



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**  
**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS**



**Cúmulos fluorescentes de Ag en matrices de proteínas: Síntesis, caracterización y análisis teórico-computacional de sus propiedades estructurales y ópticas.**

**TESIS DE MAESTRÍA**

Presentada por:

**JOSÉ LUIS BALÁN DE LA CRUZ**

Para obtener el título de:

**Maestro en Ciencias con Orientación en Nanociencias**

Director:

**Dr. Filiberto Ortiz Chi**

**Cunduacán Tabasco, México, Junio 2022**



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”



División  
Académica  
de Ciencias  
Básicas



DIRECCIÓN

24 enero de 2022

**LIC. JOSÉ LUIS BALÁN DE LA CRUZ  
PASANTE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN  
NANOCIENCIAS  
P R E S E N T E.**

Por medio de la presente y de la manera más atenta, me dirijo a Usted para hacer de su conocimiento que proceda a la impresión del trabajo titulado "**Cúmulos fluorescentes de Ag en matrices de proteínas: Síntesis, caracterización y análisis teórico-computacional de sus propiedades estructurales y ópticas**" en virtud de que reúne los requisitos para el EXAMEN PROFESIONAL para obtener el grado de Maestro en Ciencias con Orientación en Nanociencias.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE  
CIENCIAS BÁSICAS**

**DR. GERARDO DELGADILLO PIÑÓN  
DIRECTOR**

DR'GDP/M'NLB  
C.c.p.- Archivo

Km.1 Carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez, A.P. 24, C.P. 86690, Cunduacán, Tab., México.  
Tel/Fax: (993) 3581500 Ext. 6702,6701 E-Mail: direccion.dacb@ujat.mx

www.ujat.mx

## CARTA DE AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente la tesis de grado denominada "Cúmulos fluorescentes de Ag en matrices de proteínas: Síntesis, caracterización y análisis teórico-computacional de sus propiedades estructurales y ópticas", de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesis antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Biblioteca Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco a los 9 días del mes de junio del año 2022.

Autorizó



---

José Luis Balán De la Cruz

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

*A mis padres Rosa Irma y Benjamín, por todo su interés en mi educación durante toda la vida y su apoyo.*

*A la memoria del Dr. José Adrián Carbajal Domínguez, pionero en el estudio de este tema en la DACB y quien me brindó la oportunidad de participar en esta investigación bajo su dirección. Quien además de fungir como profesor y jefe, fue un padre académico, mentor de vida y amigo.*

# Agradecimientos

---

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo recibido a través de una beca de estudios de maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento mediante el proyecto AI-S-26876, titulado: *Implementación de estrategias de optimización global para la búsqueda de mínimos globales en cúmulos y moléculas adsorbidas en superficies*, con el Dr. Filiberto Ortiz-Chi como responsable técnico.

Al Proyecto 225962 (CONACyT INFRA 2014, UJAT-DAIA) cuyo responsable técnico es la Dra. Laura Lorena Flores Díaz. También agradezco al Técnico Académico de Medición, Ing. Saúl García López, por su apoyo en la caracterización por Microscopía Electrónica de Alta Resolución.

Agradecemos al HPC JUCHIMAN (CONACyT, U0003-2015-7-26609), alojado en la DACB-UJAT, y al HPC KUKULCAN (CONACyT, CB-2015-252356), alojado en el CINVESTAV Unidad-Mérida, por la asignación de los recursos computacionales para la realización de este trabajo de investigación.

Agradecemos al Programa de Fortalecimiento de la Calidad en las Instituciones Educativas por el financiamiento de la licencia del código Gaussian 16 mediante el proyecto SEP-PFCE-UJAT-2018.

# Resumen

---

En este trabajo desarrollamos un método novedoso para sintetizar cúmulos fluorescentes de plata al soportarlos en una matriz orgánica. Los resultados experimentales inspiraron el estudio teórico-computacional de las propiedades ópticas de cúmulos de plata neutros, desde 2 hasta 12 átomos, coordinados a una molécula de tirosina (Tyr).

El método de síntesis propuesto ha demostrado ser efectivo, de bajo costo y rápido, pues permitió obtener cúmulos fluorescentes en poco tiempo y con propiedades ópticas similares a las reportados por otros grupos y en otros soportes. En particular, la caracterización óptica de los cúmulos obtenidos muestra máximos en las señales de absorción UV-Vis y en la emisión en buen acuerdo con lo reportando en agregados con diferentes soportes orgánicos.

La exploración de la superficie de energía potencial para los cúmulos en fase gas y complejos se realizó mediante una estrategia de búsqueda global estocástica junto con cálculos basados en la Teoría del Funcional de la Densidad. Los cálculos de la energía de adsorción predicen que la coordinación con la tirosina,  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$ , favorece la estabilización de los complejos con número par de átomos de plata. Para los isómeros de menor energía  $\text{Ag}_n$  ( $n < 10$ ), la forma general y las principales transiciones de los espectros de absorción calculados concuerdan bien con los reportados experimentalmente en un ambiente de Ar. Para determinar las interacciones más importantes, entre cada cúmulo de plata y los grupos funcionales de la tirosina, realizamos un análisis de las interacciones no covalentes. Los espectros de absorción calculados para los complejos sugieren que la tirosina modifica significativamente las propiedades ópticas de los cúmulos de plata coordinados y afecta en mayor medida a los sistemas de menor tamaño. Los espectros de absorción óptica para los cúmulos  $\text{Ag}_n$  en fase gas y complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  se comparan y discuten en detalle.

# Abstract

---

We developed a novel method to synthesize fluorescent silver clusters in this work by supporting them in an organic matrix. The experimental results inspired the theoretical-computational study of the optical properties of neutral silver clusters, from 2 to 12 atoms, coordinated to a tyrosine (Tyr) molecule.

The proposed synthesis method has proved to be effective, low cost and fast, since it allowed to obtain fluorescent clusters in a short time and with optical properties similar to those reported by other groups and in other scaffolds. In particular, the optical characterization of the obtained clusters shows maxima in UV-Vis absorption signals and emission in good agreement with those reported in aggregates with different organic supports.

The exploration of the potential energy surface for the gas phase and complex clusters was performed using a stochastic global search strategy together with calculations based on Density Functional Theory. Adsorption energy calculations predict that coordination with tyrosine,  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$ , favors stabilization of complexes with an even number of silver atoms. For the lower energy  $\text{Ag}_n$  isomers ( $n < 10$ ), the calculated absorption spectra' general shape and significant transitions agree well with those reported experimentally in an Ar environment. To determine the most relevant interactions between each silver cluster and the tyrosine functional groups, we analyzed the non-covalent interactions. The absorption spectra calculated for the complexes suggest that tyrosine significantly modifies the optical properties of the coordinated silver clusters and affects the smaller systems to a greater extent. The optical absorption spectra for  $\text{Ag}_n$  gas phase clusters and  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  complexes are compared and discussed in detail.

# Indice General

---

Agradecimientos	I
Resumen	II
Abstract	III
Lista de Figuras	VI
Lista de Tablas	VIII
<b>1. Marco teórico</b>	<b>1</b>
1.1. Introducción . . . . .	1
1.1.1. Cúmulos: definición e importancia . . . . .	1
1.1.2. Cúmulos de plata . . . . .	3
1.1.3. Formación de agregados metálicos . . . . .	4
1.1.4. Fenómenos ópticos en cúmulos metálicos . . . . .	6
1.2. Antecedentes . . . . .	8
1.2.1. Observación de fenómenos ópticos en nanoestructuras . . . . .	8
1.2.2. Cúmulos de Ag en matrices de gases nobles . . . . .	8
1.2.3. Síntesis de cúmulos de Ag y otros metales nobles en proteínas . . . . .	10
1.3. Objetivo general . . . . .	16
1.4. Objetivos específicos . . . . .	17
<b>2. Síntesis y caracterización de cúmulos de plata en solución de albúmina de huevo</b>	<b>19</b>



---

2.1. Materiales y métodos . . . . .	19
2.1.1. Síntesis . . . . .	19
2.1.2. Espectrofluorimetría . . . . .	22
2.1.3. Espectroscopía de absorción UV-Vis . . . . .	25
2.1.4. Microscopía HRTEM . . . . .	27
2.2. Resultados experimentales . . . . .	29
2.2.1. Emisión de fluorescencia . . . . .	29
2.2.2. Espectros de fluorescencia y de absorción UV-Vis . . . . .	30
2.2.3. Estimación del tamaño de cúmulo por HRTEM . . . . .	32
<b>3. Metodología y resultados teóricos</b>	<b>34</b>
3.1. Metodología . . . . .	34
3.1.1. Búsqueda del mínimo global . . . . .	34
3.1.2. Espectro de absorción . . . . .	36
3.1.3. Análisis de la interacción no-covalente . . . . .	37
3.1.4. Descriptores moleculares . . . . .	37
3.2. Resultados: Cúmulos de $Ag_n$ ( $n = 3 - 12$ ) . . . . .	38
3.2.1. Análisis de la estabilidad estructural . . . . .	41
3.2.2. Propiedades ópticas: Absorción UV-Vis . . . . .	43
3.3. Resultados: Complejos coordinados: $Ag_n$ -Tyr, ( $n = 3 - 12$ ) . . . . .	50
3.3.1. Análisis de la estabilidad estructural . . . . .	52
3.3.2. Análisis de las interacciones no-covalentes . . . . .	56
3.3.3. Espectros de Absorción UV-Vis . . . . .	59
<b>Conclusiones</b>	<b>67</b>
<b>Referencias</b>	<b>69</b>

## Lista de Figuras

---

1.1.	Esquema del proceso de formación de agregados de Ag. . . . .	5
1.2.	Diagrama de Jablonski que ilustra los procesos de des-excitación de una molécula a través de transiciones radiativas y no radiativas. . . . .	7
1.3.	(izquierda) Espectros de absorción UV-Vis de BSA (negro) y Ag <sub>15</sub> @BSA (rojo); en el recuadro ampliado se señalan los picos característicos en 415, 485 y 680 nm (A). (derecha) Espectros de excitación y de fluorescencia del Ag <sub>15</sub> @BSA y aspecto de la solución bajo iluminación con luz blanca y UV. Imágenes adaptadas de <i>J. Mater. Chem.</i> <b>21</b> , 11205 (2011), Copyright: The Royal Society of Chemistry. . . . .	11
1.4.	Esquema del método de Shao <i>et al.</i> para la síntesis de cúmulos fluorescentes de plata en ESM. Imagen adaptada de <i>J. Mater. Chem.</i> <b>21</b> , 2863 (2011), Copyright: The Royal Society of Chemistry. . . . .	13
1.5.	ESM bajo luz blanca (izquierda), con emisión fluorescencia debido a la presencia de cúmulos de plata (centro) y espectros de fluorescencia del soporte ESM y Ag-ESM (derecha). Imágenes adaptadas de <i>J. Mater. Chem.</i> <b>21</b> , 2863 (2011), Copyright: The Royal Society of Chemistry. . . . .	14
1.6.	Cúmulos fluorescentes de Au y Pt sintetizados por Li <i>et al.</i> Muestras del sistema cúmulo-proteína en solución (a) y forma sólida (b) iluminadas por luz blanca. Fluorescencia emitida por las muestras en solución (b) y en forma sólida (d) bajo una longitud de onda de excitación de 365 nm. Imágenes adaptadas de <i>Nanoscale Res. Lett.</i> <b>8</b> , 1 (2013), Copyright: Springer Open. . . . .	15
2.1.	Síntesis de cúmulos de plata: albúmina de huevo en reposo (a) y en agitación (b). Albúmina con todos los reactivos agregados y en agitación (c). Aspecto final de la solución con cúmulos de Ag (d). Durante toda la reacción la solución fue iluminada con luz UV. . . . .	20

2.2.	Diagrama de arreglo óptico para la caracterización de la fluorescencia.	22
2.3.	Módulo para la colocación de la cubeta y caracterización de la muestra.	24
2.4.	Disposición de los instrumentos de iluminación, sensado y recolección de los datos en la caracterización de fluorescencia de los cúmulos en solución de albúmina. . . . .	25
2.5.	Representación de la muestra a caracterizar por Espectroscopia UV-Vis.	26
2.6.	Espectrofotómetro para caracterización UV-Vis Varian Cary 300 y PC.	27
2.7.	Microscopio HRTEM JEOL JEM 2100. . . . .	28
2.8.	Solución fluorescente de albúmina con cúmulos de plata. Bajo luz blanca (izquierda) e iluminada por una lámpara LED UV de 412 nm (derecha).	29
2.9.	Solución de cúmulos de plata fluorescentes depositados y secados sobre un portaobjetos de vidrio: Bajo luz blanca (a) e irradiadas por luz UV (b). . . . .	30
2.10.	Espectros normalizados de absorción UV-Vis y de emisión de fluorescencia. . . . .	31
2.11.	Imágenes de los agregados soportados en albúmina de huevo, obtenidas por la técnica de HRTEM. . . . .	33
3.1.	Cúmulos $Ag_n$ ( $n = 3-12$ ) obtenidos al nivel de teoría B3PW91-D3/Def2-TZVP-D3. Para cada uno se muestran la multiplicidad de espín y el grupo de simetría asociado. . . . .	39
3.2.	Potencial Vertical de Ionización (vIP) y Afinidad Electrónica Vertical (vEA) para los cúmulos $Ag_n$ en función del número de átomos de plata ( $n$ ). . . . .	41
3.3.	Espectros de absorción UV-Vis para los cúmulos $Ag_n$ ( $n = 3 - 6$ ). . . .	45
3.4.	Espectros de absorción UV-Vis para los cúmulos $Ag_n$ ( $n = 7 - 10$ ). . .	47
3.5.	Espectros de absorción UV-Vis para los cúmulos $Ag_n$ ( $n = 11 - 12$ ). . .	49
3.6.	Complejos $Ag_n$ -Tyr optimizados al nivel B3PW91-D3/Def2-TZVP (perspectivas frontal y lateral). Los átomos de O, C, N y H se muestran en rojo, gris, azul y blanco, respectivamente. Los átomos de Ag se representan en tonalidad plata y son los de mayor tamaño en comparación. . . . .	51
3.7.	Energía de adsorción para los complejos $Ag_n$ -Tyr en función del número de átomos de plata ( $n$ ). . . . .	52

---

3.8. VIP (círculos) y VEA (triángulos) para los cúmulos $Ag_n$ y cúmulos $Ag_n$ -Tyr. . . . .	54
3.9. Complejos $Ag_n$ -Tyr y sus regiones de interacción no-covalente en dos perspectivas. Las superficies en color verde corresponden a interacciones no-covalentes débiles mientras que las azules representan interacciones fuertes y atractivas. . . . .	57
3.10. Comparación entre los espectros de absorción UV-Vis de los complejos $Ag_n$ -Tyr para (líneas rojas) y los cúmulos $Ag_n$ (líneas azules) para $n = 3, 4$ . . . . .	60
3.11. Comparación entre los espectros de absorción UV-Vis de los complejos $Ag_n$ -Tyr para (líneas rojas) y los cúmulos $Ag_n$ (líneas azules) para $n = 5, 6$ . . . . .	61
3.12. Comparación entre los espectros de absorción UV-Vis de los complejos $Ag_n$ -Tyr para (líneas rojas) y los cúmulos $Ag_n$ (líneas azules) para $n = 7, 8$ . . . . .	63
3.13. Comparación entre los espectros de absorción UV-Vis de los complejos $Ag_n$ -Tyr para (líneas rojas) y los cúmulos $Ag_n$ (líneas azules) para $n = 9, 10$ . . . . .	64
3.14. Comparación entre los espectros de absorción UV-Vis de los complejos $Ag_n$ -Tyr para (líneas rojas) y los cúmulos $Ag_n$ (líneas azules) para $n = 11, 12$ . . . . .	65

## Lista de Tablas

---

3.1. Potencial Vertical de Ionización (vIP) de los cúmulos $Ag_n$ obtenidos en este trabajo en comparación con resultados experimentales y teóricos. Todas las cantidades están expresadas en eV. . . . .	43
3.2. Comparación de los principales valores de absorción UV-Vis calculados para los cúmulos $Ag_n$ con los reportados experimentalmente. Todas las cantidades están expresadas en eV. . . . .	43
3.3. Comparación de los valores de vIP y vEA (en eV) para cúmulos y complejos.	56
3.4. Energías de transición (eV), para la absorción UV-Vis de mayor intensidad, de los cúmulos $Ag_n$ y complejos $Ag_n$ -Tyr. Se incluye el corrimiento en la señal de cada complejo respecto al cúmulo. . . . .	66

## 1.1. Introducción

### 1.1.1. Cúmulos: definición e importancia

El término *cúmulo* es utilizado en distintos campos y contextos; en todos ellos, haciendo referencia a un conjunto de objetos idénticos o de características similares, que se encuentran agrupados. En nanociencia y ciencia de los materiales, la palabra *cúmulo* se utiliza para hacer referencia a estructuras formadas por átomos o moléculas que se encuentran unidas entre sí. A partir de esto, es posible clasificar estructuras como *cúmulos atómicos* o *cúmulos moleculares*, de acuerdo al tipo de entidades que la constituyen.

Los cúmulos atómicos están formados por un número contable de átomos. Por lo tanto, el número mínimo de átomos que conforman un cúmulo atómico es 2. Si bien no existe consenso sobre el número máximo de átomos, debido a la variabilidad de las propiedades de los cúmulos de acuerdo al número de átomos, así como del o los elementos de la tabla periódica de los que se conforman, algunos autores asumen que este valor es aproximadamente  $10^7$  [1,2].

Podría pensarse que una molécula es un cúmulo y viceversa, puesto que ambas entidades están formadas por un número finito de átomos; sin embargo, existen características importantes que los diferencian. Las moléculas se caracterizan por tener composiciones específicas, y en la mayoría de los casos, estructuras definidas [3]. Se encuentran disponibles en la naturaleza pues sus propiedades son fijadas por ella y son estables bajo condiciones de presión y temperatura ambiente. Debido a la geometría específica de la mayoría de las moléculas, rara vez se presentan formas isoméricas. Asimismo, en las moléculas los átomos se unen entre sí por medio de enlaces covalentes o iónicos principalmente, y a causa de la interacción débil con otras moléculas, por lo general no se observa coalescencia entre ellas [4].

Por su parte, los cúmulos pueden ser compuestos de cualquier número de átomos. Para un número dado de átomos puede existir más de una estructura estable, cada uno con una determinada geometría; de manera que la existencia de isómeros es una característica común. Se observa que a medida que el número de átomos incrementa, también lo hace el número de isómeros estables para una configuración dada [3]. En su mayoría, los cúmulos son sintetizados en el laboratorio empleando métodos físicos y químicos, bajo condiciones controladas. Una excepción a esto es el fullereno ( $C_{60}$ ), el cual ha sido encontrado en la naturaleza [1, 4]. La estabilidad en un cúmulo depende de factores como el tamaño, composición, así como del ambiente en el que son producidos. En la práctica, distintos tipos de cúmulos requieren ser soportados en matrices de gases nobles a una temperatura definida [5, 6], o en soluciones coloidales [7] para ser estabilizados. Los enlaces mediante los cuales los átomos constituyentes de los cúmulos se unen son más variados que en las moléculas; observándose aparte del enlace covalente o el iónico, otros como van der Waals débil, metálico o covalente fuerte [4]. Finalmente, distintos cúmulos pueden interactuar fuertemente entre sí y dar lugar a la coalescencia y formación de una mayor estructura.

Aunque cúmulos y nanopartículas comparten características semejantes, en realidad son distintos. Al igual que los cúmulos, las nanopartículas se constituyen por agregados de átomos; su estabilidad está sujeta a las condiciones en las que son producidas y en consecuencia tampoco son abundantes de manera natural en comparación con las moléculas. Del mismo modo, carecen de composición y estructuras definidas. Los cúmulos pueden ser considerados nanopartículas de dimensiones ínfimas. En las primeras etapas de los estudios sobre estas entidades, se consideraba que las nanopartículas tenían dimensiones del orden de 10 a 100 nm, mientras que los cúmulos eran menores a 1 nm [4]. En la actualidad no se puede afirmar esto de manera categórica, pues se desconoce un tamaño exacto o número crítico de átomos constituyentes a partir de los cuales una estructura pueda ser clasificada como cúmulo o nanopartícula. Además, se han podido sintetizar cúmulos con tamaños mayores a 1 nm, así como nanopartículas con tamaños de 1 a 2 nm [4]. Para distinguir entre ambas especies es necesario considerar cómo cambian las propiedades de cada una a medida que varía el número de átomos. En los cúmulos se conoce el número de átomos que los conforman, mientras que en las nanopartículas este número no se puede determinar con igual precisión [4]. En cúmulos pequeños la adición de un sólo átomo puede provocar una variación considerable en sus propiedades. A medida que los cúmulos se hacen más grandes, y el número de átomos es del orden de cientos o miles, sus propiedades varían de forma menos drástica. Así, los cúmulos se pueden reconsiderar como nanopartículas cuyo tamaño y composición se pueden conocer con precisión atómica, y la evolución de sus propiedades pueden estudiarse un átomo a la vez [4].

El estudio de los materiales a distintas escalas ha permitido observar que por debajo de los 100 nm, propiedades como el punto de fusión, potencial de ionización, actividad catalítica, así como características ópticas y magnéticas, dejan de ser constantes para mostrar una fuerte dependencia con el tamaño. A medida que las dimensiones se reducen los niveles de energía se discretizan y emergen efectos cuánticos. Debido a que estos efectos son más pronunciados en cúmulos pequeños que en nanopartículas, suelen utilizarse otros nombres como nanocúmulos, superátomos, cúmulos cuánticos, aglomerados, entre otros [4, 8]. En este trabajo nos referiremos a ellos simplemente como *cúmulos*.

Las propiedades emergentes que hacen diferenciar a cúmulos y nanopartículas han motivado numerosas investigaciones en las últimas cuatro décadas. Los resultados obtenidos han hecho que los cúmulos sean considerados intermediarios para entender lo que sucede en la brecha entre el régimen atómico y el de los materiales en bulto [1, 9].

### 1.1.2. Cúmulos de plata

Si bien pueden haber cúmulos de cualquier elemento de la tabla periódica, existe un gran interés sobre los que están formados por metales nobles como Ag, Au, Cu, Pd y Pt, debido a que poseen propiedades físicas y químicas inusuales, las cuales difieren notablemente de las que se observan en materiales de dimensiones mayores como las nanopartículas metálicas y de la escala micrométrica. Estas propiedades, en conjunto con su tamaño muy reducido, han hecho de los cúmulos de metales nobles sistemas idóneos para el desarrollo de aplicaciones tecnológicas útiles en disciplinas como biología, medicina, catálisis, tecnología de imágenes, entre otros [8, 10, 11].

En particular, los cúmulos de Au y Ag tienen características ópticas que resultan fascinantes. Mientras que las nanopartículas de estos metales absorben luz en el rango UV-Vis del espectro, debido al fenómeno de resonancia de plasmón superficial; en los cúmulos además de la absorción óptica, existen efectos como fotoluminiscencia en el rango del ultravioleta (UV) al infrarrojo cercano (NIR), además de propiedades no lineales como absorción de dos fotones (TPA) y generación de segundo/tercer armónico (SHG/THG) [10]. Estas propiedades son resultado de la existencia de estados electrónicos discretos en los cúmulos, y su dependencia con el tamaño no es escalable, es decir, la adición o remoción de un átomo provoca variaciones que pueden resultar impredecibles [12].



