

Clara Sagarra Naval

Sensors de pH basats en punts de carboni

Treball de fi de grau

Dirigit per la Dra. Maria Cinta Pujol Baiges i el Dr. Joan Josep Carvajal Martí

Grau de Química



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Tarragona

Juny 2023

GREEN MAT-



Taula de continguts

TAULA DE CONTINGUTS	2
1. RESUM	3
2. OBJECTIUS	4
3. INTRODUCCIÓ	5
3.1. ELS PUNTS DE CARBONI	5
3.2. FOTOLUMINESCÈNCIA DELS CDS I LA SEVA DEPENDÈNCIA AMB EL PH DEL MEDI	6
3.3. MÈTODES DE SÍNTESIS DELS CDS	6
3.3.1. SÍNTESI HIDROTERMAL ASSISTIDA PER MICROONES	8
3.3.2. SÍNTESI SONOQUÍMICA	8
3.3.3. POLIMERITZACIÓ OXIDATIVA	9
3.3. TÈCNIQUES DE PURIFICACIÓ	9
3.4. TÈCNIQUES DE CARACTERITZACIÓ	9
3.4.1. MICROSCÒPIA ELECTRÒNICA DE TRANSMISSIÓ	9
3.4.2. ESPECTROSCÒPIA DE FLUORESCÈNCIA	10
4. PROCEDIMENT EXPERIMENTAL	11
4.1. REACTIUS	11
4.2. PROCEDIMENTS DE SÍNTESI	12
4.2.1. PREPARACIÓ DE CDS PER SÍNTESI HIDROTERMAL ASSISTIDA PER MICROONES	12
4.2.2. PREPARACIÓ DE CDS PER SÍNTESI SONOQUÍMICA	15
4.2.3. PREPARACIÓ DE CDS PER POLIMERITZACIÓ OXIDATIVA	16
4.3. INSTRUMENTACIÓ I CARACTERITZACIÓ	16
5. RESULTATS I DISCUSSIÓ	17
5.1. DISCUSSIÓ DELS PRODUCTES OBTINGUTS EN EL PROCÉS DE SÍNTESIS	17
5.1.1. OBSERVACIONS DELS CDS SINTETITZATS PER SÍNTESI HIDROTERMAL ASSISTIDA PER MICROONES	17
5.1.2. OBSERVACIONS DELS CDS SINTETITZATS PER SÍNTESI SONOQUÍMICA	19
5.1.3. OBSERVACIONS DELS CDS SINTETITZATS PER POLIMERITZACIÓ OXIDATIVA	20
5.2. VISUALITZACIÓ DE LES MOSTRES	20
5.3. ESTUDI DE LA FLUORESCÈNCIA DE LES MOSTRES	26
5.4. ESTUDI DE LA DEPENDÈNCIA DE LA FLUORESCÈNCIA AMB EL PH DEL MEDI	33
6. CONCLUSIONS	38
7. BIBLIOGRAFIA	40

1. Resum

Els punts de carboni (CDs) han atret interès a la comunitat científica per les seves atribuïdes propietats fluorescentes, similars a les dels seus anàlegs metàl·lics. Concretament, els CDs dopats amb heteroàtoms són de gran interès per les seves propietats fluorescentes millorades. En el present treball, es sintetitzen CDs dopats amb nitrogen a partir de la xilosa, la m-fenilendiamina i altres precursors, amb tres mètodes de síntesi diferents. S'ha fet una petita introducció en els mètodes de filtració i purificació de les mostres de CDs, així com l'estudi de la fluorescència. Finalment, es presenta un estudi de la dependència que té la fluorescència amb el pH de la mostra més prometedora, per tal d'estudiar la seva possible aplicació com a sensors de pH.

Abstract

Carbon dots (CDs) have attracted interest in the scientific community due to their attributed fluorescent properties, similar to those of their metallic analogues. Specifically, nitrogen-doped CDs are of great interest for their improved fluorescence properties. In the present study, nitrogen-doped CDs are synthesized from xylose, m-phenylenediamine, and other precursors using three different synthesis methods. A brief study is conducted on the filtration and purification methods of CD samples, as well as the study of fluorescence. Finally, a study on the pH dependence of the most promising sample's fluorescence is presented to investigate its potential application as pH sensor.

2. Objectius

De manera concisa, els objectius són:

- Síntesi de punts quàntics de carboni a partir de xilosa dopats amb nitrogen, utilitzant com a precursor nitrogenat la N-fenilendiamina.
- Caracterització dels punts quàntics obtinguts.
- Estudi de la dependència de la seva fotoluminescència en relació al pH del medi.

Per la síntesi de CDs s'utilitzen els articles de referència de Yang *et al.*¹, Zhou *et al.*² i Chen *et al.*³. S'ha seguit especialment el de Yang *et al.*, que també ha estat l'article de referència per l'estudi de la fluorescència¹.

3. Introducció

3.1. Els punts de carboni

Els punts de carboni (CDs, *carbon dots*) són partícules de grandària de l'ordre de nanòmetres (1-10 nm) en les tres dimensions, que poden obtenir-se a partir de diferents fonts de carboni, i que poden tenir estructura gràfica, amorfa o polimèrica, com mostra la figura 1:

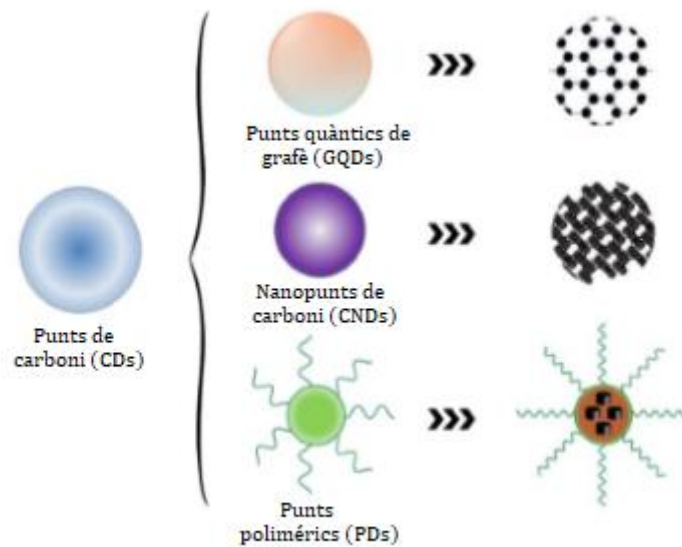


Figura 1. Tipus de punts de carboni. Traduïda de Rivera-Alvarez *et al.*⁴, basada en Zhu *et al.*⁵

Una característica fonamental dels CDs és que presenten fotoluminescència (PL, *photoluminescence*). A més, es poden dopar per introduir heteroàtoms en la seva estructura interna (nucli) o per funcionalitzar la superfície, millorant les seves propietats (que es comentaran en detall en l'apartat 3.2) i ampliant el seu camp d'aplicabilitat.

Des del seu descobriment al 2004 per Xu *et al.*⁶ han atret interès pel seu potencial ús en el camp de la bioimatge i els sensors bioquímics i fisicoquímics, com a substituïts dels punts quàntics semiconductors utilitzats en l'actualitat⁷. Els avantatges que presenten els CDs front aquests és una menor citotoxicitat, que es tradueix en una major biocompatibilitat. A més, la producció és més econòmica i es poden obtenir a partir de residus de biomassa.

Aprofitant la seva fotoluminescència, s'han estudiat com a sensors de ions metàl·lics, bacteris, ADN, temperatura o pH⁸. Com s'ha avançat en l'apartat anterior, un dels objectius del treball és el desenvolupament de CDs a partir de matèries primeres renovables que es poden obtenir a partir de residus de biomassa, com la xilosa, i que actui com a sensors d'aquest últim paràmetre, el pH. En el present treball doparem els nostres CDs amb nitrogen i fòsfor, utilitzant com a precursors per aquest dopatge l'àcid fosfòric i la m-fenilendiamina, replicant el treball de Yang *et al.*¹ per entendre el procediment i anar més enllà.

3.2. Fotoluminescència dels CDs i la seva dependència amb el pH del medi

Tot i que el mecanisme de la PL dels CDs encara es trobi en debat, en la literatura es descriuen principalment tres possibles mecanismes, segons si la fotoluminescència és produïda per: a) dominis π -conjugats del nucli del CD (l'estructura interna), b) els grups funcionals superficials o c) fluoròfors moleculars lliures en la solució o units als CDs.⁹ Normalment les seves emissions i absorcions, es situen en el rang del UV i visible; degut a l'origen electrònic de les transicions energètiques. Un altre característica típica de la fotoluminescència dels CDs, és la dependència de la longitud d'ona d'emissió en funció de la longitud d'ona d'excitació; fet atribuït al possible múltiple origen (mecanisme a, b i c) de les seves emissions; per altra banda, al contrari dels quantum dots metàl·lics no és habitual d'observar una dependència clara en la longitud d'ona d'emissió en funció de la seva mida.¹⁰

Degut al fet que la seva fotoluminescència pot dependre en múltiples mecanismes; s'ha observat a la literatura, que en funció del mètode de síntesis, i dels diferents precursors utilitzats, els productes obtinguts presenten comportament molt diferents i nombrosos.¹¹

Pel que fa a la seva dependència amb el pH, els mecanismes típics per entendre-la adjudiquen la fluorescència als grups funcionals superficials, i expliquen aquesta dependència per la protonació i desprotonació dels grups àcids o bàsics, que podrien fer canviar els nivells energètics d'aquests grups funcionals superficials dels CDs¹². Per exemple, la desprotonació dels grups carboxílics en medi bàsic podria promoure la formació d'enllaços π deslocalitzats i augmentar els electrons no enllaçants. Això es traduiria en un increment de la fotoluminescència a majors pH¹³. També és possible la protonació dels grups amino en medi àcid, reduint la densitat electrònica en el CD i que resultaria en un decreixement de la fluorescència a pHs menors¹⁴. No obstant, també s'han assenyalat que els H^+ i els OH^- del medi podrien passivar o no la superfície¹⁵, o que l'agregació de partícules pugui jugar un paper¹⁶, entre un innumerable ventall de propostes. Com es veu, els mecanismes que es donen són molts, parcials, i depenen dels CDs de partida, i per tant dels mètodes i precursors emprats, com ja hem dit, i de l'estructura i morfologia obtinguts.

Concretament pels CDs dopats amb nitrogen s'ha reportat que a part d'augmentar la intensitat de la fluorescència, permeten desplaçar el màxim d'absorció i d'emissió a longituds d'ona majors (*red-shift*)¹⁷. En l'estudi de la fluorescència dels nostres CDs dopats amb nitrogen i fòsfor, s'intentarà provar aquesta propietat comparant-los amb CDs sense dopar.

3.3. Mètodes de síntesis dels CDs

Els mètodes de síntesi dels CDs es poden dividir en dos enfoc. Les rutes *top-down* utilitzen convencionalment materials sintètics com el grafit que fan de font de carboni, i per processos de fraccionament (a la figura 2, "cutting") s'obtenen els CDs. Per altra banda, l'enfoc *bottom-up* parteix de precursors sintètics moleculars, com per exemple carbohidrats, àcids orgànics o aminoàcids, o bé polímers.

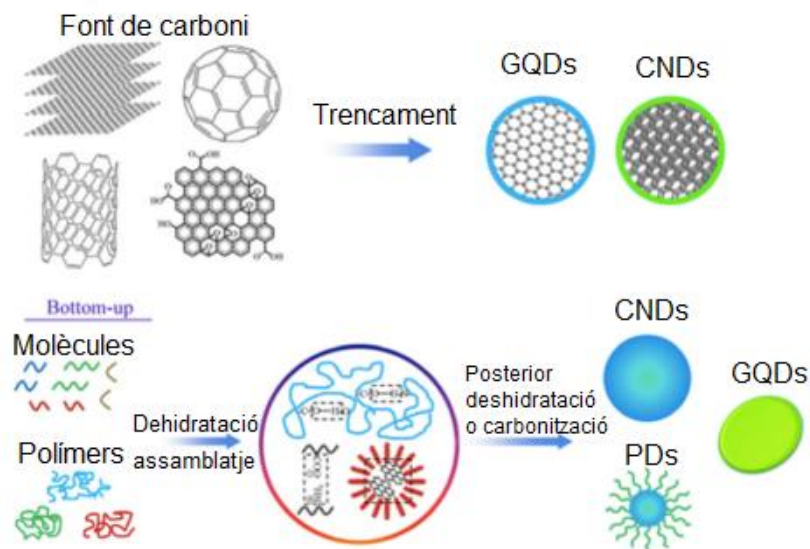


Figura 2. Esquema dels dos enfocaments de síntesi de CDs (*top-down* i *bottom-up*), amb el tipus de precursors de partida. Traduïda de Namdari, Pooria et al.¹⁸

Els CDs sintetitzats per mètodes amb un enfocament *bottom-up* es produeixen per reaccions complexes i poc controlables.¹⁹ Concretament, es sospita que es puguin produir reaccions d'hidròlisi, deshidratació, piròlisi, polimerització i aromatització.²⁰ No obstant, el mecanisme de formació dels CDs és complex ja que depèn de la natura dels precursors i probablement d'una innumerable quantitat d'intermediaris sintètics.²¹

En els darrers anys s'ha estat donant una nova tendència en la investigació de la síntesi dels CDs, que és la d'obtenir-los a partir de biomassa o residus orgànics. L'avantatge d'aquesta filosofia és que els CDs es poden sintetitzar a partir de materials abundants, respectuosos amb el medi ambient i amb baix cost econòmic. La conversió directa a CDs a través d'un enfocament *top-down* seria el que es representa en la figura 3 com la ruta "a", i a diferència del *top-down* convencional no trencaria materials d'alt valor afegit com el grafè (ruta "b").

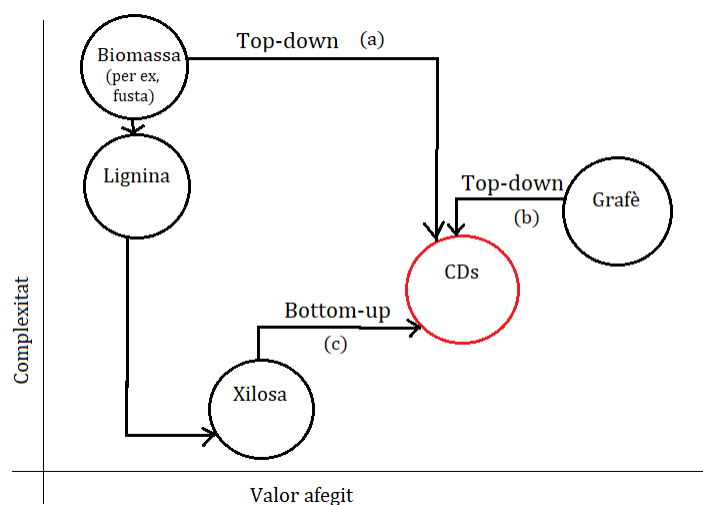


Figura 3. Esquema dels diferents enfocaments de síntesi de CDs. Els *top-down* s'han diferenciat en les rutes (a) i (b).

En la ruta “c” de la figura 3 també es posa com exemple com podria ser una ruta sintètica que primer passés per un procés d'extracció de la lignina de la fusta, i una subseqüent formació de xilosa, per sintetitzar finalment els CDs. L'avantatge d'utilitzar la xilosa com a precursor, i no la fusta, és que podria reduir el possible nombre de productes formats, al no partir d'una mostra tan heterogènia com la biomassa. El nostre treball s'emmarca en aquesta possible perspectiva futura, però centrant-nos en l'últim pas: la formació de CDs a partir de xilosa, i dopant-los amb nitrogen i fòsfor.

Hi ha una àmplia diversitat de mètodes de síntesi per preparar els CDs. Una de les tècniques més esteses és la síntesi hidrotermal assistida per microones (*microwave assisted hydrothermal*), que es descriu en detall en la secció 3.3.1. Aquesta tècnica és la que s'utilitzarà principalment al llarg del treball.

