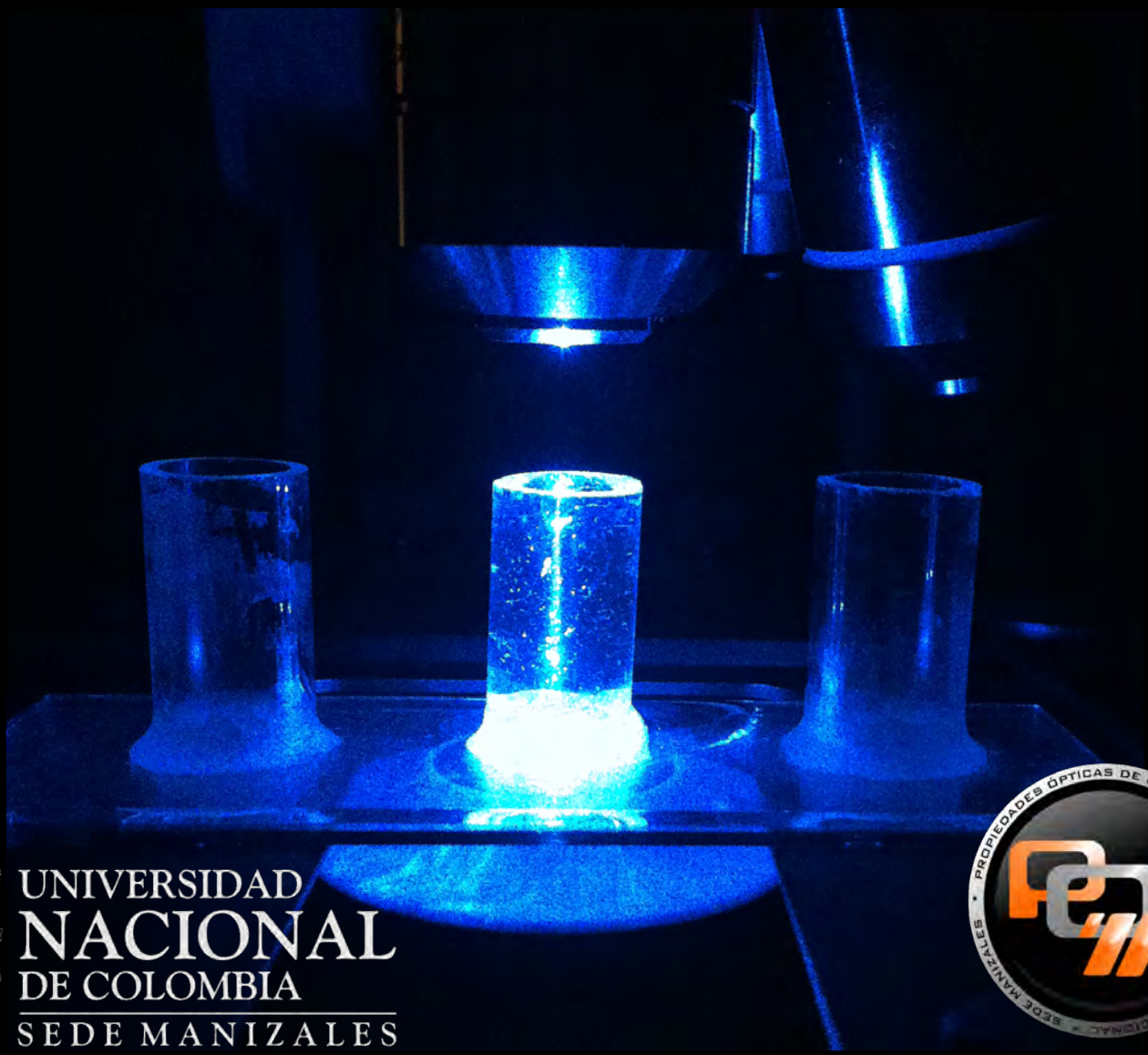
Diego A. Guzmán E.

AMPLIFICACIÓN DE LA SEÑAL RAMAN DE ADN GENÓMICO UTILIZANDO MICROVARAS DE ZnO

Tesis de Maestría en Física



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE MANIZALES

Amplificación de la señal Raman de ADN genómico utilizando microvaras de ZnO

DIEGO ALONSO GUZMÁN EMBÚS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Sede Manizales

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Física y Química

Abril de 2015.

Amplificación de la señal Raman de ADN genómico utilizando microvaras de ZnO

Por:
DIEGO ALONSO GUZMÁN EMBÚS

Tesis presentada para optar el Titulo de Magister en Física

Director de Tesis:
Dr. Carlos Vargas Hernández

Laboratorio de Propiedades Ópticas de Materiales

POM

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Sede Manizales

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Física y Química

Abril de 2015.

[Raman signal amplification from genomic DNA using micro rods ZnO]

Amplificación de la señal Raman de ADN genómico utilizando microvaras de ZnO

Dedicatoria y lema

Dedicado a mi madre Nelcy, y hermano Oscar Daniel.

"El secreto de mi éxito fue rodearme de personas mejores que yo"

Andrew Carnegie

Índice general

Agradecimientos **6**

Resumen **8**

Objetivos **10**

Justificación **12**

1. Introducción **16**

2. Propiedades del ZnO y ADN **18**
2.1. El ZnO 18
2.1.1. Propiedades Estructurales 18
2.1.2. Propiedades Vibracionales 19
2.1.3. Crecimiento del ZnO 22
2.2. El ADN 25
2.2.1. Estructura primaria del ADN 25
2.2.2. Estructura Canónica 26
2.2.3. Absorción en el ultravioleta 27
2.2.4. Vibración Molecular 28
2.3. Antecedentes de la interacción entre el ZnO y ADN 28

3. Técnicas de Caracterización **31**
3.1. Difracción de Rayos X 31
3.1.1. Información de los espectros 32
3.2. Microscopia Raman 35
3.2.1. SERS 36
3.3. Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) 37
3.4. Espectrofotometría UV-Visible 37

4. Obtención de varillas de ZnO y ADN **39**
4.1. Obtención de ZnO 39
4.1.1. Procedimiento Sol Gel 39
4.1.2. Procedimiento Hidrotérmico 40
4.1.3. Procedimiento SILAR-Hidrotérmico 41
4.2. Obtención ADN 42

5. Conclusiones Generales **45**

6. Perspectivas **48**

7. Productos Asociados **50**
7.1. Artículos 50
7.2. Proyectos de Investigación 51
7.3. Eventos 51

Agradecimientos

¡Gracias Dios por alcanzar esta nueva meta en mi vida!.Deseo expresar mis mas sinceros agradecimientos a mi madre Nelcy Embús, por el constante apoyo, motivación en mi proceso de formación científica, así como mi formación personal en la que ha contribuido durante toda mi vida. Al Profesor *Carlos Vargas Hernández* de la Universidad Nacional de Colombia sede Manizales, por su trabajo de apoyo, seguimiento, revisión de todo este proceso de formación científica adquirida a su lado, así como la oportunidad que me brindó de poder trabajar en su laboratorio de investigación, Propiedades Ópticas de Materiales. A la Profesora *Mary Orrego Cardozo* de Universidad Nacional de Colombia sede Manizales, por sus enseñanzas en los tópicos sobre biología y su dedicación en la consecución de muestras de ADN. A mis amigos, los Ingenieros *David Alfredo Garzón Ramos*, *Néstor Eduardo Sánchez Ospina* y *Catalina Sena Plata*, estudiantes de Master Universitario en Automatización y Robótica de la Universidad Politécnica de Madrid, Maestría en Ciencias - Física de la Universidad Nacional de Colombia sede Manizales y Maestria en enseñanza de la física de la Universidad Nacional de Colombia sede Manizales respectivamente, por las continuas discusiones en el desarrollo de trabajos relacionados con el tema de este documento, y por contar con su amistad incondicional. A los integrantes del Laboratorio de Propiedades Ópticas de Materiales en la Universidad Nacional de Colombia sede Manizales, que de una forma u otra colaboraron con el desarrollo de este proyecto.

Agradezco a COLCIENCIAS, Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, al Dirección de Investigación (DIMA) y a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Colombia Sede manizales, por otorgarme en dos ocasiones la beca de *"Jovenes Investigadores e innovadores"*, mediante resoluciones DFCEN 168 del 8 de mayo de 2012 y DFCEN 195 del 8 de abril de 2014. Al grupo de investigacion *Photophysics and Optoelectronics* de **University of Groningen** en Paises Bajos por brindarme la oportunidad de hacer mi pasantia investigativa en sus instalaciones.

Resumen

En este trabajo es presentado los resultados en los procesos de obtención de varillas de ZnO usando las rutas químicas Sol Gel, Hidrotérmico y SILAR-Hidrotérmico, obteniendo polvos y películas de ZnO. Se realizaron análisis por difracción de rayos X, espectroscopia Raman, espectroscopia UV-Visible y microscopia electrónica de Barrido de las muestras obtenidas. Fue realizado un estudio de la influencia que tiene la incorporación de cadmio para el crecimiento de las varillas de ZnO, encontrando reducción en el largo de las varillas cuando es aumentada la incorporación de cadmio. Fue extraído ADN genómico de células de bazo de cerdo usando los pasos de lisis celular, desproteinización y precipitación. Fue analizada la cadena de ADN genómico usando la espectroscopia Raman, presentando inconvenientes para su detección y análisis a través de esta técnica. Sin embargo, se presenta una alternativa a este problema de análisis espectroscópico, empleando el complejo ZnO-ADN, donde se emplean varillas de ZnO como las antenas que inducen el efecto de mejoramiento superficial de la señal Raman (SERS) para el ADN, llegando a incrementarse y observar todas las bandas características de los grupos funcionales de la cadena de ADN, encontrando también efectos de interacción en el ADN, como tensiones PO_2^- y compresión en la cadena COPOC, grupos pertenecientes al esqueleto Azúcar-fosfato, grupos que están involucrados en el anclaje del ADN a la superficie del ZnO.

Palabras clave: ZnO, ADN, Espectroscopia Raman, impurificación.

Abstract

In this paper it is presented the results of the processes of synthesis of ZnO rods using chemical routes Sol Gel, Hydrothermal and SILAR- Hydrothermal, obtaining powders and films ZnO. Analyzes were performed by X-ray diffraction, Raman spectroscopy, UV-visible spectroscopy and scanning electron microscopy for ZnO samples. It was carried out a study of the influence of the addition of cadmium to the growth of ZnO rods, finding that increasing the incorporation of cadmium is reduced the length of the rods. Genomic DNA was extracted from pork spleen cells using the steps of cell lysis, deproteinization and precipitation. It was analyzed genomic DNA chain using Raman spectroscopy, presenting problems for detection and analysis through this technique. However, an alternative to this problem of spectroscopic analysis is presented, using the ZnO-DNA complex where rods ZnO are used as antennas inducing effect of surface enhancement of Raman (SERS) signal for DNA, reaching increased and observe all characteristic bands of the functional groups of the DNA strand, also finding interaction effects in the DNA, as tensions PO_2^- and compression in COPOC chain groups within the sugar-phosphate backbone, groups that are involved in anchoring the DNA to the surface of ZnO.

Keywords: ZnO, DNA, Raman Spectroscopy, doping.

Objetivos

General

- Estudiar la interacción entre la molécula de ADN genómico y microvarillas de ZnO utilizando la espectroscopia Raman.

Específicos

- Sintetizar ZnO mediante las rutas químicas Sol-Gel, Hidrotermal y SILAR-Hidrotérmico, obteniendo partículas con forma de varillas y películas con estructuras en forma de varillas.
- Controlar la forma y tamaño de las partículas de ZnO con la incorporación de Cadmio en en el proceso Hidrotérmico.
- Caracterizar las muestras de ZnO mediante DRX, Espectroscopia Raman, Espectroscopia UV-Visible y MEB, evaluando las propiedades estructurales, vibracionales, ópticas y morfológicas.
- Obtener muestras de ADN genómico siguiendo los procesos estandarizados de lísis celular, desproteinización y precipitación.
- Estudiar las propiedades vibracionales de las muestras de ADN obtenidas utilizando la Espectroscopia Raman.
- Analizar el efecto que tienen las varillas de ZnO en el complejo ZnO-ADN utilizando la Espectroscopia Raman.
- Comparar los efectos que tiene el tamaño y organización de las varillas de ZnO al interacionar con el ADN usando la espectroscopia Raman.

Justificación

En biología y medicina, los análisis requieren cantidades apreciables de la sustancia a detectar, de este modo, si no se tiene suficiente sustancia el análisis puede dar un resultado erróneo y si se aumenta la cantidad de sustancia se pueden incrementar el costo y esfuerzo para conseguir las cantidades requeridas, como es el caso para proteínas, ADN y ARN. Presentamos una metodología para mejorar el análisis de espectros Raman de ADN a través del complejo ZnO-ADN, el cual es un sistema que involucra partículas de ZnO, en específico microvarillas sintetizadas en etapas previas por rutas químicas, así como tambien la obtención de ADN genómico mediante procesos estandarizados. La combinación de ZnO y ADN logra mejorar los espectros Raman del ADN, llegando a observarse más detalladamente todas las bandas Raman características de la molécula de ADN que se han reportado en la literatura y que no se podian observar al hacer los análisis por espectroscopía Raman para las muestras de ADN.

Capítulo 1

Introducción

La reducción de escala en los materiales ha despertado el interés científico debido a los cambios que presentan los materiales en sus propiedades eléctricas, ópticas, piezoeléctricas, mecánicas, químicas, magnéticas, llegando a usufructuar estas propiedades, la ciencia y la tecnología pueden llegar a abarcar un gran número de aplicaciones. Es así como el *Óxido de Zinc* (ZnO) se ha convertido en un material promisorio para la elaboración de dispositivos tales como diodos,[1] led UV,[2] transistores,[3] sensores de gas,[4] generadores eléctricos,[5] celdas solares.[6] Sin embargo, las aplicaciones del ZnO no se limitan solo a dispositivos electrónicos, a su vez se han implementado en la actividad fúngica, larvaicida y bactericida, observado el efecto del ZnO sobre organismos patógenos tales como *Candida albicans*,[7] *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*[8] y *Escherichia coli*,[9] aunque se nombran estos tres casos particulares, los estudios de su actividad abarcan la acción contra a una gran variedad de organismos patógenos. La elaboración de sensores de ADN (Ácido Desoxirribonucleico), basados en la detección por fluorescencia y anclaje con moléculas biológicas han tenido resultados de gran importancia, mostrando que el ZnO es un material de enorme aplicabilidad en biotecnología.[10,11]

En este documento, iniciaremos un viaje conociendo los diferentes conceptos de las propiedades del ZnO que se necesitaran a medida que avancemos en el texto, conociendo la estructura molecular de los cristales, las vibraciones que involucran esta organización atómica y como es entendido el crecimiento del ZnO en los procesos en los que intervienen las reacciones químicas. De esta forma, revisaremos la estructura molecular del ADN, su capacidad de absorber la luz, así como las vibraciones moleculares que presenta esta macromolécula biológica.

Las técnicas empleadas como herramientas para analizar las diferentes muestras obtenidas, son expuestas en un capítulo aparte, teniendo una corta revisión de los conceptos que involucran la *Difracción de Rayos X (DRX), Espectroscopia Raman, Espectroscopia Ultravioleta-Visible y Microscopia electrónica de Barrido*

(MEB), comprendiendo la información que nos pueden suministrar cada una de estas técnicas. Consecutivamente, se detallará los procedimientos empleados para obtener cada tipo de muestras de ZnO, teniendo una descripción detallada de los procedimientos con las técnicas *Sol Gel, Hidrotermica y SILAR (Successive Ion Layer Absorption and Reaction) combinada con la técnica Hidrotermal.* De igual forma, el proceso de obtención de ADN de las células del bazo de cerdo, será descrito minuciosamente manteniendo las etapas de lisis celular, desproteinización y precipitación para extraer el ADN de las células.

Siguiendo la línea de estudio, los productos obtenidos de ZnO son analizados usando las técnicas de caracterización descritas con anterioridad, evaluando las propiedades estructurales, ópticas, vibracionales y morfológicas para cada juego de muestras. Lo cual nos revelará, que se logran obtener partículas de ZnO con la morfología buscada, varillas que presentan base hexagonal. Llegando al final del documento, estudiaremos la interacción que tienen las varillas de ZnO con la molécula de ADN, usando la Espectroscopia Raman como técnica de análisis, lo cual indicará que el complejo ZnO-ADN presenta mejorías en la señal Raman, lo cual hace que el estudio de las propiedades vibracionales del ADN se lleven a cabo, resolviendo el inconveniente de baja señal Raman que presenta el ADN sin la interacción con las partículas de ZnO.

Capítulo 2

Propiedades del ZnO y ADN

2.1. El ZnO

2.1.1. Propiedades Estructurales

El ZnO es una compuesto binario del grupo $II-VI$ de la tabla periódica, con una naturaleza de enlace covalente hibrido sp^3, presentando un ligero carácter iónico, encontrándose en los límites de clasificación de enlace covalente. Debido al tipo de enlace, presenta una coordinación tetraédrica donde cada ion de Zn^{2+} está rodeado por cuadro iones de O^{2-} en las esquinas del tetraedro y viceversa.

De acuerdo a las condiciones de cristalización, el ZnO cristaliza en tres estructuras cristalinas; **Gema de Sal** (como $NaCl$)[12] al ser sometido a altas presiones de alrededor de $9GPa$, **Zinc Blenda**[13] cuando el crecimiento es sobre sustratos con estructura cristalina cubica o en el crecimiento de nanoestructuras, y la más común y estable termodinámicamente, hexagonal wurtzita,[14] ver Figura 2.1.