Las propiedades ópticas de los nanocúmulos de Ag (absorción UV-Vis, fluorescencia, TPA, SHG y THG) son especialmente atractivas para su uso en distintos campos, sin embargo a la fecha se ha visualizado un mayor impacto en biología, medicina e investigación relacionada con el medio ambiente. Estas propiedades y posibilidades han podido ser mejor exploradas desde hace menos de dos décadas, cuando fue posible sintetizar cúmulos de Ag en soluciones acuosas utilizando soportes orgánicos como tioles, polímeros, dendrímeros, ADN y proteínas [13,14]. Se ha observado que la interacción entre los cúmulos metálicos y los soportes orgánicos, influye en las características propias de la absorción y emisión; que en consecuencia permite tener cúmulos cuyas características ópticas pueden ser modificadas al variar las condiciones de síntesis: temperatura, pH, concentración de los reactivos, etc.

### 1.1.3. Formación de agregados metálicos

En la elaboración de nanoestructuras se identifican dos enfoques: *Top-Down* y *Bottom-Up* [15]. En el primer tipo las estructuras se construyen modificando *objetos* de mayor tamaño hasta llegar a aquellos con dimensiones en la nanoescala. A este tipo de fabricación pertenecen técnicas como la litografía y la deposición de películas delgadas [15]. En los métodos de tipo *Bottom-Up* se logra la estructuración del nanomaterial a partir de ensamblar componentes más pequeños mediante el aprovechamiento de las colisiones aleatorias de los componentes primarios disueltos en algún solvente [15]. Para la síntesis de cúmulos atómicos metálicos se han utilizado métodos de un tipo u otro, sin embargo dentro de los de tipo Bottom-Up destacan los conocidos como *de vía húmeda*, los cuales consisten en reducir sales metálicas del elemento precursor de los cúmulos mediante agentes físicos o químicos en presencia de un agente estabilizador en un solvente. Algunos procedimientos de tipo vía húmeda son la *reducción química*, *fotorreducción*, los métodos de síntesis *sonoquímica*, *electroquímica*, *asistida por microondas*, por el uso de *soportes*, así como la reducción por medio de *microemulsiones* [16]. El uso de un agente estabilizador se hace necesario para asegurar la formación de cúmulos atómicos en vez de nanopartículas de mayor tamaño, que es la tendencia natural del método [13].

En especial el método de *reducción de sal metálica* es uno de los más comunes en la síntesis de cúmulos de metales nobles debido a su sencillez. En este método se requiere de la sal metálica precursora ( $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{HAuCl}_4$ , etc.), el reductor ( $\text{NaOH}$ ,  $\text{NaBH}_4$ , etc.) y el estabilizador [13]. El proceso de formación de agregados consta de cuatro etapas principales: *reducción*, *nucleación*, *aglomeración* y *estabilización* (Figura 1.1). La síntesis generalmente consiste en agregar una solución con el ion precursor a la solución acuosa que contiene al soporte y reducir con agentes químicos o físicos; esto en distintos órdenes y variando parámetros como la concentración, cantidad de los

reactivos, temperatura y/o pH de la solución, así como el tiempo de reacción, a fin de modificar el tamaño y las propiedades ópticas de los agregados. Muchos autores subclasifican este método en base a los estabilizadores utilizados. Algunos de tipo orgánico son: tioles, ADN, dendrímeros, péptidos y proteínas [13,17].

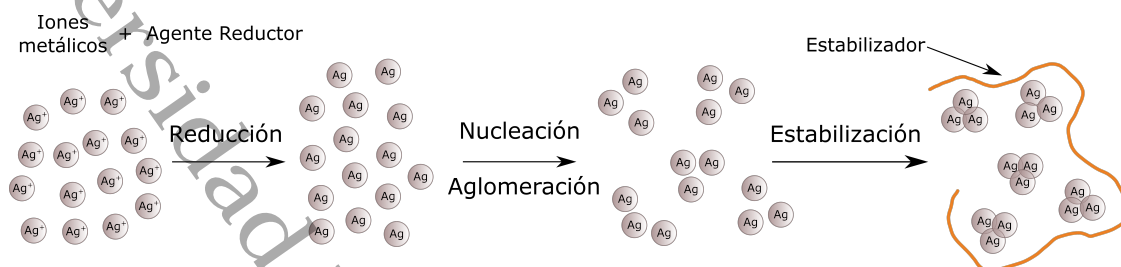


Figura 1.1: Esquema del proceso de formación de agregados de Ag.

Por otra parte, varios grupos han mostrado la efectividad del uso de luz como un buen agente físico para reducir, sin la necesidad de implementar otro más. Este método constituye una propuesta limpia, no tóxica y en algunos casos, más efectiva que las tradicionales [16]. Particularmente, en este trabajo se muestra evidencia de que la combinación de los métodos de reducción química y de fotorreducción permite obtener agregados con apreciables propiedades ópticas.

#### 1.1.4. Fenómenos ópticos en cúmulos metálicos

Al fenómeno en el cual una especie atómica o molecular en estado excitado desciende a su estado base irradiando luz se le conoce como *luminiscencia*. A su vez, a ésta se le clasifica según el mecanismo por el cual la molécula fue inicialmente excitada. De esta manera, hay un caso de *fotoluminiscencia* cuando la excitación se da a través de la absorción de energía de los fotones, es decir por irradiación de luz UV, Visible o IR sobre la molécula [18]. Dos de los mecanismos principales de la fotoluminiscencia son la fluorescencia y fosforescencia. En ambos procesos, la energía absorbida por la molécula es mayor que la energía emitida a través de luz. Como consecuencia, la longitud de onda de fluorescencia ( $\lambda_{flu}$ ) es mayor que la longitud de onda de excitación ( $\lambda_{exc}$ ) [18]. La diferencia entre los dos procesos es que en la fosforescencia hay un intercambio en la multiplicidad del espín, lo que hace de la fosforescencia un fenómeno de mayor duración comparado con la fluorescencia. Por esta razón, los materiales fosforescentes pueden continuar con la emisión, aún después de que se les deje de iluminar. Una manera de representar los procesos de relajación de una molécula en el fenómeno de fotoluminiscencia es a través de una *diagrama de Jablonski*, el cual reúne tanto a procesos radiativos como no radiativos, tal como se muestra en la Figura 1.2.

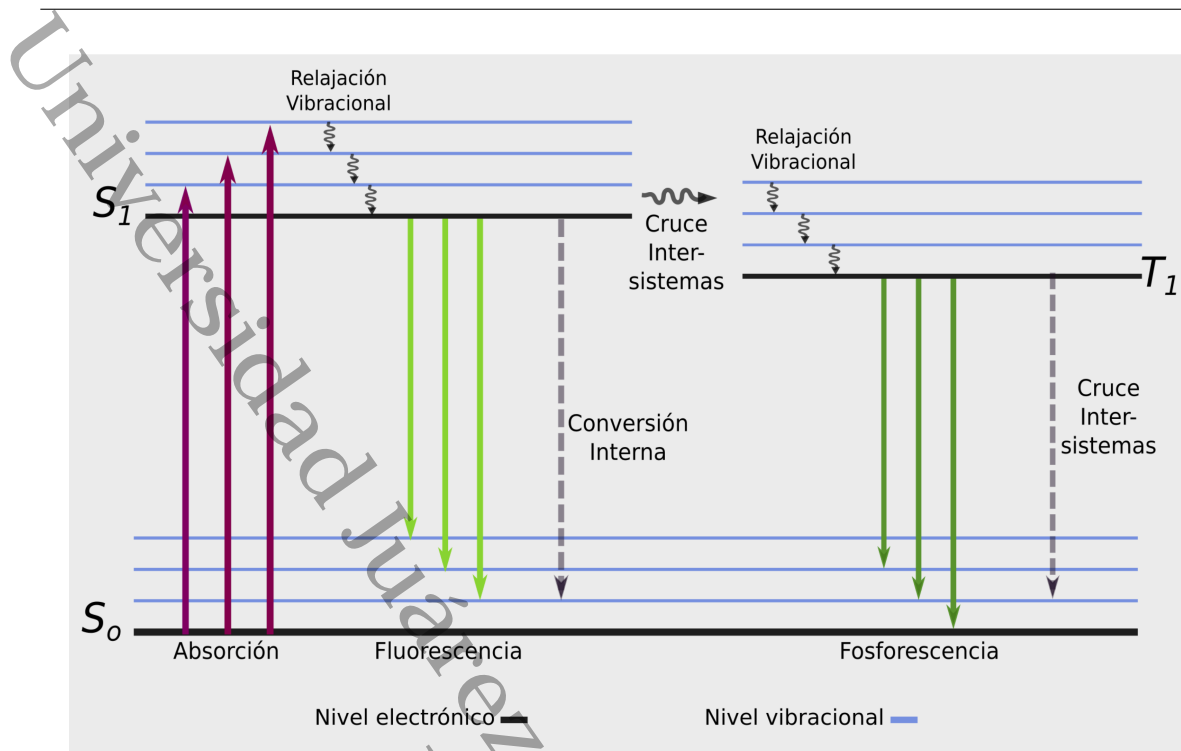


Figura 1.2: Diagrama de Jablonski que ilustra los procesos de des-excitación de una molécula a través de transiciones radiativas y no radiativas.

En una molécula existen estados *electrónicos* ( $n$ ), *vibracionales* ( $\nu$ ) y *rotacionales* ( $J$ ). Las magnitudes de las energías correspondientes a cada tipo de estado:  $E_n$ ,  $E_\nu$  y  $E_J$ , respectivamente, guardan la siguiente relación de orden:

$$E_n \gg E_\nu \gg E_J. \quad (1.1)$$

En el esquema de Jablonski los estados singuletes o con multiplicidad igual a uno se denotan con  $S_n$ , mientras que aquellos con multiplicidad igual a tres se representan con  $T_n$ ; donde  $n$  es un entero asociado al nivel ocupado. Cuando una molécula en su estado base  $S_0$ , es excitada absorbiendo fotones, es llevada a un nivel electrónico más alto, por decir  $S_1$ , quedando en el nivel vibracional más alto. A partir de aquí, hay diferentes vías a través de las cuales la molécula puede regresar a  $S_0$ . Por lo regular, una molécula no se mantiene por mucho tiempo sin perder energía. Las colisiones con otras moléculas circundantes provocan *pequeñas pérdidas* que hacen que pueda descender a ocupar niveles vibracionales. Esto se conoce como *relajación vibracional* y en el diagrama de Jablonski es representado por las líneas de tipo  $\rightsquigarrow$ . Después de haber descendido algunos niveles vibracionales, si la molécula regresa a  $S_0$  sin emitir radiación se tiene un caso de *conversión interna*, por el contrario, si hay emisión se tiene el fenómeno de *fluorescencia*.

También puede suceder que estando en el nivel  $S_0$ , la molécula sufra un cambio en la multiplicidad de espín, y en consecuencia pérdida de energía; por ejemplo, yendo ahora al estado  $T_1$ . A esto se le conoce como *cruce intersistemas*. En  $T_1$ , la molécula puede también regresar a  $S_0$ . Si lo hace emitiendo luz se tiene un caso de *fosforescencia*, de caso contrario se tiene nuevamente un caso de *cruce intersistemas*.

## 1.2. Antecedentes

### 1.2.1. Observación de fenómenos ópticos en nanoestructuras

Existe evidencia de que los efectos ópticos asociados a nanoestructuras de metales nobles han sido observados desde el siglo IV a.C., pues se tienen vestigios de vidrios y cerámica en donde era utilizado oro coloidal como colorante en tonalidad rojiza. Un ejemplo más reciente es el de la *Copa de Licurgo* del siglo IV d.C., famosa por la coloración rojiza o verdosa que adopta dependiendo de la dirección en la que es iluminada, la cual está relacionada con la presencia de nanopartículas de oro y plata en el vidrio en la que fue construida. Ahora se sabe que la coloración de los característicos vitrales de muchas catedrales construidas durante la Edad Media, se debe a la absorción de ciertas longitudes de onda de la luz blanca incidente, por parte de las nanopartículas de oro y plata que están contenidas en el vidrio [1, 19]. Luego en el siglo XVII tuvo auge el *Púrpura de Cassius*, formado a base de nanopartículas de oro y óxido de estaño, como colorante para objetos de vidrio [10]. En 1857, Michael Faraday sintetizó una solución de oro coloidal ópticamente activa hasta nuestros días, usando fósforo para reducir ácido cloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) en éter dietílico; y en 1925 Richard A. Zsigmondy recibió el Premio Nobel de Química por su contribución al estudio de los coloides, habiendo previamente sintetizado oro coloidal en formaldehído, y observado partículas de oro en 1903 con su ultramicroscopio construido junto con Henry Siedentopf en 1902 [10].

### 1.2.2. Cúmulos de Ag en matrices de gases nobles

En 1974 Uwe Kreibitz observó transiciones electrónicas discretas, e inclusive una de las primeras evidencias de fluorescencia a 280 nm, al estudiar el efecto de la temperatura en la función dieléctrica de nanopartículas de plata irradiadas con distintas longitudes de onda [20]. Sin embargo, fue Ozin quien en 1978 produjo los primeros cúmulos de  $\text{Ag}_n$  ( $n = 2 - 5$ ) logrando la agregación de los átomos de plata en matrices de Ar a bajas temperaturas (10-20 K), utilizando luz ultravioleta de 315 nm y reportando espectros de absorción discretos [5].

En 1990 Harbich *et al.* realizaron el primer estudio enfocado en el análisis de la absorción y fluorescencia de cúmulos de plata ( $\text{Ag}_2$  y  $\text{Ag}_3$ ). Para esto utilizaron la técnica de pulverización catódica al hacer incidir un haz de iones  $\text{Kr}^+$  de alta energía sobre una placa de Ag; los iones desprendidos atravesaron un analizador de masas cuadrupolo con el objetivo de que solo aquellos con la masa adecuada fueran depositados en una placa de zafiro o  $\text{CaF}_2$ , la cual se encontraba en un ambiente de gas Kr a una temperatura de 10 K; sitio en el que electrones de baja energía (2 eV) neutralizaban a los iones y daban lugar a los cúmulos. Para la excitación luminosa utilizaron lámparas de deuterio y tungsteno que proporcionaron un rango de excitación entre 200 y 800 nm. El espectro UV-Vis para  $\text{Ag}_2$  mostró bandas de absorción en 271, 281, 390 y 407 nm, y se asoció fluorescencia en 297, 453 y 506 nm a excitaciones de 271 y 281 nm, mientras que la absorción en 390 nm produjo emisiones en 453 y 506 nm, y la absorción en 407 nm causó emisión en 485 nm. Por su parte para  $\text{Ag}_3$  las bandas de absorción se encontraron en 331, 364, 402, 421, 458 y 514 nm, mientras que las distintas bandas de emisión se centraron 381, 560 y 626 nm para distintos valores de longitudes de onda de excitación [6].

En los años siguientes continuaron las investigaciones sobre la respuesta óptica de cúmulos de Ag y Au en matrices de gases nobles a bajas temperaturas, los cuales se consideran cúmulos aislados. En 1991 Harbich *et al.* repitieron la metodología anterior para sintetizar  $\text{Au}_2$  y  $\text{Au}_3$  en una matriz de Ar a 10 K, y caracterizar sus espectros de absorción y emisión, en su reporte destacaron que la luz emitida por las nanoestructuras tenían una coloración *rojiza*. La absorción para  $\text{Au}_2$  se encontraba entre 215 a 347 nm con picos dominantes en 299 y 347 nm, mientras que las señales más intensas para la emisión se localizaron en 665 y 810 nm. Para  $\text{Au}_3$  se observaron señales para la absorción entre 233 y 458 nm, mientras que la emisión se podía observar entre 510 y 820, con señales prominentes en 510 y 660 nm [21], y en 1992 completaron la síntesis de cúmulos selectos de plata de al menos 5 y hasta 39 átomos matrices de Ar, Kr y Xe:  $\text{Ag}_n$  ( $n = 5, 7 - 9, 11, 20, 23, 27, 34, 35, 39$ ) [22, 23].

Harb *et al.* hicieron un estudio experimental y teórico de los cúmulos  $\text{Ag}_n$  ( $n = 4 - 22$ ). Sintetizaron los cúmulos de plata en matrices de Ar a 28 K y caracterizaron los espectros de absorción UV-Vis dentro del rango de 2.5 a 5.5 eV. El estudio teórico consistió en la búsqueda de mínimos globales para los cúmulos  $\text{Ag}_n$  ( $n = 4 - 22$ ), usando la Teoría del Funcional de la Densidad. Posteriormente, a los mínimos globales encontrados se les realizaron cálculos de estado excitado mediante la Teoría del Funcional de la Densidad dependiente del tiempo [24]. En esta misma dirección, uno de los estudios teóricos más exhaustivos fue el hecho por Chen *et al.*, quienes exploraron la geometría de los primeros 99 cúmulos de  $\text{Ag}_n$  ( $n = 2 - 99$ ) con métodos basados en la Teoría del Funcional de la Densidad [25].

Es importante señalar que este campo de investigación sigue siendo activo hasta

nuestros días, pues por medio de la síntesis en gases nobles, se busca entender la naturaleza de los cúmulos de plata aislados, así como la influencia de los distintos gases nobles en sus propiedades ópticas [26]. Sin embargo, desde hace dos décadas, ha habido interés por sintetizar de cúmulos de plata en soportes distintos a los gases nobles, como zeolitas, polímeros, tioles, dendrímeros y de manera más reciente en biomoléculas, entre las que destacan ADN, proteínas y péptidos [13].

### 1.2.3. Síntesis de cúmulos de Ag y otros metales nobles en proteínas

La síntesis de cúmulos de plata en soportes de proteínas ha significado la obtención de nanoestructuras con características notables como la compatibilidad con sistemas *in vivo* e *in vitro*. Por otro parte, desde la primer obtención de cúmulos fluorescentes de plata en soportes de proteínas, se evidenció que el método resultaba amigable con el ambiente y de bajo costo. A continuación se revisan algunos antecedentes sobre la síntesis en los principales soportes conformados por proteínas, junto con las aplicaciones que han sido desarrolladas a partir de ellos.

#### Albúmina de suero bovino (BSA)

Los primeros en sintetizar agregados de plata y oro en albúmina de suero bovino, y en general en proteínas, fueron Le Guével *et al.* [27]. Para los agregados de plata, usando  $\text{AgNO}_3$  como precursor y  $\text{NaBH}_4$  como reductor, encontraron que estaban compuestos de 8 átomos con emisión en 685 nm. También reportaron la influencia de la temperatura y exposición a la luz en la concentración de los agregados.

Posteriormente, Mathew *et al.* sintetizaron utilizaron la proteína albúmina de suero bovino (BSA) para sintetizar especies de  $\text{Ag}_{15}$  ( $\text{Ag}_{15}@BSA$ ), con emisión también en 685 nm, observable a simple vista [28], con un rendimiento cuántico de 10.71 % y estabilidad ante variaciones del pH de 1 a 12.

El procedimiento de Mathew *et al.* para sintetizar los cúmulos  $\text{Ag}_{15}$  en BSA consiste en agregar 5 ml de  $\text{AgNO}_3$  al 10 nM, a una solución de BSA, preparada previamente al agregar 250 mg de BSA en 5 mL de agua destilada. A la solución de BSA y  $\text{AgNO}_3$  se le agregan los siguientes reductores: 0.3 mL de NaOH al 1 M, y  $\text{NaBH}_4$  al 10 mM. Estas últimas se agregan por goteo hasta observar que la solución cambie hasta un tono rojizo. El cambio de coloración indica la formación y presencia de los cúmulos de plata. Las fotografías en la parte inferior izquierda de la Figura 1.3 muestran las gráficas de absorción del soporte BSA y los cúmulos  $\text{Ag}_{15}@BSA$ . A la derecha se observa el aspecto

de la solución fluorescente al ser estimulada por luz UV, un esquema de la reacción para la formación de los cúmulos y los espectros de excitación y emisión de  $\text{Ag}_{15}\text{@BSA}$  [28].

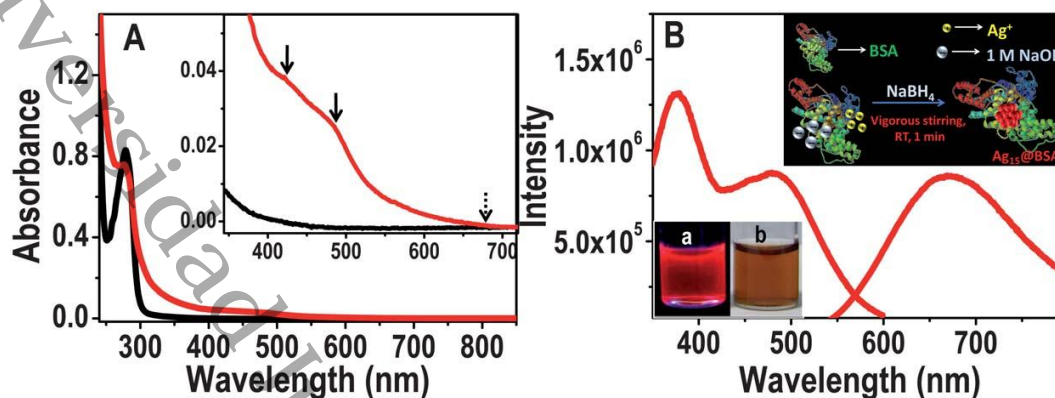


Figura 1.3: (izquierda) Espectros de absorción UV-Vis de BSA (negro) y  $\text{Ag}_{15}\text{@BSA}$  (rojo); en el recuadro ampliado se señalan los picos característicos en 415, 485 y 680 nm (A). (derecha) Espectros de excitación y de fluorescencia del  $\text{Ag}_{15}\text{@BSA}$  y aspecto de la solución bajo iluminación con luz blanca y UV. Imágenes adaptadas de *J. Mater. Chem.* **21**, 11205 (2011), Copyright: The Royal Society of Chemistry.

El grupo de Lu *et al.* utilizando los mismos reactivos, obtuvo agregados de Ag que emitían en 634 nm cuando eran excitados con 400 nm [29]. Además, caracterizaron su tamaño en alrededor de 1.5 nm y desarrollaron una prueba para la detección de iones de  $\text{Hg}^{2+}$  por apagado de fluorescencia, con un límite de detección de hasta  $4.87 \times 10^{-8}$  M.

Otro uso de los agregados de plata para la detección fue el hecho por Patel y Mohanty [30], al detectar  $\text{H}_2\text{O}_2$  hasta un límite de detección de  $50 \mu\text{M}$ . Por su parte Chen *et al.* utilizaron agregados de plata en BSA para detectar la presencia de cistina, homocistina y glutatona, con límites de detección en  $8.1 \times 10^{-8}$  M,  $1.0 \times 10^{-6}$  M y  $1.1 \times 10^{-6}$  respectivamente, utilizando NaOH y  $\text{NaBH}_4$ .

