

Resumen

Los nanocristales de perovskita de haluros metálicos, cuya fórmula general es ABX_3 ($A = Cs^+$, $CH_3NH_3^+$, $CH(NH_2)_2^+$; $B = Pb^{+2}$, Sn^{+2} ; y $X = Cl^-$, Br^- , I^-) son una clase de nanomateriales semiconductores que han tenido un gran impacto en fotovoltaica y en la fabricación de dispositivos emisores de luz debido a sus excelentes propiedades optoelectrónicas, entre ellas, la capacidad para transportar cargas, generar electricidad y producir luz.

Aunque se trata de un área menos explorada, tienen potencial para convertirse en marcadores luminiscentes en aplicaciones biológicas por sus dimensiones nanométricas (4-15 nm) y por exhibir propiedades ópticas únicas, entre ellas: alto rendimiento cuántico de fluorescencia, espectro de emisión estrecho y posibilidad de modular su emisión en función de su tamaño y composición para obtener una amplia gama de colores en la región visible (410-700 nm), lo que los convierte en candidatos prometedores en multiplexado.

Además, presentan absorción multifotónica en el cercano infrarrojo y emisión *upconversion*, siendo una ventaja en diagnóstico por imagen, ya que se emplea una radiación que es inocua para los tejidos, tiene mayor penetración, reduce la autofluorescencia celular y mejora la relación señal-ruido.

A pesar de las excelentes propiedades ópticas de estos materiales, tienden a degradarse frente a la humedad, oxígeno, luz y alta temperatura, lo que supone una clara limitación para el desarrollo de sus aplicaciones en biosensado y diagnóstico por imagen.

Durante los últimos años, los avances en los métodos de encapsulación han permitido mejorar su estabilidad frente a agentes externos, generando estructuras *core-shell* o integrándose en matrices de una gran variedad de materiales, entre los que se incluyen óxidos inorgánicos, polímeros u otros semiconductores.

Esta tesis se ha centrado en el desarrollo de diferentes nanopartículas de perovskita estables en medio acuoso para su utilización como marcadores luminiscentes en biosensado o bioimagen *in vitro*. En todas las metodologías propuestas se ha pretendido que las partículas resultantes cumplan con una serie de requisitos, principalmente: tamaño nanométrico (< 200 nm), elevado rendimiento cuántico de fluorescencia, estabilidad química y estructural en

tampón salino o medios de cultivo, y fácil conjugación a biorreceptores específicos.

La primera estrategia consiste en la preparación de nanopartículas *core-shell* mediante la adaptación del método Stöber, una metodología sol-gel que permite generar un recubrimiento de sílice que protege al material encapsulado de disolventes polares y otros factores externos. La principal dificultad es compatibilizar las condiciones de reacción sin comprometer la integridad y propiedades ópticas de los nanocristales, ya que el proceso pasa por una etapa hidrolítica que desencadena la degradación de los nanocristales. Esta estrategia se ha llevado a cabo mediante dos aproximaciones diferentes.

En una primera aproximación, se ha obtenido una población monodispersa de nanopartículas de $\text{CsPb}_2\text{Br}_5@\text{SiO}_2$ de 32 nm mediante una metodología de adición lenta de la fuente precursora de sílice y el catalizador sobre los nanocristales de CsPbBr_3 previamente sintetizados. Si bien, su principal limitación es la baja emisión de fluorescencia, se ha demostrado en una prueba de concepto su potencial como marcadores luminiscentes en un inmunoensayo directo con un sistema modelo (anti-BSA y BSA).

En una segunda aproximación, se han obtenido nanopartículas multicolores (azul, verde y rojo) *core-shell* de $\text{CsPbX}_3@\text{SiO}_2$ ($X = \text{Cl}/\text{Br}$, Br y I) con tamaños de 20-30 nm mediante un proceso de transformación estructural combinado con la metodología sol-gel. Tras una etapa de estabilización térmica que confiere estabilidad en medio acuoso, se ha demostrado su viabilidad como marcadores luminiscentes en un ensayo directo entre el anticuerpo Omalizumab y su receptor.

La segunda estrategia consiste en la incorporación de los nanocristales en partículas poliméricas mediante la técnica de coprecipitación. Se basa en la capacidad que tienen los copolímeros anfífilos para autoensamblarse en medios selectivos y permite atrapar a los nanocristales de perovskita en el interior de micelas poliméricas, las cuales ofrecen una barrera física eficaz por su elevado grado de entrecruzamiento. Concretamente se han encapsulado nanocristales de CsPbBr_3 en micelas compuestas por un copolímero de poliestireno y ácido poliacrílico, alcanzando un tamaño medio de 200 nm. Finalmente, se han utilizado para la puesta a punto de ensayos en tira reactiva para la detección de inmunoglobulinas G de suero humano.

La tercera estrategia recurre a la técnica denominada *electrospraying/electrospinning*, una técnica de atomización que permite generar partículas o fibras poliméricas en las cuales quedan embebidos los

nanocristales. En este caso, los nanocristales se han encapsulado en partículas de poli(estireno-co-anhídrido maleico) y se han incubado en cultivo celular para analizar su potencial en bioimagen por microscopía de fluorescencia.

En resumen, esta tesis contribuye al avance en el desarrollo de nanomateriales luminiscentes basados en perovskitas de haluros metálicos, abordando el desafío que supone su estabilización en medio acuoso y demostrando su viabilidad en medios biológicos.

Se prevé que, en un futuro, sea posible su implantación en el desarrollo de plataformas analíticas de alto rendimiento que permitan la detección y/o cuantificación óptica de analitos de interés clínico, medioambiental o alimentario en el punto de atención, cumpliendo con los criterios de rapidez, fiabilidad, facilidad de manejo y bajo coste, superando en sensibilidad y capacidad de multiplexado a los sistemas actuales, la mayoría de ellos basados en nanopartículas de oro, colorantes orgánicos o sistemas quimioluminiscentes.