



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO
POLITECNICO NACIONAL.
UNIDAD ZACATENCO.
DOCTORADO EN CIENCIAS EN ESPECIALIDAD EN FÍSICA.**

**“Determinación experimental de los modos vibracionales de
la rodamina B y su comparación con cálculos DFT como
entrenamiento para su futura aplicación en biomarcadores
de Cáncer de Ovario”.**

**TESIS
Que presenta**

Carlos Alberto Carpio Amador.

**Para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS
EN LA ESPECIALIDAD EN FÍSICA**

Directores de Tesis: Dr. Salvador Gallardo Hernández.

Ciudad de México.

Junio 2024

DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS MODOS VIBRACIONALES DE LA RODAMINA B Y SU
COMPARACIÓN CON CÁLCULOS DFT COMO ENTRENAMIENTO PARA SU FUTURA APLICACIÓN EN
BIOMARCADORES DE CÁNCER DE OVARIO.

*Somos la suma de todos los que nos
rodean.*

*Dedicado a mi familia, a mis padres, a
mi novia y a mis amigos sin los cuales
no hubiera podido llegar tan lejos.*

AGRADECIMIENTOS

Al posgrado en Física y al CINVESTAV por darme la oportunidad de ver realizado un sueño de niño y obtener mi posgrado. Por permitirme el uso de sus instalaciones y equipo para la elaboración de la tesis doy gracias al departamento SEES del CINVESTAV. A CONHICYT, por el apoyo de la beca de doctorado. A mi asesor, el Dr. Salvador Gallardo Hernández quién me enseñó las herramientas básicas para mi investigación, por la gran ayuda brindada y la buena voluntad demostrada. Gracias por la paciencia, las enseñanzas y la disposición brindada en todo momento. A los miembros de mi comité, el Dr. Gerardo Acacio González de la Cruz, el Dr. Jaime Santoyo Salazar, el Dr. Miguel García Rocha, por haberse tomado el tiempo de revisar mi trabajo de tesis y por sus contribuciones, cada una de ellas tan valiosa que sin sus notas este trabajo sería completamente distinto. A la M. en C. María Georgina Ramírez Cruz por la ayuda y consejos brindados con el uso del AFM. A Alejandra García Sotelo, por las mediciones Raman. A la Dra. Christian Avalos Gómez por la ayuda con la preparación de las muestras de rodamina B. Al departamento de química teórica en especial al Dr. Andreas M. Köster y al estudiante de Doctorado el M. en C. Juan Diego Samaniego Rojas, por toda la gran ayuda brindada con la simulación computacional de mis experimentos. A mis padres, mi hermano, mi novia y mis amigos por su cariño y apoyo incondicional, gracias por estos fantásticos años y por ayudarme a crecer y dar lo mejor de mí.

CONTENIDO

<u>Resumen</u>	9
<u>Abstract</u>	10
<u>Introducción</u>	11
<u>Justificación y objetivos</u>	13
<u>Marco teórico</u>	17
<u>3.1 Espectroscopía Raman</u>	17
<u>3.2 Espectro Raman</u>	18
<u>3.3 Sección Transversal de dispersión</u>	21
<u>3.4 Efecto SERS</u>	22
<u>3.5 Molécula de la rodamina B</u>	24
<u>3.5.1 Modos normales de vibración de la rodamina</u>	26
<u>3.6 DFT</u>	27
<u>3.6.1 Ecuación de schrödinguer</u>	27
<u>3.6.2 Teorema HK</u>	29
<u>3.6.3 Método Khon-Sham</u> ..	30

<u>Método experimental</u>	33
<u>4.1 Fabricación de sustrato SERS</u>	33
<u>4.2 Microscopía de fuerza atómica al sustrato</u>	34
<u>4.3 Preparación de la disolución</u>	35
<u>4.4 Espectroscopía Raman</u>	36
<u>4.5 Análisis computacional</u>	36
<u>Resultados y discusión</u>	39
<u>5.1 Espectro Raman</u>	39
<u>5.2 Identificación de los modos vibracionales</u>	42
<u>5.3 Espectro Raman de la rodamina B por simulación</u>	49
<u>Conclusiones</u>	50
<u>Bibliografía</u>	54
<u>Anexos</u>	56

RESUMEN

La espectroscopía Raman puede usarse como una técnica para detectar la presencia de alguna molécula en una disolución, esto la hace una gran alternativa para funcionar como un detector de biomarcadores para alguna enfermedad, en particular detectar cáncer de ovario epitelial a través de la haptoglobina en etapas temprana podría salvar miles de vidas alrededor del mundo. Para que esto sea realmente una alternativa viable es crucial desarrollar un substrato SERS que amplifique la señal y así seamos capaces de detectar concentraciones muy pequeñas de dicho biomarcador, además para que nuestros sensores sean confiables debemos tener una idea del tipo de señal que esperamos encontrar.