La función del BSA tanto como agente estabilizador y reductor, quedaron de manifiesto con el trabajo de Zhang [31], sintetizando primero nanopartículas y luego, obteniendo los agregados. La emisión de estos cúmulos fue medida en aproximadamente 584 nm (emisión en verde) y fueron usados también para la detección de iones  $\text{Hg}^{2+}$ .

Las aplicaciones de cúmulos de plata en BSA también han permitido hacer pruebas más allá de la detección de iones o compuestos. Por ejemplo, Yu *et al.* sintetizaron agregados de 13 átomos, con emisión en 625 nm bajo excitación de 480 nm, en los que el mecanismo de luminiscencia permitía la creación o excitación de  $\text{O}_2$  en estado singlete, que al transferir energía podían eliminar la célula cancerígena MCF-7 [32]. Por otro lado, el cúmulo  $\text{Ag}_2\text{S}$  en BSA, con emisión entre 500 y 1500 nm (Visible y

NIR), ha sido utilizado como un sensor de impermeabilidad de las paredes de las células Madin-Darby Canine Kidney (MDCK), una línea celular modelo de mamífero utilizada en la investigación biomédica [33].

### Mezcla de proteínas

Un tipo de estudio particularmente interesante ha sido el realizado en ambientes que constan de varias proteínas. Por ejemplo, Shao *et al.* [34] sintetizaron agregados tanto de Au como de Ag en un soporte de membrana de cascarón de huevo de gallina (*Eggshell Membrane*, ESM); con el fin de obtener una plataforma de estado sólido diferente de los soportes acuosos que tradicionalmente se habían estado empleando.

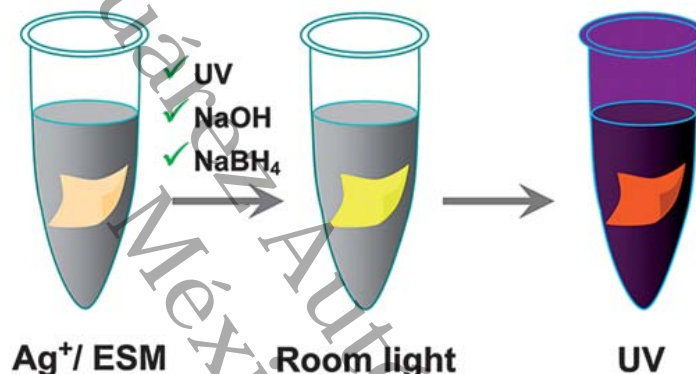


Figura 1.4: Esquema del método de Shao *et al.* para la síntesis de cúmulos fluorescentes de plata en ESM. Imagen adaptada de *J. Mater. Chem.* **21**, 2863 (2011), Copyright: The Royal Society of Chemistry.

El método de Shao *et al.* para la síntesis de cúmulos fluorescentes de plata consta de dos etapas. En la primera se preparan los soportes para la síntesis lo cual inicia con la extracción manual de las membranas de los cascarones. Después, las membranas se desnaturalizan al hervir en agua doble destilada, y finalmente se dejan en agua durante 48 horas a temperatura ambiente. En la segunda etapa, pequeñas muestras de ESM se impregnan del ion precursor al sumergirse en la solución de  $\text{AgNO}_3$  durante cinco minutos. A fin de analizar el efecto de la concentración del precursor en las propiedades ópticas de los cúmulos, se probaron concentraciones de entre 100 mM y 0.2 M. Para la reducción se emplean cualquiera de los agentes reductores siguientes: NaOH al 2 M mediante sumersión durante 30 minutos,  $\text{NaBH}_4$  al 1 mM durante un tiempo de 12 a 24 horas; o por exposición durante 6 horas a luz UV de 365 nm, proveniente de una lámpara de mercurio de 6W de potencia, ubicada a una distancia de 1 cm. De acuerdo a lo encontrado, el reductor que dio los mejores resultados fue el NaOH. Un



esquema de la segunda etapa del método de Shao *et al.* se muestra en la Figura 1.4, mientras que el producto de este método de síntesis se puede observar en la Figura 1.5. Bajo una iluminación de 365 nm, las muestras de ESM tienen una emisión en color verde, mientras que aquellas que contienen cúmulos de plata (Ag-ESM) muestran una coloración rojiza. Al caracterizar ópticamente las Ag-ESM, se encuentra que el espectro de emisión, estimulado por una longitud de onda de excitación de 480 nm, está centrado en 702 nm [34].

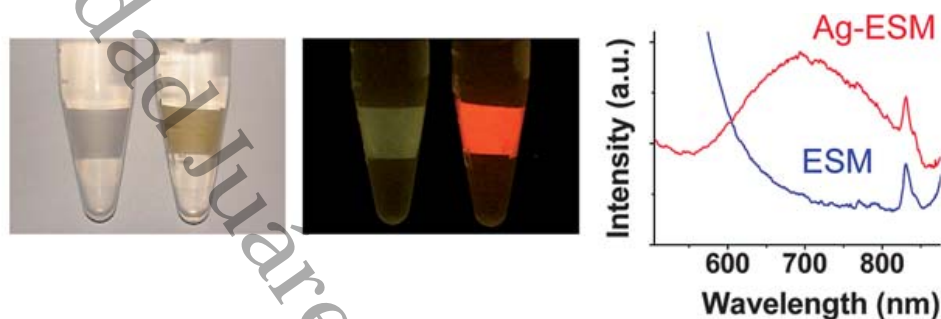


Figura 1.5: ESM bajo luz blanca (izquierda), con emisión fluorescencia debido a la presencia de cúmulos de plata (centro) y espectros de fluorescencia del soporte ESM y Ag-ESM (derecha). Imágenes adaptadas de *J. Mater. Chem.* **21**, 2863 (2011), Copyright: The Royal Society of Chemistry.

Con su método de síntesis, Shao *et al.* probaron la eficiencia del NaOH y de la fotorreducción en la formación de agregados y obtuvieron una especie de papel sensor con el que pudieron detectar concentraciones de  $\text{Hg}^{2+}$  mediante su inmersión en agua con presencia del metal. La metodología de síntesis fue repetida también con trozos de capullo de oruga y plumas de pato para la síntesis de agregados de Au. Es importante mencionar que la interacción de proteínas como queratina, colágeno y elastina presentes en estos soportes son los que permitieron éxito en la obtención de los agregados [34].

Otro estudio de este tipo fue el realizado por Li *et al.* Este grupo obtuvo cúmulos fluorescentes de Au y Pt con un método que consistió en agregar un agente precursor de manera directa ( $\text{HAuCl}_4$  o  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$ ), en 5 mL de clara de huevo diluida en agua en una proporción 1:1. Para todos los casos, la reducción se hizo al agregar 1 mL de NaOH al 1.0 M. Un aspecto que destaca en el trabajo de Li *et al.* es que pudo obtener cúmulos de Au luminiscentes en tres tonalidades distintas al variar la concentración molar del precursor  $\text{HAuCl}_4$ ; al 10.0 mM obtuvo emisión en tonalidad roja, 5.0 mM propició luminiscencia en tono rosa, y al 1.0 mM en color azul. Por último, a través de un procedimiento de enfriamiento obtuvo muestras en polvo sin perder la capacidad de emisión de fluorescencia. Un aspecto de las soluciones y muestras en polvo con cúmulos, luminiscentes se muestra en la Figura 1.6 [35].

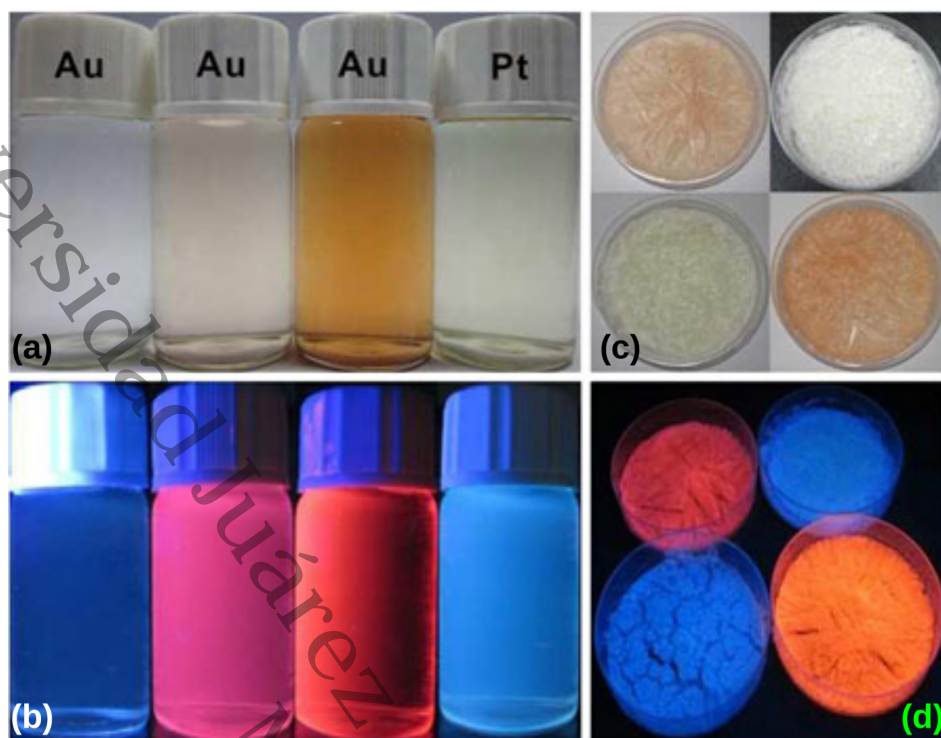


Figura 1.6: Cúmulos fluorescentes de Au y Pt sintetizados por Li *et al.* Muestras del sistema cúmulo-proteína en solución (a) y forma sólida (b) iluminadas por luz blanca. Fluorescencia emitida por las muestras en solución (b) y en forma sólida (d) bajo una longitud de onda de excitación de 365 nm. Imágenes adaptadas de *Nanoscale Res. Lett.* **8**, 1 (2013), Copyright: Springer Open.

Los métodos descritos hasta ahora sirvieron como referencia para desarrollar la metodología que se propone en este trabajo. Se tomó en cuenta la eficiencia del  $\text{AgNO}_3$  como precursor para la obtención de los cúmulos de plata, y se partió de las concentraciones y proporciones sugeridas en los trabajos previos, hasta encontrar las que fueron las indicadas para nuestro procedimiento de síntesis.

### Otras proteínas y enzimas

En esta dirección hay un trabajo notable en el que Yu y Dickson [36] lograron la síntesis de agregados de Ag en la proteína Nucleolín como medio intracelular que consta de más 700 aminoácidos. Los autores lograron teñir algunas células gracias a la emisión obtenida que iba en el rango de 500 hasta 700 nm, al excitar con emisión en el azul [36]. Sin embargo, mencionan que la estabilidad no era la deseada y observaron que la fluorescencia presentaba una duración de alrededor de 3 días.

Por otra parte, Narayanan y Pal sintetizaron agregados de aproximadamente 1 nm en la enzima CHT ( $\alpha$ -cimotripsina bovina pancreática) reduciendo con  $\text{NaBH}_4$  y obte-

niendo emisión en 685 nm cuando había excitación con luz azul de 500 nm. Es notable que en este trabajo, se utilizó el Modelo *Jellium* Esférico para hallar una estimación del tamaño de los agregados en base a la energía de emisión [37].

Actualmente el conocimiento sobre las estructuras y propiedades fisicoquímicas de cúmulos metálicos, y la exploración de sus potenciales aplicaciones, se ha obtenido de investigaciones con enfoques experimentales y teóricos. A través del desarrollo y refinamiento de métodos de síntesis se pueden obtener cúmulos precisos de alta pureza, cuyas características pueden ser aprovechadas para aplicaciones específicas [12]. Los métodos de síntesis se complementan con numerosas herramientas de análisis para conocer la morfología y composición de las estructuras obtenidas, así como para caracterizar sus propiedades ópticas, magnéticas y catalíticas. En complemento a la investigación experimental, los modelos teóricos permiten elucidar sistemas de interés, así como diseñar o predecir otros nuevos con características óptimas para aplicaciones específicas.

El estudio de los cúmulos fluorescentes de plata fue abordado desde el año 2015 en la DACB-UJAT con el diseño de un método de síntesis propio, utilizando como soporte de membrana de cascarón de huevo de gallina (*Eggshell Membrane*, ESM). Las principales ventajas de las muestras obtenidas en esos primeros estudios fueron el bajo costo, debido a la alta disponibilidad de los materiales de síntesis, y la rapidez en la obtención del producto deseado. En este trabajo pionero también se propuso un modelo teórico simple basado en una partícula en un pozo de potencial cuadrado infinito. Como resultado de este trabajo se encontró una correspondencia entre el tamaño reportado por diversos autores de los cúmulos (aproximadamente 2 nm) y las longitudes de onda de excitación y fluorescencia observadas en la caracterización experimental [38].

### 1.3. Objetivo general

Este trabajo tiene como objetivos generales abordar el estudio de los cúmulos fluorescentes de plata soportados en proteínas desde las perspectivas experimental y teórica:

1. En la perspectiva experimental el objetivo es desarrollar un método innovador, rápido, sencillo y de bajo coste para sintetizar cúmulos fluorescentes de plata soportados en albúmina de huevo.
2. En el plano teórico-computacional el objetivo es estudiar las propiedades estructurales y ópticas de los complejos  $Ag_n$ -Tyr ( $n = 3 - 12$ ) desde un punto de vista fundamental como una aproximación al estudio de los sistemas reales observados en la síntesis de cúmulos fluorescentes.

## 1.4. Objetivos específicos

Tomando en cuenta los objetivos generales, a continuación se enlistan los objetivos específicos experimentales y teóricos.

### Objetivos experimentales

1. Desarrollar un método de síntesis de cúmulos de plata, soportados en una matriz de proteínas en solución acuosa, con emisión de fluorescencia a simple vista.
2. Diseñar un arreglo experimental para la caracterización de la longitud de onda de la señal de fluorescencia emitida por los cúmulos plata sintetizados.
3. Caracterizar las propiedades ópticas de los cúmulos sintetizados (absorción UV-Vis y espectroscopia de fluorescencia).
4. Caracterizar el tamaño de los cúmulos mediante la técnica de microscopía HR-TEM.
5. Comparar las características de los cúmulos fluorescentes de plata obtenidos con los resultados reportados en la literatura.

### Objetivos teórico-computacionales

1. Determinar las estructuras de menor energía para los cúmulos  $Ag_n$  ( $n = 3 - 12$ ) y complejos coordinados  $Ag_n$ -Tyr ( $n = 3 - 12$ ).
2. Estimar los descriptores de estabilidad estructural denominados Potencial Vertical de Ionización y Afinidad Electrónica Vertical para los cúmulos y complejos coordinados.
3. Determinar las interacciones no-covalentes presentes en los complejos coordinados.
4. Calcular los espectros de absorción UV-Vis para los cúmulos y complejos coordinados.
5. Comparar las propiedades de los cúmulos y complejos coordinados con los reportados en la literatura.

# Síntesis y caracterización de cúmulos de plata en solución de albúmina de huevo

---

## 2.1. Materiales y métodos

### 2.1.1. Síntesis

El método con el que fueron sintetizados los cúmulos fluorescentes de plata fue inspirado en tres trabajos previos: La síntesis de cúmulos fluorescentes de plata soportados en la membrana de cascarón de huevo de gallina (*Eggshell Membrane*, ESM), desarrollado por Shao *et al.* [34]; la obtención de cúmulos fluorescentes de  $\text{Ag}_{15}$  en una suspensión acuosa de albúmina de suero bovino, realizado por Mathew *et al.* [28]; y el método desarrollado por Li *et al.* para sintetizar cúmulos fluorescentes de Au y Pt en una mezcla de proteínas (clara de huevo de gallina). Los tres métodos se caracterizan por ser más rápidos que otros llevados a cabo y en el caso de los de Shao *et al.* y Li *et al.*, por ser de bajo costo, al utilizar materiales de alta disponibilidad.

Para realizar la síntesis se requirieron los siguientes reactivos: Agua bi-distilada marca RMP S.A. de C.V., Albúmina de huevo en polvo ProWinner,  $\text{AgNO}_3$  cristalizado J.T. Baker, NaOH comercial Dimeli,  $\text{NaBH}_4$  Sigma-Aldrich y ácido nítrico al 15%.

El método consiste de dos etapas. En la primera se obtiene el soporte de proteínas o solución de albúmina sobre el que se sintetizan los cúmulos de plata. La concentración de esta solución es de 5 mg/mL, de manera que para la preparación de 40 mililitros de solución, se colocaron 200 mg de albúmina en polvo en el vaso de precipitado y se vertió agua destilada hasta completar el volumen requerido. Esta mezcla se agitó vigorosamente durante 20 minutos a una temperatura de 50 °C sobre un agitador magnético Thermo Fisher Scientific SP13101033Q. La mezcla obtenida fue centrifugada durante

5 minutos a 600 rpm para sedimentar los componentes más pesados. Con la albúmina centrifugada se preparó una solución acuosa al 40 %, la cual es la solución final de albúmina de huevo para la síntesis de los cúmulos. Los reactivos restantes,  $\text{AgNO}_3$  al 10 mM,  $\text{NaOH}$  al 1 M y  $\text{NaBH}_4$  al 10 mM fueron preparados de la manera habitual, mediante disolución y agitación en los volúmenes proporcionales de agua destilada a una temperatura de  $40^\circ\text{C}$  para facilitar la disolución.

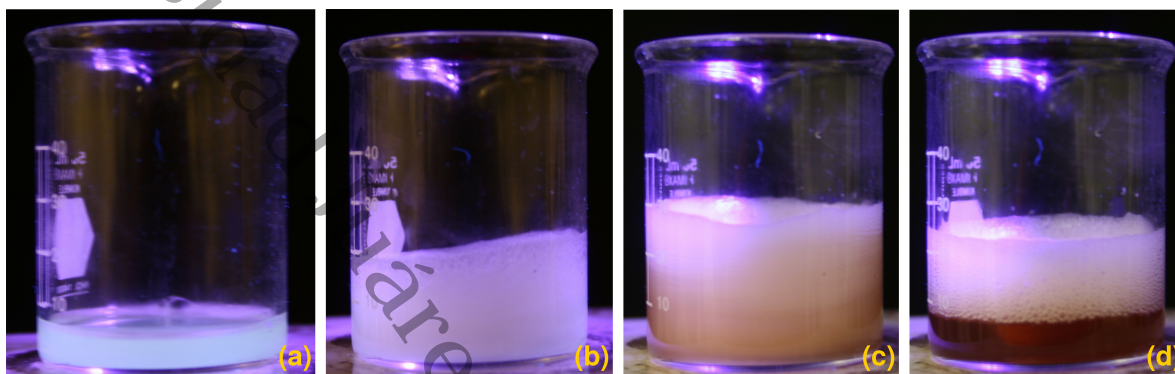


Figura 2.1: Síntesis de cúmulos de plata: albúmina de huevo en reposo (a) y en agitación (b). Albúmina con todos los reactivos agregados y en agitación (c). Aspecto final de la solución con cúmulos de Ag (d). Durante toda la reacción la solución fue iluminada con luz UV.

Una vez que se tienen los reactivos, la síntesis de los cúmulos fluorescentes se obtiene al colocar 5 mL de la solución de albúmina en el vaso de precipitado en agitación bajo la iluminación de una lámpara LED de 394 nm. A continuación se agregan uno por uno, mediante goteo, los demás reactivos en el orden siguiente: 1 mL del  $\text{AgNO}_3$  a 10 mM, 0.3 mL de  $\text{NaOH}$  a 1 M y 0.05 mL de  $\text{NaBH}_4$  a 10 mM. Durante el tiempo de reacción, el cual lleva de 3 a 4 minutos, se observa el cambio de coloración de la solución, desde un color verde claro bajo la iluminación de la lámpara a uno rojizo, el cual es el indicador de la presencia de los cúmulos de plata en la solución. Cuando la solución alcanza esta coloración, se agregan dos gotas de  $\text{HNO}_3$  para detener la reacción de reducción y de este modo conservar los cúmulos evitando la aglomeración y formación de nanopartículas no fluorescentes. Después de la síntesis, la solución se deposita en viales para su conservación. El aspecto que toma la solución durante la reacción se observa en la Figura 2.1.

### 2.1.2. Espectrofluorimetría

La caracterización del espectro de emisión de los cúmulos de plata requirió de la construcción de un arreglo óptico de fluorescencia. En la Figura 2.2 se muestra el diagrama del arreglo diseñado.

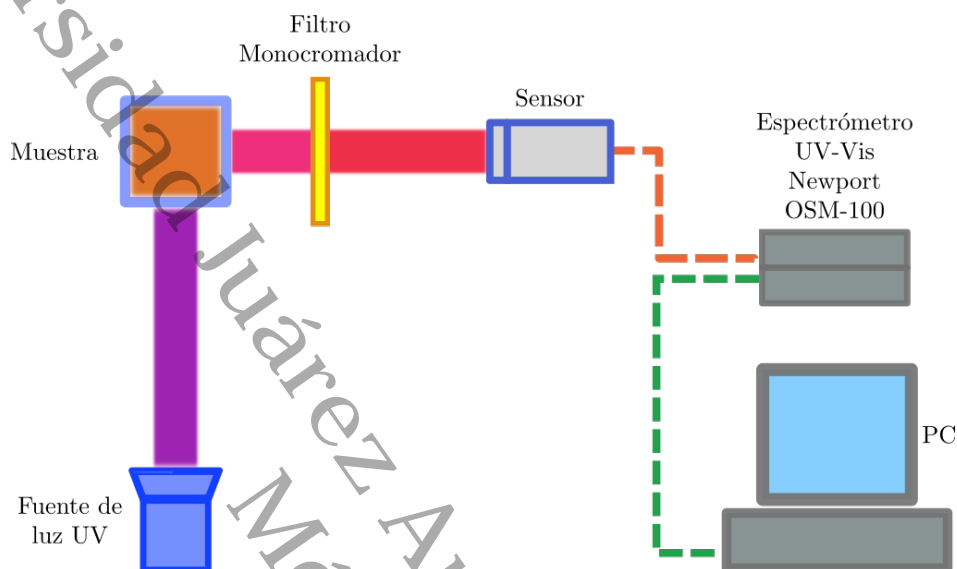


Figura 2.2: Diagrama de arreglo óptico para la caracterización de la fluorescencia.

Una muestra de la solución de albúmina con cúmulos recién sintetizados fue colocada en una cubeta de fluorescencia de cuarzo. A fin de aislar la muestra de cualquier otra fuente luminosa distinta de la fuente excitadora y de su misma emisión, se construyó un módulo de forma cúbica para su colocación. En una cara del módulo se colocó la lámpara UV y en una cara adyacente se adaptó el sensor receptor de la luz emitida. Entre la cubeta y el sensor fue colocado un filtro monocromador para evitar que las frecuencias correspondientes a la lámpara fueran captadas por el sensor. La cubeta se mantenía en el centro del módulo; de esta manera la fuente excitadora y el sensor recolector estaban colocados de manera que formaban un ángulo recto entre ellos, tal como se observa en la Figura 2.3.