Altres tècniques menys esteses són la síntesi per sonoquímica (mitjançant ultrasons) i la síntesi per polimerització oxidativa. En aquest treball s'ha realitzat una breu incursió en elles, i també es resumeixen en els apartats 3.3.2 i 3.3.3 respectivament.

3.3.1. Síntesi hidrotermal assistida per microones

Es tracta d'una síntesi que es duu a terme en un sistema tancat, a temperatures i pressions superiors a les ambientals. És un tipus específic de síntesi solvotermal, que treballa utilitzant com a solvent o medi de reacció l'aigua. La temperatura s'ajusta per ser superior al punt d'ebullició d'aquesta, de manera que a l'interior del reactor s'indueix un canvi de fase que augmenta la pressió. Aquests dos factors (temperatura i pressió) són uns dels paràmetres clau de la reacció.²²

L'increment de temperatura també disminueix la viscositat de l'aigua i augmenta el coeficient de difusivitat, que afavoreix la mobilitat de les molècules i la seva migració dins de la solució. Al seu torn, la pressió elevada disminueix la constant dielèctrica de l'aigua, i millora les seves propietats per actuar com a dissolvent.²³

La síntesi hidrotermal assistida per microones és aquella que es realitza utilitzant com a font d'energia les microones, que fan vibrar els enllaços de molècules polars dins del reactor, com és el solvent (l'aigua), escalfant així la mostra i elevat la temperatura dins del reactor. L'escalfament és més localitzat que quan s'utilitzen fonts d'escalfament convencionals per convecció, perquè no es perd tanta calor per fenòmens de difusió tèrmica. Suposa un estalvi energètic, a més de permetre reduir substancialment els temps de síntesi.²⁴

3.3.2. Síntesi sonoquímica

La sonoquímica és la branca de la química que utilitza els ultrasons per dur a terme processos de síntesi, ja que aquestes ones tenen la capacitat de trencar enllaços, escalfar les mostres i d'aquesta manera afavorir reaccions. Per la síntesi de CDs es solen aplicar freqüències de més

de 20 kHz, i s'han reportat fins hi tot CDs sintetitzats en el bany d'ultrasons, com els de de Zhou *et al.* que s'intentaran obtenir en aquest treball.

El fenomen físic més important que es manifesta en la solució al aplicar ultrasons és la cavitació acústica, que és la formació de petites bombolles en el medi líquid, transitòries, amb condicions extremes de temperatura i pressió en la seva superfície.²⁵

Els paràmetres de sonicació que condicionen les propietats fisicoquímiques dels CDs són el temps d'ultrasonificació i l'amplitud de la vibració, que són inversament proporcionals a la mida mitjana de la partícula. La potència de l'aparell també podria condicionar el rendiment de la síntesi.²⁶

3.3.3. Polimerització oxidativa

La polimerització oxidativa és una tècnica de síntesi que permet sintetitzar CDs utilitzant un agent oxidant, sense aportació energètica externa. Entre ells, el persulfat d'amoni destaca per ser econòmic i per no ser tòxic pel medi ambient. S'ha reportat per Chen *et al.*³ que és capaç de formar CDs a partir de la o-fenilendiamina.

3.3. Tècniques de purificació

La síntesi de CDs, especialment els sintetitzats per rutes *bottom-up*, estan associats a la generació de subproductes moleculars o oligomèrics que són fluorescents i que és necessari purificar. La inadequada purificació de la mostra pot portar a conclusions errònies sobre la possible fluorescència dels CDs. Fins hi tot purificant la mostra, només és possible reduir la dispersió de mida de les espècies en la mostra, segons Essner *et al.*²⁷

Un procés comú de purificació és la filtració de la mostra seguida per una diàlisi. La filtració, que sol tindre una mida de porus d'un ordre inferior al μm , només és capaç de remoure els aglomerats i les macropartícules. Per altra banda, la diàlisi, que funciona per osmosi utilitzant membranes de cel·lulosa, es pressuposa capaç de purificar productes moleculars, com precursors no reaccionats. No obstant, tota la resta queden presents a la mostra, intervenint també en les propietats òptiques.

3.4. Tècniques de caracterització

3.4.1. Microscòpia electrònica de transmissió

La microscòpia electrònica de transmissió (TEM, *transmission electronic microscopy*) permet estudiar la morfologia de les partícules presents en una mostra, a altes resolucions. L'equip compta amb una font emissora d'electrons accelerats amb els que s'irradia la mostra, i quan

la travessen tracen una imatge de la superfície. El contrast amb el fons de la imatge dona una idea del gruix de la partícula.²⁸

Un mode d'anàlisi que incorpora el TEM és la difracció d'electrons, que permet dirigir tot el feix d'electrons a un punt concret per observar el patró d'interferència resultant i determinar si les partícules estudiades (que han de ser d'un gruix menor de 100 nm) podrien ser cristal·lines.²⁹

Les mostres es preparen en reixetes de carboni sobre un suport metàl·lic. Per una major resolució, es poden utilitzar de tipus *Holley carbon*, que són foradades per millorar el contrast amb la mostra, sobre tot quan es treballa amb carboni.

3.4.2. Espectroscòpia de fluorescència

És una tècnica analítica que s'utilitza per mesurar la fluorescència emesa per una mostra després de ser excitada per radiació electromagnètica, d'una longitud d'ona determinada. Es basa en la capacitat que tenen certs compostos (com les mostres de CDs) d'absorbir llum a una longitud d'ona específica, ja que proporciona energia necessària per excitar els electrons a nivells d'energia superiors³⁰. A continuació, els electrons retornen al seu estat fonamental emetent fotons de llum a longituds d'ona més llargues, que en els CDs s'ha reportat que solen ser del rang blau o verd³¹.

En l'estudi dels CDs, es pot obtenir informació valuosa sobre les transicions electròniques que tenen lloc a la mostra, i per tant l'altura energètica dels possibles orbitals moleculars involucrats.

4. Procediment experimental

4.1. Reactius

Per replicar l'estudi de Yang *et al.*¹, es va utilitzar xilosa comercial al 99% de puresa procedent de Sigma Aldrich (Estats Units) i àcid orto-fosfòric al 85% de puresa procedent de Scharlau (Espanya), disponibles al laboratori d'Investigació GreenMat, del Departament de Química Física i Inorgànica de la URV. La m-fenilendiamina al 99% de puresa es va comprar a Sigma Aldrich (Estats Units). Aquest reactiu s'oxida a l'aire, i per la seva conservació va ser necessari aplicar un procediment *in-house* de inertització del recipient amb nitrogen gasós cada vegada que s'obria.


Per replicar l'estudi de Zhou *et al.*², es va utilitzar àcid cítric procedent de VWR International (Estats Units) i per replicar l'estudi de Chen *et al.*³ es va utilitzar persulfat d'amoni al 98% de puresa procedent de Sigma Aldrich (Estats Units). En els dos també es va utilitzar la mateixa m-fenilendiamina i xilosa mencionada en aquest apartat.






Per ajustar el pH dels patrons de la mostra estudiada per fluorescència a diferents pHs, es van utilitzar solucions preparades al laboratori de 0,1 M d'àcid nítric, amb una puresa del 68-70% i de l'empresa Scharlau (Espanya), i nitrat de sodi, amb una puresa del 28% i procedent de VWR International (Estats Units).

Tots els reactius es van utilitzar sense cap purificació addicional. Es va utilitzar aigua destil·lada durant totes les síntesis i aigua Milli-Q per les diàlisis.

A continuació, en la taula 1, s'adjunta un llistat dels reactius amb les seves característiques de toxicitat i manipulació:

TAULA 1. CARACTERÍSTIQUES DELS REACTIUS

	Propietats físiques (*)	Propietats químiques	Pictogrames	Indicacions de manipulació
<i>Xilosa, 99%</i>	Sòlid blanc en forma de petits cristalls. •Punt de fusió: 142 °C •Punt d'ebullició: sense dades.	Estable sota condicions ambientals normals. Substància hidrocòpia.	-	-
<i>m-fenilendiamina, 99%</i>	Sòlid blanc en forma de pellets. •Punt de fusió: 63-64 °C •Punt d'ebullició: 284 °C	Base feble. Oxidant en aire ambiental.	•Perillós per la salut •Perillós pel medi ambient •Toxicitat aguda 	Ús de guants.

Àcid orto-fosfòric, 85%	Líquid transparent, inodor i no-volàtil. •Punt de fusió: 42 °C •Punt d'ebullició: 158 °C	Àcid feble amb resistència a l'oxidació i a la reducció.	•Corrosiu •Químic nociu 	Ús de guants i ulleres de seguretat.
Àcid nítric, 68-70%	Líquid transparent i volàtil.	Àcid oxidant fort.	•Corrosiu •Inflamable 	Ús de guants i ulleres de seguretat. Manipulació en campana d'extracció.
Nitrat de sodi, 28%	Sòlid blanc en forma de petits cristalls.	Base. Agent oxidant fort.	•Inflamable •Químic nociu 	Ús de guants.
Àcid cítric, 100%	Sòlid blanc en forma de petits cristalls.	Àcid feble i anhídrid.	•Químic nociu 	Ús de guants i ulleres de seguretat.
Persulfat d'amoni, 98%	Sòlid blanc en forma de petits cristalls.	Agent oxidant fort. Substància higroscòpica.	•Inflamable •Perillós pel medi ambient •Químic nociu 	Ús de guants.

* En les propietats físiques, només es recullen els punts de fusió i d'ebullició dels precursors que participaran en la síntesi hidrotermal, per ser l'única síntesi que es durà a terme a alta temperatura.

4.2. Procediments de síntesi

4.2.1. Preparació de CDs per síntesi hidrotermal assistida per microones

En l'article de referència de Yang et. al.¹ la síntesi es duu a terme a 180°C, 200°C i 220°C durant 10 minuts i els autors aconseguixen sintetitzar CDs a les tres temperatures. Els reactius utilitzats són la xilosa, la m-fenilendiamina i l'àcid fosfòric, amb els mateixos percentatges de puresa que s'indiquen a la taula 1, obtinguts de Aladdin Co., Ltd (Shanghai, China). La xilosa és la principal font de carboni. La m-fenilendiamina és la font de N per tal de dopar els CDs. L'àcid fosfòric proporciona el medi àcid en que té lloc la reacció. Les quantitats de precursors utilitzats són 0,1g de xilosa, 0,2g de m-fenilendiamina i 200µL d'àcid fosfòric en

20 ml d'aigua. El forn de microones que utilitzen és un *Discover* de l'empresa *CEM Corporation* i el reactor es pressuposa que és de 80 ml, ja que aquesta informació no la faciliten en l'article.

Yang *et al.*¹ sintetitzen els CDs utilitzant diferents àcids i bases en combinació amb la xilosa i la m-fenilendiamina (mPDA). El producte que dona una major emissió és el preparat utilitzant l'àcid fosfòric en la síntesi, i per tant aquest serà l'àcid utilitzat en la síntesi en el present treball.

En el laboratori contàvem amb un forn de microones *Flexiwave* de l'empresa *Milestone*, amb un reactor de 100 ml i un volum mínim de càrrega de 20 ml per a que la sonda fes bon contacte amb la mostra.

En la taula 2 es resumeixen les condicions experimentals de síntesi realitzades amb el mètode hidrotermal assistit amb microones. Es pot considerar que el volum de la mostra és pràcticament el volum de l'aigua ≈ 20 ml.

TAULA 2. TAULA DE LOTS I LES SEVES CONDICIONS DE SÍNTESIS

nº	Nom de la mostra (*)	Mètode síntesi (**)	Paràmetres de síntesi		Reactius				
			Temps	Temperatura (°C)	Xilosa (g)	mPDA (g)	Àcid fosfòric (ml)	Àcid cítric (g)	Persulfat d'amoni (g)
1	MW1_R1_XNAf	MW	20 min	160	0,5105	1,0038	1		
	MW1_R2_XAf				0,5106		1		
	MW1_R3_XN				0,5213	1,0824			
2	MW2_R1_XNAf	MW	20 min	200	0,5008	0,9971	1		
	MW2_R2_X				0,5132				
3	MW3_R1_X	MW	10 min	200	0,2042	0,4016	1		
4	US4_NAc	US	120 min	ambient		0,2042		0,0390	
	US4_XN				0,0259	0,2272			
5	PO5_Nper	PO	24 h	ambient		0,0537			0,1177
	PO5_xNper				0,0330	0,0270			0,1171

*Els noms de les mostres indiquen el mètode de síntesi utilitzat, el número de reactor si n'hi ha més d'un, i els reactius utilitzats. En el cas del lot 4 i 5 el reactor utilitzat no s'indica perquè les reaccions es van dur a terme en gots de precipitats.

** Pels mètodes de síntesi, s'utilitza tant en la taula com en el nom de la mostra la següent nomenclatura: MW (*microwave assisted hydrothermal method*), US (*ultrasonificació*) i PO (*polimerització oxidativa*).

*** Pels reactius, s'utilitza en el nom de la mostra la següent nomenclatura: X (xilosa), N (mPDA), Af (àcid fosfòric), Ac (àcid cítric) i per (persulfat d'amoni).

Com s'observa a la taula 2, es van dur a terme tres lots (*MW1*, *MW2* i *MW3*) utilitzant la síntesi hidrotermal assistida per microones: pel *MW1*, s'utilitzen les condicions de síntesi del mètode habitual al laboratori d'investigació GreenMat, per la formació de CDs a partir de 0,5 g de xilosa. S'introdueixen tres reactors al forn, tots a la vegada, per estudiar l'efecte dels precursors per separat. En el lot 2, es va augmentar la temperatura a una de les temperatures de síntesi (200°C) de Yang *et al.*¹. En el lot 3 es repliquen les condicions de síntesi (temperatura, temps i relació entre els precursors) de l'article de Yang *et al.*¹, a excepció del volum de solució respecte al volum del reactor.

Per la diàlisi de les mostres seleccionades es va utilitzar un procés d'ultrasonificació, filtració i diàlisi. La ultrasonificació es va dur a terme durant 30 minuts en el bany d'ultrasons, per trencar els possibles aglomerats de partícules en la mostra. La filtració es va realitzar amb una xeringa i un filtre Chromafil Xtra CA-45125 de 0,45µm, per extreure les partícules més grans. La diàlisi es va realitzar amb membranes de cel·lulosa de 1kDa de tall, per extreure les molècules no reaccionades i els subproductes moleculars formats. En la figura 4 es mostra el muntatge de la diàlisi.

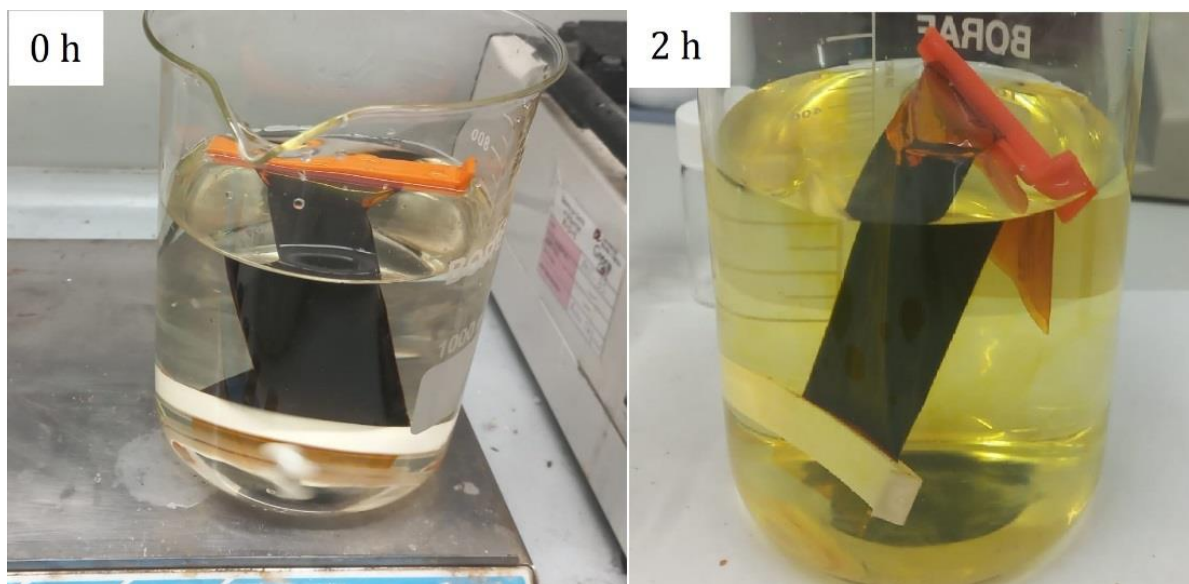


Figura 4. Muntatge de la diàlisi. Consisteix en una membrana de cel·lulosa tancada amb dos pinces, en la qual s'introdueix la mostra i es submergeix en aigua dins d'un vas de precipitats. Ha d'haver-hi agitació. Es mostra també el color de l'aigua just després de canviar-la i en el transcurs de 2 hores.

