



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA ADSORCIÓN DE L- Y  
D-CISTEÍNA EN NANOPARTÍCULAS DE ORO POR  
ESPECTROSCOPIA RAMAN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

FÍSICO

P R E S E N T A :

SALAZAR ANGELES BENJAMIN

TUTOR

DRA. PENÉLOPE RODRÍGUEZ ZAMORA



CIUDAD UNIVERSITARIA, Cd. Mx., 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# Agradecimientos

Agradezco a mi familia por el apoyo brindado durante toda la vida en mi formación personal y profesional siempre. A Viridiana León por apoyarme y acompañarme durante estos años en la universidad. A la Dra. Penélope por permitirme trabajar con ella durante el servicio social y la tesis de licenciatura. Un agradecimiento al grupo de trabajo, Dr. Ignacio Garzón, Dra. Gabriela Díaz, Dr. Oliver Paz y Dr. Fernando Buendía.

Agradezco al proyecto IN108817 DGAPA-UNAM (PAPIIT) por financiar la beca de tesis de licenciatura.

# Resumen

El trabajo aquí presente es un estudio experimental que pretende obtener pruebas y conclusiones contundentes en el debate sobre la adsorción de la cisteína y así dilucidar cuál de los grupos funcionales participa activamente en la adsorción de la nanopartícula de oro. Elegimos la cisteína como molécula ligando con el fin de propiciar que tanto el amino como el carboxilo tengan la disponibilidad de interactuar libremente con la superficie de las nanopartículas de oro (AuNPs).

El análisis vibracional de AuNPs protegidas por cisteína se realizó mediante espectroscopía Raman, ya que esta es una técnica analítica poderosa que puede proporcionar información clave sobre la estructura y los procesos de enlace entre los átomos de las moléculas así como del proceso de adsorción, tanto en la fase sólida como líquida. Los datos de espectroscopía Raman nos permitieron determinar las diferencias estructurales que la superficie metálica de las AuNPs induce en la molécula de cisteína después de la adsorción. Identificamos los cambios en las bandas de frecuencia vibracional características de la cisteína después de la adsorción con respecto a la molécula libre. Además, a través de la colaboración teórica se determinó el estado de conformación de la cisteína y los sitios de adsorción en las nanopartículas de oro mediante búsquedas de optimización global basadas en Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) considerando dos cúmulos de oro, Au<sub>9</sub> y Au<sub>34</sub>. Los experimentos se realizaron con LCisteína (LCis) ortorrómbica y DCisteína (DCis) monoclinica para completar una descripción experimental de la molécula antes y después de la adsorción en AuNPs, incluida su fase cristalina inicial.

Nuestros resultados, sustentados principalmente en los resultados experimentales y respaldados por los cálculos teóricos, indican que la configuración de cisteína zwitteriónica estable favorecida es aquella que se encuentra con mayor semejanza al rotámero que localiza el grupo carboxilo en la antiposición y el grupo amino en la posición *gauche*, y que los sitios de adsorción son a través del azufre del grupo tiol y uno de los oxígenos del grupo carboxilo. Con esto se proporciona una mejor descripción de los mecanismos de enlace de las moléculas con ligando tiol en pequeñas nanopartículas de oro.

# Índice general

<b>Agradecimientos</b>	<b>I</b>
<b>Resumen</b>	<b>II</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Nanopartículas de Oro . . . . .	1
1.2. Nanopartículas con Ligando Tiol . . . . .	2
1.3. Cisteína . . . . .	3
1.4. Adsorción de Cisteína en AuNPs . . . . .	5
<b>2. Métodos Experimentales</b>	<b>8</b>
2.1. Fundamentos Teóricos . . . . .	8
2.1.1. Hidrólisis Asistida por Microondas para Síntesis de Nanopartículas Metálicas . . . . .	8
2.1.2. Microscopía Electrónica de Transmisión . . . . .	9
2.1.3. Difracción de Rayos X . . . . .	11
2.1.4. Fundamentos Teóricos de la Espectroscopía Raman . . . . .	13
2.2. Métodos Experimentales . . . . .	23
2.2.1. Hidrólisis Asistida por Microondas para Síntesis de Nanopartículas de Oro . . . . .	23
2.2.2. Microscopía Electrónica de Transmisión . . . . .	23
2.2.3. Difracción de Rayos X . . . . .	24
2.2.4. Espectroscopía Raman . . . . .	24
<b>3. Métodos Computacionales</b>	<b>25</b>
3.1. El Problema Molecular . . . . .	25

3.2. Teoría del Funcional de la Densidad . . . . .	26
3.2.1. Teoremas de Hohenberg-Kohn . . . . .	27
3.2.2. DFT sin Orbitales . . . . .	28
3.2.3. DFT con Orbitales . . . . .	29
3.2.4. Pseudopotenciales . . . . .	32
3.3. Cálculos del Espectro Raman . . . . .	32
<b>4. Resultados Experimentales</b>	<b>36</b>
4.1. Nanopartículas de Oro . . . . .	36
4.2. Estructura Molecular de la Cisteína . . . . .	37
4.2.1. Estructura Cristalina . . . . .	37
4.2.2. Análisis Vibracional por Espectroscopía Raman . . . . .	37
4.3. Nanopartículas de Au Protegidas con L- y D-Cisteína . . . . .	42
4.3.1. Caracterización por Microscopía Electrónica de Transmisión . . . . .	42
4.3.2. Espectroscopía Raman . . . . .	43
<b>5. Resultados Computacionales</b>	<b>46</b>
5.1. Cálculos de Mínima Energía y Estabilidad . . . . .	46
5.1.1. Au <sub>9</sub> -Cis . . . . .	46
5.1.2. Au <sub>34</sub> -Cis . . . . .	48
5.2. Cálculos de los Espectros Raman . . . . .	50
5.2.1. Espectros Raman de Au <sub>9</sub> -Cis . . . . .	50
5.2.2. Espectros Raman de Au <sub>34</sub> -Cis . . . . .	51
<b>6. Discusión</b>	<b>53</b>
6.1. Cambios en las Bandas del Grupo Carboxilo y del Amino. . . . .	53
6.2. Cambios Conformacionales de la Banda Vibracional C <sub>β</sub> S <sub>st</sub> . . . . .	54
6.3. Bandas Vibracionales Correspondientes al Enlace Au-Cis . . . . .	56
6.4. Comparación de Espectros Raman Experimentales y Calculados . . . . .	57
<b>7. Conclusiones</b>	<b>59</b>

# Índice de figuras

1.1. Celdas unitarias de las dos configuraciones cristalinas de la cisteína, átomo de azufre amarillo, carbón en gris, nitrógeno azul y oxígeno en rojo. a) Polimorfo monoclinico el cual está conformado por dos rotámetros. b) Polimorfo ortorrómbico conformado por un solo rotámetro. . . . .	4
1.2. Polimorfismos y conformeros isoméricos de la cisteína. a) Estructuras ortorrómbicas y monoclinicas de la cisteína con sus respectivos ángulos de torsión $NC_\alpha C_\beta S$ . b) Tres posibles conformaciones rotacionales isoméricas de la cisteína.	5
1.3. Ángulo diedro de la cisteína, el cual se define como los planos que pasan por los átomos $C_\gamma C_\alpha C_\beta S$ . Átomo de azufre amarillo, carbón en gris, nitrógeno azul y oxígeno en rojo. . . . .	6
2.1. Diagrama del microscopio electrónico de transmisión. La muestra es irradiada con un haz de electrones el cual es controlado por lentes electromagnéticas, la interacción del haz con la muestra produce distintas señales electrones retrodispersados, electrones Auger, rayos X característicos, rayos X <i>Bremsstrahlung</i> que permiten el análisis de la muestra. . . . .	11
2.2. Diagrama del funcionamiento de un difractor de rayos X. La generación de los rayos X ocurre mediante la desaceleración de electrones acelerados por emisión termiónica. El difractor se forma al variar el ángulo de incidencia de los rayos X con la muestra. . . . .	13
2.3. La dispersión de la luz en un medio puede darse de manera elástica dispersión Rayleigh e inelástica dispersión Raman; Stokes $\nu_0 > \nu_S$ o Anti-Stokes $\nu_A > \nu_0$ .	17



2.4. Componentes del microscopio Raman. El haz de luz incide sobre la muestra y a través de la dispersión inelástica de la luz forma el espectro Raman, el cual es característico de cada material. . . . .	22
3.1. Procedimiento para el cálculo de los espectros de Raman. a) Optimización de la geometría del sistema a través de DFT periódico con el funcional de correlación de intercambio PBE más la corrección de dispersión de van der Waals de Tkatchenko y Scheffler. b) Evaluación de modo normal y cálculo de las derivadas del tensor de polarizabilidad para cada modo normal. c) Cálculo de las intensidades de dispersión Raman. . . . .	35
4.1. Imágenes de HAADF-STEM de resolución atómica de bajo y alto aumento de las AuNPs desnudas sintetizadas mediante hidrólisis asistida por microondas. Dependiendo de la muestra producida, se observó una distribución de tamaño homogénea y un diámetro promedio entre $0.7 \pm 0.1$ nm y $1.3 \pm 0.2$ nm. Las imágenes muestran las variaciones de intensidad a lo largo de las columnas atómicas. . . . .	37
4.2. Difractograma de la fase cristalina de L-cisteína (azul) y D-cisteína (roja) (a). Comparación con la base de datos XRD que demuestra que la L-cisteína tiene un polimorfismo ortorrómbico (b), mientras que la D-cisteína coincide con el polimorfo monoclinico (c). . . . .	38
4.3. Espectros Raman de L-cisteína (azul) y D-cisteína (roja) en (a) fase cristalina y (b) fase líquida. Los espectros Raman correspondientes a las muestras de L y D-cisteína en solución confirman la flexibilidad conformacional de la molécula en el agua, perdiendo su estructura cristalina. Las bandas Raman de ambas moléculas coinciden de manera cercana con los números de frecuencia correspondientes al rotámero P <sub>N</sub> de DCys. . . . .	39
4.4. Imágenes de TEM de las AuNPs después de la incorporación de cisteína. La muestra analizada consta de concentraciones finales de 0.25 mM para AuNPs y de 150 mM para cisteína. Imágenes representativas de la dispersión sin aglomeración de las nanopartículas de Au-Cis y una distribución de tamaño homogénea con un diámetro medio de $2.7 \pm 0.4$ nm. . . . .	42

4.5. Espectros Raman de Au-LCis (azul) y Au-DCis (rojo) en fase coloidal. La desaparición de la banda del grupo tiol correspondiente al modo  $SH_{str}$  a  $2549\text{ cm}^{-1}$  para el espectro de LCis y a  $2542\text{ cm}^{-1}$  ( $P_H$ ) y  $2574\text{ cm}^{-1}$  ( $P_N$ ) para el espectro de DCis indica la correcta adsorción de cisteína a través del átomo de azufre (después de romper el enlace S-H) para la L- y D-Cisteína. . . . . 44

5.1. Rotámeros de cisteína zwitteriónicos y sitios de adsorción correspondientes a los seis sistemas  $Au_9$ -Cis con las energías totales más bajas:  $P_{HOH} = 0.0\text{ eV}$ ,  $P_{HON} = +0.10\text{ eV}$ ,  $P_{CON} = +0.10\text{ eV}$ ,  $P_{COH} = +0.30\text{ eV}$ ,  $P_{NOH} = +0.35\text{ eV}$  y  $P_{NON} = +0.41\text{ eV}$  . . . . . 47

5.2. Rotámeros de cisteína zwitteriónica y sitios de adsorción correspondientes a los cuatro sistemas  $Au_{34}$ -Cis con energías totales:  $P_{HO_0} = 0.0\text{ eV}$ ,  $P_{HOH} = +0.07\text{ eV}$ ,  $P_{HON} = +0.16\text{ eV}$  and  $P_{cOH} = +0.50\text{ eV}$  . . . . . 49

6.1. Espectros Raman de a) Au-LCis coloidal en comparación con LCis en fase líquida; b) Au-DCis coloidal en comparación con DCis en fase líquida; c) Au-LCis coloidal en comparación con LCis en fase sólida; d) Au-DCis coloidal en comparación con DCis en fase sólida. Los espectros de fase sólida demuestran una definición estructural para la región entre  $1000$  y  $1150\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a vibraciones oscilantes del grupo  $NH_3^+$ , que se pierden en la fase líquida y se recuperan después de la adsorción en AuNPs . . . . . 55

6.2. Espectros Raman de cisteína monoclinica libre en cristal (verde); cisteína libre en fase líquida (azul) y adsorbida en AuNPs en fase líquida (negro). La banda vibracional a  $300\text{ cm}^{-1}$  emerge de la formación del enlace S-Au, correspondiente a un modo de estiramiento. . . . . 57

# Capítulo 1

## Introducción

Los sistemas constituidos por una nanopartícula pequeña de oro ( $< 3$  nm) y una monocapa de ligandos que contienen al grupo tiol (SR) han sido de gran interés en las últimas décadas debido a su alta estabilidad y a las peculiares propiedades ópticas, electrónicas y catalíticas que surgen de la fuerte afinidad entre los átomos de oro y el azufre del grupo tiol (1; 2; 3; 4; 5; 6). Estas propiedades dependientes del tamaño hacen que los sistemas conformados por una nanopartícula de oro con ligandos moleculares tiolados  $Au_n(SR)_m$  sean objeto de estudio en ciencias de la superficie, biología molecular, ciencia de materiales y química inorgánica, con aplicaciones potenciales en detección, administración de fármacos, nanoelectrónica y catálisis (7; 8; 9; 10; 11; 12; 13; 14). Una comprensión completa de la estructura de la interfaz y los mecanismos de adsorción de los sistemas  $Au_n(SR)_m$  es todavía un objetivo que se debe alcanzar, y una forma de lograrlo es estudiar sistemas que contengan aminoácidos de cisteína como el elemento con grupo tiol.

### 1.1. Nanopartículas de Oro

Las nanopartículas de oro (AuNPs) son estructuras de átomos que tienen un tamaño menor a 100 nm, estas pueden adoptar diferentes tamaños y geometrías y con ello diversas propiedades físicas y químicas (15). Debido a esto es de gran interés el encontrar técnicas de síntesis que permitan el control del tamaño y la forma de las nanopartículas. La síntesis de nanopartículas se divide en dos categorías la síntesis de ‘arriba hacia abajo’ y de ‘abajo hacia arriba’. La primera categoría consiste en la división de sólidos másicos en partes más

pequeñas a través de técnicas mecano-químicas como la molienda, la evaporación térmica o *sputtering*. La segunda metodología consiste en la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución. Algunos de los métodos de síntesis son: reducción fotoquímica y radioquímica, irradiación con microondas, uso de dendrímeros y síntesis solvotermal. En particular estas técnicas se han refinado para sintetizar nanopartículas de oro con tamaños y formas definidas (16; 17).

Los estudios en la síntesis de nanopartículas de oro se han centrado en la monodispersión de tamaños y formas, permitiendo seleccionar propiedades físicas de estos sistemas con gran precisión. Una consecuencia importante del tamaño de la nanopartícula son los efectos cuánticos que se hacen notables en las nanopartículas de oro con un diámetro menor a los 2 nm (18). Un ejemplo de esto son las propiedades de absorción y fluorescencia de nanopartículas de oro (19)

Los estudios acerca de las propiedades físico químicas del oro en esta escala tienen múltiples aplicaciones, incluyendo en la medicina el desarrollo de estructuras que se comportan como agentes reguladores de genes, portadores de fármacos, agentes de imagenología (20); detección del reconocimiento molecular en procesos químicos, como detección de matriz de ADN en el que la unión de oligonucleótidos funcionalizados con nanopartículas de oro conduce cambios medibles en la conducción eléctrica del sistema (21); y la catálisis de algunos procesos como la oxidación de CO a baja temperatura además de desarrollos recientes en la epoxidación de propileno, la reacción de cambio de agua y gas, la hidrogenación de hidrocarburos insaturados y la oxidación selectiva en fase líquida (22).

## 1.2. Nanopartículas con Ligando Tiol

El grupo funcional tiol está compuesto por el enlace de un átomo de azufre y un átomo de hidrógeno (-SH), y su comportamiento es de gran interés en la investigación de nanociencia debido a su gran afinidad a los metales, particularmente al oro. Las moléculas que tienen la presencia del grupo -SH se comportan como ligandos para formar complejos de metales tiolados en particular los sistemas con oro  $Au_n(SR)_m$ . Debido a esta afinidad se han perfeccionado metodologías de síntesis de nanopartículas de oro a través de biomoléculas con el

grupo funcional tiol que permiten realizar AuNPs con tamaños y formas bien definidas(23). Estos mecanismos de pureza molecular han permitido realizar estudios de frontera en las AuNPs de tamaños menores de 2 nm, como el estudio de las propiedades magnéticas, la quiralidad y su relación con los ligandos y los átomos de oro de la superficie (24; 25).

### 1.3. Cisteína

La cisteína ( $C_3H_7NO_2S$ ) es un aminoácido no esencial con grupos funcionales tiol, carboxilo y amino, cada uno de los cuales puede operar como un centro de enlace (26). La protonación y desprotonación de los grupos funcionales carboxilo y amino, depende del pH del medio donde se encuentren, por lo que en la cisteína pueden encontrarse de dos maneras: la forma zwitteriónica, en la que los grupos funcionales son  $C_\gamma OO^-$  y  $NH_3^+$  y en la forma no-zwitteriónica, en la que un átomo de hidrógeno del grupo amino migra al grupo carboxilo dejando a los grupos funcionales de la siguiente manera  $C_\gamma OOH$  y  $NH_2$ . Es decir mientras que en la primera forma la distribución de carga es no uniforme en la molécula, en la forma no-zwitteriónica sí lo es (27; 28; 29). La estructura molecular de la cisteína presenta dos polimorfos diferentes: monoclinico y ortorrómbico Fig.1.1. El polimorfo monoclinico se caracteriza por los ángulos que se forman entre los vectores de la base, los cuales son dos ángulos rectos con respecto a uno de los vectores primitivos y un ángulo  $\alpha$  entre los vectores restantes Fig.1.1a), lo cual determina las simetrías del sistema: inversiones y rotaciones de  $180^\circ$  con respecto del vector que forma los dos ángulos rectos. Por su parte, los vectores primitivos en el polimorfo ortorrómbico tiene la característica de que entre cualesquiera dos vectores de la base se forma un ángulo de  $90^\circ$  (Fig.1.1b)), lo cual además de la simetría de inversión tiene la propiedad de formar el cristal con rotaciones de  $180^\circ$  con respecto a cada uno de los ejes formados por los vectores primitivos de la base (30).

Mientras el polimorfo ortorrómbico tiene el grupo espacial  $P2_12_12_1$  y el polimorfo monoclinico cuenta con el grupo espacial  $P2_1$  (31; 32) (Fig.1.2a). Las diferencias entre ambas estructuras cristalinas incluyen el ángulo de torsión  $NC_\beta C_\alpha S$  que caracteriza la rotación del enlace  $C_\alpha-C_\beta$  y las correspondientes distancias de enlace C-S. Además, mientras que la forma ortorrómbica tiene sólo una molécula en la unidad asimétrica, la forma monoclinica tiene dos, que a su vez difieren entre ellas en términos de los mismos parámetros.

## Polimorfismos de la Cisteína

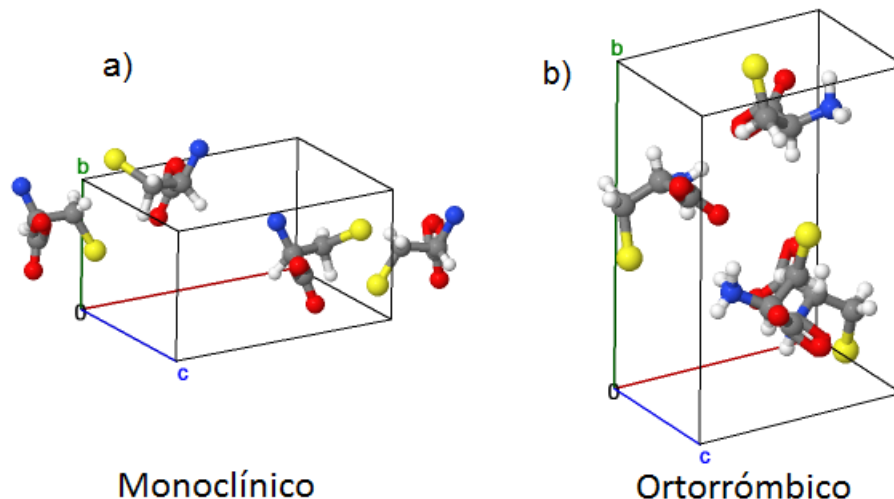


Figura 1.1: Celdas unitarias de las dos configuraciones cristalinas de la cisteína, átomo de azufre amarillo, carbono en gris, nitrógeno azul y oxígeno en rojo. a) Polimorfo monoclinico el cual está conformado por dos rotámeros. b) Polimorfo ortorrómbico conformado por un solo rotámero.

Además del polimorfismo, en la cisteína encontramos tres configuraciones isoméricas diferentes en su forma cristalina: un polimorfo ortorrómbico con conformación *gauche*, ángulo de torsión  $\text{NCCS}$ , entendiéndose esto por el ángulo que se forma entre los planos que pasan por los átomos de  $\text{NC}_\beta\text{C}_\alpha$  y  $\text{C}_\beta\text{C}_\alpha\text{S}$ , igual a  $65.3^\circ$  y distancia de enlace C-S de  $1.8111 \text{ \AA}$ , y dos polimorfos monoclinicos con conformación *gauche* y *trans*; ángulos de torsión  $\text{NC}_\beta\text{C}_\alpha\text{S}$  iguales a  $74.4^\circ$  y  $-170.2^\circ$  y longitudes de enlace C-S de  $1.8189 \text{ \AA}$  y  $1.8070 \text{ \AA}$  respectivamente (29; 33; 34; 35). Dadas las tres conformaciones isoméricas que la cisteína puede adoptar debido a su ángulo de torsión rotativo  $\text{NC}_\beta\text{C}_\alpha\text{S}$ , hay tres posibles conformeros, definidos por la orientación relativa de los grupos amino, carboxilo y tiol. Cada conformación rotacional isomérica, o rotámero, se caracteriza por el átomo o grupo funcional que está en antiposición (conformación *trans*) al grupo tiol:  $\text{P}_\text{H}$  para la conformación en la que el átomo de hidrógeno está en la antiposición y ambos grupos carboxilo y amino están en la posición *gauche* (es decir a  $60^\circ$  con respecto al grupo tiol);  $\text{P}_\text{C}$  para la conformación con el grupo carboxilo en la antiposición y el grupo amino en la posición *gauche*; y  $\text{P}_\text{N}$  para la conformación con el grupo amino en la antiposición y el grupo carboxilo en la posición *gauche* (Fig. 1.2 b).

