

UNIVERSIDAD DE SONORA

División de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Investigación en Física

Propiedades ópticas de nanodiamantes obtenidos por detonación
de 5 nm aplicables a imagenología y dosimetría biológica

TESIS

Que para obtener el grado de
Maestro en Ciencias
(Física)

Presenta:
Jesús Manuel Rodríguez Núñez

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

SINODALES

Dr. Martín Rafael Pedroza Montero (Director de tesis)

Dr. Rodrigo Meléndrez Amavizca (Codirector de tesis)

Dra. Hisila Santacruz Ortega

Dr. Mario Enrique Álvarez Ramos

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que conosco, especialmente a mis padres y hermanos.

Introducción

En la actualidad existe una alta necesidad en la medicina para detectar y tratar el cáncer. Uno de los problemas más significativos que se presentan para detectar el cáncer es que las diferencias entre el tejido normal y los tejidos asociados con cánceres tempranos son difíciles de diferenciar. Grandes promesas de la nanotecnología en la medicina se han enfocado en agentes multifuncionales para diagnóstico y tratamiento del cáncer. Los procedimientos para detectar tejido canceroso pueden incluir biopsias dolorosas, tiempos largos y técnicas de imagen convencionales que usan radiación ionizante potencialmente perjudicial. Por otra parte avances en tecnologías ópticas prometen efectividad, bajos costos, mejor resolución e imágenes no invasivas de tejido. Esto se a venido dando debido a que se a incrementado mucho el interés por combinar las nuevas tecnologías ópticas con el desarrollo de novedosos agentes de contraste, designados a probar las firmas específicas moleculares del cáncer, para mejorar los límites de detección y la efectividad de las imágenes ópticas. Recientemente se ha desarrollado un alto interés en las nanopartículas y otras nanoestructuras por el hecho de que, a diferencia de los materiales en bulto, sus propiedades ópticas [1, 2], electrónicas [3, 4], mecánicas [5–7] y químicas [8] pueden depender de su tamaño y geometría. Esto provee de un grado de libertad adicional a la hora de preparar materiales con propiedades deseables y puede permitir combinaciones de propiedades a las cuales no se podría llegar con materiales convencionales.

Las imágenes de fluorescencia son muy útiles en la biomedicina, debido a que son una herramienta poderosa y no invasiva presentando alta sensibilidad y resolución [9]. Típica-

mente las técnicas de imágenes fluorescentes descansan en el uso de fluoróforos los cuales son excitados principalmente con luz ultravioleta. Estas técnicas de bio-imágenes son usadas comúnmente para observar fenómenos biológicos tanto *in vivo*, como *in vitro*. El uso de fluoróforos orgánicos como las proteínas llegan a ser problemáticos debido a que presentan periodos cortos de observación ya que son fácilmente fotoblanqueables [10]. Podríamos decir que las imágenes *in vivo* usando excitación con UV presentan algunos inconvenientes como el bajo nivel de penetración en tejido, autofluorescencia debido a otros fluoróforos, e incluso la posibilidad de dañar el espécimen bajo estudio. Por otra parte el uso de radiación NIR (700 - 1000 nm) para excitar a los fluoróforos incrementa el contraste óptico debido en parte a que la penetración en tejido es mayor además brinda una mínima autofluorescencia y poca dispersión [11]. Así mismo hasta la fecha no se ha reportado que la luz en el NIR exhiba los mismos efectos negativos que causa el UV en los organelos y funciones celulares. A pesar de eso si se quisiera describir la dinámica de los nutrientes intracelulares de células cancerosas no se podría lograr ni si quiera con el uso del NIR debido a que las células se tendrían que exponer a la radiación un tiempo demasiado grande lo cual en lugar de ayudar a describir la dinámica intracelular podría terminar destruyendo las células.

Mucho tipos diferentes de nanopartículas han sido centro de atención debido a que prometen innovadoras aplicaciones biomedicas, principalmente la posibilidad de combinar materiales orgánicos e inorgánicos con el propósito de desarrollar herramientas terapéuticas y de diagnóstico médico. La difusión y localización de nanopartículas en células es un área cuyo interés se ha incrementado en la vida de la ciencia moderna. Esto debido a que por un lado, dar seguimiento y conocer la localización celular de las nanopartículas podría ayudar a utilizar las nanopartículas para contener, trasladar y liberar medicamento en una localización específica de la célula. Una manera para poder “ver” la dinámica que ocurre en el interior de las células (dinámica intracelular) es el uso de las nanopartículas como colorantes o fluoróforos, incluso pueden ser usadas para entregar moléculas bioactivas o medicamentos hacia una ubicación específica de las células u organismos. Algunos de

los inconvenientes que pueden presentar las nanopartículas dependiendo en parte del tipo de material que se trate es el fotoblanqueamiento (i.e. cese de contraste óptico) debido a una iluminación prolongada con luz. Otro inconveniente muy común es el hecho de que la mayoría de los materiales son tóxicos por lo que pueden resultar inútiles para tratar células u organismos vivos, y por lo tanto resultaría imposible usarlas en: bioetiquetas, dinámica celular, diagnóstico y tratamiento de cáncer, entre otras aplicaciones.

Otra falla que puede llegarse a presentar cuando se quieren usar a las nanopartículas como fluoróforos es el hecho de que no solamente las nanopartículas presentan fluorescencia si no que también algunos compuestos orgánicos presentes en el interior de las células pueden llegar a presentar fluorescencia, estos compuestos podrían ser por ejemplo flavinas, nicotidamina, adenina, dinucleótidos, entre otros [12]. Es por esto que se debe de tener cuidado al elegir los materiales de las nanopartículas para hacer experimentos de fluorescencia debido a que puede presentarse interferencia en la fluorescencia debida a estos compuestos endógenos y la fluorescencia que presentan las nanopartículas.

Esta tesis esta dividida en tres capítulos. En el capítulo uno presentamos características generales del diamante, como su estructura y tipos de categorías en que se subdividen los diamantes. Además comentamos algunas aplicaciones de modernas de nanodiamantes y analizamos brevemente las propiedades ópticas que le otorgan al diamante las impurezas de nitrógeno, la cual es la impureza más común que se presenta en el diamante. En el capítulo dos se presenta de manera general la teoría de fluorescencia de los materiales debido a defectos en su estructura atómica, es decir, se explica como se relacionan los defectos de los materiales con la manera en que estos últimos absorben y emiten tipos particulares de radiación electromagnética. Finalmente en el capítulo tres mostramos los resultados experimentales que se obtuvieron al analizar nanodiamantes de 5 nm mediante técnicas de XPS y termoluminiscencia. Esta última técnica fue útil para presentar evidencia de que este tipo de nanodiamantes pueden ser utilizados en nanodosimetría beta.

Hipótesis

El uso de nanodiamantes en la investigación de imágenes biológicas ha avanzado mucho en la última década. Sin embargo preguntas como ¿Se pueden utilizar los nanodiamantes para medir la temperatura interna de las células? ó ¿se pueden fabricar nanodosímetros usando nanodiamantes para medir radiación ionizante absorbida por las células ó para otro tipo de aplicaciones?, son preguntas que solo hoy en día se están empezando a responder. En este trabajo de tesis nos enfocamos en la segunda pregunta y presentamos algunos resultados experimentales que sugieren que si se pueden usar nanodiamantes en nanodosimetría.

Objetivo

Utilizar técnicas que ayuden a recombinar y controlar el número de defectos (N-V) que contienen los nanodiamantes para apoyar su uso en imagenología y obtener resultados que sugieren su posible uso en nanodosimetría, en particular usar la técnica de termoluminiscencia en nanodiamantes con un tamaño promedio de 5 nm que fueron expuestos a radiación ionizante gamma y beta.

Índice general

Introducción	V
Hipótesis	IX
Objetivo	XI
1. Fluorescencia de los materiales debido a defectos en su estructura	1
1.1. Modos de vibración de los átomos y el concepto de fonones	1
1.2. Conceptos básicos de fluorescencia y emisión	3
1.3. Absorción, excitación y emisión	5
1.4. Corrimiento de Stokes	10
1.5. Conceptos físicos involucrados en la interacción fonón - electrón y el concepto de línea de fonón cero	12
1.5.1. Diagrama de energías	16
2. Diamante: conceptos básicos, utilización y propiedades	19
2.1. Cristales y sólidos amorfos	19

2.2. Diamante	20
2.3. Nanodiamantes	24
2.3.1. Propiedades y aplicaciones de nanodiamantes	25
2.4. Impureza de nitrógeno en el diamante	27
3. Resultados experimentales	31
3.1. Material	31
3.2. Espectroscopia electrónica de rayos X (XPS)	31
3.3. Espectro de absorción	34
3.4. Fotoluminiscencia de nanodiamantes	40
3.5. Termoluminiscencia de nanodiamantes	42
Conclusiones	57
Bibliografía	59

Fluorescencia de los materiales debido a defectos en su estructura

1.1. Modos de vibración de los átomos y el concepto de fonones

Como sabemos los átomos de los cristales residen en un lugar particular de las redes, pero en realidad ellos están en una fluctuación continua alrededor de sus posiciones regulares. Estas fluctuaciones se incrementan debido al calor ó energía térmica de la red, y son mucho más pronunciadas a altas temperaturas. Ya que los átomos están unidos juntos debido a enlaces químicos, el movimiento de un átomo alrededor de su sitio causa que los átomos vecinos respondan a este movimiento. Los enlaces químicos actúan como resortes que se estiran y comprimen repetidamente durante el movimiento oscilatorio. El resultado es que muchos átomos vibran al unisono, y este movimiento colectivo se esparce a través del cristal. Cada tipo de red tiene sus propios modos ó frecuencias de vibración llamados *modos normales*, y el conjunto colectivo del movimiento vibracional de la red es una combinación ó superposición de muchos modos normales. Para una red diatómica existen modos de baja frecuencia llamados *modos acústicos* en el cual los átomos pesados y ligeros tienden a vibrar en fase ó al unisono uno con el otro, y los modos de alta frecuencia



Figura 1.1: Representación esquemática de una cadena lineal formada por dos tipos diferentes de átomos (átomos pesados de masa M y átomos livianos de masa m).

llamados modos *ópticos*, en el cual los átomos tienden a vibrar fuera de fase. Un modelo simple para analizar estos modos vibracionales es una cadena lineal de átomos alternados de masa M (átomos grandes) y masa m (átomos chicos) unidos uno al otro por los resortes (\sim) como se ve en la figura 1.1. Cuando uno de los resortes se comprime ó se estira una cantidad Δx , una fuerza se ejerce sobre las masas adyacentes con magnitud $C\Delta x$, donde C es la constante del resorte. Mientras los resortes se estiran y comprimen paso a paso uno con el otro, los modos longitudinales de vibración toman lugar en los cuales el movimiento de cada átomo es en la dirección de la cadena. Cada uno de estos modos normales tiene una frecuencia característica ω y vector de onda $k = \frac{2\pi}{\lambda}$, donde λ es la longitud de onda, y la energía E , asociada con cada modo está dada por $E = \hbar\omega$. También existen los modos transversales en el cual los átomos vibran adelante y de regreso en dirección perpendicular a la línea de los átomos. La figura 1.2 muestra la dependencia de ω en función de k para los modos longitudinales acústicos y ópticos. Podemos ver como ω continuamente se incrementa en la rama acústica cuando se incrementa el número de onda k , y por el contrario la frecuencia de la rama óptica continuamente decrece. Las moléculas de distintos materiales tienen modos normales característicos que pueden ser usados para detectar la presencia de distintos tipos de moléculas en sólidos.

Las vibraciones atómicas que discutimos corresponden a ondas del tipo estacionarias. Estos movimientos vibracionales también pueden producir ondas viajeras en las cuales el movimiento atómico vibracional de regiones localizadas viajan a través de la red. Ejemplo de este tipo de ondas son el sonido moviéndose a través del aire, u ondas sísmicas que empiezan en el epicentro de un terremoto que viajan miles de kilómetros hasta el sismógrafo que detecta y graba el terremoto minutos después. Ondas viajeras localizadas

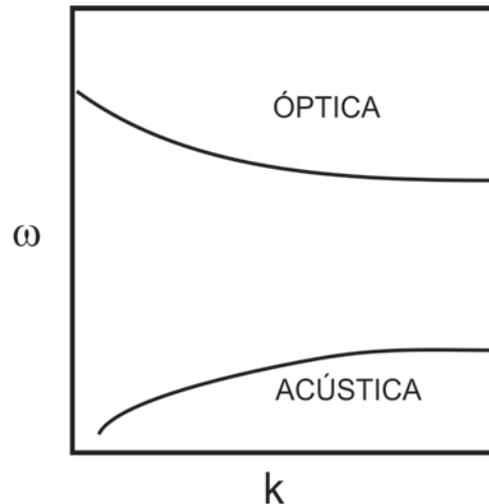


Figura 1.2: Dependencia de la frecuencia vibracional ω ó modo normal en función del número de onda $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ para una cadena diatómica lineal de átomos con masas alternadas $m < M$.

de vibraciones atómicas en sólidos son llamadas *fonones*. Estos fonones están cuantizados con energía $\hbar\omega = h\nu$, donde $\nu = \frac{\omega}{2\pi}$ es la frecuencia de vibración de la onda.

1.2. Conceptos básicos de fluorescencia y emisión

La fluorescencia es un miembro de la familia de los procesos de luminiscencia, en los cuales las moléculas susceptibles emiten luz debido a estados electrónicos excitados creados ya sea por mecanismos físicos (por ejemplo absorción de luz), mecánicos (fricción) ó químicos. Generación de luminiscencia a través de la excitación de moléculas con luz visible o ultravioleta es un fenómeno denominado fotoluminiscencia, el cual se divide en dos categorías, fluorescencia y fosforescencia, dependiendo de la configuración electrónica de los estados excitados y la manera subsecuente en que se presenta la emisión. Fluorescencia es la propiedad de algunos átomos y moléculas de absorber luz en una longitud de onda particular y posteriormente emitir luz de longitud de onda mayor después de un

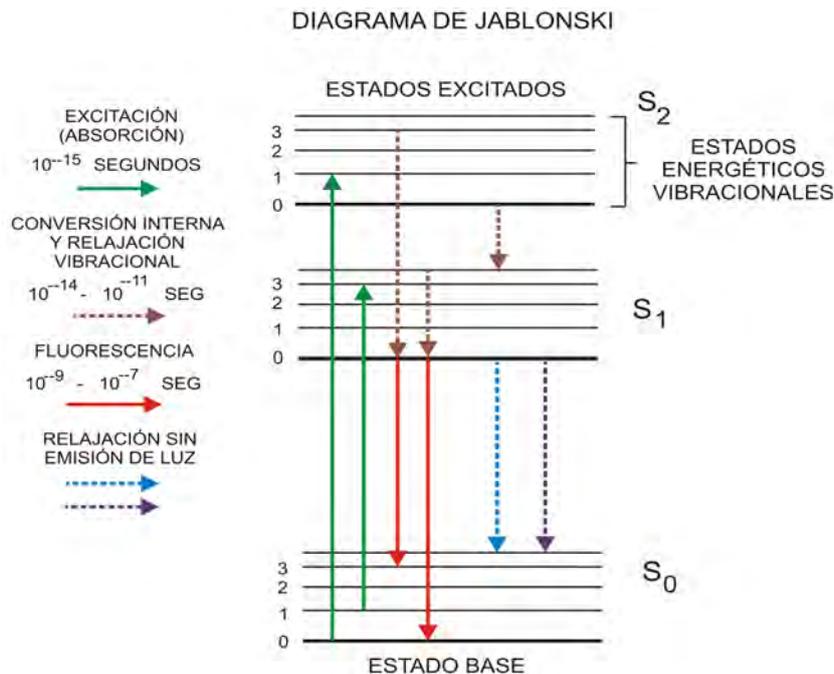


Figura 1.3: Representación esquemática de la mayoría de las transiciones posibles que puede presentar un fluoróforo hipotético.

breve periodo de tiempo. El proceso de fosforescencia ocurre en una manera similar a la fluorescencia pero con un tiempo de vida más grande del estado excitado.

El proceso de fluorescencia está gobernado por tres eventos importantes, los cuales ocurren en escalas de tiempo que están separadas por varios ordenes de magnitud. La excitación de una molécula susceptible por un fotón ocurre en femtosegundos (1×10^{-15} segundos), mientras que la relajación vibracional de estados electrónicos excitados hacia niveles energéticos más bajos es mucho más lento y puede ser medido en picosegundos (1×10^{-12} segundos). El proceso final, emisión de un fotón de longitud de onda mayor y regreso de la molécula al estado base, ocurre en un periodo de tiempo relativamente largo de nanosegundos (1×10^{-9} segundos).

La fluorescencia generalmente se estudia con moléculas aromáticas que se encuentran en uno de varios niveles energéticos del estado base [13], cada uno asociado con arreglos específicos de orbitales moleculares electrónicos. El estado electrónico de una molécula

determina la distribución de carga negativa y la geometría molecular completa. Para una molécula particular, existen varios estados electrónicos diferentes (ilustrados como S_1 , S_2 y S_3 en la figura 1.3) dependiendo de la energía electrónica total y la simetría de varios estados de espín. Cada estado electrónico se subdivide en un número de niveles energéticos vibracionales y rotacionales asociados con el núcleo atómico y orbitales de enlace. El estado base para la mayoría de las moléculas orgánicas es un singulete en el cual los electrones tienen espín apareado (tienen espín opuesto). A temperatura ambiente, muy pocas moléculas tienen energía interna suficiente para existir en cualquier estado que no sea el estado vibracional más bajo del estado base, y por lo tanto, el proceso de excitación generalmente se origina desde este estado energético.

