

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**Unidad Profesional Interdisciplinaria de
Ingeniería y Tecnología Avanzadas.**

Sección de Estudios de Posgrado



**Espectroscopía de emisión de
estados de interfase en puntos
cuánticos de CdSe/ZnS y su
variación con el proceso de
bioconjugación.**

TESIS

**Que para obtener el grado de:
Maestro en Tecnología Avanzada**

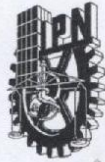
Presenta:

Ing. Leonardo Gabriel Vega Macotella
No. De registro: A080448

Directora de tesis: Dra. Tetyana V. Torchynska

Codirectora de tesis: Dra. Janna Douda

México, D. F. Marzo 2010



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

México, D.F. a 30 de Octubre del 2009

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de U.P.I.I.T.A. en su sesión Extraordinaria No. 16 celebrada el día 28 del mes de octubre conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

<u>Vega</u> Apellido paterno	<u>Macotela</u> Apellido materno	<u>Leonardo Gabriel</u> Nombre (s)							
Con registro: <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px 5px;">A</td> <td style="padding: 2px 5px;">0</td> <td style="padding: 2px 5px;">8</td> <td style="padding: 2px 5px;">0</td> <td style="padding: 2px 5px;">4</td> <td style="padding: 2px 5px;">8</td> <td style="padding: 2px 5px;">8</td> </tr> </table>			A	0	8	0	4	8	8
A	0	8	0	4	8	8			

Aspirante de: MAESTRIA EN TECNOLOGIA AVANZADA

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:
"Espectroscopía de emisión de estados de interfase en puntos cuánticos de CdSe/ZnS y su variación con el proceso de bioconjugación"

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:
Se va a realizar el análisis e interpretación de los resultados de fotoluminiscencia y espectroscopía Raman de los puntos cuánticos de CdSe/ZnS bioconjugados con los anticuerpos de cáncer y sin Bioconjugación.

2.- Se designa como Director de Tesis al C. Profesor: Dra. Viktorivna Torchynska Tetyana y Codirector: Dra. Douda Janna

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en: SEPI-UPIITA-IPN

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

El Director de Tesis

Dra. Viktorivna Torchynska Tetyana

El Codirector de Tesis

Dra. Douda Janna

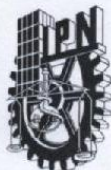
El Aspirante

Leonardo Gabriel Vega Macotela

El Presidente del Colegio

M. en C. Griselda Sánchez Ojeda

S. E. P.
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA
EN INGENIERÍA Y TECNOLOGÍAS AVANZADAS
SECCION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACION



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad México, D.F. siendo las 8:30 horas del día 12 del mes de marzo del 2010 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de La UPIITA para examinar la tesis titulada:

"Espectroscopia de emisión de estados de interfase en puntos Cuánticos de CdSe/ZnS y su variación con el proceso de bioconjugación"

Presentada por el alumno:

<u>Vega</u> Apellido paterno	<u>Macotela</u> Apellido materno	<u>Leonardo Gabriel</u> Nombre(s)							
Con registro:									
<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px 5px;">A</td> <td style="padding: 2px 5px;">0</td> <td style="padding: 2px 5px;">8</td> <td style="padding: 2px 5px;">0</td> <td style="padding: 2px 5px;">4</td> <td style="padding: 2px 5px;">8</td> <td style="padding: 2px 5px;">8</td> </tr> </table>			A	0	8	0	4	8	8
A	0	8	0	4	8	8			

aspirante de:

Maestría en Tecnología Avanzada

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director(a) de tesis

Dra. Viktoriyva Torchynska-Tetyana
1er VOCAL

Dr. Primo Alberto Calva Chavarría
PRESIDENTE DEL JURADO

Dra. Lilia Martínez Pérez
SECRETARIO DEL JURADO

Dra. Janna Douda
2º VOCAL

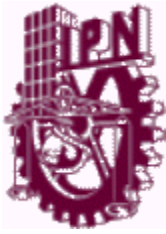
Dr. José Manuel de la Rosa Vázquez

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

M. en C. Griselda Sánchez Otero



S. E. P.
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CORPORACIÓN PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA
EN INGENIERÍA Y TECNOLOGÍAS AVANZADAS.
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México el día 12 del mes de marzo del año 2010, el que suscribe Leonardo Gabriel Vega Macotela, alumno del programa de Maestría en Tecnología Avanzada, con número de registro A080488, adscrito a la Unidad Profesional Interdisciplinaria en Ingeniería y Tecnologías avanzadas, manifiesta que es autor del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dra. Tetyana Torchynska Viktorivna y codirección de Dra. Janna Douda y cede los derechos del trabajo intitulado Espectroscopia de emisión de estados de interfase en puntos cuánticos de CdSe/ZnS y su variación con el proceso de bioconjugación, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección leo_el7sello@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Leonardo Gabriel Vega Macotela

Agradecimientos

Agradezco a las instituciones Mexicanas por sostener mi educación a través de sus contribuciones.

Proyecto CONACYT- N 58358 “Investigación de la propiedades ópticas en estructuras con nanocristales y puntos cuánticos de semiconductores del grupo V y III-V para dispositivos de nueva generación” Directora Dra T.V. Torchynska.

Proyecto SIP 20080177 “Propiedades ópticas y estructurales de los nanocristales de SiC”. Directora Dra T.V. Torchynska.

Proyecto SIP 20090113 “Modificación de las propiedades ópticas de puntos cuánticos CdSe/ZnS en los procesos de bioconjugación” Directora Dra T.V. Torchynska.

Proyecto SIP 20100103 “Transformación de las propiedades ópticas de puntos cuánticos InAs/InGaAs y CdSe/ZnS en los procesos diferentes”. Directora Dra T.V. Torchynska.

Proyecto CONACYT de cooperación bilateral México-Israel del CONACYT: “Estudio comparativo de efectos cuánticos en nanocristales semiconductores del grupo IV y II-VI; de ESFM y el instituto Rakah de Física de la Universidad Hebrea de Jerusalén” Directora Dra T.V. Torchynska.

Proyecto CONACYT de cooperación bilateral México-Ucrania del CONACYT ESFM-IPN y el Instituto de Física de Semiconductores de la Academia Nacional de Ciencias de Ucrania Directora Dra T.V. Torchynska.

Proyecto de SIP 200800351 “Desarrollo de la metodología de síntesis de los puntos cuánticos de CdSe-ZnS para el uso en la fotónica aplicada”. Directora Dra. Janna Douda.

Proyecto de SIP 20090301 “Bioconjugación de los puntos cuánticos de CdSe/ZnS con anticuerpos de cáncer”. Directora Dra. Janna Douda.

Proyecto SIP 20100926 “Síntesis y preparación de los puntos cuánticos para aplicaciones biomédicas”. Directora Dra. Janna Douda.

Agradezco a la Dra. Tetyana Torchynska Viktorivna y la Dra. Janna Douda por compartir su conocimiento, su gran apoyo y su infinita paciencia.

Contenido

Nomenclatura	1
Resumen	2
Abstract	4
Introducción.....	6
Justificación.....	10
Objetivo General	11
Objetivos particulares	11
Capitulo 1 Estado del arte	12
1.1 Efecto de confinamiento cuántico en los puntos cuánticos	12
1.2 Propiedades ópticas de puntos cuánticos	13
1.3 Tecnología de preparación del Núcleo CdSe.....	14
1.4 Tecnología de crecimiento de la coraza de ZnS	19
1.5 Tecnología de encapsulamiento de CdSe/ZnS núcleo/coraza en polímero	21
1.6 Tecnología de bioconjugación de CdSe/ZnS núcleo/coraza con biomoléculas.....	23
1.7 Espectros de fotoluminiscencia de puntos cuánticos bioconjugados	25
1.8 Estudio de espectroscopía Raman para puntos cuánticos bioconjugados	28
1.9 Interacción antígeno-anticuerpo.....	30
1.10 Anticuerpo del antígeno prostático específico	31
Capitulo 2 Muestras y Métodos	33
2.1 Síntesis de puntos cuánticos núcleo/coraza CdSe/ ZnS	33
2.1.1 Síntesis del núcleo de puntos cuánticos CdSe/ZnS	33
2.1.2 Síntesis de la coraza de puntos cuánticos CdSe/ZnS.	35
2.2 Recubrimiento de los puntos cuánticos con (NH ₂)-PEG-PE.....	36

2.3	Proceso de recubrimiento con polímero.....	37
2.4	Proceso de Bioconjugación	38
2.4.1	Anticuerpos.....	38
2.5	Espectroscopía por Fotoluminiscencia.....	41
2.6	Espectroscopía Raman.....	44
2.6.1	Descripción general del efecto Raman	44
2.6.2	Ventajas de análisis mediante espectroscopía Raman ...	47
2.6.3	Teoría de la polarización.....	48
2.6.4	Dispersión Raman aumentada en superficie (SERS).....	53
2.6.5	Características del equipo empleado	53
Capitulo 3	Análisis de los espectros de fotoluminiscencia de puntos cuánticos	55
3.1	Investigación de Fotoluminiscencia de Puntos cuánticos con emisión 565nm a una temperatura de 300 K de muestras no bioconjugados	55
3.2	Comparación de espectros de fotoluminiscencia de la muestra con diferentes intensidades de emisión 565nm no bioconjugadas (565N)	60
3.3	Investigación de fotoluminiscencia de puntos cuánticos con diferentes tamaños de núcleo de CdSe a 300 K.....	64
3.4	Investigación de puntos cuánticos con emisión 640nm a 10K. ..	66
3.5	Fotoluminiscencia de puntos cuánticos con emisión 565nm bioconjugados (565P).....	68
3.6	Comparación entre espectros de fotoluminiscencia de puntos cuánticos no bioconjugados y bioconjugados	73
3.7	Análisis de los efectos de la bioconjugación	75
3.8	Conclusiones	81
Capitulo 4	Análisis de muestras mediante espectroscopía de dispersión Raman.....	82

4.1 Espectros Raman de la muestra con emisión 565 no bioconjugada (565N)	82
4.1.1 Análisis de las líneas Raman en un intervalo de 100-800cm ⁻¹	82
4.1.2 Análisis de las líneas Raman en un intervalo de 800-1050	86
4.1.3 Análisis de los espectros Raman en un intervalo de 1050-4000 cm ⁻¹	88
4.2 Espectros de Raman de las muestras con emisión 565 bioconjugadas (565P).....	90
4.2.1 Análisis de las líneas Raman en un intervalo de 100-800cm ⁻¹	90
4.2.2 Análisis de las líneas Raman en un intervalo de 800-1050 cm ⁻¹	93
4.2.3 Análisis de los espectros Raman en un intervalo de 1050-4000 cm ⁻¹	94
4.3 Comparación y análisis de espectros de puntos cuánticos no bioconjugados y bioconjugados	96
4.4 Conclusiones	100
Capitulo 5 Conclusiones generales	101
Referencias	103
Artículos publicados, participación en conferencias, simposios y congresos; derivados de la investigación de esta Tesis	109

Índice de figuras

Figura 1-1 Niveles de energía de diferentes sistemas.....	13
Figura 1-2 Espectro de emisión y absorción de puntos cuánticos de CdSe puro.	14
Figura 1-3 Ilustración de las etapas de nucleación y crecimiento para la preparación de puntos cuánticos de alta calidad en el marco del modelo de La Mer[8].	15
Figura 1-4 Esquema de síntesis de puntos cuánticos de CdSe.	16
Figura 1-5 Experimento típico para la síntesis de nanocristales.....	17
Figura 1-6 (a) Arreglo experimental para la síntesis del núcleo de CdSe. (b) Esquema de síntesis de puntos cuánticos de CdSe a partir de CdO. .	18
Figura 1-7 Esquema general de recubrimiento con la coraza de ZnS al núcleo de CdSe.	19
Figura 1-8 (a) Espectro de absorción de puntos cuánticos de CdSe puro (●) y puntos cuánticos de núcleo/coraza CdSe/ZnS(○). Los picos de absorción se desplazan hacia el color rojo al incrementar el tamaño de los puntos cuánticos(b).	20
Figura 1-9 Esquema general de recubrimiento de puntos cuánticos con PEG.	22
Figura 1-10 Comparación de espectro de (a) absorción y (b) emisión entre puntos cuánticos y tinte orgánico Rhodamina 6G [28].	24
Figura 1-11 Esquema de reacciones químicas de bioconjugación por medio de diferentes grupos.	24
Figura 1-12 Espectro de emisión de los 4 tamaños de puntos cuánticos de CdSe/ZnS empleados en el análisis	26
Figura 1-13 Ensayos de cada toxina realizados para determinar el nivel de LDL para CT utilizando puntos cuánticos de CdSe/ZnS con emisión de 510nm, 555nm, 590nm, 610nm.	27
Figura 1-14 Espectro de fotoluminiscencia de (a) 10:1 y (b) 100:1 de concentración molar para puntos cuánticos bioconjugados con OPH analizados en una solución de paraoxón.	28
Figura 1-15 Espectro Raman para puntos cuánticos sin bioconjugación (1, 2, 3) y con bioconjugación con anticuerpo de Interleukina (4, 5, 6) Interlukina.	29

Figura 1-16 Esquema de interacción antígeno-anticuerpo.	30
Figura 2-1. Esquema (a) y arreglo experimental (b) de síntesis del núcleo de los puntos cuánticos de CdSe/ZnS.....	34
Figura 2-2 Esquema de síntesis de la coraza de los puntos cuánticos CdSe/ZnS.....	35
Figura 2-3 Esquema de puntos cuánticos de CdSe/ZnS después de la síntesis. Los puntos cuánticos después de la síntesis están recubiertos por TOPO.	36
Figura 2-4 Esquemas de (a) PEG-PE especificado como R y (b) (NH ₂)-PEG-PE.....	37
Figura 2-5 Esquema de puntos cuánticos de CdSe/ZnS después del recubrimiento con PEG.....	38
Figura 2-6 (a) SMCC y (b) amino tiolo SMCC.	39
Figura 2-7 Proceso de bioconjugación realizado en el presente trabajo. ...	40
Figura 2-8 Esquema de absorción y emisión espontánea de los fotones.	42
Figura 2-9 Arreglo experimental de fotoluminiscencia con laser, monocromador, detector y criostato.	43
Figura 2-10 Mecanismos involucrados en el efecto Raman.	46
Figura 2-11 Arreglo experimental de Raman con laser, monocromador y detector de CCD.....	54
Figura 3-1 Espectros de fotoluminiscencia normalizados de la muestra de puntos cuánticos 565N a una temperatura de 300K con diferente intensidad de emisión.....	56
Figura 3-2 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 5 bandas elementales para la muestra 565Nx1 a una temperatura de 300K.....	58
Figura 3-3 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 5 bandas elementales para la muestra 565Nx11 a una temperatura de 300K.....	59
Figura 3-4 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 5 bandas elementales para la muestra 565Nx18 a una temperatura de 300K.....	60
Figura 3-5 Espectro normalizado de fotoluminiscencia de los puntos cuánticos 565N (sin bioconjugación) para una muestra con diferente intensidad de fotoluminiscencia a una temperatura de 300K.	61
Figura 3-6 Dependencia del cambio de área de las diferentes bandas de fotoluminiscencia elementales en función de la intensidad de fotoluminiscencia de la muestra 565N.....	63

Figura 3-7 Espectro de fotoluminiscencia normalizado de puntos cuánticos núcleo/coraza CdSe/ZnS con diferentes tamaños.....	65
Figura 3-8 Comparación de espectros de fotoluminiscencia normalizados de la muestra con puntos cuánticos 640N a una temperatura de 10K y 300K.	67
Figura 3-9 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 1 banda fundamental para la muestra 565P x4.	68
Figura 3-10 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 5 bandas elementales para la muestra 565P x12.	69
Figura 3-11 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 5 bandas elementales para la muestra 565P x68 Curva c.	70
Figura 3-12 Espectro de fotoluminiscencia normalizado de los puntos cuánticos 565P (bioconjugados) realizado a 300K para s con diferentes intensidades de fotoluminiscencia (a, b, c).	71
Figura 3 13 Dependencia del cambio de área de las diferentes bandas elementales en función de la intensidad de fotoluminiscencia de la muestra 565N.	73
Figura 3-14 Comparación de espectros de fotoluminiscencia normalizados de puntos cuánticos no bioconjugados (565N) y bioconjugados (565P). .	74
Figura 3-15 Diagrama de energía de los puntos cuánticos no bioconjugados núcleo/coraza CdSe/ZnS recubiertos con polímero.	77
Figura 3-16 Diagrama de energía de los puntos cuánticos bioconjugados núcleo/coraza CdSe/ZnS recubiertos con polímero.....	79
Figura 3-17. Comparación de espectros de fotoluminiscencia normalizados de la muestras de puntos cuánticos 565N y 565P bajo un mismo factor multiplicativo	80
Figura 4-1 Espectro Raman de las muestra 565 N-1, N-2, N-3 (mediaciones realizadas en diferentes zonas de la muestra) en un intervalo de análisis de 100-1200 cm^{-1}	83
Figura 4-2 Intensidades de los espectros Raman de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 100-800 cm^{-1}	84
Figura 4-3 La zona de Brillouin para una red cristalina cúbica centrada en las caras [60].	85
Figura 4-4 Intensidades de los espectros Raman de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 800-1050 cm^{-1}	87

Figura 4-5 Intensidades de los espectros Raman de las muestras 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 1050 a 4000 cm^{-1}	89
Figura 4-6 Espectro Raman de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 (mediaciones realizadas en diferentes zonas de la muestra) en un intervalo de análisis de 100-1200 cm^{-1}	91
Figura 4-7 Intensidades de los espectros Raman de las muestras 565 P-1, 565 P-2, 565 P-3 en un intervalo de 100-800- cm^{-1}	92
Figura 4-8 Intensidades de los espectros Raman de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 en un intervalo de 800-1050 cm^{-1}	93
Figura 4-9 Intensidades de los espectros Raman de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 en un intervalo de 1050 a 4000 cm^{-1}	95
Figura 4-10 Espectro Raman de las muestras no bioconjugadas (a) y bioconjugadas (b) en un intervalo de análisis de 100-1200 cm^{-1}	96
Figura 4-11 Espectros Raman de la muestra no bioconjugada (a) y bioconjugada (b) en un intervalo de análisis de 100-800 cm^{-1} (1) y 800-1050 cm^{-1} (2)	97
Figura 4-12 Espectro Raman de las muestras no bioconjugadas y bioconjugadas en un intervalo de análisis de 1050-4000 cm^{-1}	98
Figura 4-13 Espectro Raman de la muestra 565 sin recubrimiento de polímero en un intervalo de análisis de 2500-4000 cm^{-1}	99

Índice de tablas

Tabla 1.1 Configuración de ensayos de toxinas individuales.	26
Tabla 3.1 Ubicación de picos de bandas elementales para la muestra normalizada de puntos cuánticos 565N con diferente intensidad de emisión.	55
Tabla 3.2 Valores de las curvas Gaussianas de las bandas elementales de la muestra 565N x1 Figura.3.2 Curva a.	57
Tabla 3.3 Valores de las curvas Gaussianas de las bandas elementales de la muestra 565N x11 Figura.3.3 Curva b.	58
Tabla 3.4 Valores de las curvas Gaussianas de las bandas elementales de la muestra 565N x18 Figura.3.4 Curva c.	59
Tabla 3.5 Asignación de intervalo de energía a las diferentes bandas elementales.	62
Tabla 3.6 Relación de intensidades del espectro de fotoluminiscencia con el factor multiplicativo de normalización.	62
Tabla 3.7 Relación de áreas con intensidades relativas.	63
Tabla 3.8a Datos de deconvolución de la muestra con emisión 525nm, Figura.3-7, Curva a.	64
Tabla 3.8b Datos de deconvolución de la muestra con emisión 565nm, Figura.3-7, Curva b.	64
Tabla 3.8c Datos de deconvolución de la muestra con emisión 605nm, Figura.3-7, Curva c.	64
Tabla 3.8d Datos de deconvolución de la muestra con emisión 640nm, Figura.3-7, Curva d.	65
Tabla 3.9a Valores de las bandas de deconvolución de la muestra con emisión 640nm a una temperatura de 10K.	66
Tabla 3.9b Valores de las bandas de deconvolución de los puntos cuánticos con emisión en 640 nm a una temperatura de 300K.	67
Tabla 3.10 Valor característico de la curva Gaussiana que representa la emisión del núcleo de CdSe Figura.3.9 Curva a.	68
Tabla 3.11 Valores de las bandas de deconvolución de los puntos cuánticos 565P (bioconjugados), de la Figura 3-8 Curva b.	69

Tabla 3.12 Valores de las bandas de deconvolución de los puntos cuánticos 565P (con bioconjugación), de la figura 3-11.	70
Tabla 3.13 Relación de intensidades del espectro de fotoluminiscencia con el factor multiplicativo de normalización para muestras.....	72
Tabla 3.14 Relación de áreas con intensidades relativas.....	72
Tabla 4.1. Líneas Raman de los picos de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 100 a 800 cm^{-1}	83
Tabla 4.2. Frecuencias características de fonones de los puntos de alta simetría de la zona de Brillouin en Silicio [60].....	85
Tabla 4.3. Líneas Raman de los picos de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 800 a 1050 cm^{-1}	86
Tabla 4.4. Posiciones de los picos de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 1050 a 4000 cm^{-1}	88
Tabla 4.5. Líneas Raman de los picos de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 en un intervalo de 100 a 800 cm^{-1}	91
Tabla 4.6. Líneas Raman de los picos de las muestras 565 P-1, 565 P-2, 565 P-3 en un intervalo de 800-1050 cm^{-1}	93
Tabla 4.7. Posiciones de los de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 en un intervalo de 1050 a 4000 cm^{-1}	94

Nomenclatura

CdSe/ZnS	Núcleo de seleniuro de Cadmio/ Coraza de sulfuro de zinc
CdSe	Seleniuro de Cadmio
ZnS	Sulfuro de zinc
Nm	Nanómetro
eV	Electronvolt
K	Grados Kelvin
mab-PSA	Anticuerpo del antígeno de próstata específico de ratón.
Å	Armstrong
Cd(CH ₃) ₂	Dimetil-Cadmio
Cd	Cadmio
°C	Grados centígrados
Cd(CH ₃ CO ₂) ₂	Acetato de Cadmio
CdO	Oxido de Cadmio
(TMS) 2S	2 (trimetilsilil) sulfuro
PEG	Polietilenglicol
Fwhm	Ancho a la mitad del máximo
LO	Longitudinal óptico
TO	Transversal óptico
LA	Longitudinal acústico
TA	Transversal acústico
TOPO	Oxido de 3-octilfosfina
TOP	3-octilfosfina
ODA	Octadecilamina
HDA	Hexadecilamina
DDA	Dodecilamina
HRTEM	Microscopia electrónica de transmisión de alta resolución
G	Gramos
PEG-PE	Amino-polietilenglicol fosfatidiletanolamina
KPO4	Fosfato de potasio
NaCl	Cloruro de sodio
SMCC	Sulfosuccinimidil 4-(N-maleimidometil]ciclohexano- 1 – carboxilato)
E ₁	Estado base
E ₂	Estado excitado
ZB	Zona de Brillouin
CdCl ₂	Cloruro de Cadmio
SERS	Dispersión Raman aumentada en superficie

Resumen

En la presente tesis se reportan los resultados de una investigación en lo referente a la fotoluminiscencia y los espectros de dispersión Raman, de puntos cuánticos núcleo/coraza de CdSe/ZnS, tanto no bioconjugados, como bioconjugados. En una primera fase, se realizó la investigación de la fotoluminiscencia de puntos cuánticos con diferentes longitudes de onda de 525 nm (2.36 eV), 565 nm (2.20 eV), 605 nm (2.04 eV) y 640 nm (1.93 eV) correspondientes, respectivamente a los tamaños de 3.2 nm, 4.0 nm, 5.1 nm y 6.3 nm. El espectro de fotoluminiscencia de puntos cuánticos no bioconjugados, está caracterizado por la superposición de bandas de fotoluminiscencia, generadas tanto por la emisión de “electrón-hueco” del núcleo del CdSe 565nm (de 2.19-2.22 eV), como por la emisión de los “electrón-hueco”, vía estados de interfase (2.37, 2.73 y 3.02 eV) ubicados en CdSe/ZnS o ZnS/polímero. La localización de los centros de emisión de alta energía en los estados de interfase, se confirmó debido a que la posición de los picos no depende del tamaño de los puntos cuánticos y de las temperaturas en la medición. Se utilizaron los puntos cuánticos CdSe/ZnS comerciales, con un tamaño de 3.6-4.0 nm cubiertos con polímero, con un color de emisión en 560-565 nm (2.19-2.22 eV), fueron usados para el estudio de bioconjugación. Así mismo, la bioconjugación de los puntos cuánticos se realizó con el *antibody mouse anti Prostate-Specific Antigen* (mab-PSA). Se observó un cambio drástico en el espectro de fotoluminiscencia de los puntos cuánticos bioconjugados, con un decremento esencial del flujo de recombinación de electrón-hueco, vía estados de interfase. Este efecto puede explicarse tomando como base la recarga de estados de interfase de puntos cuánticos en la bioconjugación. El análisis del espectro de dispersión Raman de los puntos cuánticos CdSe/ZnS cubiertos con polímero, tanto no bioconjugados como bioconjugados, con el mab-PSA, se realizó a temperatura ambiente (300K). En el espectro se observan dos tipos de picos: el primer tipo se relaciona con el sustrato Si, a 230-460, 522, 610, 670, 940-1040 cm^{-1} y el segundo tipo, se relaciona con el polímero de la superficie de los puntos cuánticos en el intervalo espectral 1268-2210 cm^{-1} . Se observó que la

bioconjugación de puntos cuánticos en el mab-PSA, está acompañada de una variación dramática en la intensidad de las líneas Raman antes mencionadas.

La explicación del efecto antes señalado, fue propuesta en función de la dispersión Raman aumentada en la superficie (SERS), el cual, de manera simultánea, confirma que la biomolécula estudiada, tiene momento dipolar y puede participar en una interacción electrostática en el proceso de bioconjugación. Como resultado de estos experimentos, se concluye que los puntos cuánticos CdSe/ZnS con estados de interfase, tienen propiedades que los hacen muy prometedores para el estudio de efectos de bioconjugación con anticuerpos.

Abstract

In this thesis, the photoluminescence (PL) and Raman scattering spectra of nonconjugated and bioconjugated core-shell CdSe/ZnS quantum dots (QDs) has been studied. At the first PL of QDs of different emission wavelengths 525nm (2.36eV), 565nm (2.20 eV), 605 nm(2.04 eV) and 640 nm (1.93 eV) corresponding to the QD sizes 3.2 nm, 4.0 nm, 5.1 nm, 6.3 nm, respectively, has been investigated. PL spectra of nonconjugated QDs are characterized by a superposition of PL bands related to exciton emission in the CdSe core and to electron-hole emission via interface states (2.37, 2.73 and 3.02 eV) at the CdSe/ZnS or ZnS-polymer interfaces. The localization of high energy emission centres at the interface was confirmed by the independence of peak positions versus QD sizes and temperatures of measurement. The commercial CdSe/ZnS QDs with the size between 3.6-4.0 nm covered by polymer with colour emission at 560-565 nm (2.19-2.22 eV) have been used for the bioconjugation study. The QD bioconjugation is performed with the mouse anti Prostate-Specific Antigen antibody (mab-PSA). The PL spectra of bioconjugated QDs have changed dramatically, with essential decreasing of the electron-hole recombination flow via interface states. This effect is explained on the base of re-charging of QD interface states at the bioconjugation. The analysis of Raman scattering spectra of 565 nm CdSe/ZnS QDs covered by polymer with and without bio-conjugation to the mouse anti PSA (Prostate-Specific Antigen) antibodies, measured at room temperature (300K), demonstrates two groups of peaks related to: 1) the Si substrate at 230-460, 522, 610, 670, 940-1040 cm^{-1} and 2) related to polymer on the QD surface in the spectral range 1268-3310 cm^{-1} . It is revealed that the QD bio-conjugation to the mab-PSA is accompanied by a dramatic variation in the intensity of the Raman lines of both types. The explanation of mentioned effect in bio-conjugated QDs has been proposed on the base of surface enhanced Raman scattering (SERS) effect that, at the same time, has confirmed that studied biomolecules have a dipole moment and can participate in electrostatic interaction with QD in the

bioconjugation process. It is shown that CdSe/ZnS QDs with interface states are very promising for the study of bioconjugation effects to antibodies.

Introducción

Cuando se construyen estructuras de dimensiones del orden de nanómetros utilizando materiales semiconductores, éstas, manifiestan nuevas propiedades ópticas, estructurales entre otras, las cuales pueden ser utilizadas tanto para el estudio de la física básica de sistemas cero-dimensionales como, para las aplicaciones tecnológicas de dispositivos optoelectrónicos [1, 2].

Las propiedades de los materiales a escala nanométrica cambian drásticamente debido a fenómenos cuánticos que provienen del confinamiento de electrones, huecos y excitones. Los materiales en tal escala, hacen posible modificaciones en otras propiedades del material, tales como las eléctricas y las ópticas, las cuales manifiestan un comportamiento muy diferente, al que poseen estos mismos materiales en grandes dimensiones (en bulto).

El confinamiento cuántico define tres grandes tipos de nanoestructuras: los pozos cuánticos, los alambres cuánticos y los puntos cuánticos. En los pozos cuánticos, los portadores están confinados en la dirección perpendicular a la capa, pero se mueven libremente en el pozo. Por otra parte, en los alambres cuánticos, los portadores están confinados en las dos direcciones, y se mueven libremente a lo largo del eje del alambre. Así mismo, en los puntos cuánticos, el confinamiento se da en las tres direcciones[3].

Se denomina punto cuántico a los nanomateriales semiconductores, los cuales presentan un confinamiento de excitones y/o portadores en las tres dimensiones. Los puntos cuánticos por lo tanto, actúan como “*átomos artificiales*”, confinando excitones, electrones y huecos en las tres dimensiones. Sin embargo, esta analogía debe considerarse con cuidado, pues hay que recordar que a diferencia de lo electrones de un átomo, los portadores en los puntos cuánticos interactúan

fuertemente con las vibraciones de la red y están frecuentemente influenciados por defectos, superficies e interfaces [3].

Para la creación de puntos cuánticos, pueden hacerse crecer, y para ello, se han desarrollado tres importantes técnicas como son: las síntesis en suspensión, las litográficas y el crecimiento epitaxial.

Por el método de síntesis en suspensión, se preparan los puntos cuánticos monodispersos a partir de precursores en suspensiones. Así mismo, con las técnicas litográficas, un punto cuántico es creado cuando una barrera de potencial electrostática ha sido inducida y en el caso de crecimiento epitaxial los puntos cuánticos se forman al momento del crecimiento.

De esta manera, los puntos cuánticos, son estructuras semiconductoras muy pequeñas (2-15 nm de diámetro) cubiertas por otro material semiconductor de una banda prohibida más grande. Es necesario señalar que los puntos cuánticos son regiones con propiedades bien definidas, que poseen un comportamiento, semejante al de los átomos. Tal comportamiento proporciona un excelente e interesante campo, para el estudio de la física del confinamiento de los portadores y fenómenos de muchos cuerpos [4, 5].

Con base en lo anterior, las aplicaciones que se vislumbran para los puntos cuánticos son muchas y variadas. Esto se ilustra, por ejemplo, con los dispositivos luminosos, ya que el color de la luz que emiten los materiales con nanoestructuras de puntos cuánticos, depende de las dimensiones del punto cuántico. El aumento del tamaño de los puntos cuánticos produce un efecto batocrómico o corrimiento al rojo en la luz (el desplazamiento de los máximos de los picos de absorción hacia las longitudes de onda más largas). A su vez, la disminución del tamaño produce un efecto hípocromico o corrimiento a la luz azul (disminución en la longitud de onda). Todo el espectro de la luz visible podría obtenerse a partir de la emisión de luz por los puntos cuánticos cambiando simplemente el tamaño de los puntos

cuánticos. De esta manera, sería posible también el diseño de diodos emisores de luz (LEDs) de cualquier color. Así mismo, la fabricación de “sintonizadores” de colores desde el azul hasta el rojo, es hoy prácticamente una realidad, debido a que si se colocan estos puntos cuánticos en polímeros y se fabrican películas de grosores que van de 1000 a 2000 angstroms. Además, se podrían construir diodos que emitan luz blanca combinando puntos cuánticos de diferentes tamaños. Por ejemplo, se podrían diseñar materiales con puntos cuánticos para hacer compuertas lógicas ultra rápidas e interruptores ópticos. Estas compuertas e interruptores podría trabajar a la velocidad de 15 terabytes por segundo (las redes de Ethernet actuales trabajan a solo 10 megabits por segundo).

También se podría aplicar en multiplexores ópticos (separando varias señales de diferente longitud de onda en una fibra óptica). Existen más aplicaciones posibles en otros campos como criptografía cuántica, computación cuántica, diodos laser, transistores cuánticos y dispositivos optoelectrónicos que trabajen más rápido, con luz que con electricidad. Así mismo, se pueden utilizar en computadoras en las cuales no haya corrientes eléctricas sino solo flujos de luz. Otro posible uso de este espectro de colores podría realizarse en biosensores utilizados para detectar agentes infecciosos. Hoy en día estos biosensores, basados en fluorescencia, dependen de tintas orgánicas para marcar al agente. La luminiscencia de las tintas orgánicas comprende un pequeño intervalo del espectro, y además se degrada con el tiempo, lo cual prácticamente se evitaría utilizando puntos cuánticos.

En el presente trabajo de tesis en el capítulo 1 se presenta el estado del arte el cual presenta estudios referentes a los fenómenos físicos que se presentan en puntos cuánticos, de igual forma, diferentes técnicas de: síntesis de puntos cuánticos, bioconjugación, análisis de fotoluminiscencia y espectroscopía Raman en puntos cuánticos, así como la interacción antígeno-anticuerpo. En el capítulo 2 se muestran las características de los puntos cuánticos empleados, la preparación de la muestra, así como la descripción de las técnicas de espectroscopía fotoluminiscencia y espectroscopía de dispersión Raman. En el capítulo 3 se

presenta el análisis de espectroscopía por fotoluminiscencia así como el planteamiento de un modelo que describa los fenómenos observados. En el capítulo 4 se muestra el análisis realizado a los puntos cuánticos mediante la espectroscopia de dispersión Raman. Al final se presentan las conclusiones basadas en la los resultados obtenidos en la presente tesis.

Justificación

Los puntos cuánticos de CdSe/ZnS, son, ampliamente utilizados para investigaciones de procesos de bioconjugación con diferentes biomoléculas, como las proteínas y los aminoácidos entre otros. Hasta el presente, la bioconjugación de puntos cuánticos CdSe/ZnS con el mab-PSA no ha sido investigada.

En la actualidad, los datos publicados referentes a la fotoluminiscencia de puntos cuánticos CdSe/ZnS bioconjugados están principalmente relacionados con el cambio de intensidad de fotoluminiscencia [7, 24, 27, 28, 35]. Sin embargo, no se ha llevado a cabo el análisis, cuando los espectros de fotoluminiscencia tienen variaciones en la forma y no solo en la intensidad, de igual forma, no se ha propuesto un modelo el cual pueda explicar este fenómeno.

En este trabajo se investigan los cambios en el proceso de fotoluminiscencia de los puntos cuánticos de núcleo-coraza de CdSe-ZnS debidos a la bioconjugación con las biomoléculas mab-PSA. Además se propone un modelo viable para explicación de estos cambios. Como consecuencia, la técnica de fotoluminiscencia resulta ser útil para identificar la bioconjugación de los puntos cuánticos debido a los cambios de los espectros obtenidos sin y con bioconjugación.

