



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Efecto del Núcleo Metálico en la
Actividad Quiróptica de
Nanopartículas protegidas con Cisteína

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

FÍSICO

P R E S E N T A :

CÉDRIC ALEXANDER CORDERO SILIS

TUTORA

DRA. PENÉLOPE RODRÍGUEZ ZAMORA



CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

1. Datos del alumno

Cordero

Silis

Cédric Alexander

+52 1 7772690197

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Física

311686131

2. Datos del Tutor

Dra.

Penélope

Rodríguez

Zamora

3. Datos del Sinodal 1

Dr.

Ignacio Luis

Garzón

Sosa

4. Datos del Sinodal 2

Dra.

Roxana Mitzayé

Del Castillo

Zamora

5. Datos del Sinodal 3

Dra.

Georgina Regina

Garza

Martínez

6. Datos del Sinodal 4

Dr.

Alejandro

Heredia

Barbero

7. Datos del Trabajo Escrito

Efecto del Núcleo Metálico en la Actividad Quiróptica de Nanopartículas protegidas con Cisteína

103 pp.

2020

Dedicatoria

A mis padres, Gabriela Margarita Silis Caudillo y Juan Carlos Cordero Cruz, mi mayor inspiración y ejemplo de lucha diaria, quienes me enseñaron que con el trabajo y esfuerzo de todos los días, se logra lo impensable, quienes, sin su motivación, sus palabras y apoyo, no habría sido capaz de caminar mis propios pasos y crecer como persona.

A mis hermanos, Lila Margarita y Carlos Josafat, quienes me mostraron que no hay desvelo mejor aprovechado que aquél que se hace por lo que uno ama y que a pesar de que cada paso sea una lucha, hay que avanzar, aprendiendo siempre de cada oportunidad, sin ellos definitivamente no estaría aquí.

¡Gracias!

Agradecimientos

A mi asesora y amiga, Penélope Rodríguez Zamora, quien me guió de principio a fin, me introdujo al mundo de la investigación, fue paciente conmigo, en el laboratorio, en el salón de clases y fuera de él, mostrando siempre interés en mi crecimiento académico, sin descuidar el humano, gracias.

Al grupo de investigación en el Instituto de Física, a Benjamín y Jorge, los doctores, Fernando, Óliver, Jonathan, la Dra. Díaz y el Dr. Garzón, quienes me enseñaron y apoyaron, cada uno desde su respectiva área de conocimiento.

A mis amigos y hermanos en la carrera, los *Bosones* y la *Tertulia*, así como quienes pasaron noche tras noche en la biblioteca conmigo y a quienes me apoyaron durante el sismo del 2017.

A la familia que hice en Seúl, que me mostraron lo que un estudiante debe aspirar a ser, sin perder nunca la alegría y placer de aprender.

A mis hermanos Rodolfo Vázquez y Yoshihide Kogiso, quienes, sin importar la distancia, siempre van a estar.

Agradezco el apoyo recibido por parte del Proyecto PAPIIT IN-108817, el cual fue de gran ayuda durante la realización de este proyecto.

Resumen

Los efectos generados por la elección del metal en los fenómenos de adsorción, así como las propiedades estructurales, electrónicas y ópticas en un sistema híbrido como lo es el de *nanopartícula metálica - ligando biomolecular quiral* son estudiados en el presente trabajo con la finalidad de entender las diferencias en estas propiedades, las cuales darán más información en cuanto a la naturaleza misma de los mecanismos de transferencia y amplificación de quiralidad en la nanoescala.

En ese sentido, se sintetizaron nanopartículas metálicas (de alrededor de 2 nm de diámetro) de oro, plata y cobre, y se funcionalizaron con el aminoácido cisteína, el cual es intrínsecamente quiral. Posteriormente se realizó una caracterización espectroscópica mediante luz lineal y circularmente polarizada, estudiando las transiciones electrónicas que surgen mediante la interacción de la luz con el nanosistema híbrido quiral.

Se propuso un modelo computacional que aportó más información sobre los orbitales moleculares que participan en las transiciones electrónicas en la interfaz de la nanopartícula metálica y la cisteína, obteniendo, a nivel de teoría de orbitales, información que sugiere diferencias fundamentales sobre la transferencia y origen de la quiralidad en distintos nanosistemas híbridos.

Apoyado por cálculos teóricos, los resultados experimentales generaron un panorama general de los orígenes estructurales y electrónicos de la quiralidad en los sistemas estudiados.

Índice general

Dedicatoria	II
Agradecimientos	III
Resumen	IV
1. Introducción	1
1.1. Sistemas Nanométricos	1
1.2. Nanopartículas Metálicas	2
1.3. Nanopartículas Metálicas con Ligando Tiolado	4
1.4. Cisteína	5
1.5. Quiralidad Molecular	9
1.6. Quiralidad en Nanosistemas Híbridos	13
1.7. Nanosistemas híbridos: AuCis, AgCis y CuCis	16
2. Metodología Experimental	19
2.1. Síntesis de Nanopartículas	19
2.1.1. Hidrólisis Asistida por Microondas	20
2.1.2. Materiales y Métodos de síntesis	23
2.2. Caracterización por Técnicas de Microscopía	24
2.2.1. Microscopía Electrónica de Transmisión	24
2.3. Caracterización por Técnicas Espectroscópicas	29
2.3.1. Espectroscopía de Absorción UV-Vis	29
2.3.2. Espectroscopía por Dicroísmo Circular	30

3. Métodos Numérico-Computacionales	40
3.1. Cálculos de Primeros Principios	41
3.2. Teoría del Funcional de la Densidad Dependiente del Tiempo	41
3.3. Pseudopotenciales	45
3.4. Cálculo de espectros de Absorción y Dicroísmo Circular	47
3.4.1. Modelo de Grapas	48
3.4.2. Cálculos	49
4. Resultados	50
4.1. Resultados Experimentales	50
4.1.1. Microscopía de Nanopartículas Metálicas	50
4.1.2. Microscopía de Nanopartículas Metálicas con Cisteína	51
4.1.3. Espectroscopía UV-Vis	53
4.1.4. Espectroscopía por Dicroísmo Circular y Factor de Anisotropía	55
4.2. Resultados Numérico-Computacionales	58
5. Análisis y Discusión de Resultados	61
5.1. Resultados Experimentales	61
5.1.1. Síntesis de Nanopartículas Libres y Funcionalizadas	61
5.1.2. Espectroscopía UV-Vis	62
5.1.3. Espectroscopía por Dicroísmo Circular	65
5.2. Origen y Mecanismos de Transferencia de Quiralidad	71
5.3. Resultados Numérico-Computacionales	74
5.3.1. Espectros de Fuerza de Oscilador y Rotación	74
5.3.2. Estructura Electrónica por Interpretación de Espectros	76
5.4. Análisis General	77
5.4.1. Espectroscopía Experimental apoyada por Cálculos de Primeros Principios	77
6. Conclusiones	80

Índice de figuras

1.1. Longitud de onda para nanopartículas de oro.	3
1.2. Polimorfos monoclinico y ortorrómbico de la cisteína junto con sus ángulos de torsión $NC_{\alpha}C_{\beta}S$	6
1.3. Conformaciones rotacionales posibles de la cisteína representadas por su diagrama de Newman.	7
1.4. Modelo de los enantiómeros de la Cisteína	8
1.5. Modelo de ambos enantiómeros de la molécula de limoneno.	11
2.1. Representaciones esquemáticas de la síntesis de nanopartículas (<i>arriba</i>) y funcionalización (<i>abajo</i>) para el nanosistema AuCis.	23
2.2. Esquema general de un Microscopio Electrónico de Transmisión.	26
2.3. Obtención de señal CD a paratir de la interacción de luz circularmente polarizada con una muestra quiral	32
2.4. Esquema representativo de luz elípticamente polarizada con base en la figura 2.3	32
2.5. Esquema representativo de los dipolos magnético (izquierda) y eléctrico (derecha).	34
2.6. Esquema representativo del origen de la actividad óptica a través de la interacción entre los dipolos de transición eléctrico y magnético.	35
2.7. Helicenos de 6 y 14 anillos con geometría optimizada por cálculos DFT como ejemplos de estructuras quirales helicoidales.	37
2.8. Esquema general del funcionamiento de un dispositivo de dicroísmo circular.	38

3.1. Ejemplo de una configuración de grapa. (Construida y optimizada en <i>Avogadro</i> .)	48
4.1. Imagen HAADF-STEM de nanopartículas de oro	50
4.2. Histograma e imagen <i>TEM</i> representativa del nanosistema híbrido <i>oro-cisteína</i>	51
4.3. Histograma e imagen <i>TEM</i> representativa del nanosistema híbrido <i>plata-cisteína</i>	51
4.4. Histograma e imagen <i>TEM</i> representativa del nanosistema híbrido <i>cobre-cisteína</i>	52
4.5. Espectro de absorción de ambos enantiómeros de la cisteína en el rango 200-600 nm.	53
4.6. Espectros de absorción de las nanopartículas de oro, plata y cobre sin cisteína.	54
4.7. Espectros de absorción de las nanopartículas de oro, plata y cobre con cisteína.	54
4.8. Espectro de dicroísmo circular de la L- y D- cisteína.	55
4.9. Espectros de dicroísmo circular (izquierda) y respectivos factores de anisotropía (derecha).	56
4.10. Se muestran los 3 modelos de grapa de los cuales se obtuvieron los espectros de fuerza de rotación y oscilador.	58
4.11. Espectros calculados de fuerza de rotación (izquierda) y fuerza de oscilador (derecha).	59
4.12. Transiciones electrónicas obtenidas y asociadas a los espectros teóricos a los experimentales.	60
5.1. Se muestran en superposición, los espectros de dicroísmo circular para las nanopartículas metálicas con L-cisteína (izquierda) y D-cisteína (derecha).	70

Capítulo 1

Introducción

1.1. Sistemas Nanométricos

El término *nano* hace referencia a la escala 10^{-9} , esta implica, por ejemplo, la división de 1cm un millón de veces: “1 nm”. Aquellos sistemas cuyos componentes estructurados poseen una o más de sus dimensiones a esa escala se conocen como *nanomateriales*.

Dependiendo de la forma general y tamaño de la estructura, los nanomateriales se pueden clasificar en: 0D (puntos cuánticos y nanopartículas), 1D (nanofibras), 2D (monocapas atómicas) o 3D (estructuras 2D acopladas o autoensambladas).^[1;2;3]

Como ejemplos biológicos de moléculas a esa escala podemos considerar: a las proteínas, de aproximadamente 50 nm, y aún más pequeña, pero fundamentalmente importante, una molécula de ADN, la cual tiene un diámetro de unos 2 nm.^[4] Lo anterior nos da una idea de aquello que existe en la nanoescala y de la escala de los sistemas a los que, en el presente trabajo, se hará referencia.

En la escala *macroscópica*, las propiedades físicas de un material permanecen constantes al cambiar su tamaño siempre que se mantengan en esa escala. Esto no sucede para un material en la *nanoescala*.^[5]

En particular podemos observar esto en las propiedades ópticas y electrónicas de distintos nanomateriales, mejorando su funcionamiento, eficiencia y tiempo de vida.^[6;7]

En este contexto, el estudio de los sistemas híbridos (orgánico-inorgánico) en la nanoescala ha sido de gran interés debido a las propiedades únicas que estos poseen, lo cual abre un campo mucho más grande de investigación.^[3;5] Comencemos entonces con la parte inorgánica: las nanopartículas metálicas.

1.2. Nanopartículas Metálicas

Para poder aprovechar las propiedades de los nanosistemas de la manera más eficiente, es necesario que estos sean estables y reproducibles, por lo que es necesario tener un conocimiento completo de sus propiedades, libres y en conjunto con otros sistemas.^[6]

Dentro de los nanomateriales, las nanopartículas resultan un sistema de gran interés. Como todos los nanosistemas, su relación superficie-volumen es muy grande, además de que su tamaño y estructura pueden ser controladas para obtener morfologías esféricas, cilíndricas, tubulares, cónicas, de núcleo vacío, en espiral o incluso irregulares, con una red cristalina o amorfa, además de que es posible controlar la dispersión de tamaños en su síntesis.^[3]

Es precisamente esta variedad la que permite obtener distintas propiedades fisicoquímicas, entre las que destacan la alta conductividad eléctrica y térmica (nanopartículas de cobre)^[8], propiedades desinfectantes, antibacteriales, de absorción y dispersión de la luz (nanopartículas de plata)^[9], semiconductividad eléctrica para dispositivos electrónicos (nanopartículas de cadmio),^[10] entre otras.

Como ejemplo gráfico, se muestra a continuación la interacción de la luz con nanopartículas de oro de distintos tamaños, lo cual genera una respuesta de absorción distinta.

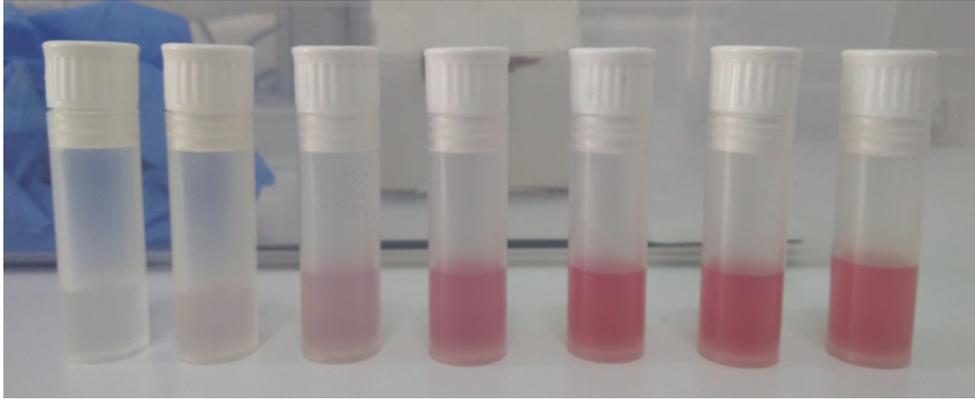


Figura 1.1: Efecto en la longitud de onda emitida por nanopartículas de oro sintetizadas por el método *Turkevich*²⁰ en el Instituto de Física, UNAM. Las nanopartículas se encuentran en suspensión y aumentan de tamaño de izquierda a derecha.

Sistemas un tanto más complejos como aleaciones metálicas o su funcionalización con elementos orgánicos, amplían las propiedades del nanosistema, permitiendo aplicaciones como las que siguen:^[5;6;11]

- La fácil generación de una capa eficiente para aplicaciones electrónicas, como capacitores, mediante la unión de nanopartículas en un sólido a bajas temperaturas.
- Dado que las nanopartículas poseen, típicamente, una longitud de onda característica, por debajo del visible, esto hace que ciertos tamaños sean *transparentes*, lo que es útil para aplicaciones en cosméticos y revestimientos.
- Nanopartículas entre 10-500 nm, interactúan con biomoléculas en la superficie y dentro de las células, lo cual permite aplicaciones biomédicas.

Son entonces las nanopartículas metálicas un elemento de gran interés por sus potenciales aplicaciones. En el siguiente capítulo se hará mención a un sistema híbrido, constituido por nanopartículas metálicas y elementos orgánicos, los cuales presentan oportunidades de investigación fundamental y potenciales nuevas aplicaciones.

1.3. Nanopartículas Metálicas con Ligando Tiolado

Las nanopartículas metálicas tienden, con el tiempo, a ser inestables, agregarse y precipitarse, por lo que agentes protectores han sido utilizados para evitar la degradación de las muestras, además de que permiten controlar parámetros morfológicos y de estabilidad en las mismas.^[12]

Durante los últimos años, se han llevado a cabo un gran número de investigaciones relacionadas a las nanopartículas metálicas en conjunto con moléculas cuya estructura tiene al grupo funcional tiol.^[12;13;14]

El grupo funcional tiol está formado por un átomo de azufre y uno de hidrógeno y se denota como $(-SH)$. Moléculas con este grupo funcional permiten controlar la nucleación y el tamaño en la síntesis de nanopartículas, así como proveer de estabilidad química a ensambles moleculares sobre las superficies metálicas, pues es gracias a la alta afinidad del grupo tiol por algunos metales que se da la adsorción, generando el sistema híbrido a través de enlaces estables.^[15]

Las terminaciones de la molécula tiolada, así como el azufre (en las interfaces molécula/ambiente y molécula/nanopartícula metálica respectivamente), son las que determinan la mayor parte de las propiedades fisicoquímicas del nanosistema híbrido,^[16] siendo un área de mayor complejidad el estudio de los fenómenos en la interfaz molécula/nanopartícula y el cambio de su naturaleza al cambiar el núcleo metálico.^[15]

Además del cambio del núcleo metálico, un factor importante durante la síntesis del sistema híbrido, es la elección del ligando molecular tiolado que se utilizará como agente estabilizador. Este dependerá del fenómeno que se desee estudiar, así como la aplicación misma que se le quiera dar al sistema de interés.

Estudios de nanopartículas de oro modificadas con diversos compuestos tiolados se han investigado para determinar su estabilidad,^[17] entre ellos se usaron el ácido mercaptopropiónico, el glutatión y la cisteína, mientras que estudios de actividad óptica en nanopartículas metálicas usan penicilamina, derivados del feniletiltiolados (PET por sus siglas en inglés), ácido tiómico, entre otros.^[18]

Por lo anterior, la elección del ligando tiolado de interés, así como el metal de la nanopartícula metálica, darán al sistema propiedades únicas donde, en particular, los nanocúmulos de metales nobles pequeños (<2 nm), son sistemas de gran interés, pues exhiben propiedades únicas de fluorescencia, quiralidad, magnetismo, entre otras, las cuales tienen potenciales aplicaciones en los campos del biosensado, fotónica, catálisis, entre otras.^[12;15]

1.4. Cisteína

En particular, el uso de cisteína ($C_3H_7NO_2S$) como molécula (o ligando) de interés en el marco de la investigación, se debe a su fuerte enlace con las superficies de oro a través de la deprotonación del grupo tiol.^[19] Más aun, es el azufre el que coordina la interacción del ligando con los iones metálicos de la nanopartícula, uniendo al ligando a la superficie de las nanopartículas.^[20]

La cisteína, es un aminoácido no esencial¹ importante para diversas funciones celulares como la síntesis de proteínas, procesos de metabolización, producción del antioxidante glutatión y la taurína, está presente en la comunicación de las células del sistema inmunológico, es útil para determinar desórdenes clínicos al usarlo como indicador, entre otras propiedades.^[21;22]

La cisteína está compuesta por 3 grupos funcionales, el *amino* ($-NH_2$), el *carboxilo* ($-COOH$) y el ya mencionado *tiol* ($-SH$), los cuales se observan respectivamente en las figuras 1.2 y 1.4 en azul, rojo y amarillo, mientras que los carbonos están representados en café (gris en la figura 1.4) y los hidrógenos correspondientes, en blanco.

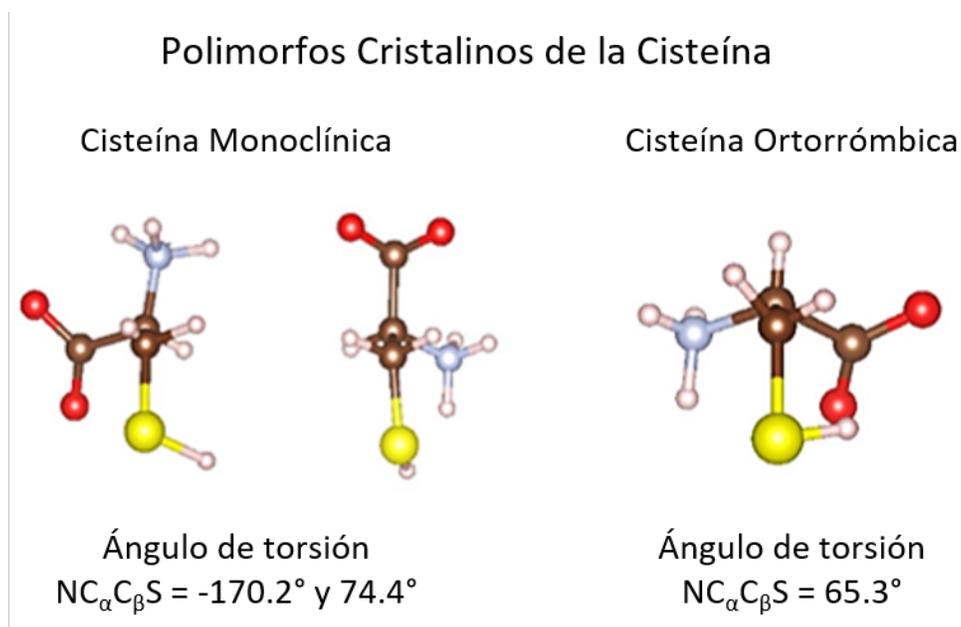


Figura 1.2: Polimorfos monoclínico y ortorrómbico de la cisteína junto con sus ángulos de torsión $NC_\alpha C_\beta S$.

¹Esto quiere decir que puede ser sintetizado por los seres humanos a través de la glucosa, y no se necesita ingerir de otra forma por los alimentos.^[23]

Como se muestra en la figura 1.2, la cisteína puede presentarse en dos distintos polimorfos, el monoclinico y el ortorrómbico, caracterizados por los ángulos que se forman entre los elementos de su estructura molecular y están diferenciados por sus respectivos ángulos de torsión.

La cisteína posee también tres posibles conformaciones rotacionales isoméricas (o rotámeros), donde el polimorfo monoclinico tiene dos y el ortorrómbico una. En la figura 1.3, se encuentran representados los rotámeros por sus *diagramas de Newman*, donde, bajo el círculo, se encuentran 2 hidrógenos y el grupo tiol fijos, mientras que en la parte superior un hidrógeno y los grupos amino y carboxilo rotados según sea el caso.

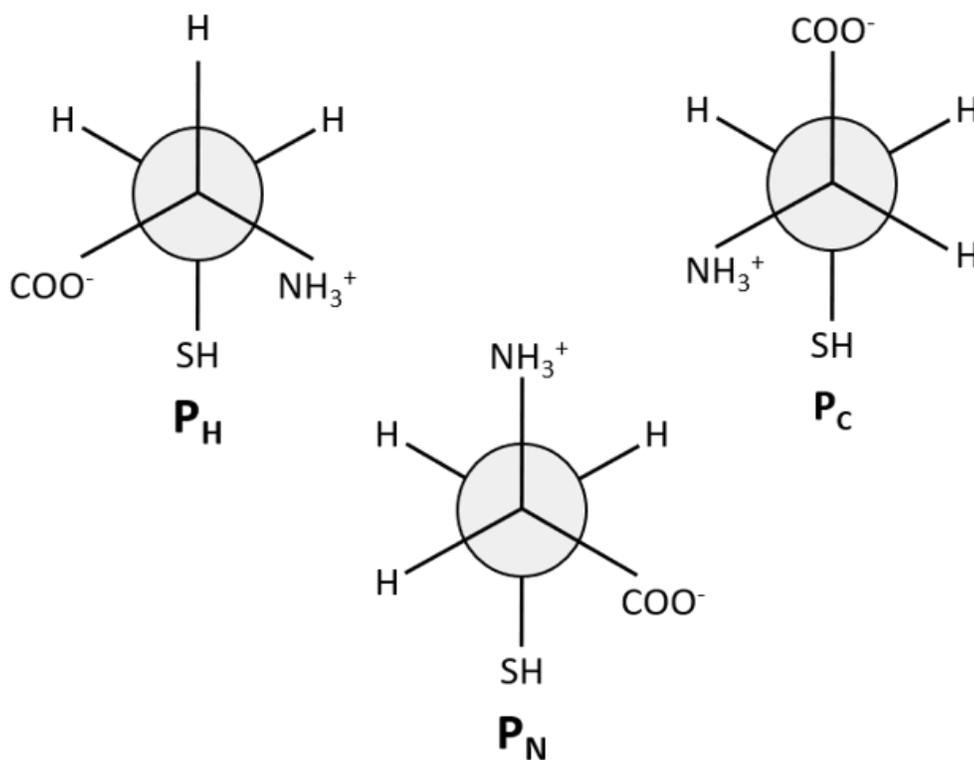


Figura 1.3: Conformaciones rotacionales posibles de la cisteína representadas por su diagrama de Newman.

