos indica un mecanismo de *quenching* estático con la formación de un complejo de coordinación no fluorescente en el estado basal entre los N-CQDs/HIS y los iones  $\text{Pb}^{2+}$

De igual manera, para corroborar el mecanismo de *quenching* estático se observó los cambios el espectro de absorción de los N-CQDs/HIS. En la figura 3-15B podemos ver el espectro de absorción de los N-CQDs/HIS y N-CQDs/HIS +  $\text{Pb}^{2+}$ , observando que el espectro de absorción de los N-CQDs/HIS +  $\text{Pb}^{2+}$  disminuye (efecto hipocrómico) en

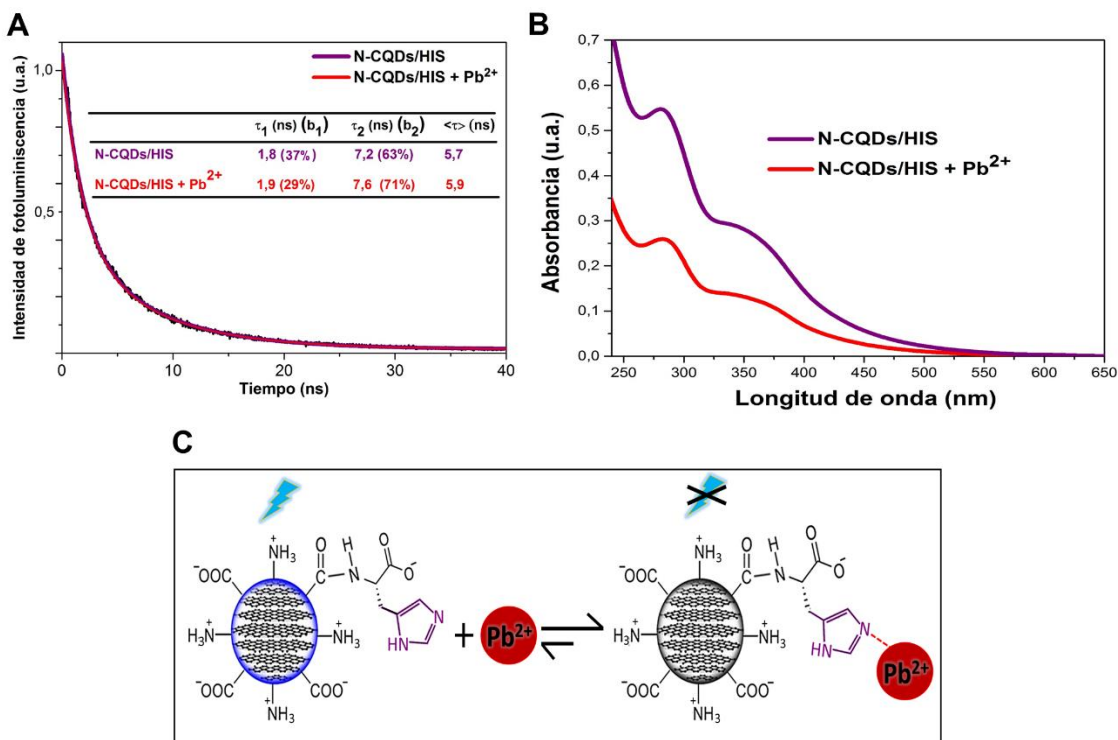
comparación al espectro de los N-CQDs/HIS, corroborando el mecanismo de *quenching* estático con la respectiva formación del complejo de coordinación que no es fluoróforo ni cromóforo.

Debido a que los N-CQDs/HIS forman un complejo de coordinación con los iones  $\text{Pb}^{2+}$  y a las tendencias de selectividad observadas podemos proponer que muy probablemente los iones  $\text{Pb}^{2+}$  (ácido intermedio) se coordinan a los N-CQDs/HIS principalmente a través del nitrógeno del grupo imidazol (base intermedia) de la *L*-histidina debido a su gran afinidad.

Teniendo en cuenta todo lo anterior en la figura 3-15C tenemos un esquema simplificado proponiendo el mecanismo de detección de los iones plomo por los N-CQDs/HIS. Como se puede observar, se forma un complejo de coordinación no fluorescente en el estado basal muy probablemente entre los iones  $\text{Pb}^{2+}$  y el nitrógeno del grupo imidazol de la *L*-histidina funcionalizada de los N-CQDs/HIS mediante un mecanismo de *quenching* estático.



**Figura 3-15:** (A) Curvas de decaimiento fluorescente. (B) Espectros de absorción. (C) Esquema simplificado del mecanismo de detección de  $\text{Pb}^{2+}$  por los N-CQDs/HIS.



Nombre de la fuente: Autores

### 3.8 Aplicación de los N-CQDs/FOS en la detección de los iones $\text{As}^{3+}$

Los N-CQDs/FOS con su superficie estratégicamente funcionalizada con fosfoserina fueron usados en la detección fluorescente de  $\text{As}^{3+}$ . Para lo anterior la disminución de la fluorescencia (en medio acuoso) de los N-CQDs/CYS fue estudiada a diferentes concentraciones de  $\text{As}^{3+}$ . La figura 3-16A muestra la disminución del espectro de fluorescencia de los N-CQDs/FOS a medida que incrementa la concentración de arsénico (0-35  $\mu\text{M}$ ).

La disminución de la fluorescencia de los N-CQDs/FOS en función de la concentración de  $\text{Hg}^{2+}$  se ajustó muy bien a la relación de Stern Volmer [112]. En la figura 3-16B podemos

observar la curva de calibración, el rango lineal de nuevo estuvo entre 0 y 35  $\mu\text{M}$ , mostrando un buen ajuste lineal con un coeficiente de correlación ( $R^2$ ) de 0,9998. La sensibilidad ( $K_{\text{sv}}$ ) fue  $3,0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  con un límite de detección (LD) de 26  $\mu\text{g/L}$  o 0,34  $\mu\text{M}$  [113].

### 3.9 Evaluación del efecto de otros iones en las propiedades fluorescentes de los N-CQDs/FOS

Es la primera vez que los puntos cuánticos de carbono dopados con nitrógeno y obtenidos a partir de cáscaras de frutas se modifican con *L*-fosfoserina (a través de una reacción de acoplamiento de amida) para aplicarse en la detección fluorescente de  $\text{As}^{3+}$ . El ligando de *L*-fosfoserina tiene una ventaja en la selectividad debido a la alta afinidad entre  $\text{As}^{3+}$  y el átomo de oxígeno del grupo fosfato en la superficie de N-CQDs/FOS. Evaluamos el efecto sobre la intensidad de fluorescencia de N-CQDs/FOS generada por otros iones metálicos ( $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ), como se muestra en la figura 3-16C.