Además, se realizan las investigaciones de la espectroscopía Raman de los puntos cuánticos de núcleo-coraza de CdSe-ZnS no bioconjugados y bioconjugados con las biomoléculas mab-PSA. Los resultados obtenidos permiten además de identificación del proceso de bioconjugación, obtener la información adicional referente a la carga de los anticuerpos así como de su momento dipolar.

La información, que proporcionan las ambas técnicas de estudios ópticos puede ser aplicada para la detección del proceso de bioconjugación y su modelado. Y se espera, que en un futuro cercano, los puntos cuánticos bioconjugados se podrán aplicar en la clínica para una detección temprana de cáncer.

Objetivo General

Investigar los espectros de fotoluminiscencia y dispersión Raman de los puntos cuánticos núcleo/coraza de CdSe/ZnS, en los cuales se presentan estados de interfase, así como la modificación de los espectros de fotoluminiscencia y dispersión Raman en los procesos de bioconjugación con anticuerpos de Antígeno Prostático Específico (mab-PSA).

Objetivos particulares

1. Estudiar comparativamente la fotoluminiscencia de puntos cuánticos de CdSe/ZnS no bioconjugados con tamaños diferentes, con emisión en 525nm (2.36eV), 565 nm (2.20 eV), 605 nm (2.04 eV) y 640 nm (1.93 eV) que corresponden a tamaños de 3.2 nm, 4.0 nm, 5.1 nm respectivamente así como el análisis correspondiente a estas muestras.
2. Estudiar los espectros fotoluminiscencia de puntos cuánticos CdSe/ZnS a 565nm tanto bioconjugados como no bioconjugados, con mab-PSA.
3. Estudiar los espectros de dispersión de Raman de puntos cuánticos CdSe/ZnS a 565nm no bioconjugados y bioconjugados con mab-PSA.
4. Proponer un modelo físico para explicar los fenómenos que acompañan al proceso de bioconjugación con anticuerpos de mab-PSA y su influencia a los espectros de fotoluminiscencia y dispersión Raman.

Capítulo 1 Estado del arte

1.1 Efecto de confinamiento cuántico en los puntos cuánticos

Los puntos cuánticos han sido objeto de un gran interés de la comunidad científica durante las últimas dos décadas, principalmente debido a sus aplicaciones tanto como sondas fluorescentes de gran potencia y/o como módulos de biosensores [1, 2].

Debido a su tamaño nanométrico, (siendo éste del mismo orden de magnitud del radio de Bóhr de un excitón a temperatura ambiente), [3] los estados de portadores de libres (electrones y huecos) en semiconductores, están cuantizados. El movimiento de los electrones y los huecos son objeto de estudio de la mecánica cuántica. Este fenómeno es llamado efecto de confinamiento cuántico [3]. En forma semejante al modelo de una partícula en una caja de potencial, los niveles de energía de los electrones y huecos en el punto cuántico son discretos y dependen de sus dimensiones respectivas.

Los puntos cuánticos pueden ser considerados como “*átomos artificiales*” debido a la similitud entre los niveles discretos de energía de éstos y los niveles de energía del los átomos (Figura 1-1) [3].

Dado que los niveles de energía de puntos cuánticos son dependientes del tamaño, los niveles de energía pueden ajustarse de un modo controlable, durante la síntesis de los diferentes tamaños de los nanocristales de la misma composición.

Los niveles de energía dependientes del tamaño de los nanocristales semiconductores contribuyen a la manifestación de extraordinarias propiedades ópticas y eléctricas [4, 5].

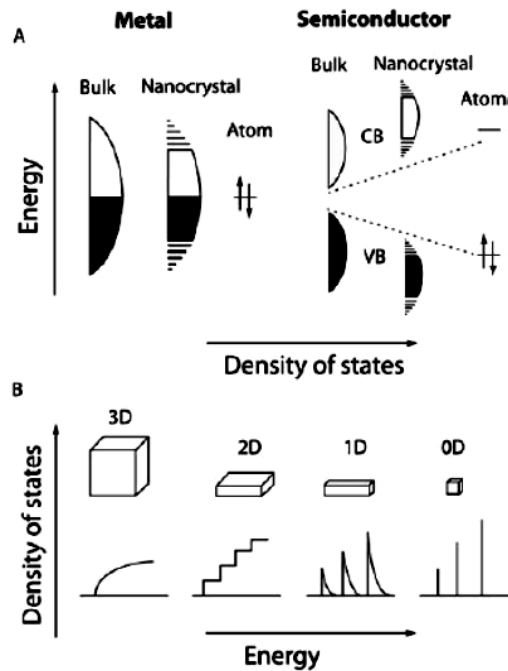


Figura 1-1 Niveles de energía de diferentes sistemas A) Representación esquemática de la densidad de estados en un metal y los nanocristales semiconductores B) Densidad idealizada de los estados en una banda de un semiconductor en función de sus grados de libertad. 3D para grandes dimensiones, 2D para las películas cuántica, 1D para las fibras o hilos cuánticos y 0D de puntos cuánticos[3].

1.2 Propiedades ópticas de puntos cuánticos

Las propiedades ópticas de los puntos cuánticos están relacionadas tanto a la estructura electrónica, como a la composición química y al tamaño del cristal.

La figura 1-2 muestra como la emisión de los puntos cuánticos de CdSe puede ser modificada controlando el tamaño de los nanocristales. Se observa que al incrementar el tamaño, el espectro de emisión se desplaza del color azul al rojo

[6], a mayor tamaño, el espectro de emisión de los puntos cuánticos se desplaza hacia el color rojo, es decir, hacia menores niveles de energía [7] (Figura 1-2).

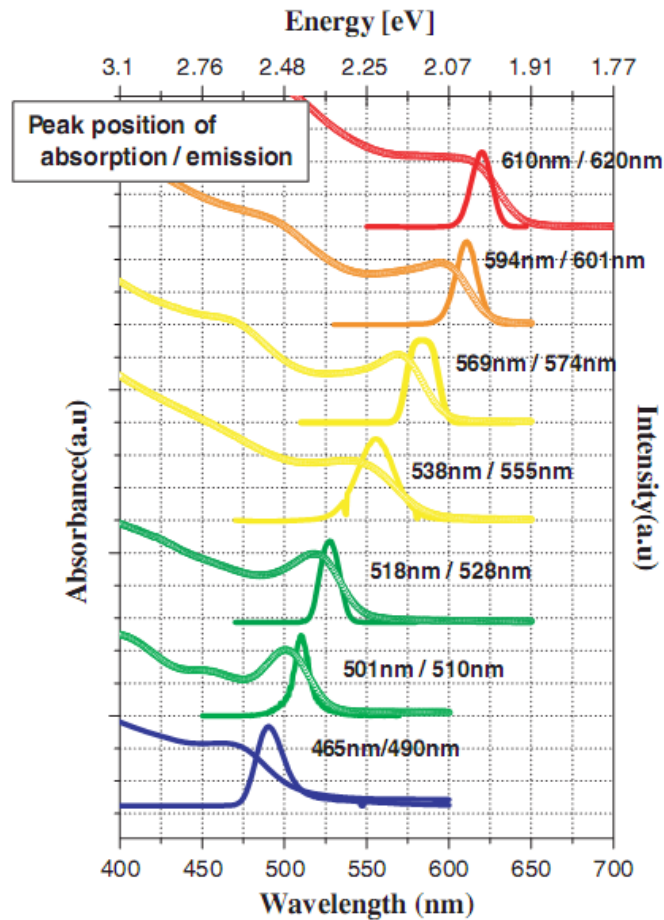


Figura 1-2 Espectro de emisión y absorción de puntos cuánticos de CdSe puro. Al cambiar el tamaño de los puntos cuánticos, el espectro de absorción y emisión cambia. Los radios de los puntos cuánticos de CdSe puro utilizados son de 13 Å (465-490nm) 15 Å (594-601 nm) , 16 Å (501-510 nm) 18 Å (518-528 nm) 22 Å (538-555 nm),, 25 Å (569-574 nm), y 27 Å (610-620 nm), respectivamente [7].

1.3 Tecnología de preparación del Núcleo CdSe

Como se ilustra en la figura 1-3, el modelo de La Mer muestra que la producción de partículas coloidales monodispersas, requiere de un crecimiento de las partículas con el tiempo controlado [8]. El lento crecimiento y el calentamiento del

solvente producen una superficie uniforme y regular en la estructura del núcleo. Las partículas formadas son monodispersas cristalinas, las cuales a su vez, pueden ser dispersadas en una variedad de solventes orgánicos.

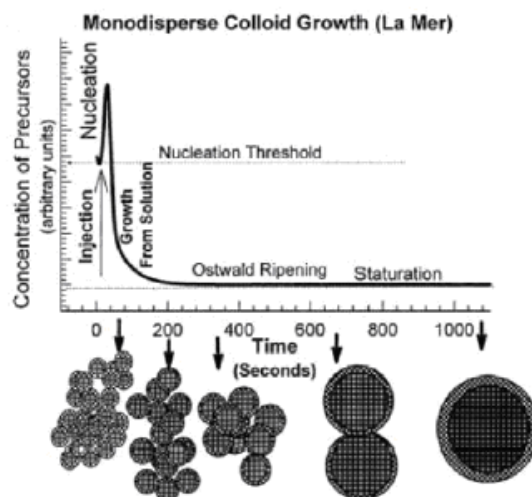


Figura 1-3 Ilustración de las etapas de nucleación y crecimiento para la preparación de puntos cuánticos de alta calidad en el marco del modelo de La Mer[8].

El primer método para preparar nanocristales de CdSe altamente monodispersos fue propuesto por Murray, Norris y Bawendi en 1993 [9]. La síntesis tiene como base la pirólisis de reactivos organometálicos con inyección en solventes. Así mismo, la clave para la obtener partículas monodispersas, es la separación de los procesos de nucleación y los pasos del crecimiento.

Así mismo, los puntos cuánticos de CdSe de mejor calidad, se pueden preparar a partir de los precursores pirofóricos como $\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$ y de Selenio elemental en trioctilfosfina (TOP)/óxido de trioctilfosfina (TOPO) o hexadecilamina (HDA) a temperaturas de $250\text{-}350^\circ\text{C}$ [10] (Figura 1-4).

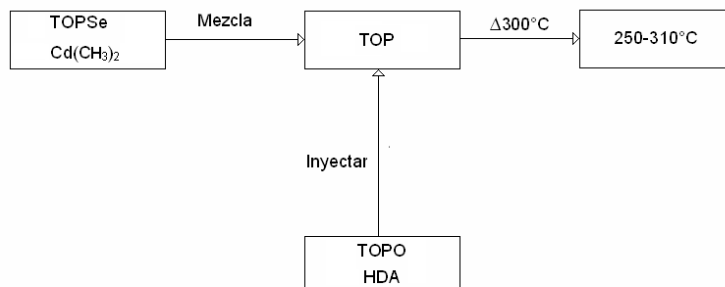


Figura 1-4 Esquema de síntesis de puntos cuánticos de CdSe.

El arreglo experimental típico para la síntesis de nanocristales se muestra en la figura 1-5. El solvente en esta reacción es TOPO, el cual, se introduce en el recipiente de la reacción, y se calienta a 300 °C. El precursor del Cadmio es el dimetilCadmio $(\text{CH}_3)_2\text{Cd}$, el cual se prepara en una atmosfera inerte o al vacio. El dimetilCadmio se mezcla con TOP y se carga en una jeringa. Se retira la fuente de calor de la reacción del recipiente, y el TOP con Cd, es inyectado rápidamente en la solución del TOPO.

La inyección de los reactivos a temperatura ambiente, causa una disminución rápida de la temperatura hasta 180°C. La fuente de calor es colocada nuevamente y la temperatura incrementa gradualmente de hasta 260°C.

Las alícuotas de la solución de reacción, son removidas del recipiente de reacción en intervalos de 5 a 10 minutos, y se mide el espectro de absorción. De esta manera se monitorea durante el crecimiento de los nanocristales. Cabe señalar, que la principal desventaja de esta técnica de síntesis es que el $(\text{CH}_3)_2\text{Cd}$ es un compuesto pirofórico, es decir, es altamente inflamable [11].

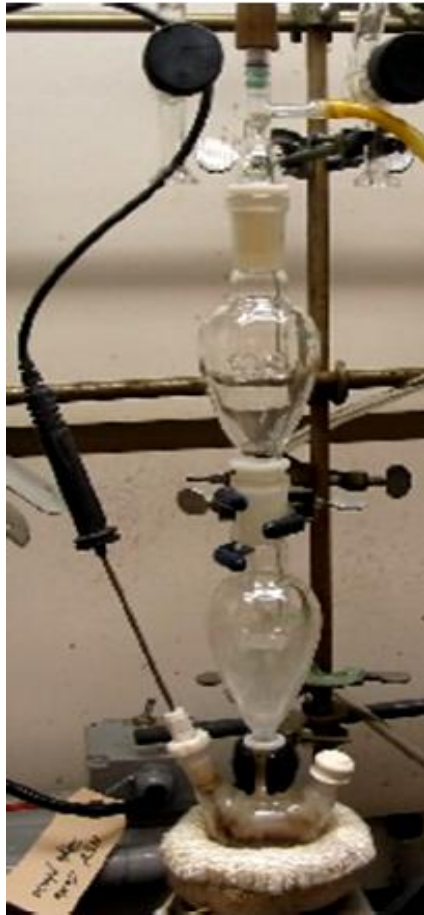


Figura 1-5 Experimento típico para la síntesis de nanocrisales. Un matraz aforado de tres cuellos se coloca en una manta calefactora, equipada con termopar, condensador y un tabique, los reactivos se inyectan con una jeringa [11].

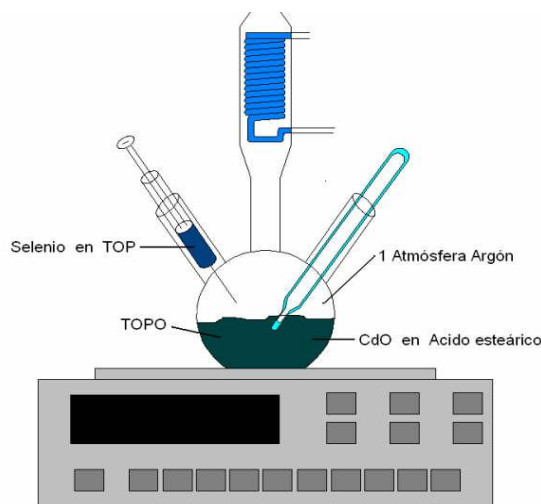
Las principales ventajas de emplear disolventes orgánicos hidrofóbicos (TOPO y HDA) en los procesos de síntesis de puntos cuánticos son que además de servir como medio de reacción, se combinan con átomos de metales insaturados, en la superficie de los puntos cuánticos, para prevenir la sedimentación de las partículas formadas.

La hexadecilamina ha sido utilizada en diferentes técnicas de síntesis como un co-solvente. El crecimiento de nanocrisales en TOPO/HDA, permite obtener

partículas monodispersas en tamaño. Con la HDA se obtienen partículas más estables manteniendo sus propiedades por más tiempo [12,13].

En un trabajo de Peng & Peng [14], se presentó una metodología de síntesis que, utiliza CdO como el precursor de Cadmio (figura 1-6).

(a).



(b)

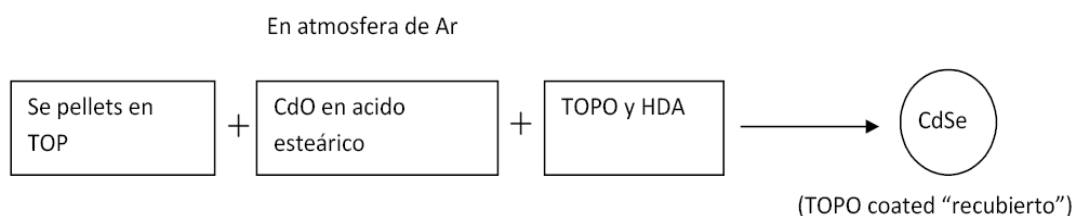


Figura 1-6 (a) Arreglo experimental para la síntesis del núcleo de CdSe. (b) Esquema de síntesis de puntos cuánticos de CdSe a partir de CdO.

Por otra parte Weller y su grupo de trabajo desarrollaron una metodología sintética utilizando acetato de Cadmio $Cd(CH_3CO_2)_2$ como el precursor [15]

1.4 Tecnología de crecimiento de la coraza de ZnS

Las metodologías descritas anteriormente permiten preparar nanocristales de CdSe monodispersos y con el tamaño de las partículas deseado. Así mismo, el rendimiento cuántico varía entre 1% y 15%. De hecho, nanocristales grandes de CdSe no muestran fluorescencia debido a la captura de los portadores en la superficie [16].

Sin embargo, es deseable que los nanocristales tengan un alto rendimiento cuántico de luminiscencia. La coraza previene la foto-corrosión y aumenta la *eficiencia cuántica* (el porcentaje de luz emitida respecto a la luz recibida durante la excitación) de partículas tipo punto cuántico núcleo-coraza de CdSe/ZnS (Figura. 1-7).

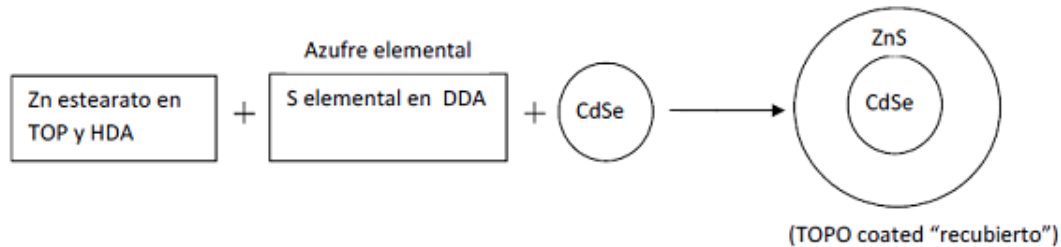


Figura 1-7 Esquema general de recubrimiento con la coraza de ZnS al núcleo de CdSe.

La coraza se agrega térmicamente en forma de otro semiconductor, que tiene la banda prohibida más grande comparándola con la de material del núcleo [17, 18]. Esto se realiza principalmente para aumentar la intensidad de los picos de fotoluminiscencia [7] (Figura 1-8).

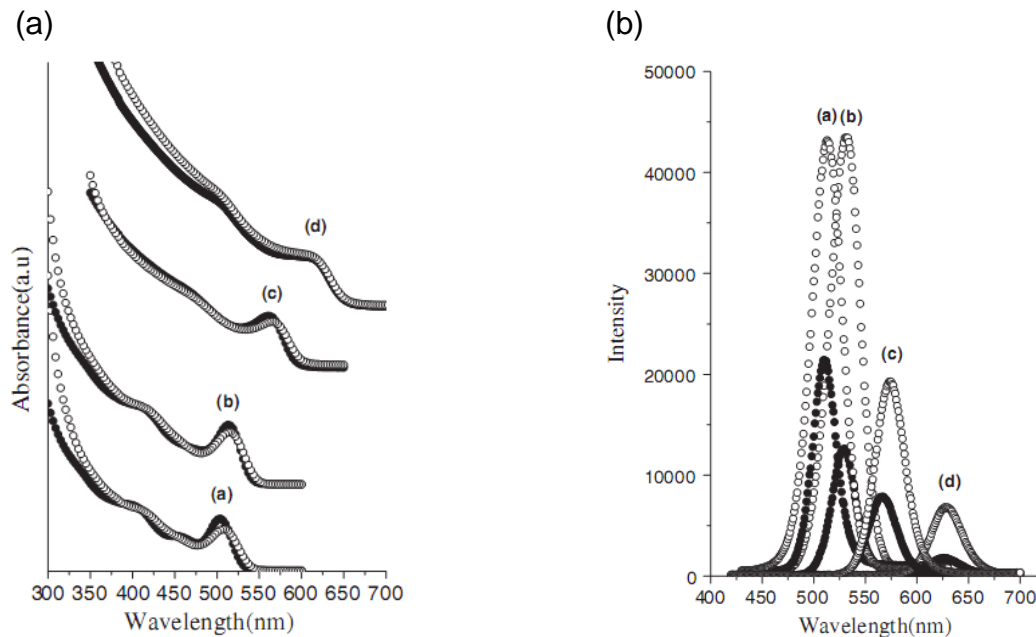


Figura 1-8 (a) Espectro de absorción de puntos cuánticos de CdSe puro (●) y puntos cuánticos de núcleo/coraza CdSe/ZnS(○). Los picos de absorción se desplazan hacia el color rojo al incrementar el tamaño de los puntos cuánticos (b) [7].

El primer método para la fabricación de nanocristales CdSe recubiertos de ZnS presentado por Hines y Guyot-Sionnest. Los nanocristales CdSe se prepararon por la adición de la solución de TOP:Se y Cd a TOPO a 350°C. La mezcla de reacción se deja enfriar, y cuando llega a 300 °C se agregan los reactivos Zn / S / TOP.

La solución de Zn / S / TOP se preparó utilizando (TMS)₂S (2 (trimetilsilil) sulfuro) y en el proceso de los nanocristales de CdSe se emplearon (CH₃)₂Cd y los precursores de azufre. Se inyectaron en la solución de los reactivos Zn / S / TOP en cinco proporciones medio de mililitro a intervalos de 20 segundos.

1.5 Tecnología de encapsulamiento de CdSe/ZnS núcleo/coraza en polímero

Debido a los métodos de síntesis utilizados, los nanocristales tienen moléculas orgánicas no polares en la superficie, lo que los hace incompatibles con los sistemas acuosos. La estrategia común para dispersar los puntos cuánticos en agua, consiste en sustituir los ligandos hidrofóbicos por los hidrofílicos [19].

Con esta finalidad, se utilizan varios agentes dispersantes, tales como surfactantes, polímeros, grupos quelantes, etc. Particularmente, para aplicaciones biológicas de puntos cuánticos, estos deben ser hidrosolubles.

Uno de los primeros métodos introducidos, incluye la agregación de Silicio en la superficie de los puntos cuánticos. Los monómeros iniciales de Silicio, que contienen grupos tiolo, desplazan TOPO de la superficie y crean el núcleo de sílice. Subsecuentemente, se pueden agregar a monómeros de Silicio que contienen fosfonato, polietilenglicol (PEG) o amonio, los monómeros que contienen los grupos tiolo, carboxilo e hidroxilo con el objeto de proporcionar las propiedades hidrofílicas y agregar los grupos funcionales, para la modificación y bioconjugación de puntos cuánticos[20-22].

Sin embargo, los métodos mencionados tienen la desventaja de que a pesar de la producción de puntos cuánticos estables, no permiten obtener grandes cantidades de material.

Otra estrategia utilizada con el propósito de crear puntos cuánticos solubles en agua, es el intercambio de ligandos hidrofóbicos en su superficie por ligandos hidrofílicos [23]. Sin embargo, este método resulta ser menos eficiente, ya que puede causar la agregación de partículas y disminuir la fluorescencia [24].

Un método alternativo que proporciona buenos resultados es la aplicación de polímeros anfífilos, que contienen dos tipos de segmentos: hidrofóbicos (hidrocarburos) e hidrofílicos (como polietilenglicol o polímeros con grupos carboxílicos).

Los segmentos hidrofóbicos reaccionan con las cadenas alquílicas de los ligandos en la superficie de los puntos cuánticos, mientras que los segmentos hidrofílicos se quedan en la superficie y vuelven hidrosolubles a los puntos cuánticos (Figura 1-9).

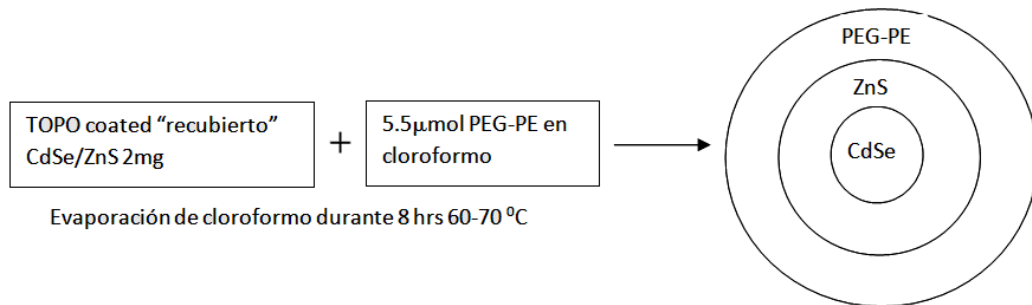


Figura 1-9 Esquema general de recubrimiento de puntos cuánticos con PEG.

Se ha comprobado que modificando la superficie de puntos cuánticos con las cadenas de polietilenglicol se elimina el enlazamiento no específico de los puntos cuánticos con la mayoría de moléculas biológicas, proporcionando la mayor cantidad de sitios disponibles para la bioconjugación posterior, aumentando de esta manera la biocompatibilidad.

Comercialmente están disponibles los puntos cuánticos que son encapsulados en polietilenglicol por el método de Dubertret et al., [25] que previene la formación de agregados grandes de los puntos cuánticos encapsulados.

1.6 Tecnología de bioconjugación de CdSe/ZnS núcleo/coraza con biomoléculas.

La modificación de los nanosistemas con moléculas selectivas, permite lograr el “reconocimiento” e interacción de los puntos cuánticos con las células específicas. A este proceso se le llama bioconjugación. De esta manera los puntos cuánticos pueden conjugarse con los ligandos biológicos tales como anticuerpos monoclonales, péptidos, enzimas, ácidos nucleicos o pequeñas moléculas-inhibidoras, formando híbridos inorgánico-orgánicos [26].

Recientemente, fueron desarrolladas estrategias para la producción de puntos cuánticos biocompatibles que poseen una alta estabilidad utilizando varios métodos, tales como la aplicación de proteínas recombinantes, que se agregan por atracciones electrostáticas a la superficie de los puntos cuánticos; la aplicación de los dendrones orgánicos hidrofílicos y el encapsulamiento micelar de los puntos cuánticos cubiertos con TOPO [27].

Para preparar los nanocristales de CdSe/ZnS biológicamente activos es necesario dispersarlos en soluciones acuosas y agregar grupos reactivos tales como amino (-NH₂), carboxilo (-COOH) o mercapto (-SH) para la conjugación posterior de los puntos cuánticos con moléculas biológicas. Los puntos cuánticos bioconjugados son unas 20 veces más brillantes y 100 veces más estables bajo la fotoexcitación y tienen el espectro de emisión tres veces más agudo que los marcadores orgánicos convencionales [27, 28] (Figura 1-10).

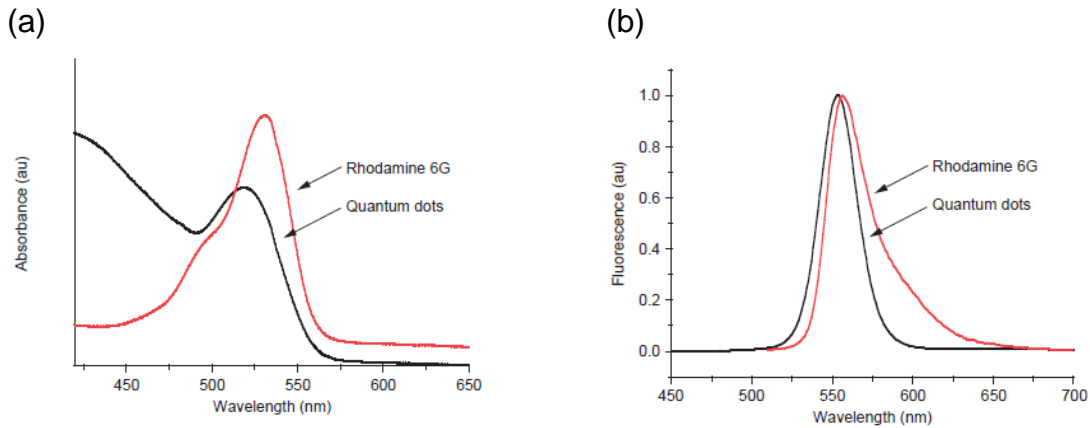


Figura 1-10 Comparación de espectro de (a) absorción y (b) emisión entre puntos cuánticos y tinte orgánico Rhodamina 6G [28].

Es necesario mencionar que existen varios métodos de bioconjugación, los cuales se generan por diferentes mecanismos (Figura 1-11) [29].

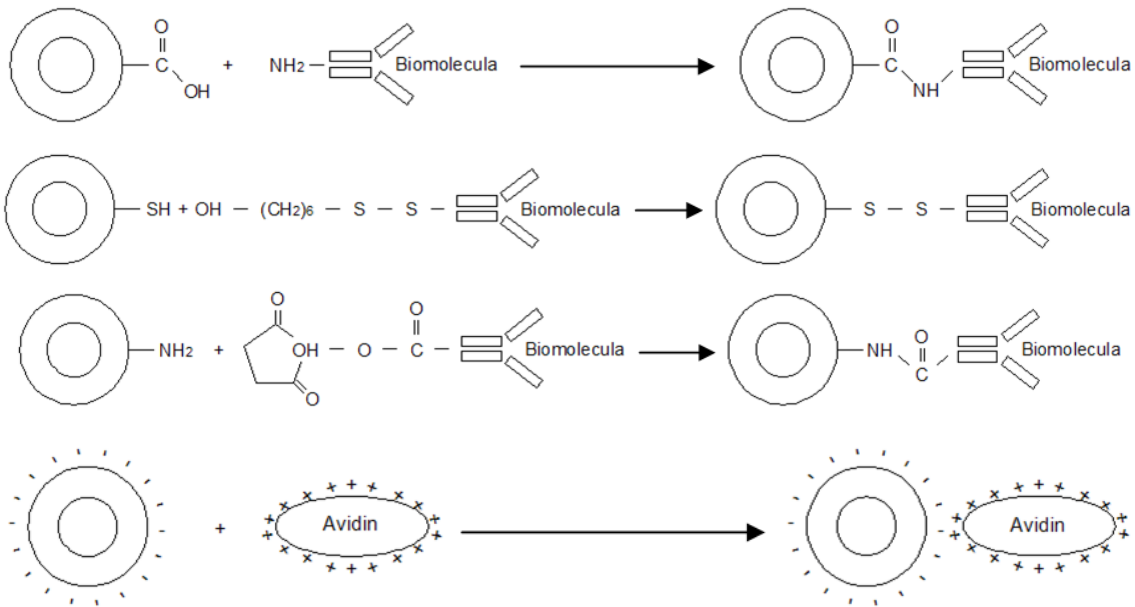


Figura 1-11 Esquema de reacciones químicas de bioconjugación por medio de diferentes grupos (en 3 primeras reacciones: carboxilo, tiolo, amino) y por atracción electrostática (reacción 4) [29].

Sin embargo, la utilización de uno u otro método de bioconjugación depende en gran medida de la aplicación y del medio en el que se utilizarán los puntos cuánticos bioconjugados.

En promedio, a un nanocrystal se le pueden conjugar unas tres moléculas de anticuerpos de cáncer [30]. En ocasiones la aplicación de los puntos cuánticos bioconjugados se dificulta en algunos sistemas biológicos, debido al cambio simultáneo de sus cargas y de sus propiedades hidrodinámicas [31], las que producen ya sea un aumento de la toxicidad de las partículas [32] o la pérdida de su fluorescencia [33, 34].

Sin embargo, la toxicidad no tiene importancia si los puntos cuánticos bioconjugados se van a utilizar *in vitro* (fuera de organismos vivos) para el análisis de fluidos corporales.

1.7 Espectros de fotoluminiscencia de puntos cuánticos bioconjugados

En lo referente a los estudios ópticos de puntos cuánticos conjugados con diferentes biomoléculas, se han realizado diferentes análisis mediante espectroscopía por fotoluminiscencia [37] y espectroscopía Raman [40]. A continuación se muestran algunos resultados referentes a la interacción de puntos cuánticos con diferentes biomoléculas.

Los puntos cuánticos pueden ser bioconjugados con anticuerpos, para que por este medio, el punto cuántico se adhiera a la biomolécula en particular, haciendo posible la detección de ciertos agentes específicos. En [35], se realizó un análisis de las propiedades ópticas de 4 toxinas interactuando mediante la bioconjugación, con diferentes puntos cuánticos de CdSe/ZnS de diferente tamaño, con emisión respectiva de 510nm, 555nm, 590nm, 610nm (Figura 1-12).

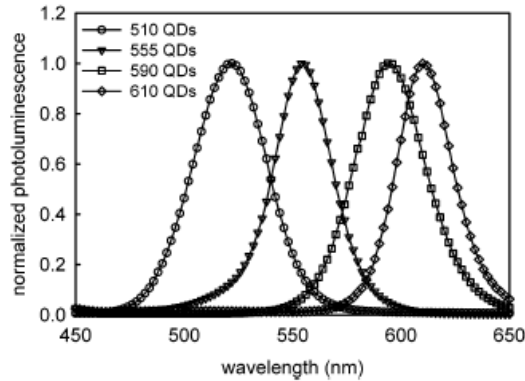


Figura 1-12 Espectro de emisión de los 4 tamaños de puntos cuánticos de CdSe/ZnS empleados en el análisis [35].

Los ensayos se realizaron con cada toxina individual para diferentes puntos cuánticos (Tabla 1-1), con el fin de observar cual interacción entre los diferentes puntos cuánticos bioconjugados con anticuerpos y toxinas presenta los mejores resultados.

Tabla 1.1 Configuración de ensayos de toxinas individuales.

Muestra	Anticuerpos reportados [36]	Máxima emisión de los puntos cuánticos (nm)
CT	Conejo anti CT	510
ricin	Conejo anti-ricin	550
SLT	Grupo de anticuerpos monoclonales	590
SEB	Conejo anti-SEB	610

De estos ensayos de una sola muestra de anticuerpos, se obtuvo un valor para el nivel de detección más bajo de toxinas (LDL) para cada interacción punto cuántico- toxina (figura 1-13).

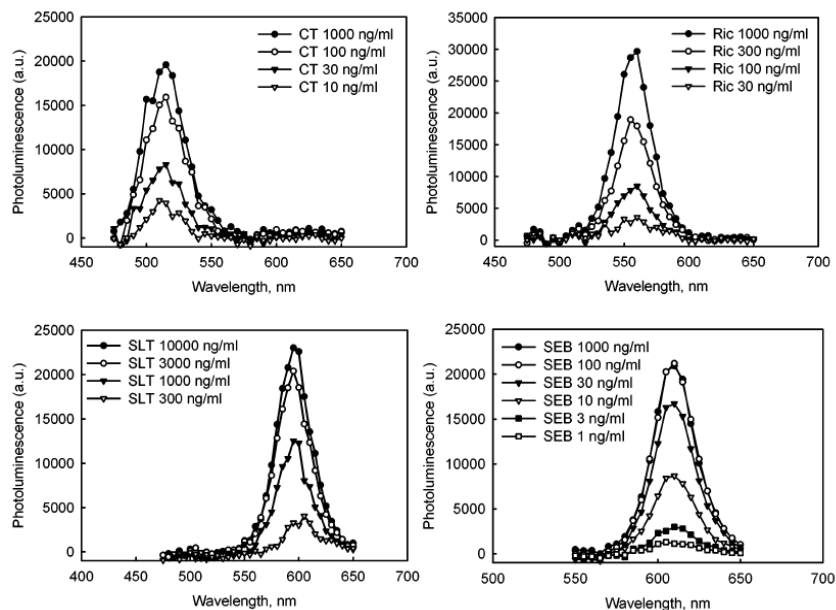


Figura 1-13 Ensayos de cada toxina realizados para determinar el nivel de LDL para CT utilizando puntos cuánticos de CdSe/ZnS con emisión de 510nm, 555nm, 590nm, 610nm [35].

