



**Universidad**  
Zaragoza

# Trabajo Fin de Grado

Preparación y caracterización de quantum dots de grafeno (GQDs) a partir de grafito

Autor

Lidia Martínez Izquierdo

Directores

María Teresa Martínez Fernández de Landa (Director)

Javier Hernández Ferrer (Codirector)

Carlos Téllez Ariso (Ponente)

Escuela de Ingeniería y Arquitectura

2015





Este trabajo fin de grado ha sido realizado en el Instituto de Carboquímica (ICB) perteneciente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de Zaragoza en el Grupo de Nanoestructuras de Carbono y Nanotecnología (G-CNN).

DECLARACIÓN DE  
AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

(Este documento debe acompañar al Trabajo Fin de Grado (TFG)/Trabajo Fin de Máster (TFM) cuando sea depositado para su evaluación).

D./D<sup>a</sup>. LIDIA MARTÍNEZ IZQUIERDO

con nº de DNI 73005245 W en aplicación de lo dispuesto en el art.

14 (Derechos de autor) del Acuerdo de 11 de septiembre de 2014, del Consejo

de Gobierno, por el que se aprueba el Reglamento de los TFG y TFM de la

Universidad de Zaragoza,

Declaro que el presente Trabajo de Fin de (Grado/Máster)

Grado \_\_\_\_\_, (Título del Trabajo)

Preparación y caracterización de quantum dots de grafeno (GQDs) a partir de  
grafito

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

es de mi autoría y es original, no habiéndose utilizado fuente sin ser citada  
debidamente.

Zaragoza, 18 de Junio de 2015

Fdo: Lidia Martínez Izquierdo

## ***Agradecimientos***

En primer lugar agradecer a mis directores de trabajo fin de grado, Dra. M<sup>a</sup> Teresa Martínez Fernández de Landa y Dr. Javier Hernández Ferrer, por toda la paciencia y las ganas de enseñarme.

A los demás miembros del grupo de Nanoestructuras de Carbono y Nanotecnología, así como el resto de compañeros del Instituto de Carboquímica, quienes me facilitaron mucho mi estancia.

Agradecer a Carlos Téllez Ariso por acceder a ser mi ponente y mi tutor de prácticas.

Darles las gracias a mis amigos y especialmente a Alejandro por animarme y apoyarme en los momentos más difíciles.

Por último, agradecer a mi familia y en especial a mis padres por todo su esfuerzo y el apoyo y cariño recibido.

## Preparación y caracterización de quantum dots de grafeno (GQDs) a partir de grafito

### RESUMEN

En este proyecto se presenta el estudio de un método para la obtención de quantum dots de grafeno (GQDs) a partir de polvo de grafito, aplicando para ello el método de Hummers con algunas modificaciones. Los GQDs son puntos cuánticos de grafeno cero-dimensionales. Estudios teóricos y experimentales han indicado que además de sus propiedades de transporte únicas, el confinamiento cuántico y el efecto frontera podrían resultar en fenómenos y propiedades de alto interés.

Diferentes tratamientos térmicos del grafito en medios fuertemente oxidantes ( $\text{KMnO}_4$ ), conducen a la síntesis de óxido de grafito. El posterior tratamiento térmico durante tiempo prolongado da lugar a los GQDs. Posteriormente se lleva a cabo la neutralización de la mezcla obtenida con carbonato sódico. Finalmente se llevan a cabo las distintas etapas de separación y purificación en las que se consigue eliminar las partículas de mayor tamaño, así como parte de las sales utilizadas en el proceso de producción. Con el fin de determinar la proporción de reactivos más adecuada para GQDs con mayor rendimiento másico y cuántico, se han preparado tres muestras en las que se ha variado la cantidad de agente oxidante ( $\text{KMnO}_4$ ) (GQD1 3g  $\text{KMnO}_4$  y GQD2 5g  $\text{KMnO}_4$ ) y se ha sustituido en una de ellas nitrato sódico por ácido nítrico (65% wt)(GQD3 5g  $\text{KMnO}_4$ ), manteniendo la misma relación molar. Los GQDs se han caracterizado mediante técnicas de microscopía, difracción de rayos X y diversas técnicas espectroscópicas. La microscopía electrónica de fuerzas atómicas ha permitido obtener los tamaños de partícula de los GQDs sintetizados en este trabajo. En concreto, la muestra GQD3 antes del proceso hidrotérmico es una muestra heterogénea en cuanto al tamaño de partícula (partículas de tamaños entre 60-20 nm junto con partículas de tamaños entre 1.5-5 nm. El proceso hidrotérmico da lugar a GQDs de un tamaño de partícula más homogéneo, menor de 5 nm.

Para aumentar la fluorescencia de las muestras, se ha llevado a cabo un tratamiento hidrotérmico, bajo distintas condiciones, con el que se ha conseguido obtener un mayor rendimiento cuántico, lo que lleva a considerar su potencial aplicación en sensores ópticos. Para determinar las posibles aplicaciones de los GQDs como sensores de pH, se ha estudiado la influencia del pH en la fluorescencia, y se ha determinado que el aumento del pH produce una disminución del rendimiento cuántico, así como un desplazamiento del máximo de emisión hacia valores de longitud de onda menores. Así mismo, se ha llevado a cabo una funcionalización con polietilenglicol-diamina (covalente y no covalente) para estudiar el efecto del mismo en la fluorescencia, obteniéndose una disminución del rendimiento cuántico tras la funcionalización. Para comprobar la posible aplicación de los GQDs en (bio)electroanálisis se ha llevado a cabo un estudio electroquímico de las muestras, obteniéndose una buena separación de picos, por lo que estos materiales presentan unas propiedades muy prometedoras en su uso como biosensores electroquímicos.

Tras llevar a cabo todos estos análisis se ha podido comprobar que la muestra óptima es aquella en la que además de aumentar la cantidad de agente reductor, se ha sustituido el nitrato sódico ( $\text{NaNO}_3$ ) por ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ), ya que, a pesar de que esta muestra, tras la diálisis, presenta un rendimiento cuántico similar a la GQD1 (0.273% y 0.27% respectivamente), es la muestra que mayor rendimiento másico proporciona de las tres muestras neutralizadas (GQD1: 19.85%, GQD2: 9.94%, GQD3: 33.2%) pero es la muestra GQD3 sin neutralizar la que mayor rendimiento másico proporciona (68.2%). Así mismo, tras el tratamiento hidrotérmico, la muestra GQD3 posee un rendimiento cuántico ligeramente superior a la muestra GQD1 (4.85% y 4.57% respectivamente).

# ÍNDICE

<b>1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....</b>	<b>1</b>
<b>2 ANTECEDENTES: .....</b>	<b>2</b>
2.1 Formas alotrópicas del carbono.....	2
2.2 Grafito .....	3
2.3 Grafeno .....	3
2.3.1 Estructura y propiedades .....	3
2.3.2 Métodos de síntesis del grafeno .....	5
2.3.3 Puntos cuánticos de grafeno (GQDs) .....	6
<b>3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>9</b>
3.1 Protocolo .....	9
3.2 Influencia de la neutralización en la fluorescencia .....	10
3.3 Influencia de la diálisis .....	10
3.4 Proceso hidrotermal.....	11
3.5 Calculo del rendimiento másico y cuántico y de la concentración.....	12
3.6 Influencia del pH en la fluorescencia.....	13
3.7 Funcionalización con polietilen glicol- diamina (PEG)-(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> .....	13
3.8 Caracterización .....	14
<b>4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>19</b>
4.1 Espectroscopia de UV-Visible y fluorescencia. Muestras iniciales. ....	19
4.2 Espectroscopia de UV-Visible y fluorescencia. Proceso hidrotermal .....	22
4.3 Funcionalización con Polietilenglicol-diamina (PEG).....	28
4.4 Caracterización estructural.....	30
4.4.1 Espectroscopía Infrarroja.....	30

4.4.2	<i>Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)</i> .....	32
4.4.3	<i>Difracción de rayos X</i> .....	34
4.4.4	<i>Espectroscopia Raman</i> .....	35
4.4.5	<i>Microscopía electrónica de transmisión (TEM)</i> .....	37
4.4.6	<i>Microscopía de fuerzas atómicas (AFM)</i> .....	38
4.5	<b>Espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES)</b> .....	42
5	<b>CONCLUSIONES</b> .....	43
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	45
	<b>ANEXO I: ESTUDIO ELECTROQUÍMICO</b> .....	48
	<b>ANEXO II: TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN</b> .....	52



# 1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El grafeno, con una estructura de panal bidimensional de átomos de Carbono  $sp^2$ , ha atraído una enorme atención debido a sus inusuales propiedades que lo hacen adecuado para aplicaciones en dispositivos optoelectrónicos, almacenamiento de energía y como vehículo para suministro de fármacos.

Para facilitar la aplicación de grafeno en nanodispositivos y para modular eficientemente el intervalo de banda, una estrategia prometedora es convertir las hojas de grafeno bidimensionales en puntos cuánticos cero-dimensionales, (GQDs del inglés Graphene quantum dots). Estudios teóricos y experimentales han indicado que además de sus propiedades de transporte únicas, el confinamiento cuántico y el efecto frontera podrían resultar en fenómenos interesantes.

El control de los efectos tamaño/forma en materiales de grafeno permitirá el ajuste de propiedades fundamentales que a su vez permitirá el desarrollo de nuevos dispositivos con nuevas funcionalidades, de aplicación en obtención de imágenes en biomedicina debido a su fluorescencia intrínseca, fabricación de láseres nanoscópicos, energía fotovoltaica, y diodos emisores de luz entre otras aplicaciones.

En el presente proyecto se plantea la producción de GQDs mediante un método de oxidación químico a partir de grafito (método de Hummers con modificaciones [1]).

Los objetivos de este proyecto son:

- Estudiar diferentes condiciones de producción y determinar rendimientos máxicos y cuánticos.
- Determinar la influencia del pH en la fluorescencia y el efecto de un procesado hidrotermal. Asimismo se estudia el efecto en la fluorescencia de la funcionalización con polietilen glicol-diamina.
- Caracterización de los GQDs producidos mediante espectroscopia de fluorescencia, espectroscopia infrarroja (FTIR), espectroscopia Raman, espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS), y microscopia electrónica de transmisión (TEM), y de fuerzas atómicas (AFM).
- Finalmente, dentro del grupo de Nanomateriales de Carbono y Nanotecnología se ha realizado una caracterización electroquímica de los GQDs soportados sobre nanocintas de grafeno para su posible aplicación como sensores electroquímicos.

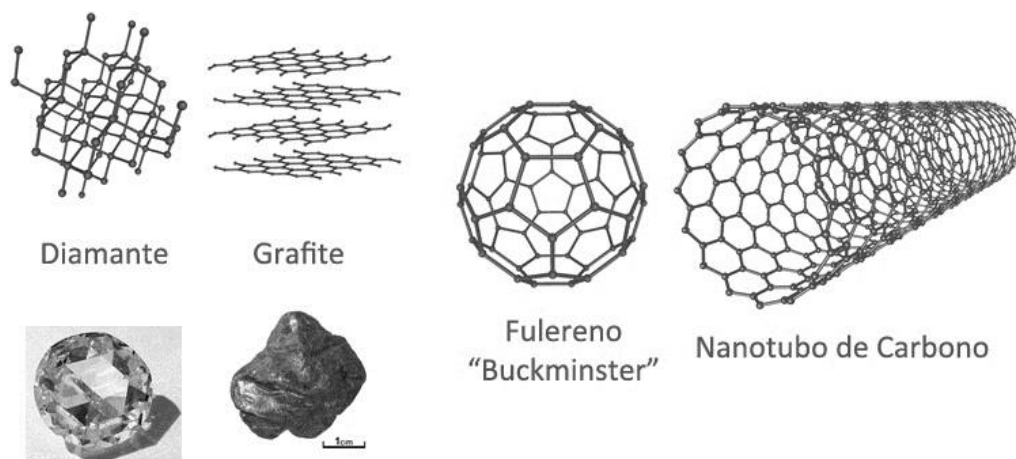
## 2 ANTECEDENTES:

### 2.1 Formas alotrópicas del carbono

Se denomina alotropía a la existencia, especialmente en el estado sólido, de dos o más formas estructurales moleculares o cristalinas de un elemento [2]. Las moléculas formadas por un solo elemento y que poseen distinta estructura molecular se llaman alótropos.

El carbono es sólido a temperatura ambiente, y según la forma en la que se haya formado, presenta en la naturaleza diferentes formas, conocidas como formas alotrópicas. Hasta mediados de la década de los 80 solo se conocían dos formas cristalinas del carbono: el diamante y el grafito, cuyos orbitales atómicos del carbono forman orbitales híbridos de tipo  $sp^3$  y  $sp^2$  respectivamente.

Actualmente se conocen cinco formas alotrópicas del carbono. Además de las dos mencionadas anteriormente, en los últimos 30 años se han descubierto tres nuevas formas: fullerenos (0-D), nanotubos de carbono (1-D) y grafeno (2-D). (Figura 1)



**Figura 1.** Formas alotrópicas del carbono [3]

Esta alotropía tan extensa se debe a la capacidad de los átomos de carbono para formar redes muy complicadas y diversas estructuras [2].

El diamante se caracteriza por su alto nivel de dureza, siendo el material con mayor dureza que se conoce, así como por su alta conductividad térmica, y por su alta dispersión de luz. Con una estructura de cristal covalente tridimensional, se encuentra formado por enlaces de carbono interconectados que se extienden por todo el cristal.

El fulereno se forma cuando el grafito se vaporiza con un láser, esta forma permite que el carbono pueda combinarse formando hexágonos y pentágonos y estructuras

tridimensionales cerradas, se presenta en formas esféricas; el más común de los fullerenos es el de C60 (de sesenta átomos de carbono).

El nanotubo de carbono es otra forma alotrópica del carbono, su estructura se puede considerar como grafito enrollado en forma de tubo, pueden ser abiertos o cerrados y dependiendo de su diámetro y helicidad pueden ser metálicos o semiconductores.

## 2.2 Grafito

El grafito es una de las formas alotrópicas más comunes del carbono. En el grafito los átomos de carbono presentan hibridación  $sp^2$ , esto significa que forma tres enlaces covalentes en el mismo plano a un ángulo de  $120^\circ$  (estructura hexagonal) y que un orbital  $\pi$  perpendicular, con un lóbulo por encima y otro por debajo del plano molecular, queda libre (estos orbitales deslocalizados son fundamentales para definir el comportamiento eléctrico del grafito). El enlace covalente entre los átomos de una capa es extremadamente fuerte, sin embargo las uniones entre las diferentes capas se realizan por fuerzas de Van der Waals e interacciones entre los orbitales  $\pi$ , y son mucho más débiles, lo que hace que el grafito sea blando.

Se podría decir que el grafito está constituido por capas de grafeno superpuestas. Esta estructura laminar hace que el grafito sea un material marcadamente anisótropo.

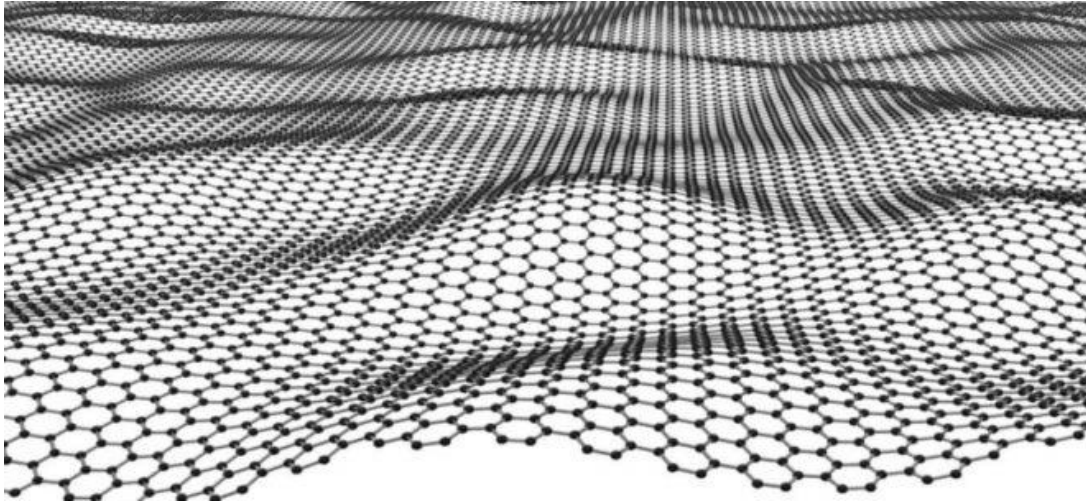
## 2.3 Grafeno

### 2.3.1 Estructura y propiedades

La preparación de mono-capas de grafeno ha supuesto una revolución dentro del ámbito de los materiales. Es el alótropo de carbono más recientemente descubierto.

Desde que fue aislado por primera vez por los científicos Andre Geim y Konstantin Novoselov en 2004 en Manchester, lo que les llevo a ser galardonados con el premio Nobel de Física en 2010 [4], ha ido emergiendo como un material de gran interés en la investigación aplicada debido a sus propiedades electrónicas, físicas y químicas. Todo esto ha derivado en la necesidad de desarrollar técnicas que permitan producirlo de manera sencilla con alta calidad, altos rendimientos, a escala adecuada y precio razonable.

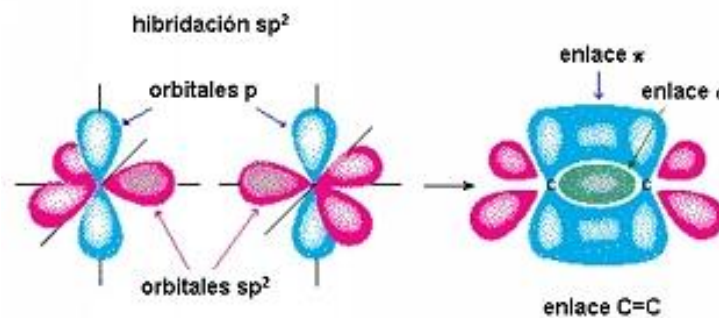
El grafeno es un alótropo del carbono, es una lámina bidimensional (2-D) de átomos de carbono unidos covalentemente por enlaces de tipo  $sp^2$  en una configuración hexagonal de los mismos, semejante a un panal de abejas, con ondulaciones de un átomo de espesor (**Figura 2**).



**Figura 2.** Estructura del grafeno [5].

La hibridación  $sp^2$  da lugar a enlaces a  $120^\circ$  de carbonos con cuatro electrones de valencia en el estado hibridado, tres de ellos alojados en los híbridos  $sp^2$  formando el esqueleto de enlaces covalentes simples de la estructura, y el electrón sobrante alojado en un orbital atómico tipo “p”, perpendicular al plano formado por los híbridos.

El solapamiento lateral de dichos orbitales da lugar a la formación de orbitales de tipo  $\pi$ -conjugados perpendiculares al plano y ocupados con los electrones  $\pi$  (**Figura 3**), que tienen libertad de movimiento, lo que le confiere al grafeno la particularidad de poseer una anchura de un átomo de espesor y un gran orbital molecular deslocalizado entre todos los átomos de carbono que constituyen la capa de grafeno.



**Figura 3.** Esquema de los orbitales  $sp^2$  y p en el grafeno y su enlace  $\pi$  [6].

Esta disposición tanto estructural como electrónica, confiere al grafeno una serie de extraordinarias propiedades [7], tales como:

- Alto grado de cristalinidad
- Elevada área superficial ( $2630 \text{ m}^2/\text{g}$ )

- Altas conductividades eléctrica ( $\sigma=64 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ), varias órdenes de magnitud mayores que el cobre.
- Alta conductividad térmica ( $k=5\cdot 10^3 \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ). El grafeno es el material conocido hasta el momento que mejor conduce el calor. Lo que produce un menor efecto Joule.
- Gran ligereza (como la fibra de carbono, pero más flexible, ya que es un material de extrema delgadez) y dureza.
- Alto modulo elástico (125 GPa).
- Gran resistencia mecánica.
- Reacciona químicamente con otras sustancias para producir compuestos de diferentes propiedades. Esto lo dota de gran potencial para el desarrollo de aplicaciones.
- Genera electricidad al ser iluminados por la luz.

