

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE QUÍMICA

**SUPERFICIES NANOESTRUCTURADAS DE
PLATA Y SU APLICACIÓN EN ESPECTROSCOPIA
RAMAN**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA**

**PRESENTA
ALICIA DAMAYANTI REYES GASPAR**

**TUTOR
ROBERTO YSACC SATO BERRÚ**



CD. MX.

2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE:	Profesor: Juan Raúl Álvarez Idaboy
VOCAL:	Profesor: Luis Alejandro Díaz Flores
SECRETARIO:	Profesor: Roberto Ysacc Sato Berrú
1er SUPLENTE:	Profesor: Elizabeth Reyes Lopez
2° SUPLENTE:	Profesor: Claudia Inés Rivera Lopez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

INSTITUTO DE CIENCIAS APLICADAS Y TECNOLOGÍA
(ICAT), UNAM.

ASESOR DEL TEMA

Roberto Ysacc Sato Berrú

SUSTENTANTE

Alicia Damayanti Reyes Gaspar

ÍNDICE	Paginas
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
3. ANTECEDENTES	3
3.1 Nanopartículas	3
3.1.1 Tipos de nanoparticulas	4
3.2 Nanopartículas de Ag	5
3.2.1 Métodos de obtención de coloides de plata (Ag)	6
3.3 Superficies con nanopartículas.....	6
3.3.1 Métodos para producir superficies nanoestructuradas.....	8
3.4 Espectroscopia Raman y Efecto SERS.....	10
3.4.1 Instrumentación	11
3.4.2 Efecto Raman.....	12
3.4.3 Efecto SERS (Surface Enhanced Raman Scattering) por radiación Raman.....	13
3.4.4 Funcionalización de superficies por medio de APTES para la formación de sustratos SERS	14
3.4.5 Técnicas para generar superficies SERS	16
3.4.6 Espectros Raman	16
3.4.7 Fluorescencia.....	17
3.4.8 Aplicaciones de la espectroscopia Raman.....	18
3.5 Vitaminas.....	18
3.5.1 Ácido fólico (vitamina B9).....	19
3.5.2 Riboflavina (vitamina B2).....	19
3.5.3 Piridoxina.....	19
3.6 Química computacional.....	21
3.6.1 Química Modelo	21
3.6.2 Teoría del funcional de la densidad o DFT por sus siglas en ingles.....	23
3.6.3 Programas utilizados en química computacional.....	24
3.6.4 Aplicaciones de la química computacional	24
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL	26
4.1 Materiales y reactivos	26
4.2 Instrumentación	26
4.3 Metodología	27
4.3.1 Limpieza de sustratos	27
4.3.2 Síntesis de nanopartículas de Ag (coloides)	28

4.3.3	Fabricación de sustratos de Ag.....	28
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
5.1	Limpieza de sustratos.....	29
5.2	Síntesis de nanopartículas de Ag (coloides).....	30
5.3	Funcionalización de superficies por medio de APTES y fabricación de sustratos de Ag.....	31
5.4	Funcionalidad de superficies SERS.....	32
5.4.1	Análisis vibracional de rodamina 6G en superficies SERS.....	32
5.5	Análisis vibracional de vitaminas.....	35
5.5.1	Ácido fólico.....	36
5.5.2	Riboflavina.....	42
5.5.3	Clorhidrato de piridoxal.....	47
5.5.4	Dihidrocloruro de piridoxamina.....	52
6.	CONCLUSIONES.....	60
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	61

1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas numerosos logros significativos se hicieron en la investigación de nanopartículas de metal noble, por ejemplo en el terreno científico de diferentes áreas de investigación, como la ingeniería biomédica y la ciencia de los materiales.

El éxito en el desarrollo y la producción de nuevas nanoestructuras metálicas abre nuevas posibilidades para la detección molecular, materiales ópticos novedosos, circuitos integrados, comunicaciones y el tratamiento del cáncer.

Actualmente muchos estudios se dirigen hacia SERS, plasmones impulsando materiales. Y a menudo, estos materiales incluyen coloides de nanopartículas o película delgada nanoestructurada de metales nobles, como la plata o el oro.

Las estrategias generales para su preparación emplean síntesis química de coloides anisotrópicos de nanopartículas o métodos de litografía para superficies nanoestructuradas altamente ordenadas.

La producción de capas de nanopartículas de Ag coloidal uniformes sobre una superficie sólida puede ser el método de elección, ya que combina alta mejora típica de nanopartículas coloidales, así como aumento de la capacidad de repetición debido a capas de sustrato SERS uniformes.

Un método alternativo ofrece la síntesis basada en auto ensamblaje directo es decir; nanopartículas de Ag sobre una superficie sólida funcionalizada con grupos amino. Debido a las fuertes interacciones entre el átomo de nitrógeno y nanopartículas de Ag, superficie en la que es posible depositar de alta densidad nanopartículas de Ag sobre la superficie sólida rica en grupo amino.

2. OBJETIVOS

Objetivo principal

Desarrollar y optimizar un método para funcionalizar nanopartículas de Ag en superficies de vidrio, utilizando 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES).

Objetivos particulares

- Elucidar los puntos críticos del proceso de funcionalización para mejorar la uniformidad de la superficie nanoestructuradas.
- Evaluar la capacidad de las superficies nanoestructuradas para disminuir los fenómenos de Fluorescencia durante el análisis por espectroscopia Raman.
- Comparar las diferencias de las señales Raman para las vitaminas estudiadas en presencia y ausencia de superficies SERS.

3. ANTECEDENTES

3.1 Nanopartículas

El prefijo “nano”, proviene del griego y significa “enano”: en el campo de las nanociencias representa la mil millonésima parte de una unidad.

Una nanopartícula (nanopolvo, nanoracimo, o nanocrystal) es una partícula que tiene una dimensión menor a 100 nanómetros. Las nanoparticulas han existido en el planeta desde siempre y actualmente son un área de intensa investigación científica, debido a una amplia variedad de aplicaciones potenciales en campos tales como biomédica, óptica, electrónica, nanoquímica o la agricultura. La ciencia que estudia las nanoparticulas se denomina nanotecnología.

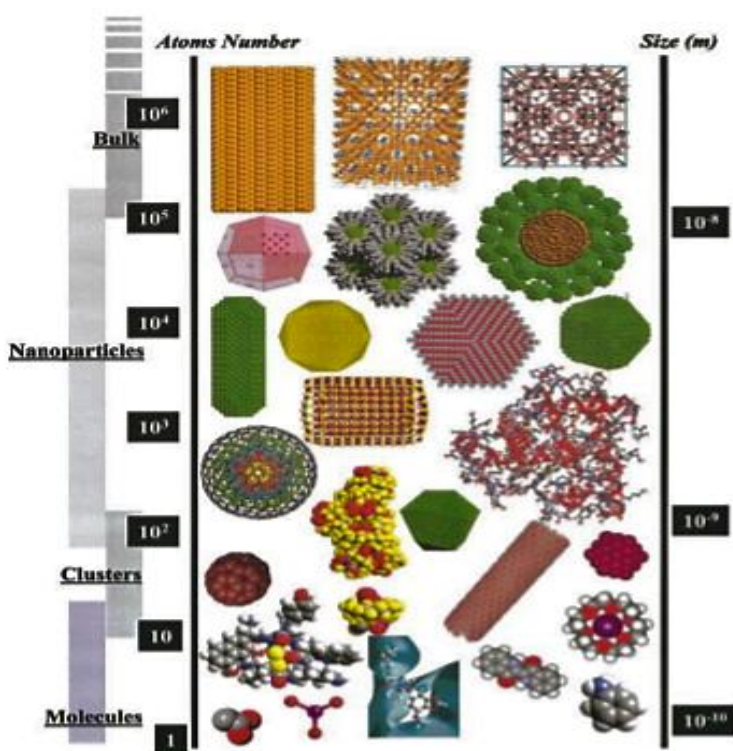


Figura 1. Diagrama comparativo de tamaños a nivel molecular.

La Figura 1 muestra la comparación entre el tamaño de: átomos, moléculas, nanoparticulas y macro cristales, esta imagen fue tomada del artículo structure shape and stability of nanometric sized particles.

3.1.1 Tipos de nanoparticulas

Generalmente, los nanomateriales se clasifican en 4 grupos:

- 1) Materiales con base de carbon: las estructuras de estos materiales normalmente son: esféricas, elipsoidales o tubulares; sus propiedades fundamentales son: masa reducida, mayor dureza, elasticidad y conductividad eléctrica.
- 2) Materiales con base metálica: pueden ser puntos cuánticos, transistores de un solo electrón, o nanoparticulas de oro, plata o de metales reactivos como el dióxido de titanio.
- 3) Dendrimeros: polímeros manométricos contruidos a modo de arborescencia, las terminaciones de cada cadena de ramas pueden diseñarse para ejecutar funciones químicas específicas (una propiedad útil para procesos catalíticos).
- 4) Composites: combinan nanoparticulas con otras de distinta naturaleza o con materiales de mayor dimensión; el caso de arcillas nanoestructuradas es un ejemplo de uso extendido.

Las nanoparticulas se aplican para el perfeccionamiento de materiales existentes o la innovación de nuevos materiales, por ejemplo: en el área médica; se han elaborado gasas para quemaduras serias o heridas graves, con nanoparticulas de plata que mejoran la eficiencia contra 150 tipos de microbios.

En el área de protección ambiental, se han desarrollado nanoparticulas de dióxido de titanio, cuando están presentes en las aceras o en la pintura de las casas se activan en presencia de la luz solar, y descomponen los contaminantes atmosféricos.

En el área dental, se aplica en trabajos de restauración dental, endodoncias o incrustaciones de porcelana se emplea un adhesivo con nanopartículas de silicio, cuya función es formar uniones fuertes entre el esmalte y las coronas [1].

3.2 Nanopartículas de Ag

Las nanopartículas metálicas se encuentran en la categoría del estado de la materia masivo y el estado molecular, lo que les confiere propiedades mixtas y características entre estos dos estados de la materia, de ahí el interés para su aplicación en diversas áreas de la ciencia.

La plata (Ag) nanoestructurada es de gran interés para aplicaciones tecnológicas e industriales, por ejemplo; entre las diversas aplicaciones de las nanopartículas de Ag están la catálisis para la oxidación selectiva de estireno, así como en recubrimientos antimicrobianos amigables con el ambiente, sensores ópticos de tiempo real, impresiones electrónicas, fotonica, etc.

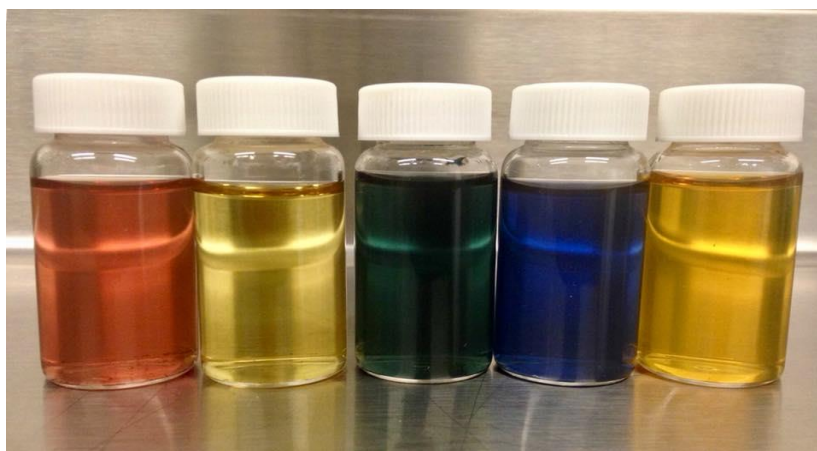


Figura 2. Nanopartículas de Ag.

La Figura 2 muestra nanopartículas coloidales de Ag.

Una característica útil de las partículas nanométricas es la posibilidad de controlar sus dimensiones al sintetizarlas, lo que permite un tamaño menor o comparable con el de las células 10 a 100 nanómetros (nm)

En la actualidad, se han desarrollado metodologías de síntesis de nanopartículas de plata (NP Ag) que permiten la obtención de partículas con tamaños cada vez más pequeños, casi monodispersos, reproducibles y con gran estabilidad química [2].

3.2.1 Métodos de obtención de coloides de plata (Ag)

Un coloide se puede definir como aquellos sistemas en los que un componente sólido se encuentra disperso en un disolvente, siendo las partículas dispersas mucho mayores que las moléculas del disolvente. El tamaño de las partículas dispersas tienen un tamaño entre 1 nm (10^{-9} m) [3].