De esta manera se puede estimar la concentración de algún agente específico por método de fotoluminiscencia de puntos cuánticos de CdSe/ZnS bioconjugados con hidrosales organofosforosas (OPH), que se utiliza para detectar pequeñas cantidades de paraoxón en solución acuosa [39].

Los puntos cuánticos empleados tienen en este estudio la emisión de fotoluminiscencia a 570 nm, lo cual corresponde a un núcleo de 3.1 nm de radio y con un ancho a la mitad del máximo (fwhm por sus siglas en inglés) de 30 nm. Los espectros de fotoluminiscencia de los puntos cuánticos biconjugados con OPH se midieron en una solución de paraoxón a diferentes concentraciones (figura 1-14a, 1-14b).

Se puede observar una disminución de picos de fotoluminiscencia en concentraciones molares de 10:1 y 100:1 aplicando una fuente de excitación de 350 nm. La intensidad de fotoluminiscencia decrece en relación al aumento de concentración de paraoxón.

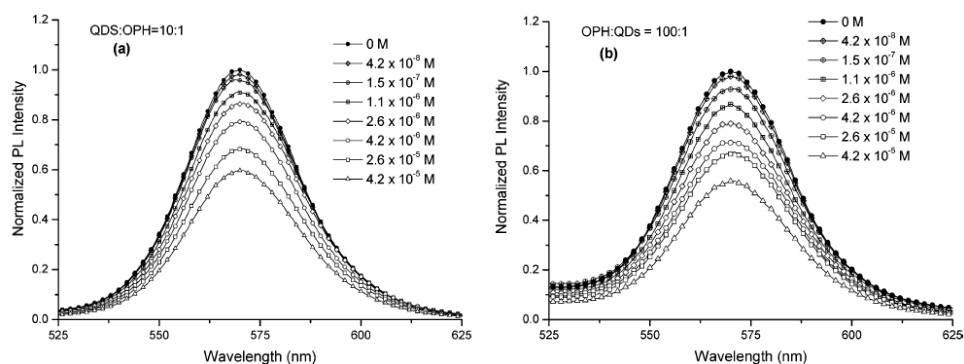


Figura 1-14 Espectro de fotoluminiscencia de (a) 10:1 y (b) 100:1 de concentración molar para puntos cuánticos bioconjugados con OPH analizados en una solución de paraoxón [35].

1.8 Estudio de espectroscopía Raman para puntos cuánticos bioconjugados

Se han realizado estudios de espectroscopía Raman de diferentes puntos cuánticos y diferentes biomoléculas [37, 56, 57], en este caso se presenta el análisis de puntos cuánticos CdSe/ZnS en estado “puro” y puntos cuánticos CdSe/Zns bioconjugados con anticuerpos de Interlukina [37].

Los puntos cuánticos propuestos para [37] tienen una emisión de fotoluminiscencia de 605 nm, Las muestras de los puntos cuánticos en suspensión fueron depositadas en un sustrato de Silicio, posteriormente la solución acuosa fue evaporada. En la figura 1-15 se muestra el análisis de espectroscopía Raman. Como se puede observar, en las gráficas de los puntos cuánticos no bioconjugados, únicamente se observa el pico en 521 cm^{-1} representando el fonón LO de la señal Raman del sustrato de Silicio (1, 2, 3).

Sin embargo para las muestras bioconjugadas (Figura 1-15, gráficas 4, 5, 6) aparecen 2 picos adicionales en 208.5 cm^{-1} y 280.8 cm^{-1} y un hombro en 415 cm^{-1} . El pico correspondiente a 208.5 cm^{-1} corresponde al fonón óptico del núcleo del

punto cuántico (CdSe) y el hombro localizado en 415.8cm^{-1} probablemente sea un sobretono (componente de mayor frecuencia que su frecuencia fundamental).

Así mismo, el pico más pequeño en 280.8 cm^{-1} está relacionado con el fonón TO de la coraza (ZnS). Se sabe que la posición del pico del fonón LO para espectros Raman del material en bulto CdSe está en 213 cm^{-1} , este pico cambia a niveles menores de energía por el decremento del tamaño a dimensiones nanométricas (de 2-3 nm) debido al confinamiento del fonón y a los efectos de tensión de enlace inducido [38–40].

Se puede observar que en las muestras bioconjugadas (figura 1-15, curva 4, 5 y 6) existe un aumento en la intensidad de las Raman correspondientes al CdSe y al ZnS. Este fenómeno indica la interacción del dipolo de Interlukina por el efecto de aumento de intensidades Raman en la superficie.

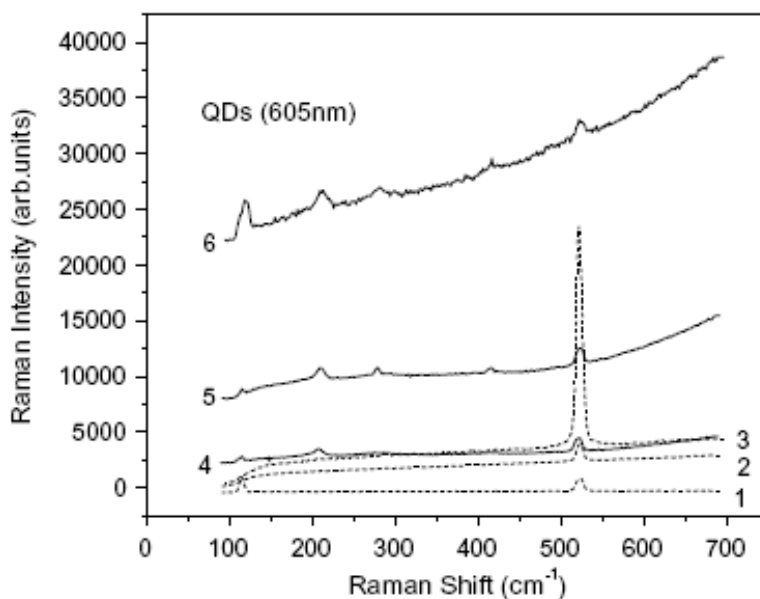


Figura 1-15 Espectro Raman para puntos cuánticos sin bioconjugación (1, 2, 3) y con bioconjugación con anticuerpo de Interleukina (4, 5, 6) Interlukina [37].

1.9 Interacción antígeno-anticuerpo

Las moléculas de anticuerpo aparecen en el suero sanguíneo y en los tejidos de algún vertebrado determinado, como respuesta a la inyección de un antígeno, una proteína o una molécula extraña a aquella especie. Esta reacción se llama inmunorespuesta y constituye la base de la inmunología.

Las moléculas del anticuerpo pueden combinarse con el antígeno que indujo su formación y construir un complejo antígeno-anticuerpo [41] (Figura 1-12).

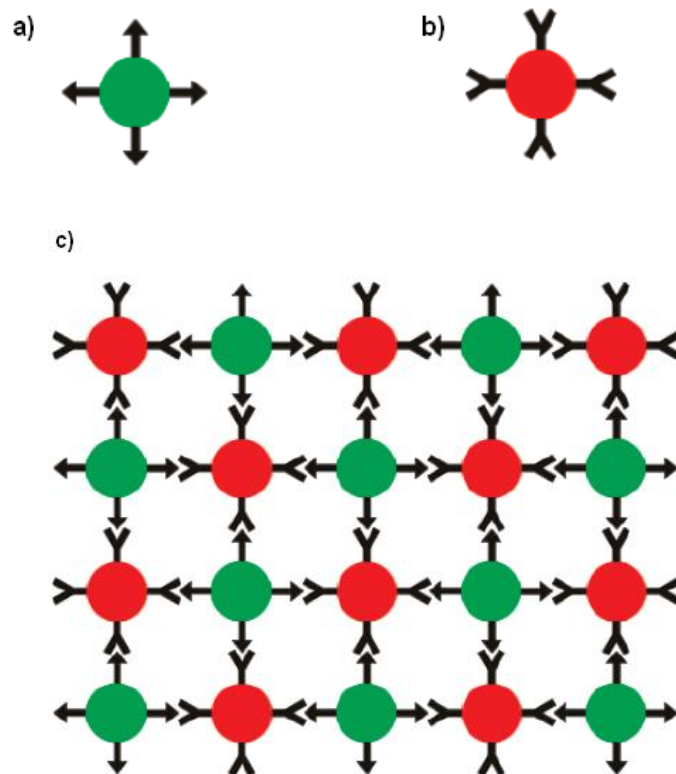


Figura 1-16 Esquema de interacción antígeno-anticuerpo: (a) El antígeno es introducido en un ser vivo, (b) en respuesta al antígeno, el sistema inmunológico crea anticuerpos específicos para el antígeno invasor, (c) se realiza la interacción antígeno-anticuerpo [41].

Al producirse la interacción antígeno-anticuerpo, los anticuerpos reconocen y atacan al antígeno, eliminándolo del organismo.

La introducción del antígeno al organismo sensibilizado, produce la respuesta por parte del anticuerpo específico, que se obtuvo en el proceso anterior. De esta manera, los anticuerpos reconocen y atacan al antígeno y permiten al organismo eliminarlo.

1.10 Anticuerpo del antígeno prostático específico

Los anticuerpos son proteínas pertenecientes al grupo de las inmunoglobulinas (Ig) con una masa molecular que oscila desde los 10000 Dalton (D) hasta los 100000 D. Los anticuerpos son eléctricamente estables dentro de un intervalo de pH, el cual depende del anticuerpo analizado [42].

El anticuerpo de antígeno prostático específico (PSA) surge a partir de una reacción natural del cuerpo humano ante un agente externo específico (en este caso PSA). Este anticuerpo solo reaccionará ante este antígeno en particular. Al reaccionar el anticuerpo de PSA con el antígeno de PSA se realiza la interacción antígeno-anticuerpo, para que por diferentes procesos (los cuales no son de interés en el presente trabajo), se elimine el antígeno. A continuación se plantean algunas características del PSA.

El PSA es una proteína prostática específica para cáncer, que puede determinarse al estudiar, mediante métodos inmunológicos, los sueros de los pacientes afectados por patologías tumorales de la próstata, tanto benignos como malignos [43-45].

El PSA es una proteína sintetizada en la próstata, está presente a altas concentraciones en el fluido seminal.

El tejido prostático produce de manera natural PSA, pero los tejidos cancerosos producen unas 10 veces más PSA que los tejidos normales. Por tanto, la concentración de PSA aumenta en presencia de cáncer de próstata.

Capítulo 2 Muestras y Métodos

2.1 Síntesis de puntos cuánticos núcleo/coraza CdSe/ ZnS

Los puntos cuánticos, objeto de la investigación de la presente tesis, fueron adquiridos comercialmente de Invitrogen SA de CV, y tienen como especificación, la emisión de fotoluminiscencia en ~565nm. En este caso, de acuerdo a las referencias empleadas en la síntesis de los puntos cuánticos, se plantea el procedimiento empleado por la empresa Invitrogen SA de CV, esto es con la finalidad de retomarlo en trabajos futuros.

Así mismo, esta información brinda la posibilidad de analizar de manera consistente los resultados obtenidos mediante las técnicas ópticas de Fotoluminiscencia y espectroscopía de dispersión Raman.

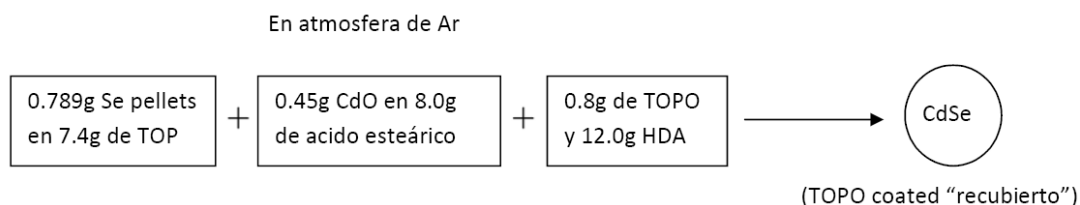
2.1.1 Síntesis del núcleo de puntos cuánticos CdSe/ZnS

La síntesis de la coraza de CdSe de los puntos cuánticos CdSe/ZnS fue realizada utilizando el siguiente procedimiento:

- 1.- Se prepara el precursor de granos pequeños de Selenio disolviendo 0.7896g de selenio en 7.4g de TOP.
- 2.- Se prepara el precursor de Oxido de Cadmio disolviendo 0.45g de Cadmio en 8g de Acido Esteárico o Acido Oleico.
- 3.- En un matraz se crea una solución de 8g de TOPO y 12g de HDA o 12g de ODA en atmosfera de Argón.
- 4.- Se agrega a la solución del paso 3 los precursores del paso 1 y paso 2.

En la Figura 2-1 se representa el esquema de proceso y el arreglo experimental típico para la síntesis.

(a)



(b)

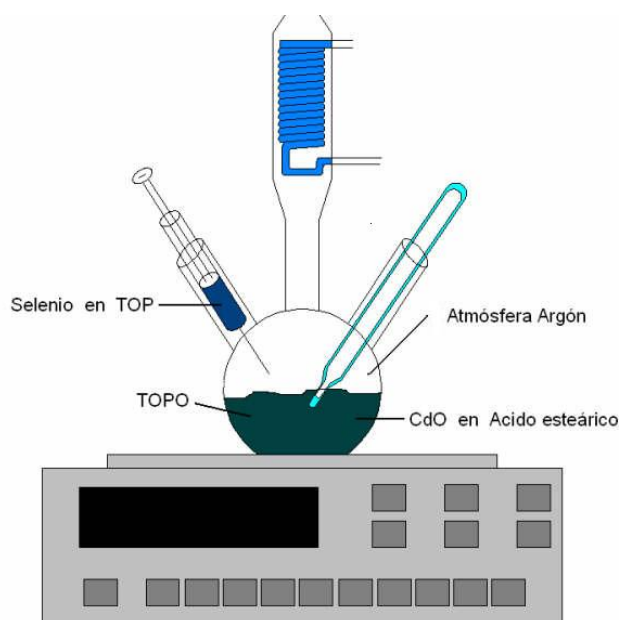


Figura 2-1. Esquema (a) y arreglo experimental (b) de síntesis del núcleo de los puntos cuánticos de CdSe/ZnS.

Es importante señalar que el tamaño de los puntos cuánticos se controla en intervalos específicos de tiempo. Con el objeto de caracterizar los puntos cuánticos se utilizan la microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HRTEM), la espectrofotometría y la espectrofluorometría.

2.1.2 Síntesis de la coraza de puntos cuánticos CdSe/ZnS.

La producción de la coraza de los puntos cuánticos CdSe/ZnS se lleva a cabo mediante el siguiente procedimiento: (Figura 2-2).

- 1.- Se prepara estearato de Zinc disolviendo 0.2g de Zinc en 2g de TOP y 2g de HDA:
- 2.- Se prepara azufre elemental derritiendo 0.1g de azufre en 2g de DDA y se mezcla con la solución del paso 1 y:
- 3.- Se calienta el matraz con el núcleo de CdSe a 150°C en atmosfera de Argón y se agrega la solución del paso 2, este proceso dura aproximadamente 70 minutos.

En la figura 2-2 se presenta el esquema de síntesis de la coraza de ZnS sobre el núcleo de CdSe.

Los puntos cuánticos núcleo/coraza CdSe/ZnS son caracterizados por Invitrogen utilizando los métodos de dispersión de rayos X, de espectrometría de absorción y de espectrometría de fluorescencia, para confirmar el tamaño y monodispersidad de las partículas.

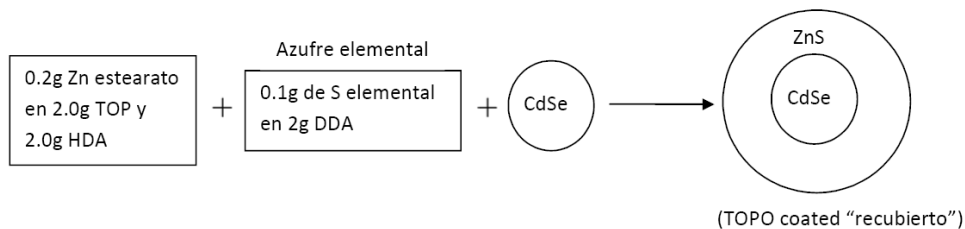


Figura 2-2 Esquema de síntesis de la coraza de los puntos cuánticos CdSe/ZnS.

2.2 Recubrimiento de los puntos cuánticos con (NH₂)-PEG-PE

Debido a que en el proceso de síntesis se realizó en la solución orgánica de TOPO, TOP y HDA, en la superficie de los puntos cuánticos se localizan elementos orgánicos hidrofóbicos. Lo cual hace que éstos no sean compatibles con sistemas acuosos.

El proceso de bioconjugación con los anticuerpos se lleva a cabo en un medio acuoso, por lo cual, es necesario recubrir a los puntos cuánticos con un agente hidrofílico (compatibles con sistemas acuosos) (Figura 2-3).

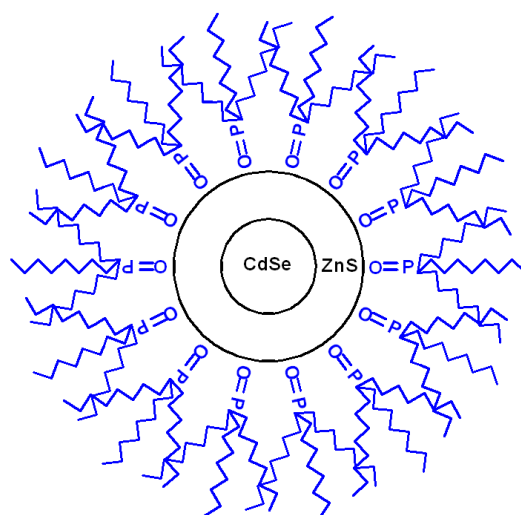


Figura 2-3 Esquema de puntos cuánticos de CdSe/ZnS después de la síntesis. Los puntos cuánticos después de la síntesis están recubiertos por TOPO.

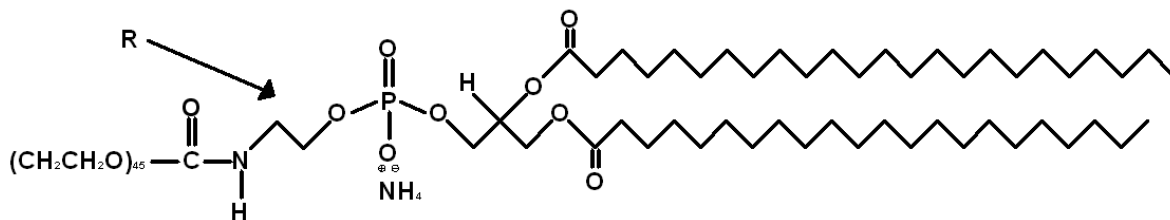
En el presente trabajo, se plantea el uso de amino-polietilenglicol fosfatidiletanolamina ((NH₂)-PEG-PE), debido a que el polímero tiene las siguientes características (Figura2-4) [25].

1. Contienen dos tipos de segmentos: hidrofóbicos (hidrocarburos) e hidrofílicos (polietilenglicol y grupos carboxílicos). Los segmentos hidrofóbicos reaccionan con las cadenas alquílicas de los ligandos en la

superficie de los puntos cuánticos, mientras que los segmentos hidrofílicos se quedan en la superficie y vuelven hidrosolubles a los puntos cuánticos.

2. Son muy regulares en tamaño, forma y estructura.

a)



b)

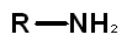


Figura 2-4 Esquemas de (a) PEG-PE especificado como R y (b) (NH₂)-PEG-PE.

2.3 Proceso de recubrimiento con polímero

El proceso por el cual se realizó el recubrimiento con (NH₂)-PEG-PE, este proceso se realizó en la universidad del sur de florida (University of South Florida). el cual se describe e continuación [25]:

- 1.- Se toma una muestra de 2mg de los puntos cuánticos núcleo/coraza CdSe/ZnS en suspensión con el TOPO.
- 2.- Se agregan los 2 mg de los puntos cuánticos a una solución de 5.5μmol de (NH₂)-PEG-PE en cloroformo a una temperatura de 60-70°C, una vez realizado este proceso, los reactivos permanecen a una temperatura de 60-70°C durante aproximadamente 8 horas.

Mediante este procedimiento, los puntos cuánticos quedan cubiertos por un polímero, tal que permite su estabilidad y solubilidad en las soluciones acuosas (figura 2-5).

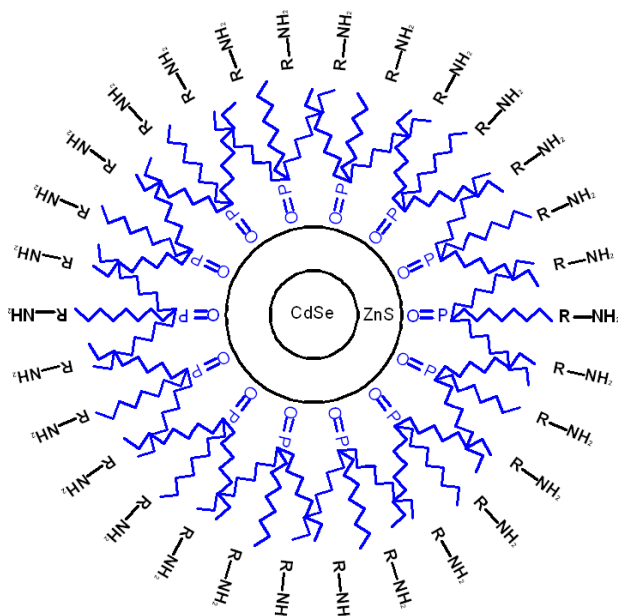


Figura 2-5 Esquema de puntos cuánticos de CdSe/ZnS después del recubrimiento con PEG.

2.4 Proceso de Bioconjugación

Es necesario señalar previamente, que para el proceso de bioconjugación realizado en la investigación para esta tesis, se utilizó un kit de bioconjugación adquirido de la empresa Invitrogen, este proceso se realizó en la universidad del sur de florida (University of South Florida).

2.4.1 Anticuerpos

Los anticuerpos que se emplearon en el análisis de fotoluminiscencia y espectroscopía Raman, fueron adquiridos comercialmente de la empresa Invitrogen. El mab-PSA se presenta en forma líquida, almacenado en un buffer de 0.015 KPO₄ con pH de 7.4 con 0.85 % NaCl y 0.1%NaN₃. PSA es una proteína

con peso molecular de 33kD (kilodaltons) y un punto isoeléctrico entre un pH de 6.8 y 7.8.

El proceso de bioconjugación se realizó por medio de la agregación del *crosslinker* Amino-Tiolo- SMCC Sulfosuccinimidil 4-[N-maleimidometil] ciclohexano-1-carboxilato (figura 2-6). Este reactivo facilita el proceso de bioconjugación, este proceso se muestra en la figura 2-7.

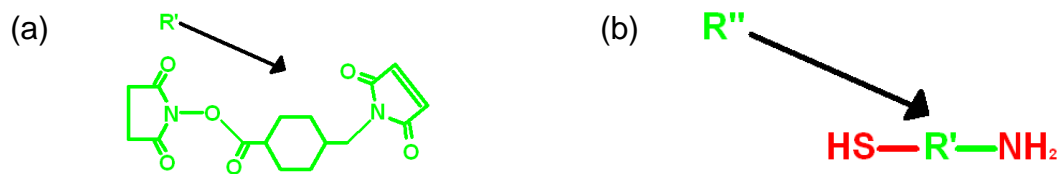
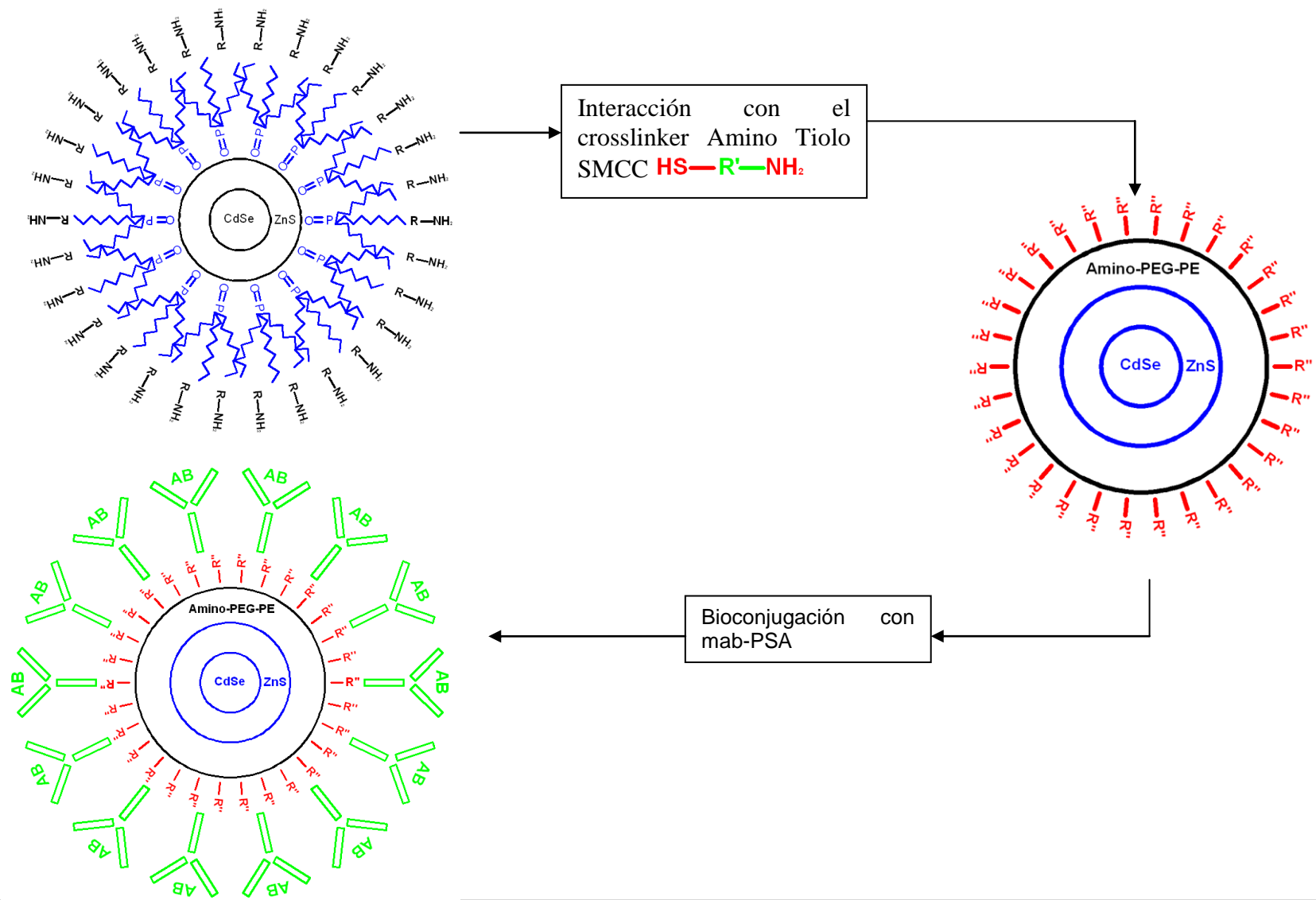


Figura 2-6 (a) SMCC y (b) amino tiolo SMCC.

Figura2-7 Proceso de bioconjugación realizado en el presente trabajo.



2.5 Espectroscopía por Fotoluminiscencia

Un principio fundamental de la mecánica cuántica, señala que el proceso de emisión o absorción de la energía ocurre en forma discreta, en múltiplos enteros de la constante de Plank, multiplicada por la frecuencia fundamental de la onda radiada. Esto se debe a que las transiciones en los átomos que constituyen la materia se realizan a través de estados “permitidos”.

De esta manera, la materia en estado estacionario solo puede encontrarse en determinados niveles de energía discretos. Así, entre los niveles de energía E_1 y E_2 , puede ocurrir la transición de un estado energético de la materia a otro, solamente de manera cuantizada, de tal manera que la energía liberada o absorbida ocurrirá como ya se mencionó anteriormente, en múltiplos de $(E_2 - E_1)$ [46].

En el caso de la que transición ocurra a través de un proceso de emisión o absorción de fotones, estos poseen la energía:

$$E = E_2 - E_1 = h\nu \quad (2-1)$$

La transición de las partículas de estado energético a otro, cuando la materia es irradiada con fotones, es debida a los siguientes procesos:

Absorción.- Los átomos absorben un fotón de energía $h\nu$ y su energía aumenta del estado base de energía (E_1) al nivel excitado (E_2). Esta energía debe ser suficiente para pasar la banda de energía prohibida [46].

Después de que el átomo ha sido excitado, este tiende a volver a su estado anterior produciendo a su vez, la emisión de un fotón. Esta emisión puede ser de 2 tipos: emisión estimulada y emisión espontanea. En el caso de

fotoluminiscencia, el mecanismo de emisión es espontaneo. La emisión estimulada es característica de la producción de luz laser.

Emisión espontanea.- Una muestra puede emitir espontáneamente: si un fotón incidente, irradia la muestra con la suficiente energía para que un electrón pase de a un estado base E_1 a un estado excitado E_2 , se puede emitir otro fotón por el proceso radiativo. La energía del fotón emitido por la muestra tiene energía $h\nu = E_2 - E_1$. Esta radiación se emite en una dirección arbitraria (figura 2-8).

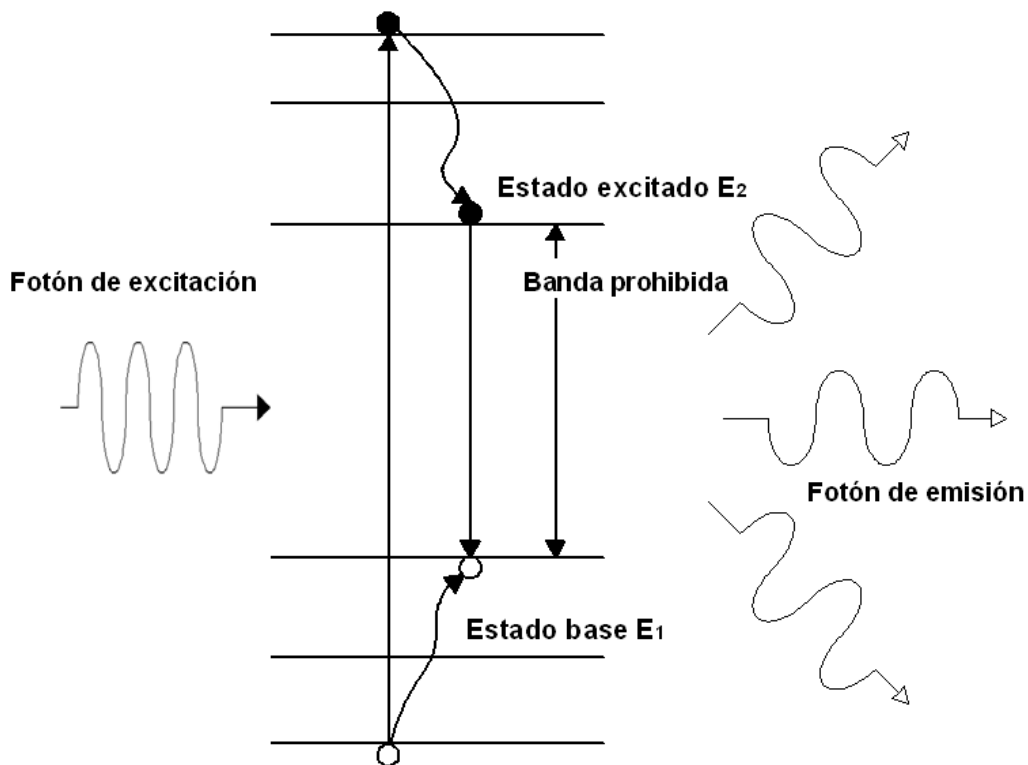


Figura 2-8 Esquema de absorción y emisión espontanea de los fotones.

La técnica de fotoluminiscencia se basa en las mediciones de los fotones emitidos por la muestra, la cual fue irradiada con la fuente de la luz de láser. La información de los espectros de fotoluminiscencia en los puntos cuánticos, indica la emisión de los puntos cuánticos (ancho de la banda prohibida) [46].

2.5.1 Características del equipo empleado

Los espectros de fotoluminiscencia se midieron a temperatura de 10°K y 300°K en el departamento de Ingeniería Eléctrica del CINVESTAV, con un monocromador Higler-Watts Monospeck 600, de 0.75 m, con fotodetector tipo S1 de fotocátodo de Ag-O-Cs y amplificador *Lock-in*.

Para lograr la excitación de fotoluminiscencia se utilizó un laser de He-Cd con longitud de onda de 325 nm y una potencia de 20-30 mW (figura 2-9).

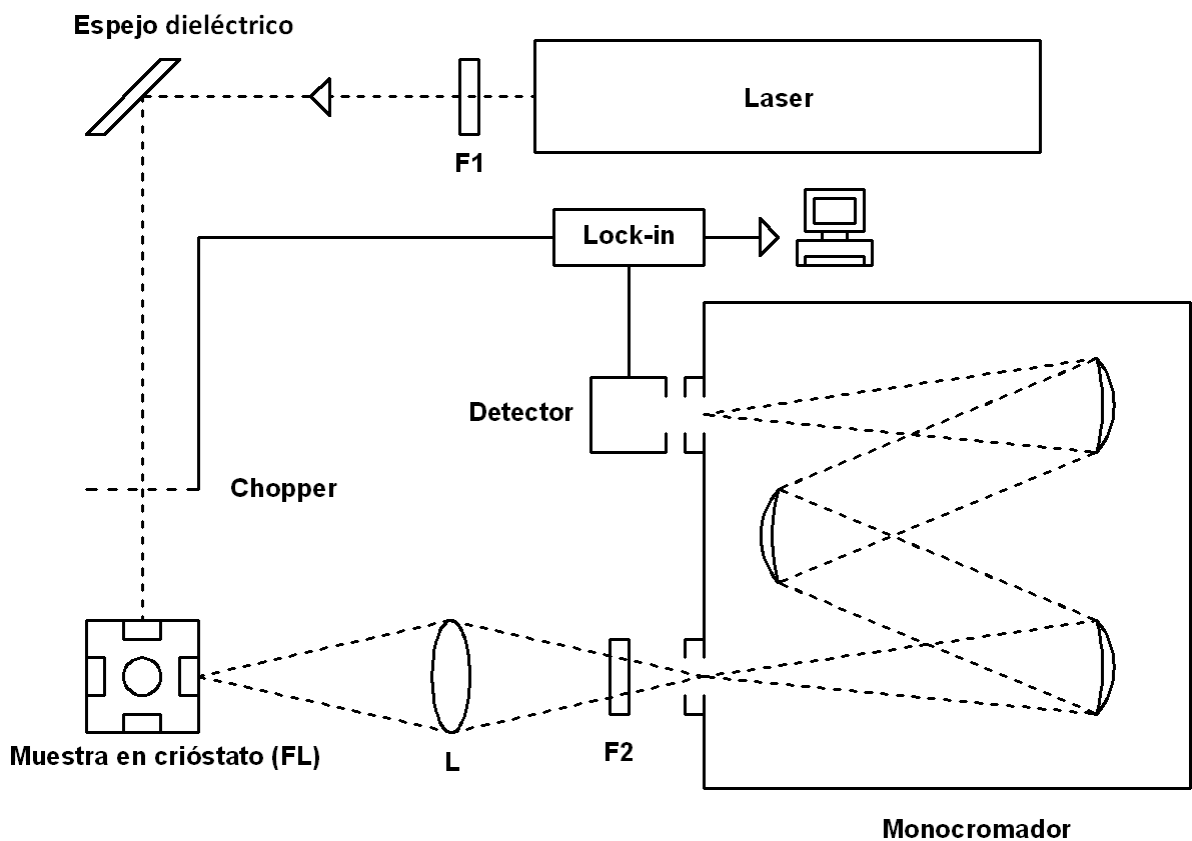


Figura 2-9 Arreglo experimental de fotoluminiscencia con laser, monocromador, detector y criostato. El lente L enfoca la señal de fotoluminiscencia, los filtros F1 y F2 bloquean la luz del laser no deseada; el choper C modula la luz de detección en el *lock-in*.