Este trabajo presenta una mejora en la comprensión de como fabricar un buen substrato SERS, pero además intenta averiguar qué es lo que hace que ciertos modos vibraciones sean más excitados debido a la interacción de la molécula con la superficie del substrato, no solo desde el punto de vista experimental sino a través del cálculo computacional y DFT logramos replicar con bastante precisión los modos vibracionales para una molécula de prueba (rodamina B), lo cual puede ser replicado y profundizado en el trabajo de doctorado para garantizar que la señal obtenida en una espectroscopia Raman de la haptoglobina como biosensor sea la correcta.

ABSTRACT

Raman spectroscopy could be used as a technique to detect the presence of a molecule in a solution, this makes it a great alternative to function as a biomarker detector for any disease, in particular detecting epithelial ovarian cancer through haptoglobin in early stages could save thousands of lives around the world. For this to really be a viable alternative, it is crucial to develop a SERS substrate that amplifies the signal and thus we are able to detect very small concentrations of said biomarker. In addition, for our sensors to be reliable we must have an idea of the type of signal we expect to find.

This work presents an improvement in the understanding of how to make a good SERS substrate, but also tries to find out what makes certain vibration modes more excited than others when the molecule interacts with the surface of the substrate, this not only from the experimental point of view, but part of its value is that through computational calculation and DFT we managed to replicate with enough precision the vibrational modes for a test molecule (rhodamine B), which can be replicated and deepened in the doctoral work. to ensure that the signal obtained in a Raman spectroscopy of haptoglobin as a biosensor is correct.

I. INTRODUCCIÓN

Toda enfermedad está asociada a un estilo de vida que nos expone a algún agente externo provocando un funcionamiento anormal de nuestro cuerpo y por último un deterioro de la salud. Un biomarcador es un agente biológico que provee información patológica de un individuo, es una sustancia cuya concentración, cantidad o simple existencia son característicos de una enfermedad, del correcto funcionamiento de un tratamiento o de un estado de buena salud ⁽¹⁾.

El identificar y medir la presencia de un biomarcador a bajas concentraciones no es fácil en ocasiones los métodos son tardados y costosos, en otras ni siquiera hemos desarrollado métodos efectivos para detectarlos. La espectroscopía óptica es una alternativa prometedora para poder detectar la presencia de un biomarcador ⁽²⁾ de forma no invasiva y conseguir información sobre el estado de salud de una persona.

Dado que los biomarcadores son moléculas de origen orgánico, su uso se encuentra limitado por la disponibilidad del organismo huésped. Por eso, en este trabajo entrenaremos en la fabricación de substratos SERS basados en silicio y la determinación de su desempeño empleando espectroscopía Raman para determinar la magnificación de la señal proveniente de la rodamina B (o la 6G), sustancia comúnmente usada como marcador fluorescente y cuyo espectro Raman se ha reportado ampliamente en la literatura, por lo que es una gran candidata para ser una molécula de prueba con la que desarrollaremos una manera eficiente y reproducible de detectar moléculas, incluso si estas están a muy bajas concentraciones. Para garantizar que la señal obtenida es debida a la presencia de la molécula de interés, se realizó también el entrenamiento en el uso de un software que permite cálculos de teoría funcional de la Densidad (DFT por sus siglas en inglés) y luego diseñado un

método efectivo y confiable intentará detectar un agente biológico que caracteriza una enfermedad y un biomarcador confiable.

Un sustrato SERS es un material nanoestructurado que facilita el efecto SERS, una amplificación de la señal Raman debido a la presencia de resonancia de plasmones localizados de superficie. En otras palabras, provoca que las señales provenientes de las moléculas en las cercanías a las nanoestructuras metálicas de la superficie sean más “fuertes”, un “buen” sustrato SERS proporciona la mayor mejora o amplificación de la señal Raman de varios ordenes de magnitud ⁽³⁾.

La reproducibilidad en cuanto a la respuesta espectral de una molécula es fundamental para comparar resultados de forma confiable, también hay que considerar desplazamientos en la longitud de onda de la señal correspondientes a diferencias en el acoplamiento de la molécula con el sustrato, diferencias morfológicas debido al sustrato base y el metal utilizado para fabricar las nanopartículas causantes del efecto SERS.

En los últimos años los sustratos SERS se han utilizado en la fabricación de sensores biológicos, como ya se ha mencionado la morfología y el tipo de materiales influyen en la efectividad del efecto SERS ⁽³⁾, por lo que la comunidad científica ha centrado gran parte de sus esfuerzos en optimizar los sustratos SERS explorando el uso de nanopartículas metálicas, tanto como la plata (Ag) como el oro (Au) han demostrado ser muy efectivos ⁽³⁾.