1.3. Absorción, excitación y emisión

La absorción de energía por fluoróforos, ocurre entre niveles energéticos vibracionales del estado base. Varios niveles energéticos involucrados en la absorción y emisión de luz por un fluoróforo están clásicamente representados en el diagrama energético de Jablonski (figura 1.3), nombrado así en honor al profesor Alexander Jablonski. Un diagrama típico de Jablonski ilustra el estado base singulete S_0 , así como también el primero S_1 y segundo S_2 estados excitados singuletes como un conjunto de líneas horizontales. En la figura 1.3, las líneas horizontales gruesas representan los niveles electrónicos de energía, mientras que las líneas horizontales más delgadas denotan los estados energéticos vibracionales (los estados energéticos rotacionales son ignorados). Las transiciones entre estados se ilustran como flechas continua ó discontinua dependiendo de si la transición esta asociada con la absorción ó emisión de un fotón (flecha continua) ó como resultado de un proceso de relajación sin emisión de fotones (flecha discontinua). La energía de un fotón se expresa mediante la ecuación

$$E = h\nu = \frac{hC}{\lambda},$$

donde E es la energía, h es la constante de Planck, ν y λ son la frecuencia y longitud de onda del fotón respectivamente, y C es la velocidad de la luz. La ley de Planck dicta que la energía del fotón absorbido es directamente proporcional a la frecuencia e inversamente proporcional a la longitud de onda, significando que longitudes de onda incidentes más cortas poseen mayor energía. La absorción de un fotón por un fluoróforo, que ocurre debido a la interacción del vector de campo oscilante de la luz con las cargas (electrones) de la molécula, es un fenómeno de todo o nada y solo puede ocurrir con luz incidente de longitud de onda específica, conocidas como *bandas de absorción*. Si el fotón absorbido posee más energía de la que es necesaria para una simple transición electrónica, el exceso de energía usualmente se convierte en energía vibracional y rotacional. Sin embargo, si la colisión entre el fotón y la molécula ocurre sin energía suficiente para promover la transición, entonces la absorción no se lleva a cabo. La banda de absorción espectralmente amplia, se debe a que los niveles energéticos vibracionales están muy poco separados, además del movimiento térmico que origina un rango de energías en las cuales el fotón puede provocar una transición particular. Debido a que la excitación de una molécula por absorción ocurre sin cambio en el espín del electrón, el estado excitado también es un singulete. En general, las investigaciones en fluorescencia se centran en el espectro electromagnético de longitudes de onda desde el ultravioleta hasta el visible [14, 15].

Con luz ultravioleta ó visible, los fluoróforos comunes son usualmente excitados hacia niveles vibracionales más altos del primer S_1 y segundo S_2 estados energéticos singuletes. Una de las absorciones (ó excitaciones) presentada en la figura 1.3 (flecha verde de la izquierda) ocurre desde el nivel vibracional más bajo del estado base hacia niveles vibracionales más altos del segundo estado excitado (transición denotada como $S_0 = 0$ hacia $S_2 = 3$). Una segunda transición se muestra desde el segundo estado vibracional del estado base hacia el estado vibracional más alto del primer estado excitado (denotado como $S_0 = 1$ hacia $S_1 = 5$). En un fluoróforo típico, irradiarlo con un amplio espectro de longitudes de onda genera un rango completo de transiciones permitidas que poblan varios niveles energéticos vibracionales de estados excitados. Algunas de estas transiciones tienen

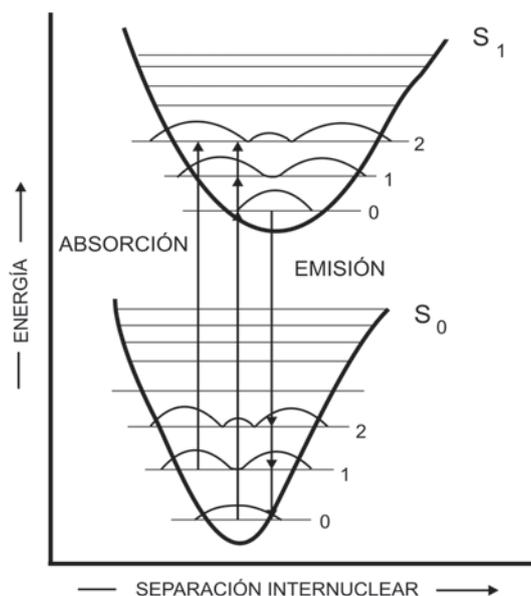


Figura 1.4: Ilustración de transiciones entre los niveles vibracionales del estado base y primer estado excitado.

mucha más alta probabilidad de ocurrir que otras, y cuando se combinan, constituyen el espectro de absorción de la molécula.

Inmediatamente después de la absorción de un fotón varios procesos pueden ocurrir, cada uno con distinta probabilidad, pero el más probable de estos procesos es la relajación hacia el estado energético vibracional más bajo del primer estado excitado ($S_1 = 0$ en la figura 1.3). A este proceso generalmente se le denomina *relajación vibracional* ó *conversión interna* (pérdida de energía en ausencia de emisión de luz) y generalmente ocurre en picosegundos ó menos. Debido a que un número significativo de ciclos vibracionales terminan durante el tiempo de vida de los estados excitados, las moléculas pasan a través de una relajación completa durante el tiempo de vida de la excitación. El exceso de energía vibracional se convierte en calor, que es absorbido por moléculas vecinas al colisionar con los estados excitados del fluoróforo.

Una molécula que se encuentra en el estado singulete excitado más bajo (S_1), permanece en este estado por periodos del orden de nanosegundos (el periodo de tiempo más largo

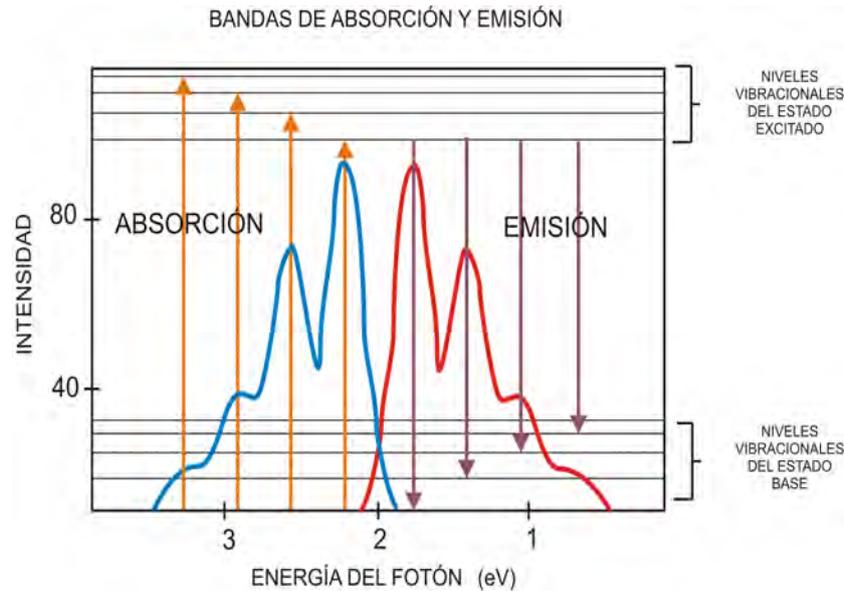


Figura 1.5: Espectros de absorción y emisión donde el conjunto completo de transiciones de los niveles vibracionales desde el estado base hacia el primer estado excitado y viceversa provoca que el espectro de emisión sea una imagen espejo del espectro de absorción.

de los procesos de fluorescencia por varios ordenes de magnitud) antes de que finalmente se relaje hacia el estado base. Si la relajación desde este estado de larga vida se acompaña con la emisión de un fotón, el proceso se conoce formalmente como fluorescencia. Los poco espaciados niveles energéticos vibracionales del estado base, cuando se acoplan con movimiento térmico, produce fotones en un amplio rango de energías durante la emisión. Como resultado, la fluorescencia normalmente se observa como una intensidad emitida en forma de banda en lugar de una simple línea de emisión.

Algunos otros caminos de transición que tienen distinta probabilidad de ocurrir completan el proceso de emisión de fluorescencia. Los estados energéticos excitados pueden ser disipados sin emisión de radiación en forma de calor (ilustrado por una flecha discontinua de color azul en la figura 1.3), el fluoróforo excitado puede colisionar con otra molécula y transferirle energía en un segundo proceso sin emisión de fotones (por ejemplo enfriamiento, como se indica por una flecha ondulada color morado en la figura 1.3), ó puede

ocurrir un proceso llamado sistema intercruzado en el cual el sistema baja al estado excitado triplete más bajo. Este último evento que es poco común provoca una transición al estado excitado singulete emitiendo fluorescencia tardía. La baja probabilidad del sistema intercruzado se debe al hecho de que las moléculas deben pasar primero por un proceso de “conversión de espín” para producir electrones no apareados, un proceso desfavorable energéticamente para el sistema. La principal importancia del estado triplete es la alta capacidad de reacción química que exhiben las moléculas en este estado que puede resultar en fotoblanqueamiento. Disolver oxígeno es una manera efectiva de crear un agente de blanqueamiento para fluoróforos en un estado triplete. El estado base de una molécula de oxígeno, que normalmente es un triplete, puede ser excitado hacia un estado singulete, llevando a reacciones que blanquean el fluoróforo.

La probabilidad de una transición desde el estado base S_0 hacia el estado excitado singulete S_1 depende del grado de similitud entre los estados energéticos vibracionales y rotacionales cuando el electrón se encuentra en el estado base contra los presentes en el estado excitado como se ilustra en la figura 1.4. El diagrama energético de Franck-Condon (figura 1.4) presenta las distribuciones de probabilidad energética vibracional a lo largo de varios niveles del estado base S_0 y primer estado excitado S_1 para una molécula hipotética. Las transiciones de excitación (flecha de la izquierda y flecha del centro) desde el estado base hacia el excitado ocurren en un tiempo tan corto (femtosegundos) que la distancia internuclear asociada con los enlaces de orbitales no tiene suficiente tiempo para cambiar, y por lo tanto las transiciones se representan por flechas verticales.

A temperatura ambiente, la energía térmica no es adecuada para poblar estados excitados y el estado más probable para un electrón es el estado base S_0 , que contiene un número de distintos niveles energéticos vibracionales, cada uno con diferente energía. Las transiciones más favorecidas serán aquellas donde las densidades de probabilidad vibracional y rotacional del electrón maximizan su traslape tanto en el estado base como en los estados excitados (figura 1.4). Sin embargo, los fotones que inciden con longitud de onda variable pueden tener suficiente energía para ser absorbidos y en ocasiones producen transiciones

desde otras distancias de separación internuclear y niveles energéticos vibracionales. Este efecto produce un espectro de absorción conteniendo múltiples picos (figura 1.5). El amplio rango de las energías de los fotones asociados con las transiciones de absorción de los fluoróforos causa que el espectro se vea como bandas amplias en lugar de líneas delgadas.

El espectro de absorción hipotético ilustrado en la figura 1.5 (banda azul) es resultado de varias transiciones electrónicas favorecidas desde el estado base hacia el menor de los estados excitados (S_0 y S_1 respectivamente). Sobrepuestas sobre el espectro de absorción están flechas verticales amarillas representando transiciones electrónicas desde los niveles vibracionales más bajos del estado base hacia niveles energéticos vibracionales más altos del estado excitado. Nótese que las transiciones hacia los niveles vibracionales más altos son las que ocurren con fotones de gran energía (longitud de onda baja ó número de onda grande). Las energías aproximadas asociadas con las transiciones están en electrón volts (eV) a lo largo de la abscisa superior de la figura 1.4. Los niveles vibracionales asociados al estado base y excitado también se incluyen a lo largo de la ordenada del lado derecho.

Los espectros de excitación y emisión pueden ser considerados como las funciones de distribución de probabilidad de que un fotón de una energía dada sea absorbido y le permita al fluoróforo emitir un segundo fotón en forma de radiación fluorescente.

1.4. Corrimiento de Stokes

Si el espectro de emisión de fluorescencia de un fluoróforo es analizado cuidadosamente, varias cosas importantes se vuelven aparentes. El espectro de emisión es independiente de la energía de excitación (longitud de onda) como consecuencia de la rápida conversión interna de estados energéticos iniciales altos hacia niveles energéticos vibracionales bajos del primer estado excitado S_1 . Para la mayoría de los fluoróforos el espaciamiento entre los niveles energéticos vibracionales es similar para los estados base y excitados, lo que da como resultado que el espectro de fluorescencia parezca como la imagen en un espejo

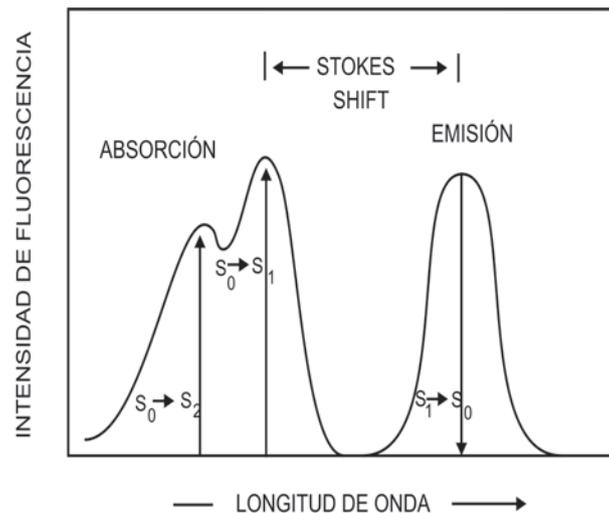


Figura 1.6: Ajuste de Stokes debido a que las relajaciones vibracionales además de colisiones del fluoróforo con otras moléculas entre otros procesos causan que las emisiones de fluorescencia sean de fotones menos energéticos (de mayor longitud de onda) que los fotones de excitación.

del espectro de excitación. Esto es debido al hecho de que las mismas transiciones son igualmente favorables tanto para la absorción como la emisión.

Como hemos estado discutiendo, después de que se absorbe un fotón el fluoróforo excitado rápidamente decaerá hacia el nivel vibracional más bajo del estado excitado. Una consecuencia importante de esta conversión interna tan rápida es que todas las maneras de relajación subsecuentes (fluorescencia, relajación sin emisión de luz, sistema intercruzado, etc.) proceden desde el sistema vibracional más bajo del estado excitado S_1 . De la misma manera que con absorción, la probabilidad de que un electrón en el estado excitado regrese a un nivel energético vibracional particular del estado base, es proporcional al traslape de los niveles energéticos de los estados respectivos (figura 1.4). El regreso al estado base S_0 usualmente ocurre hacia niveles vibracionales altos (figura 1.5), y subsecuentemente se encuentra el equilibrio térmico (relajación vibracional). Debido a que la emisión de un fotón comúnmente deja al fluoróforo en un estado vibracional alto del estado base, el espectro de emisión típicamente es una imagen espejo del espectro de absorción resultado

de la transición del estado base al primer estado excitado. A esto se le conoce como regla de la imagen espejo, ilustrado en la figura 1.5 para las transiciones de emisión (flechas de color morado) desde el nivel energético vibracional más bajo del estado excitado hacia varios niveles vibracionales del estado base. El espectro de emisión resultante (banda roja) es una imagen espejo del espectro de excitación debido a un fluoróforo hipotético.

Pero la regla de la imagen espejo no siempre se cumple, debido a que la energía asociada con las transiciones de emisión de fluorescencia es típicamente menor que la energía de absorción, los fotones emitidos resultantes tienen menor energía y están movidos hacia longitudes de onda mayores (figura 1.6). Este fenómeno se conoce comúnmente como “Stokes shift” ó corrimiento de Stokes. El principal origen del ajuste de Stokes es el decaimiento de los electrones hacia los niveles vibracionales más bajos del primer estado excitado S_1 . Además, la emisión de fluorescencia generalmente se acompaña por transiciones por transiciones hacia niveles vibracionales altos del estado base, resultando en más pérdida de energía de excitación para poder encontrar el equilibrio térmico del exceso de energía vibracional.

1.5. Conceptos físicos involucrados en la interacción fonón - electrón y el concepto de línea de fonón cero

El atrapamiento de un electrón en un sitio (defecto) tiene tres efectos. Estos pueden ser intuitivamente mejor entendidos mediante la figura 1.7, que es una representación esquemática de varios núcleos (escudados por los electrones interiores) en un cristal unidimensional. Asumimos que inicialmente los núcleos están distribuidos de manera uniforme. Cuando el electrón es atrapado cerca (a la izquierda del esquema) los siguientes efectos ocurren.

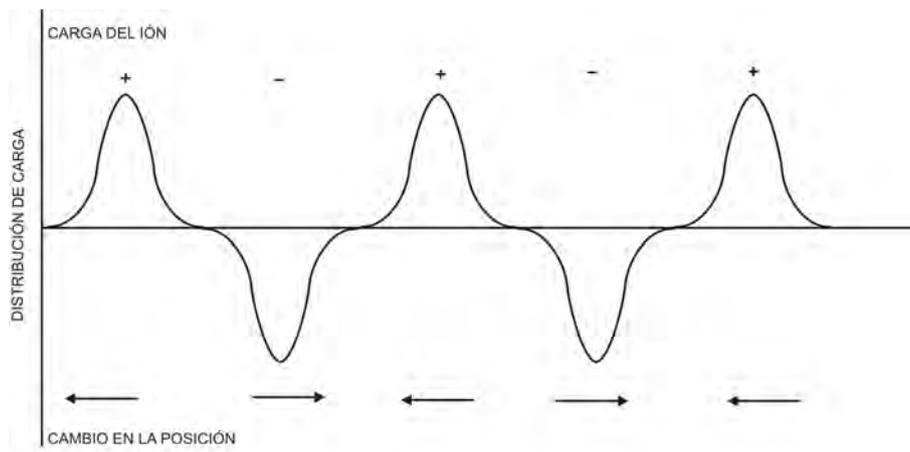


Figura 1.7: Diagrama esquemático que muestra el efecto de atrapar a un electrón en una imperfección de un cristal.