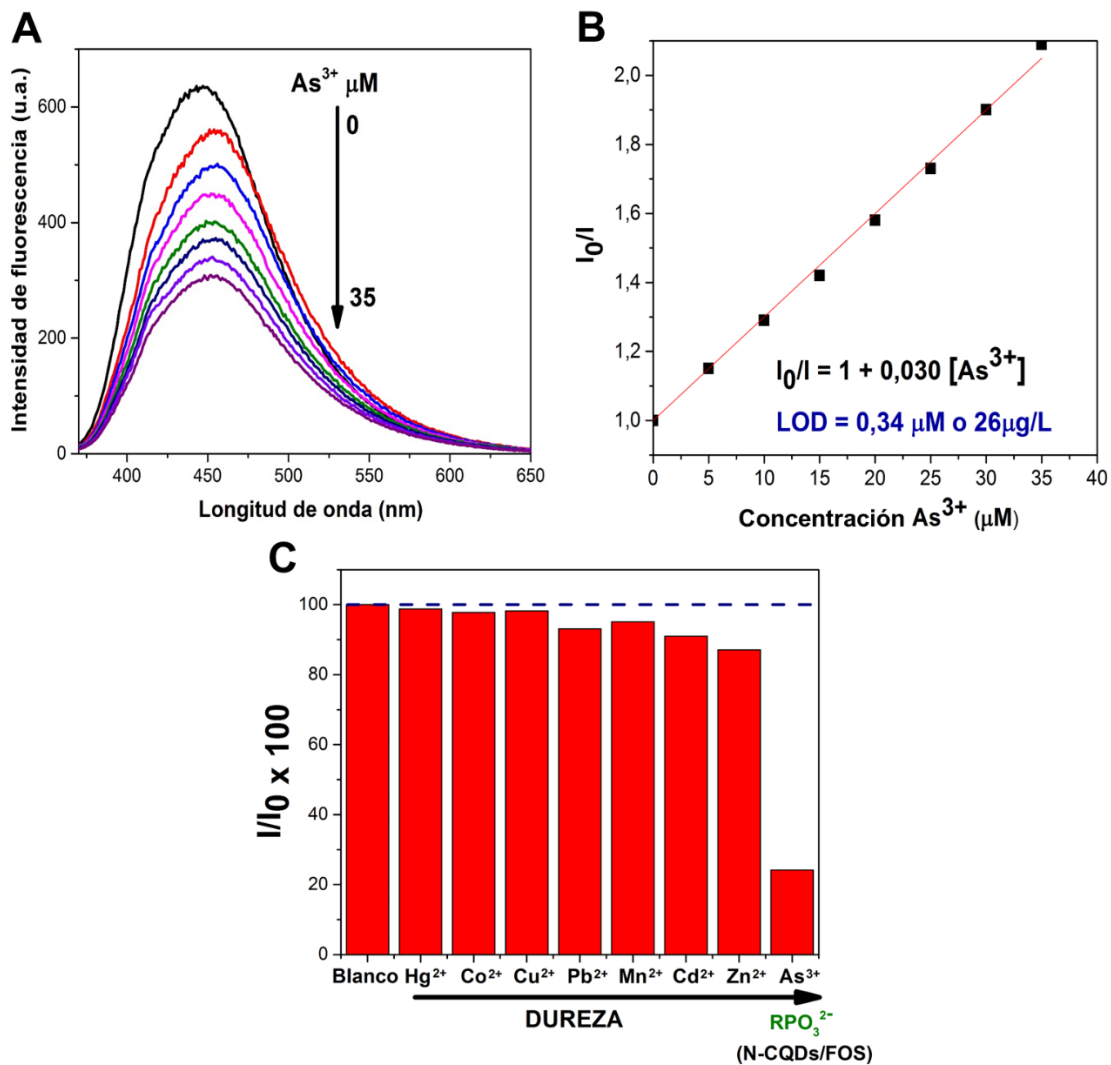
En la figura 3-16C, podemos observar que únicamente los iones  $\text{As}^{3+}$  lograron disminuir la intensidad de fluorescencia significativamente un 75,8%, seguido por los iones  $\text{Zn}^{2+}$  que únicamente la disminuyeron un 12,9%, los demás iones no afectaron de manera significativa la fluorescencia (menos del 10%). Adicionalmente, podemos observar que a medida que disminuye la dureza de Pearson de los iones, la intensidad de fluorescencia del material se ve menos afectada, esta ligera tendencia nos indica que los N-CQDs/FOS tiene mayor afinidad por iones con alta dureza (ácidos duros) como los iones  $\text{As}^{3+}$ , mientras que para los iones con baja dureza (ácidos blandos) la afinidad es insignificante, en la tabla 3-1 se consignan los valores de dureza de los diferentes iones usados, lo que corrobora la tendencia mencionada.

El grupo fosfato es una base dura con baja polarizabilidad, por ende su dureza absoluta debe estar en el extremo más alto de la tabla 3-1 [34,115]. Al funcionalizar estratégicamente los N-CQDs con *L*-fosfoserina le incorporamos al material una base dura como el fosfato, que tienen mayor afinidad por los ácidos duros ( $\text{As}^{3+}$ ), formando complejos estables con un enlace de coordinación de carácter iónico [116], dirigiendo de esa forma

la selectividad por los iones  $\text{As}^{3+}$  en medio acuoso. Lo que conlleva a que el mecanismo de detección de estos iones esté controlado principalmente por la formación de un complejo de coordinación entre el grupo fosfato de los N-CQDs/FOS y los iones  $\text{As}^{3+}$ .

A la fecha no hay ningún trabajo reportado en la obtención de N-CQDs a partir de cáscaras de chontaduro funcionalizados estratégicamente con *L*-fosfoserina que se use en la detección fluorescente de  $\text{As}^{3+}$ . En el presente estudio los N-CQDs/FOS obtenidos a partir de cáscaras de chontaduro mostraron una buena sensibilidad y selectividad a los iones  $\text{As}^{3+}$ , con gran potencial para ser usados en la detección fluorescente de manera cuantitativa de iones  $\text{As}^{3+}$  en medio acuoso. En la actualidad, estos son herramientas indispensables para determinar mercurio de una forma fácil y económica, particularmente en Colombia que presenta una mayor exposición al arsénico, como también se ha indicado en la introducción.

**Figura 3-16:** (A) Intensidad del espectro de fluorescencia de los N-CQDs/FOS a diferentes concentraciones de  $\text{As}^{3+}$  de 0 y 35  $\mu\text{M}$ . (B) Relación de Stern Volmer entre la intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/FOS y la concentración de  $\text{As}^{3+}$ . (C) Intensidad de fluorescencia de los N-CQDs/FOS después de agregar diferentes iones metálicos.



Nombre de la fuente: Autores

### 3.10 Determinación del mecanismo de detección de $\text{As}^{3+}$ de los N-CQDs/FOS

De manera similar a los que ya hicimos para los N-CQDs/CYS y N-CQDs/HIS podemos descartar el mecanismo de *quenching* de fluorescencia por el  $\text{As}^{3+}$  mediante el efecto de filtro interno y FRET.

La curva de decaimiento fluorescente de los N-CQDs/FOS y N-CQDs/FOS +  $\text{As}^{3+}$  se obtuvieron para determinar el mecanismo de *quenching*. En la figura 3-17A se observa que la curva de decaimiento de los N-CQDs/FOS de nuevo se ajustó a un decaimiento biexponencial ( $r^2 = 0,9987$ ), el primer canal tiene un tiempo de vida de  $\tau_1$  2,0 ns (34%) y el segundo un tiempo de vida de  $\tau_2$  7,8 ns (66%), el tiempo de vida promedio de fluorescencia de los N-CQDs/FOS fue de 5,8 ns. Después de la adición de los iones  $\text{Pb}^{2+}$  el tiempo de vida de los dos canales fluorescentes de los N-CQDs/FOS fue de  $\tau_1$  2,2 ns (39%) y  $\tau_2$  8,2 ns (61%) con un tiempo de vida promedio de fluorescencia de 5,9 ns. Observando que el tiempo de vida promedio de los N-CQDs/FOS permaneció sin cambios significativos en la ausencia o presencia de los iones  $\text{As}^{3+}$ , lo que nos indica un mecanismo de *quenching* estático con la formación de un complejo de coordinación no fluorescente en el estado basal entre los N-CQDs/FOS y los iones  $\text{As}^{3+}$ .