2.6 Espectroscopía Raman

Al incidir un haz de luz, de frecuencia bien definida, sobre una muestra ocurren varios fenómenos: en primer lugar, en la frontera entre la muestra y su entorno (por ejemplo, aire) se refleja únicamente una fracción del haz incidente debido al cambio de índice de refracción entre ambos medios. De la luz que consigue penetrar en el medio, una parte puede ser absorbida y otra lo atraviesa hasta salir de él, efectuándose la correspondiente reflexión en la frontera de la salida.

Si la energía correspondiente a la frecuencia de la luz incidente, coincide con la energía de transición entre dos niveles del medio y existe además algún mecanismo que permita la transferencia de energía de la radiación al medio, es decir, la transición puede realizarse mediante un mecanismo de dipolo eléctrico, magnético, cuádruplo, etc.), una parte sustancial será absorbida; de lo contrario, la mayor parte de la luz atravesaría el medio. Estas pérdidas son las más importantes, aun mas que las perdidas por la reflexión a la entrada y a la salida de la muestra [47].

El análisis de la luz emitida o absorbida, en función de su frecuencia, constituye el fundamento de las espectroscopías de absorción en las zonas del espectro visible, que comprende la región desde el ultravioleta (UV) hasta el infrarrojo (IR).

2.6.1 Descripción general del efecto Raman

Las espectroscopías Raman e Infrarrojo conforman las espectroscopías vibracionales debido a que están relacionadas con las vibraciones moleculares. Ambos efectos, producen transiciones entre niveles vibracionales cuantizados.

Sin embargo, son diferentes los mecanismos que inducen dichas transiciones. Así, en la espectroscopía infrarroja (IR) la molécula absorbe energía y se eleva de un nivel vibracional a otro, mientras que en el efecto Raman no se produce

absorción de la luz. El efecto Raman es esencialmente un fenómeno de dispersión de luz.

Si un haz de luz altamente colimado y monocromático incide sobre una muestra perfectamente transparente y se analizan las frecuencias de la luz dispersada en un monocromador, se observará que la mayor parte de la luz ha sido dispersada sin cambios (su frecuencia es la misma antes y después de la interacción con la muestra). Este proceso se conoce como el efecto Rayleigh. (Un ejemplo típico de este proceso ocurre en la atmósfera donde la luz solar es dispersada por las moléculas gaseosas produciendo el color celeste del cielo). Una pequeña fracción de la luz incidente se dispersa con cambios en su frecuencia original (ν_0), de esta manera, se encontrarán frecuencias con valores más altos y más bajos con respecto a ν_0 . Estas nuevas frecuencias son las llamadas frecuencias Raman [47].

La naturaleza de la dispersión tanto de Rayleigh como de Raman se puede comprender fácilmente si se usa un modelo de transferencia de energía. Para ello, supongamos que el haz de luz incidente consiste en un paquete de fotones de energía $h\nu_0$. Estos fotones pueden chocar con la molécula en forma elástica o inelástica. Si el choque fotón-molécula es elástico, según el principio de conservación de la energía, ni el fotón ni la molécula ganan o pierden energía. De ese modo el fotón es dispersado con la misma energía $h\nu_0$ dando origen a la línea Rayleigh.

Por otra parte, si el choque fotón-molécula es inelástico y la molécula está en su estado fundamental, el fotón perderá energía, la cual, es transferida a la molécula produciéndose el salto a un estado excitado de (mayor energía). Como resultado de este proceso, el fotón dispersado tendrá una energía $h(\nu_0 - \nu_k)$ donde ν_k es la frecuencia que está relacionada con el número de onda asociado a los dos niveles entre los que se ha producido el salto cuántico.

Digamos a modo de aclaración que la frecuencia ν está definida como $\nu = \frac{c}{\lambda}$

donde λ es la longitud de onda de la radiación y c es la velocidad de la luz. El

numero de onda ($\bar{\nu}$) se define como $\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$ por lo tanto $\nu = c\bar{\nu}$.

Antes de producirse el choque inelástico fotón-molécula, es posible que la molécula estuviera ya en un estado excitado, de tal manera que al colisionar con el fotón, sea ella la que pierde energía y el fotón a su vez, sea dispersado con una energía mayor $h(\nu_0 + \nu_k)$ [47].

Es claro entonces que las frecuencias $\nu_0 \pm \nu_k$ (figura 2-10) corresponden a las líneas Raman y son equivalentes a los cambios de energía involucrados en las transiciones de la molécula dispersante y son características de esta molécula.

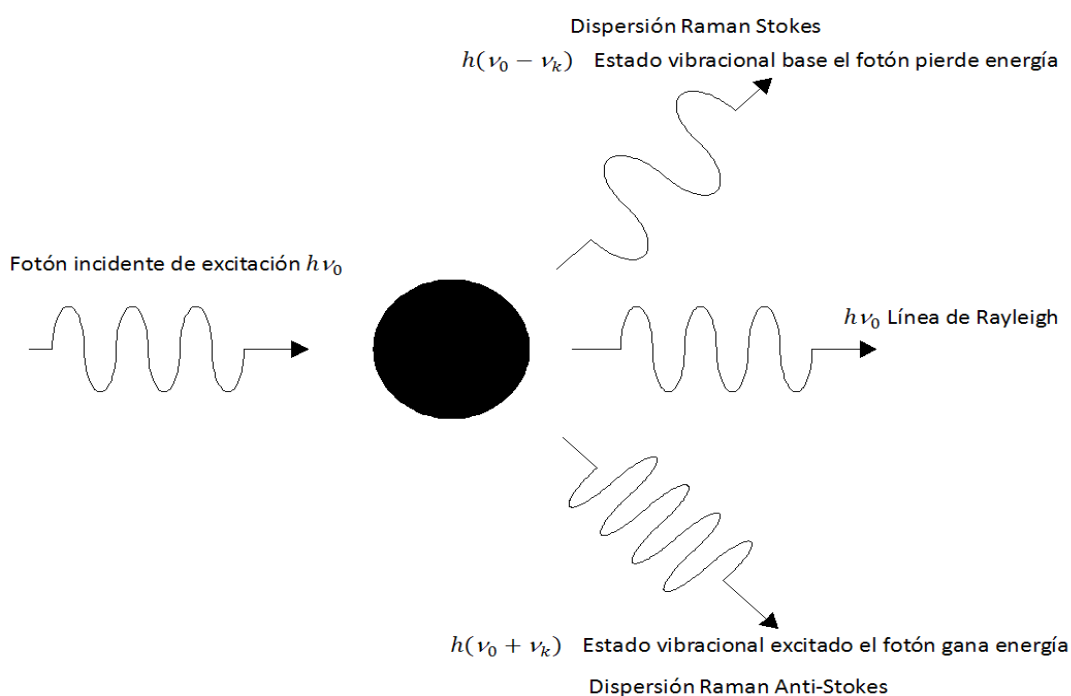


Figura 2-10 Mecanismos involucrados en el efecto Raman.

Tomando como referencia el razonamiento anterior, pareciera que las líneas Stokes y antiStokes tuvieran intensidades semejantes. Sin embargo, a temperatura ambiente (aprox. 300° K) el estado vibracional base, está mucho más poblado que cualquier estado excitado y por lo tanto las líneas Raman Stokes debieran ser más intensas. Es en efecto que así ocurre, y como se verá más adelante, las líneas Raman antiStokes decrecen rápidamente en intensidad al aumentar la frecuencia de la molécula.

De esta manera, alrededor de 1000 cm^{-1} su intensidad es casi nula. Es entonces comprensible el por qué, para un compuesto dado, normalmente se obtiene el espectro Raman Stokes y no el antiStokes.

La dispersión Raman, que ocurre con la disminución de la frecuencia del fotón incidente, se asemeja al proceso de fluorescencia. La fluorescencia, sin embargo, es un proceso en el que el fotón se absorbe y la molécula salta de un estado base a un estado electrónico excitado de mayor energía donde permanece por un corto tiempo (aprox. 10^{-9} seg) y luego baja al estado electrónico base emitiendo luz de más baja frecuencia.

En el proceso Raman, el fotón no es absorbido y solo perturba la molécula induciendo una transición, ya sea vibracional, rotacional o ambas. La fluorescencia puede ser detenida o “quencheada” agregando una molécula capaz de absorber la energía antes que molécula baje a su estado base. La dispersión Raman no puede ser “quencheada”.

2.6.2 Ventajas de análisis mediante espectroscopía Raman

En la mayoría de los casos, la espectroscopía Raman presenta ventajas relevantes, como las siguientes [47]:

- i) El espectro de dispersión Raman completo, es entre 0 cm^{-1} y 4000 cm^{-1} .

- ii) La cantidad de muestra requerida, va desde algunos pocos miligramos a microgramos o nano litros en el caso de líquidos.
- iii) En los análisis cuantitativos, la intensidad de una banda es directamente proporcional a la concentración. En la espectroscopía de absorción infrarroja, la relación entre la intensidad de una banda y la concentración es del tipo logarítmico.
- iv) No se requiere una preparación de la muestra, como en el caso del infrarrojo y por lo tanto aquellos compuestos que son sensibles o muy costosos, se pueden estudiar sin que sufran descomposición o haya pérdida de ellos.
- v) Los espectros son mucho más simples que los infrarrojos ya que en el infrarrojo se observan las bandas de combinación y sobretonos, que requieren para su análisis un trabajo adicional, mientras que en el Raman, estas bandas ocurren con menos frecuencia y en la mayoría de los casos no se detectan.

2.6.3 Teoría de la polarización

El efecto de dispersión es debido al efecto de la polarización. Cuando la luz incidente en un medio se dispersa, el efecto de polarización se debe al desplazamiento de los electrones, bajo la influencia del campo eléctrico de la radiación electromagnética. Como resultado del desplazamiento electrónico se produce un momento dipolar oscilante inducido (P) que actúa como fuente de radiación.

Este momento dipolar inducido, que es completamente distinto al momento dipolar permanente que la molécula pueda tener en ausencia del campo eléctrico perturbante, irradia luz en todas direcciones excepto a lo largo de su propia dirección, con la máxima intensidad en aquellas direcciones ubicadas a 90° de la dirección de emisión del dipolo.

La intensidad de emisión en cualquier dirección que tenga un ángulo θ con P será igual a $KP_0^2 \text{sen}^2 \theta$ donde k es una constante y P_0 es la magnitud del momento dipolar oscilante, esto es, una amplitud en la oscilación. La intensidad máxima I_{max} ocurre para $\theta = 90^\circ$ y estará dada por KP_0^2 , mientras que la intensidad en cualquier otra dirección estará determinada por [47]:

$$I_\theta = I_{\text{max}} \text{sen}^2 \theta \quad (2-1)$$

Esta distribución tridimensional de la intensidad tiene forma de dona alrededor del dipolo eléctrico oscilante P .

El dipolo eléctrico oscilante no es la única fuente de radiación. El dipolo magnético oscilante y los cuádruplos eléctricos son también de gran importancia en el fenómeno de dispersión de sistemas quirálicos. Sin embargo, el dipolo eléctrico oscilante es la fuente que mayormente contribuye a los efectos Rayleigh y Raman y por lo tanto se les considera como fuente única.

Si el campo eléctrico es estático, el dipolo inducido oscilará con la frecuencia de la vibración molecular, pero si el campo eléctrico es oscilante, como el de la radiación electromagnética, el dipolo inducido oscilará no solo con la frecuencia del campo eléctrico, sino que también con las frecuencias de pulsación, entre la frecuencia de oscilación del campo eléctrico y de la molécula.

La magnitud del momento dipolar inducido P no solo depende del campo eléctrico E de la radiación electromagnética, sino que además depende de la denominada polarizabilidad eléctrica de la molécula (α), por lo cual se puede escribir lo siguiente [47]:

$$P = \alpha E \quad (2-2)$$

En general, el momento dipolar inducido está relacionado con el campo eléctrico por una relación más compleja que está determinada por la siguiente ecuación

$$P = \alpha E + \frac{1}{2} \beta E^2 + \frac{1}{6} \gamma E^3 + \dots \quad (2-3)$$

Donde β es la hiperpolarizabilidad y γ es la segunda hiperpolarizabilidad. Por lo tanto (2-2) es una aproximación lineal para el momento P.

Debido a que en las dispersiones Rayleigh y Raman se pueden observar intensidades de campo eléctrico bajas, el segundo y tercer término del desarrollo (2-3) son despreciables y la ecuación (2-2) es suficiente para describir los fenómenos de Rayleigh y Raman.

El origen de los espectros Raman puede ser explicado mediante la teoría clásica. Se considera una onda de luz con frecuencia ν_0 con una intensidad del campo eléctrico E . Donde E oscila a una frecuencia ν_0 , lo cual puede ser escrito como:

$$E = E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (2-4)$$

Con E_0 la amplitud y t el tiempo. Si una molécula diatómica es irradiada por esta onda, el dipolo eléctrico inducido estará determinado por:

$$P = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (2-5)$$

Por otra parte, si la molécula vibra a una frecuencia ν_k , entonces el desplazamiento nuclear Q_k está determinado por:

$$Q_k = Q_{k0} \cos(2\pi\nu_k t) \quad (2-6)$$

Donde Q_{k0} es la amplitud vibracional. Para pequeñas amplitudes de vibración, α es una función lineal de Q_k , por lo tanto puede ser escrita como:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\delta\alpha}{\delta Q_k} \right)_0 Q_k \quad (2-7)$$

Se propone

$$\alpha' = \left(\frac{\delta\alpha}{\delta Q_k} \right)_0 \quad (2-8)$$

Entonces

$$\alpha = \alpha_0 + \alpha' Q_k \quad (2-9)$$

Donde α_0 es la polarizabilidad en estado de equilibrio y α' es la razón de cambio α con respecto al cambio en Q_k , evaluado en la posición de equilibrio.

Continuando con este razonamiento, se sustituye (1-9) en (1-5):

$$P = \alpha_0 E + \alpha' E Q_{k0} \cos(2\pi\nu_k t) \quad (2-10)$$

Se sustituye (2-4) en (2-9) se tiene:

$$P = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \alpha' E_0 Q_{k0} \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_k t) \quad (2-11)$$

Recordando la relación trigonométrica:

$$\cos \theta \cos \phi = \frac{1}{2} (\cos(\theta + \phi) + \cos(\theta - \phi)) \quad (2-12)$$

La ecuación puede ser reescrita como:

$$P = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \alpha' E_0 Q_{k0} [\cos(2\pi t(\nu_0 + \nu_k)) + \cos(2\pi t(\nu_0 - \nu_k))]]$$

Para una molécula poliatómica, con varios modos normales, la ecuación anterior puede ser extendida (según el principio de superposición) sumando para los diferentes valores de k, diferentes modos vibracionales. Así se tiene finalmente que:

$$P = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} E_0 \sum_k Q_{k0} \alpha' [\cos(2\pi t(\nu_0 + \nu_k)) + \cos(2\pi t(\nu_0 - \nu_k))]]$$

Esta ecuación, predice correctamente la dispersión Rayleigh y corresponde al primer término de esta ecuación. El efecto Rayleigh depende de α_0 , esto es, de la polarizabilidad de la molécula en su configuración de equilibrio. Cabe señalar que esta ecuación también predice correctamente las frecuencias Raman Stokes y Raman antiStockes. Estas frecuencias corresponden a las frecuencias $\nu_0 \pm \nu_k$ y dependen de α' que es también llamada polarizabilidad derivada de la molécula.

Por lo tanto además de ν_0 la molécula emitirá frecuencias a $\nu_0 \pm \nu_k$ las que serán observadas en direcciones diferentes a la luz incidente.

2.6.4 Dispersión Raman aumentada en superficie (SERS)

La dispersión Raman de un compuesto cerca de superficie de un metal puede ser 10^3 - 10^6 mayor que en una solución, el fenómeno de SERS se debe a dos mecanismos [47]:

Primero, a un aumento producido por el campo eléctrico en la superficie del metal: si la longitud de onda de excitación es cercana a longitud de onda de plasma, los electrones de conducción en el superficie se excitan hasta alcanzar un estado de excitación extendido (estado de resonancia de plasmónes superficiales).

Segundo, a la formación de complejos por el fenómeno de transferencia de carga entre la superficie y la molécula analizada.

Las muestras en las cuales se presenta el fenómeno de SERS son las moléculas con pares electrónicos libres o enlaces π (piridina, aminas aromáticas, fenoles), u otros grupos funcionales, ricos en electrones (ácidos carboxílicos). Por otra parte, el aumento del campo eléctrico en la superficie, puede atribuirse a las resonancias de plasmónes, fonónes, polaritónes, o excitónes en la superficie de la muestra.

El fenómeno de SERS es útil para estudio de monocapas de materiales absorbidos en metales (inclusive los electrodos, coloidales, películas metálicas sobre el substrato dieléctrico, para estudiar tanto la cinética de absorción y absorción competitiva, como en química analítica.

2.6.5 Características del equipo empleado

Los espectros de Raman se midieron a temperatura de 300K en el departamento de Ingeniería Eléctrica del CINVESTAV en el microscopio de alta resolución Raman (Micro-Raman 1429-LabRAM-HR). Para lograr la excitación se utilizó un laser de He-Ne con longitud de onda de 632.8 nm y una potencia

de 30 mW con un detector de CCD de 1024 Píxeles, con una distancia focal de 800mm, ver figura 2.11.

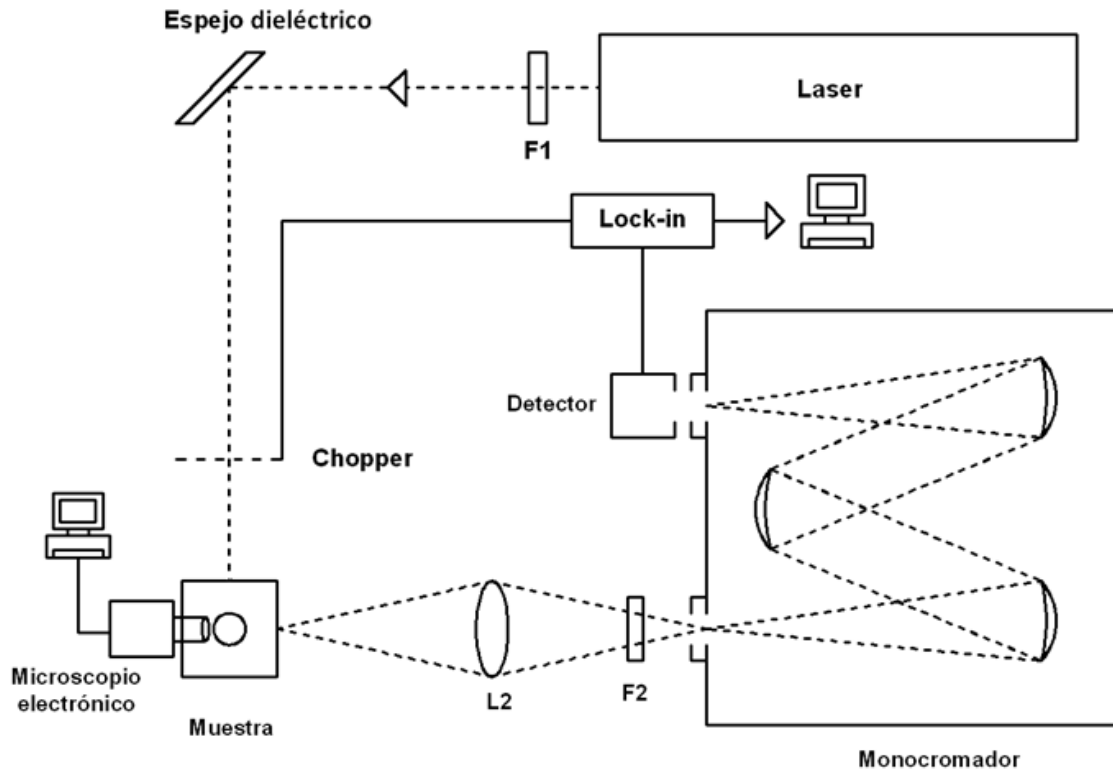


Figura 2-11 Arreglo experimental de Raman con láser, monocromador y detector de CCD. El lente L enfoca la señal de Raman, los filtros F1 y F2 bloquean la luz del láser no deseada.

Capítulo 3 Análisis de los espectros de fotoluminiscencia de puntos cuánticos

Los puntos cuánticos estudiados en el presente trabajo, tienen un tamaño aproximado de 3.6-4.0 nm con una emisión de 560-565nm. Como ya se mencionó en el capítulo 2, se separaron las muestras con recubrimiento de polímero no bioconjugados (565N) y bioconjugados (565P) para su análisis por los métodos de fotoluminiscencia y espectroscopía Raman. Tales muestras, fueron colocadas en forma de puntos de 5mm de radio, sobre un substrato de Silicio.

3.1 Investigación de Fotoluminiscencia de Puntos cuánticos con emisión 565nm a una temperatura de 300 K de muestras no bioconjugados

En la figura 3 (a, b, c) se pueden observar las bandas de fotoluminiscencia en el intervalo espectral de 1.80 eV a 3.2 eV. En intervalo de energías en las muestras no bioconjugadas, se debería de observar únicamente la banda de fotoluminiscencia correspondiente al núcleo de CdSe. Esta banda, localizada aproximadamente en 2.2 eV, refleja la recombinación radiativa de excitones que corresponden al estado base de el núcleo de CdSe. Sin embargo, se puede observar la presencia de diferentes picos adicionales en la figura 3-1, cuyas ubicaciones en el espectro se muestran en la tabla 3.1.

Tabla 3.1 Ubicación de picos de bandas elementales para la muestra normalizada de puntos cuánticos 565N con diferente intensidad de emisión.

Muestras Picos	565x1 Curva a	565x11 Curva b	565x18 Curva c
1	2.22	2.18	2.16
2	3.75	2.36	2.34
3	2.71	2.63	2.64
4	3.02	2.95	3.02
5	2.05	2	2

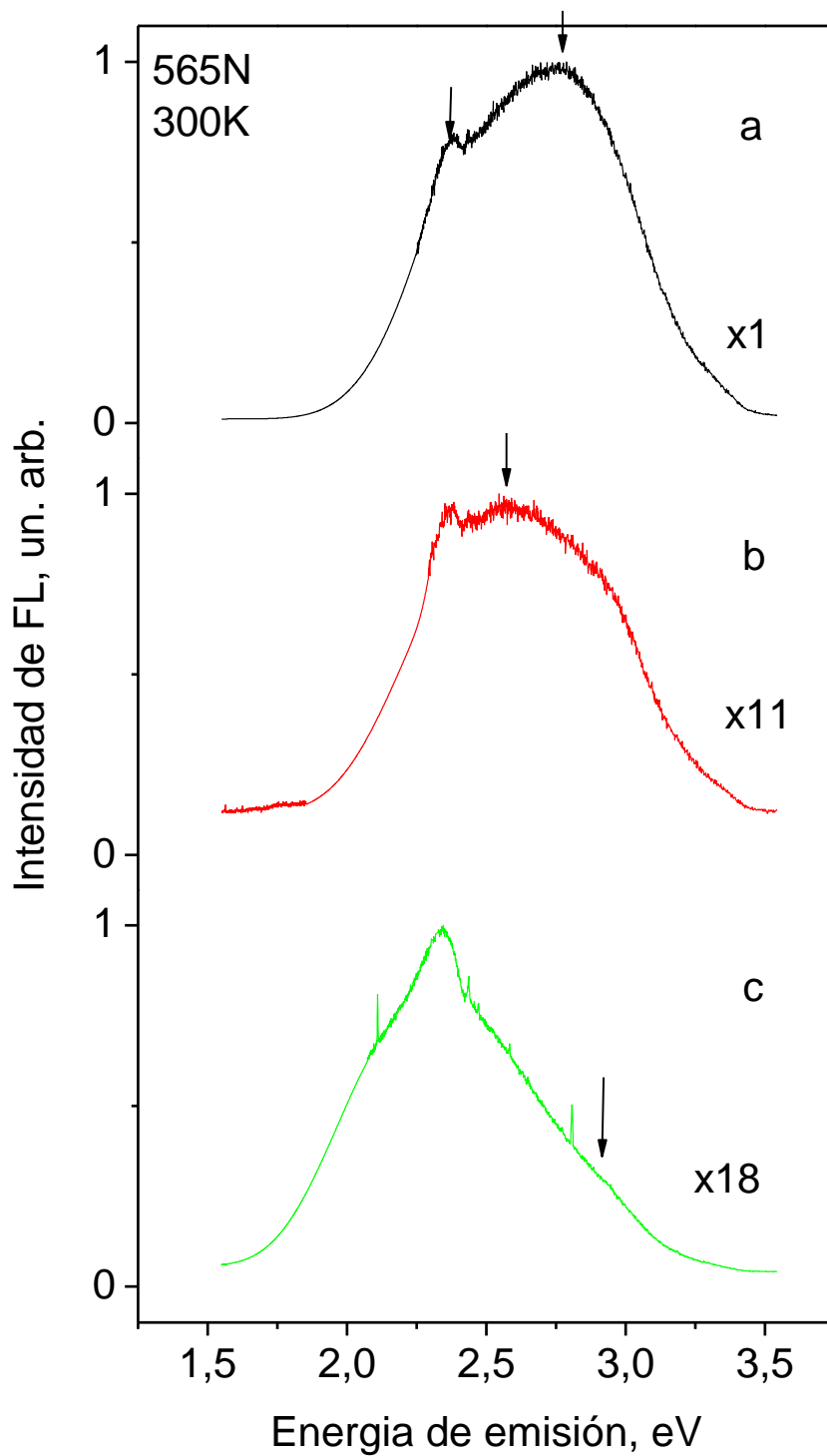


Figura 3-1 Espectros de fotoluminiscencia normalizados de la muestra de puntos cuánticos 565N a una temperatura de 300K con diferente intensidad de emisión.

Para llevar a cabo el análisis de la naturaleza del espectro en el intervalo entre de 1.80 eV y 3.2 eV, es importante realizar un análisis mediante la

deconvolución del espectro de cada muestra, con este propósito se plantea la ubicación de las bandas elementales en función de los picos observados en los análisis experimentales.

Estas bandas elementales, se caracterizan por tener una forma Gaussiana cuya distribución de probabilidades, está representada por la ecuación 3-1.

$y = y_0 + \frac{A}{w\sqrt{\frac{\pi}{2}}} e^{-\frac{(x-x_c)^2}{w^2}}$	3-1
--	-----

Para la muestra 565Nx1 se obtuvieron los resultados de las bandas elementales con valores representados en la tabla 3.2, así mismo las gráficas correspondientes a los picos de deconvolución se muestran en la figura 3-2.

Tabla 3.2 Valores de las curvas Gaussianas de las bandas elementales de la muestra 565N x1
Figura.3.2 Curva a.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	2.22	0.06	0.16
2	2.37	0.12	0.20
3	2.71	0.46	0.37
4	3.02	0.12	0.25
5	2.05	0.01	0.12

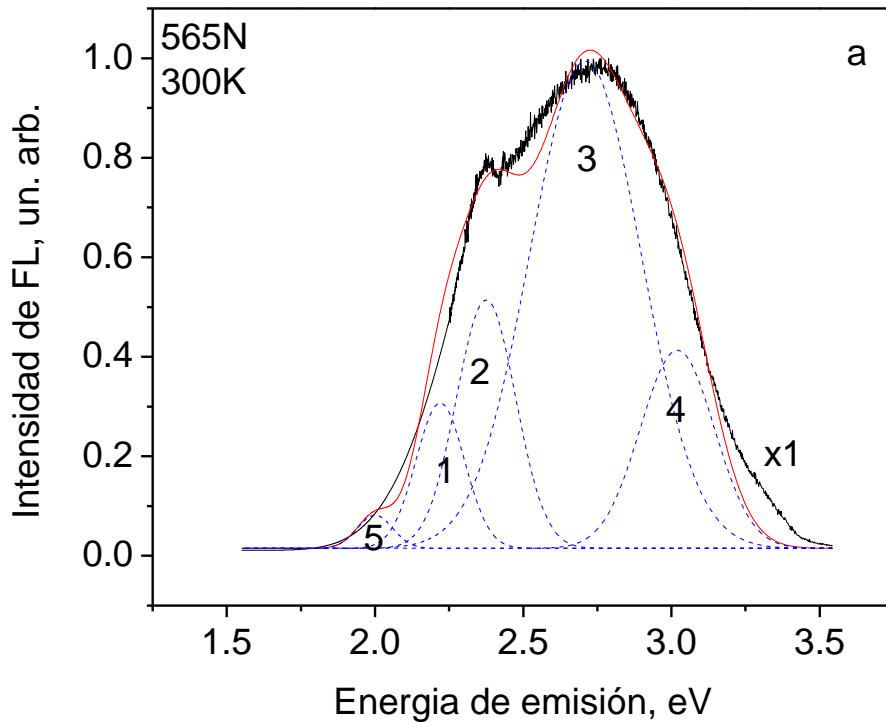


Figura 3-2 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 5 bandas elementales para la muestra 565Nx1 a una temperatura de 300K.

Para la muestra 565Nx11 se obtuvieron los resultados de las bandas elementales con valores representados en la tabla 3.3, así mismo, las gráficas resultantes se muestran en la figura 3-3.

Tabla 3.3 Valores de las curvas Gaussianas de las bandas elementales de la muestra 565N x11 Figura.3.3 Curva b.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	2.18	0.06	0.16
2	2.36	0.15	0.20
3	2.64	0.33	0.34
4	2.95	0.16	0.25
5	2.00	0.01	0.12

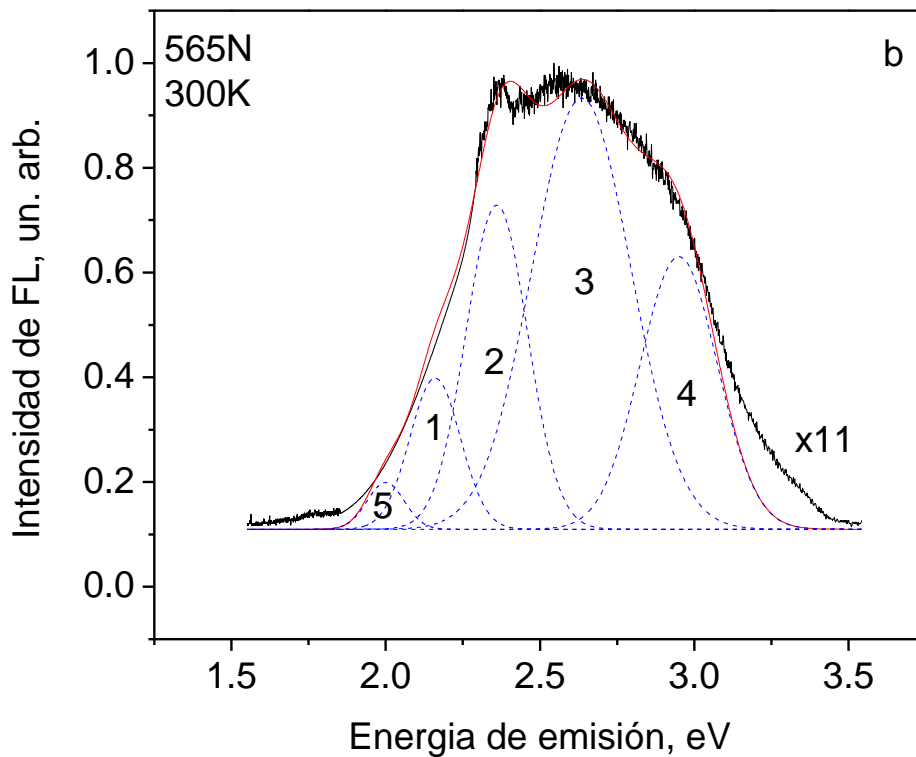


Figura 3-3 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 5 bandas elementales para la muestra 565Nx11 a una temperatura de 300K.

Para la muestra 565Nx18 se obtuvieron los resultados de las bandas elementales con valores representados en la tabla 3.4, así mismo, las gráficas resultantes se muestran en la figura 3-4.

Tabla 3.4 Valores de las curvas Gaussianas de las bandas elementales de la muestra 565Nx18 Figura.3.4 Curva c.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	2.17	0.06	0.16
2	2.34	0.23	0.23
3	2.64	0.22	0.36
4	3.02	0.04	0.25
5	2.00	0.12	0.25

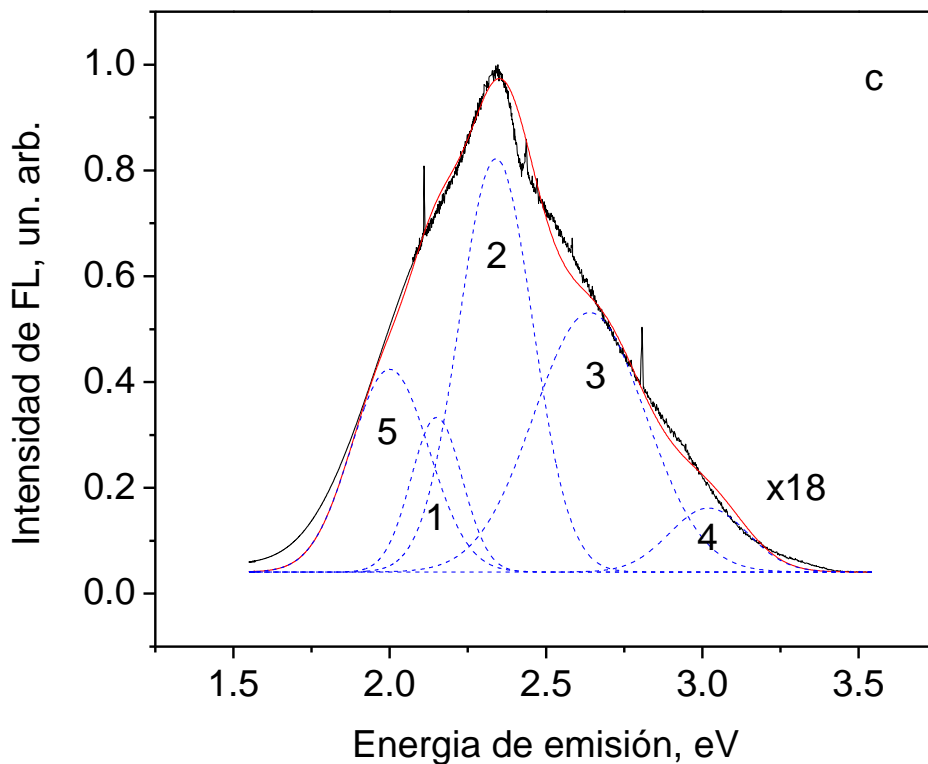


Figura 3-4 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 5 bandas elementales para la muestra 565Nx18 a una temperatura de 300K.

3.2 Comparación de espectros de fotoluminiscencia de la muestra con diferentes intensidades de emisión 565nm no bioconjugadas (565N)

Con el objeto de realizar una comparación directa entre la muestra con diferente intensidad de emisión, se ha elaborado la figura 3-5, en la cual se puede observar de manera más clara la similitud de la forma y naturaleza de las bandas elementales (1, 2, 3, 4, 5).

Así mismo, se ha realizado la normalización de los valores para poder analizar las gráficas de manera simultánea. Los números en las curvas x1, x11, x18 indican el coeficiente de multiplicación aplicado para la normalización de espectro experimental de fotoluminiscencia.