Entender como amplificar lo mayor posible la señal Raman es un paso crucial en la evolución de los sustratos SERS y por ende de las aplicaciones de la espectroscopía Raman en diversos campos multidisciplinarios como lo podría ser la nano medicina y la biología molecular, ya que esto nos permitirá detectar concentraciones muy bajas de una molécula que se pretenda utilizar como biomarcador, así; los instrumentos que funcionen bajo este principio serán más sensibles. En otras palabras: con un sustrato SERS optimizado y la determinación a

DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS MODOS VIBRACIONALES DE LA RODAMINA B Y SU
COMPARACIÓN CON CÁLCULOS DFT COMO ENTRENAMIENTO PARA SU FUTURA APLICACIÓN EN
BIOMARCADORES DE CÁNCER DE OVARIO.

partir de primeros principios de modos vibracionales de biomarcadores moleculares, podremos obtener más información sobre el estado de salud de una persona, detectar enfermedades en apenas etapas tempranas, así teniendo así mayores posibilidades de supervivencia.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

a) Justificación.

Actualmente, a pesar de que hay muchos reportes en la literatura especializada sobre el censado experimental de biomarcadores usando espectroscopías ópticas, espectroscopía Raman y diversos substratos SERS en particular. Existen solo pocos artículos con cálculos computacionales de los modos vibracionales de los marcadores, porque el desarrollo actual de la teoría DFT no es suficiente así como que los requerimientos computacionales son altamente costosos y poco accesibles, por eso se requiere que los grupos de investigación relacionados empiecen a mostrar la información espectral que se espera de las moléculas reportadas como biomarcadores, para garantizar que los datos experimentales obtenidos sean efectivamente por la magnificación de la señal Raman proveniente del biomarcador.

El cáncer de ovario epitelial es un tipo de cáncer que afecta la capa externa que recubre los ovarios. Está catalogado como el cáncer más común teniendo entre un 85% y 90% del total de cánceres que afecta a uno o ambos ovarios, además también es un cáncer muy peligroso pues estadísticamente el 70% de las mujeres que padecen esta enfermedad fueron detectadas en etapas terminales por esta razón el cáncer de ovario es uno de los más letales debido a su tardía detección. ⁽⁴⁾

En México fueron reportados en 2018 un total de 4759 casos de cáncer de ovario epitelial en donde murieron 2765 de dichos casos ⁽⁵⁾, lo que representa un 58.1% es decir más de la mitad de las mujeres que sufren de este cáncer no pudieron continuar con vida, por lo que es de vital importancia desarrollar técnicas que permitan detectar de manera temprana y fiable esta enfermedad, en ese sentido el uso de la fotónica y las nanociencias, en nuestro caso particular la espectroscopía Raman posibilitan el ofrecer una alternativa de diagnóstico a las pruebas empleadas comúnmente en la medicina tradicional. El uso de la espectroscopía Raman y los

sustratos SERS para aumentar la eficiencia de detección molecular de la técnica podrían ser un camino viable para la detección de biomarcadores sumamente específicos en diversas enfermedades ⁽⁶⁾, en particular en la detección temprana de cáncer de ovario, es decir se podría usar la espectroscopía Raman como una técnica efectiva para un diagnóstico confiable de cáncer ⁽⁷⁾ de ovario desde etapas tempranas.

b) Hipótesis.

El uso de teoría funcional de la Densidad (DFT) nos permitirá deducir confiablemente cuáles son los modos vibracionales que se pueden obtener en un espectrómetro Raman. En el caso de sustratos atómicamente planos y periódicos se cambian las magnitudes de los modos de vibración de las moléculas que se adhieran a su superficie debido a la interacción de las nanopartículas metálicas. En cambio, en sustratos mesoporosos se podrán formar cavidades resonantes lo que dará como resultado una magnificación aun mayor de la señal Raman dada la componente de resonancia, así como la activación de otros modos vibracionales no presentes en el primer tipo.

c) Objetivos.

General: Determinar de los modos vibracionales de la rodamina B mediante la simulación computacional basada en DFT. Mostrar de forma experimental que distintos modos vibracionales son activados para al menos dos distintos sustratos debido a la forma que interacciona la rodamina B con la superficie nanoestructurada.

Particulares:

1. Obtener los modos vibracionales de la rodamina en el vacío mediante simulación computacional empleando DFT.

2. Comparar los modos vibracionales encontrados con los resultados experimentales de rodamina B en un substrato de silicio y en alúmina (Al_2O_3).
3. Comparar los resultados experimentales y de simulación con la literatura.