1. El electrón induce una fuerza sobre el núcleo, causando un movimiento no uniforme sobre las posiciones de reposo, como lo indican las flechas. Este movimiento es muy parecido al de una compresión (ó expansión) de un resorte, lo que causa un almacenamiento de energía.
2. Las fuerzas entre el núcleo se modifican un poco, lo que causa un cambio en las frecuencias de la red, $\Delta\omega$. En el cero absoluto las posiciones probables de los iones están dadas por una curva gaussiana si se considera un modelo en el cual los iones no están acoplados. El atrapamiento de un electrón puede causar un ensanchamiento ó estrechez de la distribución.
3. Finalmente, hay un tercer efecto similar al de la interacción fotón - electrón. Los electrones y núcleos reajustan sus distribuciones de probabilidad

Estos efectos también ocurren cuando el electrón se redistribuye a si mismo, es decir, adquiere una nueva función de onda cuando pasa de un nivel energético a otro, ó por transiciones a la banda de conducción. Cada manera ó modo vibracional de una red además de las interacciones vibracionales con otras redes de las moléculas dan lugar a la creación de fonones que viajan a través del sólido. Así que al mismo tiempo que nos referimos a

las interacciones entre los defectos electrónicos y los iones ó núcleos circundantes, también podemos entenderlo como interacciones entre fonones y electrones, a las cuales nos referiremos como *interacción fonón - electrón*. Estas interacciones entre fonones y electrones dan lugar a ciertas bandas de absorción y emisión de luz, es decir, la absorción de luz por transiciones energéticas del defecto electrónico ocasiona la producción de fonones, pero también se da el caso en que a pesar de que el electrón absorbe luz y pasa a un nivel energético superior, esto no genera ni un solo fonón y como generalmente esta banda de absorción es muy delgada se le conoce como *línea de fonón cero* (ZPL por sus siglas en inglés). Al resto del espectro de absorción que si genera uno ó varios fonones se le conoce como *banda de fonón adjunta* (ó PSB por sus siglas en inglés). Estos efectos también tienen su contraparte en las bandas de emisión.

Varios autores han estudiado las propiedades de defectos cristalinos en diversos materiales que dan lugar a interacciones fonón - electrón algunos de ellos se centran en el aspecto experimental y otros estudian a fondo estas interacciones desde un punto de vista teórico [16–19]. Un cálculo y entendimiento riguroso de las formas de las líneas espectrales de absorción y emisión debido a las interacciones fonón - electrón, presentan un problema formidable, debido a que se requiere conocer las imperfecciones de los estados vibracionales de la interacción red - cristal además de las interacciones entre las redes y los diferentes estados de los defectos electrónicos.

Las propiedades espectrales de un defecto electrónico dentro de un cristal, aporta, en el límite de temperatura baja dos efectos importantes: a) las transiciones electrónicas de cada defecto están acopladas a vibraciones localizadas (fonones) del cristal, y b) las diferencias en el ambiente (tipo de estructura, vibraciones, etc.) próximo a cada defecto da lugar a un efecto no homogéneo de los espectros de absorción y emisión. Una manera de visualizar el acoplamiento fonón - electrón es mediante un diagrama de energías donde los niveles energéticos vibracionales de los fonones están acoplados a cada uno de los niveles energéticos electrónicos (figura 1.8), además suponemos que los niveles vibracionales son los mismos en cada nivel electrónico. El caso más simple es a bajas temperaturas donde

después de excitación y subsecuente equilibrio térmico solo el estado de fonón más bajo (ó nivel vibracional más bajo) del primer estado electrónico excitado está ocupado, es decir, no hay más de un solo fonón excitado en el primer estado electrónico. La función de onda de este fonón, se traslapa con la función de onda del fonón más bajo del estado base, así que existe la probabilidad de que ocurra una transición electrónica (emisión de luz en este caso) sin que se generen (ó se exciten) otros fonones. Cuando ocurre una transición electrónica sin que cambie el número de fonones se le conoce como *transición de fonón cero* y es precisamente esto lo que produce líneas de fonón cero en los espectros de absorción y emisión. Todas las demás transiciones inducen la creación de cierto número de fonones, y por tanto se les conoce como, transiciones de un fonón, dos fonones ó transiciones multifonón. Entonces, los fotones emitidos son de menor frecuencia (es decir, menos energéticos) que los emitidos por las transiciones de fonón cero debido a que se gasta un poco de energía al generar algunos fonones a diferencia de la transición de fonón cero donde no se genera ni un solo fonón. Todos los otros procesos asociados con un cambio en los niveles de la población de fonones contribuyen a incrementar la banda de fonón adjunta. En el caso de las transiciones de absorción fotones de alta más alta frecuencia que los absorbidos por las transiciones de fonón cero, deben ser empleados para excitar transiciones multifonón por lo que en este caso las líneas de absorción aparecen hacia el lado de más alta energía de la línea de fonón cero. Es así que hay una simetría perfecta de espejo entre los espectros de absorción y emisión.

1.5.1. Diagrama de energías

Las transiciones electrónicas entre el estado base y los estados excitados son muy rápidas comparadas con el movimiento de la red (esto debido a que los iones son mucho más masivos que el electrón). Las transiciones energéticas por lo tanto pueden ser simbolizadas por flechas verticales entre el estado base y excitado, esto es, no hay movimiento a lo largo de las coordenadas de configuración durante las transiciones. La figura 1.8 es un

diagrama de energías para interpretar la emisión y absorción de fotones con y sin la creación de fonones en términos de la coordenada de configuración q_i . Las transiciones se originan desde los niveles energéticos de fonones más bajos. Como se muestra en la figura el mejor traslape entre la función de onda más baja del estado base (y por lo tanto mayor probabilidad de transición) ocurre cuando la energía del fotón es igual a la diferencia de energía entre los dos estados excitados ($E_1 - E_0$) más tres paquetes de energía $\hbar\Omega_i$ del i -ésimo modo vibracional (flecha de absorción azul más larga de la figura 1.8). Esta transición de tres fonones es como un espejo de las transiciones de emisión cuando los estados excitados rápidamente decaen al nivel más bajo de vibración de la red mediante procesos sin emisión de radiación y de ahí hacia el estado base emitiendo un fotón (las dos flechas rojas de la figura 1.8 que representan transiciones con emisión de luz). La transición de fonón cero, es decir, transición sin la generación de fonones está representada teniendo menor traslape con la función de onda y por lo tanto menor probabilidad de transición (flecha roja más larga de la figura 1.8).

Para que la explicación y el entendimiento de estos procesos sea más sencillo estamos haciendo uso de tres aproximaciones que están implícitas en las figuras.

1. Cada modo vibracional de la red está bien descrito por un oscilador armónico cuántico. Esta aproximación está implícita en la forma de los pozos de potencial de la figura 1.8 y en el hecho de que los niveles energéticos de los fonones están igualmente espaciados.
2. Solamente la menor de las vibraciones de las redes son excitadas. Esto se conoce como aproximación de temperaturas bajas y significa que ninguna de las transiciones electrónicas se genera desde niveles de fonones excitados.
3. Las interacciones entre el defecto electrónico y la red son las mismas tanto en el estado base como en el estado excitado. Específicamente, el potencial de oscilador armónico es igual en ambos casos. Se representa en la figura 1.8 mediante dos potenciales con forma parabólica iguales además de niveles energéticos de fonones

igualmente espaciados tanto en el estado base como el excitado.

La intensidad de la línea de fonón cero (ó transición de fonón cero) se incrementa debido a todos los modos de vibración de la red. Cada modo vibracional de la red m tiene una frecuencia vibracional Ω_m que lleva a una diferencia de energía $\hbar\Omega_m$ entre los fonones. Cuando las transiciones de probabilidad de todos los modos se suman, la transición de fonón cero siempre se suma debido a la transición electrónica $E_1 - E_0$, mientras que las transiciones con fonones se suman a la distribución del espectro de energías.

Diamante: conceptos básicos, utilización y propiedades

2.1. Cristales y sólidos amorfos

En la física del estado sólido y la química, un cristal es un sólido homogéneo que presenta una estructura interna ordenada de sus partículas reticulares, sean átomos, iones ó moléculas. La palabra proviene del griego *crystallos*, nombre que le dieron los griegos a una variedad del cuarzo, que hoy se llama cristal de roca. La mayoría de los cristales naturales se forman a partir de la cristalización de gases a presión, en la pared interior de

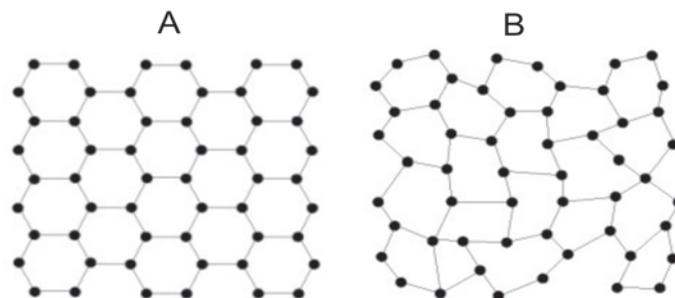


Figura 2.1: A: estructura cristalina ordenada y B: Estructura sin ningún orden particular que da lugar a un sólido amorfo [21].

cavidades rocosas llamadas geodas.

Aunque el vidrio se suele confundir con un tipo de cristal, en realidad no posee las propiedades moleculares necesarias para ser considerado como tal. El vidrio, a diferencia de un cristal, es amorfo. Los cristales se distinguen de los sólidos amorfos, no solo por que los primeros presentan geometría regular, si no también por la anisotropía de las propiedades que presentan estos últimos (no son las mismas en todas la direcciones). Los cristales están formados por la unión de partículas dispuestas en forma regular siguiendo un esquema determinado que se reproduce, en forma y orientación, en todo cristal y que crea una red tridimensional. En un cristal, los átomos e iones se encuentran organizados de forma simétrica en redes elementales, que se repiten indefinidamente formando una estructura cristalina. Por otra parte los sólidos amorfos no presentan ningún tipo de periodicidad que se repita indefinidamente, aunque existen casos de materiales amorfos que presentan periodicidad de corto alcance en su estructura pero esto no es suficiente para que se le considere como cristal.

2.2. Diamante

El carbono es un elemento químico de número atómico (z) igual a 6 y símbolo **C** que es notable por varias razones. Forma parte de todos los seres vivos conocidos y puede encontrarse en la naturaleza en distintas formas alotrópicas (i.e. distintas formas en la que se acomodan los átomos de carbono para formar distintos tipos de moléculas y por lo tanto distintos materiales) que terminan por brindarle a los materiales de carbono distintos niveles de textura, fuerza y color. sus formas alotrópicas incluyen el grafito, diamante, fullerenos, nanotubos y carbinos (figura 2.3). El grafito es un material blando del cual está hecha la parte interior de los lápices de madera. En contraste con el grafito el diamante es un material muy duro. Los diamantes naturales se forman en lugares donde el carbono ha sido sometido a grandes temperaturas y altas presiones [22]. Estos se pueden crear

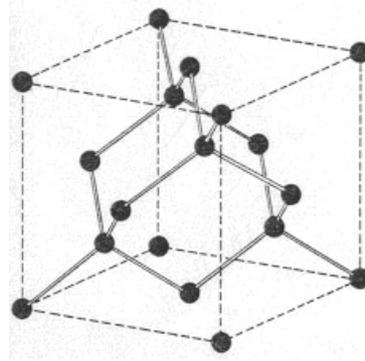


Figura 2.2: Estructura tipo FCC llamada estructura cubica centrada en la cara, que es característica del diamante [25].

artificialmente mediante el método denominado *detonación* donde mediante explosiones se somete a los átomos de carbono a presiones y temperaturas muy altas [23,24]. El precio de los diamantes artificiales es menor al de los diamantes naturales, pero si se elaboran adecuadamente pueden tener la misma fuerza, color y transparencia que los naturales.

El diamante tiene características ópticas destacables. Debido a su estructura cristalina extremadamente rígida, puede ser contaminada por pocos tipos de impurezas, como el boro y el nitrógeno. Combinado con su gran transparencia (correspondiente a una amplia banda prohibida de 5.5 eV), esto resulta en la apariencia clara e incolora de la mayoría de diamantes naturales. Pequeñas cantidades de defectos ó impurezas de aproximadamente una parte por millón inducen un color de diamante azul (boro), amarillo (nitrógeno), marrón (defectos cristalinos), verde, violeta, rosado, negro, naranja ó rojo. El diamante también tiene una dispersión refractiva relativamente alta, esto es, habilidad para dispersar luz de diferentes colores, lo que resulta en su lustre característico.

Como ya mencionamos el diamante es un alótropo del carbono. Los átomos se acomodan en una estructura periódica, donde cada átomo forma cuatro fuertes enlaces covalentes con los cuatro vecinos más próximos. El diamante es el material natural más fuerte conocido, lo cual lo hace excelente para aplicaciones industriales como cortar, taladrar y pulir. No es de sorprender que el 80% de los diamantes que se extraen de las minas sean des-

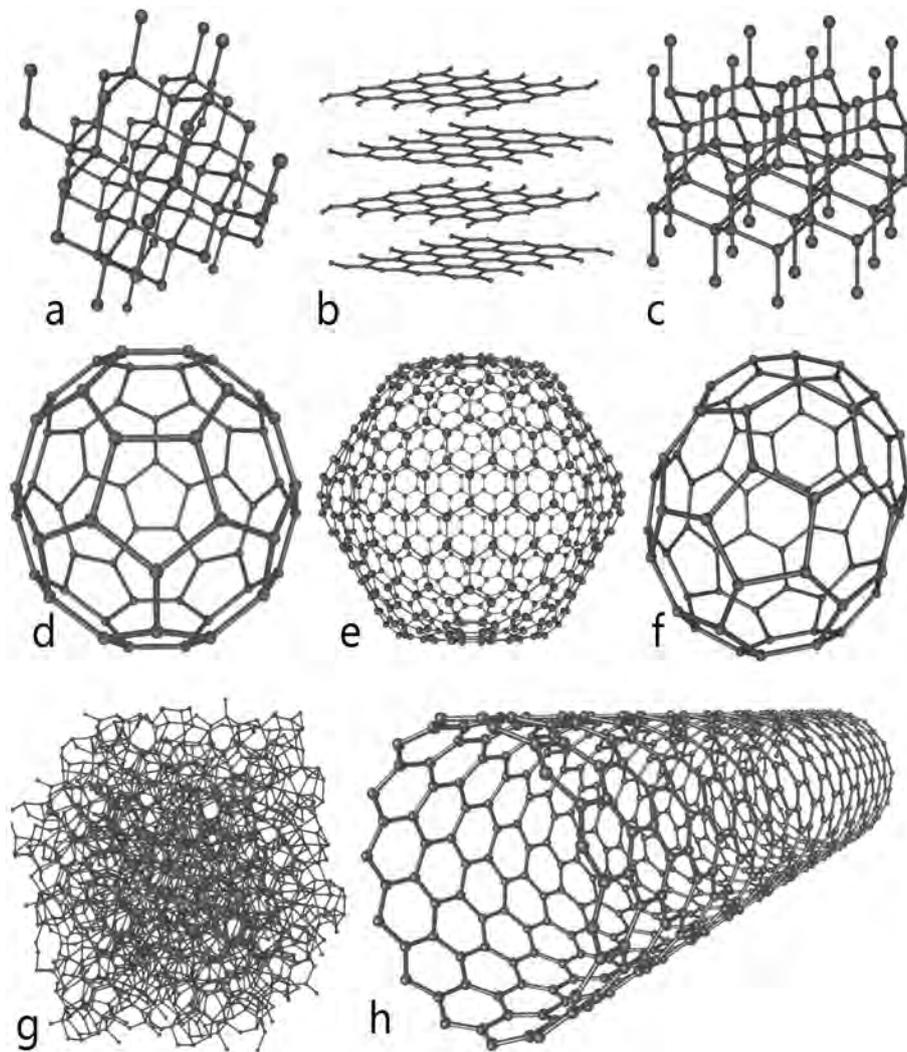


Figura 2.3: Representación de las diferentes formas alotrópicas del carbono. a: diamante, b: grafito, c: diamante hexagonal, d: fullereno C_{60} , e: fullereno C_{540} , f: fullereno C_{70} , g: carbono amorfo, y finalmente h: nanotubo [26].

tinados para este tipo de industria y solo el 20% se designen para ser tratados como joyas. Recientemente el intenso interés tecnológico en el diamante ha ocasionado que se desarrollen numerosas técnicas para sintetizar diamantes artificiales. A pesar de que se le pueda considerar al diamante como un material perfecto, en realidad contiene una variedad de defectos y centros de color. Las impurezas en los diamantes pueden alterar significativamente algunas de sus propiedades. Algunas impurezas pueden alterar su dureza ó convertirlos en semiconductores, esto pasa por ejemplo en el caso de los diamantes azules que contienen impurezas con boro. El cambio de color es solo estético, lo que realmente interesa es el hecho de que muchos de estos defectos en el diamante, a los cuales se les conoce como centros de color, están hechos de inclusiones atómicas que muestran características ópticas y de espín muy interesantes.

Los defectos en el diamante son mayormente provocados por átomos de elementos externos incrustados en una matriz de átomos de carbono. Estas impurezas se presentan en los diamantes naturales y artificiales en forma de átomos aislados u organizados en pequeños clusters atómicos. Hay cientos de tipos de impurezas luminiscentes que se pueden formar dentro de los diamantes, pero a una gran parte de ellas no se les puede analizar y entender con detalle las características de espín y estados energéticos debido a lo difícil de su estructura electrónica. Las impurezas ó centros de color de nitrógeno son los defectos más comunes que se presentan en el diamante. Los diamantes se clasifican como *tipo I* y *tipo II* de acuerdo con las diferencias en transmisión de luz ultravioleta e infrarroja. Los diamantes del tipo II exhiben bandas de absorción entre los 3 y 6 μm y una fuerte absorción en el ultravioleta en los 225 nm. Los diamantes del tipo I muestran bandas de absorción adicional entre los 6 y 13 μm y una cola de absorción en el límite de los 225 nm [27]. El nitrógeno es un defecto que existe en el diamante como una impureza sustitucional solitaria llamada centro - C ó como estructuras más grandes en forma de agregados llamados centro - A y centros - B. Los diamantes que contienen preferentemente impurezas del tipo centro - C se les conoce como *tipo Ib*, mientras que los diamantes que contienen preferentemente impurezas tipo centro - A y B se les conoce como tipo *IaA* y

IaB [27].