Pel temps de la diàlisi i la freqüència de les rentades, ens vam basar en l'article de Essner *et al.*²⁷, que després de fer un estudi exhaustiu sobre les condicions més adients per la diàlisi, va recomanar deixar la diàlisi durant al menys 24 hores, amb canvis freqüents en l'aigua de diàlisi.

A continuació, en la taula 3, es recull el temps de diàlisi total emprat per cada mostra, la quantitat de canvis d'aigua realitzats i el lapse horari en el que havia estat la mostra dialitzant en el primer canvi d'aigua i en el últim.

TAULA 3. CONDICIONS DE TEMPS I CANVIS D'AIGUA

Mostra	Temps (h)	Canvis d'aigua	Primer canvi d'aigua (*)	Últim canvi d'aigua (*)
MW1_R1_XNAf	32	12	2 h	4 h
MW2_R1_XNAf	21	9	2 h	2 h
MW3_R1_XNAf	20	5		

(*) Només es recullen aquestes dades sobre els canvis d'aigua de les mostres MW1_R1_XNAf i MW2_R1_XNAf, perquè són les aigües amb les que després es va estudiar la fluorescència.

Per fer els patrons de la mostra MW2_R1_XNAf per l'estudi de la fluorescència a diferents pHs, es van preparar patrons de pH 2, 4, 6, 8 i 10, afegint gotes de les solucions 0,1 M d'àcid nítric pels pH àcids i 0,1 M de nitrat sòdic per els bàsics, mentre es monitorejava el canvi de pH amb el pHmetre. Pel pH 4 es va utilitzar la mostra original, que tenia aquest pH.

4.2.2. Preparació de CDs per síntesi sonoquímica

La síntesi sonoquímica (les mostres preparades per aquest mètode s'etiqueten amb US4) es va realitzar basant-nos en els estudis de Zhou *et al.*², que sintetitzaven CDs, també nitrogenats, però utilitzant la o-fenilendiamina. L'altra font de carboni era l'àcid cítric, un precursor amb tres grups carboxílics molt utilitzat en mètodes bottom-up.³² La síntesi es duu a terme a temperatura ambient en un bany d'ultrasons d'una freqüència de 42 kHz durant 1 hora, sota atmosfera d'argó perquè la o-fenilendiamina, al igual que el seu isòmer m, s'oxida a l'aire. Al acabar, van fer una filtració de la o-fenilendiamina no reaccionada amb un bany de gel i van realitzar una cromatografia per exclusió de mida.

En el nostre cas, es va dur la síntesi amb la m-fenilendiamina en comptes del seu isòmer orto, junt amb l'àcid cítric. El bany d'ultrasons era de 40 kHz, amb un generador d'ones d'una potència de 150 W. Es va realitzar la síntesi a temperatura ambient durant 2 hores en comptes de 1 hora, per compensar la menor freqüència, i no es va utilitzar atmosfera d'argó. Tampoc es va purificar el producte final, com sí es va fer en l'estudi de Zhou *et al.*²

Es van seguir les mateixes quantitats de precursors de Zhou *et al.*², és a dir, 0,04 g d'àcid cítric i 0,28 g de o-fenilendiamina, que en el nostre cas va ser substituïda per la m-fenilendiamina. Els dos reactius es van dissoldre en un got de precipitats en 20 ml d'aigua. Aquesta mostra, que replica la de l'article, és la marcada com a US4_NAc en la taula 2. També es va introduir al bany d'ultrasons un segon got de precipitats amb xilosa i m-fenilendiamina, per veure si la polimerització i la formació de CDs també seria possible. Aquesta mostra està anomenada en la taula 2 com a mostra US4_XN.

4.2.3. Preparació de CDs per polimerització oxidativa

La síntesi per polimerització oxidativa (lot 5) es va realitzar basant-nos en els estudis de Chen *et al.*³, en els que es sintetitzaven CDs dopats amb nitrogen utilitzant el persulfat d'amoni com a agent oxidant i la o-fenilendiamina com a font de carboni i a la vegada font de nitrogen. No s'especifica l'origen dels reactius ni les pureses dels reactius.

Per dur a terme la síntesi, s'ha de preparar una solució de o-fenilendiamina dissolent 54,07 mg en 5 ml d'aigua. En paral·lel, s'ha de preparar una segona solució 0,1M de persulfat d'amoni dissolts també en 5 ml d'aigua. Al final, la solució de persulfat d'amoni s'aboca sobre la primera. En l'estudi es menciona que es produeix un canvi de color immediat. La síntesi es realitza a temperatura ambient, en un got de precipitats, i es deixa procedir durant 24 hores. No s'utilitza cap equip específic ni aportació energètica addicional.

La purificació es va basar en recollir el precipitat que s'havia format al fons del got de precipitats i re-dispersar-lo en aigua.

Al laboratori, es va intentar dur a terme la síntesi amb m-fenilendiamina en comptes de amb la o-fenilendiamina. Les condicions de síntesi van ser les mateixes que les que s'han descrit. Aquesta mostra està catalogada en la taula 2 com a PO5_Nper. En un segon got de precipitats, també es va provar dur a terme la mateixa síntesi utilitzant una combinació de m-fenilendiamina i xilosa, per poder comparar els resultats per TEM i fluorescència. Aquesta mostra s'anomena PO5_XNper en la taula 2 i les quantitats afegides de cada precursor es van calcular amb el propòsit d'afegir la meitat de la quantitat de carboni procedent de la m-fenilendiamina i l'altra meitat de la xilosa.

La purificació d'aquesta mostra es va basar en fer-la passar per un embut de vidre per un paper de filtre de cel·lulosa. Es va recollir el líquid que passava a través del filtre, amb la idea de que si hi hagués CDs d'una mida nanomètrica, aquests serien d'una mida inferior al diàmetre del porus i el travessarien.

4.3. Instrumentació i caracterització

La caracterització per TEM es va realitzar amb un microscopi electrònic JEOL 11 d'alta resolució de l'empresa JEOL USA, amb una resolució de 0,2 nm i un voltatge d'acceleració de 100kV, situat al Servei de Recursos Científics i Tècnics de la Universitat Rovira i Virgili. Es va utilitzar el programa ImageJ per realitzar els histogrames de distribució de la mida de partícula.

L'estudi de la fluorescència es va realitzar amb un equip Fluorolog amb una làmpada de xenó de l'empresa Horiba Jovin Ybon, a l'Institut Català d'Investigació Química (ICIQ). Es va utilitzar el programa Origin 2018 per representar els espectres.

5. Resultats i discussió

5.1. Discussió dels productes obtinguts en el procés de síntesi

En aquest apartat es descriuen les observacions visuals i caracteritzacions físiques dels productes obtinguts que s'han realitzat durant i després del procés de síntesi i purificació.

5.1.1. Observacions dels CDs sintetitzats per síntesi hidrotermal assistida per microones

Les quatre dissolucions preparades en el lot 1 pel mètode hidrotermal assistit per microones (amb els precursors i les proporcions especificats a la taula de síntesi, taula 2) eren transparents i incolores inicialment. En la figura 5 es poden veure les tres mostres obtingudes amb el seu etiquetatge.

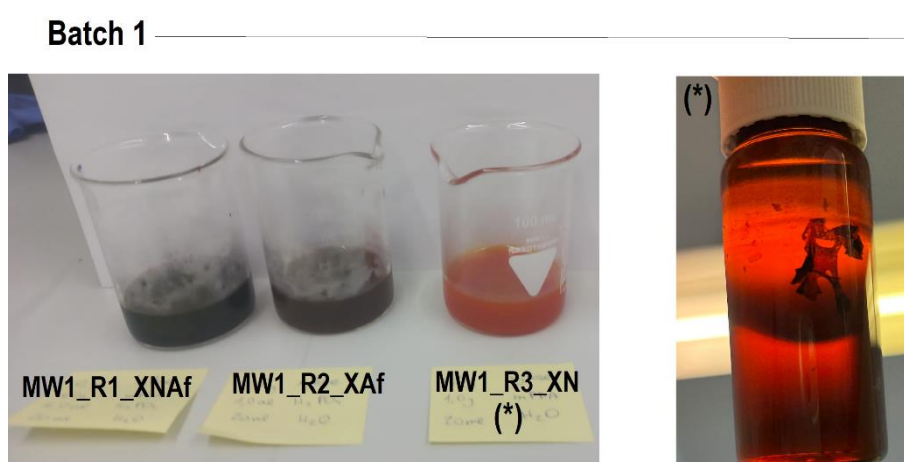


Figura 5. Mostres obtingudes durant la síntesi MW1. L'asterisc (*) es correspon a la mostra MW1_R3_XN, en la que es va observar dies després un sòlid flotant dins la mostra.

Els colors de les mostres i les observacions després de la síntesi es recullen a la taula 4. La mostra MW1_R1_XNAf, que és la que replica els estudis de Yang *et al.*, presenta una tonalitat marró fosca semblant a la que es descriu en l'article.

Les mostres amb xilosa, m-fenilendiamina i àcid fosfòric en aigua dels lots 2 i 3 (MW2_R1_XNAf i MW3_R1_XNAf) no presenten diferències significatives en quant al color respecte a la mostra amb els mateixos percussors del lot 1.

La formació d'una espècie solida i viscosa en la mostra MW1_R3_XN i enganxada al fons del reactor R3 podria ser causada per la polimerització de m-fenilendiamina a poli(m-fenilendiamina).³³ Aquesta reacció és comú en medi àcid, tot i què també s'ha reportat sota condicions alcalines. La solució inicial de la mostra MW1_R3_XN era bàsica, i la final es va mesurar que tenia un pH al voltant de 8. La polimerització en medi bàsic podria explicar-se a les condicions d'altres temperatures, i sobretot de pressió, que es generen dins dels reactors amb el mètode hidrotermal assistit per microones.³⁴

TAULA 4. OBSERVACIONS VISUALS DELS PRODUCTES OBTINGUTS EN LES DIFERENTS SÍNTESIS

Mostra	Color	Observacions
MW1_R1_XNAf MW2_R1_XNAf MW3_R1_XNAf	Negre fosc	- Reactor tacat. En el MW1 es va poder netejar amb aigua, però - pH final ~ 4
MW1_R2_XAf	Marró fosc	- Sòlid fosc format al fons del reactor. - pH final ~ 2
MW1_R3_XNAf	Taronja	- Reactor tacat. Va ser necessari deixar-lo en remull en acetona al llarg de la nit. - Sòlid viscos enganxat al fons del reactor. - pH final ~ 9
MW2_R1_X	Marró, color caramel	- Olor a caramel cremat.
US4_NAc	Rosa	- Amb el transcurs dels dies, les dues mostres es van tornar vermelloses.
US4_XN	Grisenca amb un lleuger to rosa	(*) -Els vasos de precipitats estaven moderadament calents al treure'ls del bany d'ultrasons. - Vapor a les parets i a sota del <i>parafilm</i> amb el que s'havien tancat.
PO5_Nper	Negra	- Polímer brillant flotant en el vas de precipitats al cap de 24 hores. - No es va observar un precipitat al fons com es descriu en l'article de Chen <i>et al.</i> ³
PO5_XNper	Negra	- Polímer opac i trencadís flotant en el vas de precipitats al cap de 24 hores.

*Les dues observacions es justifiquen per la vibració constant a la que es van sotmetre les mostres, que van generar que les molècules adquirissin més energia i evaporant part de l'aigua.

Les mostres tenen color perquè tindrien absorció en el rang del UV-vis. En el cas de les mostres negres, significa que absorbeix eficientment totes les longituds d'ona de llum visible incident en el rang visible. Un comentari similar es pot fer per la mostra MW1_R2_XAf, marró. En el cas de la mostra taronja (MW1_R3_XN), significaria que reflexa selectivament el rang de longitud d'ones associat a aquest color de l'espectre, i absorbeix la resta de longituds d'ona.

Les mostres que es van sotmetre a un tractament de purificació van ser les tres mostres sintetitzades amb tots tres precursors sintètics però en diferents condicions de síntesi, és a dir, la MW1_R1_XNAf, la MW2_R1_XNAf i la MW3_R1_XNAf.

5.1.2. Observacions dels CDs sintetitzats per síntesi sonoquímica

En l'article de Zhou *et al.*² descriuen la mostra obtinguda a partir de o-fenilendiamina i àcid cítric com una solució taronja. A continuació en la figura 6 es mostra el color que va resultar de la síntesi amb el seu isòmer, la m-fenilendiamina.

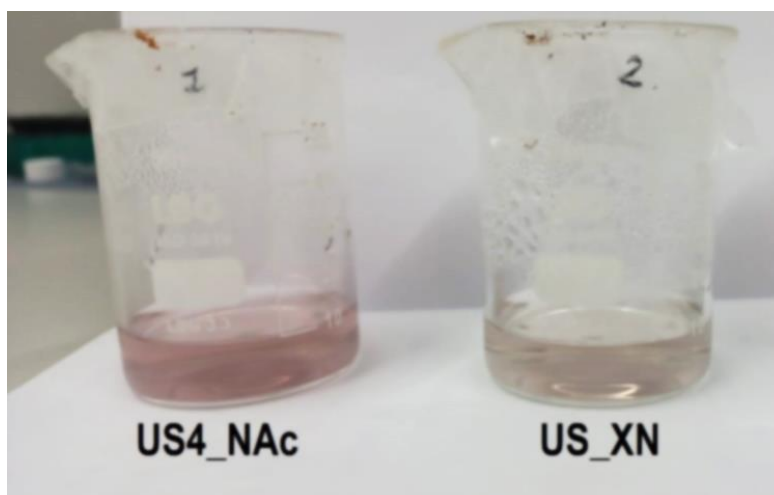


Figura 6. Mostres obtingudes durant la síntesi US4.

Després de 2 hores de síntesi, la mostra US4_NAc va adquirir un color rosa mentre que la mostra US_XN va adquirir un color grisenc amb una lleugera tonalitat rosa. La coloració indica possibles absorcions de llum en el visible, i el color rosat indicaria una possible absorció al rang verd del visible.

La diferent coloració entre els productes obtinguts en la síntesi sonoquímica i la síntesi hidrotermal assistida per microones, pot estar atribuïda a l'obtenció de productes de diferent naturalesa química. De fet, en l'article de referència de Zhou *et al.*² s'indicaria que aquests són carbon dots polimèrics (PDs), a diferència dels CDs de carboni amorfs esperats en la síntesi hidrotermal assistida per microones.

La mostra US4_NAc seria fruit de la polimerització per condensació entre l'àcid cítric, amb tres grups carboxílics, i la m-fenilendiamina, amb dos grups nitro, que formen enllaços amida entre si. Es formaria una poliamida. Pel que fa a la US_XN, no hi ha cap mecanisme directe que expliqui la polimerització entre la xilosa i la m-fenilendiamina.

La diferència en el color final respecte a la de Zhou *et al.*² (que és descrita com taronja) podria deure's al diferent isòmer de fenilendiamina utilitzati que això donés lloc a un diferent producte.

Amb el pas dels dies van adquirir una coloració vermellosa, com la que es descriu per la oxidació de la m-fenilendiamina a l'aire. És a dir, no són estables a l'aire, i el canvi de coloració indicaria un canvi en la naturalesa dels PDs i també en les seves propietats fisicoquímiques.