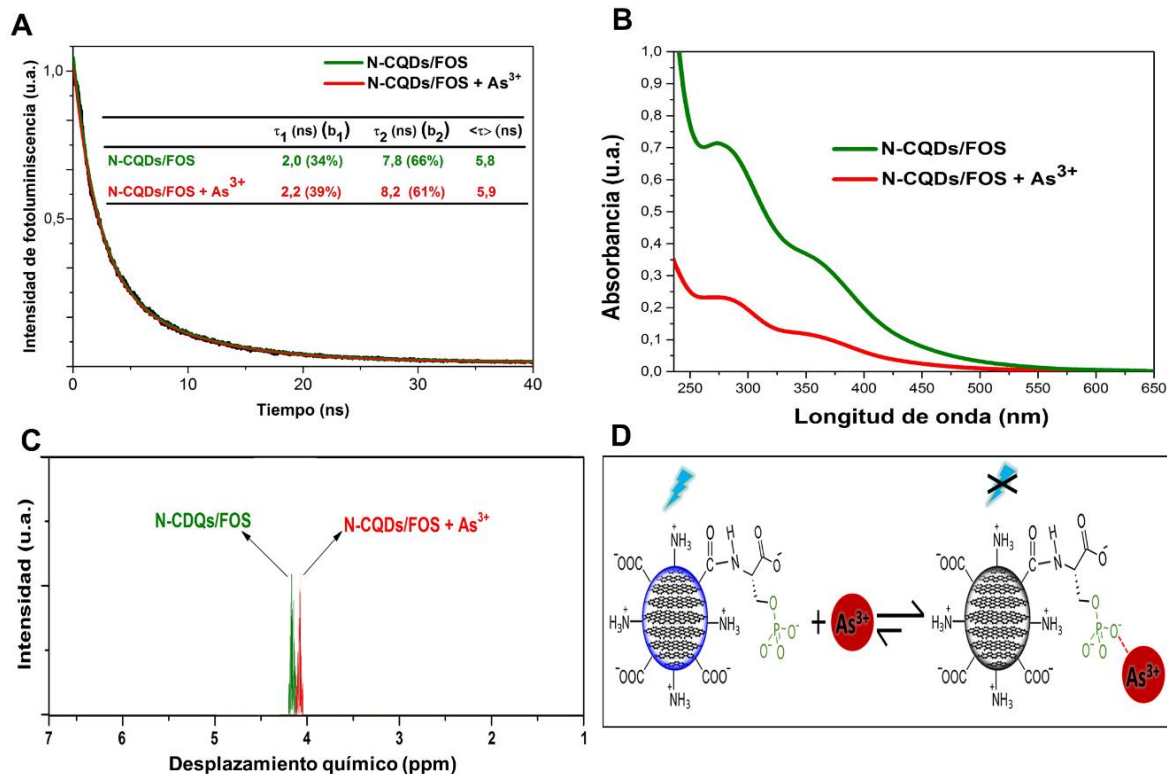
De igual manera, para corroborar el mecanismo de *quenching* estático se observó los cambios en el espectro de absorción de los N-CQDs/FOS. En la figura 3-17B podemos ver el espectro de absorción de los N-CQDs/FOS y N-CQDs/FOS +  $\text{As}^{3+}$ , observando de manera similar a los otros dos sistemas que el espectro de absorción de los N-CQDs/FOS +  $\text{As}^{3+}$  disminuye (efecto hipocrómico) en comparación al espectro de los N-CQDs/FOS, corroborando el mecanismo de *quenching* estático con la respectiva formación del complejo de coordinación no fluorescente ni cromóforo.

Debido a que los N-CQDs/FOS forman un complejo de coordinación con los iones  $\text{As}^{3+}$  es necesario conocer principalmente por donde se está coordinando al ion, para inferir lo anterior en la figura 3-17C tenemos los espectros RMN  $^{31}\text{P}$  normalizados de los N-CQDs/FOS y N-CQDs/FOS +  $\text{As}^{3+}$ , se puede evidenciar que en presencia de los iones  $\text{As}^{3+}$

la señal a 4,2 ppm (Ortofosfato Monoéster de los N-CQDs/FOS) [111] se mueve ligeramente a un menor desplazamiento químico (4,1 ppm), debido al efecto de blindaje que genera el ion metálico  $\text{As}^{3+}$  (ácido duro) al fósforo, indicándonos que muy probablemente estos iones se coordinan principalmente a los N-CQDs/FOS a través del oxígeno del grupo fosfato (base dura) de la *L*-fosfoserina.

Teniendo en cuenta todo lo anterior en la figura 3-17D tenemos un esquema simplificado proponiendo el mecanismo de detección de los iones arsénico por los N-CQDs/FOS, como podemos observar se forma un complejo de coordinación no fluorescente en el estado basal muy probablemente entre los iones  $\text{As}^{3+}$  y el oxígeno del grupo fosfato de la *L*-fosfoserina funcionalizada de los N-CQDs/FOS mediante un mecanismo de *quenching* estático.

**Figura 3-17:** (A) Espectros de absorción. (B) Curvas de decaimiento fluorescente. (C) Espectros RMN  $^{31}\text{P}$  normalizados. (D) Esquema simplificado del mecanismo de detección de  $\text{As}^{3+}$  por los N-CQDs/FOS.



Nombre de la fuente: Autores

Una vez comprobado que el mecanismo de detección de los N-CQDs funcionalizados, se da principalmente por la formación de un complejo de coordinación entre el ion metálico  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  y el grupo funcional (tiol, imidazol o fosfato) respectivamente, de los aminoácidos funcionalizados, mediante un mecanismo de quenching estático, la Ksv toma un significado importante, en este caso la Ksv es equivalente a la constante de asociación ( $K_a$ ). Es decir que la sensibilidad y selectividad del material va a depender fuertemente de la capacidad de coordinación de los grupos funcionales mencionados y será gobernado principalmente por la teoría HSAB de Pearson como planteábamos en nuestra hipótesis. Basado en eso podemos observar que la sensibilidad de los materiales disminuye en el siguiente orden NCQDs/CYS ( $4.10 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ), NCQDs/FOS ( $3.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ) y NCQDs/HIS

( $1.20 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ), siendo mayor para el sistema suave-suave, tiol (S)- $\text{Hg}^{2+}$  con carácter covalente de enlace coordinación muy fuerte, seguido del sistema duro-duro, fosfato (O)- $\text{As}^{3+}$  con carácter iónico y un enlace coordinación menos fuerte que el covalente, y finalmente el menor para el sistema intermedio-intermedio, imidazol (N)- $\text{Pb}^{2+}$  de carácter intermedio con el enlace de coordinación más débil.

Cabe resaltar que Pearson planteo la siguiente relación importante ( $\Delta\eta = \Delta E_{\text{OM}}$ ) [33,110], lo que nos indica que entre más cercanos sean las durezas absolutas del ligante y del ion metálico más cercanas van a ser las energías de los orbitales moleculares frontera, generando así un elevado solapamiento de estos y por ende una mayor estabilidad del enlace, esta es la razón del comportamiento observado en la sensibilidad de los materiales y la importancia de la modificación superficial con los aminoácidos propuestos.

Podemos observar una relación parecida a la sensibilidad para la selectividad de los materiales, siendo mayor para los NCQDs/CYS seguido para los NCQDs/FOS y finalmente la menor selectividad relativa para los NCQDs/HIS, la explicación es similar a la mencionada para la sensibilidad, sumado también al hecho de que la dureza de los NCQDs/CYS y NCQDs/FOS están en un valor extremo lo que nos indica que tiene una vecindad con menos vecinos que puedan actuar como interferentes y por ende tienen mayor selectividad, en caso contrario a los NCQDs/HIS que al tener un valor de dureza intermedio su vecindad está rodeado de varios vecinos cercanos que actúan como interferentes disminuyendo su selectividad.

Como podemos observar la modificación estratégica de los N-CQDs con los aminoácidos fue esencial para obtener buena sensibilidad y selectividad a los analitos de interés, principalmente en sistemas de detección con un mecanismo de quenching estático, de esa manera se podría construir cualquier sensor fluorescente selectivo a un analito de interés únicamente variando la superficie del material, teniendo en cuenta la afinidad química, en nuestro caso y de manera general para cualquier detección que involucre la formación complejo de coordinación entre el analito y el material, la teoría HSAB funciona muy bien, sobre todo cuando la selectividad es controlada principalmente por la termodinámica sin tener en cuenta efectos cinéticos.