El diamante debe su extrema dureza debido a que por un lado su estructura atómica es del tipo FCC (figura 2.2) y por otra parte los enlaces entre los átomos de carbono son del tipo covalente. El átomo de carbono contiene 6 electrones que se distribuyen entre los niveles más bajos de energía. La estructura de esta distribución es como sigue $(1s)^2$, $(2s)$, $(2p_x)$, $(2p_y)$, $(2p_z)$. El nivel más bajo de energía $1s$ con número cuántico $n = 1$ contiene dos electrones con espín opuesto. La distribución electrónica de carga en un estado s es esféricamente simétrica alrededor del núcleo. Estos electrones $1s$ no participan en los enlaces químicos (por lo que el átomo de carbono solo tiene 4 electrones de valencia). Los siguientes cuatro electrones están en el estado energético $n = 2$, uno de ellos en el orbital esféricamente simétrico s , y tres en los orbitales p_x , p_y y p_z , que tienen la distribución electrónica que se muestra en la figura 2.4, cada una orientada perpendicularmente respecto a las otras dos. El orbital s junto con los orbitales p forman los enlaces químicos entre los átomos de carbono y otros átomos. La distribución de carga asociada con estos orbitales se mezclan (ó se traslapan) con la distribución de carga de cada uno de los átomos para crear enlaces. Podríamos interpretar la carga electrónica de dos átomos como el pegamento que los mantiene juntos y crea los enlaces. En el caso del diamante cada átomo de carbono se enlaza con otros cuatro átomos mediante los llamados orbitales híbridos sp^3 , que consisten en la mezcla ó hibridación del orbital $2s$ con tres orbitales $2p$ para originar cuatro orbitales híbridos idénticos.

2.3. Nanodiamantes

En la última década, se han desarrollado varios métodos para preparar diamantes nanocristalinos ó nanodiamantes en forma de películas delgadas y polvos [23, 24, 29–35]. Particularmente los métodos de síntesis de nanodiamantes por detonación [23, 30, 33] han hecho que los nanodiamantes en polvo sean accesibles en grandes cantidades, lo cual per-

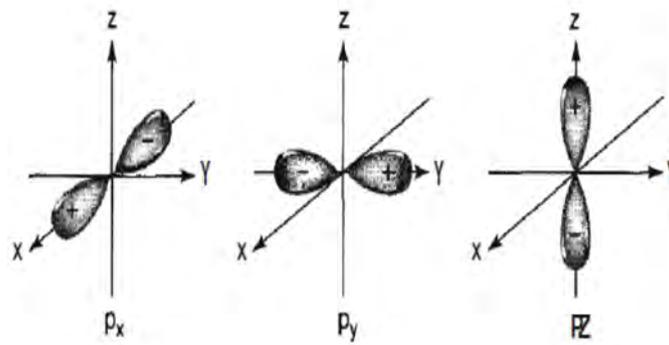


Figura 2.4: Ilustración de los orbitales p_x , p_y y p_z del átomo de carbono [28].

mite un incremento significativo en sus aplicaciones potenciales. Otros dos métodos muy utilizados para la fabricación de nanodiamantes son, el *método de la cavidad ultrasónica* y el método por *irradiación pulsada con láser*. En el primero de los dos métodos los nanodiamantes se sintetizan de una suspensión de grafito en líquido orgánico a presión atmosférica y temperatura ambiente usando una cavidad ultrasónica [31]. El precio de los nanodiamantes producidos por este método se estima que es competitivo con el método de alta presión y alta temperatura. En el segundo método se irradia grafito con un láser pulsado de alta energía [32].

2.3.1. Propiedades y aplicaciones de nanodiamantes

Los nanodiamantes poseen varias características físicas únicas. Las siguientes propiedades superiores de los nanodiamantes los convierten en un material especial y prometedor que puede ser usado en numerosos campos:

1. **Bioetiquetas.** Los nanodiamantes son una excelente elección como bioetiquetas para el caso de diagnóstico e imágenes *in vivo*. Chi-Cheng y coautores introdujeron nanodiamantes de 35 nm en células cancerosas de HeLa para usarlos como biomarcadores en imágenes de contraste [12].

2. **Químicamente inerte.** Esta es una característica importante de los nanodiamantes para poder ser usados en la biología. Ya que los ambientes biológicos son típicamente corrosivos, se pueden utilizar películas de nanodiamantes para proteger otros materiales aprovechando la resistencia química a líquidos corrosivos que posee el diamante [36].
3. **Biocompatibilidad.** Esta característica no puede ser pasada por alto cuando se utilizan los diamantes en la biología. Yu y coautores investigaron la compatibilidad de nanodiamantes de 100 nm en cultivos de células de riñón humano encontrando baja citotoxicidad [37]. Después Schrand y coautores, mostraron que nanodiamantes más pequeños de 2-10 nm no son tóxicos a una variedad de células a través de su función mitocondrial [38]. Ellos encontraron que después de incubar las células con nanodiamantes, la morfología celular no se vio afectada por la presencia del diamante.
4. **Excelentes propiedades ópticas.** Los nanodiamantes pueden ser usados como biomarcadores ó bioetiquetas. Esto debido a impurezas (ó defectos) dentro de su estructura. Excitación con luz láser adecuada provoca emisión de luz en diferente longitud de onda a la de excitación debido a diferentes tipos de impurezas [39].
5. **Modificación química de la superficie del nanodiamante.** La superficie del diamante puede ser utilizada como un posible biosensor ó como un sustrato para inmovilizar moléculas biológicas [40]. Yang y sus coautores desarrollaron un procedimiento para atraer y pegar moléculas de ADN a la superficie de nanodiamantes [41].
6. **Tamaño pequeño.** Los diferentes procedimientos para fabricar nanodiamantes permiten fabricarlos en tamaños que van desde 1 hasta los 100 nm.
7. **Gran área superficial y alto potencial de adsorción.** Los nanodiamantes tienen un área superficial relativamente grande. Como resultado, su superficie atrae a moléculas de agua e hidrocarburos directamente del medio ambiente, además un

gran número de medicamentos pueden ser colocados sobre la superficie de los nanodiamantes [42].

8. **Medición de la dinámica intracelular.** La dinámica intracelular es otro tema de reciente interés en la bio medicina. Un buen entendimiento de como se transportan los nutrientes y pseudonutrientes (nanopartículas) en el interior de las células podría ayudar a mejorar procesos como diagnóstico y tratamientos médicos que involucren cualquier tipo de nanopartículas. Chi-Cheng y coautores midieron la dinámica intracelular en células de HeLa utilizando nanodiamantes de 35 nm [12].

2.4. Impureza de nitrógeno en el diamante

En términos de propiedades, una de las estructuras más fascinantes que puede formar el nitrógeno es el centro (N-V), el cual es un defecto cristalográfico extrínseco incorporado a la estructura del diamante. En este defecto, dos lugares que deberían ser ocupados por átomos de carbono son alterados: un átomo de carbono es reemplazado por uno de nitrógeno y el otro sitio donde también debería haber un átomo de carbono, es reemplazado por un espacio vacío (vacancia). Este defecto (N-V) tiene una fuerte transición óptica con una línea de fonón cero, esto es, transición puramente electrónica sin involucrar fonones en los 637 nm (1.945 eV). Esta transición se acompaña de una banda vibracional hacia el lado de alta energía en absorción y baja energía en emisión.

Al estar en el grupo V de la tabla periódica, el nitrógeno tiene cinco electrones de valencia; tres de ellos se comparten con los tres átomos de carbono más próximos y los otros dos se ubican en el enlace roto en la dirección del sitio vacante. Por lo tanto alrededor del sitio vacante, hay cinco enlaces electrónicos activos e insatisfechos que pertenecen a los átomos adyacentes a la vacancia, dos debido al nitrógeno y los otros tres debidos a los tres átomos de carbono que rodean la vacancia. A esta estructura se le conoce como defecto (N-V) cero ó bien (N-V)⁰, en el cual la interacción entre los electrones donde uno

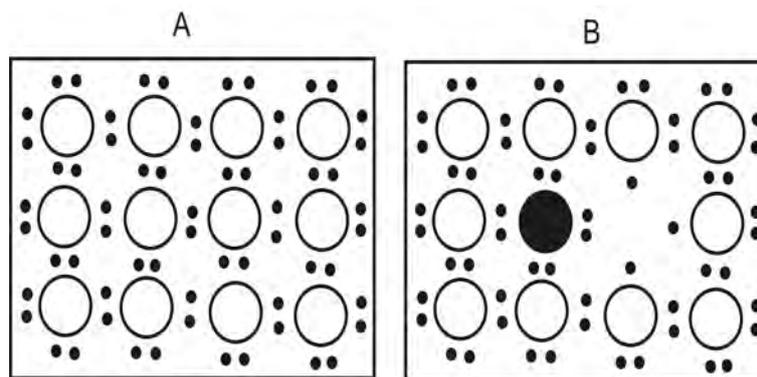


Figura 2.5: A: ilustración de los átomos de carbono (círculos grandes) y electrones (puntos de color negro) en la configuración atómica del diamante donde cada átomo de carbono tiene cuatro vecinos más próximos con los cuales crea enlaces covalentes. B: en este caso dos átomos de carbono se han sustituido por un átomo de nitrógeno (círculo grande de color negro) y un espacio vacío (vacancia) quedando cinco electrones apuntes hacia el sitio vacante, a esta configuración se le conoce como centro ó defecto $(N-V)^0$.

de ellos esta desapareado, resulta en un espín $S = \frac{1}{2}$ y por tanto el estado base de esta configuración es un singulete. Otra configuración del defecto $(N-V)$ se presenta cuando el electrón desapareado se coloca en el sitio vacante, configuración de defecto conocida como $(N-V)$ menos ó $(N-V)^-$. Cada uno de los tres átomos de carbono tiene cuatro enlaces simétricos: un enlace roto apuntes hacia el sitio vacante y los otros tres enlaces hacia atrás apuntes hacia otro átomos de carbono de la red. Similarmente el átomo de nitrógeno tiene un enlace roto apuntes hacia el sitio vacante y otros tres enlaces apuntes hacia otros átomos de carbono de la red (figura 2.5 B).

Si lo que hemos dicho es correcto, el estado base del defecto $(N-V)^-$ no debería ser un triplete si no un singulete, de acuerdo con el número impar (cinco) de electrones que ocupan el enlace roto en la vecindad de la vacancia, pero en realidad tanto el estado base como el primer estado excitado del defecto son ambos tripletes. Este estado triplete se explica con un modelo que involucra seis electrones para obtener el experimentalmente detectado espín entero $S = 1$, para esto el defecto debe tener un número par de electrones

en el enlace roto de la estructura de la vacancia. Es por esto que se debe asumir que el defecto neutral $(\text{N-V})^0$ con cinco electrones adquiere un electrón adicional de un sitio cualquiera de la red. Asumiendo que esta visión del proceso físico es correcta y considerando que se requieren ocho electrones para formar un cascarón cerrado estable, el sistema $(\text{N-V})^-$ puede ser tratado como un sistema de seis electrones con dos órbitas desocupadas (es decir, hoyos) en el cual el estado base y primer estado excitado son tripletes, ambos varias veces degenerados en energía.

El estado base y el ópticamente estimulado primer estado excitado indicados como ^3A y ^3E respectivamente son ambos tripletes y su separación en energía es de 1.945 eV que corresponde a la línea de fonón cero de 637 nm, esto se muestra en la figura 2.6. Ambos tienen degeneración igual a tres debido a los subniveles de espín con número cuántico electrónico de espín $m_s = 0$ y $m_s = \pm 1$. También hay un estado meta-estable ^1A con un valor energético intermedio que es un singulete.

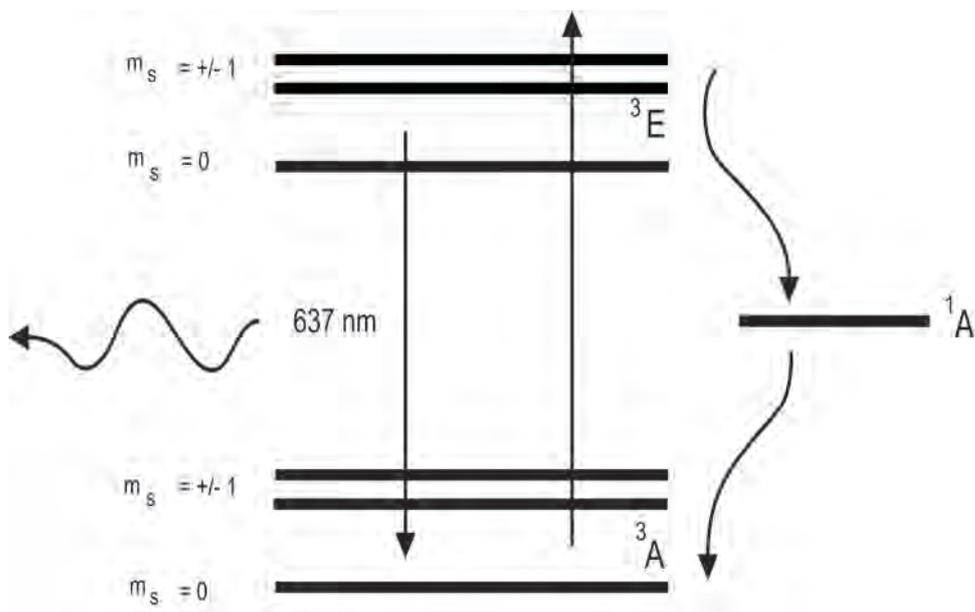


Figura 2.6: Diagrama simplificado de los niveles electrónicos del centro (N-V)⁻. El estado base ³A y excitado ³E son ambos tripletes, su separación en energía es 1.945 eV (637 nm), ambos muestran degeneración energética debido a subniveles de espín con número cuántico $m_s = 0$ y $m_s = \pm 1$. El nivel energético intermedio ¹A es un singlete.

Resultados experimentales

3.1. Material

Para nuestros experimentos elegimos nanodiamantes con un tamaño promedio de 4–6 nm. Este material fue adquirido con recursos del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora y comprado a Plasmachem GmbH. (Berlin). Una imagen de microscopia electrónica de transmisión de los nanodiamantes se muestra en la figura 3.1. Según el proveedor el material tiene una pureza mayor al 87%, con un contenido de cenizas menor al 6%. El contenido de impurezas y sus porcentajes se muestran en el cuadro 3.1.

3.2. Espectroscopia electrónica de rayos X (XPS)

XPS es una técnica que se usa en los campos del desarrollo, fabricación e investigación. Con ella se puede obtener la composición química de varias superficies materiales de hasta 1 nm de profundidad. Es posible encontrar si este material está oxidado superficialmente, si contiene hierro, ó carbono, etc. El objetivo principal es obtener los porcentajes atómicos de cada uno de los componentes. En orden de entender este proceso recordemos tres puntos

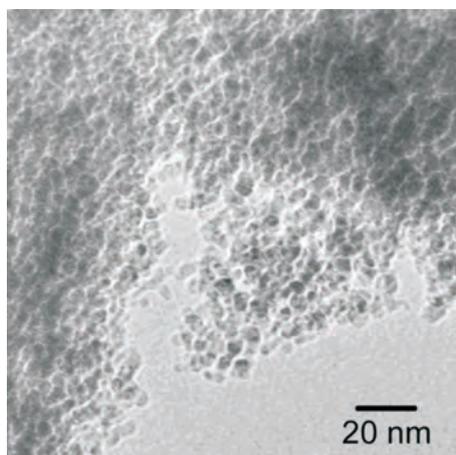


Figura 3.1: Imagen de los nanodiamantes utilizados en el desarrollo experimental de esta tesis. La imagen fue proporcionada por el proveedor, la cual fue tomada con un microscopio electrónico de transmisión.

Impureza	Porcentaje de impureza
Fe	menor a 1.2 %
Ca	menor a 2 %
Zn	menor a 2 %
Cr	menor a 2 %
Ni	menor a 2 %
Cu	menor a 2 %
Mn	menor a 2 %

Cuadro 3.1: Reporte de impurezas en la muestra de nanodiamantes otorgado por el proveedor.

importantes:

- La materia esta hecha de átomos
- Los átomos están hechos de un núcleo y varios electrones
- Estos electrones orbitan alrededor del núcleo en órbitas definidas

Lo importante es atrapar a los electrones con el objetivo de encontrar cual es el átomo al que pertenecen. Para ser capaces de liberar a los electrones de las fuerzas de atracción del núcleo se les excita por medio de un bombardeo de rayos X. Este tipo de luz ó radiación les proporciona a los electrones suficiente energía para separarlos del núcleo. Una vez que los electrones están libres del núcleo algunos de ellos viajan a través de la materia hasta alcanzar la superficie. Los electrones que tengan suficiente energía en este punto pueden dejar la superficie material hacia el vacío. Una vez que se encuentran en el vacío, pueden ser recolectados por un analizador de electrones que los clasifica de acuerdo a su energía cinética (para un entendimiento más avanzado de XPS consulte las referencias [43, 44]).

El experimento de XPS se llevo a cabo en un espectrómetro de fotoelectrones PHI 5100 Perking-Elmer con fuente de excitación de Mg propiedad del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora (figura 3.2). La presión base es de aproximadamente 1×10^{-9} torr y el rango de escaneo esta entre 0 - 1250 eV. Al equipo se le pueden colocar tanto muestras en polvo como sólidas en porta muestras de acero inoxidable (figura 3.3). El equipo tiene además un cañon de iones de argón que se utiliza para erosionar las superficies de muestras sólidas con el objetivo de eliminar capas de cualquier tipo de contaminantes que pudieran contener las muestras. La cámara principal tiene una especie de carrusel que puede soportar hasta ocho muestras a la vez pero las corridas solo se pueden realizar de una muestra por experimento.