5.1.3. Observacions dels CDs sintetitzats per polimerització oxidativa

En l'article de Chen *et al.*² es reporta que es produeix un canvi de color immediat en la solució a l'afegir la solució de persulfat d'amoni 0,1 M sobre la solució de o-fenilendiamina, que es torna negra, i després canvia a taronja. En la figura 7 es mostra l'evolució de la coloració de la mostra (PO5_Nper) al llarg del temps al realitzar aquesta síntesi amb l'isòmer m de la fenilendiamina.

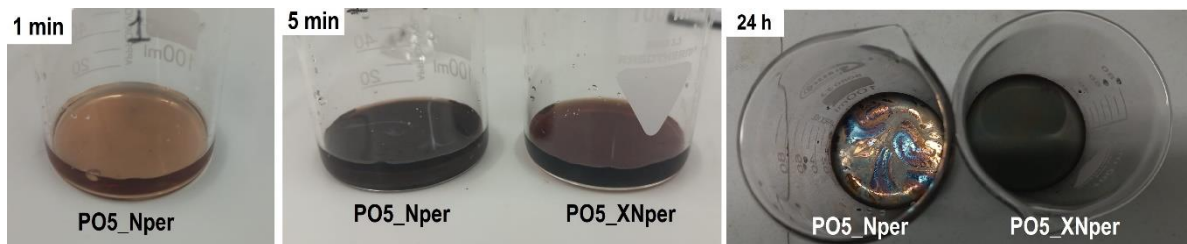


Figura 7. Seguiment de les mostres sintetitzades per polimerització oxidativa. S'observa la coloració de les mostres al cap de 1 min, de 5 min i les mostres obtingudes al cap de 24 hores.

Les solucions inicials de m-fenilendiamina i de persulfat d'amoni eren transparents i incolores. Al ajuntar-les, la mescla resultant de seguida es va enfosquir en els dos casos, incloent la mostra en la que la font de carboni era una combinació de m-fenilendiamina i xilosa (PO5_XNper). Les dues mostres, PO5_Nper i PO5_XNper, van patir un procés de coloració similar. Es van anar enfosquint progressivament per acció de l'oxidació. En cap moment es va observar que després de passar pel negre es canviés a un color taronja com es menciona a l'estudi de Chen *et al.*³. Aquesta diferència podria ser deguda a l'isòmer utilitzat. Al cap de 24 hores, es va observar que s'havien format dos polímers diferents flotant a la superfície de cada mostra. L'aspecte també es pot observar en la figura 7. En la mostra PO5_Nper tenia una lluïssor brillant, mentre que el sintetitzat al PO5_XNper era opac i trencadís al moure el got de precipitats.

5.2. Visualització de les mostres

Les imatges obtingudes per TEM presenten mostres molt heterogènies, on es pot observar la coexistència de diverses espècies (com es pot apreciar en la figura 8, per exemple), i també són molt diverses al comparar-les entre elles, quan s'utilitzen mètodes de síntesi diferents.

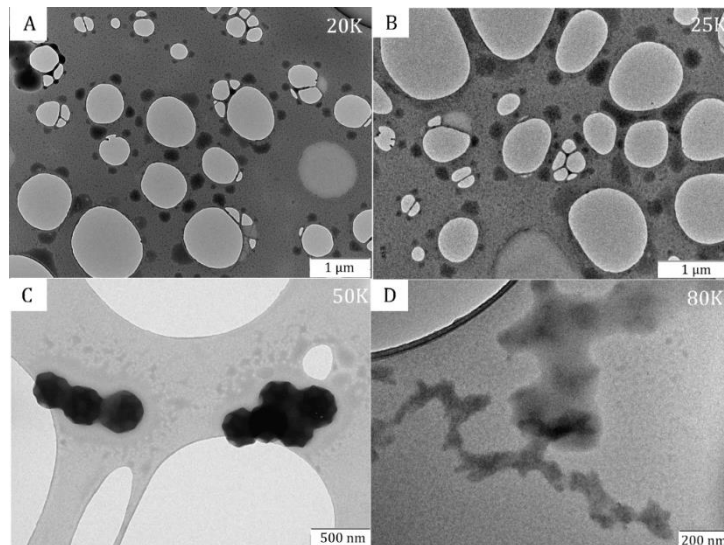


Figura 8. Visualització per TEM de la mostra MW1_R1_XNAc no purificada. A la cantonada superior dreta s'indiquen el nombre d'augments de l'equip, i a la inferior dreta l'escala de la imatge.

Com mostren les imatges A i B de la figura 8, a la mostra MW1_R1_XNAc es van observar unes partícules de mida molt variable i arrodonides, rodejant els forats de les reixetes, que són les zones de color clar. El diàmetre mitjà d'aquesta partícula és de 124 nm, amb una desviació mitjana elevada, de 70 nm. La dispersió de partícula es representa en la figura 9a.

També es van observar unes partícules quasi-esfèriques d'una mida mitjana de 323 nm de diàmetre, però amb una mida força uniforme ja que la desviació mitjana és de 31 nm. La dispersió de partícula es representa en la figura 9b. Aquestes partícules quasi-esfèriques tenen una morfologia interessant, semblant a un dodecaedre regular (imatge C). No serien cristal·lines, ja que no difractaven els electrons. Tot i això, per confirmar totalment la seva naturalesa no cristal·lina s'haurien de fer més estudis, com per exemple visualitzar-les per HRTEM. No es van tornar a observar en cap altra mostra.

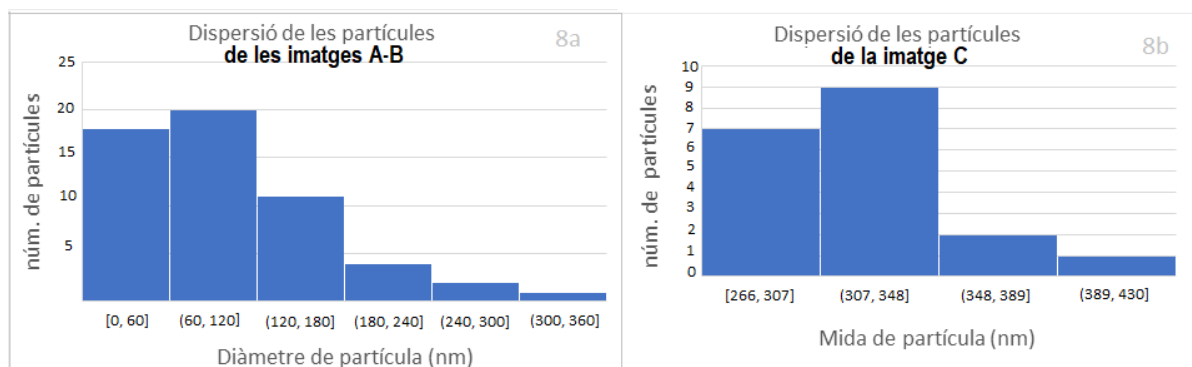


Figura 9. Dispersió de les partícules de la imatge A i B (histograma 8a) i dispersió de les partícules de la imatge C (histograma 8b). S'adjunten més imatges d'aquestes partícules a l'annex 2.

En la imatge D de la figura 8 podem veure que en la mostra MW1_R1_XNAc també s'observa una espècie de polímer, encara que no es pot assegurar la seva natura només per la morfologia. Si examinem la mostra MW1_R2_XAc i la mostra MW2_R3_XN, tal com es mostra a la figura 10, observem que la m-fenilendiamina amb la xilosa (o sola) sembla que té major tendència a polimeritzar que la xilosa en medi àcid.

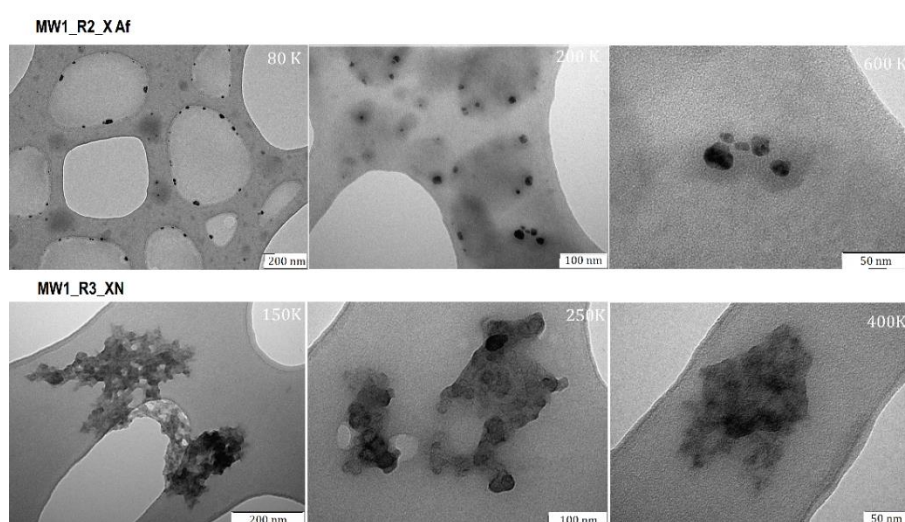


Figura 10. Comparació morfològica de les espècies formades amb xilosa i àcid fosfòric (mostra MW1_R2_XAf) i les formades amb xilosa i m-fenilendiamina (mostra MW1_R2_XN). No purificades.

Al dur a terme la síntesi amb xilosa, m-fenilendiamina i àcid fosfòric en 20 ml d'aigua a major temperatura (200°C, 20 min) es van obtenir unes partícules en la mostra MW2_R1_XNAf més semblants a les de l'article de referència de Yang *et al.*¹. Es mostren en la figura 11 i es comparen a continuació:

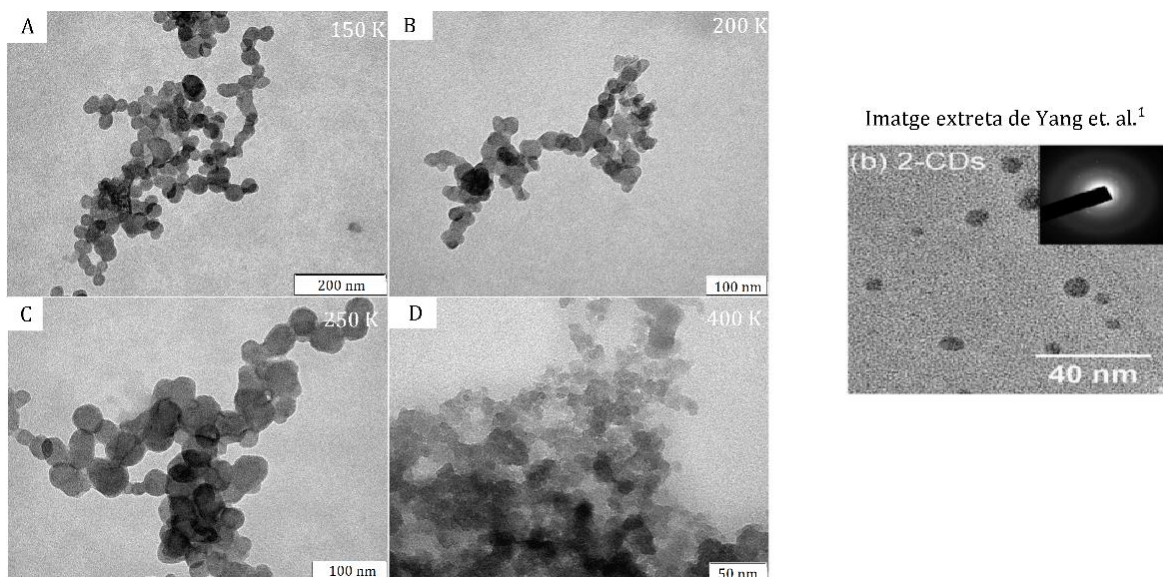


Figura 11. Comparació morfològica per TEM de la mostra MW2_R1_XNAf no purificada i la mostra realitzada en les mateixes condicions de temperatura i precursors del article de Yang *et al.*¹, purificada.

Les partícules de les imatges A-C i les de la imatge de referència de Yang *et al.*¹ presenten forma circular, i pel seu contrast sembla que tinguin poc gruix, per tant podrien tenir una forma de disc.

El diàmetre mitjà de les partícules obtingudes en les imatges A-C és de 33 nm, amb una desviació mitjana de 10 nm. La dispersió de partícula es representa en la figura 12a. Pel contrari, el diàmetre mitjà de les partícules de Yang *et al.*¹ és menor, de 7 nm. La dispersió de la mida de partícula reportada per Yang *et al.*¹ es mostra en la figura 12b.

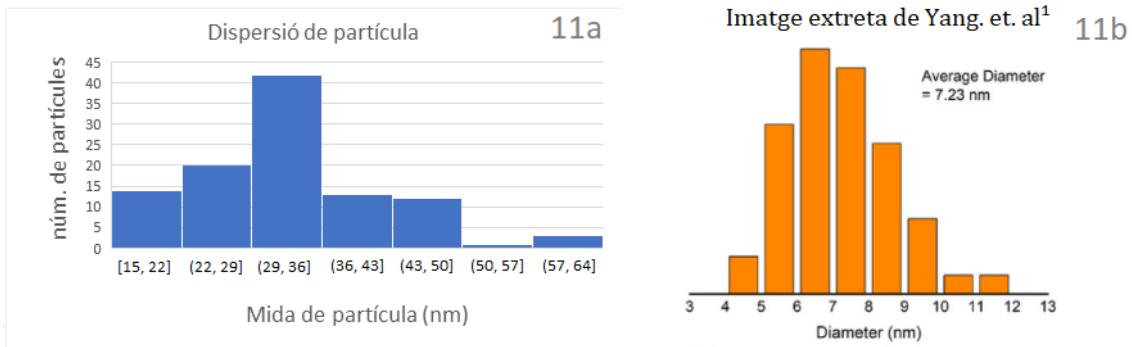


Figura 12. Dispersió de les partícules de les imatges A-C de la mostra MW2_R1_XNAf (histograma 12a) i dispersió de les partícules de l'article Yang et. al¹ sintetitzades en les mateixes condicions de temperatura (histograma 12b). S'ha de tindre en compte que l'histograma 12a s'ha hagut de fer amb intervals de diàmetre de partícula, en comptes de amb mesures discretes com en l'histograma 12b.

Les dues síntesis es van dur a una temperatura de 200°C, però una de les diferències fonamentals en els paràmetres de síntesi és que la mostra MW2_R1_XNAf es va mantenir a aquesta temperatura durant 20 min, en comptes dels 10 min de Yang *et al.*¹. Un major creixement de la partícula pot estar relacionat amb que el diàmetre dels CDs augmenta a major temps de síntesi. S'haurien de fer més estudis, sistemàtics, per confirmar o rebutjar aquesta hipòtesi. Un comentari similar es podria fer al respecte de la temperatura si comparem la mostra MW2_R1_X, sintetitzada només amb xilosa a 200°C i 20 min, amb la mostra Xyl-CDs PH 7 sintetitzada per la doctoranda del grup Anna Casadó³⁵, i que s'ha inclòs per comparar en la figura 13, només sintetitzades amb xilosa a 160°C i 20 min. Podem observar també un augment en el diàmetre de partícula, que en aquest cas no es pot associar a un major temps de síntesi, sinó a una major temperatura de síntesi.

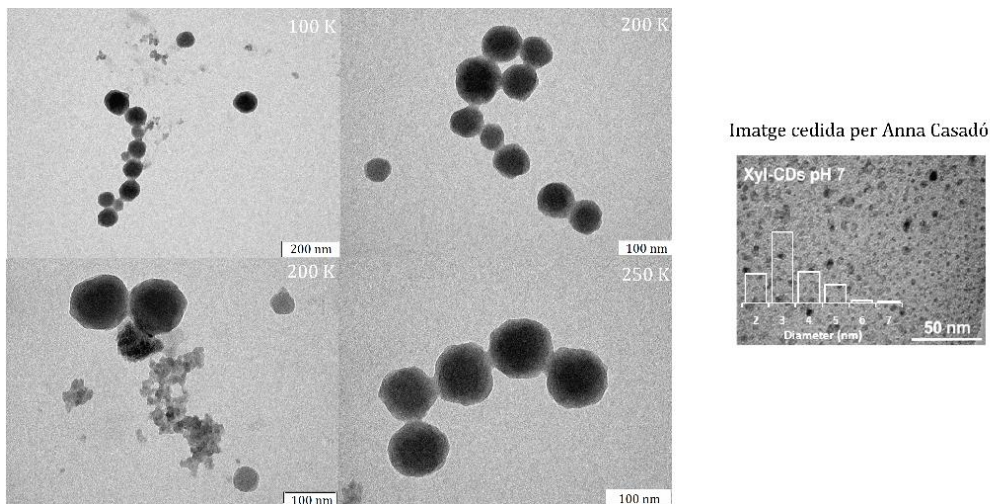


Figura 13. Comparació morfològica per TEM de la mostra MW2_R1_X no purificada i la imatge de la mostra Xyl CDs pH 7 no purificada cedida per Anna Casadó³⁵, que es mostra a la dreta.