La red cristalina hexagonal tiene dos parámetros de red a y c, con una relación ideal de $c/a = \sqrt{3/8}$ =1.633, pero obteniendose en la experiencia un valor menor, teniendo la estructura del ZnO una ligeramente tension en la dirección del eje c. Perteneciente al grupo espacial $C_{6v}^4 = P6_3mc$, la estructura hexagonal wurtzita tiene dos átomos de cada tipo dentro de su celda unidad. Siendo una estructura que está compuesta por dos sub-estructuras hexagonales compactas (HCP) de cada tipo de átomo desplazadas en la dirección c.[15]

La estructura hexagonal wurtzita presenta cuatro ejes cristalográficos, donde tres son llamados basales (a_1, a_2, a_3) con un ángulo de separación de 120° y el cuarto eje c en dirección perpendicular a los ejes basales. De modo que las direcciones y planos cristalográficos se describen a través de cuatro índices de

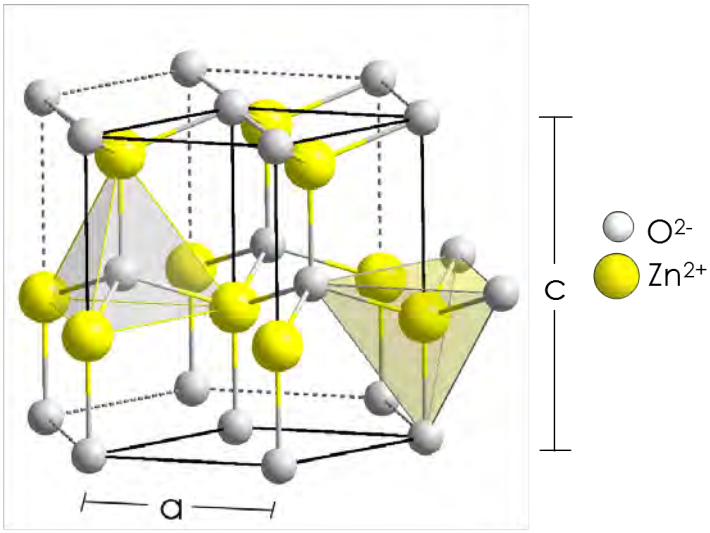


Figura 2.1: Estructura cristalina Hexagonal Wurtzita del ZnO.[16]

Miller; h, k, i y l, sin embargo se pueden reducir a tres índices por medio de la relación:

$$h + k = -i \tag{2.1}$$

Denotando las direcciones cristalográficas y planos cristalográficos como $[hkl]$ y (hkl) respectivamente.[17] Aun cuando se puede manejar esta notación, dentro de este documento manejaremos los cuatro indices de Miller h, k, i y l. Es así como la familia de planos $\{1\bar{1}00\}$ son llamados prismáticos, mientras que la familia $\{0001\}$ son los basales.

2.1.2. Propiedades Vibracionales

El ZnO perteneciente al grupo espacial $P6_3mc$ o C_{6v}^4 tiene un conjunto de modos ópticos $\Gamma_{Opt} = A_1 + 2B_1 + E_1 + E_2$ de acuerdo a la predicción de la **Teoría de Grupos**, donde los modos A_1 y B_1 presentan desplazamientos paralelos al eje c, mientras que E_1 y E_2 tienen desplazamientos perpendiculares como se puede ver en la Figura 2.2. Además, los modos A_1 y E_1 inducen una polarización siendo también activos en Infrarrojo.

La Teoría de Grupos predice solamente vibraciones, pero no la propagación de las vibraciones en la red cristalina, un fenómeno que en la experiencia se da; de modo que se torna importante la disposición geométrica de los desplazamientos con el vector de propagación de onda del fonón, generándose una partición de los

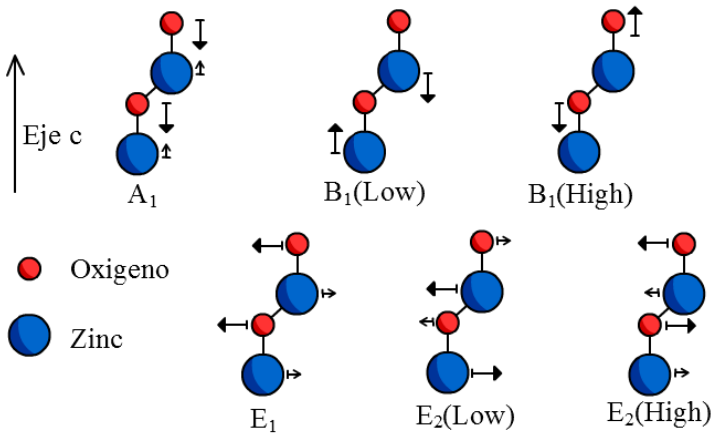


Figura 2.2: Modos propios de la estructura Hexagonal Wurtzita para el ZnO. Los vectores de mayor tamaño representan un mayor desplazamiento del átomo. Elaborado por el autor.

modos vibracionales en Transversal (**TO**) y Longitudinal (**LO**) ópticos, la Figura 2.3 muestra una representación de las diferencias entre los modos longitudinales y transversales; además se puede observar la diferencia en los desplazamientos de los iones entre un modo Acústico y un Óptico.[15]

Debido a la polaridad de los modos A_1 y E_1, aparece una fuerza de restitución adicional al movimiento de los iones, afectando a los modos longitudinales, teniendo un aumento en frecuencia respecto a los modos transversales. Es así como se genera una partición de los modos A_1 y E_1, cada uno con modos LO y TO. Por el contrario, los modos B_1 y E_2 se dividen en **Low** y **High** debido al desplazamiento mayoritario del ion más pesado (Zn^{2+}), siendo el de frecuencia *Baja* (Low) y llegando a ser afectado por la sustitución o ausencia de este ion, mientras que en la frecuencia *Alta* (High) el desplazamiento mayoritario es del ion liviano (O^{2-}), por tanto el modo podrá presentar cambios debido a este ion. En la Figura 2.2 se muestran los desplazamientos de los iones en cada modo vibracional, donde la flecha de mayor tamaño representa un mayor desplazamiento.[18]

La aparición de una combinación de procesos fonónicos, es decir **Modos de Segundo Orden** se debe a la creación (*suma de procesos*) o creación y aniquilación de dos proceso al mismo tiempo, como sucede con los modos $E_2(High) - E_2(Low)$ y $2E_2(Low)$. El modo $E_1(LO)$ es asociado a vacancias de oxígeno y zinc intersticial en la red del ZnO. La Tabla 2.1 presenta las posiciones y asignaciones de los modos Raman reportados en la literatura para el ZnO

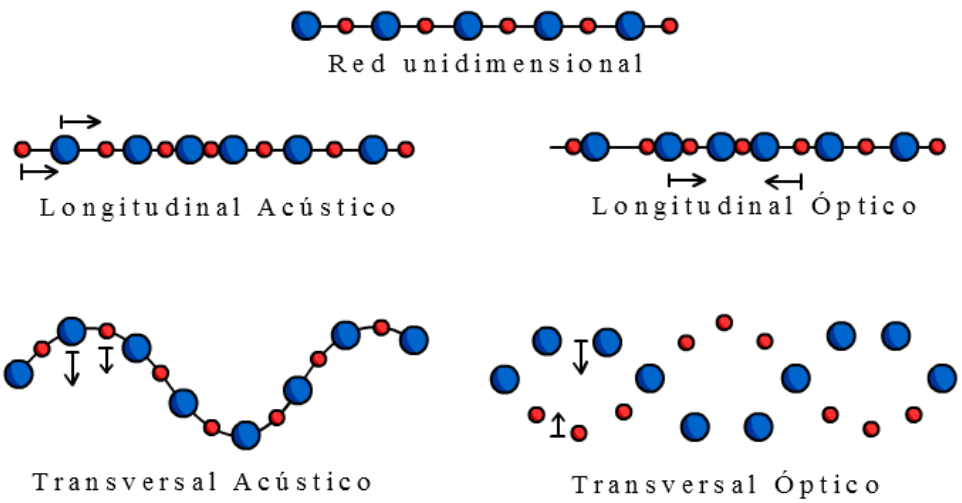


Figura 2.3: Representación de las vibraciones de una red cristalina unidimensional con sus vibraciones Longitudinales y Transversales para los modos Acústico y Óptico. Elaborada por el autor.

N°	Vibración	Ref[19]	Ref[20]	Ref[21]	Ref[22]
			cm^{-1}		
1	$2E_2(Low)$	203	—	204	—
2	$B_1(Low)$	284	261	—	261
3	$E_2(High) - E_2(Low)$	333	—	331	348
4	$A_1(TO)$	378	—	384	391
5	$E_1(TO)$	410	—	410	409
6	$E_2(High)$	438	—	439	440
7	$2B_1(Low)$	—	520	—	520
8	$B_1(High)$	536	552	541	552
9	$A_1(LO)$	574	—	569	560
10	$E_1(LO)$	590	—	586	—
11	$TA + LO$, $TA + B_1(High)$	657	—	660	—
12	$2LO$	1105	—	1107	1100
13	$2A_1(LO)$, $2E_1(LO)$	1150	—	1154	—

Tabla 2.1: Posición y modos vibracionales reportados en la literatura. Los valores mostrados fueron calculos teóricos con *ab initio*[22] y *First-principles*,[20] mientras que los demas valores fueron experimentales.[19,21]

Fonónes en Meteriales

La alteración de los modos vibracionales mediante la incorporación de elementos extraños en la red cristalina, hasta el punto de transformase en un compuesto, puede tener diferentes efectos sobre estos, cambios notables en las frecuencias; ampliando el rango de frecuencia, donde dependiendo que ion empiece a vibrar u oscilar, con que masa o cambio en la constante de resorte se puede apreciar este efecto. La inhibición de algunos modos, junto con la combinación o solapamiento de modos ya existentes son efectos sumados en la reorganización de la red cristalina en compuestos al cambiar el grado de composición, teniendo transiciones de $AB \longrightarrow AC$ para un compuesto $AB_{1-x}C_x$. Los modos producidos por defectos no se propagan por la red cristalina, por el contrario tienden a tener una amplitud máxima en el punto del defecto y decrece o decaen con un comportamiento exponencial al alejarse del defecto que lo produjo, localizándose el modo en el defecto y alrededor de este.[23]

2.1.3. Crecimiento del ZnO

El mecanismo de crecimiento de cristales es poco entendido por los investigadores y el ZnO no es ajeno a esto, sin embargo, diferentes estudios analizan y proponen modelos para entender el crecimiento usual de los cristales de ZnO.

La estructura cristalina juega un papel importante para determinar el proceso de cristalización, siendo afectado por condiciones externas como temperatura, valor de pH, concentraciones, agentes impurificadores, tiempos de reacción, etc. El modelo de *W. Li et al.*[24] describe el crecimiento de polvos cristalinos basado en *unidades de crecimiento* dentro de la solución, de acuerdo a la organización en el apilamiento de estas unidades de crecimiento los cristales toman morfología de obelisco al inhibir y/o activar el crecimiento en distintas direcciones cristalográficas en el proceso de reacción.

La unidad mínima de crecimiento se basa en un ion Zn^{2+} con coordinación tetraédrica rodeada de cuatro iones de OH^-, cada uno en una esquina del tetraedro, formándo el complejo $Zn(OH)_4^{2-}$. Cada unidad de crecimiento se enlaza con otra unidad a través de los iones O^- como resultado del proceso de deshidratación de los grupos OH^- ubicados en las esquinas de los tetraedros, formando un clúster como se muestra en la ecuación:

$$Zn^{2+} + 2OH^- + 2H_2O = Zn(OH)_2 + 2H_2O \tag{2.2}$$
$$= Zn(OH)_4^{2-} + 2H^+ \tag{2.3}$$
$$Zn(OH)4^{2-} + Zn(OH)4^{2-} = Zn_2O(OH)6^{4-} + H_2O \tag{2.4}$$
$$Zn_xO_y(OH)_z^{(z+2y-2x)-} + Zn(OH)4^{2-} = \tag{2.5}$$
$$Zn_{x+1}O_{y+1}(OH)_{z+2}^{(z+2y-2x+2)-} + H_2O \tag{2.6}$$

Donde x, y, z representan la cantidad de iones Zn^{2+}, O^{2-} y OH^- en el clúster, respectivamente.

El apilamiento de las unidades de crecimiento es el mecanismo por el cual el clúster es formado, según el modelo de *W. Li et al*, el crecimiento es determinado por las interfaces que presenta el clúster con la solucion, donde son activas las diferentes coordinaciones tetraédricas de los terminales OH^- que proporcionan el continuo crecimiento por medio de la deshidratación. Debido a que el oxígeno del terminal OH^- en cada esquina del tetraedro tiene coordinación tetraédrica, podría enlazarse a tres unidades de crecimiento más, pero dependiendo de su ubicación en el clúster, esta coordinación tetraédrica es alterada. Es así como para los vértices OH^- en la dirección [0001] podrán enlazarse con tres unidades de crecimiento más. Los terminales en los bordes del cristal pueden enlazarse a dos unidades de crecimiento más, mientras que cualquier terminal OH^- en las caras de los tetraedros podrán unirse a una sola unidad de crecimiento como se puede ver en la Figura 2.4.

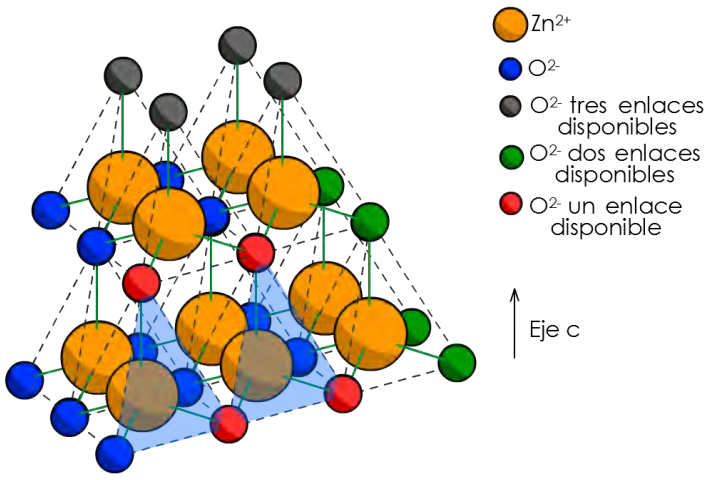


Figura 2.4: Posiciones tetraédricas disponible para el O^{2-}. Hecha por el autor.

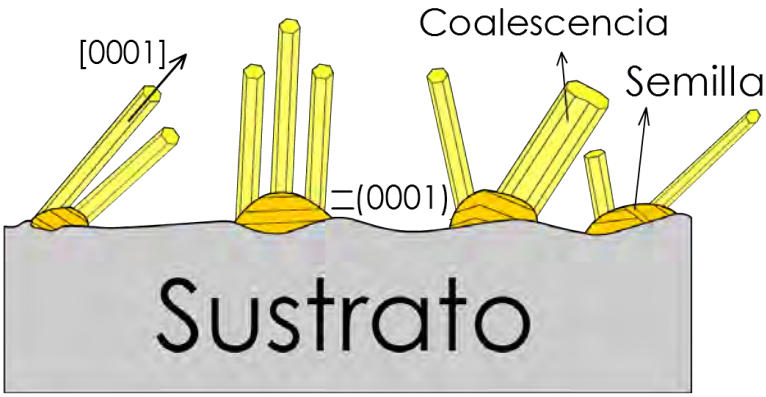


Figura 2.5: Orientación de las varas con la dirección [0001] de las semillas. Figura elaborada por el autor.

Cada dirección de crecimiento presenta una tasa de crecimiento de acuerdo al grado de coordinaciones tetraédricas activas de los terminales OH^-, lo que conlleva a la formación de cristales con una morfología determinada, siendo la dirección [0001] la más beneficiada en su velocidad de crecimiento, le sigue las direcciones piramidales $\langle 01\bar{1}1\rangle$, y las direcciones prismáticas $\langle 01\bar{1}0\rangle$, por último la dirección de crecimiento $[000\bar{1}]$con la menor tasa de crecimiento, lo cual formaría cristales con tendencia a crecer en la dirección c, con diferentes tamaños y formas que dependen de las tasas de crecimiento en cada una de las direcciones.

Deposito de estructuras de ZnO sobre sustratos

El deposito de estructuras cristalinas con diferentes morfologías se ha llevado a cabo en diferentes estudios por medio de variadas técnicas de crecimiento. El estudio realizado por *Jeong y Lee*,[25] en el cual utilizaron el deposito por vapor metálico para observar la orientación cristalina de las semillas de ZnO, siendo esto la clave fundamental para el crecimiento y alineación de varillas sobre las semillas depositadas y lograr el crecimiento de estas estructuras sobre el sustrato, teniendo estas semillas el rol como sitios de nucleación, encontrando que las varillas crecen en la dirección cristalina [0001], la misma dirección de las semillas, teniendo una continuidad en esa dirección, como se puede observar en el esquema de la Figura 2.5. De modo que dependiendo de como se oriente la dirección [0001] de las semillas sobre la superficie del sustrato, las varillas crecerán perpendiculares o no a la superficie del sustrato.