Cada rotámero está denotado por el átomo o grupo funcional en antiposición con el grupo tiol, siendo el P_H aquel con el hidrógeno en antiposición, el P_N aquel con el grupo amino en antiposición, y el P_C aquel con el grupo carboxilo en antiposición.

Finalmente, una de las propiedades estructurales que será de gran importancia en el desarrollo de este trabajo, es que la cisteína es un aminoácido *quiral*, teniendo entonces 2 enantiómeros (ver figura 1.4).

Del cambio en las propiedades de sistemas quirales, así como del significado mismo del concepto, se hablará en el siguiente capítulo, mientras que el efecto sobre las propiedades ópticas, resultado de estructura quiral, serán las protagonistas de esta investigación.

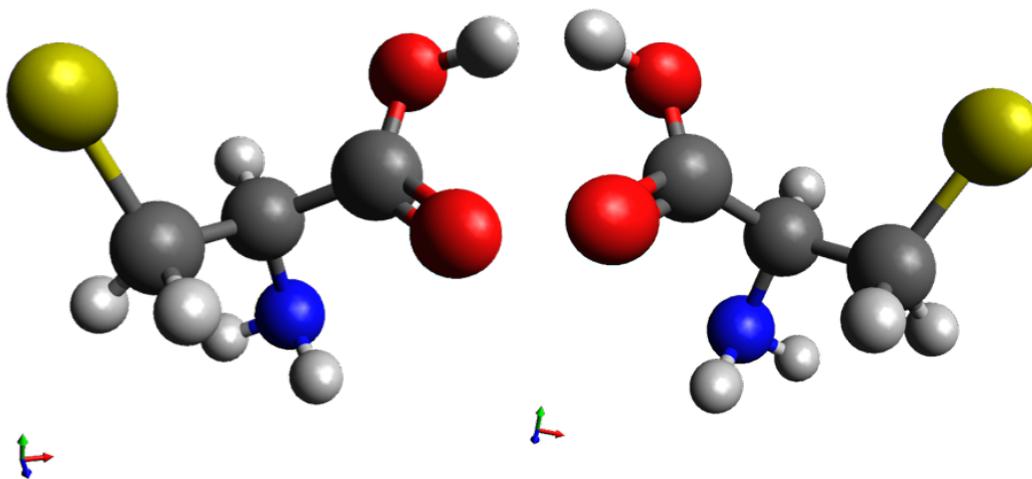


Figura 1.4: Modelo tridimensional de la L-Cisteína (izquierda) y D-Cisteína (derecha), construido y optimizado en el software *Avogadro*.^[34]

1.5. Quiralidad Molecular

La historia de la quiralidad como concepto en la científico, es antigua y extensa, pues abarca distintas ciencias. En el presente capítulo nos enfocaremos a uno de los conceptos más importantes (junto con el de nanopartícula metálica aquiral) de la investigación: quiralidad molecular, haciendo referencia a la historia de como surge.

Se considera a Louis Pasteur como uno de los primeros descubridores de elementos quirales de forma experimental.^[24;25] Mientras realizaba experimentos con tartrato de sodio-amonio, que al cristalizarse genera 2 tipos de cristales, observó que al disolverlos por separado mostraban actividad óptica de igual magnitud pero en sentido contrario, proponiendo que este fenómeno era resultado de la geometría atómica en las moléculas del cristal.^[25]

Sin embargo, el concepto de *quiralidad*, o bien, la palabra *quiral*, fue acuñada en 1893 por Lord Kelvin, donde, parafraseando, dijo:

Llamo a una figura geométrica, o grupo de puntos, *quiral*, y digo que tiene quiralidad, si su imagen en un plano espejo ideal, no se puede hacer coincidir consigo misma.^[26]

La palabra como tal es una modificación del griego $\chi\epsilon\iota\rho$, que quiere decir *mano*, y se translitera al inglés como *cheiral*, siendo posteriormente modificada.^[27]

En el mismo momento también hace mención de conceptos clave relacionados con la quiralidad, dando ejemplos muy sencillos de un sistema quiral, entre ellos, nuevamente parafraseando:^[27]

- Un par de manos derechas similares son *homoquiralmente similares*.
- Manos izquierda y derecha similares son *heteroquirales*, donde cada una es un *enantiomorfo* (izquierdo y derecho).

La definición de Lord Kelvin presenta una idea general del concepto de quiralidad, y no está muy lejos del contexto en el que este trabajo se sitúa, sin embargo, para tener una definición de *Quiralidad Molecular*, consideremos lo siguiente:^[28]

La simetría de cualquier modelo molecular consiste en las operaciones de simetría de (i) rotación alrededor de alguno de los ejes de simetría por submúltiplos de 2π , (ii) reflexiones en los planos de simetría y (iii) combinaciones de (i) y (ii) que puedan llevar a la molécula a coincidir consigo misma.

Si estas condiciones no se cumplen, se dice que un elemento es *asimétrico*, y si bien esta condición es suficiente para la existencia de enantiómeros ópticos,^[28] no es necesaria. La condición necesaria y suficiente consiste en que, dado un plano, la imagen especular convierta al elemento en uno que no se pueda superponer en el original únicamente por transformaciones de traslación y rotación.^[28]

Tenemos entonces un modelo con dos elementos no idénticos, 2 enantiómeros, pero relacionados entre sí por una transformación de reflexión.

Se dice entonces que estos elementos son quirales.^[28]

Un ejemplo cotidiano de una molécula quiral (ver figura 1.5), es aquella en parte responsable del aroma cítrico de la naranja (*D-Limoneno*) y del limón (*L-Limoneno*):

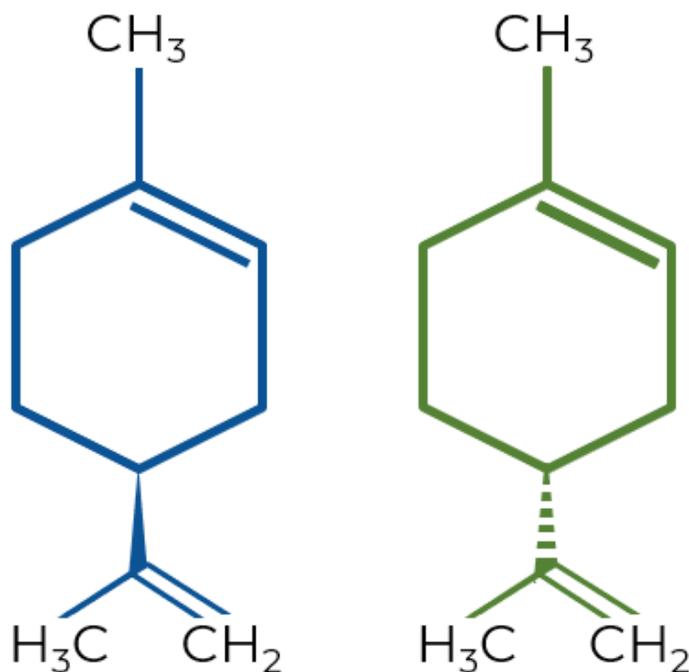


Figura 1.5: Estructura bidimensional de el L-Limoneno (izquierda) y el D-Limoneno (derecha).

Sin embargo, es necesario mencionar que no podríamos identificar las diferencias en los aromas particulares de cada enantiómero si no poseyéramos un sensor olfativo que discriminara precisamente dichas diferencias quirales.^[29]

Además de esta, existen moléculas quirales con las que tenemos contacto de forma cotidiana, por ejemplo en la industria farmacéutica: el *lorazepam* y el *ibuprofeno*,^[30] o bien en el cuerpo humano: el *ácido láctico*.^[31]

Podemos encontrar diferencias de gran importancia entre enantiómeros, desde la diferencia en saborizantes artificiales, el *l*-*aspartamo* tiene un sabor dulce, mientras que el *d*-*aspartamo* no presenta sabor,^[32] hasta cuestiones de mayor riesgo, la *d*-*penicilamina* se usa en el tratamiento de la artritis reumatoides, pero la *l*-*penicilamina* inhibe la acción de la piridoxina, asociada a la vitamina B_6 .

Como último ejemplo, mencionaré un par de casos en los que existe un dominio de uno de los enantiómeros sobre el otro, este es el caso de los *L*-*aminoácidos*, los cuales son importantes para las propiedades estructurales y funcionales de las proteínas en las células vivas, mientras que las *D*-*azúcares* son de gran importancia en la estructura del *ARN* y el *ADN*.^[33]

Dicho lo anterior, notamos una presencia importante de moléculas quirales en las estructuras que constituyen nuestra información genética, más aun, de la dominancia enantiomérica de los *L*-*aminoácidos* y las *D*-*azúcares*, surge una serie de preguntas que pueden dar información, a través de la ruptura de la simetría, sobre el origen de los primeros organismos vivos, es decir, como dada esa ruptura de simetría se obtienen los primeros sistemas quirales y, subsecuentemente, se obtiene sólo un enantiómero de los aminoácidos y los azúcares que conforman aquello tan esencial para la vida. A esto se le conoce como *homoquiralidad biológica*.

En ese sentido, podemos pensar en un sistema análogo sin vida (inorgánico) y no necesariamente quiral, y uno vivo (orgánico) y quiral, y obtener información de transferencia y amplificación de quiralidad en el nuevo sistema.

Si bien el objetivo de este proyecto no es obtener información sobre el origen de la vida en el marco de la *homoquiralidad biológica*, el sistema propuesto, además de tener potenciales aplicaciones (mencionadas en los capítulos 1.2, 1.3 y 1.6), podría funcionar, por lo dicho en el párrafo anterior, como una metodología de investigación que permita elucidar cierta información en ese contexto.

1.6. Quiralidad en Nanosistemas Híbridos

Teniendo en cuenta la introducción anterior, podemos entonces hablar de un sistema donde estos conceptos estén presentes al mismo tiempo, combinando la idea de un sistema inorgánico, como lo es la nanopartícula metálica, y un sistema orgánico, como lo son las biomoléculas quirales, lo cual nos introduce aún más al contexto de esta investigación.

Existen una gran cantidad de sistemas *nanopartícula metálica - ligando biomolecular*, sin embargo, históricamente, dada la mencionada afinidad del grupo *-tiol* por el oro, el nanosistema *Au - ligando tiolado* se vuelve el candidato principal como elemento de investigación.

En este contexto, Schaaff y Whetten observan por primera vez intensa actividad óptica en nanosistemas híbridos en el año 2000.^[35] En la investigación se sintetizaron nanocúmulos de oro con glutatión, un ligando quiral, con diámetros de 0.7-3.2 nm. Las muestras fueron separadas por masas usando el método de electroforesis (*grosso modo*, consiste en la separación por tamaño de partículas¹ cargadas en un gel en función de su movilidad dado un campo eléctrico externo) posteriormente, se realizaron estudios de espectroscopía de absorción y de dicroísmo circular, donde, considerando que la nanopartícula de oro no presentaba una geometría atómica intrínsecamente quiral, sugirieron que la estructura electrónica era sensible a las propiedades quirales impuestas por los grupos funcionales del glutatión.^[36]

El artículo discute por primera vez los mecanismos responsables de la actividad quiróptica en el nanosistema híbrido, pero es particularmente importante pues es la primera vez en la que se observan efectos y propiedades quirópticas en un nanosistema híbrido.

¹La técnica permite separar otro tipo de elementos, moléculas por ejemplo, en este caso: nanopartículas.

Con el descubrimiento experimental realizado por Schaaff y colaboradores, surgieron diversos grupos de investigación que emplearon una metodología teórica y computacional¹ para obtener mayor información de ese tipo de sistemas, por ejemplo: estructura atómica, morfología y geometría de enlace con ligandos, entre otros.^[37;38]

En estudios realizados por Garzón, Michaelian y colaboradores^[37;39;40] se determinaron las estructuras de menor energía para los cúmulos metálicos Au_{38} , Au_{55} y Au_{75} , los cuales son intrínsecamente quirales.

Por otro lado, estudios de primeros principios fueron realizados por Provorse, Aikens y colaboradores^[41] para determinar el espectro de dicroísmo circular en cúmulos de oro con ligandos quirales. Los resultados que obtuvieron están de acuerdo con lo medido experimentalmente por Yanagimoto y colaboradores.^[42] Al remover los ligandos y realizar los cálculos para el espectro de dicroísmo circular, obtuvieron resultados que sugieren que la quiralidad de la nanopartícula no es tan importante para explicar la intensa actividad óptica del sistema como lo es con la presencia de los ligandos quirales.

En un tercer escenario, Goldsmith y colaboradores^[43] realizaron, a partir de un modelo de primeros principios y una metodología perturbativa, el cálculo del espectro de dicroísmo circular de una nanopartícula de oro aquiral rodeada por ligandos quirales, obteniendo que la sola presencia de los ligandos induce una señal de dicroísmo circular.

¹En el capítulo 3 hablaré un poco más sobre en qué consisten estos métodos.

De estas y otras investigaciones, tanto teóricas como experimentales, han surgido hipótesis sobre los posibles mecanismos para explicar el origen de las señales quirales en los nanosistemas híbridos:^[7;44;45;46]

- (I) La estructura atómica de la nanopartícula metálica es intrínsecamente quiral.
- (II) La geometría de adsorción de un ligando (quiral o aquiral) en la superficie de la nanopartícula, induce una perturbación en la nanoestructura haciéndola ópticamente activa.
- (III) Elementos quirales de los ligandos (o moléculas) inducen actividad óptica en la estructura electrónica del núcleo metálico, aún si ni el núcleo ni el patrón de adsorción son quirales.

Considerando entonces no sólo al oro, sino otros núcleos metálicos, quirales y no quirales, la elección de ligando biomolecular (que puede o no ser quiral), las zonas mismas en las que se puede dividir el nanosistema híbrido (núcleo, interfase y ligando en el exterior),^[47] no sólo los mecanismos de transferencia de quiralidad, sino la región misma en el nanosistema híbrido de donde surge la quiralidad, es un tema de gran interés y trabajo a desarrollar de forma experimental y teórica.

1.7. Nanosistemas híbridos: AuCis, AgCis y CuCis

Dada la línea que se sigue en esta investigación, me abocaré a hablar sobre resultados recientes y relevantes, de los nanosistemas oro- y plata- cisteína (a partir de ahora me referiré a ellos como AuCis y AgCis), y de como la hibridización genera y aumenta las propiedades quirópticas del sistema.

Es importante mencionar que se realizó una búsqueda exhaustiva de información asociada al nanosistema cobre-cisteína (CuCis), de la cual no se encontró ningún resultado relevante, por lo que la presente investigación genera resultados que no han sido previamente reportados para ese nanosistema.

Estudios experimentales han sido realizados para determinar totalmente la estructura atómica de mínima energía de una gran variedad de cúmulos de oro protegidos con ligandos tiolados,^[48;49] los cuales han resultado en geometrías quirales y no quirales, permitiendo el estudio, tanto experimental como teórico,^[18;44] de las propiedades fisicoquímicas de dichos sistemas.

Por otro lado, modelos computacionales han sido propuestos donde se ha confirmado que la excitación óptica del enlace *oro-azufre*, en un ambiente quiral óptimo, da lugar a una señal intensa de dicroísmo circular, lo cual concuerda con resultados experimentales.^[20;50]

Observaciones en la respuesta de la intensidad de dicroísmo circular de nanocúmulos de oro protegidos por biomoléculas tioladas sugieren que la estructura electrónica del oro debe ser altamente sensible al ambiente generado por los ligandos quirales.^[18]

Se ha observado también que para algunos sistemas el grupo tiol no sólo tiene fuerte interacción con el oro. Estudios en nanopartículas de plata^[51] afirman que para que haya adsorción y se genere el sistema híbrido, el grupo funcional mencionado debe estar presente, pues otros aminoácidos, carentes del carácter tiolado, no generan una señal efectiva de adsorción, lo que convierte al grupo tiol en pieza clave de la interacción *nanopartícula metálica - ligando*.

En el estudio experimental de la actividad quiróptica pueden cambiar fundamentalmente cuatro parámetros: la composición de la nanopartícula (elemento/metal puro o aleación) así como el momento de su funcionalización (después o durante la síntesis de las nanopartículas metálicas), el tamaño del nanosistema y el ligando biomolecular.

En ese sentido, hay evidencia de que los métodos de síntesis generan diferencias en la señal de dicroísmo para distintos sistemas.^[51] Cambios en el *pH* por ejemplo, pueden inducir cambios en la morfología del nanosistema híbrido, así como la señal de dicroísmo circular, indicando que, tanto el ambiente en el que se encuentra suspendida la nanopartícula, como la adsorción del ligando en el metal, son importantes en la quiralidad del sistema.^[52]

Es claro entonces que, a pesar de que muchos estudios se han hecho, donde se han propuesto diversos mecanismos de interacción,^[7;44;45] el origen fundamental y los procesos de transferencia de quiralidad, así como la actividad quiróptica en nanosistemas híbridos aun no son claros.^[44]

Se debe desarrollar investigación, desde el frente teórico y experimental, para tener un panorama más claro sobre cómo y de dónde surge la actividad quiróptica, así como cuáles son los mecanismos de interacción entre las nanopartículas metálicas y los ligandos biomoleculares que dan origen a tal comportamiento.

En el contexto de este trabajo, a diferencia de los estudios anteriormente citados, donde se usan nanopartículas de tamaños mayores a los 20 nm, o bien se concentran sólo en un metal, o cambian el ligando, usándolo incluso como estabilizador durante la síntesis, en la presente investigación se realiza un estudio comparativo y de análisis en la señal quiróptica de los nanosistemas híbridos de oro, plata y cobre con tamaños menores a los 5 nm, usando sólo la cisteína como ligando biomolecular quiral, añadido posterior a la síntesis de las nanopartículas.

Capítulo 2

Metodología Experimental

2.1. Síntesis de Nanopartículas

Existen dos aproximaciones para la síntesis de nanopartículas metálicas: de *abajo hacia arriba* y de *arriba hacia abajo*, conocidos en la literatura como, respectivamente, *bottom-up* y *top-down approach*.^[5]

La aproximación de *abajo hacia arriba* se refiere a la construcción del sistema de interés, elemento a elemento (de átomos y moléculas, por ejemplo), lo cual permite la posibilidad de generar nanopartículas metálicas con menos defectos y composición química homogénea.^[5]

Mientras que en la aproximación de *arriba hacia abajo*, una sustancia o elemento precursor es reducido a partir de métodos químicos o físicos. En este caso, se puede decir que en el método se remueven los bloques que forman una estructura inicial macroscópica, la cual se puede controlar de forma externa para formar la nanoestructura.

Durante las últimas décadas, distintas metodologías para producir nanopartículas metálicas han sido propuestas: procesos fotoquímicos,^[53] sonoquímicos,^[54] por centrifugado,^[20] por ablación láser, pirólisis, entre otros^[55] y a pesar de que se logran obtener las nanopartículas de características deseadas (tamaño, dispersión, geometría, entre otras), dada la complejidad de algunos métodos, o la variabilidad de resultados posibles (debido a la cantidad de pasos necesarios para realizar la síntesis), una metodología simple para obtener nanopartículas para un estudio como el que aquí se presenta es muy importante.

Por esta razón, dentro de todas las metodologías de síntesis de nanopartículas, la *hidrólisis asistida por microondas* presenta las características ideales para la generación del nanosistema que nos interesa.

2.1.1. Hidrólisis Asistida por Microondas

La hidrólisis asistida por microondas^[56] es una metodología que permite la síntesis de nanoestructuras metálicas en solución de forma controlada mediante la variación de distintos parámetros, como la concentración de las sales metálicas, el solvente, el tiempo y la potencia de las microondas. Mediante la variación de estos parámetros, la técnica permite manipular el cambio en el tamaño de la nanoestructura,^[57] lo que la convierte en una metodología energéticamente rápida y eficiente pues ofrece un calentamiento interno uniforme de la muestra, generando sitios de nucleación rápida en la suspensión en los cuales crecerán las nanopartículas.^[58]

Estudios previos muestran que es posible sintetizar nanopartículas pequeñas con una distribución de tamaños angosta, además de un grado alto de pureza en la solución final.^[59;60]

El método está basado, y consiste, en lo siguiente:

En el rango de frecuencias de las microondas, 300MHz-300GHz, las moléculas polares tienden a orientarse con el campo eléctrico. Dado un campo eléctrico alternante, o bien, variaciones de la propagación de las microondas en un sistema molecular, la orientación de las moléculas oscilará, perdiendo energía en forma de calor debido a interacciones moleculares.^[57]

La ecuación que describe la disipación de potencia por unidad de volumen P de un material es:^[57]

$$P = c|E|^2 f \varepsilon'' = c|E|^2 f \varepsilon' \tan \delta, \quad (2.1)$$

donde:

- c es una constante
- E es la magnitud del campo eléctrico en el material
- f la frecuencia de radiación
- ε' la constante dieléctrica (o permitividad relativa)
- ε'' disipación dieléctrica (pérdida de energía electromagnética)

Mientras que la variable ε' representa la capacidad de una molécula para ser polarizada dado un campo eléctrico, y $\tan \delta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'}$ es el factor de disipación de la energía.

Podemos entonces decir que:

$$\varepsilon'' = \varepsilon' \tan \delta, \quad (2.2)$$

es considerada como la variable de carácter físico más importante, pues contiene la información que describe la capacidad del material para ser calentado en el campo de microondas; los solventes ideales son aquellos con alta capacidad de reducción¹ y alta disipación dieléctrica.

Solvente	ε''	ε'	$\tan \delta$
Metanol	20.9	32.7	0.639
Etanol	6.08	24.3	0.250
Agua	12.3	78.3	0.157

Tabla 2.1: Parámetros físicos (a 3GHz y 25°C) de algunos solventes usados para síntesis vía hidrólisis asistida por microondas.^[61]

Como se observa en la tabla 2.1, tanto los alcoholes como el agua son solventes ideales para la síntesis de por hidrólisis asistida por microondas.

El calentamiento por radiación electromagnética en estas frecuencias tiene varios efectos sobre el sistema, en particular, el efecto térmico genera, dada la homogeneidad y rapidez del calentamiento, que el proceso de reducción de los precursores metálicos y la nucleación del cúmulo metálico sea acelerada, generando nanoestructuras en una muestra coloidal con baja dispersión de tamaños.