La partícula és arrodonida i de morfologia força regular per les dues mostres. No obstant, el diàmetre mitjà de partícula de la mostra MW2_R1_X és de 74 nm amb una desviació mitjana de 26 nm. La dispersió es mostra en la figura 13. Pel contrari, el diàmetre mitjà de les partícules de la mostra Xyl CDs pH 7 oscil·la entre els 2 i els 6 nm.

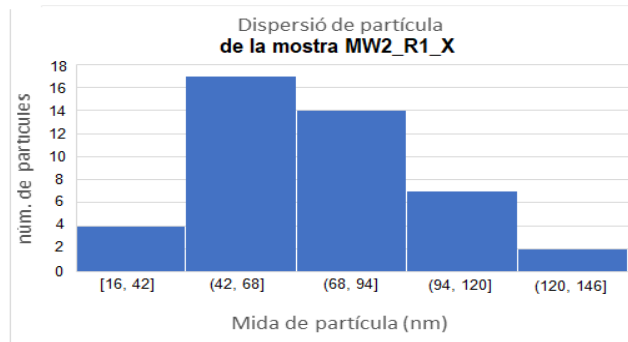


Figura 14. Dispersió de les partícules de la mostra MW2_R1_X no purificada i la mostra Xyl CDs pH 7 no purificada cedida per Anna Casadó³⁵. L'histograma corresponent a aquesta mostra està insertat en la figura 12.

Pel que fa a la última mostra sintetitzada amb el mètode hidrotermal amb xilosa, àcid fosfòric i m-fenilendiamina (MW3_R1_XNAf) a 200°C durant 10 min, podem observar que es tracta una mostra amb una morfologia força irregular, i de nou, molt heterogènia, com s'observa en la figura 14. Tot i que, aquesta mostra que replicava les condicions de Yang *et al.*¹ exceptuant la relació entre el volum de mostra i del reactor, el producte obtingut és diferent. Per tant, o bé la pressió en el procés de reacció podria ser un factor crític (aquesta pressió ve determinada per la reacció entre el volum de la mostra i el volum del reactor) i pot estudiar per la bibliografia, o bé aquesta diferència entre els nostres productes i els productes de Yang *et al.*¹ podria deure's a problemes de no reproductibilitat associats al mètode hidrotermal assistit per microones.

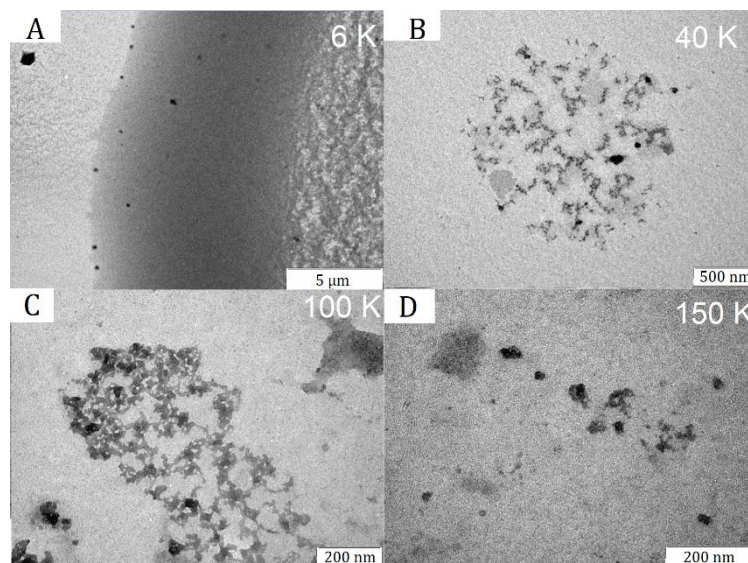


Figura 15. Visualització per TEM de la mostra MW3_R1_XNAf.

Els discs de la mostra MW2_R1_XNAf no s'han tornat a observar, i pel contrari s'observen unes partícules de mida molt variable. Les de la figura 15a tindrien un diàmetre mitjà de 207 nm amb una desviació mitjana de 69 nm. Pel contrari, les de la figura 15d tindrien un diàmetre mitjà de 35 nm i una desviació mitjana de 11 nm. Pel que fa a la imatge 15b i 15c, les partícules són irregulars.

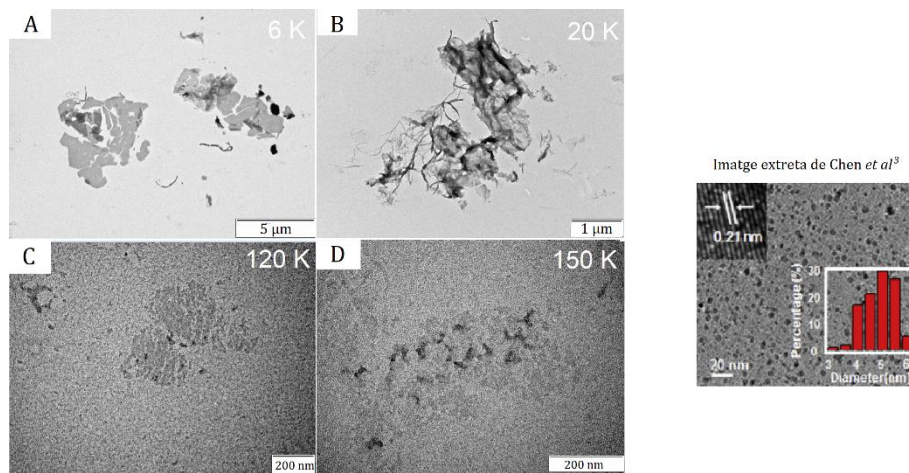


Figura 18. Visualització per TEM de la mostra PO5_Nper. Es pot comparar amb la mostrada per Chen et al.³ a la dreta.

La imatge 18a recorda molt al polímer que s'havia format a la superfície del got de precipitats de la PO5_Nper, i podria ser un petit fragment micromètric d'aquest. La imatge 18b també sembla una espècie de polímer, encara que sembla més fibrós que el primer. En les imatges 18c i 18d es mostren taques que podrien ser partícules, però amb mida molt irregular i de les que no es pot mesurar satisfactòriament el diàmetre mitjà.

5.3. Estudi de la fluorescència de les mostres

S'ha aconseguit observar el comportament típic en l'emissió fluorescent que es descriu pels CDs dopats amb nitrogen, en comparació amb els CDs sense dopar, com es mostra en la figura 20.

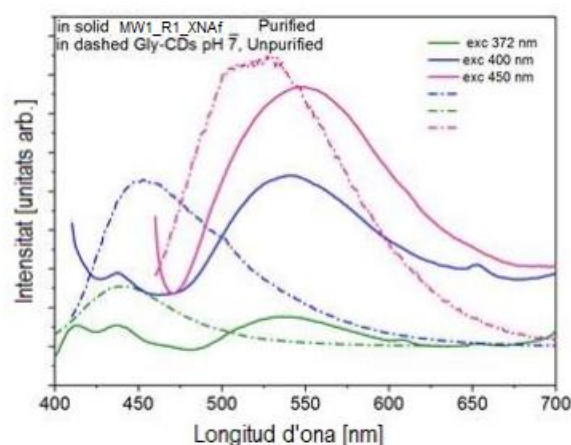


Figura 20. Comparació de la fluorescència de CDs dopats amb nitrogen (MW1_R1_XNAf) i sense dopar amb nitrogen (Gly-CDs pH 7). Els espectres amb línia discontinua han estat cedits per Anna Casadó³⁵. S'han modificat perquè estiguin a la mateixa escala que els de línia continua. No es poden comparar intensitats, ja que es van mesurar amb equips diferents i paràmetres diferents. Les intensitats dels espectres representats en línies contínues sí que es poden comparar entre ells, ja que s'ha utilitzat el mateix equip i els mateixos paràmetres.

En la mostra Gly-CDs pH7, que no està dopada amb nitrogen, la longitud màxima d'emissió experimenta un desplaçament cap a la dreta de l'espectre (*red-shift*) quan s'excita la mostra amb longituds d'ona més properes al vermell, com es pot observar comparant les línies discontinues. Pel contrari, la mostra MWB1_R1_XNAf mostra un màxim d'emissió independent de la longitud d'ona d'excitació, com el reportat en la literatura pels CDs dopats.³⁶ El màxim d'emissió es troba al voltant de 540 nm (emissió al verd del rang visible) independentment de que s'exciti a 372, 400 o 450 nm.

El desplaçament de l'emissió màxima a una longitud d'ona més llarga (menys energètica) s'atribuiria a la introducció del nitrogen en els CDs i a la formació d'un estat electrònic addicional, intermedi entre els nivells energètics dels orbitals carbònics. Al ser irradiat amb la llum de l'espectrofotòmetre de fluorescència, els electrons dels orbitals carbònics π són excitats des del últim orbital ocupat (HOMO) fins al orbital carbònic π^* desocupat de menys baixa energia (LUMO). No obstant, al decaure, l'electró perd energia de manera no radiativa i es produeix una relaxació fins a l'orbital del nitrogen.

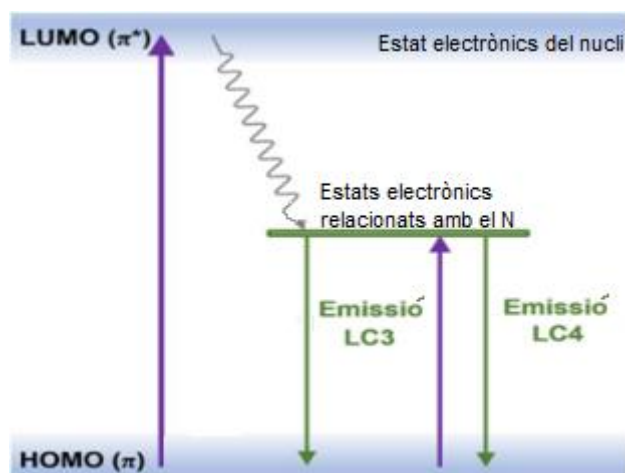


Figura 21. Imatge adaptada i traduïda de Yang et al.¹, on només es mostra la transició electrònica associada al nivell energètic molecular addicional general per el nitrogen, i no es representen la resta de transicions associades a altres elements.

Quan es produeix qualsevol de les transicions marcades com LC3 o LC4, l'emissió té lloc amb una longitud d'ona fixa, que és la corresponent a l'energia que hi ha entre l'orbital del nitrogen i l'orbital π carbònic de partida. Aquest és l'origen del comportament independent de la longitud d'ona dels CDs dopats amb nitrogen. En el cas de la mostra MW1_R1_XNAf, MW2_R1_XNAf i MW3_R1_XNAf, aquest màxim es troba a aproximadament 540 nm.

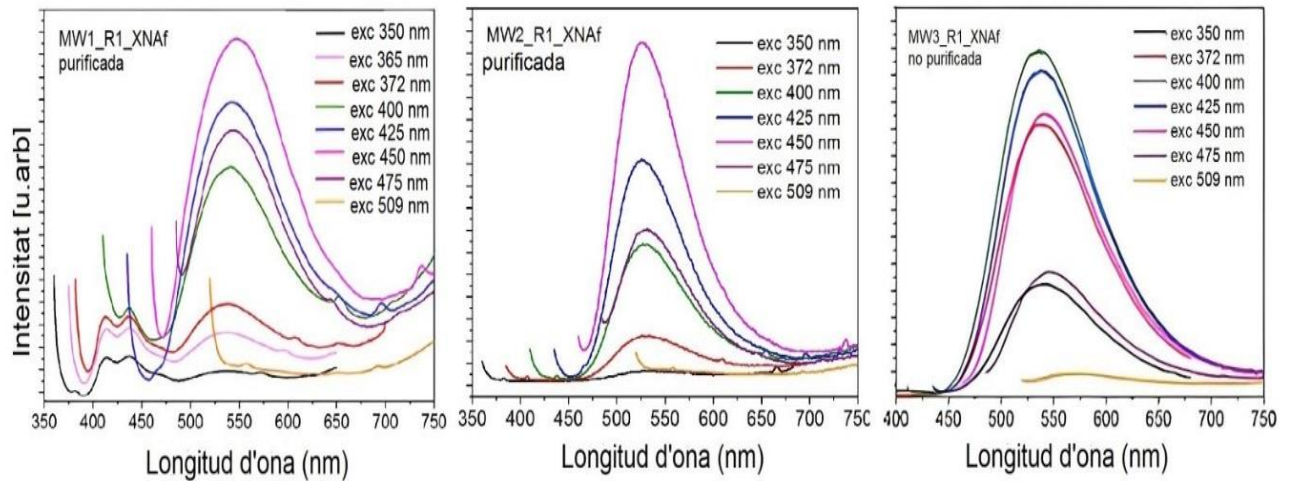


Figura 22. Espectres de fluorescència de la mostra MW1_R1_XNAf, MW2_R1_XNAf i MW3_R1_XNAf, a diferents longituds d'ona d'excitació. Es ressalta que les dues primeres mostres estan purificades, mentre que MW3_R1_XNAf no està purificada.

La longitud d'emissió màxima es troba centrada al voltant de 540 nm en les tres mostres, independentment de la longitud d'ona de la excitació. La diferència més notable entre les mostres MW1_R1_XNAf i MW2_R1_XNAf (purificades) i la mostra MW3_R1_XNAf (sense purificar) és que les dos primeres mostren un màxim d'emissió quan s'excita a 450 nm, mentre que la MW3_R1_XNAf presenten l'emissió màxima quan s'excita a 400 nm.

Els estudis de les aigües de rentat de la diàlisi, així com la comparació entre els espectres de la mostra MW2_R1_XNAf abans de dialitzar i després de dialitzar estan presentades a la figura 23.

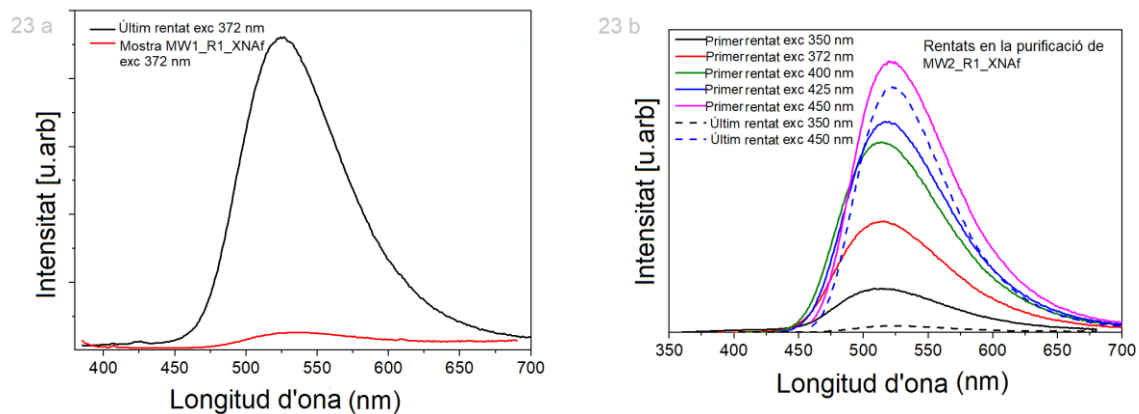


Figura 23. A la dreta, comparació de la mostra MW1_R1_XNAf purificada, i l'última aigua de rentat després de 32 hores de diàlisi (amb 4 hores de diferència respecte a l'últim canvi). A l'esquerra, comparació de la primera aigua de rentat de la mostra MW2_R1_XNAf (després de 2 hores de ficar la diàlisi) i l'última aigua de rentat (després de 2 hores respecte a l'últim canvi d'aigua).