Este equipo no puede analizar muestra liquidas y debido a que los nanodiamantes están en una suspensión de agua destilada se tuvo que secar una pequeña muestra primero a una

temperatura de 40 °C durante 3 horas y posteriormente en un horno a una temperatura de 100 °C durante una hora para eliminar la mayor cantidad posible de humedad que pudiera afectar el proceso de medición de XPS. Finalmente la muestra se molió en un mortero y se utilizaron 0.5 gramos de dicha muestra para hacer las corridas experimentales. Una vez listo el material este se coloca en el portamuestra y esta a su vez se coloca en la llamada “precámara” donde se genera un vacío hasta una presión de 1×10^{-5} torr, esto es necesario por que la cámara principal alcanza una presión de hasta 1×10^{-9} torr así que se tiene que tratar de igualar. A demás el vacío que se genera en la precámara ayuda a evaporar y eliminar posibles materiales que hayan contaminado la muestra. La corrida se hizo en el rango de 0 a 1100 eV. Los resultados se muestran en la figura 3.4, estos están de acuerdo con lo reportado por el proveedor. El pico de carbono asociado al electrón del nivel 1s se ubica en 284.75 que es exactamente la posición del carbono elemental. Sin embargo en el análisis de alta resolución (figura 3.5) se observa que este pico no es simétrico lo que indica que el carbono también esta presente en otras formas o enlazado a otros elementos.

3.3. Espectro de absorción

El espectro de absorción se obtuvo utilizando un equipo Lambda Spectrometer 19 uv - visible - infrarrojo propiedad del laboratorio de estado sólido del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora (figura 3.6). Este equipo es usado para analizar diversos componentes y encontrar el valor de absorción y longitud de onda máxima en la región uv - vis - inf. Funciona con dos lamparas, una de ellas de deuterio para la región ultravioleta y otra lampara de tungsteno para la región visible/infrarroja. El rango de detección es de 185 - 3200 nm, con una rapidez de escaneo de 0.3 a 1200 nm por minuto. Su precisión es de $\pm 0,15$ nm para la región ultravioleta/visible y $\pm 0,6$ nm para infrarrojo. Este equipo puede analizar solamente muestras liquidas ó sólidas, funciona comparando la absorción de la muestra a analizar con respecto a la muestra de referencia que generalmente es aire.

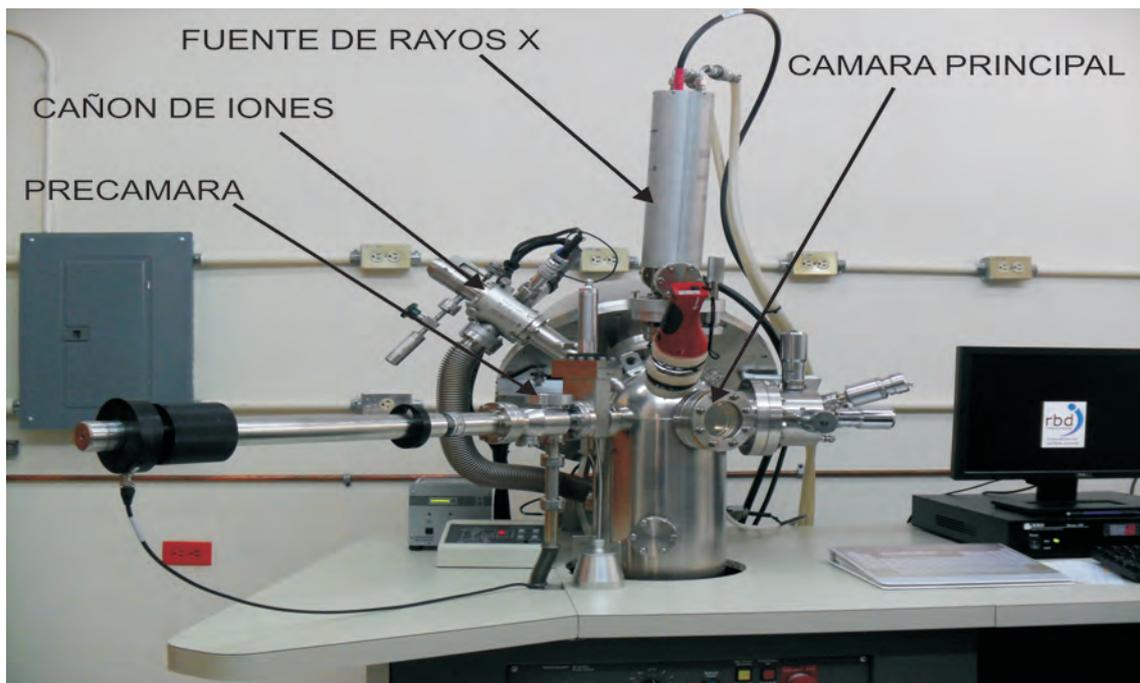


Figura 3.2: Equipo de XPS del laboratorio de espectroscopia electrónica de rayos X del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora.

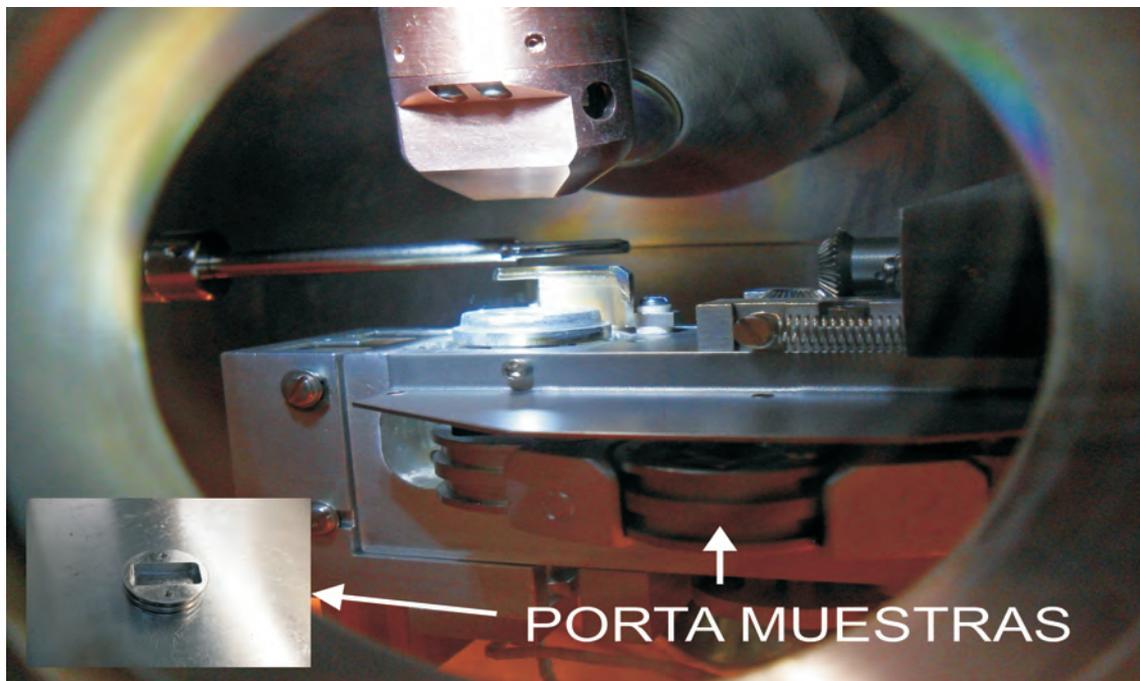


Figura 3.3: Cámara principal del equipo de XPS.

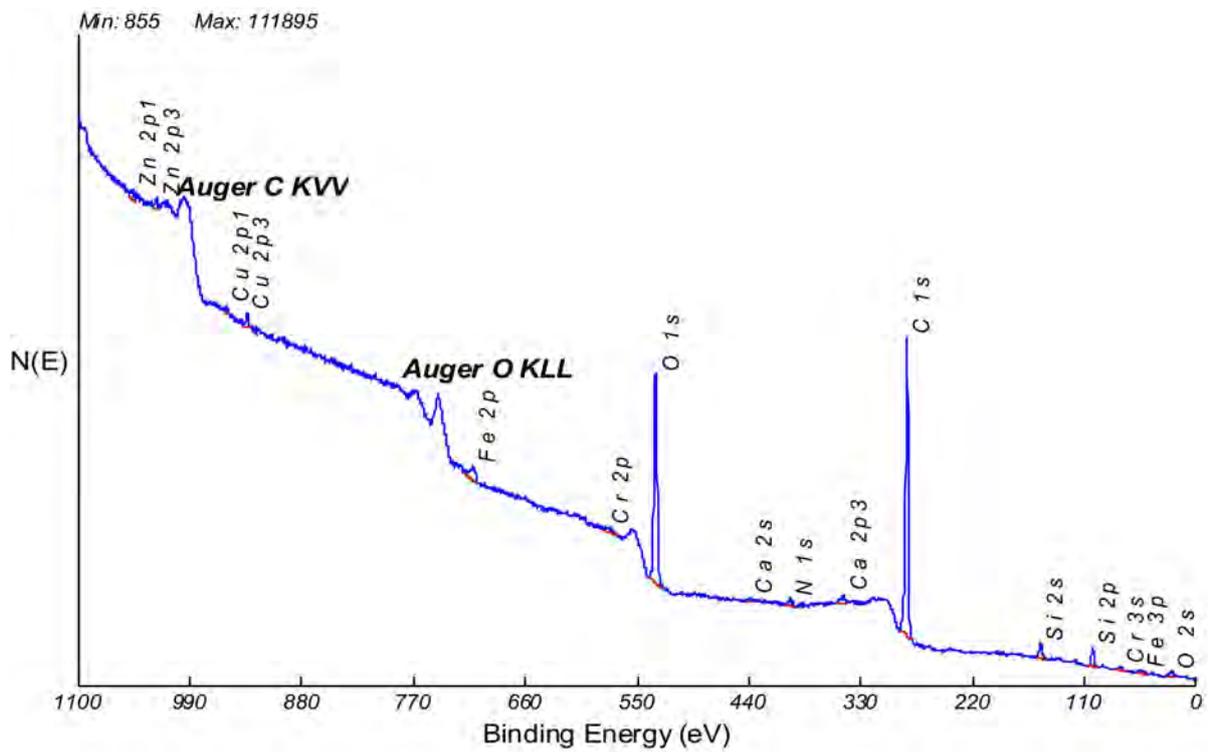


Figura 3.4: Espectroscopía electrónica de rayos X de la muestra de nanodiamantes con un tamaño promedio de 4–6 nm.

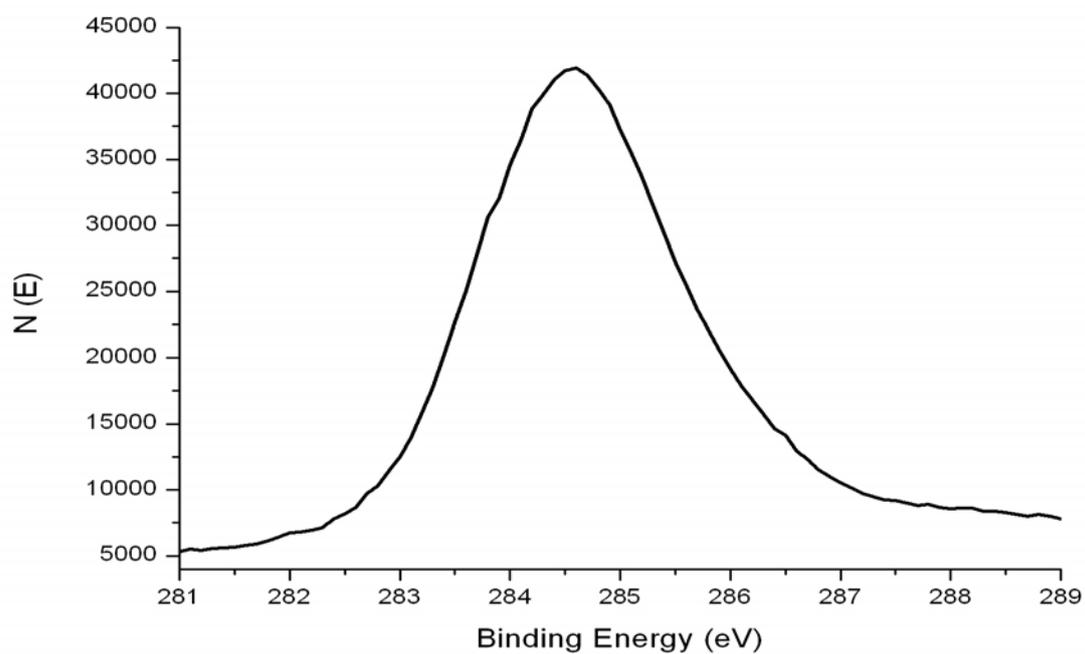


Figura 3.5: Análisis de alta resolución del pico de carbono asociado al nivel 1s.



Figura 3.6: Equipo de absorción Lambda Spectrometer 19.



Figura 3.7: Cámara principal de Lambda Spectrometer 19.

La medición se hizo en longitudes de onda desde los 200 nm hasta 1000 nm. Debido a que la muestra es muy oscura, esta tuvo que ser diluida en agua destilada varias veces para que el medidor no se saturara y pudiera dar una buena lectura. La figura 3.8 muestra los resultados, puede verse que estos nanodiamantes solo presentan una banda de absorción en todo este rango del espectro electromagnético la cual esta ubicada entre los 200 y 300 nm con su máximo aproximadamente en los 235 nm. Debido a que el diamante es simplemente una forma diferente en la que se acomodan los átomos de carbono su compatibilidad con el tejido humano es muy alta, es decir, no son tóxicos y no hay ningún problema si se requieren usar estos nanodiamantes como bio - etiquetas en tejido humano. Pero debido a que longitudes de onda corta tienen alta energía, el uso de luz ultravioleta de 235 nm en experimentos *in vivo* puede resultar en foto - toxicidad. Además de lo anterior la profundidad de la penetración en tejido de la luz de longitud de onda corta es algo limitada ya que el tejido presenta alta dispersión cuando se trata de luz ultravioleta [45].

Para resolver el problema de tener que excitar a los fluoróforos con luz ultravioleta sin dañar al tejido vivo, se debe de utilizar la técnica llamada "microscopia por excitación

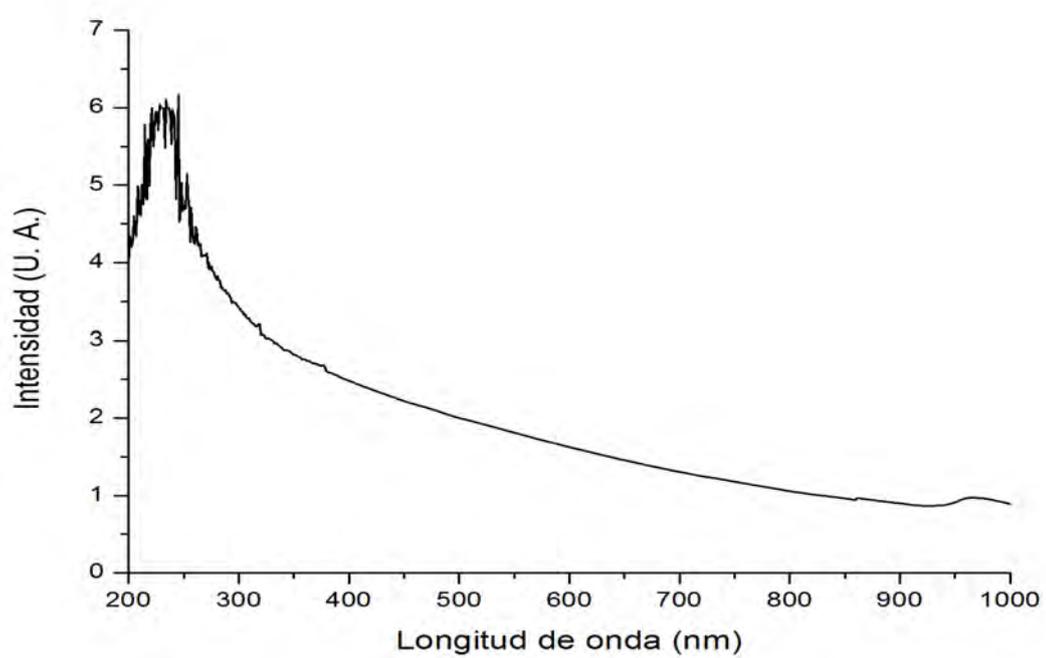


Figura 3.8: Espectro de absorción de nanodiamantes con un tamaño promedio de 4-6 nm.

con dos fotones”. Esta técnica se basa en la absorción simultánea de dos fotones en un solo evento. Ya que la energía de un fotón es inversamente proporcional a su longitud de onda, los dos fotones deben ser aproximadamente el doble de la longitud de onda requerida para la excitación con un solo fotón. Por ejemplo, un fluoróforo que normalmente absorbe luz ultravioleta de 350 nm puede ser también excitado por dos fotones rojos de 700 nm si estos alcanzan al fluoróforo al mismo tiempo, donde la expresión “al mismo tiempo” significa dentro de aproximadamente 10^{-18} seg [46]. Otra técnica muy parecida es la llamada excitación con tres fotones [47] en la cual tres fotones deben alcanzar al fluoróforo al mismo tiempo. Esto hace a la técnica atractiva para algunos experimentos. Por ejemplo, tres fotones de un láser infrarrojo de 1050 nm pueden excitar a un fluoróforo que absorbe luz ultravioleta de 350 nm y simultáneamente dos fotones pueden excitar a un fluoróforo que absorbe luz verde de 525 nm.