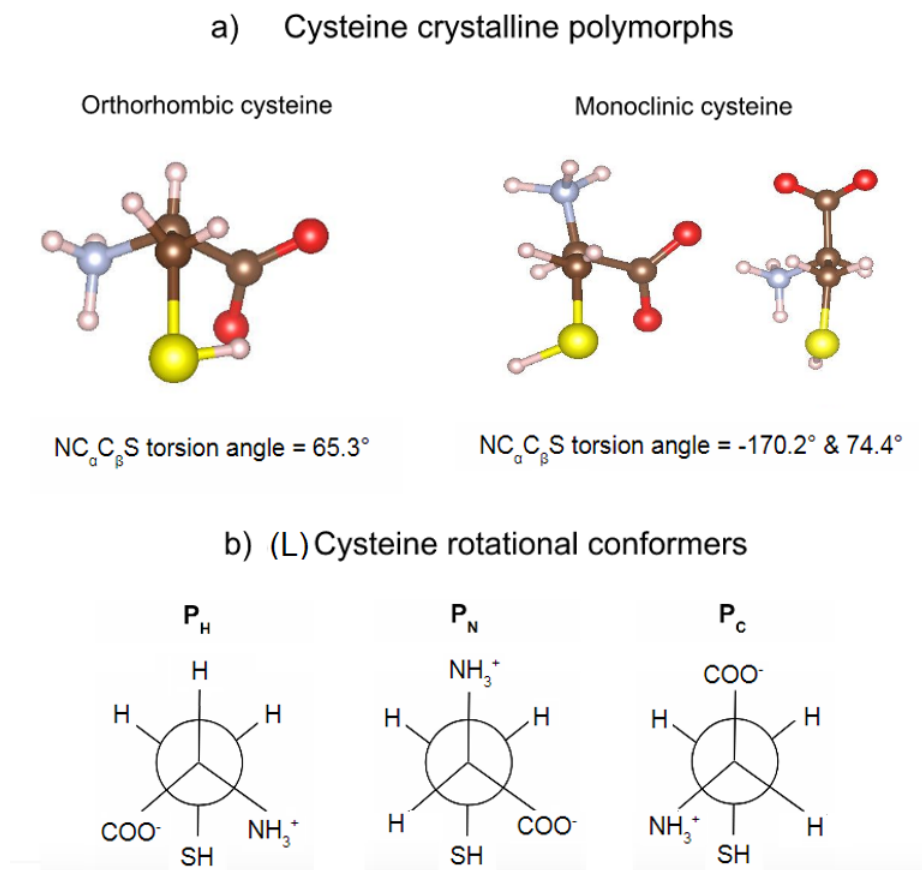


Figura 1.2: Polimorfismos y conformeros isoméricos de la cisteína. a) Estructuras ortorrómbicas y monoclinicas de la cisteína con sus respectivos ángulos de torsión  $NC_{\alpha}C_{\beta}S$ . b) Tres posibles conformaciones rotacionales isoméricas de la cisteína.

Si consideramos cuatro átomos de una molécula, en particular los átomos  $C_{\gamma}C_{\beta}C_{\alpha}S$  para la cisteína, el ángulo diedro se define como el ángulo mínimo que se forma entre los planos que contiene a los átomos  $C_{\beta}C_{\alpha}S$  y el plano formado por los átomos  $C_{\gamma}C_{\beta}C_{\alpha}$ , Fig.:1.3).

## 1.4. Adsorción de Cisteína en AuNPs

Existe un debate actual en la literatura sobre cuáles son los mecanismos específicos que intervienen en el proceso de adsorción de las moléculas de cisteína en nanopartículas de oro. Se tiene un acuerdo generalizado sobre la interacción entre el grupo tiol y los átomos de oro de la superficie (36; 37), pero aún queda la pregunta de cuáles es el papel que desempe-

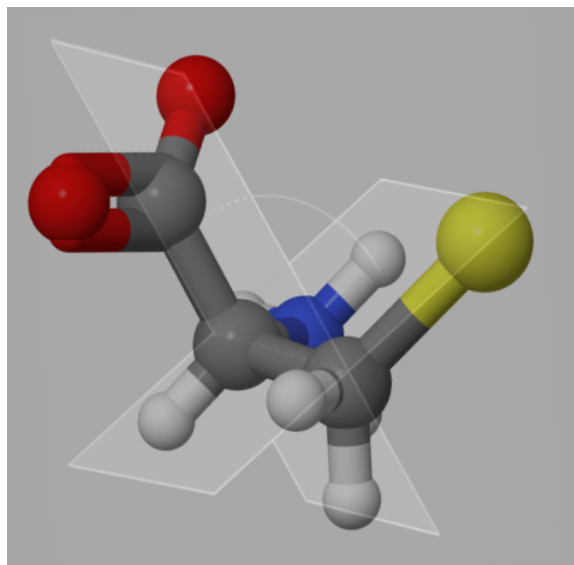


Figura 1.3: Ángulo diedro de la cisteína, el cual se define como los planos que pasan por los átomos  $C_{\gamma}C_{\alpha}C_{\beta}S$ . Átomo de azufre amarillo, carbono en gris, nitrógeno azul y oxígeno en rojo.

ñan los grupos amino y carboxilo en el proceso de adsorción de la molécula en la superficie del metal. Una serie de investigaciones pioneras sobre el tema (38; 39; 40) afirman que ambos grupos funcionales, el grupo amino y el grupo carboxilo, se adsorben en la superficie de oro, extrayendo conclusiones basadas en espectros SERS (*Surface-Enhanced Raman spectroscopy*) que muestran bandas vibracionales de ambos grupos funcionales mejorados después de la adsorción de cisteína en la superficie del metal. Sin embargo, las bandas SERS se desplazan debido a la molécula adsorbida (41), lo que hace que el análisis de frecuencia y la asignación sean una tarea bastante difícil y se preste a ambigüedades.

Algunos trabajos computacionales (42; 43; 44) han sugerido que la interacción Au-Cís tiene lugar a través de los grupos tiol y amino de la cisteína, ya que esta configuración produce la mayor energía de adsorción cuando se une a los átomos de oro en la superficie de la nanopartícula. Sin embargo, esta conclusión se basa en el supuesto de que la cisteína existe en su forma no zwitteriónica en solución, cuando la mayoría de las pruebas experimentales apuntan a una configuración zwitteriónica (45; 46). Cálculos computacionales posteriores (41) debaten la posibilidad de una interacción nitrógeno-oro dentro del sistema Au-Cís, ya que la estructura correspondiente calculada tiene una estabilidad baja, dejando así dos modos posibles de adsorción: sólo a través del grupo tiol, o vía el grupo tiol junto con



el grupo carboxilo (considerando uno o dos de los átomos de oxígeno del grupo COO). Esta hipótesis está respaldada por el trabajo previo de SERS dependiente de polarización (47).

En el presente trabajo, tiene como objetivo el estudio de la adsorción de la cisteína en nanopartículas de oro, obteniendo pruebas y con ello conclusiones que ayuden a dilucidar cuál de los grupos funcionales participa activamente en la adsorción de la nanopartícula de oro, elegimos la cisteína como molécula ligando, permitiendo que tanto el amino como el carboxilo interactúen libremente con la superficie de la nanopartícula de oro. Realizamos un análisis vibracional mediante espectroscopía Raman para estudiar AuNPs protegidas con cisteína, ya que es una técnica analítica poderosa que puede proporcionar información clave sobre la estructura y los procesos de enlace entre los átomos de las moléculas así como del proceso de adsorción, tanto en la fase sólida como líquida (5; 48; 49). Los datos de espectroscopía Raman nos permitieron determinar las diferencias estructurales que la superficie metálica de las AuNPs induce en la molécula de cisteína después de la adsorción. Identificamos los cambios en las bandas de frecuencia vibracional características de la cisteína después de la adsorción con respecto a la molécula libre. Además, a través de la colaboración teórica se determinó el estado de conformación de la cisteína y los sitios de adsorción en las nanopartículas de oro se determinaron mediante búsquedas de optimización global basadas en Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) que incluyen correcciones de dispersión considerando dos cúmulos de oro, Au<sub>9</sub> y Au<sub>34</sub>(50). Los experimentos se realizaron con LCisteína (LCis) ortorrómbica y DCisteína (DCis) monoclinica para completar una descripción experimental de la molécula antes y después de la adsorción en AuNPs de oro, incluida su fase cristalina inicial(42).

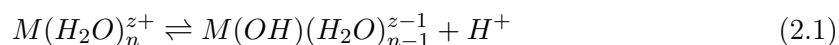
## Capítulo 2

# Métodos Experimentales

### 2.1. Fundamentos Teóricos

#### 2.1.1. Hidrólisis Asistida por Microondas para Síntesis de Nanopartículas Metálicas

La hidrólisis es una reacción química que ocurre cuando un ion hidratado (que puede ser un ion metálico) se desprotona. Un ion metálico puede presentarse como un ion hidratado  $M(H_2O)^{z+}$ , donde  $M$  representa el ion metálico y  $z$  es la carga del ion metálico. El enlace del agua con el metal se puede ionizar para producir un hidróxido metálico y un protón, descrito por la siguiente reacción(51).



Las condiciones de pH que promueve la hidrólisis del ion metálico depende de las propiedades físicas, en particular en la carga iónica  $z$ . Se ha creado métodos de síntesis de nanopartículas a partir de hidrólisis en sales precursoras.

La introducción de las microondas en las síntesis de materiales y compuestos ha permitido optimizar estos procesos gracias a que la aplicación de la irradiación de microondas pueden reducir los tiempos de síntesis (52).

Las ondas electromagnéticas, a través del campo de intensidad eléctrico, transfieren energía a las moléculas de la sustancia irradiada. Las microondas, correspondientes al rango de

frecuencias del espectro electromagnético que va de 300-30000 MHz, transfieren energía a las moléculas como resultado de la interacción del momento dipolar asociado a la distribución de carga eléctrica de la molécula con el campo eléctrico de las microondas irradiadas. El momento dipolar se orienta con el campo eléctrico el cual es oscilante en el tiempo. Así, las microondas producen de manera localizada rotaciones moleculares sin modificar la estructura molecular, dando como resultado el incremento en la temperatura de la sustancia (52; 53). el calentamiento por microondas de las muestras líquidas permite la disminución de las fluctuaciones de temperatura en el medio de reacción, proporcionando, así, un entorno más homogéneo para la nucleación y el crecimiento de las partículas metálicas(16)

### 2.1.2. Microscopía Electrónica de Transmisión

La técnica de la Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) es una de las más utilizadas en la nanociencia y ciencia de materiales, ya que, a diferencia de la microscopía óptica, i.e. aquella que utiliza el espectro electromagnético visible, permite el estudio de la estructura, composición atómica de los sistemas y sus propiedades. Esta técnica consiste en hacer incidir un haz de electrones sobre la muestra a analizar para generar diversas señales para entender la estructura y composición química de l material (54). La alta resolución de la microscopía electrónica ( $R = 0.19$  nm) se debe a las propiedades ondulatorias asociadas por de Broglie a los electrones conforme a la siguiente ecuación:

$$\lambda = \frac{h}{p} \quad (2.2)$$

Donde  $\lambda$  es la longitud de onda,  $h$  es la constante de Plank y  $p$  es el momento del electrón. Por otro lado, la energía cinética de los electrones está relacionada con el voltaje  $V$  suministrado como:

$$E_k = eV = \frac{1}{2}mv^2 \quad (2.3)$$

Donde  $E_k$  es la energía cinética de los electrones ,  $m$  es la masa en reposo de los electrones y  $v$  es la velocidad con la que estos se mueven. De esta expresión se obtiene la magnitud del momento lineal  $p$  de cada electrón. A partir de las ecuaciones 2.2 y 2.3 se obtiene que la longitud de onda asociada con los electrones es:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_0eV}} \quad (2.4)$$

Sin embargo, para voltajes de aceleración con energía  $>100$  keV es necesario tomar en cuenta los efectos relativistas de estas partículas, considerando la cantidad de movimiento lineal como  $P_\alpha = (\frac{E}{c}, \vec{P})$ , se tiene que  $P_\alpha P^\alpha = \frac{E^2}{c^2} + P^2$ , lo cual modifica la ecuación 2.4 de la siguiente manera:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_0eV(1 + \frac{eV}{2m_0c^2})}} \quad (2.5)$$

Con lo anterior se pueden caracterizar las propiedades ondulatorias de los electrones en función del voltaje de aceleración. Considerando los efectos relativista correspondientes como se muestra en la tabla 2.1.

Voltaje de Aceleración [kV]	Longitud de onda no relativista [nm]	Longitud de onda relativista [nm]	Masa [ $m_0$ ]	Velocidad [ $10^8 \frac{m}{s}$ ]
100	0.00386	0.00370	1.196	1.64
120	0.00352	0.00335	1.235	1.75
200	0.00273	0.00251	1.391	1.86
300	0.00223	0.00197	1.587	2.330
400	0.00193	0.00164	1.783	2.484

Tabla 2.1: Longitudes de onda como función del voltaje suministrado, tanto en la aproximación relativista como en la no relativista (54).

Los electrones son emitidos por emisión termo-iónica formando un haz que a través de un arreglo de lentes electromagnéticas se hace incidir sobre la muestra, de esta forma se controla el voltaje de aceleración y el tamaño del haz. El haz de electrones es radiación ionizante que al interactuar con la materia produce electrones retrodispersados, electrones Auger, rayos X característicos, rayos X *Bremsstrahlung*, electrones dispersados de manera elástica e inelástica, así como los electrones directamente transmitidos. Además de la formaciones de imágenes de alta resolución, algunas de estas señales son utilizados para el análisis de composición química de los materiales Fig. 2.1

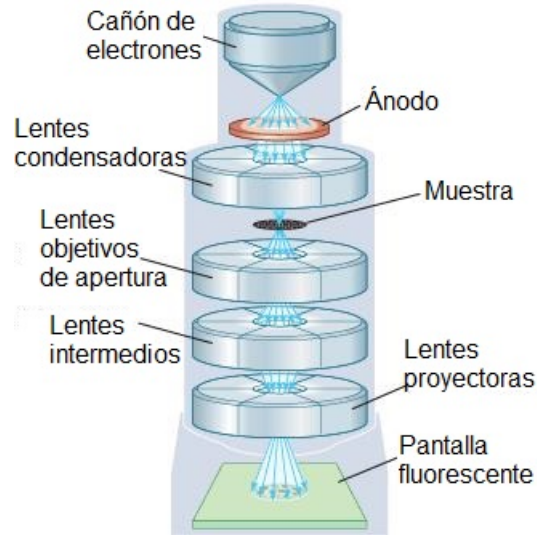


Figura 2.1: Diagrama del microscopio electrónico de transmisión. La muestra es irradiada con un haz de electrones el cual es controlado por lentes electromagnéticas, la interacción del haz con la muestra produce distintas señales: electrones retrodispersados, electrones Auger, rayos X característicos, rayos X *Bremsstrahlung* que permiten el análisis de la muestra.

### 2.1.3. Difracción de Rayos X

La difracción es el fenómeno ondulatorio debido a la interferencia de  $N$  ondas al pasar por  $n$  rendijas o un medio opaco, lo cual ocurre cuando la longitud de onda sea del orden de magnitud de la distancia de apertura de la rendija o de la distancia entre planos atómicos de un cristal.

En 1895 Röntgen descubrió los rayos X al estudiar el proceso de descarga eléctrica en gases, los cuales fueron identificados por la fluorescencia proveniente de los rayos catódicos. Más tarde, por medio de difracción de esta fluorescencia sobre una rendija, Haga y Wind determinaron que los Rayos-X son ondas electromagnéticas cuya longitud de onda corresponde al rango del espectro entre 0.01 – 10 nm, rango que coincide con las distancias atómicas de cristales, permitiendo el estudio de su estructura.

La difracción de rayos X (XRD) es una de las herramientas no destructivas más importantes para analizar todo tipo de cristales (55). Las propiedades y funciones de los materiales dependen en gran medida de las estructuras cristalinas, por lo tanto las técnicas de difracción de rayos X han sido ampliamente utilizadas como un medio indispensable en la investiga-

ción, desarrollo, producción y control de calidad de materiales. Las técnicas de difracción de rayos X se utilizan para la identificación de fases de la estructura atómica tridimensional de los sólidos cristalinos y el análisis de fase cuantitativo posterior a la identificación de la composición química.

La ecuación de Bragg:

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad (2.6)$$

nos permite encontrar la estructura cristalina, al relacionar  $n$  un número entero que representa el orden de la difracción,  $\lambda$  la longitud de onda característica de los rayos X que inciden en la muestra cristalina,  $d$  la distancia entre filas de átomos con respecto al ángulo  $\theta$  que forma el haz de rayos X que incide en la muestra y el detector. Cuando se dan las condiciones para que se cumpla esta ecuación, los rayos X dispersados por los átomos en el plano de una estructura periódica están en fase y la difracción se produce en la dirección definida por el ángulo  $\theta$ . En el caso más simple, un experimento de difracción de rayos X consiste en un conjunto de intensidades difractadas y los ángulos a los que se observan. Este patrón de difracción se puede considerar como una huella digital química, y la identificación química se puede realizar comparando este patrón de difracción con una base de datos de patrones experimentales conocidos y de modelos teóricos (56).

Los Rayos X son producidos debido a la interacción de electrones termoiónicos con un blanco, estos electrones se producen inicialmente calentando el ánodo con un filamento incandescente, luego se aceleran al aplicar un alto voltaje, superior a 30 keV, entre el ánodo y el cátodo, estos se hacen incidir en un blanco el cual puede ser un gas o un metal, la interacción entre los electrones acelerados y los electrones del material del cual está conformado el blanco produce una reacomodación en la estructura electrónica del blanco por lo que electrones más energéticos tienen una pérdida de energía al ocupar niveles inferiores la cual se transmite en forma de radiación electromagnética (rayos X). Posteriormente la muestra es irradiada por el haz de rayos X variando el ángulo de incidencia de forma automatizada a través de cuatro círculos llamados goniómetros, de los cuales tres controlan la orientación del cristal, mientras que el cuarto círculo porta el detector. Entre los goniómetros de cuatro

círculos, hay dos geometrías ampliamente utilizadas: la geometría Euler y la geometría Kappa. Finalmente a través del efecto fotovoltaico los detectores de silicio transforman energía electromagnética proveniente de la interferencia de los rayos X en la muestra en corriente eléctrica lo cual ocurre cuando la energía electromagnética incide con suficiente energía para excitar un electrón de la banda de valencia a la banda de conducción, la acumulación resultante de carga transmite una corriente a un circuito externo la cual es analizada para formar el difractograma correspondiente 2.2.

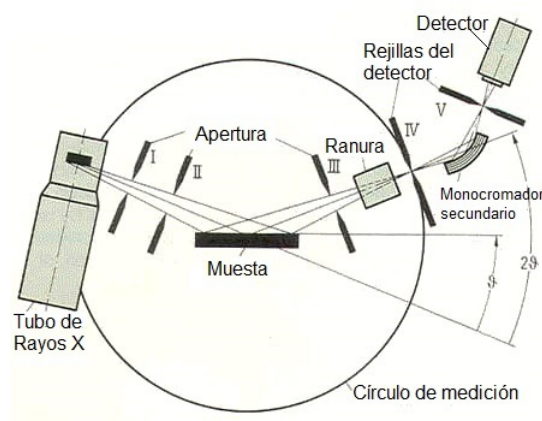


Figura 2.2: Diagrama del funcionamiento de un difractómetro de rayos X. La generación de los rayos X ocurre mediante la desaceleración de electrones acelerados por emisión térmica. El difractograma se forma al variar el ángulo de incidencia de los rayos X con la muestra.

#### 2.1.4. Fundamentos Teóricos de la Espectroscopía Raman

La espectroscopía Raman es una técnica de análisis físico y químico basado en el fenómeno de dispersión de la luz (*light Scattering*) que se produce cuando un haz de fotones incide sobre un medio material. Para entender la dispersión de la luz es necesario precisar cómo es que se da la interacción de la radiación electromagnética con el medio y por lo tanto la polarización de éste. Una forma de entender este mecanismo es pensar que los cuantos de luz chocan con los átomos de las moléculas que constituyen el medio por lo que son dispersados elástica o inelásticamente. A los fenómenos de dispersión de luz elásticos se les denomina dispersión de Rayleigh mientras que al segundos se le llama dispersión Raman. El análisis de las señales que provienen de la dispersión Raman se le conoce como espectroscopía Raman.

### Polarización en Medios Materiales

Pensemos en una molécula con un determinado número de átomos y por ende conformada por  $n$  núcleos con una densidad electrónica dada y con una distribución espacial (la configuración que adopta la molécula es estable y mayormente probable). Al encontrarse en presencia de un campo eléctrico externo las condiciones de equilibrio del sistema se ven afectadas, lo cual produce un cambio en el momento dipolar eléctrico del sistema. La relación del momento dipolar de la molécula y el campo eléctrico está dada por:

$$\vec{\mu} = \alpha \vec{E} \quad (2.7)$$

La cual relaciona de manera lineal el momento dipolar eléctrico  $\vec{\mu}$  con el campo eléctrico externo  $\vec{E}$  a través de la polarizabilidad  $\alpha$ . La presente aproximación tiene validez mientras la magnitud de campo eléctrico es pequeña. Además de la dependencia de la magnitud y la dirección del campo eléctrico externo también se debe considerar la orientación y la magnitud del campo de intensidad eléctrico intrínseco de la distribución electrónica de las ligaduras intramoleculares. En algunas moléculas en las que la distribución de cargas muestre una simetría particular es posible que el vector de momento dipolar se muestre en la misma dirección que el campo eléctrico inducido, en tal caso la polarizabilidad  $\alpha$  es un escalar que relaciona la proporción entre las magnitudes de los vectores del campo de intensidad eléctrico externo y el momento dipolar de la molécula. Sin embargo, el caso más general se da cuando las orientaciones de estos dos campos es diferente y por tanto la polarizabilidad corresponde a un tensor que relaciona contribuciones en todas direcciones del campo eléctrico externo al momento dipolar de la molécula:

$$\begin{bmatrix} \mu_x \\ \mu_y \\ \mu_z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{xy} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{xz} & \alpha_{yz} & \alpha_{zz} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{bmatrix} \quad (2.8)$$

Existe una transformación de coordenadas en la cual la matriz anterior (Ecuación:2.8) es diagonal. El sistema de coordenadas transformado se denomina sistema de ejes principales. Dicha descripción se encuentra ligada al concepto de susceptibilidad eléctrica dada por la siguiente ecuación:



$$\vec{P} = \epsilon_0 \chi_e \vec{E} \quad (2.9)$$

Donde  $P$  es la polarización del material,  $\epsilon_0$  es la constante dieléctrica en el vacío y  $\chi_e$  es la susceptibilidad eléctrica. La susceptibilidad eléctrica describe la capacidad del medio a orientar el momento dipolar de cada una de las moléculas ante la presencia de un campo eléctrico externo. El comportamiento colectivo de los momentos dipolares de las moléculas da lugar a la polarización eléctrica del material.

### Dispersión Rayleigh

La dispersión Rayleigh se da al incidir un campo electromagnético en un medio, el cual como es sabido consta de un campo eléctrico y un campo magnético perpendiculares entre sí y cuya amplitud varía con respecto al tiempo. El campo eléctrico con frecuencia  $\nu_0$

$$\vec{E} = \vec{E}_0 e^{i2\pi\nu_0 t} \quad (2.10)$$

proveniente de esta radiación produce una polarización en el medio de acuerdo a la ecuación 2.7. Por lo tanto se tiene el momento dipolar

$$\vec{\mu} = \alpha \vec{E}_0 e^{i2\pi\nu_0 t} \quad (2.11)$$

el cual oscila con una frecuencia  $\nu_0$  debido a la componente eléctrica de la radiación electromagnética incidente, como lo muestra la ecuación 2.11. El dipolo eléctrico emite radiación con frecuencia  $\nu_0$  misma con la que oscila, la onda electromagnética incidente y emitida se caracterizan por tener la misma frecuencia.

Las ecuaciones 2.11 y 2.10 describen el fenómeno en el cual se incide radiación electromagnética sobre un material, esta radiación es absorbida y emitida con una magnitud y polarización que depende el dipolo de la molécula y de la dirección del campo eléctrico incidente pero que se caracteriza principalmente por tener la misma frecuencia que la de la radiación incidente, a esto se le conoce como como dispersión Rayleigh.

### Dispersión Raman

A diferencia de la dispersión Rayleigh, en la dispersión Raman la frecuencia de emisión del material es diferente a la frecuencia de la onda electromagnética incidente.

Para poder entender este fenómeno se necesita entender el modelo molecular en un sentido más amplio. Las moléculas en un fluido están orientadas al azar, sin embargo, en este estado pueden rotar y vibrar ya que poseen grados de libertad internos: una molécula constituida por  $N$  átomos tiene  $3N$  grados de libertad de los cuales  $3N - 6$  corresponden a la vibración molecular, 3 a la rotación y 3 a la traslación. Son estos grados de vibración molecular los cuales producen la emisión de radiación a frecuencias diferentes a la inducida por el campo eléctrico de la onda electromagnética.