En la figura 23a, es demostra que l'aigua de rentat és més fluorescent que la pròpia mostra excitant a 372 nm, fins hi tot després d'estar 32 hores dialitzant (com es recull en la taula 3). L'aigua que s'analitza és l'última aigua de rentat, després de realitzar 12 canvis d'aigua.

A la figura 23b, es mostra la fluorescència de la primera i l'última aigua de rentat de la mostra MW2_R1_XNAf. Si comparem els espectres d'emissió excitant a 450 nm de les dos, arribem a la conclusió de que l'última aigua de rentat és lleugerament menys fluorescent.

Aquesta observació es podria explicar amb l'estudi crític sobre els mètodes de purificació de Essner *et al.*,²⁷ que afirma que hi ha dos poblacions diferents de fluoròfors en les mostres: una població de fluoròfors moleculars de menor grandària, que són responsables de la major part de la fluorescència, i una segona població molt menys emissora conformada per partícules de major mida (entre els quals es trobarien els CDs). Les aigües de rentat presentarien doncs una gran concentració d'un compost fluoròfor. És important destacar també que el fluoròfor i la mostra emeten en el mateix rang; això fa que no es pugui descartar el fet que l'emissió de la mostra sigui atribuïble al fluoròfor.

A la figura 24, es comparen els diferents mostres obtingudes per síntesi hidrotermal. La mostra que presenta una major intensitat de fluorescència és la MW3_R1_XNAf (sintetitzada a 200°C). Aquesta observació està en concordança amb els estudis que es repliquen de Yang *et al.*,¹ on s'observa que la intensitat de la fluorescència augmenta a l'augmentar la temperatura de síntesi. Les mostres MW2_R1_XNAf i MW3_R1_XNAf (sintetitzades a 200 °C) tenen una intensitat de fluorescència major que la MW1_R1_XNAf (sintetitzada a 160°C) excitant a 400 nm.

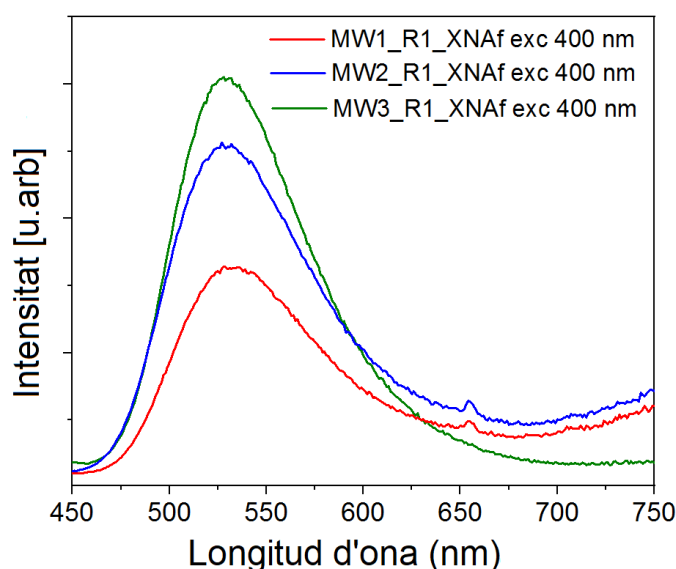


Figura 24. Comparació de la fluorescència de CDs dopats MW1_R1_XNAf, MW2_R1_XNAf i MW3_R1_XNAf a una excitació de 400 nm. Les mostres han estat purificades.

Típicament, els fluoròfors es relacionen amb molècules que contenen grups aromàtics, o bé molècules planes o cícliques amb diversos enllaços π . Es podria pensar que a major temperatura de síntesi, es podrien haver format més enllaços d'aquest tipus. En aquest cas, no podem associar la major intensitat de fluorescència a aquests enllaços ja que els estudis estructurals realitzats per XPS de Yang *et al.*¹ revelen que la mostra que té menys quantitat d'enllaços C=C/C-C és la mostra sintetitzada a major temperatura.

El dopant nitrogenat també és un factor que augmenta la intensitat de la fluorescència.³⁷ No obstant, en els estudis de Yang *et al.*¹ no atribueixen més fluorescència a una major quantitat de nitrogen al nucli del CD, perquè els CDs sintetitzats a major temperatura són al seu torn els que menys contingut en nitrogen van incorporar (un 7,64% pels sintetitzats a 220°C, en comparació al 8,92% de nitrogen dels sintetitzats a 180°C). Podríem esperar una tendència similar en les nostres mostres.

Yang *et al.*¹ també descarten el nucli del CD com a responsable principal de la fluorescència, ja que les diferències estructurals observades en els nuclis dels CDs per HRTEM al sintetitzar-los amb diversos àcids no es van traduir en canvis en la intensitat de la fluorescència. Havent descartat el N al nucli del CD com a responsable d'aquesta major intensitat de la fluorescència, podem adjudicar-la a una de les altres dues causes de la fluorescència exposades en la introducció: els grups funcionals adherits a la superfície dels CDs o bé els fluoròfors moleculars que són subproducte de la reacció.

Yang *et al.*¹ proposen que l'origen de l'emissió en el rang del verd prové en els grup amino adherits a la superfície dels CDs, ja exposat. Aquest origen, encara que vàlid, no serviria per explicar la raó per la qual la intensitat seria major al augmentar el temps de síntesis, ja que el XPS (que analitza mostres sòlides) també revela que hi hauria una menor quantitat d'enllaços N-H (menor quantitat de grups amino, superficials) en els CDs sintetitzats a major temperatura.

La causa de la major intensitat observada en els productes obtinguts a més altes temperatures podria ser que a una major temperatura hi ha més possibles fluoròfors moleculars o oligomèrics que es poden generar en la solució, i que no surten reflectits a la XPS, però sí que estarien presents a l'estudi de la fluorescència perquè es realitza amb la mostra líquida, i la diàlisi s'ha demostrat insuficient per remoure tots els fluoròfors que es generen durant les síntesis de CDs.³⁸

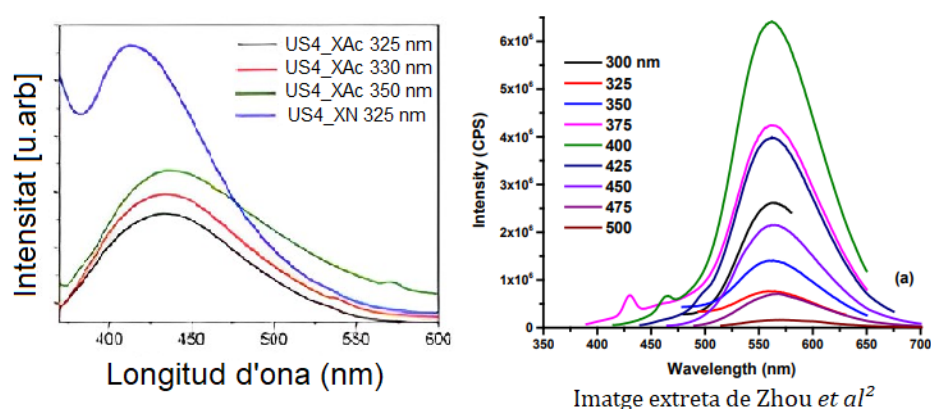


Figura 25. Comparació entre l'espectre de fluorescència de la mostra US4_XAc (a la dreta) amb l'espectre dels PDs formats a partir dels mateixos precursors de Zhou *et al.*² (a l'esquerra). En la primera també s'inclou un espectre d'emissió a 325 nm de la US4_XN per tal de poder comparar-la amb la US4_XAc.

La mostra estudiada per Zhou *et al.*² també presenta el comportament típic dels CDs dopats amb nitrogen, com s'observa en la imatge de la dreta de la figura 25. És a dir, emissió al rang del verd (en aquest cas, a aproximadament 560 nm), i amb un màxim d'emissió que és independent de la longitud d'ona d'excitació.

No obstant, la fluorescència de la mostra US4_XAc és radicalment diferent, ja que presenta emissió al rang del blau, amb un màxim prop de 440 nm, que seria també independent de la longitud d'ona d'excitació.

Aquest comportament diferent en la fotoluminescència es pot atribuir a una possible oxidació que patissin les mostres USX4 a l'aire, que alterés les seves propietats fisicoquímiques i que en l'estudi de Zhou *et al.*² no es menciona que succeís. Una possibilitat seria que haguessin mesurat la fluorescència poc temps després de sintetitzar la mostra, però la raó més probable és que aquesta oxidació s'hagi d'atribuir a les condicions de síntesis de les mostres US4_XAc i la US4_XN, ja que no es van sintetitzar sota atmosfera de argó contràriament al treball de Zhou *et al.*², on si s'hi utilitzava, i per tant, hauria evitat aquest procés d'oxidació.

Així com la bibliografia associa l'emissió dels CDs en el rang del verd al nitrogen, també s'associa l'emissió al rang del blau a orbitals generats per l'oxigen, que seria conseqüent amb que la mostra s'hagi oxidat³¹. Els orbitals generats tindrien un nivell d'energia més alt, i conseqüentment les emissions serien també més energètiques. Aquest origen de la fotoluminescència seria similar al que apareix més endavant en la figura 27 com a transició electrònica LC1.

Aquests CDs, per tant, en principi no serien bons candidats per desenvolupar una aplicació com a sensors de pH, ja que no són quimioestables. S'hauria d'estudiar si després de la oxidació no s'alteressin més. Només llavors es podria considerar un possible desenvolupament com a sensors de pH.

Les mostres sintetitzades amb el mètode de la polimerització oxidativa, PO5_XNper i PO5_Nper, també mostren una emissió al blau, com s'aprecia en la figura 26, encara que les diferències amb l'emissió esperada segons l'article de referència de Chen *et al.*³ les associem a altres causes.

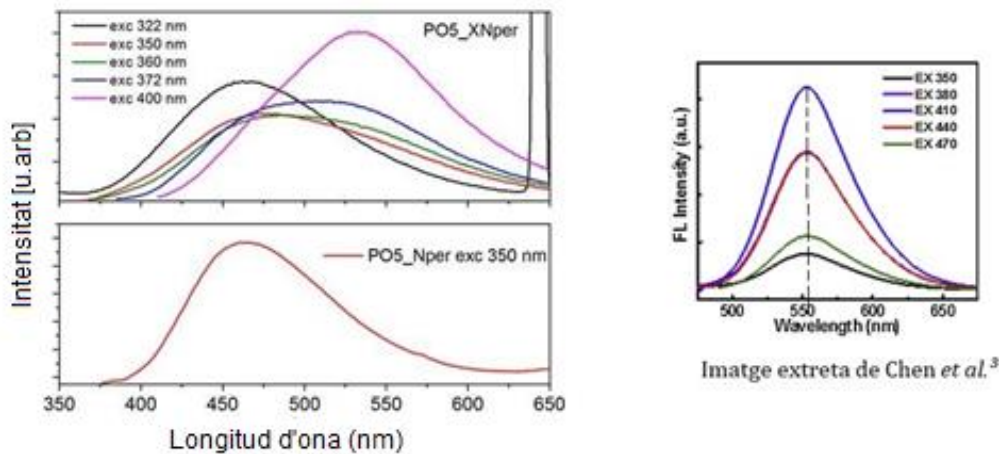


Figura 26. Comparació entre l'espectre de fluorescència de les mostres PO5_XNper i PO5_Nper (a la esquerra) amb l'espectre dels CDs formats a partir dels mateixos precursors de Chen *et al.*³. Els espectres de les mostres PO5 no es superposen perquè es van prendre amb diferent obertura de la llum de l'espectrofotòmetre de luminescència, i per tant no són comparables en la seva intensitat.

L'espectre de fluorescència de l'article de Chen *et al.*³ presenta una fluorescència típica de la reportada per mostres amb CDs dopats amb nitrogen: emissió al rang del verd (també al voltant de 560 nm) i un màxim situat a aquesta longitud d'ona, independentment de la longitud d'ona d'excitació amb la que s'exciti la mostra. En trets generals, és el mateix que el que s'ha comentat per les mostres de Yang *et al.*¹ i Zhou *et al.*², així com per les mostres MW1_R1_XNAf, MW1_R1_XNAf i MW1_R1_XNAf.

No obstant, les mostres PO5_XNper i PO5_Nper no presenten un espectre de fluorescència similar, ni tan sols aquesta última, que es va sintetitzar amb els mateixos precursors que Chen *et al.*³. Pel contrari, presenten emissió al rang del blau visible, i la longitud d'ona no és independent de la longitud d'ona d'excitació. Aquest comportament s'associa a l'existència de diferents transicions electròniques. Així, en la figura 26, per la mostra PO5_XNper, hi hauria una transició més afavorida excitant a 322 nm (línia negra), que presentaria un màxim d'emissió a 460 nm (blau visible), i per altra banda una altra transició més afavorida excitant a 400 nm (línia rosa), que presentaria un màxim d'emissió a 560 nm (verd visible).

La bibliografia associaria la transmissió que emet en el rang del blau a estats energètics addicionals generats per l'oxigen, mentre que la transició que emet en el verd al dopatge amb nitrogen³¹. Els de l'oxigen es representen en blau en la figura 27, mentre que els del nitrogen en color verd. Les respectives transicions es marquen com LC1 i LC3, i en les condicions en les que està la mostra es manifestarien les dos excitant a diferents longituds d'ona:

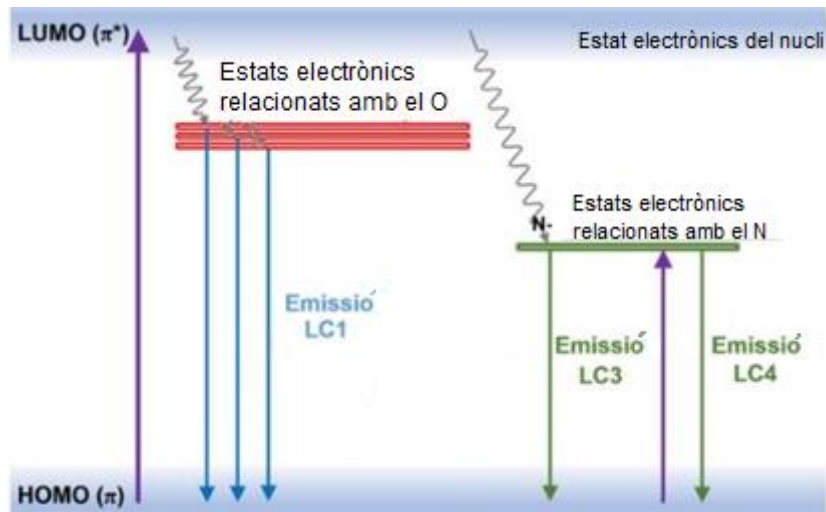


Figura 27. Imatge adaptada i traduïda de Yang *et al.*¹, on només es mostra la transició electrònica associada al nivell energètic molecular addicional generat per el nitrogen i al generat per l'oxigen.

En la mostra de Chen *et al.*³ només es manifestaven els estats electrònics relacionats amb el nitrogen. Una possible explicació a la que es podria atribuir és la diferent purificació que van patir les mostres. En l'article de Chen *et al.*³ recollien el precipitat generat al got de precipitats després de la filtració i el dissolien en aigua, i aquesta era la mostra de la qual estudiaven la seva fotoluminescència. En canvi, nosaltres vam fer passar la mostra per un filtre, i ens vam quedar amb el filtrat.

De totes les mostres presentades en aquest apartat, per tant, seguirem amb la mostra MW2_R1_XNAf per estudiar la seva dependència amb el pH.

5.4. Estudi de la dependència de la fluorescència amb el pH del medi

L'estudi de la fluorescència a diferents pH del medi es va dur a terme sobre la mostra MW2_R1_XNAf, una de les mostres sintetitzades pel mètode hidrotermal.