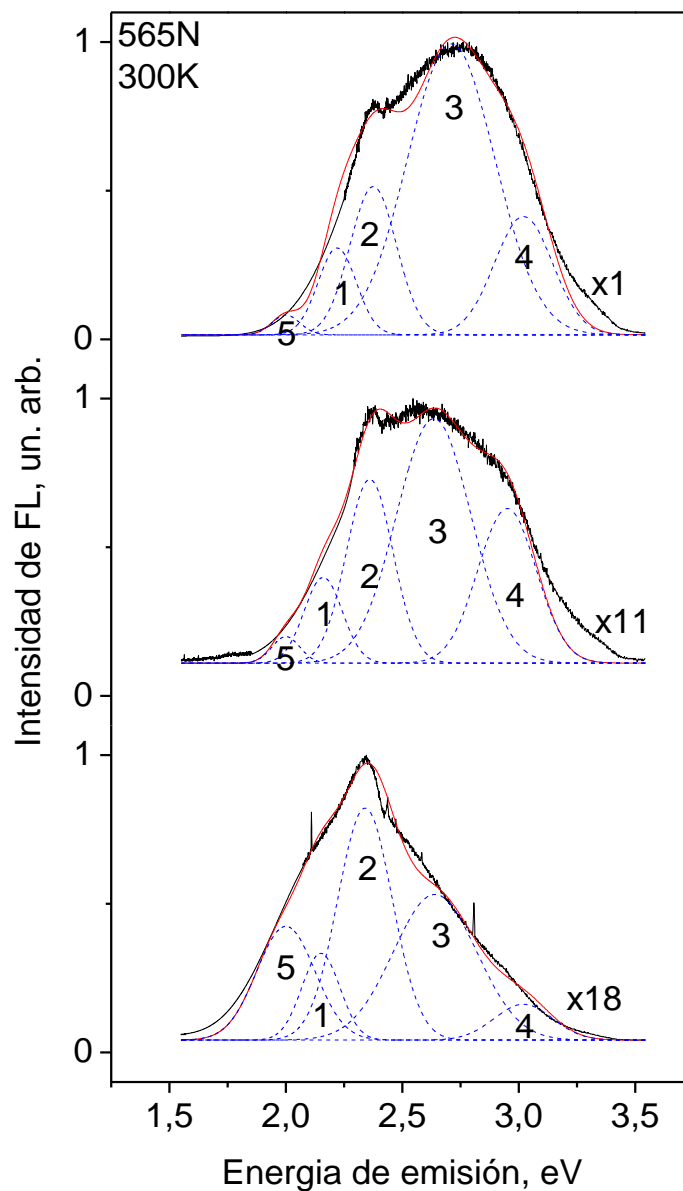


Figura 3-5 Espectro normalizado de fotoluminiscencia de los puntos cuánticos 565N (sin bioconjugación) para una muestra con diferente intensidad de fotoluminiscencia a una temperatura de 300K.

A pesar de que las bandas elementales tienen ubicación diferente, los máximos de las bandas a la mitad de la altura (full width at half maximum, fwhm), que se obtienen por deconvolución de los picos, son similares para cada banda elemental. Por lo que se puede proponer, que para cada muestra, la banda elemental, asignada con un número, puede ser comparada con la misma banda elemental, de otra muestra (Tabla 3.5).

Tabla 3.5 Asignación de intervalo de energía a las diferentes bandas elementales.

Banda elemental de fotoluminiscencia	Intervalo de la banda elemental
1	2.17-2.22 eV
2	2.34-2.38 eV
3	2.64-2.71 eV
4	2.95-3.02 eV
5	2.00-2.05 eV

Como se puede observar de la tabla 3.5 y figura 3.5, para los diferentes espectros cambia la contribución de las diversas bandas elementales. Para analizar la dependencia entre las bandas elementales., se comparan intensidades relativas de los picos, para ello, ese toman en consideración los factores de multiplicación correspondientes, que están especificadas en la siguiente tabla 3.6.

Tabla 3.6 Relación de intensidades del espectro de fotoluminiscencia con el factor multiplicativo de normalización.

Muestra	Intensidades relativas	Intensidades relativas
X1	I_0	$18I_0$
X11	$I_0/11$	$1.6 I_0$
X18	$I_0/18$	I_0

Analizando el cambio de área en función de la intensidad, se tiene que las áreas de las bandas 3 y 4 disminuyen en función del decremento de intensidad. Al contrario, las áreas de las bandas 2 y 5 aumentan en función del decremento de la intensidad. De esta manera, es posible efectuar el análisis de intensidades relativas para los picos correspondientes para confirmar lo ya mencionado (Tabla 3.7).

Tabla 3.7 Relación de áreas con intensidades relativas.

Intensidad relativa \ Área	$\frac{A_3 + A_4}{A_1}$	$\frac{A_5 + A_2}{A_1}$
1	4,33	5,83
1,6	8,16	2,66
18	9,67	2,16

Como se puede ver en la figura 3-6, existe una dependencia entre las áreas de las diferentes bandas elementales de la muestra 565N, analizada a diferente intensidad de fotoluminiscencia.

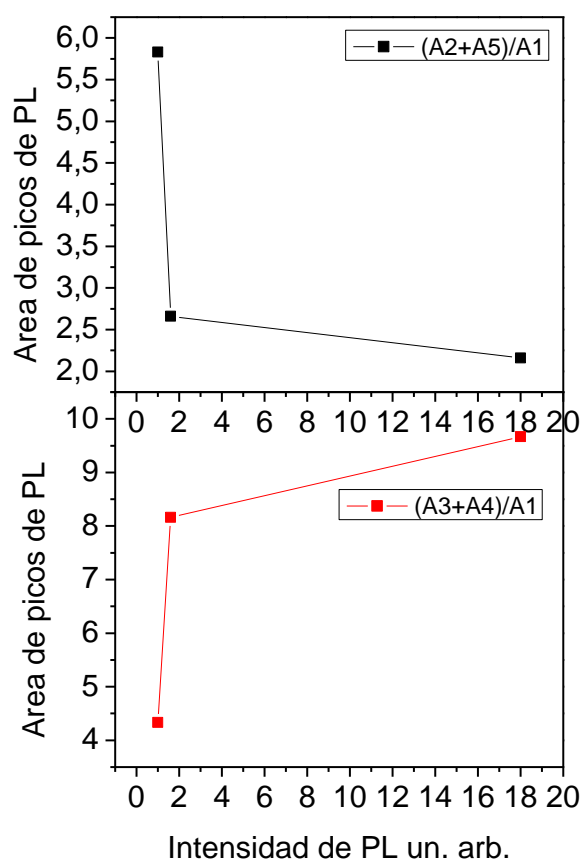


Figura 3-6 Dependencia del cambio de área de las diferentes bandas de fotoluminiscencia elementales en función de la intensidad de fotoluminiscencia de la muestra 565N.

La naturaleza de las bandas elementales 2, 3, 4, 5 pueden relacionarse a tres posibles mecanismos:

- i) Estados excitados en el núcleo de CdSe.
- ii) Estados en la banda prohibida en la coraza ZnS.

- iii) Estados superficiales en la interfase de CdSe/ZnS.
- iv) Estados superficiales en la interfase de ZnS/polímero.

3.3 Investigación de fotoluminiscencia de puntos cuánticos con diferentes tamaños de núcleo de CdSe a 300 K.

Para confirmar las hipótesis, se realizó el análisis de emisión de los puntos cuánticos de diferente tamaño (no bioconjugados): 3.2 nm ($\lambda=525$ nm), 4.0 nm ($\lambda=560$ nm), 5.1 nm ($\lambda=605$ nm), 6.3 nm ($\lambda=640$ nm). Para el siguiente análisis realizado, se propuso la hipótesis, si las bandas de energías más altas (2, 3, 4), están conectadas con la recombinación de excitones localizados en los estados excitados del núcleo de CdSe, la posición de estas bandas tiene que desplazarse al aumentar o disminuir el tamaño de los puntos cuánticos.

Tabla 3.8a Datos de deconvolución de la muestra con emisión 525nm, Figura.3-7, Curva a.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	2.35	0.02	0.16
2	2.37	0.11	0.20
3	2.71	0.46	0.37
4	3.02	0.13	0.25
5	2.15	0.036	0.14

Tabla 3.8b Datos de deconvolución de la muestra con emisión 565nm, Figura.3-7, Curva b.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	2.22	0.06	0.16
2	2.37	0.12	0.20
3	2.71	0.22	0.37
4	3.02	0.46	0.25
5	2.05	0.01	0.12

Tabla 3.8c Datos de deconvolución de la muestra con emisión 605nm, Figura.3-7, Curva c.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	2.08	0.08	0.23
2	2.35	0.16	0.20
3	2.64	0.45	0.37
4	2.95	0.12	0.25
5	2.00	0.12	0.01

Tabla 3.8d Datos de deconvolución de la muestra con emisión 640nm, Figura.3-7, Curva d.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	1.96	0.11	0.12
2	2.37	0.12	0.20
3	2.68	0.42	0.37
4	3.00	0.13	0.25
5	2.16	0.05	0.14

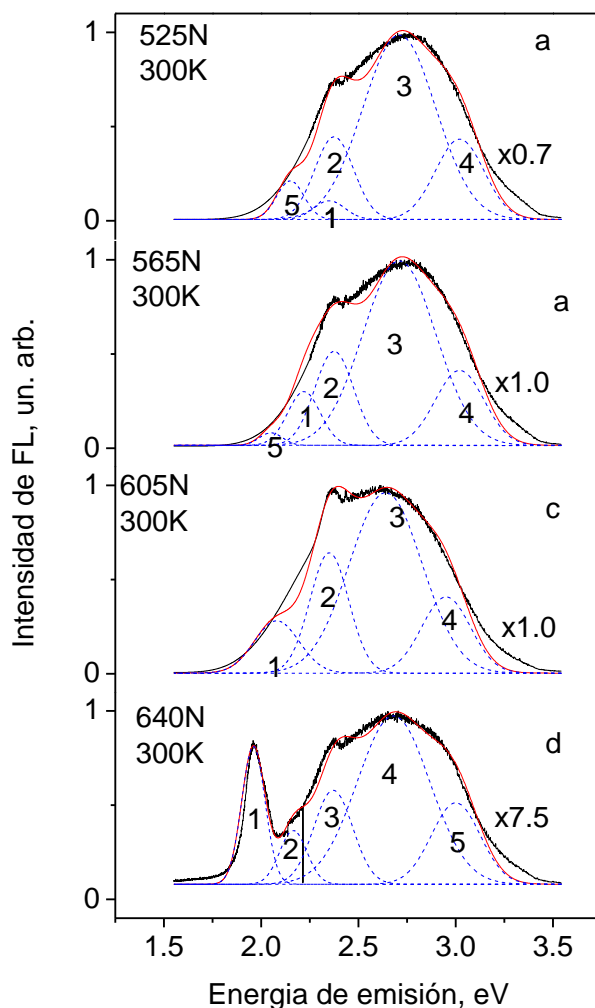


Figura 3-7 Espectro de fotoluminiscencia normalizado de puntos cuánticos núcleo/coraza CdSe/ZnS con diferentes tamaños d: 1 - 3.2 nm ($\lambda=525$ nm), 2 - 4.0 nm ($\lambda=560$ nm), 3 - 5.1 nm ($\lambda=605$ nm), 4 - 6.3 nm ($\lambda=640$ nm).

Tal y como se puede observar en la tablas 3.8 a, b, c, d y figura 3-7, las posiciones de las bandas 2, 3, 4 y sus fwhm no cambian con la variación de los tamaños de los puntos cuánticos. Por lo tanto, se puede concluir que las bandas elementales 2, 3, 4 no están conectadas con estados excitados en el núcleo de CdSe.

3.4 Investigación de puntos cuánticos con emisión 640nm a 10K.

Para aclarar la naturaleza de estas bandas elementales de alta energía se realizó el estudio de fotoluminiscencia de los puntos cuánticos CdSe/ZnSe con emisión de 640 nm de a diferentes temperaturas (10°K y 300°K).

La disminución de la temperatura permite despreciar el proceso de ionización térmica del núcleo de CdSe a la coraza de ZnS que puede ocurrir a la temperatura ambiental (300K). Se puede observar (figura 3-8a, b) que la posición de los picos referentes a las bandas 2, 3, 4, 5 no cambia con la disminución de la temperatura a 10K.

Sin embargo, la banda de fotoluminiscencia relacionada con los excitones de emisión del núcleo de CdSe demuestra un desplazamiento a energías mayores (≈ 60 meV) debido al incremento de la banda prohibida al disminuir la temperatura.

La posición constante de las bandas de fotoluminiscencia 2, 3, 4 y 5 a temperaturas diferentes, indica que estas bandas de fotoluminiscencia no están conectadas con los estados en la banda prohibida en ZnS. En este caso, las bandas de energía pueden deberse a estados de interfase. Para confirmar esta hipótesis, se realizó el análisis de la muestra 640N, debido a que es la única muestra en la que se puede observar claramente el fenómeno de desplazamiento del pico referente a la coraza CdSe por la disminución de la temperatura.

Tabla 3.9a Valores de las bandas de deconvolución de la muestra con emisión 640nm a una temperatura de 10K.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	2.02	0.04	0.12
2	2.16	0.04	0.14
3	2.37	0.12	0.20
4	2.68	0.42	0.37
5	3.00	0.13	0.25

Tabla 3.9b Valores de las bandas de deconvolución de los puntos cuánticos con emisión en 640 nm a una temperatura de 300K.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	1.96	0.11	0.12
2	2.17	0.05	0.14
3	2.37	0.12	0.20
4	2.68	0.42	0.37
5	3.00	0.13	0.25

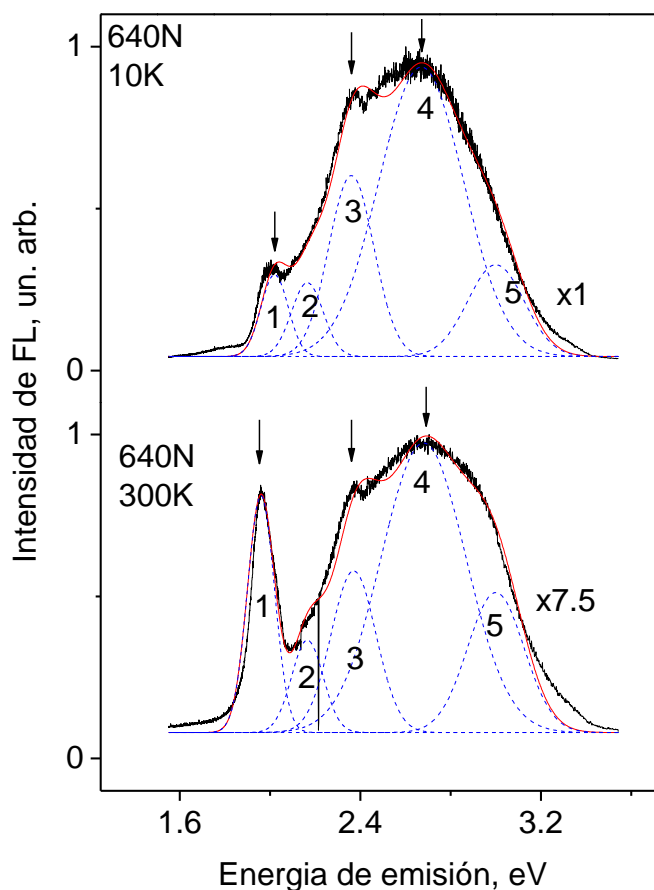


Figura 3-8 Comparación de espectros de fotoluminiscencia normalizados de la muestra con puntos cuánticos 640N a una temperatura de 10K y 300K.

Debido al desplazamiento del pico de la muestra referente al núcleo de CdSe 640N a más altas energías, causado por la disminución de la temperatura, aunado a que este efecto no ocurre para las bandas 2, 3, 4 y 5, es posible confirmar que estas bandas son debidas principalmente a estados de interfase en los puntos cuánticos.

Para confirmar esta hipótesis, es necesario analizar los espectros de fotoluminiscencia de la muestra con bioconjugación (565P).

3.5 Fotoluminiscencia de puntos cuánticos con emisión 565nm bioconjugados (565P)

Se podría esperar que las bandas 2, 3 y 4, observados en las muestras no bioconjugadas, continuarán en las muestras bioconjugadas. Sin embargo, en la figura 3-9 se observa única banda 1, que corresponde a la emisión de la coraza de CdSe de los puntos cuánticos (Tabla 3.10).

Tabla 3.10 Valor característico de la curva Gaussiana que representa la emisión del núcleo de CdSe Figura.3.9 Curva a.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	2.22	0.16	0.164

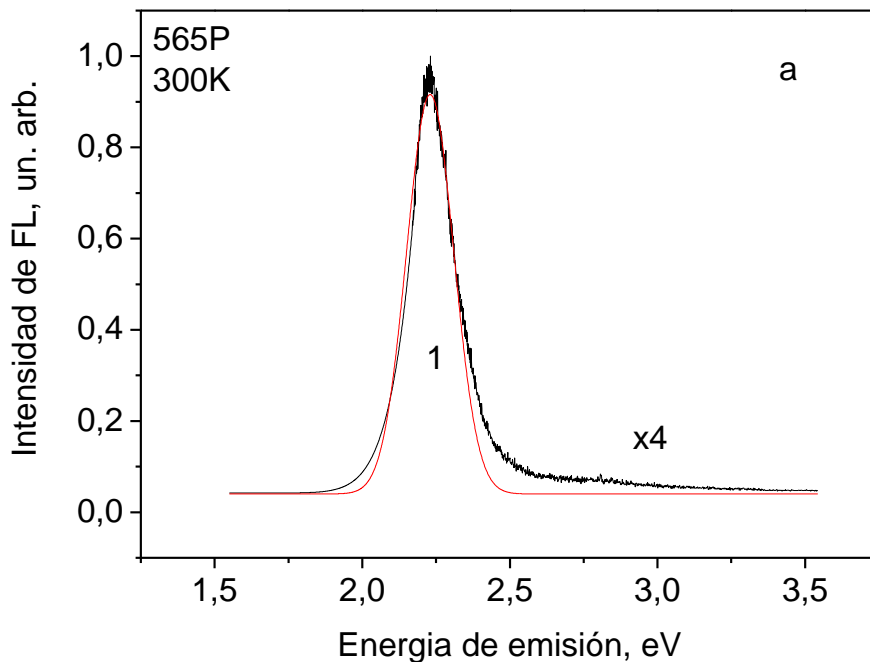


Figura 3-9 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 1 banda fundamental para la muestra 565P x4.

Por otra parte, la alta concentración de estados de interfase (menor intensidad de fotoluminiscencia) en el proceso de bioconjugación, provoca la disminución de la intensidad de bandas de fotoluminiscencia de las bandas elementales 2, 3, 4 y 5. Sin embargo, la intensidad de emisión en estos niveles de energía es mayor (figura 3-10) comparándolo con la figura 3-9. Además, se observa un pico adicional: al núcleo de CdSe, este se encuentra ubicado aproximadamente en 1.98 eV (tabla 3.11).

Tabla 3.11 Valores de las bandas de deconvolución de los puntos cuánticos 565P (bioconjugados), de la Figura 3-8 Curva b.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	2.21	0.15	0.16
2	2.38	0.08	0.23
3	2.71	0.05	0.36
4	3.02	0.02	0.25
5	1.98	0.04	0.11

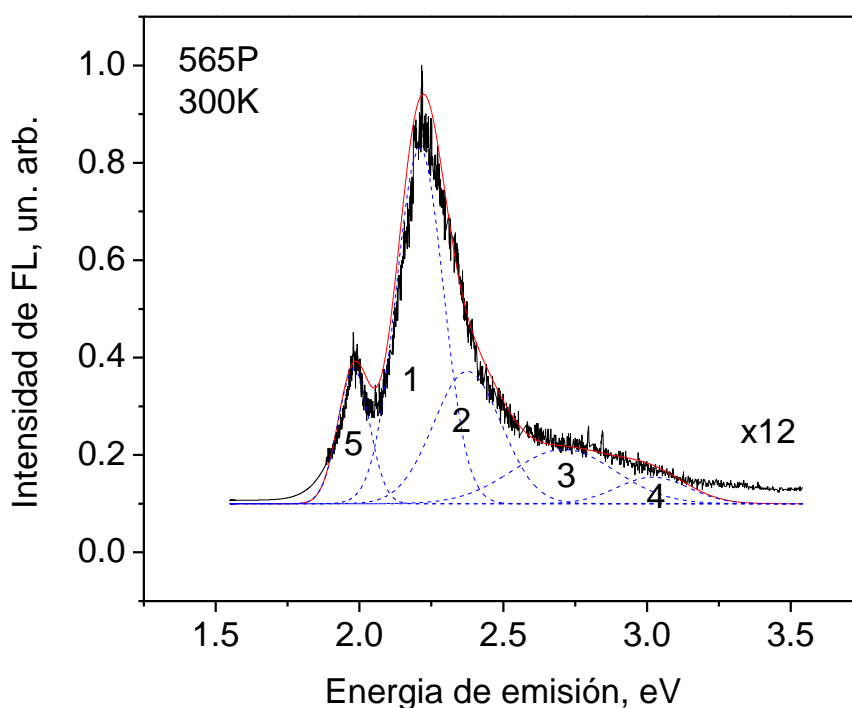


Figura 3-10 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 5 bandas elementales para la muestra 565P x12.

Cuando se presentan valores muy altos de concentración de estados de interfase, el proceso de bioconjugación no cambia el espectro de fotoluminiscencia. Al analizar el siguiente espectro (figura 3-11), se muestran las contribuciones mayoritarias de las bandas elementales 2, 3, 4 (tabla 3.12), cuya ubicación concuerda con los estados de interfase planteados en las gráficas no bioconjugadas (565N).

Tabla 3.12 Valores de las bandas de deconvolución de los puntos cuánticos 565P (con bioconjugación), de la figura 3-11.

Pico	Posición xc	Área de la Gaussiana A	Ancho medio a la mitad del máximo W
1	2.17	0.06	0.16
2	2.34	0.21	0.23
3	2.64	0.16	0.36
4	3.02	0.01	0.25
5	2.00	0.15	0.25

a

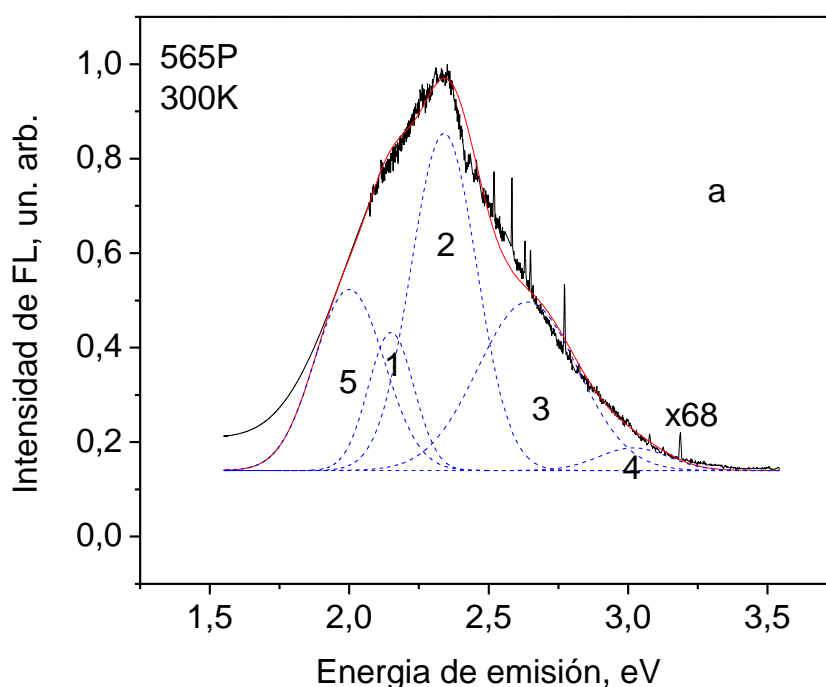


Figura 3-11 Deconvolución del espectro de fotoluminiscencia en 5 bandas elementales para la muestra 565P x68 Curva c.

En la figura 3-12 se pueden observar las gráficas anteriores en un espectro normalizado. Los números en las curvas x4, x12, x68 indican el coeficiente de multiplicación utilizado para la normalización de espectro experimental de fotoluminiscencia.

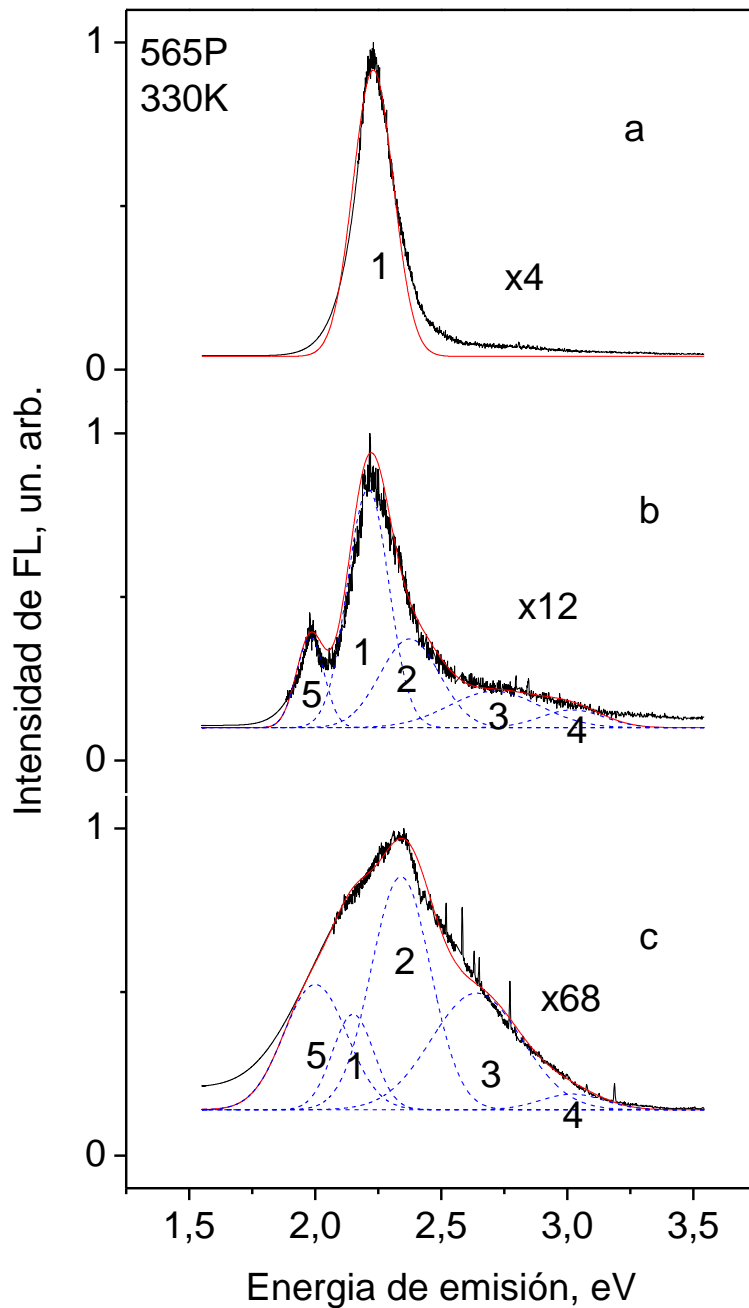


Figura 3-12 Espectro de fotoluminiscencia normalizado de los puntos cuánticos 565P (bioconjugados) realizado a 300K para s con diferentes intensidades de fotoluminiscencia (a, b, c).

Se puede observar que para las diferentes intensidades de fotoluminiscencia, la contribución de las bandas elementales resulta distinta. Además, se observa una dependencia entre el área e intensidad. Para poder analizar este cambio es necesario realizar un análisis basado en intensidades relativas. Para ello, se toma en cuenta el factor de multiplicación, las intensidades se especifican en la tabla 3.13.

Tabla 3.13 Relación de intensidades del espectro de fotoluminiscencia con el factor multiplicativo de normalización para muestras.

Muestra	Intensidades relativas	Intensidades relativas
X4	$I_0/4$	$15.75I_0$
X12	$I_0/12$	$5.25 I_0$
X68	$I_0/63$	I_0

Analizando el cambio de área en función de la intensidad, se observó el área de las bandas 2, 3, 4, 5 tiene una dependencia inversa con respecto a la intensidad. Para confirmar lo mencionado anteriormente, se realizó el análisis de intensidades relativas (Tabla 3.14). En la figura 3-13 se muestra el cambio del área de los picos de fotoluminiscencia en función de la intensidad de fotoluminiscencia.

Tabla 3.14 Relación de áreas con intensidades relativas.

Área \ Intensidad relativa	$\frac{A_3 + A_4}{A_1}$	$\frac{A_5 + A_2}{A_1}$
1	2,83	6
5,25	0,46	0,8
15,75	0	0

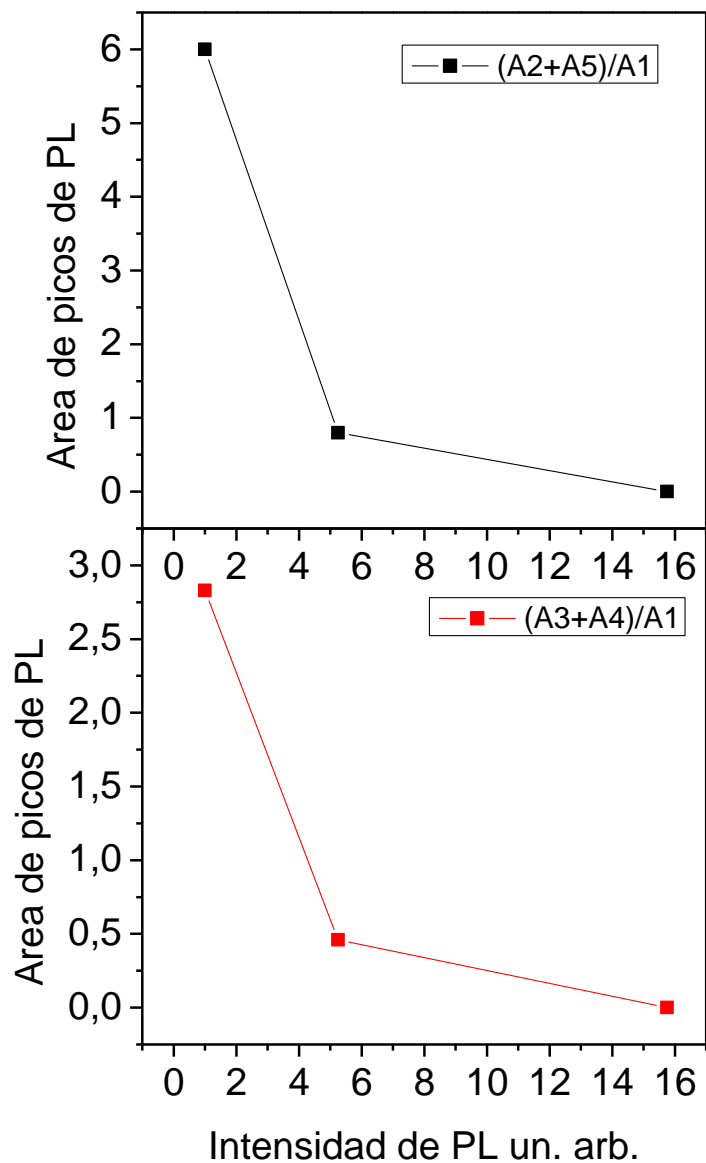


Figura 3 13 Dependencia del cambio de área de las diferentes bandas elementales en función de la intensidad de fotoluminiscencia de la muestra 565N.

3.6 Comparación entre espectros de fotoluminiscencia de puntos cuánticos no bioconjugados y bioconjugados

Al realizar la comparación entre las figuras 3-2 y 3-9 se puede observar claramente la desaparición de las bandas elementales 2, 3, 4 y 5 (figura 3-14), que probablemente se deban a estados en las interfases.

El cambio se debe al proceso de bioconjugación. Sin embargo, es necesario plantear un modelo el cual pueda explicar la dinámica de la desaparición de estados de interfases en el proceso de bioconjugación, de esta manera se propuso un modelo basado en el diagrama de energía de los puntos cuánticos de CdSe/ZnS sin bioconjugación. Este modelo explica el comportamiento observado en la fotoluminiscencia de estos puntos cuánticos en términos de niveles de energía de bandas de emisiones correspondientes a los picos de fotoluminiscencia generados por las recombinaciones de los electrones y huecos en el núcleo y en los estados de interfase del núcleo con coraza y recubrimiento polimérico. Este modelo sería útil en un futuro, para determinar el éxito del proceso de bioconjugación.

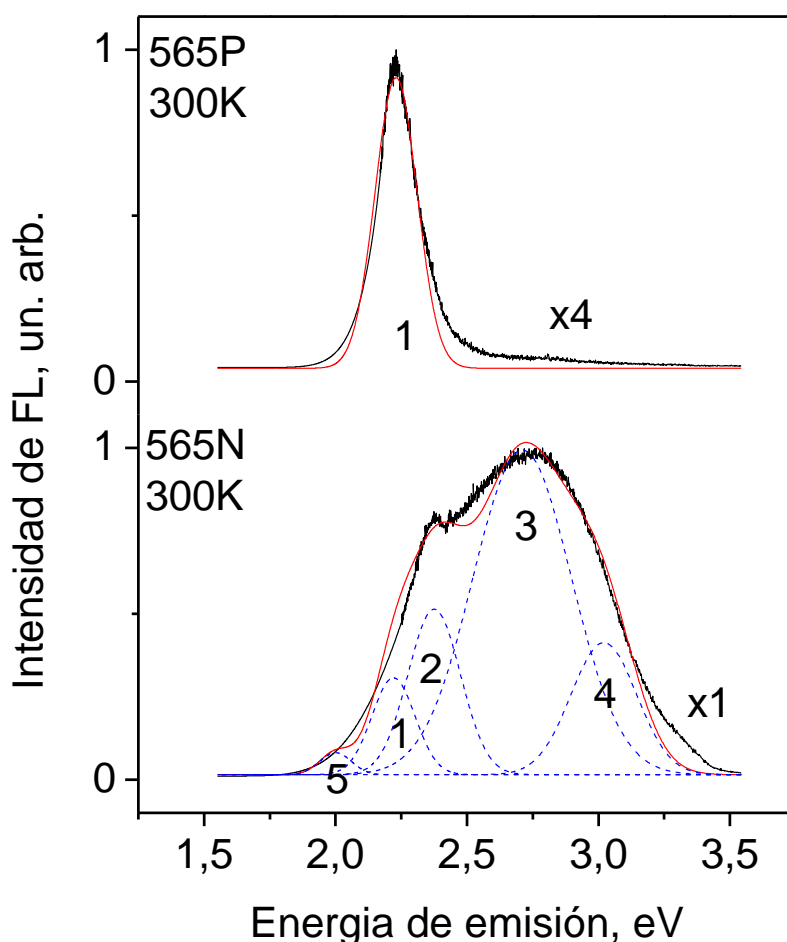


Figura 3-14 Comparación de espectros de fotoluminiscencia normalizados de puntos cuánticos no bioconjugados (565N) y bioconjugados (565P).

3.7 Análisis de los efectos de la bioconjugación

A partir de un diagrama de bandas, se pueden deducir claramente los estados de interfase (figura 3-15). La energía de los respectivos niveles de estados de interfase en las bandas 2, 3, 4 y 5 pueden ser estimados a partir de los máximos respectivos [48] (figura 3-2, 3-3 y 3-4).