Los coloides de Ag se clasifican de acuerdo a las características de la fase dispersa o discontinua y de la fase dispersante o continúa; una solución coloidal en la que la fase dispersa es un sólido se le llama suspensoide o gel y si la fase dispersa es un líquido se llama emulsoide o sol.

En la actualidad existen 4 métodos de obtención de coloides de plata (Ag):

- Reducción de sales de metales de transición.
- Descomposición térmica, fotoquímica o sonoquímica.
- Síntesis electroquímica.
- Reducción y desplazamiento de ligandos de compuestos organometálicos.

3.3 Generalidades de las superficies con nanopartículas

Las superficies con nanopartículas o películas delgadas son estructuras sólidas con espesores del orden de pocos nanómetros a cientos de micras. A estas estructuras se les puede considerar sistemas bidimensionales y al ser tan delgadas los efectos físicos del espesor se vuelven despreciables.

En sus inicios, las películas delgadas se utilizaron principalmente para fines decorativos, en el siglo XVII, los artesanos desarrollaron un procedimiento que consistía en pintar un patrón en un objeto cerámico con una disolución de sal de plata; el cerámico se calentaba para causar la descomposición de la sal y finalmente dejar una película delgada de plata metálica sobre el cerámico.

Actualmente, las películas delgadas metálicas aún se utilizan con fines de ornato. Sin embargo, el avance en el procesamiento de diversos materiales en película delgada ha permitido el desarrollo de dispositivos que se utilizan en múltiples aplicaciones tecnológicas.

En general, las películas delgadas se pueden emplear para:

- 1) La optimización de las propiedades del sustrato.
- 2) La adición de propiedades al sustrato.

Para que una película delgada sea funcional, se deben de cumplir con las siguientes características o especificaciones:

- Estabilidad química y térmica, así como buena adherencia al sustrato.
- Espesor uniforme.
- Composición química controlada.
- Densidad de imperfecciones.

Al controlar las especificaciones de la película, esta puede ser aislante o semiconductor, poseer propiedades ópticas, magnéticas, o las que se requieran para alguna aplicación en específico. Dadas las exigencias que se precisan en las películas delgadas, se requiere contar con técnicas especializadas para su fabricación y caracterización.

El rango de espesores en las películas delgadas se sitúa desde el orden de nanómetros hasta algunas micras, su procesamiento se debe realizar por condensación a nivel de átomos y moléculas sobre un sustrato. Para tal efecto, existen diferentes métodos de depósito y crecimiento de películas delgadas que están en continuo desarrollo y mejoramiento.

El procesamiento de materiales en película delgada implica una amplia variedad de factores a considerar, que van desde la elección del material a ser condensado, así como de la arquitectura del diseño a nivel atómico y las propiedades esperadas.

La ciencia y tecnología de películas delgadas, va de la mano con áreas tan diversas como: la ciencia del vacío, la fisicoquímica del estado sólido, la ciencia de las superficies y la física computacional, aunado a los avances en los métodos de caracterización, es lo que ha permitido la obtención de películas delgadas con un alto grado de calidad y especialización [4].

3.3.1 Métodos para producir superficies nanoestructuradas

Las técnicas para obtener superficies metálicas nanoestructuradas se clasifican principalmente en dos categorías:

1. Técnicas físicas (métodos de evaporación): estas técnicas requieren de medios mecánicos o electromecánicos para depositar la película en el sustrato: por ejemplo se aprovecha la diferencia de temperaturas o presiones para llevar las películas al sustrato donde se quiere depositar.
2. Técnicas químicas (procesos químicos en fase gas o líquido): estas técnicas requieren un precursor líquido que reacciona químicamente con el sustrato, esto permite un depósito uniforme.
3. También hay técnicas que combinan procesos químicos y físicos (métodos fisicoquímicos), como son los procesos de pulverización catódica.

Dependiendo de las propiedades específicas que se requieran para la película delgada se puede utilizar alguna técnica en particular.

Las condiciones de análisis cambian dependiendo del tipo de sustrato sobre el que se quiere depositar la película, y también de acuerdo al tipo de material que se quiere depositar (cerámicos, polímeros, aleaciones).

Cada técnica de depósito tiene sus ventajas y desventajas con respecto al material que se va a depositar, siempre hay que hacer una evaluación costo-beneficio con respecto al costo del material, equipo y condiciones de depósito.

En la tabla 1 se presenta una clasificación de las técnicas para depositar películas delgadas.

Tabla 1. Clasificación de técnicas utilizadas para depósitos de películas delgadas

Técnicas depósito de películas delgadas [5]	
Físicas	
Evaporación	Sputtering (Proceso de descarga luminiscente)
Evaporación al vacío	Pulverización catódica
Evaporación por resistencia	Diodo de pulverización catódica
Evaporación por haces de electrones	Pulverización catódica reactivo
Evaporación láser	Ion Plating
Evaporación por arco	Depósito de pulverización catódica por haz de iones
Flash evaporación	Placado iónico reactivo
Evaporación RF (Radio-Frecuencia)	Deposición por haz del racimo
	Proceso por plasma
	Deposito químico en fase vapor mejorado por plasma
	Deposito por arco catódico
Químicas	
En fase vapor	En fase líquida
Deposito químico en fase vapor	Galvanoplastia
Deposito químico en fase vapor Epitaxia	Recubrimiento sin electrones
Deposito químico en fase vapor a presión atmosférica	Anodización eléctrica
Deposito químico en fase vapor en presión baja	Plateado por reacción química
Deposito químico en fase vapor de Metal- Orgánico	Desplazamiento químico
Deposito químico en fase vapor mejorado por luz	Spray pirólisis
Deposito químico en fase vapor inducido por láser	Técnicas spray-on
Deposito químico en fase vapor inducido por electrones	Técnicas spin-on
Oxidación Térmica	Epitaxia en fase líquida
Nitridación Térmica	

Los métodos químicos de depósito de la película se dividen en 2 clases:

- 1) Donde la formación de la película se da a partir del entorno que rodea al sustrato, por ejemplo el caso de la galvanoplastia, el plateado por reducción química y el depósito en fase vapor.
- 2) En el otro caso, la formación de la película ocurre de manera independiente, en función de los ingredientes precursores, como el caso del depósito químico en fase vapor, procesos químico órgano-metálicos, pulverización catódica, implantación de haz de iones y el crecimiento térmico.

Los métodos químicos producen películas de máximo una micra de grosor. Otras técnicas con las que se puede fabricar películas de mayor grosor son: serigrafía, acristalamiento, depósito electroforético, pulverización aérea y pintado [6]

3.4 Espectroscopia Raman y Efecto SERS

Una de las técnicas analíticas que ha despertado mayor interés en los últimos años es la espectroscopia Raman. Esta técnica surgió a finales del año 1920 y está basada en el efecto Raman, fenómeno descubierto por el físico Hindú Chandrasekhara Venkata Raman. Fue postulado por primera vez por Smekal en 1923, y observado en 1928 por Raman y KS Krishna.

En el experimento original se enfocó el sol por un telescopio a unas muestras de agua y alcohol purificadas. A través de un lente se recolecta la radiación dispersa por la muestra, la cual pasa a través de un sistema de filtros para demostrar la existencia de dispersión con una frecuencia distinta a la luz original. Por este descubrimiento en 1930 C V Raman fue galardonado con el premio Nobel de Física.

En la actualidad los espectros Raman se pueden obtener por espectroscopia de transformada de Fourier, FT-Raman o Raman no-lineal y por microscopía Raman de aumento de superficies (SERS).

La espectroscopia Raman se aplica ampliamente en el estudio de sistemas biológicos, ya que es una técnica de análisis molecular, no destructiva. Generalmente esta técnica es usada para mediciones cualitativas y cuantitativas, tanto para materiales orgánicos e inorgánicos [7].

Las ventajas de esta técnica son:

- El tamaño de la muestra que requiere es pequeño.
- La interferencia espectral del agua es mínima.
- Mayor resolución de los espectros y mayor sensibilidad para la diferenciación de factores conformacionales.

3.4.1 Instrumentación

El equipo de caracterización de espectroscopía Raman consta de cuatro componentes:

1. Fuente de excitación.
2. Sistema de iluminación de la muestra.
3. Sistema de selección de longitud de onda.
4. Detector.

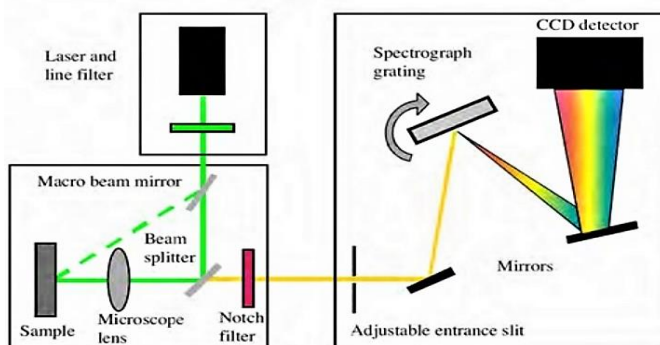


Figura 3. Esquema de funcionamiento de un equipo Raman.

En la Figura 3 se muestra un esquema del funcionamiento del equipo. La función es la siguiente: el equipo tiene tres fuentes de excitación monocromáticas intercambiables de distinta longitud de onda, de esta manera es posible obtener distintos espectros dependiendo de la longitud de onda incidente, con el fin de elegir el espectro que tenga una intensidad mayor. La radiación se guía mediante fibra óptica de excitación y se focaliza en la zona de la muestra que se desea analizar. Se detecta la luz dispersada -señal Raman- y se guía de nuevo mediante fibra óptica hasta el detector multicanal, el cual emplea un espectrómetro con el objetivo de separar las distintas longitudes de onda y que sean detectadas simultáneamente mediante el detector.

3.4.2 Efecto Raman

El efecto Raman es un fenómeno de dispersión de la luz, producido por las rotaciones y vibraciones internas que se dan dentro de una molécula, al hacer incidir sobre ella un haz de luz monocromática se observan dos tipos de dispersiones; dispersión elástica y dispersión inelástica.

Las dispersiones son las características de cada compuesto químico y se deben a las vibraciones internas que ocurren en las moléculas. El conjunto de dispersiones producido por las moléculas, formara el espectro Raman propio de esta.

A continuación se muestran los tipos de dispersiones existentes en Raman.

1. Dispersión elástica o denominada comúnmente como efecto (Rayleigh): tiene lugar cuando los fotones dispersos tiene la misma energía, (frecuencia) y longitud de onda de los fotones incidentes. A la par del efecto Rayleigh hay una pequeña porción de luz que si cambia de frecuencia (aproximadamente 1 fotón dispersado por 10^7 incidentes).

Este cambio de frecuencia es debido a la dispersión inelástica de la muestra de estudio y es conocido como efecto Raman [8].

2. Dispersión inelástica: (en este tipo de dispersión se encuentra: la dispersión Raman base del efecto del mismo nombre).

En la dispersión inelástica hay un cambio en la frecuencia (energía y longitud de onda) entre el fotón incidente y el emitido. Este cambio o desplazamiento puede ocurrir de dos maneras:

I. **Dispersión Raman Stokes:** ocurre cuando el fotón le cede energía a la molécula, esto hace que el fotón dispersado presente una frecuencia menor a la inicial ($\nu - \nu_i$).

II. **Dispersión Anti-Stokes:** ocurre cuando el fotón obtiene energía de la molécula. El desplazamiento en la frecuencia corresponde a energías vibracionales, rotaciones o de transiciones electrónicas de la molécula.

Esto hace que el fotón dispersado tenga una frecuencia mayor a la inicial ($\nu + \nu_i$).

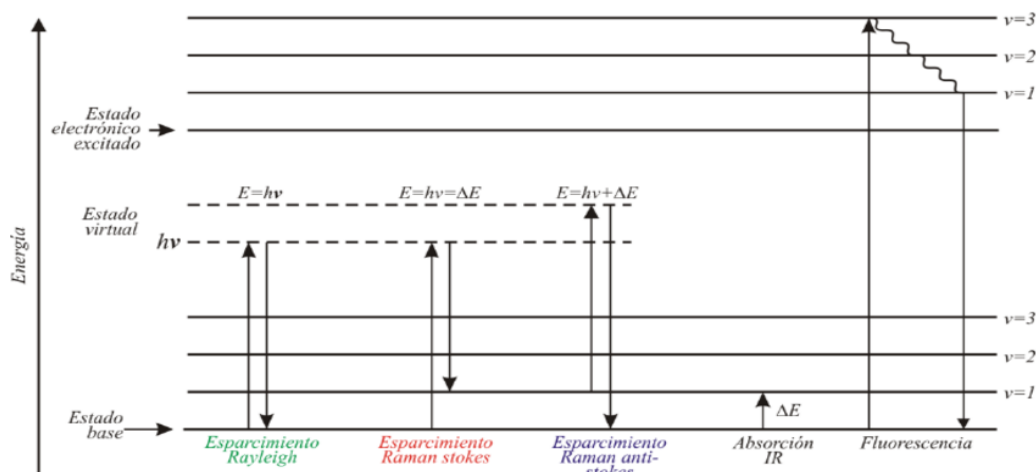


Figura 4. Diagrama de niveles de energía para el espárcimiento Raman.