## 4. Conclusiones y recomendaciones

### 4.1 Conclusiones

Este trabajo reporta por primera vez el uso de residuos de cáscaras de chontaduro (*Bactris gasipaes*) para obtener N-CQDs con la capacidad de ser aplicados en la detección fluorescente de iones  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$ . La síntesis de los N-CQDs derivados de biomasa inducidas con irradiación de microondas produjo partículas semicristalinas con tamaños de 3,28 nm. Estos nanomateriales tienen un núcleo gráfitico y una superficie cubierta de grupos amino y carboxílicos.

La superficie de los N-CQDs fue funcionalizada apropiadamente mediante una reacción de acoplamiento de amida con diferentes aminoácidos, *L*-cisteína, *L*-histidina y *L*-fosfoserina, obteniendo tres materiales, los N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS, la reacción de acoplamiento de amida se da entre los grupos carboxilo de los N-CQDs y el grupo amino de los aminoácidos. Para los N-CQDs/CYS, N-CQDs/HIS y N-CQDs/FOS se conservó el núcleo gráfitico dopado con nitrógeno y se incorporaron en su superficie grupos tioles (de la *L*-cisteína), grupos imidazol (de la *L*-histidina) y grupos fosfato (de la *L*-fosfoserina) respectivamente. Asimismo, se mantuvo el tamaño de las nanopartículas después de la funcionalización con los correspondientes aminoácidos. A pesar de la complejidad de su superficie, se evidenció la formación de un enlace químico covalente entre los aminoácidos y los N-CQDs. Adicionalmente, los rendimientos cuánticos de fluorescencia se incrementaron del 20,5% (para N-CQDs) a 25,4% (N-CQDs/CYS) y 23,0% (N-CQDs/HIS), pero en el caso de los (N-CQDs/FOS) no se observó ese incremento (25,4%) debido al grupo fosfato fuertemente electroatractor que favorece el mecanismo no radiativo TEF.

Los N-CQDs/CYS aplicados a la detección de iones de mercurio mediante la disminución de su fluorescencia mostraron buenos resultados. Encontramos una sensibilidad de  $4.10 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  y un LD de 0.20  $\mu\text{M}$ . Quizás la característica más importante de los N-

CQD/CYS fue la selectividad a los iones mercurio. La funcionalización estratégica con *L*-cisteína de los N-CQDs generó un nuevo y eficiente material con buena sensibilidad y alta selectividad para detectar  $\text{Hg}^{2+}$ . La medición del decaimiento de la fluorescencia evidenció la formación de un complejo de coordinación no fluorescente entre el grupo tiol de la *L*-cisteína y los iones mercurio, mediante un mecanismo de *quenching* estático.

Por otro lado, los N-CQDs/HIS aplicados a la detección de iones de mercurio mediante la disminución de su fluorescencia mostraron también buenos resultados. Encontramos una sensibilidad de  $1.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  y un LD de  $0.070 \mu\text{M}$ . Los N-CQD/CYS fueron mayormente selectivos a los iones plomo, sin embargo, no lo fueron totalmente (interferentes  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Co}^{2+}$ ). La funcionalización estratégica con *L*-histidina de los N-CQDs generó un nuevo y eficiente material con buena sensibilidad y selectividad para detectar  $\text{Pb}^{2+}$ . La medición del decaimiento de la fluorescencia evidenció la formación de un complejo de coordinación no fluorescente entre el grupo imidazol de la *L*-histidina y los iones plomo, mediante un mecanismo de *quenching* estático.

Finalmente, los N-CQDs/FOS aplicados a la detección de los iones arsénico mediante la disminución de su fluorescencia mostró también buenos resultados. Encontramos una sensibilidad de  $3.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  y un LD de  $0.34 \mu\text{M}$ . La característica más importante de los N-CQD/FOS fue la selectividad a los iones arsénico. La funcionalización estratégica con *L*-fosfoserina de los N-CQDs generó un nuevo y eficiente material con buena sensibilidad y alta selectividad para detectar  $\text{Pb}^{2+}$ . La medición del decaimiento de la fluorescencia evidenció la formación de un complejo de coordinación no fluorescente entre el grupo fosfato de la *L*-fosfoserina y los iones arsénico, mediante un mecanismo de *quenching* estático.

La modificación estratégica de los N-CQDs con los aminoácidos fue esencial para obtener buena sensibilidad y selectividad a los analitos de interés, principalmente en sistemas de detección con un mecanismo de *quenching* estático, de esa manera se podría construir cualquier sensor fluorescente selectivo a un analito de interés únicamente variando la superficie del material, teniendo en cuenta la afinidad química, en nuestro caso y de manera general para cualquier detección que involucre la formación de un complejo de

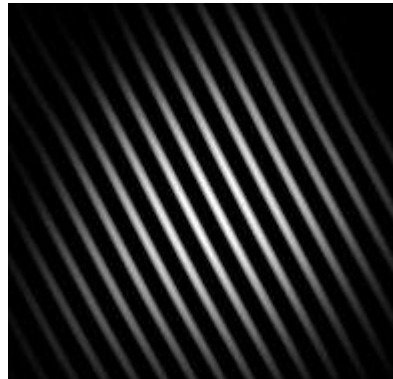
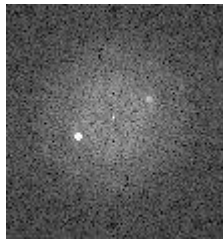
coordinación entre el analito y el material, la teoría HSAB funciona muy bien, principalmente cuando la selectividad es controlada principalmente por la termodinámica sin tener en cuenta efectos cinéticos.

Los resultados demuestran que los N-CQDs funcionalizados son excelentes candidatos para una rápida y económica detección fluorescente cuantitativa de iones  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$  en medio acuoso, que pueden aplicarse principalmente en regiones de países vulnerables por la contaminación de estos iones metálicos, tal como Colombia.

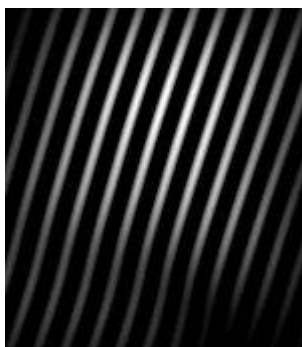
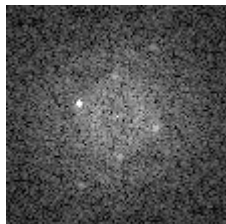
.



## A. Anexo: Transformada de Fourier HRTEM de los NCQDs



## **B. Anexo: Transformada de Fourier HRTEM de los NCQDs/CYS**



## C. Anexo: Transformada de Fourier HRTEM de los NCQDs/FOS





## D. Anexo: Transformada de Fourier HRTEM de los NCQDs/HIS





## Bibliografía

- [1] Duffus JH. “Heavy metals” a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure Appl Chem* 2002;74:793–807.  
<https://doi.org/10.1351/pac200274050793>.
- [2] Pandey SK, Singh P, Singh J, Sachan S, Srivastava S, Singh SK. Nanocarbon-based Electrochemical Detection of Heavy Metals. *Electroanalysis* 2016;28:2472–88. <https://doi.org/10.1002/elan.201600173>.
- [3] Londoño Franco LF, Londoño Muñoz PT, Muñoz Garcia FG. Los Riesgos De Los Metales Pesados En La Salud Humana Y Animal. *Biotecnología En El Sect Agropecu y Agroindustrial* 2016;14:145.  
[https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)145-153).
- [4] Gupta A, Chaudhary A, Mehta P, Dwivedi C, Khan S, Verma NC, et al. Nitrogen-doped, thiol-functionalized carbon dots for ultrasensitive Hg(ii) detection. *Chem Commun* 2015;51:10750–3.  
<https://doi.org/10.1039/c5cc03019f>.
- [5] Gupta A, Verma NC, Khan S, Tiwari S, Chaudhary A, Nandi CK. Paper strip based and live cell ultrasensitive lead sensor using carbon dots synthesized from biological media. *Sensors Actuators, B Chem* 2016;232:107–14.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.03.110>.
- [6] Radhakrishnan K, Panneerselvam P. Green synthesis of surface-passivated carbon dots from the prickly pear cactus as a fluorescent probe for the dual detection of arsenic(iii) and hypochlorite ions from drinking water. *RSC Adv* 2018;8:30455–67. <https://doi.org/10.1039/c8ra05861j>.
- [7] Jhonson O. El lado gris de la minería. 2002:123.
- [8] Services H. Toxicological Profile for Mercury. ATSDR’s Toxicol. Profiles,