Els espectres de fluorescència van mostrar una dependència amb el pH, que eren al seu torn dependents de la longitud d'excitació, com es mostra a la figura 28.

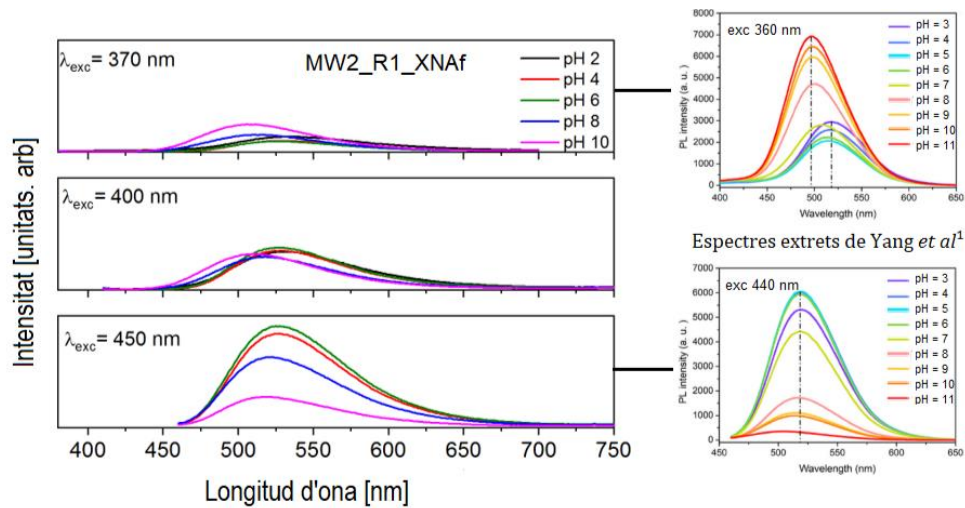


Figura 28. Dependència de la fluorescència amb el pH en la mostra MW2_R1_XNAf a la longitud d'excitació 370, 400 i 450 nm. A la dreta, es comparen els de 370 nm i 450 nm amb els espectres de Yang *et al.*¹ enregistrats excitant a 360 nm i 440 nm.

S'observa que a 370 nm (360 nm en les de Yang *et al.*¹) la mostra amb una major intensitat de luminescència és la de pH més bàsic, i aquesta intensitat decreix a mesura que el pH es torna més àcid. Arriba al mínim a pH 6 en els dos espectres, i augmenta lleugerament a pHs inferiors.

Per altra banda, el comportament que s'observa a 450 nm (440 en les de Yang *et al.*¹) és molt diferent. A aquesta excitació, la mostra MW2_R1_XNAf presenta un màxim de luminescència a pH 6, així com ho fa la mostra de Yang *et al.* La luminescència decreix més intensament al augmentar el pH cap a pHs més bàsics que al reduir-lo a pHs més àcids. Es pot observar el mateix per la mostra MW2_R1_XNAf, on la intensitat a pH 4 no ha disminuït tant que en el patró de la mostra a pH 8.

Si excitem la mostra MW2_R1_XNAf a 400 nm, es produeix una situació intermitja entre les dues excitacions anteriorment descrites.

Noti's que en els espectres de la dreta de la figura 28 que l'espectre de fluorescència a pH 5 (que no s'ha estudiat en aquest treball) i pH 6 apareixen superposats, tant a l'excitar la mostra a 360 nm com a 440 nm. És a dir, la seva fluorescència té un comportament similar.

El mecanisme que proposa el equip de Yang *et al.*¹ és un mecanisme en el que els H^+ s'uneixen als excitons (o portadors de càrrega), com per exemple el parell d'electrons lliure del nitrogen. La protonació del grup amino arribaria al seu màxim a pH 5, i justifica així el màxim observat a 440 nm per aquest pH. D'aquesta manera, la llum de l'espectròmetre de fluorescència excita els electrons del orbital π del nucli carbònic fins als orbitals π^* . En el seu decaïment, és més probable que es relaxi fins l'estat electrònic extra que crea el dopatge amb nitrogen si el grup amino està protonat (ja que hi ha major atracció electrostàtica). A pHs més bàsics, els grups amino es desprotonarien i la transició seria menys probable, per això la fluorescència decau intensament a pHs per sobre de 5. Pel que fa lleuger decreixement a pHs per sota de 5, es deuria als H^+ lliures en el medi i que farien menys efectiva la transició.

El fet d'atribuir a un mateix fluoròfor la transició electrònica responsable de la fluorescència observada excitant a 440 nm, justifica que en el gràfic de Yang *et al.*¹ (i al seu torn, a l'espectre de la mostra MW2_R1_XNAf a 450 nm) no s'observin màxims a longituds d'ona diferents. És a dir, hi ha un màxim de fluorescència a aproximadament 520 nm independentment del pH del medi (es marca en la figura 28, amb una única línia discontinua).

En l'espectre enregistrat excitant a 350 nm sí que s'observen dos màxims d'emissió diferents, un a pHs de 8 a 11 i un altre a pHs inferiors a 7 (marcats amb dues línies discontinues diferents). La causa és que estan involucrades dues transicions electròniques diferents, segons Yang *et al.*¹. Per pHs de 8 a 11, estarien involucrats també transicions relacionades amb els orbitals relacionats amb l'oxígen i el fòsfor. En la figura 29 es representen com a LC1 i LC2, mentre que les dels grup amino es marquen amb la nomenclatura LC3.

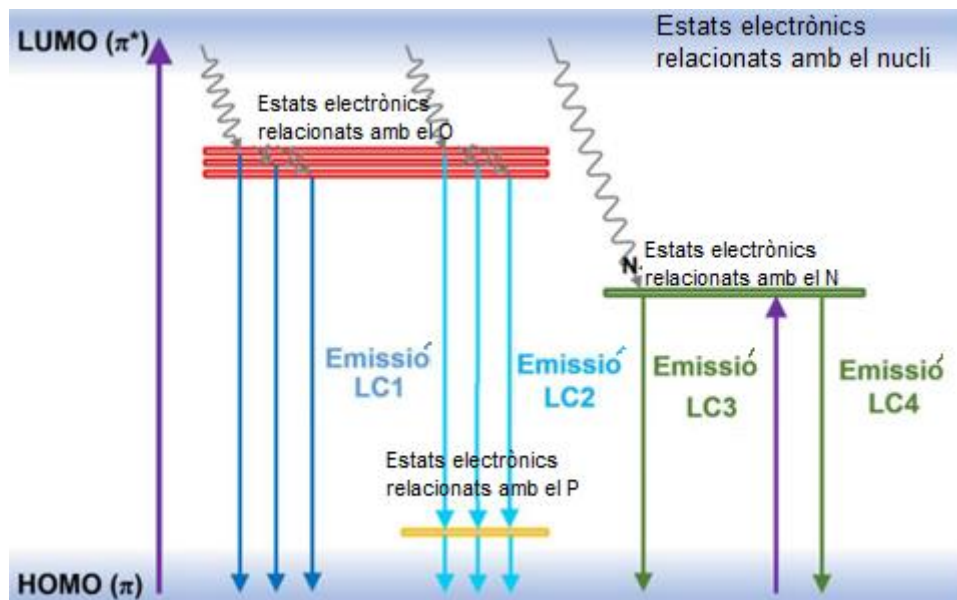


Figura 29. Transicions electròniques reportades per Yang *et al.* pels CDs dopats amb nitrogen i fòsfor derivats de la xilosa, l'àcid fosfòric i la *m*-fenilendiamina.

Les emissions LC1 i LC2 serien més energètiques, per això es representen més altes i al final donen un màxim de fluorescència a una longitud menor que el màxim de la transició LC4, que és menys energètica i per tant apareix a longituds d'ona majors.

Amb les dades de fluorescència de la figura 28, s'intentaria en un futur desenvolupar una aplicació com a sensors de pH amb els CDs de la mostra MW2_R1_XNAf. Un model matemàtic que prengués la intensitat de la fluorescència com a variable per determinar el pH seguiria un model no lineal, utilitzant com a longitud d'ona de l'excitació 370 nm (360 nm en els de Yang *et al.*¹) com prenent pel contrari els valors de l'excitació a 450 nm (440 nm en els de Yang *et al.*¹). Es mostra com quedarien aquests models en la figura 30.

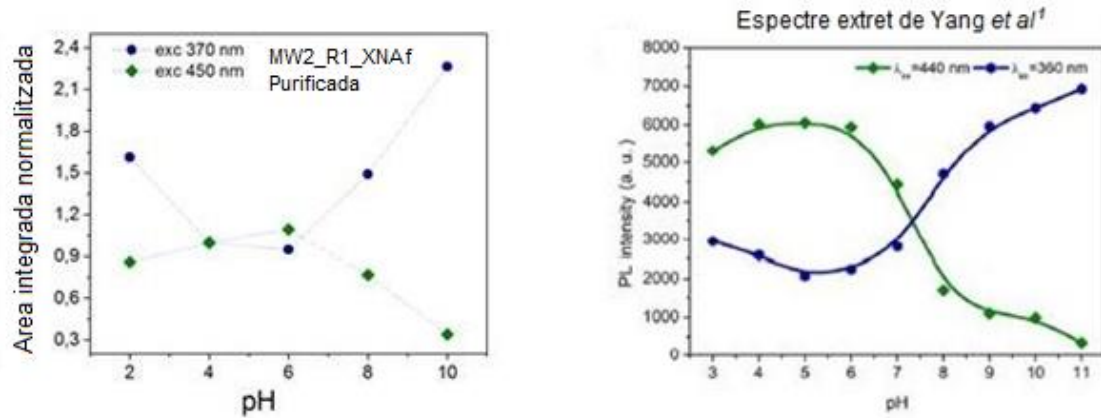


Figura 30. Comparació de la intensitat màxima de l'emissió dependent del pH. A la dreta, es dona el gràfic inclòs en l'article de Yang et al., mentre que a l'esquerra apareix el mateix gràfic però normalitzant les àrees de la fluorescència. S'ha normalitzat a pH=4, que és el pH de partida de la mostra. Aquest ajust permet observar quina fluorescència varia més amb el pH.

Per altra banda, aquest seria un model molt dependent del detector de fluorescència utilitzat, ja que la intensitat és una magnitud que es mesura en unitats arbitràries que depenen dels paràmetres de l'aparell. Seria més adequat utilitzar algun paràmetre quantitatiu inherentment propi dels CDs, que el valor no depengui del detector.

S'ha comentat que excitant a 450 nm, el màxim d'emissió és independent del pH, i si excitem a 360 nm hi ha dos màxims d'emissió per dos rangs diferents de pH perquè cadascun es relaciona amb una transició electrònica diferent. Si s'arribés a una situació intermitja entre els dos comportaments, potser es podria desenvolupar un model lineal de dependència de la longitud d'ona d'emissió en funció del pH. Això és pràcticament el que passa al excitar la mostra MW2_R1_XNAf a una longitud d'excitació intermitja, com per exemple a 400 nm. En la figura X4 es mostra com depèn aquest màxim amb el pH, excitant a 400 nm.

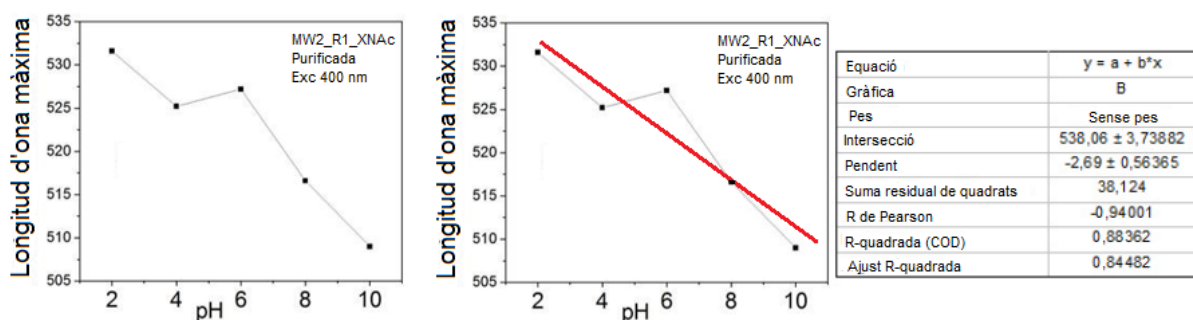


Figura 31. Dependència de la longitud d'ona màxima d'emissió en funció del pH (en l'eix y). L'ajust lineal a aquestes dades té un coeficient de correlació lineal de $R^2 = 0,88$.

La figura 31 mostra que el desplaçament del màxim d'emissió segons el pH presenta una tendència quasi lineal a excitació 400 nm, exceptuant el pH 6.

El següent pas seria fer estudis de fotoestabilitat dels CDs, ja que s'ha reportat que els CDs dopats amb nitrogen no són fotoestables i la intensitat de la seva fluorescència decau amb el

temps,³⁹ un altre motiu de més que justifica no prendre la intensitat com a variable per detectar el pH. Aquests estudis, que normalment s'ignoren per la bibliografia, s'haurien de dur a terme. Tanmateix, si s'observés que es produeix una pèrdua d'intensitat de fluorescència, però les longituds d'ona d'emissió no es vengessin afectades, aquests CDs es podrien utilitzar com a sensors de pH, sols que amb un temps de vida mitjana limitat.

Com a comentari final, s'ha de mencionar que un tipus de CDs comuns que es solen estudiar pel desenvolupament de sensors de pH són els que tenen simultàniament dos màxims d'emissió al excitar la mostra a una mateixa longitud d'ona⁸ (no observat per la mostra MW2_R1_XNAf ni en cap altra). D'aquesta manera, el model matemàtic del sensor és independent de l'equipament perquè s'utilitza la relació entre la intensitat dels dos pics d'emissió, que es suposa que es veuran afectats de manera diferent pel medi. No obstant, s'hauria de confirmar que això és vàlid per tots aquells CDs en els que els dos màxims d'emissió es corresponen a transicions diferents associades a dopants diferents, ja que el medi podria no afectar de manera significativament diferent als dos centres emissors.

6. Conclusions

Els punts de carboni sintetitzats per rutes *bottom-up*, que són tan atractives des del punt de vista de la química verda, comporten la formació de subproductes i una gran variabilitat dels CDs formats. Els productes de les tres metodologies de síntesi realitzades en aquest treball (mètode hidrotermal assistit per microones, síntesi sonoquímica i polimerització oxidativa) eren completament diferents entre si en quant a morfologia i propietats fotoluminiscentes.

S'ha observat la baixa reproductibilitat esperada pel mètode hidrotermal assistit per microones, que és extremadament sensible a les condicions inicials. S'han pogut observar algunes tendències reportades en la bibliografia, com un major creixement amb un major temps de síntesi o temperatura de síntesi, però la no reproductibilitat és un factor a tenir en compte en la síntesi per aquest mètode.

La microscòpia electrònica de transmissió ofereix poca informació estructural sobre la naturalesa de les espècies presents en la mostra, i per l'estudi de punts de carboni és preferible l'ús del HRTEM per permetria observar si hi ha un cert grau de cristal·linitat.

En aquest treball no s'han observat CDs amb una mida de l'ordre de nanòmetres, però les propietats fluorescents de la mostra coincidien amb les esperades per CDs dopats amb nitrogen. En les mostres s'ha observat el desplaçament cap a longituds d'ona d'emissió majors en comparació amb les mostres no dopades, que presenten fluorescència en el verd i una longitud d'emissió gairebé independent de la longitud d'ona d'excitació.

Aquesta fluorescència s'explica pels grups funcionals units a la superfície, on una emissió verda generalment dependria de transicions electròniques relacionades amb els grups amino i una emissió blava dependria de transicions electròniques relacionades amb grups funcionals oxigenats.

La dependència de la intensitat d'emissió i també de la longitud d'ona d'emissió amb el pH són la base per un futur sensor de pH basat en aquestes partícules. No obstant, també s'han de dur a terme estudis relacionats amb l'estabilitat de les emissions al llarg del temps, la fotoestabilitat i l'estabilitat que tenen les mostres en pHs extrems.