Estas condiciones hacen de la *hidrólisis asistida por microondas* un método de síntesis de nanoestructuras metálicas confiable, rápido, barato y, en el caso particular de este trabajo, muy eficiente.

¹Reducción química: Proceso en el que se obtienen electrones de uno de los átomos involucrados en la reacción.

2.1.2. Materiales y Métodos de síntesis

Las sales metálicas precursoras utilizadas fueron: Ácido cloroáurico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} \geq 99,9\%$), el nitrato de plata ($\text{AgNO}_3 \geq 99,0\%$) y el nitrato de cobre (CuNO_3 a 99,999%), los cuales se adquirieron de la compañía *Sigma Aldrich*. La cisteína, L- y D-, fueron compradas a *Sigma Aldrich*. Ninguno de los precursores se purificó ni procesó en segunda instancia.

Las nanopartículas metálicas fueron sintetizadas siguiendo el método de hidrólisis asistida por microondas usando una muestra con una concentración de 2.5mM de la sal precursora, con exposición de microondas a frecuencia 2.5GHz con una potencia de 1000W por un periodo de 10s.

Posteriormente fueron funcionalizadas agregando cisteína en la muestra, para una concentración final *metal:cisteína* = 0.5:5 mM.

Todas las muestras fueron sintetizadas en agua desionizada a temperatura ambiente.

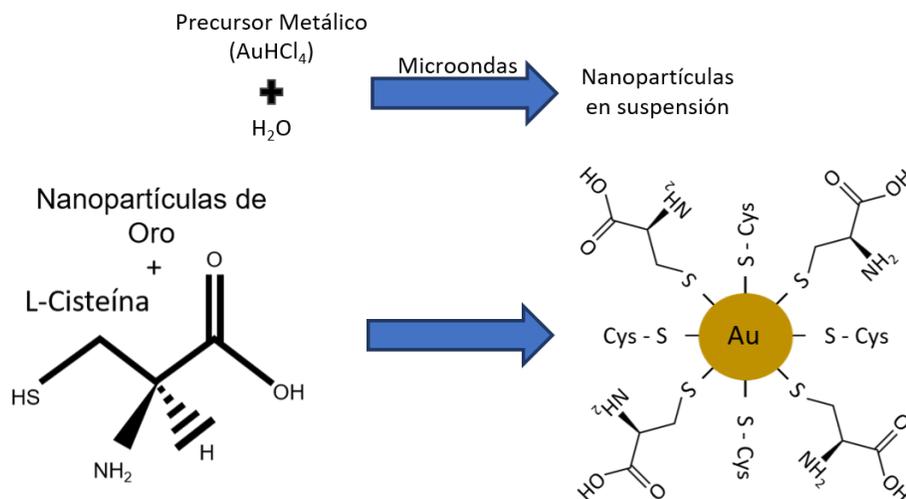


Figura 2.1: Representaciones esquemáticas de la síntesis de nanopartículas (*arriba*) y funcionalización (*abajo*) para el nanosistema AuCis.

2.2. Caracterización por Técnicas de Microscopía

2.2.1. Microscopía Electrónica de Transmisión

La Microscopía Electrónica de Transmisión (*TEM* por sus siglas en inglés), es una técnica de microscopía que permite visualizar y caracterizar distintos parámetros de muestras en la micro y nanoescala, dando información elementos a distancias del orden de Å.

El principio teórico^[62] por el cual se tiene tan alta resolución (comparado con la microscopía óptica), se debe a la longitud de onda de de Broglie para el electrón, la cual está descrita por la siguiente ecuación:

$$\lambda = \frac{h}{p} \quad (2.3)$$

Donde λ es la longitud de onda, p el momento del electrón y h la constante de Planck.

Considerando entonces el voltaje de aceleración (V) de los electrones la energía cinética de cada uno se describe por:

$$E_k = eV = \frac{mv_0^2}{2} = \frac{pv}{2} \quad (2.4)$$

Donde E_k , m_0 y v son la energía cinética, la masa en reposo y la velocidad de los electrones. Podemos entonces obtener una ecuación para λ independiente del momento de las ecuaciones 2.3 y 2.4:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_0eV}} \quad (2.5)$$

Sin embargo, dado el alto voltaje al que se aceleran los electrones, el momento no está descrito por la ecuación 2.4, sino que se deben hacer correcciones relativistas:

$$p = \frac{mv}{\sqrt{1 - \frac{v^2}{c^2}}} \quad (2.6)$$

Donde c es la velocidad de la luz. Podemos entonces dar una ecuación para la longitud de onda que será válida para los electrones en el microscopio:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_0eV \left(1 + \frac{eV}{2m_0c^2}\right)}} \quad (2.7)$$

Un cálculo sencillo nos permitirá saber que longitud de onda se asocia a un electrón y por tanto, nos indicará que tipo de elementos se pueden observar, consideremos entonces.

$$\begin{aligned} h &= 6,62 \times 10^{-34} && [kgm^2s^{-1}] \\ m_0 &= 9,1 \times 10^{-31} && [kg] \\ e &= 1,6 \times 10^{-19} && [C] \\ V &= 2 \times 10^5 && [v] \\ c &= 3 \times 10^8 && [ms^{-1}] \end{aligned}$$

Sustituyendo en la ecuación 2.6, tenemos una longitud de onda de:

$$\begin{aligned} \lambda &= 2,5 \times 10^{-12} && [m] \\ \lambda &= 2,5 \times 10^{-3} && [nm] \end{aligned}$$

Valor teórico que permite hacer observación de sistemas nanométricos.

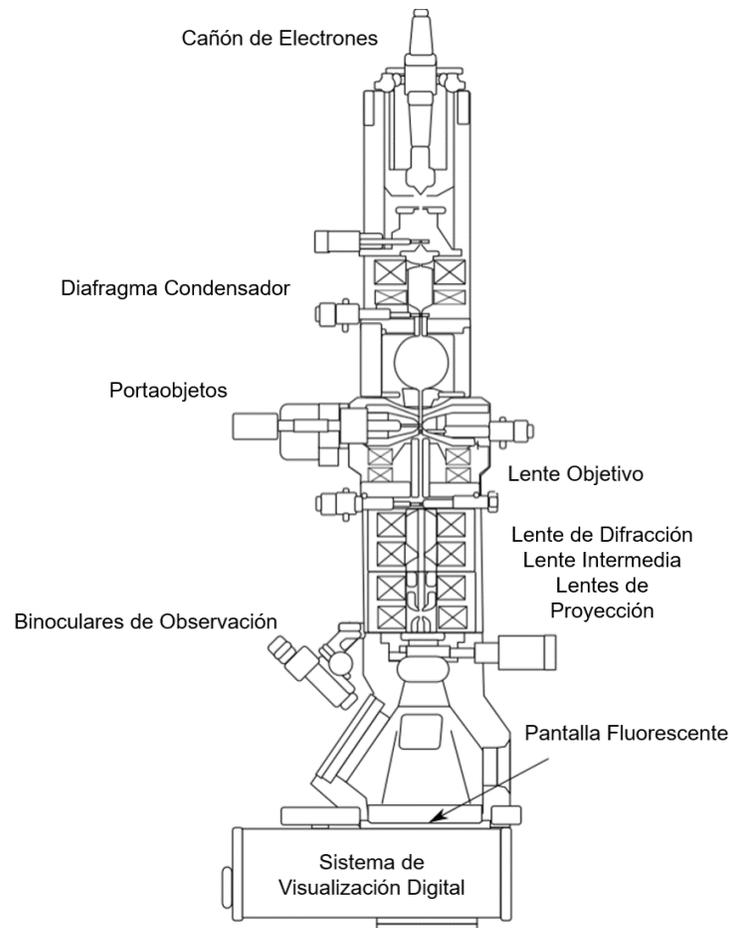


Figura 2.2: Esquema general de un Microscopio Electrónico de Transmisión.

Algunos de los elementos más importantes que lo conforman son:

- El sistema de vacío.
- El sistema de magnificación de imagen.
- Un sistema de iluminación.
- El (o los) sistema(s) de recolección de información.
- La sección de colisión con la muestra.
- Sistemas extra (para análisis químico por ejemplo).
- Un sistema de lentes objetivo.

En términos generales, la técnica consiste en lo siguiente:

El sistema de vacío permite principalmente tres cosas, la generación de una diferencia de potencial que acelerará los electrones sin tener una descarga de arco, la disminución de la frecuencia de colisiones con gases en la cavidad y la minimización de contaminación de la muestra, lo cual puede provocar la obtención de datos no fidedignos.

El sistema de iluminación, es decir, la fuente de emisión, produce electrones de un alto voltaje, típicamente entre 100 y 300kV, los cuales son acelerados, enfocados y alineados por una serie de placas electrostáticas y lentes magnéticas para impactar con la muestra.^[63]

La lente objetivo determinará entonces, el límite de resolución de la imagen, mientras que el sistema de magnificación, compuesto por lentes intermedias y de proyección generan una amplificación de la imagen de hasta 1.5 millones de veces.

El sistema de recolección de datos, hoy en día digital, usa una serie de dispositivos *CCD* (Charged Couple Device, por sus siglas en inglés), los cuales permiten el procesamiento y cuantificación de la información obtenida del haz transmitido a través de la muestra.

Finalmente, se pueden agregar otros dispositivos al microscopio para obtener información, por ejemplo, de la composición química de una muestra. Dentro de estos sistemas se encuentran la Espectroscopía de Dispersión de Energía por Rayos-X (*EDS*) y la Espectroscopía de Pérdida de Energía Electrónica (*EELS*). En la primera se obtiene un histograma de la emisión de rayos-X emitidos por una región de la muestra como función de la energía del fotón con el que interactúa. En la segunda se analiza la intensidad en la distribución de los electrones transmitidos como función de su pérdida de energía, lo cual da información química y estructural, de la muestra.

Dada la amplia posibilidad de sistemas que se pueden agregar a un microscopio electrónico de transmisión, además de su utilidad *per se*, hacen de este sistema, una técnica de determinación de la estructura cristalina mucho más precisa y confiable que otras, lo que la convierte, en el marco de este trabajo, en una herramienta de investigación indispensable.

En particular, para las muestras utilizadas en el análisis de esta investigación, se utilizaron:

- Nanopartículas de oro libres:
 - Microscopio electrónico de transmisión JEOL-ARM200F Cs con corrección de aberraciones, el cual se encuentra en la Universidad de San Antonio Texas, obteniendo imágenes de microscopía electrónica de transmisión de barrido con un detector High Angle Annular Dark Field, (técnica conocida como HAADF-STEM) operando a 80kV.
- Nanopartículas de plata y cobre libres, así como los 3 sistemas híbridos:
 - Microscopio electrónico de transmisión JEOL2010 FE-TEM del Laboratorio Central de Microscopía en el Instituto de Física de la UNAM, operando a 200kV con una magnificación máxima de x150000.
 - Microscopio electrónico de transmisión JEM-ARM 200F del Laboratorio Universitario de microscopía electrónica del Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM, operando bajo la técnica HAADF-STEM.

Las imágenes obtenidas de ambas técnicas se analizaron mediante el software *Digital Micrograph* de la empresa *Gatan*, de donde se obtuvieron la morfología, diámetro y distribución de tamaños de las nanopartículas.

2.3. Caracterización por Técnicas Espectroscópicas

Para estudiar experimentalmente el comportamiento quiróptico del nanosistema híbrido se utilizará la luz, en este caso, linealmente polarizada para las propiedades ópticas, y la circularmente polarizada para las quirales. A continuación se describen los principios físicos de ambos casos.

2.3.1. Espectroscopía de Absorción UV-Vis

Se puede asociar la absorción de la radiación electromagnética en las zonas de longitud de onda correspondientes al ultravioleta y el visible (200-800 nm) con la transición de un electrón a un orbital de mayor energía. Si consideramos que cada nivel de energía está cuantizado, únicamente la radiación electromagnética con la energía precisa, provocará una transición de este tipo y será absorbida por el medio.^[64]

Considerando que podemos expresar la energía de uno de estos sistemas como:

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad (2.8)$$

Longitudes de onda mayores estarán asociadas a transiciones de menor energía, mientras que longitudes de onda menores a transiciones de mayor energía, el rango de longitudes de onda presentes en el *ultravioleta-visible* permitirá entonces estudiar, principalmente, transiciones de mayor energía.

Básicamente, un dispositivo que realiza una medición de absorción funciona de la siguiente manera:

- Una fuente de luz que emite radiación que cubre, al menos, un rango de longitud de onda de 180-800 nm se concentra en una rejilla de difracción, la cual, actuando como un prisma, divide el haz de luz en sus distintas componentes por diferencia de camino óptico.

- Un divisor de haz es colocado para que la luz interactúe en dos zonas, una que pasa por una muestra de referencia (el blanco) y la muestra a caracterizar, esto nos da la señal de la absorción siguiendo la *Ley de Beer-Lambert*:

$$A = \log_{10} \left\{ \frac{I_0}{I} \right\}, \quad (2.9)$$

donde:

- A es la absorción de la muestra.
- I la intensidad adquirida para el blanco.
- I_0 la intensidad adquirida para la muestra.

La luz transmitida a través de la muestra, es decir, la no absorbida, llega a un detector el cual convierte la señal en una corriente, obteniendo un espectro de longitud de onda usualmente en nanómetros (nm) contra intensidad de señal, en unidades arbitrarias ($u.a.$).^[64]

En este proyecto se utilizó el espectrofotómetro UV-Vis Evolution 201 con el software Thermo ScientificTM INSIGHTTM, en el rango de 190 nm a 800 nm con mediciones cada nanómetro y tiempo de integración de 0.5 segundos.

2.3.2. Espectroscopía por Dicroísmo Circular

La técnica de *Dicroísmo Circular* es muy similar a la de *UV-Vis*, sin embargo, en este caso, la luz que interactúa con la muestra está polarizada circularmente. Esto quiere decir que el vector de campo eléctrico rota (a la izquierda o a la derecha) a lo largo del eje de propagación de la onda, manteniendo constante su magnitud.^[65]

Un espectro de dicroísmo circular corresponderá entonces a la diferencia de absorción entre la luz circularmente polarizada *izquierda* y *derecha* al interactuar con una muestra y, dado que la luz circularmente polarizada es quiral, permitirá distinguir sistemas izquierdos de derechos.^[66]

Al interactuar con un medio quiral ópticamente activo, la luz polarizada es absorbida, tanto en su polarización izquierda, como en la derecha, sin embargo, la magnitud de esta absorción (izquierda o derecha) será dependiente de la naturaleza del compuesto quiral, obteniendo una diferencia de absorción:

$$\Delta A = A_l - A_r \quad (2.10)$$

Considerando la Ley de Beer-Lambert, ahora en términos de la concentración (c), la longitud de camino óptico (l) y los coeficientes de absorción molares izquierdo (ϵ_l) y derecho (ϵ_r):

$$A = (\epsilon_l - \epsilon_r) cl \quad (2.11)$$

Lo que da pie a definir la magnitud de *dicroísmo circular molar*, precisamente como la diferencia de estos coeficientes:

$$\Delta\epsilon = \epsilon_l - \epsilon_r \quad (2.12)$$

La cual es función de la longitud de onda, la conformación de las moléculas que absorben la luz, haciéndola dependiente de la concentración, la temperatura y el ambiente químico.

Desde el punto de vista de la teoría electromagnética clásica,^[67] consideremos de las siguientes figuras:

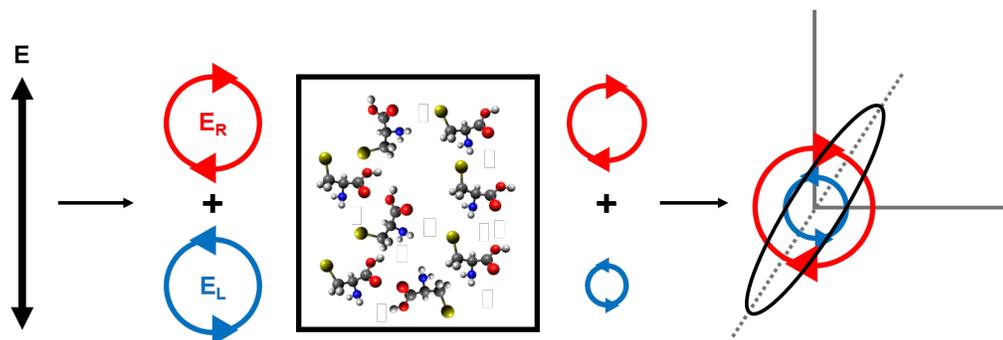
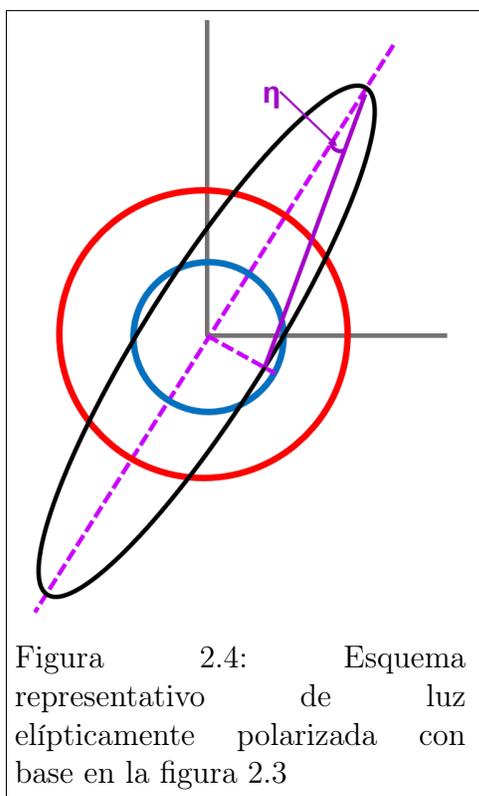


Figura 2.3: Esquema representativo de la obtención de señal de dicroísmo circular a partir de la interacción de luz circularmente polarizada con una muestra quiral.



De la figura 2.3 observamos, cualitativamente, de izquierda a derecha:

- Un campo \mathbf{E} linealmente polarizado que puede ser obtenido a partir de la suma de luz circularmente polarizada \mathbf{E}_L y \mathbf{E}_R (circularmente polarizada a la izquierda y a la derecha respectivamente) y de igual magnitud.
- Al hacer interactuar \mathbf{E}_L y \mathbf{E}_R con un sistema quiral, el cual absorbe una de las polarizaciones de forma preferencial, se obtiene luz circularmente polarizada transmitida de distinta intensidad.
- La suma de estos nuevos campos ya no es linealmente polarizada, obteniendo el fenómeno de dicroísmo circular en forma de un haz elípticamente polarizado.

De la figura 2.4, a partir de los semiejes mayor y menor de la elipse se obtiene el ángulo η , el cual es proporcional (para elipticidades pequeñas) al dicroísmo circular.^[67]

Considerando entonces la superposición de luz circularmente polarizada izquierda (L) y derecha (D), podemos describir al campo como:

$$E_{\alpha/\beta} = \mathbf{E}_R \pm \mathbf{E}_L = E_0 e^{i(\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}-\omega t)} \{(\hat{n}_\alpha + i\hat{n}_\beta) \pm (\hat{n}_\alpha - i\hat{n}_\beta)\} \quad (2.13)$$

Donde α y β denotan las coordenadas cartesianas y E_0 es la amplitud de la onda electromagnética incidente con vector de onda \mathbf{k} y frecuencia ω .

Cuando luz pasa a través de un medio quiral, las componentes izquierda y derecha de la luz circularmente polarizada son absorbidas de forma distinta, dando origen al fenómeno de dicroísmo circular, el cual puede describirse matemáticamente en términos del coeficiente de absorción $\kappa_{L/R}$ como:

$$\Delta A(\omega) = \kappa_L(\omega) - \kappa_R(\omega) \quad (2.14)$$

Expresión equivalente a la ecuación 2.10. Mientras que el campo electromagnético circularmente polarizado (a la izquierda o derecha) se define como:

$$E_{L(R)}(\omega) = E_0 e^{-2\pi\kappa_{L(R)}(\omega)l/\lambda} \quad (2.15)$$

Donde l es la longitud de camino óptico y λ la longitud de onda incidente del campo electromagnético. Ahora, dado que $\kappa_L(\omega) \neq \kappa_R(\omega)$, cuando la luz linealmente polarizada pasa a través del medio absorbente, la luz se vuelve elípticamente polarizada, definiendo la elipticidad como:

$$\tan \eta(\omega) = \frac{E_R(\omega) - E_L(\omega)}{E_R(\omega) + E_L(\omega)} = \tanh \left\{ \frac{\pi l}{\lambda} [\kappa_L(\omega) + \kappa_R(\omega)] \right\} \quad (2.16)$$

Donde, como habíamos ya mencionado, para ángulos pequeños, la elipticidad es proporcional al dicroísmo circular:

$$\eta(\omega) \approx \frac{\pi l}{\lambda} [\kappa_L(\omega) + \kappa_R(\omega)] \quad (2.17)$$

Ahora, el tratamiento mecánico cuántico resulta natural al trabajar con luz, y en este trabajo se aborda desde ambos frentes, por lo que la teoría fundamental detrás de la actividad óptica en moléculas quirales puede ser explicada definiendo los dipolos de transición eléctrico y magnético^[18] (ver figura 2.5), los cuales están asociados con la actividad óptica y quiróptica, a través de la *rotación* (\mathbf{m}) y *traslación* de carga ($\boldsymbol{\mu}$).



Figura 2.5: Esquema representativo de los dipolos magnético (izquierda) y eléctrico (derecha).

Usando la figura anterior, consideremos un estado inicial o final (denotados respectivamente por i y j), cuando existe una *traslación* de carga en una dirección, esta inducirá una transición dipolar eléctrica μ_{ij} (o simplemente $\boldsymbol{\mu}$), mientras que la *rotación* de los electrones inducirá una transición dipolar magnética m_{ij} (o simplemente \mathbf{m}).¹ Ambos casos pueden generar absorción electrónica de radiación.

Considerando el espectro electromagnético, la integración sobre una banda espectral ($d\nu$) resulta en la fuerza de oscilador. En pocas palabras, esta cantidad adimensional indica la probabilidad de absorción o emisión de radiación electromagnética durante transiciones entre niveles energéticos de una molécula o átomo^[68] y está descrito por la siguiente ecuación:

$$f_{i \rightarrow j} = 4,32 \times 10^9 \int \epsilon d\nu \approx |\mu_{ij}|^2 + |m_{ij}|^2 \quad (2.18)$$

Donde ϵ , como en la ecuación 2.12, se refiere al coeficiente de absorción molar.

¹Estos conceptos son más comunes en el contexto de la teoría electromagnética, donde son referidos como momento dipolar eléctrico y magnético.