- CRC Press; 2002. [https://doi.org/10.1201/9781420061888\\_ch109](https://doi.org/10.1201/9781420061888_ch109).
- [9] Clifton JC. Mercury Exposure and Public Health. *Pediatr Clin North Am* 2007;54:237.e1-237.e45. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2007.02.005>.
- [10] Liu Y, Zhou Q, Li J, Lei M, Yan X. Selective and sensitive chemosensor for lead ions using fluorescent carbon dots prepared from chocolate by one-step hydrothermal method. *Sensors Actuators, B Chem* 2016;237:597–604. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.06.092>.
- [11] Saikia A, Karak N. Polyaniline nanofiber/carbon dot nanohybrid as an efficient fluorimetric sensor for As (III) in water and effective antioxidant. *Mater Today Commun* 2018;14:82–9. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2017.12.020>.
- [12] Kumar A, Chowdhuri AR, Laha D, Mahto TK, Karmakar P, Sahu SK. Green synthesis of carbon dots from *Ocimum sanctum* for effective fluorescent sensing of  $\text{Pb}^{2+}$  ions and live cell imaging. *Sensors Actuators, B Chem* 2017;242:679–86. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.11.109>.
- [13] Lu W, Qin X, Liu S, Chang G, Zhang Y, Luo Y, et al. Economical, green synthesis of fluorescent carbon nanoparticles and their use as probes for sensitive and selective detection of mercury(II) ions. *Anal Chem* 2012;84:5351–7. <https://doi.org/10.1021/ac3007939>.
- [14] John F. Callan FMR. Quantum dot sensors, CRC Press; 2013, p. 230.
- [15] Lin YW, Huang CC, Chang HT. Gold nanoparticle probes for the detection of mercury, lead and copper ions. *Analyst* 2011;136:863–71. <https://doi.org/10.1039/c0an00652a>.
- [16] Resch-Genger U, Grabolle M, Cavaliere-Jaricot S, Nitschke R, Nann T. Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels. *Nat Methods* 2008;5:763–75. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1248>.
- [17] Valizadeh A, Mikaeili H, Samiei M, Farkhani S, Zarghami N, Kouhi M, et al. Quantum dots: synthesis, bioapplications, and toxicity. *Nanoscale Res Lett* 2012;7:480. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-7-480>.

- [18] Gómez Piñeros BS, Granados Oliveros G. CUANTIFICACIÓN DE MERCURIO (II) MEDIANTE PUNTOS CUÁNTICOS DE SELENURO DE CADMIO /SULFURO DE ZINC QUE COMPRENDE ÁCIDO OLÉICO O GLUTATIÓN Y EL MÉTODO DE PREPARACIÓN DE ESTOS. NC2020/0006440, 2020.
- [19] Raz J. Carbon quantum dots Synthesis, Properties and Applications. Springer Nature; 2004. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-43911-2>.
- [20] Das R, Bandyopadhyay R, Pramanik P. Carbon quantum dots from natural resource: A review. *Mater Today Chem* 2018;8:96–109. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2018.03.003>.
- [21] Liu W, Li C, Ren Y, Sun X, Pan W, Li Y, et al. Carbon dots: Surface engineering and applications. *J Mater Chem B* 2016;4:5772–88. <https://doi.org/10.1039/c6tb00976j>.
- [22] Zhou J, Booker C, Li R, Zhou X, Sham TK, Sun X, et al. An electrochemical avenue to blue luminescent nanocrystals from multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs). *J Am Chem Soc* 2007;129:744–5. <https://doi.org/10.1021/ja0669070>.
- [23] Simões EFC, Leitão JMM, da Silva JCGE. Carbon dots prepared from citric acid and urea as fluorescent probes for hypochlorite and peroxytrite. *Microchim Acta* 2016;183:1769–77. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-1807-6>.
- [24] Peng H, Travas-Sejdic J. Simple aqueous solution route to luminescent carbogenic dots from carbohydrates. *Chem Mater* 2009;21:5563–5. <https://doi.org/10.1021/cm901593y>.
- [25] Wee SS, Ng YH, Ng SM. Synthesis of fluorescent carbon dots via simple acid hydrolysis of bovine serum albumin and its potential as sensitive sensing probe for lead (II) ions. *Talanta* 2013;116:71–6. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.04.081>.
- [26] Gu D, Shang S, Yu Q, Shen J. Green synthesis of nitrogen-doped carbon dots from lotus root for Hg(II) ions detection and cell imaging. *Appl Surf Sci*

- 2016;390:38–42. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.08.012>.
- [27] Wang N, Wang Y, Guo T, Yang T, Chen M, Wang J. Green preparation of carbon dots with papaya as carbon source for effective fluorescent sensing of Iron (III) and *Escherichia coli*. *Biosens Bioelectron* 2016;85:68–75. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.04.089>.
- [28] Martínez-Girón J, Rodríguez-Rodríguez X, Pinzón-Zárate LX, Ordóñez-Santos LE. Caracterización fisicoquímica de harina de residuos del fruto de chontaduro (*Bactris gasipaes* Kunth, *Arecaceae*) obtenida por secado convectivo. *Corpoica Cienc y Tecnol Agropecu* 2017;18:599–613. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol18\\_num3\\_art:747](https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num3_art:747).
- [29] Díaz-Ortiz Á, Prieto P, de la Hoz A. A Critical Overview on the Effect of Microwave Irradiation in Organic Synthesis. *Chem Rec* 2019;19:85–97. <https://doi.org/10.1002/tcr.201800059>.
- [30] Chandra S, Das P, Bag S, Laha D, Pramanik P. Synthesis, functionalization and bioimaging applications of highly fluorescent carbon nanoparticles. *Nanoscale* 2011;3:1533–40. <https://doi.org/10.1039/c0nr00735h>.
- [31] Ramezani Z, Qorbanpour M, Rahbar N. Green synthesis of carbon quantum dots using quince fruit (*Cydonia oblonga*) powder as carbon precursor: Application in cell imaging and  $\text{As}^{3+}$  determination. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* 2018;549:58–66. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.04.006>.
- [32] Li X, Zhang S, Kulinich SA, Liu Y, Zeng H. Engineering surface states of carbon dots to achieve controllable luminescence for solid-luminescent composites and sensitive  $\text{Be}^{2+}$  detection. *Sci Rep* 2014;4:1–8. <https://doi.org/10.1038/srep04976>.
- [33] Yan F, Jiang Y, Sun X, Bai Z, Zhang Y, Zhou X. Surface modification and chemical functionalization of carbon dots: a review. *Microchim Acta* 2018;185. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2953-9>.
- [34] Hu H, He H, Zhang J, Hou X, Wu P. Optical sensing at the nanobiointerface