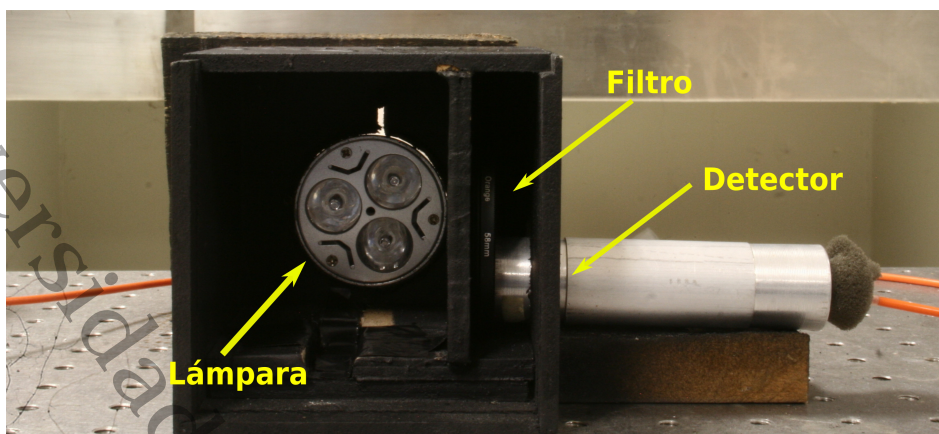


Figura 2.3: Módulo para la colocación de la cubeta y caracterización de la muestra.

Después de la colocación de la cubeta dentro del módulo, este era cerrado en su parte frontal durante las mediciones. La señal de emisión recibida por el sensor de fibra óptica era analizada por un espectrómetro óptico UV-Vis Newport OSM-100, el cual era conectado vía USB a una computadora Acer Aspire con sistema operativo Windows XP. Los parámetros de medición, visualización del espectro obtenido y obtención de los datos se controlaban con el software OSM-Analyst propio del espectrómetro. En la Figura 2.4 se observa el arreglo óptico descrito anteriormente.

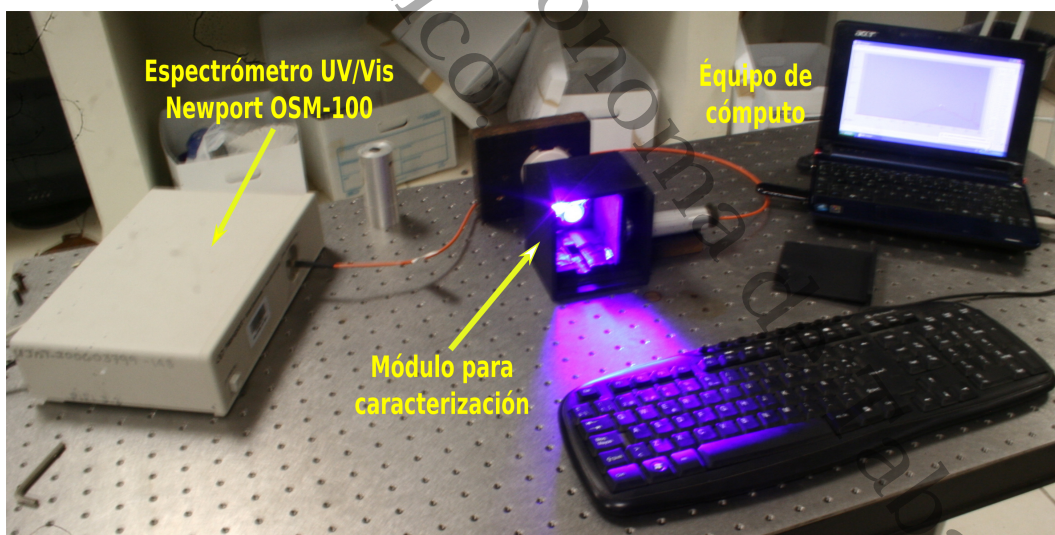


Figura 2.4: Disposición de los instrumentos de iluminación, sensado y recolección de los datos en la caracterización de fluorescencia de los cúmulos en solución de albúmina.



### 2.1.3. Espectroscopía de absorción UV-Vis

El principio que rige la caracterización de los espectros de absorción es relativamente simple: un haz luminoso de longitud de onda  $\lambda$  e intensidad inicial  $I_\lambda^0$  entra en una muestra del material a estudiar (Figura 2.5).

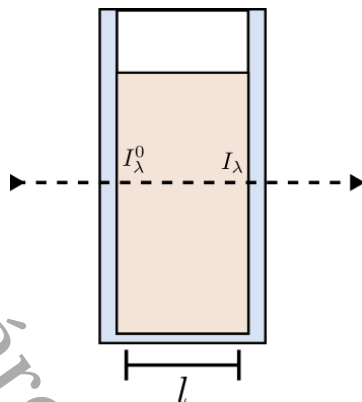


Figura 2.5: Representación de la muestra a caracterizar por Espectroscopia UV-Vis.

Debido a la composición y concentración molar de la muestra, y a la longitud de camino óptico recorrido al atravesarla, el haz atenuado abandona la muestra con una intensidad  $I_\lambda$ , en donde  $I_\lambda^0 > I_\lambda$ . La magnitud que relaciona a ambas intensidades es la *transmitancia*  $T(\lambda)$ , definida como:

$$T(\lambda) = \frac{I_\lambda^0}{I_\lambda}. \quad (2.1)$$

En vías de establecer una relación entre la atenuación del haz y la composición y concentración de la muestra se define la *absorbancia*  $A(\lambda)$  como el logaritmo de base diez del cociente entre las intensidades del haz entrante y del saliente:

$$A(\lambda) = \log \frac{I_\lambda^0}{I_\lambda} = -\log T(\lambda). \quad (2.2)$$

La ley de Beer-Lambert relaciona a las intensidades a través de la absorbancia con el coeficiente molar de absorción  $\epsilon(\lambda)$ , así como con la longitud de camino óptico  $l$  dentro de la muestra y la concentración molar  $c$  de la misma:

$$A(\lambda) = \epsilon(\lambda)cl, \quad (2.3)$$

en donde  $\epsilon(\lambda)$  expresa la habilidad de una molécula de absorber luz en un solvente dado [18]. La relación entre  $\epsilon(\lambda)$  y la fuerza de oscilador  $f$  está dada por:

$$f = 2303 \frac{m_e c_0^2}{N_A \pi e^2 n} \int \epsilon(\bar{\nu}) d\bar{\nu}, \quad (2.4)$$

en donde  $m_e$  y  $e$  son la masa y carga del electrón respectivamente,  $c_0$  es la velocidad de la luz,  $n$  el índice de refracción,  $N_A$  el número de Avogadro y  $\bar{\nu}$  el número de onda.

Para la caracterización del espectro de absorción UV-Vis de los cúmulos en la solución de albúmina, la muestra fue preparada al hacer una solución al 40 % en volumen de la solución con cúmulos, disuelta en agua destilada. La absorción de la albúmina sin cúmulos también fue caracterizada. Todas las caracterizaciones de absorción UV-Vis se realizaron en un espectrofotómetro UV-Vis Varian Cary 300 alojado en el Laboratorio de Nanomateriales Catalíticos Aplicados al Desarrollo de Fuentes de Energía y Remediación Ambiental del CICTAT, perteneciente a la División Académica de Ciencias Básicas de la UJAT (Figura 2.6).

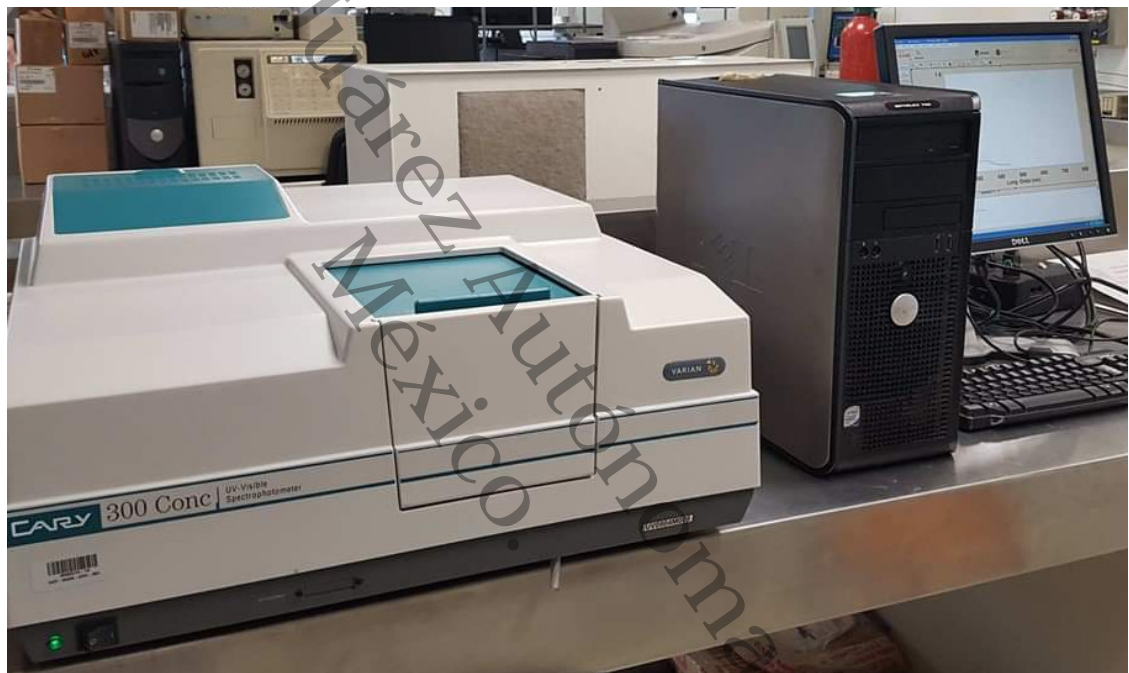


Figura 2.6: Espectrofotómetro para caracterización UV-Vis Varian Cary 300 y PC.

#### 2.1.4. Microscopía HRTEM

Para la estimación de la distribución de los cúmulos sobre las muestras, exploración de la morfología, tamaño y posible estructura cristalina, se utilizó la técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución (HRTEM). Un microscopio HRTEM esencialmente está formado por una columna en el que en su parte superior se encuentra la fuente de electrones, un filamento de donde son desprendidos los electrones que atravesarán la muestra, lentes magnéticas que dirección los haces de electrones,

detectores para la recepción de los electrones reflejados y/o emitidos por la muestra a estudiar y una pantalla en la que se forman las imágenes formadas por los electrones reflejados y/o. La fuente de electrones puede ser tipo termo-iónica o de emisión de campo. Cuando los electrones salen de la fuente, son acelerados al aplicarles una diferencia de potencial de alta intensidad, y el haz es dirigido hacia la muestra a través de las lentes magnéticas. Diferentes efectos pueden surgir cuando los electrones llegan a la muestra: el paso de los electrones a través de la muestra, la retrodispersión (que algunos electrones reboten en la muestra), o que el choque del haz propicie el desprendimiento de electrones de la misma muestra (desprendimiento de electrones secundarios). La medición de la energía de éstos es la que permite crear una imagen de la morfología de la muestra. En nuestro análisis se empleó un microscopio JEOL JEM 2100 de emisión termo-iónica con filamento de  $\text{LaB}_6$ , el cual está alojado en el del Laboratorio de Investigación y Microscopía Electrónica Avanzada del Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología Aplicada de Tabasco, UJAT-DAIA, el cual se muestra en la Figura 2.7.



Figura 2.7: Microscopio HRTEM JEOL JEM 2100.

La preparación de la muestra consistió en la deposición de una gota de la solución con cúmulos de plata, previamente disuelta al 50 % en agua destilada, sobre una rejilla de cobre con recubrimiento de grafeno de 3.05 mm de diámetro. Posteriormente, el secado de la muestra se realizó por evaporación a temperatura ambiente durante 24 horas. Para la toma de las micrografías, el microscopio fue operado a 200 kV. Las técnicas

utilizadas fueron TEM en campo claro y difracción de electrones de área selecta. La magnificación máxima en modo TEM fue de 1500000X.

## 2.2. Resultados experimentales

### 2.2.1. Emisión de fluorescencia

En la Figura 2.8 se muestra el aspecto que tiene la solución de albúmina en la que han sido sintetizados los cúmulos de plata. El fenómeno de emisión de fluorescencia es evidente a simple vista, lo cual indica la presencia de los referidos cúmulos.



Figura 2.8: Solución fluorescente de albúmina con cúmulos de plata. Bajo luz blanca (izquierda) e iluminada por una lámpara LED UV de 412 nm (derecha).

Otro aspecto de la solución de albúmina con dispersión de cúmulos de plata se observa en la Figura 2.9. Las muestras de la figura se obtuvieron al depositar unas gotas de la solución sobre un portaobjetos de vidrio y dejando evaporar por 24 horas a temperatura ambiente, siguiendo el método de preparación de muestras para análisis por microscopía HRTEM. Se pudo confirmar que existe estabilidad de la solución y esta contiene cúmulos fluorescentes después de la deposición.

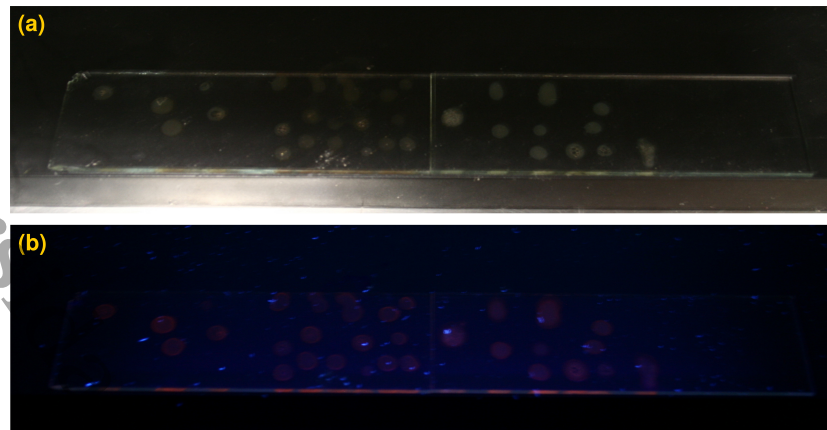


Figura 2.9: Solución de cúmulos de plata fluorescentes depositados y secados sobre un portaobjetos de vidrio: Bajo luz blanca (a) e irradiadas por luz UV (b).

### 2.2.2. Espectros de fluorescencia y de absorción UV-Vis

En la Figura 2.10 se muestran los espectros de absorción UV-Vis (línea roja) y de emisión de fluorescencia (línea morada) de los cúmulos de plata sintetizados en albúmina de huevo. El espectro de emisión muestra su máximo en 692.3 nm, mientras que el máximo de absorción se ubica en 276.0 nm.

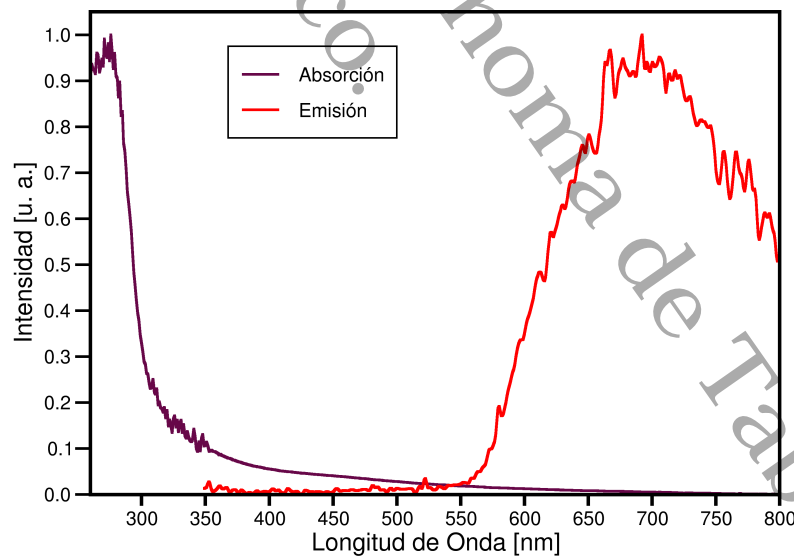


Figura 2.10: Espectros normalizados de absorción UV-Vis y de emisión de fluorescencia.

Estos resultados los podemos comparar con los obtenidos por los métodos que inspiraron nuestro diseño experimental para la síntesis. En la Figura 1.5 del Capítulo 1 se muestra el aspecto que tiene una muestra de membrana de cascarón de huevo de gallina (ESM) sobre el que se han sintetizado cúmulos fluorescentes de plata tanto en luz blanca como emitiendo bajo la excitación UV. El espectro de emisión de los cúmulos fluorescentes sintetizados por este método se centró en 702 nm; lo cual representa una diferencia de 1.4% respecto de nuestro resultado.

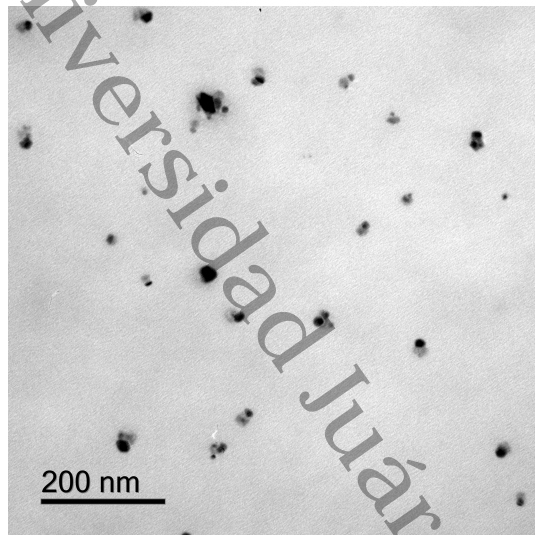
Nuestros resultados también son comparables con los obtenidos por Mathew *et al.* [28]. El espectro de UV-Vis de la solución de cúmulos de plata soportados en albúmina de suero bovino ( $\text{Ag}_{15}\text{@BSA}$ ), sintetizados por este grupo, mostró señales características en 279, 380, 415 y 485 nm. La coincidencia en la obtención de una señal cercana a los 280 nm, como en nuestro caso (276 nm), puede asociarse a la presencia de cúmulos de plata independientemente de la diferencia de los soportes utilizados en cada caso. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que existen similitudes en la composición de ambos soportes; por ejemplo la abundancia de residuos de cisteína, tanto en la BSA como en la ovalbúmina, abundante en nuestro soporte.

Por otro lado, nuestra emisión difiere solo en un 2.4% respecto de  $\text{Ag}_{15}\text{@BSA}$ , cuyo emisión se centró en 685 nm. Además, nuestra longitud de onda para la emisión máxima (692.3 nm) difiere en un 5.2% de la emisión en 720 nm reportada por Sych *et al.* para sus cúmulos de plata sintetizados en ovalbúmina, dada una longitud de onda de excitación de 465 nm [39].

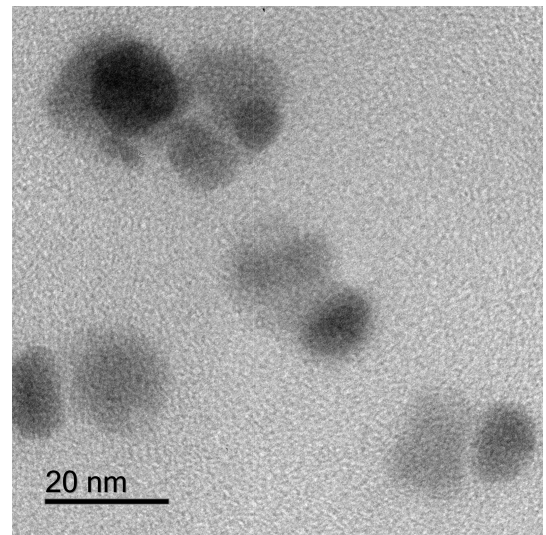
### 2.2.3. Estimación del tamaño de cúmulo por HRTEM

En la Figura 2.11 se muestran las micrografías sobre la muestra a distintas magnificaciones, obtenidas del análisis por HRTEM. En la Figura 2.11(a) se observa la distribución de los agregados sobre un área de aproximadamente  $0.8 \mu\text{m}^2$ . En la Figura 2.11(b) se muestran estructuras con tamaños de hasta aproximadamente 20 nm. En esta imagen las muestras más oscuras son las que se encuentran de manera más superficial, mientras que aquellas más claras se encuentran a mayor profundidad sobre el soporte de proteínas, el cual tiene la cualidad de ser altamente viscoso y denso. En la Figura 2.11(c) se tiene uno de los agregados con mejor definición, que presenta una forma hexagonal con un ancho menor de 10 nm. En la Figura 2.11(d) se compara la nanopartícula de la Figura 2.11(c) con una de menor tamaño. Se cree que las nanopartículas más pequeñas son las responsables del efecto de fluorescencia a mayores longitudes de onda que puede observarse en el espectro caracterizado, esto de acuerdo a lo reportado en la literatura. Asimismo, se considera que nanopartículas con tamaños similares al de la Figura 2.11(d), difíciles de detectar, pueden estar dispersos en toda la matriz de

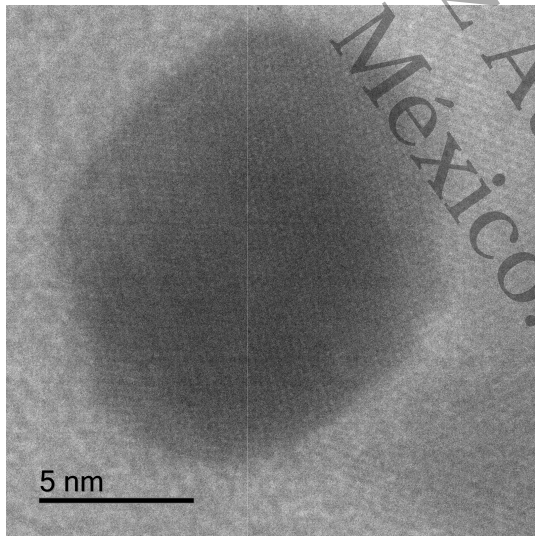
proteínas.



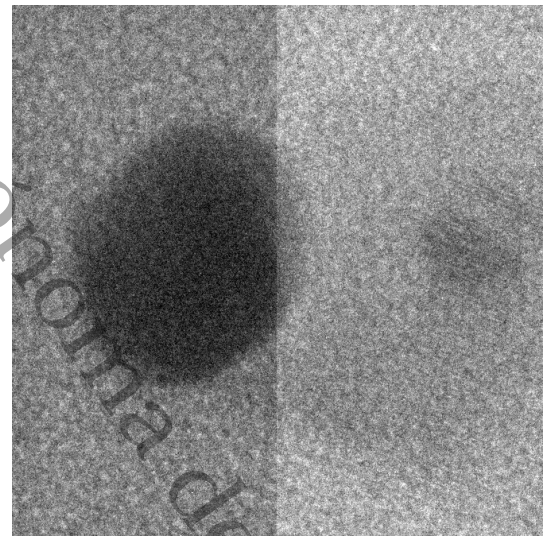
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 2.11: Imágenes de los agregados soportados en albúmina de huevo, obtenidas por la técnica de HRTEM.