Nuestros resultados sugieren que los nanodiamantes de 5 nm debido a que absorben luz entre los 200 y 300 nm pueden ser utilizados como fluoróforos si se utiliza excitación con dos fotones de longitud de onda entre los 400 y 600 nm ó bien excitación con tres fotones que tengan longitud de onda entre los 600 y 900 nm.

3.4. Fotoluminiscencia de nanodiamantes

La figura 3.9 muestra el espectro de fotoluminiscencia obtenido al excitar una muestra de nanodiamantes con un láser verde de 532 nm y recolectar la emisión con un monocromador Triax 320 propiedad del Departamento de Física de la Universidad de Sonora. Sin embargo estos resultados no están de acuerdo con lo reportado en la literatura.

Por otra parte la figura 3.10 muestra el espectro de fotoluminiscencia de nanodiamantes de 5 nm obtenido por Juan Ramirez [48]. Este espectro se obtuvo utilizando un microscopio confocal al excitar una muestra de nanodiamantes en solución de agua destilada al 4% con un láser de longitud de onda de 488 nm a una temperatura ambiente de 25 °C. Puede

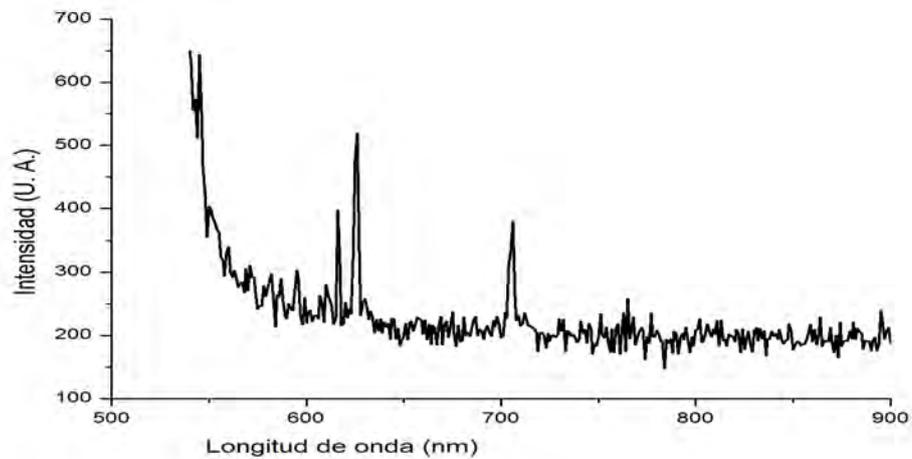


Figura 3.9: Espectro de fotoluminiscencia obtenido al excitar una muestra de nanodiamantes de 5 nm con un láser verde de 532 nm y recolectar la emisión con un monocromador Triax 320.

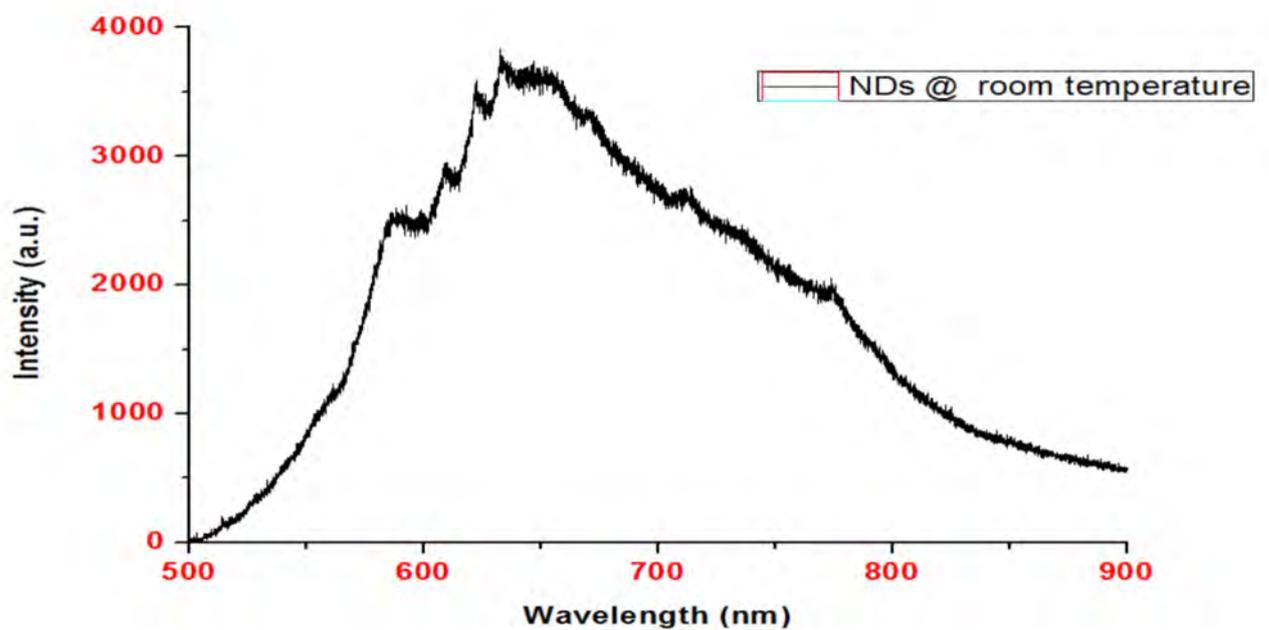


Figura 3.10: Espectro de fotoluminiscencia de nanodiamantes de 5 nm obtenido por Juan Ramirez [48].

observarse que están presentes las vacancias $(N-V)^0$ y $(N-V)^-$ en los 576 nm y 637 nm respectivamente. Estas vacancias también llamadas centros de color son de gran interés en las técnicas de bioimágenes debido a que presentan emisión en la “ventana” del espectro visible.

3.5. Termoluminiscencia de nanodiamantes

Como su nombre lo indica termoluminiscencia implica generar ó estimular luminiscencia termicamente, es decir, se trata de emisión de energía previamente absorbida como resultado de un estímulo térmico.

Los espectros de termoluminiscencia (TL) fueron obtenidos con un sistema Riso TL/OSL propiedad del laboratorio de estado sólido del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora (figura 3.11). El equipo Riso permite medir tanto termoluminiscencia como luminiscencia ópticamente estimulada. La cámara de muestras es una especie de carrusel donde se pueden colocar hasta 48 muestras a la vez (figura 3.12). Este equipo solo puede hacer mediciones con muestras sólidas ó en polvo, las cuales pueden ser calentadas hasta 700°C, irradiadas por una fuente de radiación beta ó estimuladas ópticamente usando varias fuentes de luz. Estas fuentes incluyen luz infrarroja en los 875 nm, luz azul en los 470 nm y otra fuente de luz que incluye luz ultravioleta con un rango elegible de longitudes de onda desde los 180 nm hasta 900 nm. El equipo Riso utiliza un radioisótopo de estroncio 90 como fuente de radiación beta a una razón de 3.9527 Gy/min.

Los espectros de las corridas se obtuvieron a partir de una temperatura de 25 hasta 400 °C. Para realizar las mediciones de TL las muestras de nanodiamantes primero se blanquearon con una excitación térmica desde los 25 hasta los 400 °C para posteriormente irradiar la muestra con diferentes dosis en aumento de radiación beta. El primer espectro de TL se obtuvo sin agregarle ningún tipo de tratamiento a la muestra de nanodiamantes,

solo se hizo un blanqueo térmico inicial para después hacer las corridas de TL a diferentes dosis de radiación beta (figura 3.13). En la figura 3.14 se gráfico el área bajo la curva en función de la dosis de radiación absorbida por la muestra de nanodiamantes. Para saber que tan lineal esta relación se le ajusto una línea recta a estos datos. Este ajuste arrojó un valor de R cuadrada de 0.9808 (figura 3.15). Este resultado ser un buen ajuste lineal y nos sugiere que los nanodiamantes son un buen material que puede ser utilizado como nanodosímetros para el caso de radiación beta y así para medir la cantidad de radiación que absorben las células.

En un segundo experimento se tomo la primer muestra de nanodiamantes y se irradio con rayos gamma hasta una dosis de 100 kGy. La radiación gamma se obtuvo en el búnker del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora. Posteriormente se realizaron las mismas pruebas de termoluminiscencia detalladas anteriormente, la figura 3.17 muestra estos resultados. Puede observarse que los espectros de TL obtenidos después de irradiar la muestra con rayos gamma son diferentes a los obtenidos antes de dicho tratamiento. Estos resultados nos sugieren que esto se debe a la creación de centros (N-V) que produce la combinación de radiación gamma y beta. En las figuras 3.18 y 3.19 se muestran los resultados del área bajo la curva y ajuste lineal respectivamente. En este caso el ajuste lineal arrojó un valor de R cuadrada de 0.9804. Se aprecia en los puntos de dispersión que la tendencia no es lineal para valores grandes de radiación absorbida pero si se puede tener una buena aproximación lineal para valores de hasta 200 Gy (figura 3.19). Finalmente el conjunto de figuras 3.21, 3.22 y 3.23 muestran el mismo tipo de resultados que acabamos de comentar, pero para el caso donde la muestra de nanodiamantes se irradiaron hasta una dosis acumulativa de 300 kGy con rayos gamma. El mayor tamaño de las curvas de TL en este caso (figura 3.21) respecto a las curvas de TL de la figura 3.17 nos sugiere que este tratamiento aumento el número de centros (N-V) respecto al primer tratamiento donde solo se dio una dosis de rayos gamma de 100 kGy. El ajuste lineal para esta ultima muestra arrojó un valor para R cuadrada de 0.9626.

La figura 3.25 muestra los espectros de TL a una dosis de 474.324 Gy para los casos en



Figura 3.11: Equipo Riso TL/OSL para realizar experimentos de termoluminiscencia.

que no se les irradia con gamma a los nanodiamantes (curva de color negro), cuando se les irradia con una dosis de 100 kGy con gamma (curva color rojo) y finalmente cuando se les dio una dosis acumulativa de 300 kGy con gamma (curva azul). Podemos apreciar de estas curvas que dar un tratamiento previo con radiación gamma aumenta significativamente la intensidad de las curvas de TL, además de que se observa un cambio en la forma del espectro lo cual nos sugiere que este tratamiento provoca la generación de centros (N–V), esto podría ser útil para darle a los nanodiamantes mayor sensibilidad en técnicas de dosimetría. Por otra parte en la figura 3.26 se graficaron las áreas bajo las curvas en función de la dosis para los tres casos anteriores, encontrando que la relación es aproximadamente lineal hasta una dosis de 200 Gy.

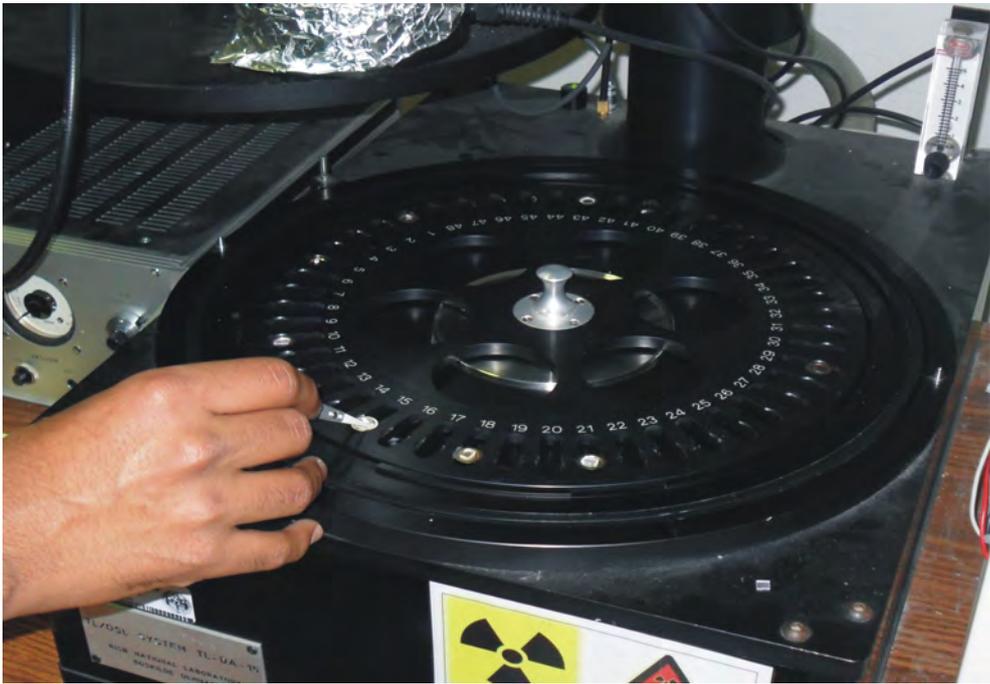


Figura 3.12: Camara principal del equipo Riso.

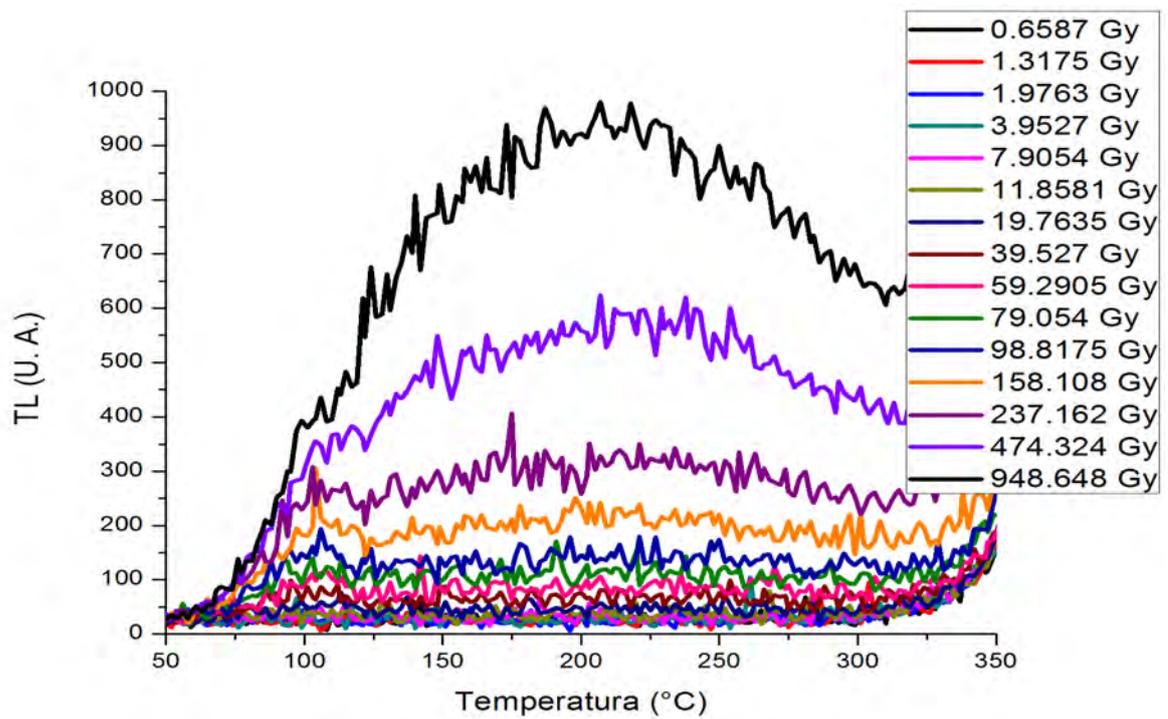


Figura 3.13: Espectros de termoluminiscencia de la muestra de nanodiamantes a la cual no se le irradia con rayos gamma.

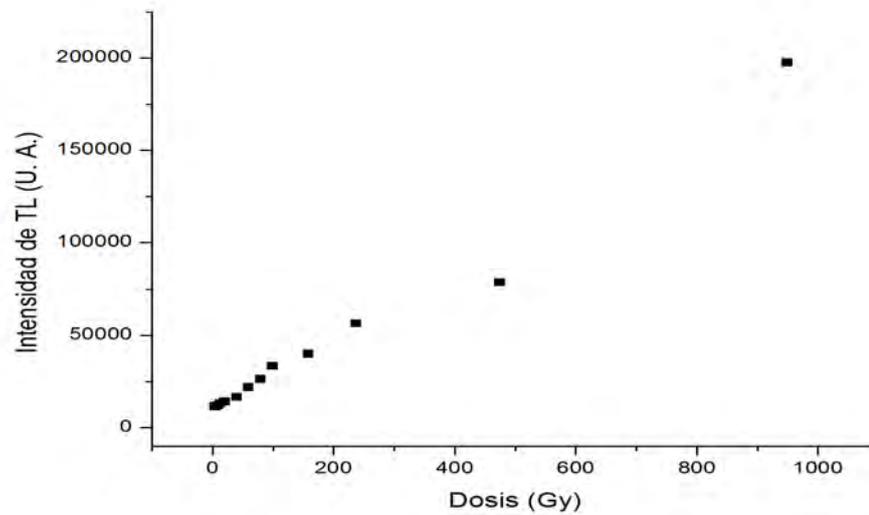


Figura 3.14: Gráfica del área bajo las curvas de TL en función de la dosis absorbida de radiación beta para el caso de la muestra de nanodiamantes que no se les sometió a radiación gamma.