La dispersión de Raman comprende a una fracción muy pequeña de los fotones incididos (aproximadamente una millonésima parte). Podemos esquematizar las tres formas de dispersión en un diagrama de energía (Figura 4).

Explicado de una manera más generalizada, podemos decir que el efecto Raman se produce cuando la luz incide sobre una molécula e interactúa con la nube de electrones de los átomos de esa molécula. El fotón incidente excita uno de los electrones a un estado virtual. La molécula se excita desde el estado basal a un estado de energía virtual, y se relaja a un estado vibracional excitado, lo que genera la dispersión de Raman Stokes. Si la molécula ya se encontraba en un estado de energía vibracional superior, la dispersión Raman se llama entonces dispersión Raman anti-Stokes.

Para que la molécula exhiba el efecto Raman es necesario un momento dipolar, o cantidad de deformación de la nube de electrones con respecto a la coordenada vibracional. La magnitud del desplazamiento de polarizabilidad determinará la intensidad de la dispersión Raman, siempre que el desplazamiento Raman sea igual al nivel vibracional involucrado.

3.4.3 Efecto SERS (Surface Enhanced Raman Scattering) por radiación Raman.

La espectroscopia Raman aumentada por la superficie (SERS) consiste en la amplificación de señales Raman (del orden 10^5 a 10^{14} veces con respecto a las intensidades que se esperaba obtener).

Para obtener SERS es necesario la interacción entre el analito y una superficie o partícula metálica: el analito absorbe en el metal [9].

El efecto SERS fue descubierto en 1974 por Fleischmann et al [10], quienes detectaron piridina absorbida sobre un electrodo al que había aplicado ciclos de óxido-reducción.

La explicación que dieron al efecto observado fue: la amplificación en la intensidad se debe a un aumento en el área superficial del electrodo, por tanto se absorben un mayor número de moléculas, y por consiguiente la intensidad es debida a un mayor número de moléculas involucradas en el proceso.

Es posible obtener efecto SERS de moléculas absorbidas en superficies metálicas tales como oro, plata, cobre, aluminio y platino; siendo la plata el metal que produce un efecto más intenso.

La mayoría de los trabajos de investigación llevados a cabo para explicar la naturaleza de este fenómeno, conducen a la consideración de dos modelos fundamentales basados en la necesidad de la existencia de una superficie rugosa para que el efecto tenga lugar:

- a. El modelo electromagnético (EM), que se basa en la mejora del campo electromagnético local.
- b. El mecanismo químico (transferencia de carga o CT), se basa en la transferencia de carga entre las moléculas adsorbidas y la superficie metálica. Todos los indicios experimentales hallados hasta la fecha, apuntan a considerar que ambos se dan simultáneamente [11].

3.4.4 Funcionalización de superficies por medio de APTES para la formación de sustratos SERS

Los primeros sustratos SERS se hicieron a partir del trabajo de Fleishmann en 1973. El tratar de encontrar sustratos SERS óptimos, está justificado dado que es posible optimizar parámetros tales como tamaño y forma de las nanoparticulas metálicas, lo que contribuye en el parámetro

más importante que debe tener un buen sustrato SERS; una mayor amplificación de señal Raman [12].

Las características del sustrato SERS ideal son:

- Fácil de preparar
- Reproducible
- Químicamente estable
- Contar con muchos sitios de amplificación de señal

Los sustratos SERS se pueden clasificar en 3 categorías [13]:

1. Nanopartículas metálicas de suspensión.
2. Nanopartículas metálicas depositadas sobre sustratos sólidos.
3. Nanoestructuras fabricadas directamente sobre sustratos.

Los experimentos SERS más sencillos corresponden a la categoría 1 (nanopartículas metálicas de suspensión), donde simplemente se agrega cierta concentración del analito en una disolución con nanopartículas de plata.

La principal desventaja de esta técnica es controlar la reproducibilidad del experimento, dado que muchas veces las nanopartículas suelen formar cúmulos pero, a pesar de esa situación las nanopartículas metálicas son ampliamente utilizadas, dada su facilidad de fabricación.

En cuanto a la categoría 2 (nanopartículas metálicas depositadas sobre sustratos sólidos), tiene como principal desventaja la adherencia de las nanopartículas metálicas al soporte.

Para lograr la adhesión de partículas de oro o plata sobre vidrio es necesario modificar la superficie de vidrio con 3-aminopropil-trietoxisilano (APTES) o mercapto-propil-trimetoxisilano (MPTS).

La principal ventaja de esta técnica es que permite muy buen control de la geometría que se busca generar sobre las nanoestructuras, lo que se ve reflejado en la reproducibilidad de dichos sustratos [14].

3.4.5 Técnicas para producir superficies SERS

Se presenta una búsqueda en la literatura de algunas las técnicas para generar sustratos SERS [15]:

- Coloides metálicos producidos por reducción de una sal metálica en medio acuoso o no acuoso.
- Superficies metálicas a las que se aplica ciclos oxido-reducción.
- Película metálica rugosa por bombardeo iónico en vacío.
- Película metálica rugosa por pulido mecánico.
- SERS en polvos de plata.
- Partículas de platino sobre óxido.
- Partículas coloidales de plata que se adhieren a un filtro.
- Rejillas metálicas producidas por litografía.
- Arreglos de esferas metálicas por litografía.

3.4.6 Espectros Raman

Como se mencionó anteriormente cada espectro Raman está formado por una banda que posee la misma frecuencia de la radiación incidente (correspondiente a la dispersión Rayleigh), y otras bandas de menor intensidad las cuales corresponden al efecto Raman y forman dos conjuntos diferentes: las bandas stokes, de frecuencias inferiores al incidente, y las anti-stokes, de frecuencias superiores la incidente.

Estas bandas stokes y anti-stokes, aparecen en pares y en formas simétricas con respecto a la frecuencia central, sin embargo las bandas stokes son considerablemente más intensas que las anti-stokes, por lo que generalmente son omitidas ya que proporcionan la misma información que las bandas stokes.

La representación de estas bandas de dispersión se hace en función del número de onda, en vez de la longitud de onda o la frecuencia. El número de onda se define como el número de ondas que cabe en un centímetro.

Usualmente los espectros Raman que se obtienen, se componen de una señal útil y otra de ruido que perturba la información que existe en las bandas Raman.

Los ruidos más habituales pueden ser clasificados en cinco grupos diferentes:

- Ruido shot.
- Ruido por la muestra.
- Ruido por la instrumentación.
- Ruido computacional.
- Ruido por fuentes externas.

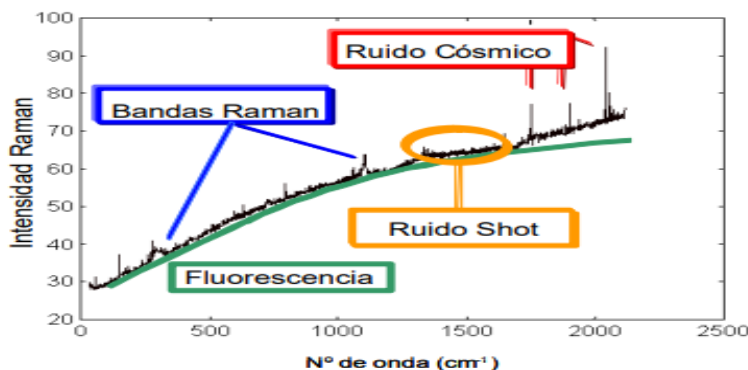


Figura 5. Ruidos más importantes en Espectroscopía Raman.

Un ejemplo de los ruidos más habituales que podemos encontrar en un espectro Raman son: el ruido shot, el ruido cósmico y la fluorescencia como se observar en la Figura 5.

Las intensidades Raman suelen ser directamente proporcionales a la concentración de la especie activa. Desde este punto de vista, la espectroscopía Raman se parece más a la fluorescencia que a la absorción, en la cual la relación entre la intensidad y la concentración es logarítmica [16].

3.4.7 Fluorescencia

La fluorescencia es un ruido generado por la muestra que incluye emisiones ópticas no deseadas, por tanto es el principal factor que nos impide tener un buen espectro Raman.

Este fenómeno se debe a la absorción de fotones de una determinada longitud seguida por la emisión de fotones de una longitud de onda mayor.

El fotón incidente, es absorbido por la molécula y hace que esta pase a un estado electrónico excitado, después la molécula salta a otro estado excitado de menor energía emitiendo un fotón de mayor longitud de onda que el que absorbió. Esta emisión se produce en un intervalo de tiempo corto después de la absorción, millonésimas de segundo, por lo que este fenómeno solo tiene lugar mientras dura la iluminación.

3.4.8 Aplicaciones de la espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman ofrece información, basada en la vibración de las moléculas de la muestra analizada, permite analizar compuestos de diversos tipos que se encuentran en cualquier estado de agregación. Esta técnica sirve para identificar una gran cantidad de compuestos y materiales.

Fue usada inicialmente para examinar materiales inorgánicos, pero después su uso se amplió considerablemente para el análisis de compuestos orgánicos.

Recientemente la espectroscopia Raman ha tenido un importante crecimiento en aplicaciones biomédicas y alimenticias, así como también en áreas como: geología, astronomía, semiconductores, arte, arqueología y biotecnología [17].

3.5 Vitaminas

Las vitaminas son grupos de sustancias orgánicas, sin valor energético propio, necesarias en pequeñas cantidades que el organismo humano es incapaz de sintetizar.

Actualmente se consideran trece familias de sustancias con naturaleza vitamínica y se clasifican en dos grupos; en función de su solubilidad en solventes orgánicos o en agua [18].

- Vitaminas liposolubles; vitamina A, E, K y D.
- Vitaminas hidrosolubles; B₁, B₂, PP, B₅, B₆, B₈, B₉, B₁₂, C.

3.5.1 Ácido fólico (vitamina B9)

El ácido fólico, folacina o ácido pteroil-L-glutámico, conocida también como vitamina B9, es necesaria para la formación de proteínas estructurales y hemoglobina. Los términos "fólico" y "folato" derivan del latín *folium*, que significa *hoja vegetal*. La Figura 6 muestra la estructura molecular y propiedades del ácido fólico.

Formula química: $C_{19}H_{19}N_7O_6$

Peso molecular: 441.4 g/mol

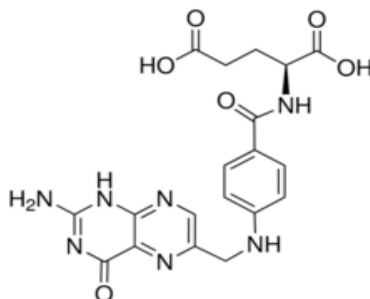


Figura 6. Estructura molecular del ácido fólico.

3.5.2 Riboflavina (vitamina B2)

La riboflavina también conocida como vitamina B2 forma parte de dos coenzimas, el mononucleotido de flavina y el dinucleotido de flavina adenina, que interviene en reacciones de óxido-reducción.

La Figura 7 muestra la estructura molecular y propiedades de la riboflavina.

Formula química: $C_{17}H_{20}N_4O_6$

Peso molecular: 376.37 g/mol

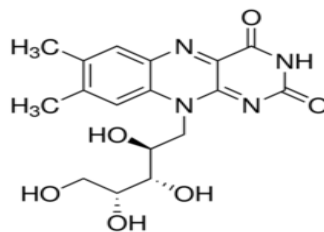
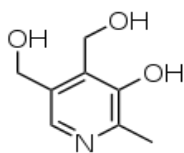


Figura 7. Estructura molecular de la riboflavina.

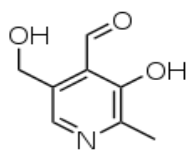
3.5.3 Piridoxina

La vitamina B₆ o piridoxina es un término que engloba tres sustancias naturales que están relacionadas metabólicamente y funcionalmente.

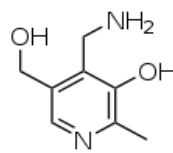
Son la piridoxamina, el piridoxal, y la piridoxina, las estructuras de estos compuestos se muestran en la figura 8.



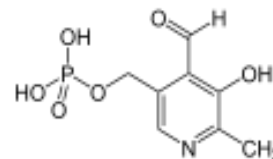
Piridoxina



Piridoxal



Piridoxamina



Fosfato de piridoxal

Figura 8. Estructuras de compuestos químicos vitamina B6.