Los sitios de nucleación juegan un papel importante en la organización de varillas, así lo demuestran *Baruah y Dutta*,[26] con deposito de semillas y capas delgadas de ZnO utilizando el *Método Hidrotérmico*, donde las semillas propician un crecimiento lateral sobre el sustrato, formándose complejas estructuras como flores que estan compuestas por varillas crecidas desde un núcleo en común, mientras que las capa de nanocristalitos de ZnO produce un alineamiento más determinante sobre el sustrato debido a la gran densidad de sitios de nucleación disponibles. Los efectos por la cercanía entre las estructuras se pueden apreciar al combinarse estructuras, creándose una película en la parte inferior de las estructuras o llegando a encontrarse coalescencia entre la totalidad de varias estructuras.[27]

2.2. El ADN

En el año de 1950, Maurice Wilkins y Ray Gosling empezaron a estudiar la estructura del *Acido Desoxirribonucleico (ADN)* usando la difracción de rayos X, obteniendo las primeras imágenes de difracción de las fibras de ADN aun cuando no eran muy claras. Luego en 1951, Rosalind Franklin trabajando en conjunto con Wilkins y Gosling, obtuvieron mejores imágenes de difracción usando procedimientos propios. Estas imágenes mostraban difracción correspondientes a una estructura helicoidal, pero aun sin esclarecer cómo era dicha hélice. De acuerdo a las imágenes clasificaron las estructuras en dos formas, A y B, las cuales eran dependientes del ambiente húmedo que rodeaba las fibras de ADN. En un trabajo simultaneo, Francis Crick y James Watson usando datos de Franklin en combinación de un análisis propio, elaboraron la primera estructura correcta del ADN. Así, en 1953 fue publicado en la revista Nature el artículo de Watson y Crick, seguido de artículos de Wilkins, Franklin y Gosling, haciéndolos merecedores del premio Nobel en fisiología y medicina en 1962, exceptuando a Franklin la cual murió de cáncer.[28,29]

2.2.1. Estructura primaria del ADN

El ADN puede ser considerado desde el punto de vista químico, una cadena polimérica compuesta por la unidad monómera llamada nucleótido, el cual consta de un grupo fosfato, una azúcar, y una base o radical aromático que puede ser una purina (Adenina, Guanina) o por el contrario una pirimidina (Citosina, Timina). El grupo fosfato es el enganche con el nucleótido siguiente a través de un enlace fosfodiéster, cada azúcar (desoxirribosa) está unida al grupo fosfato y a la base nitrogenada, de modo que la diferencia entre nucleótidos es la base, de este modo la secuencia de una cadena de ADN se especifica nombrando las bases. La disposición de las cuatro bases a lo largo de la cadena es la decodificación de la

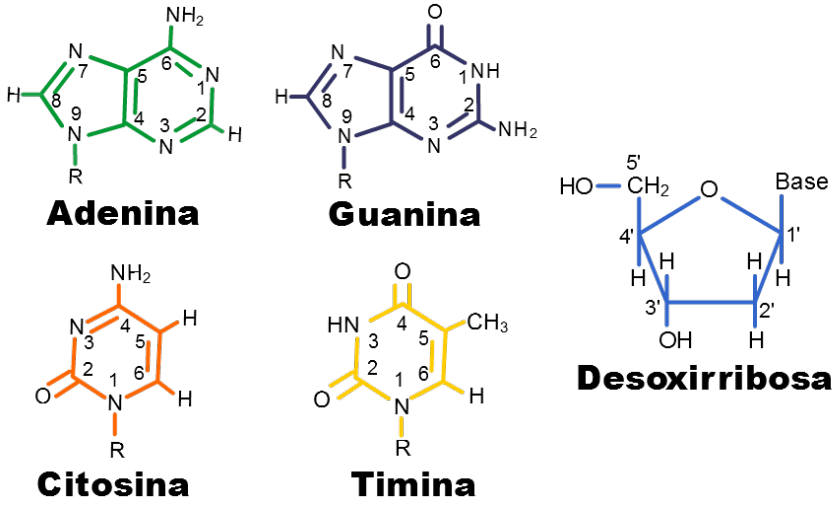


Figura 2.6: Estructura química de las cuatro bases y la desoxirribosa. Elaborada por el autor

información genética. En la Figura 2.6 puede detallarse la estructura química de cada una de las bases, así como de la desoxirribosa, donde los átomos de Carbono o Nitrógeno en los anillos están enumerados de acuerdo al sistema IUPAC[1], de este modo, cada grupo funcional (metil, amino u oxo) es referido con el número del átomo de los anillos al cual esta enlazado. La unidad compuesta de una base y la desoxirribosa es llamada nucleósido. Los enlaces P-O del grupo fosfodióxido (PO_2^-) tienen un carácter de semidoble enlace, compartiendo la carga negativa presente en los átomos de oxígeno.

2.2.2. Estructura Canónica

El ADN presenta una estructura plástica que puede adoptar un amplio rango de conformaciones tridimensionales, pero para poder tener una estabilidad forma una doble cadena o dúplex, emparejando una purina a una pirimidina en parejas C•G y A•T a través de puentes de hidrógeno, que de acuerdo a las características de esta doble cadena se puede encontrar las conformaciones A, B y Z. Es así como en la naturaleza, la forma más común de encontrar el ADN es en la forma B. En la Figura 2.7 se muestra la estructura química de la columna vertebral del ADN compuesta de los grupos fosfato y la desoxirribosa, la base de cada nucleótido se deja indicada. En la Figura 2.8 se puede observar los cambios entre las tres formas del ADN.

[1]La gran mayoria de esta sección esta basada en el libro de K. Nakamoto, M. Tsuboi, G. Strahan[29]

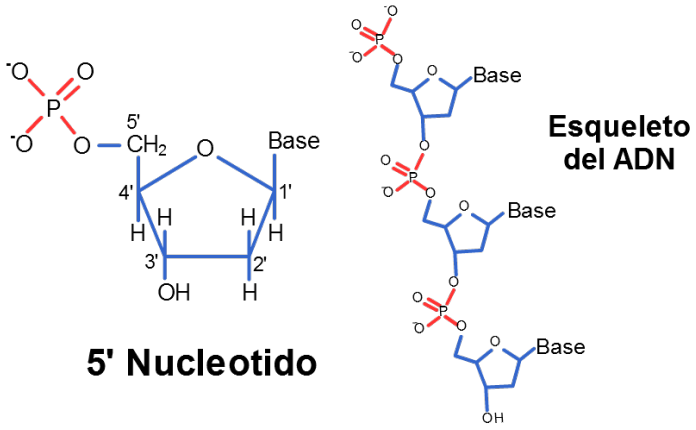


Figura 2.7: Estructura química del esqueleto de una cadena de ADN, la base se deja indicada. Elaborada por el autor

La clave de la estabilidad energética del ADN está en los enlaces π de los anillos en las bases que se apilan verticalmente, también intervienen los puentes de hidrogeno formados con la base complementaria, y las fuerzas electrostáticas entre los grupos fosfato y cationes a lo largo de la cadena. La carga neta de los grupos fosfatos es lo suficiente para hacer repeler una cadena de la otra, no logrando formase el dúplex, para ello, iones disponibles dentro del ambiente celular intervienen, rodeando la cadena y neutralizando la carga, interviniendo normalmente iones K^+ y Na^+, sin embargo, iones divalentes como Mg^{2+} pueden abundar en la célula y generar estructuras de triple hélice o distorsionar la cadena al unir cadenas opuestas como si fuese un puente. No solo estos iones intervienen en la estabilidad del ADN, también lo hace las moléculas del agua, las cuales forman puentes de hidrogeno con las cadenas. Es así, como dependiendo de la humedad del ADN, este puede cambiar su forma pasando de la forma B (92 % de humedad) a la forma A (75 % de humedad), lo cual daría drásticos cambios en las imágenes de difracción, hasta llegar al punto que si la humedad es cercana al 60 % no logran apreciarse patrones de difracción. La Tabla 2.2 enlista las diferencias presentes en cada una de las tres formas del ADN.

2.2.3. Absorción en el ultravioleta

La espectroscopia UV permite detectar y cuantificar los ácidos nucleicos registrando la absorbancia a 260 nm, la detección es mucho más específica sí se obtiene el espectro de absorción completo de la disolución estudiada. El valor de absorbancia a 260 nm del DNA nativo (no desnaturalizado) permite cuantificar el ADN, de modo que para ADN de doble hebra, 1 unidad de A_{260} equivale a una

Caracteristica Estructural	ADN-A	ADN-B	ADN-Z
Sentido Helicoidal	Dextrógiro	Dextrógiro	Levógiro
Diámetro	25.5 Å	23.7 Å	18.4 Å
Pares de bases por vuelta	10.7	10.5	12
Inclinación de los pares de bases	19°	-1°	-9°
Avance por par de bases	2.56 Å	3.38 Å	3.71 Å
Paso por vuelta de hélice	28.2 Å	35.5 Å	44.6 Å
Surco menor	Ancho y poco profundo	Estrecho y profundo	Estrecho y profundo
Surco mayor	Profundo y estrecho	Profundo y ancho	Poco profundo

Tabla 2.2: Características de las formas A, B y Z del ADN.[29]

concentración de 50 $\mu g/mL$. La relación A_{260}/A_{280} permite determinar la calidad de la preparación, en muestras puras de ADN, ésta relación debe estar comprendida entre 1.8 y 2.0, si se trata de una preparación homogénea de ácido nucleico no contaminada por la presencia de ningún otro cromóforo, valores superiores indican presencia de ARN y valores inferiores indican contaminación con fenol y/o proteínas. Esta relación de absorbancias se utiliza con mucha frecuencia durante los procesos de purificación de los ácidos nucleicos.[31]

2.2.4. Vibración Molecular

Estudiaremos las vibraciones moleculares de la cadena de ADN, usando la espectroscopia Raman que se describirá en el Capítulo 2. Un espectro típico de ADN se analiza en la región entre 200-1800 cm^{-1}, en la cual se encuentra diferentes vibraciones correspondientes a los distintos componentes, los cuales se detallan en la Tabla 2.3 y se analizará el comportamiento de algunas de estas bandas en secciones ulteriores. Debido a que el ADN con el que se trabajó, no interactúan con enzimas o moléculas que generan una forma Z del ADN, se hablará solo de la forma A y B en este documento.

2.3. Antecedentes de la interacción entre el ZnO y ADN

Diferentes estudios se han reportado de las propiedades que puede tener el ZnO y al ADN al tener interacción, siendo los estudios de toxicidad y oxidación en el ADN muy comunes en diferentes organismos como E. Coli[33] y la larva del pez

N°	Asignación	ADN-A cm^{-1}	ADN-B cm^{-1}
1	PO_2^- tijereteo	499	497
2	Estiramiento de Anillo (G)	666	682
3	Estiramiento de Anillo (A)	731	729
4	Estiramiento de Anillo (T)	753	750
5	Estiramiento de Anillo (C)	784	784
6	C-O-P-O-C estiramiento	807	792
7	C-O-P-O-C estiramiento	—	836
8	Anillo de Desoxirribosa	882	895
9	Anillo de Desoxirribosa	897	920
10	PO_2^- estiramiento simétrico	1101	1093
11	Vibración en Anillo (C,T)	1257	1257
12	Vibración en Anillo (A,G)	1339	1339
13	Vibracion en anillo (T)	—	1375
14	$2'CH_2$ tijereteo	1419	1420
15	$5'CH_2$ tijereteo	1463	1465
16	Vibración de Anillo (G,A)	1486	1487
17	Vibracion de Anillo (A,G)	1577	1578
18	C=O estiramiento (T)	1667	1669

Tabla 2.3: Posición y modos vibracionales reportados en la literatura para las formas ADN-A y ADN-B.[32]

cebra,[34] sin embargo, la asistencia de cadenas de ADN en el proceso de síntesis de estructuras de ZnO también es reportada,[35] pero es de gran importancia la elaboración de dispositivos en los que estos dos compuestos están incluidos, como es el caso de un sensor de ADN,[10] el cual usando varas de ZnO y una cadena simple de ADN usados como sonda, reciben las cadenas complementarias tratadas previamente con un grupo fluorescente, teniendo una mejor emisión de la fluorescencia y adhesión del ADN de cadena simple usado como sonda.Un dispositivo similar es

reportado en el cual se examinan las propiedades electroquímicas de una película de ZnO y cadenas de ADN por medio de impedancia eléctrica.[36] La elaboración de una microbalanza basada en cristal de cuarzo es afectada por la adhesión de cadenas de ADN en una capa de ZnO, modificando la frecuencia de resonancia de dispositivo evaluando la presencia de una cadena de ADN especifica.[37] De esta forma, los estudios del ADN y ZnO usando la Espectroscopia Raman es un territorio que queda por explorar en el campo de la investigación, y que desarrollaremos con ideas y resultados en los capítulos ulteriores de este documento.

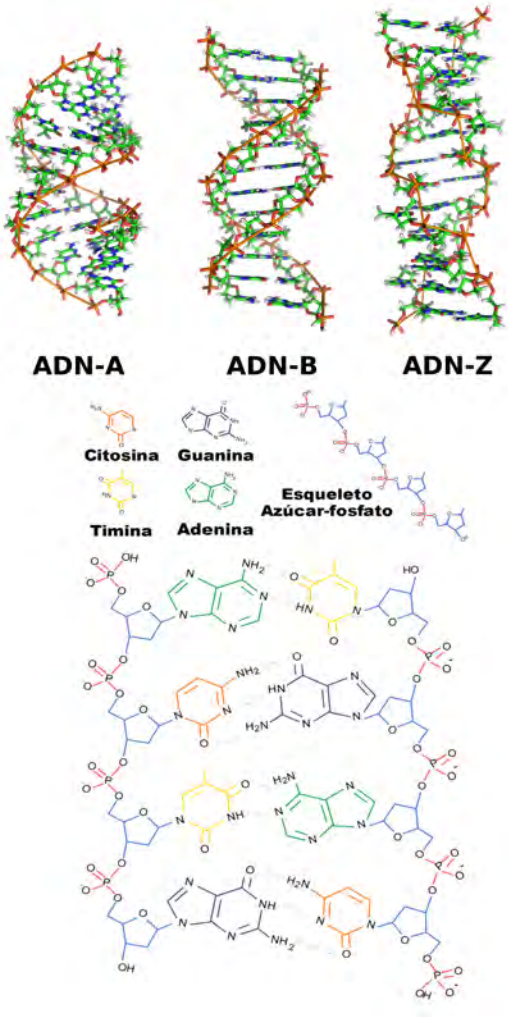


Figura 2.8: Tres formas que adopta la cadena doble de ADN.[30] Imagen modificada por el autor.

Figura 2.9: Vibraciones de estiramiento de los anillos en las bases nitrogenadas. Elaborada por el autor.

Capítulo 3

Conceptos sobre las Técnicas de Caracterización

Diferentes técnicas se han desarrollado para estudiar gran variedad de propiedades que poseen los materiales. Por tanto, para una determinada propiedad que necesitemos estudiar del material objetivo, es necesario recurrir a una o varias técnicas para indagar el comportamiento de la propiedad bajo ciertas condiciones. De este modo, en este capítulo se describen los conceptos básicos relacionados con cada técnica de caracterización empleada para el estudio del Óxido de Zinc.

3.1. Difracción de Rayos X

Dentro de un cristal los átomos tienen un ordenamiento definido creando estructuras cristalinas que tienen un efecto sobre algunas radiaciones incidentes. Al hacer incidir un haz monocromático de una determinada longitud de onda electromagnética (λ), los átomos pueden llegar a comportarse como centro de dispersión, con la condición que cualquier distancia que separe los átomos sea mayor que la longitud de onda del haz incidente, se cumplen dos hechos relevantes durante el proceso; el primero hace referencia que el haz incidente, la normal de cualquier plano reflejante y el rayo difractado se encuentran en un mismo plano. El segundo, establece que el ángulo entre el rayo transmitido y el difractado es el doble del ángulo de incidencia, siendo 2θ. Para encontrar los ángulos con mayores intensidades, la difracción de las ondas deben de cumplir la **Ley de Bragg**, la cual solo estima que la difracción entre planos de átomos adjuntos tienen que tener una diferencia de camino de un múltiplo entero de longitud de onda λ. La Figura 3.1 detalla esta condición por medio de la geometría. De acuerdo a la geometria del problema, se obtendria la Ley de Bragg:

$$2d' \operatorname{sen}\theta = n\lambda \tag{3.1}$$

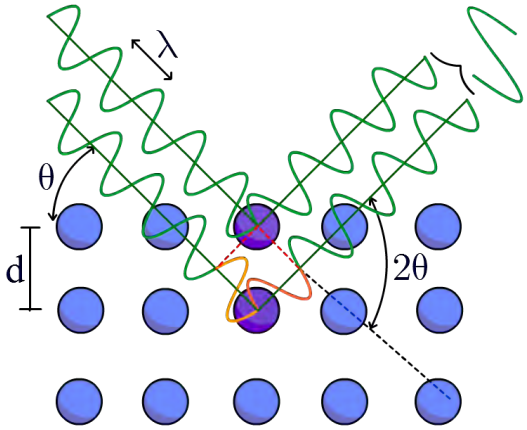


Figura 3.1: Esquema del proceso de difraccion para una cristal bidimensional. Elaborada por el autor.

El espaciamiento d' puede ser considerado el primero orden de difracción para un plano con índices de Miller (nh, nk, nl), el cual se encuentra a una distancia $d = d'/n$, una convención acorde con la definición de los índices de Miller de planos paralelos al plano (h,k,l), que se encontrarían a una fracción de $\frac{1}{n}$ del espaciado del plano (h,k,l). Es así como podemos utilizar el primer orden de difraccion por facilidad, quedando la Ley de Bragg:

$$2d' \operatorname{sen}\theta = \lambda \tag{3.2}$$

Cada una de las distintas estructuras cristalinas posee una relación característica entre la distancia interplanar con sus parámetros de red, índices de Miller y ángulos entre los ejes cristalográficos si es el caso. Para una estructura Hexagonal compacta típica, dicha relación tiene la expresión dada como:

$$\frac{1}{d_{hkl}^2} = \frac{4}{3a^2}(h^2 + hk + k^2) + \frac{1}{c^2}l^2 \tag{3.3}$$

Donde a y c son los parámetros de red, h, k y l los índices de Miller pertenecientes a cada plano cristalográfico. La estructura hexagonal presenta diez y seis planos cristalográficos con sus bandas comprendidos entre 0° y 180° en el barrido 2θ. Las bandas asociadas a cada plano se indexan en el esquema de distribución de líneas de la Figura 3.2.b.