Los portadores de carga en el grafeno pueden viajar miles de distancias atómicas sin dispersión y esto hace que el grafeno presente unas movilidades de carga extremadamente elevadas ( $>105 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) incluso a temperatura ambiente. Para describir estos portadores de carga, como consecuencia de su velocidad, se debe recurrir a las ecuaciones de la física de partículas de alta energía (física cuántica relativista). Por tanto, los portadores de carga del grafeno se comportan como cuasipartículas descritas por la ecuación de Dirac, donde los electrones y huecos se conocen como los fermiones de Dirac, que se mueven a velocidad constante, de manera independiente de su energía (como ocurre con la luz), en este caso a unos  $10^6 \text{ m/s}$ .

Además, el grafeno se puede definir como un semi-metal o un semiconductor. Junto con estas propiedades electrónicas tan peculiares y asombrosas, el grafeno absorbe 2.3% de la luz en una amplia gama del espectro visible, por lo que es transparente y tiene una densidad tal que es impermeable a los gases, ni siquiera las moléculas de helio, que son las más pequeñas que existen, podrían atravesarlo.

Todas estas propiedades le confieren al grafeno un gran potencial para su aplicación en diversos campos como la electrónica, la medicina, la industria aeroespacial o el sector energético entre otros.

### **2.3.2 Métodos de síntesis del grafeno**

Una de las claves para la síntesis de grafeno y para su posterior aplicación es la ruptura de los fuertes enlaces de Van der Waals en los enlaces  $\pi$  que existen entre las capas de grafeno. Hasta el momento se han propuesto varios métodos de obtención de grafeno, pero aunque existen varias técnicas de síntesis que están siendo investigadas exhaustivamente en la actualidad, ninguna de ellas resulta idónea debido a la problemática de su escalabilidad y calidad de material sintetizado.

Las diferentes técnicas tradicionales de fabricación por orden ascendente de escalabilidad y orden decreciente de calidad son:

- Exfoliación con cinta adhesiva: "Scotch Tape" [8]
- Deposición química desde la fase vapor: "CVD (Chemical Vapor Deposition)" sobre laminas metálicas de níquel. [9]
- Exfoliación con disolventes: "Liquid Phase Exfoliation" [10]
- Mediante descarga de arco eléctrico y generación de plasma [11]
- Oxidación-Reducción. Procesado químico a partir de grafito y posterior reducción con hidrazina (u otros agentes reductores o azúcares) o reducción química. [12]

### **2.3.3 Puntos cuánticos de grafeno (GQDs)**

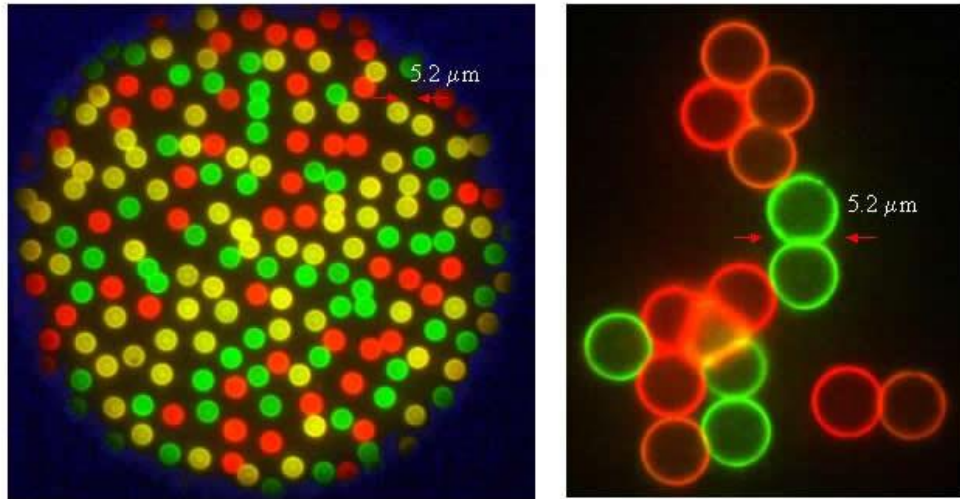
- **Quantum dots (puntos cuánticos)**

Un punto cuántico generalmente es una nanoestructura semiconductor que confina el movimiento en las tres direcciones espaciales de los electrones de la banda de conducción y los huecos de la banda de valencia (pares de enlaces de electrones de conducción de banda y huecos de banda de valencia).

El confinamiento de estos puntos cuánticos puede deberse a potenciales electrostáticos (generados por electrodos externos, doping, tensión, impurezas, etc.), a la presencia de una interfaz entre diferentes materiales semiconductores, a la presencia de la superficie del semiconductor, o a una combinación de éstos.

Un punto cuántico tiene un espectro discreto de energía cuantizada. Las funciones de onda correspondientes están espacialmente localizadas dentro del punto cuántico, pero se extienden sobre muchos períodos de la red cristalina. Un punto cuántico contiene un número finito de cargas eléctricas elementales.

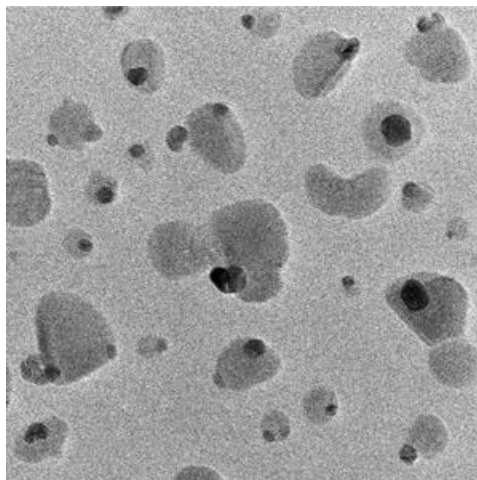
Una de las propiedades más interesantes de los puntos cuánticos es que, al ser iluminados, reemiten luz en una longitud de onda muy específica y que depende del tamaño de este. Cuanto más pequeños sean los puntos, menor es la longitud de onda y más acusadas las propiedades cuánticas de la luz que emiten (**Figura 4**).



**Figura 4.** Quantum dots [13]

- **Graphene Quantum dots (GQDs)**

Los puntos cuánticos de grafeno (GQDs, del inglés Graphene Quantum Dots) constituyen una clase fascinante de nanocarbonos descubierta recientemente que comprenden nanopartículas cuasi-esféricas discretas con tamaños inferiores a 10 nm. Estos GQDs combinan varios atributos de los tradicionales quantum dots semiconductores, como son la dependencia del tamaño y la longitud de onda de excitación con el comportamiento fotoluminiscente. Los GQDs están atrayendo gran interés particularmente para aplicaciones en las cuales, el tamaño, coste y biocompatibilidad son críticos [14]. En la **Figura 5** se muestra una imagen de microscopio electrónico de nanopartículas de carbono fluorescentes extraídas de carbón de antracita.



**Figura 5.** Nanopartículas de carbono fluorescentes. [15]

Normalmente, los GQDs contienen fracciones de ácidos carboxílicos en su superficie, lo que le proporciona solubilidad en agua y lo hace idóneo para la posterior funcionalización con varias especies orgánicas, poliméricas, inorgánicas o biológicas.

Su forma bien definida, cercana a formas isotrópicas, junto con sus dimensiones ultra finas, sus funcionalidades superficiales, y la gran variedad de rutas sencillas, rápidas y económicas disponibles para su síntesis, sin precursores tóxicos y con estabilidad en medio acuoso y no acuoso [16], proporcionan una alentadora plataforma tecnológica para los GQDs como alternativas a otros nano-carbones (fullerenos, nano-diamantes, nanotubos de carbono) en una serie de aplicaciones. La aplicación más notable, sin embargo, es su potencial como reemplazamiento de quantum dots de base metálica tóxica, actualmente en uso [14].

Como consecuencia de la creciente importancia en nuestra sociedad de la salud pública y los conocidos peligros medioambientales y biológicos de los puntos cuánticos inorgánicos, los GQDs son el centro de significativos esfuerzos de investigación para desarrollar alternativas de baja toxicidad y respetuosas con el medio ambiente que tengan las características deseables de los puntos cuánticos. La baja toxicidad de los GQDs para las células [17] es determinante para su uso en varias aplicaciones, particularmente en medicina y biología [16].

Se espera que los GQDs tengan las excelentes propiedades del grafeno, además de otras nuevas funcionalidades provenientes de su confinamiento en nano-partículas. Debido a esto tienen una gran variedad de aplicaciones, tales como imágenes biológicas y etiquetado, LEDs, electroluminiscencia, dispositivos fotovoltaicos orgánicos y catálisis [1].

Existen diversos métodos para la síntesis de puntos cuánticos de grafeno:

- La mayoría de los métodos de obtención de GQDs consisten en la oxidación química por el método de Hummers [18], o alguna modificación de este. Este método se basa en la oxidación de polvo de grafito para producir unas láminas de grafeno fuertemente oxidadas, denominadas óxido de grafeno (GO).
- Corte de materiales carbonosos en diminutos puntos mediante un intenso haz de electrones, oxidación química o electroquímica, tratamiento hidrotérmico o reacción asistida con microondas. Estos métodos necesitan materiales de partida caros como son el óxido de grafito (GO), óxido de grafeno reducido (rGO) y fibra de carbono. Sin embargo, el tratamiento asistido con microondas es un método rápido (30 s) y con el que se pueden obtener directamente los GQDs [18].
- Otro método de oxidación química distinto al de Hummers es el empleo de un proceso de síntesis hidrotérmico, que además de simple es respetuoso con el medio ambiente, este método consiste en la utilización de un autoclave en el que se introduce etilenglicol a 180 °C durante 20 h. y por último una reducción del óxido de grafeno con hidracina hidrato con pasivación superficial con poli-etilenglicol [16].



### 3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En este proyecto se han preparado puntos cuánticos de grafeno a partir de grafito por vía química. El procedimiento experimental consiste en la oxidación de grafito con ácido sulfúrico, nitrato sódico y permanganato potásico. Se han utilizado tres condiciones de operación diferentes, con el fin de encontrar un óptimo en el rendimiento cuántico de los puntos cuánticos de grafeno.

#### 3.1 Protocolo

Se ha partido de 1 g de polvo de grafito (Sigma Aldrich: 7782-42-5), se ha pesado en un matraz redondo de dos bocas de 250 ml, y se han añadido 100 ml de ácido sulfúrico concentrado. Posteriormente se ha incorporado nitrato sódico/ácido nítrico y se ha tapado el matraz. Se ha introducido en un baño en agitación durante 3 o 4 minutos.

Se introduce posteriormente en un baño con hielo, este baño está preparado con agua destilada y cloruro sódico (Sigma Aldrich: 7647-14-5), que permite conseguir menor temperatura en el baño. Se deja enfriar el tiempo suficiente hasta que la temperatura se encuentre por debajo de 10°C, en ese momento se añade, poco a poco, un agente oxidante fuerte, permanganato potásico, controlando que la temperatura no exceda de 10°C.

Una vez añadido todo el  $\text{KMnO}_4$ , se pasa el matraz a un baño de aceite a 40 °C durante 40 minutos. Pasados los 40 minutos, se eleva la temperatura a 160 °C y se deja en agitación durante 3 h, posteriormente se deja enfriar. En esta etapa se pueden observar unos vapores de color marrón-rojizo, debidos a la formación de  $\text{NO}_2^+$ .

Ya frío, se neutraliza con carbonato sódico (Sigma Aldrich: 497-19-8) (160 g aproximadamente). Para llevar a cabo la neutralización, se diluye previamente la muestra con 500 ml de agua destilada y se agita para que reaccione bien, a continuación se le añade poco a poco el carbonato sódico, ya que esta reacción desprende  $\text{CO}_2$ . Se controla el pH, que debe estar entre 2 y 3, para prevenir la formación de  $\text{MnCO}_3$  [1]. Una vez alcanzado el pH se deja hasta el día siguiente reaccionando con el carbonato sódico, para ello se mantiene en agitación y a temperatura ambiente. El pH varía de un día para otro, pero sigue estando entre 2 y 3.

Los siguientes pasos a llevar a cabo son las etapas de separación y purificación. Se empieza con una etapa de centrifugación a 10000 rpm durante 1 h (equipo de centrifugación: HERMLE Z383), en esta etapa se consiguen separar parte de las sales, que han precipitado. La parte de muestra que no ha precipitado se introduce en un bote y se mete en el congelador durante una noche, ya que la solubilidad disminuye con la temperatura, y de esta forma precipitarán las sales facilitando su eliminación, lo que acota considerablemente el tiempo de diálisis.

Pasado ese tiempo, se saca el bote del congelador y se filtra en un filtro de teflón (Omnipore Membrane Filters) de 0.1  $\mu\text{m}$ . Por último se dializa el filtrado con agua ultra pura durante 1 semana, a través de una membrana benzoilada (Avg Flat width 32 mm (1.27 in). PCode: 1001675151, tamaño de poro: 2 kD (2000 unidades de masa atómica)). El agua de la diálisis se ha cambiado 2 veces/día.

Con este procedimiento se han preparado tres muestras diferentes a las que hemos nombrado GQD1, GQD2 y GQD3. Para ello se han variado las condiciones de reacción.

Para la primera muestra, GQD1, se ha empleado 3 g de permanganato potásico y 43 g de nitrato sódico. Para la muestra GQD2 se ha variado la cantidad de agente oxidante  $\text{KMnO}_4$  de 3 g a 5 g para aumentar con ello el grado de oxidación. Por último, para la muestra GQD3 se ha empleado la misma cantidad de oxidante que para la muestra GQD2, es decir, 5 g, y se ha sustituido el nitrato sódico por ácido nítrico 67% en la misma cantidad de moles, es decir 35 ml, con el fin de conseguir mayor rendimiento másico, ya que con el nitrato se pierde mucha muestra al precipitar.

### 3.2 Influencia de la neutralización en la fluorescencia

La etapa de neutralización requiere de una alta cantidad de carbonato sódico, lo que hace de ella una etapa laboriosa y costosa en tiempo y reactivos, además del hecho de estar añadiendo más cantidad de sales que después deben de ser eliminadas, y hacen de la etapa de diálisis una etapa también más costosa.

Con el fin de comprobar la influencia de esta etapa en la fluorescencia de las muestras, se ha diluido el producto de reacción 1 a 10, con agua destilada, un pequeño volumen de la muestra GQD3 tras haberse enfriado después de los dos tratamientos térmicos (a 40 y 160  $^{\circ}\text{C}$ ) a los que se le ha sometido y se ha dializado directamente y comparado con la muestra neutralizada. El hecho de haber empleado la muestra GQD3 en lugar de las otras dos muestras se debe a que, como se verá en la **Tabla 1** del apartado de resultados, es la muestra GQD3 la que presenta mejores características en cuanto a rendimiento cuántico y másico. Es por tanto con esta muestra con la que se lleva a cabo la puesta a punto de las condiciones de operación.

Con la eliminación de esta etapa de neutralización se pueden evitar además todos los procesos de separación anteriores a la diálisis, es decir, congelación, centrifugación y filtración, ya que las sales que se conseguían eliminar en estas etapas eran, en gran medida, las debidas a la reacción del carbonato sódico con el ácido sulfúrico / ácido nítrico.

### 3.3 Influencia de la diálisis

Para comprobar la influencia del medio de dispersión en la fluorescencia se han realizado ensayos de espectroscopia de UV-Visible y de fluorescencia de las tres muestras

(GQD1, GQD2 y GQD3) antes y después de la etapa de diálisis, y se ha calculado el rendimiento cuántico para cada caso.

### 3.4 Proceso hidrotermal

Tras el proceso de producción, las muestras se han sometido a un proceso hidrotermal, ya que este tratamiento mejora la fluorescencia, y con ello el rendimiento cuántico.

Se ha utilizado una sola temperatura de operación y se ha optimizado el tiempo de tratamiento. El tratamiento hidrotermal se ha llevado a cabo en un autoclave de acero y teflón (**Figura 6**), el cual se ha introducido en una estufa (Carbolite) a 160 °C durante distintos tiempos. En este proceso se produce la floculación parcial de los GQDs.



**Figura 6.** Autoclave de acero y teflón

Para separar el material floculado se ha filtrado a vacío con un filtro de teflón de 0.1  $\mu\text{m}$ . La **Figura 7** muestra una fotografía de las dispersiones de GQDs obtenidas en distintas condiciones donde puede apreciarse que la muestra GQD3 es la más concentrada.



**Figura 7.** De izquierda a derecha: GQD1 dializado, GQD2 dializado, GQD3 dializado, GQD1 dializado hidrotermal, GQD2 dializado hidrotermal y GQD3 dializado hidrotermal

Para optimizar el tiempo de tratamiento se han hecho experimentos a tres tiempos distintos: 6 h, 24 h y 24 h + 48 h. este último se refiere a que el enfriamiento de la muestra tras el tratamiento no se efectúa a temperatura ambiente, sino que se ha dejado en digestión dentro de la estufa durante 48 horas más, por lo que el enfriamiento se produce más lentamente, y por tanto, la síntesis continua durante un tiempo pasadas esas 24 horas.

Esta puesta a punto del tiempo de tratamiento se ha llevado a cabo con la muestra GQD3, ya que como se ha indicado es la muestra que, tras la diálisis, proporciona un mayor rendimiento cuántico y másico.

### 3.5 Cálculo del rendimiento másico y cuántico y de la concentración

Teniendo en cuenta la concentración que se obtiene de la muestra, las distintas diluciones que se hacen de la muestra a lo largo del procedimiento experimental y la cantidad inicial de polvo de grafito del que se partía, se puede calcular el rendimiento en peso de la muestra tras los diferentes tratamientos.

Para calcular la concentración de las muestras tras los distintos tratamientos, se han evaporado 2 ml de muestra dializada en una papeleta de papel de aluminio, el cual se ha pesado antes de verter los 2 ml de muestra y tras la evaporación. Por diferencia de pesada se puede conocer cuántos miligramos de muestra se tienen en 2 ml. La evaporación se ha llevado a cabo en una estufa (Carbolite) a 70 °C durante un tiempo de entre 2 h a 2 h y media.

Para calcular el rendimiento cuántico se han realizado ensayos de espectroscopia de UV-Visible y fluorescencia de las muestras. Para ello, se ha partido de una muestra de quinina como patrón, a la que se le han realizado también espectroscopia de UV-Visible y fluorescencia. Una vez realizados estos ensayos para la quinina, con los datos de fluorescencia se ha calculado el área bajo la curva, y con los datos de absorbancia de ultravioleta visible, se ha tomado el dato de absorción para una longitud de onda de excitación dada (en este caso a 340 nm o 320 nm, dependiendo de cuál sea el máximo de excitación de cada muestra).

Lo mismo se ha hecho con el resto de las muestras. Aplicando la **[Ec. 1]**, donde  $\phi$  es el rendimiento cuántico,  $I$  es la intensidad integral de emisión,  $\eta$  es el índice de refracción del solvente y  $A$  la absorbancia de UV-Visible. El subíndice “st” se refiere al standard, del que conocemos el rendimiento cuántico (en este caso, la muestra patrón de quinina) y el subíndice “x” se refiere a la muestra para la cual estamos calculando el rendimiento [19].

$$\phi_x = \phi_{st} \left( \frac{I_x}{I_{st}} \right) \left( \frac{\eta_x^2}{\eta_{st}^2} \right) \left( \frac{A_{st}}{A_x} \right) \quad \text{[Ec. 1]}$$

El rendimiento cuántico de la quinina es 54% [20] y los índices de refracción, en solución acuosa, son iguales para la quinina y para las muestras sometidas a estudio,  $n_{st}=n_x= 1.33$  [19].

### 3.6 Influencia del pH en la fluorescencia

La fluorescencia de un compuesto aromático con sustituyentes ácidos o básicos en el anillo depende normalmente del pH. Tanto la longitud de onda como la intensidad de emisión son probablemente diferentes para la forma ionizada y no ionizada del compuesto [21].