# Metodología y resultados teóricos

---

En este capítulo se presenta la metodología utilizada y los resultados estructurales y ópticos para los cúmulos desnudos de  $Ag_n$  y sus correspondientes complejos  $Ag_n$ -Tyr ( $n = 2 - 12$ ). Los resultados incluyen descriptores de estabilidad y reactividad tales como energías de adsorción, potenciales verticales de ionización y afinidad electrónica. Las estructuras y descriptores encontrados se comparan con los reportados experimentalmente, así como los calculados por otros grupos. El resultado más relevante es la determinación de los espectros de absorción UV-Vis para los complejos coordinados.

## 3.1. Metodología

### 3.1.1. Búsqueda del mínimo global

Las búsquedas de los mínimos globales para los cúmulos desnudos  $Ag_n$  ( $n = 3 - 12$ ) y los respectivos complejos coordinados fueron realizados mediante el código GLOMOS (*Global Optimization of MOlecular Systems*) [40]. GLOMOS es un código escrito en Python que implementa distintas estrategias de optimización global para explorar la superficie de energía potencial (PES: *Potential Energy Surface*) de cúmulos atómicos y moleculares. En este código, la energía, como función objetivo, se evalúa a través de una interfaz a códigos de estructura electrónica tales como Gaussian. Para obtener los mínimos globales se eligió una estrategia de optimización estocástica, que consiste en generar estructuras de prueba con coordenadas atómicas aleatorias pero asegurando que todos sus átomos cumplan con un criterio de proximidad que les permita formar estructuras conectadas mediante enlaces. Con el fin de evitar que la búsqueda quede atascada en un embudo morfológico en la PES, GLOMOS genera estructuras con diferentes morfologías bien diferenciadas, tales como lineal, esférica, disco, entre otras. El número de estructuras iniciales a generar para cada cúmulo  $Ag_n$  fue  $40 \times n$ , de manera que para obtener el mínimo global de  $Ag_{10}$  se generaron 400 estructuras de prueba.



Con el fin de mejorar el desempeño general de sus heurísticas de optimización global, GLOMOS ha implementado un algoritmo denominado USR (*Ultrafast Shape Recognition*) con descriptores extendidos ponderados en masa [41] que identifica y discrimina las configuraciones similares. En este algoritmo modificado, la similitud entre dos moléculas  $i$  y  $j$  es cuantificada a través del parámetro  $S_{ij}$ , el cual toma valores cercanos a 1.0 si las moléculas son similares y cercanos a 0.0 si estas son diferentes. Para todas las búsquedas llevadas a cabo, el criterio de similitud fue fijado en  $S_{ij} = 0.95$ .

A fin de obtener los mínimos globales, la optimización de las estructuras iniciales correspondientes a cada cúmulo  $Ag_n$  se llevó a cabo en dos etapas. En la primera todas las estructuras de prueba fueron optimizadas sin restricción de simetría usando el funcional híbrido de Becke de tres parámetros con la correlación no-local propuesta por Perdew y Wang, B3PW91 [42], así como el conjunto base doble- $\zeta$  de *Los Alamos National Laboratory*, conocida como LanL2DZ [43, 44]. Esta base atómica es del tipo potencial central efectivo (ECP) y ha sido ampliamente utilizada para modelar átomos metálicos. La combinación B3PW91/LanL2DZ ha demostrado ser efectiva en el cálculo de propiedades estructurales y electrónicas de cúmulos de plata, con resultados en buen acuerdo a los reportados experimentalmente [45].

Después de la optimización de las estructuras iniciales en la primera etapa, se aplicó un proceso de discriminación por similitud. Las estructuras no discriminadas en el proceso fueron llevadas a una segunda etapa de optimización utilizando el funcional B3PW91 y la base atómica Def2-TZVP [46, 47]. Este conjunto base incluye valencia triple- $\zeta$  con una función de polarización. Las multiplicidades de espín más altas no fueron exploradas debido a que en cúmulos pequeños de plata, el estado de espín más bajo se encuentra en el estado base [25].

Aunado a la optimización, a cada estructura se aplicó un análisis de frecuencias armónicas a fin de verificar un mínimo local estacionario. El grupo de simetría de cada mínimo global resultante fue determinado usando el software VMD (*Visual Molecular Dynamics*) [48], el cual permite crear animaciones, estructuras moleculares y representar descriptores moleculares.

Para determinar los mínimos globales de los complejos  $Ag_n$ -Tyr ( $n = 3-12$ ) se eligió una estrategia estocástica, donde se generaron estructuras de prueba fijando el mínimo global del correspondiente cúmulo  $Ag_n$  en el centro de un sistema coordinado. Para cada cúmulo en fase gas  $Ag_n$ , fijado de esta manera, se generaron  $30 \times n$  estructuras de prueba cambiando aleatoriamente los sitios de unión y orientación espacial de la

molécula de tirosina en sus ángulos de Euler:

$$\mathbf{R} = \begin{bmatrix} cy \cdot cz & -cy \cdot sz & sy \\ cx \cdot sz + cz \cdot sy \cdot sy & cx \cdot cz - sy \cdot sy \cdot sz & -cy \cdot sy \\ sy \cdot sz - cx \cdot cz \cdot sy & cz \cdot sy + cx \cdot sy \cdot sz & cx \cdot cy \end{bmatrix}; \quad \begin{cases} cx = \cos(\theta_x), & sx = \sin(\theta_x) \\ cy = \cos(\theta_y), & sy = \sin(\theta_y) \\ cz = \cos(\theta_z), & sz = \sin(\theta_z) \end{cases}$$

donde  $\mathbf{R}$  es la matriz de rotación tridimensional que representa la transformación de coordenadas desde el sistema original al sistema rotado y  $\theta_x$ ,  $\theta_y$  y  $\theta_z$  son los ángulos de Euler, generados aleatoriamente.

Todas las estructuras iniciales generadas fueron optimizadas al nivel de teoría B3PW91+D3/Def2-TZVP, incluyendo el esquema de dispersión de Grimme D3 [49].

### 3.1.2. Espectro de absorción

Los cálculos de estados excitados para la determinación del espectro de absorción UV-Vis fueron hechos sobre los mínimos globales tanto de los cúmulos en fase gas  $Ag_n$  como de los complejos coordinados  $Ag_n$ -Tyr en el formalismo de la Teoría del Funcional de la Densidad Dependiente del Tiempo (TD-DFT), al nivel de teoría B3PW91/Def2-TZVP, incluyendo la corrección a la dispersión D3 de Grimme [49].

Los datos para la construcción de las gráficas de los espectros de absorción UV-Vis fueron extraídos usando la interfaz GABEDIT [50]. Cada espectro así obtenido se reduce a una lista de pares ordenados  $(\nu_i, f_i)$  donde el índice  $i$  corre desde la primera hasta la última excitación electrónica ( $n$ ),  $\nu_i$  es la energía de excitación y  $f_i$  la fuerza del oscilador adimensional para cada excitación electrónica.

Estos datos fueron ajustados a una función continua descrita por la combinación lineal de funciones Lorentzianas:

$$\varepsilon(\nu) = A \sum_{i=1}^n \frac{f_i}{\sigma} \exp \left[ - \left( \frac{\nu - \nu_i}{\sigma} \right)^2 \right], \quad (3.1)$$

donde  $\nu$  denota la energía de excitación como variable continua,  $A$  es una constante elegida de tal manera que  $\max[\varepsilon(\nu)] = \max[f_i]$  y  $\sigma$  es la desviación estándar relativa al ancho de la banda simulada. En este trabajo usamos  $\sigma = 0.05$  eV para todos los casos.

### 3.1.3. Análisis de la interacción no-covalente

El análisis de Interacción No-Covalente (NCI) fue realizado para todos los complejos al nivel de teoría B3PW91-D3/DZP. Los mapeos de las regiones de Interacción No-Covalente fueron visualizados usando los programas NCIPLLOT [51, 52] y VMD [48]. Todos los cálculos de optimización, de energía de punto simple y de estados excitados se realizaron con el software Gaussian 16 [53]. Los cálculos fueron ejecutados en los equipos de cómputo de alto rendimiento JUCHIMAN alojado en la DACB-UJAT y KUKULCAN alojado en el CINVESTAV Unidad-Mérida.

### 3.1.4. Descriptores moleculares

#### Potencial de ionización y afinidad electrónica verticales

Los descriptores Potencial Vertical de Ionización (vIP) y Afinidad Electrónica Vertical (vEA) estiman la estabilidad relativa en los cúmulos al incrementar el número de átomos de plata. Para un sistema neutro, el vIP se define como la diferencia de energía entre los estados catiónico y neutro en la geometría de equilibrio. Por otra parte, si la energía del estado aniónico es usada en lugar de la del catión correspondiente, esta diferencia es la vEA. De esta manera, definimos el vIP y la vEA para los cúmulos  $Ag_n$  de la siguiente forma:

$$vIP[Ag_n] = E[Ag_n^+] - E[Ag_n], \quad (3.2)$$

$$vEA[Ag_n] = E[Ag_n] - E[Ag_n^-]. \quad (3.3)$$

También es posible analizar la estabilidad estructural de los complejos coordinados por medio del vIP y la vEA; de manera análoga a los cúmulos en fase gas. Para los complejos  $Ag_n$ -Tyr, definiremos el VIP y la VEA en la siguiente manera:

$$VIP[Ag_n - Tyr] = E[Ag_n - Tyr^+] - E[Ag_n - Tyr], \quad (3.4)$$

$$VEA[Ag_n - Tyr] = E[Ag_n - Tyr] - E[Ag_n - Tyr^-]. \quad (3.5)$$

#### Energía de adsorción

La energía de adsorción ( $E_a$ ) es un descriptor de la estabilidad relativa de los complejos  $Ag_n$ -Tyr con respecto a sus componentes  $Ag_n$  y Tyr. Está definida por:

$$E_a = E[Ag_n - Tyr] - (E[Ag_n] + E[Tyr]), \quad (3.6)$$

donde  $E[\text{Ag}_n - \text{Tyr}]$ ,  $E[\text{Ag}_n]$  y  $E[\text{Tyr}]$  son las energías totales para los complejos, los cúmulos en fase gas y la molécula de tirosina respectivamente. Si el complejo es más estable que sus componentes separados, se espera que la energía de absorción sea negativa sobre un intervalo dado. De este modo, un valores más negativo de  $E_a$  corresponde al de un complejo fuertemente enlazado.

### 3.2. Resultados: Cúmulos de $\text{Ag}_n$ ( $n = 3 - 12$ )

En la Figura 3.1 se muestran las geometrías de los mínimos globales de los cúmulos  $\text{Ag}_n$  obtenidos en este trabajo. Se observa que para los cúmulos  $\text{Ag}_n$  con  $n = 3 - 6$  las estructuras adoptan una forma plana bidimensional, mientras que aquellos donde  $n = 7 - 12$  presentan formas tridimensionales. Estos resultados concuerdan con estudios previos realizados por varios grupos [24,25,54–62], a excepción de lo reportado por Zhao *et al.* [63].

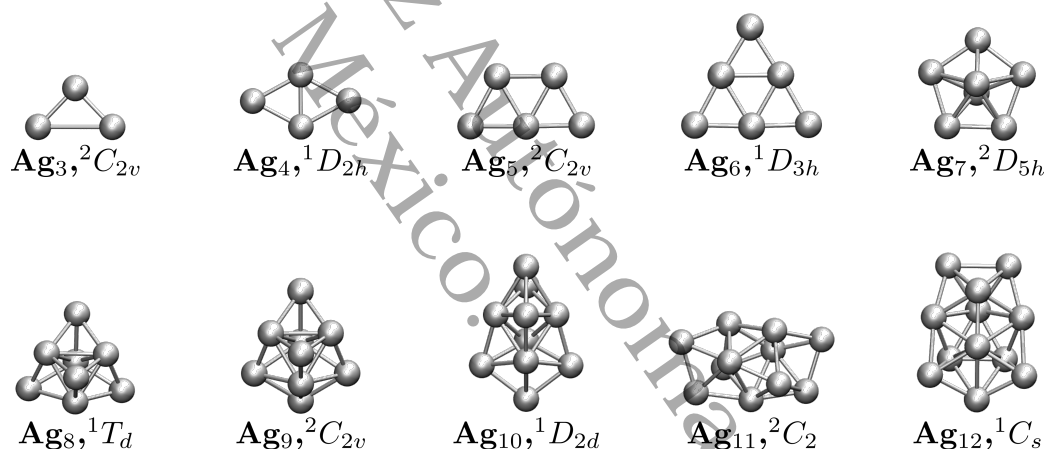


Figura 3.1: Cúmulos  $\text{Ag}_n$  ( $n = 3 - 12$ ) obtenidos al nivel de teoría B3PW91-D3/Def2-TZVP-D3. Para cada uno se muestran la multiplicidad de espín y el grupo de simetría asociado.

Específicamente, para los cúmulos  $\text{Ag}_n$  con  $n = 3 - 7$ , se obtuvieron los mínimos globales sobre los que hay concenso en la literatura:  $\text{Ag}_3$  es un triángulo isósceles con simetría  $C_{2v}$  [25, 54, 57, 58, 61–63],  $\text{Ag}_4$  es un rombo con simetría  $D_{2h}$  [24, 25, 54, 55, 57, 58, 60–63],  $\text{Ag}_5$  tiene forma de trapezoide con simetría  $C_{2v}$  [24, 25, 54–59, 61, 62],  $\text{Ag}_6$  tiene forma triangular con simetría  $D_{3h}$  [24, 25, 55–62], mientras que  $\text{Ag}_7$  tiene forma pentagonal bipiramidal con simetría  $D_{5h}$ .  $\text{Ag}_7$  es el primero de la serie que no cuenta con una estructura planar [24, 25, 54–63].

Para cúmulos con un valor de  $n > 7$ , hay discrepancias respecto al mínimo global putativo. Para el octámero  $\text{Ag}_8$  algunos autores sugieren una estructura de tetraedro de *tres tapas* con simetría  $T_d$ , también conocido como tetraedro extendido [24, 25, 55, 56, 62, 64, 65], mientras que otros sugieren un octaedro distorsionado de *dos tapas* con simetría  $D_{2d}$  como mínimo global [54, 57, 59–61, 63]. Nuestros resultados arrojaron ambas estructuras; siendo la simetría  $T_d$  la de menor energía, con respecto a la  $D_{2d}$ , con una diferencia de 96.43 meV al nivel B3PW91/Def2-TZVP. Esta diferencia se reduce en 1.73 meV si se considera la corrección de energía de punto cero (ZPE).

Nuestro método de búsqueda para el mínimo global del  $\text{Ag}_9$  arroja una bipirámide pentagonal de *dos tapas* con simetría  $C_{2v}$ . Esta estructura ha sido obtenida por otros grupos como mínimo global putativo [54, 58, 63, 66]. Por otro lado, algunos grupos han reportado como mínimo global una estructura bipiramidal rectangular de *dos tapas* [24, 25, 57, 59, 61, 62]. En nuestra búsqueda encontramos esta estructura como un segundo isómero de menor energía que difiere de nuestro mínimo global en 16.2 meV; esto al nivel de teoría B3PW91/Def2-TZVP.

Respecto al decámero  $\text{Ag}_{10}$ , se obtuvo una bipirámide pentagonal con simetría  $D_{2d}$ , también reportada por otros grupos [24, 57, 58, 61, 66, 67]. Dentro de la colección de isómeros de menor energía también se encuentran estructuras con simetría  $D_{4d}$  y  $C_s$ , mismas que han sido propuestas como mínimo global por otros grupos [25, 68].

En el caso de  $\text{Ag}_{11}$ , el mínimo global putativo es prácticamente degenerado, ya que se obtuvieron dos estructuras quirales con simetría  $C_2$ , una de las cuales ha sido encontrada por otros grupos como mínimo global [24, 57, 58, 66]. La siguiente estructura en orden energético posee la simetría  $C_1$ , con una energía 10.3 meV mayor que el mínimo global al nivel B3PW91/Def2-TZVP. Es importante mencionar que la estructura con simetría  $C_{2v}$  reportada como mínimo global por los grupos de Chen [25] y McKee [68], tiene una energía 12.29 meV mayor que nuestro mínimo; encontrándose en nuestra búsqueda como el quinto isómero en orden de energía.

Para el dodecámero  $\text{Ag}_{12}$  se encontró como mínimo global una estructura con simetría  $C_s$ , en acuerdo con reportes de otros grupos haciendo uso de distintos funcionales y bases [24, 25, 57, 58, 66, 67].

### 3.2.1. Análisis de la estabilidad estructural

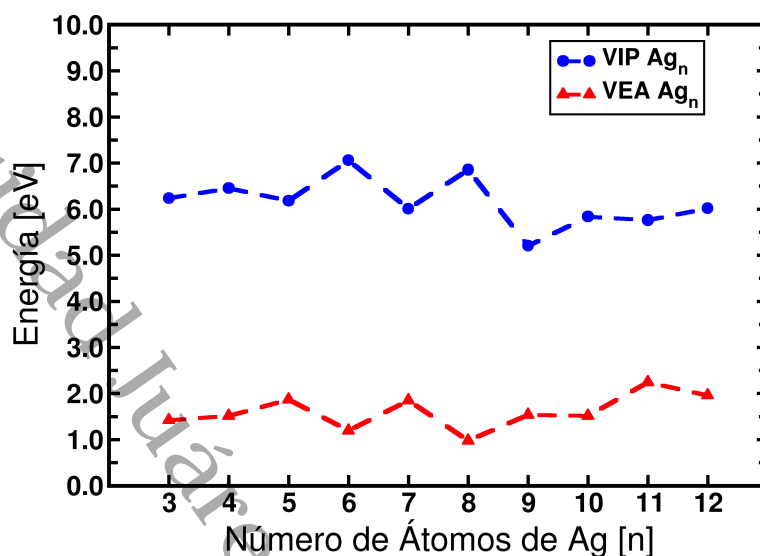


Figura 3.2: Potencial Vertical de Ionización (vIP) y Afinidad Electrónica Vertical (vEA) para los cúmulos  $\text{Ag}_n$  en función del número de átomos de plata ( $n$ ).

Siguiendo las ecuaciones descritas en el apartado 3.1.4, la Figura 3.2 muestra la evolución del vIP y vEA para los cúmulos  $\text{Ag}_n$  en función del número de átomos de plata  $n$ . Para un cúmulo neutro un valor alto de vIP le confiere mayor estabilidad, pues se requiere mayor cantidad de energía para ionizarlo positivamente. En la Figura 3.2 se observa que los valores máximos del vIP se dan en  $n = 6$  y  $n = 8$ , mientras que el valor mínimo corresponde a  $n = 9$ . Asimismo, se encontró que los cúmulos pares tienden a presentar mayores valores de vIP respecto a sus adyacentes impares. Esto refleja que, en general, los cúmulos pares son más estables que los impares.

En la Tabla 3.1 se presentan los valores del vIP para los cúmulos desnudos estudiados, comparándose con resultados experimentales y teóricos reportados [61, 69]. En general, los resultados experimentales son similares a los obtenidos en este trabajo, con errores porcentuales que van del 0.6 al 15.3%. La afinidad electrónica vertical hace referencia a la cantidad de energía liberada cuando un cúmulo absorbe un electrón sin que esto altere su geometría. Así los valores más bajos de la vEA indican que el cúmulo tiene una tendencia a absorber electrones, por lo que es menos estable. Por lo tanto, un mayor valor de vEA nos indica que el cúmulo es más estable y menos propenso a la formación de un anión. Siguiendo este razonamiento, el cúmulo más estable de la serie es el  $\text{Ag}_{11}$  y el menos estable es el  $\text{Ag}_8$ . Para los sistemas estudiados, se observa que los cúmulos impares resultan con valores mayores de vEA en comparación con sus adyacentes impares.

Tabla 3.1: Potencial Vertical de Ionización (vIP) de los cúmulos  $Ag_n$  obtenidos en este trabajo en comparación con resultados experimentales y teóricos. Todas las cantidades están expresadas en eV.

$n$	$Ag_n$ (Este trabajo)	$Ag_n$ Ref. [61]	$Ag_n$ Exp. [69]
3	6.24	5.67	6.20
4	6.45	6.54	6.65
5	6.18	6.33	6.35
6	7.06	7.22	7.15
7	6.01	6.36	6.40
8	6.86	6.44	7.10
9	5.20	6.53	6.00
10	5.84	6.58	6.25
11	5.76	6.66	6.30
12	6.02	7.01	6.50

### 3.2.2. Propiedades ópticas: Absorción UV-Vis

Tabla 3.2: Comparación de los principales valores de absorción UV-Vis calculados para los cúmulos  $Ag_n$  con los reportados experimentalmente. Todas las cantidades están expresadas en eV.

$n$	(Este Trabajo)	Exp. [24, 62]
3	3.16, 3.68, 5.17, 4.96	3.71, 3.51, 2.53, 3.07
4	3.03, 4.06, 5.55	3.07, 3.21, 4.50
5	3.24, 3.71	3.75, 3.25
6	3.38, 5.47, 5.00	3.63, 4.15, 4.92
7	3.59, 4.71, 3.70	3.60, 3.75, 2.81, 4.50
8	3.99, 3.10, 5.02	3.90, 3.82, 3.57
9	4.07, 3.65, 4.00, 3.32, 3.85	4.14, 3.97, 3.80, 3.65, 2.84
10	3.28, 4.16, 4.24	3.79, 3.98, 4.15
11	3.17, 3.95, 3.60	3.67, 4.31, 3.06
12	3.37, 3.77, 4.27	3.42, 3.91, 4.38

En la Tabla 3.2 se presentan los valores de energía calculados para los cuales se da la absorción UV-Vis de mayor intensidad y se comparan con las mediciones hechas sobre cúmulos de plata soportados en una matriz de argón a 28 K [24, 62]. Los espectros de los cúmulos  $\text{Ag}_n$  ( $n = 3 - 8$ ) muestran picos discretos en un rango entre los 2.5 y 5.0 eV. Para cúmulos mayores, los espectros de absorción muestran la formación de bandas, lo cual es consistente con los resultados del grupo de Harb [24]. La elección del intervalo de energía (de 2.0 a 6.0 eV) para visualización del espectro coincide con los resultados obtenidos en los cálculos TD-DFT así como en las mediciones en los cúmulos mayores donde la banda de absorción principal se centra en 4.2 eV [64].