- of metal ion-optically-active nanocrystals. *Nanoscale* 2018;10:5035–46.  
<https://doi.org/10.1039/c8nr00350e>.
- [35] Parr RG, Pearson RG. Absolute Hardness: Companion Parameter to Absolute Electronegativity. *J Am Chem Soc* 1983;105:7512–6.  
<https://doi.org/10.1021/ja00364a005>.
- [36] Pearson RG. Hard and soft acids and bases, HSAB, part I: Fundamental principles. *J Chem Educ* 1968;45:581–7. <https://doi.org/10.1021/ed045p581>.
- [37] Gao X, Du C, Zhuang Z, Chen W. Carbon quantum dot-based nanoprobe for metal ion detection. *J Mater Chem C* 2016;4:6927–45.  
<https://doi.org/10.1039/c6tc02055k>.
- [38] Hola K, Zhang Y, Wang Y, Giannelis EP, Zboril R, Rogach AL. Carbon dots - Emerging light emitters for bioimaging, cancer therapy and optoelectronics. *Nano Today* 2014;9:590–603. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2014.09.004>.
- [39] Xu X, Ray R, Gu Y, Ploehn HJ, Gearheart L, Raker K, et al. Electrophoretic Analysis and Purification of Fluorescent Single-Walled Carbon Nanotube Fragments. *J AM CHEM SOC* 2004;126:12736–7.  
<https://doi.org/10.1021/ja040082h>.
- [40] Wang Y, Hu A. Copyright ( C ) by Foxit Software Company , 2005-2008 Carbon quantum dots : synthesis , properties and applications. *J Mater Chem C Mater Opt Electron Devices* 2014;2:6921–39.  
<https://doi.org/10.1039/C4TC00988F>.
- [41] Kim JK, Park MJ, Kim SJ, Wang DH, Cho SP, Bae S, et al. Balancing light absorptivity and carrier conductivity of graphene quantum dots for high-efficiency bulk heterojunction solar cells. *ACS Nano* 2013;7:7207–12.  
<https://doi.org/10.1021/nn402606v>.
- [42] Zhou J, Zhou H, Tang J, Deng S, Yan F, Li W, et al. Carbon dots doped with heteroatoms for fluorescent bioimaging: a review. *Microchim Acta* 2017;184:343–68. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-2043-9>.
- [43] Guo Y, Wang Z, Shao H, Jiang X. Hydrothermal synthesis of highly fluorescent carbon nanoparticles from sodium citrate and their use for the

- detection of mercury ions. *Carbon N Y* 2013;52:583–9.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbon.2012.10.028>.
- [44] Wang Y, Zhuang Q, Ni Y. Facile Microwave-Assisted Solid-Phase Synthesis of Highly Fluorescent Nitrogen-Sulfur-Codoped Carbon Quantum Dots for Cellular Imaging Applications. *Chem - A Eur J* 2015;21:13004–11.  
<https://doi.org/10.1002/chem.201501723>.
- [45] Shangguan J, Huang J, He D, He X, Wang K, Ye R, et al. Highly  $\text{Fe}^{3+}$  - Selective Fluorescent Nanoprobe Based on Ultrabright N/P Codoped Carbon Dots and Its Application in Biological Samples. *Anal Chem* 2017;89:7477–84. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b01053>.
- [46] Sahu S, Behera B, Maiti TK, Mohapatra S. Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: Application as excellent bio-imaging agents. *Chem Commun* 2012;48:8835–7.  
<https://doi.org/10.1039/c2cc33796g>.
- [47] Dong W, Zhou S, Dong Y, Wang J, Ge X, Sui L. The preparation of ethylenediamine-modified fluorescent carbon dots and their use in imaging of cells. *Luminescence* 2015;30:867–71. <https://doi.org/10.1002/bio.2834>.
- [48] Algarra M, Campos BB, Radotić K, Mutavdžić D, Bandosz T, Jiménez-Jiménez J, et al. Luminescent carbon nanoparticles: Effects of chemical functionalization, and evaluation of  $\text{Ag}^+$  sensing properties. *J Mater Chem A* 2014;2:8342–51. <https://doi.org/10.1039/c4ta00264d>.
- [49] Liu X, Zhang N, Bing T, Shangguan D. Carbon Dots Based Dual-Emission Silica Nanoparticles as a Ratiometric Nanosensor for  $\text{Cu}^{2+}$ . *Anal Chem* 2014;86:2289–96. <https://doi.org/10.1021/ac404236y>.
- [50] Wang X, Wang D, Guo Y, Yang C, Iqbal A, Liu W, et al. Imidazole derivative-functionalized carbon dots: Using as a fluorescent probe for detecting water and imaging of live cells. *Dalt Trans* 2015;44:5547–54.  
<https://doi.org/10.1039/c5dt00128e>.
- [51] Sun Y-P, Zhou B, Lin Y, Wang W, Fernando KAS, Pathak P, et al.



- Quantum-Sized Carbon Dots for Bright and Colorful Photoluminescence. *J Am Chem Soc* 2006;128:7756–7. <https://doi.org/10.1021/ja062677d>.
- [52] Jiang H, Chen F, Lagally MG, Denes FS. New Strategy for Synthesis and Functionalization of Carbon Nanoparticles. *Langmuir* 2010;26:1991–5. <https://doi.org/10.1021/la9022163>.
- [53] Yin B, Deng J, Peng X, Long Q, Zhao J, Lu Q, et al. Green synthesis of carbon dots with down- and up-conversion fluorescent properties for sensitive detection of hypochlorite with a dual-readout assay. *Analyst* 2013;138:6551–7. <https://doi.org/10.1039/c3an01003a>.
- [54] Zhou J, Sheng Z, Han H, Zou M, Li C. Facile synthesis of fluorescent carbon dots using watermelon peel as a carbon source. *Mater Lett* 2012;66:222–4. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2011.08.081>.
- [55] Zheng Y, Yang D, Wu X, Yan H, Zhao Y, Feng B, et al. A facile approach for the synthesis of highly luminescent carbon dots using vitamin-based small organic molecules with benzene ring structure as precursors. *RSC Adv* 2015;5:90245–54. <https://doi.org/10.1039/c5ra14720d>.
- [56] Wang ZX, Yu XH, Li F, Kong FY, Lv WX, Fan DH, et al. Preparation of boron-doped carbon dots for fluorometric determination of Pb(II), Cu(II) and pyrophosphate ions. *Microchim Acta* 2017;184:4775–83. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2526-3>.
- [57] Dou Q, Fang X, Jiang S, Chee PL, Lee TC, Loh XJ. Multi-functional fluorescent carbon dots with antibacterial and gene delivery properties. *RSC Adv* 2015;5:46817–22. <https://doi.org/10.1039/c5ra07968c>.
- [58] Ray Chowdhuri A, Tripathy S, Haldar C, Roy S, Sahu SK. Single step synthesis of carbon dot embedded chitosan nanoparticles for cell imaging and hydrophobic drug delivery. *J Mater Chem B* 2015;3:9122–31. <https://doi.org/10.1039/c5tb01831e>.
- [59] Jaiswal A, Ghosh SS, Chattopadhyay A. One step synthesis of C-dots by microwave mediated caramelization of poly(ethylene glycol). *Chem Commun* 2012;48:407–9. <https://doi.org/10.1039/c1cc15988g>.