Para comprobar la influencia del pH en la fluorescencia en las muestras preparadas, se han realizado análisis de fluorescencia y UV-Visible para las muestras tras el tratamiento hidrotermal, variando el pH desde su pH inicial (5), es decir, el que se obtiene tras el tratamiento hidrotermal, hasta pH básico.

Para aumentar el pH de las muestras se ha preparado una disolución de hidróxido de sodio. Para ello, se ha preparado una disolución = 0.01 M de hidróxido sódico en agua ultra-pura. Se han añadido unos pocos micro litros de esta disolución a la muestra, de tal forma que el pH ha ido aumentando, y para cada pH obtenido se han realizado ensayos de UV-Visible y Fluorescencia, hasta llegar al pH deseado (10-12).

### 3.7 Funcionalización con polietilen glicol- diamina (PEG)-(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>

Los GQDs preparados mediante diferentes técnicas, emiten a diferentes longitudes de onda desde el ultravioleta hasta el infrarrojo con rendimientos cuánticos entre 2 y 22%. Según varios autores [22], el rendimiento cuántico depende notablemente de la funcionalización superficial con ligandos orgánicos. GQDs con solo grupos carboxílicos en su superficie muestran rendimientos cuánticos mucho más bajos.

En este trabajo se han funcionalizado los GQDs con PEG (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> (Aldrich 753084). Se han utilizado 2 metodologías de funcionalización diferente.; funcionalización covalente siguiendo el protocolo descrito en [23] y funcionalización no covalente. La funcionalización covalente consiste en una amidación que puede explicarse en términos de una interacción iónica de los grupos carboxílicos de los GQDs con los grupos amina del PEG (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>. En la funcionalización no covalente, el polímero, en este caso el PEG, envuelve al material de carbono y al ser un material hidrófilo mejora la estabilidad en medios acuosos. Por otra parte los grupos amino tienen afinidad por la superficie de carbono facilitando su adherencia a los GQDs.

Ambas funcionalizaciones se llevaron a cabo sobre muestra evaporada a sequedad y concentrada por un factor de 8. La funcionalización no covalente se realizó redispersando la muestra GQD3 después de someterla al proceso hidrotermal en disolución acuosa al 5% de PEG-(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>. La funcionalización covalente se realizó mediante digestión de la muestra

de QDs a 120 °C durante 72 h. La funcionalización no covalente se realizó a temperatura ambiente.

### 3.8 Caracterización

En este apartado se muestran las distintas técnicas empleadas para la caracterización de las muestras.

- **Espectroscopia de UV-Vis y Fluorescencia:**

La espectroscopia de UV-Vis se ha llevado a cabo en un espectrofotómetro Shimadzu UV-2401 PC (**Figura 8**), con una resolución de longitud de onda 1 nm y realizando un barrido de 700 a 200 nm de longitud de onda.



**Figura 8.** Espectrofotómetro Shimadzu UV-2401 PC

La absorbancia de UV-Visible que se utiliza en el cálculo del rendimiento cuántico en la **[Ec.1]** es el valor de absorbancia que tiene la muestra a la longitud de onda de excitación (Por ejemplo, en el caso de las muestras antes del tratamiento hidrotermal, será la absorbancia a 340 nm). Este valor se obtiene directamente de la gráfica.

La espectroscopia de fluorescencia se ha llevado a cabo en un fluorímetro FluoroMax-p Horiba Jobinyvon (**Figura 9**) con una longitud de onda de excitación de 340 nm y Slits 1 para las muestras que se obtienen antes del tratamiento hidrotermal, ya que tras realizar un barrido excitación-emisión, el máximo de emisión (450 nm) se obtiene para esa longitud de onda de excitación. Tras el tratamiento hidrotermal se emplea excitación 320 nm, ya que es a esta longitud de onda a la que da el máximo de intensidad de emisión en este caso.

Para obtener la intensidad integral que se utiliza en el cálculo del rendimiento cuántico en la **[Ec.1]** se calcula el área bajo la curva mediante el método de los trapecios.



**Figura 9.** Fluorímetro FluoroMax-p Horiba Jobinyvon

Con los datos aportados por estas dos técnicas se puede calcular el rendimiento cuántico. Para ello se ha realizado espectroscopía de UV-Vis y Fluorescencia utilizando quinina como patrón. Conociendo el rendimiento de la quinina, además de la intensidad de emisión integral, la absorbancia de UV-Vis y el índice de refracción de la quinina y de la muestra sometida a estudio, se puede calcular el rendimiento cuántico de dicha muestra.

- **Espectroscopia Infrarroja:**

Esta espectroscopía se ha realizado con un espectrofotómetro Vertex 70 de Bruker para espectroscopías por transformada de Fourier (**Figura 10**).

Para preparar las muestras que se analizarán mediante esta técnica, se han introducido en un vial 0.5 g de bromuro potásico, sobre los cuales se han vertido 5 ml de muestra y se ha introducido en una estufa a 70 °C hasta que se ha evaporado todo el líquido y el KBr ha quedado impregnado de la muestra sometida a estudio.

Una vez seco, se ha homogeneizado la muestra con la ayuda de un mortero de ágata de tal forma que al comprimirlo en forma de pastilla a la hora de realizar los ensayos, toda la pastilla tenga las mismas características.



**Figura 10.** Espectrofotómetro Vertex 70 de Burker [24]

- **Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS):**

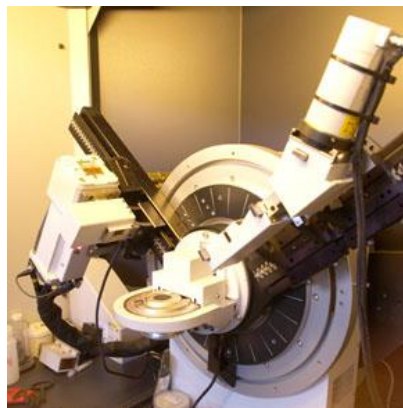
Se ha realizado en un espectrómetro fotoelectrónico de Rayos X ESCA+ (Omicron) (**Figura 11**) con una fuente de Rayos X con ánodo doble (Al/Mg) y analizador hemisférico con detector multiplicador de 7 canales. En concreto se ha analizado  $C_{1s}$ . Se ha empleado el software CASA para la deconvolución de la emisión del pico.



**Figura 11.** Espectrómetro fotoelectrónico de Rayos X ESCA+ (Omicron) [25].

- **Difracción de rayos X:**

Se ha llevado a cabo con un difractómetro de polvo cristalino Bruker D8 Advance Series 2 (**Figura 12**), midiendo desde un ángulo de difracción inicial de  $2\theta=3^\circ$  hasta un ángulo final de  $2\theta=80^\circ$ , con un aumento de  $0.05^\circ$  y un tiempo de adquisición de 3 segundos.

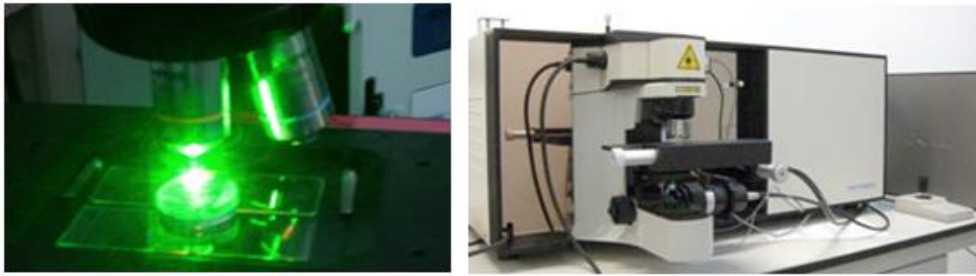


**Figura 12.** Difractómetro de polvo cristalino Bruker D8 Advance Series 2 [24]



- **Espectroscopia Raman:**

Se ha realizado en un equipo de espectroscopia Micro-Raman confocal modelo Horiba Jobin Yvon HR800 UV (**Figura 13**), dotado con dos tipos de láser diferente (rojo y verde), óptica preparada para láser UV y detector CCD. Además de muestras en polvo y películas de diversos materiales, el equipo incluye un accesorio de celda líquida que permite trabajar con muestras en disolución y otro accesorio macroscópico que permite analizar grandes superficies de material. En la caracterización de nuestras muestras se ha utilizado el láser verde a una longitud de onda de 532 nm.



**Figura 13.** Espectrómetro Micro-Raman confocal modelo Horiba Jobin Yvon HR800 UV [24]

- **Microscopía electrónica de transmisión (TEM):**

La microscopía electrónica de transmisión se ha realizado en un microscopio electrónico analítico de transmisión de alta resolución JEOL-2000 FXII.

- **Microscopía de fuerzas atómicas (AFM):**

Esta espectroscopía se ha llevado a cabo en un instrumento mecano-óptico NanoScope Multimode V de la casa Veeco (**Figura 14**). Las imágenes se han tomado en modo “tapping” utilizando cantilevers Veeco modelo RTESP con frecuencia de resonancia entre 247 kHz y 306 kHz y una constante de fuerza de 20- 80 N/m.



**Figura 14.** NanoScope Multimode V de la casa Veeco [26].

- **Espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES):**

El contenido en manganeso se ha obtenido mediante un espectrómetro Jobin Yvon 2000 (**Figura 15**) que trabaja según las normas ISO, ASTM, UNE y EN correspondientes.



**Figura 15.** Espectrómetro Jobin Yvon 2000 [27].

## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

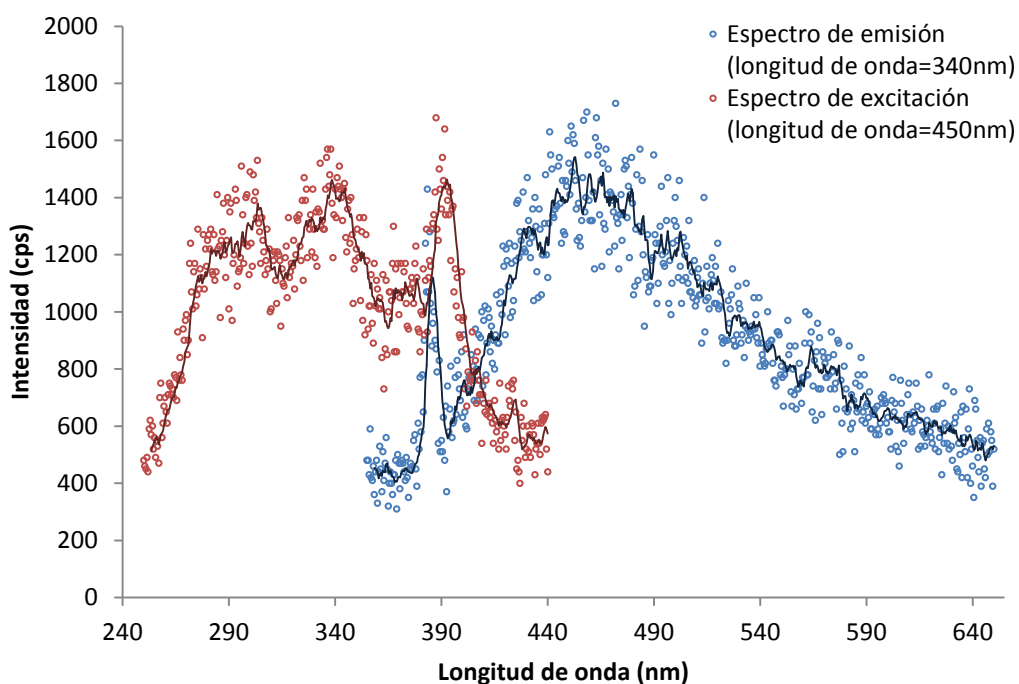
En Este apartado se exponen los resultados obtenidos tanto de la producción de las muestras GQD1, GQD2 y GQD3 bajo las distintas condiciones de operación, como de su caracterización mediante las técnicas indicadas en el apartado experimental.

### 4.1 Espectroscopia de UV-Visible y fluorescencia. Muestras iniciales.

Las muestras obtenidas a partir del protocolo experimental descrito, es decir, las muestras GQD1, GQD2 y GQD3 presentan fluorescencia en el visible a 450 nm de longitud de onda.

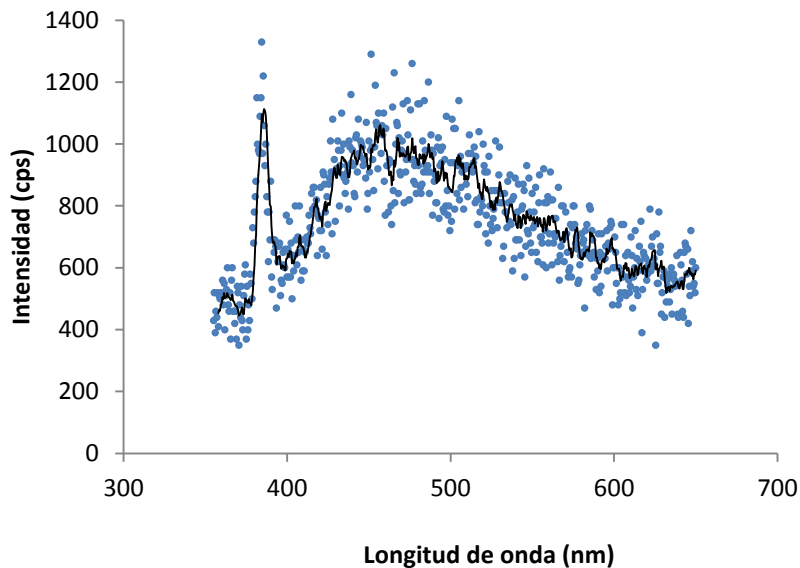
A modo de ejemplo en este apartado sólo se muestran las Gráficas obtenidas para la muestra GQD1.

La **Figura 16** representa la curva de fluorescencia de excitación y emisión de la muestra GQD1 antes de la diálisis. La muestra se encuentra diluida para poder calcularse el rendimiento cuántico, puesto que la muestra sin diluir presenta una absorbancia de UV-Vis alta y hace que se sature.

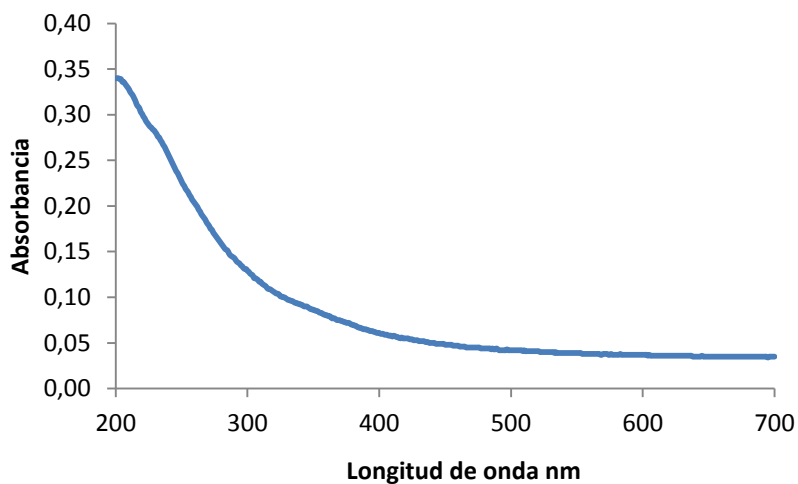


**Figura 16.** Fluorescencia muestra GQD1 neutralizada y dializada (diluida 1 a 30 con agua ultra-pura) ( $\lambda_{excitación}$ : 340 nm;  $\lambda_{emisión}$ : 450 nm)

La **Figura 17** se muestra la curva de fluorescencia de la muestra GQD1 neutralizada y dializada y en la **Figura 18** su correspondiente espectro de absorbancia entre 200 y 700 nm. Al igual que la muestra sin dializar, ha sido necesario diluir la muestra para poder realizar el cálculo del rendimiento cuántico, por este motivo aparece a  $\approx 384$  nm un pico correspondiente al agua de dilución.



**Figura 17.** Espectro de fluorescencia muestra GQD1 neutralizada dializada (diluido 1 a 30 con agua ultra-pura) ( $\lambda_{excitación}$ : 340 nm;  $\lambda_{emisión}$ : 450 nm).



**Figura 18.** Absorbancia UV-Vis muestra GQD1 neutralizada dializada (diluido 1 a 30)

Como puede observarse en la **Figura 18**, la absorbancia empieza a aumentar a partir de una longitud de onda de  $\approx 300$  nm en el UV-Visible y espectro muestra una banda de

absorción en la región UV con un máximo alrededor de 200 nm debida a la transición  $\pi-\pi^*$  de dominios aromáticos  $sp^2$  [28, 29] con una cola que se extiende a la zona del visible.

Con los datos procedentes de ambas espectroscopias se ha calculado el rendimiento cuántico de las tres muestras. Así mismo, se ha calculado el rendimiento másico empleando para ello el valor de concentración obtenido según el protocolo explicado en el apartado experimental.

Como se ve en la **Tabla 1**, las muestras GQD1 y GQD3 son las que mayor rendimiento cuántico poseen tras la diálisis, sin embargo, la muestra GQD3 presenta mayor rendimiento másico. Es por ello que la puesta a punto de las condiciones óptimas de operación para el posterior procesado de los GQDs estudiados en este trabajo se ha llevado a cabo con la muestra GQD3, y posteriormente esas condiciones óptimas se han aplicado a las muestras GQD1 y GQD2.

La muestra GQD2, sin embargo, es la muestra que mayor rendimiento cuántico ofrece antes de la diálisis, pero tras esta etapa de separación pierde rendimiento cuántico, siendo este menor que el de las muestras GQD1 y GQD3.

**Tabla 1.** Rendimiento másico y cuántico y concentraciones de las muestras iniciales

muestra	condiciones	rendimiento cuántico %	rendimiento másico %	concentración (mg/ml)
GQD1 Neutralizada	sin dializar	0.240	----	----
	dializada	0.270	19.85	0.23
GQD2 Neutralizada	sin dializar	0.347	-----	-----
	dializada	0.113	9.94	0.14
GQD3 Neutralizada	sin dializar	0.310	-----	-----
	dializada	0.273	33.20	0.39

- **Influencia de la neutralización.**

En la Tabla 2 se indica el rendimiento cuántico, rendimiento másico y concentración de las muestras GQD3, una de ellas neutralizada y otra sin neutralizar. Ambas muestras, la neutralizada y la que no se ha neutralizado, proporcionan un rendimiento cuántico y concentración similares, un poco mayor la muestra neutralizada.

**Tabla 2.** Influencia de la neutralización

muestra	Condiciones	rendimiento cuántico %	rendimiento másico %	Concentración (mg/ml)
GQD3	neutralizado, dializada	0.273	33.20	0.39
	sin neutralizar, dializado	0.256	68.22	0.38

Así mismo, puede observarse en esta **Tabla 2** que el rendimiento másico de la muestra que no se ha neutralizado es más del doble que el obtenido con la muestra neutralizada.

A pesar del rendimiento cuántico ligeramente inferior, de entre las condiciones utilizadas, la muestra óptima se ha considerado que es aquella en la que se ha omitido el proceso de neutralización, consiguiendo además reducir tiempo de síntesis, al eliminarse, como ya se ha dicho en el apartado **3.2 Influencia de la neutralización en la fluorescencia** (dentro del proceso experimental), varias etapas de separación y reducir así mismo el tiempo de diálisis.