Usualmente $\mu_{ij} \gg m_{ij}$, por lo que se puede hacer una distinción entre transiciones permitidas ($\mu_{ij} \neq 0$) y prohibidas ($\mu_{ij} = 0$)

Por otro lado, se puede definir también la fuerza dipolar $D^{[18]}$ en términos de la fuerza de oscilador:

$$D = \langle \Psi_0 | \mu | \Psi_a \rangle^2 = \frac{3he^2}{8\pi^2\nu_{0 \rightarrow a} mc} f \quad (2.19)$$

Donde Ψ_0 y Ψ_a son las funciones de onda que describen los estados base y excitado respectivamente, los cuales se pueden asociar a los estados inicial (i) y (j), m , e , h y c son la masa y carga del electrón, la constante de Planck y la velocidad de la luz respectivamente.

Ahora, en el contexto de este trabajo, es decir, en el estudio de la espectroscopía quiróptica, ambos dipolos de transición son importantes pues, por ejemplo, un cambio, por menor que sea, que genere una respuesta de *dicroísmo circular* implica una simultánea traslación y rotación de la carga lo largo de un camino helicoidal (ver figura 2.6), esto es una transición donde $\boldsymbol{\mu} \neq 0$ y $\mathbf{m} \neq 0$ y para la cual, ambos vectores son no ortogonales.

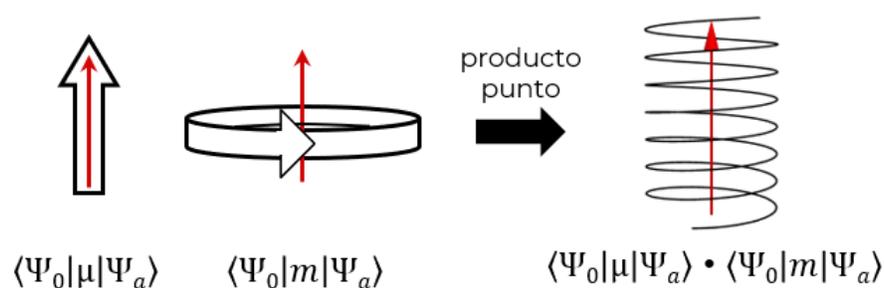


Figura 2.6: Esquema representativo del origen de la actividad óptica a través de la interacción entre los dipolos de transición eléctrico y magnético.

Tomando entonces una banda en el espectro de dicroísmo circular, la integral de esa sección es proporcional a la *fuerza rotacional* (R):

$$R_{0 \rightarrow a} = \frac{3hc}{32\pi^3 N_A} \int \frac{\Delta\epsilon}{\nu_{0 \rightarrow a}} d\nu \quad (2.20)$$

Donde $\Delta\epsilon$ se define como la absorción molar dicrónica.^[18]

Como un acercamiento más fundamental, las fuerzas rotacionales son el producto de las integrales de superposición de las funciones de onda, y se pueden expresar como la *ecuación de Rosenfeld*:^[18]

$$CD = \frac{4}{3} \gamma \text{Im} (\langle 0 | \boldsymbol{\mu} | a \rangle \cdot \langle n | \mathbf{m} | 0 \rangle) \quad (2.21)$$

Esto es, la parte imaginaria del producto escalar entre los dipolos de transición \mathbf{m} y $\boldsymbol{\mu}$ asociados a una transición electrónica, de donde se define la fuerza rotacional:

$$R_{0 \rightarrow a} = \mathbf{Im} [\langle \Psi_0 | \boldsymbol{\mu} | \Psi_a \rangle \cdot \langle \Psi_0 | \mathbf{m} | \Psi_a \rangle] \quad (2.22)$$

De la ecuación anterior, si $\langle \Psi_0 | \boldsymbol{\mu} | \Psi_a \rangle = 0$ (i.e. si la absorción es cero), entonces R también es cero, lo que quiere decir que, teóricamente, para que haya señal de dicroísmo circular, es necesario que también se dé el fenómeno de absorción.^[18]

Como se observa en la figura 2.6, la superposición entre $\boldsymbol{\mu}$ y \mathbf{m} resulta en un desplazamiento helicoidal de la carga, la cual interactúa de forma distinta con luz circularmente izquierda y derecha, es decir, el operador de dipolo eléctrico ($\langle \Psi_0 | \boldsymbol{\mu} | \Psi_a \rangle$) resulta en una separación de carga, mientras que ($\langle \Psi_0 | \mathbf{m} | \Psi_a \rangle$) en la circulación de la misma.

Cuando se tiene una molécula aquiral, no habrá una dirección preferencial para la circulación de carga y R será cero, lo que explica la intensidad en la señal de dicroísmo circular que se origina en las estructuras helicoidales (ver figura 2.7), pues estas actúan como guías para la circulación de carga.

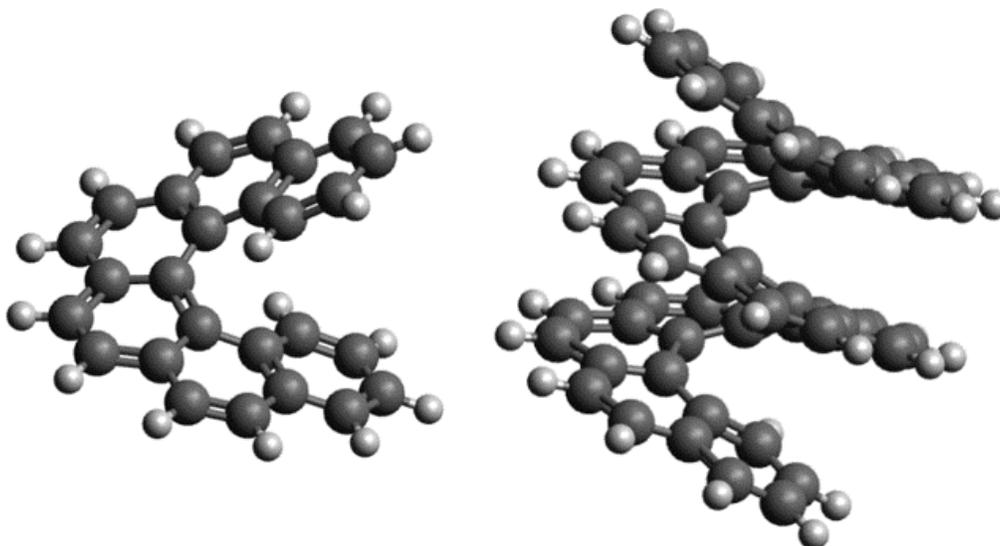


Figura 2.7: Helicenos de 6 y 14 anillos con geometría optimizada por cálculos DFT, ejemplos de estructuras quirales helicoidales. En gris átomos de carbón y en blanco de hidrógeno.

Finalmente, una aproximación a la fuerza rotacional útil en muchos contextos está dada por:^[18]

$$R = \boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{m} \cos \theta \quad (2.23)$$

Donde θ es el ángulo entre los dipolos de transición. Si una molécula tiene un centro de simetría, la suma de todos los dipolos inducidos (magnéticos o eléctricos) será cero, o bien, los vectores de los momentos dipolares eléctricos y magnéticos deberán ser ortogonales entre ellos, tal que su proyección resulte en que no haya actividad óptica.

Consideremos ahora el funcionamiento de un dispositivo que mide dicroísmo circular, un espectrofotopolarímetro. Los elementos más importantes del dispositivo son mostrados a continuación:

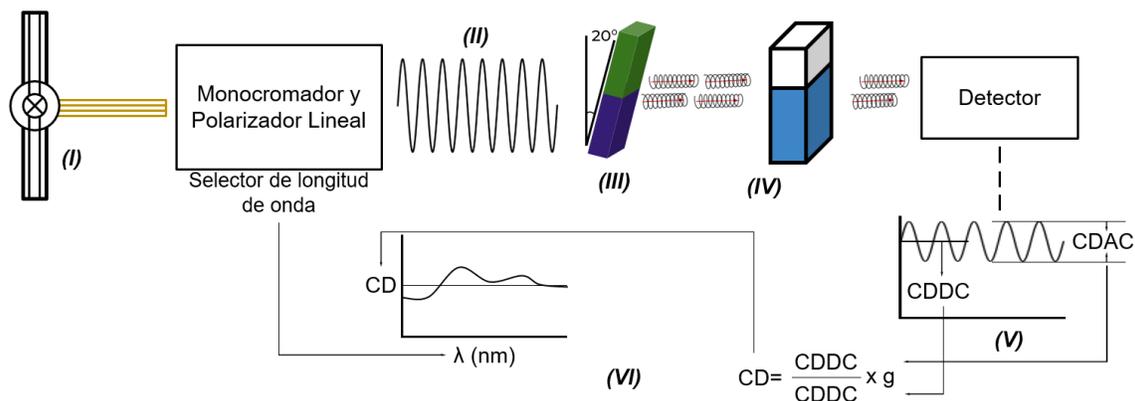


Figura 2.8: Esquema general del funcionamiento de un dispositivo de dicroísmo circular.

- I) Una fuente de luz intensa emite luz blanca la cual es polarizada y se realiza un barrido de longitudes de onda en el monocromador.
- II) Se envía sólo una longitud de onda por un periodo de tiempo.
- III) Incide la onda en un modulador fotoelástico el cual polariza la luz de forma circular a la izquierda o a la derecha, donde la intensidad de cada una depende del medio que atraviese.
- IV) La luz incide e interactúa con la muestra y posteriormente llega a un detector.
- V) Se obtienen señales de la luz circularmente polarizada y se procesan usando un factor para darle unidades de $[mdeg]$.
- VI) Se obtiene el espectro de dicroísmo circular.

En cuanto a las unidades, usualmente se reporta el dicroísmo circular como *elipticidad*, esto es θ [grados], lo que está relacionado con la absorción por un factor de 32,98:

$$\theta = 32,98\Delta A \quad (2.24)$$

Para la conversión de unidades de la absorción molar dicróica ($\Delta\epsilon$ usualmente en $[L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}]$) a $[\theta]$, se usa un factor de 3298, por lo que

$$[\theta] = 3298\Delta\epsilon \quad (2.25)$$

En el contexto experimental, las unidades que se utilizaron en este proyecto fueron $[mdeg]$ ($10^{-3}grados$), sin embargo, dependiendo de las condiciones experimentales, en ocasiones medir uno u otro parámetro es conveniente, por lo que entender estas conversiones, así como de donde surge la actividad óptica es útil en el presente trabajo de investigación.

En este proyecto se usaron el espectropolarímetro JASCO J-715 con controlador de temperatura tipo Peltier y el Chirascan CD Spectrometer, Applied Photophysics, con controlador de temperatura, este último permitió medir el espectro CD y de absorción de forma simultánea, permitiendo calcular el factor de anisotropía en las mismas condiciones experimentales.

Consideraciones Generales

Es conveniente mencionar que los dispositivos usados para medir la señal de dicroísmo circular y de absorción deben tener cuidados especiales, en particular el dispositivo de dicroísmo circular, durante su funcionamiento a longitudes de onda bajas ($\lambda < 220$ nm) pues presenta variaciones intensas en la señal (ruido), debido a que el voltaje de operación en dicho rango es muy elevado.

Capítulo 3

Métodos Numérico-Computacionales

En el marco de este proyecto, las metodologías computacionales permitieron el estudio de los sistemas experimentales a partir de la construcción de modelos teóricos de los cuales se obtuvo información de los fenómenos que sucedieron en el experimento.

Si bien el objetivo de los modelos que se propusieron (a continuación explicados) no es establecer una comparación directa con el sistema experimental, la aproximación se realizó para obtener información sobre los posibles mecanismos de interacción electrónica *nanopartícula metálica - cisteína*, así como las posibles transiciones electrónicas que se podrían asociar a las señales observadas en los espectros de absorción UV-Vis y de dicroísmo circular.

Dicho lo anterior, el presente capítulo está enfocado a introducir la *teoría mecánico-cuántica computacional*, de la cual se obtuvo información que complementó los resultados experimentales. El análisis e interpretación de dicha información ayudó a comprender los efectos en las propiedades ópticas y quirópticas que surgen de la adsorción de la cisteína en las nanopartículas metálicas, sin embargo, al no ser un proyecto que se centre en los resultados teóricos, no se ahondará en dicho aspecto, así como tampoco en el funcionamiento de los métodos. La siguiente es entonces, una breve introducción a los métodos computacionales, con el fin de entender en qué se basan y cómo es que se aplicaron en el presente trabajo de investigación.

3.1. Cálculos de Primeros Principios

La metodología computacional que se utilizó corresponde a las clasificadas como *ab initio*, en español conocido como *métodos de primeros principios*, en los que se resuelve la ecuación de Schrödinger para un hamiltoniano que describe un sistema molecular o atómico.

La teoría del funcional de la densidad (*DFT*), surge entonces como uno de los tratamientos más adecuados, por su precisión y eficiencia, para el cálculo del estado base de un sistema molecular o atómico,^[72] lo cual ha contribuido a la predicción y entendimiento de las estructuras electrónicas y estabilidad de los mencionados sistemas.^[70]

Si bien la metodología *DFT* es importante en este trabajo, pues el cálculo de la configuración de mínima energía para el modelo utilizado se realiza previo al cálculo de los espectros de absorción y dicroísmo circular, es su extensión dependiente del tiempo (*Time Dependent DFT*) la que permite dar información del sistema mediante el cálculo de energías de excitación, polarizabilidades dependientes de la frecuencia, así como los espectros de absorción y dicroísmo circular a partir del cálculo de las fuerzas de oscilador y rotación respectivamente.^[72;73]

3.2. Teoría del Funcional de la Densidad Dependiente del Tiempo

Si bien la primera formulación tensorial que se desarrolló para describir la extensión dependiente del tiempo de la teoría del funcional de la densidad (*TDDFT*) fue desarrollada por Cassida y colaboradores,^[71] fue usada para calcular el espectro de dicroísmo circular por primera vez por Autschbach y Ziegler^[72;73] mediante la diagonalización de una matriz cuyos valores propios son las energías de excitación del sistema.

Sin embargo, este método sólo es eficiente para energías bajas en el espectro. Una metodología desarrollada más recientemente, permite calcular las fuerzas de rotación (asociadas al espectro de dicroísmo circular) mediante una extensión resultado de la polarizabilidad compleja.^[74]

Para describir este método de forma breve, consideremos la teoría de dicroísmo circular explicada en la sección 2.3.2. Para una molécula con una orientación fija, la intensidad de dicroísmo circular para una transición del estado base $|0\rangle$ al n -ésimo estado excitado $|n\rangle$ corresponde a la diferencia de absorción entre la absorción de luz circularmente polarizada izquierda y derecha que se propaga en la dirección \hat{e}_x , entonces, reescribiendo a las ecuaciones 2.10 y 2.14 en términos de los operadores momento eléctrico ($\boldsymbol{\mu}$) y magnético (\boldsymbol{m}):

$$CD = A_L - A_R = 2\gamma Im(\langle 0|\boldsymbol{\mu}_Y|n\rangle\langle n|\boldsymbol{m}_Y|0\rangle + \langle 0|\boldsymbol{\mu}_Z|n\rangle\langle n|\boldsymbol{m}_Z|0\rangle) \quad (3.1)$$

Con γ una constante.

Ahora, como se mencionó en el capítulo 2.3.2, esto es considerando una sola molécula, de tomar una solución o un gas, donde las moléculas tienen una orientación arbitraria, la ecuación 3.1 debe promediarse mediante la *ecuación de Rosenfeld* (2.22), obteniendo la fuerza rotacional.

Para calcular $R_{0 \rightarrow a}$ mediante el algoritmo de polarizabilidad compleja, consideremos el momento dipolar inducido por un campo electromagnético:^[74]

$$\boldsymbol{\mu}'_u = \sum_v \alpha_{uv} E_v - \sum_v \frac{\beta_{uv}}{c} \frac{\partial B_v}{\partial t} \quad (3.2)$$

Donde E_v y B_v son las componentes de los campos eléctricos eléctrico y magnético, c la velocidad de la luz, α el tensor de polarizabilidad y β el tensor de rotación óptica, el cual está relacionado con la fuerza rotacional por la siguiente suma sobre los estados:^[74]

$$\bar{\beta} = \frac{1}{3} \sum_u \beta_{uu} = \frac{2c}{3} \sum_n \frac{R_{0 \rightarrow n}}{\omega_{0 \rightarrow n}^2 - \omega^2} \quad (3.3)$$

Donde ω es la energía del fotón y $\omega_{0 \rightarrow n}$ corresponde a la energía de excitación del estado base al n-ésimo estado excitado, por lo que, análogo a la absorción convencional, es conveniente extraer la fuerza rotacional $R_{0 \rightarrow n}$ de la parte imaginaria de β . Consideremos entonces, de la ecuación 3.2, que β consiste del momento dipolar eléctrico inducido por un campo magnético dependiente del tiempo, y puede recalcularse por la siguiente expresión:^[75]

$$\beta_{zz}(\omega) = \left(\frac{-ic}{\omega} \right) \sum_i^{occ} \sum_n^{virt} \langle \phi_i | \mathbf{m}_z | \phi_n \rangle \bar{P}_i^n \quad (3.4)$$

Donde se definen los elementos de la matriz de densidad como:

$$\bar{P}_i^n = t_k(\omega) \left[\langle \phi_n | \boldsymbol{\mu}_z | \phi_i \rangle + \sum_{\mu\tau}^{fit} (A^k)_{in,\mu}^+ L_{\mu\tau} b_\tau \right] \quad (3.5)$$

De las últimas ecuaciones (3.4 y 3.5), el término $A_{\mu,in}^k$ corresponde a integrales entre la función auxiliar de ajuste (f_μ) y el producto entre el i-ésimo orbital ocupado y el n-ésimo orbital virtual,¹ $\langle \phi_i | \boldsymbol{\mu}_z | \phi_n \rangle$ y $\langle \phi_i | m_z | \phi_n \rangle$ los elementos de matriz de los momentos dipolares eléctrico y magnético para el par orbital *ocupado-virtual*, mientras que la matriz \mathbf{L} está definida como:^[76]

¹Los orbitales virtuales están dados por la solución del problema de eigenvalores en términos de la base finita de funciones utilizada para expresar los orbitales moleculares.

$$\mathbf{L} = \mathbf{S}^{-1} (\mathbf{F} + \mathbf{Z}) \quad (3.6)$$

Donde \mathbf{S} es la matriz de traslape de funciones, \mathbf{F} la matriz de funciones auxiliares de densidad y está relacionado con la distancia entre electrones vecinos, y \mathbf{Z} , también una matriz de funciones auxiliares de densidad, pero en este caso relacionada al cambio del potencial de intercambio-correlación respecto a la densidad electrónica, mientras que t_k está dado por la siguiente expresión:^[75]

$$t_k(\omega) = \frac{1}{\omega - \omega_{0 \rightarrow n} + i\epsilon} + \frac{1}{\omega + \omega_{0 \rightarrow n} + i\epsilon} \quad (3.7)$$

Y el vector \mathbf{b} es la solución al sistema lineal de ecuaciones dado por:

$$[\mathbf{S} - \mathbf{M}(\omega)] \mathbf{b} = \mathbf{d} \quad (3.8)$$

Donde \mathbf{M} es una matriz dependiente de la frecuencia, relacionada a la susceptibilidad dieléctrica y un núcleo de naturaleza coulombiana.^[76]

La resolución de las ecuaciones *TDDFT* puede reducirse a la solución del sistema de ecuaciones algebraicas lineales no homogéneo (ecuación 3.8)¹ del cual se obtiene, punto a punto (para cada energía del fotón) un ensanchamiento de tipo Lorentziano para cada transición discreta.

¹Si bien esto resuelve el problema de TDDFT, un desarrollo más completo puede encontrarse en el artículo de Besaggio y colaboradores.^[74;76]

Finalmente se obtiene la cantidad que relacionaremos con la observable de diroísmo circular, la fuerza rotacional:

$$R = \frac{3\epsilon\omega}{2c} \text{Im}(\bar{\beta}) \quad (3.9)$$

Donde c es la velocidad de la luz, ω la energía del fotón, ϵ la mitad del ancho a la altura media, la cual corresponde con la parte imaginaria de la frecuencia, y $\bar{\beta}$ es el promedio del tensor de rotación óptico.

Mientras que la observable asociada al espectro de absorción es la fuerza de oscilador, la cual se define, para una transición entre el estado base $|0\rangle$ y el n -ésimo estado excitado $|n\rangle$, en términos de las frecuencias de excitación Ω de la siguiente forma:

$$f_{0 \rightarrow n} = \frac{2}{3}\omega (|\langle\psi_0|\hat{x}|\psi_n\rangle|^2 + |\langle\psi_0|\hat{y}|\psi_n\rangle|^2 + |\langle\psi_0|\hat{z}|\psi_n\rangle|^2) \quad (3.10)$$

De donde es claro el valor definido positivo de la fuerza rotacional, característico de un espectro de absorción.

3.3. Pseudopotenciales

Consideremos como ejemplo el átomo de oro. Este tiene 79 electrones, por lo que para calcular la energía de un sólo átomo habría que resolver la ecuación de Schrödinger para sus 79 electrones, pero, por tener sólo un electrón de valencia, el enlace químico que forma no tiene tanta aportación de la mayoría de los electrones.

Dada esta condición, se pueden representar los electrones más cercanos al núcleo (conocidos como *core electrons*) como una densidad de carga local, la cual apantalla al potencial generado en el núcleo, trabajando entonces sólo con los electrones más externos.

En el caso particular del oro, considerando el modelo de estructura de capas, se puede utilizar 11 electrones, el de valencia ($6s^1$) más los 10 de la capa anterior ($5d^{10}$), los cuales sentirán el potencial efectivo del núcleo atómico.

Los pseudopotenciales son entonces, funciones que modelan los electrones internos de un átomo, permitiendo hacer caso omiso de los sistemas completos, los cuales son muchos más costosos computacionalmente hablando, a la vez permitiendo resultados considerablemente reales al caso completo.

Hay que mencionar que no hay un pseudopotencial *universal* o si quiera un potencial particular para cada caso. La interacción electrónica puede llegar a ser bastante compleja pues la construcción de los pseudopotenciales considera términos de acoplamiento espín-órbita, términos de intercambio-correlación, efectos relativistas (en particular importantes para el caso del oro), entre otros, siendo estos detalles los que construyen la *física* del modelo computacional.

Para construir el pseudopotencial se calcula primero el potencial total generado por todos los electrones y se divide el espacio de forma radial en 2, en la zona exterior se usa ese potencial, mientras que en la zona interior se toma una función que genere la densidad de carga electrónica que sustituya los efectos obtenidos por interacciones electrónicas.

Finalmente, como se mencionó anteriormente, debido a las condiciones particulares a las que está sometido el átomo de oro, se deben considerar efectos relativistas a los que los electrones más cercanos al núcleo están expuestos.

Estos efectos no están considerados en la ecuación de Schrödinger, por lo que la parte relativista del cálculo debe ser incluida de manera empírica, o bien, resolviendo la ecuación de Dirac, dando las propiedades de interacción de los 11 electrones externos, a esto se le conoce como el *core relativista*.

3.4. Cálculo de espectros de Absorción y Dicroísmo Circular

La motivación del sistema que se construyó para estudiar las transiciones electrónicas se sigue del estudio realizado por Rodríguez y colaboradores^[77] donde se analizaron las posibles configuraciones de adsorción de una molécula de cisteína en una nanopartícula de 34 átomos de oro por metodologías experimentales (espectroscopía Raman) y teóricas (cálculos DFT-D3).