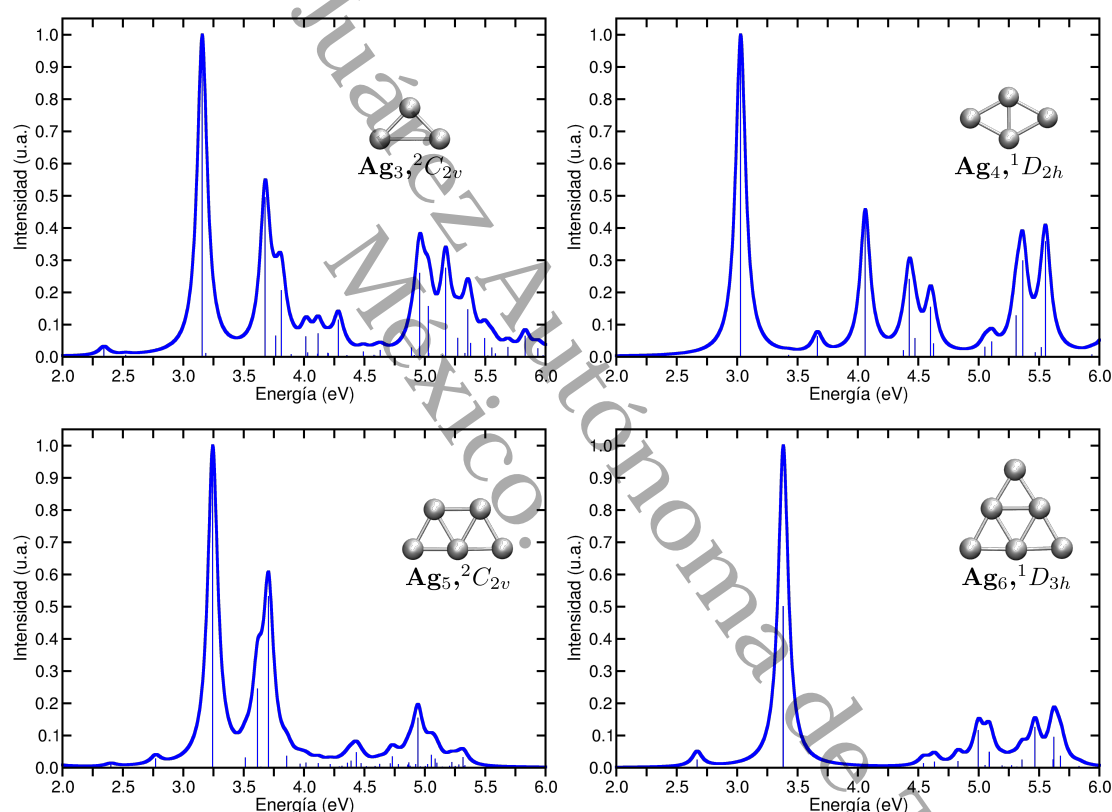


Figura 3.3: Espectros de absorción UV-Vis para los cúmulos  $\text{Ag}_n$  ( $n = 3 - 6$ ).

En la Figura 3.3 se presentan los espectros UV-Vis de los cúmulos  $\text{Ag}_n$  ( $n = 3 - 6$ ). Para el cúmulo  $\text{Ag}_3$  la señal más intensa está en 3.16 eV, y la siguiente se ubica en 3.68 eV. La región entre 4.89 y 5.83 eV muestra algunas otras señales relevantes, entre ellas, la tercera señal más intensa, localizada en 5.17 eV. Es relevante que las dos principales señales de este trabajo coincidan con los experimentos previos, como el realizado por Lecoultre *et al.* con trímeros de plata en Ar a 26 K [70].



El espectro para el cúmulo  $\text{Ag}_4$  muestra una distribución de señales a partir de los 3.0 eV. La señal principal se localiza en 3.03 eV y la segunda y tercera de mayor intensidad se localizan en 4.06 y 5.55 eV respectivamente. Otras señales de menor intensidad se ubican en 5.37, 4.43 y 6.09 eV, y no se observa otra señal prominente a la izquierda de la tercera más intensa, localizada en 5.55 eV. Nuestras dos señales de mayor intensidad al nivel B3PW91/Def2-TZVP coinciden con las mediciones experimentalmente del espectro de absorción de cúmulos de Ag en Ar a 28 K, hechas por Harb *et al.* Este grupo reporta que la máxima intensidad de absorción para  $\text{Ag}_4$  se localiza en 3.07 eV, lo cual representa una diferencia de 0.04 eV respecto a nuestra predicción. Por su parte, la segunda señal más intensa fue medida en 4.15 eV, lo que la ubica 0.09 eV a la derecha de nuestro segundo máximo. Por otro lado, también existe coincidencia entre nuestro espectro TD-DFT y el calculado por ellos al nivel BP86/LanL2DZ-RCP, obteniendo sus tres primeros máximos en 3.00, 4.20 y 5.28 eV.

En el espectro del  $\text{Ag}_5$  se distinguen cuatro señales importantes, localizadas en 3.24, 3.71, 3.62 y 4.94 eV, ordenadas en orden de intensidad. Las mediciones de la absorción UV-Vis para estos cúmulos en argón a 10 K muestran las dos transiciones más significativas en 3.25 y 3.75 eV [71]; es decir, con diferencias de 0.01 y 0.04 eV respecto a lo obtenido en este trabajo. Esto confirma que, análogamente a lo observado en el caso de  $\text{Ag}_3$ , el ambiente de gas inerte no influye significativamente en el espectro.

Para el cúmulo  $\text{Ag}_6$  la absorción más intensa se da en 3.38 eV. Otras señales se encuentran en 5.47 y 5.00 eV, mientras que el pico más débil se localiza en 5.62 eV. El espectro experimental para el hexámero de plata en una matriz de argón muestra dos diferentes picos en 3.63 y 4.15 eV, así como dos señales menos intensas en 4.92 y 5.10 eV [24]. Así, las cuatro señales principales de nuestro espectro muestran posiciones definidas que no coinciden con el experimento. Este comportamiento también fue encontrado por Harb *et al.*, quienes consideraron la contribución del segundo isómero de menor energía, obteniendo así un mejor acuerdo con el espectro experimental [24]. Esto se explica debido a que la fuente que produce los cúmulos produce isómeros con energía cercana entre sí, de tal forma que coexisten en el haz molecular.

En la Figura 3.4 se presentan los espectros de absorción UV-Vis de los cúmulos  $\text{Ag}_n$  ( $n = 7 - 10$ ). El espectro del  $\text{Ag}_7$  tiene sus dos señales más importantes en 5.39 y 4.71 eV, seguidas por otras en 3.70, 4.48 y 2.74 eV. El espectro experimental muestra una banda ancha con dos máximos localizados en 3.6 y 3.75 eV, así como una pequeña transición alrededor de 4.5 eV [24]. La comparación con las mediciones experimentales es satisfactoria, lo cual puede ser atribuido a la alta estabilidad del heptámero.

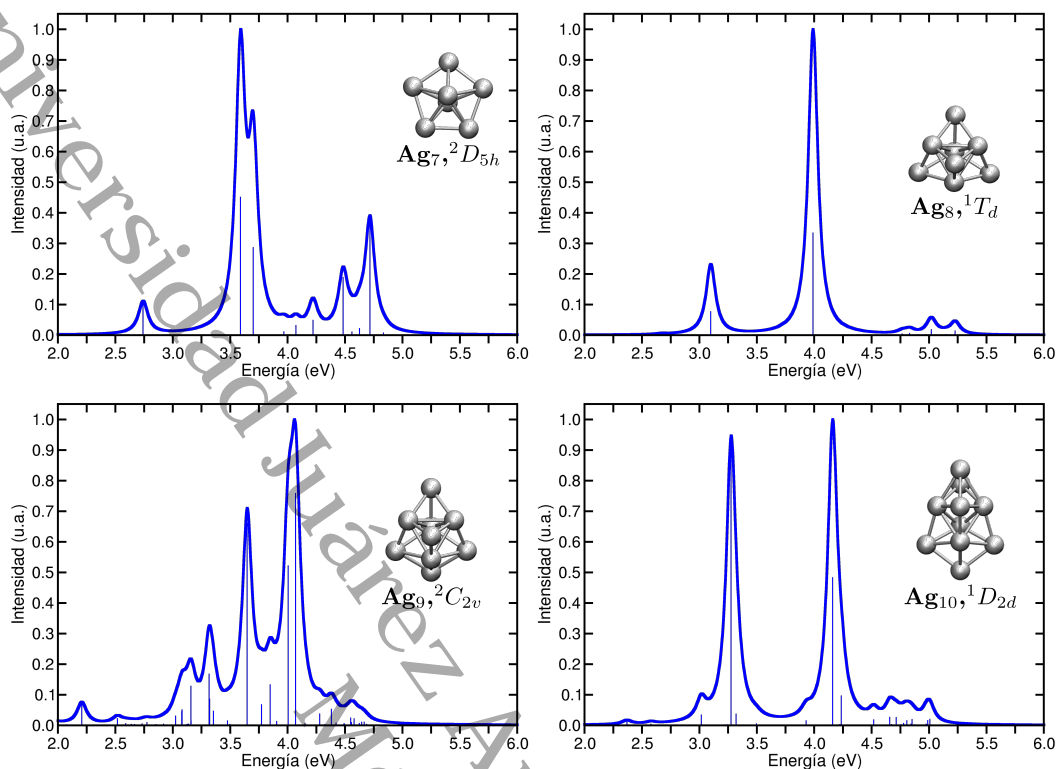


Figura 3.4: Espectros de absorción UV-Vis para los cúmulos  $\text{Ag}_n$  ( $n = 7 - 10$ ).

Las transiciones de mayor intensidad en el UV-Vis del  $\text{Ag}_8$  suceden en los siguientes valores de energía: 3.99, 3.10 y 5.22 eV. El espectro obtenido presenta similitudes respecto al obtenido por el grupo de Harb [24]. Este grupo encontró una mejor concordancia con los cálculos TD-DFT cuando tomaron en cuenta los dos siguientes isómeros de menor energía. Por lo tanto, en el espectro experimental las transiciones más representativas, ocurridas en 3.15, 3.90 y 4.50 eV corresponden a las del mínimo global, mientras que los picos en 3.57 y 3.82 eV están asociados al segundo isómero de menor energía. Es importante mencionar que en este trabajo el espectro de absorción del octámero es razonablemente consistente con lo reportado por Harb *et al.* [24], aún sin haber considerado al segundo isómero para la obtención del espectro, lo cual puede atribuirse al nivel de teoría empleado.

El espectro de absorción del  $\text{Ag}_9$  tiene su señal de mayor intensidad en 4.07 eV, mientras que las siguientes se localizan en 3.83, 4.00 y 3.31 eV. Debido a la complejidad de este espectro, se puede concluir que el cúmulo  $\text{Ag}_9$  con simetría  $C_s$  tiene sus picos más prominentes entre 2.0 y 4.67 eV. El espectro UV-Vis de  $\text{Ag}_9$  caracterizado en una matriz de argón a 28 K [24] muestra una banda ancha compuesta por señales más estrechas centradas en 2.84, 3.65, 3.80, 3.97, 4.14 y 4.95 eV. Harb *et al.* concluyeron

que el espectro experimental de este cúmulo puede ser entendido como la suma de las contribuciones de varios isómeros presentes en la matriz de Ar. La estructura del mínimo global para el  $\text{Ag}_9$  en este trabajo es distinto del obtenido por Harb *et al.* Si bien nuestro espectro de absorción muestra diferencias con el calculado por el grupo de Harb, presenta mucha similitud con el obtenido experimentalmente por ellos. Este hecho arroja indicios de la validez de nuestro nivel de teoría para la determinación del mínimo global. Asimismo, la diferencia entre nuestro espectro y el calculado por el grupo de Harb pueden deberse a los niveles de teoría utilizados tanto en la relajación estructural como en la determinación del espectro.

De acuerdo a lo reportado por Harb y colaboradores,  $\text{Ag}_{10}$  es el sistema que mostró más dificultades experimentales para su obtención. Su espectro de absorción muestra tres señales anchas centradas en 3.79, 3.98 y 4.15 eV [24]. Nuestro espectro presenta señales prominentes en 3.28 y 4.18 eV, que no corresponden con el UV-Vis reportado experimentalmente. Sin embargo, Harb *et al.* reportaron que ninguno de los espectros calculados, ni la contribución de otros isómeros o la suma de ellos, puede reproducir el espectro experimental. Debido a que la contribución de los isómeros más cercanos al mínimo global no es relevante, existe la posibilidad de que las discrepancias se deban a la baja relación señal/ruido del espectro experimental.

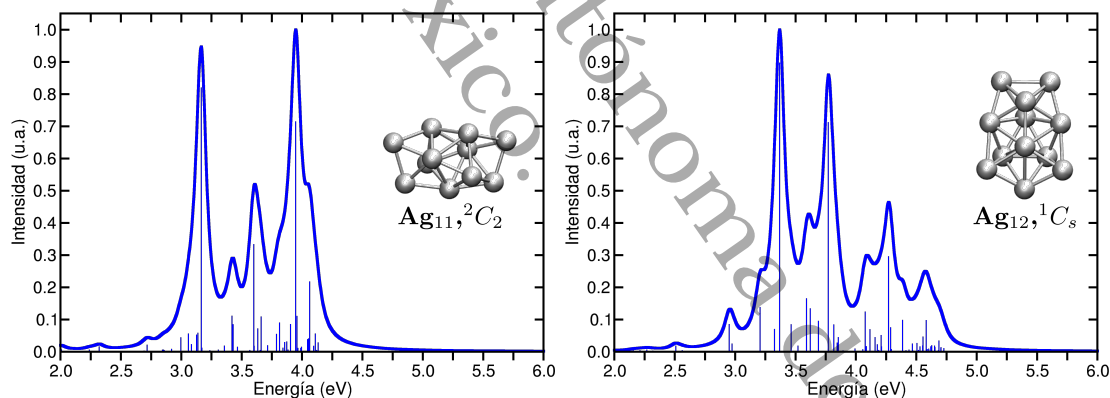


Figura 3.5: Espectros de absorción UV-Vis para los cúmulos  $\text{Ag}_n$  ( $n = 11 - 12$ ).

Los espectros de absorción UV-Vis de los cúmulos  $\text{Ag}_{11}$  y  $\text{Ag}_{12}$  se muestran en la Figura 3.5. El espectro de absorción UV-Vis del  $\text{Ag}_{11}$  muestra tres señales prominentes en 3.17, 3.95 y 3.60 eV, en orden de intensidad. El espectro caracterizado de los cúmulos  $\text{Ag}_{11}$  en argón a 28 K [24] muestra tres señales relevantes en 4.31, 3.67 y 3.06 eV. Sin embargo, las mediciones muestran intensidades relativas muy diferentes, lo cual indica que a diferencia de los cúmulos previos, este sistema es muy sensible al entorno [22, 24, 72]. Aunque el espectro experimental podría no estar relacionado a un isómero

en específico, los cálculos TD-DFT realizados sobre distintos isómeros, muestran que el espectro del isómero con simetría  $C_1$  proporciona la mejor aproximación con el espectro experimental [73], siendo éste, un resultado obtenido en este trabajo.

Para el cúmulo más grande en la serie, el  $\text{Ag}_{12}$ , la señal de mayor intensidad de absorción se localiza en 3.37 eV, y otras de menor intensidad se localizan 3.77 y 4.27 eV. El espectro experimental de  $\text{Ag}_{12}$  mostró dos señales importantes en 3.42 y 3.91 eV, así como una de menor intensidad en 4.38 eV [24]. El espectro resultante de los cálculos TD-DFT tiene una forma similar con dos señales principales en el rango de menor energía, y una más ancha pero de menor intensidad para las regiones de mayor energía. Esto implica que el isómero de simetría  $C_s$  contribuye de manera más significativa al espectro UV-Vis experimental.

### 3.3. Resultados: Complejos coordinados: $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$ , ( $n = 3 - 12$ )

La Figura 3.6 muestra las geometrías de los complejos optimizados  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$ , es decir, la coordinación entre cada cúmulo  $\text{Ag}_n$  con una molécula de tirosina. Para cada complejo se muestran dos perspectivas: frontal y lateral. La perspectiva frontal toma como referencia la posición de los cúmulos desnudos mostrados en la Figura 3.1. Los cúmulos sufrieron deformaciones en mayor o menor medida, respecto a su forma original, ejemplo de esto se observa en  $\text{Ag}_6\text{-Tyr}$  en donde el cúmulo de plata modifica su forma planar, mientras que en  $\text{Ag}_{12}\text{-Tyr}$  hay un desplazamiento de ciertos átomos de plata.

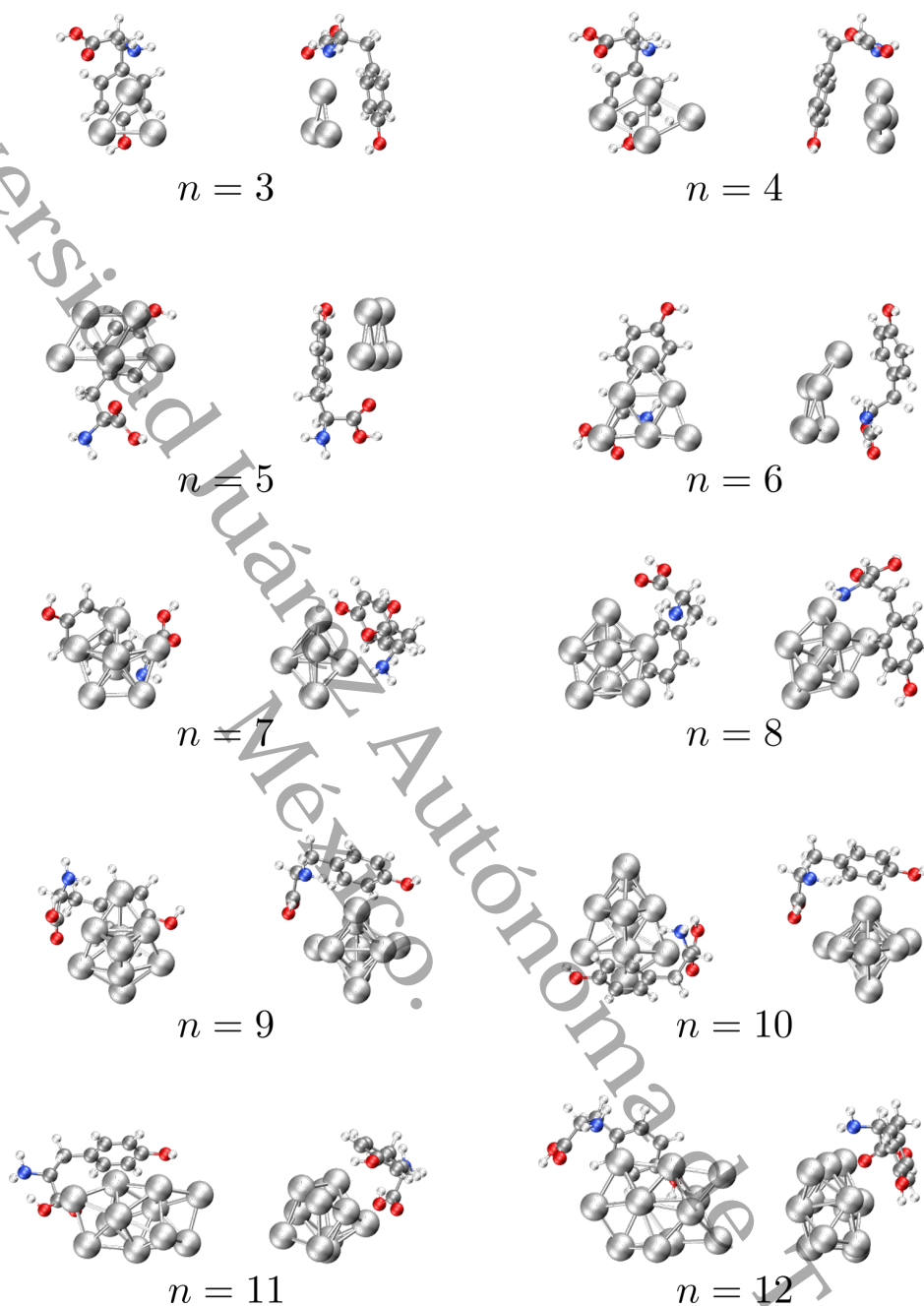


Figura 3.6: Complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  optimizados al nivel B3PW91-D3/Def2-TZVP (perspectivas frontal y lateral). Los átomos de O, C, N y H se muestran en rojo, gris, azul y blanco, respectivamente. Los átomos de Ag se representan en tonalidad plata y son los de mayor tamaño en comparación.

### 3.3.1. Análisis de la estabilidad estructural

La Figura 3.7 muestra la energía de adsorción en función del tamaño del cúmulo. Como se menciona en el apartado 3.1.4, un valor más negativo de  $E_a$  corresponde al de un complejo fuertemente enlazado.

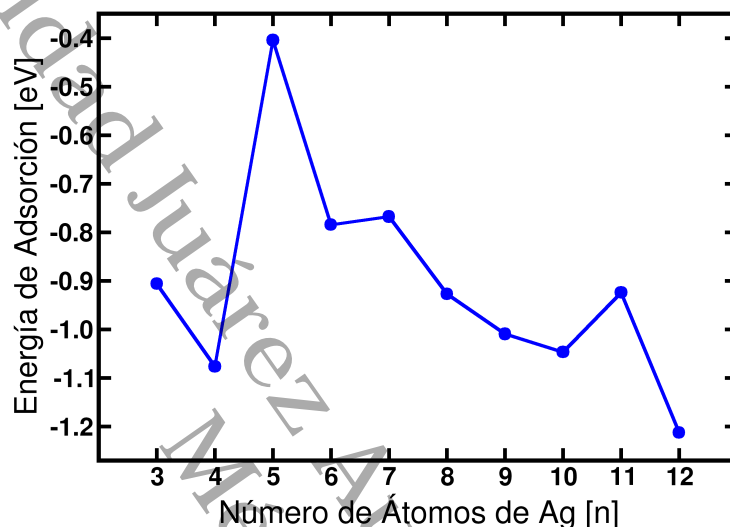


Figura 3.7: Energía de adsorción para los complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  en función del número de átomos de plata ( $n$ ).

Los resultados de la energía de adsorción sugieren que los cúmulos con un número par de átomos de plata, coordinados con la tirosina, alcanzan una estabilidad relativamente más alta que la que un complejo vecino con número impar de átomos de plata podría alcanzar. La Figura 3.7 muestra que los complejos con valores de  $E_a$  relativamente más bajos siempre están coordinados con cúmulos formados por un número par de átomos de plata. De esta forma, el complejo  $\text{Ag}_4\text{-Tyr}$  es más favorable que sus vecinos  $\text{Ag}_3\text{-Tyr}$  y  $\text{Ag}_5\text{-Tyr}$ . Lo mismo ocurre para  $\text{Ag}_6\text{-Tyr}$  y  $\text{Ag}_{10}\text{-Tyr}$  respecto a sus vecinos. En contraste, los valores más altos de  $E_a$  corresponden a los complejos en los cuales los cúmulos de plata son menos favorables a coordinarse con la tirosina. La mayoría de los cúmulos de plata en esta categoría están formados por un número impar de átomos. Esta baja estabilidad, comparada con la de sus vecinos con números pares de átomos de plata, puede ser atribuida a los efectos de capa electrónica cerrada [19]. Asimismo, la Energía de Adsorción sugiere que la coordinación con la tirosina será más favorable para cúmulos con número de átomos de plata, pares mayores a doce.