Consideremos una molécula que vibra con frecuencia  $\nu$  siguiendo una determinada coordenada normal, esta coordenada está descrita por una combinación de las coordenadas cartesianas de cada átomo constituyente de manera tal que describe un movimiento molecular al cual se le asigna una frecuencia bien definida  $\nu_m$ , por lo que la frecuencia de vibración  $\nu$  está descrita en términos de la frecuencias  $\nu_m$ . De esta forma cualquier movimiento molecular vibracional se puede descomponer en la superposición de modos normales. La forma de vibrar de la molécula a partir de esos modos normales depende de la simetría de la molécula, de las masas de los átomos, de las fuerzas de enlace entre ellos, además de distribución de cargas. Una frecuencia específica define la polarizabilidad y con ello el cambio del momento dipolar de la molécula, con lo que es posible aproximar la polarizabilidad de una forma más general a través de un desarrollo de Taylor (Ecuación:2.12) el cual va a depender de las derivadas de la polarizabilidad eléctrica con respecto a los modos normales (referencia Libro RSFCA) del sistema  $Q_j = Q_j^0 \cos(2\pi\nu_j t)$ , donde  $\nu_j$  es una frecuencia característica del modo normal  $Q_j$ .

$$\alpha(Q, \nu) = \alpha_0 + \sum_j \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q_j} \right) Q_j + \frac{1}{2} \sum_{j,i} \left( \frac{\partial^2 \alpha}{\partial Q_j \partial Q_i} \right) Q_j Q_i + \dots \quad (2.12)$$

Podemos hacer una aproximación lineal correspondiente al desarrollo de Taylor de la ecuación 2.12. Bajo esta suposición, cada término de la suma corresponde a un modo normal de manera independiente. Sin pérdida de generalidad, podemos considerar un campo eléctrico correspondiente a la radiación incidente dado por  $\vec{E} = \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t)$ , por lo que la ecuación 2.7 puede ser expresada en términos del campo eléctrico anterior, los modos normales de vibración  $Q_j$  y la ecuación 2.12 de la siguiente manera:

$$\vec{\mu} = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \sum_j \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q_j} \right) Q_j^0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_j t) \quad (2.13)$$

Consideremos la identidad trigonométrica del ángulo doble  $\cos(a)\cos(b) = \frac{\cos(a+b) + \cos(a-b)}{2}$  para reescribir la ecuación 2.13.

$$\vec{\mu} = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \sum_j \left( \frac{\partial \alpha}{\partial Q_j} \right) Q_j^0 \vec{E}_0 \left( \frac{\cos(2\pi(\nu_0 + \nu_j)t) + \cos(2\pi(\nu_0 - \nu_j)t)}{2} \right) \quad (2.14)$$

La ecuación 2.14 muestra cómo es que la molécula reacciona a la radiación electromagnética en términos de sus  $3N - 6$  modos normales de vibración. El término de orden cero de esta ecuación, al igual que la ecuación 2.11, describe la dispersión Rayleigh, mientras que los términos de orden lineal corresponden a la dispersión Raman, donde el primero de ellos describe la radiación emitida con frecuencia  $\nu_0 + \nu_j$  correspondiente a la dispersión Raman Anti-Stokes, y el segundo término describe la frecuencia de emisión  $\nu_0 - \nu_j$ , correspondiente a la dispersión Raman Stokes (Fig. 2.3).

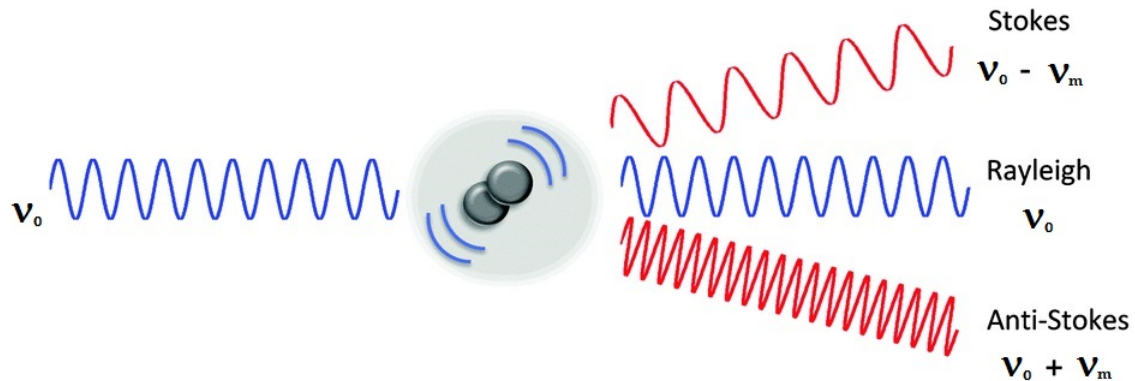


Figura 2.3: La dispersión de la luz en un medio puede darse de manera elástica dispersión Rayleigh e inelástica dispersión Raman; Stokes  $\nu_0 > \nu_S$  o Anti-Stokes  $\nu_A > \nu_0$ .

### Fenomenología Cuántica de la Dispersión Raman

Como mencionamos anteriormente, en la dispersión Rayleigh la molécula remite radiación a frecuencia  $\nu_0$  y energía igual a la de la radiación incidente, esto se debe a que la molécula se encontraba en un nivel energético  $E_0$ , al absorber energía pasa a un estado  $E + h\nu_0$  posteriormente emite la energía absorbida en su totalidad regresando a la configuración energética inicial  $E_0$ . En la dispersión Raman Stokes la molécula interactúa con una onda con frecuencia  $\nu_0$  y la emite a menor frecuencia  $\nu_0 - \nu_j$ , por lo que en el proceso la molécula almacena la energía  $h\nu_j$ , es decir pasa de una configuración con energía  $E_0$  a un estado  $E_0 + h\nu_0$ , pero una vez que emite la radiación correspondiente pasa a un nivel energético  $E_0 + h(\nu_m)$  (con  $\nu_m = \nu_0 - \nu_j$ ), es decir almacena parte de la energía absorbida. Por su parte, en la dispersión Raman Anti-Stokes la radiación es emitida con una frecuencia  $\nu_0 + \nu_j$ , la molécula se encuentra en un estado de energía  $E_0$  y al incidir la radiación la molécula pasa al estado  $E_1 = E_0 + h\nu_0$ , la molécula al emitir la radiación pasa del estado  $E_1$  al estado  $E_2 = E_1 - h(\nu_0 + \nu_j) = E_0 - \nu_j$ . Es decir en un nivel de energía con un valor menor que el de la energía del estado inicial.

En la dispersión Raman una molécula se encuentra en un nivel de energía inicial, al energía proveniente de la radiación electromagnética, emite radiación con una frecuencia distinta a la que se le hace incidir, lo cual lleva a la molécula a un nivel de energía distinto, caracterizado por la energía del estado inicial más la diferencia de energías de las onda absorbida y emitida.

En el experimento, la dispersión Raman se lleva a cabo en una muestra conformada por un número considerablemente grande de moléculas. La intensidad correspondiente a cada frecuencia depende de los niveles de energía ocupados, de las probabilidades de transición entre los distintos niveles de energía, de las moléculas que se encuentran en un mismo estado energético y del número de las moléculas que tengan probabilidad de cambiar a un distinto estado de energía (57; 58). La fracción de moléculas que ocupa un determinado nivel está determinado por la distribución de Boltzmann y por ello la probabilidad  $P(T)$  de que a una temperatura  $T$  dada, una molécula que se halle en el nivel de energía  $E_j$  pueda cambiar a un estado de energía  $E$  está dado por

$$P(T) = \frac{e^{-\frac{E}{kT}}}{\sum_j g_j e^{-\frac{E_j}{kT}}} \quad (2.15)$$

donde  $k$  es la constante de Boltzman y  $g_i$  es la degeneración de cada nivel de energía. Así, la intensidad correspondiente al espectro real corresponde a tomar la intensidad de una sola molécula y multiplicarla por la probabilidad de transición entre estados de energía determinada por la ecuación 2.15.

Para encontrar la función de partición es necesario considerar un modelo que exprese la distribución de los niveles de energía. Existen distintas aproximaciones, en particular si se considera un modelo de oscilador armónico (57).

### Vibraciones Moleculares

Una descripción clásica de las vibraciones Raman se da por medio de la dinámica de los átomos que conforman a la molécula. Tenemos  $3N$  coordenadas para los  $N$  átomos. Se puede encontrar un sistema de referencia  $\vec{r}_j$  en el cual los movimientos de traslación y rotación se encuentran de manera independiente a las vibraciones. Este cambio de coordenadas va a permitir a los núcleos de los átomos encontrarse en sus posiciones de equilibrio, las coordenadas permanecerán constantes independientemente de traslaciones y rotaciones. Finalmente para describir las vibraciones del sistema se necesita realizar un cambio de coordenadas que describa el desplazamiento de los núcleos con respecto de su posición de equilibrio  $R_j = \vec{r}_j - \vec{r}_o$ . Así podemos encontrar la energía cinética correspondiente a las vibraciones moleculares:

$$K = \frac{1}{2} \sum_j m_j |\dot{R}_j|^2 \quad (2.16)$$

Por su parte la descripción de la energía potencial del sistema  $V(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_N)$  puede expresarse en serie de Taylor:

$$V = V_0 + \sum_{j,\alpha} \frac{\partial V}{\partial R_j^\alpha} R_j^\alpha + \frac{1}{2} \sum_{j,i,\alpha} \frac{\partial^2 V}{\partial R_j^\alpha \partial R_i^\alpha} R_j^\alpha R_i^\alpha \quad (2.17)$$

donde  $R_j^\alpha$  representa la coordenada  $\alpha$ -ésima, con  $\alpha = 1, 2, 3$ , del vector de posición corres-

pendiente al  $j$ -ésimo átomo.

El término que corresponde al  $V_0$  es un valor arbitrario, en particular  $V_0 = 0$ . El sumando correspondiente a la primera derivada del potencial representa la suma de las fuerzas en la molécula la cual es nula al evaluarse en los puntos de equilibrio de los átomos. Debido a las condiciones anteriores, el término de orden cuadrático es, sin pérdida de generalidad, diferente de cero. El potencial de la molécula es entonces:

$$V = \frac{1}{2} \sum_{j,i,\alpha} R_j \frac{\partial^2 V}{\partial R_j^\alpha \partial R_i^\alpha} R_j^\alpha R_i^\alpha \quad (2.18)$$

Con cada uno de los términos del sumando que contiene segundas derivadas corresponden a las entradas de una matriz que denotaremos  $[f_{ij}]$ , donde:

$$f_{ij} = \frac{\partial^2 V}{\partial R_j^\alpha \partial R_i^\alpha} \quad (2.19)$$

A partir de las ecuaciones 2.18 y 2.16 podemos encontrar la expresión para el Lagrangiano

$$L(\vec{R}, \dot{\vec{R}}) = \frac{1}{2} \sum_j m_j |\dot{\vec{R}}_j|^2 - \frac{1}{2} \sum_{j,i,\alpha} R_j \frac{\partial^2 V}{\partial R_j^\alpha \partial R_i^\alpha} R_j^\alpha R_i^\alpha \quad (2.20)$$

A partir de la cual podemos encontrar la ecuación de movimiento para el átomo  $j$ -ésimo:

$$\ddot{R}_j^\alpha + \sum_i f_{ji} R_i^\alpha = 0 \quad (2.21)$$

Las  $3N$  ecuaciones representadas por la ecuación 2.21 (debido a que  $j = 1, 2, \dots, 3N$ ) forman un sistema de ecuaciones diferenciales cuya solución corresponde al oscilador armónico  $R_j = A_i \cos(2\pi\nu t + \phi)$ , donde  $A_i$  es la amplitud de vibración y las frecuencias normales de vibración están determinadas por los valores propios  $\lambda = 4\pi^2\nu^2$  de la matriz Hessiana:

$$\begin{bmatrix} f_{11} - \lambda & f_{1,2} & \dots & f_{1,n} \\ f_{21} & f_{2,2} - \lambda & \dots & f_{2,n} \\ \cdot & \cdot & & \\ \cdot & & \cdot & \\ \cdot & & & \cdot \\ f_{n1} & f_{n,2} & \dots & f_{n,n} - \lambda \end{bmatrix} = 0 \quad (2.22)$$

Para llevar a cabo el análisis correspondiente de manera cuántica se considera la aproximación de Born-Oppenheimer la cual supone que las moléculas están constituidas por núcleos cargados positivamente siendo éstos mucho más pesados que los electrones. Debido a esta observación, la función de onda del sistema puede describirse en términos de dos funciones de onda: una función de onda para la parte del núcleo y la segunda para la descripción de las interacciones electrónicas con sus respectivas coordenadas. Dado lo anterior, el Hamiltoniano se puede expresar como la suma del Hamiltoniano nuclear más el Hamiltoniano electrónico. La solución se encuentra expresada por la configuración nuclear mientras que la parte electrónica actúa como un parámetro dependiente de la energía potencial que sienten los electrones debido a la presencia del núcleo.

Al escribir el Hamiltoniano en coordenadas normales, al igual que en el caso clásico, se obtiene una expresión sencilla

$$H = \frac{\hbar}{2} \sum_j \left( \frac{\partial^2}{\partial R_j^2} - \frac{\lambda_j}{\hbar^2} R_j \right) \quad (2.23)$$

Esto nos permite encontrar una forma diagonal ortogonal para la energía. Este Hamiltoniano consta de  $3N - 6$  términos independientes que corresponden a los modos de vibración. La función de onda del sistema puede descomponerse en multiplicaciones de funciones de onda que sólo dependen de una sola coordenada y la energía total de vibración corresponde a  $E_v = E_1 + E_2 + \dots E_{3N-6}$ . Debido a esto al aplicar el Hamiltoniano sobre la función de onda del sistema obtenemos que:

$$-\frac{\hbar}{2} \frac{\partial^2 \psi_{V_j}}{\partial R_j^2} - \frac{\lambda_j}{\hbar^2} R_j \psi_{V_j} = E_{V_j} \psi_{V_j} \quad (2.24)$$

Esta expresión corresponde al oscilador armónico cuántico con energías dadas por  $E_j =$

$(N + \frac{1}{2})h\nu$ . La suma de las  $3N-6$  energías corresponden a la energía total de vibración de la molécula y cualquier vibración está descrita por la superposición de cada una de las funciones de onda correspondientes a estos modos normales. La función de onda que describe el comportamiento vibracional es entonces:

$$\psi_j = \left[ \left( \frac{2\nu_j}{h} \right)^{1/2} \frac{2\pi\nu_j}{2^N h N!} \right]^{1/2} e^{-h/4\pi\nu_j R_j^2} E_i R_j \quad (2.25)$$

El microscopio Raman funciona mediante la excitación de la muestra por medio de un láser el cual es enfocado por medio de un microscopio, de esta forma se produce el efecto de dispersión de las ondas electromagnéticas del que hemos hablado anteriormente, las señales provenientes de la dispersión pasa por un arreglo de lentes que llevan la luz dispersada a filtros dieléctricos y espaciales que solo permiten el paso de la dispersión Stokes. Finalmente una rejilla de difracción divide la señal dispersada en longitudes de onda y posteriormente es recolectada por un fotodetector CCD el cual a permite la obtención del espectro Raman correspondiente (Fig. 2.4).

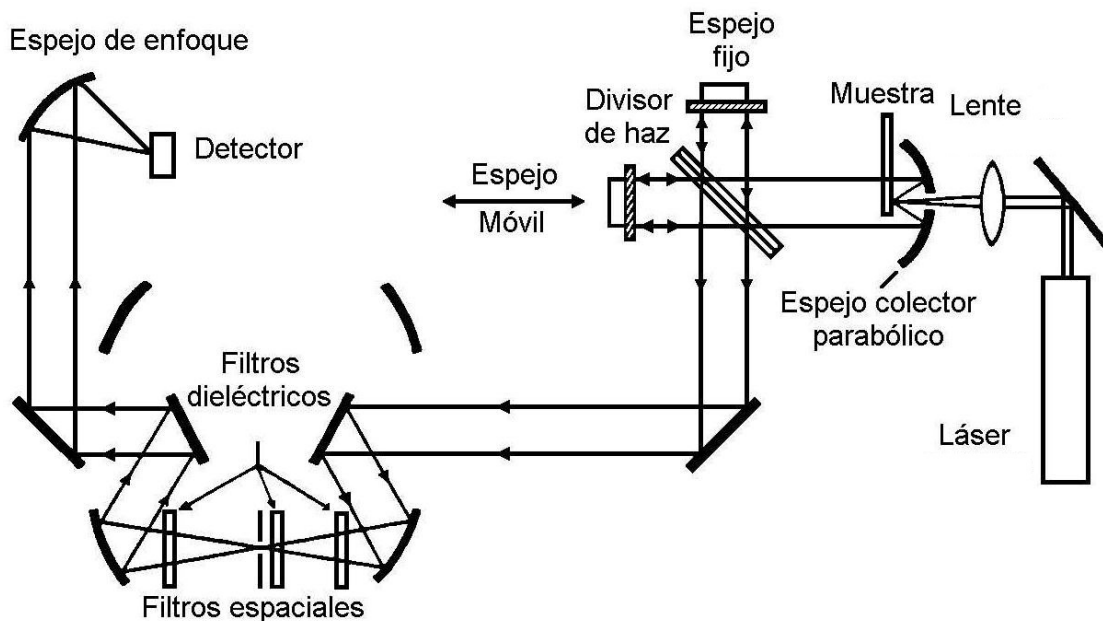


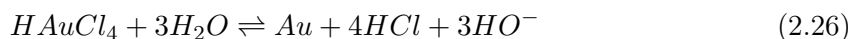
Figura 2.4: Componentes del microscopio Raman. El haz de luz incide sobre la muestra y a través de la dispersión inelástica de la luz forma el espectro Raman, el cual es característico de cada material.



## 2.2. Métodos Experimentales

### 2.2.1. Hidrólisis Asistida por Microondas para Síntesis de Nanopartículas de Oro

Las nanopartículas de oro producidas en el presente trabajo se sintetizaron por medio de hidrólisis asistida con microondas (33; 34), utilizando ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\geq 99.9\%$ ) de Sigma Aldrich como precursor promoviendo la siguiente reacción:



La nucleación de NPs pequeñas (0.7-1.3 nm) fue inducida con el Sistema de Digestión de Microondas ETHOS EZ con una frecuencia de microondas de 2.5 GHz. Para preparar Au NP desnudas, se colocaron 10 ml de una solución acuosa de  $\text{HAuCl}_4$  2.5 mM en un recipiente sellado de teflón y se irradiaron a 1000 W durante 7 segundos, se enfriaron a temperatura ambiente y luego se almacenaron a 17 °C para su caracterización adicional.

### 2.2.2. Microscopía Electrónica de Transmisión

En el presente trabajo se caracterizaron las muestras de nanopartículas de oro a través de imágenes de alta resolución de TEM con el microscopio electrónico JEOL-ARM200F Cs-Con corrección de aberraciones, ubicado en la Universidad de San Antonio Texas, operando a 80 kV mediante imágenes de microscopía electrónica de transmisión de barrido (STEM) con un detector *High Angle Annular Dark Field* (HAADF). Los semi ángulos de convergencia y de detección a 27 mrad y 54-220 mrad, respectivamente, una densidad de corriente  $< 0.1 \text{ pA/cm}^2$  y un tiempo de adquisición de 20 s. Una vez que se protegió a las nanopartículas de oro con cisteína (Au-Cis NPs) se caracterizó a través del microscopio electrónico FE-TEM, ubicado en el Instituto de Física de la UNAM, operando con un voltaje de aceleración de 200 kV y una magnificación máxima de x150000.

Las nanopartículas de oro protegidas con cisteína, Au-CisNPs, que se encontraban en solución acuosa se depositaron en una rejilla, posteriormente se dejaron secar antes de colocarse en el microscopio electrónico. El análisis correspondiente a las imágenes obtenidas

se realizó a través del software Digital Micrograph con lo cual se obtuvo la distribución de diámetros de las AuNPs y las Au-CysNPs.

### 2.2.3. Difracción de Rayos X

Los difractogramas de rayos X de las moléculas cristalinas de LCis y DCis en el presente trabajo se obtuvieron en un difractómetro BrukerD-8 Advance con geometría Bragg-Brentano y un detector LINXEYE XE de bandas de silicio (Bruker). La intensidad de difracción se midió con dos pasos de 0.02 grados durante 52.8 segundos por punto a temperatura ambiente.

### 2.2.4. Espectroscopía Raman

En el presente trabajo se obtuvieron los datos de espectroscopía de las muestras de cisteína y Au-CisNPs con un microscopio Raman DXR (Thermo Fisher Scientific) mediante la excitación con la línea de 532 nm de un láser de Ar. La potencia de irradiación en la muestra fue de 7 mW con un tiempo de exposición típico de 12 segundos y al menos diez repeticiones. La luz dispersada recolectada se analizó en un espectrógrafo Triplet a intervalos de  $1.0 \text{ cm}^{-1}$  con un tiempo de integración de 1.5 s. El sistema está equipado con una rejilla holográfica de 900 líneas/mm y una ranura de 0,7 mm. Se utilizó un sistema de detección de CCD enfriado para adquirir datos Raman, capturados con una sola exposición. Todas las mediciones de espectroscopía Raman se realizaron a 21 °C.

## Capítulo 3

# Métodos Computacionales

### 3.1. El Problema Molecular

Dentro de la mecánica cuántica existen problemas en los cuales encontrar la solución analítica resulta complejo o simplemente se desconoce la existencia de la solución analítica. Un ejemplo de esto son los problemas atómicos que no pueden encontrar un tratamiento análogo al problema del átomo de hidrógeno, además de los problemas moleculares los cuales son problemas en los que interaccionan muchos cuerpos. Un ejemplo de esto son los problemas atómicos que no pueden encontrar un tratamiento análogo al problema del átomo de hidrógeno, además de los problemas moleculares, los cuales son problemas en los que interaccionan muchos cuerpos. Este tipo de problemas nos llevan a plantear siguiente ecuación de Schödinger:

$$\left[ -\sum \frac{\hbar^2}{2M_i} \nabla_R^2 - \sum \frac{\hbar^2}{2m_i} \nabla_r^2 + V(R_i, r_i) \right] \Psi = E\Psi \quad (3.1)$$

Cuyo Hamiltoniano describe la dinámica de N partículas con energía cinética  $\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2$  y un potencial electrostático  $V(R_i, r_i)$  de interacción. A diferencia del Átomo de Hidrógeno este problema no es separable, por lo que se recurren a métodos de aproximaciones como la teoría de perturbaciones dependiente e independiente del tiempo y métodos variacionales como el método de Rayleigh-Ritz o la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT).

Una forma de abordar el problema molecular es a través de la aproximación de Born-Oppenheimer, en la que el movimiento de los núcleos se considera nulo, lo que nos permite

reescribir la ecuación dinámica 3.1 como:

$$\left[ -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum \nabla_i^2 + \sum V_{n-e}(r_i) + \sum V_{e-e}(r_i, r_j) \right] \psi = \varepsilon(R_i) \psi \quad (3.2)$$

la cual sólo considera la energía cinética de los  $N$  electrones y donde  $V_{n-e}$  es el potencial electrostático del electrón  $j$ -ésimo con los núcleos que conforman la molécula y  $V_{e-e}$  es el potencial de interacción eléctrica entre los electrones  $e_i^-$  y  $e_j^-$  y la energía  $\varepsilon(R_i)$  correspondiente es una función de las posiciones nucleares de los átomos. La solución de la ecuación 3.1 tiene la forma:

$$\Psi(R_j, r_i) = \sum \varphi_m(R) \psi_m(R_j, r_i) \quad (3.3)$$

A partir de las ecuaciones 3.3 y 3.2 podemos transformas a la ecuación 3.1 en:

$$\sum_m \psi_m \left[ -\frac{\hbar^2}{2m_i} \nabla_R^2 \varphi_m + \varepsilon_m(R) \varphi_m \right] = E \sum_m \psi_m \varphi_m \quad (3.4)$$

que al multiplicar por  $\psi_n^*$  e integrar sobre las variables electrónicas conduce a la ecuación de Shödinger para el movimiento nuclear:

$$\left[ -\frac{\hbar^2}{2M} \nabla_R^2 + \varepsilon_n(R) \right] \varphi_n = E \sum_n \varphi_n \quad (3.5)$$

En la ecuación 3.5 podemos observar que la energía electrónica  $\varepsilon(R)$  determina el movimiento de los núcleos.

## 3.2. Teoría del Funcional de la Densidad

Sí tratamos de resolver un sistema complejo de muchos electrones interactuando con muchos núcleos se necesita resolver la ecuación de Schrödinger del sistema de muchos cuerpos planteada en la ecuación 3.1, en dónde luego del uso de la aproximación de Born-Oppenheimer, el Hamiltoniano del problema simplificado está formado por la energía cinética de cada electrón, el potencial de interacción entre cada electrón y los núcleos atómicos y la energía de interacción entre electrones. La función de onda que es solución en esta aproximación es estacionaria y es una función de las  $3N$  variables electrónicas del sistema.

La Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) es uno de los métodos existentes para resolver de forma aproximada sistemas moleculares complejos y se basa en el hecho de que la energía en el estado base de un sistema depende únicamente de su densidad electrónica con lo que se busca evitar el cálculo de la función de onda del sistema en el estado base. La densidad de electrones  $n(r_1)$  la cual es una función de 3 coordenadas solamente y contienen información físicamente observable del sistema, se representa por la siguiente ecuación:

$$n(r_1) = \int \Psi^*(r_1, \dots, r_n) \Psi(r_1, \dots, r_n) dr_2 \dots dr_n \quad (3.6)$$

### 3.2.1. Teoremas de Hohenberg-Kohn

DFT se fundamenta en los teoremas de Hohenberg-Kohn los cuales fueron demostrados por Pierre Hohenberg y Walter Kohn en 1964 y relacionan la energía del estado base del sistema con su densidad electrónica.

**Teorema 3.2.1** *La energía del estado base de un sistema calculado por medio de la ecuación de Schrödinger es un funcional unívocamente determinado por la densidad electrónica.*

**Teorema 3.2.2** *La densidad electrónica que minimiza la energía del sistema es la densidad electrónica real que corresponde a la solución completa de la ecuación de Schrödinger.*

Los teoremas parten de considerar un gas de electrones con densidad de carga  $n(r)$  (determinada por la ecuación 3.6) en un potencial externo  $v(r)$ , cuya energía está dada por:

$$E = \int v(r)n(r)dr + F[n(r)] \quad (3.7)$$

donde  $F[n(r)]$  es un funcional de la densidad electrónica.

La función de onda total y la densidad de carga son funcionales únicos del potencial externo, el cual también es un funcional único de la densidad de carga. Así mismo el potencial externo determina la forma del Hamiltoniano con lo que la función de onda  $\psi$  en el estado base es un funcional único de la densidad de carga.

El principio variacional nos garantiza que si la energía es mínima entonces la función de onda corresponde al estado base, es decir, si encontramos la densidad de carga que minimiza

la energía obtendremos la función de onda correspondiente al estado base.

La importancia de los teoremas se basa en la simplicidad que representa trabajar con la densidad electrónica la cual está descrita en términos de 3 coordenadas sin importar el número de electrones, mientras que el calculo empleando el potencial de interacción de cada uno de los electrones necesitaría de  $3N$  coordenadas. Los teoremas no especifican la forma de obtener el funcional correspondiente a la densidad electrónica por lo que DFT permite diseñar la estructura de la densidad electrónica de mínima energía.

### 3.2.2. DFT sin Orbitales

El método de DFT más utilizado es el de Thomas-Fermi, el cual considera un sistema no homogéneo de electrones caracterizados por densidad local  $N(r)$ , en un potencial electrostático externo  $V(r)$  y se sume que en una vecindad pequeña del espacio fase alrededor de  $r$ ,  $V(r)$  y  $n(r)$  es constante. En este método la energía cinética total  $K$  se escribe como:

$$K = \frac{3}{10}(3\pi^2)^{(2/3)} \int [n(r)]^{(5/3)} dr \quad (3.8)$$

La energía potencial de los electrones tiene dos partes, energía del potencial externo  $V_a$  y el potencial de Coulomb  $V_C$  para una distribución de carga clásica, como se muestra a continuación:

$$V_C = \int \frac{n(r')}{|r - r'|} dr' \quad (3.9)$$

La energía total en términos de la densidad electrónica queda determinada por las ecuaciones 3.8 y 3.9:

$$E[n] = \int n(r)V_a(r)dr + \frac{1}{2} \int \frac{n(r')n(r)}{|r - r'|} drdr' + \frac{3}{10}(3\pi^2)^{(2/3)} \int [n(r)]^{(5/3)} dr \quad (3.10)$$

Al variar  $E[n]$  con respecto de  $n$  encontramos de ecuación de Euler:

$$\delta \left\{ E[n] - \xi \int n(r)dr \right\} = 0 \quad (3.11)$$

y a partir de la cual identificamos al multiplicador de lagrange  $\xi$  corresponde al potencial químico  $\mu$ , a través de la siguiente relación:

$$\xi = \frac{\delta E[n]}{\delta n} \quad (3.12)$$

La cual al sustituir la expresión para la energía total de la ecuación 3.10 y variar la ecuación 3.11 nos permite expresar a la densidad de carga  $n(r)$  en términos del potencial externo:

$$n(r) = \frac{1}{3\pi^2} \left[ 2 \left( \mu - V_a - \int \frac{n(r')}{|r - r'|} dr' \right) \right]^{(3/2)} \quad (3.13)$$

El método de Thomas-Fermi tiene como problema que la precisión disminuye a medida que el sistema se aleja de un gas ideal además de que la energía cinética es típicamente subestimada y por lo tanto este método es incapaz de predecir enlaces químicos.

### 3.2.3. DFT con Orbitales

Una mejora de la aproximación se obtiene al utilizar un conjunto auxiliar de orbitales para desarrollar los cálculos usados para expresar la densidad electrónica.

Se puede escribir el funcional de la energía con el término funcional de las interacciones conocidas  $E_C$  más el funcional de intercambio y correlación  $E_{IC}$  que incluye todos los efectos excluidos.

$$E_T = E_C + E_{IC} \quad (3.14)$$

Podemos escribir el funcional  $E_C$  como:

$$E[n] = K_s[n(r)] + \int n(r)V_a(r)dr + \frac{1}{2} \int \frac{n(r')n(r)}{|r - r'|} drdr' \quad (3.15)$$

El cual está determinado por la energía cinética  $K_s$  del sistema de electrones no interactuantes e interacciones; la interacción de Coulomb entre los electrones y los núcleos; y finalmente las interacciones de electrostáticas entre el par de electrones. Se puede encontrar la densidad electrónica correcta del sistema resolviendo las ecuaciones de Schrödinger que involucran cada una de las funciones de onda de un electrón:

$$\left[ -\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + V_{eff} \right] \psi = \varepsilon \psi \quad (3.16)$$

donde el potencial efectivo  $V_{eff}$  se expresa tomando en cuenta el potencial de intercambio y correlación  $V_{IC}$  como:

$$V_{eff} = V_a(r) + \frac{1}{2} \int \frac{n(r')}{|r - r'|} dr' + V_{IC} \quad (3.17)$$

Las ecuaciones 3.16 y 3.17, conocidas como ecuaciones de Kohn y Sham, deben de resolverse de forma autoconsistente, es decir: se propone un potencial de prueba y luego se resuelven y se encuentra las funciones de onda con la que se obtiene una nueva aproximación de la densidad electrónica, misma que puede utilizarse para generar otro potencial y repetir el proceso hasta que la función de onda llegue a una precisión determinada.

Existen muchos modelos que permiten resolver las ecuaciones, para lo cual es preciso partir de la expresión funcional de la energía de intercambio y correlación, la cual es en principio desconocida. Esta energía se puede modelar a través de un gas uniforme de electrones, en cuyo caso la densidad electrónica es constante en todos los puntos del espacio, y se denomina aproximación de la densidad local (LDA). Debe tenerse en cuenta que la validez de la aproximación depende en gran medida de la lentitud con la que varía la densidad electrónica del sistema, lo cual para los metales da muy buenos resultados. Sin embargo, en el caso de un sistema molecular esta aproximación suele subestimar la energía de intercambio y sobreestimar la correlación entre electrones y en consecuencia la fuerza de los enlaces.

Por otro lado, se tiene la aproximación del gradiente generalizado GGA, que consiste en introducir el gradiente de densidad electrónica como una variable del funcional de intercambio y correlación. Esta aproximación hace uso de más información física pero no siempre mejora la aproximación anterior. Existen muchos funcionales que involucran esta aproximación entre las más utilizadas se encuentran: PW86, PW91 (Perdew-Wang 1986 y 1981) y PBE (Perdew-Burke-Ernzerhof).

La teoría del funcional de la densidad presenta varias limitaciones: la primera de ellas es que los cálculos realizados no son soluciones exactas a la ecuación de Schrödinger, por lo



cual los cálculos son poco precisos en el caso de estados electrónicos excitados debido a que los teoremas de Hohenberg-Kohn no son válidos; las bandas prohibidas en materiales semiconductores y aislantes son subestimadas; y las atracciones débiles entre átomos y moléculas no se calculan correctamente. A pesar de lo anterior, DFT es una de las herramientas más importantes para el estudio de sistemas moleculares.

Para resolver el problema de la precisión es necesario trabajar con funciones desconocidas que son representadas por medio de una combinación lineal de un conjunto de bases de funciones conocidas. Las bases para representar a los orbitales pueden ser: orbitales tipo Slater, orbitales Gaussianos y orbitales modelados a partir de ondas planas.

Los orbitales tipo Slater son la mejor opción para construir bases eficientes ya que se requieren relativamente pocas funciones de onda para representar adecuadamente una determinada función, además convergen rápidamente debido a su dependencia exponencial y sólo las combinaciones lineales tienen nodos radiales. El problema con ellos es que son difíciles de evaluar y computacionalmente demandantes, por lo que no se usan en cálculos demasiado grandes. Su forma analítica está dada en términos de los armónicos esféricos  $Y_{lm}$  y la carga afectiva de los núcleos  $\zeta$ :

$$\chi_{\zeta n,l,m}(r, \theta, \phi) = Y_{lm}(\theta, \phi) r^{n-1} e^{-\zeta r} \quad (3.18)$$

Por otro lado se tienen los orbitales del tipo Gaussiano, los cuales tienen dependencia en el  $r^2$ , lo que genera problemas cerca del núcleo, así como también decaen rápidamente, no obstante son muy utilizados debido a su bajo costo computacional. Estos orbitales pueden representarse de dos formas equivalentes, la primera en coordenadas esféricas:

$$\chi_{\zeta n,l,m}(r, \theta, \phi) = Y_{lm}(\theta, \phi) r^{2n-(l+2)} e^{-\zeta r^2} \quad (3.19)$$

Mientras que en coordenadas cartesianas tienen la forma:

$$\chi_{\zeta l_x, l_y, l_z}(x, y, z) = x^{l_x} y^{l_y} z^{l_z} e^{-\zeta(x^2+y^2+z^2)} \quad (3.20)$$

Otras funciones que se utilizan como bases para los orbitales son las ondas planas que, a

diferencia de los orbitales anteriores, son funciones de rango infinito que pueden describir a todo un sistema sin necesidad de usar muchos orbitales, además de ser funciones localizadas en tres dimensiones. Las ondas planas se representan como:

$$\chi^k(r) = e^{-ik \cdot r} \quad (3.21)$$

donde el vector de onda desempeña el mismo papel que la constante de los orbitales Gaussianos  $\zeta$  y está relacionada con las soluciones de la ecuación de Schrodinger para electrones libres. La idea de usar ondas planas para construir bases originó del hecho de que los electrones de valencia de los metales se comportan prácticamente como electrones libres cuyas soluciones son precisamente ondas planas.

### 3.2.4. Pseudopotenciales

Un pseudopotencial es la función de onda que modelan los electrones de superficie y permite obtener resultados razonablemente exactos sin tanto esfuerzo computacional, así como incorporar la parte de los efectos relativistas. El uso de los pseudopotenciales radica en reemplazar los orbitales de valencia por un conjunto de pseudopotenciales con parámetros a determinar. Un ejemplo de esto ocurre con la aproximación del núcleo congelado en el cual se consideran explícitamente a los electrones de superficie pero sus orbitales están fijos en sus valores atómicos y son representados por una expansión fija en una base adecuada. Este enfoque preserva completamente la interacción electrón-electrón pero ignora los cambios orbitales de la superficie debido al entorno molecular.

## 3.3. Cálculos del Espectro Raman

Una vez encontrando las geometrías optimizadas para cada sistema, es decir la posición de equilibrio estable para cada uno de los núcleos atómicos el sistema, se procede a encontrar los modos vibracionales moleculares, los cuales están determinados a partir de las derivadas de la energía con respecto a las coordenadas normales. Eso determina  $3N$  frecuencias vibracionales que, como se mencionó en el Capítulo 2, están determinadas por:

$$\nu^2 = \frac{1}{M} \left( \frac{\partial^2 E_n}{\partial R_i \partial R_j} \right)_{\vec{R}_0} \quad (3.22)$$

Donde  $\omega$  es la frecuencia normal de oscilación y  $\varepsilon$  es la energía encontrada a partir de las ecuaciones de Kohn-Sham. Para encontrar la intensidad correspondiente a cada modo vibracional es necesario evaluar el tensor de polarización para cada una de las frecuencias normales. Recordemos que el tensor de polarizabilidad eléctrica expresado como la serie de Taylor de la Ecuación 2.12 depende, además de las coordenadas normales, de las frecuencias normales de vibración  $\nu_j$ . Como lo mencionamos anteriormente, el primer término del desarrollo corresponde a la dispersión Rayleigh, mientras que el segundo corresponde a la dispersión Raman. Para realizar el cálculo es necesario definir un parámetro  $\Gamma$  que nos permita utilizar la aproximación armónica como un parámetro de amortiguamiento de la vida útil de los estados excitados. Aproximamos el modelo a un sistema de dos estados: el estado base  $|0\rangle$  y el estado excitado  $|1\rangle$ , entonces el término de la polarizabilidad está dada por(59):

$$\frac{\partial \alpha_{a,b}}{\partial Q} = \frac{\partial}{\partial Q} \left( \frac{\langle 0|\mu_a|1\rangle \langle 1|\mu_b|0\rangle}{\nu_{1,0} - \nu - i\Gamma} \right) \quad (3.23)$$

Debido a que la transición del momento dipolar eléctrico es independiente de las coordenadas normales se tiene que:

$$\frac{\partial \alpha_{a,b}}{\partial Q} = \left( \frac{\langle 0|\mu_a|1\rangle \langle 1|\mu_b|0\rangle}{(\nu_{1,0} - \nu - i\Gamma)^2} \right) \frac{\partial \mu_{1,0}}{\partial Q} \quad (3.24)$$

La intensidad de un modo está dada por el cuadrado de cada uno de estos términos. Entonces, la intensidad relativa entre dos modos normales se expresa como:

$$\frac{I_i}{I_j} = \frac{\left( \frac{\partial \mu_{1,0}}{\partial Q_i} \right)^2}{\left( \frac{\partial \mu_{1,0}}{\partial Q_j} \right)^2} \quad (3.25)$$

Para nuestro sistema de Au-CisNPs se realizó una colaboración con L. O. Paz-Borbón *et al.* con Teoría del Funcional de Densidad Extensiva para encontrar la configuración de mínima energía. En particular, la adsorción de cisteína se estudió utilizando dos sistemas modelo: un grupo de forma rómbica  $\text{Au}_9(43)$  y un cúmulo de oro  $\text{Au}_{34}(42; 60)$ . Se implementó un código de optimización global a partir de una búsqueda aleatoria, junto con el paquete

DFT de simulación *Viena Ab-initio* (VASP 5.4)(61; 62; 63; 64) a través de desplazamientos aleatorios, del espacio de configuración (PES) de la molécula de cisteína adsorbida en los grupos de Au<sub>9</sub> y Au<sub>34</sub>. El código genera una serie de configuraciones aleatorias (Fig.3.1a), a partir de una configuración inicial de la molécula de cisteína adsorbida en los grupos de Au<sub>9</sub> y Au<sub>34</sub>, por lo que se genera una lista de mínimos locales, con su mínimo global correspondiente. Se seleccionan y analizan sólo los sistemas Au-CisNPs zwitteriónicos (debido a que la cisteína se encuentra en este estado de manera experimental para el presente trabajo) para una clasificación adicional. Se utilizó la aproximación de gradiente generalizada de Perdew-Burke-Erzenhof para la función de correlación de intercambio (65). Los potenciales de onda aumentada proyectada (PAW) se utilizan para los átomos de C, O, H, N y Au. La zona Brillouin se muestrea en el punto  $\Gamma$ , junto con un corte de energía de 400 eV. Los efectos de dispersión entre la molécula y los grupos de Au se explican a través de la inclusión del método de corrección Tkatchenko-Scheffler con partición iterativa de Hirshfeld (66).

Para calcular los modos de vibración normales de los sistemas Au-CisNPs y sus activos Raman no resonantes, las configuraciones de Au-CisNPs de menor energía, que se encuentran en nuestras búsquedas globales, se relajaron localmente con el software *Amsterdam Density Functional* (ADF2013) (67; 68). Se colocaron dos moléculas de agua (H<sub>2</sub>O) cerca del sistema Au<sub>9</sub>-Cis para preservar la naturaleza zwitteriónica de la cisteína. Sin embargo, no se necesitaron moléculas de agua para el sistema Au<sub>34</sub>-Cis, ya que la naturaleza tridimensional del cúmulo de oro ayudó a estabilizar varias configuraciones zwitteriónicas. Los modos de vibración normales (Fig.3.1b) para los sistemas de grupos de Au-CisNPs se calcularon analíticamente con respecto a las coordenadas nucleares. Esto se hace usando la segunda implementación derivada de ADF2013 que requiere la solución de la ecuación de Kohn-Sham (Ecuación 3.16) perturbada acoplada (69; 70; 71). Las intensidades de Raman no resonantes se obtuvieron calculando el tensor de polarizabilidad correspondiente Fig.3.1c.

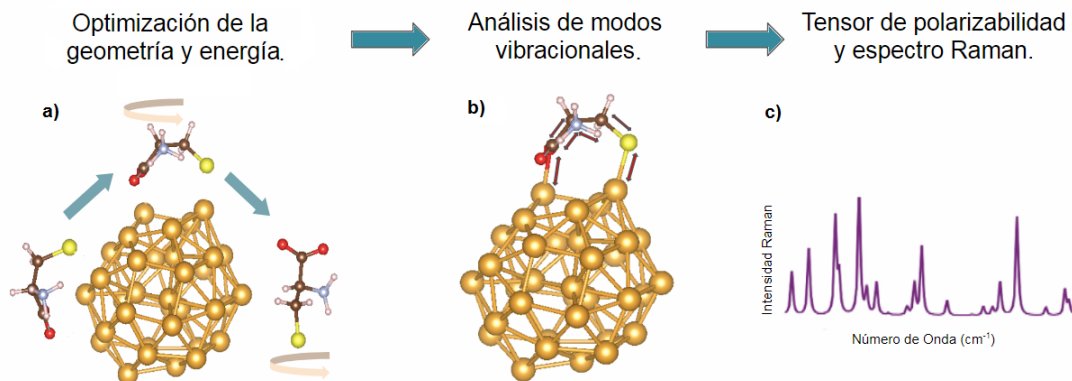


Figura 3.1: Procedimiento para el cálculo de los espectros de Raman. a) Optimización de la geometría del sistema a través de DFT periódico con el funcional de correlación de intercambio PBE más la corrección de dispersión de van der Waals de Tkatchenko y Scheffler. b) Evaluación de modo normal y cálculo de las derivadas del tensor de polarizabilidad para cada modo normal. c) Cálculo de las intensidades de dispersión Raman.

## Capítulo 4

# Resultados Experimentales

### 4.1. Nanopartículas de Oro

Las nanopartículas de oro (AuNPs) se sintetizaron mediante hidrólisis asistida por microondas de  $\text{HAuCl}_4$  como precursor sin la incorporación de ligandos estabilizantes. El calentamiento por microondas promovió la hidrolización parcial de  $\text{HAuCl}_4$  con una nucleación gradual y el crecimiento de AuNPs (72; 73). El tamaño de partícula aumenta proporcionalmente al tiempo de irradiación y la concentración de la sal precursora de oro. Mediante este método, al final de la reacción se obtuvo una solución de color amarillo claro, y la presencia de AuNPs en la solución coloidal de oro se confirmó mediante HAADF-STEM (Fig. 4.1). Se observaron AuNP bien dispersadas, con un diámetro medio entre 0.7 nm y 1.3 nm y una distribución de tamaño con una desviación estándar que oscila entre 0.1 nm y 0.2 nm. Debido al pequeño tamaño de las AuNPs se tiene que el número de átomos que las conforma es reducido, aproximadamente del orden de 43 átomos en promedio(74). Las imágenes de HAADF-STEM mostraron variaciones de intensidad a través de columnas atómicas que confirman la disposición no plana de los átomos.

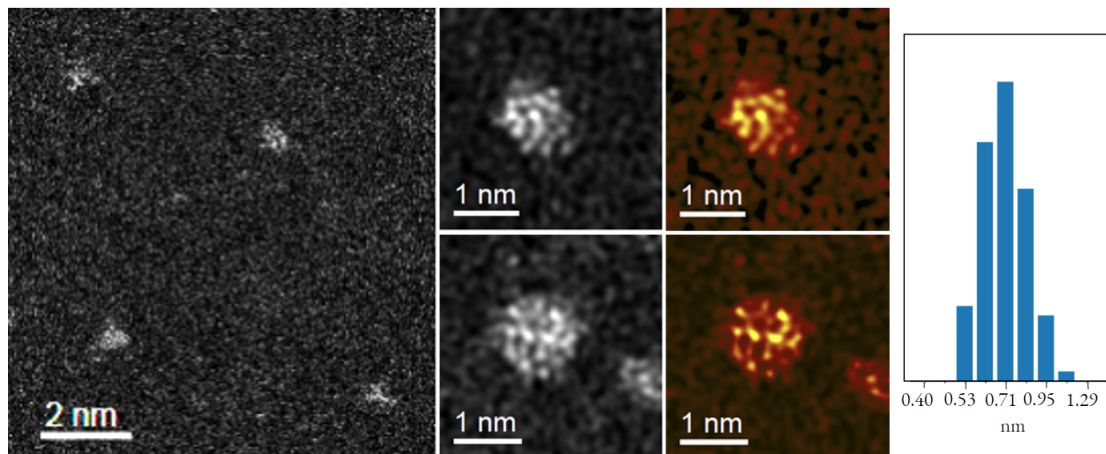


Figura 4.1: Imágenes de HAADF-STEM de resolución atómica de bajo y alto aumento de las AuNPs desnudas sintetizadas mediante hidrólisis asistida por microondas. Dependiendo de la muestra producida, se observó una distribución de tamaño homogénea y un diámetro promedio entre  $0.7 \pm 0.1$  nm y  $1.3 \pm 0.2$  nm. Las imágenes muestran las variaciones de intensidad a lo largo de las columnas atómicas.

## 4.2. Estructura Molecular de la Cisteína

### 4.2.1. Estructura Cristalina

Se llevaron a cabo estudios de difracción de rayos X, que demostraron un polimorfismo ortorrómbico para la muestra de L-Cisteína y un polimorfismo monoclinico para la muestra de D-Cisteína (Fig.4.2).

Trabajos anteriores(38; 75) han demostrado que el rotámero  $P_H$  (con la conformación *gauche*) se encuentra en la cisteína ortorrómbica, mientras que los rotámeros  $P_H$  y  $P_N$  (la conformación *gauche* de la cadena  $NC_\beta C_\alpha S$  y la posición *trans* de los átomos N y S unidos por los dos átomos de carbono respectivamente) se encuentran en el cristal monoclinico.

### 4.2.2. Análisis Vibracional por Espectroscopía Raman

Las moléculas de L- y D-cisteína (LCis y DCis) se examinaron mediante espectroscopía Raman tanto en fase cristalina como en solución. Los espectros Raman de las muestras sólidas de LCis y DCis (Fig. 4.3) mostraron claras discrepancias en múltiples bandas de absorción vibracional, lo que indica claras diferencias estructurales. Esto confirma los resultados de XRD, que indican diferente polimorfismo para cada enantiómero de cisteína.