- [60] Qiao ZA, Wang Y, Gao Y, Li H, Dai T, Liu Y, et al. Commercially activated carbon as the source for producing multicolor photoluminescent carbon dots by chemical oxidation. *Chem Commun* 2010;46:8812–4. <https://doi.org/10.1039/c0cc02724c>.
- [61] Mohapatra S, Sahu S, Sinha N, Bhutia SK. Synthesis of a carbon-dot-based photoluminescent probe for selective and ultrasensitive detection of  $\text{Hg}^{2+}$  in water and living cells. *Analyst* 2015;140:1221–8. <https://doi.org/10.1039/c4an01386g>.
- [62] Bandi R, Dadigala R, Gangapuram BR, Guttena V. Green synthesis of highly fluorescent nitrogen – Doped carbon dots from Lantana camara berries for effective detection of lead(II) and bioimaging. *J Photochem Photobiol B Biol* 2018;178:330–8. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.11.010>.
- [63] Prasannan A, Imae T. One-pot synthesis of fluorescent carbon dots from orange waste peels. *Ind Eng Chem Res* 2013;52:15673–8. <https://doi.org/10.1021/ie402421s>.
- [64] Vargas-Avila G, Jorge A-C. Clasificación y Caracterización de 20 razas de palma de chontaduro (*Bactris gasipaes* H.B.K) de acuerdo con las propiedades fisico-químicas y bromatológicas del fruto 2000:19.
- [65] Song Z, Quan F, Xu Y, Liu M, Cui L, Liu J. Multifunctional N,S co-doped carbon quantum dots with pH- and thermo-dependent switchable fluorescent properties and highly selective detection of glutathione. *Carbon N Y* 2016;104:169–78. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2016.04.003>.
- [66] Qiao ZA, Wang Y, Gao Y, Li H, Dai T, Liu Y, et al. Commercially activated carbon as the source for producing multicolor photoluminescent carbon dots by chemical oxidation. *Chem Commun* 2010;46:8812–4. <https://doi.org/10.1039/c0cc02724c>.
- [67] Zu F, Yan F, Bai Z, Xu J, Wang Y, Huang Y, et al. The quenching of the fluorescence of carbon dots: A review on mechanisms and applications.

- Microchim Acta 2017;184:1899–914. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2318-9>.
- [68] Huang S, Wang L, Zhu F, Su W, Sheng J, Huang C, et al. A ratiometric nanosensor based on fluorescent carbon dots for label-free and highly selective recognition of DNA. RSC Adv 2015;5:44587–97. <https://doi.org/10.1039/c5ra05519a>.
- [69] Zhu X, Zhao Z, Chi X, Gao J. Facile, sensitive, and ratiometric detection of mercuric ions using GSH-capped semiconductor quantum dots. Analyst 2013;138:3230. <https://doi.org/10.1039/c3an00011g>.
- [70] Lakowicz JR. Principles of Fluorescence Spectroscopy. Boston, MA: Springer US; 2006. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>.
- [71] Shrivastava A, Gupta V. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. Chronicles Young Sci 2011;2:21. <https://doi.org/10.4103/2229-5186.79345>.
- [72] Liu Y, Liao M, He X, Liu X, Kou X, Xiao D. One-step synthesis of highly luminescent nitrogen-doped carbon dots for selective and sensitive detection of mercury(II) ions and cellular imaging. Anal Sci 2015;31:971–7. <https://doi.org/10.2116/analsci.31.971>.
- [73] Huang H, Lv JJ, Zhou DL, Bao N, Xu Y, Wang AJ, et al. One-pot green synthesis of nitrogen-doped carbon nanoparticles as fluorescent probes for mercury ions. RSC Adv 2013;3:21691–6. <https://doi.org/10.1039/c3ra43452d>.
- [74] Qian ZS, Shan XY, Chai LJ, Chen JR, Feng H. A fluorescent nanosensor based on graphene quantum dots-aptamer probe and graphene oxide platform for detection of lead (II) ion. Biosens Bioelectron 2015;68:225–31. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.12.057>.
- [75] Zhang Z, Li J, Wang X, Liang A, Jiang Z. Aptamer-mediated N/Ce-doped carbon dots as a fluorescent and resonance Rayleigh scattering dual mode probe for arsenic(III). Microchim Acta 2019;186:3–11. <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3764-3>.

- [76] Pooja D, Saini S, Thakur A, Kumar B, Tyagi S, Nayak MK. A “Turn-On” thiol functionalized fluorescent carbon quantum dot based chemosensory system for arsenite detection. *J Hazard Mater* 2017;328:117–26. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.01.015>.
- [77] Ho TL. The Hard Soft Acids Bases (HSAB) Principle and Organic Chemistry. *Chem Rev* 1975;75:1–20. <https://doi.org/10.1021/cr60293a001>.
- [78] Liu Y, Jiang L, Li B, Fan X, Wang W, Liu P, et al. Nitrogen doped carbon dots: Mechanism investigation and their application for label free CA125 analysis. *J Mater Chem B* 2019;7:3053–8. <https://doi.org/10.1039/c9tb00021f>.
- [79] Valeur B, Berberan-Santos MN. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Second Edition*. Wiley; 2012. <https://doi.org/10.1002/9783527650002>.
- [80] Wang X, Cao L, Lu F, Meziani MJ, Li H, Qi G, et al. Photoinduced electron transfers with carbon dots. *Chem Commun* 2009:3774. <https://doi.org/10.1039/b906252a>.
- [81] Sydoruk V, Poddubnaya OI, Tsyba MM, Zakutevskyy O, Khyzhun O, Khalameida S, et al. Photocatalytic degradation of dyes using phosphorus-containing activated carbons. *Appl Surf Sci* 2021;535:147667. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.147667>.
- [82] Leung K, Whaley KB. Surface relaxation in CdSe nanocrystals. *J Chem Phys* 1999;110:11012. <https://doi.org/10.1063/1.479037>.
- [83] Gao Y, Peng X. Photogenerated excitons in plain core CdSe nanocrystals with unity radiative decay in single channel: The effects of surface and ligands. *J Am Chem Soc* 2015;137:4230–5. [https://doi.org/10.1021/JACS.5B01314/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JA-2015-013142\\_0003.GIF](https://doi.org/10.1021/JACS.5B01314/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JA-2015-013142_0003.GIF).
- [84] Barman MK, Patra A. Current status and prospects on chemical structure driven photoluminescence behaviour of carbon dots. *J Photochem Photobiol*

- C Photochem Rev 2018;37:1–22.  
<https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2018.08.001>.
- [85] Kang C, Huang Y, Yang H, Yan XF, Chen ZP. A Review of Carbon Dots Produced from Biomass Wastes. *Nanomaterials* 2020;10:2316.  
<https://doi.org/10.3390/nano10112316>.
- [86] Huang S, Wang L, Huang C, Xie J, Su W, Sheng J, et al. A carbon dots based fluorescent probe for selective and sensitive detection of hemoglobin. *Sensors Actuators, B Chem* 2015;221:1215–22.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.07.099>.
- [87] Qu S, Wang X, Lu Q, Liu X, Wang L. A biocompatible fluorescent ink based on water-soluble luminescent carbon nanodots. *Angew Chemie - Int Ed* 2012;51:12215–8. <https://doi.org/10.1002/anie.201206791>.
- [88] Sharma V, Tiwari P, Mobin SM. Sustainable carbon-dots: recent advances in green carbon dots for sensing and bioimaging. *J Mater Chem B* 2017;5:8904–24. <https://doi.org/10.1039/C7TB02484C>.
- [89] Zulfajri M, Dayalan S, Li WY, Chang CJ, Chang YP, Huang GG. Nitrogen-doped carbon dots from avarrhoa carambola fruit extract as a fluorescent probe for methyl orange. *Sensors (Switzerland)* 2019;19:5008.  
<https://doi.org/10.3390/s19225008>.
- [90] Fiuza T, Gomide G, Campos AFC, Messina F, Depeyrot J. On the Colloidal Stability of Nitrogen-Rich Carbon Nanodots Aqueous Dispersions. *C — J Carbon Res* 2019;5:74. <https://doi.org/10.3390/c5040074>.
- [91] Granados-Oliveros G, Pineros BSG, Calderon FGO. CdSe/ZnS quantum dots capped with oleic acid and L-glutathione: Structural properties and application in detection of Hg<sup>2+</sup>. *J Mol Struct* 2022;1254:132293.  
<https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2021.132293>.
- [92] Milenković M, Mišović A, Jovanović D, Bijelić AP, Ciasca G, Romanò S, et al. Facile synthesis of L-cysteine functionalized graphene quantum dots as a bioimaging and photosensitive agent. *Nanomaterials* 2021;11:1879.  
<https://doi.org/10.3390/nano11081879>.