La Figura 9 muestra la estructura de uno de los derivados de la vitamina B₆ conocido como: clorhidrato de piridoxal.

Clorhidrato de Piridoxal

(vitamina B6)

Formula química: C₈ H₉ NO₃ · HCl

Peso molecular: 203.63 g/mol

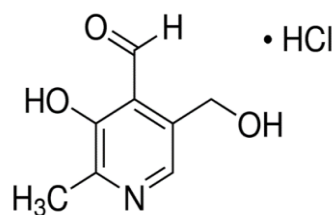


Figura 9. Estructura molecular del clorhidrato de piridoxal.

Otro derivado de la vitamina B₆, es el (dihidrocloruro de piridoxamina), el cual se puede observar en la Figura 10, donde se muestra su estructura molecular.

Dihidrocloruro de piridoxamina

(vitamina B6)

Formula química: C₈ H₁₂ N₂ O₂ · 2H Cl

Peso molecular: 241.13 g/mol

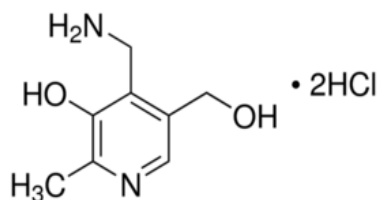


Figura 10. Estructura molecular de la piridoxamina.

3.6 Química computacional

A finales del año 1960 apareció un nuevo campo del conocimiento, impulsado por los químicos dedicados a la obtención de medicamentos.

Con el fin de desarrollar moléculas que tuvieran posibilidades elevadas de mostrar la actividad biológica deseada, y con la ayuda de computadoras se originó la química computacional, que fue impulsada por las compañías farmacéuticas importantes del mundo y que coincidió con el vertiginoso desarrollo del cómputo.

De este modo la revolución computacional, comparable con la revolución industrial del siglo XIX, iniciaba su impacto en la química.

La química computacional es la disciplina que comprende todos aquellos aspectos de la investigación en química que se benefician de la aplicación de las computadoras.

Esta definición incluye desde la aplicación del cómputo para controlar los equipos con los que se realiza investigación, como un espectrómetro de resonancia magnética nuclear o un espectrofotómetro de infrarrojo, hasta el manejo de bancos de información, pasando por supuesto por las aplicaciones que impactan la descripción de la estructura de moléculas.

En un sentido más restrictivo, el núcleo de la química computacional implica el uso de modelos matemáticos para la predicción de propiedades químicas y físicas de compuestos, empleando computadoras.

3.6.1 Química Modelo

John Pople [19], denominado el padre de la química computacional de aplicación generalizada, desarrolló el programa para efectuar cálculos ab initio llamado Gaussian 70 (el primero de la serie), e introdujo el concepto de “químicas modelo”, que consisten en un modelo teórico independiente y aplicable en forma uniforme para predecir las propiedades de sistemas químicos.

Una química modelo consiste en la combinación de un método teórico y un conjunto de base. Conforme los modelos se vuelven más sofisticados, se aproximan más a la química real. Sin embargo, los métodos más precisos con que se cuenta hoy incorporan correcciones empíricas, como en el caso de los modelos G1, G2, G3 y de conjuntos de base completos (CBS por sus siglas en inglés) propuestas por Pople para realizar termoquímica computacional.

El uso de una química modelo se basa en: un modelo teórico que debe ser aplicable en forma uniforme a cualquier sistema molecular, independientemente de su tipo y tamaño, siendo la capacidad de cómputo la única limitante que debe imperar.

Este principio tiene dos implicaciones:

- a. Un modelo teórico debe estar definido para una sola configuración determinada de núcleos y electrones, lo que significa que con sólo definir la estructura molecular se puede obtener una solución aproximada a la ecuación de Schrödinger.
- b. No debe emplear preconcepciones específicas para enfrentar un problema determinado.

Como ya se mencionó anteriormente la química computacional abarca un amplio rango de métodos matemáticos que pueden dividirse en dos grandes categorías [20]:

- **Mecánica Molecular:** Aplica las leyes de la física clásica al núcleo molecular sin considerar explícitamente a los electrones.
- **Mecánica cuántica:** Se basa en la ecuación de Schrödinger para describir una molécula con un tratamiento directo de la estructura electrónica y que se subdivide a su vez en dos clases según el tratamiento realizado, métodos semiempíricos y métodos de ab initio (desde el principio).

3.6.2 Teoría del funcional de la densidad o DFT por sus siglas en ingles.

El método de la teoría del funcional de la densidad (DFT), es un método químico cuántico, que calcula la densidad de probabilidad electrónica molecular y la energía electrónica molecular a partir de ella.

La ventaja de este método es que si se exporta bien el funcional de densidad al sistema a resolver es muy eficiente y más rápido que los métodos ab initio.

A continuación se presenta, comparativa de los métodos de cálculo más utilizados en la química computacional.

Tabla 2. Comparación de los métodos de cálculo más utilizados en la química computacional.

Método	Fundamento	Rango de aplicación	Ventajas	Desventajas
Mecánica molecular	Potenciales de interacción, física clásica.	1 - 1 ⁵ átomos	Se requiere poca potencia del ordenador, gran rapidez, muy eficiente en fases condensadas	Aplicación delimitada por el potencial del cálculo seleccionado, requiere datos experimentales.
Ab initio	Ecuación de Schrödinger y función de onda, utiliza matemáticas rigurosas.	1 - 1 ² átomos	Exactitud y precisión controlable, no requiere parámetros experimentales.	Lentos, los métodos más avanzados son muy complicados de usar.
DFT	Teorema de Kohm Sham y densidad electrónica.	1 - 1 ³ átomos	Más rápido que initio pero aplicación limitada.	Exceso de métodos, no hay pauta para mejorar los resultados
Semiempiricos	Ecuación de Schrödinger y función de onda o teorema de Kohm Sham y densidad electrónica, usando un ajuste.	1 - 1 ⁴ átomos	Gran rapidez, fácil de usar, bastante fiable en moléculas orgánicas, utilizando aproximaciones.	Errores no sistemáticos. Escasa fiabilidad en moléculas con metales y especies inestables, requiere datos experimentales.

Es importante aclarar que no existe un “mejor” método, todo dependerá del sistema a analizar, del tipo de recursos del ordenador o equipos disponibles, y de la exactitud que se requiera, por lo cual, cada método tiene sus ventajas y desventajas como se puede observar en la Tabla 2.

Algunos de los factores más importantes a la hora de elegir un método de cálculo son la naturaleza de la molécula, la información necesaria y parámetros conocidos de la molécula, así como el tamaño del modelo, ya que los métodos están clasificados por la cantidad de átomos a utilizar en el cálculo.

3.6.3 Programas utilizados en química computacional

Para el uso de la química computacional es necesario utilizar un programa que tenga incluidos los métodos de cálculo.

Algunos programas de química computacional se mencionan en la Tabla 3, en ella se observa que existen gran variedad de programas especializados, lo que difiere entre ellos son el método y el objetivo a calcular.

La eficiencia de cada programa está dada por la elección correcta del método con el cual se analizará el sistema.

Tabla 3. Programas utilizados para la química computacional.

Nombre del programa	Funciones del programa
Asp TM	Paquete del que se obtienen medidas cuantitativas de similaridad entre dos moléculas basándose en una serie de propiedades físicas. Diseña fármacos mediante comparación de propiedades.
CHARMM	Mecánica y dinámica molecular para macromoléculas.
DelPhi	Soluciona la ecuación de Poisson-Bohxmman. Calcula energías de enlace de fármacos potenciales para su optimización.
DL POLY	Paquete de simulación de dinámica molecular paralelo para sistemas iónicos y macromoleculares.
Fantom	Calcula conformaciones de polipéptidos y proteínas de baja energía con experimentos de RMN modelado molecular.
Gaussian	Paquete de programas Ab initio para cálculos de estructura electrónica molecular.
GETAREA	Calcula el área superficial accesible en solventes y la energía de solvatación atómica para macromoléculas.
Gromacs	Dinámica molecular en paralelo para proteínas, lípidos y ácidos nucleicos.
MOLDEN	Es un programa que despliega densidades moleculares calculadas desde paquetes Ab initio como GAMES-UK, GAMME-US y GAUSSIAN, además de paquetes semiempíricos.
MOLPRO	Paquete de programas Ab initio para cálculos de estructura electrónica molecular.
NAMD	Dinámica molecular de sistemas biológicos.
Spartan	Modelado molecular: ab initio HF y MP2, funcionales de la densidad, semiempíricos.

Con la creación de las aplicaciones web, actualmente muchos programas de química computacional operan en línea lo que permite no tener que almacenar datos localmente, reduciendo de esta forma la necesidad de instalación y administración local.

Por lo tanto en la química computacional la disposición de datos de entrada, cálculos, representación gráfica e interpretación de datos puede realizarse en un servidor. [20]

3.6.4 Aplicaciones de la química computacional

La implementación y aplicación de la química computacional nos permite investigar múltiples propiedades y comportamientos moleculares como los siguiente [21]:

- La geometría molecular en un sentido amplio, además de distancias y ángulos de enlace, es posible caracterizar la forma y tamaños relativos de todo tipo de moléculas y macromoléculas.
- La energía de todo tipo de especies químicas, incluyendo intermediarios, estados de transición, estados excitados, etc. Es posible estimar magnitudes termodinámicas tanto en fase gas como en fases condensadas.
- La reactividad química. La química computacional dispone de herramientas sofisticadas para el cálculo de todo tipo de propiedades cinéticas como constantes de velocidad, efectos científicos isotópicos, secciones eficaces de reacción, etc.
- Las propiedades espectroscópicas, pero también todo tipo de propiedades eléctricas y magnéticas de moléculas individuales.
- Las propiedades físicas de las fases condensadas. La descripción correcta de las interacciones intermoleculares es un desafío que es posible afrontar con éxito con la ayuda de varios métodos.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 Reactivos

- En la limpieza de sustrato se utilizó: jabón líquido hidróxido de sodio (NaOH) 99%, SIGMA - ALDRICH, ácido nítrico (HNO_3) 70%, SIGMA - ALDRICH, y agua desionizada (Mili Q), SIGMA – ALDRICH.
- Para la síntesis de nanopartículas de Ag (coloides) se utilizó: nitrato de plata (AgNO_3) 99%, SIGMA – ALDRICH, borhidruro de sodio (NaBH_4) 98%, SIGMA – ALDRICH, citrato de sodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 99%, SIGMA – ALDRICH y agua desionizada (Mili Q), SIGMA – ALDRICH.
- Para la fabricación de superficies nanoestructuradas de Ag se utilizó: porta-objetos de 25 mm x 75 mm, SIGMA – ALDRICH, etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) 99%, SIGMA – ALDRICH y 3-Aminopropyl, trietoxisilano ($\text{C}_9\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{Si}$) 99% SIGMA – ALDRICH.
- En el análisis de moléculas biológicas, sobre superficies nanoestructuradas de Ag se utilizaron las siguientes vitaminas y derivados: rodamina 6G 99 %, SIGMA – ALDRICH, ácido fólico (vitamina B9) 99%, SIGMA – ALDRICH, riboflavina (vitamina B2) 99%, SIGMA – ALDRICH, dihidrocloruro de piridoxamina (derivado de vitamina B6) 99%, SIGMA – ALDRICH y clorhidrato de piridoxal (derivado de vitamina B6) 99%, SIGMA – ALDRICH.