Dado que la información vibracional obtenida de una excitación Raman puede aproximarse como un efecto local en la nanopartícula, el uso de una sola molécula de cisteína en modelo computacional está justificado. Es decir, el sistema $Au_{34}Cis_1$ es un modelo confiable y aproximado para obtener información del sistema $AuCis$.

Sin embargo, en el presente estudio, los efectos de cada cisteína adsorbida en cada nanopartícula son importantes, pues las transiciones electrónicas entre orbitales no se pueden suponer locales y DFT no es suficiente para obtener dichas transiciones.

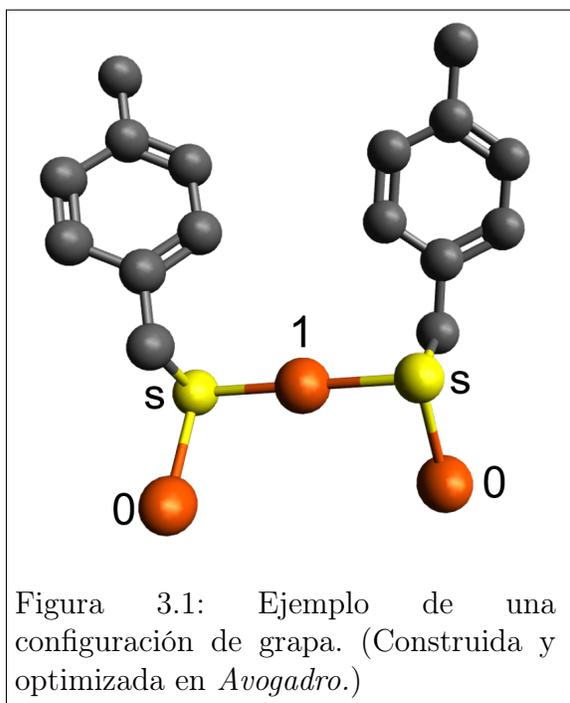
Idealmente, el sistema a modelar sería entonces una nanopartícula de oro, plata o cobre, según sea el caso, con 34 átomos, *rodeada* de cisteínas. Sin embargo, el costo computacional suele ser muy alto para este tipo de cálculos.

Por esta razón se decidió implementar un modelo aproximado que si bien no representa exactamente el sistema experimental, es capaz de dar más información sobre las transiciones electrónicas que ocurren en el sistema experimental, y ayudar a definir puntos claves en cuanto a la transferencia de quiralidad.

3.4.1. Modelo de Grapas

El sistema a analizar, conocido como configuración de grapas (*staple motif* en inglés, pues aparenta un *adorno* en la nanopartícula) ha sido utilizado en diversos estudios previos pues es simple y permite el estudio de otras propiedades en el sistema,^[20;22;78] además de que son estructuras claves en la interfaz de los nanocúmulos de oro tiolados, pues se han observado que estabilizan la última capa de dichos cúmulos.^[70]

En este proyecto se encontraron, por medio de cálculos de *DFT*, las configuraciones de mínima energía para 2 cisteínas acopladas a 3 átomos de oro, plata o cobre, siendo los externos conocidos como metálicos, denotados como Met(0), y aquel entre los azufres de la cisteína, como oxidado, el cual se denota Met(1) (con Met = Au, Ag, Cu). En la siguiente figura se hace una representación del modelo de grapas con un ligando.



- En color naranja se observa el metal en cuestión, el *0* asociado a los átomos metálicos y el *1* a los átomos *oxidados*.
- En amarillo (*S*) los azufres del ligando tiolado, los cuales están en interacción con el metal.
- Mientras que en gris, los átomos restantes que forman el ligando tiolado.

Usualmente se hace referencia al ligando tiolado como $(-SR)$, donde *S* hace referencia al azufre y *R* es el *resto* del ligando.

3.4.2. Cálculos

Todos los cálculos fueron realizados por colaboradores del grupo de investigación del que formo parte en el Instituto de Física, usando el software Gaussian09^[79] en la supercomputadora *Miztli* de la UNAM, usando hasta 40 procesadores por memoria compartida de hasta 100 Gb.

La *base* utilizada fue *def2tzvp*. En esta base, las energías y geometrías convergen de forma eficiente mediante un conjunto de orbitales balanceados polarizados triple-zeta.

El *funcional* usado fue *pbe1pbe*. Es utilizado para especificar la parte del intercambio y correlación electrónica, contiene 25 % del potencial de intercambio exacto de Hartree-Fock bajo la aproximación de gradiente generalizado (*GGA*).

Se calcularon *100* estados (*excitaciones*), a las cuales se ajustaron curvas Lorentzianas con un *Half-Width at Half-Maximum*¹ de 10.

Dada lo *no-linealidad* del sistema, se realizaron los cálculos bajo un modelo auto-contenido (*self consistent field*), en el cual, un conjunto inicial de orbitales moleculares es usado para generar un nuevo conjunto, repitiendo el proceso hasta cumplirse un criterio de *convergencia*, el número máximo de ciclos utilizados para este cálculo fue de 1024.

Como se mencionó antes, *efectos relativistas* fueron considerados, así como la inclusión de *agua* como *solvente*, este último, con posibles efectos de corrimiento y cambio en la intensidad de las señales.

¹Definido como la mitad del ancho a media altura de la curva.

Capítulo 4

Resultados

4.1. Resultados Experimentales

4.1.1. Microscopía de Nanopartículas Metálicas

A continuación se muestra una imagen por microscopía *HAADF-STEM* de las nanopartículas de oro libres (sin ligando) sintetizadas por la técnica de *hidrólisis asistida por microondas*:

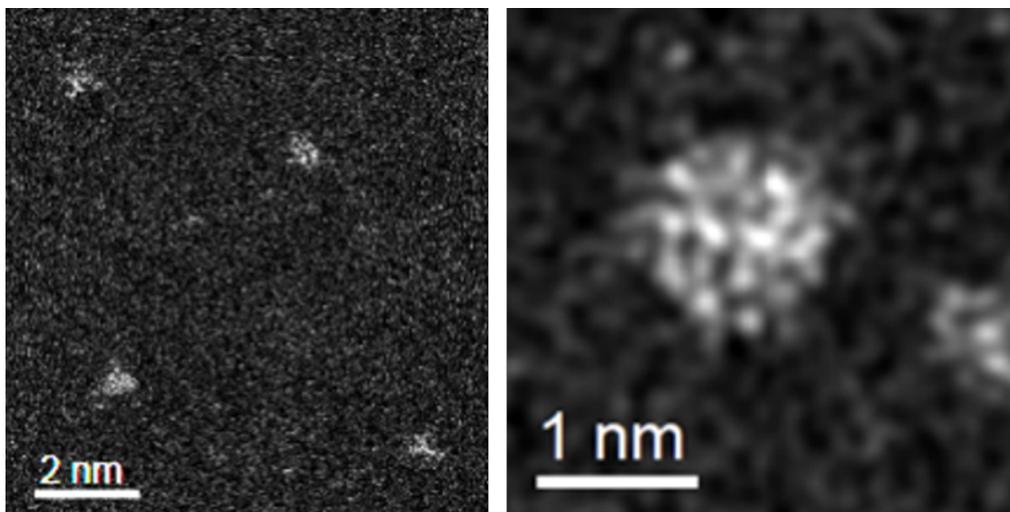


Figura 4.1: Imagen por la técnica *HAADF-STEM* representativa del sistema AuNPs, se muestra del lado derecho un acercamiento a una de las nanopartículas.

4.1.2. Microscopía de Nanopartículas Metálicas con Cisteína

De la síntesis y posterior funcionalización con la cisteína, se obtuvieron las siguientes distribuciones de tamaños del nanosistema híbrido, cada una acompañada de una imagen representativa del sistema por microscopía electrónica de transmisión (*TEM*):

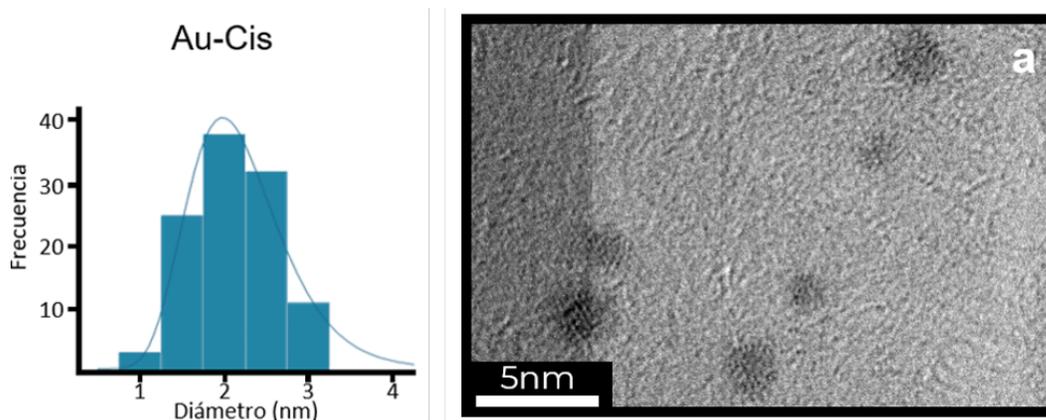


Figura 4.2: Histograma e imagen *TEM* representativa del nanosistema híbrido oro-cisteína.

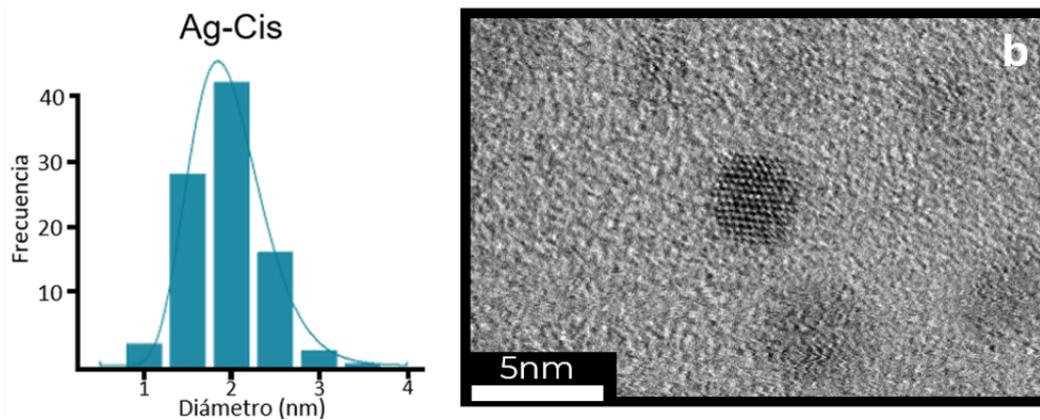


Figura 4.3: Histograma e imagen *TEM* representativa del nanosistema híbrido plata-cisteína.

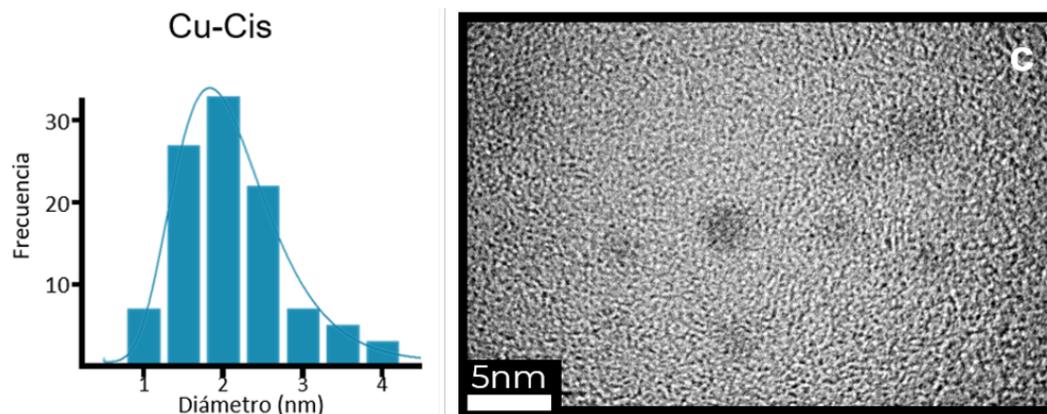


Figura 4.4: Histograma e imagen *TEM* representativa del nanosistema híbrido cobre-cisteína.

Las distribuciones presentan su máximo de frecuencia en 2 nm para cada nanosistema híbrido.

En cada caso, las distribuciones tienen la siguiente desviación estándar:

- AuCis: $1,7 \pm 0,2$ nm
- AgCis: $1,8 \pm 0,3$ nm
- CuCis: $1,8 \pm 0,5$ nm

4.1.3. Espectroscopía UV-Vis

Antes de observar el efecto del ligando en la absorción de las nanopartículas metálicas, se muestra la absorción del ligando mismo.¹

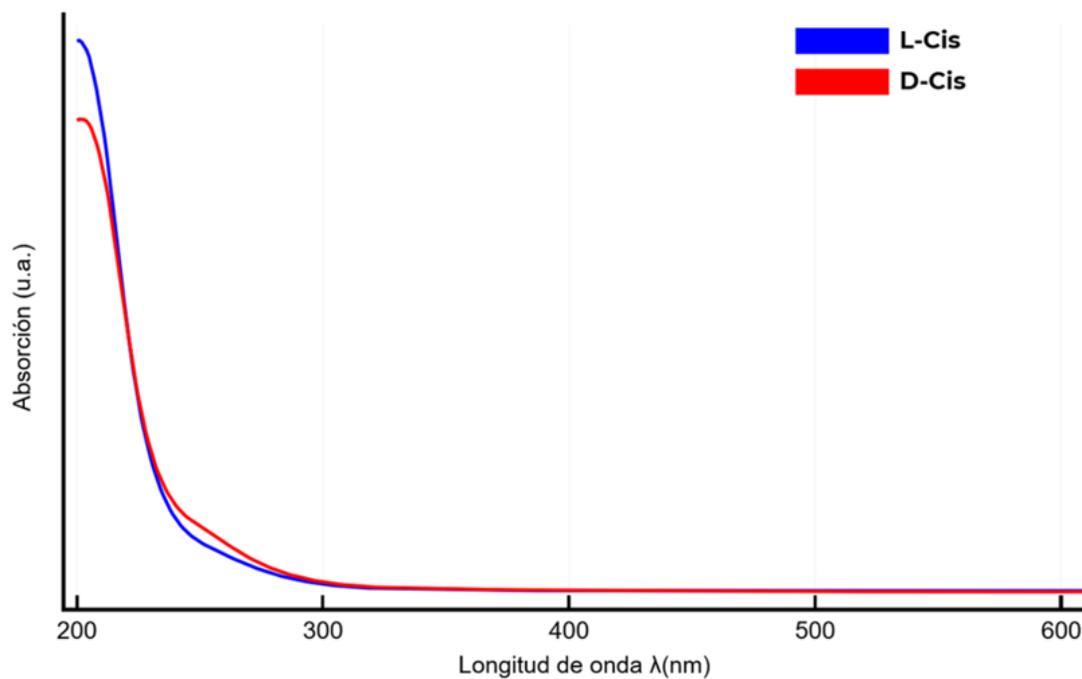


Figura 4.5: Espectro de absorción de ambos enantiómeros de la cisteína en el rango 200-600 nm.

A continuación se muestran los resultados obtenidos para la absorción UV-Vis de los metales libres y de los sistemas híbridos.

¹A partir de ahora se distinguirá el ligando izquierdo (*L-Cisteína*) en azul, del derecho (*D-Cisteína*) en rojo, heredando los colores para los sistemas híbridos.

Nanopartículas Libres y con Cisteína

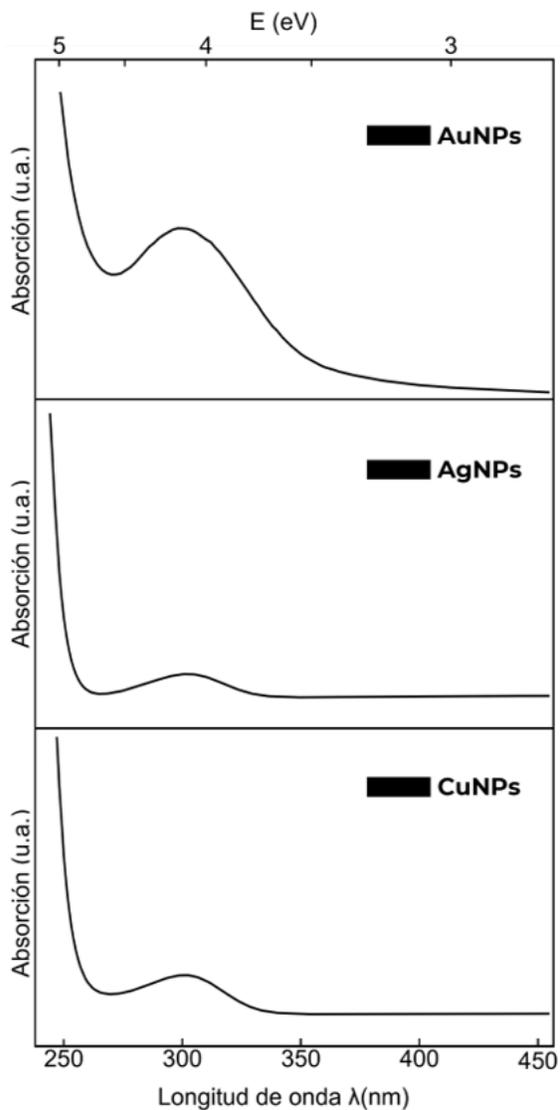


Figura 4.6: Espectros de absorción de las nanopartículas de oro, plata y cobre sin cisteína.

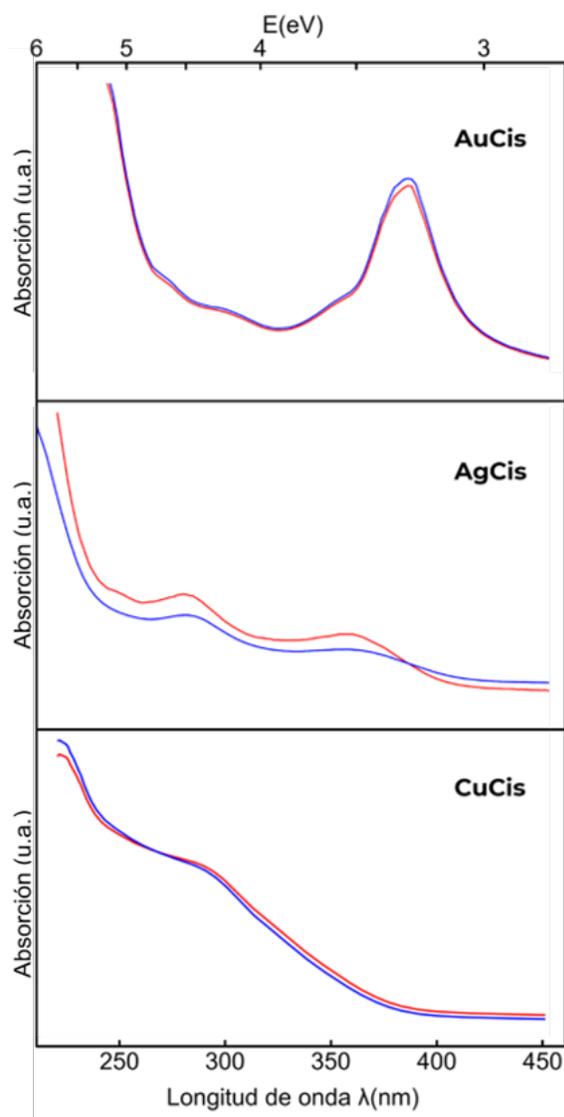


Figura 4.7: Espectros de absorción de las nanopartículas de oro, plata y cobre con cisteína.

4.1.4. Espectroscopía por Dicroísmo Circular y Factor de Anisotropía

Como en el caso de espectroscopía *UV-Vis*, es conveniente primero mostrar el espectro de dicroísmo circular para la cisteína.

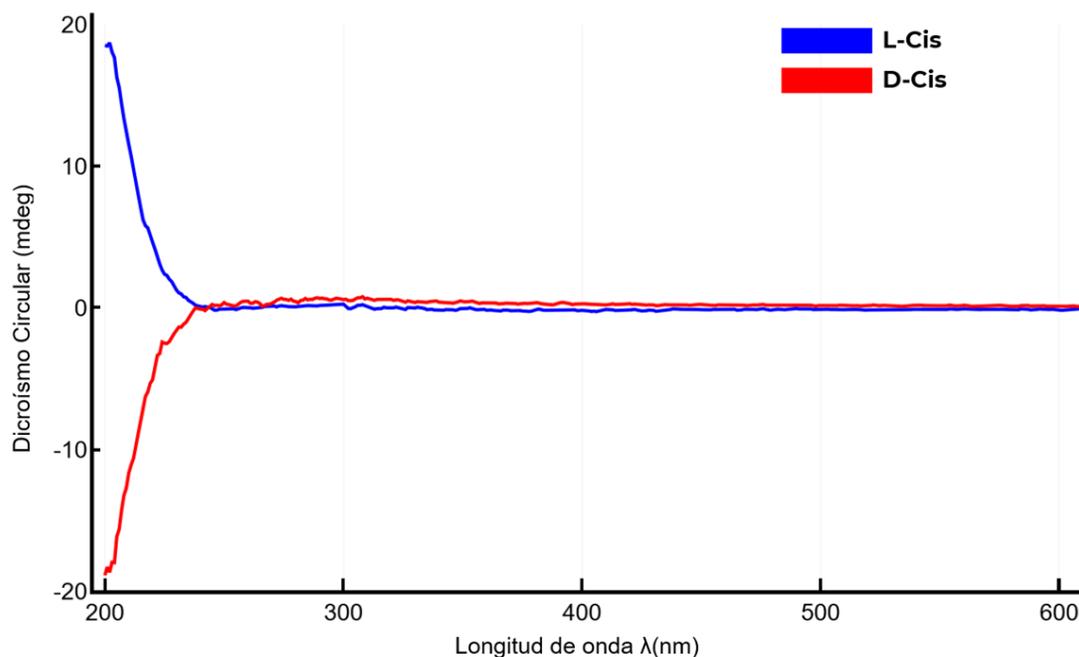


Figura 4.8: Espectro de dicroísmo circular de la cisteína para ambos enantiómeros.

A continuación se presentan los espectros de dicroísmo circular para cada sistema, siguiendo la asignación de azul para *L-Cisteína* y rojo para *D-Cisteína*, mientras que en rombos negros, el espectro de dicroísmo circular de la nanopartícula libre.