Una investigación anterior, acerca de de la dinámica de despoblación de los portadores (electrones y huecos) en estados cuantizados en CdSe, revela una rápida recombinación (del orden inferior a picosegundos) de electrones y huecos en semiconductores en bulto [49]. Este efecto se debe a la emisión de los fonones en semiconductores [49]. El rápido decaimiento inicial de la población de electrones depende fuertemente del grado de pasivación de la superficie, y se debe a la captura de éstos, en los estados interfase.

La veloz recombinación de los huecos, fue casi idéntica en las muestras con diferentes propiedades de la superficie [49], lo cual sugiere que esa dinámica es debida a la relajación dentro de los estados intrínsecos de nanocristales, o bien a los estados interfase que permanecen sin ser pasivados, bajo el tratamiento superficial utilizado. Es decir, que a pesar de que se tenga la coraza de ZnS para pasivar tales estados, la coraza no elimina de manera definitiva estos estados de interfase.

Para las bandas 2, 3, 4 ocurre una rápida variación de electrones y huecos en estados cuantizados en los puntos cuánticos de CdSe. Por esta razón se propone que los defectos radiativos responsables de estas bandas, están localizados en la interfase de CdSe/ZnS. Cabe mencionar que la coraza de ZnS es suficientemente delgada (1-2nm) para permitir el tunelamiento de portadores a la interfase de ZnS/polímero.

Así mismo, para explicar los efectos de espectros de fotoluminiscencia anteriormente descrito en la Ref. [48]. Este modelo permite representación esquemática de las partículas de CdSe/ZnS, recubiertos con polímero. Aplicando este modelo, es posible suponer que los estados de interfase (IS)

responsables de la captura de huecos en los puntos cuánticos, están cargados negativamente, tal como los defectos de tipo aceptores (IS-) semejante a las vacancias de Zn o Cd (o sus complejos) [51, 52].

De igual forma, los estados de interfase responsables de la captura de electrones en puntos cuánticos no bioconjugados, están cargados positivamente, tal como si se tratara de defectos de tipo donadores (IS+), que se deben a las vacancias de S o Se (o sus complejos) [50, 51]. Esta aseveración se deriva de la neutralidad eléctrica de los puntos cuánticos

La carga negativa de la interfase debidos a los defectos tipo aceptores, ocurre por la compensación por electrones de los defectos tipo donadores en puntos cuánticos no bioconjugados (figura 3-15). De esta manera, la localización de defectos en la interfase de CdSe/ZnS y sus potenciales de atracción debidos a las cargas positivas y negativas (proceso de recarga), permiten la competencia entre los procesos de recombinación con excitones y de los defectos no radiativos.

Puntos cuánticos no bioconjugados

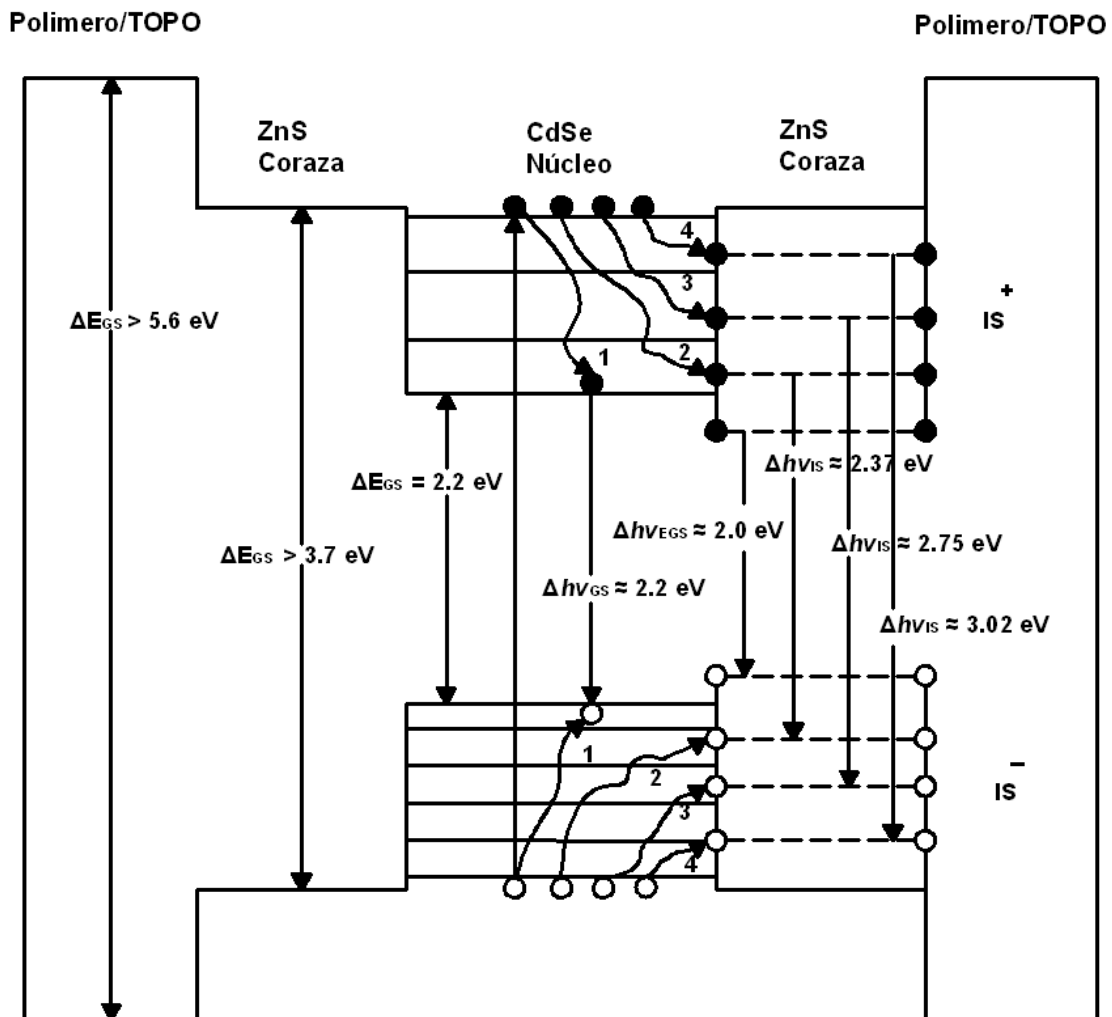


Figura 3-15 Diagrama de energía de los puntos cuánticos no bioconjugados núcleo/coraza CdSe/ZnS recubiertos con polímero. Los símbolos IS+ e IS- presentan la carga de estados de interfase tipo donadores y tipo aceptores respectivamente en puntos cuánticos 565N (no bioconjugados). Las líneas punteadas horizontales muestran la manera en la que los portadores hacen el efecto túnel de los estados de interfaz de CdSe/ZnS a los estados de interfase ubicados en ZnS/polímero.

Para confirmar el modelo propuesto es necesario analizar los espectros normalizados de puntos cuánticos con diferentes intensidades de fotoluminiscencia (figura 3-5 curvas x1, x11, x18).

Como se puede observar, a bajas concentraciones de estados de interfase localizados en las bandas 2, 3 y 4, la recombinación ocurre a través de los estados de interfase saturados (bandas elementales 2 y 5). De esta manera las bandas de alta energía de los estados de interfase (bandas elementales 3 y 4)

dominan el espectro de fotoluminiscencia (figura 3-5 curva x1). Al mismo tiempo, la intensidad de fotoluminiscencia de los puntos cuánticos núcleo/coraza CdSe/ZnS recubiertos con polímero es alta (el coeficiente de multiplicación para los espectros normalizados es 1).

Cuando las concentraciones de los estados de interfase localizados en las bandas 2, 3 y 4 son esenciales, la recombinación a través de los niveles de energía bajos (bandas elementales 2 y 5) no está saturado y la fotoluminiscencia de estos estados de interfase dominan el espectro de fotoluminiscencia (figura 3-4 curva x11 y x18). Simultáneamente, las intensidades de los puntos cuánticos núcleo/coraza CdSe/ZnS recubiertos con polímero es pequeña (los coeficientes de multiplicación para los espectros normalizados son de 11 y 18 respectivamente).

De esta manera, la recombinación a través de los defectos de interfase se vuelve poco eficiente en los puntos cuánticos con bioconjugación. Como se ha mencionado anteriormente, la bioconjugación de proteínas con puntos cuánticos se logra a través de los enlaces covalentes utilizando los grupos funcionales de la superficie de los puntos cuánticos [22, 23, 52, 53] y con la ayuda de interacción electrostática [54-58].

Es conocido que algunas biomoléculas tienen carga positiva en la superficie (relacionada con los iones H⁺), que pueden participar en una interacción electrostática durante el proceso de bioconjugación [55, 56, 41]. La distribución de iones H⁺ a lo largo del eje de la cadena del mab-PSA es asimétrico [41], y se presenta en forma de centros activos. De esta manera se puede formar un momento dipolar en una molécula.

En el siguiente capítulo, se analizará como este momento dipolar de las biomoléculas se detecta en la espectrometría Raman de puntos cuánticos bioconjugados.

De esta manera, se puede suponer que en los puntos cuánticos bioconjugados, los electrones ubicados en los estados de interfase con comportamiento tipo

donador (IS+) se acumulan en la superficie de los puntos cuánticos (debido al efecto de tunelamiento en el polímero), e interactúan electrostáticamente con la carga superficial de las biomoléculas (mab-PSA). En este caso, los electrones desde los estados de interfase tipo donadores, no son compensados por los estados de interfase tipo aceptores en la interfase CdSe/ZnS. Como consecuencia, los estados de interfase tipo donadores permanecen cargados positivamente (IS+) y los estados de interfase aceptores presentan carga neutral (IS0) en puntos cuánticos bioconjugados (figura 3-16).

Puntos cuánticos bioconjugados

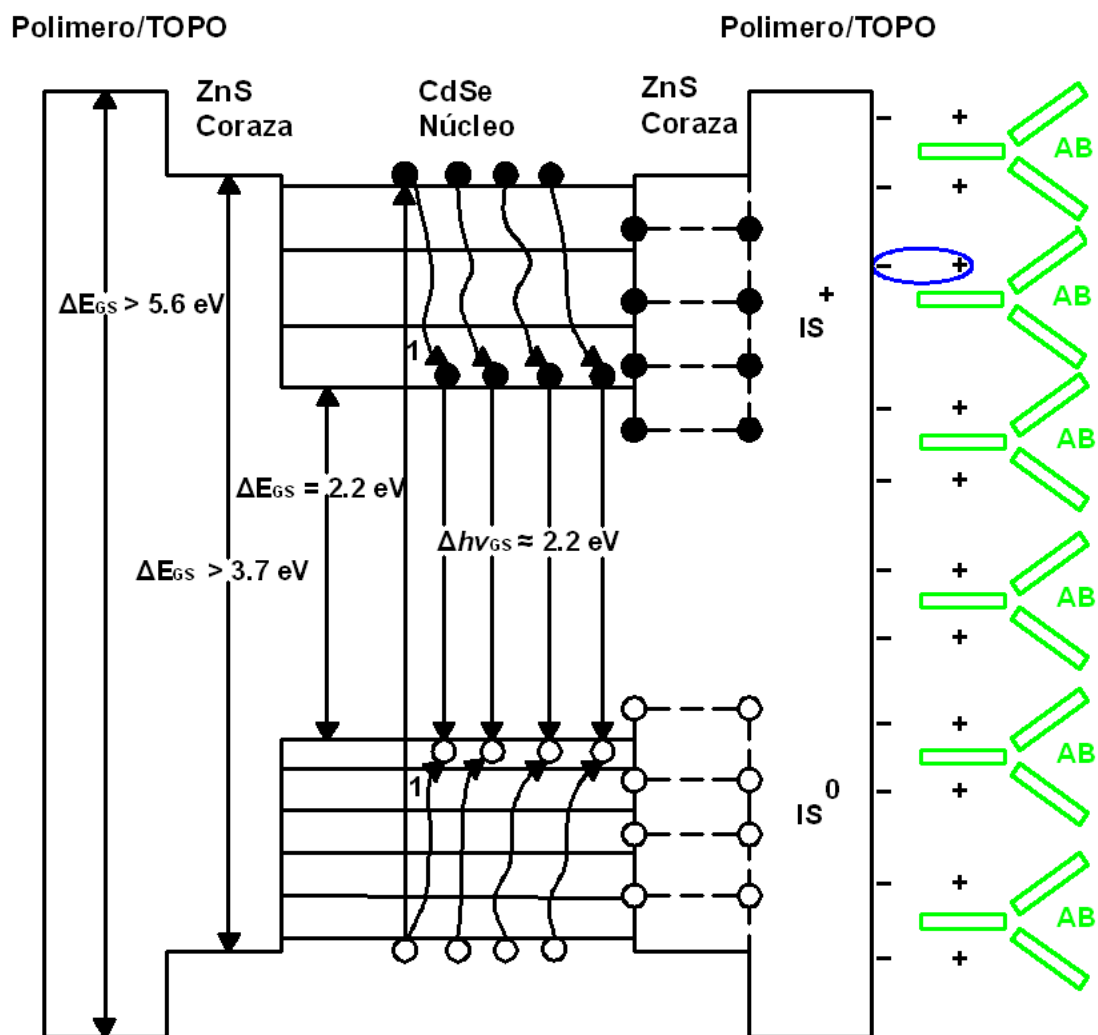


Figura 3-16 Diagrama de energía de los puntos cuánticos bioconjugados núcleo/coraza CdSe/ZnS recubiertos con polímero. Los símbolos IS+ e IS0 presentan la carga de estados de interfase donadores y aceptores respectivamente en puntos cuánticos 565P (bioconjugados). Las líneas punteadas horizontales muestran la manera en la que los portadores hacen el efecto túnel de los estados de interfaz de CdSe/ZnS a los estados de interfase ubicados en ZnS/polímero

De esta manera, el flujo de huecos neutrales a través de los estados de interfase tipo aceptores decrece rápidamente, en comparación con el flujo de huecos a través de los estados de interfase aceptores cargados en puntos cuánticos no bioconjugados (proceso de recarga). Como resultado, se tiene que la intensidad de fotoluminiscencia referente al núcleo de CdSe (banda elemental 1) aumenta significativamente (figura 3-9).

Al realizar la comparación entre los puntos cuánticos 565N y 565P se puede notar que la intensidad de los espectros normalizados de 565P es menor respecto a las muestras 565N (figura 3-17). En el caso de los puntos cuánticos 565P bioconjugados con mab-PSA, la intensidad de fotoluminiscencia decrece (figura 3-13 muestras 565P con coeficiente de multiplicación x4, x12, x68). Se propone que este efecto se debe a la reabsorción de los puntos cuánticos con luz emitida en 565 nm por la biomolécula mab-PSA.

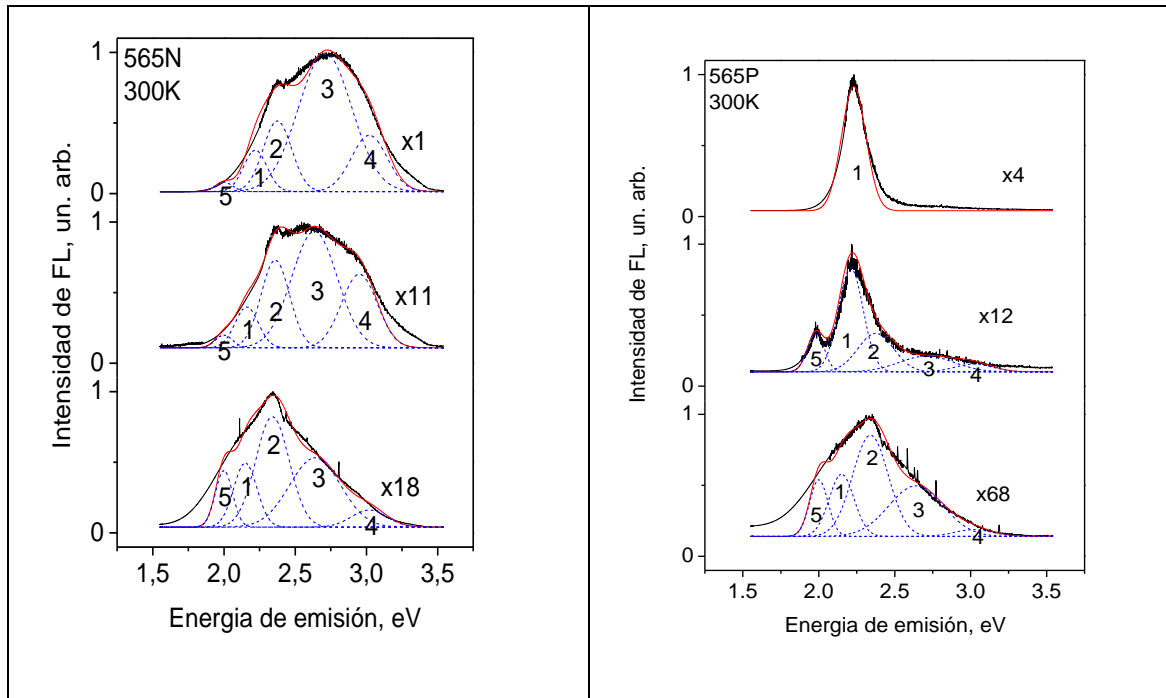


Figura 3-17. Comparación de espectros de fotoluminiscencia normalizados de la muestras de puntos cuánticos 565N y 565P bajo un mismo factor multiplicativo

3.8 Conclusiones

1. Los puntos cuánticos no bioconjugados con emisión en 565nm con estados en la banda prohibida o estados de interfase, están caracterizados por una relativamente baja intensidad y una forma complicada del espectro de fotoluminiscencia. El espectro de fotoluminiscencia de puntos cuánticos puede ser representado como la superposición de bandas de fotoluminiscencia elementales con la posición de sus picos en: 2.00-2.05 eV, 2.16-2.22 eV, 2.34-2.37 eV, 2.64-2.71 eV y 2.95-3.02 eV.
2. La banda de fotoluminiscencia en el intervalo de 2.16-2.22 eV está relacionada con la emisión del núcleo de CdSe y las otras bandas de fotoluminiscencia están relacionadas con las posiciones de estados de interfase en los puntos cuánticos.
3. La energía de emisión por recombinación de portadores via estados de interfase, no dependen del cambio de la temperatura en el intervalo de 10-300K. Así mismo, la energía emisión por recombinación de portadores via estados de interfase no depende del tamaño del núcleo de CdSe.
4. Por el proceso de bioconjugación (en la cual se forman enlaces covalentes), los espectros de fotoluminiscencia cambian fuertemente. Este cambio se debe a la recarga electrostática de los estados de interfase. La banda relacionada con la emisión del núcleo de CdSe aparece como único pico en el espectro de fotoluminiscencia de los puntos cuánticos bioconjugados.

Capítulo 4 Análisis de muestras mediante espectroscopía de dispersión Raman

4.1 Espectros Raman de la muestra con emisión 565 no bioconjugada (565N)

Para el análisis de los espectros Raman de tales muestras, se separaron los espectros, y las mediciones se realizaron a una temperatura de 300°K y con una excitación de laser de He-Ne con longitud de onda de 632.8nm, con una intensidad de 20mW. El análisis de la muestra 565 esta denotado N-1, N-2, N-3 para es caso de los puntos cuánticos no bioconjugados y 565 P-1, P-2, P-3 para los puntos cuánticos bioconjugados esto es debido a que la medición se realizo en diferentes zonas de análisis de la muestra.

4.1.1 Análisis de las líneas Raman en un intervalo de 100-800cm⁻¹

En la figura 4-1 se muestra el espectro Raman de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 100-1200 cm⁻¹, en donde el pico de mayor intensidad se encuentra en 522 cm⁻¹, el cual se refiere directamente a los fonones ópticos del sustrato de Silicio. Sin embargo es importante analizar el espectro Raman por secciones, de tal manera que la naturaleza de los otros picos sea conocida.

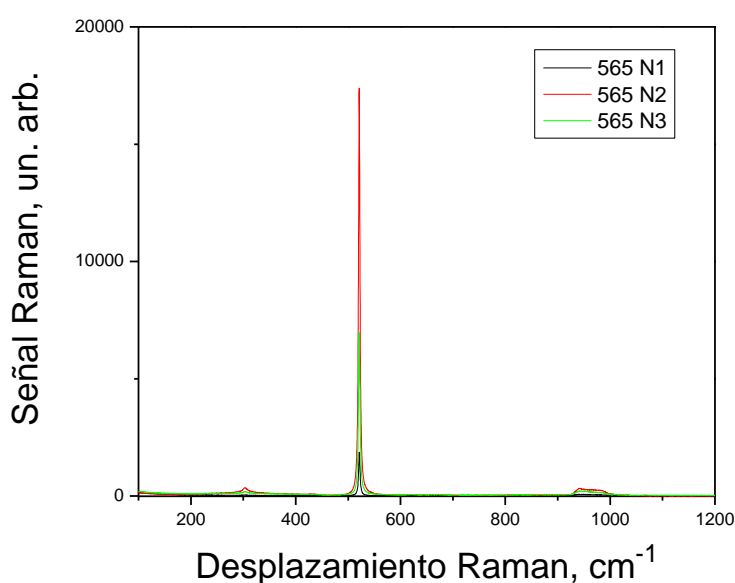


Figura 4-1 Espectro Raman de las muestra 565 N-1, N-2, N-3 (mediaciones realizadas en diferentes zonas de la muestra) en un intervalo de análisis de 100-1200 cm^{-1} .

El espectro Raman, que se representa en la figura 4-2, en la cual se pueden muestran las intensidades de los picos Raman de las muestras sin bioconjugación (565 N-1, N-2, N-3) en los intervalos espectrales 100-800 cm^{-1} , respectivamente. Así mismo, en la Tabla 4.1 se presenta las líneas Raman de los picos correspondientes a la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en el intervalo de 100-800 cm^{-1} .

Tabla 4.1. Líneas Raman de los picos de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 100 a 800 cm^{-1}

Pico	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 N-1	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 N-2	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 N-3
1		230	228
2	303	302	302
3		435	
4	521	521	521
5	615	610	612
6		670	667

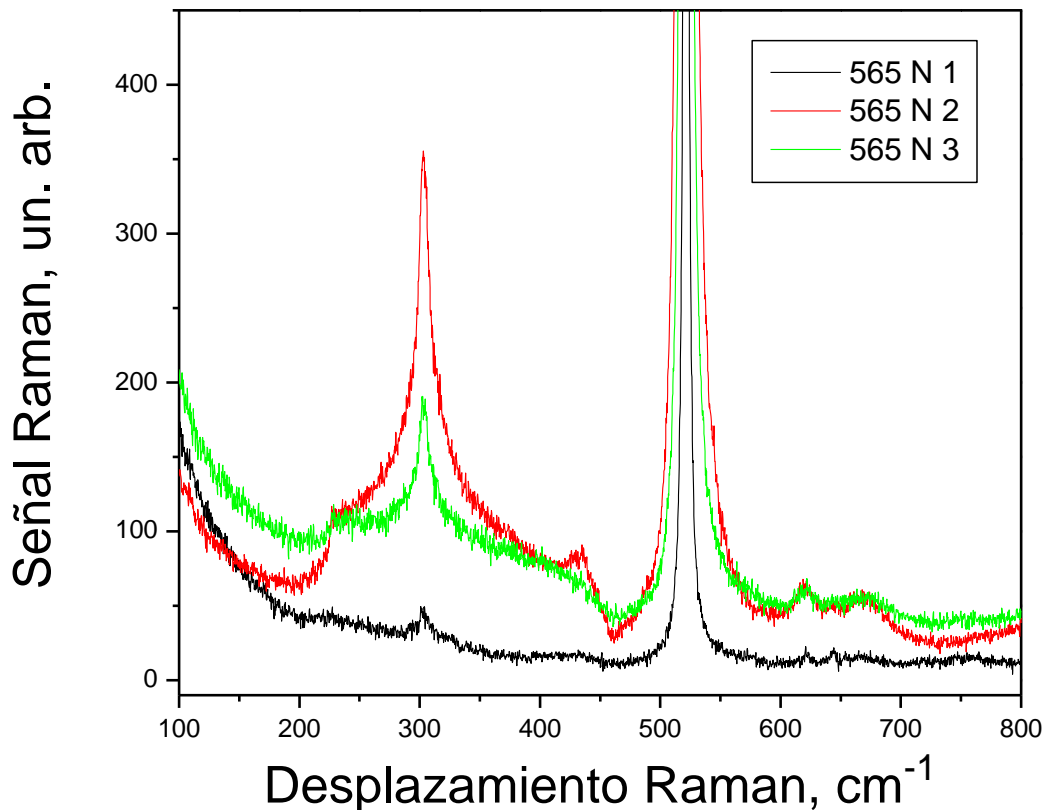


Figura 4-2 Intensidades de los espectros Raman de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 100-800 cm^{-1} .

En este intervalo de espectro, no se observa el pico referentes al núcleo de CdSe, el cual, debe de estar ubicado en 211 cm^{-1} [38, 57, 58], de igual forma, no se observa el pico referido a la coraza de ZnS que debería estar ubicado en 350 cm^{-1} [58]. La causa de este fenómeno puede ser la baja cantidad de los puntos cuánticos con respecto al resto de los materiales (PEG, sustrato de Silicio) que contiene la muestra.

Es conocido que el Silicio tiene estructura de diamante y por lo tanto tiene un solo fonón ópticamente activo en Raman de primer orden Γ_{25} , localizado en el centro de la zona de Brillouin (ZB), con una energía de 519-522 cm^{-1} [59, 60]. En la figura 4-3 se observa la forma de la zona de Brillouin típica para una red cúbica centrada en las caras, con las posiciones de puntos y líneas de alta

simetría. La Tabla 4.2 presenta las frecuencias de fonones ópticos y acústicos asociados con los puntos críticos de la zona de Brillouin del Silicio [60].

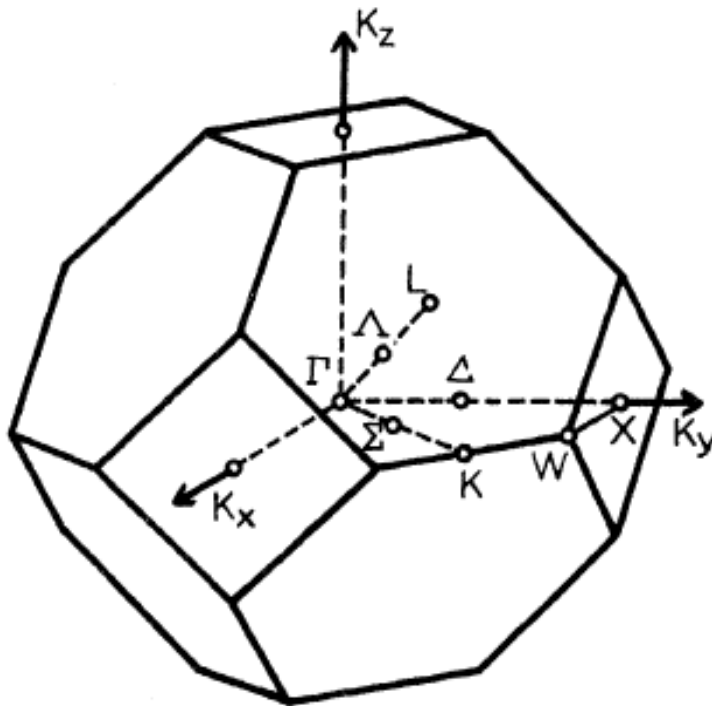


Figura 4-3 La zona de Brillouin para una red cristalina cúbica centrada en las caras [60].

Tabla 4.2. Frecuencias características de fonones de los puntos de alta simetría de la zona de Brillouin en Silicio [60].

Puntos de alta simetría	Frecuencia de fonones [59] (cm^{-1})	Frecuencia de fonones [61] (cm^{-1})	Frecuencia de fonones de [62] (cm^{-1})	Frecuencia de fonones [60] (cm^{-1})
Γ (0)	522	517 +-2	518+-3	519
X (TO)	463	449 +-3	464+-10	460
X(TA)	149	155+-5	150+-2	151
L(TO)	491	496+-2	490+-10	490
L(TA)	114	113 +-2	114+-2	113
W(TO)		478+-13	481+-13	470
X(TA+TO)				610
Σ (TA+TO)				435

En Silicio, la dispersión en la región de 0 cm^{-1} a 800 cm^{-1} consiste solamente en sobretonos de fonones acústicos. Los picos, que se observan a

aproximadamente en ~ 230 , ~ 302 , $\sim 435 \text{ cm}^{-1}$ de la muestra, se atribuyen a la dispersión de los sobretonos de dos fonones transversales acústicos a lo largo de los puntos L y X. El pico ubicado en $\sim 435 \text{ cm}^{-1}$ es asignado a la combinación de fonones ópticos y acústicos en la dirección Σ , respectivamente (Tabla 4.2). Así mismo, los picos Raman ubicados en ~ 610 y $\sim 670 \text{ cm}^{-1}$ son asignados a los fonones ópticos en X y a las combinaciones de fonones ópticos y acústicos en la dirección Σ , respectivamente [60].

4.1.2 Análisis de las líneas Raman en un intervalo de 800-1050

Al analizar el espectro Raman en el intervalo de $800\text{-}1050\text{cm}^{-1}$ (figura 4-4) se observa la presencia de otros picos Raman de la muestra sin bioconjugación (565 N-1, N-2, N-3). En la Tabla 4.3 se presentan las intensidades de las líneas Raman de los picos correspondientes.

Tabla 4.3. Líneas Raman de los picos de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 800 a 1050cm^{-1}

Pico	Líneas Raman (cm^{-1}) muestra 565 N-1	Líneas Raman (cm^{-1}) muestra 565 N-2	Líneas Raman (cm^{-1}) muestra 565 N-3
7	941	942	941
8	979	975	988
9	1003		1003

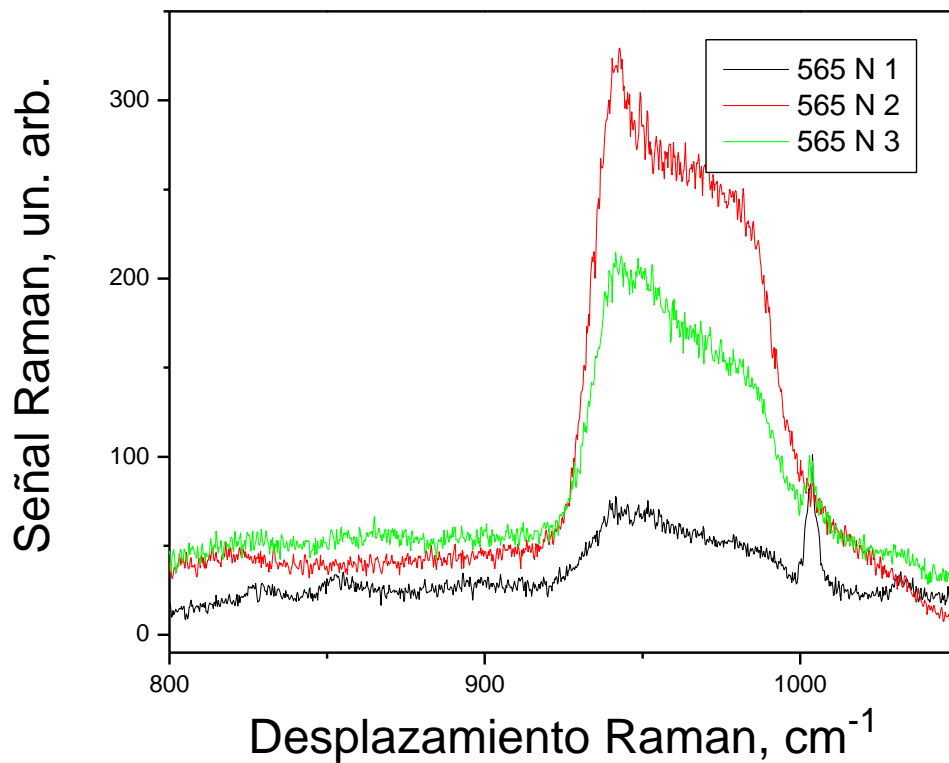


Figura 4-4 Intensidades de los espectros Raman de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 800-1050 cm^{-1}

Las líneas de dispersión en la región de 800-1050 cm^{-1} son atribuidas a los sobretonos de los fonones ópticos. Se observa un rápido incremento de intensidad de los picos Raman en 920 cm^{-1} , 940 cm^{-1} y en el hombro a 975 cm^{-1} , así como la rápida disminución del pico en 1040 cm^{-1} , Estos picos se identificaron con base de los resultados en la Tabla 4.2 [60]. Estos picos corresponden a la dispersión del sobretono de 2 fonones transversales ópticos de los puntos de alta simetría X, W, L y Γ respectivamente.

4.1.3 Análisis de los espectros Raman en un intervalo de 1050-4000 cm^{-1}

Los espectros Raman de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en el intervalo de 1050-4000 cm^{-1} se pueden observar la figura 4-5. En la Tabla 4.4 se presenta las posiciones de los picos Raman correspondientes.

Tabla 4.4. Posiciones de los picos de la muestra 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 1050 a 4000 cm^{-1}

Pico	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 N-1	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 N-2	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 N-3
10	1268-1340		
11	1449		1447
12	1657		1656
13	2872		2875
14	2932		2934
15	3064		3061
16	3310		3314

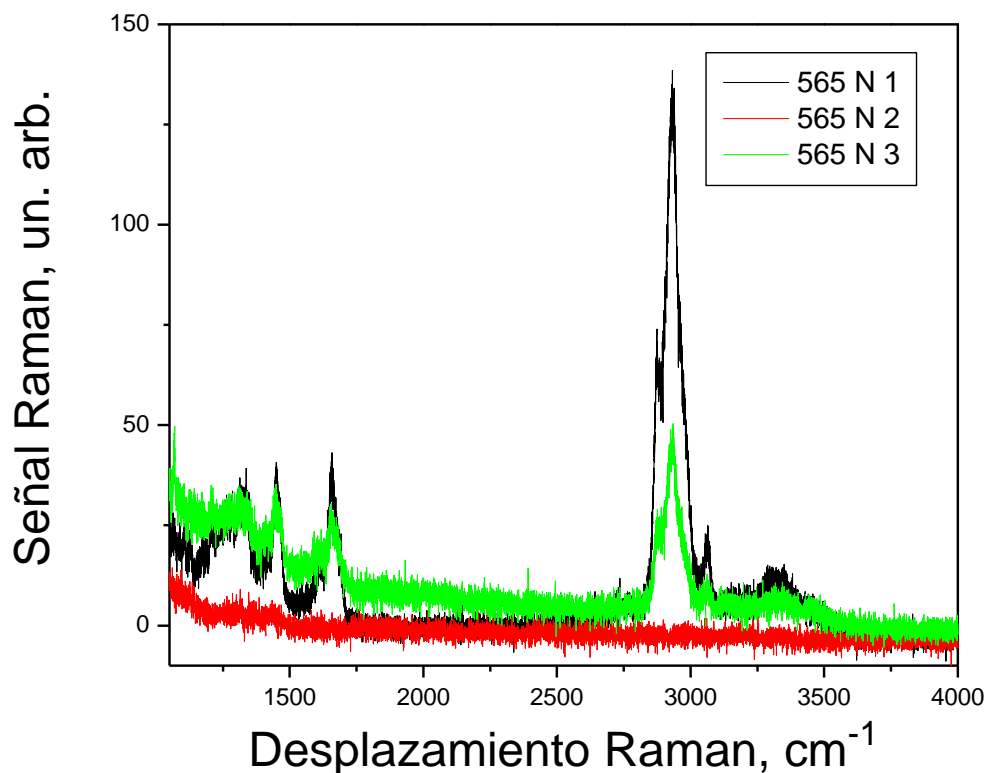


Figura 4-5 Intensidades de los espectros Raman de las muestras 565 N-1, N-2, N-3 en un intervalo de 1050 a 4000 cm^{-1}

En algunas muestras de Silicio se pueden ser observar dispersiones débiles en 1500 cm^{-1} , las cuales son atribuidas al proceso de tres fonones ópticos [60]. Otra manera de explicar la aparición de estos picos pequeños, es por la presencia del polímero PEG en la superficie de los puntos cuánticos núcleo/coraza CdSe/ZnS estudiados.