3.1.1. Información de los espectros

Diferentes características se pueden extraer de los patrones de difracción obtenidos durante el proceso de análisis por **Difracción de Rayos X** (DRX), entre

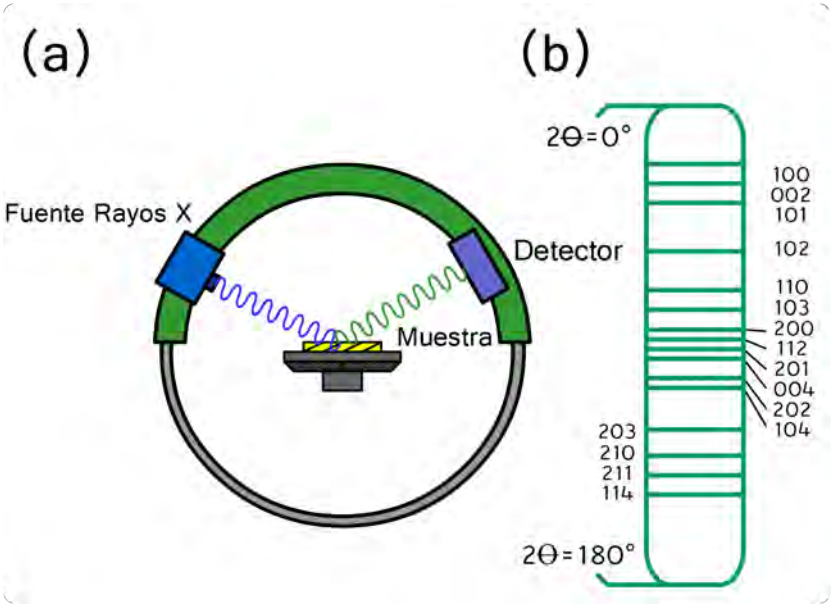


Figura 3.2: Representacion esquematica de un difractometro y la distribución de lineas en los espectros. Elaborada por el autor.

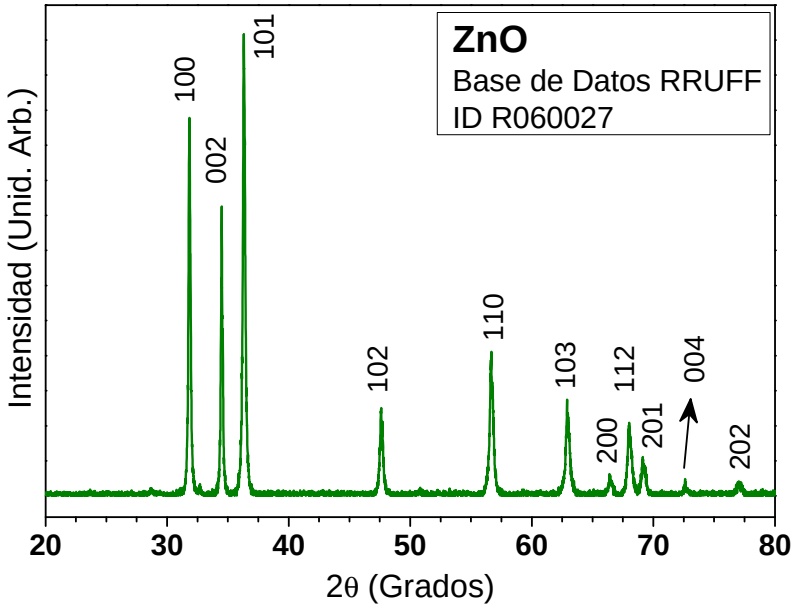


Figura 3.3: Difractograma característico de un cristal de ZnO. Online RRUFF[38]

los cuales están los parámetros de red a y c de la estructura cristalina Hexagonal, así como el tamaño del cristalito, tensiones o compresiones de la red, coeficientes de dilatación térmica, entre otros. Para el desarrollo del análisis de los espectros analizados durante el documento, se usó el método de **Cohen** para encontrar los parámetros de red y la formula de Scherrer descritas a continuación. Empleando la Ley de Bragg ademas de la relación de las distancias interplanares tendremos que:

$$\operatorname{sen}^2\theta = \frac{\lambda^2}{4d_{hkl}^2}$$
$$\operatorname{sen}^2\theta = \frac{\lambda^2}{4}\left(\frac{4}{3a^2}(h^2+hk+k^2)+\frac{1}{c^2}l^2\right)$$
$$\operatorname{sen}^2\theta = \left(\frac{\lambda^2}{3a^2}\right)(h^2+hk+k^2)+\left(\frac{\lambda^2}{4c^2}\right)(l^2)$$

Organizando los terminos para simplificar la ecuación tenemos que:

$$\operatorname{sen}^2\theta_{hkl} = \alpha A + \gamma B \tag{3.4}$$

Donde tenemos que:

$$\alpha = h^2+hk+k^2 \qquad \gamma = l^2 \tag{3.5}$$
$$A = \frac{\lambda^2}{3a^2} \qquad B = \frac{\lambda^2}{4c^2} \tag{3.6}$$

Multiplicado la Ecuación 3.4 por α y γ tenemos un sistema de ecuaciones:

$$\sum \alpha \operatorname{sen}^2\theta_{hkl} = A\sum\alpha^2 + B\sum\alpha\gamma \tag{3.7}$$
$$\sum \gamma \operatorname{sen}^2\theta_{hkl} = A\sum\alpha\gamma + B\sum\gamma^2 \tag{3.8}$$
$$\tag{3.9}$$

El cual se resueve para hallar los valores de A y B, llevandonos a encontrar el valor de los parametros a y c respectivamente, siendo el método de Cohen.[39]

El tamaño del cristalito se puede evaluar mediante la fórmula de Scherrer:[17]

$$t = \frac{K\lambda}{\beta\cos\theta_\beta} \tag{3.10}$$

Donde β es el ancho a la mitad del pico ($h\ k\ l$) o $FWHM$, θ_β posicion del pico y K es una constante que depende del material y la forma de las cristalitos, además es un valor que no sobrepasa la unidad. En nuestro análisis se usara el valor de K=0.9, usado frecuentemente en la literatura para el ZnO. Cada ancho a la mitad del pico ($FWHM$) tiene una relación con el ancho instrumental y el experimental de acuerdo a los perfiles gaussianos como:

$$\beta_{exp}^2 = \beta^2 + \beta_{ins}^2 \tag{3.11}$$

3.2. Microscopia Raman

La interacción de la luz con la materia se da de diferentes formas en la naturaleza, presentando diferentes efectos que podemos estudiar observando los cambios generados por la luz. Un cambio que se puede apreciar es el del momento dipolar eléctrico de la materia, el cual está relacionado con el campo eléctrico de la luz incidente mediante:

$$\vec{\mu} = \alpha \vec{E} \tag{3.12}$$

Donde $\vec{\mu}$ es el momento dipolar eléctrico inducido, $\vec{E}$ el campo eléctrico de la onda incidente y α la polarizabilidad. Si el campo eléctrico de la luz tiene una forma sinusoidal como:

$$E = E_o \cos(\omega_i t) \tag{3.13}$$

El momento dipolar inducido μ presentará cambios, generándose una emisión en el infrarrojo, así, si se genera un cambio en el dipolo inducido en las diferentes posiciones q de una molécula, se presentara una emisión en el infrarrojo, por tanto tendríamos la condición:

$$\frac{d\mu}{dq} \neq 0 \tag{3.14}$$

Por el contrario, si una molécula o grupos de moléculas tienen una polarizabilidad cambiante, es decir, la molécula tiene una tendencia a distorsionarse de diferente forma en todas las posiciones de la nube electrónica se presentará el fenómeno de **Dispersión Raman**, teniendo como condición:

$$\frac{d\alpha}{dq} \neq 0 \tag{3.15}$$

De modo que podemos analizar el comportamiento de la polarizabilidad α utilizando *Series de Taylor* para expresarla como:

$$\alpha = (\alpha_o)_{q=0} + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_{q=0} q + \frac{1}{2!}\left(\frac{d^2\alpha}{dq^2}\right)_{q=0} q^2 + \frac{1}{3!}\left(\frac{d^3\alpha}{dq^3} q^3\right)_{q=0} q^3 \tag{3.16}$$

Si expresamos cada coordenada generalizada q dentro de la molécula con la forma:

$$q = q_o \cos(\omega_m t) \tag{3.17}$$

Donde q_o es la amplitud máxima, y ω_m es la frecuencia de vibración de la molécula. Podemos tomar los primeros dos términos de la polarizabilidad obteniendo una expresión como:

$$\mu = (\alpha_o)_{q=0} E_o \cos(\omega_i t) + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_{q=0} q_o E_o \cos(\omega_i)\cos(\omega_m) \tag{3.18}$$

Utilizando la identidad trigonométrica $\cos\theta\cos\delta = \frac{1}{2}(\cos(\theta+\delta)+\cos(\theta-\delta))$, tendremos una relación:[40]

$$\mu = (\alpha_o)_{q=0}E_o\cos(\omega_i t) + \frac{1}{2}\left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_{q=0} q_o E_o\left[\cos(\omega_i+\omega_m)+\cos(\omega_i-\omega_m)\right] \quad (3.19)$$

Donde el primer término hacer referencia a la dispersión *Rayleigh*, teniendo la misma frecuencia de la radiación incidente, el segundo término representa la dispersión *Anti-Stokes*, con frecuencia mayor a la incidente, cediendo energía a la luz dispersada donde en condiciones de temperaturas bajas es poco frecuente, y el ultimo término es la dispersión *Stokes*, con frecuencia menor que el de la luz incidente, estos dos últimos términos corresponden a la **Dispersión Raman**, de modo que para cada material se presenta una dispersión característica.[1] En la Figura 3.4 se muestra una representación de un espectro Raman, la banda de mayor intensidad corresponde a la Dispersión Rayleigh, ubicadas a sus lados las dispersiones Stokes y Anti-Stokes. [2]

Figura 3.4: Esquema de un Espectro Raman. Elaborada por el autor.

3.2.1. SERS

En el año de 1970, un inexplicable efecto es observado al analizar la piridina con la espectroscopia Raman, llegando a incrementar la señal Raman dispersada de esta molécula cuando las mediciones sobre un electrodo de plata rugoso son llevadas a cabo. Diferentes laboratorios corroboran este efecto en varios experimentos de la misma índole, con diferentes moléculas y superficies metálicas, dando la evidencia de que el mejoramiento de la señal no se debe a más moléculas

[1] Esta es una forma clásica de entender la Dispersión Raman, la Mecanica Cúantica explica el fenómeno con una mejor aproximación.

[2] Texto basado en el libro de *J. Hollas*[40]

dispersantes, sino a un incremento por la combinación con superficies metálicas, nombrando este efecto Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). Los factores de mejoramientos al inicio del descubrimiento estaban en el orden de $10^3 - 10^5$, sin embargo hasta el momento se reportan factores de 10^{14}, haciéndolo una herramienta poderosa para el análisis de especímenes en biofísica, bioquímica y ciencias de la vida por su alta sensibilidad en muestras de bajas concentraciones. Los diferentes experimentos realizados sobre superficies metálicas rugosas y soluciones coloidales metálicas dan evidencia de que no es un efecto de superficie, sino un efecto debido a nanoestructuras, lo cual provee la demostración experimental de la importancia que tienen los plasmones superficiales para lograr el efecto SERS, el cual puede ser causado por dos razones, (1) la mejora de los campos electromagnéticos locales en la nanoestructuras metálicas y (2) una molécula en contacto con una nanoestructura metálica exhibe un nuevo proceso Raman, sin embargo la razón por cual se llega a observa este efecto es tema de debate en la literatura.[41]

3.3. Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)

El Microscopio Electrónico de Barrido o SEM por sus siglas en inglés (*Scanning Electron Microscope*), acelera electrones emitidos de un filamento a través de un campo eléctrico entre 1000 a 30000 Voltios, convirtiendo los electrones en un haz por medio de lentes magnéticas (electroimanes), los cuales son impactados sobre la superficie de la muestra, dependiendo de la sensibilidad de la muestra se usa un determinado voltaje, de modo que para una muestra biológica o aislante se usan los menores voltajes, mientras que para muestras conductoras se usa el mayor voltaje por no presentar al final daño alguno la muestra. La preparación de las muestras es de gran facilidad, por lo general se recubren las muestras no conductoras con una fina capa de un recubrimiento conductor. Los resultados son imágenes digitales, que dependiendo del equipo pueden lograr una gran resolución de hasta 20nm en los últimos equipos. Debido a efectos relacionados con el impacto de los electrones incidentes con la muestra, el microscopio puede evaluar el nivel de composición elemental superficial de la muestra con los rayos X emitidos por esta, arrojando un análisis *EDX* (Energy-dispersive X-ray spectroscopy).

3.4. Espectrofotometría UV-Visible

Esta técnica se basa en hacer incidir fotones de energía $h\nu$ sobre una muestra a analizar, y observar el porcentaje de intensidad (Transmitancia, T) que traspasa la muestra. El cambio en el espectro de Transmitancia está asociado con las transiciones electrónicas entre la Banda de Valencia (BV) y la Banda de Conducción (BC). La diferencia de energía entre el tope de la BV y un valle de la BC en el

espacio de momentos (k), es el valor de la brecha prohibida (E_g). Es así como una transición directa entre las bandas tienen el mismo k entre el máximo (BV) y el mínimo (BC), mientras en una transición indirecta, el máximo de BV ocupado por un electrón tiene un k diferente al mínimo de BC. Es así como, la absorbancia de la muestra a analizar esta dada por:

$$A = Log(T) \qquad \text{Donde} \qquad T = \frac{I}{I_0} \qquad \text{de modo que} \tag{3.20}$$

$$A = 2 - Log(\,\%T) \tag{3.21}$$

Teniendo los valores de Absorbancia, el coeficiente de absorción está dado por la relación:

$$\alpha = 2{,}303\frac{A}{d} \tag{3.22}$$

Donde A es la absorbancia y d el espesor de la muestra. De modo que con la ecuación de Tauc, se puede relacionar el ancho de brecha prohibida E_g, el coeficiente de absorción α y la energía del fotón incidente $h\nu$ a través de:

$$\alpha h\nu = B(h\nu - E_g)^m \tag{3.23}$$

Asi, utilizando las ecuaciones anteriores, modoficamos la relación de Tauc, quedando

$$\frac{2{,}303}{d}Ah\nu = B(h\nu - E_g)^m \tag{3.24}$$

$$Ah\nu = D(h\nu - E_g)^m \tag{3.25}$$

Donde las constantes 2.303, d y B se agrupan en una sola constante D. Es así, como m toma los valores de $m = \frac{1}{2}$ para una transición directa permitida, $m = \frac{3}{2}$ para una transición directa prohibida, $m = 2$ para una transición indirecta permitida y $m = 3$ para una transición indirecta prohibida. Haciendo la extrapolación lineal de la gráfica $(Ah\nu)^2$ Vs. $h\nu$ y encontrando el punto de corte con el eje de la energía fotónica encontramos los valores de E_g para el ZnO.[42]

Capítulo 4

Obtención de varillas de ZnO y ADN

Gran variedad de métodos de crecimiento se utilizan para la obtención de partículas o películas que estan compuestas por estructuras de ZnO (películas estructuradas). Este capítulo describe los procedimientos empleados para las diferentes clases de partículas de ZnO y películas estructuradas de ZnO que se lograron obtener en el desarrollo de este trabajo, los cuales están basados en procesos reportados en la literatura, como el de Zhang y Kerr;[43] un proceso sencillo de soluciones para obtener varillas sin usar altas temperaturas, la metodología de Duan et al[44] que utiliza los procesos Sol Gel e Hidrotérmico como camino para obtener tubos y varillas sobre sustratos, y la metodología hidrotérmica de Li et al[27] con la cual se logra obtener películas nanoestructuradas sobre sustratos de zinc.

4.1. Obtención de ZnO

4.1.1. Procedimiento Sol Gel

En el **Procedimiento Sol Gel (SG)**, una solución fue preparada utilizando acetato de Zinc Dihidratado ($(Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) como fuente del ion metálico, con una pureza de 99.5 % adquirido de Panreac e Hidróxido de Amonio ($NH_3 \cdot H_2O$) al 25 % como agente complejante. Una típica solución con concentración de 0.2M fue preparada agregando Acetato de Zinc en 25mL de agua desionizada a temperatura ambiente y agitación constante, manteniéndose incolora. Fue cambiado el valor de pH de 6 a 10 al agregar Hidróxido de Amonio gota a gota manteniendo la agitación, presentándose el cambio al color blanco en la solución. Se detuvo la agitación magnética, al aumentar la temperatura de la solución. Tres diferentes experimentos fueron realizados con temperaturas de 60°, 70° y 80°C du-

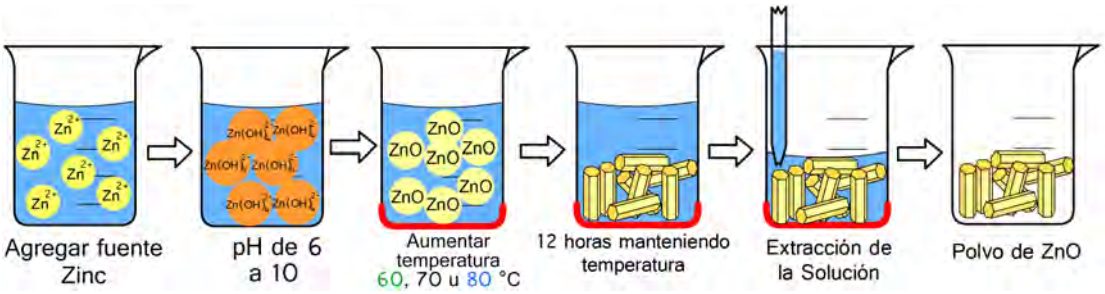


Figura 4.1: Esquema del Proceso SG, en la imagen se muestra el caso particular del tratamiento a una temperatura de 80°C para el crecimiento del ZnO.

rante 12 horas. Transcurrido este tiempo se dejó enfriar naturalmente, quedando un precipitado blanco en el recipiente contenedor. La solución traslucida fue extraída del recipiente, y realizando varios baños al precipitado con agua destilada, fueron eliminados complejos involucrados en la reacción. El precipitado obtenido en cada experimento fue secado a 90°C, obteniendo un polvo blanco. El producto fue sometido a un recocido de 500°C en un horno durante 5 horas, eliminando cualquier residuo de las reacciones. El Procedimiento SG presenta tres productos, donde las temperaturas de crecimiento de los cristales son de 60, 70 y 80°C, cambio decisivo en la búsqueda de la temperatura adecuada para la formación de las varillas de ZnO.