Dicroísmo circular y Factor de anisotropía

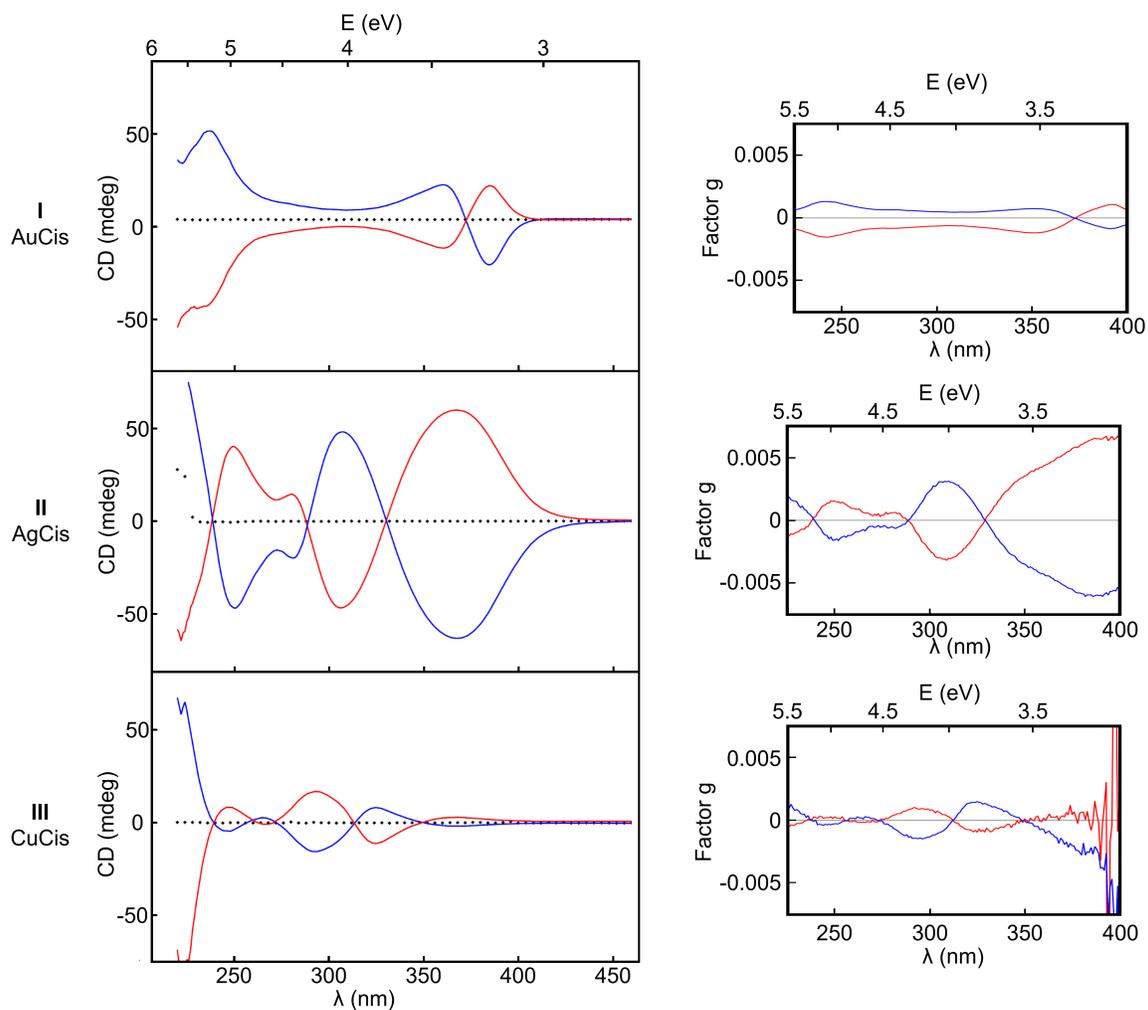


Figura 4.9: Espectros de dicroísmo circular (izquierda) y respectivos factores de anisotropía (derecha).

El factor de anisotropía (*factor g*) se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$g = \frac{\Delta A}{32980 * A} = \frac{|A_l - A_r|}{32980 * A} \quad (4.1)$$

Es decir, el cociente del valor absoluto de la diferencia de absorción de luz circularmente polarizada izquierda y derecha, entre la absorción de luz linealmente polarizada, por un factor para tener un valor adimensional.

Los valores del factor de anisotropía, para cada sistema fueron:

- AuCis $g = 1,23 \times 10^{-3}$ en 242 nm
- AgCis $g = 5,25 \times 10^{-3}$ en 387 nm
- CuCis $g = 1,20 \times 10^{-3}$ en 325 nm

Los valores de dicroísmo circular y absorción se midieron de forma simultánea en el espectropolarímetro Chirascan.

4.2. Resultados Numérico-Computacionales

Como se menciona en el capítulo 3, los siguientes resultados se usarán, en el marco de esta investigación, como una herramienta de mejor entendimiento del tipo de transiciones ocurridas en la interfaz nanopartícula-cisteína.

En ese sentido, se muestran a continuación (de izquierda a derecha) las 3 configuraciones de mínima energía obtenidas para el modelo de grapas asociadas a cada nanosistema: *AuLCis-motif*, *AgLCis-motif* y *CuLCis-motif* (donde *motif* hace referencia a la grapa).

Estas configuraciones fueron optimizadas mediante cálculos *DFT*, mientras que los espectros, así como los orbitales en los que se dan las transiciones electrónicas, fueron calculados usando *TDDFT*.

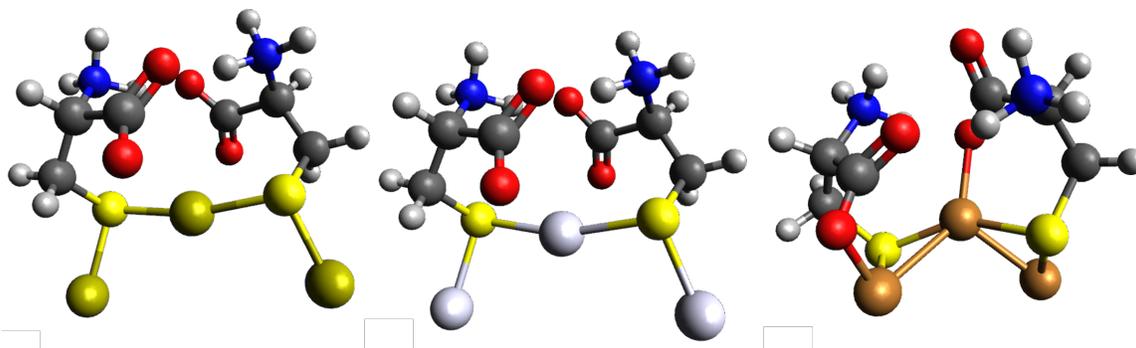


Figura 4.10: Se muestran los 3 modelos de grapa de los cuales se obtuvieron los espectros de fuerza de rotación y oscilador.

Espectros de fuerza rotacional y de oscilador calculados, los cuales están asociados a los espectros de dicroísmo circular y absorción.

Las líneas rojas en los espectros corresponden a la posición e intensidad de las excitaciones calculadas.

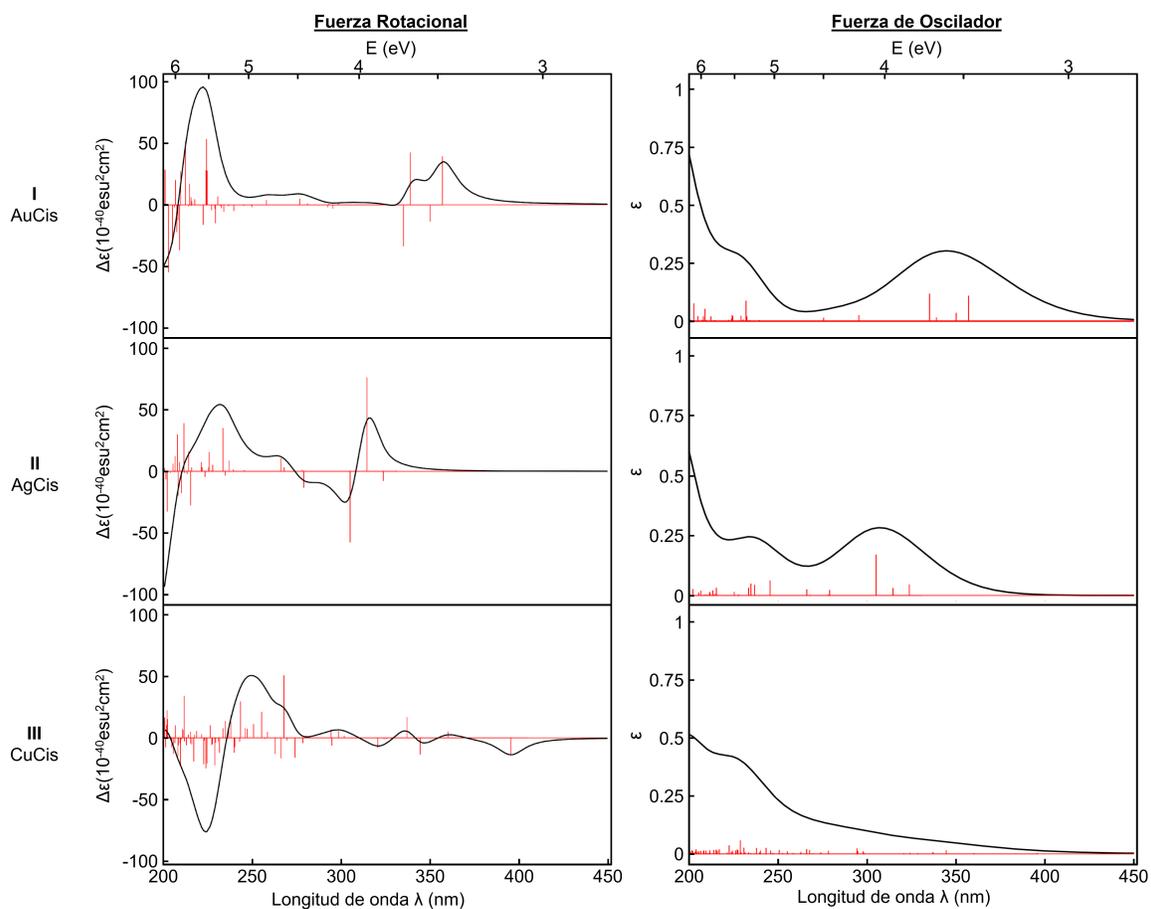


Figura 4.11: Espectros calculados de fuerza de rotación (izquierda) y fuerza de oscilador (derecha).

Por último, se muestra en la siguiente figura: **I)** los orbitales asociados a las transiciones electrónicas para cada modelo de grapa, **II)** la comparación entre los espectros de absorción calculados y experimentales y, **III)** la comparación entre los espectros de dicroísmo circular calculados y experimentales.

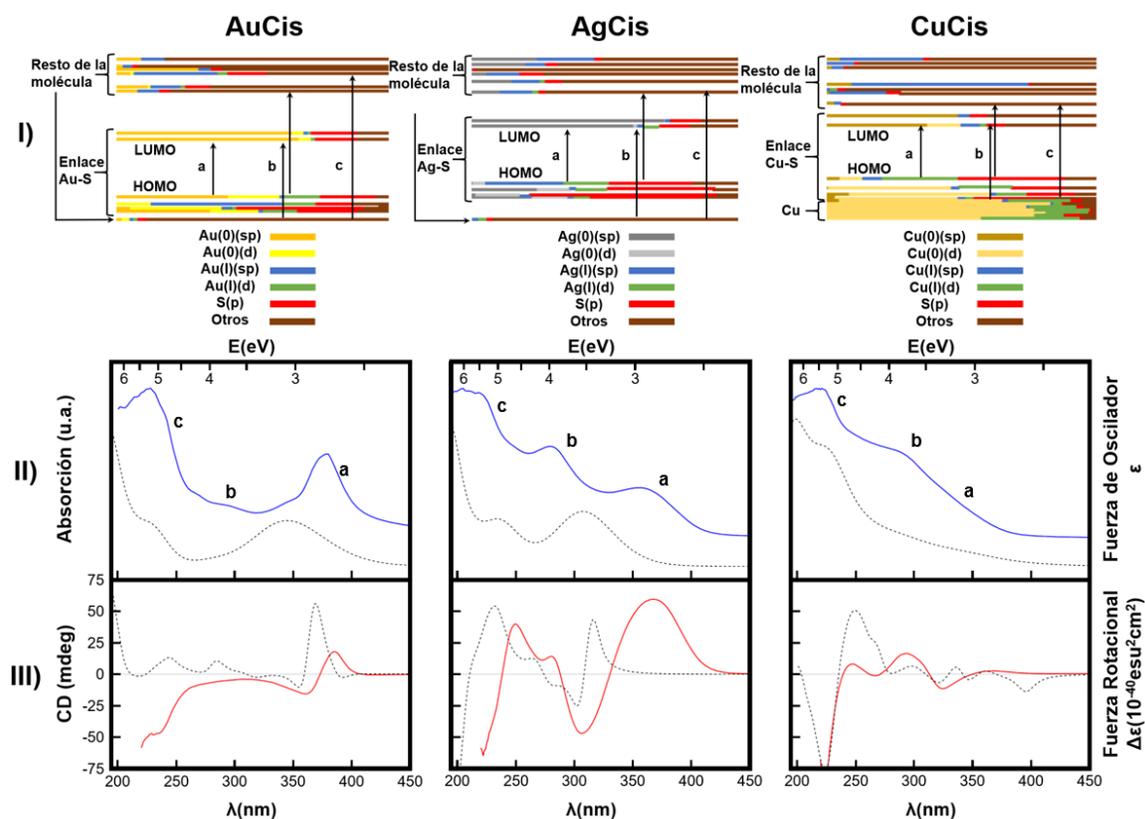


Figura 4.12: **I)** Transiciones electrónicas asociadas a cada orbital molecular. **II)** Superposición de los espectros de absorción calculados y experimentales, este último con un shift en la absorción. **III)** Superposición de los espectros de dicroísmo circular calculados y experimentales. Las unidades experimentales se encuentran del lado izquierdo mientras que las teóricas en el derecho.

Capítulo 5

Análisis y Discusión de Resultados

5.1. Resultados Experimentales

5.1.1. Síntesis de Nanopartículas Libres y Funcionalizadas

El método de síntesis asistida por microondas permitió la obtención de nanopartículas metálicas de oro, plata y cobre, que si bien no son muestras monodispersas, permiten asociar los fenómenos ópticos a un rango de tamaños y permiten hacer un modelo computacional adecuado, eficiente y relativamente rápido (pues se consideran menos átomos en el cálculo).

De los histogramas generados, dada una alícuota representativa de cada muestra, se puede observar que el rango de tamaños encontrados para cada nanosistema es distinto, siendo el oro el que presenta menos variación, seguido por la plata y finalmente el cobre, dando una primera indicación del distinto comportamiento de las sales metálicas al reducirse al elemento puro, del fenómeno de nucleación y crecimiento de la nanopartícula, así como la estabilidad del núcleo metálico al funcionalizarse con la cisteína.

Es decir que, dado que las condiciones de síntesis para cada caso fueron las mismas, existe un ligero efecto de los distintos precursores metálicos sobre el tamaño de la nanopartícula funcionalizada.

De las imágenes en las figuras 4.2, 4.3 y 4.4, se observa buena dispersión sin aglomeración de las nanopartículas funcionalizadas, indicando un buen balance en las concentraciones de los precursores metálicos y la cisteína.

5.1.2. Espectroscopía UV-Vis

Los espectros de absorción permiten obtener información sobre las transiciones electrónicas en un determinado sistema, en este caso nos permitieron también tener una indicación de la interacción de la nanopartícula con la cisteína, es decir, los orbitales moleculares que definen las transiciones electrónicas se vieron modificados tras la adsorción, lo que indica un cambio en las distancias entre los orbitales, lo que a su vez redefinirá las energías a las cuales hay transiciones electrónicas.

Del espectro de cisteína (figura 4.5) se puede apreciar que la región absorción de ambos enantiómeros es en el ultravioleta, así mismo, de los espectros, podemos indicar con certeza, que la cisteína, izquierda o derecha, tiene el mismo comportamiento óptico para luz linealmente polarizada.

Realizando entonces un análisis general de los espectros de absorción de las nanopartículas metálicas, antes y después de funcionalizarse (ver figuras 4.6 y 4.7) y considerando sólo el caso de los sistemas con *L-Cisteína* para la localización de los picos, observamos que:

I) Antes de la adsorción:

1. Ninguno de los espectros presenta señal en el visible, lo que es consistente con que la muestra es traslúcida.
2. El oro presenta una señal más intensa que la plata y el cobre.

3. Ninguno de los espectros muestra actividad óptica donde está reportado el pico de plasmón de resonancia superficial, lo que es una señal cualitativa del pequeño tamaño de las nanopartículas.
4. Las transiciones electrónicas para cada metal suceden a las siguientes longitudes de onda (energías):
 - AuNPs - 300 nm (4.13 eV)
 - AgNPs - 303 nm (4.09 eV)
 - CuNPs - 301 nm (4.11 eV)

De los últimos dos puntos se sugiere que, dada la pérdida del plasmón de superficie, el cual es característico de sistemas metálicos, el sistema tiene mas bien un *comportamiento molecular*, lo cual ha sido previamente reportado por Malola y colaboradores.^[80]

II) Después de la adsorción:

1. Si bien los espectros para los enantiómeros L- y D- no son tan similares para los sistemas de plata y cobre, como lo son en el caso del oro y la cisteína sola, la cantidad y localización de las señales son consistentes entre ellas, es decir, podemos nuevamente afirmar, que la absorción de luz linealmente polarizada en cada sistema, no distingue de si es izquierdo o derecho.
2. El espectro *Au-LCis* presenta señales en 268 nm (4.62 eV), 294 nm (4.21 eV) y 378 nm (3.28 eV).
3. El espectro *Ag-LCis*, presenta una división de la banda en 303 nm, señal que se recorre al azul, en 281 nm (4.41 eV), y al rojo en 360 nm (3.44 eV).
4. El espectro *Cu-LCis*, no presenta una señal tan clara como los casos anteriores para los picos a menor energía, sin embargo es claro que hay una región de absorción en el ultravioleta, con sólo una señal definida hacia los 300 nm.

5. En todos los casos se encuentran regiones de actividad óptica que difieren de los sistemas libres, es decir, los espectros de las nanopartículas metálicas y de la cisteína, difieren de aquel del sistema híbrido. Esto es una indicación del reordenamiento de los orbitales moleculares, lo cual cambia la brecha energética para que ocurra una transición electrónica entre ellos y, por ende, la longitud de onda a la que se dan las señales.

Discusión

Asociar cada una de estas señales, a una transición electrónica particular entre orbitales es complicado sólo de observar el espectro, pues estas dependen, entre otras cosas, de la composición química de los cúmulos tiolados.^[81]

Sin embargo, podemos hacer comparaciones con sistemas similares, por ejemplo, hay estudios previos^[82] donde reportan nanopartículas de oro tioladas con señal a 395 nm (3.13 eV), la cual es asociada a transiciones intrabanda de los orbitales superiores ocupados $6s$ a los desocupados $6s/6p$, mientras que las transiciones de mayor energía están asociadas a transiciones interbanda provenientes del enlace oro-azufre.

En estudios más recientes^[50] se realizan estudios en nanopartículas de oro con cisteína con señal en 355 nm (3.49 eV), asociando dicha respuesta a transiciones interbanda en los orbitales $5d^{10} - 6sp$ por la presencia de la molécula L-cisteína en la superficie de la nanopartícula, es decir, a esa energía, hay un fuerte intercambio electrónico entre los átomos metálicos superficiales y el azufre de la cisteína.

En el caso de las nanopartículas de plata-cisteína, Koktan y colaboradores^[45] reportan bandas de absorción a 270 y 350 nm (4.59 y 3.54 eV respectivamente) para distintas concentraciones, mientras que en estudios de Ma y colaboradores^[56] obtienen nanopartículas de plata con cisteína donde se muestra una banda intensa en 400 nm.

Tanto para el sistema de plata, como el de cobre, no hay estudios previos donde se aborden los tipos de transiciones electrónicas y a que orbitales están asociados.

5.1.3. Espectroscopía por Dicroísmo Circular

Dada la relación que existe entre la luz linealmente polarizada con la circularmente polarizada, las regiones de actividad óptica de absorción bajo la técnica de UV-Vis y de Dicroísmo Circular, deben también relacionarse.

I) Con esto en mente hagamos primero el análisis de la cisteína libre:

1. Observamos que al igual que el espectro de absorción (figura 4.5), la región de actividad óptica se da en el ultravioleta, con un máximo en 202 nm (6.13 eV).
2. La intensidad y posición de los picos para ambos enantiómeros es la misma, sin embargo, se observa que la diferencia de luz polarizada absorbida por cada enantiómero es de signo opuesto, es decir, existe un efecto sobre la señal obtenida en función de la quiralidad (izquierda o derecha) del nanosistema híbrido. A este comportamiento *simétrico* se le conoce como *efecto Cotton*.

II) Del espectro para cada núcleo metálico (figura 4.9), así como de sus respectivos factores de anisotropía, podemos obtener la siguiente información:

1. En ningún caso hay señal de dicroísmo circular para los espectros asociados a las nanopartículas metálicas libres, lo cual puede deberse a una de dos posibles razones:
 - i) Las nanopartículas no son quirales.
 - ii) Las nanopartículas son quirales y existen enantiómeros L- y D- en ambas proporciones, es decir, se tiene una mezcla racémica, resultando en una actividad óptica global nula.

2. En todos los sistemas *Met-Cis* se observa una simetría especular a lo largo del eje de las abscisas “CD=0”, indicando, al igual que en el caso de la cisteína, una preferencia sobre la absorción de determinada dirección de luz polarizada en función de la quiralidad del nanosistema híbrido. Así mismo, la actividad se da sólo en la región del ultravioleta.
3. Como se mencionó en el capítulo 1.7, no hay estudios previos de dicroísmo circular sobre el nanosistema *CuCis*, por lo que el espectro obtenido prueba la existencia de actividad quiróptica inducida a través de cisteína, en este sistema.
4. Del cálculo de factor de anisotropía, podemos asociar que el efecto de la quiralidad inducida al sistema por la cisteína es mayor para la plata (5.25×10^{-3} en $\lambda = 387$ nm), seguido del oro (1.23×10^{-3} en $\lambda = 242$ nm) y al final, el cobre (1.20×10^{-3} en $\lambda = 325$ nm)

Del último punto, la interpretación que se le puede dar al factor de anisotropía corresponde a una medida de la densidad de quiralidad del sistema, pues corresponde a un cociente de la intensidad de dicroísmo circular respecto a la absorción. No debe ser confundida con una cuantificación o medida de la quiralidad del sistema.

Para obtener esta información se puede hacer un cálculo de la *Medida de Hausdorff*, el cual no se realizó en esta investigación, pero se puede consultar sobre la motivación y uso, respectivamente, en las investigaciones de Buda^[83], Garzón^[37] y sus respectivos colaboradores.

Discusión

Espectros similares de dicroísmo circular han sido previamente obtenidos para los nanosistemas *AuCis*^[20] y *AgCis*,^[22;51] indicando que la hibridización y las transiciones electrónicas observadas en el espectro, pueden ser obtenidas mediante otras metodologías de síntesis.