De manera general, en la muestra de puntos cuánticos sin bioconjugación 565 N-1, N-2, N-3 han sido detectados los picos ubicados en 1268-1340, ~ 1449 , ~ 1657 , ~ 2872 , ~ 2932 , ~ 3064 y $\sim 3310 \text{ cm}^{-1}$ (Tabla 4-3). Como se comprobara más adelante, la intensidad de estos picos es muy baja en la muestra de puntos cuánticos no bioconjugados (Figura 4-5) con respecto a la muestra bioconjugada (Figura 4-9).

Todos los picos encontrados en la muestra no bioconjugada pueden ser atribuidos a los diferentes modos vibracionales del polímero (NH₂)-PEG-PE, el cual se utilizó para recubrimiento de los puntos cuánticos.

De esta manera, los picos ubicados entre 1268-1340 y en ~1447 cm⁻¹ son atribuidos a vibraciones de estiramiento y flexión de los grupos C-H y CH₂. Por otra parte, el pico ubicado en 1657 cm⁻¹ es debido a los movimientos de estructura de los grupos funcionales -C-C, -C=C, -C-O, - C=O. Los picos que están ubicados en ~2872, ~2932 y ~3064 cm⁻¹, corresponden a vibraciones de estiramiento simétrico y asimétrico de los grupos -CH, -CH₂ o -CH₃, respectivamente. Por último, el pico ubicado en ~3310 cm⁻¹, se debe a las vibraciones de estiramiento de los grupos funcionales de (-OH) o (-NH₂) [63].

4.2 Espectros de Raman de las muestras con emisión 565 bioconjugadas (565P)

4.2.1 Análisis de las líneas Raman en un intervalo de 100-800cm⁻¹

En la figura 4-6 se muestra el espectro Raman de la muestra 565 P-1, P-2, P-3, en un intervalo de 100-1200 cm⁻¹, en donde el pico de mayor intensidad se encuentra en 522 cm⁻¹, el cual se refiere directamente al sustrato de Silicio Sin embargo, es importante analizar el espectro Raman para las muestras bioconjugadas por secciones, de la misma manera, como se analizaron las muestras sin bioconjugación, de tal forma que sea posible conocer la naturaleza de los picos observados.

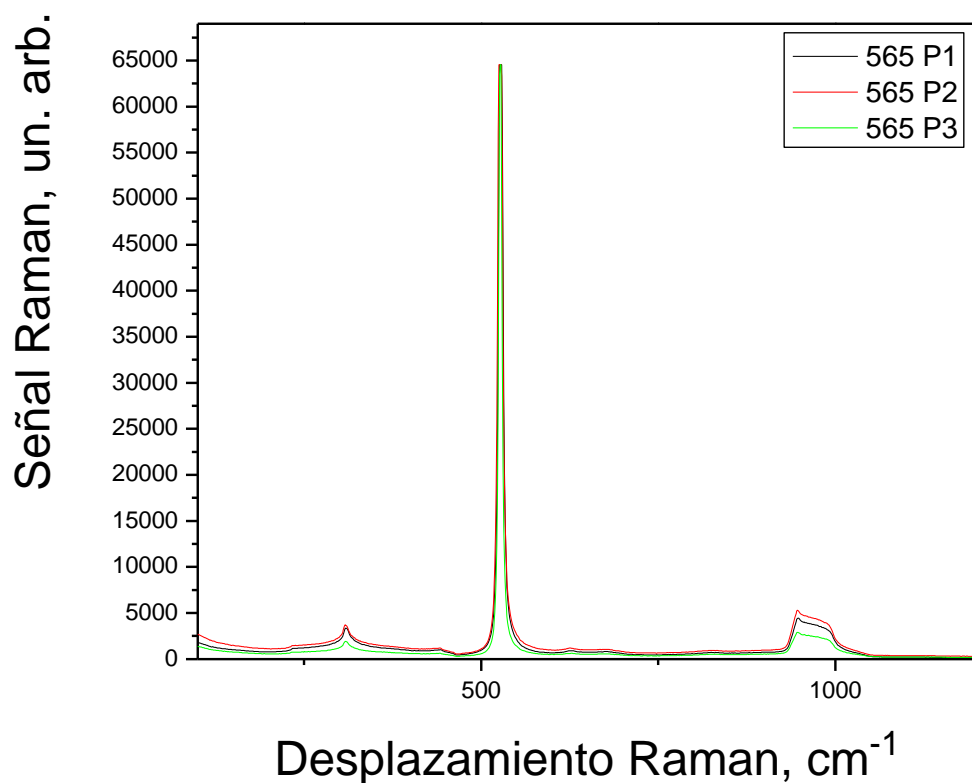


Figura 4-6 Espectro Raman de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 (mediaciones realizadas en diferentes zonas de la muestra) en un intervalo de análisis de 100-1200cm⁻¹.

Las intensidades de los picos Raman de la muestra bioconjugada (565 P-1, 565 P-2, 565 P-3) en el intervalo de 100-800 cm⁻¹ se muestran en la figura 4-7. En la Tabla 4.5 se presentan las posiciones de los picos Raman correspondientes a esta muestra.

Tabla 4.5. Líneas Raman de los picos de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 en un intervalo de 100 a 800 cm⁻¹

Pico	Líneas Raman (cm ⁻¹) para la muestra 565 P-1	Líneas Raman (cm ⁻¹) para la muestra 565 P-2	Líneas Raman (cm ⁻¹) para la muestra 565 P-3
1	234	233	233
2	309	308	309
3	441	441	441
4	626	625	627
5	674	672	

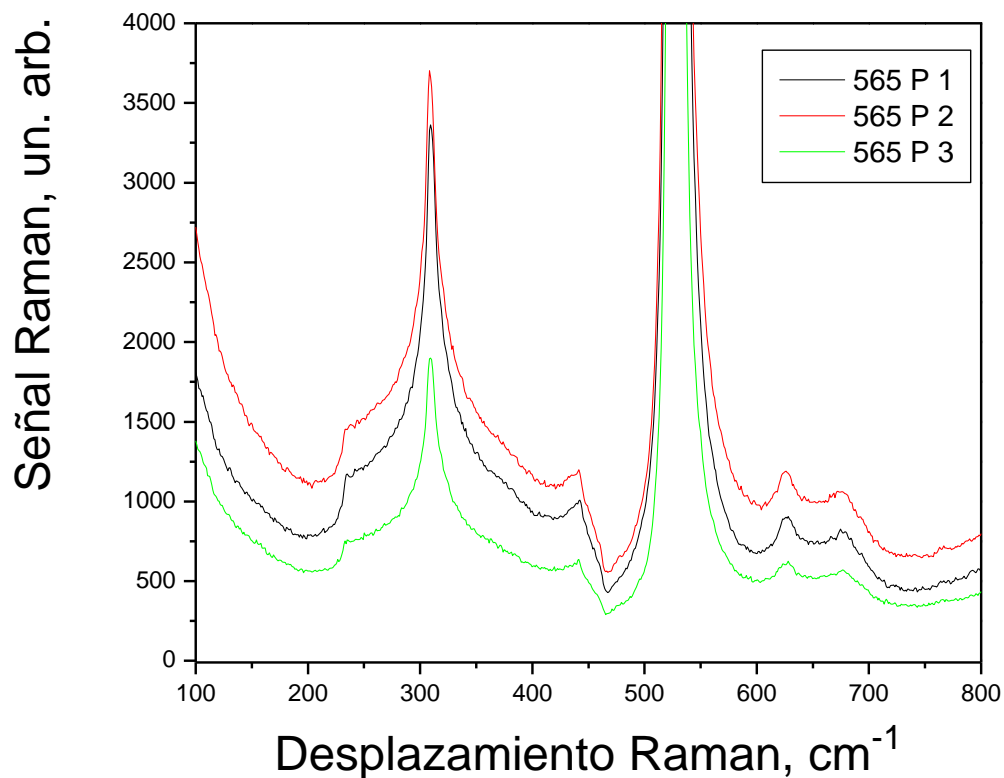


Figura 4-7 Intensidades de los espectros Raman de las muestras 565 P-1, 565 P-2, 565 P-3 en un intervalo de 100-800- cm^{-1}

Como se mencionó anteriormente, en Silicio, la dispersión Raman en la región de 0 a 800 cm^{-1} consiste en sobretonos de únicamente fonones acústicos. Los picos ~ 234 , ~ 308 y $\sim 441 \text{ cm}^{-1}$, son atribuidos por lo tanto, a la dispersión de los sobretonos de dos fonones transversales acústicos a lo largo de los puntos L y X, El pico a $\sim 441 \text{ cm}^{-1}$ es asignado a la combinación de fonones ópticos y acústicos a en la dirección Σ (Tabla 4.2). Así mismo, los picos Raman ubicados en ~ 626 y $\sim 674 \text{ cm}^{-1}$ son asignados a dos picos de fonones ópticos en el punto de alta simetría X y a las combinaciones de fonones ópticos y acústicos en la dirección Σ [60].

4.2.2 Análisis de las líneas Raman en un intervalo de 800-1050 cm^{-1}

Se ha analizado el espectro Raman en el intervalo de 800-1050 cm^{-1} (figura 4-8), para estudiar las intensidades de los picos Raman de la muestra bioconjugada en el intervalo de 800-1050 cm^{-1} (figura 4-8). En la Tabla 4.6 se presenta las líneas Raman de los picos correspondientes a las muestra 565 P-1, P-2, P-3 en el intervalo de 800-1050 cm^{-1}

Tabla 4.6. Líneas Raman de los picos de las muestras 565 P-1, 565 P-2, 565 P-3 en un intervalo de 800-1050 cm^{-1}

Pico	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 P-1	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 N-2	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 P-3
6	947	946	946
7	979	977	978

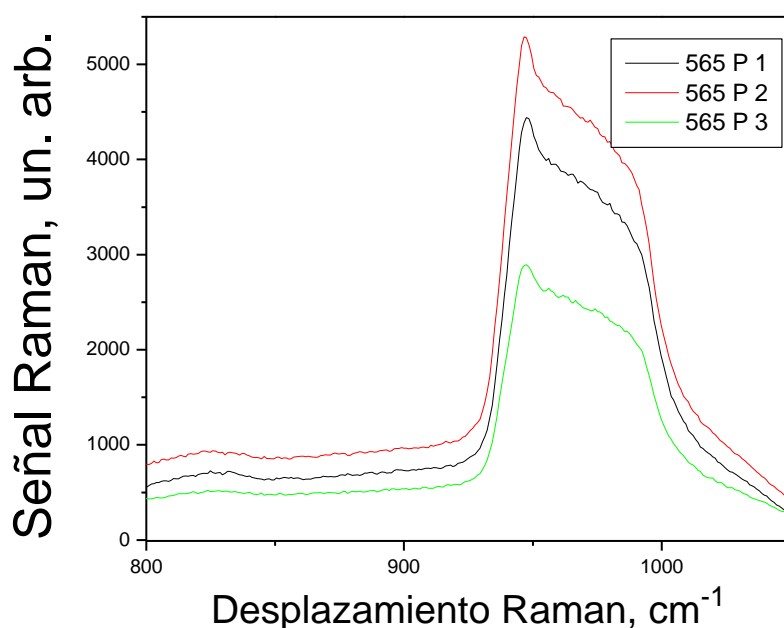


Figura 4-8 Intensidades de los espectros Raman de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 en un intervalo de 800-1050 cm^{-1}

La dispersión en la región de 900-1050 cm^{-1} es atribuida, como en un caso anterior, a la aparición de los sobretonos de los fonones ópticos. El rápido aumento de intensidad en el espectro Raman en 947 cm^{-1} y el hombro en 979 cm^{-1} , (identificado a base de la Tabla 4.2), se atribuyen a la dispersión del sobretono de 2 fonones transversales ópticos en los puntos de alta simetría en W y L.

4.2.3 Análisis de los espectros Raman en un intervalo de 1050-4000 cm^{-1}

Los espectros Raman de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 en el intervalo de 1050-4000 cm^{-1} se pueden observar la figura 4-5. En la Tabla 4.4 se presentan las líneas Raman de los picos correspondientes.

Tabla 4.7. Posiciones de los de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 en un intervalo de 1050 a 4000 cm^{-1}

Pico	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 P-1	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 P-2	Líneas Raman (cm^{-1}) para la muestra 565 P-3
10	1268-1316	1301	1268-1316
11	1445	1448	1449
12			1660
13	2145	2146	2144
14		2887	2887
15			2936
16			3316

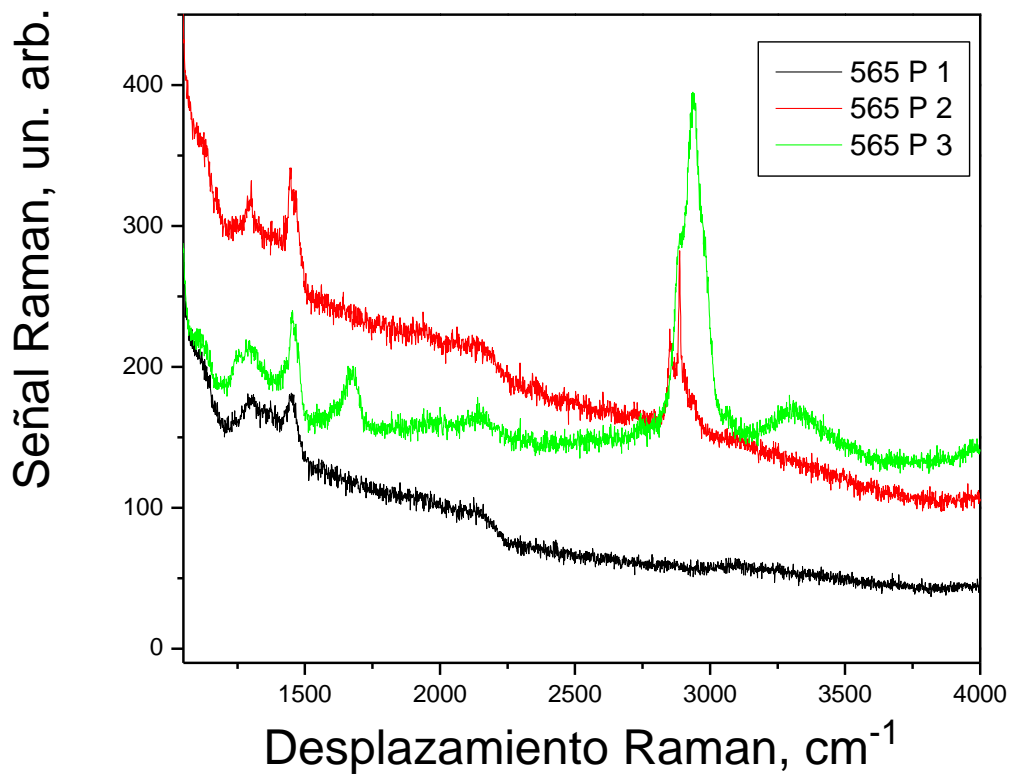


Figura 4-9 Intensidades de los espectros Raman de la muestra 565 P-1, P-2, P-3 en un intervalo de 1050 a 4000 cm^{-1}

En algunas muestras de Silicio pueden observarse dispersiones extremadamente débiles en 1500 cm^{-1} , las cuales se atribuyen al proceso de tres fonones ópticos [60]. En caso de la muestra estudiada en la presente tesis la presencia de estos picos pequeños, se debe al polímero PEG en la superficie de los puntos cuánticos núcleo coraza CdSe/ZnS.

En la muestra de puntos cuánticos bioconjugados han sido detectados los picos ubicados en ~ 1268 -1316, ~ 1449 , ~ 1660 , ~ 2145 , ~ 2887 , ~ 2936 , y ~ 3316 cm^{-1} (tabla 4-7). Todos los picos encontrados en las muestra con bioconjugación, pueden ser atribuidos a los diferentes modos vibracionales del polímero (NH_2) -PEG-PE, que se utilizo para recubrimiento de los puntos cuánticos.

Así mismo, los picos ubicados entre ~ 1268 - 1316 y ~ 1449 cm^{-1} son atribuidos a vibraciones de estiramiento y flexión de los grupos C-H y CH_2 . A su vez, los picos ubicados en 1660 y 2145 cm^{-1} son debidos a los movimientos de estructura de los grupos funcionales -C-C, -C=C, -C-O, - C=O. Los picos ubicados en 2887 y 2936 cm^{-1} , son referidos a vibraciones de estiramiento simétrico y asimétrico de los grupos -CH, - CH_2 o - CH_3 . Por último, el pico ubicado en 3316 cm^{-1} , se debe a las vibraciones de estiramiento de los grupos funcionales de -OH o - NH_2 [63].

4.3 Comparación y análisis de espectros de puntos cuánticos no bioconjugados y bioconjugados

En la figura 4-10 se presentan los espectros de las muestras no bioconjugada y bioconjugada de la muestra 565P y 565N respectivamente. El pico principal para yodos los casos se ubica en 522 cm^{-1} , el cual es relacionado directamente a los señales del substrato de Silicio.

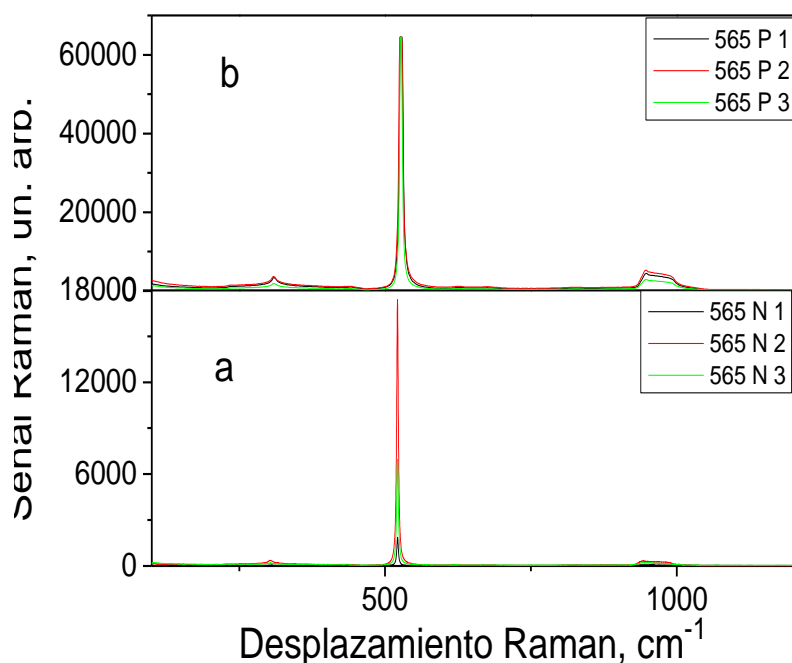


Figura 4-10 Espectro Raman de las muestras no bioconjugadas (a) y bioconjugadas (b) en un intervalo de análisis de 100 - 1200 cm^{-1}

Comparando las muestras en los intervalos de $100\text{-}800\text{ cm}^{-1}$ y $800\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$ (figura 4-11a, b), se puede observar que la intensidad de las muestras 565N es menor con respecto a la intensidad de las muestras 565P en casi 10 veces. Sin embargo, para las muestras analizadas en el intervalo de $100\text{-}800\text{ cm}^{-1}$ no se observan los picos referentes al núcleo de CdSe, el cual está ubicado en 211 cm^{-1} [38, 57, 58] o el pico que corresponde a la coraza de ZnS ubicado en 350 cm^{-1} [58]. Lo anterior puede deberse a la baja cantidad de los puntos cuánticos con respecto al resto de los materiales (anticuerpos, PEG y sustrato).

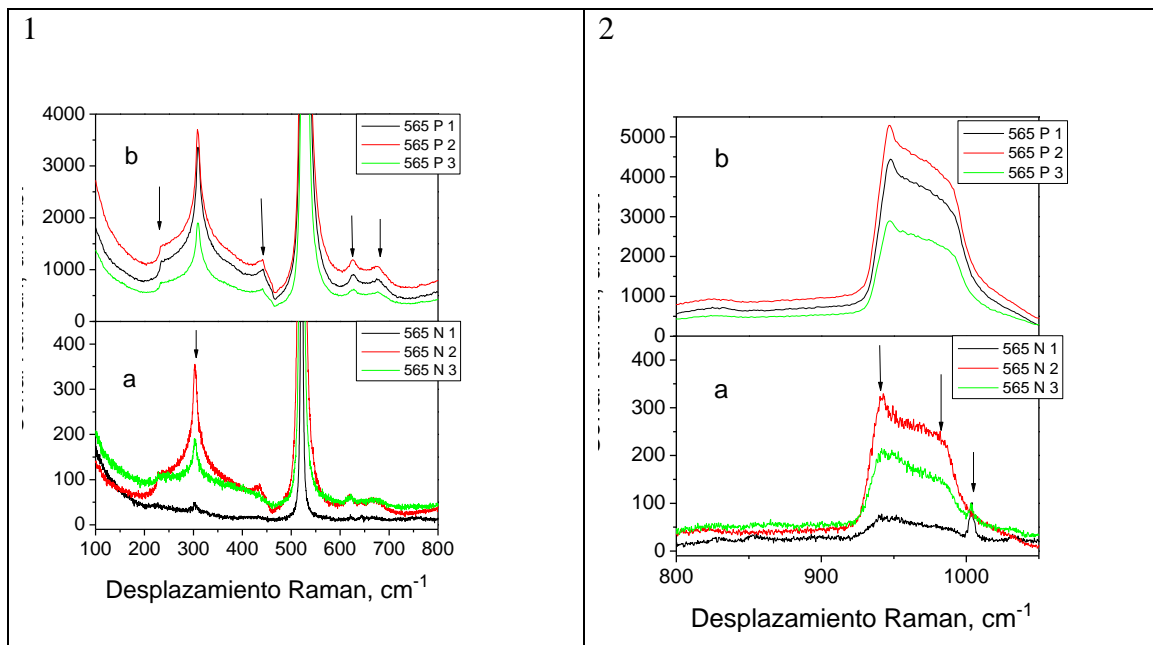


Figura 4-11 Espectros Raman de la muestra no bioconjugada (a) y bioconjugada (b) en un intervalo de análisis de $100\text{-}800\text{ cm}^{-1}$ (1) y $800\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$ (2)

En las muestras de puntos cuánticos sin bioconjugación han sido detectados los picos ubicados en $1268\text{-}1340$, 1449 , 1657 , 2872 , 2932 , 3064 y 3310 cm^{-1} (tabla 4-4). La intensidad de estos los picos es muy baja, sin embargo, la intensidad incrementa en las muestras de puntos cuánticos bioconjugados (figura 4-12). Todos los picos encontrados en la muestra no bioconjugada y bioconjugada pueden ser atribuidos a los diferentes modos vibracionales del polímero $(\text{NH}_2)\text{-PEG-PE}$, que se utilizó para recubrimiento de los puntos cuánticos.

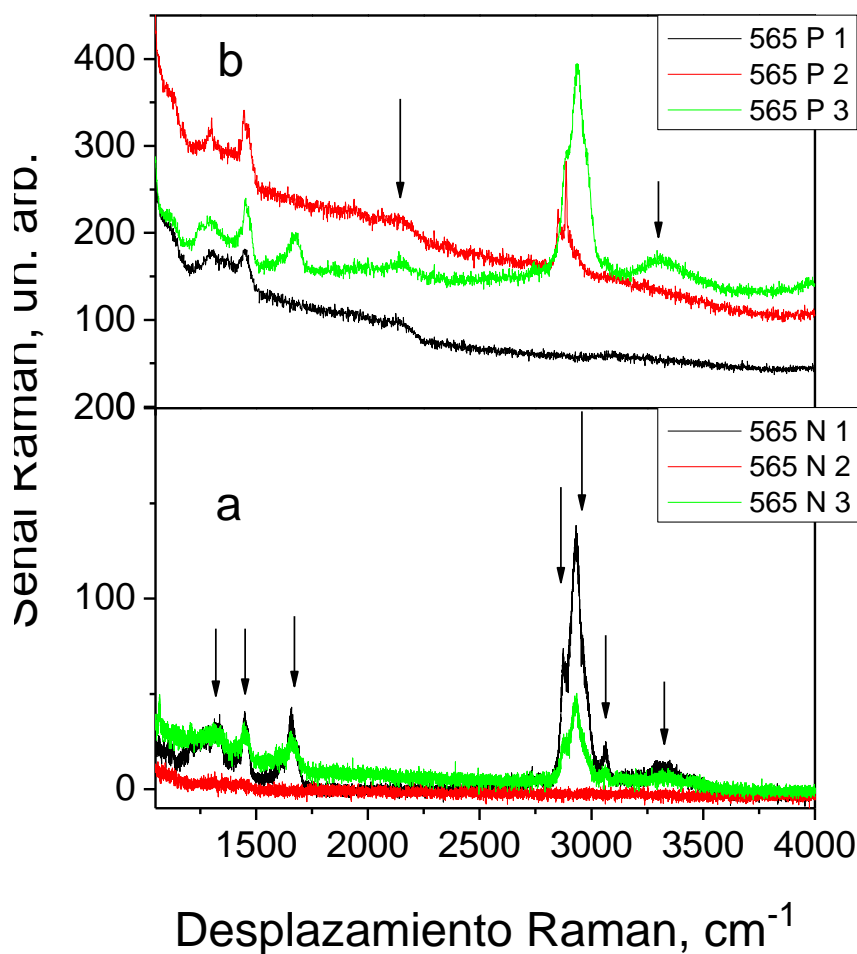


Figura 4-12 Espectro Raman de las muestras no bioconjugadas y bioconjugadas en un intervalo de análisis de 1050-4000 cm^{-1}

En la muestra la muestra 565P se observa un hombro ubicado en 2145 cm^{-1} , el cual probablemente se debe al polímero PEG. Este hombro solo se ve en las muestras 565P con el aumento de la intensidad Raman en más de 10 veces. Para confirmar la hipótesis, que los picos ubicados en el intervalo de $1050\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$, son debidos al recubrimiento de la superficie de los puntos cuánticos con $(\text{NH}_2)\text{-PEG-PE}$, se realizó el análisis de espectroscopía de dispersión Raman de los puntos cuánticos no bioconjugados y sin recubrimiento polimérico (figura 4-13). Como se muestra en la figura 4-14, no aparece ninguno de los picos observados para los puntos cuánticos encapsulados en el polímero.

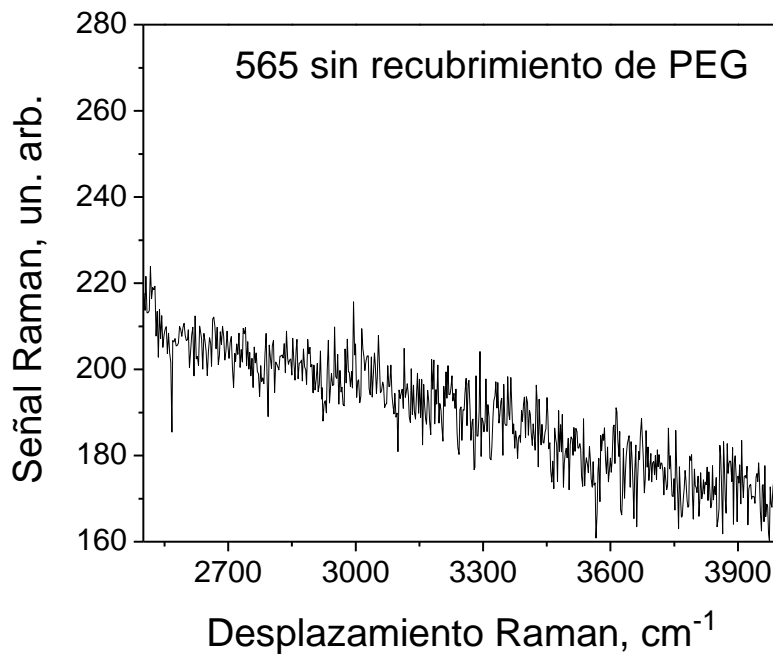


Figura 4-13 Espectro Raman de la muestra 565 sin recubrimiento de polímero en un intervalo de análisis de 2500-4000 cm^{-1} .

La excitación de los campos ópticos de los puntos cuánticos con bioconjugación cerca de la superficie de Si y el notable incremento de todas las líneas Raman en la muestra bioconjugada, se puede atribuir al efecto del aumento de dispersión Raman en la superficie (SERS o Surface Enhanced Raman Spectroscopy). Por otra parte, el aumento del campo eléctrico en la superficie, se atribuye a las resonancias de plasmónes, fonónes, polaritónes, o excitónes, descritas para los nanocristales. Este efecto depende de las condiciones de la resonancia realizada [64, 65].

En el estudio realizado en esta tesis, se observó el incremento de las señales Raman, relacionadas con el sustrato de Silicio y con el polímero en la superficie del punto cuántico de CdSe/ZnS para las muestras de puntos cuánticos bioconjugados con mab-PSA.

Este hecho indica que mab-PSA se caracteriza por un momento dipolar. Tal momento, permite al anticuerpo interactuar con el campo eléctrico de la luz incidente en la superficie de Silicio y participar en el efecto de aumento de campo eléctrico en la superficie (SERS).

4.4 Conclusiones

1. En el análisis de espectrometría de dispersión Raman, se observó que para los intervalos de análisis $100-800\text{cm}^{-1}$ y $800-1050\text{cm}^{-1}$, los picos en los espectros Raman que caracterizan a las muestras (565N y 565P), son atribuidos principalmente a los diferentes fonones del sustrato de Silicio
2. De la misma manera, se observó que para los intervalos de análisis $1050-4000\text{ cm}^{-1}$, los picos que caracterizan a las muestras (565N y 565P), son atribuidos principalmente a los diferentes modos vibracionales del $(\text{NH}_2)\text{-PEG-PE}$, lo que se confirmó al realizar el estudio de espectroscopía Raman para puntos cuánticos sin recubrimiento de $(\text{NH}_2)\text{-PEG-PE}$.
3. En las muestras 565P se observa un hombro ubicado en 2145 cm^{-1} , el cual, probablemente, se debe al propio polímero $(\text{NH}_2)\text{-PEG-PE}$: este hombro se observa únicamente en la muestra 565P (debido al aumento de la intensidad Raman en más de 10 veces comparando con las muestras no bioconjugadas).
4. En el estudio realizado se observó el incremento de las señales Raman relacionadas con el sustrato de Silicio y con el polímero en la superficie del punto cuántico de CdSe/ZnS en la muestra de puntos cuánticos bioconjugados con el mab-PSA. Este efecto se atribuye al fenómeno de SERS y confirma la hipótesis, que las moléculas del mab-PSA participan en este fenómeno debido a la presencia de un momento dipolar.

Capítulo 5 Conclusiones generales

1. La investigación de fotoluminiscencia de puntos cuánticos CdSe/ZnS con estados de interfase y con tamaños diferentes de 3.2 nm, 4.0 nm, 5.1 nm, 6.3 nm que corresponden a una emisión 525 nm (2.36eV), 565 nm (2.20 eV), 605 nm(2.04 eV) y 640 nm (1.93 eV) respectivamente, revela que la energía emitida en la recombinación de los portadores via estados de interfase no varía con el cambio de tamaño del núcleo de CdSe, así mismo, la energía emitida de los estados de interfase no depende del cambio de la temperatura en el intervalo de 10-300K.
2. Los puntos cuánticos CdSe/ZnS no bioconjugados con emisión en 565nm con estados en la banda prohibida y estados de interfase que se analizaron en el presente trabajo, están caracterizados por la relativamente baja intensidad de y una forma complicada del espectro de fotoluminiscencia. El espectro de fotoluminiscencia de estos puntos cuánticos se pueden representar como la suma de bandas elementales, las cuales están conectadas con la recombinación en el núcleo de CdSe (2.17-2.22 eV) y la recombinación vía estados de interface (2.34-2.38 eV, 2.64-2.71 eV, 2.95-3.02 eV y 2.00-2.05 eV).
3. Es posible suponer que los estados de interfase (IS) responsables por la captura de huecos en los puntos cuánticos, están cargados negativamente, como si se tratara de defectos de tipo aceptores (IS-) debido a las vacancias de Zn o Cd (o sus complejos). De igual forma, los estados de interfase responsables de la captura de electrones en puntos cuánticos no bioconjugados, están cargados positivamente, tal como si se tratara de defectos de tipo donadores (IS+), debido a las vacancias de S o Se (o sus complejos). Esta aseveración proviene de la neutralidad eléctrica de los puntos cuánticos. La carga negativa del estado de interfase de los defectos tipo aceptores, es debida a la

compensación por electrones de los defectos tipo donadores en puntos cuánticos no bioconjugados. Así, la localización de estados de defectos en la interfase de CdSe/ZnS y sus potenciales de atracción (debidos a las cargas positivas y negativas), permiten su competencia en el proceso de recombinación de excitones en núcleo y vía defectos no radiativos en puntos cuánticos no bioconjugados.

4. Un modelo de proceso de bioconjugación fue propuesto en este trabajo. La bioconjugación de los puntos cuánticos de CdSe/ZnS con color de emisión de 565 nm con anticuerpos de Antígeno Prostático Específico ocurre por la creación de los enlaces covalentes (vía *crosslinker* SMCC), y además por interacción electrostática entre puntos cuánticos y biomoléculas. Este último proceso está acompañado por la recarga de los estados en la interface CdSe/ZnS o ZnS/polímero. En resultado, los espectros de fotoluminiscencia cambia notoriamente: las bandas de FL relacionados con interface desaparecen y únicamente se presenta la banda de fotoluminiscencia relacionada con la emisión de los excitones en el núcleo CdSe. Estos cambios son resultados de cambio de carga de estados de interface en proceso de bioconjugación.
5. En el estudio realizado, se observó un incremento de las señales Raman relacionadas con el sustrato de Silicio y con el polímero en la superficie del punto cuántico de CdSe/ZnS en la muestra de puntos cuánticos bioconjugados con el anticuerpo, este efecto se atribuye al fenómeno de SERS. Este hecho confirma directamente que el mab-PSA se caracteriza por un momento dipolar. Y gracias a este momento dipolar, una interacción electrostática tiene lugar en el proceso de bioconjugación de puntos cuánticos con esto anticuerpo mab-PSA.