- [93] Salahinejad M, Sadjadi S, Abdouss M. Investigating fluorescence quenching of cysteine-functionalized carbon quantum dots by heavy metal ions: Experimental and QSPR studies. *J Mol Liq* 2021;334:116067. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116067>.
- [94] Guerra-López J, González R, Gómez A, Pomés R, Punte G, Della Védova CO. Effects of Nickel on Calcium Phosphate Formation. *J Solid State Chem* 2000;151:163–9. <https://doi.org/10.1006/jssc.1999.8615>.
- [95] Nguyen KG, Baragau I-A, Gromicova R, Nicolaev A, Thomson SAJ, Rennie A, et al. Investigating the effect of N-doping on carbon quantum dots structure, optical properties and metal ion screening. *Sci Rep* 2022;12:13806. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16893-x>.
- [96] Arcudi F, Đorđević L, Prato M. Synthesis, Separation, and Characterization of Small and Highly Fluorescent Nitrogen-Doped Carbon NanoDots. *Angew Chemie Int Ed* 2016;55:2107–12. <https://doi.org/10.1002/anie.201510158>.
- [97] Dsouza SD, Buerkle M, Brunet P, Maddi C, Padmanaban DB, Morelli A, et al. The importance of surface states in N-doped carbon quantum dots. *Carbon N Y* 2021;183:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2021.06.088>.
- [98] Chen X, Jin Q, Wu L, Tung C, Tang X. Synthesis and Unique Photoluminescence Properties of Nitrogen-Rich Quantum Dots and Their Applications. *Angew Chemie Int Ed* 2014;53:12542–7. <https://doi.org/10.1002/anie.201408422>.
- [99] Kiciński W, Dyjak S. Nitrogen-Doped Carbons Derived from Imidazole-Based Cross-Linked Porous Organic Polymers. *Molecules* 2021;26:668. <https://doi.org/10.3390/molecules26030668>.
- [100] Khan WU, Wang D, Zhang W, Tang Z, Ma X, Ding X, et al. High quantum yield green-emitting carbon dots for Fe(III) detection, biocompatible fluorescent ink and cellular imaging. *Sci Rep* 2017;7:14866. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15054-9>.
- [101] Tang L, Zhu C, Yang Y, Luo J, Song J, Chen H, et al. Amide-decorated

- carbon dots as sensitive and selective probes for fluorescence enhancement detection of cadmium ion. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc* 2023;303:123219.  
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.123219>.
- [102] Cui X, Wang J, Liu B, Ling S, Long R, Xiong Y. Turning Au Nanoclusters Catalytically Active for Visible-Light-Driven CO<sub>2</sub> Reduction through Bridging Ligands. *J Am Chem Soc* 2018;140:16514–20.  
<https://doi.org/10.1021/jacs.8b06723>.
- [103] Ravi S, Zhang S, Lee YR, Kang KK, Kim JM, Ahn JW, et al. EDTA-functionalized KCC-1 and KIT-6 mesoporous silicas for Nd<sup>3+</sup> ion recovery from aqueous solutions. *J Ind Eng Chem* 2018;67:210–8.  
<https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.06.031>.
- [104] Yoshinaga T, Akiu M, Iso Y, Isobe T. Photoluminescence properties of L-cysteine-derived carbon dots prepared in non-aqueous and aqueous solvents. *J Lumin* 2020;224:117260.  
<https://doi.org/10.1016/J.JLUMIN.2020.117260>.
- [105] Dong Y, Pang H, Yang H Bin, Guo C, Shao J, Chi Y, et al. Carbon-Based Dots Co-doped with Nitrogen and Sulfur for High Quantum Yield and Excitation-Independent Emission. *Angew Chemie Int Ed* 2013;52:7800–4.  
<https://doi.org/10.1002/anie.201301114>.
- [106] Kiciński W, Dyjak S. Nitrogen-Doped Carbons Derived from Imidazole-Based Cross-Linked Porous Organic Polymers. *Molecules* 2021;26:668.  
<https://doi.org/10.3390/molecules26030668>.
- [107] Wang X, Yan P, Kerns P, Suib S, Loew LM, Zhao J. Voltage-Dependent Photoluminescence of Carbon Dots. *J Electrochem Soc* 2020;167:147515.  
<https://doi.org/10.1149/1945-7111/abc7e5>.
- [108] Liu H, Lian P, Zhang Q, Yang Y, Mei Y. The preparation of holey phosphorene by electrochemical assistance. *Electrochem Commun* 2019;98:124–8. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.12.007>.
- [109] Sydoruk V, Poddubnaya OI, Tsyba MM, Zakutevskyy O, Khyzhun O,

- Khalameida S, et al. Photocatalytic degradation of dyes using phosphorus-containing activated carbons. *Appl Surf Sci* 2021;535:147667.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.147667>.
- [110] Liu H, Lian P, Zhang Q, Yang Y, Mei Y. The preparation of holey phosphorene by electrochemical assistance. *Electrochem Commun* 2019;98:124–8. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.12.007>.
- [111] Cade-Menun BJ, Carter MR, James DC, Liu CW. Phosphorus Forms and Chemistry in the Soil Profile under Long-Term Conservation Tillage: A Phosphorus-31 Nuclear Magnetic Resonance Study. *J Environ Qual* 2010;39:1647–56. <https://doi.org/10.2134/jeq2009.0491>.
- [112] Keizer J. Nonlinear fluorescence quenching and the origin of positive curvature in Stern-Volmer plots. *J Am Chem Soc* 1983;105:1494–8. <https://doi.org/10.1021/ja00344a013>.
- [113] Shrivastava A, Gupta V. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles Young Sci* 2011;2:21. <https://doi.org/10.4103/2229-5186.79345>.
- [114] Lou Y, Hao X, Liao L, Zhang K, Chen S, Li Z, et al. Recent advances of biomass carbon dots on syntheses, characterization, luminescence mechanism, and sensing applications. *Nano Sel* 2021;2:1117–45. <https://doi.org/10.1002/nano.202000232>.
- [115] Pearson RG. Absolute electronegativity and hardness: application to inorganic chemistry. *Inorg Chem* 1988;27:734–40. <https://doi.org/10.1021/ic00277a030>.
- [116] Makov G. Chemical hardness in density functional theory. *J Phys Chem* 1995;99:9337–9. <https://doi.org/10.1021/j100023a006>.
- [117] Zhang D, Zhang F, Liao Y, Wang F, Liu H. Carbon Quantum Dots from Pomelo Peel as Fluorescence Probes for “Turn-Off–On” High-Sensitivity Detection of  $\text{Fe}^{3+}$  and L-Cysteine. *Molecules* 2022;27:4099. <https://doi.org/10.3390/molecules27134099>.



- [118] Yu J, Song N, Zhang Y-K, Zhong S-X, Wang A-J, Chen J. Green preparation of carbon dots by Jinhua bergamot for sensitive and selective fluorescent detection of Hg<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup>. *Sensors Actuators B Chem* 2015;214:29–35. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.03.006>.
- [119] Lu S, Li Z, Fu X, Xie Z, Zheng M. Carbon dots-based fluorescence and UV–vis absorption dual-modal sensors for Ag<sup>+</sup> and l-cysteine detection. *Dye Pigment* 2021;187:109126. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.109126>.
- [120] Kim Y, Kim J. Bioinspired thiol functionalized carbon dots for rapid detection of lead (II) ions in human serum. *Opt Mater (Amst)* 2020;99:109514. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2019.109514>.
- [121] Orte A, Alvarez-Pez JM, Ruedas-Rama MJ. Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy for the Detection of Intracellular pH with Quantum Dot Nanosensors. *ACS Nano* 2013;7:6387–95. <https://doi.org/10.1021/nn402581q>.
- [122] Stuart BH. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Wiley; 2005. <https://doi.org/10.1002/0470011149>.