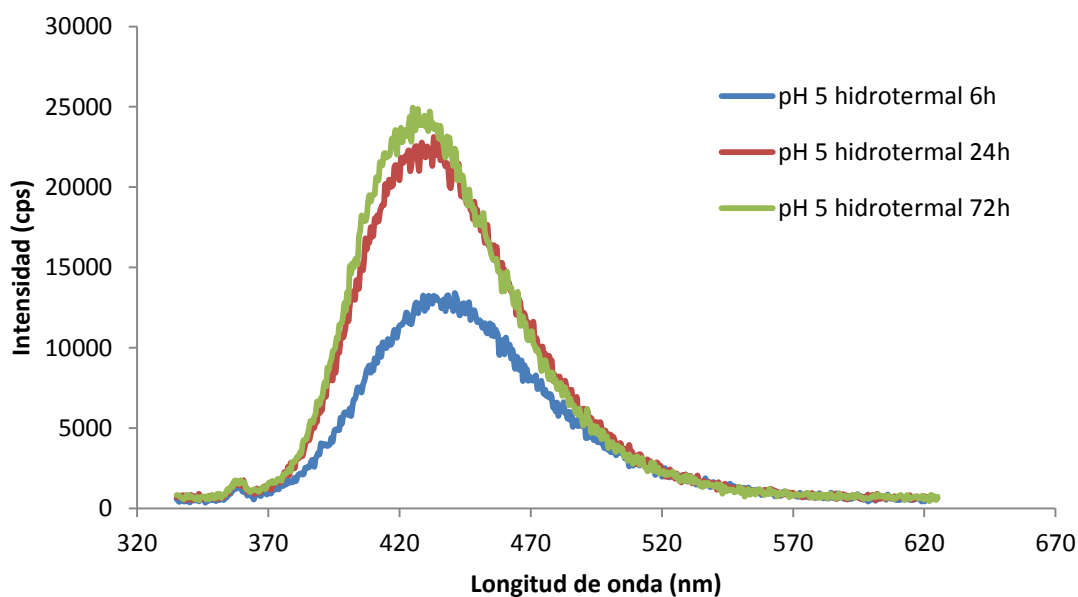
#### **4.2 Espectroscopia de UV-Visible y fluorescencia. Proceso hidrotermal**

Tras el proceso de síntesis de los GQDs y con el fin de aumentar el rendimiento cuántico de los GQDs, se ha llevado a cabo un tratamiento hidrotermal.

Con el fin de conocer el tiempo óptimo de tratamiento hidrotermal se han realizado experimentos con la muestra GQD3 neutralizada y dializada para tres tiempos diferentes: 6 h, 24 h, tras las que se enfría el autoclave a temperatura ambiente, 24 h + 48 h en el que, en lugar de enfriar a temperatura ambiente tras las 24 h de tratamiento, se deja enfriando en digestión otras 48 h. El estudio del tiempo de reacción del tratamiento hidrotermal se realizó con la muestra GQD3 neutralizada y dializada. Una vez optimizado el tiempo de procesado se aplicó a las muestras GQD1 y GQD2.

La fluorescencia se ve afectada por el tiempo de tratamiento hidrotermal, de tal forma que dejar el autoclave en digestión durante 48 h más en lugar de enfriarlo a temperatura ambiente, en el caso de la muestra GQD3 (**Figura 19**) no supone apenas cambio en la intensidad del máximo, mientras que dejarlo un tiempo menor de 24 h, por ejemplo 6 h, supone una reducción de la fluorescencia de la muestra. Los resultados de rendimiento cuántico vienen reflejados en la **Tabla 3**.

Tras el tratamiento hidrotermal la longitud de onda óptima de excitación es 320 nm en vez de 340 nm.



**Figura 19.** Gráfica comparativa Fluorescencia GQD3 neutralizada dializada hidrotermal a pH5 para distintos tiempos de tratamiento hidrotermal. ( $\lambda$ excitación: 320 nm;  $\lambda$ emisión: 450 nm)

**Tabla 3.** Proceso hidrotermal. Rendimiento cuántico, influencia del tiempo (muestras a pH 5).

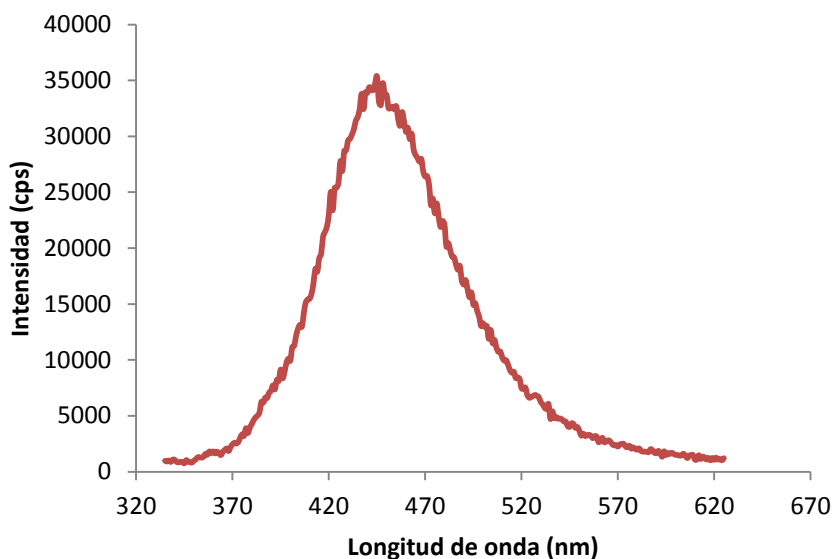
muestra	condiciones	rendimiento cuántico %
GQD1	Neutralizado, dializada hidrotermal 24h	4.57
GQD2	Neutralizado, dializada hidrotermal 24h	1.76
GQD3	Neutralizado, dializada hidrotermal 24h	4.85
	Neutralizado, dializada hidrotermal 24h + 48h	4.49
	Neutralizado, dializada hidrotermal 6h	2.45

Como se observa en la **Tabla 3**. El mayor rendimiento cuántico se obtiene para la muestra procesada durante 24 h seguida de enfriamiento a temperatura ambiente, 4.85%. Por tanto, para las muestras GQD1 y GQD2 esta síntesis hidrotermal se ha llevado a cabo únicamente a 24 h, obteniéndose menores rendimientos que en la muestra GQD3.

A pesar de que en la **Figura 19** la curva de fluorescencia presenta mayor intensidad para la muestra a 72 h, el rendimiento cuántico también depende de la absorbancia de UV-Visible y esta de la concentración, siendo el rendimiento cuántico en este caso es mayor para la muestra a 24 h.

Como se ha visto en la **Tabla 3** y se verá de manera más clara en la **Tabla 4**, tras llevar a cabo el tratamiento hidrotermal, se produce un incremento muy significativo en la intensidad del máximo de fluorescencia (**Figura 20**). En la **Tabla 4** vienen reflejados los

datos de rendimiento cuántico de las tres muestras antes y después del tratamiento hidrotermal.

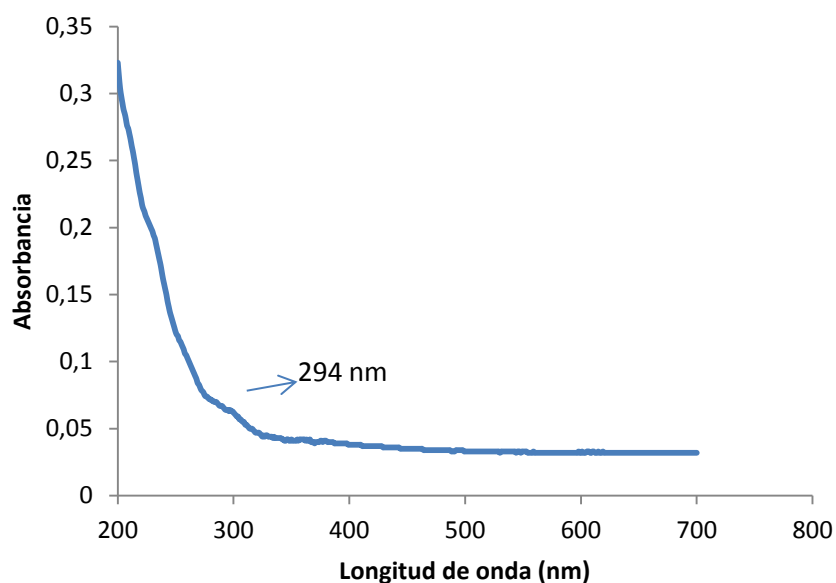


**Figura 20.** Espectro de Fluorescencia muestra GQD3 neutralizada y dializada después del tratamiento hidrotermal (( $\lambda$ excitación: 320 nm;  $\lambda$ emisión: 450 nm).

En la **Figura 21** se muestra la curva de absorbancia entre 200 y 700 nm de la muestra GQD3 neutralizada y dializada tras el tratamiento hidrotermal realizado durante 24 h. Para poder obtener la curva de absorbancia ha sido necesario diluirlas con agua ultra-pura.

El espectro muestra una banda de absorción en la región UV con un máximo alrededor de 200 nm debida a la transición  $\pi$ - $\pi^*$  de dominios aromáticos  $sp^2$ . Puede observarse también un hombro alrededor de 294 nm que ha sido asociado a transiciones  $n$ - $\pi^*$  de enlaces C=O [30]. Algunos autores [21] apuntan a que la posición de este pico es muy dependiente del método de preparación. Varios grupos funcionales (C-OH, C=O, O-C=O, C=N, etc.) introducidos durante el proceso de preparación, pueden formar estados superficiales con niveles de energía entre los estados  $\pi$  y  $\pi^*$  del enlace C=C [21] Pan y col. [28] encontraron que GQDs preparados por el método hidrotermal, mostraban una banda de absorción a 320 nm, mientras que GQDs producidos mediante ultrasonificación mostraban una banda de absorción a 300 nm [31] y producidos electroquímicamente a 270 nm[32].





**Figura 21.** UV-Vis GQD3 neutralizado dializado hidrotermal (diluido 1 a 30 con agua ultra-pura)

Con los datos de fluorescencia y absorbancia se han calculado los rendimientos cuánticos de las muestras (**Tabla 4**).

**Tabla 4.** Influencia del tratamiento hidrotermal en la fluorescencia (24 h).

muestra	condiciones	rendimiento cuántico %	rendimiento másico %	concentración (mg/ml)
GQD1	dializada	0.270	19.85	0.233
Neutralizada	dializada hidrotermal	4.570	10.48	0.123
GQD2	dializada	0.113	9.94	0.138
Neutralizada	dializada hidrotermal	1.760	6.77	0.095
GQD3	dializada	0.273	33.20	0.392
Neutralizada	dializada hidrotermal	4.850	8.90	0.108

Tal y como reflejan los valores de la **Tabla 4**, el rendimiento cuántico de las muestras neutralizadas y dializadas tras el tratamiento hidrotermal aumenta en gran medida. La muestra que mayor rendimiento cuántico presenta es la muestra GQD3, siendo este ligeramente superior al de la muestra GQD1 y la GQD2 la de menor rendimiento cuántico.

En cuanto al rendimiento másico, la muestra GQD3 antes del tratamiento hidrotermal presenta mayor rendimiento másico que la muestra GQD1, sin embargo, tras llevar a cabo

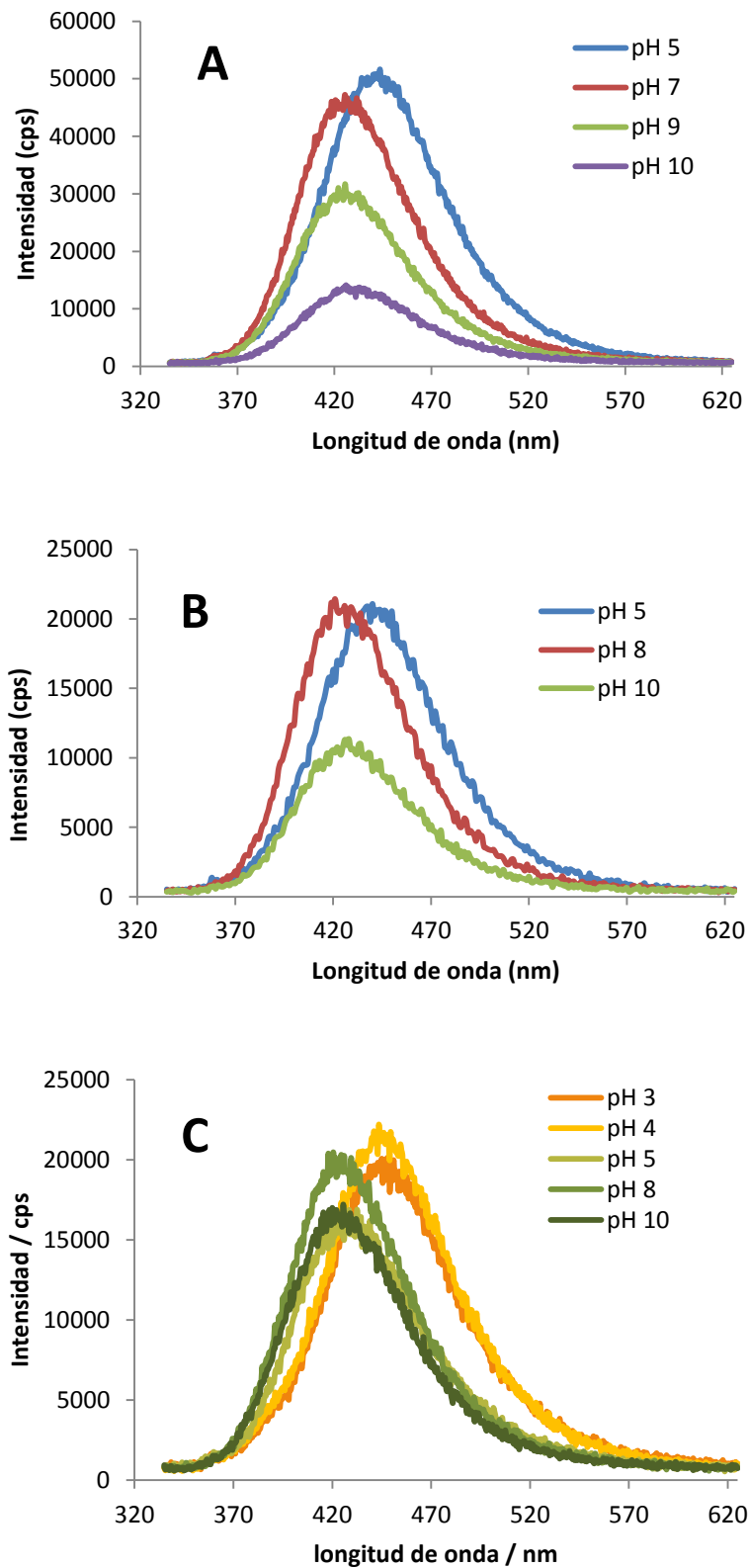
el tratamiento hidrotermal es la muestra GQD1 la que presenta mayor rendimiento másico y concentración. La muestra GQD2, como ocurre con el rendimiento cuántico, es la muestra que menos rendimiento másico presenta tanto antes como después del tratamiento hidrotermal. El proceso hidrotermal da lugar a una floculación de parte de los GQDs que se separaron por filtración además de, como veremos más adelante, a una eliminación de grupos funcionales oxigenados.

- **Influencia del pH en la fluorescencia**

El pH obtenido para las tres muestras tras el tratamiento hidrotermal ha sido de 5. Con el fin de conocer la dependencia del rendimiento cuántico con el pH tras el tratamiento hidrotermal, se ha estudiado la fluorescencia y la absorbancia de UV-Visible de las tres muestras GQD1, GQD2 y GQD3 neutralizadas y dializadas tras el tratamiento hidrotermal para el pH de partida y para pH básico (**Tabla 5**).

La **Figura 22** corresponde a las muestras GQD1 (**Figura 22.A**), GQD2 (**Figura 22.B**) y GQD3 (**Figura 22.C**) neutralizadas, dializadas e hidrotratadas, a distintos pHs. Al ir aumentando el pH de las muestras se produce una disminución de la intensidad de fluorescencia, con la consiguiente disminución del rendimiento cuántico, como se ve en la **Tabla 5**. Además, también puede apreciarse un desplazamiento del máximo de intensidad de fluorescencia hacia valores de longitud de onda menores conforme el pH aumenta.

Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por otros autores [19, 33] que encontraron que la fluorescencia disminuía a pH altos desplazándose la banda de fluorescencia hacia el azul.



**Figura 22.** Gráfica comparativa fluorescencia a distintos pH para las muestras neutralizadas y dializadas tras el tratamiento hidrotérmal. ( $\lambda_{excitación}$ : 320 nm;  $\lambda_{emisión}$ : 450 nm). (A) GQD1, (B) GQD2, (C) GQD3.

**Tabla 5.** Influencias del pH tras el tratamiento hidrotermal.

muestra	condiciones	rendimiento cuántico %
GQD1	Neutralizado, dializada hidrotermal pH 5	4.570
	Neutralizado, dializada hidrotermal pH 10	0.756
GQD2	Neutralizado, dializada hidrotermal pH 5	1.760
	Neutralizado, dializada hidrotermal pH 10	0.224
GQD3	Neutralizado, dializada hidrotermal pH 5	4.850
	Neutralizado, dializada hidrotermal pH 10	0.285
	Neutralizado, dializada hidrotermal pH 12	0.264

### 4.3 Funcionalización con Polietilenglicol-diamina (PEG)

Sun y cols. [23] funcionalizaron la superficie de puntos cuánticos de carbono (C-Dots) con moléculas de polietilen glicol diaminado, (PEG (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) observando una fuerte emisión en el verde de cercana al 20% de rendimiento cuántico. Ulterior procesado de los GQDs permitió obtener un rendimiento cuántico del 47% [34]. La funcionalización con PEG, además de aumentar el rendimiento cuántico rebaja la toxicidad y aumenta la estabilidad de los GQDs [35].

Con el fin de aumentar el rendimiento cuántico de las muestras se funcionalizó con PEG al 0.5% peso/volumen covalente y no covalentemente (ver apartado 3.7). La funcionalización covalente se ha llevado a cabo con muestra GQD3 sin neutralizar y dializada antes y después de someterla al proceso hidrotermal para comprobar si la funcionalización covalente además de enlazar el PEG, producía a la vez el mismo efecto que el tratamiento hidrotermal ya que consiste en una digestión a 120°C durante 72 h.

Las muestras preparadas fueron:

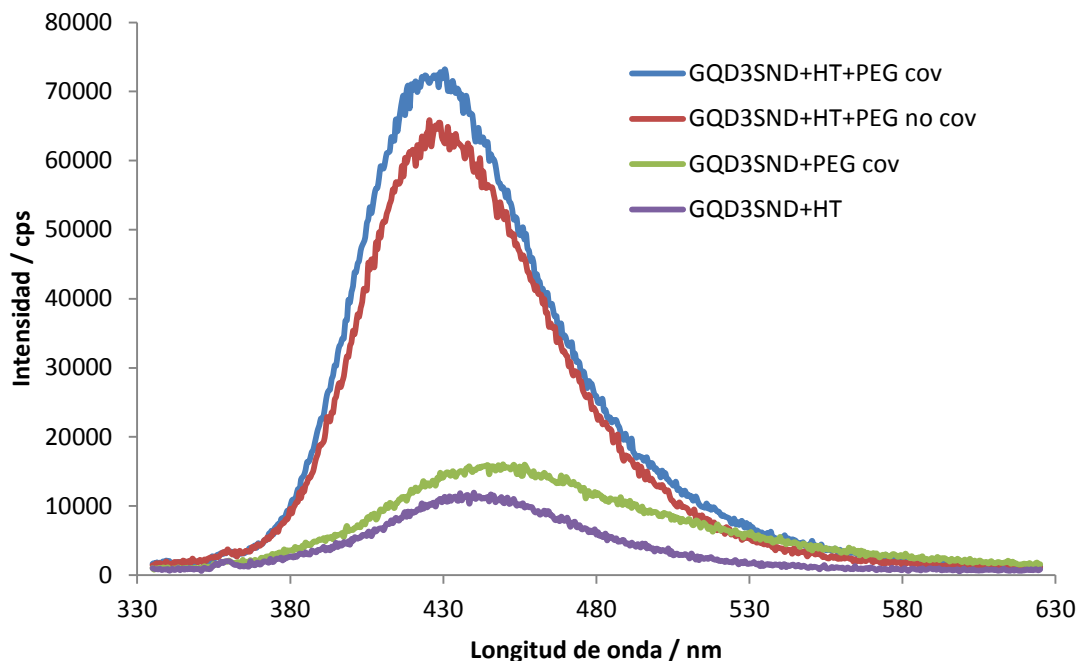
- GQD3 sin neutralizar dializada hidrotermal, la cual se evaporó a sequedad y se concentró por un factor de 8 con PEG covalente (En autoclave a 120°C durante 72h) (GQD3SND+HT+PEG cov)
- GQD3 sin neutralizar dializada hidrotermal, la cual se evaporó a sequedad y se concentró por un factor de 8 con PEG no covalente (a temperatura ambiente) (GQD3SND+HT+PEG no cov)
- GQD3 sin neutralizar dializada, la cual se evaporó a sequedad y se concentró por un factor de 3 con PEG covalente (GQD3SND+PEG cov)

Los resultados obtenidos (**Figura 23**) muestran un desplazamiento del máximo de fluorescencia hacia longitudes de onda más bajas para las muestras funcionalizadas después del tratamiento hidrotermal. A diferencia con los resultados de Sun y cols [23],

los rendimientos cuánticos han disminuido ligeramente tanto con la funcionalización covalente como con la no covalente (**Tabla 6**). Respecto a la funcionalización covalente el rendimiento cuántico disminuye menos cuando la funcionalización se lleva a cabo sobre muestra previamente hidrotatada. A pesar de que las muestras funcionalizadas poseen mayor intensidad de fluorescencia, el rendimiento cuántico depende también de la absorbancia de UV-Visible, es por ello que la muestra hidrotatada sin funcionalizar presenta mayor rendimiento cuántico.