La Figura 3.8 muestra las gráficas del vIP (líneas azules) y la vEA (líneas rojas) para los complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  (marcadores vacíos) en función del número de átomos de plata  $n$ . Se incluyen los valores de vIP y vEA correspondientes a los cúmulos  $\text{Ag}_n$  (marcadores sólidos) con el fin de comparar las estabildades y el efecto de la coordinación de la tirosina con los cúmulos desnudos. Los valores del vIP de los complejos, muestran una tendencia semejante a la de los cúmulos. El valor más alto de vIP corresponde a  $\text{Ag}_6\text{-Tyr}$ , mientras que  $\text{Ag}_9\text{-Tyr}$  registra el valor más bajo. Asimismo, los complejos con un número par de átomos de plata muestran tener valores más altos de vIP que sus vecinos con números de átomos de plata impares, lo cual indica que son más estables aquellos cuyo número de átomos de plata es par. En general, todos los valores del vIP correspondientes a cada complejo  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  son menores que sus contrapartes los cúmulos  $\text{Ag}_n$ , lo cual indica que la coordinación con la tirosina resta estabilidad al complejo con carga neutra y lo hace más susceptible a ser ionizado positivamente.

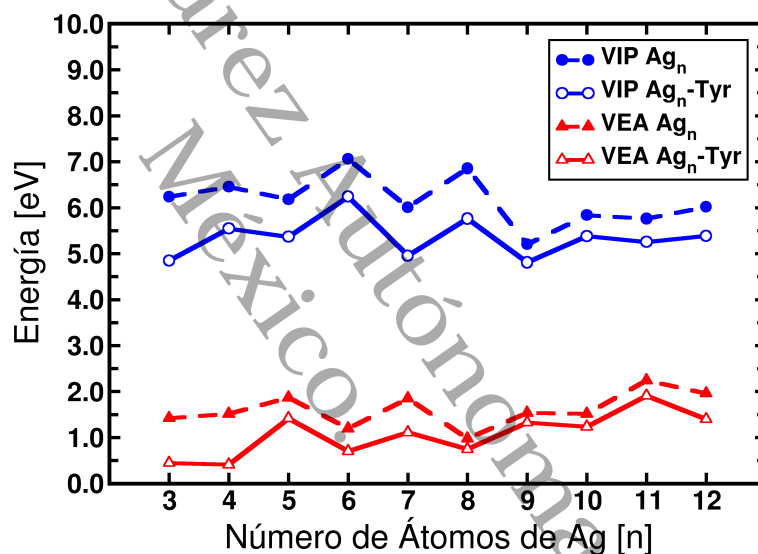


Figura 3.8: vIP (círculos) y vEA (triángulos) para los cúmulos  $\text{Ag}_n$  y cúmulos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$ .

El predominio de los cúmulos  $\text{Ag}_n$  como estructuras más estables que los complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  también se puede deducir al comparar sus gráficas de la vEA. En estas se observa que todos los valores de la vEA de los cúmulos son mayores que los de sus complejos correspondientes, y para el caso de  $n = 8 - 10$  la diferencia entre la vEA de los complejos con la de los cúmulos es muy pequeña en comparación con las de los otros casos. Esto indica que la coordinación con la molécula de tirosina, produce un cambio mínimo en el valor de la vEA de los cúmulos. Por lo tanto, los complejos neutros  $\text{Ag}_8\text{-Tyr}$ ,  $\text{Ag}_9\text{-Tyr}$  y  $\text{Ag}_{10}\text{-Tyr}$  tienen la misma afinidad a ser ionizados negativamente que los correspondientes cúmulos desnudos.

Tabla 3.3: Comparación de los valores de vIP y vEA (en eV) para cúmulos y complejos.

$n$	vIP		vEA	
	$\text{Ag}_n$	$\text{Ag}_n\text{-Tyr}$	$\text{Ag}_n$	$\text{Ag}_n\text{-Tyr}$
3	6.24	4.85	1.42	0.45
4	6.45	5.55	1.51	0.41
5	6.18	5.37	1.87	1.42
6	7.06	6.24	1.19	0.70
7	6.01	4.95	1.85	1.11
8	6.86	5.76	0.98	0.75
9	5.20	4.81	1.54	1.33
10	5.84	5.38	1.51	1.23
11	5.76	5.25	2.24	1.91
12	6.02	5.38	1.96	1.40

### 3.3.2. Análisis de las interacciones no-covalentes

Una característica común en los complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  es la coordinación entre el cúmulo metálico y la tirosina a través del anillo aromático del grupo fenol. Inclusive, en algunos casos, la molécula tirosina presenta una torsión para maximizar la interacción con el cúmulo. Si bien la interacción con el anillo aromático se observa en todos los complejos, los cúmulos metálicos en cada complejo pueden interactuar con otros grupos funcionales del aminoácido.

Para apreciar esto con mejor detalle, se analizan los mapeos de interacción no-covalente (NCI) en la Figura 3.9. Para interpretarlos, se hace uso del código de colores siguiente: el azul corresponde a zonas de interacción fuerte y atractiva, verde a débil atractiva, y rojo a repulsiva fuerte. Para todos los complejos, la interacción más fuerte se da entre los átomos que forman el cúmulo, mientras que la interacción entre cúmulo y tirosina es comparativamente más débil.

En todos los complejos se observa una superficie de color verde entre el cúmulo metálico y el anillo aromático de la tirosina. Asimismo esta superficie incluye sitios de interacción fuerte (color azul). La cantidad de sitios azules varía de acuerdo al complejo, y son indicadores de una interacción fuerte específica entre el cúmulo y un átomo de carbono específico del anillo. A continuación se describen todas las zonas de interacción entre el cúmulo metálico y la molécula tirosina en cada complejo.



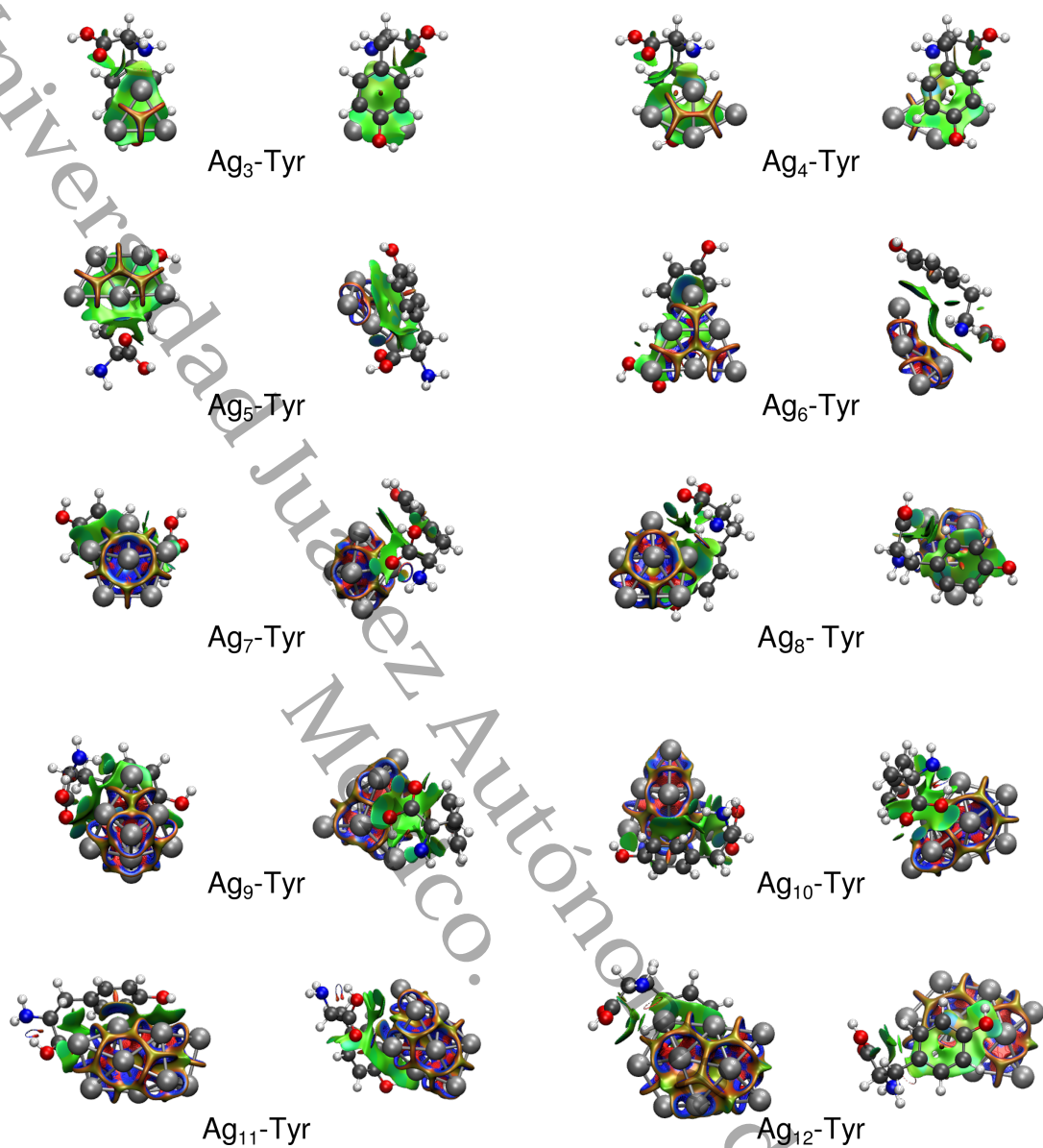


Figura 3.9: Complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  y sus regiones de interacción no-covalente en dos perspectivas. Las superficies en color verde corresponden a interacciones no-covalentes débiles mientras que las azules representan interacciones fuertes y atractivas.

Para el  $\text{Ag}_3\text{-Tyr}$  se observa una superficie verde situada entre el cúmulo y el anillo aromático que representa la interacción con cuatro átomos de carbono del benceno. Asimismo existe interacción con el átomo de oxígeno que forma parte del grupo oxhidrilo (OH) en el fenol. Otra interacción notable sucede con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo (C=O) del ácido carboxílico ( $-\text{COOH}$ ).

Respecto a la interacción entre el cúmulo y el anillo aromático en  $\text{Ag}_4\text{-Tyr}$ , se aprecian al menos tres zonas azules, siendo la de mayor intensidad la existente con un átomo de carbono en posición *meta*. Una interacción más débil sucede para con el átomo de oxígeno en el grupo carbonilo.

Para el complejo  $\text{Ag}_5\text{-Tyr}$ , la interacción entre el anillo aromático y el cúmulo es principalmente débil, según lo indica la superficie en color verde, la cual tiene algunas zonas en color azul muy débil. Por otro lado, existe interacción notable y muy fuerte entre el cúmulo y el átomo de oxígeno del grupo carbonilo, de manera que se puede considerar que esta es la zona de mayor coordinación.

Para el complejo  $\text{Ag}_6\text{-Tyr}$  existe una interacción débil notable por la existencia de una superficie en color verde que abarca a casi toda la molécula de tirosina. En esta superficie verde se distinguen dos sitios azules con intensidad variable. La más débil corresponde a una interacción entre el cúmulo y el átomo de hidrógeno enlazado al carbono beta ( $\text{C}_\beta$ ) en el aminoácido. La interacción más intensa corresponde a la del cúmulo con átomos de carbono en posiciones *orto* y *meta*.

Las zonas de interacción en el complejo  $\text{Ag}_7\text{-Tyr}$  son en su mayoría débiles. Se observan sitios con coloración azul de baja intensidad entre el cúmulo y cada átomo de carbono en el anillo aromático, excepto con un carbono en posición *meta*. Otra interacción en el grupo fenol es la que ocurre con el átomo de oxígeno del grupo oxhidrilo. De manera semejante a  $\text{Ag}_3\text{-Tyr}$ ,  $\text{Ag}_4\text{-Tyr}$  y  $\text{Ag}_5\text{-Tyr}$ , la otra interacción correspondiente a una zona en color azul corresponde a la ocurrida con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo.

La coordinación con el carbono del grupo carbonilo, mencionada para el complejo anterior, también se presenta para  $\text{Ag}_8\text{-Tyr}$ . Además de este sitio, sobre la superficie de interacción débil entre cúmulo y el grupo fenol, se observan dos zonas de mediana intensidad, de manera que hay coordinación con dos carbonos; uno en posición *orto* y el otro en posición *meta* no adyacentes.

$\text{Ag}_9\text{-Tyr}$  muestra varios sitios de interacción caracterizados por zonas de color azul de intensidad variable. Con el ácido carboxílico del aminoácido, hay coordinación con los dos átomos de oxígeno que forman parte de este grupo, siendo más intensa la interacción con el oxígeno del carbonilo. También se observa interacción entre un átomo de Ag y un átomo de hidrógeno del grupo amina ( $\text{NH}_2$ ). Otra interacción débil es observada entre un átomo de Ag y el oxígeno del grupo oxhidrilo. Por su parte, la interacción entre cúmulo y tirosina más intensa, con magnitud comparable a la propiciada entre los átomos de Ag, se da con el anillo aromático, específicamente con dos carbonos adyacentes en posiciones *orto* y *para* respectivamente.

En  $\text{Ag}_{10}\text{-Tyr}$  se repiten algunos sitios de interacción encontrados en el complejo anterior. Por ejemplo, con los átomos de oxígeno del ácido carboxílico, en donde la interacción es de mayor intensidad para con el oxígeno del carbonilo. Asimismo se repite la interacción entre el cúmulo y un átomo de hidrógeno en el grupo amina. La interacción atractiva más fuerte sucede cuando el cúmulo se coordina con los átomos de carbono en posiciones *orto* y *meta* del anillo aromático.

En el caso de  $\text{Ag}_{11}\text{-Tyr}$ , de nueva cuenta, la interacción atractiva de mayor intensidad se da entre átomos de Ag y carbonos en posiciones *orto* y *meta* adyacentes del anillo aromático; mientras que con los demás átomos de carbono se sostienen interacciones atractivas más débiles. Coexisten también las interacciones atractivas débiles con los átomos de oxígeno del grupo carboxilo, y una más con el átomo de hidrógeno del grupo oxhidrilo que forma parte del fenol.

En el  $\text{Ag}_{12}\text{-Tyr}$  la interacción atractiva más intensa sucede con un carbono en posición *orto*. Además, dos interacciones más débiles suceden con átomos de carbono: uno en posición *para* y otro en *orto*, opuesto al mencionado anteriormente. El cúmulo metálico también muestra interacción atractiva con el grupo oxhidrilo del fenol, en especial con el átomo de oxígeno, y asimismo con el átomo de carbono en el grupo carbonilo.

### 3.3.3. Espectros de Absorción UV-Vis

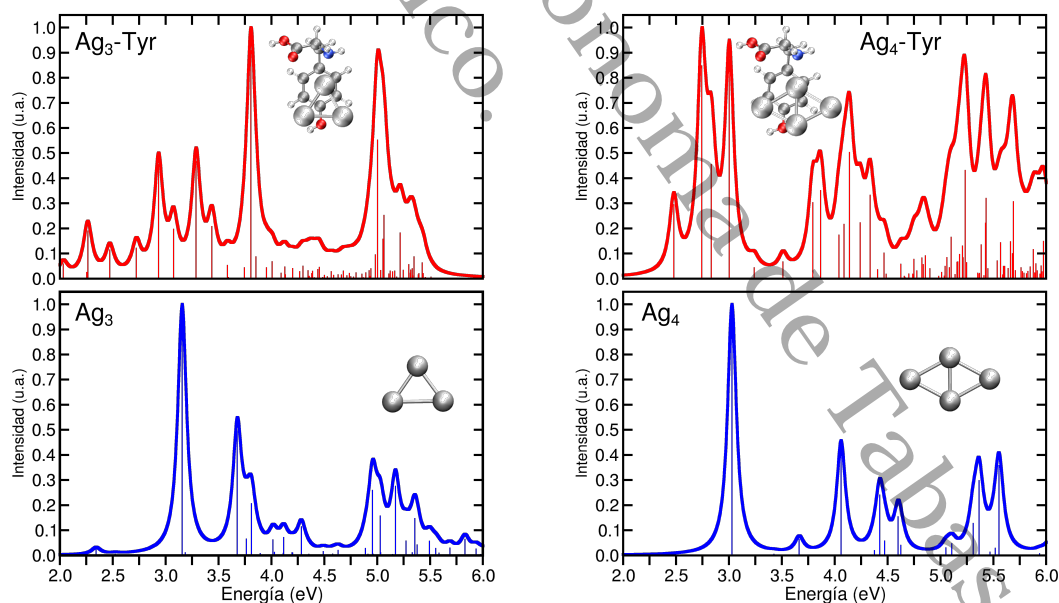


Figura 3.10: Comparación entre los espectros de absorción UV-Vis de los complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  para (líneas rojas) y los cúmulos  $\text{Ag}_n$  (líneas azules) para  $n = 3, 4$ .

En esta sección se presentan y describen los espectros de absorción UV-Vis de los complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  y se añaden los espectros calculados para los cúmulos  $\text{Ag}_n$ , presentados en la Sección 3.2.2 de este capítulo a fin de comparar el efecto de la coordinación de la molécula de tirosina con el cúmulo metálico en la localización de las señales de mayor intensidad, o energías para las que ocurren las transiciones. En la mayoría de los casos las señal de mayor intensidad del complejo mostró un corrimiento hacia el rojo respecto a la del cúmulo. Los desplazamientos, que se pueden consultar en la Tabla 3.4 varían de acuerdo a cada complejo. Asimismo, para algunas estructuras la coordinación propició que el espectro se extendiera a través de la aparición de otras señales dentro del rango de observación.

Los espectros de absorción UV-Vis de los primeros complejos,  $\text{Ag}_3\text{-Tyr}$  y  $\text{Ag}_4\text{-Tyr}$  se muestran la Figura 3.10. Para el complejo  $\text{Ag}_3\text{-Tyr}$ , el pico principal se encuentra centrado en 3.81 eV, lo que representa un corrimiento hacia el azul de 0.65 eV respecto a la absorción de mayor intensidad de  $\text{Ag}_3$ . La segunda señal más intensa para el complejo se ubica en 5.00 eV.

El espectro de absorción del  $\text{Ag}_4\text{-Tyr}$  en el intervalo de 2.0 a 6.0 eV, muestra más picos comparado con el del respectivo cúmulo desnudo. El principal pico del espectro de absorción del  $\text{Ag}_4$  está centrado en 3.03 eV, y en 3.00 eV para el de  $\text{Ag}_4\text{-Tyr}$ , indicando que la coordinación con la molécula de tirosina induce un pequeño corrimiento hacia el rojo (0.03 eV).

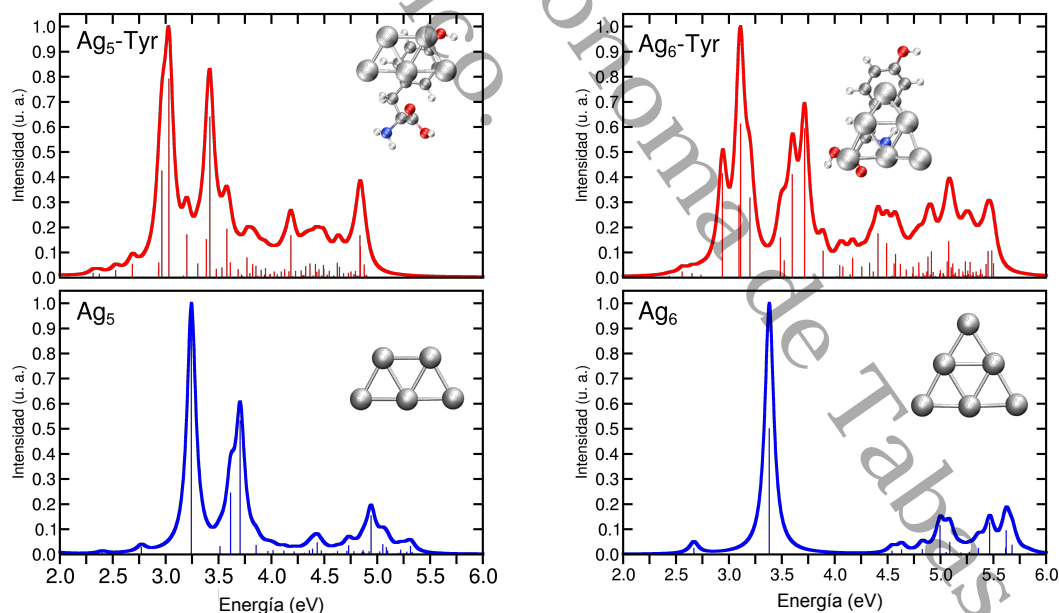


Figura 3.11: Comparación entre los espectros de absorción UV-Vis de los complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  para (líneas rojas) y los cúmulos  $\text{Ag}_n$  (líneas azules) para  $n = 5, 6$ .

En el espectro de  $\text{Ag}_5$ , en la Figura 3.11 se distinguen cuatro señales importantes, localizadas en 3.24, 3.71, 3.62 y 4.94 eV, siendo la de 3.24 eV la de mayor intensidad de absorción. En  $\text{Ag}_5\text{-Tyr}$  la absorción más intensa se localiza en 3.03 eV, lo cual representa un corrimiento hacia el rojo de 0.21 eV respecto al espectro de  $\text{Ag}_5$ . Además, el espectro de  $\text{Ag}_5\text{-Tyr}$  muestra una señal de baja intensidad en 3.2 eV que podría representar una atenuación causada por la coordinación entre el cúmulo de plata y la tirosina.

Para el cúmulo  $\text{Ag}_6$ , la absorción más intensa se da en 3.38 eV, y otras señales, por orden de intensidad, se encuentran en 5.47 y 5.00 eV; mientras que el pico más débil se localiza en 5.62 eV. En el espectro de  $\text{Ag}_6\text{-Tyr}$  las cinco señales más importantes se encuentran dentro del intervalo que se extiende de 2.94 a 3.72 eV, donde el pico principal, ubicado en 3.11 eV, representa un corrimiento hacia el rojo de 0.37 eV, respecto a la principal señal del cúmulo  $\text{Ag}_6$ .

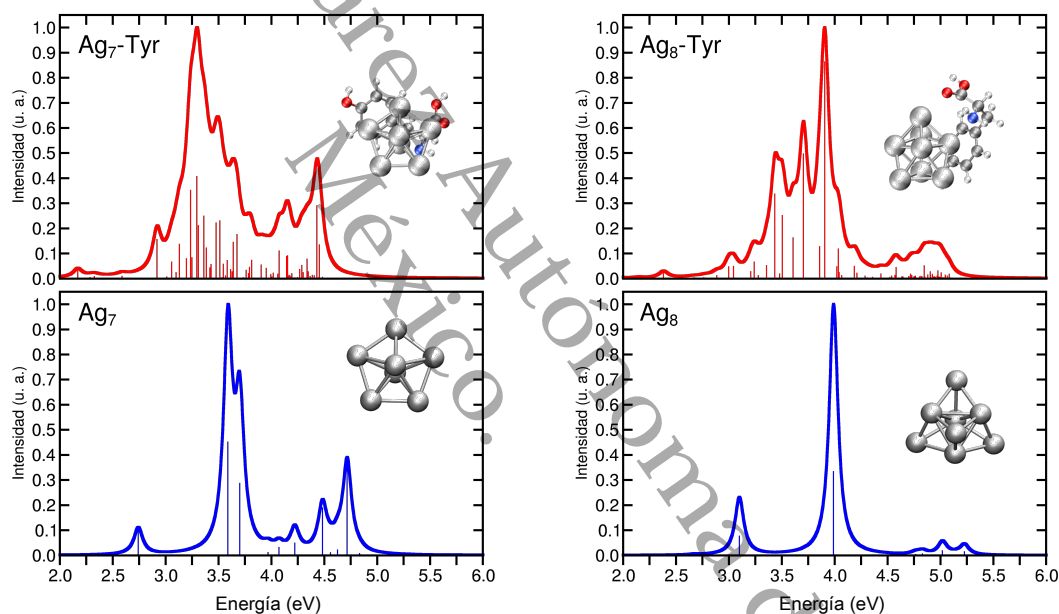


Figura 3.12: Comparación entre los espectros de absorción UV-Vis de los complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  para (líneas rojas) y los cúmulos  $\text{Ag}_n$  (líneas azules) para  $n = 7, 8$ .