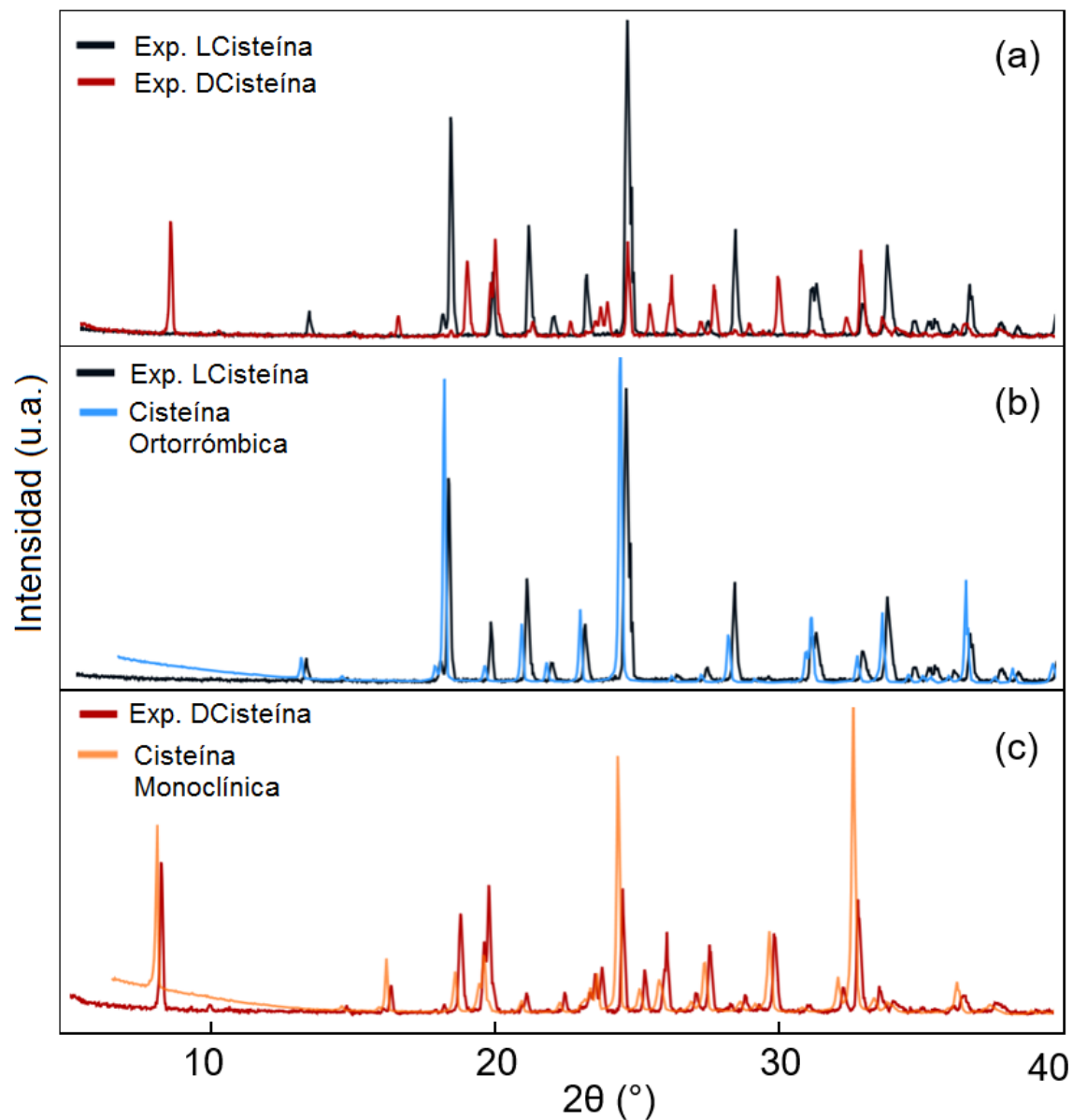


Figura 4.2: Difractograma de la fase cristalina de L-cisteína (azul) y D-cisteína (roja) (a). Comparación con la base de datos XRD que demuestra que la L-cisteína tiene un polimorfismo ortorrómbico (b), mientras que la D-cisteína coincide con el polimorfo monoclinico (c).



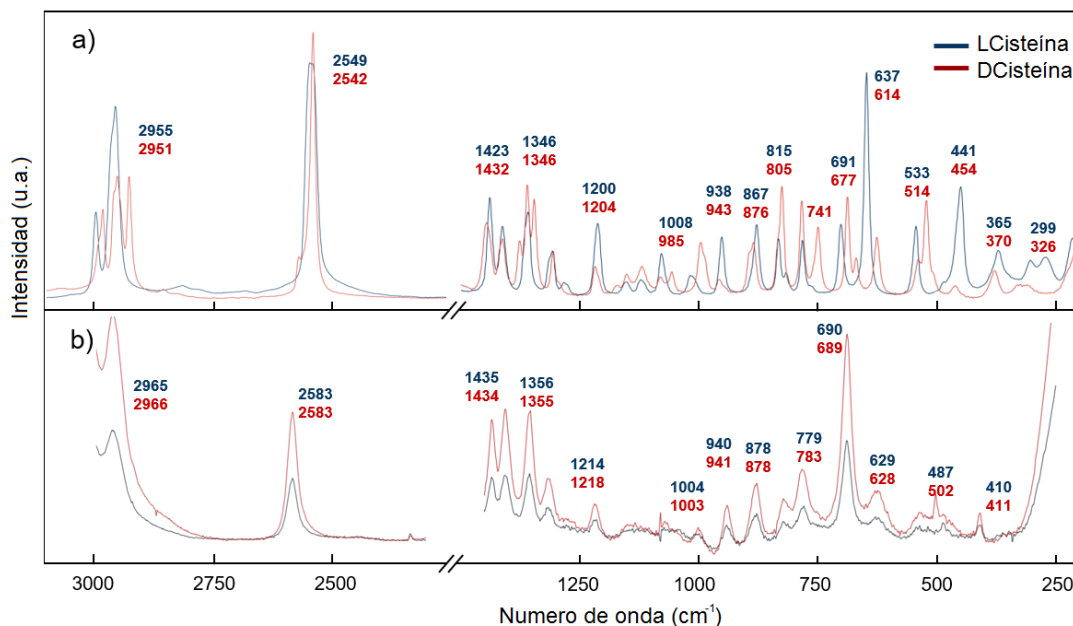


Figura 4.3: Espectros Raman de L-cisteína (azul) y D-cisteína (roja) en (a) fase cristalina y (b) fase líquida. Los espectros Raman correspondientes a las muestras de L y D-cisteína en solución confirman la flexibilidad conformacional de la molécula en el agua, perdiendo su estructura cristalina. Las bandas Raman de ambas moléculas coinciden de manera cercana con los números de frecuencia correspondientes al rotámero  $P_N$  de DCys.

Se identificaron las bandas vibracionales correspondientes a los enlaces atómicos de la cisteína. Por medio de una revisión bibliográfica extensa, se compararon los espectros Raman experimentales de trabajos previos, entre los cuales se encuentran las asignaciones dadas por Minkov *et al.* (33), Guohua Yao *et al.* (41) y Stewart F. Parker *et al.* (76), en los cuales se había realizado la asignación por cálculos teóricos desde diferentes aproximaciones, tanto para el caso de la cisteína libre como para la cisteína adsorbida en oro. Las asignaciones correspondientes a nuestros espectros Raman se realizaron teniendo como parámetros las similitudes de los sistemas de cada uno de los trabajos anteriormente mencionados, tomando como partida aquellas bandas vibracionales en las cuales existe una congruencia entre los autores (Tabla 4.1).

Las diferencias estructurales entre los espectros de L-Cis y D-Cis se refleja en nuestros espectros Raman y se puede identificar en particular mediante los modos sensibles a la conformación  $C_{\beta}S$  y las vibraciones de estiramiento S-H (34). En el primer caso, la banda de estiramiento (*stretching*) de  $C_{\beta}S$  aparece a  $637 \text{ cm}^{-1}$  en el espectro de LCis, mientras que en el espectro de DCis se muestra a  $658 \text{ cm}^{-1}$  y  $677 \text{ cm}^{-1}$  (el último con mayor intensidad),

Tabla 4.1: Comparaciones entre las asignaciones hechas por los trabajos de Minkov(33), Guohua Yao (41) y Stewart F. Parker (76). En las primeras columnas se muestran los valores experimentales de las muestras de LCis así como del sistema híbrido de Au-LCis de las muestras del presente trabajo. De esta forma se busca encontrar la asignación correcta de las bandas vibracionales de nuestros espectros Raman para un correcto análisis.

L-Cis	AuL-Cis NPs	Modo Vibracional Minkov	ExpYao	Modo Vibracional Yao	Exp Parker	Modo Vibracional Parker
533	551	COO <sub>rock</sub>	527	C <sub>α</sub> C <sub>γ</sub> O <sub>bend</sub> , C <sub>α</sub> C <sub>γ</sub> C <sub>β</sub> bend-out, C <sub>α</sub> -N <sub>str</sub>	536	CH <sub>2</sub> -CH-N <sub>bend</sub>
637		CS <sub>str</sub>			639	CH-CO <sub>2</sub> str
691	662,683	CS <sub>str</sub>	673	C <sub>β</sub> S <sub>str</sub> , COO <sub>γ</sub> sciss	693	C-S <sub>str</sub>
770		CH <sub>2</sub> rock			773	CH <sub>2</sub> rock
805,821	812,830	COO <sub>bend/wagg</sub>	832	C <sub>β</sub> H <sub>2</sub> wang, C <sub>α</sub> N <sub>str</sub>	806	COO <sub>scissors</sub>
867	906	CC <sub>st</sub>	900	C <sub>α</sub> C <sub>γ</sub> str, NH <sub>3</sub> rock, C <sub>γ</sub> OO <sub>sciss</sub>	868	COO <sub>wag</sub>
938	953	SH <sub>bend</sub>	949	C <sub>α</sub> -C <sub>β</sub> str, NH <sub>3</sub> rock	941	N-CH <sub>str</sub>
1008		NH <sub>3</sub> rock			996,1008	CH <sub>2</sub> -CH <sub>str</sub>
1066	1068	NH <sub>3</sub> rock	1050	C <sub>β</sub> H <sub>2</sub> twist, C <sub>α</sub> N <sub>str</sub>	1067	S-H <sub>in-plane</sub> bend
1114	1112	CH <sub>bend</sub>			1005,1011	NH <sub>3</sub> rock
1145	1133	CH <sub>2</sub> twist	1125	C <sub>α</sub> C <sub>β</sub> str, NH <sub>3</sub> rock, C <sub>α</sub> N <sub>str</sub>	1140	NH <sub>3</sub> rock
1200	1222,1247	CH <sub>2</sub> wag	1232	C <sub>β</sub> H <sub>2</sub> twist	1199	CH <sub>2</sub> twist
1295	1305	CH <sub>2</sub> wag	1292	C <sub>α</sub> -H <sub>bend/wag</sub>	21294,1302	C-H <sub>bend</sub>
1346	1334	CH <sub>rock</sub>	1339	C <sub>γ</sub> OO <sub>symstr</sub> , C <sub>α</sub> -H <sub>bend</sub>	1345,1354	COO <sub>symstr</sub>
		NH <sub>3</sub> bend/sym				
		COO <sub>str/sym</sub>				
1398	1389	CH <sub>2</sub> bend	1391	C <sub>β</sub> H <sub>2</sub> sciss	1398	CH <sub>2</sub> sciss
1423	1401	CH <sub>2</sub> bend			1425	CH <sub>2</sub> sciss
1530	1530	NH <sub>3</sub> bend/asym			1525	NH <sub>3</sub> symbend
1581	1581		1574	asymstrC <sub>γ</sub> OO <sub>bend</sub> NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	1574,1581	NH-3 <sub>asymbend</sub>
2549		SH <sub>str</sub>		SH <sub>str</sub>		SH <sub>str</sub>
2955, 2996	2912, 2960	CH <sub>2</sub> str		C <sub>β</sub> H <sub>2</sub> str		CH <sub>2</sub> str

asociado a  $P_H$  y  $P_N$  respectivamente. En el segundo caso, la banda correspondiente a la vibración  $SH_{str}$  en el espectro de LCis se encuentra a  $2549\text{ cm}^{-1}$  y para DCis está a  $2542\text{ cm}^{-1}$  y  $2574\text{ cm}^{-1}$ , el primero asociado a  $P_H$  ya que está en estrecha coincidencia con la banda correspondiente de LCis y el segundo ubicado con un desplazamiento de  $32\text{ cm}^{-1}$  con dirección al rojo, asociado a la conformación  $P_N$ . En ambos casos, la banda adicional presente en el espectro de DCis, correspondiente a las moléculas con conformación isómera  $P_N$ , se encuentra en números de onda más altos, de acuerdo con trabajos anteriores que han predicho, por análisis de coordenadas normales que un cambio de  $P_H$  a  $P_N$  o  $P_C$  involucra un cambio de  $\nu_{CS}$  a mayores números de onda (77).

La figura 4.3 b) muestra que los espectros Raman de las muestras de cisteína L y D disueltas en agua son indistinguibles, lo que confirma que en solución la cisteína pierde su memoria con respecto a su polimorfismo cristalino. La multiplicidad de bandas características de la presencia de dos rotámeros presentes en el polimorfo monoclinico se pierde para DCis y, en una comparación con los espectros Raman de ambas moléculas de cisteína en fase sólida, se encontró que ambas bandas espectrales de LCis y DCis están en estrecha coincidencia con los números de onda correspondientes al rotámero  $P_N$  de DCis. Esto está de acuerdo con los hallazgos de Díaz-Flemming *et al.*, quienes informan que la estructura de cisteína más estable en el agua es un confórmero zwitteriónico con una orientación similar a la conformación monoclinica *trans* ( $P_N$ ) observado en el estado cristalino (38), en el que el grupo tiol está orientado hacia el grupo carboxilo (78). Además, los cambios vibracionales de las bandas  $C_{\beta}S_{str}$  y  $S-H_{str}$  también apuntan a una configuración parecida al rotámero  $P_N$  preferido para las moléculas de cisteína libres en solución. La banda LCis  $SH_{str}$  cambia de  $2549\text{ cm}^{-1}$  a  $2583\text{ cm}^{-1}$  al pasar de la fase cristalina a la solución, un cambio de  $34\text{ cm}^{-1}$  a frecuencias más altas. Las bandas DCis  $SH_{str}$  pasan de un doblete a  $2542\text{ cm}^{-1}$  ( $P_H$ ) y  $2574\text{ cm}^{-1}$  ( $P_N$ ) a una pico único a  $2583\text{ cm}^{-1}$  al pasar de la fase cristalina a la solución, un desplazamiento de  $41\text{ cm}^{-1}$  también a frecuencias más altas para la banda correspondiente de  $P_H$ . Para ambas moléculas, el cambio de la fase cristalina a la solución es hacia frecuencias más altas y de una magnitud de alrededor de  $40\text{ cm}^{-1}$ , como se predijo previamente para un cambio global estadístico similar a una estructura conformacional de  $P_H$  a una estructura  $P_N$  (34). La banda vibracional  $C_{\beta}S_{str}$  demuestra el mismo comportamiento para los espectros de ambas moléculas, cambiando de  $637\text{ cm}^{-1}$  a  $690\text{ cm}^{-1}$  en el caso de

LCis ( $53 \text{ cm}^{-1}$  cambio ascendente) y desde  $658, 677 \text{ cm}^{-1}$  doblete hasta también  $689 \text{ cm}^{-1}$  ( $31 \text{ cm}^{-1}$  cambio ascendente) en el caso de DCis, reflejando una transición de  $P_H$  a  $P_N$ . Finalmente, la ausencia de la banda a  $490 \text{ cm}^{-1}$  de la vibración de estiramiento de la banda S-S de la cisteína indica que no hay presencia de especies de dímeros cis-cis (41).

### 4.3. Nanopartículas de Au Protegidas con L- y D-Cisteína

#### 4.3.1. Caracterización por Microscopía Electrónica de Transmisión

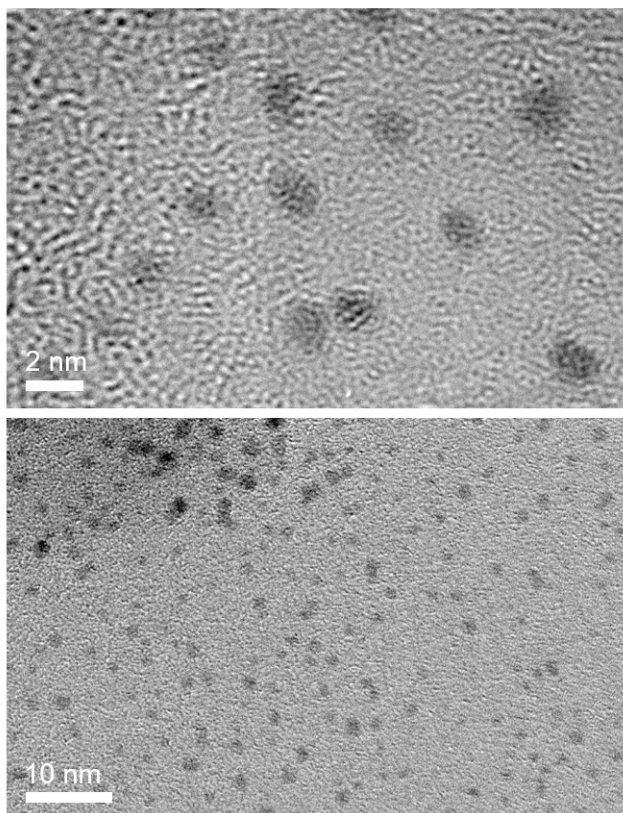


Figura 4.4: Imágenes de TEM de las AuNPs después de la incorporación de cisteína. La muestra analizada consta de concentraciones finales de  $0.25 \text{ mM}$  para AuNPs y de  $150 \text{ mM}$  para cisteína. Imágenes representativas de la dispersión sin aglomeración de las nanopartículas de Au-Cis y una distribución de tamaño homogénea con un diámetro medio de  $2.7 \pm 0.4 \text{ nm}$ .

Las muestras de L-cisteína adsorbida en AuNPs (Au-LCisNPs) y D-cisteína adsorbida en AuNPs (Au-DCisNPs) fueron examinadas por TEM. Las imágenes mostraron una alta dispersión de las AuNP sin aglomeración (Fig. 4.4) con un diámetro promedio de  $2.38 \text{ nm}$ ,

lo que indica que las concentraciones relativas de AuNP coloidales y soluciones de cisteína utilizadas para preparar nuestras muestras alcanzaron un equilibrio propicio para evitar la tendencia a la agregación que es característica de este sistema (41; 79). El diámetro promedio de las nanopartículas después de la adsorción de cisteína aumentó con respecto a los AuNPs sin cisteína, posiblemente debido a la nucleación posterior causada por la creación de vacancias de electrones en la superficie de las nanopartículas, ya que pueden actuar como donantes de electrones durante la adsorción.(80)

### 4.3.2. Espectroscopía Raman

El análisis a través de espectroscopía Raman confirmó la correcta adsorción de cisteína a través del átomo de azufre (después de romper el enlace SH) para las muestras de L y D-cisteína por la desaparición del modo vibracional correspondiente al grupo tiol SH<sub>str</sub> (81; 82; 83), con una banda vibracional a 2549 cm<sup>-1</sup> para el espectro LCis y a 2542 cm<sup>-1</sup> (P<sub>H</sub>) y 2558 cm<sup>-1</sup> (P<sub>N</sub>) para el espectro de DCis (Fig. 4.5). La correcta dispersión de las AuNPs protegidas por la cisteína monomérica también se confirmó por la ausencia de la banda a 490 cm<sup>-1</sup> de la vibración de estiramiento S-S, que es señal de un dímero de cisteína (40). Nuestros resultados demuestran un alto grado de similitud entre los espectros Raman de Au-LCisNPs y Au-DCisNPs Raman, con pocos cambios que varían entre 1 y 5 cm<sup>-1</sup> y en perfecta coincidencia para la mayoría de las bandas vibracionales. Esto sugiere que ambas moléculas de cisteína siguen el mismo proceso de adsorción y son igualmente modificadas por la presencia de la superficie del metal. Además, la calidad de los espectros Raman adquiridos de las muestras de Au-CisNPs demostró ser más alta que la de las moléculas de cisteína libres. Esto es un reflejo de la estabilización que inducen las AuNPs sobre la cisteína, sustituyendo a la proporcionada por la red cristalina en la fase sólida.

Enfocándonos en el espectro de LCis antes y después de la adsorción en AuNPs encontramos que las bandas de frecuencia vibracional correspondientes al grupo carboxyl, identificadas a 823 cm<sup>-1</sup> (*scissoring*), 1356 cm<sup>-1</sup> y 1406 cm<sup>-1</sup> (ambos estiramientos simétricos) (33; 38; 39; 40; 41; 42; 84) experimentan las siguientes modificaciones: después de la adsorción, la banda de vibración *scissoring* C<sub>γ</sub>OO<sup>-</sup> se divide en un doblete (812, 832 cm<sup>-1</sup>) que se centra esencialmente en el número de onda de la molécula LCis libre (sólo 1 cm<sup>-1</sup> cambiado a frecuencias más bajas). Ambas vibraciones de estiramiento de C<sub>γ</sub>OO<sup>-</sup> se des-

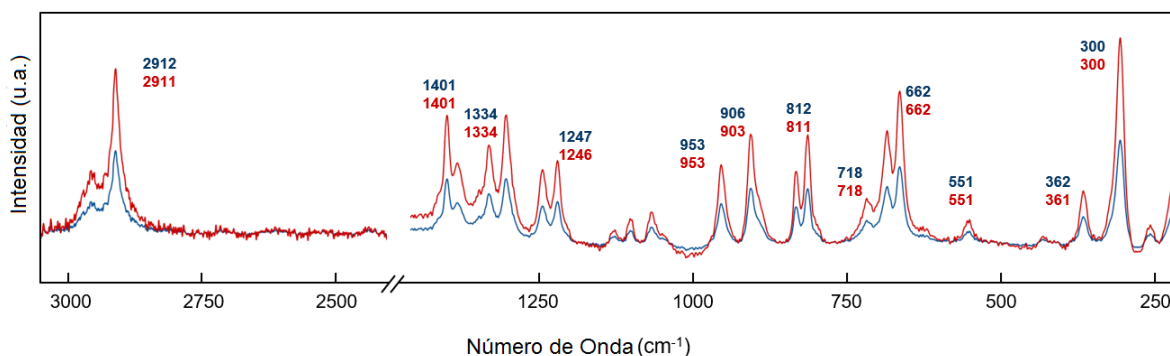


Figura 4.5: Espectros Raman de Au-LCis (azul) y Au-DCis (rojo) en fase coloidal. La desaparición de la banda del grupo tiol correspondiente al modo  $\text{SH}_{\text{str}}$  a  $2549 \text{ cm}^{-1}$  para el espectro de LCis y a  $2542 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{P}_\text{H}$ ) y  $2574 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{P}_\text{N}$ ) para el espectro de DCis indica la correcta adsorción de cisteína a través del átomo de azufre (después de romper el enlace S-H) para la L- y D-Cisteína.

plazan hacia frecuencias más bajas a  $1334 \text{ cm}^{-1}$  y  $1385 \text{ cm}^{-1}$ . En particular, el cambio de la banda  $\nu_{\text{COO}^-}$  de  $1406 \text{ cm}^{-1}$  a  $1385 \text{ cm}^{-1}$  ha sido identificado previamente como evidencia de una fuerte interacción de este grupo funcional con el metal (40). Las bandas vibracionales correspondientes al grupo amino LCis, en cambio, se desplazan hacia frecuencias más altas como consecuencia de la adsorción. Bandas de espectro LCis libres a  $878 \text{ cm}^{-1}$ ,  $940 \text{ cm}^{-1}$  y  $1560 \text{ cm}^{-1}$  asignados como vibraciones de balanceo, balanceo y flexión del grupo  $\text{NH}_3^+$  respectivamente (33; 38; 39; 41; 84), cambian a  $906 \text{ cm}^{-1}$ ,  $953 \text{ cm}^{-1}$  y  $1581 \text{ cm}^{-1}$  de manera correspondiente. Ambos grupos funcionales experimentan cambios de aproximadamente la misma magnitud (entre  $11$  y  $32 \text{ cm}^{-1}$ ) pero en direcciones opuestas (Fig. 4.3.2), el comportamiento que se ha observado previamente en otros estudios vibracionales de sistemas similares (85).