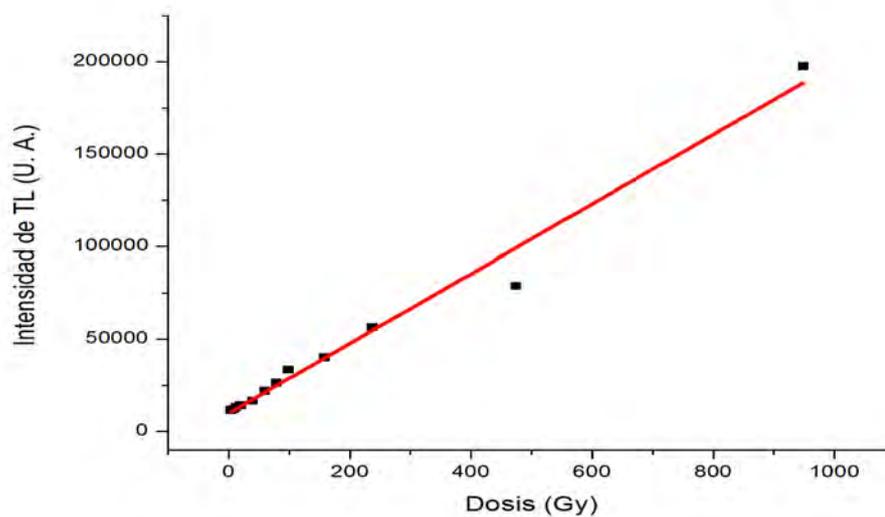


Figura 3.15: Ajuste lineal de la dispersión del área bajo la curva en función de la dosis absorbida de radiación beta para el caso de la muestra de nanodiamantes que no se le irradia con rayos gamma. El ajuste arrojó un valor de R cuadrada de 0.9808.

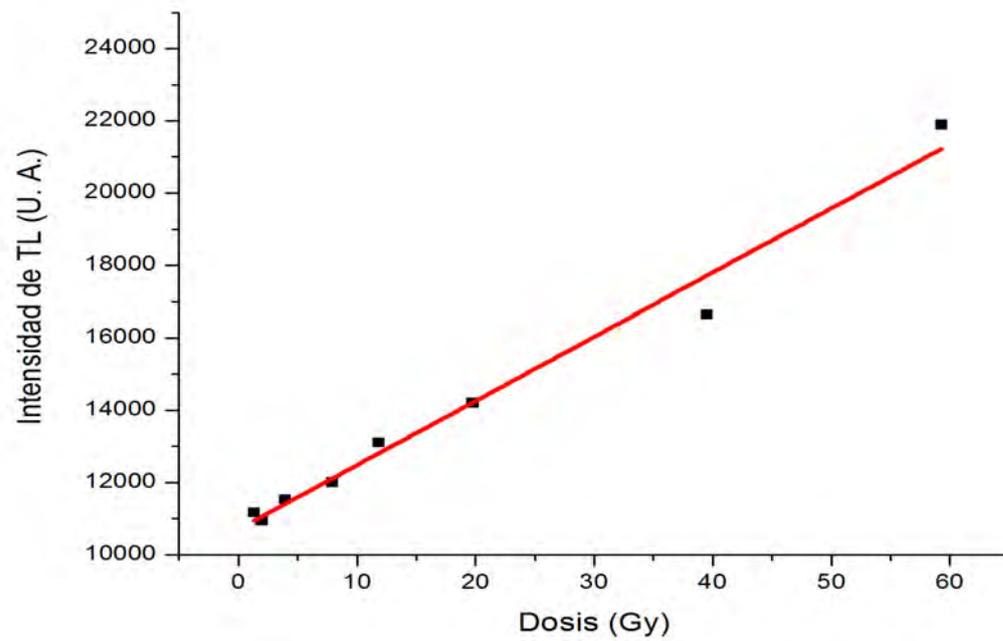


Figura 3.16: Ajuste lineal de la dispersión del área bajo la curva en función de la dosis absorbida de radiación beta hasta una dosis de 59.29 Gy para el caso de la muestra de nanodiamantes que no se le irradia con radiación gamma. El ajuste arrojó un valor de R cuadrada de 0.9786.

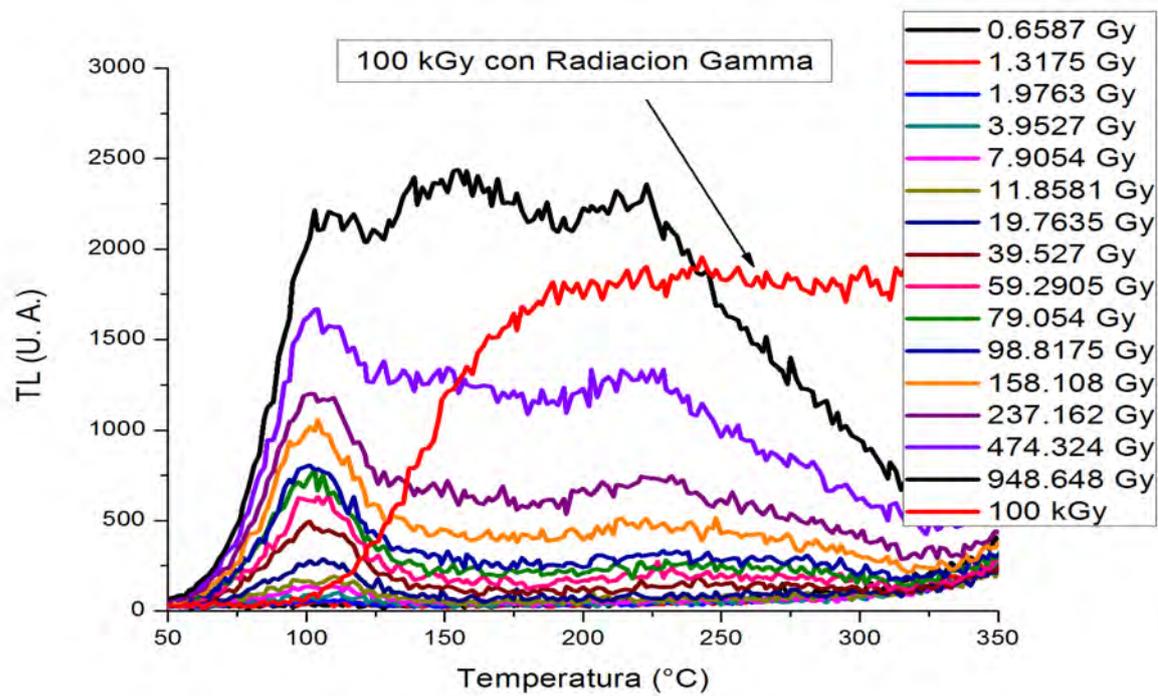


Figura 3.17: Espectros de termoluminiscencia de la muestra de nanodiamantes después de que se le expuso a una dosis de 100 kGy de rayos gamma.

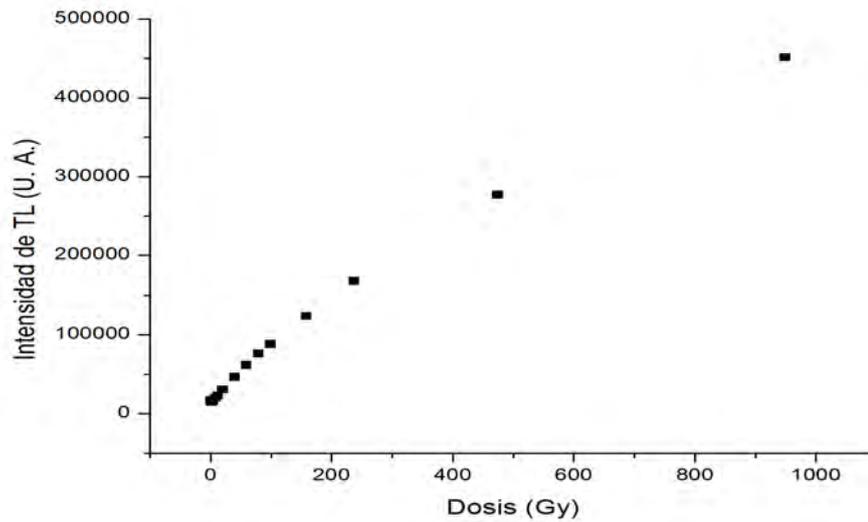


Figura 3.18: Espectro de dispersión donde se grafico el área bajo las curvas de TL en función de la dosis de radiación beta absorbida para el caso de la muestra de nanodiamantes después de que se le expuso a una dosis de 100 kGy de rayos gamma.

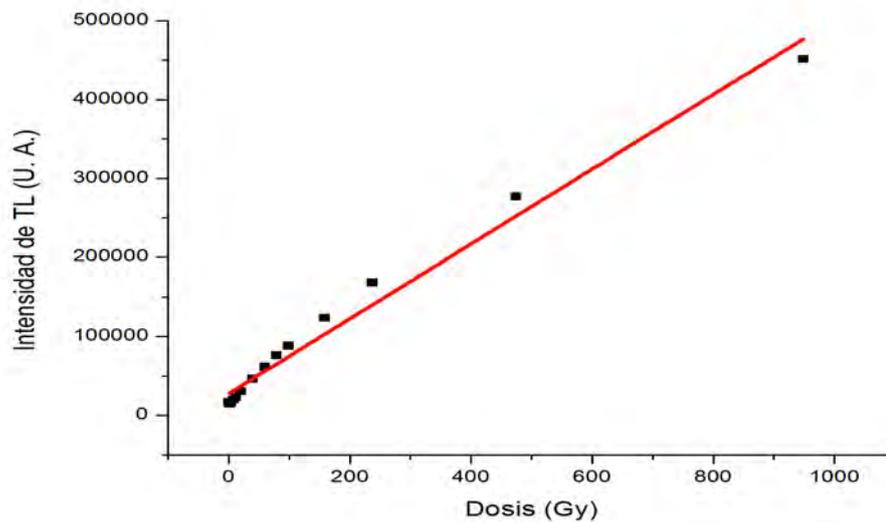


Figura 3.19: Ajuste lineal del espectro de dispersión para el caso en que a los nanodiamantes se les expuso a una dosis de 100 kGy de rayos gamma. El ajuste arrojó un valor de R cuadrada de 0.9804.

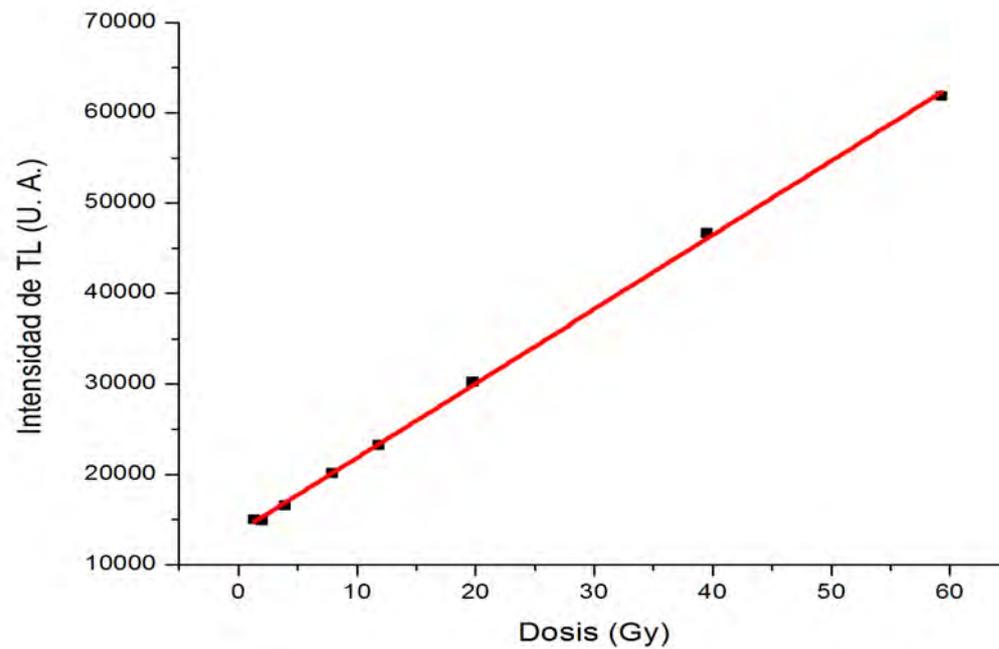


Figura 3.20: Ajuste lineal del espectro de dispersión hasta una dosis de radiación beta de 59.29 Gy para el caso en que a los nanodiamantes se les expuso a una dosis de 100 kGy de rayos gamma. El ajuste arrojó un valor de R cuadrada de 0.9994.

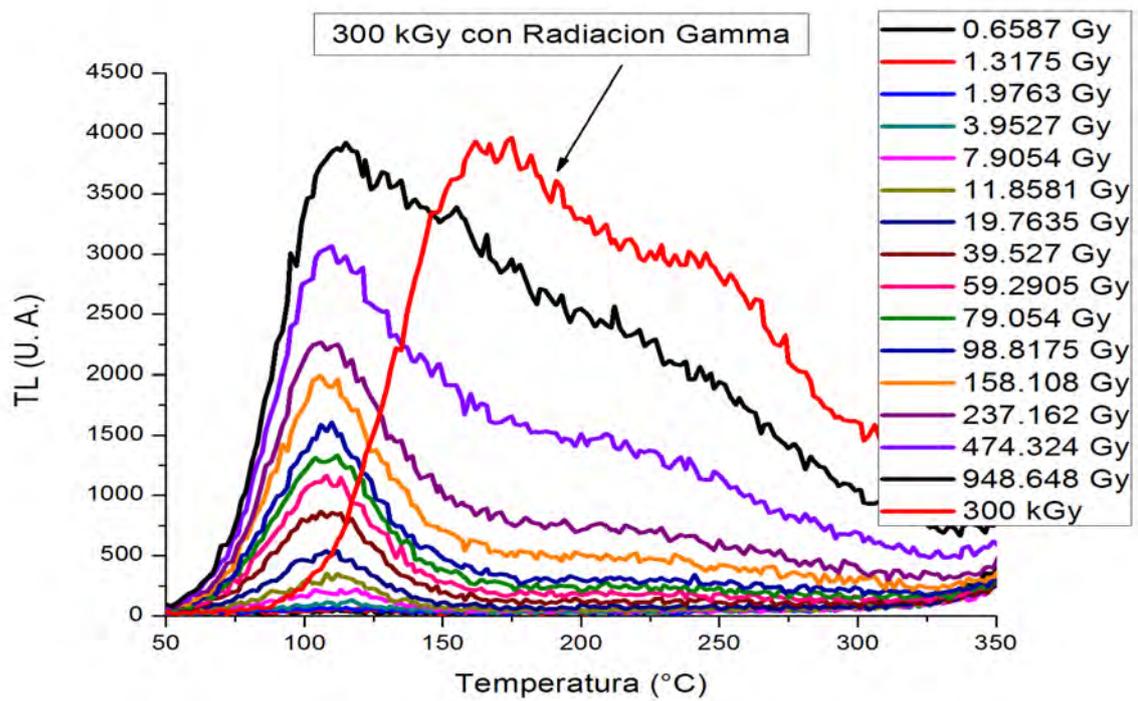


Figura 3.21: Espectro de termoluminiscencia de los nanodiamantes después de que se les expuso hasta a una dosis acumulada de 300 kGy de radiación gamma.

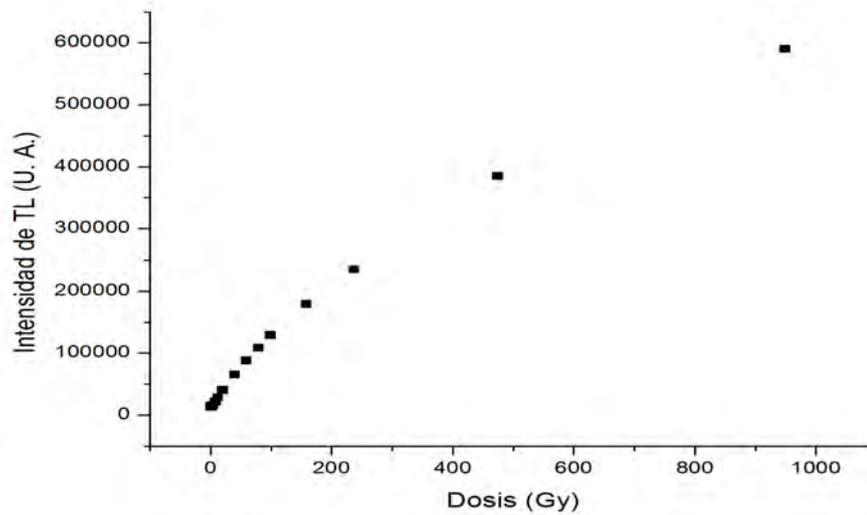


Figura 3.22: Espectro de dispersión de las áreas bajo las curvas de TL en función de la dosis de radiación beta absorbida para el caso en que la muestra de nanodiamantes fue irradiada hasta una dosis acumulativa de 300 kGy de rayos gamma.

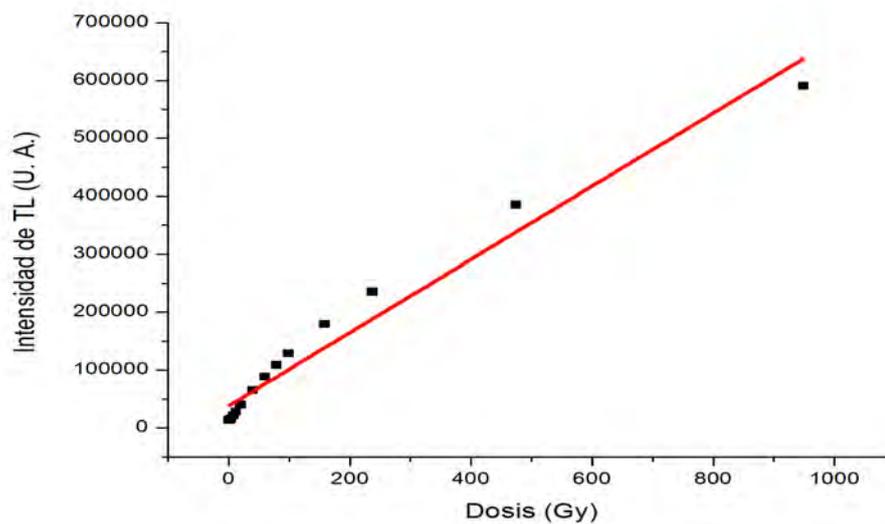


Figura 3.23: Ajuste lineal del espectro de dispersión para el caso en que los nanodiamantes se les expuso hasta una dosis acumulativa de 300 kGy de radiación gamma. El ajuste arrojó un valor para R cuadrada de 0.9626.