La muestra GQD3 sin neutralizar y dializada sin hidrotatar aumenta su rendimiento cuántico cuando se funcionaliza con PEG covalente (0.256% y 1.380% respectivamente), debido al hecho de que esta funcionalización se lleva a cabo en autoclave y a alta temperatura, constituyendo a su vez un tratamiento hidrotermal.

Estos resultados indican que la funcionalización con PEG no está indicada para conseguir un aumento del rendimiento cuántico pero resultados de la bibliografía [36] indican que no muestran citotoxicidad en experimentos en vivo tras una evaluación de hasta 28 días en ratones.



**Figura 23.** Espectro de fluorescencia tras la funcionalización con PEG covalente y no covalente ( $\lambda_{excitación}$ : 320 nm;  $\lambda_{emisión}$ : 450 nm).

**Tabla 6.** Funcionalización con PEG

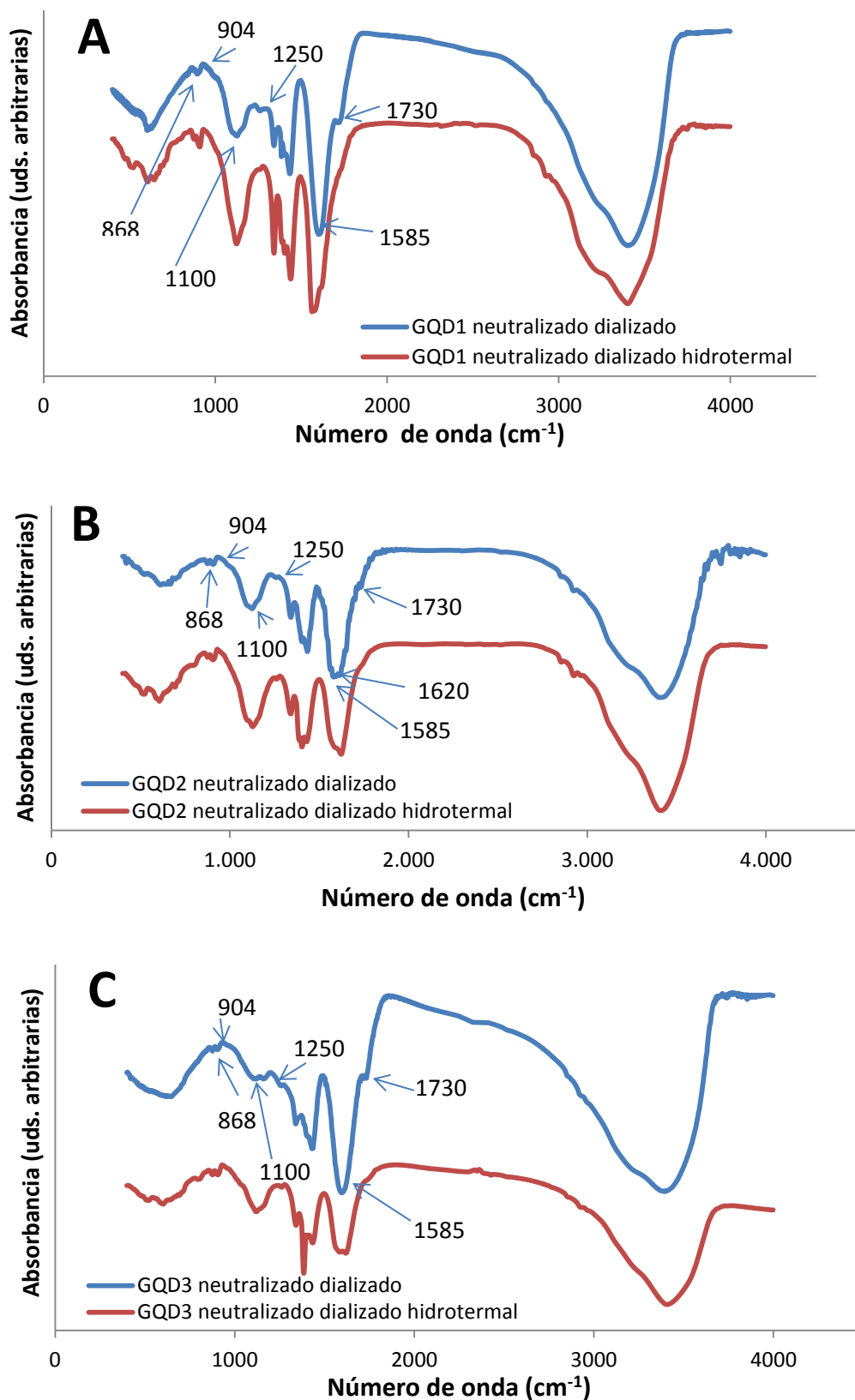
muestra	condiciones	rendimiento cuántico %
GQD3 Sin neutralizar dializada	hidrotermal	3.90
	hidrotermal + PEG covalente	3.72
	hidrotermal +PEG no covalente	3.62
	PEG covalente	1.38

#### 4.4 Caracterización estructural

##### 4.4.1 Espectroscopía Infrarroja

La espectroscopia infrarroja nos proporciona una información interesante sobre los grupos funcionales introducidos en el proceso de fabricación de GQDs.

El análisis de Infrarrojo (**Figura 24**) se ha llevado a cabo para las muestras GQD1 (**Figura 24.A**), GQD2 (**Figura 24.B**) y GQD3 (**Figura 24.C**) neutralizadas y dializadas, antes y después del tratamiento hidrotermal, con el fin de comprobar las modificaciones que tienen lugar durante el tratamiento.



**Figura 24.** Espectros IR de las muestras de GQDs neutralizadas y dializadas, antes y después del tratamiento hidrotermal (A) GQD1, (B) GQD2, (C) GQD3

El espectro IR de los GQDs antes de la síntesis hidrotermal muestra un perfil típico de materiales de carbono oxigenados, los 3 espectros son muy similares entre sí. Las bandas características aparecen a  $\approx 3425\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al enlace O-H (grupo hidroxilo) con hombros a  $3200\text{-}3250\text{ cm}^{-1}$  que se asignan a grupos carboxilo. Los picos a  $2920$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$  corresponden a grupos  $\text{CH}_2$  alifáticos. A  $\approx 1725\text{ cm}^{-1}$  aparece un pico característico del enlace C=O en lactonas y ácidos carboxílicos. A  $\approx 1580\text{ cm}^{-1}$  se refleja la vibración de estiramiento del esqueleto aromático C=C de las láminas de grafeno, esta banda aparece solapada con otra contribución a  $\approx 1620\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a moléculas de agua adsorbida que en el espectro de las muestras GQD3 y GQD1 es más evidente y aparece desdoblada en 2.

Los picos entre  $1100\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$  corresponden a diferentes grupos funcionales oxigenados [37,38]. La vibración correspondiente al estiramiento de enlaces C-O en éteres aparece a  $1000\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ . La vibración de los grupos OH y el estiramiento del enlace C-OH en fenoles suelen aparecer a  $1000\text{-}1220\text{ cm}^{-1}$  y  $1160\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  respectivamente. Los grupos alcohol vibran a  $1050\text{-}1276\text{ cm}^{-1}$ .

La banda que aparece entre  $1000$  y  $1200\text{ cm}^{-1}$  podría englobar el estiramiento de enlaces C-O en alcoholes primarios, la vibración del enlace C-OH en alcoholes secundarios pero también contribuciones de grupos eter. El pequeño pico a  $\approx 1250\text{ cm}^{-1}$  se podría asignar al estiramiento de enlaces C-O en grupos fenol. Las señales correspondientes a vibraciones de enlaces C-H aromáticos fuera del plano aparecen entre  $670$  y  $900\text{ cm}^{-1}$  [38]. Sin embargo, la presencia conjunta de la banda a  $1250\text{ cm}^{-1}$  junto con bandas en la región  $800\text{-}890\text{ cm}^{-1}$  puede ser indicativa de la existencia de grupos epoxi. Bandas correspondientes a sulfatos en las regiones  $1130\text{-}1080/680\text{-}610\text{ cm}^{-1}$  y a nitratos a  $1380\text{-}1350/840\text{-}815\text{ cm}^{-1}$  podrían estar contribuyendo a los espectros como consecuencia de la permanencia de pequeñas cantidades de estos iones inorgánicos después de la diálisis.

Tras la síntesis hidrotermal el espectro experimenta algunas variaciones. Puede observarse la práctica desaparición de los picos a  $\approx 1720\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a grupos carboxílicos y la disminución del pico asignado a los grupos fenólicos a  $\approx 1250\text{ cm}^{-1}$ , que indica una disminución de grupos funcionales oxigenados con el proceso hidrotermal.

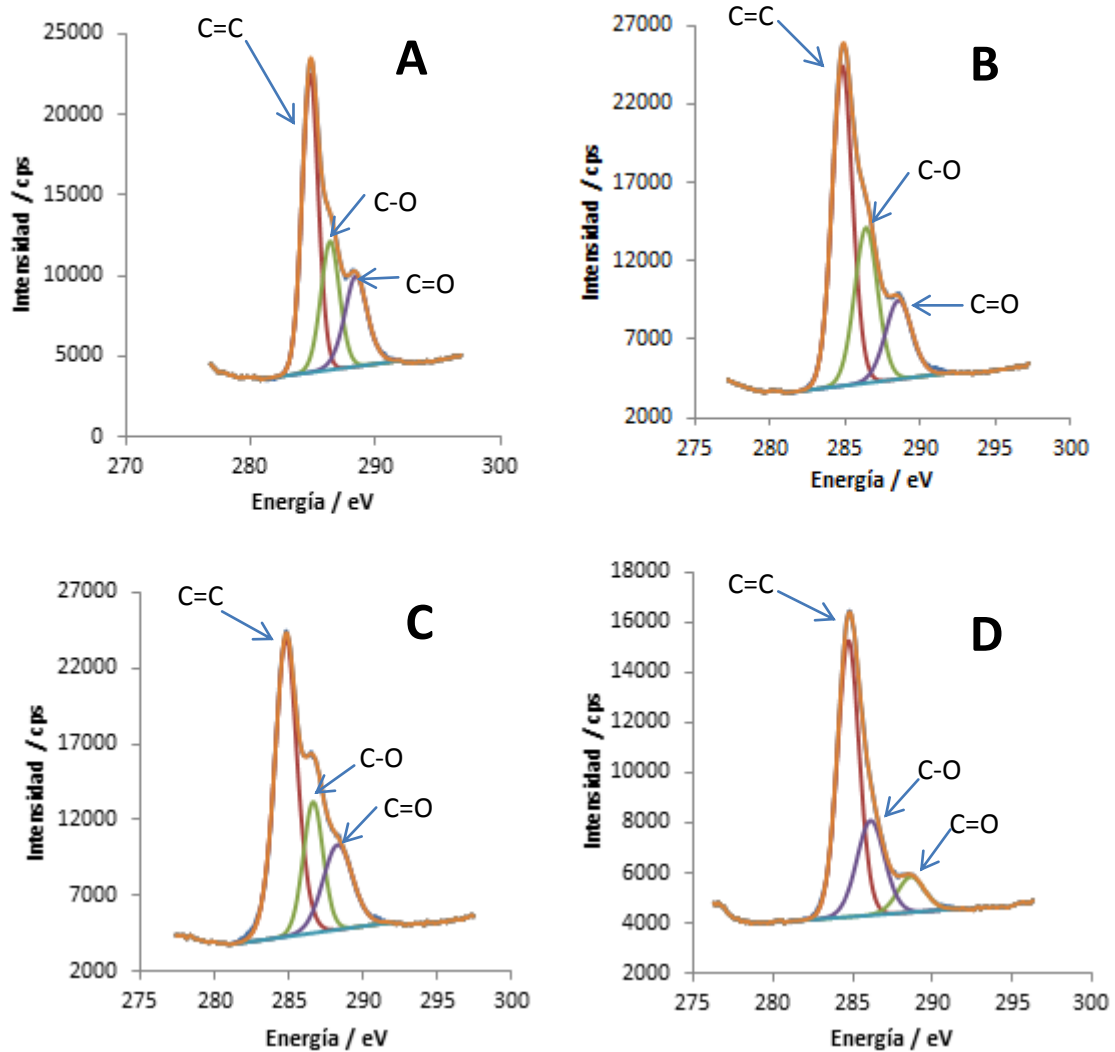
#### **4.4.2 Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)**

Más información sobre los grupos oxigenados introducidos durante el proceso de producción de los GQDs ha sido obtenida mediante XPS de alta resolución. Los espectros de C1s XPS de las nanoestructuras de carbono suelen ser deconvolucionados en cinco picos principales centrados en i)  $284.8\text{ eV}$  correspondiente a carbono grafitico  $\text{sp}^2$ , ii)  $286.1\text{-}286,4\text{ eV}$  correspondiente a  $\text{Csp}^3$  y grupos epoxi e hidroxilo, iii) enlaces C-O a  $286,4\text{-}286,9\text{ eV}$ , iv) enlaces C=O a  $288\text{-}289\text{ eV}$  y v) carbonatos y pérdidas de plasmón alrededor de  $291\text{ eV}$  [39, 40].

En la **Figura 25** están representados los espectros de C1s XPS correspondientes a las muestras GQD1, GQD2 y la muestra GQD3 antes y después del proceso hidrotermal. En la



**Tabla 7** se muestran las energías de enlace y el porcentaje atómico de cada una de las bandas en las que se han decoconvolucionado los espectros. Se observan 4 componentes correspondientes a C=C sp<sup>2</sup>, C-O en grupos hidroxilos, epoxis y eteres y grupos C=O.



**Figura 25.** Espectros de C1s XPS de las tres muestras neutralizadas y dializadas. (A) muestra GQD1, (B) muestra GQD2, (C) muestra GQD3, (D) muestra GQD3 HT (hidrotermal).

**Tabla 7.** Energías de enlace y áreas (en paréntesis) en porcentaje atómico obtenidos mediante C1s XPS

Muestra/Energía de Enlace	C=C sp <sup>2</sup> ≈ 284.8 eV	C-O Hidroxilo/Epoxi/eter ≈ 286.4-286.9 eV	C=O 288-289 eV
GQD 1	284.7 (51.9%)	286.3 (25,9%)	288.4 (22.2%)
GQD 2	284,8 (53,5%)	286.6 (29,4%)	288,5 (17.1%)
GQD 3	284.8 (57.0%)	286.6 (21,9%)	288,3 (21,1%)
GQD 3 HT	284.7 (62.6%)	286,1(27,3%)	288,6 (10,1%)

El contenido de carbono sp<sup>2</sup> en las muestras varía de unas muestras a otras, siendo máximo para la muestra sometida al proceso hidrotermal. El contenido de grupos C-O es máximo para la muestra GQD2, mientras que la mayor cantidad de grupos C=O corresponde a la muestra GQD1. La muestra con mayor rendimiento cuántico GQD 3 hidrotermal es la que presenta mayor cantidad de carbono sp<sup>2</sup> y una alta relación de enlaces C-O/C=O. En las muestras sin tratamiento hidrotermal, al aumentar la cantidad de permanganato la muestra GQD2 presenta mayor contenido en grupos C-O y menor contenido de grupos C=O que la muestra GQD1 lo que parece indicar que el aumento de la cantidad de permanganato potásico favorece la formación de grupos hidroxilo, epoxi y éter. La sustitución de nitrato sódico por ácido nítrico, muestra GQD3, promueve la formación de grupos C=O a expensas de grupos C-O lo que parece indicar la conversión de los grupos hidroxilo en aldehídos cetonas indicativo de un mayor grado de oxidación.

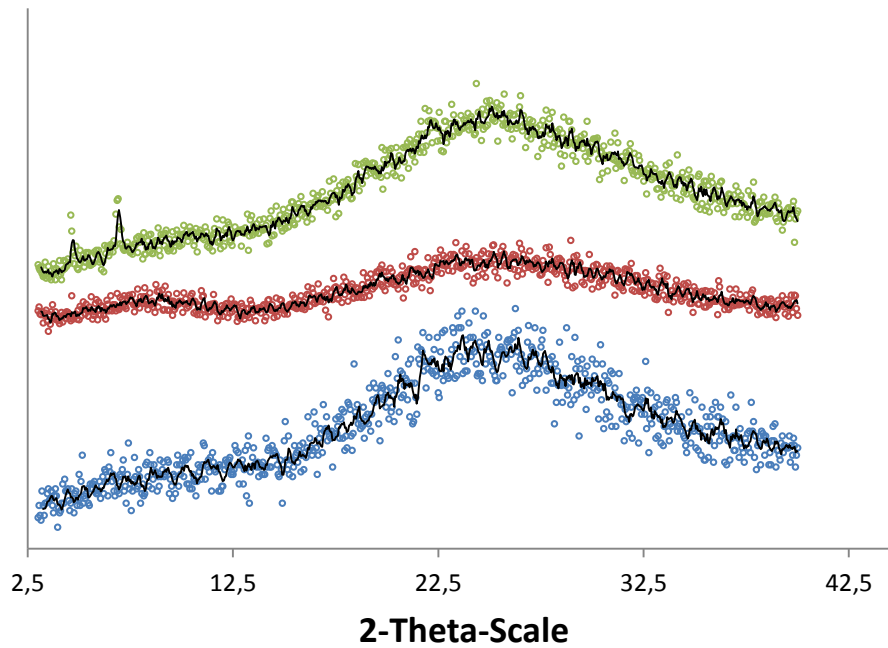
El proceso hidrotermal produce la eliminación de parte de los grupos oxigenados. El espectro de la muestra GQD 3HT muestra como la estructura sp<sup>2</sup> de las capas gráficas se recupera parcialmente y se eliminan parte de los grupos C=O aumentando proporcionalmente la contribución debida a los enlaces C-O. Estas observaciones están de acuerdo con los resultados de FTIR donde se ve una disminución de grupos carboxílicos con el proceso hidrotermal.

El proceso hidrotermal da lugar como hemos visto a un aumento del rendimiento cuántico pero por otra parte a la disminución de grupos funcionales. Dependiendo de la aplicación de los GQDs, debe de estudiarse la conveniencia o no de la aplicación de este proceso. Para la aplicación de los GQDs como sonda fluorescente estaría indicado el proceso hidrotermal para aumentar la fluorescencia. Por el contrario para funcionalizaciones posteriores de los GQDs interesa mantener el mayor número de grupos funcionales, en particular grupos carboxílicos, para aplicaciones por ejemplo en suministro de fármacos.

#### **4.4.3 Difracción de rayos X**

En la **Figura 26** viene representados los XRD de las muestras GQD1, GQD2 y GQD3 neutralizadas y dializadas.

Los GQDs obtenidos presentan un perfil similar con una amplia reflexión de baja intensidad centrada aproximadamente a  $2\theta = 25^\circ$  consistente con previas publicaciones [22] y que muestra la práctica destrucción de la estructura en capas paralelas típica del grafito. En la muestra GQD2 aparece una segunda banda de intensidad muy débil centrada alrededor de  $10^\circ$  típica del óxido de grafeno mientras que la banda a  $2\theta = 25^\circ$  presenta la menor intensidad de las tres muestras.