Nuestros espectros Raman muestra una banda débil a  $255 \text{ cm}^{-1}$ , posiblemente debido a las vibraciones de Au-S tangenciales de estiramiento de las grapas SR-Au-SR (48), que también se ha observado en otros experimentos más recientes con SERS a  $267 \text{ cm}^{-1}$  (41). Finalmente, una banda fuerte a  $300 \text{ cm}^{-1}$  que corresponde a una vibración de estiramiento Au-S que se puede identificar como una vibración de modo radial del azufre central de las grapas SR-Au-SR -Au-SR, que involucran movimientos perpendiculares del tiolato contra la superficie de la nanopartícula (48).

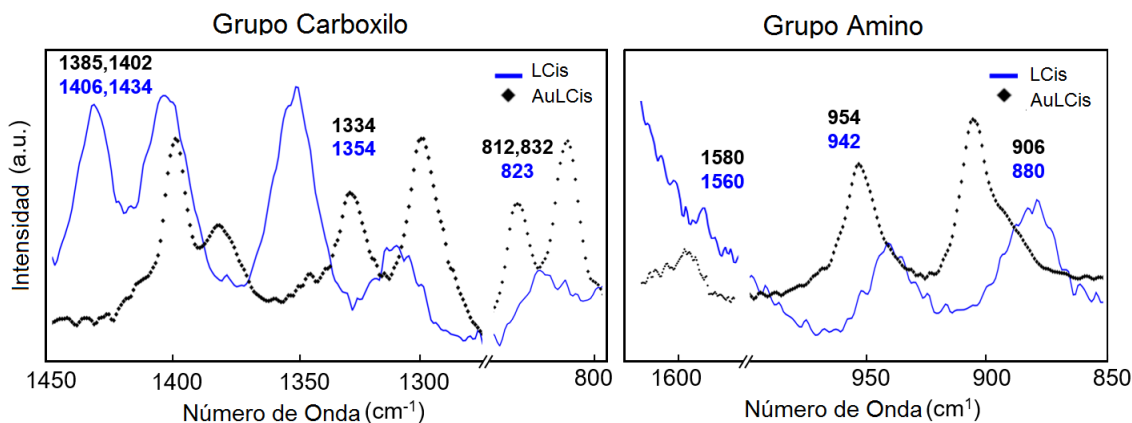


Figura 4.6: Los espectros Raman de la L- y D-cisteína muestran regiones que comprenden bandas vibracionales correspondientes a los grupos carboxilo (izquierda) y amino (derecha). Ambos grupos funcionales experimentan un cambio generalizado de la misma magnitud (entre 11 y 32  $\text{cm}^{-1}$ ) pero en direcciones opuestas. Las bandas de carboxilo cambian a frecuencias más bajas, lo que indica un debilitamiento general de los enlaces  $\text{C}\gamma\text{OO}^-$  debido a la interacción con la superficie de oro, mientras que las bandas de amino muestran una tendencia a cambiar a frecuencias más altas, lo que refleja una modificación de los enlaces atómicos de  $\text{NC}_\alpha\text{C}_\beta\text{S}$  que forman el ángulo diedro en la adsorción.

En el caso de los espectros de DCis antes de la adsorción observamos que la banda correspondientes al grupo  $\text{COO}^-$  identificadas a 822  $\text{cm}^{-1}$  (*scissoring*), 1355  $\text{cm}^{-1}$  y 1410  $\text{cm}^{-1}$  (ambos estiramientos simétricos) (33; 38; 39; 40; 41; 42; 84) se modifican de la siguiente manera: después de la adsorción, la banda de vibración *scissoring*  $\text{C}\gamma\text{OO}^-$  se divide en un doblete (811, 830  $\text{cm}^{-1}$ ) que se centra esencialmente en el número de onda de la molécula DCis libre. Ambas vibraciones de estiramiento de  $\text{C}\gamma\text{OO}^-$  se desplazan hacia frecuencias más bajas a 1334  $\text{cm}^{-1}$  y 1386  $\text{cm}^{-1}$ . En particular, el cambio de la banda  $\nu_{\text{COO}^-}$  de 1410  $\text{cm}^{-1}$  a 1386  $\text{cm}^{-1}$ , análogamente al caso de la adsorción en la DCis, es evidencia de una fuerte interacción de este grupo funcional con el metal (40). De la misma manera que para el caso de la LCis las bandas del espectro Raman asociadas como vibraciones del grupo  $\text{NH}_3^+$  cambian de tal manera que se desplazan a frecuencias más altas, mientras que las bandas correspondientes al grupo funcional Carboxilo se desplazan a frecuencias mas bajas.

# Capítulo 5

## Resultados Computacionales

### 5.1. Cálculos de Mínima Energía y Estabilidad

#### 5.1.1. Au<sub>9</sub>-Cis

El sistema Au<sub>9</sub>-Cis se modeló mediante cálculos de Teoría Funcional de la Densidad (DFT). Inicialmente consideramos un pequeño cúmulo de Au<sub>9</sub> para realizar búsquedas aleatorias de optimización global, a partir de un conjunto de configuraciones iniciales de cisteína ortorrómbica adsorbida en todos sus tres posibles isómeros de rotación: (P<sub>H</sub>, P<sub>N</sub> y P<sub>C</sub>). Consideramos la adsorción a través del grupo tiol únicamente, del grupo tiol junto el grupo amino y el grupo tiol junto con el grupo carboxilo. En nuestros cálculos, encontramos que todos los rotámeros de cisteína prefieren estar unidos por el átomo de azufre y uno de los átomos de oxígeno del grupo carboxilo. Esto está de acuerdo con estudios anteriores que combinan análisis teóricos y experimentales (41; 85; 86).

Una configuración bidentada 'P<sub>H</sub>/P<sub>C</sub>/P<sub>N</sub>O<sub>2</sub>' que hace referencia al sistema en el que la molécula es adsorbida por la AuNP a través del átomo de azufre del grupo tiol y ambos átomos del grupo carboxilo (Fig. 5.1), no se pudo estabilizar debido al espacio de adsorción limitado proporcionado por la configuración plana del Au<sub>9</sub> .

Considerando la adsorción por medio del átomo de azufre y uno de los átomos del grupo carboxilo, es decir los casos 'P<sub>H</sub>/P<sub>C</sub>/P<sub>N</sub>O<sub>H</sub>' (cuando el sitio de adsorción es el oxígeno de la cisteína más cercano al H de la misma) y 'P<sub>H</sub>/P<sub>C</sub>/P<sub>N</sub>O<sub>N</sub>'(cuando el sitio de adsorción es el



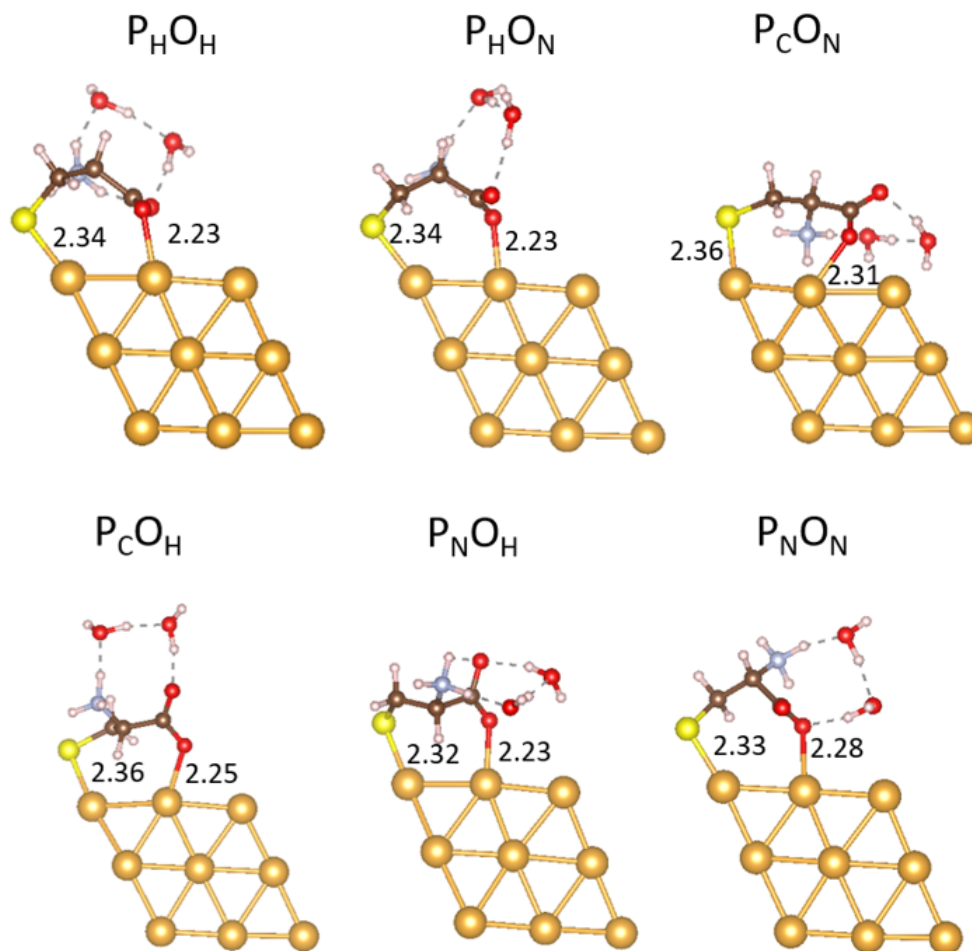


Figura 5.1: Rotámeros de cisteína zwitteriónicos y sitios de adsorción correspondientes a los seis sistemas Au<sub>9</sub>-Cis con las energías totales más bajas: P<sub>H</sub>O<sub>H</sub> = 0.0 eV, P<sub>H</sub>O<sub>N</sub> = +0.10 eV, P<sub>C</sub>O<sub>N</sub> = +0.10 eV, P<sub>C</sub>O<sub>H</sub> = +0.30 eV, P<sub>N</sub>O<sub>H</sub> = +0.35 eV y P<sub>N</sub>O<sub>N</sub> = +0.41 eV

oxígeno de la cisteína más cercano al nitrógeno de la misma), encontramos que la diferencia de energía calculada entre las configuraciones y un sitio de adsorción el O<sub>H</sub> y O<sub>N</sub> es bastante pequeña ( $\Delta E \leq 0.2$  eV), como se muestra en la Fig. 5.1. Para estas dos configuraciones, los grupos tiol y carboxilo parecen estar unidos en posiciones superiores sobre dos átomos vecinos de Au. La adsorción a través del grupo amino junto con el grupo tiol 'P<sub>H</sub>/P<sub>C</sub>/P<sub>N</sub>N' no condujo a una configuración estable, desplazando al grupo amino a la parte superior de la molécula impidiendo que formara enlaces con el Au<sub>9</sub> durante el proceso de relajación. Finalmente, los sistemas que implicaban la adsorción sólo a través del grupo tiol 'P<sub>H</sub>/P<sub>C</sub>/P<sub>N</sub>O<sub>0</sub>', resultaron no estables y, en algunos procesos de relajación, la molécula se transforma de la forma zwitteriónica a la no zwitteriónica.

La introducción de dos moléculas de agua fue necesaria para aumentar la estabilidad de todos los sistemas basados en la formación de enlaces de hidrógeno entre el  $\text{NH}_3^+ \cdots \text{H}_2\text{O}$  y el  $\text{COO}^- \cdots \text{H}_2\text{O}$ . Es importante notar que en el caso del grupo carboxilo, la diferencia de energía entre los sistemas con la molécula adsorbida por el  $\text{O}_\text{H}$  y el  $\text{O}_\text{N}$  se mantiene después de considerar la introducción de las moléculas de agua. Además, las distancias, los ángulos y los ángulos diédros son similares después de la introducción de las moléculas de agua (Tab.5.1).

		$\text{P}_\text{H}\text{O}_\text{N}$	$\text{P}_\text{H}\text{O}_\text{H}$	$\text{P}_\text{C}\text{O}_\text{N}$	$\text{P}_\text{C}\text{O}_\text{H}$	$\text{P}_\text{N}\text{O}_\text{H}$	$\text{P}_\text{N}\text{O}_\text{N}$
Distancia de enlace (Å)	$\text{C}_\beta\text{-C}_\gamma$	1.557	1.547	1.554	1.532	1.557	1.538
	$\text{C}_\gamma\text{-O}_\text{H}$	1.271	1.242	1.307	1.285	1.270	1.223
	$\text{C-O}_\text{N}$	1.260	1.298	1.240	1.252	1.260	1.325
	$\text{C}_\beta\text{-N}$	1.499	1.489	1.501	1.499	1.513	1.522
	$\text{C}_\alpha\text{-S}$	1.849	1.844	1.861	1.850	1.843	1.834
Ángulo (°)	$\text{C}_\gamma\text{-C}_\beta\text{-C}_\alpha$	115.1	113.8	116.0	114.4	115.9	114.2
	$\text{C}_\beta\text{-C}_\alpha\text{-S}$	113.1	114.8	115.3	110.1	116.1	114.6
	$\text{O-C}_\gamma\text{-O}$	127.8	128.5	124.9	125.3	124.5	128.0
ángulo Diedro(°)	$\text{C}_\gamma\text{-C}_\beta\text{-C}_\alpha - \text{S}$	82.6	95.0	145.8	163.2	62.8	56.2
	$\text{N-C}_\beta\text{-C}_\alpha\text{-S}$	36.9	25.9	24.6	69.2	177.2	171.0

Tabla 5.1: Longitud de enlaces atómicos, ángulos y ángulos diedros correspondientes a los seis sistemas  $\text{Au}_9\text{-Cis}$  con las energías de adsorción más bajas: :  $\text{P}_\text{H}\text{O}_\text{H}$ ,  $\text{P}_\text{H}\text{O}_\text{N}$ ,  $\text{P}_\text{C}\text{O}_\text{N}$ ,  $\text{P}_\text{C}\text{O}_\text{H}$ ,  $\text{P}_\text{N}\text{O}_\text{H}$  y  $\text{P}_\text{N}\text{O}_\text{N}$ .

### 5.1.2. $\text{Au}_{34}\text{-Cis}$

Se realizaron búsquedas aleatorias de optimización global para explorar el sitio preferencial de adsorción de cisteína en el cúmulo de  $\text{Au}_{34}$ . Nuestros cálculos indican que el mínimo global es la configuración  $\text{P}_\text{H}\text{O}_0$ , con el átomo de azufre adsorbido en un sitio de puente (*bridge*). Para este rotámero, se puede pensar que los átomos de oxígeno del grupo  $\text{C}_\gamma\text{OO}^-$  se encuentran en una configuración bidentada ( $\text{P}_\text{H}\text{O}_2$ ), sin embargo, las distancias de equilibrio calculadas para los enlaces  $\text{O-Au}$  son bastante grandes (2.51 - 2.54 Å) para ser consideradas. Las siguientes configuraciones de menor energía involucran la molécula de cisteína unida al cúmulo  $\text{Au}_{34}$  por los grupos tiol y carboxilo  $\text{P}_\text{H}\text{O}_\text{H}$ ,  $\text{P}_\text{H}\text{O}_\text{N}$ ,  $\text{P}_\text{C}\text{O}_\text{H}$  (Fig. 5.2). Las configuraciones  $\text{P}_\text{H}\text{O}_\text{H}$  y  $\text{P}_\text{H}\text{O}_\text{N}$  resultan isoenergéticas, con menos de 0.16 eV de diferencia en energía total. Para estos dos casos, el átomo de azufre está anclado en una

posición superior, mientras que sólo uno de los átomos de oxígeno del grupo carboxilo se une al cúmulo  $\text{Au}_{34}$  (con distancias O-Au de 2.28 y 2.30 Å, respectivamente). El rotámero  $\text{P}_{\text{C}}\text{O}_{\text{H}}$  es +0.50 eV más alto en energía. Para esta configuración de mínimos locales, las distancias de equilibrio calculadas indican una clara posición superior para el átomo de azufre. Una tendencia similar se observa para el grupo carboxilo, donde uno puede ver claramente sólo un enlace O-Au (2.24 Å).

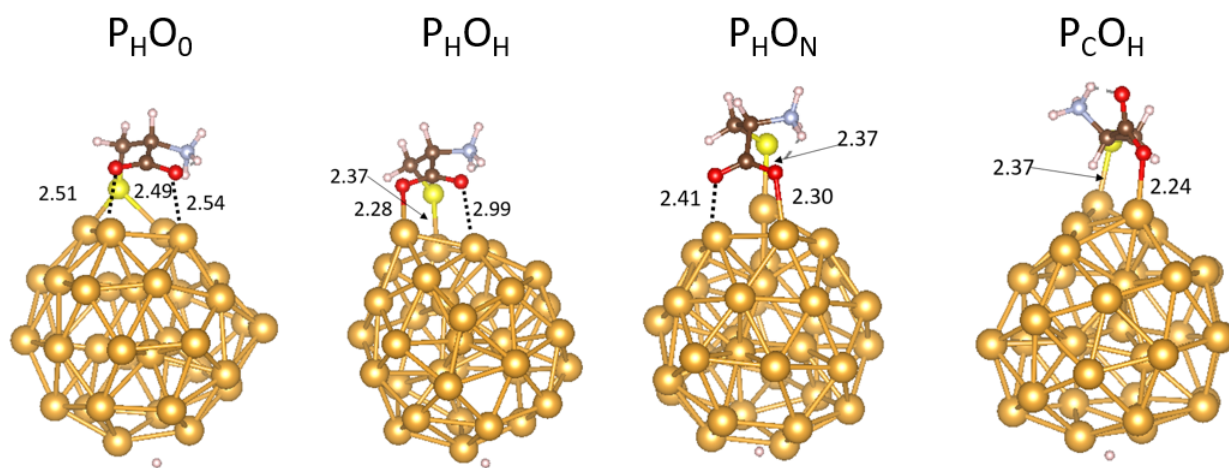


Figura 5.2: Rotámeros de cisteína zwitteriónica y sitios de adsorción correspondientes a los cuatro sistemas  $\text{Au}_{34}$ -Cis con energías totales:  $\text{P}_{\text{H}}\text{O}_0 = 0.0$  eV,  $\text{P}_{\text{H}}\text{O}_{\text{H}} = + 0.07$  eV,  $\text{P}_{\text{H}}\text{O}_{\text{N}} = + 0.16$  eV and  $\text{P}_{\text{C}}\text{O}_{\text{H}} = + 0.50$  eV

		$\text{P}_{\text{H}}\text{O}_0$	$\text{P}_{\text{H}}\text{O}_{\text{H}}$	$\text{P}_{\text{H}}\text{O}_{\text{N}}$	$\text{P}_{\text{C}}\text{O}_{\text{H}}$
Distancia de enlace (Å)	$\text{C}_{\beta}\text{-C}_{\gamma}$	1.569	1.561	1.553	1.557
	$\text{C}_{\gamma}\text{-O}_{\text{H}}$	1.248	1.270	1.250	1.276
	$\text{C-O}_{\text{N}}$	1.283	1.259	1.285	1.258
	$\text{C}_{\beta}\text{-N}$	1.503	1.500	1.500	1.500
	$\text{C}_{\alpha}\text{-S}$	1.862	1.847	1.846	1.852
Ángulo (°)	$\text{C}_{\gamma}\text{-C}_{\beta}\text{-C}_{\alpha}$	116.0	115.0	112.8	112.9
	$\text{C}_{\beta}\text{-C}_{\alpha}\text{-S}$	118.8	113.4	112.0	112.9
	$\text{O-C}_{\gamma}\text{-O}$	129.7	129.7	129.3	126.8
ángulo	$\text{C}_{\gamma}\text{-C}_{\beta}\text{-C}_{\alpha} - \text{S}$	70.4	88.9	84.0	170.4
Diedro(°)	$\text{N-C}_{\beta}\text{-C}_{\alpha}\text{-S}$	49.6	28.7	33.5	55.5

Tabla 5.2: Longitud de enlaces, ángulos y ángulos diedros de las diferentes configuraciones correspondientes a los cuatro sistemas  $\text{Au}_{34}$ -Cis con las energías de adsorción más bajas:  $\text{P}_{\text{H}}\text{O}_0$ ,  $\text{P}_{\text{H}}\text{O}_{\text{H}}$ ,  $\text{P}_{\text{H}}\text{O}_{\text{N}}$  eV y  $\text{P}_{\text{C}}\text{O}_{\text{H}}$ .

## 5.2. Cálculos de los Espectros Raman

### 5.2.1. Espectros Raman de Au<sub>9</sub>-Cis

Los espectros Raman se calcularon para todos los rotámeros y combinaciones de adsorción considerando la interacción de Au<sub>9</sub>-Cis a través de sus grupos tiol y carboxilo. Para los cálculos de las intensidades de Raman no resonantes del sistemas Au<sub>9</sub>-Cis se incluyeron 2 moléculas de agua (obteniendo sólo configuraciones zwitteriónicas). Estos espectros Raman se calculan con ADF2013 utilizando la función de correlación de intercambio DFT-D3.

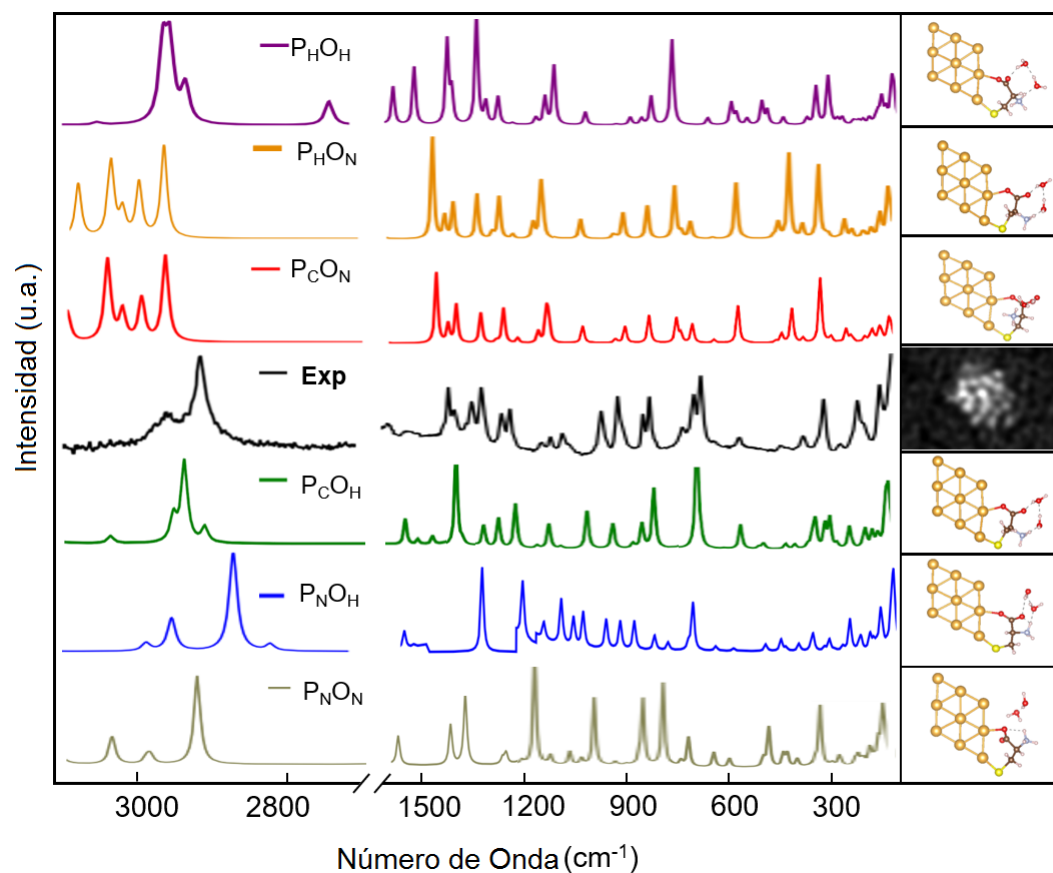


Figura 5.3: Espectros Raman calculados (DFT-D3) de las configuraciones estables de la cisteína adsorbida en Au<sub>9</sub> a través de grupos tiol y carboxilo para las seis configuraciones de Au<sub>9</sub> con las más baja energía de adsorción, P<sub>H</sub>O<sub>H</sub>, P<sub>H</sub>O<sub>N</sub>, P<sub>C</sub>O<sub>N</sub>, P<sub>C</sub>O<sub>H</sub>, P<sub>N</sub>O<sub>H</sub> y P<sub>N</sub>O<sub>N</sub>. Para cada espectro Raman calculado, la estructura de Au<sub>9</sub>-Cis optimizada se muestra a la derecha. El espectro Raman con la configuración P<sub>C</sub>O<sub>H</sub> es el que mejor simula los datos experimentales de Raman, tanto en frecuencia como en intensidad. La estructura de Au<sub>9</sub>-Cis optimizada correspondiente se muestra a la derecha para cada espectro calculado. El espectro de Raman experimental está acompañado por la imagen HAADF-STEM de la muestra de AuNPs correspondiente.