Referencias

- [1] Cai, W. & Chen, X. “*Nanoplatfoms for targeted molecular imaging in living subjects*”. *Small* 3, 1840-1854 (2007).
- [2] Somers, R.C., Bawendi, M.G. & Nocera, D.G. “*CdSe nanocrystal based chem-/bio-sensors*”. *Chem. Soc. Rev.* 36, 579-591 (2007).
- [3] Alivisatos, A.P. “*Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots*”. *Science* 271, 933-937 (1996).
- [4] Medintz, I.L., Uyeda, H.T., Goldman, E.R. & Mattoussi, H. “*Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing*”. *Nat. Mater.* 4, 435-446 (2005).
- [5] Michalet, X., Pinaud, F.F., Bentolila, L.A., Tsay, J.M., Doose, S., Li, J.J., Sundaresan, G., Wu, A.M., Gambhir, S.S. & Weiss, S. “*Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics*”. *Science* 307, 538-544 (2005).
- [6] Richter, K. & Kuno, M.K. “ND QD essential”. Internal protocol (2003).
- [7] H Song & S. Lee, “*Photoluminescent (CdSe)ZnS quantum dot-polymethylmethacrylate polymer composite thin films in the visible spectral range*”. *Nanotechnology* 18 055402 (6pp) (2007).
- [8] Lamer, V.K. & Dinegar, R.H. “*The limiting degrees of super-saturation of the sparingly soluble sulfates*”. *J. Am. Chem. Soc.* 73, 380-385 (1951).
- [9] C.B. Murray, D.J. Norris, M.G. Bawendi, “*Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites*”. *J. Am. Chem. Soc.* 115 8706–8715 (1993).
- [10] Q. Liu, X. Liu, Y. Zhu, D. Tang, “*Synthesis of stable luminescent microspheres by a simple method*”. *J. Colloid and Interface Science* 307, 563 (2007).
- [11] J.E.B. Katari, V.L. Colvin, A.P. Alivisatos, “*X-ray Photoelectron Spectroscopy of CdSe Nanocrystals with Applications to Studies of the Nanocrystal Surface*” *J. Phys. Chem.* 98 4109–4117 (1994).
- [12] M.A. Hines, P. Guyot-Sionnest, “*Bright UV-Blue Luminescent Colloidal ZnSe Nanocrystals*”. *J. Phys. Chem. B* 102 19 3655–3657 (1998).
- [13] D.V. Talapin, A.L. Rogach, A. Kornowski, M. Haase, H. Weller, “*Highly Luminescent Monodisperse CdSe and CdSe/ZnS Nanocrystals Synthesized in*

a Hexadecylamine–Trioctylphosphine Oxide–Trioctylphosphine Mixture” .Nano Lett. 1 (4) 207–211 (2001).

[14] Z.A. Peng, X. Peng, J. “Formation of High-Quality CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals Using CdO as Precursor”. Am. Chem. Soc 123 183–184 (2001).

[15] L. Qu, A.Z. Peng, X. Peng, “Alternative Routes toward High Quality CdSe Nanocrystals”. Nano Lett. 1 (6) 333–337 (2001).

[16] D.F. Underwood, T.C. Kippeny, S.J. Rosenthal “Charge carrier dynamics in CdSe nanocrystals: implications for the use of quantum dots in novel photovoltaics”, Eur. Phys. J. D 16 241–244 (2001).

[17] B. Dabbousi, J. Rodriguez-Viejo, F. Miculec, J. Heine, H. Mattoussi, R. Ober, K. Jensen, M. Bawendi, “Charge carrier dynamics in CdSe nanocrystals: implications for the use of quantum dots in novel photovoltaics”. J. Phys. Chem. B. , 101, 9463(1997).

[18] S. Santra, H. Yang, P.H. Holloway, J.T. Stanley, R.A. Mericle, “Synthesis of Water-Dispersible Fluorescent, Radio-Opaque, and Paramagnetic CdS:Mn/ZnS Quantum Dots: A Multifunctional Probe for Bioimaging”. J. Am. Chem. Soc. 127, 1656 (2005).

[19] Hines, M.A., Guyot-Sionest, P. “Synthesis and Characterization of Strongly Luminescing ZnS-Capped CdSe Nanocrystals”. J.Phys. Chem., 100 (2), pp 468–471 (1996)

[20] M. Bruchez, M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, and A.P. Alivizatos, Semiconductor “Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels”. Science, 281, 2013 (1998).

[21] Gerion, D., Pinaud, F., Williams S.C., Parak, W.J., Zanchet, D., Weiss, SW., Alivizatos, A.P., “Synthesis and Properties of Biocompatible Water-Soluble Silica-Coated CdSe/ZnS Semiconductor Quantum Dots” J. Phys. Chem. B., 105, 8861 (2001).

[22] Parak, W.J., Gerion, D., Zanchet, D., Woerz, A.S., Pellegrino, T., Michael, C., Williams, S.C., Seitz, M., Bruehl, R.E., Bryant, C., Bustamante., C., Bertozzi, A.P., Alivizatos, A.P., “Conjugation of DNA to Silanized Colloidal Semiconductor Nanocrystalline Quantum Dots” Chem. Matter, 14, 2113 (2002).

[23] W.C. Chan, S. Nie, “Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection”. Science 281, 2016(1998).

- [24] X.Y. Wu, H.J. Liu, J.Q. Liu, et al., “*Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots*”. *Nature Biotechnol.*, 21 (1), 41(2003).
- [25] B. Dubertret, P. Skourides, D.J. Norris, V. Noireaux, A.H. Brivanlou, A. Libchaber, “*In Vivo Imaging of Quantum Dots Encapsulated in Phospholipid Micelles*”. *Science*, 2002, 298, 1759 (2002).
- [26] H. Mattoussi, J.M. Mauro, E.R. Goldman, T.M. Green, G.P. Anderson, V.C. Sundar, and M.G. Bawendy, “*Use of Luminescent CdSe-ZnS Nanocrystal Bioconjugates in Quantum Dot-Based Nanosensors*”. *Phys. Stat. Sol. B*, 224, 277 (2001).
- [27] C.W. Warren, N. Shumig, “*Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection*”. *Science*, 281, 2016 (1998).
- [28] T. Jamieson, R. Bakhshi, D. Petrova, R. Pocock, M. Imani, A. M. Seifalian, “*Biological applications of quantum dots*”, *Biomaterials* 28 4717–4732 (2007)
- [29] A.M. Smith, S.Dave, s.Nie, L.True and X.Gao, “*Multicolor quantum dots for molecular diagnostics of cáncer*”. *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 6, 2, 231 (2006).
- [30] E.L. Wolf, “*Nanophysics and Nanotechnology*”, Wiley VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, (2004).
- [31] M.E. Akerman, W.C.W. Chan, P. Laakkonen, S.N. Bhatia, E. Ruostahti, “*Nanocrystal targeting in vivo*”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 12617(2002).
- [32] L. Dyadyusha, H. Yin, S. Jaiswal, T. Brown, J.J. Baumberg, F.R. Booy, et al., “*Quenching of CdSe quantum dot emission, a new approach for biosensing*”. *Chem. Común.*, 3201(2005).
- [33] S. Miyasaki, H. Yamaguchi, M. Takada, W.M. Hou, Y. Takeichi, H. Yasubuchi, “*Pharmaceutical application of biomedical polymers. XXIX. Preliminary study on film dosage form prepared from chitosan for oral drug delivery*”. *Acta Farm. Nordica* 2, 401(1990).
- [34] Y.F. Chen, Z. Rosenzweig, “*Luminescent CdS Quantum Dots as Selective Ion Probes*”. *Anal. Chem.* 74, 5132 (2002).
- [35] Ellen R. Goldman, Aaron R. Clapp, George P. Anderson, H. Tetsuo Uyeda, J. Matthew Mauro, Igor L. Medintz, and Hedi Mattoussi, “*Multiplexed Toxin Analysis Using Four Colors of Quantum Dot Fluororeagents*”. *Anal. Chem.* 76, 684-688 (2004)

- [36] Xiaojun Ji, Jiayin Zheng, Jianmin Xu, Vipin K. Rastogi, Tu-Chen Cheng, Joseph J. DeFrank, and Roger M. Leblanc, “(CdSe)ZnS Quantum Dots and Organophosphorus Hydrolase Bioconjugate as Biosensors for Detection of Paraoxon” *J. Phys. Chem. B*, 109, 3793-3799 (2005).
- [37] T.V. Torchynska , J. Douda, S.S. Ostapenko, S. Jiménez-Sandoval, C. Phelan, A. Zajac, T. Zhukov, T. “Raman scattering study in bio-conjugated core-shell CdSe/ZnS quantum dots”. *Sellers Journal of Non-Crystalline Solids* 354 2885–2887 (2008).
- [38] R.W. Meulenberg, T. Jennings, G.F. Strouse, “Compressive and tensile stress in colloidal CdSe semiconductor quantum dots”. *Phys. Rev. B* 70 235311 (2004).
- [39] P.A.M. Rodrigues, H. Cerdeira, F. Cerdeira, “First order raman scattering from semiconductor quantum dots”. *Int. J. Mod. Phys. B* 3 1167 (1989).
- [40] Y.N. Hwang, S.H. Park, D. Kim, “Size-dependent surface phonon mode of CdSe quantum dots”. *Phys. Rev. B* 59 7285 (1999).
- [41] Michael M. Cox, David L., Nelson Lehninger. *Principios de bioquímica*, Ediciones Omega (2000)
- [42] Chan, D.W., et al. “Prostate-specific antigen as a marker for prostatic cancer: a monoclonal and a polyclonal immunoassay compared”. *Clin. Chem.* 33(10): 1916-1920 (1987).
- [43] Brawn PN, Sprights VO, Kohl D. “Prostate-specific antigen levels from complete sectioned, clinically benign, whole prostates. *Cancer*” 68 1592-9 (1991)
- [44] Stamey TA, Yang N. “Prostate specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate”. *N Engl J Med*:317:909-16 (1987).
- [45] Partin EW, Carter HB, Chan DW et al. “Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia”. *J Urol*;143:747-52 (1990).
- [46] Gaponenko S.V., “*Optical Properties of Semiconductor Nanocrystals*”. Cambridge Univerdity Press, 27 (1998).
- [47] Contreras K. J. G. “*Espectroscopía Raman y estructura molecular*” Proyecto PUND UNESCO CHI84/006 13-34 (1987).
- [48] T.V. Torchynska, “Interface states and bio-conjugation of CdSe/ZnS core-shell quantum dots” *Nanotechnology* 20 095401 (2009).

- [49] Klimov V I, McBranch D W, Leatherdale C A and Bawendi M G “*Electron and hole relaxation pathways in semiconductor quantum dots*”. Phys. Rev. B 60 13740 (1999)
- [50] Aven M and Prener J S (ed) “*Physics and Chemistry of II–VI Compounds*” Amsterdam: North-Holland 625 (1970).
- [51] Korsunskaya N E, Markevich I V, Torchinskaya T V and Sheinkman M K, “*Photosensitivity degradation mechanism in CdS:Cu single crystals*”. Phys. Status Solidi A 60 565 (1980).
- [52] Wolcott A, Gerion D, Visconte M, Sun J, Schwartzberg Ad, Chen Sh and Zhang J Z, “*Silica-Coated CdTe Quantum Dots Functionalized with Thiols for Bioconjugation to IgG Proteins*”. J. Phys. Chem. B 110 5779 (2006)
- [53] Goldman E R, Anderson G P, Tran P T, Mattoussi H, Charles P T and Mauro J M, “*Conjugation of Luminescent Quantum Dots with Antibodies Using an Engineered Adaptor Protein To Provide New Reagents for Fluoroimmunoassays*”. Anal. Chem. 74 841 (2002).
- [54] Mattoussi H, Mauro J M, Goldman E R, Anderson G P, Sundar V C, Mikulec V and Bawendi M G J. “*Self-Assembly of CdSe–ZnS Quantum Dot Bioconjugates Using an Engineered Recombinant Protein*”. Am. Chem. Soc. 122 12142 (2000).
- [55] Clapp A R, Medintz I L, Mauro J M, Fisher Br R, Bawendi M G and Mattoussi H J. “*Fluorescence Resonance Energy Transfer Between Quantum Dot Donors and Dye-Labeled Protein Acceptors*”. Am. Chem. Soc. 126 301–310 (2004).
- [56] Goldman E. R., Anderson G. P., Tran P. T., Mattoussi H., Charles P. T. and Mauro J. M., “*Conjugation of Luminescent Quantum Dots with Antibodies Using an Engineered Adaptor Protein To Provide New Reagents for Fluoroimmunoassays*” Anal. Chem. 74 841 (2002).
- [57] T. V. Torchynska, A. Diaz Cano, M. Dybic, S. Ostapenko, M. Morales Rodriguez, S. Jimenes Sandoval, Y. Vorobiev, C. Phelan, A. Zajac, T. Zhukov, T. “*Raman scattering and SEM study of bio-conjugated core-shell CdSe/ZnS quantum dots*”. Sellers, Phys. Stat. Sol. C, 4, 241 (2007).
- [58] A. V. Baranov, Yu. P. Rakovich, J. F. Donegan, T.S. Perova, R.A. Moore, D. V. Talapin, A. L. Rogach, Y. Masumoto, I. Nabiev, “*Effect of ZnS shell*

thickness on the phonon spectra in CdSe quantum dots". Phys. Rev. B, 68, 165306 (2003).

[59] F.A. Johnson and R. Loudon, "*Critical-Point Analysis of the Phonon Spectra of Diamond, Silicon and Germanium*". Proc. Roy. Soc. A, 281, 274 (1964).

[60] P.A. Temple and C. E. Hathaway, "*Multiphonon Raman Spectrum of Silicon*". Phys. Rev. B, 7, 3685 (1973).

[61] M.Balkanski y M.Nusimovici, "*Interaction du champ de rayonnement avec les vibrations de réseau aux points critiques de la zone de Brillouin du silicium*" Phys. Stat. Sol.5,635 (1964).

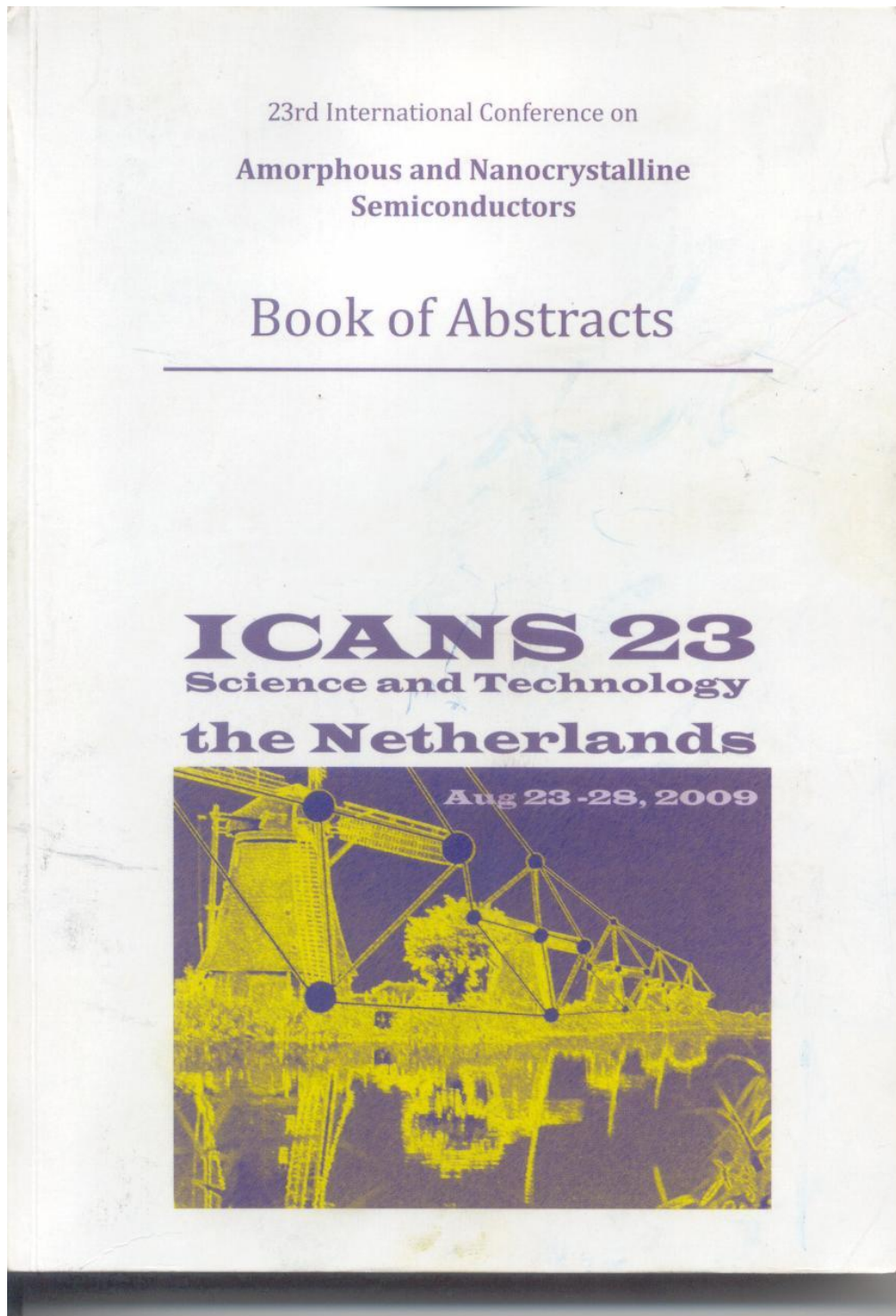
[62] G. Dolling, "*Inelastic Scattering of Neutrons in Solids and Liquids*", (International Atomic Energy Agency, Vienna, Vol. II, p.37 (1963).

[63] K. Nakamoto, "*Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*", Part A, John Wiley & Sons, Inc., 386 (1997).

[64] M. S. Anderson, "*Enhanced infrared absorption with dielectric nanoparticles*" Appl. Phys. Lett. 83, 2964 (2003).

[65] M. S. Anderson, "*Surface enhanced infrared absorption by coupling phonon and plasma resonance*". Appl. Phys. Lett. 87, 144102 (2005).

**Artículos publicados, participación en conferencias,
simposios y congresos; derivados de la investigación
de esta Tesis**



Abstract ID 52 Oral Presentation
Nanostructures II Thursday, 15:40 - 16:00, Megaron Lecture Room

Transformation of Photoluminescence spectra in bio-conjugated core-shell CdSe/ZnS quantum dots

T.V. Torchynska², R. Peña-Sierra³, S. Ostapenko⁴, J. Douda⁵, L.G. Vega-Macotela⁵

²ESFM-National Polytechnic Institute, MEXICO D.F., Mexico

³CINVESTAV del IPN, MEXICO D.F., Mexico

⁴University of South Florida, TAMPA, FL,, United States of America

⁵UPIITA-National Polytechnic Institute, MEXICO D.F., Mexico

Semiconductor CdSe/ZnS core/shell quantum dots (QDs) have unique optical properties such as QD-size tunable photoluminescence (PL) with narrow emission bandwidths and sufficiently high quantum efficiency. The ability to cover these QDs with biomolecules is a critical step in producing efficient bio-luminescent markers. Spectroscopic confirmation of bioconjugation with the detection not only the variation of PL intensity but also the spectral transformation of emission spectra or the changes in a peak full width at half maximum (FWHM) is highly important.

This paper presents the results of the analysis of PL spectra of CdSe/ZnS QDs covered by polymer with and without bioconjugation to bio-molecules: mouse anti PSA (Prostate-Specific Antigen) antibody (mab). Commercial CdSe/ZnS QDs used in the study are characterized by the color emission with the maximum at 560 nm (2.21 eV) at 300K. It is shown that PL spectra of nonconjugated QDs can be presented as a superposition of PL bands related to exciton emission in the CdSe core (2.21 eV) and some high energy PL bands (in the peak ranges 2.37 - 3.00 eV). The study of PL spectrum at low temperature (10K) has testified that high energy PL bands deal with electron-hole emission via interface state at the CdSe/ZnS interface.

It is revealed that the QD bioconjugation to the anti PSA mab is accompanied with the changes of QD PL spectra dramatically. Main features of PL spectrum transformstions deal with the decrease of PL intensity of interface related PL bands and the rise of intensity of the CdSe core related PL band. The explanation of mentioned effects has been proposed on the base of re-charging of interface related states at the bioconjugation process.

The comparison of PL spectra of CdSe/ZnS QDs with interface states in non-conjugated and bioconjugated cases gives opportunity to detect the bioconjugation without mistake. Moreover the role of electrostatic effect in bioconjugation process is discussed on the base of analysis of CdSe/ZnS QD PL spectra.

This work was partially supported by CONACYT (the project 058358) as well as by the SIP-IPN, Mexico.

Transformation of photoluminescence spectra at the bioconjugation of core-shell CdSe/ZnS quantum dots

L. G. Vega Macotela¹, J. Douda¹, T. V. Torchynska^{1,2}, R. Peña Sierra³, and L. Shcherbina⁴

¹UPIITA – Instituto Politécnico Nacional, México D. F. 07738, México

²ESFM – Instituto Politécnico Nacional, México D. F. 07738, México

³CINVESTAV del IPN, México D.F. 07320, México

⁴V. Lashkarev Institute of Semiconductor Physics at NASU, Kiev, Ukraine

Received 5 June 2009, revised 3 October 2009, accepted 5 October 2009

Published online 12 January 2010

PACS 68.65.Hb, 71.35.-y, 73.20.At, 73.21.La, 78.55.Et, 78.67.Hc

* Corresponding author: e-mail torch@esfm.ipn.mx, Phone: +5255 57296000 ext.55031, Fax: +5255 57296000 ext.55003

The photoluminescence (PL) of nonconjugated and bioconjugated core-shell CdSe/ZnS quantum dots (QDs) has been discussed in this paper. Commercial CdSe/ZnS QDs with the size of 3.6–4.0 nm covered by polymer with emission at 560–565 nm (2.19–2.22 eV) have been used. The QD bioconjugation is performed with the mouse anti PSA (Prostate-Specific Antigen) antibody (mab). PL spectra of nonconjugated QDs are characterized by a superposition of PL bands related to exciton emission in the CdSe core (2.19–2.22 eV) and to hot electron-

hole emission via surface states (2.37, 2.73 and 3.06 eV) at the CdSe/ZnS or ZnS/polymer interfaces. The PL spectrum of bioconjugated QDs has changed dramatically, with essential decreasing of the hot electron-hole recombination flow via interface states. This effect is explained on the base of recharging of QD interface states at the bioconjugation. It is shown that the CdSe/ZnS QDs with interface states are very promising for the study of bioconjugation effects to antibodies.

© 2010 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

1 Introduction Semiconductor crystallites, known as nanocrystals or quantum dots (QDs), can essentially improve the using of fluorescent markers in biology and medicine [1]. The ability to cover the QDs with biomolecules is a critical step in producing efficient bio-luminescent markers. The most popular QDs are core/shell CdSe/ZnS QDs due to their specific and unique optical properties. The emission of CdSe/ZnS QDs is characterized by high photoluminescence quantum yields and can be changed with the variation of CdSe core size due to the quantum confinement effect [2]. The overcoating of CdSe QDs with higher band gap ZnS material has increased the PL quantum yield due to passivating nonradiative surface recombination states (such as dangling bonds) as well as due to increasing the potential barrier at the QD surface [3]. As result the core/shell CdSe/ZnS QDs have been widely used in optoelectronic and biological applications [4]. QDs being conjugated to biomolecules serve as luminescence tags in antigen-antibody biochemical reactions and can be used in early cancer diagnostics [1]. The confirmation of QD bioconjugation using the detection of essential trans-

formation of PL spectra is highly important. This paper presents the results of PL analysis of CdSe/ZnS core/shell QDs nonconjugated and bioconjugated to bio-molecules – the mouse anti PSA (Prostate-Specific Antigen) antibody (mab).

2 Experimental details

Commercially available core-shell CdSe/ZnS QDs, covered with polymer, are used in a form of colloidal particles diluted in a phosphate buffer (PBS) with a 1:200 volumetric ratio. Studied QDs are characterized by the size of 3.6–4.0 nm and color emission with the maxima at 560–565 nm (2.19–2.22 eV). The part of CdSe/ZnS QDs has been bioconjugated (named 565P) to the mouse anti PSA (Prostate-Specific Antigen) antibody using the commercially available 565 nm QD conjugation kit [5]. This kit contains amine-derivatized polymer coated QDs and the amine-thiol crosslinker SMCC [5]. The conjugation reaction is based on the efficient coupling of thiols, that present in reduced antibodies, to reactive maleimide groups which exist on the QD surface after SMCC activation (Fig. 1). Some

Abstract ID 256

Poster Presentation

Applications

Tuesday, 17:00 – 18:40, Gamma Room

Variation of Raman spectra of CdSe/ZnS quantum dots at the bio-conjugation

T.V. Torchynska¹, L.G. Vega-Macotela², J. Douda², R. Peña-Sierra³, L. Shcherbyna⁴

¹National Polytechnic Institute, MEXICO D.F., Mexico

²UPIITA-National Polytechnic Institute, MEXICO D.F., Mexico

³CINVESTAV del IPN, MEXICO D.F., Mexico

⁴V. Lashkarev Institute of Semiconductor Physics at NASU, KIEV, Ukraine

Semiconductor CdSe/ZnS core/shell quantum dots (QDs) with the high intensity of QD-size tunable photoluminescence (PL) can be used as bio-luminescent markers. The variation of PL intensity or the shape of PL spectra when coupled to different biomolecules indicate on changes in quantity of these molecules. It is important to look for other effects of the QDs which can offer additional information concerning the structure of bio-conjugated QDs.

This paper presents the results of analysis of Raman scattering spectra of CdSe/ZnS QDs covered by polymer (PEG) with and without bio-conjugation to bio-molecules: mouse anti PSA (Prostate-Specific Antigen) antibody (mab). Commercial CdSe/ZnS QDs used in the study are characterized by the color emission with the maximum at 560 nm (2.21 eV) at 300K. Samples of CdSe/ZnS QDs (bio-conjugated and non-conjugated) in the form of an 5 mm-size spot were dried on a polished surface of crystalline Si substrate to ensure a low level of light scattering background. Raman scattering spectra were measured at room temperature by micro Raman spectrometer using a He-Ne laser (632.8 nm) as an excitation source with a power of 20 mW in backscattering configuration.

Raman scattering spectra of non-conjugated QDs can be presented as a superposition of Raman lines: 212.2, 222.5, 308.3, 440.3, 618.0, 667.8 cm⁻¹ related to the core/shell CdSe/ZnS quantum dots and Si substrate (521.0 cm⁻¹). The Raman lines 943.5, 986.7, 1003.9, 1317.8, 1452.9, 1656.8, 2870.4, 2931.8 and 3059.9 cm⁻¹ deal with the vibration of COH, CH and OH groups of polymer, which cover of QDs, were detected additionally. It is revealed that the QD bio-conjugation to the anti PSA mab is accompanied with the changes dramatically in the intensity of both types of Raman lines: related to CdSe/ZnS core/shell and polymer groups. The explanation of bio-conjugation effects has been proposed and discussed. The comparison of Raman spectra of CdSe/ZnS QDs in non-conjugated and bio-conjugated states gives opportunity to detect the bio-conjugation without mistake.

This work was partially supported by CONACYT (the project 058358) as well as by the SIP-IPN, Mexico.

Variation of Raman spectra of CdSe/ZnS quantum dots at the bioconjugation

L. G. Vega Macotela¹, T. V. Torchynska^{1,2}, J. Douda¹, and R. Peña Sierra³

¹UPIITA – Instituto Politécnico Nacional, México D. F. 07320, México

²ESFM – Instituto Politécnico Nacional, México D. F. 07738, México

³CINVESTAV del IPN, México D.F. 07320, México

Received 5 June 2009, revised 6 October 2009, accepted 19 October 2009

Published online 12 January 2010

PACS 68.65.Hb, 78.30.Fs, 78.67.Hc

* Corresponding author: e-mail torch@esfm.ipn.mx, Phone: +5255 57296000 ext.55031, Fax: +5255 57296000 ext.55003

This paper presents the results of comparative analysis of Raman scattering spectra of CdSe/ZnS QDs covered by polymer with and without bio-conjugation to the mouse anti PSA (Prostate-Specific Antigen) antibodies (mab). Commercial CdSe/ZnS QDs used in the study are characterized by the color emission with the maximum at 565 nm (2.19 eV) at 300 K. Raman scattering spectra measured at room temperature demonstrate two groups of peaks: 1) related to the Si substrate at 230-460, 522,

610, 670, 940-1040 cm^{-1} and 2) to polymer on the QD surface in the spectral range 1268-3310 cm^{-1} . It is revealed that the QD bio-conjugation to the anti PSA mab is accompanied by the variation dramatically in the intensity of Raman lines of both types. The explanation of Raman peak stimulation in bio-conjugated QDs has been proposed on the base of surface enhanced Raman scattering (SERS) effect.

© 2010 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

1 Introduction Semiconductor core/shell quantum dots (QDs) of II-VI materials (CdSe/ZnS, CdSe/ZnSe, CdSeTe/ZnS...) widely use as bio-luminescent markers in different biological and medical investigations [1]. It has been proven that shells prepared from higher band gap semiconductor materials (ZnSe, ZnS...) can essentially increase the QD core photoluminescence (PL) intensity, their chemical and photo-stabilities by passivating nonradiative surface recombination states and by the creation of potential barriers on the QD surface [2]. The research attention in biology and medicine is directed to employ these markers for diagnostic of various diseases such as ovarian, lung and prostate cancers by using QDs bio-conjugated to specific antibodies (IgG proteins) [3,4]. Additionally to the emission study [5-7], other optical methods could offer interesting information related to the bio-conjugated QDs. Earlier we have shown that the study of Raman scattering of QDs bio-conjugated with specific antibodies can be the powerful technique for the proof of actual bio-conjugation, which is questionable in many cases [8,9]. This paper presents the results of Raman scattering study in QDs with and without bio-conjugation to mouse anti PSA (Prostate-Specific Antigen) antibodies (mab).

2 Experimental details

Commercially available core-shell CdSe/ZnS QDs covered with amine-derivatized polyethyleneglycol (PEG) polymer were used in a form of colloidal particles diluted in a phosphate buffer (PBS) with a 1:200 volumetric ratio. The QDs are characterized by the color emission with the maximum at 565 nm (2.19 eV) at 300 K. The part of 565 nm QDs has been bioconjugated (named 565P) to the mouse anti PSA (Prostate-Specific Antigen) antibody using the commercially available 565 nm QD conjugation kit [10]. This kit contains amine-derivatized PEG coated 565 nm QDs and the amine-thiol crosslinker SMCC [10]. The conjugation reaction is based on the efficient coupling of thiols, that present in reduced antibodies, to reactive maleimide groups which exist on the QD surface after SMCC activation [10]. Some part of CdSe/ZnS QDs (named 565N) has been left non-conjugated and serves as a reference object. Samples of QDs (bio-conjugated and non-conjugated) in the shape of 5 mm drops were dried on a surface of crystalline Si substrates as described in [8,9]. The thickness of dried layers was of 400-600 μm . Raman scattering spectra were measured at 300 K and the excitation by a He-Ne laser with a wavelength of 632.8 nm and a



UPiITA: Nuevos Horizontes

Sara Guadalupe Cruz y Cruz *

- Los puntos cuánticos tienen una amplia gama de aplicación en la computación cuántica, diodos emisores de luz, celdas solares, láseres y las áreas de medicina y biología

Columnas

El mundo fantástico de los puntos cuánticos o no todo lo que brilla es oro

Leonardo Gabriel Vega Macotela**
 Tatiana V. Torchyńska***
 Janna Douda****



*Doctora en ciencias y académica de la Unidad Profesional Interdisciplinaria en Ingeniería y Tecnologías Avanzadas del Instituto Politécnico Nacional (IPN), editora de la revista *UPiITA*.
 **Estudiante del programa de Maestría en Tecnología Avanzada, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de la UPiITA.
 ***Profesora e investigadora de la Escuela Superior de Física y Matemáticas (ESFM) del IPN.
 ****Profesora e investigadora de la SEPI de la UPiITA.

Los puntos cuánticos (*quantum dots* o QDs por sus siglas en inglés) son nanocristales semiconductores cuyo tamaño nanométrico varía de 2 a 30 nm (un nanómetro equivale a la milmillonésima parte de un metro), que producen luminiscencia debido a los efectos de confinamiento cuántico, es decir, debido a la limitación del movimiento de los electrones a una región muy reducida, —del orden de nanómetros—, del espacio. En el supuesto de que usted amable lector buscara información sobre los QDs en la Internet, le aparecerán un listado de miles de artículos sobre el tema, y tal vez tenga la idea de que el asunto de los QDs está resuelto.

Es cierto que se investiga mucho sobre los QDs de diferentes tipos, y que hay estudios muy importantes sobre su síntesis, propiedades y aplicación. Sin embargo, debido a sus propiedades únicas hay un futuro muy prometedor para sus aplicaciones. Como ejemplo basta mencionar que el nombre de los QDs ha quedado asociado con la computación cuántica, los diodos emisores de luz, las celdas solares y los láseres modernos, aunque todo esto pudiera parecer aún ciencia ficción. Por otro lado, llaman también la atención sus múltiples aplicaciones en las áreas de medicina y biología debido a que los tamaños de los QDs son muy semejantes a los tamaños de las biomoléculas sencillas, lo que los hace prospectivos desde el punto de vista tanto del diagnóstico como de la curación de enfermedades, así como también en el estudio de los procesos bioquímicos a nivel molecular. Todas estas aplicaciones propician que el área de los QDs se desarrolle en varias direcciones y a una velocidad impresionante.

¿Pero de dónde provienen las propiedades que tienen los QDs?

Los QDs son fluoróforos (partículas fluorescentes) con líneas de emisión bien definidas en la región del espectro visible y del infrarrojo cercano. Entonces, si se aplica la luz de láser con longitudes de onda en la región ultravioleta, ellos emitirán luz en la región del visible, es decir, se podrá ver un brillo peculiar de éstos, haciendo uso desde luego de un microscopio de laboratorio que son unas partículas muy pequeñas.

Si los combinamos con moléculas biológicas —un proceso que se denomina bioconjugación— los QDs se pueden utilizar como colorantes o indicadores, pero mucho más eficientes y estables que los colorantes orgánicos utilizados usualmente en laboratorios clínicos, porque los QDs poseen propiedades ópticas y eléctricas únicas, un ancho intervalo de absorción espectral y una mejor estabilidad térmica. Sin embargo, lo que hace a estas partículas aun más fantásticas es que el color de su alta luminiscencia depende de su tamaño [1] (ver Figura 1). Por ejemplo, las que tienen el tamaño de 2nm tienen un brillo de color verde, mientras que las del tamaño de 10nm brillan con un llamativo y hermoso color rojo; claro que todo esto ocurre siempre bajo la excitación de láser de potencia en la región ultravioleta.

INVESTIGACIÓN EN EL IPN

Nuestro grupo de investigación ha puesto mayor atención en los QDs de núcleo de Seleniuro de Cadmio (CdSe) y coraza de Sulfuro de Zinc (ZnS) (ver

Figura 2), tanto por su alta eficiencia luminiscente como por la estabilidad de las partículas. Para las aplicaciones biomédicas éstas deben ser estables en soluciones acuosas, por lo tanto se les aplican capas adicionales, que pueden ser de polímeros o algunos otros compuestos químicos que permiten dispersar los QDs en agua. Además, estas capas adicionales los hacen más accesibles para su bioconjugación con moléculas biológicas. Lo que nuestro grupo de investigadores realiza consiste en preparar QDs, envolverlos en polímeros, bioconjugarlos con los anticuerpos o antígenos de cáncer y finalmente, estudiar sus propiedades ópticas por algunos métodos de física aplicada.

Para las aplicaciones de estas partículas en la medicina clínica, hace falta recorrer todavía un largo camino: Se tienen que comprender los factores que afectan sus propiedades ópticas, tales como longitud de onda de emisión (es decir, el color de la luz emitida) y su eficiencia cuántica [2]. El color de la luz emitida por los QDs, no solo depende del tamaño de la partícula sino también del tiempo de su preparación, temperatura y los disolventes empleados, entre otros factores. Por ejemplo, para las partículas bioconjugadas con proteínas la fotoluminiscencia invariablemente aumenta [1].

Como biomarcadores luminiscentes, los QDs se han utilizado para el monitoreo de las funciones de las células vivas, así como para observar el flujo sanguíneo, imágenes de nudos linfáticos o para producir imágenes de células extraídas por biopsia (ver Figura 3).

Los pares electrón-hueco² fotoexcitados³ generados en los QDs semiconductores estimulan en estos sistemas la generación de fotocorrientes⁴, por lo que se proponen como futuros biosen-



Figura 1 Imágenes fluorescentes de los puntos cuánticos de diferentes tamaños de la nanopartícula, imagen tomada de: http://www.beseenonabike.com/bsobab/beseenonabike_info_fluorescence.htm