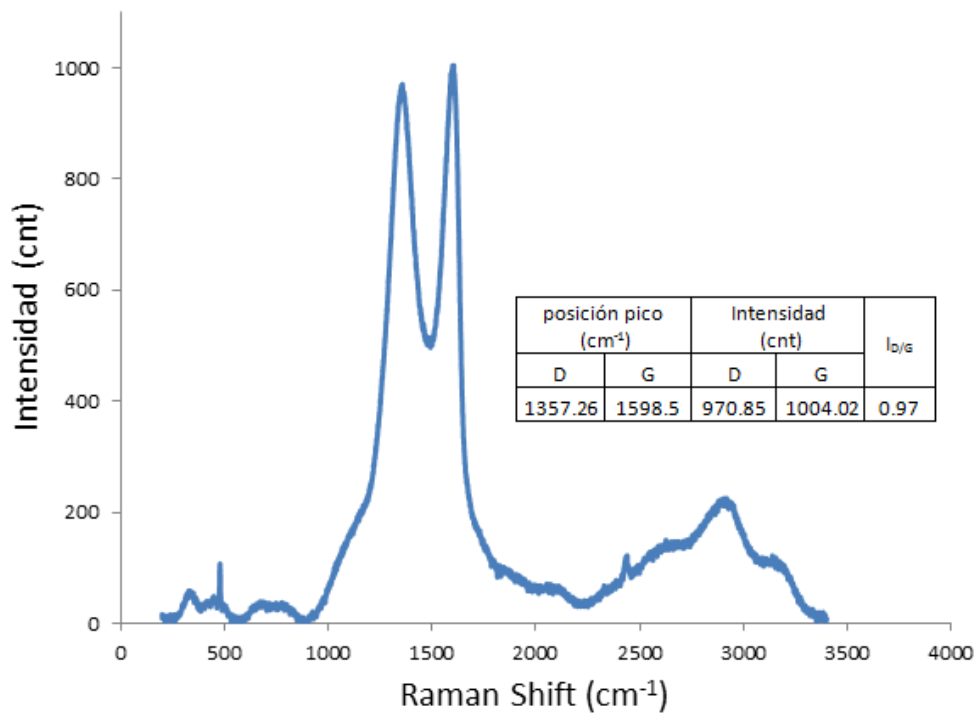


**Figura 26.** Difracción de rayos X muestras GQD1, GQD2 y GQD3 neutralizadas y dializadas.

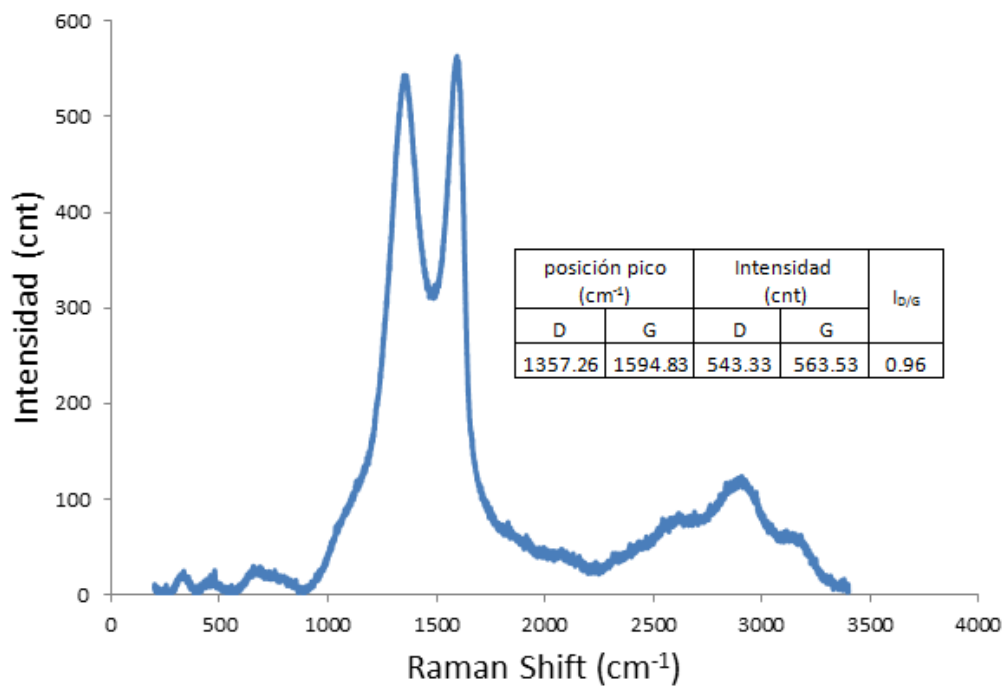
#### 4.4.4 Espectroscopia Raman

El espectro Raman de GQDs muestra generalmente picos característicos de la banda D a aproximadamente  $1350\text{ cm}^{-1}$  característica del carbón desordenado de los bordes del grafito y la banda cristalina G a  $1590\text{ cm}^{-1}$ . Asimismo, puede observarse en las muestras GQD1, GQD2 y GQD3 dializadas (**Figuras 27, 28 y 29**) la banda 2D a  $\approx 2700\text{ cm}^{-1}$ , también conocida como banda G' presente en los materiales de carbono  $\text{sp}^2$ . La banda 2D se ha utilizado a veces para distinguir entre grafenos de distinto número capas [41]. Esta banda muestra similar forma, intensidad y posición en las tres muestras.

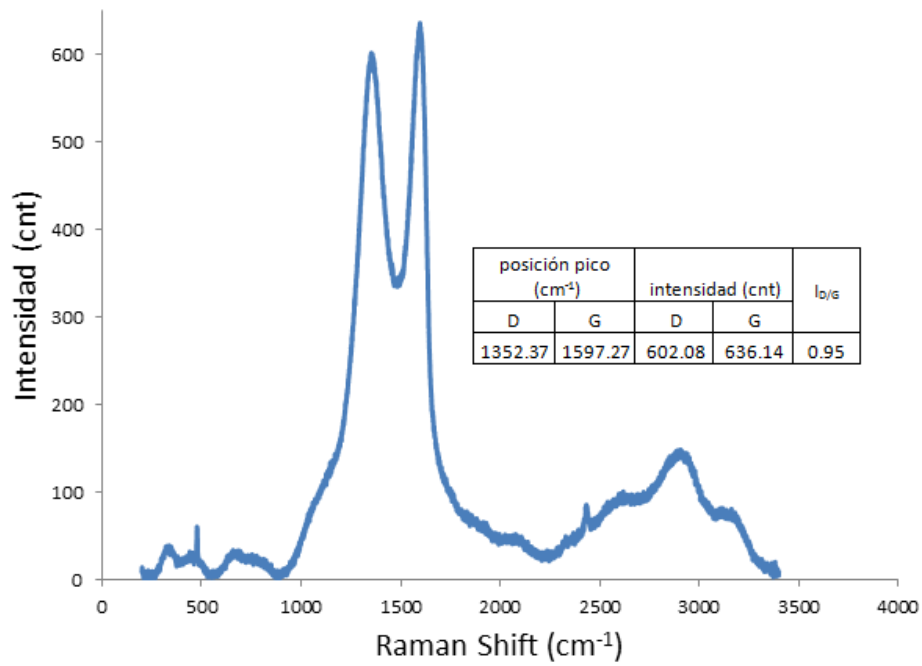
La relación de intensidades relativas de las bandas D y G ( $I_{D/G}$ ) es un indicador de la calidad de los bordes de los GQDs, valores entre 0.5 y 1.26 han sido publicados por distintos autores. Pan y col. [42] han publicado valores de 1.26, Li y col. utilizando un método electroquímico han dado valores de 0.5 [43] y Zhang y col. [44] de 0.91. Los producidos por el método electroquímico muestran generalmente valores más pequeños lo que se considera indicativo de una mayor calidad. Los espectros Raman de las muestras GQD1, GQD2 y GQD3 muestran intensidades similares de las bandas D y G mostrando la banda D en todos los casos algo menor intensidad que la G, las relaciones  $I_{D/G}$  muestran valores de 0.97, 0.96 y 0.95 para las muestras GQD1, GQD2 y GQD3 respectivamente. Estos valores son intermedios entre los publicados en la bibliografía.



**Figura 27.** Espectro Raman (532 nm) muestra GQD1



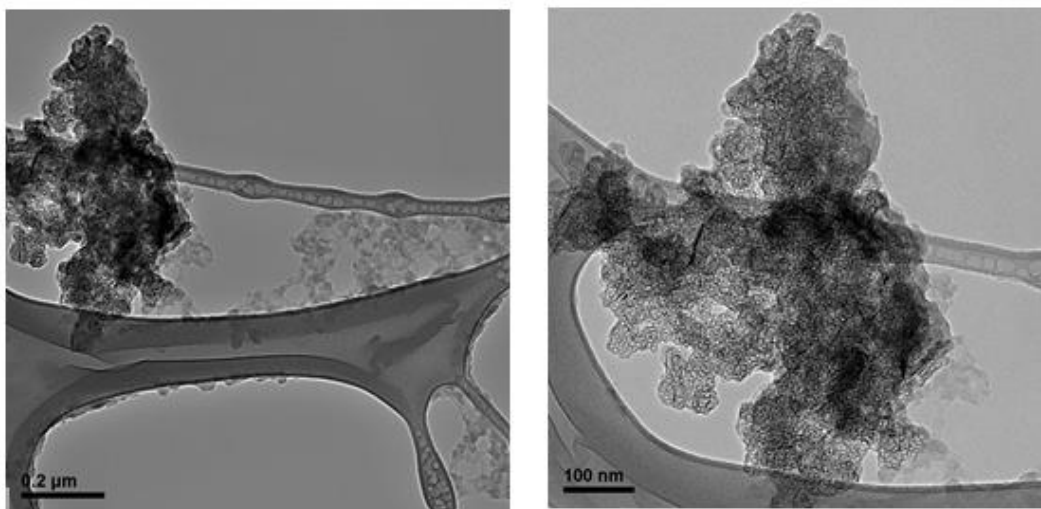
**Figura 28.** Espectro Raman (532 nm) muestra GQD2



**Figura 29.** Espectro Raman (532 nm) muestra QGD3

#### 4.4.5 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

En la **Figura 30** se muestran las imágenes obtenidas con la microscopía electrónica de transmisión realizada a la muestra QGD3 neutralizada y dializada antes del tratamiento hidrotérmal. En esta imagen los QGDs aparecen muy aglomerados y no se aprecian QGDs individuales.

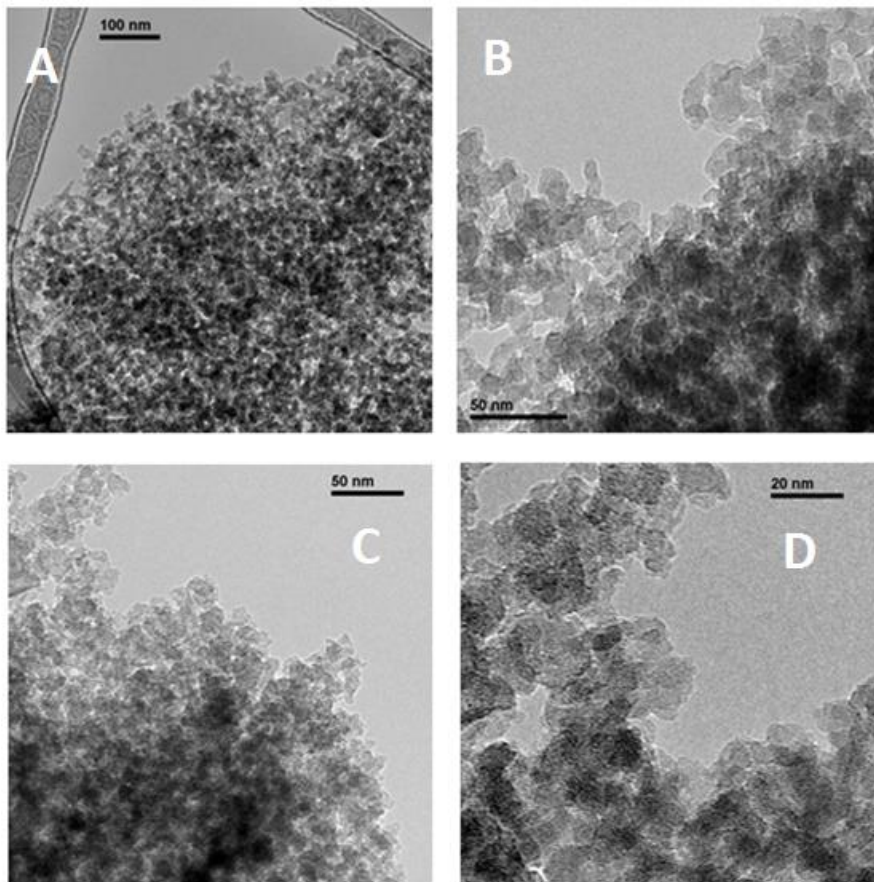


**Figura 30.** Imágenes de TEM muestra QGD3 neutralizada dializada.

En la **Figura 31** se muestran las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de transmisión realizada a la muestra GQD3 neutralizada y dializada tras el tratamiento hidrotermal.

En la **Figura 31.A** (x25000) se observa un aglomerado de los puntos cuánticos de grafeno. En la **Figura 31.B** y **Figura 31.C** con mayor magnificación (x80000 y x60000 respectivamente) se pueden apreciar los puntos cuánticos individualmente.

A 150000 aumentos (**Figura 31.D**) se aprecian los GQDs de manera bastante clara, pudiéndose apreciar con bastante nitidez el tamaño de estos  $\approx 5$  nm.

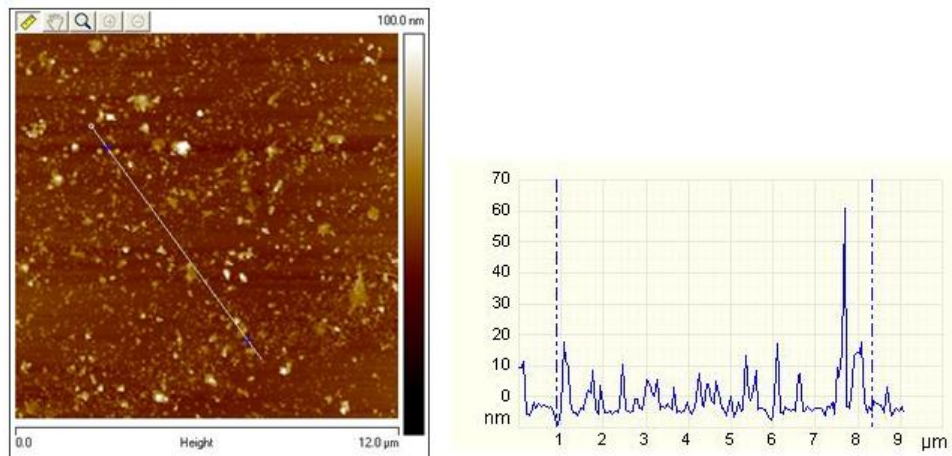


**Figura 31.** Imágenes de TEM muestra GQD3 neutralizada dializada e hidrotermal.

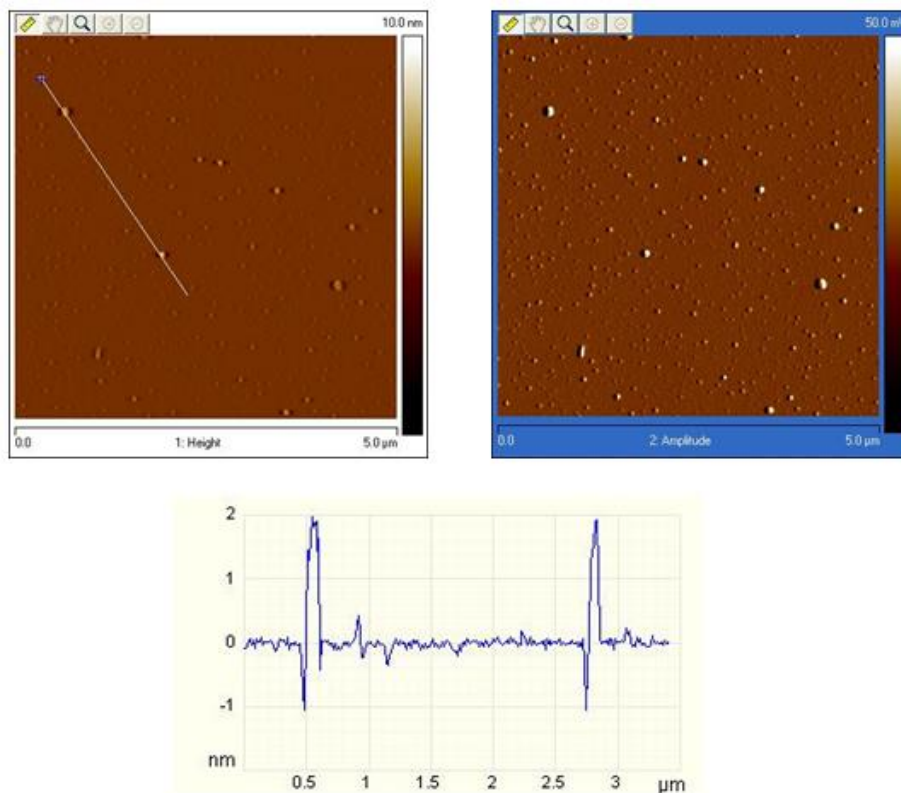
#### **4.4.6 Microscopía de fuerzas atómicas (AFM)**

Las imágenes de AFM en modo “tapping” de la muestra GQD3 muestran tamaños de partícula irregulares formando pequeños aglomerados. La **Figura 32** muestra una imagen de  $12 \times 12 \mu\text{m}$  donde pueden apreciarse aglomerados de GQDs con alturas de  $\approx 60$  nm y otros de aproximadamente 10 nm y menores. A mayor dilución de la muestra se produce una mayor disgregación de los GQDs (**Figura 33**).

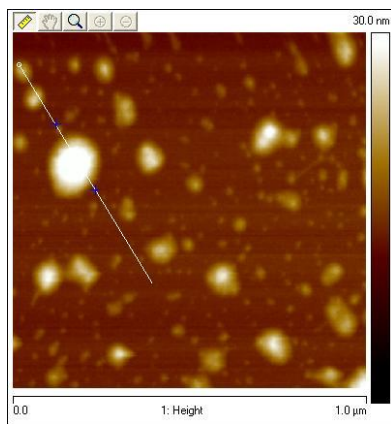
El perfil de la muestra indica tamaños de 2 nm y menores. La **Figura 34**, hecha a mayor magnificación, tamaño de barrido de 1  $\mu\text{m}$  en otra zona de la muestra, muestra alturas de los GQDs de  $\approx 20$  nm (**Figura 34.A**), 5-8 nm (**Figura 34.B**) y menores de 2 nm (**Figura 34.C**).



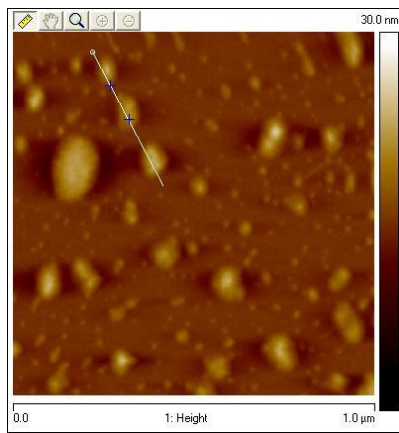
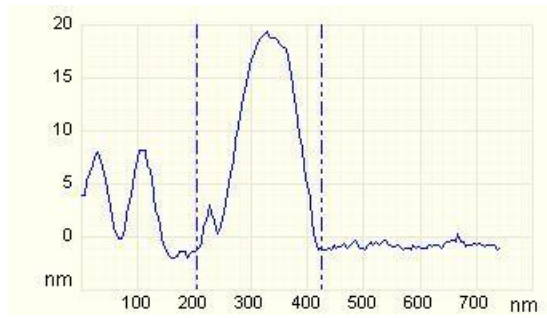
**Figura 32.** Imagen de AFM de GQD3. Izquierda; topografía (12x12  $\mu\text{m}$ ). Derecha altura del perfil indicado en la imagen



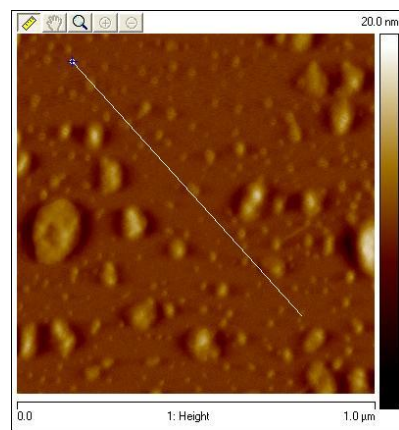
**Figura 33.** Imagen de AFM de GQD3. Imagen superior Izquierda: topografía (5x5  $\mu\text{m}$ ). Superior derecha: amplitud. Inferior la misma imagen indicando el perfil.