4.1.2. Procedimiento Hidrotérmico

El **Procedimiento Hidrotérmico (HT)** fue llevado acabo con una solución acuosa a 0.2 M, preparada en un volumen de 50 mL con cantidades adecuadas de Acetato de Zinc Dihidratado ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) al 99.5 % de pureza, y Acetato de Cadmio Dihidratado (($Cd(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) al 99.0 % de Panreac, variando la relación molar $R_m = Cd^{2+}/Zn^{2+}$ con valores de 0.00, 0.25, 0.50 y 0.75. Al agregar gota a gota de 4.0 a 5.5 mL Hidróxido de Amonio al 25 %, manteniendo agitación magnética constante se obtuvo un valor de pH=10. La solución fue sometida a 80°C por 2 horas, conservando la agitación magnética. Se dejó enfriar naturalmente hasta temperatura ambiente, para ser agregada la solución en recipiente de teflón de 135 mL de capacidad, agregado también una cantidad adecuada de agua desionizada para lograr un llenado al 80 % del volumen del recipiente, lo cual corresponde a 108 mL. Se introdujo el recipiente de teflón en un autoclave de acero inoxidable, sellando y asegurando el autoclave. La temperatura se aumentó a 100 °C durante un periodo de 10 horas en una plancha calefactora. Dejando enfriar naturalmente el autoclave se destapó y la solución fue sacada. Una capa blanca recubrió el fondo del recipiente de teflón, facilitando

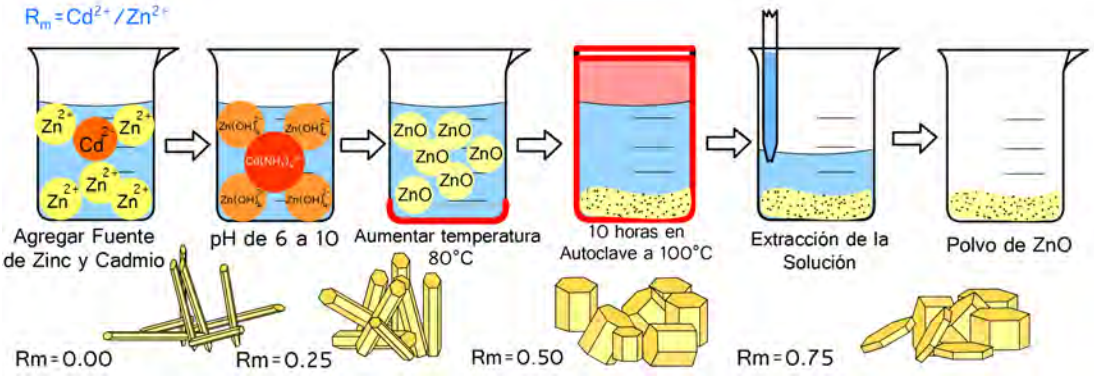


Figura 4.2: Esquema del Proceso HT variando la relacion molar $R_m = Cd^{2+}/Zn^{2+}$ con los valores de 0.00, 0.25, 0.50 y 0.75.

la extracción de la solución traslucida que ocupaba el recipiente. Varios baños con agua destilada se realizaron al precipitado blando, eliminando residuos de las reacciones involucradas en el proceso. Se sometió el precipitado a una temperatura de 90°C, evaporando contenido de agua y obteniendo un polvo blanco en el fondo del recipiente contenedor. El producto fue sometido a un recocido de 500°C en un horno durante 5 horas, eliminando cualquier residuo producido durante el proceso de las reacciones.

4.1.3. Procedimiento SILAR-Hidrotérmico

El **procedimiento SILAR-Hidrotérmico (SH)**, fue basado en la combinación de dos procesos de soluciones químicas, el primero el **método SILAR** (por sus siglas en ingles de *Successive Ionic Layer Adsorption and Reaction*), utilizado para el tratamiento previo de sustratos de vidrio con el fin de hacer un deposito de semillas de ZnO. El segundo método es el hidrotérmico, utilizado para el crecimiento de la película estructurada de ZnO sobre el sustrato tratado previamente. Un procedimiento típico fue realizado siguiendo los siguientes pasos.

Preparación de los sustratos

Láminas de vidrio portaobjeto de 2.5 x 2.0 cm fueron bañadas y enjuagadas con jabón y agua destilada. Los sustratos de vidrio fueron sumergidos en una solución de ácido sulfúrico y agua a una relación de 1:10, la temperatura fue aumentada a 100°C, llegando al punto de ebullición mientras se mantenía en agitación magnética durante 2 horas. Los sustratos fueron enfriados naturalmente y bañados con agua destilada. Una solución de etanol y acetona en relación 1:1 fue preparada y utilizada para sumergir los sustratos y posteriormente tratados con

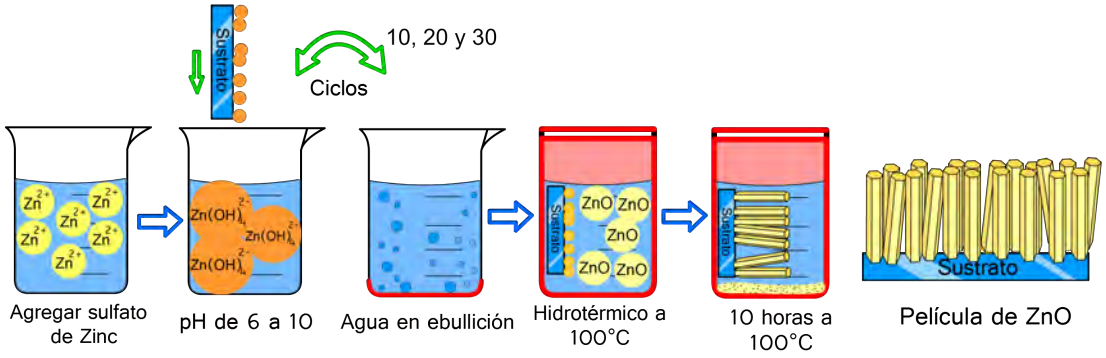


Figura 4.3: Esquema de los pasos del Proceso SH

ultrasonido durante 20 minutos. Los sustratos fueron almacenados en un recipiente con agua destilada hasta su posterior utilización.

Tratamiento de los sustratos

Fue preparada una solución acuosa a 0.1 M de sulfato de Zinc ($ZnSO_4 \cdot 7(H_2O)$ con pureza de 99.5 % de Panreac). Mientras la solución fue mantenida en agitación, fue agregado gota a gota 1.6 mL de Hidróxido de amonio al 25 %, cambiando el pH a un valor de 10. Un recipiente con agua desionizada fue preparado y calentado hasta el punto de ebullición. Una serie de sustratos fueron utilizados para hacer el depósito de semillas de ZnO con ciclos de 10, 20 y 30. Cada ciclo se compone de inmersión del sustrato en agua en ebullición por 2 segundos, y 2 segundos de inmersión en la solución precursora de iones de Zinc, la cual se mantiene a temperatura ambiente. Cada sustrato tratado con semillas es guardado en una cámara de limpieza hasta su utilización.

Crecimiento de las varillas

El crecimiento de las varillas de ZnO sobre los sustratos recubiertos de semillas se realiza llevando los mismos pasos del Proceso HT, utilizando una relación molar R_m =0.00. Las películas obtenidas después del proceso de tratamiento térmico a 500°C, son guardadas en la cámara de limpieza para su caracterización.

4.2. Obtención ADN

El **ADN** fue obtenido del bazo de cerdo siguiendo los procesos de lisis celular, desproteinización y precipitación.[45] El tejido fue homogeneizado en 20 mililitros de 1XSSC (NaCl 150 mM, citrato sódico 15 mM, pH=7.0) por cada gramo de

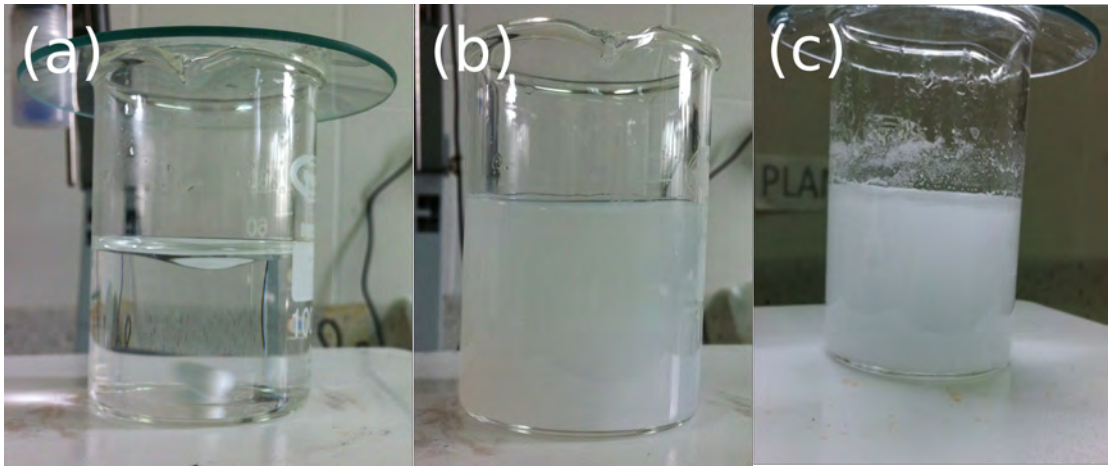


Figura 4.4: Cambios de la solución precursora de los Iones metalicos (Zn^{2+} ó Cd^{2+}) cuando (a) se inicia el proceso, (b) se cambia el pH a 10 y (c) se aumenta la temperatura a 80°C.

bazo de cerdo y filtrado posteriormente. Las células fueron precipitadas por centrifugación a 1000 g durante 15 minutos, resuspendiendo en EDTA 20 mM, NaCl 2,5 M, SDS 4 % (p/v). La mezcla fue agitada periódicamente durante 60 minutos y dejada a temperatura ambiente durante 12 horas. Después del período de lisis celular fue centrifugada la solución a 10000G durante 15 minutos para recuperar el ADN en el sobrenadante. Fue añadido un volumen igual de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1 v/v) a la solución manteniendo la agitación durante 15 minutos y centrifugada a 3000 g durante 5 minutos. Fue recuperada la fase acuosa, haciendo repetición al proceso de desproteinización, no fue observada interfase proteica. El ADN fue precipitado con etanol (95 %) a -20°C y resuspendida en TE (tris 10 mM, EDTA 1 mM). Fue realizado el análisis espectrofotométrico de la muestra de ADN y electroforesis en gel de agarosa y la tinción fue realizada con azul de metileno. El proceso se representa en la Figura 4.5

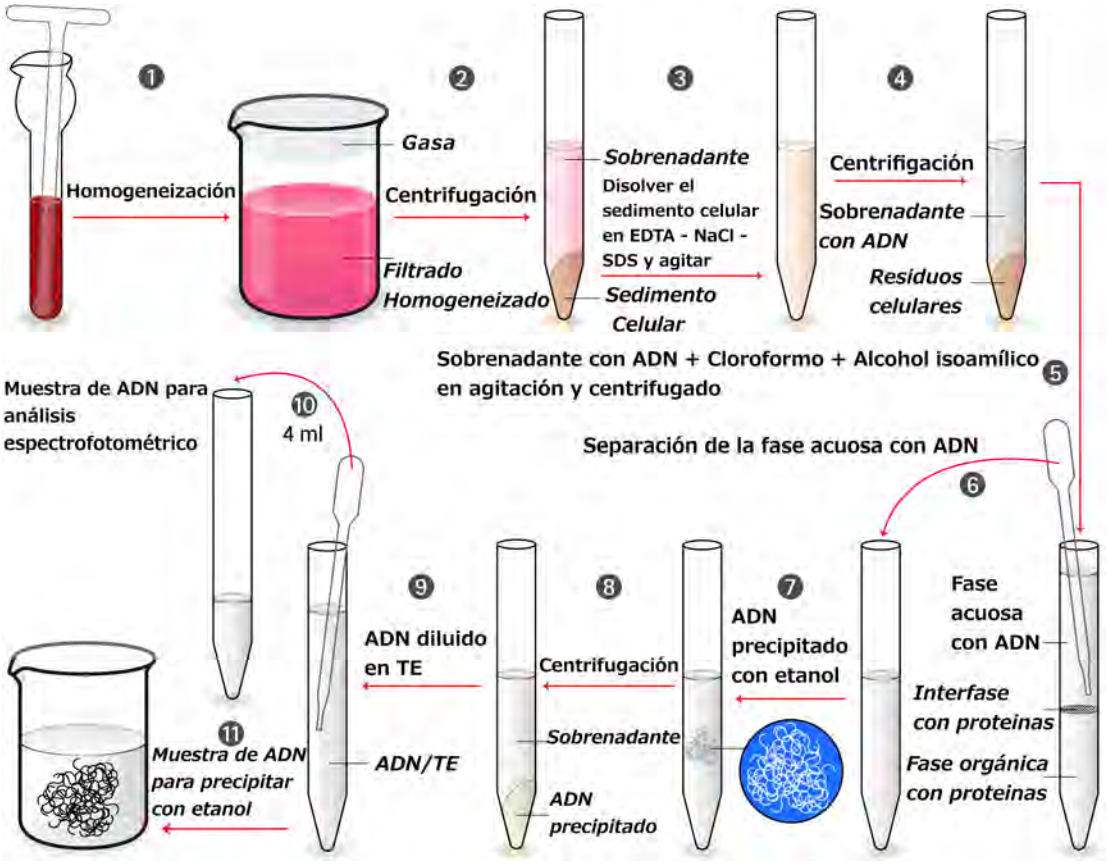


Figura 4.5: Esquema de obtención del ADN desde las celulas del bazo de cerdo.

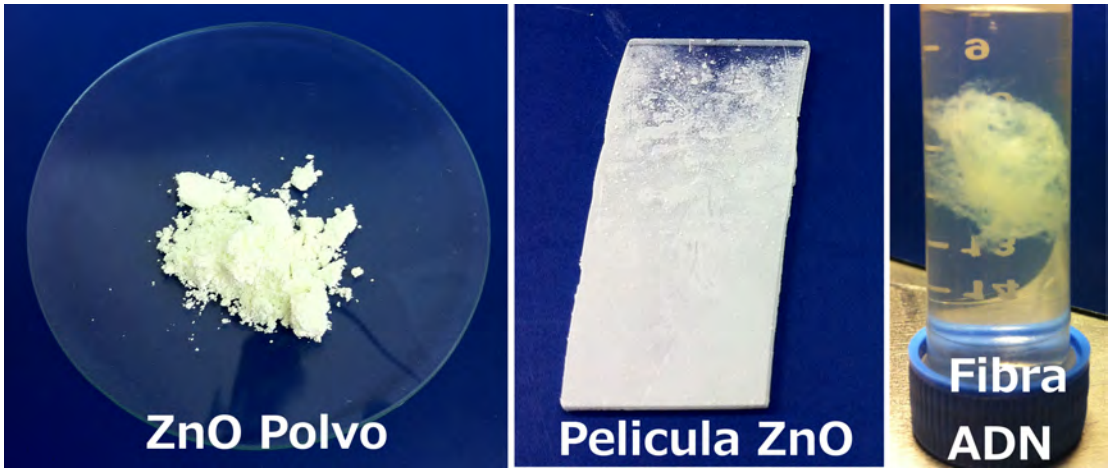


Figura 4.6: Fotografía de las muestras que se obtienen con los procesos descritos.

Capítulo 5

Conclusiones Generales

- Los métodos químicos usados para la síntesis del ZnO genera productos que mediante DRX, espectroscopia UV-Visible, MEB y Espectroscopia Raman, se obtiene ZnO de calidad cristalina con la morfología en varilla. Debido a la sencilla metodología de cada proceso, los métodos son de fácil acceso, bajo costo, gasto mínimo de energía.

- Usando el método Sol Gel se obtuvieron microvarillas alrededor de 1.7 μm de diámetro y 5.2 μm de longitud, mientras que por el método Hidrotérmico las varillas tienen diámetros de aprox. 1.2 μm y 15 μm de longitud, siendo este último método el que llega a aumentar las longitudes y reducir los diámetros de la microvarillas.

- Las películas del método SILAR-Hidrotérmico logran mantener la forma de varillas que se obtienen durante un proceso típico Hidrotérmico en las microestructuras que componen la película. Sin embargo el tratamiento de los sustratos con semillas por el proceso intermedio SILAR genera que las varillas tiendan a crecer alineadas perpendiculares a la superficie de los sustratos en el tratamiento por el método hidrotérmico como muestran las micrografías MEB. Debido a esto, el análisis por DRX muestra una dirección preferencial de hacia [0001], así como es observable en el espectro Raman la inhibición de bandas asignadas a los modos característicos del ZnO como $A_1(TO, LO)$ y $E_1(TO)$.

- La incorporación de cadmio en la red cristalina de ZnO genera cambios en los espectros Raman, los cuales son evidenciados con incrementos en las intensidades relativas, anchos y posiciones de las bandas Raman asignadas a los modos en donde se involucra el ion Zinc, el cual llega a ser sustituido por el ion Cadmio hasta en 2.85 % para una relación R_m=0.75. Sin embargo, la estructura cristalina de los polvos ZnO:Cd obtenidos mantiene la estructura

Hexagonal wurtzita al aumentar la incorporación de Cadmio en la red de ZnO desde R_m=0.25 hasta R_m=0.75. La brecha óptica se reduce al aumentar el valor de impurificación, teniendo los valores de 3.15, 3.03, 2.97 y 2.78 eV para los R_m 0.00, 0.25, 0.50 y 0.75 respectivamente.