Por su parte, la señal de mayor intensidad en el espectro del  $\text{Ag}_7\text{-Tyr}$  (ver Figura 3.12) mostró un corrimiento hacia el rojo de 0.29 eV, ya que esta señal se ubica en 3.30 eV, en vez de 3.59 eV a como sucede con el cúmulo.

El espectro del complejo  $\text{Ag}_8\text{-Tyr}$  muestra una mayor cantidad de picos, siendo el de mayor intensidad el ubicado en 3.91 eV, que indica un corrimiento hacia el rojo de 0.09 eV respecto a la máxima absorción del cúmulo. Otras señales notables para el complejo se encuentran en 3.71 y 3.34 eV.

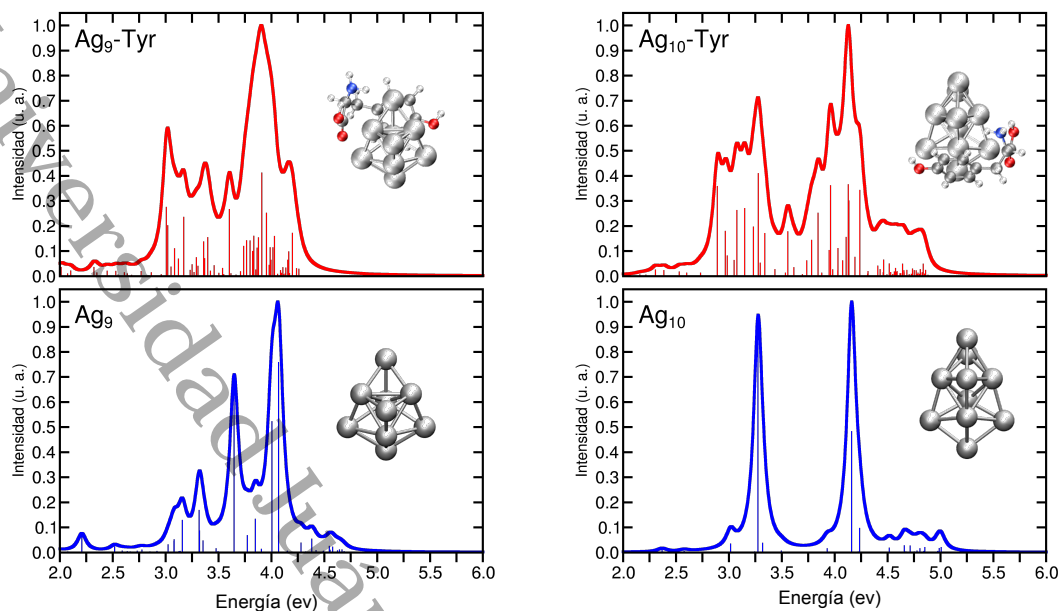


Figura 3.13: Comparación entre los espectros de absorción UV-Vis de los complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  para (líneas rojas) y los cúmulos  $\text{Ag}_n$  (líneas azules) para  $n = 9, 10$ .

La Figura 3.13 muestra los espectros para los siguientes dos complejos. Iniciando por  $\text{Ag}_9\text{-Tyr}$ , el espectro de este complejo muestra su máximo de intensidad en 3.91 eV, seguido de señales en 3.01, 3.60 y 3.95 eV. Debido a que el cúmulo correspondiente mostraba su máximo de intensidad de absorción en 4.07, es notorio que la coordinación del cúmulo con la tirosina provoca un corrimiento hacia el rojo en 0.16 eV. En el espectro del complejo el total de señales se extienden hasta 4.26 eV, a diferencia de  $\text{Ag}_9$ , en la que algunas señales de intensidad muy baja llegan hasta 5.0 eV.

Los espectros de absorción de  $\text{Ag}_{10}\text{-Tyr}$  y  $\text{Ag}_{10}$  mostraron algunas similitudes, entre ellas la localización de la señal de mayor intensidad en 3.28 eV para ambos sistemas. Esencialmente el espectro de  $\text{Ag}_{10}$  está formado por dos picos de mayor intensidad y las restantes son señales de muy baja intensidad. En contraste con el espectro del complejo respectivo, el cual muestra una serie de señales de baja y mediana intensidad entre 2.89 y 4.24 eV, con señales de muy baja intensidad fuera del intervalo mencionado. La presencia de estas señales de mediana, baja y muy baja intensidad puede ser resultado de la interacción entre el cúmulo y la molécula de tirosina.

Los espectros UV-Vis de los últimos dos complejos de la serie se muestran en la Figura 3.14. El espectro de  $\text{Ag}_{11}\text{-Tyr}$  muestra señales en el intervalo de 2.00 a 4.13 eV. Las principales señales de éste se observan, por orden de mayor a menor intensidad, en 3.12 y 3.19 eV. De manera similar a los complejos anteriores, la señal de mayor intensidad muestra un corrimiento hacia el rojo respecto al cúmulo desnudo. Para el  $\text{Ag}_{11}\text{-Tyr}$  este corrimiento es de 0.05 eV.

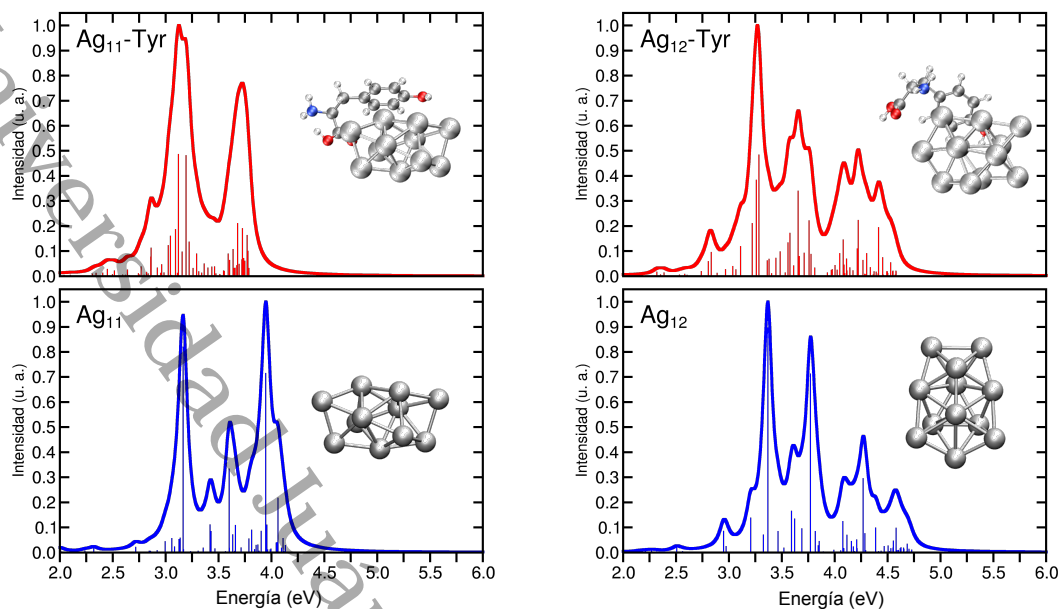


Figura 3.14: Comparación entre los espectros de absorción UV-Vis de los complejos  $Ag_n$ -Tyr para (líneas rojas) y los cúmulos  $Ag_n$  (líneas azules) para  $n = 11, 12$ .

Para el complejo  $Ag_{12}$ -Tyr, la absorción de mayor intensidad está centrada en 3.28 eV y la siguiente señal de mayor intensidad se ubica en 3.26 eV. El resto de las señales en el espectro son de mediana o baja intensidad, contrario a lo que se observa en el espectro del dodecámero, en el que coexisten al menos tres señales de intensidad considerable.

Tabla 3.4: Energías de transición (eV), para la absorción UV-Vis de mayor intensidad, de los cúmulos  $Ag_n$  y complejos  $Ag_n$ -Tyr. Se incluye el corrimiento en la señal de cada complejo respecto al cúmulo.

$n$	$Ag_n$	$Ag_n$ -Tyr
3	3.16	3.80 (0.64)
4	3.03	3.00 (0.03)
5	3.24	3.03 (0.21)
6	3.38	3.11 (0.27)
7	3.59	3.30 (0.29)
8	3.99	3.91 (0.08)
9	4.07	3.91 (0.16)
10	3.28	3.28 (0.00)
11	3.17	3.12 (0.05)
12	3.37	3.28 (0.09)

## Conclusiones

---

En este trabajo sintetizamos cúmulos fluorescentes de plata soportados en una matriz de proteínas (albúmina de huevo) mediante un método propio de reducción química.

La caracterización óptica de los cúmulos obtenidos muestra que el máximo en el espectro de absorción de UV-Vis se localiza en 276.0 nm, cercano a los valores reportados por Mathew *et al.* (279 nm) para la absorción en cúmulos de plata en albúmina de suero bovino ( $\text{Ag}_{15}@BSA$ ) [28].

Por otro lado, la emisión de los cúmulos obtenidos por nuestro método mostró una señal con máximo de intensidad en 692.3 nm, dada una longitud de onda de excitación de 412 nm. Nuevamente, este valor es acorde a lo reportado por Mathew *et al.* (685 nm) [28] y Shao *et al.* (702 nm) [34] para cúmulos de plata sintetizados en albúmina de suero bovino y membrana de cascarón de huevo de gallina (ESM), respectivamente.

El análisis por HRTEM encontró la presencia de nanopartículas con tamaños aproximados a los 10 nm. Si bien la emisión de fluorescencia es señal de la presencia de cúmulos con tamaños de 2 o 3 nm, es posible que la naturaleza orgánica del soporte de proteínas impida observarlos con facilidad a través de las microscopías. Esto es consistente con lo reportado por Mathew *et al.*, quienes encontraron la coexistencia de nanopartículas ( $\approx 5$  nm) con posibles cúmulos de menor tamaño [28] en el mismo soporte de proteínas (albúmina de suero bovino).

El método de síntesis ha demostrado ser efectivo, de bajo costo y rápido, pues permite obtener cúmulos fluorescentes en poco tiempo y con propiedades ópticas similares a las reportadas por otros grupos y en otros soportes.

En el aspecto computacional exploramos la superficie de energía potencial para cúmulos neutros  $\text{Ag}_n$  y sus correspondientes complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  ( $n = 3 - 12$ ), utilizando funcionales de la densidad con correcciones de largo alcance B3PW91 y bases gaussianas de alta calidad.

Los cálculos de energía indican que la coordinación con tirosina estabiliza a los cúmulos en estado neutro, promoviendo la relativa estabilidad de los complejos  $\text{Ag}_n\text{-Tyr}$  ( $n = 3 - 12$ ) con número par de átomos de plata. El análisis de Interacción No Covalente muestra que los sitios de interacción fuerte entre los átomos de plata y la



tirosina varían para cada complejo. Para todos los complejos coordinados, se observa que el sitio de interacción más frecuente entre el cúmulo desnudo y la molécula de tirosina es el átomo de oxígeno C=O del grupo carboxilo. En general, para todos los complejos ocurre una interacción débil entre el cúmulo de plata y el anillo aromático del grupo fenol.

Los espectros UV-Vis obtenidos con cálculos TDDFT para cada isómero de baja energía  $Ag_n$  coinciden en buena manera con la forma general y principales transiciones electrónicas observadas en los espectros de absorción medidos experimentalmente para cúmulos de plata en matrices de argón. Esto confirma que aunque la inclusión de otros isómeros con energías de punto simple mayores es esencial, las principales características de los espectros de absorción pueden ser descritas solo con tomar en cuenta al isómero de menor baja energía de cada sistema. La coincidencia en buena medida de entre los valores experimentales y teóricos de las energías de absorción óptica, los potenciales verticales de ionización y las afinidades electrónicas de los cúmulos desnudos  $Ag_n$  es resultado de la búsqueda exhaustiva llevada a cabo. Los presentes resultados sugieren que el conjunto de cúmulos  $Ag_n$  ( $n = 3 - 12$ ) son apropiados para el cálculo de los espectros de absorción UV-Vis y para la coordinación con otros sistemas moleculares. Los cambios en los espectros de absorción que van del ultravioleta (UV-C, 4.5 eV) al ultravioleta cercano (3.10 - 4.13 eV) de los complejos  $Ag_n$ -Tyr emerge de la coordinación de los cúmulos  $Ag_n$  con la molécula de tirosina.

## Referencias

---

- [1] R. L. Johnston, *Atomic and molecular clusters* (Taylor & Francis, New York, 2002).
- [2] U. Kreibig y M. Vollmer, *Optical Properties of Metal Clusters* | Uwe Kreibig | Springer (Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1995).
- [3] H. Haberland, *Clusters of Atoms and Molecules - Theory, Experiment, and Clusters of Atoms* | Hellmut Haberland | Springer (Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1994).
- [4] P. Jena y A. W. Castleman, *Nanoclusters: A Bridge Across Disciplines (Science and Technology of Atomic, Molecular, Condensed Matter & Biological Systems)* (Elsevier BV, 2011).
- [5] G. A. Ozin y H. Huber, *Inorg. Chem.* **17**, 155 (1978).
- [6] W. Harbich, S. Fedrigo, F. Meyer, D. M. Lindsay, J. Lignieres, J. C. Rivoal y D. Kreisler, *J. Chem. Phys.* **93**, 8535 (1990).
- [7] S. Huang, C. Pfeiffer, J. Hollmann, S. Friede, J. J.-C. Chen, A. Beyer, B. Haas, K. Volz, W. Heimbrodt, J. M. Montenegro Martos, W. Chang y W. J. Parak, *Langmuir* **28**, 8915 (2012).
- [8] I. Chakraborty y T. Pradeep, *Chem. Rev.* **117**, 8208 (2017).
- [9] E. Roduner, *Nanosopic Materials: Size-Dependent Phenomena* (The Royal Society of Chemistry, 2006).
- [10] P. Khandelwal y P. Poddar, *J. Mater. Chem. B* **5**, 9055 (2017).
- [11] R. Jin, C. Zeng, M. Zhou y Y. Chen, *Chem. Rev.* **116**, 10346 (2016).
- [12] R. Antoine y V. Bonačić-Koutecký, *Liganded silver and gold quantum clusters. Towards a new class of nonlinear optical nanomaterials* | Rodolphe Antoine | Springer (Springer International Publishing, 2018).

- [13] L. Shang, S. Dong y G. U. Nienhaus, *Nano Today* **6**, 401 (2011).
- [14] I. Díez y R. H. A. Ras, *Nanoscale* **3**, 1963 (2011).
- [15] S. Lindsay, *Introduction to nanoscience* (Oxford University Press, 2009).
- [16] B. S. González y M. A. López-Quintela, en *Functional Nanometer-Sized Clusters of Transition Metals: Synthesis, Properties and Applications* (The Royal Society of Chemistry, 2014), págs. 25–50.
- [17] P. L. Xavier, K. Chaudhari, A. Baksi y T. Pradeep, *Nano Reviews* **3**, 14767 (2012).
- [18] B. Valeur y M. N. Berberan-Santos, *Molecular Fluorescence: Principles and Applications* (John Wiley & Sons, 2012).
- [19] W. A. de Heer, *Rev. Mod. Phys.* **65**, 611 (1993).
- [20] U. Kreibig, *J. Phys. F: Met. Phys.* **4**, 999 (1974).
- [21] W. Harbich, S. Fedrigo, J. Buttet y D. M. Lindsay, *Z. Phys. D: At. Mol. Clusters* **19**, 157 (1991).
- [22] W. Harbich, S. Fedrigo y J. Buttet, *Chem. Phys. Lett.* **195**, 613 (1992).
- [23] W. Harbich, S. Fedrigo y J. Buttet, *Z. Phys. D: At. Mol. Clusters* **26**, 138 (1993).
- [24] M. Harb, F. Rabilloud, D. Simon, A. Rydlo, S. Lecoultré, F. Conus, V. Rodrigues y C. Félix, *J. Chem. Phys.* **129**, 194108 (2008).
- [25] M. Chen, J. E. Dyer, K. Li y D. A. Dixon, *J. Phys. Chem. A* **117**, 8298 (2013).
- [26] C. Yu, R. Schira, H. Brune, B. von Issendorff, F. Rabilloud y W. Harbich, *Nanoscale* **10**, 20821 (2018).
- [27] X. Le Guével, B. Hötzer, G. Jung, K. Hollemeyer, V. Trouillet y M. Schneider, *J. Phys. Chem. C* **115**, 10955 (2011).
- [28] A. Mathew, P. R. Sajanlal y T. Pradeep, *J. Mater. Chem.* **21**, 11205 (2011).
- [29] D. Lu, C. Zhang, L. Fan, H. Wu, S. Shuang y C. Dong, *Anal. Methods* **5**, 5522 (2013).
- [30] A. S. Patel y T. Mohanty, *J. Mater. Sci.* **49**, 2136 (2014).
- [31] C. Zhang, Z. Guo, G. Chen, G. Zeng, M. Yan, Q. Niu, L. Liu, Y. Zuo, Z. Huang y Q. Tan, *New J. Chem.* **40**, 1175 (2016).

- [32] P. Yu, X. Wen, Y.-R. Toh, X. Ma y J. Tang, *Part. Part. Syst. Char.* **32**, 142 (2015).
- [33] X. Wang, N. Wang, L. Li, R. Xiao, L. Yuan, X. Yang y N. Li, *RSC Adv.* **7**, 32536 (2017).
- [34] C. Shao, B. Yuan, H. Wang, Q. Zhou, Y. Li, Y. Guan y Z. Deng, *J. Mater. Chem.* **21**, 2863 (2011).
- [35] M. Li, D.-P. Yang, X. Wang, J. Lu y D. Cui, *Nanoscale Res. Lett.* **8**, 1 (2013).
- [36] J. Yu, S. A. Patel y R. M. Dickson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **46**, 2028 (2007).
- [37] S. S. Narayanan y S. K. Pal, *J. Phys. Chem. C* **112**, 4874 (2008).
- [38] José Luis Balán De la Cruz, *Fluorescencia de Nanoclústers de Plata en Soportes Orgánicos*, Thesis, UJAT (2016).
- [39] T. Sych, A. Polyanchko y A. Kononov, *J. Mol. Struct.* **1140**, 19 (2017).
- [40] R. Grande-Aztatzi, P. R. Martínez-Alanis, J. L. Cabellos, E. Osorio, A. Martínez y G. Merino, *J. Comput. Chem.* **35**, 2288 (2014).
- [41] X. Chen, Y.-F. Zhao, L.-S. Wang y J. Li, *Comput. Theor. Chem.* **1107**, 57 (2017).
- [42] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **98**, 5648 (1993).
- [43] P. J. Hay y W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **82**, 270 (1985).
- [44] P. J. Hay y W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **82**, 299 (1985).
- [45] M. Harb, F. Rabilloud y D. Simon, *J. Phys. Chem. A* **111**, 7726 (2007).
- [46] F. Weigend y R. Ahlrichs, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **7**, 3297 (2005).
- [47] F. Weigend, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **8**, 1057 (2006).
- [48] W. Humphrey, A. Dalke y K. Schulten, *J. Mol. Graphics* **14**, 33 (1996).
- [49] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich y H. Krieg, *J. Chem. Phys.* **132**, 154104 (2010).
- [50] A.-R. Allouche, *J. Comput. Chem.* **32**, 174 (2011).
- [51] E. R. Johnson, S. Keinan, P. Mori-Sánchez, J. Contreras-García, A. J. Cohen y W. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 6498 (2010).
- [52] J. Contreras-García, E. R. Johnson, S. Keinan, R. Chaudret, J.-P. Piquemal, D. N. Beratan y W. Yang, *J. Chem. Theory Comput.* **7**, 625 (2011).

- [53] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman y D. J. Fox, *Gaussian 16 Revision B.01* (2016), gaussian Inc. Wallingford CT.
- [54] V. Bonačić-Koutecký, L. Češpiva, P. Fantucci y J. Koutecký, *J. Chem. Phys.* **98**, 7981 (1993).
- [55] R. Poteau, J.-L. Heully y F. Spiegelmann, *Z. Phys. D: At. Mol. Clusters* **40**, 479 (1997).
- [56] V. Bonačić-Koutecký, V. Veyret y R. Mitrić, *J. Chem. Phys.* **115**, 10450 (2001).
- [57] R. Fournier, *J. Chem. Phys.* **115**, 2165 (2001).
- [58] H. M. Lee, M. Ge, B. R. Sahu, P. Tarakeshwar y K. S. Kim\*, *J. Phys. Chem. B* **107**, 9994 (2003).
- [59] M. N. Huda y A. K. Ray, *Phys. Rev. A* **67**, 013201 (2003).
- [60] G. F. Zhao, Y. Lei y Z. Zeng, *Chem. Phys.* **327**, 261 (2006).
- [61] M. Pereiro y D. Baldomir, *Phys. Rev. A* **75**, 033202 (2007).
- [62] S. Lecoultre, A. Rydlo, J. Buttet, C. Félix, S. Gilb y W. Harbich, *J. Chem. Phys.* **134**, 184504 (2011).
- [63] J. Zhao, Y. Luo y G. Wang, *Eur. Phys. J. D* **14**, 309 (2001).
- [64] S. Klacar, A. Hellman, I. Panas y H. Grönbeck, *J. Phys. Chem. C* **114**, 12610 (2010).
- [65] P. V. Nhat, N. T. Si y M. T. Nguyen, *J. Mol. Model.* **24**, 1 (2018).
- [66] M. Yang, K. A. Jackson y J. Jellinek, *J. Chem. Phys.* **125**, 144308 (2006).

- [67] K. Baishya, J. C. Idrobo, S. Ögüt, M. Yang, K. Jackson y J. Jellinek, *Phys. Rev. B* **78**, 075439 (2008).
- [68] M. L. McKee y A. Samokhvalov, *J. Phys. Chem. A* **121**, 5018 (2017).
- [69] C. Jackschath, I. Rabin y W. Schulze, *Z. Phys. D: At. Mol. Clusters* **22**, 517 (1992).
- [70] S. Lecoultré, A. Rydlo y C. Félix, *J. Chem. Phys.* **126**, 204507 (2007).
- [71] S. Fedrigo, W. Harbich y J. Buttet, *Phys. Rev. B* **47**, 10706 (1993).
- [72] W. Harbich, Y. Belyaev, R. Kleiber y J. Buttet, *Surf. Rev. Lett.* **03**, 1147 (1996).
- [73] J. C. Idrobo, S. Ögüt, K. Nemeth, J. Jellinek y R. Ferrando, *Phys. Rev. B* **75**, 233411 (2007).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.