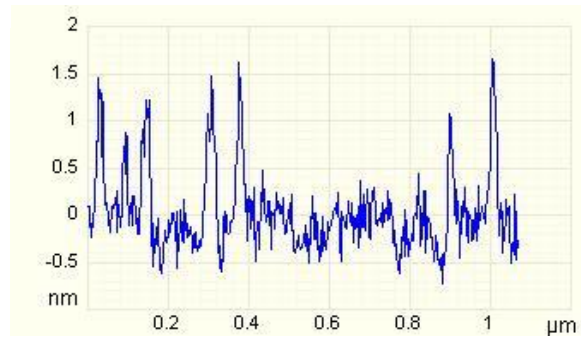
**A**



**B**



**C**



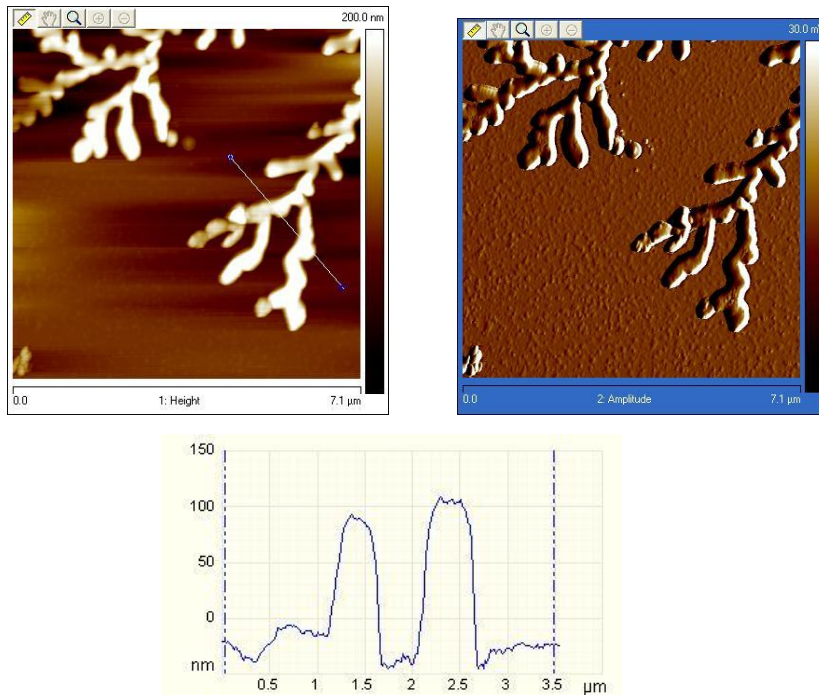
**Figura 34.** Imágenes de AFM de GQD3 a menor magnificación con sus correspondientes perfiles.

Después del tratamiento hidrotérmal, los GQDs se presentan mucho más agregados formando racimos. La **Figura 35** muestra imágenes de topografía y amplitud de la muestra y su perfil, donde se ven agregados de una altura aproximada de 100 nm. En la imagen de amplitud puede apreciarse la existencia de pequeños GQDs entre los grandes agregados.

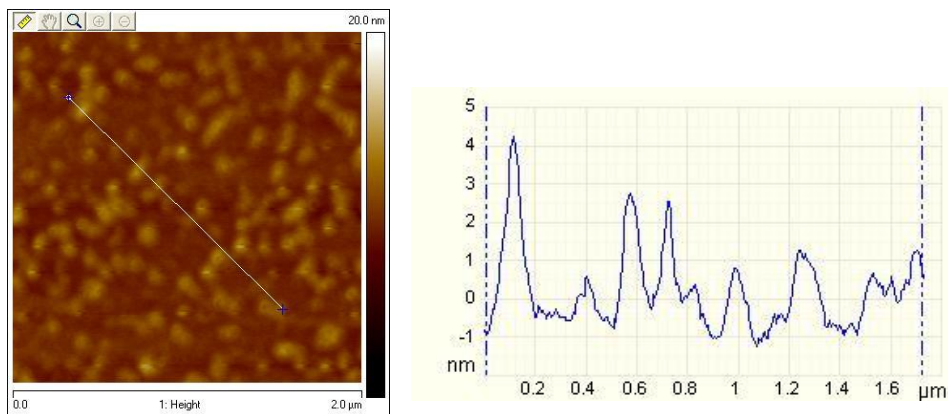


La **Figura 36** muestra una imagen de esta zona entre agregados donde los tamaños de los GQDs son menores de 5 nm y mas regulares que en la muestra antes del proceso hidrotérmal.

A partir de los datos aportados por la microscopía AFM, puede decirse que la muestra GQD3 antes del proceso hidrotérmal es una muestra más heterogénea en cuanto al tamaño de partícula, el proceso hidrotérmal da lugar a GQDs de un tamaño de partícula más homogéneo y a la agregación de los mismos.



**Figura 35.** Microscopía AFM de la muestra GQD3 tras el tratamiento hidrotérmal. Imágenes superior izquierda; topografía. Imagen superior derecha amplitud. Imagen inferior perfil indicado en la imagen de topografía.



**Figura 36.** Imagen de microscopía AFM y perfil del área entre los agregados mostrados en la Figura 36.

#### 4.5 Espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES)

Con el objetivo de evaluar la posible aplicación de las muestras en biomedicina, se hizo una determinación de manganeso para establecer si el tiempo de diálisis había sido suficiente la eliminación de reactantes para estas aplicaciones.

En la **Tabla 8** se muestra la cantidad de manganeso (en ppm) que contienen las muestras.

**Tabla 8.** Cantidad de manganeso

Muestra	condiciones	Manganeso (ppm)
GQD1 Neutralizada	dializada	18.80
	dializada hidrotermal	13.02
GQD2 Neutralizada	dializada	13.16
	dializada hidrotermal	12.87
GQD3 Neutralizada	dializada	43.19
	dializada hidrotermal	30.73

Como indica la **Tabla 8**, subsisten cantidades de manganeso del orden de ppm, por lo que sería conveniente un mayor tiempo de diálisis para la eliminar el máximo de manganeso en las muestras ya que el manganeso es tóxico para las células.

## 5 CONCLUSIONES

En este trabajo se ha desarrollado un método para la preparación y caracterización de quantum dots de grafeno (GQDs) por vía química a partir de grafito. Para ello se han preparado tres muestras (GQD1, GQD2 y GQD3), cada una de ellas bajo distintas condiciones como ya se ha visto en el apartado experimental.

La muestra GQD3 preparada con 5 g de agente oxidante y con ácido nítrico en sustitución del nitrato sódico, ofrece junto con la muestra GQD1 los mayores rendimientos cuánticos, sin embargo, es la muestra GQD3 (preparada con 3 g de agente oxidante y nitrato sódico) la que mayor rendimiento másico proporciona de las tres muestras neutralizadas. Se ha determinado que la eliminación de la etapa de neutralización no influye prácticamente en el rendimiento cuántico de la muestra, siendo la muestra GQD3 sin neutralizar la que mayor rendimiento másico proporciona en comparación con todas las demás muestras.

El tratamiento hidrotermal desarrollado en este trabajo ha permitido aumentar en gran medida la fluorescencia de todas las muestras, convirtiéndose este tratamiento en una etapa fundamental del proceso de preparación de los GQDs.

Los distintos ensayos de espectroscopia de fluorescencia realizados a las muestras con el fin de conocer el tiempo óptimo de tratamiento hidrotermal, indican que para obtener el mayor rendimiento cuántico la muestra debe permanecer en tratamiento hidrotermal durante 24 horas. Así mismo, los ensayos realizados para analizar la influencia del pH con la fluorescencia tras el tratamiento hidrotermal indican que el aumento del pH da lugar a un descenso de la fluorescencia y a un desplazamiento del máximo de emisión a longitudes de onda más bajas.

Tras la funcionalización con PEG diamina, los rendimientos cuánticos han disminuido ligeramente tanto con la funcionalización covalente como con la no covalente. Estos resultados indican que la funcionalización con PEG no está indicada para conseguir un aumento del rendimiento cuántico.

La espectroscopia de infrarrojo indica que los GQDs son materiales altamente oxidados. Tras la síntesis hidrotermal se consigue eliminar algún grupo funcional, en concreto puede observarse la práctica desaparición de los picos a números de onda de  $\approx 1720 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a grupos carboxílicos y la disminución del pico asignado a los grupos fenólicos a  $\approx 1250 \text{ cm}^{-1}$ , que indica una disminución de grupos funcionales oxigenados.

Los estudios de Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X de alta resolución (XPS), muestran más información sobre los grupos oxigenados introducidos durante el proceso de producción de los GQDs. El contenido de carbono  $\text{sp}^2$  en las muestras varía de unas muestras a otras, siendo máximo para la muestra sometida al proceso hidrotermal. En las muestras sin tratamiento hidrotermal, al aumentar la cantidad de permanganato la muestra GQD2 presenta mayor contenido en grupos C-O y menor contenido de grupos C=O que la muestra GQD1 lo que parece indicar que el aumento de la cantidad de

permanganato potásico favorece la formación de grupos hidroxilo, epoxi y éter. La sustitución de nitrato sódico por ácido nítrico, muestra GQD3, promueve la formación de grupos C=O a expensas de grupos C-O lo que parece indicar que los grupos hidroxilo van convirtiéndose en aldehídos cetonas según progresa la oxidación. El proceso hidrotermal produce la eliminación de parte de los grupos oxigenados.

El espectro Raman de GQDs muestra generalmente picos característicos de la banda D a aproximadamente  $1350\text{ cm}^{-1}$  característica del carbón desordenado de los bordes del grafito y la banda cristalina G a  $1590\text{ cm}^{-1}$ . Asimismo, puede observarse en las muestras la banda 2D a  $\approx 2700\text{ cm}^{-1}$ , también conocida como banda G' presente en los materiales de carbono  $sp^2$ .

La microscopia electrónica de fuerzas atómicas ha permitido obtener los tamaños de partícula de los GQDs sintetizados en este trabajo. La muestra GQD3 antes del proceso hidrotermal es una muestra más heterogénea en cuanto al tamaño de partícula, con tamaños de partícula que oscilan entre los 60 y 20 nm junto con partículas de tamaño menor de 10 nm, entre 1.5-5 nm. El proceso hidrotermal da lugar a GQDs de un tamaño de partícula más homogéneo (menor de 5 nm) y a la agregación de los mismos.

Para comprobar la posible aplicación de los GQDs en (bio)electroanálisis se llevó a cabo un estudio electroquímico dentro del grupo de Nanomateriales de carbono y Nanotecnología del Instituto de Carboquímica (**Anexo I**), en el que se midieron conjuntamente dopamina, ácido úrico y ácido ascórbico simultáneamente, obteniéndose una buena separación de picos, por lo que estos materiales presentan unas propiedades muy prometedoras en su uso como biosensores electroquímicos que deben ser estudiadas con más profundidad.

Dependiendo de la aplicación de los GQDs, debe de estudiarse la conveniencia o no de la aplicación del tratamiento hidrotermal. Para la aplicación de los GQDs como sonda fluorescente estaría indicado el proceso hidrotermal para aumentar la fluorescencia. Por el contrario para funcionalizaciones posteriores de los GQDs interesa mantener el mayor número de grupos funcionales, en particular grupos carboxílicos, para su funcionalización posterior y aplicaciones, por ejemplo, en suministro de fármacos.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Y. Sun, S. Wang, C. Li, P. Luo, L. Tao, Y. Wei and G. Shi, Large scale preparation of graphene quantum dots from graphite with tunable fluorescence properties. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, 15, 9907
- [2] Claramaría Rodríguez González, Oxana Vasilevna Kharissova Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas, UANL. Propiedades y aplicaciones del grafeno. *Ingenierías*, Enero-Marzo 2008, Vol. XI, No. 38.
- [3] <http://aspiracoesquimicas.net/2012/05/grafeno-o-material-mais-fino-do-mundo.html/>
- [4] R. Lahoz “El grafeno es una revolución y Zaragoza participa en ella”, *Heraldo de Aragón*, 21 septiembre 2014.
- [5] <http://cienciados.com/aerogel-de-grafeno-el-material-mas-ligero-del-mundo/>
- [6] <http://www.monografias.com/trabajos48/nanotecnologia/nanotecnologia2.shtml>
- [7] M. F. Cracium, S. Russo, M. Yamamoto, J.B. Qqstinga. Trilayer graphene is a semimetal with a gate-tunable band overlap. *Nature Nanotechnology* 2009, 4, 383-388.
- [8] [http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina\\_ingenieria/mecanica/mat/mat\\_mec/m6/Introduccion%20a%20los%20nanomateriales.pdf](http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina_ingenieria/mecanica/mat/mat_mec/m6/Introduccion%20a%20los%20nanomateriales.pdf)
- [9] <http://www.mundodelgrafeno.com/2013/01/modos-de-obtencion.html>
- [10] [http://www.iqog.csic.es/iqog/sites/default/files/public/User/Transferencia%20de%20Tecnolog%C3%ADa/Folleto%20LM\\_012\\_201331382\\_Herrad%C3%B3n\\_2013-10-07.pdf](http://www.iqog.csic.es/iqog/sites/default/files/public/User/Transferencia%20de%20Tecnolog%C3%ADa/Folleto%20LM_012_201331382_Herrad%C3%B3n_2013-10-07.pdf)
- [11] Pablo Solís Fernández. Modificación superficial de materiales de carbono: grafito y grafeno, Memoria de Tesis Doctoral, Universidad de Oviedo, 2011.
- [12] Andrés Castro Beltrán, Selene Sepúlveda Guzmán, Wencel J. De la Cruz Hernández, Rodolfo Cruz Silva. Obtención de grafeno mediante la reducción química del óxido de grafito. *Ingenierías*, Julio-Septiembre 2011, Vol. XIV, No. 52.
- [13] <http://3dprint.com/7701/quantum-dots-3d-print/>
- [14] Sheila N. Baker\* and Gary A. Baker. Luminescent carbon nanodots: Emergent nanolights. *Angewandte chemie*, 2010, 6726-6744
- [15] [http://www.technologyreview.es/printer\\_friendly\\_article.aspx?id=44483](http://www.technologyreview.es/printer_friendly_article.aspx?id=44483)
- [16] Václav Štengl, Snejana Bakardjieva, Jiří Henych, Kamil Lang, Martin Kormunda. Blue and green luminescence of reduced graphene oxide quantum dots. *SciVerse ScienceDirect, carbon* 63 (2013), 537-546.

- [27] H. Y. Mao, S. Laurent, W. Chen, O. Akhavan, M. Imani, A. A. Ashkarran and M. Mahmoudi, *Chem. Rev.*, 2013, 113, 3407.
- [18] Mehulkumar A. Patel, Hao Yang, Pui Lam Chiu, Daniel D. T. Mastrogiovanni, Carol R. Flach, Keerthi Savaram, Lesly Gomez, Ashley Hemnarine, Richard Mendelsohn, Eric Garfunkel, Huabei Jiang, Huixin He. Direct Production of Graphene Nanosheets for Near Infrared Photoacoustic Imaging. *Acs Nano*, 2013, Vol 7, NO. 9, 8147-8157.
- [19] Shoujun Zhu, Junhu Zhang, Chunyan Qiao, Shija Tang, Yunfeng Li, Wenjing Yuan, Bo Li, Lu Tian, Fang Liu, Rui Hu, Hainan Gao, Haotong Wei, Hoo Zhang, Hongchen Sun, Bai Yang. Strongly green-photoluminescent graphene quantum dots for bioimaging applications. *Royal society of chemistry*, 2011, 47, 6858-6860.
- [20] Reggy Brieva García. Determinación del rendimiento cuántico y tiempos de vida media de fluorescencia en sustancias colorantes con aplicaciones como fuentes laser. Universidad industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Bucaramanga, 2011.
- [21] <http://www.ugr.es/~decacien/Planes/Quimica/Plan%201997/temarios/671111d-archivos/fundamentos/SEMINARIO%203.PDF>
- [22] Z. Zhang, J. Zhang, N. Chen, L. Qu. *Energy & Environmental Science*, 2012, 5, 8869
- [23] YP Sun, B. Zhou, Y. Lin, W. Wang, KA Shirai, P. Pathak, M. J. Mezzani, B. A. Harruf, X. Wang, H. Wang, P.G. Luo, H. Yang, M. E. Kose, B. Chen, L. M. Veca, S. Y. Xie. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 7756
- [24] <http://www.icb.csic.es/index.php?id=457>
- [25] <http://www.icb.csic.es/index.php?id=456>
- [26] <http://www.icb.csic.es/index.php?id=436>
- [27] <http://www.icb.csic.es/index.php?id=417>
- [28] D. Pan, J. Zhang, Z. Li and M. Wu, *Adv. Mater.*, 2010, 22, 734–738.
- [29] L. Tang, R. Ji, X. Cao, J. Lin, H. Jiang, X. Li, K. S. Teng, C. M. Luk, S. Zeng, J. Hao and S. P. Lau, *ACS Nano* , 2012, 6, 5102–5110
- [30] S. J. Zhu, S. J. Tang, J. H. Zhang and B. Yang, *Chem. Commun.* 2012, 48, 4527–4539
- [31] S. Zhuo, M. Shao and S. T. Lee, *ACS Nano*, 2012, 6, 1059–1064
- [32] Y. Li, Y. Zhao, H. H. Cheng, Y. Hu, G. Q. Shi, L. M. Dai and L. T. Qu, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134– 15–18
- [33] S.J. Zhu, J.H. Zhang, X. Liu, B. Li, X.F. Wang, S.J. Tang, Q.N. Meng, Y.F. Li, C.S. Shi, R. Hu, B. Yang. *RSC Adv.* 2012, 2, 2217.
- [34] X. Wang, L. Cao, F. Lu, M. Maziani, S. Yang, L. Tian, K. Sun, AM Bloodgood, Y. Sun *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 5310

- [35] C. Ding, A. Zhu, Y. Tian. *Accounts of Chemical Research*. 2014, 47, 1, 20-30
- [36] S. T. Yang, X. Wang, F. Lu, P. Luo, L. Cao, M.J. Meziani, J. Liu, Y. Liu, M. Chen, Y. Huang, Y. Sun. *J. Phys. Chem. C* 2009, 113, 18110
- [37] J.L. Figueiredo, M.F.R. Pereira, M.M.A. Freitas, J.J.M. O' rfa~o. *Carbon* 37 (1999) 1379–1389
- [38] J. Coates. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*; Meyers, R. A., Ed. John Wiley & Sons Ltd.: Chichester, 2000, 10815.
- [39] A.L. Higginbotham, D.V. Kosynkin, A. Sinitskii, Z. Sun, J.M. Tour, *ACS Nano* 4 (2010) 2059.
- [40] D.V. Kosynkin, A.L. Higginbotham, A. Sinitskii, J.R. Lomeda, A. Dimiev, B.K.
- [41] A. C. Ferrari, *Solid State Commun.*, 2007, 143, 47.
- [42] D. Pan, J. Zhang, Z. Li and M. Wu, *Adv. Mater.*, 2010, 22, 734–738.
- [43] Y. Li, Y. Hu, Y. Zhao, G. Q. Shi, L. E. Deng, Y. B. Hou, L. T. Qu, *Adv. Mater.*, 2011, 23, 776–780.
- [44] M. Zhang, L. L. Bai, W. H. Shang, W. J. Xie, H. Ma, Y. Y. Fu, D. C. Fang, H. Sun, L. Z. Fan, M. Han, C. M. Liu, S. H. Yang, *J. Mater. Chem.*, 2012, 22, 7461–7467
- [45] A.J. Bard, L. R. Faulkner. *Electrochemical Methods*. John Wiley & Sons: New York, 2001.
- [46] J. Hernández-Ferrer, P. Laporta, F. Gutiérrez, M.D. Rubianes, G. Rivas, M.T. Martínez. *Electrochemistry Communications*, 39, (2014), 26.
- [47] A. Martín, J. Hernandez-Ferrer, L. Vazquez, M.T. Martínez, A. Escarpa, *RSC Advances* 4 (2014) 132.
- [48] Pablo Laporta Buil. *Síntesis y caracterización de nanocintas de grafeno a partir de nanotubos de carbón de capa múltiple*. Proyecto fin de carrera, Escuela de Ingeniería y Arquitectura, 2014.