### 5.2.2. Espectros Raman de Au<sub>34</sub>-Cis

Los espectros Raman calculados para las cuatro configuraciones de Au<sub>34</sub>-Cis se muestran en la Fig. 5.2.2. La implementación de los cálculos del espectro Raman en ADF2013 sólo puede tratar al sistema con restricciones de espín, por lo tanto, se colocó un átomo de hidrógeno (H) dentro del cúmulo Au<sub>34</sub>, lo más alejado posible del sitio de adsorción de la cisteína.

Lo anterior no fue necesario para el caso de Au<sub>9</sub>-Cis ya que éste de manera natural adopta una configuración de espín restringido. De esta manera, el sistema Au<sub>34</sub>-Cis (con H) se relajó localmente, y se calcularon sus correspondientes modos activos Raman. La configuración de PC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, que es el espectro que se compara mejor con los espectros Raman experimentales, permanece en los sistemas Au<sub>34</sub>-Cis (sin H) y Au<sub>34</sub>-Cis (con H) como el isómero de mayor energía (+0.5 eV Fig. 5.2).

Los modos vibracionales correspondientes a los enlaces de Au-S se han identificado por debajo de 400 cm<sup>-1</sup> (41; 87). Las vibraciones del AuNPs se predijeron por debajo de 200 cm<sup>-1</sup>, la flexión de Au-SC en un rango de 200-215 cm<sup>-1</sup> y un modo vibracional de estiramiento de Au-S a 242 cm<sup>-1</sup> (88).

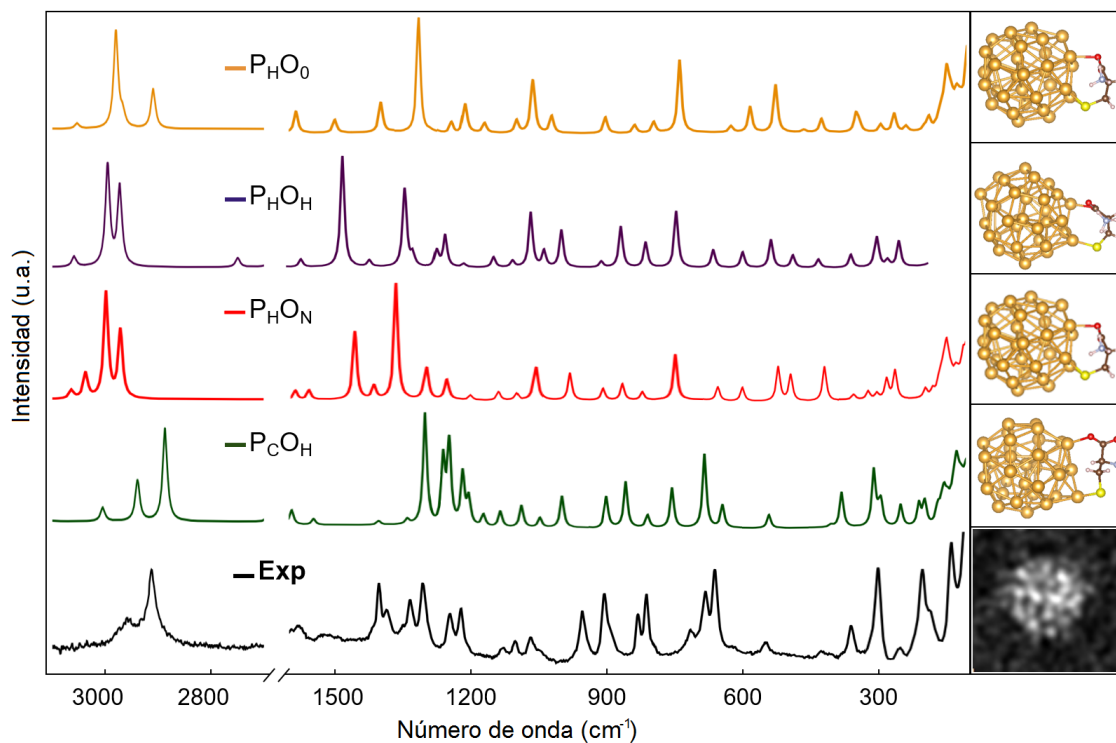


Figura 5.4: Espectros Raman calculados (DFT-D3) de las configuraciones estables de la cisteína adsorbida en Au<sub>34</sub> a través de los grupos tiol y carboxilo para las cuatro configuraciones Au<sub>34</sub>-Cis con las más bajas energías de adsorción, P<sub>H</sub>O<sub>H</sub>, P<sub>H</sub>O<sub>N</sub> y P<sub>C</sub>O<sub>H</sub>. El espectro con la configuración P<sub>C</sub>O<sub>H</sub> es el que mejor predice los datos experimentales, de manera similar al sistema Au<sub>9</sub>-Cis. La estructura de Au<sub>34</sub>-Cis optimizada correspondiente se muestra a la derecha para cada espectro calculado. El espectro Raman experimental se acompaña de la imagen HAADF-STEM de la muestra de AuNPs correspondiente.

# Capítulo 6

## Discusión

### 6.1. Cambios en las Bandas del Grupo Carboxilo y del Amino.

La tendencia generalizada de las vibraciones del grupo carboxilo al desplazamiento al rojo (Figura 4.3.2 a) indica un debilitamiento general de los enlaces  $C_{\gamma}OO^{-}$ . Esto se puede interpretar como una interacción directa entre este grupo y la superficie de oro, según el siguiente argumento: en su forma zwitteriónica, el grupo carboxilo de la cisteína tiene un enlace resonante para los átomos de  $O_H$  y  $O_N$ . Tras la adsorción en Au NPs, considerando que el grupo carboxilo interactúa con la superficie de oro a través de  $O_H$ , el enlace  $C_{\gamma}-O_H$  se convierte en un enlace sencillo, mientras que el  $C-O_N$  se convierte en un enlace doble. Como consecuencia, el enlace  $C_{\gamma}O_H$  se alarga, de acuerdo con trabajos anteriores que reportan un enlace más largo de  $C_{\gamma} O$  (directo hacia la superficie) del sistema de oro-cisteína (38), causando un desplazamiento al rojo en la frecuencia de vibración correspondiente. Por el contrario, el enlace  $C_{\gamma}O_N$  se convierte en un doble enlace y la distancia se acorta, pero dado que la carga presente en el átomo  $O_N$  se incrementa (de  $1.87 e^{-}$  para el  $P_N$  configuración de cisteína libre a  $1.98 e^{-}$  para la configuración  $P_C$  de cisteína adsorbida en Au<sub>9</sub> Tab. 5.1), esta diferencia de fuerza de enlace entre  $C_{\gamma}O_N$  y  $C_{\gamma}O_H$  simplemente se refleja en la división de las bandas Raman asociadas al  $C_{\gamma}OO^{-}$  que incluyen picos a  $823\text{ cm}^{-1}$ ,  $1214\text{ cm}^{-1}$ . Por otro lado, la tendencia generalizada al desplazamiento de las vibraciones del grupo amino (Fig. 4.3.2 b) puede explicarse por un decremento del ángulo diedro de  $NC_{\alpha}C_{\beta} S$  al considerar una transición de la conformación rotacional  $P_N$  a  $P_C$  (y también a  $P_H$ ) (Tabla 5.2).

Vale la pena notar que el rango de frecuencia entre  $1000$  y  $1150\text{ cm}^{-1}$  no se encuentra

bien definida en los espectros Raman en fase líquida para L y D-cisteína, a diferencia de lo que se obtuvo para los espectros de fase cristalina de moléculas. Esta región contiene tres bandas vibracionales relacionadas con el átomo N de cisteína:  $\text{NH}_3^+$  *rocking* a  $1145 \text{ cm}^{-1}$  y bandas de  $\text{C}_\alpha\text{N}$  a  $1066 \text{ cm}^{-1}$  y  $1114 \text{ cm}^{-1}$  (valores de fase sólida LCis). Dichas bandas se encuentran bien definidas en ambos espectros de fase cristalina (el espectro cristalino de DCis muestra cinco picos debido a la presencia de las dos simetrías distinguibles intrínsecas al polimorfismo monoclinico mencionado anteriormente), pero ninguno es visible en los espectros de fase líquida de DCis y LCis. (Fig.6.1a,b). Sin embargo, al adsorber ambas moléculas de cisteína en Au NP en fase líquida, se recuperan las bandas  $\text{NH}_3^+$  (Fig.6.1c,d). Esto implica que la estabilidad que el grupo funcional  $\text{NH}_3^+$  tenía en la fase cristalina, mediada por la interacción del enlace H con el entorno cristalino (27), que se pierde al pasar a la fase líquida, se reestablece por la presencia de la superficie de las AuNPs. Además, al comparar los valores Raman para  $\text{C}_\alpha\text{N}$  de la cisteína L y D libre con las contrapartes adsorbidas en oro, encontramos que no se producen cambios significativos, de acuerdo con los resultados experimentales anteriores (38).

Otro cambio conformacional de la cisteína sufrido por el proceso de adsorción de oro es el acortamiento del enlace  $\text{C}_\alpha\text{C}_\beta$ , confirmado por el cambio de la banda vibracional asociada que pasa de  $487 \text{ cm}^{-1}$  a  $551 \text{ cm}^{-1}$ . Esto indica un cambio geométrico inducido por la interacción del grupo carboxilo con los átomos de oro, ya que el enlace  $\text{C}_\alpha\text{C}_\beta$  recibe la mayor influencia de electrones de los enlaces  $\text{C}_\gamma\text{O}$  (38). El mismo análisis se aplica a la D-cisteína, ya que en fase líquida ambas moléculas libres tienen los mismos espectros Raman, así como después de la adsorción en nanopartículas de oro coloidal.

## 6.2. Cambios Conformacionales de la Banda Vibracional $\text{C}_\beta\text{S}_{\text{st}}$

Como se mencionó anteriormente, los modos sensibles a la conformación de la cisteína son  $\text{C}_\beta\text{S}_{\text{st}}$  y  $\text{SH}_{\text{st}}$ , pero como este último está anulado por la interacción de la cisteína con el oro, la banda vibracional correspondiente al estiramiento de  $\text{C}_\beta\text{S}$  (sensible al ángulo de torsión  $\text{NC}_\beta\text{C}_\alpha\text{S}$  y con ello a la polarizabilidad (47)), generalmente ubicado en la región  $600\text{-}800 \text{ cm}^{-1}$ , proporciona información más confiable sobre el estado de rotación de la mo-



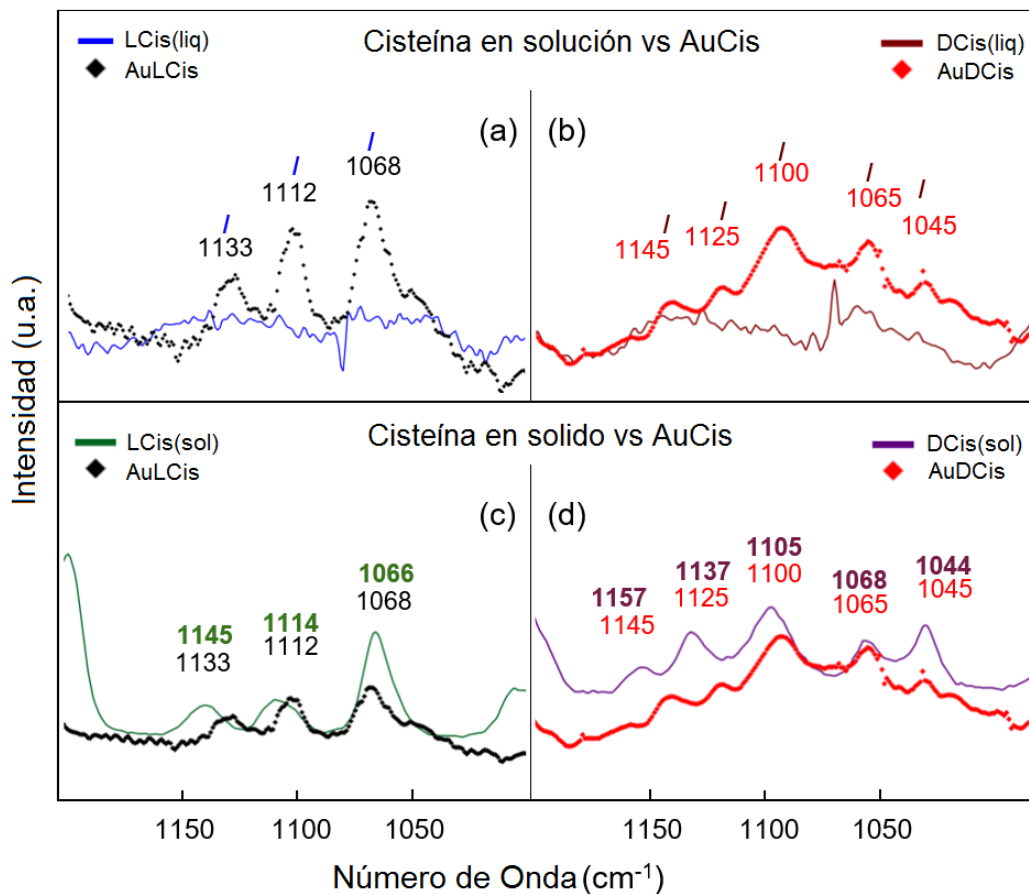


Figura 6.1: Espectros Raman de a) Au-LCis coloidal en comparación con LCis en fase líquida; b) Au-DCis coloidal en comparación con DCis en fase líquida; c) Au-LCis coloidal en comparación con LCis en fase sólida; d) Au-DCis coloidal en comparación con DCis en fase sólida. Los espectros de fase sólida demuestran una definición estructural para la región entre 1000 y 1150  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a vibraciones oscilantes del grupo  $\text{NH}_3^+$ , que se pierden en la fase líquida y se recuperan después de la adsorción en AuNPs

lécua antes y después de la adsorción en los AuNPs. El espectro de Au-LCis muestra tres bandas a 662, 682 y 718  $\text{cm}^{-1}$ , lo que indica la presencia de más de un rotámero de cisteína adsorbido en la superficie de oro (39; 40; 41). La ausencia de bandas en los números de onda más altos (750-770  $\text{cm}^{-1}$ ) en los espectros Raman de Au-LCis, correspondientes a la orientación  $\text{P}_\text{N}$  (40; 41), descarta la presencia de ese rotámero en las moléculas estabilizadas, dejando a  $\text{P}_\text{H}$  y  $\text{P}_\text{C}$  como posibles rotámeros estables en la adsorción. Discernir entre  $\text{P}_\text{H}$  y  $\text{P}_\text{C}$  basado en datos experimentales no es fácil, ya que ambos rotámeros presentan las mismas bandas Raman dentro de 680 - 710  $\text{cm}^{-1}$  (41). Esto está de acuerdo con las bajas diferencias en la energía de adsorción calculada para estos rotámeros (Tabla 5.2), lo que indica que ambas configuraciones isoméricas pueden coexistir después del proceso de adsorción.

La multiplicidad de bandas también puede reflejar la división de la vibración de flexión de  $C_{\gamma}OO^{-}$ , de acuerdo con nuestros cálculos y de acuerdo con trabajos anteriores que muestran bandas combinadas en esa región (38; 75; 84). Considerando la banda más intensa a  $\nu=662\text{ cm}^{-1}$  en el espectro de Au-LCisNPs, asociada principalmente a la vibración  $C_{\beta}S_{st}$ , encontramos un desplazamiento al rojo de  $28\text{ cm}^{-1}$  con respecto de la banda correspondiente de la molécula libre, lo que confirma una transición de conformación que tiene lugar durante la adsorción (75). El cambio de  $C_{\beta}S_{st}$  a frecuencias más bajas se puede relacionar con una modificación del ángulo de torsión  $NC_{\alpha}C_{\beta}S$  de ángulos negativos obtusos a ángulos positivos agudos, que es traducido como una transición de estructuras similares a las conformaciones rotacionales  $P_N$ , con  $NC_{\alpha}C_{\beta}S=-170^{\circ}$ , a  $P_H$  o  $P_C$  con  $NC_{\alpha}C_{\beta}S=52.8^{\circ}$  y  $NC_{\alpha}C_{\beta}S=81.3^{\circ}$  respectivamente (Tab. 5.1 y 5.2). Esta interpretación está en línea con nuestros cálculos, que predicen  $P_H$  y  $P_C$  como la energía mínima y las configuraciones de espectros Raman más similares respectivamente. Teniendo en cuenta lo anterior, se puede sugerir que la interacción de la cisteína con Au NPs induce un cambio de conformación completo de la molécula de  $P_N$  a  $P_C$  y  $P_H$  durante el proceso de adsorción.

El mismo comportamiento se repite para Au-DCis. En este caso observamos que el espectro de Au-DCis muestra las bandas a la frecuencia de a  $662, 682$  y  $718\text{ cm}^{-1}$ , lo que indica la presencia de más de una configuración rotacional de la cisteína adsorbida en la superficie de oro y la ausencia de números de onda mayores entre los  $750$  y  $770\text{ cm}^{-1}$  descarta la adsorción de la cisteína en configuraciones determinadas por ángulos similares al rotámetro  $P_N$ . Lo cual coincide con las estructuras optimizadas teóricamente para la adsorción de la cisteína. Por otra parte el desplazamiento de las bandas correspondientes al enlace  $C_{\beta}S_{str}$ , antes comentado en la sección 4.3.2, en particular la banda  $662\text{ cm}^{-1}$  muestra el cambio de conformación durante la adsorción en la nanopartícula de oro.

### 6.3. Bandas Vibracionales Correspondientes al Enlace Au-Cis

Dentro de la región de  $200-300\text{ cm}^{-1}$ , que abarca a los modos vibracionales de Au-Cis, se identificaron dos bandas, una banda débil a  $255\text{ cm}^{-1}$  y una banda fuerte a  $300\text{ cm}^{-1}$

que corresponde a una vibración de estiramiento Au-S. La alta intensidad de las bandas correspondientes a estas vibraciones se deben a que el estiramiento simétrico causa un cambio mayor en la polarizabilidad, que se asocia con una mayor intensidad Raman debido a que los pares de electrones libres del azufre causan un fuerte cambio de polarizabilidad durante la reflexión radial (48). LCis y DCis mostraron los mismos espectros Raman en esta región para todos los casos de fase líquida tanto libres como adsorbidos en Au NP Fig.6.2.

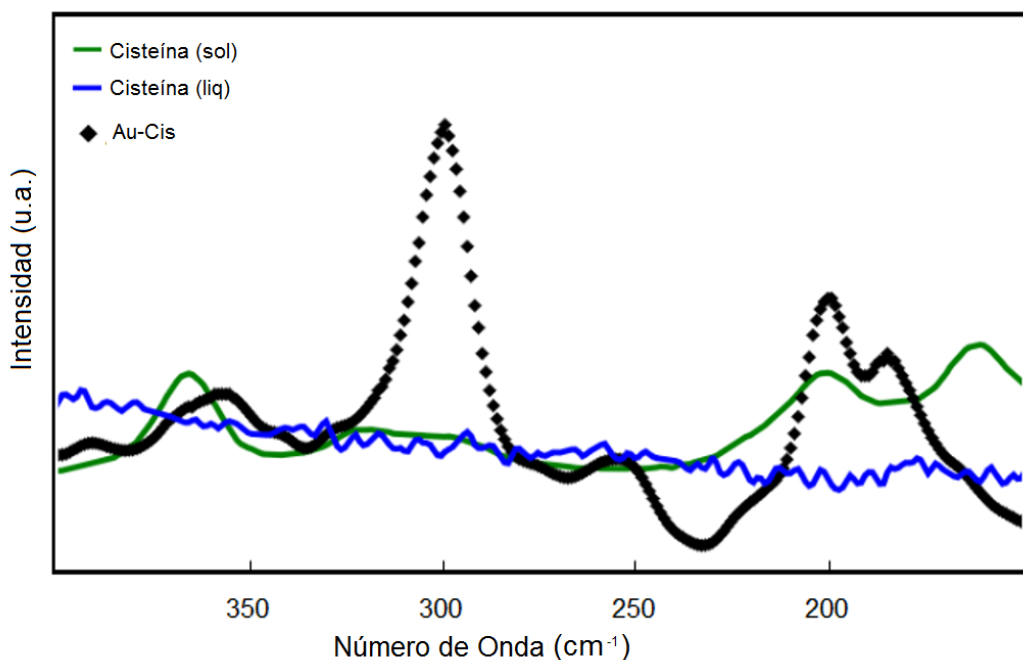


Figura 6.2: Espectros Raman de cisteína monoclinica libre en cristal (verde); cisteína libre en fase líquida (azul) y adsorbida en AuNPs en fase líquida (negro). La banda vibracional a  $300\text{ cm}^{-1}$  emerge de la formación del enlace S-Au, correspondiente a un modo de estiramiento.

#### 6.4. Comparación de Espectros Raman Experimentales y Calculados

La diferencia de energía entre la adsorción por átomos de  $O_H$  y la  $O_N$  del sistema de  $Au_{34}$ -Cis es similar con respecto al sistema  $Au_9$ -Cis. Sin embargo, la configuración global de mínima energía difiere entre el sistema  $Au_{34}$ -Cis ( $P_H O_0$ ) y el  $Au_9$ -Cis ( $P_H O_H$ ). Las distancias intramoleculares ( $C_\alpha$ - $C_\gamma$ ,  $C_\gamma$ - $O_N$ , ...) de  $Au_{34}$ -Cis son similares a las obtenidas para  $Au_9$ -Cis. También de manera similar a  $Au_9$ -Cis, todos los sistemas adsorbidos por el conjunto  $NH_3^+$

junto con el grupo tiol no son estables. Tras la adsorción, los ángulos diedros  $C_\gamma C_\alpha C_\beta S$  y  $NC_\alpha C_\beta S$  de la cisteína experimentan modificaciones menores en el caso de  $Au_{34}$ -Cis en comparación con  $Au_9$ -Cis (Tablas. 5.1 y 5.2). Esto demuestra que la molécula sufre menos cambios de configuración cuando interactúa con un cúmulo más grande.

Se encontró que el espectro correspondiente a  $P_{C}O_H$  muestra la más alta semejanza con los datos experimentales de Raman en ambos modelos, usando  $Au_9$  y  $Au_{34}$  (Fig.5.2.1 y 5.2.2). En el caso de  $Au_9$ -Cis los sitios de enlace para la configuración de energía mínima ( $P_H O_H$ ) y para la que mejor predice los datos experimentales de Raman ( $P_C O_H$ ) están de acuerdo: S y  $O_H$ . La discrepancia entre los rotámeros,  $P_H$  como la de menor energía y  $P_C$  como la que predice datos experimentales, puede explicarse por la limitación estérica que el grupo amino impone a la rotación en el sentido de las agujas del reloj que la molécula debe ejercer para transitar de una configuración similar al rotámero  $P_N$  al rotámero  $P_H$  cuando sus átomos S y  $O_H$  están anclados a la superficie del grupo de oro debido a la interacción de adsorción, favoreciendo así una rotación en sentido contrario a las agujas del reloj a una configuración isomérica  $P_C$ .

En el caso del sistema  $Au_{34}$ -Cis, la configuración  $P_C O_H$  resulta ser la que también predice mejor los resultados experimentales reproduciendo con mayor precisión la mayoría de las bandas vibracionales del espectro Raman observadas experimentalmente. Esto indica que, para obtener una comparación más confiable con los datos experimentales, es esencial utilizar un modelo computacional con una cantidad de átomos de Au lo más cerca posible del tamaño esperado de la muestra de nanopartículas metálicas.