- El cadmio en el ambiente de crecimiento de las partículas ZnO reduce la tasa de crecimiento a lo largo del eje c de la estructura cristalina del ZnO, produciendo que las formas de las partículas cambien de varillas largas de alrededor de 15.0 μm a mas varillas achatadas cerca de 2.0 μm, mientras que los diámetros pasan de valores cercanos a 1.2 μm a diámetros de 2.7 μm al aumentar la concentración de cadmio en las soluciones precursoras de 0.00 a 0.75 en los valores de R_m.

- El ADN obtenido mediante los procesos de lísis celular, desproteinización, y precipitación, presenta una buena concentración y calidad, evaluadas mediante la espectroscopia UV-Visible con los valores de la densidad óptica en las longitudes de onda 260 y 280 nm respectivamente, obteniendo valores de concentración entre 285.04 - 333.32 μg/ml y una calidad entre 1.83 - 1.86 obtenida de la relación A_{260}/A_{280}.

- Las bandas Raman asignadas a las vibraciones de la desoxirribosa en el grupo COC ubicada en 559 cm^{-1}, y el grupo fosfodioxy (PO_2^-) del esqueleto azúcar-fosfato ubicada en 1098 cm^{-1}, llegan a ser observables al incorporar microvarillas de ZnO en el ambiente de la cadena de ADN, interaccionando electromagnéticamente estos grupos moleculares del ADN con carga eléctrica en la superficie de las microvarillas de ZnO, mejorando la señal emitida de la molécula de ADN debido a la gran polarizabilidad que tiene el ZnO.

- El aumento significativo en la longitud de las varillas que pueden sobrepasar las 15 μm para el ZnO obtenido por el proceso Hidrotérmico, logra intensificar la señal Raman de todas las bandas características del ADN en el complejo ZnO-ADN, incluyendo los grupos de anclaje PO_2^- y COPOC así como las bandas asignadas a vibraciones de las bases nitrogenadas, un efecto que no se logró observar con las microvarillas obtenidas del proceso Sol Gel, dando evidencia de la importancia del contacto superficial de las varillas de ZnO con el ADN para la interacción en el complejo ZnO-ADN, donde las varillas obtenidas del proceso hidrotérmico aumentan la relación Área/volumen a 4.4 μm^{-1}, mientras las varillas obtenidas por Sol Gel logran un valor alrededor de 2.7 μm^{-1}.

- La potencia de excitación del láser en el análisis Raman es una variable indispensable de control para evitar la degradación de las fibras de ADN, donde potencias menores a 5.45 mW son recomendables para un láser de 473

nm. Sin embargo, potencias mayores a 5.45 mW aumenta las intensidades del complejo ZnO-ADN mostrando evidencias de desnaturalización para el ADN con ensanchamientos de las bandas, hasta observarse una banda ancha de gran intensidad que barre el rango del espectro del ADN entre 900 - 1800 cm^{-1}, desapareciendo toda banda característica del ADN, permaneciendo sin alteración la banda característica del ZnO alrededor de 441 cm^{-1}.

- Los grupos PO_2^- y COPOC del esqueleto azúcar-fosfato del ZnO-ADN muestran cambios en los esfuerzos respecto al ADN tanto tensiles (5×10^{-3} %) y de compresión (-10 $\times 10^{-3}$ %) respectivamente, efecto debido a la interacción de estos dos grupos del ADN con la superficie de las microvarillas de ZnO y que prevalece con las películas microestructuradas, teniendo valores de ϵ % = 0.73 $\times 10^{-3}$ para PO_2^- y -0.74 $\times 10^{-3}$ para COPOC.

- Las intensidades en el espectro del complejo ZnO-ADN usando el polvo de ZnO duplica aproximadamente los valores de las intensidades relativas del complejo ZnO-ADN de las películas microestructuradas, debido posiblemente a la facilidad que tienen las varillas en la solución coloidal de rodear y tener mayor contacto superficial con las fibras del ADN, logrando un incremento en los valores de intensidades Raman de la molécula de ADN.

- Las estructuras de ZnO obtenidas por los métodos químicos descritos en este trabajo se proponen como herramienta en el sondeo y detección de ADN por Espectroscopia Raman en las aplicaciones relacionadas con la biotecnología y ciencias afines.

Capítulo 6

Perspectivas

- Diferentes variables están presentes en el proceso Hidrotérmico, pero cabe destacar que dos de ellas para llegar a cambiar la morfología y/o reducir el tamaño, una es la temperatura a la cual es sometido el autoclave y la otra variable es el pH de la solución precursora, que en nuestros experimentos fueron 100 °C y pH=10 respectivamente.

- Con el método Hidrotérmico da muestras de gran calidad cristalina aun manteniendo una impurificación que en nuestro caso es de Cadmio, lo cual nos da la oportunidad de poder impurificar el ZnO usando el mismo método pero con otros elementos como pueden ser Aluminio, Cobre y Calcio, entre otros, modificando las propiedades intrínsecas que tiene el ZnO.

- Los sustratos así como su tratamiento de semillas abre la posibilidad de mejorar la calidad de las películas microestructuradas, pudiendo ser más uniformes en toda la superficie del sustrato, más alineadas las varillas y de menores dimensiones, hasta llegar a la escala nanométrica, usando sustratos cristalinos de Silicio, ITO, cuarzo y semillas de oro o cobre.

- Continuar el estudio de interación entre el ADN y el ZnO usando impurificaciones de este semiconductor como son con Aluminio, Cadmio, Cobre o Calcio entre otros, usando tanto el polvo como las películas estructuradas del ZnO impurificado.

- Usar las varillas de ZnO junto con las cuatro bases nitrogenadas por separado para caracterizar sus propiedades vibracionales por Espectroscopia Raman, usando diferentes grados de concentraciones, encontrando la mínima cantidad analizable para estos compuestos.

- El efecto de mejoramiento de la señal Raman para el ADN usando el ZnO se puede extender a otras moléculas biológicas como proteínas, ARN u oli-

gonucleótidos para su análisis o detección, esto debido a que en condiciones normales son difíciles de obtener y se encuentran en concentraciones muy bajas en una muestra.

Capítulo 7

Productos Asociados

7.1. Artículos

- D. A. Guzmán-Embús, M. Orrego Cardozo, C. Vargas-Hernández, Genomic DNA characterization of pork spleen by Raman spectroscopy, Journal of Applied Physics, Vol. 114[19], 194704(2013), DOI: 10.1063/1.4831948.
- D. A. Guzmán-Embús, M. F. Vargas-Charry and C.Vargas-Hernández, Optical and structural properties of ZnO and Zno:Cd particles grown by the hydrothermal method, *Journal of the American Ceramic Society*, Vol. 98[5], 2015, DOI: 10.1111/jace.13460.
- D. A. Guzmán-Embús, M. Orrego Cardozo, C. Vargas-Hernández, Genomic DNA binding to ZnO microrods, *Journal of Applied Physics*, **Aceptado**.
- D. A. Garzón-Ramos, D. A. Guzmán-Embús, D. C. Barrera-Andrade, A. M. Florez-Villamil y C. Vargas-Hernández, Diseño e implementación del sistema de espectroscopia de fotoimpedancia eléctrica en el desarrollo de sensores ópticos basados en microvaras de ZnO, Revista de Investigaciones - Universidad del Quindío, Vol. 25[1], pp. 141-146(2014).
- D. Garzón-Ramos, A. Martínez, D. Rico, D. A. Guzmán-Embús, C. Vargas-Hernández, Sistema SILAR para el crecimiento de películas semiconductoras con diferentes aplicaciones, Revista de Investigaciones - Universidad del Quindío, Vol. 23[1], pp. 16-22(2012).
- D. A. Garzón-Ramos, D. A. Guzmán-Embús, C. Serna-Plata, D. C. Galvez-Coy, C. Vargas-Hernández, Estudio de las propiedades estructurales, vibracionales y eléctricas de la matriz compleja PVA + microvaras de ZnO, Revista Colombiana de Materiales, Vol. 5, pp. 250-256(2014).

- D. A. Guzmán-Embús y C. Vargas-Hernández, Método químico para el crecimiento de microvaras de ZnO, Por someter a revisión.

7.2. Proyectos de Investigación

- Contibución al **trabajo de grado en Ingeniería Electrónica** titulado *Desarrollo y evaluación de películas sensores de UV basadas en microestructuras de ZnO* del Ing. David A. Garzón Ramos, **Ganador de Versión XXIII - Concurso de Mejores Trabajos de Grado de Pregrado de la Universidad Nacional de Colombia, Agosto 2014**.

- Convocatoria **Programa Nacional de Semilleros de Investigación, creación e Inovación de la Universidad Nacional de Colombia 2013-2015**, proyecto titulado *"Amplificación de la señal Raman de ADN genómico utilizando microvaras de ZnO"*, con Código 23128 HERMES.

- Beca de **"Jovenes Investigadores e innovadores"**, convocatoria de COLCIENCIAS 617 de 2013, Proyecto titulado *"Crecimiento de películas de nanoestructuradas de ZnO con recubrimiento de nanopartículas de cds y simulación de sus propiedades ópticas"*.

- Beca de **"Jovenes Investigadores e innovadores"**, convocatoria de COLCIENCIAS 525 de 2011, Proyecto titulado *"Síntesis de nanotubos de ZnO para potenciales aplicaciones en biotecnología"*.

7.3. Eventos

- Pasantia Investigativa. Universidad de Groningen, Holanda. Grupo de investigación *Photophysics and PhotoElectronics*, del 15 de septiembre al 10 de octubre de 2014.

- Presentación Oral. Titulada *Synthesis of ZnO nanostructures and their applications in DNA diagnostic*, XXIII International Materials Research Congress, Cancún (México), 17-21 Agosto de 2014.

- Presentación Poster. Titulada *Development and evaluation of UV sensor films based on ZnO microrods*, XXIII International Materials Research Congress, Cancún (México), 17-21 Agosto de 2014.

- Presentación Poster. Titulada *SERS effect of genomic DNA by ZnO microrods*, XXIII International Materials Research Congress, Cancún (México), 17-21 Agosto de 2014.

- Memorias. Titulada *Implementación de las técnicas SILAR e hidrotermal en la producción de recubrimientos microestructurados de ZnO con aplicaciones optoelectrónicas*, XXIV Encuentro Nacional de Estudiantes de Ingeniería Química y de Procesos, Cartagena de Indias, Colombia, 14-18 de Julio de 2014.

- Memorias. Titulada *Estudio de la adherencia de películas delgadas de ZnO en substratos de vidrio a través del método SILAR*, XXIV Encuentro Nacional de Estudiantes de Ingeniería Química y de Procesos, Cartagena de Indias, Colombia, 14-18 de Julio de 2014.

- Presentación Poster. Titulada *Caracterización óptica, vibracional y estructural de los cristales de ZnO:Cd crecidos por hidrotermal*, XXIII Congreso Internacional en Ciencia y Tecnología de Metalurgia y Materiales, Puerto Iguazú (Argentina), 20-23 Agosto de 2013.

- Presentación Poster. Titulada *Influencia de la concentración de Cd en las partículas de ZnO crecidas mediante la técnica hidrotermal*, III Congreso Nacional de Ingeniería Física, Medellín (Colombia), 10-14 Septiembre de 2012.

- Presentación Poster. Titulada *Caracterización vibracional, estructural y morfologíca de los cristales de ZnO: Cd crecidos por hidrotermal*, X Escuela Nacional de Física de la Materia Condensada, Manizales(Colombia), 1-3 Octubre de 2012.

- Presentación Poster. Titulada *Síntesis por Sol-Gel de Microvaras de ZnO*, XXIV Congreso Nacional de Física, Bogotá (Colombia), 3-7 octubre de 2011.

JOURNAL OF APPLIED PHYSICS **114**, 194704 (2013)

Genomic DNA characterization of pork spleen by Raman spectroscopy

D. A. Guzmán-Embús,[1] M. Orrego Cardozo,[1,2] and C. Vargas-Hernández[1,a)]
[1]*Laboratorio de Propiedades Ópticas de materiales (POM), Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales, Manizales, Caldas 127, Colombia*
[2]*Línea Biología Molecular y Salud (BIMSA)-Grupo Neuroaprendizaje, Universidad Autónoma de Manizales, Manizales, Caldas, Colombia*

(Received 5 September 2013; accepted 3 November 2013; published online 19 November 2013)

In this paper, the study of Raman signal enhancement due to interaction between ZnO rods and pork spleen DNA is reported. ZnO microstructures were synthesized by the Sol-Gel method and afterward combined with porcine spleen DNA extracted in the previous stages, following standardized cell lysis, deproteinization, and precipitation processes. Raman spectroscopy was used for the characterization of structures of ZnO and ZnO-DNA complex, and the results show the respective bands of ZnO wurtzite hexagonal phase for modes E_2 (M), A_1(TO), E_2(High), E_1(LO), and 2LO. Due to the SERS effect in the spectral range from 200 to 1800 cm,$^{-1}$ Raman bands caused by vibrations of the deoxyribose C-O-C binding were also observed, producing deformation of the ring as shown in the 559 cm^{-1} peak. The broad band at 782 cm^{-1}, together with the complex vibration of the string 5'-COPO-C3′, is over a wide band of thymine (790 cm^{-1}) or cytosine (780 cm^{-1}). A prominent band near 1098 cm^{-1} assigned to symmetric stretching vibration phosphodioxy group (PO_2^-) DNA backbone is most favoured in intensity by the addition of ZnO particles originated by the SERS effect. This effect suggests a possible mechanism for enhancing the Raman signal due to the electromagnetic interaction between a DNA molecule and the flat surface of the ZnO rod. © *2013 AIP Publishing LLC*. [http://dx.doi.org/10.1063/1.4831948]

I. INTRODUCTION

Deoxyribonucleic acid (DNA) is a macromolecule that contains the genetic information used in the development and function of cellular and sub-cellular DNA virus organisms. From the chemical viewpoint, DNA is a polymer of nucleotides, i.e., a polynucleotide. The nucleotides consist of a sugar (deoxyribose)—a nucleobase can be adenine (A), thymine (T), cytosine (C), or guanine (G)—and phosphate group acting as a coupling with the next nucleotide, forming phosphodiester bonds; the sugar is roughly perpendicular to the attached base: the base planes are perpendicular to the fibre axis.[1] What distinguishes one nucleotide from another is the nitrogenous base; therefore, the DNA is specified by naming only the sequence of its bases. The sequential arrangement of these four bases along the chain is the codification of the genetic information (see Figure 1).[2]

The purine (A and G) and the pyrimidine (C and T) nucleobases are highly conjugated molecules, which have important effects on properties such as the structure, electronic distribution, and absorption capacity of the light of nucleic acids. The resonance between the atoms in the ring makes most of the links have the dual nature of partial binding, and as a consequence of this fact, the pyrimidines are arranged as flat molecules, while purines are quasi-flat with a slight twist. Due to the resonance, all bases absorb ultraviolet light and nucleic acids are characterized by a strong absorption at wavelengths near 260 nm.[3]

UV spectroscopy allows nucleic acids to be detected and quantified by registering the absorbance at 260 nm; detection is much more specific if you get the full absorption spectrum of the studied dissolution. The absorbance at 260 nm of the native DNA (non-denatured) allows the quantification of the DNA: 1 unit of A_{260} DNA double-stranded is equivalent to a concentration of 50 μg/ml. The A_{260}/A_{280} ratio allows to determine the quality of the preparation. In pure samples of DNA, this relationship must be between 1.8 and 2.0. If it is a homogenous preparation of nucleic acid, it must not be contaminated by the presence of any other chromophore. Higher values indicate the presence of RNA and lower values indicate contamination with phenol and/or proteins. This absorbance ratio is used with great frequency during the processes of purification of nucleic acids.[4]

The nucleobases are hydrophobic and relatively insoluble in water at cellular pH close to neutrality. Acid or alkaline pH databases acquire charge and increase their solubility in water. Stacking hydrophobic interactions is one of the main types of interaction between the nucleobases, where two or more nucleobases are placed so that their rings' planes are parallel. Stacking incorporates a combination of Van der Waals and dipole-dipole interactions between the nucleobases, helping to minimize the contact with water and is of great importance in stabilizing the three-dimensional structure of nucleic acids.[3]

DNA is made up of two helical strands of polynucleotides wound around the same axis,[1] joined together by intermolecular forces called as hydrogen bonds. The most important functional groups of nucleobases are the carbonyl

a)Author to whom correspondence should be addressed. Electronic mail: cvargash@unal.edu.co

 © 2013 AIP Publishing LLC

[This article is copyrighted as indicated in the abstract. Reuse of AIP content is subject to the terms at: http://scitation.aip.org/termsconditions. Downloaded to] IP: 181.132.143.203 On: Tue, 19 Nov 2013 21:44:33

Figura 7.1: ***Journal Applied Physics***

ELSEVIER

Applied Surface Science

Available online 18 April 2015

In Press, Accepted Manuscript — Note to users

Genomic DNA binding to ZnO microrods

D.A. Guzmán-Embús[a], M. Orrego Cardozo[b], C. Vargas-Hernández[a, c]

[a] Laboratorio de Propiedades Ópticas de Materiales (POM). Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, Manizales, Caldas 127, Colombia

[b] Línea Biología Molecular y Salud (BIMSA)-Grupo Neuroaprendizaje. Universidad Autónoma de Manizales, Manizales, Caldas, Colombia

[c] Department of Physics and Astronomy, The University of Texas at San Antonio, 1 UTSA Circle, San Antonio, Texas 78249, USA

Received 27 January 2015, Revised 7 April 2015, Accepted 9 April 2015, Available online 18 April 2015

Show less

doi:10.1016/j.apsusc.2015.04.067

Highlights

- ZnO microrods were produced by hydrothermal synthesis.
- DNA was extracted from pork spleen cells by cellular lysis, deproteinization and precipitation.
- The analysis of the DNA binding to the ZnO was performed using Raman spectroscopy a technique that allowed for the evaluation of the effect that the presence of the ZnO in the complex has on the DNA structure.
- We show the compression and tensile stresses generated at the ZnO/DNA interface.
- The relative vibrational mode intensities of the nitrogenous bases is increased.