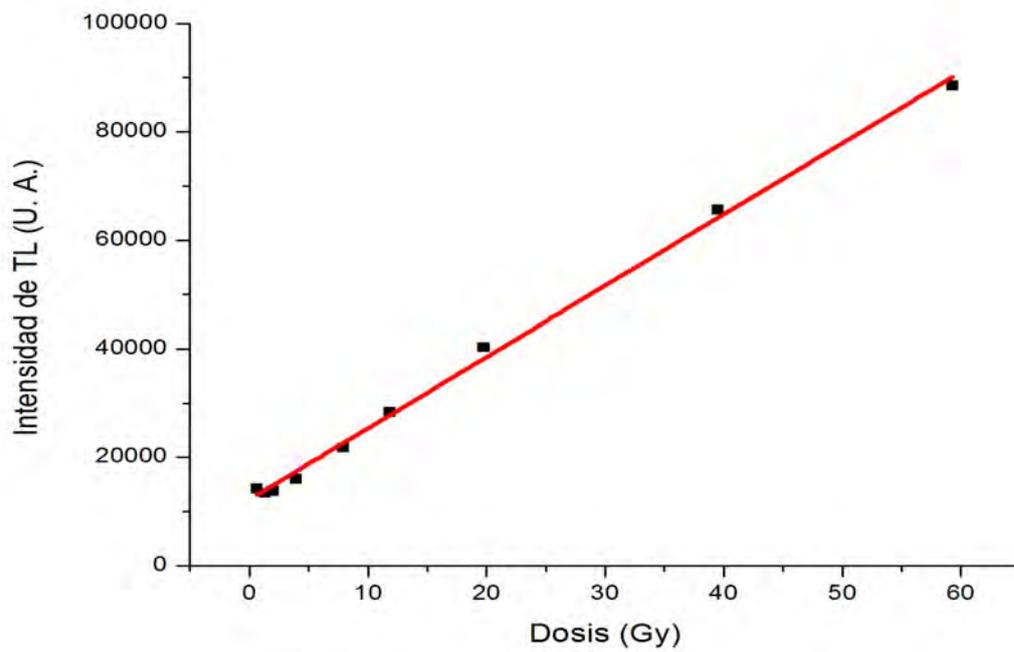


Figura 3.24: Ajuste lineal del espectro de dispersión hasta una dosis de radiación beta de 59.29 Gy para el caso en que a los nanodiamantes se les expuso hasta una dosis acumulativa de radiación gamma de 300 kGy. El ajuste arrojó un valor de R cuadrada de 0.9970.

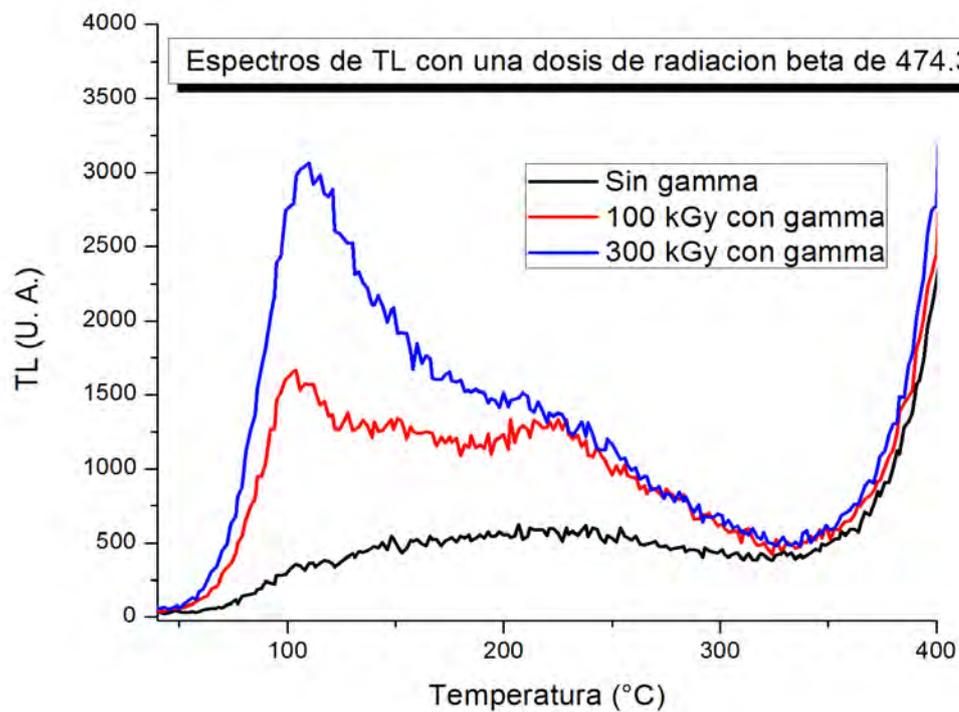


Figura 3.25: Espectros de termoluminiscencia a una dosis de 474.324 Gy de radiación beta para los casos en que no se les irradia con gamma a los nanodiamantes (curva de color negro), cuando se les irradia con una dosis de 100 kGy con gamma (curva color rojo) y para el caso en el que se les dio una dosis de 300 kGy con gamma (curva azul).

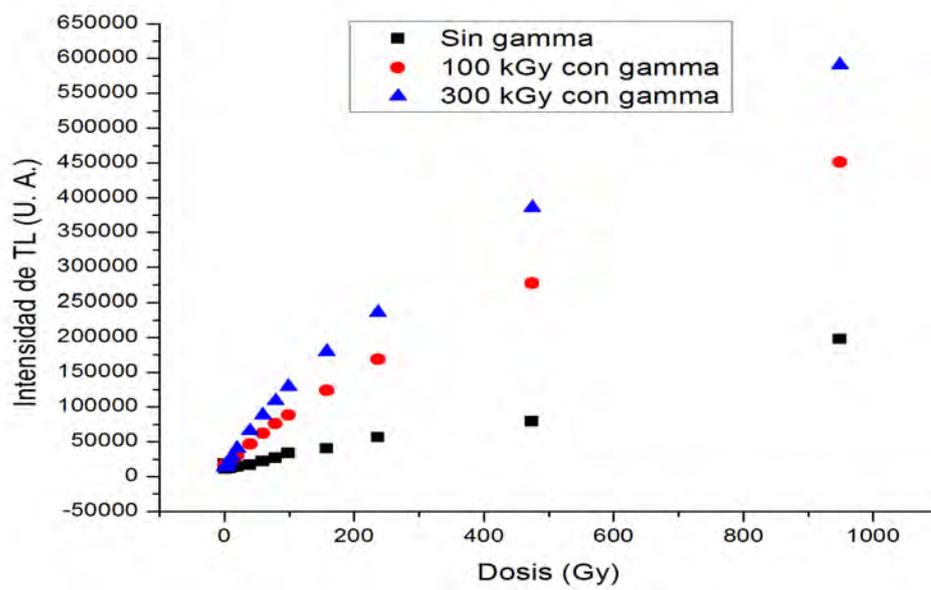


Figura 3.26: Áreas bajo las curvas en función de la dosis de radiación beta para los casos en que no se les irradia con gamma a los nanodiamantes (cuadros de color negro), cuando se les irradia con una dosis de 100 kGy con gamma (círculos color rojo) y para el caso en el que se les dio una dosis acumulativa de 300 kGy con gamma (triángulos de color azul), encontrando que la relación es aproximadamente lineal hasta una dosis de 200 Gy.

Conclusiones

1. La creación de nanodiamantes por medio de detonación deja algunos materiales residuales por tanto aunque este tipo de nanodiamantes son fáciles de conseguir no deben ser usados en experimentos biológicos sin antes darles un tratamiento para limpiarles las impurezas. Además en la literatura se reportan solo unos cuantos experimentos de toxicidad en algunos tipos diferentes de células humanas por lo que todavía no se tiene la completa seguridad de que los nanodiamantes sean 100 % compatibles con el cuerpo humano, debido a esto debe realizarse más investigación sobre la toxicidad de este tipo de nanodiamantes cuando se utilizan en células vivas.
2. Estos nanodiamantes presentan una banda de absorción entre los 200 y 300 nm por lo que absorben en el rango del ultravioleta pero debido a que las células presentan fototoxicidad en este rango del espectro electromagnético se recomienda utilizar otras técnicas para lograr bioimágenes de contraste óptico como las técnicas de excitación con dos o tres fotones.
3. La creación de nanodiamantes provoca defectos ó centros (N-V) en su interior. Nuestros resultados sugieren que se pueden aumentar la cantidad de estos centros utilizando radiación gamma lo cual se traduce en una mayor sensibilidad del material en los experimentos de termoluminiscencia. Por lo tanto, dar un tratamiento previo a los nanodiamantes con radiación gamma ayudaría a mejorar las técnicas de bioimágenes gracias a que estos centros (N-V) emiten eficientemente en la “ventana” del espectro visible.

4. El cambio en la forma de las curvas de TL después de aplicar una dosis de radiación gamma es evidencia de la generación de defectos (N-V) y seguramente de otros tipos diferentes de defectos en el interior de los nanodiamantes. Sin embargo con los resultados experimentales actuales no tenemos evidencia concluyente de cuales son estos tipos de defectos que se generan.

5. El ajuste de una línea recta a los datos de dispersión de los gráficos del área bajo las curvas de TL en función de la cantidad de radiación absorbida es bastante bueno hasta una dosis de 200 Gy, por lo tanto estos resultados sugieren que los nanodiamantes son buenos candidatos para usarlos en técnicas de nanodosimetría.

Bibliografía

- [1] K. Lance Kelly, Eduardo Coronado, Lin Lin Zhao, and George C. Schatz, “The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment”, *J. Phys. Chem. B.* 107, 668-677 (2003).
- [2] Iván O. Sosa, Cecilia Noguez, and Rubén G. Barrera, “Optical Properties of Metal Nanoparticles with Arbitrary Shapes”, *J. Phys. Chem. B.* 107, 6269-6275 (2003).
- [3] E. Prodan, P. Nordlander, and N. J. Halas, “Electronic Structure and Optical Properties of Gold Nanoshells”, *Nano Letters.* 3, 1411-1415 (2003).
- [4] Jean-Christophe Charlier and Xavier Blase, “Electronic and transport properties of nanotubes”, *Rev. Mod. Phys.* 79, 677-732 (2007).
- [5] Peter J. F. Harris, Author, Eduardo Hernández, Reviewer, and Boris I. Yakobson, Reviewer, “Carbon Nanotubes and Related Structures: New Materials for the Twenty-First Century”, *American Journal of Physics.* 72, 415 (2004).
- [6] Sanjay Govindjee and Jerome L. Sackman, “On the use of continuum mechanics to estimate the properties of nanotubes”, *Solid State Communications.* 110, 227-230 (1999).
- [7] J. Bernholc, D. Brenner, M. Buongiorno Nardelli, V. Meunier, and C. Roland, “Mechanical and Electrical Properties of Nanotubes”, *Annual Review of Materials Research.* 32, 347-375 (2002).

-
- [8] Vladimir S. Zaitsev, Dmitry S. Filimonov, Igor A. Presnyakov, Richard J. Gambino and Benjamin Chu, "Physical and Chemical Properties of Magnetite and Magnetite-Polymer Nanoparticles and Their Colloidal Dispersions", *Journal of Colloid and Interface Science*. 212, 49-57 (1999).
- [9] V. Ntziachristos, J. Ripoll, L. V. Wang and R. Weissleder, "Looking and listening to light: the evolution of whole-body photonic imaging", *Nat. Biotechnol.* 23, 313-320, (2005).
- [10] K.L. Holmes, L.M. Lantz, "Protein labeling with fluorescent probes", *Methods Cell Biol.* 63, 185-204, (2001).
- [11] K. Konig, "Multiphoton microscopy in life sciences", *J. Microsc.* 200, 83-104 (2000).
- [12] Chi-Cheng Fu, Hsu-Yang Lee, Kowa Chen, Tsong-Shin Lim, Hsiao-Yun Wu, Po-Keng Lin, Pei-Kuen Wei, "Characterization and application of single fluorescent nanodiamonds as cellular biomarkers", *PNAS*. 104, 727-732, (2007).
- [13] Berlman I. B., "Handbook of fluorescence spectra of aromatic molecules", *libro 2^{Ed}*, (1971).
- [14] D. A. Weitz y S. Garoff, "The enhancement of Raman scattering, resonance Raman scattering, and fluorescence from molecules adsorbed on a rough silver surface", *J. Chem. Phys.* 78, 5324, (1983).
- [15] J. R. Rabeau, "Single Nitrogen Vacancy Centers in Chemical Vapor Deposited Diamond Nanocrystals", *Nano Lett.* 7, 3433-3437 (2007).
- [16] Jordan J. Markham, "Interaction of normal modes with electron traps", *Reviews of modern physics*. 31, 956-989, (1959).
- [17] D. B. Fitchen, "zero phonon transitions of color centers in alkali halides", *PHYSICAL REVIEW LETTERS*. 6, 275-277, (1963).

-
- [18] Jonh T. Ritter, “Theory of electron phonon interaction and defect center optical spectra”, *Physical Review*. 185, 1201-1213, (1969).
- [19] A. Kiraz, “Zero-Phonon-Line Emission of Single Molecules for Applications in Quantum Information Processing”, *Photonic Materials, Devices, and Applications*. 5840, 584-591, (2005).
- [20] http://en.wikipedia.org/wiki/Zero-phonon_line_and_phonon_sideband
- [21] http://abg2010g1341.blogspot.com/2010_11_01_archive.html
- [22] <http://es.wikipedia.org/wiki/Carbono>
- [23] Ten K. A. et al. “Application of introduced nano-diamonds for the study of carbon condensation during detonation of condensed explosives”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*. 603, 102-104, (2009).
- [24] N. Roy Greiner et al. “Diamonds in detonation soot”, *Nature*. 333, 440-442, (1988).
- [25] <http://www.mailxmail.com/curso-todo-sobre-diamantes/estructura-cristalina-diamante>
- [26] <http://www.burbuja.info/inmobiliaria/temas-calientes/74633-introduccion-la-ciencia-moderna-del-petroleo-279.html>
- [27] Deborah Kane et al., “Nanotechnology in Australia: Showcase of Early Career Research”, *Ed. Pan Stanford*. (2011).
- [28] Charles P. Poole, Introduction to Nanotechnology, *Libro, Wiley and Sons*. (2003).
- [29] Shenderova O.A., Zhirnov V.V., Brenner D.W., *Carbon Nanostructures, Critical Reviews in Solid State and Materials Science*. 27, 227-356 (2002).
- [30] Valerii Yu. Dolmatov, “Detonation synthesis ultradispersed diamonds: properties and applications”, *Russ. Chem. Rev.* 70, 607-626, (2001).

- [31] Galimov E. et al., "Experimental Corroboration of the Synthesis of Diamond in the Cavitation Process", *Doklady Physics*. 49, 150-153, (2004).
- [32] Shengliang Hu, Jing Sun, Xiwen Du, Fei Tian and Lei Jiang, "The formation of multiply twinning structure and photoluminescence of well-dispersed NDs produced by pulsed-laser irradiation", *Diamond and Related Materials*. 17, 142, (2008).
- [33] D. Mitev et al., "Surface peculiarities of detonation nanodiamonds in dependence of fabrication and purification methods", *Diamond and Related Materials*. 16, 776-780, (2007).
- [34] Jean Paul B. et al., "High yield fabrication of fluorescent nanodiamonds", *Nanotechnology*. 20, 1-11,(2009).
- [35] Jiang N. et al., "Growth and structural analysis of nano-diamond films deposited on Si substrates pretreated by various methods", *Journal of Crystal Growth*. 218, 265-271, (2000).
- [36] Azevedo A. F., "Wettability and corrosion tests of diamond films grown on Ti₆Al₄V alloy", *Surf. Coatings Tech.* 194, 271-275, (2005).
- [37] Shu-Jung Yu, Ming-Wei Kang, Huan-Cheng Chang, Kuan-Ming Chen, and Yueh-Chung Yu, "Bright Fluorescent Nanodiamonds: No Photobleaching and Low Cytotoxicity", *J. AM. CHEM. SOC.*, 127, 17604-17605, (2005).
- [38] Amanda M. Schrand, Houjin Huang y Cataleya Carlson, "Are Diamond Nanoparticles Cytotoxic?", *J. Phys. Chem. B*. 111 No. 1, (2007).
- [39] Holt K. B., "Diamond at the nanoscale: Applications of diamond nanoparticles from cellular biomarkers to quantum computing", *Phil. Trans. R. Soc. A.* 365, 2845-2861, (2007).
- [40] Guan B. et al. "An easy method for attaching ND particles to amine glass-like carbon", *Carbon*. 44, 858-860, (2006).

-
- [41] Yang W. et al., "DNA-modified nanocrystalline diamond thin films as stable, biologically active substrates", *Nature Mater.* 1, 253-257, (2002).
- [42] Shengfu J. et al., "FTIR study of the adsorption of water on ultradispersed diamond powder surface", *Appl. Surf. Sci.* 133, 231, (1998).
- [43] <http://www.lasurface.com/accueil/index.php>
- [44] <http://www.uksaf.org/data.html>
- [45] G. Choy, P. Choyke, S.K. Libutti, "Current advances in molecular imaging: noninvasive in vivo bioluminescent and fluorescent optical imaging in cancer research", *Mol. Imaging.* 2, 303-312, (2003).
- [46] David W. Piston, "Imaging living cells and tissues by two-photon excitation microscopy", *trends in CELL BIOLOGY.* 9, 66-69, (1999).
- [47] Wokosin D. L. et al., *Bioimaging* 4, 208-214, (1997).
- [48] Juan Ramirez Hernandez, Estancia de investigación de 6 meses en la Universidad Autonoma de Madrid bajo la dirección de Dr. José Garcia Sole.