Schaaff y colaboradores reportan que la contribuciones de la cisteína adsorbida en la nanopartícula son poco significativas a energías menores a los 4 eV ($\lambda < 310$ nm), pequeñas pero posiblemente observables en la región 4.2-5.5 eV ($295 \text{ nm} < \lambda < 225$ nm) y dominantes para energías mayores a 5.6 eV ($\lambda > 221$ nm),^[36] así mismo reportan que la actividad óptica de los aminoácidos se da en el ultravioleta, lo cual podemos confirmar para la cisteína de la figura 4.5, la región de actividad óptica del nanosistema híbrido corresponde a la interacción del metal con el ligando biomolecular, por lo que la región que debe contribuir más a las transiciones electrónicas, debe ser la interfaz del sistema.

Es complicado obtener información de las transiciones electrónicas que ocurren entre los orbitales moleculares sólo de los espectros experimentales, sin embargo, a continuación se da una posible explicación de las señales observadas en los espectros de dicroísmo circular para cada metal a partir de su comparación con los espectros de absorción *UV-Vis*:

AuCis

El espectro muestra la presencia de efecto Cotton en las bandas de L- y D- cisteína en las siguientes longitudes de onda (energías):

- A 237 nm (5.23 eV), positivo para el nanosistema AuLCis y negativo para el AuDCis, corrido a mayor energía de la banda de absorción a 268 nm (4.62 eV).
- A 361 nm (3.43 eV), positivo para el nanosistema AuLCis y negativo para el AuDCis, corrido a mayor energía de la banda de absorción a 378 nm (3.28 eV).
- A 385 nm (3.22 eV), negativo para el nanosistema AuLCis y positivo para el AuDCis, corrido a menor energía de la banda de absorción a 378 nm (3.28 eV).

El centro de la posición de este último doblete (positivo y negativo) coincide con el pico de absorción UV-Vis a 378 nm (ver figuras 4.7 y 4.9), lo cual ha sido previamente observado por Bergquist y colaboradores^[50] con un doblete a 355 nm (3.49 eV) y asociado a una transición interbanda $Au5d^{10} - 6sp$ debido a la presencia de la cisteína en la superficie de la nanopartícula.

AgCis

Del espectro de dicroísmo circular para el nanosistema AgCis se observa efecto Cotton en las siguientes longitudes de onda (energías):

- A 250 nm (4.95 eV), negativo para el nanosistema AgLCis y positivo para el AgDCis.
- A 281 nm (4.41 eV), negativo para el nanosistema AgLCis y positivo para el AgDCis, el cual coincide con la banda de absorción a 281 nm (4.41 eV).
- A 307 nm (4.03 eV), positivo para el nanosistema AgLCis y negativo para el AgDCis.
- A 368 nm (3.36 eV), negativo para el nanosistema AgLCis y positivo para el AgDCis, el cual puede asociarse con la banda de absorción a 360 nm (3.44 eV).

Como se mencionó, Li, Nan y sus respectivos colaboradores, reportaron espectros similares, sin embargo, la intensidad de los mismos es considerablemente menor, sugiriendo un patrón supramolecular originado por la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos amino y carboxilo a partir de la adsorción de la cisteína en la superficie de la nanopartícula de plata.^[22;51]

CuCis

Finalmente, el espectro correspondiente al nanosistema CuCis muestra señal de dicroísmo circular con efecto Cotton en las siguientes longitudes de onda:

- Bandas negativas para el nanosistema CuLCis y positivas para el CuDCis a 246 nm (5.04 eV), 293 nm (4.23 eV) y 366 nm (3.38 eV).
- Bandas positivas para el nanosistema CuLCis y negativas para el CuDCis a 265 nm (4.67 eV) y 324 nm (3.82 eV).

Lo que demuestra que este sistema también presenta actividad quiróptica, la cual no había sido previamente reportada.

Del análisis de las figuras 4.7 y 5.1, se observa que ninguno de los espectros de dicroísmo circular presenta señal más allá de los 500 nm, indicando que la respuesta proviene y es función de las propiedades electrónicas y geométricas inducidas por la interacción de cada metal con la cisteína, indicando que el núcleo metálico no es quiral.^[18]

De lo anterior se hipotetiza que, dado que las nanopartículas fueron sintetizadas siguiendo la misma metodología y el ligando fue añadido bajo las mismas condiciones, las diferencias tan notables de la respuesta quiróptica están determinadas por la interfaz formada por la nanopartícula metálica y la cisteína, así como que cada metal determina la configuración de interacción final a partir de su respectivo patrón de adsorción.

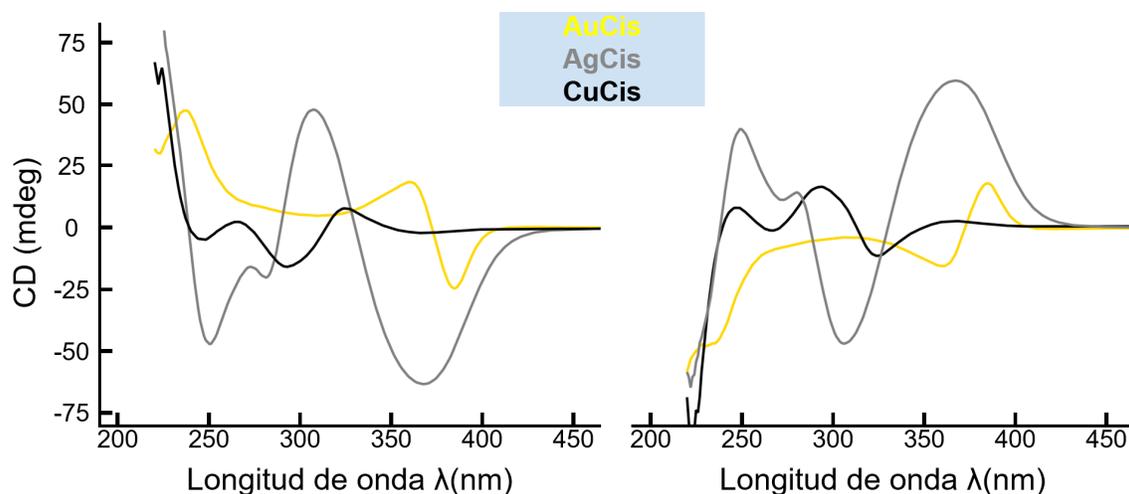


Figura 5.1: Se muestran en superposición, los espectros de dicroísmo circular para las nanopartículas metálicas con L-cisteína (izquierda) y D-cisteína (derecha).

Si bien los espectros son distintos a simple vista, podemos obtener la siguiente información de su comparación directa:

- La banda a mayor energía para los nanosistemas *AuCis*, *AgCis* y *CuCis* se encuentra a 237 nm, 250 nm y 246 nm respectivamente, y está asociada a transiciones electrónicas en la cisteína.
- El hecho de que ninguno de los espectros presente señal a energías menores a los 3.2 eV ($\lambda < 387$ nm) indica que no hay ensamblajes supramoleculares y las estructuras en el nanosistema permanecen dispersas.^[84]
- Existe también una tendencia a obtener una región de actividad quiróptica más reducida, pero con mayor cantidad de señales, al cambiar el metal de oro a plata y a cobre como se resume en la siguiente tabla.

Metal	Señal de Dicroísmo Circular (nm)						
AuLCis	237	-	-	-	-	361	385
AgLCis	250	281	-	307	-	368	-
CuLCis	246	265	293	-	324	366	-

Tabla 5.1: Resumen de señales encontradas para cada espectro

5.2. Origen y Mecanismos de Transferencia de Quiralidad

De acuerdo a los mecanismos de origen y transferencia de quiralidad mencionados al final de la sección 1.6, en la presente sección se realiza, con base en los resultados experimentales obtenidos, una discriminación y discusión sobre cómo es que cada una de las hipótesis podría o no explicar el origen de la quiralidad en los nanosistemas *AuCis*, *AgCis* y *CuCis* sintetizados y caracterizados en este proyecto. Es decir, de los resultados obtenidos experimentalmente para las nanopartículas metálicas libres y funcionalizadas se obtuvo información que permite, a partir de la interpretación de los espectros de absorción y dicroísmo circular, sugerir el origen de la quiralidad en los nanosistemas híbridos.

Partiendo de los espectros de dicroísmo circular obtenidos para las nanopartículas metálicas libres (rombos negros figura 4.9 izquierda), ninguno de los tres casos presenta señal de dicroísmo circular debido a uno de los siguientes motivos:

- Las nanopartículas metálicas son intrínsecamente aquirales.
- Se sintetizó una mezcla racémica de nanopartículas metálicas quirales.

Dada la distribución de tamaños obtenidos para cada nanosistema (ver figuras 4.2, 4.3 y 4.4), si bien es estrecha, sugiere que la probabilidad de obtener una estructura atómica quiral para cada tamaño en una mezcla racémica (tal que la señal de dicroísmo circular se anule) es muy baja.

Lo anterior indica que la hipótesis I no parece explicar de donde surge la quiralidad en nuestros nanosistemas híbridos, por lo que centraremos a continuación una potencial explicación basada las hipótesis II y III.

De acuerdo a la hipótesis III, la quiralidad del ligando es determinante en la quiralidad del nanosistema total, en este caso el ligando en interacción es la cisteína y sabemos que es quiral y por lo tanto, ópticamente activa, comprobado por los espectros de dicroísmo circular de la figura 4.8.

Como se menciona en la sección 5.1.3, la actividad óptica de la cisteína libre está restringida al ultravioleta, con un máximo en $\lambda=202$ nm para ambos enantiómeros, indicando que la aportación de la cisteína a los nanosistemas híbridos debe darse principalmente en esta región.

Sin embargo se observa en los espectros de dicroísmo circular para los sistemas metálicos funcionalizados (figura 4.9) señal distinta de cero en regiones hacia el visible (250 - 400 nm), lo que indica que la emergente actividad óptica para los sistemas híbridos no es exclusiva de la quiralidad del ligando, sino que la interacción de este, en nuestro caso la cisteína, con la superficie de las nanopartículas metálicas, es la que induce cambios en la estructura electrónica de las nanopartículas, generando la señal de dicroísmo circular característica de la región mencionada

Por otro lado, la hipótesis II basa el origen de la quiralidad en el arreglo atómico de adsorción del ligando en la superficie metálica, por lo que la interfaz *nanopartícula metálica - ligando* se vuelve la región de mayor interés.

De estudios previos^[18;20;50] se sabe que para este tipo de nanosistemas híbridos, la región de actividad óptica en el lejano ultravioleta es generalmente dominada por el ligando, mientras que hacia el visible y mayores longitudes de onda, la señal de dicroísmo circular es el resultado de transiciones electrónicas en el núcleo metálico, por lo que la región del espectro de 250 a 400 nm, puede ser asociada a actividad óptica relacionada con la interfaz del nanosistema híbrido.

Ahora, dado que no se pudo determinar la geometría estructural total de forma experimental, como se ha hecho por medio de cristalografía de rayos-X en investigaciones previas,^[49;85;86] definir mediante los resultados experimentales que mecanismo de transferencia de quiralidad es el responsable del origen mismo de la actividad óptica en los nanosistemas híbridos estudiados es complicado.

Por otro lado, estudios recientes por metodologías de rayos-X^[87] que han logrado determinar completamente la estructura de nanopartículas de oro tioladas, han concluido que en su sistema de estudio $Au_{133}(SR)_{52}$, la quiralidad puede ser originada de: 1) su núcleo quiral metálico; 2) el arreglo quiral formado en la interfaz orgánica/inorgánica; y/o 3) un ensamble quiral de los grupos funcionales orgánicos en la superficie de la estructura.

A pesar entonces, de que se tenga la estructura total determinada, definir el origen de la quiralidad en un nanosistema híbrido no es necesariamente tan claro y podría ser incluso, como otras investigaciones lo proponen,^[88;89] una combinación de distintos factores. En ese sentido la discusión de los cálculos teóricos que se presenta a continuación complementará y dará información al respecto.

5.3. Resultados Numérico-Computacionales

5.3.1. Espectros de Fuerza de Oscilador y Rotación

De las configuraciones de menor energía obtenidas para los nanosistemas *AuLCis-motif*, *AgLCis-motif* y *CuLCis-motif* se calcularon los espectros de fuerza de oscilador y rotación (figura 4.11 izquierda y derecha respectivamente), los espectros de fuerza de oscilador muestran bandas con centro en las siguientes longitudes de onda (energías):

- Para la grapa *AuLCis-motif*: en 230 nm (5.39 eV) y 345 nm (3.59 eV)
- Para la grapa *AgLCis-motif*: en 234 nm (5.29 eV) y 307 nm (4.03 eV)
- Para la grapa *CuLCis-motif*: en 227 nm (5.46 eV), 294 nm (4.21 eV) y 348 nm (3.56 eV), las últimas dos, muy débiles.

Si bien el objetivo no es la directa comparación de los espectros resultantes de los sistemas experimental y teórico, es evidente la similitud, por lo que a continuación se hace un análisis cualitativo de dichos resultados:

Para los tres casos existe un corrimiento al azul respecto a las bandas de absorción de los espectros experimentales, siendo la mayor para la banda del nanosistema *AgCis* a 307 nm, la cual está recorrida por 53 nm del espectro experimental (a 360 nm).

Esto puede deberse a las diferencias en el ambiente químico al cual se encuentra expuesto el sistema experimental respecto aquel al que se encuentra el teórico, que si bien se consideró agua como solvente, los demás átomos metálicos presentes en el sistema experimental podrían generar que las transiciones electrónicas sucedan a menores energías.

Al igual que los espectros de fuerza de oscilador, los espectros de fuerza de rotación muestran, en general, la misma forma, corrimiento y bandas que su contraparte experimental, sin embargo, se observa una contracción espectral para los casos de los nanosistemas *AuCis* y *AgCis*, contrario al caso de *CuCis*, el cual se extiende respecto al experimental (figura 4.12 **III**).

El nanosistema *AuCis-motif* se diferencia del experimental principalmente en 2 sentidos:

- Existe una atenuación y formación de un doblete de la banda experimental a 237 nm, la cual se encuentra posicionada en el espectro teórico a 258 nm y 276 nm.
- La banda experimental a 385 nm se encuentra invertida en el espectro experimental a 358 nm.

Del espectro correspondiente al nanosistema *AgCis-motif*, se observa una pequeña señal extra respecto al sistema experimental a los 258 nm en forma de un hombro.

Finalmente, en el caso del nanosistema *CuCis-motif*, el espectro muestra algunas discrepancias más respecto a los asociados al oro y a la plata al compararlos con sus respectivos espectros experimentales, mostrando más transiciones electrónicas que ningún otro espectro, teórico o experimental.

En general, de los espectros obtenidos de los cálculos para el modelo de grapas se obtienen resultados que apoyan la hipótesis de que los efectos de absorción de luz lineal y circularmente polarizada se dan en la interfaz de la nanopartícula y la cisteína, abriendo la puerta al estudio de las transiciones electrónicas que surgen entre los átomos de la superficie de la nanopartícula y la cisteína, donde serán los orbitales del azufre los que, por ser el átomo con afinidad por el metal, estén más presentes en dichas transiciones.

5.3.2. Estructura Electrónica por Interpretación de Espectros

De la figura 4.12 observamos la comparación de los espectros calculados y experimentales para la absorción **II** y el dicroísmo circular **III**.

De la figura 4.12-**II** observamos que el número de señales correspondientes a la absorción (teórica y experimental) es el mismo, además de un corrimiento al rojo para los tres espectros. En el caso del espectro de dicroísmo circular (figura 4.12-**III**), se observa que el comportamiento del espectro teórico corresponde en intensidad y forma al generado de forma experimental.

Ahora, en la figura 4.12-**I** están representados las transiciones electrónicas entre distintos orbitales cada uno con un color, la densidad del color en cada barra, indica la contribución de dichos orbitales a cada transición.

Para cada sistema, la transición de menor energía, la “a”, corresponde a la primer transición electrónica en los espectros de absorción, es decir, la brecha energética entre el orbital molecular ocupado de más alta energía y el orbital molecular no ocupado de más baja energía (*HOMO-LUMO gap por sus siglas en inglés*).¹

Las transiciones “b” están asociadas a excitaciones de los orbitales del metal y los orbitales *p* del azufre hacia el resto de la molécula, es decir, para todos los nanosistemas, la segunda transición en el espectro de absorción está asociada de forma predominante a la cisteína.

¹*Highest Occupied Molecular Orbital (HOMO)* y *Lowest Unoccupied Molecular Orbital LUMO*, un análogo a las bandas de valencia y conducción respectivamente, pero para sistemas cuánticos.

Por último, las transiciones “c” se relacionan a excitaciones correspondientes a las bandas espectrales de mayor energía, donde el sistema *CuCis-motif* muestra una gran densidad de estados ocupados, lo que puede reflejarse en el espectro de absorción en el ensanchamiento y baja definición de las bandas de absorción.

5.4. Análisis General

5.4.1. Espectroscopía Experimental apoyada por Cálculos de Primeros Principios

Si bien los procesos de síntesis son complicados, pues implican pesar una cantidad del orden de 10^{-4} gramos para cada precursor, los espectros obtenidos son muestra de que la síntesis se llevó a cabo de forma adecuada, no sólo debido al pequeño tamaño de las nanopartículas, el cual resulta evidente de la pérdida del plasmón de resonancia superficial en los espectros de absorción de las nanopartículas metálicas libres (figura 4.6), sino también de la reproducibilidad de los espectros de los nanosistemas híbridos, en cuanto a posición e intensidad, obtenidos de la espectroscopía de absorción UV-Vis.

De la misma forma, podemos referirnos a la similitud en cuanto a la posición e intensidad de los espectros de dicroísmo circular, considerando claro, que estos están reflejados en el eje x por la naturaleza misma de su característica quiral.

De los espectros de absorción, al presentar actividad óptica en la región del UV, se le asocian transiciones electrónicas entre los orbitales del núcleo metálico, y entre los orbitales de la cisteína y la nanopartícula,^[18;20;36;82] siendo de particular interés la transición que sucede a menor energía: 3.28 eV, 3.44 eV y 3.45 eV para *AuCis*, *AgCis* y *CuCis* respectivamente, pues corresponden a la brecha *HOMO-LUMO*.

En el caso del nanosistema *AuCis*, las transiciones *HOMO-LUMO* son dominadas por los orbitales atómicos *sp* asociados al átomo *Au* (0), lo cual explica el resultado experimental en el cual se observa actividad óptica más cercana a la región visible.

Por el contrario, para el nanosistema *AgCis* la primer excitación se asocia a los átomos de plata en la superficie de la nanopartícula, transiciones asociadas a los orbitales *sp* y *d* del átomo *Ag* (1), sugiriendo que en este caso, la interfaz juega un papel más importante en la transición *HOMO-LUMO*.

Finalmente, el nanosistema *CuCis*, muestra un comportamiento similar al del *AgCis*, pero con menor intensidad.

En el caso de la segunda excitación energética, 4.62 eV, 4.41 eV y 3.22 eV para el *AuCis*, *AgCis* y *CuCis* respectivamente, se asocian transiciones con mayor aportación de orbitales moleculares de la cisteína que, a diferencia de la primer excitación son distintos al orbital *p* del azufre, indicando que las transiciones de mayor energía en los sistemas híbridos son predominantemente originados por la presencia de la cisteína en la nanopartícula.

Ahora, los espectros de dicroísmo circular nos dan información adicional de las transiciones electrónicas en cada sistema. El hecho de tener señal en longitudes de onda que corresponden a intercambio de carga del ligando al metal, evidencia la presencia e intercambio de información quiral en la interfaz nanopartícula-cisteína, en particular a través del azufre.^[20]

Las diferencias observadas para cada sistema pueden atribuirse principalmente a las distintas densidades de estados electrónicos, los cuales están asociados a la naturaleza misma de la estructura electrónica de cada átomo metálico, por ejemplo, los efectos relativistas a las que están sujetos los electrones cercanos al núcleo atómico.

Quizá el caso más interesante debido a su gran factor de anisotropía y rango de señal $CD \neq 0$, el nanosistema *AgCis* destaca en esos sentidos por la predominante interacción de los orbitales atómicos p del azufre en las transiciones asociadas a los orbitales moleculares ocupados de mayor energía, lo cual sugiere mayor afinidad entre los átomos de la nanopartícula metálica en interacción con los azufres de la cisteína.

Capítulo 6

Conclusiones

Este proyecto se constituyó a partir de distintos procesos, desde la síntesis y caracterización de los nanosistemas híbridos hasta la construcción de un modelo teórico acompañado por cálculos de primeros principios, de donde se destacan los siguientes puntos:

La síntesis realizada, a partir de la metodología de hidrólisis asistida por microondas, si bien simple, permitió generar un sistema coloidal aquiral de nanopartículas de pequeño tamaño, disperso y distribución angosta (comprobado por microscopía electrónica de transmisión), el cual al funcionalizarse, mantuvo dichas características.

Esto permitió la caracterización experimental de un sistema híbrido quiral, así como la construcción de un modelo computacional eficiente (en cuanto a tiempos de cómputo) que dió información sobre los procesos experimentales ocurridos en la interfaz de *Met-Cis*, determinando transiciones electrónicas importantes en cada nanosistema.

De la espectroscopía UV-Vis y de dicroísmo circular se obtuvo información de los sistemas libres y conjugados, en particular de los cambios generados en los orbitales moleculares a partir de las distintas señales asociadas a transiciones electrónicas, así como la interacción con la cisteína a través del número, localización e intensidad de las señales.

Dada la quiralidad del sistema híbrido, la espectroscopía de dicroísmo circular fue una herramienta fundamental en el estudio de estos sistemas, de la cual se obtuvo mayor información sobre las transiciones electrónicas de cada sistema.

De esta información se construyó un sistema teórico que modeló la información que se asocia a efectos de transferencia electrónica en la interfaz del sistema completo, permitiendo obtener explicación, a nivel de las contribuciones orbitales de los átomos involucrados en las transiciones, de las señales observadas en los espectros de absorción y dicroísmo circular.

La herramienta computacional implementada mostró que se puede obtener información útil a partir de un sistema que modele la zona de mayor interés experimental (la interfaz *Met-Cis*), sin la necesidad de analizar sistemas mucho más pesados como una nanopartícula completa rodeada de ligandos.

En general, la quiralidad de los sistemas híbridos, para los tres casos estudiados (*AuCis*, *AgCis* y *CuCis*), se puede asociar a la mezcla de los orbitales de la cisteína con los de los átomos en la superficie de las nanopartículas, en mayor o menor presencia, debido a interacciones con el azufre del ligando.

La huella digital generada por los espectros ópticos y quirópticos de nanopartículas de oro, plata y, por primera vez cobre, fueron medidos, caracterizados y comparados con un modelo computacional, de estos resultados se puede sugerir que las propiedades electrónicas y estructurales, así como la naturaleza de la transferencia electrónica de distintos metales a la molécula tiolada, determina la interacción *metal-ligando*, siendo la adsorción del ligando en la superficie de la nanopartícula la que determina las modificaciones estructurales a nivel atómico, así como las modificaciones electrónicas de cada nanopartícula metálica.

Estas modificaciones provocan cambios en los orbitales moleculares, mezclándolos con los de los átomos de la superficie de la nanopartícula, lo que resulta en una hibridización y el comportamiento quiral característico de cada nanosistema.

Los sistemas *nanopartícula metálica - ligando biomolecular quiral* como los que se estudiaron en este trabajo son de gran relevancia en la actualidad. La forma en la cual se transfiere la información quiral es un proceso complejo, pero investigaciones como esta, donde se conjugan metodologías experimentales con teóricas, generan conocimiento de frontera.