Abstract

In this work, ZnO microrods were produced by hydrothermal synthesis. DNA was extracted from pork spleen cells by cellular lysis, deproteinization and precipitation. The analysis of the DNA binding to the ZnO was performed using Raman spectroscopy a technique that allowed for the evaluation of the effect that the presence of the ZnO in the complex has on the DNA structure. Vibrational spectral bands from the DNA molecule and hexagonal wurtzite ZnO were observed and classified as E_2(M), A_1(TO), E_2(High), E_1(LO) and 2LO. The Raman signals from the vibrational bands corresponding to the phosphodiester bond 5′-C-O-P-O-C3′ and bond stretching of the PO_2^- group, as well as ring vibrations of the nitrogenous bases of the DNA, were enhanced by the presence of the ZnO microrods. The bands from the modes corresponding to the C-O and O = P-O$^-$ molecules of the DNA backbone were observed to exhibit larger spectral shifts due to the compression and tensile stresses generated at the ZnO/DNA interface, respectively. In addition, the relative vibrational mode intensities of the nitrogenous bases increased.

Figura 7.2: ***Applied Surface Science***

journal
of the American Ceramic Society

journal

J. Am. Ceram. Soc., 1–8 (2015)
DOI: 10.1111/jace.13460
© 2015 The American Ceramic Society

Optical and Structural Properties of ZnO and ZnO:Cd Particles Grown by the Hydrothermal Method

Diego A. Guzmán-Embús, María F. Vargas-Charry, and Carlos Vargas-Hernández†

Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales, Laboratorio de Propiedades Ópticas de Materiales (POM), Km 9 vía al Aeropuerto la Nubia A.A, Manizales-Caldas 170003, Colombia

Here, we examine the structural, vibrational, optical, and morphological properties of ZnO particles synthesized by the hydrothermal method, incorporating cadmium at different concentrations through the molar ratio $R_m = Cd^{+2}/Zn^{+2}$ and a thermal treatment at 500°C. The X-ray diffraction results demonstrated the high crystallinity of the ZnO compound with a wurtzite-type hexagonal structure. The Raman scattering spectra demonstrated that the ZnO vibrational modes occur in the region between 200 and 1300 cm^{-1}, which is associated with different vibrational configurations characteristic of the ZnO molecule: E_2(Low), E_2(M), A_1(TO) E_1(TO), $2B_1$(High), E_2(High), and TA + LO. The modes that were most affected by the incorporation of Cd^{2+} were those assigned to $2E_2$(Low), E_2(M), and $2B_1$(High), and this effect was associated with a greater displacement of Zn^{2+} ions. The optical study showed a reduction in the band gap and a decrease in the crystalline quality due to the substitution of Cd^{2+} in the ZnO lattice. Cadmium incorporation affected the morphology of the ZnO:Cd particles, changing the lengths and diameters of the ZnO rods; when the Cd concentration was increased, the ZnO rods shortened, forming coin-type hexagonal structures.

I. Introduction

Metal oxides are of particular interest because of their suitability for potential technological applications in various scientific fields. Specifically, zinc oxide (ZnO), a semiconductor of Group II–VI compounds with a wide, direct band gap of 3.37 eV and a large exciton binding energy of 60 meV, permits better operating conditions for electronic devices, including high voltage switching, the ability to maintain high electric fields, low noise generation, a higher operation temperature, and a higher operation power.[1] In addition, ZnO has properties of interest for optoelectronic, mechanical, piezoelectric, and biotechnological applications and for a variety of applications for LED devices,[2] transistors,[3] gas sensors,[4] bactericides,[5] DNA sensors,[6] solar cells,[7] piezoelectric generators,[8] and cancer metastasis inhibitors.[9] The remarkable appeal and versatility of ZnO lie in the potential structured shapes it can achieve, including ribbons, rings, tubes, helixes, rods, wires, sheets, and flowers; depending on the specific application, one specific morphology must be created. Much interest has been generated by the application of several distinct ZnO structures. Once these structures have been functionalized for different biological systems, such as bacteria, proteins, viruses, or DNA,[10] they produce links that enable the use of optical techniques, such as Raman spectroscopy, to amplify the signal characteristics of the biological system, a technique known as surface-enhanced Raman spectroscopy or surface-enhanced Raman scattering.

The entire structure repertoire has generated increased interest due to the rise of nanoscience and nanotechnology. By controlling the growth conditions, it is possible to generate specific diameters, lengths, structural defects, and alignments.[11] Several growth techniques, such as combustion synthesis,[12] chemical solution method,[13] chemical vapor deposition,[14] microemulsion route,[15] vapor-solid mechanism,[16] sol–gel method,[17] microwave-assisted synthesis,[18] and plasma-molecular beam epitaxy,[19] have been used to obtain ZnO. The hydrothermal method is a simple and efficient methodology to obtain different morphologies at low equipment cost; as this approach does not require large investments of energy, large-scale production can be implemented.[20] Many of the intrinsic properties of ZnO can be modified by incorporating elements such as Al, Sb, In, Cu, Mn, N, Co, and Cd into its structure; these doping agents may make the oxide more attractive and can even completely or partially change the shapes of the grown particles. Many studies of doped ZnO:Cd have been performed on films; however, few of these works have investigated the properties of this combination and their influence on the formation of particles. The Cd doping of ZnO microstructures is important because Cd modulates the band gap of ZnO to a lower level, and it can suppress deep-level emission, decrease the charge-transfer resistance and increase the capacitance.[21,22] This article presents a study of the influence of the cadmium concentration on the morphology and properties of ZnO particles. The techniques used were X-ray diffraction (XRD), Raman spectroscopy, UV-visible spectroscopy, and scanning electron microscopy.

II. Experimental Procedure

Powder samples of ZnO:Cd particles were obtained by preparing a 50 mL aqueous solution with deionized water, 0.2*M* zinc acetate dihydrate ($Zn(CH_3COO)_2{\cdot}2H_2O$), and 0.2*M* cadmium acetate dihydrate $\{Cd(CH_3COO)_2{\cdot}2H_2O\}$, with purities of 99.9% and 99.5%, respectively. The relative concentrations of the metallic ion sources were obtained through the molar ratio $R_m = Cd^{+2}/Zn^{+2}$, using values of $R_m = 0.00$, 0.25, 0.50, and 0.75. Ammonium hydroxide, 2–4.5 mL, was added as a complexing agent to adjust the pH to 10. The solutions were maintained under constant magnetic stirring. A white solution was obtained at the end of the process. Heat energy was provided through a heating plate by ramping to a temperature of 80°C in 5 min and maintaining this value for 2 h in the presence of magnetic stirring. The solution was then left to cool to room temperature. Next, the solution was transferred to a Teflon-lined stainless steel autoclave (135 mL), sealing it at 80% of its capacity after adding deionized water to the solution. The solution was heated to 100°C for 10 h and subsequently left to cool to room temperature. The obtained precipitate was collected and rinsed

E. C. Dickey—contributing editor

Manuscript No. 35525. Received August 27, 2014; accepted December 17, 2014.
†Author to whom correspondence should be addressed. e-mail: cvargash@unal.edu.co

Figura 7.3: ***Journal of the American Ceramic Society***

DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DEL SISTEMA DE ESPECTROSCOPIA DE FOTOIMPEDANCIA ELÉCTRICA EN EL DESARROLLO DE SENSORES ÓPTICOS BASADOS EN MICROVARAS DE ZnO

DESIGN AND IMPLEMENTATION OF AN ELECTRIC PHOTOIMPEDANCE SPECTROSCOPY SYSTEM IN THE DEVELOPMENT OF OPTICAL SENSORS BASED ON ZnO MICRORODS

D. A. Garzón-Ramos*, D. A. Guzmán-Embús, D. C. Barrera-Andrade, A. M. Florez-Villamil y C. Vargas-Hernández.

Laboratorio de Propiedades Ópticas de los Materiales
Universidad Nacional de Colombia – Sede Manizales

Recibido: 17 de febrero de 2014
Aceptado: 23 de marzo de 2014
E-mail: dagarzonr@unal.edu.co

RESUMEN

El creciente interés por la adquisición de nuevo conocimiento acerca del comportamiento de materiales empleados en la construcción de dispositivos optoelectrónicos ha llevado a la búsqueda de nuevas técnicas de instrumentación y caracterización de materiales que permitan comprender fenómenos electrónicos asociados a propiedades ópticas inherentes a materiales semiconductores. Por esta razón se desarrolló una cámara hermética con emisión controlada en el UV-visible e infrarrojo cercano que se integra al impedancimetro Solartron SI 1260 IMPEDANCE/GAIN-PHASE ANALYZER con el objetivo de mejorar y diversificar su funcionamiento; convirtiendo así este equipo en un sistema capaz de realizar medidas de impedancia eléctrica en presencia de diferentes tipos de radiación óptica a través de la técnica de espectroscopia de foto-impedancia eléctrica. Se realizaron estudios de películas microestructuradas de ZnO a través del sistema de foto-impedancia eléctrica en temperatura ambiente y a 120 °C. Los resultados indican una disminución de la impedancia en un orden de magnitud para las películas en presencia de radiación UV, hecho asociado a la cercanía de esta radiación con el gap de 3.17 eV calculado para las microvaras de ZnO. Los mejores resultados en los tiempos de saturación y relajación de las películas se lograron a 120 °C. De este modo se logró determinar la alta eficacia de las películas microestructuradas de ZnO como posibles sensores resistivos de UV cuando se someten a altas temperaturas.

Palabras claves: Foto-impedancia eléctrica, microvaras, sensor UV, ZnO.

ABSTRACT

The growing interest in the acquisition of new knowledge about the behavior of materials used in the construction of optoelectronic devices has led to the search for new materials instrumentation and characterization techniques for understanding electronic phenomena associated with optical properties inherent to semiconductor materials. For this reason, an airtight chamber with controlled emission in the UV - visible and near infrared was developed. This chamber was integrated to the impedance analyzer Solartron SI 1260 IMPEDANCE / GAIN - PHASE ANALYZER in order to improve and diversify their operation, thus making this equipment in a system capable of carrying out electric impedance measurements in the presence of different types of optical radiation using electrical photoimpedance spectroscopy technique. Microstructured studies of ZnO films were made at ambient temperature and 120 °C through the system developed. The results indicate a decrease in impedance in one order of magnitude for the films in the presence of UV radiation. This fact was associated with the proximity of this radiation with the gap of 3.17 eV calculated for ZnO microrods. The best results in the saturation and relaxation times of the films were obtained at 120 °C. Thus, it was possible to determine the high efficiency of the ZnO microstructured films as possible UV resistive sensors under high temperature.

Keywords: Electric photoimpedance, microrods, UV sensor, ZnO.

Figura 7.4: ***Revista de Investigaciones - Universidad del Quindío***

Revista de Investigaciones - Universidad del Quindío

SISTEMA SILAR PARA EL CRECIMIENTO DE PELÍCULAS SEMICONDUCTORAS CON DIFERENTES APLICACIONES

SILAR SYSTEM TO GROWTH OF SEMICONDUCTOR FILMS WITH DIFFERENT APPLICATIONS

David Alfredo Garzón Ramos[1], Alfredo Martínez[1], Daniel Rico[1], Diego Alonso Guzmán Embús[1], Carlos Vargas Hernández[1]

[1] Laboratorio de Propiedades Ópticas de los Materiales, Universidad Nacional de Colombia - Sede Manizales, Campus La Nubia. Manizales - Caldas - Colombia, correo electrónico: dagarzonr@unal.edu.co, joamartínezma@unal.edu.co, daaricoay@unal.edu.co, daguzmane@unal.edu.co, cvargash@unal.edu.co.

Recibido: Marzo 5 de 2012
Aceptado: Mayo 10 de 2012
*Correspondencia del autor: Laboratorio de Propiedades Ópticas de los Materiales, Universidad Nacional de Colombia - Sede Manizales, Campus La Nubia. Manizales - Caldas - Colombia, correo electrónico: dagarzonr@unal.edu.co

RESUMEN

Se diseñó e implementó un sistema electromecánico controlado por teclado que permite controlar los parámetros de crecimiento de películas semiconductoras tales como ZnO y ZnSe sobre substratos de vidrio. Los parámetros que se pueden controlar vía teclado son tiempo y secuencia de inmersión en las soluciones, además del número de ciclos. El Sistema SILAR es autónomo, versátil y cuenta con medidas de control como la temperatura. Se han empleado microcontroladores que se adaptan al sistema electromecánico y motores paso a paso que ubican los portamuestras en las soluciones respectivas, la información de los parámetros de control es visualizada en un display.

Los resultados obtenidos en los crecimientos de las películas semiconductoras indican que el sistema SILAR automatizado posee un alto desempeño que permite obtener muestras homogéneas con espesores que son controlados por medio del número de ciclos. Este sistema permite reducir los costos, el tiempo y obtener un mejor control sobre los parámetros empleados en diferentes aplicaciones.

Palabras clave: Sistema Semi-acoplado, SILAR automatizado, Películas de ZnO.

ABSTRACT

It was designed and implemented an electromechanical system controlled by keyboard for controlling the growth parameters of semiconductor films such as ZnO and ZnSe on glass substrates. The parameters that can be controlled by keyboard are time and sequence of the immersion in the solutions, and the number of cycles. The SILAR system is autonomous, versatile, with control measures such as temperature. Microcontrollers have been used to fit the electromechanical system and stepper motors place the sample holder in the respective solutions, the information of the control parameters is displayed on a display.

The results obtained in the growth of semiconductor films indicate that the automated system SILAR has a high performance for obtaining a homogeneous sample with thicknesses controlled by the number of cycles. This system reduces costs, time and gets better control over the parameters used in different applications.

Key words: Semi-coupled system, automated SILAR, ZnO films.

Figura 7.5: ***Revista de Investigaciones - Universidad del Quindío***

Revista Colombiana de Materiales N. 5 pp. 250-256

Edición Especial Artículos Cortos

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ESTRUCTURALES, VIBRACIONALES Y ELÉCTRICAS DE LA MATRIZ COMPLEJA PVA + MICROVARAS DE ZnO

D. A. Garzón-Ramos[*]*, D. A. Guzmán-Embús, C. Serna-Plata, D. C. Galvez-Coy, C. Vargas-Hernández*
Laboratorio de Propiedades Ópticas de los Materiales, Universidad Nacional de Colombia. Manizales. Colombia

* Contacto: dagarzonr@unal.edu.co

RESUMEN

En los últimos años se ha enfocado gran parte de la actividad investigativa a los dispositivos de producción de energía renovable, es así como toma importancia la búsqueda de materiales complejos que permitan obtener mayor eficiencia en el desarrollo de celdas combustibles de estado sólido. El uso de electrodos poliméricos evita el desgaste durante el proceso de carga-descarga de estos dispositivos; por esto se evaluó el acople de una matriz polimérica de PVA (Polyvinyl Alcohol) con microvaras de ZnO, depositada sobre substratos de vidrio. Las microestructuras fueron obtenidas a través de un proceso que combina el método hidrotermal con el método de disolución acuosa; el primero asociado al crecimiento de las microvaras, mientras el segundo se encarga de la obtención de la red polimérica. Se estudiaron las propiedades vibracionales, estructurales e impedancia eléctrica de las membranas. La espectroscopía Raman muestra el solapamiento de las bandas características del PVA para sus modos de estiramiento asociado al enlace C-C-O, C-C, C-O, CH-OH y el modo de flexión del enlace CH_2; al igual que los modos propios del ZnO correspondientes a E_2(High)-E_2(Low), A_1(TO) y E_2(High). Del análisis estructural por XRD se determinó una disminución en el ordenamiento cristalino de las membranas de PVA. Se encontró que la resistencia eléctrica de la matriz es del orden de 10^8 Ω, presentándose una reducción de un orden de magnitud en comparación a los valores para el PVA puro de 10^9 Ω. Las micrografías SEM evidencian la eficacia del método de síntesis para la obtención de las microvaras y el acople de la matriz compleja.

Palabras Clave: *Espectroscopia de impedancia, Microvaras ZnO, PVA, Espectroscopia Raman, XRD.*

ABSTRACT

Lately, a great part of research activity has been focused on production mechanisms of renewable energy, that is why is important to study complex materials which allows a more efficient obtaining in the development of combustible cells in the solid state. The use of polymer electrodes prevents waste during the charge-discharge of these mechanisms; for this reason the coupling of the polymer PVA (Polyvinyl Alcohol) matrix with a micro rod of ZnO, deposited over glass substrates, was studied. The microstructures were obtained through a process which combines the hydrothermal method and the method of the watery dissolution; the first one is associated with the growth of the micro rods, while the second one has to do with the obtaining of the polymeric red. Vibrational, structural and electric impedance properties of the films were studied. Raman spectroscopy shows the overlapping of the characteristic bands of the PVA for its

Figura 7.6: ***Revista Colombiana de Materiales***

agencia de noticiasun
www.agenciadenoticias.unal.edu.co

Universidad | Análisis | Política | Economía | Nación | Ciencia y Tecnología | Deportes | Academia | Cultura | Medioambiente | Salud | Productos

English News RSS TWITTER YOUTUBE FACEBOOK

Propiedades del ADN podrían analizarse más rápidamente

Estudiante de la U.N. en Manizales investiga sobre el crecimiento de materiales. Foto cortesía.

El objetivo es analizar el ADN de los materiales. Foto cortesía.

La técnica que se utiliza es la exposición de películas. (Foto: Andrés Almeida Guano).

Este trabajo hace parte del Laboratorio en Propiedades Ópticas de los Materiales de la Sede Manizales. (Foto: Andrés Almeida Guano).

Manizales, sep. 05 de 2014 - Agencia de Noticias UN- A partir de la síntesis de materiales es posible hacer crecer partículas de óxido de zinc, con el propósito de que, al mezclarlas con ADN, pueda detectarse esta biomolécula para analizar sus propiedades.