4.2 Instrumentación

El Sistema Raman Witec, es el equipo utilizado para la caracterización de las superficies nanoestructuradas de Ag, y consta de las siguientes características:

- 2 longitudes de onda laser: 535 y 785nm.
- Detectores CCD
- Raman de infrarrojo cercano

- Microscopia confocal
- Microscopio óptico de barrido de campo cercano
- Microscopio de fuerza atómica (AFM)

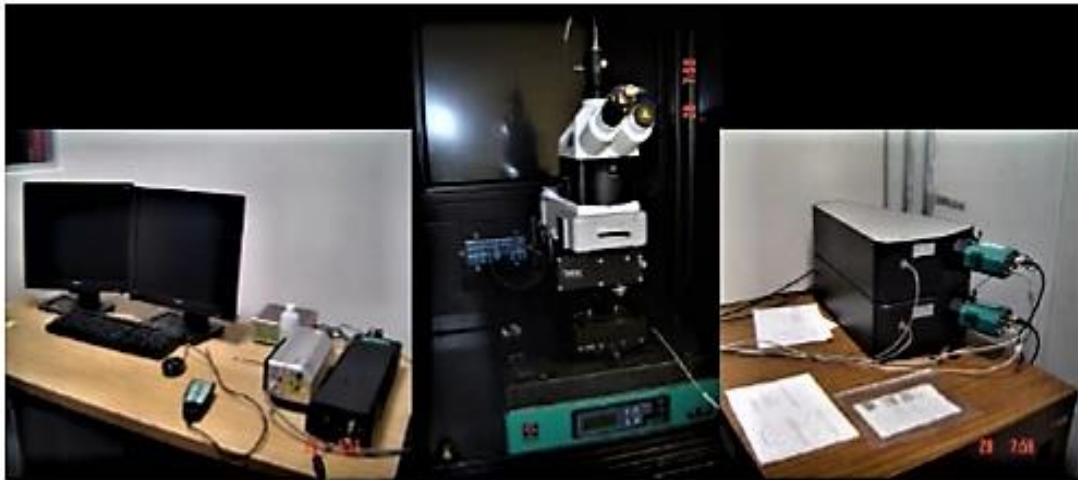


Figura 11. Equipo Raman AFM

La Figura 11 muestra el equipo Raman AFM utilizado para la caracterización de Sustratos de Ag

4.3 Metodología

4.3.1 Limpieza de sustratos

Para lograr que cada portaobjeto quede limpio se realizó el siguiente procedimiento:

- 1) Lavar el portaobjetos con agua y jabón líquido.
- 2) Colocar el portaobjetos en ácido nítrico concentrado, durante 24 h.
- 3) Enjuagar con agua desionizada.
- 4) Dejar el portaobjetos durante 24 h en una disolución de NaOH (0.2 M).
- 5) Sumergir el portaobjetos durante 24 h en agua desionizada.
- 6) Finalmente el sustrato está listo.

4.3.2 Síntesis de nanopartículas de Ag (coloides)

- 1) En 20 mL de agua desionizada agregar citrato de sodio (mantener en agitación constante).
- 2) Al minuto 10 agregar borhidruro de sodio (mantener en agitación constante).
- 3) Al minuto 20 agregar 1 mL de nitrato de plata (mantener en agitación constante).
- 4) Al minuto 30 colocar el coloide en una cámara de luz blanca durante 24 h.
- 5) Finalmente hacer tres lavados con agua desionizada por medio de centrifugación.

4.3.3 Fabricación de sustratos de Ag

Una vez que se tienen los portaobjetos totalmente limpios se realiza el siguiente procedimiento:

- 1) Sumergir los portaobjetos en una disolución de 3-aminopropiltriétoxilano al 10% en etanol durante 21 h aproximadamente.
- 2) Enjuagar el sustrato con abundante etanol.
- 3) Dejar secar.
- 4) Sumergir el silano sustrato de vidrio modificado en AgNP coloidales por 12 días.
- 5) Finalmente los sustratos nanoestructurados de AgNP están listos.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Limpieza de sustratos

La limpieza de sustratos es el primer paso para realizar superficies metálicas nanoestructuradas.

Para lograr que nanopartículas de Ag, de diferentes tamaños y formas, queden adheridas a una superficie de vidrio, es preciso que cada portaobjetos se encuentre limpio, a fin de lograr lo anterior se realizó el siguiente procedimiento:

- Se lavó el portaobjetos con agua y jabón, para remover impurezas y residuos que no se desean tener en el portaobjetos como por ejemplo: partículas de polvo o grasa.
- Se colocó el portaobjetos en ácido nítrico concentrado durante 24 h para eliminar cualquier residuo que haya quedado.
- El portaobjetos se enjuagó con agua desionizada.
- Se sumergió durante 24 h en una solución de NaOH (0.2 M) para corroer la superficie del portaobjetos, derivando una superficie hidroxilo.
- El portaobjetos se volvió a enjuagar con agua desionizada.
- Y finalmente se obtuvieron superficies limpias, reproducibles y confiables.

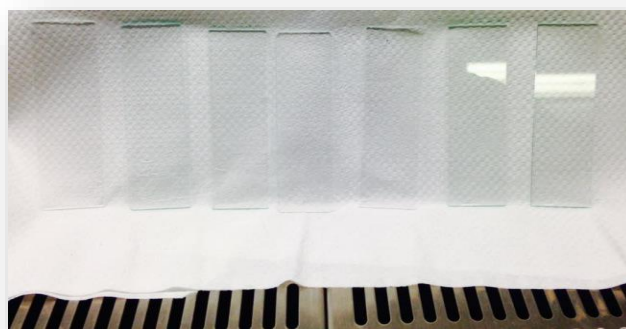


Figura 12. Imagen de superficies de vidrio.

La Figura 12 muestra las superficies de vidrio que se obtuvieron.

5.2 Síntesis de nanopartículas de Ag (coloides)

Como un experimento adicional, se realizó la síntesis de 3 coloides de nanopartículas de Ag (a, b y c) por el método de reducción de sales de metal de transición. El tiempo total de la síntesis fue de 30 min.

El periodo de agitación entre cada reactivo es de 10 min, esto con la finalidad de homogenizar completamente el reactivo dentro del disolvente, y así tener la certeza de la interacción entre las sales involucradas.

Una vez terminada la síntesis de nanopartículas de Ag, cada coloide se colocó dentro de una cámara de luz blanca.

Y finalmente se realizaron tres lavados con agua desionizada por medio de centrifugación, debido a que las NP Ag coloidales aún tienen reductores y nanopartículas pequeñas que podrían llegar a afectar las pruebas SERS.

En términos generales, la síntesis de los coloides consistió en la reducción de la sal de Ag con borohidruro de sodio en presencia del citrato de sodio, el cual presenta su mayor utilidad durante la exposición a la luz.

Como resultado se sintetizaron 3 coloides de Ag (a, b y c).

La Figura 13 muestra las nanopartículas de Ag coloidales que se obtuvieron y utilizaron en la fabricación de películas de Ag.

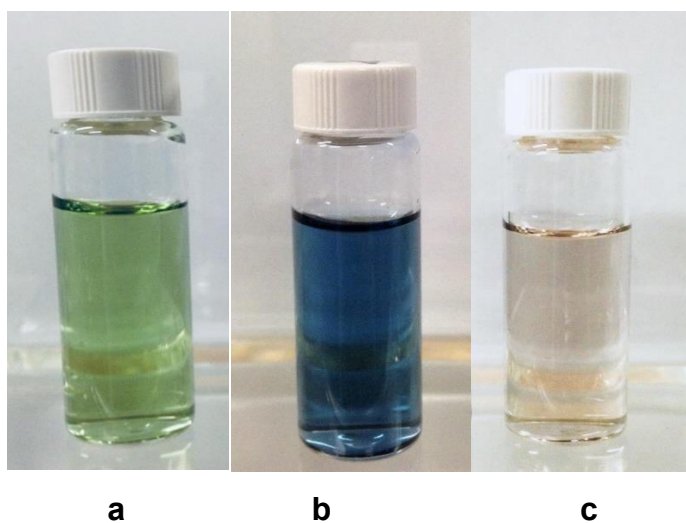


Figura 13. Nanopartículas de Ag coloidales usadas en la presente Tesis.

5.3 Funcionalización de superficies por medio de APTES y fabricación de sustratos de Ag.

Para la fabricación de sustratos de Ag se utilizaron las superficies de vidrio limpias y para funcionalizar estas superficies se llevó a cabo la técnica química de funcionalización de superficies por medio de APTES.

A continuación se muestra el procedimiento realizado:

- Los portaobjetos se sumergieron en una disolución de 3-aminopropiltriétoxissilano al 10% en etanol durante 21 h, para formar el silano de vidrio modificado.
- El sustrato se enjuaga con abundante etanol, para eliminar monómeros no unidos a la superficie, y se dejó secar.
- Finalmente se sumergió el sustrato de vidrio modificado obtenido en NP Ag coloidal durante 12 días, y se obtuvo la formación de una capa de NP Ag sobre el sustrato de vidrio.

Al realizar la fabricación de sustratos de Ag se observó, que si se aumenta el número de días en que los sustratos de vidrio modificados están sumergidos en las NP Ag coloidal, la superficie tiende a tener una mayor uniformidad, por tanto se obtiene la formación de varias capas de NP Ag uniformes sobre la superficie.

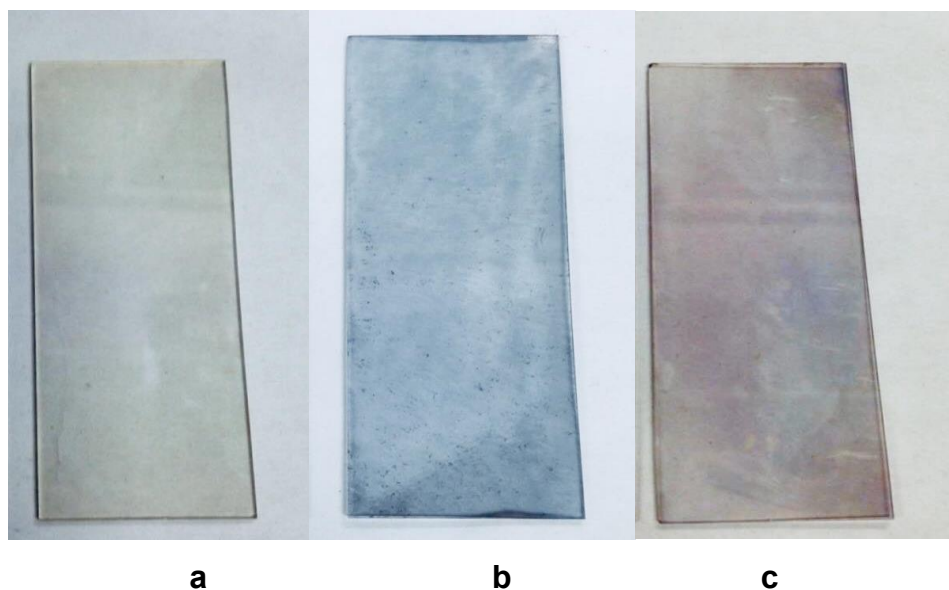


Figura 14. Sustratos de Ag.

La Figura 14 muestra las 3 superficies nanoestructuradas de Ag (a, b y c) que se obtuvieron, y que en una primera expectativa parecen ser prometedoras.

5.4 Funcionalidad de superficies SERS

A continuación se presentan los resultados de la evaluación de los sustratos como soportes activos para SERS.

5.4.1 Análisis vibracional de rodamina 6G en superficies SERS.

Como primera prueba se usó un colorante orgánico llamado (rodamina 6G) debido a que presenta fluorescencia con la longitud de onda de 535 nm usada en la excitación y a su vez es imposible obtener su espectro Raman ya sea en medio líquido o sustratos convencionales como (silicio, vidrio y aluminio).

Para tener una evaluación de estas señales se usaron bajas potencias del láser de excitación (532 nm) y un sustrato de aluminio, el cual fue implementado con un papel aluminio, alisado y fijado sobre un soporte de vidrio.

Se colocó una gota de rodamina sobre el sustrato de aluminio, el líquido se evaporó y los residuos presentes sobre el sustrato se monitorean con la finalidad de corroborar la fluorescencia Raman que emite la rodamina.

Figura 15. Rodamina 6G, señal obtenida en una medición Raman con aluminio.

La Figura 15 muestra el espectro Raman obtenido de la rodamina sobre una superficie de aluminio.

Sin embargo cuando estas moléculas de rodamina se ponen en contacto con alguna superficie en la escala nano se produce un efecto favorable para nuestro propósito, literalmente la fluorescencia se reduce considerablemente y la señal Raman es perceptible; este es un primer indicio de que la superficie con nanopartículas y las moléculas interactúan.

- **Sustratos Nanoestructurados de Ag + rodamina**

El siguiente paso consistió en evaluar los sustratos nanoestructurados de Ag generados en el laboratorio.

El colorante de prueba se diluyó a una concentración de 10^{-6} M y se colocó una gota sobre el sustrato metálico, el líquido se evaporó y los residuos presentes sobre el sustrato se monitorearon.