A pesar de la similitud con el espectro experimental, el espectro calculado de  $Au_{34}$ -Cis  $P_C O_H$  muestra algunas discrepancias. En el rango de  $750$ - $1400\text{ cm}^{-1}$ , el espectro teórico muestra un corrimiento al rojo generalizado con respecto a los datos experimentales; muestra dos bandas a  $756\text{ cm}^{-1}$  y  $813\text{ cm}^{-1}$  en lugar de la doble banda experimental correspondiente a  $C_\gamma O O^-$  *scissoring* en  $812$  y  $832\text{ cm}^{-1}$ ; y muestra dos bandas a  $641\text{ cm}^{-1}$  y  $681\text{ cm}^{-1}$  en lugar de la banda triple experimental correspondiente a  $662$ ,  $682$  y  $716\text{ cm}^{-1}$ . Por otra parte en el rango  $750$ - $1100\text{ cm}^{-1}$ , el sistema  $Au_9$ -Cis  $P_C O_H$  se asemeja más a los números e intensidades, especialmente para los modos vibracionales  $C_\gamma O O^-$ .

## Capítulo 7

# Conclusiones

Mediante la comparación analítica de los espectros Raman adquiridos correspondientes a la cisteína ortorrómbica-levorotatoria y monoclinica-dextrorotatoria en fase sólida, en fase líquida y adsorbida en nanopartículas coloidales de oro se llegó a las siguientes conclusiones:

La L-cisteína cristalina muestra un rotámero  $P_H$  (el H en antiposición al grupo tiol) debido a su polimorfismo ortorrómbico - mientras que los rotámeros  $P_H$  y  $P_N$  (el grupo amino en antiposición al grupo tiol) se encuentran en el cristal de D-cisteína - debido a su polimorfismo monoclinico. Los datos vibracionales experimentales indican que en ambos tipos de muestra en solución existe una preferencia por una configuración similar al rotámero  $P_N$ .

La adsorción de cisteína (L y D) en AuNPs restablece la estructura conformacional de la molécula, que se pierde cuando pasa de la fase sólida a la líquida. Las moléculas de L y D-cisteína adoptan la misma configuración después de la adsorción en los AuNPs, lo que sugiere que interactúan a través de los mismos sitios de adsorción.

Las bandas vibracionales Raman correspondientes al grupo carboxilo tras la adsorción indican que es más probable que el grupo carboxilo participe en el proceso de adsorción.

Por otro lado, los modos vibracionales del grupo amino reflejan un decremento del ángulo diedro  $NC_\alpha C_\beta S$ , lo que sugiere una transición de conformaciones rotacionales de la cisteína, de  $P_N$  a  $P_C$  (el grupo carboxilo en antiposición al grupo tiol) o  $P_H$ .

Basados en nuestros espectros experimentales y teóricos, también concluimos que: Existe una transición del rotámero conformacional en ambos casos; L y D-cisteína de  $P_N$  a  $P_C$  o  $P_H$  debido a la interacción con la superficie de AuNPs. La ausencia de vibraciones de mayor frecuencia para este modo en el espectro Raman de cisteína adsorbida descarta una configuración rotacional  $P_N$ , lo cual es confirmado por las búsquedas aleatorias de optimización global DFT-D3.

Los cálculos de DFT-D3 que involucran los grupos de  $Au_9$  y  $Au_{34}$ , este último como una aproximación adecuada para los cúmulos de AuNP de  $< 2$  nm, complementan la información experimental confirmando uno de los átomos de oxígeno del grupo carboxilo como segundo sitio de adsorción después del átomo de azufre del grupo tiol.

La evidencia experimental y teórica señala que el anclaje de ambas moléculas de cisteína en los nanocúmulos de oro por medio de la adsorción establecen un estado conformacional cercano a los rotámeros  $P_C$  y  $P_H$ .

En conclusión, los resultados determinan que la configuración estable favorecida de cisteína zwitteriónica es aquella que se encuentra con mayor semejanza al rotámero que localiza el grupo carboxilo en la antiposición y el grupo amino en la posición *gauche*, con el modelo de  $Au_{34}$  mostrando la mejor predicción para los datos experimentales de Raman. Los hallazgos, sustentados principalmente en resultados experimentales integrales y respaldados por cálculos teóricos, contribuyen con información sustancial que reduce las incertidumbres de los sitios de configuración y adsorción del sistema Au-Cis, lo que lleva a una mejor descripción de los mecanismos de enlace de las moléculas con ligando tiol en pequeñas nanopartículas de oro.

# Bibliografía

- [1] J. R. Reimers, M. J. Ford, S. M. Marcuccio, J. Ulstrup, and N. S. Hush, “Competition of van der waals and chemical forces on gold–sulfur surfaces and nanoparticles,” *Nat. Rev. Chem.*, vol. 1, no. 2, p. 0017, 2017.
- [2] H. Häkkinen, “The gold–sulfur interface at the nanoscale,” *Nat. Chem.*, vol. 4, no. 6, p. 443, 2012.
- [3] C. Vericat, M. Vela, G. Benitez, P. Carro, and R. Salvarezza, “Self-assembled monolayers of thiols and dithiols on gold: new challenges for a well-known system,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 39, no. 5, pp. 1805–1834, 2010.
- [4] R. Jin, “Quantum sized, thiolate-protected gold nanoclusters,” *Nanoscale*, vol. 2, no. 3, pp. 343–362, 2010.
- [5] R. C. Price and R. L. Whetten, “Raman spectroscopy of benzenethiolates on nanometer-scale gold clusters,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 44, pp. 22166–22171, 2006.
- [6] R. C. Price and R. L. Whetten, “All-aromatic, nanometer-scale, gold-cluster thiolate complexes,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 127, no. 40, pp. 13750–13751, 2005.
- [7] R. Guo and R. W. Murray, “Substituent effects on redox potentials and optical gap energies of molecule-like au<sub>38</sub> (sphx) 24 nanoparticles,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 127, no. 34, pp. 12140–12143, 2005.
- [8] W. Wang, C. Zhao, D. Zhu, G. Gong, and W. Du, “Inhibition of amyloid peptide fibril formation by gold–sulfur complexes,” *J. Inorg. Biochem.*, vol. 171, pp. 1–9, 2017.
- [9] Y. X. Chen, Yiping and X. Jiang, “Surface modification of gold nanoparticles with small molecules for biochemical analysis,” *Acc. Chem. Res.*, vol. 50.2, pp. 310–319, 2017.

- [10] D. A. Giljohann, D. S. Seferos, W. L. Daniel, M. D. Massich, P. C. Patel, and C. A. Mirkin, "Gold nanoparticles for biology and medicine," *Angew. Chem., Int. Ed.*, vol. 49, no. 19, pp. 3280–3294, 2010.
- [11] A. Verma and F. Stellacci, "Effect of surface properties on nanoparticle–cell interactions," *Acc. Chem. Res.*, vol. 6.1, pp. 310–319, 2010.
- [12] Y. Pei and X. C. Zeng, "Investigating the structural evolution of thiolate protected gold clusters from first-principles," *Nanoscale*, vol. 4, no. 14, pp. 4054–4072, 2012.
- [13] Z. Wu, M. Wang, J. Yang, X. Zheng, W. Cai, G. Meng, H. Qian, H. Wang, and R. Jin, "Well-defined nanoclusters as fluorescent nanosensors: A case study on au<sub>25</sub> (sg) 18," *Small*, vol. 8, no. 13, pp. 2028–2035, 2012.
- [14] G. Li and R. Jin, "Atomically precise gold nanoclusters as new model catalysts," *Acc. Chem. Res.*, vol. 46, no. 8, pp. 1749–1758, 2013.
- [15] N. Takeuchi, *Nanociencia y nanotecnología*. Secretaría de Educación Pública, 2009.
- [16] R. Zanella, "Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño," *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, vol. 5, no. 1, 2012.
- [17] I. Hussain, S. Graham, Z. Wang, B. Tan, D. C. Sherrington, S. P. Rannard, A. I. Cooper, and M. Brust, "Size-controlled synthesis of near-monodisperse gold nanoparticles in the 1- 4 nm range using polymeric stabilizers," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 127, no. 47, pp. 16398–16399, 2005.
- [18] J. Zheng, C. Zhang, and R. M. Dickson, "Highly fluorescent, water-soluble, size-tunable gold quantum dots," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 93, no. 7, p. 077402, 2004.
- [19] A. R. Vilchis-Nestor, V. Sánchez-Mendieta, M. A. Camacho-López, R. M. Gómez-Espinosa, M. A. Camacho-López, and J. A. Arenas-Alatorre, "Solventless synthesis and optical properties of au and ag nanoparticles using camellia sinensis extract," *Mater. Lett.*, vol. 62, no. 17-18, pp. 3103–3105, 2008.



- [20] D. A. Giljohann, D. S. Seferos, W. L. Daniel, M. D. Massich, P. C. Patel, and C. A. Mirkin, "Gold nanoparticles for biology and medicine," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 49, no. 19, pp. 3280–3294, 2010.
- [21] S.-J. Park, T. A. Taton, and C. A. Mirkin, "Array-based electrical detection of dna with nanoparticle probes," *Science*, vol. 295, no. 5559, pp. 1503–1506, 2002.
- [22] M. Haruta and M. Daté, "Advances in the catalysis of au nanoparticles," *Applied Catalysis A: General*, vol. 222, no. 1-2, pp. 427–437, 2001.
- [23] J. Huang, Q. Li, D. Sun, Y. Lu, Y. Su, X. Yang, H. Wang, Y. Wang, W. Shao, N. He, *et al.*, "Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried cinnamomum camphora leaf," *Nanotechnology*, vol. 18, no. 10, p. 105104, 2007.
- [24] H. Qian, M. Zhu, Z. Wu, and R. Jin, "Quantum sized gold nanoclusters with atomic precision," *Acc. Chem. Res.*, vol. 45, no. 9, pp. 1470–1479, 2012.
- [25] C. Liu, G. Li, G. Pang, and R. Jin, "Toward understanding the growth mechanism of au n (sr) m nanoclusters: effect of solvent on cluster size," *RSC Adv.*, vol. 3, no. 25, pp. 9778–9784, 2013.
- [26] S. Yamazoe, K. Koyasu, and T. Tsukuda, "Nonscalable oxidation catalysis of gold clusters," *Acc. Chem. Res.*, vol. 47, no. 3, pp. 816–824, 2013.
- [27] J. Sadlej, J. C. Dobrowolski, J. E. Rode, and M. H. Jamróz, "Density functional theory study on vibrational circular dichroism as a tool for analysis of intermolecular systems:(1: 1) cysteine- water complex conformations," *J. Phys. Chem. A*, vol. 111, no. 42, pp. 10703–10711, 2007.
- [28] C. Görbitz and B. Dalhus, "l-cysteine, monoclinic form, redetermination at 120k," *Acta Crystallogr., Sect. C*, vol. 52, no. 7, pp. 1756–1759, 1996.
- [29] K. Kerr and J. Ashmore, "Structure and conformation of orthorhombic l-cysteine," *Acta Crystallogr., Sect. B*, vol. 29, no. 10, pp. 2124–2127, 1973.
- [30] R. P. Feynman, R. B. Leighton, and M. Sands, *The Feynman lectures on physics, vol. 2: Mainly electromagnetism and matter*. Addison-Wesley, 1979.

- [31] S. A. Moggach, D. R. Allan, S. J. Clark, M. J. Gutmann, S. Parsons, C. R. Pulham, and L. Sawyer, "High-pressure polymorphism in l-cysteine: the crystal structures of l-cysteine-iii and l-cysteine-iv," *Acta Crystallographica Section B: Structural Science*, vol. 62, no. 2, pp. 296–309, 2006.
- [32] L. E. F. Cobas and M. E. F. Montero, *La relación estructura-simetría-propiedades en cristales y policristales*. Reverté, 2008.
- [33] V. S. Minkov, S. V. Goryainov, E. V. Boldyreva, and C. H. Görbitz, "Raman study of pressure-induced phase transitions in crystals of orthorhombic and monoclinic polymorphs of l-cysteine: dynamics of the side chain," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 41, no. 12, pp. 1748–1758, 2010.
- [34] H. LI, "Cysteine conformation and sulfhydryl interaction in proteins and viruses. 1. correlation of the raman sh band with hydrogen bonding and intramolecular geometry in model compounds.," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 113, pp. 456–462, 1991.
- [35] K. Kerr, J. P. Ashmore, and T. F. Koetzle, "A neutron diffraction study of l-cysteine," *Acta Crystallogr., Sect. B*, vol. 31, no. 8, pp. 2022–2026, 1975.
- [36] O. Cavalleri, G. Gonella, S. Terreni, M. Vignolo, L. Floreano, A. Morgante, M. Canepa, and R. Rolandi, "High resolution x-ray photoelectron spectroscopy of l-cysteine self-assembled films," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 6, no. 15, pp. 4042–4046, 2004.
- [37] S. Aryal, R. B. KC, N. Bhattarai, C. K. Kim, and H. Y. Kim, "Study of electrolyte induced aggregation of gold nanoparticles capped by amino acids," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 299, no. 1, pp. 191–197, 2006.
- [38] G. Diaz Fleming, J. J. Finnerty, M. Campos-Vallette, F. Célis, A. E. Aliaga, C. Fre-des, and R. Koch, "Experimental and theoretical raman and surface-enhanced raman scattering study of cysteine," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 40, no. 6, pp. 632–638, 2009.
- [39] C. Jing and Y. Fang, "Experimental (sers) and theoretical (dft) studies on the adsorption behaviors of l-cysteine on gold/silver nanoparticles," *Chem. Phys.*, vol. 332, no. 1, pp. 27–32, 2007.

- [40] E. Lopez-Tobar, B. Hernandez, M. Ghomi, and S. Sanchez-Cortes, "Stability of the disulfide bond in cystine adsorbed on silver and gold nanoparticles as evidenced by sers data," *J. Phys. Chem. C*, vol. 117, no. 3, pp. 1531–1537, 2013.
- [41] G. Yao and Q. Huang, "Dft and sers study of l-cysteine adsorption on the surface of gold nanoparticles," *J. Phys. Chem. C*, 2018.
- [42] J. de Jesús Pelayo, I. Valencia, G. Díaz, X. López-Lozano, and I. L. Garzón, "Enantiospecific adsorption of cysteine on a chiral au 34 cluster," *Eur. Phys. J. D*, vol. 69, no. 12, p. 277, 2015.
- [43] X. López-Lozano, L. A. Pérez, and I. L. Garzón, "Enantiospecific adsorption of chiral molecules on chiral gold clusters," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 97, no. 23, p. 233401, 2006.
- [44] L. A. Pérez, X. López-Lozano, and I. L. Garzón, "Density functional study of the cysteine adsorption on au nanoclusters," *Eur. Phys. J. D*, vol. 52, no. 1-3, pp. 123–126, 2009.
- [45] J. C. Dobrowolski, J. E. Rode, and J. Sadlej, "Cysteine conformations revisited," *J. Mol. Struct*, vol. 810, no. 1-3, pp. 129–134, 2007.
- [46] M. Pecul, "Conformational structures and optical rotation of serine and cysteine," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 418, no. 1-3, pp. 1–10, 2006.
- [47] J. R. Anema and A. G. Brolo, "Use of polarization-dependent sers from scratched gold films to monitor the electrochemically-driven desorption and readsorption of cysteine," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 649, no. 1-2, pp. 159–163, 2010.
- [48] B. Varnholt, P. Oulevey, S. Lubner, C. Kumara, A. Dass, and T. Burgi, "Structural information on the au-s interface of thiolate-protected gold clusters: a raman spectroscopy study," *J. Phys. Chem. C*, vol. 118, no. 18, pp. 9604–9611, 2014.
- [49] B. Varnholt, M. J. Guberman-Pfeffer, P. Oulevey, S. Antonello, T. Dainese, J. A. Gascon, T. Burgi, and F. Maran, "Vibrational coupling modulation in n-alkanethiolate protected au<sub>25</sub>(sr) 180 clusters," *J. Phys. Chem. C*, vol. 120, no. 44, pp. 25378–25386, 2016.
- [50] "Random search global optimization c/bash code."

- [51] P. L. Brown and C. Ekberg, *Hydrolysis of metal ions*. John Wiley & Sons, 2016.
- [52] B. L. Hayes, *Microwave synthesis: chemistry at the speed of light*, vol. 1. CEM publishing Matthews, NC, 2002.
- [53] J. P. Gonjal and E. Morán, “Síntesis asistida por microondas de sólidos inorgánicos,” in *Anales de Química*, vol. 107, 2011.
- [54] D. B. Williams and C. B. Carter, “The transmission electron microscope,” in *Transmission electron microscopy*, pp. 3–17, Springer, 1996.
- [55] C. Suryanarayana and M. G. Norton, *X-ray diffraction: a practical approach*. Springer Science & Business Media, 2013.
- [56] M. Faraldos and C. Goberna, *Técnicas de análisis y caracterización de materiales*. Editorial CSIC Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2011.
- [57] D. Bermejo, *Introducción a la espectroscopia raman*. No. F/540.5 QU5/31, 1983.
- [58] R. L. McCreery, *Raman spectroscopy for chemical analysis*, vol. 225. John Wiley & Sons, 2005.
- [59] L. Jensen, L. Zhao, J. Autschbach, and G. C. Schatz, “Theory and method for calculating resonance raman scattering from resonance polarizability derivatives,” *The Journal of chemical physics*, vol. 123, no. 17, p. 174110, 2005.
- [60] T. Bucko, S. Lebegue, J. Hafner, and J. G. Angyan, “Improved density dependent correction for the description of london dispersion forces,” *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 9, no. 10, pp. 4293–4299, 2013.
- [61] G. Kresse and J. Hafner, “Ab initio molecular dynamics for liquid metals,” *Phys. Rev. B*, vol. 47, pp. 558–561, Jan 1993.
- [62] G. Kresse and J. Hafner, “Ab initio molecular-dynamics simulation of the liquid-metal–amorphous-semiconductor transition in germanium,” *Phys. Rev. B*, vol. 49, pp. 14251–14269, May 1994.
- [63] G. Kresse and J. Furthmüller, “Efficiency of ab-initio total energy calculations for metals and semiconductors using a plane-wave basis set,” *Comput. Mater. Sci.*, vol. 6, no. 1, pp. 15 – 50, 1996.

- [64] G. Kresse and J. Furthmüller, “Efficient iterative schemes for ab initio total-energy calculations using a plane-wave basis set,” *Phys. Rev. B*, vol. 54, pp. 11169–11186, Oct 1996.
- [65] J. P. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof, “Generalized gradient approximation made simple,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 77, pp. 3865–3868, Oct 1996.
- [66] A. Tkatchenko and M. Scheffler, “Accurate molecular van der waals interactions from ground-state electron density and free-atom reference data,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 102, no. 7, p. 073005, 2009.
- [67] G. te Velde, F. M. Bickelhaupt, E. J. Baerends, C. Fonseca Guerra, S. J. A. van Gisbergen, J. G. Snijders, and T. Ziegler, “Chemistry with adf,” *J. Comput. Chem.*, vol. 22, no. 9, pp. 931–967.
- [68] C. Fonseca Guerra, J. G. Snijders, G. te Velde, and E. J. Baerends, “Towards an order-n dft method,” *Theor. Chem. Acc.*, vol. 99, pp. 391–403, Nov 1998.
- [69] A. Bérces, R. M. Dickson, L. Fan, H. Jacobsen, D. Swerhone, and T. Ziegler, “An implementation of the coupled perturbed kohn-sham equations: perturbation due to nuclear displacements,” *Comput. Phys. Commun.*, vol. 100, no. 3, pp. 247 – 262, 1997.
- [70] H. Jacobsen, A. Bérces, D. P. Swerhone, and T. Ziegler, “Analytic second derivatives of molecular energies: a density functional implementation,” *Comput. Phys. Commun.*, vol. 100, no. 3, pp. 263 – 276, 1997.
- [71] S. K. Wolff, “Analytical second derivatives in the Amsterdam density functional package,” vol. 104, no. 5, pp. 645–659, 2005.
- [72] J. Prado-Gonjal and E. M. Miguélez, “Síntesis asistida por microondas de sólidos inorgánicos,” in *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, no. 2, pp. 129–136, Real Sociedad Española de Química, 2011.
- [73] B. I. Kharisov, O. V. Kharissova, and U. O. Méndez, “Microwave hydrothermal and solvothermal processing of materials and compounds,” *The Development and Application of Microwave Heating*, vol. 5, pp. 107–140, 2012.

- [74] B. D. Chithrani, A. A. Ghazani, and W. C. Chan, "Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells," *Nano letters*, vol. 6, no. 4, pp. 662–668, 2006.
- [75] M. Graff and J. Bukowska, "Adsorption of enantiomeric and racemic cysteine on a silver electrode- sers sensitivity to chirality of adsorbed molecules," *J. Phys. Chem. B*, vol. 109, no. 19, pp. 9567–9574, 2005.
- [76] J. F. Parker, J.-P. Choi, W. Wang, and R. W. Murray, "Electron self-exchange dynamics of the nanoparticle couple [au25 (sc2ph) 18] 0/1- by nuclear magnetic resonance line-broadening," *J. Phys. Chem. C*, vol. 112, no. 36, pp. 13976–13981, 2008.
- [77] H. Li, C. J. Wurrey, and G. Thomas, "Cysteine conformation and sulfhydryl interactions in proteins and viruses. ii. normal coordinate analysis of the cysteine side chain in model compounds," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 114, no. 19, pp. 7463–7469, 1992.
- [78] A. Pawlukojć, J. Leciejewicz, A. Ramirez-Cuesta, and J. Nowicka-Scheibe, "L-cysteine: neutron spectroscopy, raman, ir and ab initio study," *Spectrochim. Acta, Part A*, vol. 61, no. 11-12, pp. 2474–2481, 2005.
- [79] Z. P. Li, X. R. Duan, C. H. Liu, and B. A. Du, "Selective determination of cysteine by resonance light scattering technique based on self-assembly of gold nanoparticles," *Anal. Biochem.*, vol. 351, no. 1, pp. 18–25, 2006.
- [80] S. Mandani, B. Sharma, D. Dey, and T. K. Sarma, "Carbon nanodots as ligand exchange probes in au@ c-dot nanobeacons for fluorescent turn-on detection of biothiols," *Nanoscale*, vol. 7, no. 5, pp. 1802–1808, 2015.
- [81] J. L. Fajín, J. R. Gomes, and M. N. D. Cordeiro, "Dft study of the adsorption of d-(l-) cysteine on flat and chiral stepped gold surfaces," *Langmuir*, vol. 29, no. 28, pp. 8856–8864, 2013.
- [82] S. Aryal, B. Remant, N. Dharmaraj, N. Bhattarai, C. H. Kim, and H. Y. Kim, "Spectroscopic identification of sau interaction in cysteine capped gold nanoparticles," *Spectrochim. Acta, Part A*, vol. 63, no. 1, pp. 160–163, 2006.

- [83] O. Cavalleri, G. Gonella, S. Terreni, M. Vignolo, L. Floreano, A. Morgante, M. Canepa, and R. Rolandi, “High resolution x-ray photoelectron spectroscopy of l-cysteine self-assembled films,” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 6, no. 15, pp. 4042–4046, 2004.
- [84] S. F. Parker, “Assignment of the vibrational spectrum of l-cysteine,” *Chem. Phys.*, vol. 424, pp. 75–79, 2013.
- [85] M. Bieri and T. Bürgi, “Adsorption kinetics, orientation, and self-assembling of n-acetyl-l-cysteine on gold: A combined atr-ir, pm-irras, and qcm study,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 109, no. 47, pp. 22476–22485, 2005.
- [86] C. Gautier and T. Bürgi, “Vibrational circular dichroism of n-acetyl-l-cysteine protected gold nanoparticles,” *Chem. Commun.*, no. 43, pp. 5393–5395, 2005.
- [87] B. Varnholt, I. Dolamic, S. Knoppe, and T. Bürgi, “On the flexibility of the gold–thiolate interface: racemization of the au 40 (sr) 24 cluster,” *Nanoscale*, vol. 5, no. 20, pp. 9568–9571, 2013.
- [88] A. Tlahuice-Flores, R. L. Whetten, and M. Jose-Yacamán, “Vibrational normal modes of small thiolate-protected gold clusters,” *J. Phys. Chem. C*, vol. 117, no. 23, pp. 12191–12198, 2013.