Una correcta purificació és necessària per l'estudi de la fluorescència dels CDs, ja que les rutes *bottom up* també porten involucrades la formació de diversos subproductes moleculars que són així mateix fluoròfors, i que en aquest treball s'han trobat evidències que podrien donar suport a la teoria de les dos poblacions fluoròfores presents en les mostres.

En definitiva, l'estudi dels CDs és un camp obert a futures aplicacions prometedores, però que encara ha de salvar alguns inconvenients com la no reproductibilitat de alguns mètodes de síntesi, la inadequada purificació de les mostres i estudis de l'estabilitat en el temps de la fluorescència.

Conclusions

Carbon dots synthesized by means of bottom-up routes, which are highly appealing from the perspective of green chemistry, involve the formation of byproducts and a wide variability in the resulting CDs. The products from the three synthesis methodologies employed in this study (microwave-assisted hydrothermal method, sonochemical synthesis, and oxidative polymerization) were completely distinct from one another in terms of morphology and photoluminescent properties.

The expected low reproducibility has been observed for the microwave-assisted hydrothermal method, which is highly sensitive to initial conditions. Some trends reported in the literature have been observed, such as increased growth with longer synthesis time or higher synthesis temperature, but the lack of reproducibility is a factor to be considered in the synthesis using this method.

Transmission electron microscopy provides limited structural information about the nature of species present in the sample, and for the study of carbon dots, the use of HRTEM is preferred as it allows observation of a certain degree of crystallinity.

In this study, carbon dots with nanoscale sizes were not observed, but the fluorescent properties of the sample matched those expected for nitrogen-doped carbon dots. In the samples, a shift towards longer emission wavelengths was observed compared to the non-doped samples, which exhibited fluorescence in the green and emission wavelength nearly independent of the excitation wavelength.

This fluorescence is explained by means of the functional groups attached to the surface, in which the green emission generally is associated to electronic transitions related with amino groups and blue emission depends on electronic transitions related with oxiganted functional groups.

The dependence in the intensity of the emission and the emission wavelength with pH are the base for future sensors of pH based in these particles. However, studies about the stability of the electronic transitions throughout time, fotoestability and the stability at extreme pHs are also needed.

Proper purification is necessary for the study of CD fluorescence, as bottom-up routes also involve the formation of various molecular byproducts that are themselves fluorophores. In this study, evidence has been found that could support the theory of two fluorophore populations present in the samples.

In conclusion, the study of CDs is a field open to promising future applications, but it still faces some challenges such as the lack of reproducibility in certain synthesis methods, inadequate sample purification, and studies on the long-term stability of fluorescence.

7. Bibliografía

- [1] Yang, P.; Zhu, Z.; Zhang, T.; Chen, M.; Cao, Y.; Zhang, W.; Wang, X.; Zhou, X.; Chen, W. Facile synthesis and photoluminescence mechanism of green emitting xylose-derived carbon dots for anti-counterfeit printing. *Carbon* **2019**, *146*, 636–649. DOI: 10.1016/j.carbon.2019.02.028
- [2] Zhou, Y.; Mintz, K.; Oztan, C.; Hettiarachchi, S.; Peng, Z.; Seven, E.; Liyanage, P.; De La Torre, S.; Celik, E.; Leblanc, R. Embedding Carbon Dots in Superabsorbent Polymers for Additive Manufacturing. *Polymers* **2018**, *10* (8), 921. DOI: 10.3390/polym10080921
- [3] Chen, S.; Liu, M.-X.; Yu, Y.-L.; Wang, J.-H. Room-temperature synthesis of fluorescent carbon-based nanoparticles and their application in multidimensional sensing. *Sens. Actuators B* **2019**, *288*, 749–756. DOI: 10.1016/j.snb.2019.03.067
- [4] Andrea, R.-À. Síntesis, propiedades y aplicaciones de puntos cuánticos a base de carbono. *Afinidad* **2022**, *79* (595), 188–200.
- [5] Zhu, S.; Song, Y.; Zhao, X.; Shao, J.; Zhang, J.; Yang, B. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective. *Nano Res.* **2015**, *8* (2), 355–381. DOI: 10.1007/s12274-014-0644-3
- [6] Xu, X.; Ray, R.; Gu, Y.; Ploehn, H. J.; Gearheart, L.; Raker, K.; Scrivens, W. A. Electrophoretic Analysis and Purification of Fluorescent Single-Walled Carbon Nanotube Fragments. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (40), 12736–12737. DOI: 10.1021/ja040082h
- [7] Liang, H.; Chang, Z.; Guangming, Z.; Guiqiu, C.; Jia, W. Metal-based quantum dots: synthesis, surface modification, transport and fate in aquatic environments and toxicity to microorganisms. *RSC Adv.* **2018**, (82), nº 78595. DOI: 10.1039/c9ra13016j
- [8] Koutsogiannis, P.; Thomou, E.; Stamatis, H.; Gournis, D.; Rudolf, P. Advances in fluorescent carbon dots for biomedical applications. *Adv. Phys.* **2020**, *5* (1), 1758592. DOI: 10.1080/23746149.2020.1758592
- [9] Carbonaro; Corpino; Salis; Mocci; Thakkar; Olla; Ricci. On the Emission Properties of Carbon Dots: Reviewing Data and Discussing Models. *C — J. Carbon Res.* **2019**, *5* (4), 60. DOI: 10.3390/c5040060
- [10] Yi, Z.; Li, X.; Zhang, H.; Ji, X.; Sun, W.; Yu, Y.; Liu, Y.; Huang, J.; Sarshar, Z.; Sain, M. High quantum yield photoluminescent N-doped carbon dots for switch sensing and imaging. *Talanta* **2021**, *222*, 121663. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121663
- [11] Vibhute, A.; Patil, T.; Gambhir, R.; Tiwari, A. P. Fluorescent carbon quantum dots: Synthesis methods, functionalization and biomedical applications. *Appl. Surf. Sci. Adv.* **2022**, *11*, 100311. DOI: 10.1016/j.apsadv.2022.100311

- [12] Liu, C; Zhang, F; Hu, J; Gao, W; Zhang, M. A Mini Review on pH-Sensitive Photoluminescence in Carbon Nanodots. *Front. Chem.* **2021**, *8*, 605028. DOI: 10.3389/fchem.2020.605028
- [13] Shi, L. H.; Li, Y. Y.; Li, X. F. N Zhao, B.; Wen, X. P.; Zhang, G. M.; Dong, C.; and Shuang, S. M. Controllable synthesis of green and blue fluorescent carbon nanodots for pH and Cu²⁺ sensing in living cells. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, *77*, 598–602. DOI: 10.1016/j.bios.2015.10.031
- [14] Hu, S; Meng, X; Tian, F; Yang, W; Li, N; Xue, C; Yang, J; Chang, Q. Dual photoluminescence centers from inorganic-salt-functionalized carbon dots for ratiometric pH sensing. *J. Mater. Chem. C.* **2017**, *5*, 9849–9853. DOI: 10.1039/C7TC03266H
- [15] Kong, W; Wu, H; Ye, Z; Li, R; Xu, T; Zhang, B. Optical properties of pH-sensitive carbon-dots with different modifications. *Journal Lumines.* **2014**, *148*, 238–242. DOI: 10.1016/j.jlumin.2013.12.007
- [16] Xu, Z. Q.; Lan, J. Y.; Jin, J. C.; Gao, T.; Pan, L. L.; Jiang, F. L.; Liu, Y. Mechanistic studies on the reversible photophysical properties of carbon nanodots at different pH. *Colloid Surf. B Biointerfaces.* **2015**, *130*, 207–214. doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.04.012
- [17] Hu, H.; Tian, X.; Gong, Y.; Ren, G.; Liang, J. N-doped carbon dots under Xenon lamp irradiation: Fluorescence red-shift and its potential mechanism. *Spectrochim. Acta A* **2019**, *216*, 91–97. DOI: 10.1016/j.saa.2019.03.020
- [18] Namdari, P.; Negahdari, B.; Eatemadi, A. Synthesis, properties and biomedical applications of carbon-based quantum dots: An updated review. *Biomed. & Pharmacother.* **2017**, *87*, 209–222. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.12.108
- [19] Magesh, V.; Sundramoorthy, A. K.; Ganapathy, D. Recent Advances on Synthesis and Potential Applications of Carbon Quantum Dots. *Front. Mater.* **2022**, *9*. DOI: 10.3389/fmats.2022.906838
- [20] Liu, M. L.; Chen, B. B.; Li, C. M.; Huang, C. Z. Carbon dots: synthesis, formation mechanism, fluorescence origin and sensing applications. *Green Chem.* **2019**, *21* (3), 449–471. DOI: 10.1039/c8gc02736f
- [21] Kou, X.; Jiang, S.; Park, S.-J.; Meng, L.-Y. A review: recent advances in preparations and applications of heteroatom-doped carbon quantum dots. *Dalt. Trans.* **2020**, *49* (21), 6915–6938. DOI: 10.1039/d0dt01004a
- [22] Duangkaew, P.; Inoue, S.; Aki, T.; Nakashimada, Y.; Okamura, Y.; Tajima, T.; Matsumura, Y. *In-situ* Mass Spectroscopic Analysis of Glucose Decomposition under Hydrothermal Condition: Quantitative Analysis for Reaction Kinetics. *J. Jpn. Pet. Inst.* **2017**, *60* (2), 101–109. DOI: 10.1627/jpi.60.101

- [23] Bahena Martínez, C. J.; Torres Gómez, N.; García Gutiérrez, D. I.; Vilchis Néstor, A. R. Síntesis hidrotérmica de nanomateriales. En *Materiales Avanzados y Nanomateriales: Aprovechamiento de fuentes naturales y sus beneficios al medio ambiente*; OmniaScience, **2022**; pp 239–280. DOI: 10.3926/oms.409.09
- [24] Schmidt, R.; Prado Gonjal, J.; Morán, E. Microwaves Microwave-Assisted Hydrothermal Synthesis of Nanoparticles. En *CRC Concise Encyclopedia of Nanotechnology*; CRC Press Taylor & Francis Group, **2016**; p 561.
- [25] Margulis, M.A., Sonoluminescence and sonochemical reactions in cavitation fields. A review. *Ultrasonics*, **1985**. 23(4): p. 157-169
- [26] Kumar, R.; Kumar, V. B.; Gedanken, A. Sonochemical synthesis of carbon dots, mechanism, effect of parameters, and catalytic, energy, biomedical and tissue engineering applications. *Ultrason. Sonochemistry* **2020**, *64*, 105009. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2020.105009
- [27] Essner, J. B.; Kist, J. A.; Polo-Parada, L.; Baker, G. A. Artifacts and Errors Associated with the Ubiquitous Presence of Fluorescent Impurities in Carbon Nanodots. *Chem. Mater.* **2018**, *30* (6), 1878–1887. DOI: 10.1021/acs.chemmater.7b04446
- [28] Yacamán, M. J.; Santiago, U.; Mejía-Rosales, S. Aberration-Corrected Electron Microscopy of Nanoparticles. En *Advanced Transmission Electron Microscopy*; Springer International Publishing: Cham, **2015**; pp 1–29. DOI: 10.1007/978-3-319-15177-9_1
- [29] Leonid A. Bendersky and Frank W. Gayle, "Electron Diffraction Using Transmission Electron Microscopy", *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology*, *106*, **2001**; pp. 997–1012.
- [30] Eisinger, J.; Flores, J. Front-face fluorometry of liquid samples. *Anal. Biochem.* **1979**, *94* (1), 15–21. DOI: 10.1016/0003-2697(79)90783-8
- [31] Zhu, S.; Song, Y.; Zhao, X.; Shao, J.; Zhang, J.; Yang, B. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective. *Nano Res.* **2015**, *8* (2), 355–381. DOI: 10.1007/s12274-014-0644-3
- [32] Carbonaro; Corpino; Salis; Mocci; Thakkar; Olla; Ricci. On the Emission Properties of Carbon Dots: Reviewing Data and Discussing Models. *C — J. Carbon Res.* **2019**, *5* (4), 60. DOI: 10.3390/c5040060
- [33] Stejskal, J. Polymers of phenylenediamines. *Prog. Polym. Sci.* **2015**, *41*, 1–31. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2014.10.007

- [34] Funke, A.; Ziegler, F. Hydrothermal carbonization of biomass: A summary and discussion of chemical mechanisms for process engineering. *Biofuels, Bioprod. Biorefining* **2010**, *4* (2), 160–177. DOI: 10.1002/bbb.198
- [35] Casadó, A. Comparison of xylose-derived and glucose-derived carbon quantum dots (CQDs) prepared by microwave-assisted synthesis. En *NanoSpain2023 Conference*, Tarragona, Espanya, 27 d'abril de 2023; Universitat Rovira i Virgili, s. f.
- [36] Wen, Z.-H.; Yin, X.-B. Excitation-independent carbon dots, from photoluminescence mechanism to single-color application. *RSC Adv.* **2016**, *6* (33), 27829–27835. DOI: 10.1039/c5ra27172j
- [37] Yamaguchi, Y.; Matsubara, Y.; Ochi, T.; Wakamiya, T.; Yoshida, Z.-i. How the π Conjugation Length Affects the Fluorescence Emission Efficiency. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (42), 13867–13869. DOI: 10.1021/ja8040493
- [38] Liang; Ge; Hou; Ren; Yang; Bunker; Overton; Wang; Sun. Evaluation of Commercial “Carbon Quantum Dots” Sample on Origins of Red Absorption and Emission Features. *C — J. Carbon Res.* **2019**, *5* (4), 70. DOI: 10.3390/c5040070
- [39] Dua, S.; Kumar, P.; Pani, B.; Kaur, A.; Khanna, M.; Bhatt, G. Stability of carbon quantum dots: a critical review. *RSC Adv.* **2023**, *13* (20), 13845–13861. DOI: 10.1039/d2ra07180k

Annex 1: Guia d'abreviacions

<i>Abreviació</i>	<i>Terme en anglès</i>	<i>Terme en català</i>
CDs	<i>carbon dots</i>	punt de carboni
CQDs	<i>carbon quantum dots</i>	punts quàntics de carboni
HOMO	<i>Highest occupied molecular orbital</i>	Orbital molecular ocupat més alt
HRTEM	<i>High resolution transmission electronic microscopy</i>	Microscòpia electrònica de transmissió d'alt rendiment
PDs	<i>polimer dots</i>	punts de carboni polimèrics
PL	<i>photoluminescence</i>	fotoluminescència
QD	<i>quantum dot</i>	punt quàntic
QY	<i>quantum yield</i>	rendiment quàntic
TEM	<i>transmission electronic microscopy</i>	Microscòpia electrònica de transmissió
XPS	<i>X-ray photoelectron spectroscopy</i>	Espectroscopia de fotoelectrons de raig X

Annex 2: Imatges addicionals per TEM

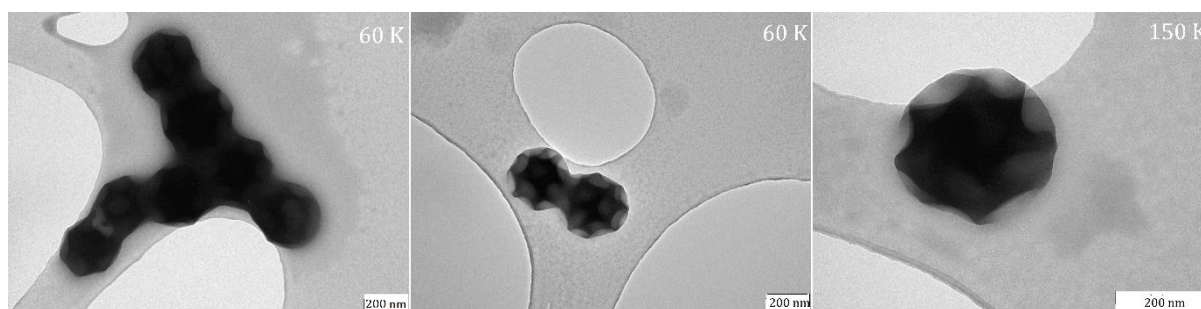


Figura a1. Imatges addicionals de les partícules amb morfologia regular que es van trobar en la mostra MW1_R1_XNAf.