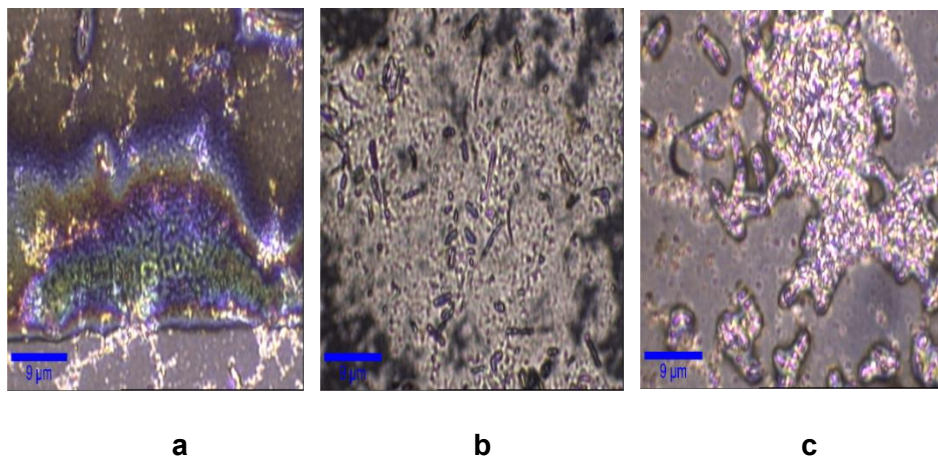


Figura 16. Imágenes de zonas muestreadas con rodamina 6G.

La Figura 16 muestra el área monitoreada de cada sustrato nanoestructurado de Ag (a, b y c) con rodamina 6G, y se observó que las superficies presentaron una gran cantidad de residuos, lo que nos indica que se está monitoreando altas concentraciones de analito. Por tanto, la señal Raman que proveen es significativa.

Se puede decir que son zonas aptas para amplificar la señal Raman.

Figura 17. Señal obtenida en una medición Raman de rodamina sobre nuestros sustratos de Ag (a, b, c) generados.

La Figura 17 muestra los espectros Raman obtenidos de la Rodamina sobre las superficies de Ag (a, b y c).

Se puede observar que en los 3 sustratos de Ag se redujo la fluorescencia, debido a la interacción de la rodamina con el sustrato de Ag.

Sin embargo el sustrato (c) presenta una mayor intensidad en las bandas de absorción.

Por último, se analizó el sustrato nanoestructurado de Ag (c) para asegurar que la superficie SERS fue activa, y corroborar las bandas de absorción características de la rodamina.

Tabla 4. Asignación de bandas para la rodamina.

Bandas experimentales	Bandas Teóricas	Correspondencia
611 m	612 m	Vibración de enlace C-C-C de anillo aromático
769 m	774 m	Vibración de enlace C-H
1185 m	1183 m	Vibración de anillo
1311 s	1311 s	Vibración de enlace C-C ,C-N
1363 s	1365 s	Vibración de enlace C-C ,C-N
1513 s	1510 s	Vibración de enlace C-C de anillo aromático
1584 w	1599 w	Vibración de enlace C-C de anillo aromático
1646 s	1648 s	Vibración de enlace C-C de anillo aromático

La Tabla 4 muestra el análisis resumido de frecuencias experimentales y teóricas, así como la asignación de bandas correspondientes a la rodamina.

Al realizar la comparación de las frecuencias experimentales y teóricas se observa que las bandas de absorción del espectro Raman obtenido, son las bandas características de la rodamina, por tanto podemos concluir que nuestros sustratos nanoestructuradas de Ag funcionan como superficie SERS activa.

5.5 Análisis vibracional de vitaminas

Lo siguiente que se desea encontrar es la amplificación de la señal Raman de las vitaminas estudiadas.

En esta parte del trabajo se realizaron pruebas de los sustratos de Ag generados en el laboratorio, con 3 diferentes vitaminas y sus derivados:

1. Ácido fólico (vitamina B9)
2. Riboflavina (vitamina B2)
3. Clorhidrato de piridoxal (derivado de vitamina B6)
4. Dihidrocloruro de piridoxamina (derivado de vitamina B6)

En todos estos casos se utilizó una concentración de 10^{-3} M.

Cabe mencionar que se consideraron vitaminas que tienen baja señal Raman y fluorescencia, con el propósito de que cuando una gota de estas vitaminas sea colocada sobre el sustrato de Ag, la interacción metal-vitamina favorezca un incremento en la señal Raman del analito.

5.5.1 Ácido fólico

Inicialmente se presenta el espectro Raman del ácido fólico en sólido, y se usara como referencia para la comparación e identificación de bandas de absorción obtenidas en el espectro Raman de los sustratos SERS y el análisis vibracional DFT.

Figura 18. Espectro Raman de ácido fólico en sólido.

La Figura 18 muestra el espectro Raman del ácido fólico en sólido, donde se pueden observar las bandas que caracterizan a esta vitamina.

Como segundo paso, se presenta el espectro Raman de ácido fólico sobre una superficie de aluminio (Figura 19), con la finalidad de corroborar la presencia de ruido y fluorescencia de Raman.

Figura 19. Espectro Raman de ácido fólico sobre una superficie de aluminio.

El siguiente paso consistió en poner a prueba los sustratos nanoestructurados de Ag (a, b y c), con la finalidad de amplificar la señal Raman del ácido fólico y disminuir la fluorescencia.

Para ello se colocó una gota de ácido fólico a una concentración de 10^{-3} M, sobre el sustrato metálico de Ag (a, b y c), el líquido se evaporó y los residuos presentes sobre el sustrato se monitorearon.

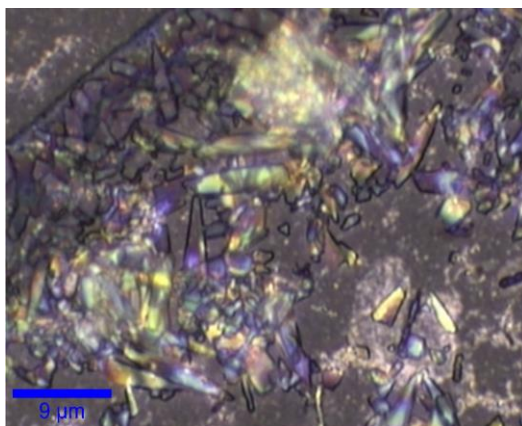


Figura 20 .Imagen de zona muestreada de ácido fólico sobre nuestra superficie de Ag.

La Figura 20 muestra el área monitoreada del sustrato nanoestructurado de Ag (b) con ácido fólico, y se observó que la superficie presenta una gran cantidad de residuos, lo que nos indica que se está monitoreando altas concentraciones de analito.

La Figura 21 muestra los espectros Raman obtenidos del ácido fólico sobre las superficies nanoestructuras de Ag (a, b y c).

Se logra observar que los tres sustratos de Ag funcionan como superficies SERS activas, sin embargo en el sustrato de Ag (b) las bandas de absorción son mayormente visibles y la fluorescencia disminuyó significativamente comparado con los otros dos sustratos de Ag.

Por tal motivo se optó por utilizar el espectro Raman del ácido fólico sobre el sustrato de Ag (b), para realizar la comparación e identificación de bandas obtenidas en el espectro Raman de los sustratos SERS y el análisis vibracional DFT.

a)

b)

c)

Figura 21. Espectros Raman obtenidos de ácido fólico sobre sustratos de Ag; (a), (b) y (c).

Una vez que se pusieron a prueba los sustratos de Ag nanoestructurados disminuyendo la fluorescencia, se realizó la asignación de bandas características del espectro Raman obtenido de ácido fólico.

La tabla 5 muestra la asignación de bandas correspondientes para el ácido fólico que se analizó sobre la superficie de Ag (b), en ella se puede observar 8 bandas características de los grupos funcionales que caracterizan a esta vitamina.

Tabla 5. Asignación de bandas correspondientes para ácido fólico

Bandas experimentales	Correspondencia
677 cm ⁻¹	Vibración de enlace O-H respecto acido carboxílico
867 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-H respecto anillo aromático
927 cm ⁻¹	Vibración de enlace N-H, C-H
1253 cm ⁻¹	Vibración de enlace N-H, C-H
1340 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-H, y C-H correspondientes al anillo aromático en el plano
1414 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-H en el plano y vibración de enlace N-H ₂ .
1538 cm ⁻¹	Vibración de enlace N-H ₂
1608 cm ⁻¹	Vibración de enlace N-H, C=O.

Por último se realizó el cálculo de análisis vibracional del ácido fólico como molécula aislada en fase gaseosa con ayuda del programa Gaussian View, utilizando el método funcional de la densidad (DFT).

Esto con la finalidad de comparar el análisis vibracional de:

- Espectro en sólido.
- Espectro absorbido en el sustrato de plata Ag.
- Y por último espectro calculado por DFT.

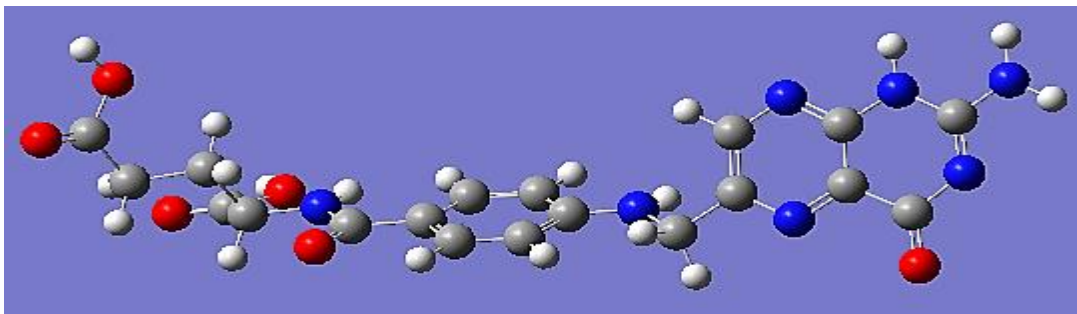


Figura 22. Espectro Raman del cálculo de análisis vibracional de ácido fólico utilizando DFT.

La Figura 22 muestra la molécula de ácido fólico y el espectro Raman obtenido del cálculo de análisis vibracional por el método DFT.

Se realizó la asignación de bandas de absorción y se hizo la comparación de las bandas de cada espectro.

Se puede observar que los tres espectros Raman tienen las bandas características de los grupos funcionales que caracterizan al ácido fólico.

La tabla 6 muestra la comparación del análisis vibracional y asignación de bandas de absorción del espectro Raman en sólido, espectro Raman absorbido en el sustrato de plata Ag, y el espectro Raman calculado por DFT.

Tabla 6. Comparación de las bandas características Raman del espectro SERS de ácido fólico, espectro calculado de ácido fólico absorbido en el sustrato de plata y espectro de los cálculos DFT.

En sólido cm ⁻¹	SERS Sustrato (b) cm ⁻¹	DFT cm ⁻¹	Correspondencia
685	677	681	Vibración de enlace O-H
	867	865	Vibración de enlace C-H de anillo aromático
929	927	921	Vibración de enlace N-H
1190	-	1184	Vibración de enlace C-H
1249	1253	1244	Vibración de enlace N-H,C-H
-	-	1306	Vibración de enlace N-H correspondiente a Amida secundaria.
1343	1340	1345	Vibración de enlace C-H del anillo aromático en el plano.
-	1414	1417	Vibración de enlace N-H
-	-	1466	Vibración de enlace N-H en el plano, C-H
1534-	1538	-	Vibración de enlace N-H en el aromático
1577	-	1584	Vibración de enlace N-H
1608	1608	1615	Vibración de enlace N-H, C=O
-	-	1654	Vibración de enlace C=O, O-H

5.5.2 Riboflavina

La riboflavina es la segunda vitamina de estudio.

Como primer paso se realizó el espectro Raman de la riboflavina en sólido, y se usara como referencia para la comparación e identificación de bandas de absorción obtenidas en el espectro Raman de los sustratos SERS y el análisis vibracional DFT.

Figura 23. Espectro Raman de riboflavina en sólido.

La Figura 23 muestra el espectro Raman de la riboflavina en sólido, donde se puede observar las bandas que caracterizan a esta vitamina.

Como segundo paso se realizó el espectro Raman de la riboflavina sobre una superficie de aluminio (Figura 24), con la finalidad de corroborar la presencia de ruido y fluorescencia de Raman.

Figura 24. Espectro Raman de riboflavina sobre una superficie de aluminio

El tercer paso consistió en poner a prueba los sustratos nanoestructurados de Ag (a, b y c), con la finalidad de amplificar la señal Raman de la riboflavina y disminuir la fluorescencia que emite.

Para ello se colocó una gota de riboflavina a una concentración de 10^{-3} M, sobre el sustrato metálico de Ag (a, b y c), el líquido se evaporó y los residuos presentes sobre el sustrato se monitorearon.

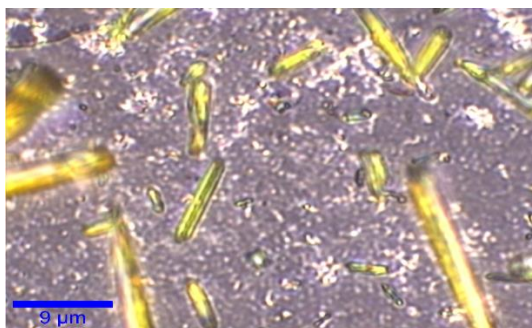


Figura 25. Imagen de zona muestreada de riboflavina sobre nuestra superficie de Ag.