Este trabajo es parte de la investigación que se sigue desarrollando para obtener más información de los fenómenos de transferencia y origen de la quiralidad a la nanoescala, sin embargo, aun hay mucho que estudiar, desde el punto de vista teórico y, por supuesto, experimental.

Bibliografía

- [1] Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2017). *Nanoparticles: Properties, applications and toxicities*. Arabian Journal Of Chemistry. doi: 10.1016/j.arabjc.2017.05.011
- [2] Mackerle, J. (2005). *Nanomaterials, nanomechanics and finite elements: a bibliography (1994–2004)*. Modelling And Simulation In Materials Science And Engineering, 13(1), 123-158. doi: 10.1088/0965-0393/13/1/008
- [3] Anu Mary Ealia, S., & Saravanakumar, M. (2017). *A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application*. IOP Conference Series: Materials Science And Engineering, 263, 032019. doi: 10.1088/1757-899x/263/3/032019
- [4] Sinden, R. (1994). *DNA Structure and Function* (1st ed., p. 25). Gulf Professional.
- [5] Thakkar, K., Mhatre, S., & Parikh, R. (2010). *Biological synthesis of metallic nanoparticles*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology And Medicine, 6(2), 257-262. doi: 10.1016/j.nano.2009.07.002
- [6] Mody, V., Siwale, R., Singh, A., & Mody, H. (2010). *Introduction to metallic nanoparticles*. Journal Of Pharmacy And Bioallied Sciences, 2(4), 282. doi: 10.4103/0975-7406.72127
- [7] Gautier, C., & Bürgi, T. (2009). *Chiral Gold Nanoparticles*. Chemphyschem, 10(3), 483-492. doi: 10.1002/cphc.200800709

- [8] Ryu, C., Joo, S., & Kim, H. (2016). *Two-step flash light sintering of copper nanoparticle ink to remove substrate warping*. Applied Surface Science, 384, 182-191. doi: 10.1016/j.apsusc.2016.05.025
- [9] Hulteen, J., Treichel, D., Smith, M., Duval, M., Jensen, T., & Van Duyne, R. (1999). *Nanosphere Lithography: Size-Tunable Silver Nanoparticle and Surface Cluster Arrays*. The Journal Of Physical Chemistry B, 103(19), 3854-3863. doi: 10.1021/jp9904771
- [10] Osuntokun, J., & Ajibade, P. (2016). *Morphology and thermal studies of zinc sulfide and cadmium sulfide nanoparticles in polyvinyl alcohol matrix*. Physica B: Condensed Matter, 496, 106-112. doi: 10.1016/j.physb.2016.05.024
- [11] Morones, J., Elechiguerra, J., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J., Ramírez, J., & Yacaman, M. (2005). *The bactericidal effect of silver nanoparticles*. Nanotechnology, 16(10), 2346-2353. doi: 10.1088/0957-4484/16/10/059
- [12] Alex, S., & Tiwari, A. (2015). *Functionalized Gold Nanoparticles: Synthesis, Properties and Applications—A Review*. Journal Of Nanoscience And Nanotechnology, 15(3), 1869-1894. doi: 10.1166/jnn.2015.9718
- [13] Crespo, P., Litrán, R., Rojas, T., Multigner, M., de la Fuente, J., & Sánchez-López, J. et al. (2004). *Permanent Magnetism, Magnetic Anisotropy, and Hysteresis of Thiol-Capped Gold Nanoparticles*. Physical Review Letters, 93(8). doi: 10.1103/physrevlett.93.087204
- [14] Aslan, K., Zhang, J., Lakowicz, J., & Geddes, C. (2004). *Saccharide Sensing Using Gold and Silver Nanoparticles-A Review*. Journal Of Fluorescence, 14(4), 391-400. doi: 10.1023/b:joff.0000031820.17358.28
- [15] Azcárate, J., Corthey, G., Pensa, E., Vericat, C., Fonticelli, M., Salvarezza, R., & Carro, P. (2013). *Understanding the Surface Chemistry of Thiolate-Protected Metallic Nanoparticles*. The Journal Of Physical Chemistry Letters, 4(18), 3127-3138. doi: 10.1021/jz401526y

- [16] Sperling, R., & Parak, W. (2010). *Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles*. Philosophical Transactions Of The Royal Society A: Mathematical, Physical And Engineering Sciences, 368(1915), 1333-1383. doi: 10.1098/rsta.2009.0273
- [17] Gao, J., Huang, X., Liu, H., Zan, F., & Ren, J. (2012). *Colloidal Stability of Gold Nanoparticles Modified with Thiol Compounds: Bioconjugation and Application in Cancer Cell Imaging*. Langmuir, 28(9), 4464-4471. doi: 10.1021/la204289k
- [18] Yao, H. (2016). *Chiral ligand-protected gold nanoclusters: Considering the optical activity from a viewpoint of ligand dissymmetric field*. Progress In Natural Science: Materials International, 26(5), 428-439. doi: 10.1016/j.pnsc.2016.08.006
- [19] Shukla, N., Bartel, M., & Gellman, A. (2010). *Enantioselective Separation on Chiral Au Nanoparticles*. Journal Of The American Chemical Society, 132(25), 8575-8580. doi: 10.1021/ja908219h
- [20] Russier-Antoine, I., Bertorelle, F., Kulesza, A., Soleilhac, A., Bensalah-Ledoux, A., & Guy, S. et al. (2016). *Chiral supramolecular gold-cysteine nanoparticles: Chiroptical and nonlinear optical properties*. Progress In Natural Science: Materials International, 26(5), 455-460. doi: 10.1016/j.pnsc.2016.08.008
- [21] Burns, A., Olszowy, P., & Ciborowski, P. (2016). *Biomolecules. Proteomic Profiling And Analytical Chemistry*, 7-24. doi: 10.1016/b978-0-444-63688-1.00002-1
- [22] Nan, J., & Yan, X. (2010). *A Circular Dichroism Probe for L-Cysteine Based on the Self-Assembly of Chiral Complex Nanoparticles*. Chemistry - A European Journal, 16(2), 423-427. doi: 10.1002/chem.200902479
- [23] Puigserver, P. (2018). *Signaling Transduction and Metabolomics*. Hematology, 68-78. doi: 10.1016/b978-0-323-35762-3.00007-x

- [24] Flack, H. (2009). *Louis Pasteur's discovery of molecular chirality and spontaneous resolution in 1848, together with a complete review of his crystallographic and chemical work*. Acta Crystallographica Section A Foundations Of Crystallography, 65(5), 371-389. doi: 10.1107/s0108767309024088
- [25] Gal, J. (2010). *Louis Pasteur, language, and molecular chirality. I. Background and Dissymmetry*. Chirality, 23(1), 1-16. doi: 10.1002/chir.20866
- [26] Bentley, R. (2010). *Chiral: A confusing etymology*. Chirality, 22(1), 1-2. doi: 10.1002/chir.20699
- [27] Mislow, K. (2007). *Molecular Chirality*. Topics In Stereochemistry, 1-82. doi: 10.1002/9780470147313.ch1
- [28] Cahn, R., Ingold, C., & Prelog, V. (1966). *Specification of Molecular Chirality*. Angewandte Chemie International Edition In English, 5(4), 385-415. doi: 10.1002/anie.196603851
- [29] Bentley, R. (2006). *The Nose as a Stereochemist. Enantiomers and Odor*. Chemical Reviews, 106(9), 4099-4112. doi: 10.1021/cr050049t
- [30] Nguyen, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2006). *Chiral drugs: an overview*. International journal of biomedical science : IJBS, 2(2), 85-100.
- [31] Lopes, M., Jardim, A., & Filho, R. (2012). *Poly (Lactic Acid) Production for Tissue Engineering Applications*. Procedia Engineering, 42, 1402-1413. doi: 10.1016/j.proeng.2012.07.534
- [32] Gal, J. (2012). *The Discovery of Stereoselectivity at Biological Receptors: Arnaldo Piutti and the Taste of the Asparagine Enantiomers-History and Analysis on the 125th Anniversary*. Chirality, 24(12), 959-976. doi: 10.1002/chir.22071

- [33] Jafarpour, F., Biancalani, T., & Goldenfeld, N. (2017). *Noise-induced symmetry breaking far from equilibrium and the emergence of biological homochirality*. Physical Review E, 95(3). doi: 10.1103/physreve.95.032407
- [34] M. D. Hanwell, D. E. Curtis, D. C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek and G. R. Hutchison; *Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform*. Version 1.1.1. Journal of Cheminformatics 2012, 4:17.
- [35] Liu, H., Ye, Y., Chen, J., Lin, D., Jiang, Z., & Liu, Z. et al. (2012). *In Situ Photoreduced Silver Nanoparticles on Cysteine: An Insight into the Origin of Chirality*. Chemistry - A European Journal, 18(26), 8037-8041. doi: 10.1002/chem.201200397
- [36] Schaaff, T., & Whetten, R. (2000). *Giant Gold-Glutathione Cluster Compounds: Intense Optical Activity in Metal-Based Transitions*. The Journal Of Physical Chemistry B, 104(12), 2630-2641. doi: 10.1021/jp993691y
- [37] Garzón, I., Reyes-Nava, J., Rodríguez-Hernández, J., Sigal, I., Beltrán, M., & Michaelian, K. (2002). *Chirality in bare and passivated gold nanoclusters*. Physical Review B, 66(7). doi: 10.1103/physrevb.66.073403
- [38] Tamura, M., & Fujihara, H. (2003). *Chiral Bisphosphine BINAP-Stabilized Gold and Palladium Nanoparticles with Small Size and Their Palladium Nanoparticle-Catalyzed Asymmetric Reaction*. Journal Of The American Chemical Society, 125(51), 15742-15743. doi: 10.1021/ja0369055
- [39] Garzón, I., Michaelian, K., Beltrán, M., Posada-Amarillas, A., Ordejón, P., & Artacho, E. et al. (1998). *Lowest Energy Structures of Gold Nanoclusters*. Physical Review Letters, 81(8), 1600-1603. doi: 10.1103/physrevlett.81.1600

- [40] Michaelian, K., Rendón, N., & Garzón, I. (1999). *Structure and energetics of Ni, Ag, and Au nanoclusters*. Physical Review B, 60(3), 2000-2010. doi: 10.1103/physrevb.60.2000
- [41] Provorse, M., & Aikens, C. (2010). *Origin of Intense Chiroptical Effects in Undecagold Subnanometer Particles*. Journal Of The American Chemical Society, 132(4), 1302-1310. doi: 10.1021/ja906884m
- [42] Yanagimoto, Y., Negishi, Y., Fujihara, H., & Tsukuda, T. (2006). *Chiroptical Activity of BINAP-Stabilized Undecagold Clusters*. The Journal Of Physical Chemistry B, 110(24), 11611-11614. doi: 10.1021/jp061670f
- [43] Goldsmith, M., George, C., Zuber, G., Naaman, R., Waldeck, D., Wipf, P., & Beratan, D. (2006). *The chiroptical signature of achiral metal clusters induced by dissymmetric adsorbates*. Phys. Chem. Chem. Phys., 8(1), 63-67. doi: 10.1039/b511563a
- [44] Zhu, M., Qian, H., Meng, X., Jin, S., Wu, Z., & Jin, R. (2011). *Chiral Au₂₅ Nanospheres and Nanorods: Synthesis and Insight into the Origin of Chirality*. Nano Letters, 11(9), 3963-3969. doi: 10.1021/nl202288j
- [45] Koktan, J., Sedláčková, H., Osante, I., Cativiela, C., Díaz Díaz, D., & Řezanka, P. (2015). *Chiral supramolecular nanoparticles: The study of chiral surface modification of silver nanoparticles by cysteine and its derivatives*. Colloids And Surfaces A: Physicochemical And Engineering Aspects, 470, 142-148. doi: 10.1016/j.colsurfa.2015.01.079
- [46] Noguez, C., & Garzón, I. (2009). *Optically active metal nanoparticles*. Chemical Society Reviews, 38(3), 757. doi: 10.1039/b800404h
- [47] Zeng, C., & Jin, R. (2017). *Chiral Gold Nanoclusters: Atomic Level Origins of Chirality*. Chemistry - An Asian Journal, 12(15), 1839-1850. doi: 10.1002/asia.201700023

- [48] Qian, H., Zhu, M., Wu, Z., & Jin, R. (2012). *Quantum Sized Gold Nanoclusters with Atomic Precision*. *Accounts Of Chemical Research*, 45(9), 1470-1479. doi: 10.1021/ar200331z
- [49] Zeng, C., Li, T., Das, A., Rosi, N., & Jin, R. (2013). *Chiral Structure of Thiolate-Protected 28-Gold-Atom Nanocluster Determined by X-ray Crystallography*. *Journal Of The American Chemical Society*, 135(27), 10011-10013. doi: 10.1021/ja404058q
- [50] Bergquist, L., & Hegmann, T. (2017). *Chiral Amplification by L-Cysteine-Capped Gold Nanoparticles in Lyotropic Chromonic Liquid Crystals*. *Chemnanomat*, 3(12), 863-868. doi: 10.1002/cnma.201700286
- [51] Li, T., Park, H., Lee, H., & Choi, S. (2004). *Circular dichroism study of chiral biomolecules conjugated with silver nanoparticles*. *Nanotechnology*, 15(10), S660-S663. doi: 10.1088/0957-4484/15/10/026
- [52] Řezanka, P., Záruba, K., & Král, V. (2010). *Supramolecular chirality of cysteine modified silver nanoparticles*. *Colloids And Surfaces A: Physicochemical And Engineering Aspects*, 374(1-3), 77-83. doi: 10.1016/j.colsurfa.2010.11.015
- [53] Huang, H., Ni, X., Loy, G., Chew, C., Tan, K., & Loh, F. et al. (1996). *Photochemical Formation of Silver Nanoparticles in Poly(N-vinylpyrrolidone)*. *Langmuir*, 12(4), 909-912. doi: 10.1021/la950435d
- [54] Darroudi, M., Khorsand Zak, A., Muhamad, M., Huang, N., & Hakimi, M. (2012). *Green synthesis of colloidal silver nanoparticles by sonochemical method*. *Materials Letters*, 66(1), 117-120. doi: 10.1016/j.matlet.2011.08.016
- [55] Anu Mary Ealia, S., & Saravanakumar, M. (2017). *A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application*. *IOP Conference Series: Materials Science And Engineering*, 263, 032019. doi: 10.1088/1757-899x/263/3/032019

- [56] Ma, Y., Pang, Y., Liu, F., Xu, H., & Shen, X. (2016). *Microwave-assisted ultrafast synthesis of silver nanoparticles for detection of Hg^{2+}* . *Spectrochimica Acta Part A: Molecular And Biomolecular Spectroscopy*, 153, 206-211. doi: 10.1016/j.saa.2015.08.004
- [57] Tsuji, M., Hashimoto, M., Nishizawa, Y., Kubokawa, M., & Tsuji, T. (2005). *Microwave-Assisted Synthesis of Metallic Nanostructures in Solution*. *Chemistry - A European Journal*, 11(2), 440-452. doi: 10.1002/chem.200400417
- [58] Zhao, X., Xia, Y., Li, Q., Ma, X., Quan, F., Geng, C., & Han, Z. (2014). *Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles using sodium alginate and their antibacterial activity*. *Colloids And Surfaces A: Physicochemical And Engineering Aspects*, 444, 180-188. doi: 10.1016/j.colsurfa.2013.12.008
- [59] Hu, Y., Liu, Y., Qian, H., Li, Z., & Chen, J. (2010). *Coating Colloidal Carbon Spheres with CdS Nanoparticles: Microwave-Assisted Synthesis and Enhanced Photocatalytic Activity*. *Langmuir*, 26(23), 18570-18575. doi: 10.1021/la103191y
- [60] Liu, S., Lu, F., & Zhu, J. (2011). *Highly fluorescent Ag nanoclusters: microwave-assisted green synthesis and Cr^{3+} sensing*. *Chemical Communications*, 47(9), 2661-2663. doi: 10.1039/c0cc04276e
- [61] Mello, P., Barin, J., & Guarnieri, R. (2014). *Microwave Heating. Microwave-Assisted Sample Preparation For Trace Element Analysis*, 59-75. doi: 10.1016/b978-0-444-59420-4.00002-7
- [62] Williams, D., & Carter, C. (1996). *The transmission electron microscope*. (pp. 11-14). Springer.
- [63] Egerton, R. (2014). *Choice of operating voltage for a transmission electron microscope*. *Ultramicroscopy*, 145, 85-93. doi: 10.1016/j.ultramic.2013.10.019

- [64] *Spectroscopy in a Suitcase students' resource: UV / Visible spectroscopy- Learn Chemistry.* (2019). Retrieved from <http://www.rsc.org/learn-chemistry/resource/res00000282/spectroscopy-in-a-suitcase-uv-vis-student-resources>
- [65] Hurlburt, N. (2019). *Circular Dichroism.* Retrieved from [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Circular_Dichroism](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Circular_Dichroism)
- [66] Mata Martínez, E. (2013). *Métodos Físico-Químicos en Biotecnología* [Ebook]. Instituto de Biotecnología. Retrieved from <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/dicroismocircular2013.pdf>
- [67] Hidalgo, F., Sánchez-Castillo, A., & Noguez, C. (2009). *Efficient first-principles method for calculating the circular dichroism of nanostructures.* Physical Review B, 79(7). doi: 10.1103/physrevb.79.075438
- [68] Demtröder, W. (2003). *Laser spectroscopy: basic concepts and instrumentation* (3rd ed., p. 41). Springer.
- [69] Cohen-Tannoudji, C., Diu, B., & Laloe, F. (2005). *Quantum mechanics.* New York: Wiley.
- [70] Tsukuda, T & Häkkinen, H. (2015). *Protected Metal Clusters: From Fundamentals to Applications* (Volume 9). Elsevier.
- [71] M. A. L. Marques et al. (eds.), *Fundamentals of Time-Dependent Density Functional Theory*, Lecture Notes in Physics 837, DOI: 10.1007/978-3-642-23518-4_4, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012

- [72] Autschbach, J., Ziegler, T., van Gisbergen, S., & Baerends, E. (2002). *Chiroptical properties from time-dependent density functional theory. I. Circular dichroism spectra of organic molecules*. The Journal Of Chemical Physics, 116(16), 6930-6940. doi: 10.1063/1.1436466
- [73] Autschbach, J., & Ziegler, T. (2002). *Calculating molecular electric and magnetic properties from time-dependent density functional response theory*. The Journal Of Chemical Physics, 116(3), 891-896. doi: 10.1063/1.1420401
- [74] Baseggio, O., Toffoli, D., Fronzoni, G., Stener, M., Sementa, L., & Fortunelli, A. (2016). *Extension of the Time-Dependent Density Functional Complex Polarizability Algorithm to Circular Dichroism: Implementation and Applications to Ag₈ and Au₃₈(SC₂H₄C₆H₅)₂₄*. The Journal Of Physical Chemistry C, 120(42), 24335-24345. doi: 10.1021/acs.jpcc.6b07323
- [75] Pelayo, J., Valencia, I., García, A., Chang, L., López, M., & Toffoli, D. et al. (2018). *Chirality in bare and ligand-protected metal nanoclusters*. Advances In Physics: X, 3(1), 1509727. doi: 10.1080/23746149.2018.1509727
- [76] Baseggio, O., Fronzoni, G., & Stener, M. (2015). *A new time dependent density functional algorithm for large systems and plasmons in metal clusters*. The Journal Of Chemical Physics, 143(2), 024106. doi: 10.1063/1.4923368
- [77] Rodríguez-Zamora, P., Salazar-Angeles, B., Buendía, F., Cordero-Silis, C., Fabila, J., & Bazán-Díaz, L. et al. (2019). *Revisiting the conformational adsorption of L- and D-cysteine on Au nanoparticles by Raman spectroscopy*. Journal Of Raman Spectroscopy. doi: 10.1002/jrs.5782
- [78] Isab, A., & Wazeer, M. (2007). *Synthesis and characterization of thiolate-Ag(I) complexes by solid-state and solution NMR and their antimicrobial activity*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular And Biomolecular Spectroscopy, 66(2), 364-370. doi: 10.1016/j.saa.2006.03.007

- [79] Gaussian 09, Revision B.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2010.
- [80] Malola, S., Kaappa, S., & Häkkinen, H. (2019). *Role of Nanocrystal Symmetry in the Crossover Region from Molecular to Metallic Gold Nanoparticles*. The Journal Of Physical Chemistry C, 123(33), 20655-20663. doi: 10.1021/acs.jpcc.9b05863
- [81] Negishi, Y., Nobusada, K., & Tsukuda, T. (2005). *Glutathione-Protected Gold Clusters Revisited: Bridging the Gap between Gold(I)-Thiolate Complexes and Thiolate-Protected Gold Nanocrystals*. Journal Of The American Chemical Society, 127(14), 5261-5270. doi: 10.1021/ja042218h
- [82] Nobusada, K. (2004). *Electronic Structure and Photochemical Properties of a Monolayer-Protected Gold Cluster*. The Journal Of Physical Chemistry B, 108(32), 11904-11908. doi: 10.1021/jp049879l
- [83] Buda, A., & Mislaw, K. (1992). *A Hausdorff chirality measure*. Journal Of The American Chemical Society, 114(15), 6006-6012. doi: 10.1021/ja00041a016

- [84] Qi, H., & Hegmann, T. (2008). *Postsynthesis Racemization and Place Exchange Reactions. Another Step To Unravel the Origin of Chirality for Chiral Ligand-Capped Gold Nanoparticles*. Journal Of The American Chemical Society, 130(43), 14201-14206. doi: 10.1021/ja8032444
- [85] Qian, H., Eckenhoff, W., Zhu, Y., Pintauer, T., & Jin, R. (2010). *Total Structure Determination of Thiolate-Protected Au₃₈ Nanoparticles*. Journal Of The American Chemical Society, 132(24), 8280-8281. doi: 10.1021/ja103592z
- [86] Jadzinsky, P., Calero, G., Ackerson, C., Bushnell, D., & Kornberg, R. (2007). *Structure of a Thiol Monolayer-Protected Gold Nanoparticle at 1.1 Å Resolution*. Science, 318(5849), 430-433. doi: 10.1126/science.1148624
- [87] Zeng, C., Chen, Y., Kirschbaum, K., Lambright, K., & Jin, R. (2016). *Emergence of hierarchical structural complexities in nanoparticles and their assembly*. Science, 354(6319), 1580-1584. doi: 10.1126/science.aak9750
- [88] Sánchez-Castillo, A., Noguez, C., & Garzón, I. (2010). *On the Origin of the Optical Activity Displayed by Chiral-Ligand-Protected Metallic Nanoclusters*. Journal Of The American Chemical Society, 132(5), 1504-1505. doi: 10.1021/ja907365f
- [89] Yao, H. (2015). *Chiral Ligand-Protected Bimetallic Nanoclusters: How does the Metal Core Configuration Influence the Nanocluster's Chiroptical Responses?*. MRS Proceedings, 1802, 1-12. doi: 10.1557/opl.2015.385