## ANEXO I: ESTUDIO ELECTROQUÍMICO

### Experimental

Se estudió, de manera muy preliminar, las propiedades electroquímicas de los quantum dots de grafeno sintetizados químicamente, con tratamiento y sin tratamiento hidrotermal, para la oxidación de ácido ascórbico en tampón fosfato (pH = 6.85). Las técnicas empleadas fueron la voltametría cíclica (CV, de sus siglas en inglés) [45] y la voltametría diferencial de pulso [45] (DPV, de sus siglas en inglés). Los límites de potencial fueron entre -0.2 y 0.8 V frente a un electrodo de referencia de Ag/AgCl en NaCl 3M. El contraelectrodo era una barra de grafito.

Datos DPV:

- Step potential: 0.005 V
- Modulation amplitude: 0.05 V
- Modulation time: 0.2 s
- Interval time 2s

Datos CV:

- $v=100$  mV/s

La razón del uso del ácido ascórbico, a parte de su interés electroanalítico para muestras biológicas, es que su oxidación sobre materiales carbonosos depende de la capacidad que tenga de formar puentes de hidrógeno con el sustrato, si el sustrato forma puentes de hidrógeno con el ascórbico, la oxidación tendrá lugar a potenciales bajos y tendrá corrientes altas, si no los forma, esta oxidación se verá desfavorecida, y por lo tanto, aparecerá a potenciales más altos y con corrientes más bajas [47]. Como los puntos cuánticos de grafeno poseen gran cantidad de grupos oxigenados, es de prever una buena actividad catalítica de estos materiales frente a la oxidación de ácido ascórbico.

La utilización directa de estos materiales en un electrodo presenta varios inconvenientes, ya que se trata de materiales con una, a priori, baja conductividad electrónica y son muy solubles en agua, por lo que la estabilidad del depósito sobre el electrodo se puede ver seriamente comprometida. Para solucionar estos problemas se procedió a la preparación de materiales híbridos GQD-GNR soportando los puntos cuánticos de grafeno sobre nanocintas de grafeno (GNRs), cuya actividad electroquímica ya había sido estudiada con anterioridad en el grupo [46, 47, 48].

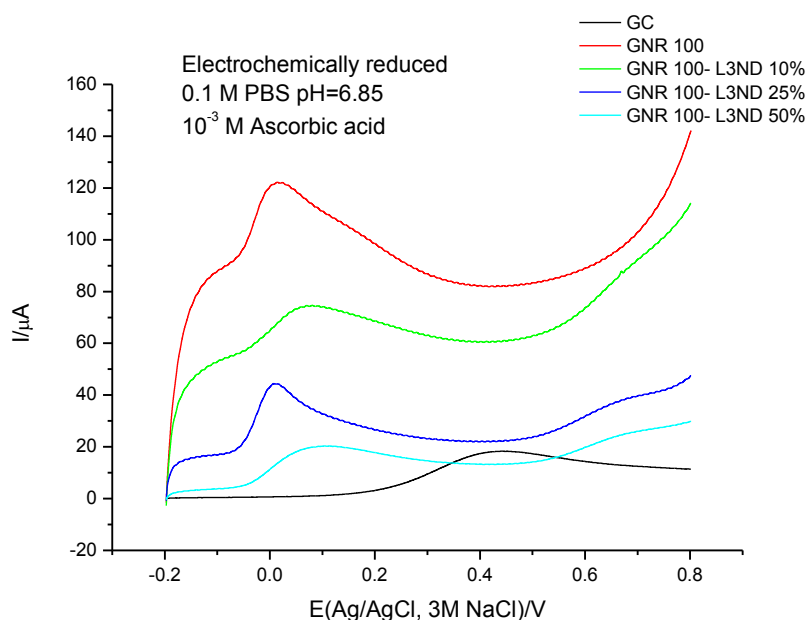


Se prepararon los materiales con un 10%, 25% y 50% de GQDs sobre GNRs, tanto de GQDs dializados como de GQDs dializados sometidos al tratamiento hidrotérmal

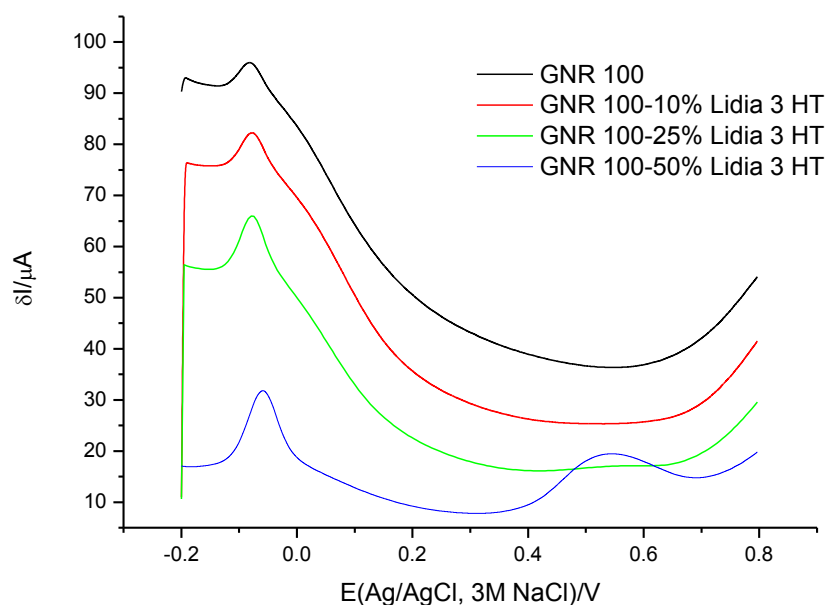
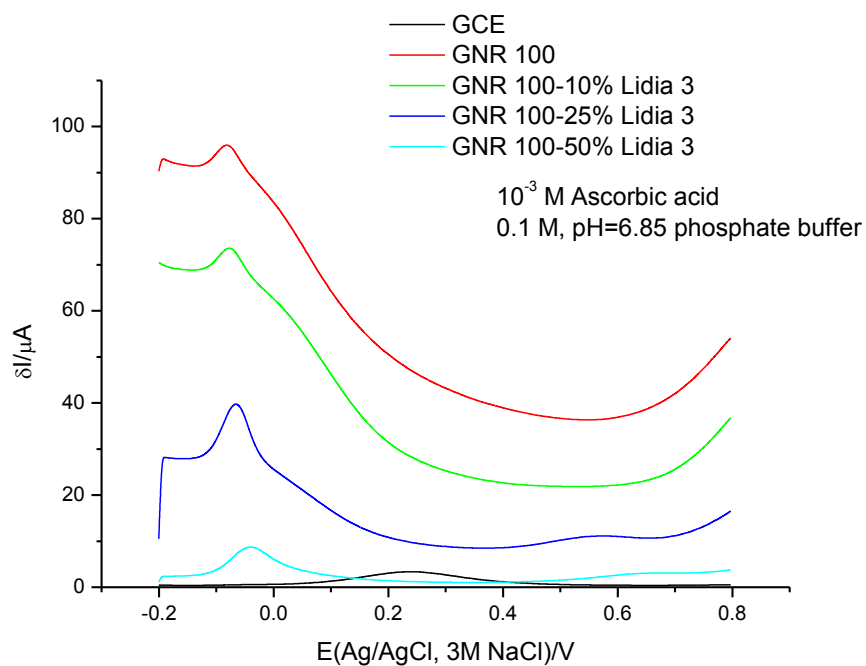
## Resultados

Como se puede observar en la **Figura 37** y **Figura 38** y en la **Tabla 9**, la corriente de oxidación de ácido ascórbico sobre los distintos materiales aumenta con la cantidad de GQDs hasta cierta cantidad en la que la corriente empieza a decaer. En los no tratados ya se observa que al 50% hay una pérdida de corriente, mientras que en los tratados hidrotérmicamente se observan unas buenas prestaciones aún en estas altas proporciones. Este aumento de corriente es debido a la gran cantidad de grupos oxigenados presentes en los híbridos. Otra observación a tener en cuenta es que la corriente capacitiva del material disminuye con la cantidad de GQDs añadidos, cosa que en principio, al tener muchos grupos oxigenados, deberían de aumentar dicha corriente capacitiva, pero, por el contrario, se comportan más como una capa aislante, pero con la suficiente capacidad de transferencia electrónica como para actuar bien en sondas electroanalíticas. Esta reducción de la señal de fondo permite una mejora en los límites de detección.

El potencial de pico aumenta con la adición de GQDs al sustrato de GNRs, lo cual indica una ligera reducción de la actividad electrocatalítica intrínseca de los materiales, lo que es consecuente con la reducción de la corriente capacitiva observada. El aumento de la corriente de pico, junto al descenso de la capacidad, sin afectar de manera muy negativa al potencial de pico, los hacen materiales con potenciales aplicaciones en (bio) electroanálisis.

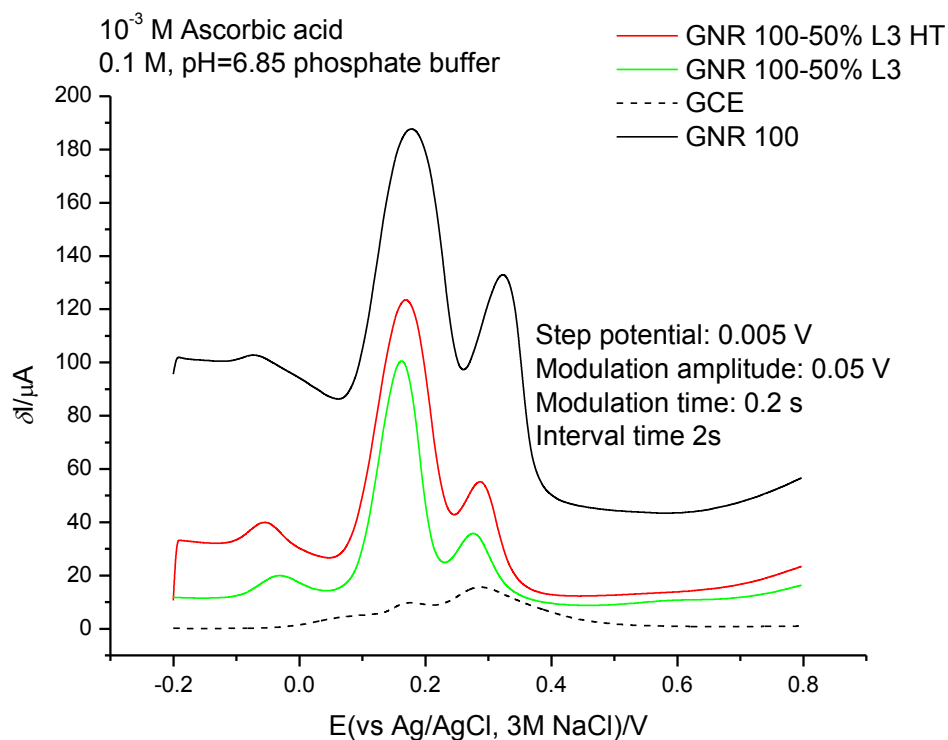


**Figura 37.** Voltametrías cíclicas obtenidas para la muestra GQD3 neutralizada y dializada (L3ND).



**Figura 38.** Voltametría diferencial de pulso para los materiales preparados sin y con tratamiento hidrotérmico, ver condiciones en el texto. Lidia 3: GQD3 neutralizada y dializada, Lidia 3 HT: GQD3 neutralizada dializada hidrotérmica.

Para comprobar esta posible aplicación se midieron conjuntamente dopamina, ácido úrico y ácido ascórbico simultáneamente (**Figura 39**), obteniéndose una buena separación de picos, por lo que estos materiales presentan unas propiedades muy prometedoras en su uso como biosensores electroquímicos que deben ser estudiados con más profundidad.



**Figura 39.** DPVs para la presencia simultánea de ácido ascórbico, ácido úrico y dopamina ( $10^{-3}$  M). L3: GQD3 neutralizada y dializada, L3 HT: GQD3 neutralizada dializada hidrotermal.

**Tabla 9.** Resultados DPV

	<b>Ep (V)</b>	<b>Jp (<math>\mu</math>A)</b>	<b>Área (V·A)</b>
<b>GNR100</b>	-0.079	5.6	2.90E-07
<b>GQD3 25%</b>	-0.064	12.8	7.34E-07
<b>GQD3 50%</b>	-0.038	6.6	7.02E-07
<b>GQD3 10%</b>	-0.074	5.4	2.60E-07
<b>GQD3 HT 10%</b>	-0.074	7.9	4.12E-07
<b>GQD3 HT 25%</b>	-0.074	11.9	6.70E-07
<b>GCE</b>	0.233	3.44	7.88E-07
<b>GQD3 HT 50%</b>	-0.059	15.6	1.15E-06

## ANEXO II: TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

- **Espectroscopia de UV-Vis y Fluorescencia**

La espectroscopia UV-Vis implica la espectroscopia de fotones en la región de radiación ultravioleta-visible. Utiliza la luz en los rangos visible y adyacentes (el ultravioleta (UV) cercano y el infrarrojo (IR) cercano). En esta región del espectro electromagnético, las moléculas se someten a transiciones electrónicas.

Esta técnica es complementaria de la espectrometría de fluorescencia, que trata con transiciones desde el estado excitado al estado basal, mientras que la espectrometría de absorción mide transiciones desde el estado basal al estado excitado.

- **Espectroscopia Infrarroja:**

La espectroscopia infrarroja está basada en la interacción de luz infrarroja con la materia y permite la identificación de los enlaces químicos presentes. Cuando la radiación infrarroja penetra en un material, puede ser absorbida por éste y estimular la vibración de los enlaces químicos presentes. Existe una correlación entre la frecuencia a la que una molécula absorbe radiación infrarroja y su estructura. Esta correlación permite identificar la estructura de moléculas desconocidas a partir de su espectro de infrarrojo, por lo que la espectroscopia infrarroja es una herramienta útil de análisis químico.

- **Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS):**

La espectroscopia electrónica de rayos X es una técnica ampliamente empleada para la caracterización de superficies gracias a su elevada sensibilidad superficial. Permite la identificación y cuantificación de los elementos presentes en la superficie de la muestra, así como la identificación del estado de oxidación de estos elementos y el tipo de entrono en el que se encuentran. El fundamento teórico de la técnica se basa en el efecto fotoeléctrico, según el cual cuando se irradia una muestra con fotones de una energía superior a la de ligadura de los electrones de los átomos, los electrones salen de la muestra con una energía cinética igual al exceso de energía del fotón respecto la citada energía de ligadura.

Esta técnica se puede aplicar al análisis de multitud de materiales y se utiliza en una gran variedad de campos de estudio, como catálisis, semiconductores, aleaciones, polímeros...

- **Difracción de rayos X:**

La difracción de rayos X es fundamentalmente una técnica de caracterización estructural de sólidos. Las longitudes de onda de los rayos X empleados son del mismo orden que las distancias interatómicas de los cristales, que actúan como redes de difracción: difractan los rayos X en direcciones y con intensidades determinadas. La señal de difracción de un sólido es reflejo de su estructura cristalina. En los experimentos de difracción, las muestras policristalinas, montadas en un dispositivo goniométrico, se analizan en función de la disposición de los cristales respecto a los haces incidente y difractado.

La identificación de fases cristalinas constituye uno de los campos de aplicación más importantes del método de polvo cristalino y se basa en el hecho de que cada sustancia en estado cristalino tiene un diagrama de rayos X que le es característico. Estos diagramas están coleccionados en fichas, libros y bases de datos del Joint Committee on Powder Diffraction Standards y agrupados en índices de compuestos orgánicos, inorgánicos y minerales.

- **Espectroscopia Raman:**

La Espectroscopia Raman es una técnica fotónica de alta resolución que proporciona en pocos segundos información química y estructural de casi cualquier compuesto orgánico o inorgánico, permitiendo así su identificación. El análisis mediante espectroscopia Raman se basa en el examen de la luz dispersada por un material al incidir sobre él un haz de luz monocromático. Una pequeña porción de la luz es dispersada inelásticamente experimentando ligeros cambios de frecuencia, característicos del material analizado e independientes de la frecuencia de la luz incidente. Se trata de una técnica de análisis no-destruktiva, que se realiza directamente sobre el material a analizar sin ningún tipo de preparación especial.

- **Microscopía electrónica de transmisión (TEM):**

El microscopio electrónico de transmisión (TEM) es un instrumento que aprovecha los fenómenos físico-atómicos que se producen cuando un haz de electrones suficientemente acelerado colisiona con una muestra delgada convenientemente preparada. Cuando los electrones colisionan con la muestra, en función de su grosor y del tipo de átomos que la forman, parte de ellos son dispersados selectivamente, es decir, hay una gradación entre los electrones que la atraviesan directamente y los que son totalmente desviados. Todos ellos son conducidos y modulados por unas lentes para formar una imagen final sobre una CCD. La información que se obtiene es una imagen con distintas intensidades de gris que se corresponden al grado de dispersión de los electrones incidentes.

La imagen del TEM tal como se ha descrito ofrece información sobre la estructura de la muestra, tanto si ésta es amorfa o cristalina.

- **Microscopía de fuerzas atómicas (AFM):**

El Microscopio de fuerzas atómicas (AFM, de sus siglas en inglés Atomic Force Microscope) es un instrumento mecano-óptico capaz de detectar fuerzas del orden de los piconewtons. Como elemento principal, el AFM está constituido por una palanca mecánica (fleje) con una punta afilada cuyo extremo se utiliza para barrer la superficie de la muestra. El fleje es típicamente de silicio o nitruro de silicio con una punta de radio de curvatura de orden nanométrico. Cuando la punta se aproxima a la superficie de la muestra, las fuerzas entre la punta y la muestra inducen una deflexión del fleje, siguiendo la ley de Hooke. Dependiendo de la situación, se detectarán fuerzas mecánicas en contacto, fuerzas de Van der Waals, fuerzas capilares, enlaces químicos, fuerzas electrostáticas, mecánicas, fuerzas de solvatación... La deflexión del fleje se mide utilizando la reflexión de un láser incidente sobre la superficie superior del fleje en un conjunto de fotodiodos. El microscopio de fuerza atómica ha sido esencial en el desarrollo de la nanotecnología, para la caracterización y visualización de muestras a dimensiones nanométricas.

- **Espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES):**

El ICP-AES es una técnica de análisis multielemental que utiliza una fuente de plasma de acoplamiento inductivo para producir la excitación de los electrones a niveles de energía superiores. Tras dicha excitación, los electrones regresan a su estado original, emitiendo rayos de luz con una longitud de onda característica para cada elemento. La intensidad de la luz emitida es proporcional al número de átomos del elemento presente.

Una de las aplicaciones más extendidas del ICP-AES es la determinación de la composición de las cenizas de un combustible, ya que proporciona información acerca de su comportamiento en el combustor, de la posible contaminación producida en las escombreras y de sus posibles aplicaciones posteriores.