La Figura 25 muestra el área monitoreada del sustrato nanoestructurado de Ag (b) con riboflavina, y se observó que la superficie presenta una gran cantidad de residuos, lo que nos indica que se está monitoreando altas concentraciones de analito.

La Figura 26 muestra los espectros Raman obtenidos de la riboflavina sobre las superficies nanoestructuras de Ag (a, b y c).

Se logra observar que los tres sustratos de Ag funcionan como superficies SERS activas, sin embargo en el sustrato de Ag (b) las bandas de absorción son mayormente visibles y la fluorescencia disminuyó significativamente comparado con los otros dos sustratos de Ag.

Por tal motivo se optó por utilizar el espectro Raman de la riboflavina sobre el sustrato de Ag (b), para la realizar la comparación e identificación de bandas obtenidas en el espectro Raman de los sustratos SERS y el análisis vibracional DFT.

a)

b)

c)

Figura 26. Espectros Raman obtenidos de riboflavina sobre sustratos de Ag; (a), (b) y (c).

Una vez que se pusieron a prueba los sustratos de Ag nanoestructurados disminuyendo la fluorescencia, se realizó la asignación de bandas características del espectro Raman obtenido de la riboflavina.

La tabla 7 muestra la asignación de bandas correspondientes para la riboflavina que se analizó sobre la superficie de Ag (b), en ella se puede observar 7 bandas características de los grupos funcionales que caracterizan a esta vitamina.

Tabla 7. Asignación de bandas correspondientes para riboflavina.

Bandas experimentales	Correspondencia
888 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-C-O.
1075 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-O con respecto al OH
1180 cm ⁻¹	Vibración de enlace CH=CH del anillo aromático
1228 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-N
1329 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-H
1458 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-H
1566 cm ⁻¹	Vibración de enlace C=N para sistema cíclico

Por último se realizó el cálculo de análisis vibracional de la riboflavina como molécula aislada en fase gaseosa con ayuda del programa Gaussian View, utilizando el método funcional de la densidad (DFT).

Esto con la finalidad de comparar el análisis vibracional de:

- Espectro en sólido.
- Espectro absorbido en el sustrato de plata Ag.
- Y por último espectro calculado por DFT.

La Figura 27 muestra la molécula de la riboflavina y el espectro Raman obtenido del cálculo de análisis vibracional por el método DFT.

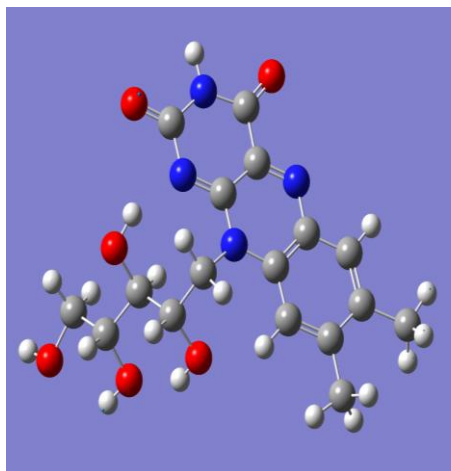


Figura 27. Espectro Raman del cálculo de análisis vibracional de riboflavina utilizando DFT.

Se realizó la asignación de bandas de absorción y se hizo la comparación de las bandas de cada espectro. Se puede observar que los tres espectros Raman tienen las bandas características de los grupos funcionales que caracterizan a la riboflavina.

Tabla 8. Comparación de las bandas características Raman del espectro SERS de riboflavina, espectro calculado de la riboflavina absorbida en el sustrato de plata y espectro de los cálculos DFT.

En sólido cm ⁻¹	SERS Sustrato (b) cm ⁻¹	DFT cm ⁻¹	Correspondencia
787	888	788	Vibración de enlace C-C-O
-	-	1007	Vibración de enlace C-O
1061	1075	1089	Vibración de enlace C-O
1180	1180	1203	Vibración de enlace CH=CH aromático
1225	1228	1269	Vibración de enlace C-N
1350	1329	1378	Vibración de enlace C-H
1402	1458	1461	Vibración de enlace C-H
1573	1566	1571	Vibración de enlace C=N para sistema cíclico
-	-	1684	Vibración de enlace C=O correspondiente a amida

La tabla 8 muestra la comparación del análisis vibracional y asignación de bandas de absorción del espectro Raman en sólido, espectro Raman absorbido en el sustrato de plata Ag, y el espectro Raman calculado por DFT.

5.5.3 Clorhidrato de piridoxal

El clorhidrato de piridoxal (derivado de la piridoxina) es la tercera vitamina de estudio. Como primer paso se realizó el espectro Raman del clorhidrato de piridoxal en sólido, y se usara como referencia para la comparación e identificación de bandas de absorción obtenidas en el espectro Raman de los sustratos SERS y el análisis vibracional DFT.

Figura 28. Espectro Raman de clorhidrato de piridoxal en sólido.

La Figura 28 muestra el espectro Raman del clorhidrato de piridoxal en sólido, donde se puede observar las bandas que caracterizan a esta vitamina.

Como segundo paso se realizó el espectro Raman del clorhidrato de piridoxal sobre una superficie de aluminio (Figura 29), con la finalidad de corroborar la presencia de ruido y fluorescencia de Raman.

Figura 29. Espectro Raman del clorhidrato de piridoxal sobre una superficie de aluminio.

El tercer paso consistió en poner a prueba los sustratos nanoestructurados de Ag (a, b y c), con la finalidad de amplificar la señal Raman del clorhidrato de piridoxal y disminuir la fluorescencia que emite.

Para ello se colocó una gota de clorhidrato de piridoxal a una concentración de 10^{-3} M, sobre el sustrato metálico de Ag (a, b y c), el líquido se evaporó y los residuos presentes sobre el sustrato se monitorearon.

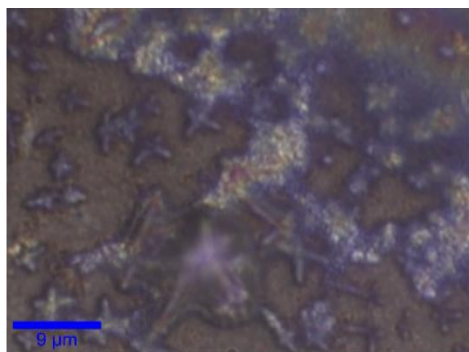


Figura 30. Imagen de zona muestreada de clorhidrato de piridoxal sobre nuestra superficie de Ag.

La Figura 30 muestra el área monitoreada del sustrato nanoestructurado de Ag (b) con clorhidrato de piridoxal, y se observó que la superficie presenta una gran cantidad de residuos, lo que nos indica que se está monitoreando altas concentraciones de analito.

La Figura 31 muestra los espectros Raman obtenidos del clorhidrato de piridoxal sobre las superficies nanoestructuras de Ag (a, b y c).

Se logra observar que los tres sustratos de Ag funcionan como superficies SERS activas, sin embargo en el sustrato de Ag (a) las bandas de absorción son mayormente visibles y la fluorescencia disminuyó significativamente comparado con los otros dos sustratos de Ag.

Por tal motivo se optó por utilizar el espectro Raman del clorhidrato de piridoxal sobre el sustrato de Ag (a), para la realización de la comparación e identificación de bandas obtenidas en el espectro Raman de los sustratos SERS y el análisis vibracional DFT.

a)

b)

c)

Figura 31. Espectros Raman obtenidos de clorhidrato de piridoxal sobre sustratos de Ag; (a), (b) y (c).

Como cuarto paso se realizó la asignación de bandas características del espectro Raman obtenido del clorhidrato de piridoxal.

Tabla 9. Asignación de bandas correspondientes de clorhidrato de piridoxal.

Bandas experimentales	Correspondencia
689 cm^{-1}	Vibración de enlace O-H fuera del plano
961 cm^{-1}	Vibración de enlace C-H ₃ unido al anillo aromático
1232 cm^{-1}	Vibración de enlace O-H, C-O
1426 cm^{-1}	Vibración de enlace C-H
1580 cm^{-1}	Vibración de los enlaces C=C, C=N del anillo aromático

La tabla 9 muestra la asignación de bandas correspondientes para del clorhidrato de piridoxal que se analizó sobre la superficie de Ag (a), en ella se puede observar 5 bandas características de los grupos funcionales que caracterizan a esta vitamina.

Por último se realizó el cálculo de análisis vibracional del clorhidrato de piridoxal como molécula aislada en fase gaseosa con ayuda del programa Gaussian View, utilizando el método funcional de la densidad (DFT).

Esto con la finalidad de comparar el análisis vibracional de:

- Espectro en sólido.
- Espectro absorbido en el sustrato de plata Ag.
- Y por último espectro calculado por DFT.

La Figura 32 muestra la molécula del clorhidrato de piridoxamina y el espectro Raman obtenido del cálculo de análisis vibracional por el método DFT.

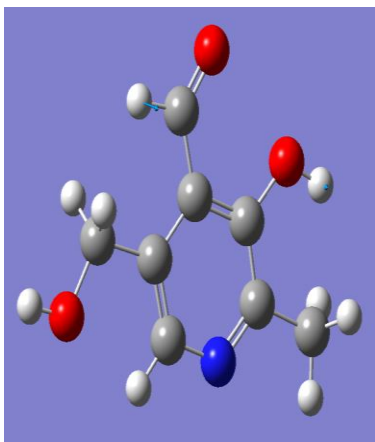


Figura 32. Espectro Raman del cálculo de análisis vibracional de clorhidrato de piridoxal utilizando DFT.

Se realizó la asignación de bandas de absorción y se hizo la comparación de las bandas de cada espectro. Se puede observar que los tres espectros Raman tienen las bandas características de los grupos funcionales que caracterizan a este derivado de la vitamina B₆.

Tabla 10. Comparación de las bandas características Raman del espectro SERS de clorhidrato de piridoxal, espectro calculado de clorhidrato de piridoxal absorbido en el sustrato de plata y espectro de los cálculos DFT.

En sólido cm ⁻¹	SERS Sustrato (a) cm ⁻¹	DFT cm ⁻¹	Correspondencia
693	689	670 – 687	Vibración de enlace O-H fuera del plano
971	961	976	Vibración de enlace CH ₃ unido al anillo aromático y vibración de enlace C-C
-	-	1195	Vibración de enlace C-H en el anillo de piridina
1235	1232	1260	Vibración de enlace O-H, C-O unido anillo aromático
1325	1426	1418	Vibración de enlace de C-H
-	-	1449	Vibración de aldehído-CHO en el plano
-	-	1535	Vibración de enlace C=N para sistemas cíclicos
-	1580	1618	Vibración de enlace C=C, C=N en el anillo
-	-	1689	Vibración de enlace C=O del aldehído.

La tabla 10 muestra la comparación del análisis vibracional y asignación de bandas de absorción del espectro Raman en sólido, espectro Raman absorbido en el sustrato de plata Ag, y el espectro Raman calculado por DFT.

5.5.4 Dihidrocloruro de piridoxamina

El dihidrocloruro de piridoxamina (derivado de la piridoxina) es la cuarta y última vitamina de estudio.

Como primer paso se realizó el espectro Raman del dihidrocloruro de piridoxamina en sólido, y se usara como referencia para la comparación e identificación de bandas de absorción obtenidas en el espectro Raman de los sustratos SERS y el análisis vibracional DFT.

Figura 33. Espectro Raman de dihidrocloruro de piridoxamina en sólido

La Figura 33 muestra el espectro Raman del dihidrocloruro de piridoxamina en sólido, donde se puede observar las bandas que caracterizan a este derivado de la vitamina B₆.

Como segundo paso se realizó el espectro Raman del dihidrocloruro de piridoxamina sólido, sobre una superficie de aluminio (Figura 34), con la finalidad de corroborar la presencia de ruido y fluorescencia de Raman.

Figura 34. Espectro Raman de dihidrocloruro de piridoxamina sobre una superficie de vidrio.

El tercer paso consistió en poner a prueba los sustratos nanoestructurados de Ag (a, b y c), con la finalidad de amplificar la señal Raman del y disminuir la fluorescencia que emite.

Para ello se colocó una gota de dihidrocloruro de piridoxamina a una concentración de 10^{-3} M, sobre el sustrato metálico de Ag (a, b y c), el líquido se evaporó y los residuos presentes sobre el sustrato se monitorearon.