Dicho procedimiento ha sido utilizado en la investigación de Diego Alonso Guzmán Embús, estudiante de maestría en Física de la U.N. Sede Manizales.

Guzmán Embús estudió la interacción de pequeñas partículas de óxido de zinc (ZnO) con ADN genómico -extraído del bazo del cerdo- usando la espectroscopia Raman como técnica de análisis, para evaluar las propiedades del ADN inmerso en un ambiente de partículas de óxido de zinc.

Algunas de las aplicaciones de este tipo de estudios beneficiarían al área de la farmacéutica, pues permite entender las interacciones que pueden suceder en el ADN en presencia de drogas que alteren la biomolécula.

Además, se suma la posibilidad de detectar ADN en mínimas cantidades, lo cual haría que se necesitara poca muestra para análisis en los laboratorios, con el fin de dar con resultados de mayor confiabilidad.

"Lo que hacemos es crecer materiales por medio de rutas químicas, es decir, que en mi trabajo, específicamente, lo que busco es lograr o construir un procedimiento a través de una técnica química, que me puede llegar a facilitar el método para hacer síntesis de materiales", afirma el integrante del Laboratorio en Propiedades Ópticas de los Materiales.

La síntesis de materiales es la obtención de un material cualquiera con características específicas. Por ejemplo, que resistan altas temperaturas, que no se oxiden, que soporten sustancias de alto o bajo pH o que sirvan para ser empleados en dispositivos electrónicos.

"En nuestro caso usamos la técnica hidrotérmica que consiste en sellar una solución química en un contenedor llamado autoclave, algo similar a lo que sucede con la olla pitadora (en la cual la solución química sería la sopa y el autoclave la olla), consiguiendo así las condiciones óptimas para crear el material que queremos con las características deseadas, a saber, el óxido de zinc tiene partículas con forma de varas tan pequeñas que cabrían aproximadamente 80 de ellas a lo largo del diámetro de un cabello humano", explica el investigador.

Sin embargo, en Colombia la mayoría de laboratorios de investigación no tienen equipos sofisticados que permitan, a través de un método más elaborado, obtener resultados similares, lo cual hace que los investigadores busquen metodologías de fácil acceso, económicas y de demanda de energía baja, comenta Guzmán.

Más recientes

- Paneleros podrían ahorrar hasta 8.000 Kv anuales
- Zarzaparrilla baja la glucosa y más hallazgos en *UN Periódico*
- U.N. y Área Metropolitana del Valle de Aburrá estudiarán arbolado urbano
- Ebola en Colombia: riesgo bajo que necesita prevención alta
- Proceso de paz posibilitaría política pública para el campo
- Sistema de alertas evidencia eventos psicosociales en colegios
- UN Radio, entre las diez emisoras más escuchadas en Bogotá
- Detectan reactivación de herpes en pacientes trasplantados
- Primera cosecha de papas antioxidantes
- Auditores fortalecen procesos de calidad en la U.N.
- Visión de país marca proyección de la U.N. a 2034
- Educación, la mejor estrategia para mirar al Pacífico
- Diario de la Universidad Nacional
- En residuos de café florece hongo comestible y medicinal
- Dilatar el proceso, principal riesgo de la paz en Colombia
- Jóvenes paisas recorrieron Ruta de la innovación U.N.
- Desarrollo humano, imprescindible para una educación más social
- Estructuras académicas no deben perpetuarse en el tiempo
- Almidón de achira extrae nanopartículas de la plata
- Agendas de Conocimiento, temas cruciales para el país

Más vistos

- Abonos orgánicos líquidos aceleran proceso de compostaje
- Universidad Nacional fortalece relaciones académicas con Corea del Sur
- Solo 6,6 % de los bachilleres estudian carreras del agro
- Colección de murciélagos más grande del país está en la U.N.
- Gomitas a base de sidra con sabor muy natural

Figura 7.7: ***Artículo de Divulgación Cientifica - Agencia de Noticias UN***

Frase Científica

agencia de noticiasun
www.agenciadenoticias.unal.edu.co

English Universidad Análisis Política Economía Nación Ciencia y Tecnología Deportes Ac

Ciencia y Tecnología

Las microvarillas, de base hexagonal, se obtuvieron a través del método hidrotérmico. Cortesía *Journal of the American Ceramic Society*.

Con óxido de zinc mejoran detección del ADN

Manizales, Apr. 17 de 2015 - Agencia de Noticias UN- Estudiante de la Maestría en Física logró que varillas de una micra de diámetro (un cabello humano tiene un grosor de 80 micras), se adhirieran a la superficie de esta molécula que guarda la información genética de los seres vivos.

Tales microestructuras son de óxido de zinc, un compuesto químico con forma de polvo blanco, que por ser compatible con elementos biológicos y poseer campos eléctricos, se puede detectar con mayor facilidad, a través de una espectroscopia Raman, al combinarse con el ADN, procedimiento que ahorra tiempo y dinero en investigaciones.

Este fue el resultado de la tesis de Diego Alonso Guzmán Embús, estudiante de la Maestría en Física de la U.N. Sede Manizales, proceso documentado en un artículo publicado en 2013 en la revista *Journal of Applied Physics*, y dos más que están por salir en las publicaciones *Journal of the American Ceramic Society* y *Applied Surface Science*.

La espectroscopia Raman toma el nombre del físico indio Chandrasekhara Venkata Raman, ganador del premio Nobel de Física en 1930 por descubrir el efecto o señal que lleva su apellido, y que consiste en que cada material dispersa la luz de forma única, lo que genera un espectro (registro gráfico) característico de sus moléculas.

"Esta técnica se usa para analizar materiales biológicos y polímeros, entre otros. Como en el grupo de investigación queríamos estudiar el ADN, usamos el microscopio Raman, pero a pesar de cambiar la concentración de la muestra y modificar las variables de medición del equipo, no se encontraba la señal", comentó el investigador.

La dificultad radicaba en que al realizar el análisis, la muestra estaba inmersa en una solución o medio acuoso que dificultaba su estudio y que bloqueaba la señal Raman, lo que no permitía obtener el espectro del ADN.

Aprovechando el conocimiento sobre el óxido de zinc, acumulado desde su pregrado, el estudiante, a través de procesos químicos, logró sintetizar varillas de este material y, en un posterior experimento, adherirlas al ADN genómico obtenido del bazo de un cerdo.

El estudiante la Maestría en Física afirmó que el gran aporte de este trabajo es que se puede detectar ADN con poca cantidad. Además, tendría aplicación en el campo de la bioquímica y la medicina, donde para analizar las moléculas biológicas como las proteínas, el ARN y el ADN, se necesitan cantidades muy elevadas de material, lo que genera un gasto de tiempo, esfuerzo y dinero.

Todo el proceso de análisis con las microvarillas presentes demora de 12 a 15 minutos, mientras que en su ausencia no se detecta nada. Al compararla con otras técnicas de detección de ADN como la de fluorescencia, el académico indicó que la primera tiene más ventajas.

"Al aplicar una sustancia química, el ADN se ilumina o se vuelve fluorescente, y de esta manera revela su ubicación. Esa técnica visual no genera un espectro completo con datos de información acerca de lo que pasa con esta molécula", expresó Guzmán Embús.

El siguiente paso en la investigación es disminuir las dimensiones de las microvarillas para llegar a la escala nano, lo que implicaría reducir mil veces su tamaño.

"Reduciendo la escala funciona mucho mejor, porque las varas que usamos al principio son más grandes que las que usamos al final de los experimentos, y se obtiene un espectro mucho más detallado de las vibraciones del ADN, entonces se esperaría que mejore mucho más esta señal", aseguró el ingeniero físico.

Figura 7.8: ***Artículo de Divulgación Cientifica - Agencia de Noticias UN***

La Ciencia trabaja en la frontera entre el conocimiento y la ignorancia, no tenemos miedo de admitir lo que no sabemos, la única vergüenza es fingir que tenemos todas las respuestas.

Neil Degrasse Tyson, Cosmos: A Spacetime Odyssey

Bibliografía

[1] K. Mohanta and A. Pal. Diode junctions in single ZnO nanowires as half-wave rectifiers. *J. Phys. Chem. C*, 113(42):18047–18052, 2009.

[2] J. Hassan, M. Mahdi, Y. Yusof, H. Abu-Hassan, Z. Hassan, H. Al-Attar, and A. Monkman. Fabrication of ZnO nanorod/p-GaN high-brightness UV LED by microwave-assisted chemical bath deposition with $Zn(OH)_2$-PVA nanocomposites as seed layer. *Opt. Mater. (Amsterdam, Neth.)*, 35(5):1035–1041, 2013.

[3] B. Sun and H. Sirringhaus. Solution-processed zinc oxide field-effect transistors based on self-assembly of colloidal nanorods. *Nano Lett.*, 5(12):2408–2413, 2005.

[4] L. Zhang, J. Zhao, J. Zheng, L. Li, and Z. Zhu. Hydrothermal synthesis of hierarchical nanoparticle-decorated ZnO microdisks and the structure-enhanced acetylene sensing properties at high temperatures. *Sensors and Actuators B*, 158(1):144–150, 2011.

[5] Y. Cheng, S. Chou, and J. Chang. Development of flexible piezoelectric nanogenerator: Toward all wet chemical method. *Microelectron. Eng.*, 88(9):3015–3019, 2011.

[6] S. Chu, D. Li, P. Chang, and J. Lu. Flexible dye-sensitized solar cell based on vertical ZnO nanowire arrays. *Nanoscale Res. Lett.*, 6(38):1–4, 2011.

[7] M. Shoeb, B. Singh, J. Khan, W. Khan, B. Singh, H. Singh, and A. Naqvi. ROS-dependent anticandidal activity of zinc oxide nanoparticles synthesized by using egg albumen as a biotemplate. *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.*, 4(3):035015 (11pp), 2013.

[8] A. Kirthi, A. Rahuman, G. Rajakumar, S. Marimuthu, T. Santhoshkumar, C. Jayaseelan, and K. Velayutham. Acaricidal, pediculocidal and larvicidal activity of synthesized ZnO nanoparticles using wet chemical route against blood feeding parasites. *Parasitol Res.*, 109(2):461–472, 2011.

[9] T. Jin, D. Sun, J. Su, H. Zhang, and H. Sue. Antimicrobial efficacy of zinc oxide quantum dots against listeria monocytogenes, salmonella enteritidis, and escherichia coli O157:H7. *J. Food Sci.*, 74(1):M46–M52, 2009.

[10] N. Kumar, A. Dorfman, and J. Hahm. Ultrasensitive DNA sequence detection using nanoscale ZnO sensor arrays. *Nanotechnology*, 17(12):2875–2881, 2006.

[11] O. Taratula, E. Galoppini, R. Mendelsohn, P. Reyes, Z. Zhang, Z. Duan, J. Zhong, and Y. Lu. Stepwise functionalization of ZnO nanotips with DNA. *Langmuir*, 25(4):2107–2113, 2009.

[12] A. Segura, J. Sans, F. J. Manjón, A. Mu noz, and M. Herrera-Cabrera. Optical properties and electronic structure of rock-salt ZnO under pressure. *Appl. Phys. Lett.*, 83(2):278–280, 2003.

[13] Y. Ding, Z. Wang, T. Sun, and J. Qiu and. Zinc-blende ZnO and its role in nucleating wurtzite tetrapods and twinned nanowires. *Appl. Phys. Lett.*, 90(15):153510 (10 pp), 2007.

[14] V. Zalamai, V. Ursaki, C. Klingshirn, H. Kalt, G. Emelchenko, and A. Redkin. Lasing with guided modes in ZnO nanorods and nanowires. *Appl Phys B*, 97(4):817–823, 2009.

[15] H. Morkoc and Ü. Özür. *Zinc Oxide: Fundamentals, Materials and Device Technology*, pages 37–49. Wiley-VCH, 2009.

[16] The Free Encyclopedia Wikipedia. Zinc oxide. online, 26 March 2015. http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Zinc_oxide&oldid=651177370.

[17] J. Bermúdez-Palonio. *Métodos de Difracción de Rayos X*. Pirámide, 1981.

[18] C. F. Klingshirn, B. K. Meyer, A. Waag, A. Hoffmann, and J. Geurts. *Zinc Oxide, From Fundamental Properties Towards Nobel Applications*, volume 120 of *Springer Series in Materials Science*, pages 7–37. Springer, 2010.

[19] R. Cuscó, E. Alarcón-Lladó, J. Ibá nez, L. Artús, J. Jiménez, B. Wang, and M. Callahan. Temperature dependence of raman scattering in ZnO. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, 75(16):165202, 1–11, 2007.

[20] F. Manjón, B. Marí, J. Serrano, and A. Romero. Silent raman modes in zinc oxide and related nitrides. *J. Appl. Phys. (Melville, NY, U. S.)*, 97(5):053516, 1–4, 2005.

[21] M. Ŝćepanović, M. Grujić-Brojĉin, K. Vojisavljević, S. Bernikc, and T. Srećković. Raman study of structural disorder in ZnO nanopowders. *J. Raman Spectrosc.*, 41(9):914–921, 2010.

[22] J. Serrano, A. Romero, F. Manjón, R. Lauck, M. Cardona, and A. Rubio. Pressure dependence of the lattice dynamics of ZnO: An ab initio approach. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, 69(9):094306, 1–14, 2004.

[23] C. F. Klingshirn. *Semiconductor Optics*, pages 137–165. Springer, cuarta edición edition, 2006.

[24] W. Li, E. Shi, W. Zhong, and Z. Yin. Growth mechanism and growth habit of oxide crystals. *J. Cryst. Growth*, 203(1-2):186–196, 1999.

[25] J. Jeong and J. Lee. Investigation of initial growth of ZnO nanowires and their growth mechanism. *Nanotechnology*, 21(47):475603,1–5, 2010.

[26] S. Baruah and J. Dutta. Effect of seeded substrates on hydrothermally grown ZnO nanorods. *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 50(3):456–464, 2009.

[27] Z. Li, X. Huang, J. Liu, Y. Li, and G. Li. Morphology control and transition of ZnO nanorod arrays by a simple hydrothermal method. *Mater. Lett.*, 62(10-11):1503–1506, 2008.

[28] The New York Times Robin Marantz Henig. Not so elementary, watson. online, Septiembre 2002. http://www.nytimes.com/2002/09/29/books/not-so-elementary-watson.html.

[29] K. Nakamoto, M. Tsuboi, and G. Strahan. *Drug-DNA Interactions:Structures and Spectra*. John Wiley and Sons, Inc, primera edición edition, 2008.

[30] The Free Encyclopedia Wikipedia. DNA. online, 31 March 2015. http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=DNA&oldid=654115791.

[31] J. García, J. Gavilanes, A. Martínez del Pozo, F. Montero, M. O naderra, and F. Vivanco. *Técnicas instrumentales de análisis en bioquímica*. Síntesis, 2 edición edition, 2002.

[32] Jr. G. Thomas, J. Benevides, S. Overman, T. Ueda, K. Ushizawa, M. Saitoh, and M. Tsuboi. Polarized raman spectra of oriented fibers of A DNA and B DNA: Anisotropic and isotropic local raman tensors of base and backbone vibrations. *Biophys. J.*, 68(3):1073–1088, 1995.

[33] A. Kumar, A. Pandey, S. Singh, R. Shanker, and A. Dhawan. Engineered ZnO and TiO_2 nanoparticles induce oxidative stress and dna damage leading to reduced viability of escherichia coli. *Free Radical Biol. Med.*, 51(10):1872–1881, 2011.

[34] X. Zhao, S. Wanga, Y. Wub, H. Youa, and L. Lv. Acute ZnO nanoparticles exposure induces developmental toxicity, oxidative stress and DNA damage in embryo-larval zebrafish. *Aquat. Toxicol.*, 136-137(1):49–59, 2013.

[35] A. Cai, A. Guo, Y. Chang, Y. Sun, S. Xing, and Z. Ma. Fast synthesis of DNA-assisted flower-like ZnO superstructures with improved photocatalytic and antibacterial performances. *Mater. Lett.*, 111(1):158–160, 2013.

[36] M. Tak, V. Gupta, and M. Tomar. Flower-like ZnO nanostructure based electrochemical DNA biosensor for bacterial meningitis detection. *Biosens. Bioelectron.*, 59(1):200–207, 2014.

[37] P. Reyes, Z. Zhang, H. Chen, J. Zhong Z. Duan, G. Saraf, Y. Lu, O. Taratula, E. Galoppini, and N. Boustany. A ZnO nanostructure-based quartz crystal microbalance device for biochemical sensing. *IEEE Sens. J.*, 9(10):1302–1307, 2009.

[38] RRUFF Base de datos gratuita. Zincite r060027. online, 6 de abril 2015. http://rruff.info/zincite/display=default/R060027.

[39] B. D. Cullity. *Elements of X Ray Diffraction.* Addison-Wesley, segunda edición edition, 1978.

[40] J. Hollas. *Modern Spectroscopy.* Wiley, cuarta edición edition, 2004.

[41] K. Kneipp, H. Kneip, I. Itzkan, R. Dasari, and M. Feld. Surface-enhanced raman scattering and biophysics. *J. Phys.: Condens. Matter*, 14(18):R597–R624, 2002.

[42] Francy Nelly Jimenez Garcia. *Crecimiento por baño químico y caracterización de películas semiconductoras semimagnéticas de ZnMnO con potenciales aplicaciones en la implementación de sensores de humedad.* PhD thesis, Universidad Nacional de Colombia - Sede Manizales, 2009.

[43] R. Zhang and L. Kerr. A simple method for systematically controlling ZnO crystal size and growth orientation. *J. Solid State Chem.*, 180(3):988–994, 2007.

[44] J. Duan, X. Huang, and E. Wang. PEG-assisted synthesis of ZnO nanotubes. *Mater. Lett.*, 60(15):1918–1921, 2006.

[45] M. Orrego. *Extracción preparativa de ADN. Prácticas de biología Molecular.* Universidad Autónoma de Barcelona, Unidad de bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias. Traducido del catalán y modificado por Mary Orrego Cardozo.