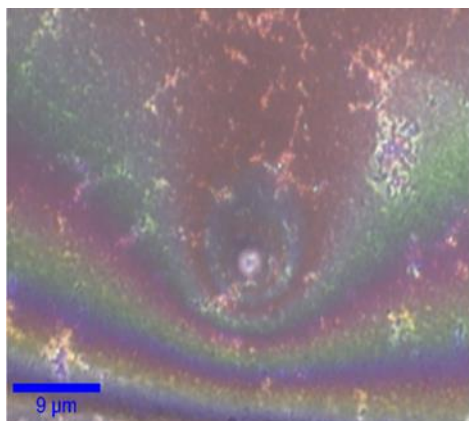


Figura 35. Imagen de zona muestreada de dihidrocloruro de piridoxamina sobre nuestra superficie de Ag

La Figura 35 muestra el área monitoreada del sustrato nanoestructurado de Ag (b) con dihidrocloruro de piridoxamina, y se observó que la superficie presenta una gran cantidad de residuos, lo que nos indica que se está monitoreando altas concentraciones de analito.

La Figura 36 muestra los espectros Raman obtenidos del dihidrocloruro de piridoxamina sobre las superficies nanoestructuras de Ag (a, b, y c).

a)

b)

c)

Figura 36. Espectros Raman obtenidos de dihidrocloruro de piridoxamina sobre sustratos de Ag; (a), (b) y (c).

Se logra observar que los tres sustratos de Ag funcionan como superficies SERS activas, sin embargo en el sustrato de Ag (b) las bandas de absorción son mayormente visibles y la fluorescencia disminuyó significativamente comparado con los otros dos sustratos de Ag.

Por tal motivo se optó por utilizar el espectro Raman del dihidrocloruro de piridoxamina sobre el sustrato de Ag (a), para la realizar la comparación e identificación de bandas obtenidas en el espectro Raman de los sustratos SERS y el análisis vibracional DFT.

Como cuarto paso se realizó la asignación de bandas características del espectro Raman obtenido del dihidrocloruro de piridoxamina.

Tabla 11. Asignación de bandas correspondientes de dihidrocloruro de piridoxamina.

Bandas experimentales	Correspondencia
665 cm ⁻¹	Vibración de enlace O-H fuera del plano
805 cm ⁻¹	Vibración de enlace de amina alifática primaria N-H
967 cm ⁻¹	Vibración de enlace CH- aromático
1003 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-O correspondiente al OH
1225 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-H en el anillo de piridina
1332 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-H
1437 cm ⁻¹	Vibración de enlace C-H
1493 cm ⁻¹	Vibración de enlace C=N para sistemas cíclico
1608 cm ⁻¹	Vibración de enlace C=N para sistemas cíclico

La tabla 11 muestra la asignación de bandas correspondientes para del dihidrocloruro de piridoxamina que se analizó sobre la superficie de Ag (b), en ella se puede observar 9 bandas características de los grupos funcionales que caracterizan a este derivado de la vitamina B₆.

Por último se realizó el cálculo de análisis vibracional del clorhidrato de piridoxal como molécula aislada en fase gaseosa con ayuda del programa Gaussian View, utilizando el método funcional de la densidad (DFT).

Esto con la finalidad de comparar el análisis vibracional de:

- Espectro en sólido.
- Espectro absorbido en el sustrato de plata Ag.
- Y por último espectro calculado por DFT.

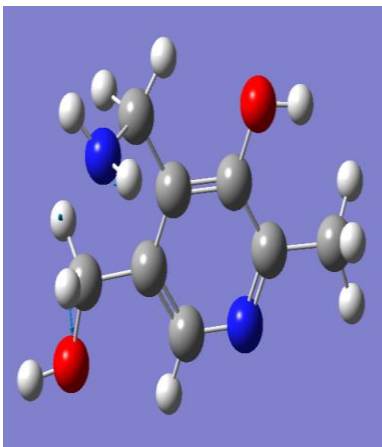


Figura 37. Espectro Raman del cálculo de análisis vibracional de dihidrocloruro de piridoxamina utilizando DFT.

La Figura 37 muestra la molécula del dihidrocloruro de piridoxamina y el espectro Raman obtenido del cálculo de análisis vibracional por el método DFT

Se realizó la asignación de bandas de absorción y se hizo la comparación de las bandas de cada espectro. Se puede observar que los tres espectros Raman tienen las bandas características de los grupos funcionales que caracterizan a este derivado de la vitamina B₆.

La tabla 12 muestra la comparación del análisis vibracional y asignación de bandas de absorción del espectro Raman en sólido, espectro Raman absorbido en el sustrato de plata Ag, y el espectro Raman calculado por DFT.

Tabla 12. Comparación de las bandas características Raman del espectro SERS de dihidrocloruro de piridoxamina, espectro calculado de dihidrocloruro de piridoxamina absorbido en el sustrato de plata y espectro de los cálculos DFT.

En sólido cm ⁻¹	SERS cm ⁻¹ Sustrato (b) cm ⁻¹	DFT cm ⁻¹	Correspondencia
680	665	616 – 682	Vibración de enlace O-H fuera del plano
-	805	804	Vibración de amina alifática primaria N-H
-	967	947	Vibración de enlace CH ₃ -aromático, vibración de enlace C-C
1044	1003	1051	Vibración de enlace C-O
1235	1225	1197	Vibración de enlace C-H en el anillo de piridina
-	-	1253	Vibración de enlace C-H
-	-	1277	Vibración de enlace C-H, N-H ₂
-	1322	1343	Vibración de enlace C-H
-	1437	1447	Vibración de enlace C-H
-	1493 -1608	1538	Vibración de enlace C=N para sistemas cíclicos
-	-	1642	Vibración de enlace CH ₂ para grupos - CH ₂ NH ₂

La Figura 38 muestra la comparación de los cuatro espectros Raman de las superficies SERS activas de Ag generadas que presentan amplificación en la señal Raman con las vitaminas estudiadas:

1. Sustrato de Ag (b) con ácido fólico.
2. Sustrato de Ag (b) con riboflavina.
3. Sustrato de Ag (a) con clorhidrato de piridoxal.
4. Sustrato de Ag (b) con dihidrocloruro de piridoxamina.

En esta comparación se observa que el sustrato nanoestructurado de Ag (b) al interactuar con la riboflavina, presenta una mayor amplificación en la señal Raman en comparación con las otras vitaminas.

Por tanto, se puede decir que el sustrato nanoestructurado de Ag (b) tiene una mayor eficacia al actuar como una superficie SERS activa en comparación a los otros dos sustratos (a y c), y la vitamina que tiene una mejor interacción con la superficie de metálica de Ag es la riboflavina.

1. Sustrato (b) con ácido fólico.

2. Sustrato (b) con riboflavina.

3. Sustrato (a) con clorhidrato de piridoxal.

4. Sustrato (b) con dihidrocloruro de piridoxamina.

Figura 38. Espectros Raman de superficies SERS activas de Ag.

En resumen:

Para las tres vitaminas y derivados estudiados:

- Ácido fólico,
- Rivo flavina,
- Clorhidrato de piridoxal (derivado de la piridoxina)
- Dihidrocloruro de piridoxamina (derivado de la piridoxina)

Se observó que los tres sustratos de Ag (a, b y c) obtenidos, funcionan como superficies SERS activas.

La fluorescencia de Raman disminuyó debido a que la interacción entre el metal y la vitamina favorece la señal Raman haciéndola perceptible.

Sin embargo en el sustrato de Ag (b) las bandas de absorción son mayormente visibles y la fluorescencia disminuyó significativamente comparado con los otros dos sustratos de Ag.

Por otra parte los espectros Raman de cada sustrato de Ag son diferentes, debido a las modificaciones de las vibraciones moleculares de la vitamina vs con el sustrato de Ag. Esto quiere decir que la molécula puede haberse unido de diferente forma en la superficie, dando como resultado un espectro diferente en cada uno de ellos.

Se pudo comparar los espectros de las vitaminas: en sólido, absorbido en el sustrato de plata Ag y el calculado por DFT.

En base a las publicaciones sobre superficies SERS, y debido a que no se ha reportado alguna investigación relacionadas con las moléculas biológicas estudiadas, se optó por realizar el cálculo de análisis vibracional de las vitaminas con la ayuda del programa Gaussian View utilizando el método funcional de la densidad (DFT), para asignar las frecuencias de las bandas características de los grupos funcionales correspondientes de cada vitamina.

6. CONCLUSIONES

Se propuso un método químico alternativo para la funcionalización de superficies por medio de (APTES), y la producción de una superficie SERS de Ag homogénea.

Se produjo una superficie SERS de Ag por el método de funcionalización con APTES, de manera rápida, sencilla, reproducible y de bajo costo, la cual mejora la señal Raman de diversas moléculas con actividad biológica.

Se evaluó la capacidad de las superficies nanoestructuradas de Ag para disminuir los fenómenos de fluorescencia durante el análisis por espectroscopia Raman, demostrando que los sustratos de Ag son una alternativa experimental para mejorar la caracterización de algunas moléculas biológicas.

Los sustratos nanoestructurados de Ag fabricados, funcionaron como superficies SERS activas ya que se observó que la interacción metal-vitamina favoreció y amplificó la señal Raman de cada analito.

Se calculó el análisis vibracional de cada molécula estudiada programando su aislamiento en fase gaseosa con ayuda del programa Gaussian View, utilizando el método funcional de la densidad (DFT).

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Pedroso S, Guillen I. Microarray and nanotechnology applications of functional nanoparticles. *Combinatorial chemistry and high through put screening*. 2009; 3 (1).
2. Cerveto I, Amaya C. Coloides de plata y películas de plata depositadas sobre un sustrato de vidrio. *CENIC Ciencias quimica*. 2007; 38(1).
3. Roucoux A, Schulz J, Patin H. Reduced transition metal colloids: a novel family of reusable catalysts. *NCBI*. 2002; 102 (10).
4. Herzberg G. *Molecular spectra and molecular structure*. 2nd edition. D Van nostrand company, inc. Florida. 1991.
5. Kern W, Schuegraf KK. *Handbook of thin film Deposition processes and techniques*. 2nd edition. William Andrew. 2011.
6. Herzberg G. *Molecular spectra and molecular structure*. 2nd edition. D Van nostrand company, inc. Florida. 1991.
7. Herzberg G. *Molecular spectra and molecular structure*. 2nd edition. D Van nostrand company, inc. Florida. 1991.
8. Hirschfeld T, Chase DB. *FT-Raman spectroscopy: development an justification*. 2nd edición. *Appl Spectrosc*.1986.
9. Sánchez-Cortez S. SERS en coloides. *Opt. Pur.Y Apl*. 2004; 37 (2).
10. Fleischman M. Raman spectra of piridine adsorbed at a silver electrode. *Chemical physics letters*.1974; 2 (2).
11. Sau TK, Rogach A, Jackel TA, et al. Properties and applications of colloidal nonspherical noble metal nanoparticles. *Advanced Functional Materials*. 2010; 22 (12).
12. Lance K, Coronado E, Zhao L, et al. The optical properties of metal nanoparticles: the Influence of size, shape, and dielectric environment. *The journal of physical chemistry B*. 2003; 107 (3).
13. Meikun Fan, Gustavo FS, Brolo A. A review on the fabrication of substrates for surface enhanced Raman spectroscopy and their applications in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*. 2011; 639 (1-2).

14. Meikun Fan, Brolo A. Silver nanoparticles self assembly as SERS substrates with near single molecule detection limit. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2009; 11 (34).
15. Fleischmann M, Hendra PJ, McQuillan A. Raman spectra of piridine absorbed at a silver electrode. *Chemical Physics Letters*. 1974; 26 (2).
16. Hirschfeld T, Chase DB. FT-Raman spectroscopy: development an justification. 2nd edición. *Appl Spectrosc*. 1986.
17. Smith E. Deant G. Modern Raman spectroscopy a practical approach. 1st edición. England. Wiley. 2005
18. Entrala A. Aspectos prácticos en medicina. 1^{era} edición. Díaz de Santos. México vol1. 1995.
19. Boker JD, Hermann RB. The development of computational chemistry in the United States. *Reviews in computational chemistry*. VCH Publishers. 1994; 1 (5).
20. Levine I, Prentice H. Tratamientos ab initio y del funcional de la densidad de moléculas. *Química cuántica*. 1^{er} edición. Pearson Educación. Madrid España. 2001.
21. Valles-Sánchez A, Rosales-Marines L, Serrato-Villegas, et al. Metodos y usos de la quimica computacional. Universidad autonoma de Coahuila. Coahuila Mexico. 2014; 6 (11).
22. Ramachandran KI, Deepa G, Namboori G. et al. Computational chemistry and molecular modeling: Principles and Applications. 2^{da} edición. Amrita Vishwa Vidyapeetham University. Berlin. Springer. 2008.