III. FUNDAMENTO TEORICO

3.1 Espectroscopia Raman

La espectroscopía RAMAN llamada así por el físico indio Chandrasekhara Venkata Raman quién descubrió el efecto RAMAN en 1921 por el cuál gano el premio nobel de física de 1930 ⁽²⁾, esta técnica es de gran utilidad pues permite la diferenciación de minerales y moléculas o elementos a partir de su espectro Raman el cual es resultado de la excitación mediante un láser, lo que genera una serie de bandas características para cada material, como si esta fuera una firma única e inconfundible. ⁽⁸⁾ La espectroscopía Raman es el estudio de la dispersión inelástica de la luz y, cuando se aplica a moléculas, proporciona una idea de su estructura química ⁽²⁾.



FIGURA 1. CHANDRASEKHARA VENKATA RAMAN ⁽²⁾.
FÍSICO DESCUBRIDOR DEL EFECTO RAMAN.
(7 DE NOVIEMBRE DE 1888-21 DE NOVIEMBRE DE 1970)

3.2 Espectro Raman.

La diferencia de energía entre el estado previo y el posterior a la dispersión corresponde a una corresponde a un numero de onda del modo vibracional.

$$E_v = E_L - E_s = \frac{hw_v}{2\pi} \quad ec \ 01$$

$$V_v = \frac{w_v}{2\pi c} \quad ec \ 02$$

Donde:

E_v = *Energia del estado rotacional,*

E_l = *Energia dispersado*

E_s = *Energia incidemte*

V_v = *numero de onda del modo normal*

w_v = *frecuencia normal de vibracion*

Para visualizar de manera más conveniente los niveles de energía y las transiciones permitidas entre ellos se utiliza los diagramas de Jabloski (véase fig. 4).

Un diagrama de Jabloski funciona de la siguiente manera, se divide en estados electrónicos y vibracionales dispuestos de manera vertical y ascendente energéticamente, para cada estado electrónico existe un configuración de equilibrio de los átomos cuya energía está representada en el mínimo de la curva pero que además se pueden acceder a estados vibratorios excitados e inclusive puede haber transiciones locales dentro del mismo estado electrónico solo cambiando su modo vibracional o cambiando a su vez el estado electrónico, dichas transiciones posibles son representadas por flechas.

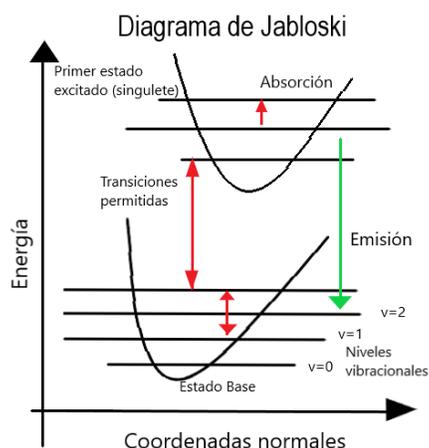


FIGURA 3. BANDAS CARACTERÍSTICAS O BIEN MODOS VIBRACIONALES PERMITIDOS POR LA ESTRUCTURA DE LA MOLÉCULA. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LOS NIVELES DE ENERGÍA EN UN DIAGRAMA DE JABLOSKI, POSIBLES TRANSICIONES ENTRE LOS ESTADOS MARCADOS CON LAS FLECHITAS.FIGURA READAPTADA 2.1 ⁽²⁾

Los estados electrónicos están caracterizados por la configuración electrónica, el estado base es cuando los electrones son acomodados de tal manera que consiguen la menor energía posible, el spin total es cero y es un estado no degenerado, en cambio el primer estado excitado surge cuatro estados degenerados uno para un spin cero (singulete) y otros tres para el spin 1 (tripleto) ⁽²⁾. Por otro lado, los estados vibracionales están relacionados con los grados de libertad tanto traslacionales como rotacionales.

Debido a la conservación de energía, cada transición entre estados está relacionada con la absorción o pérdida de energía, si la transición ocurre no localmente entre estados electrónicos se le llama transición electrónica, si ocurre dentro del mismo estado electrónico y solo cambia el estado vibracional se le llama transición vibracional o local.

Además, se pueden clasificar en 2 grupos, radiativas y no radiativas, las radiativas son aquellas que involucran la interacción con un fotón, son en principio prohibidas entre el singulete y el tripleto pues debe de conservarse el spin siendo esta una regla de transición. Mientras que la no radiativa son resultado de interacciones con el

ambiente o internas y en estas si se puede hacer transiciones entre dos estados de spin distinto.

Los picos en el espectro Raman corresponden a los modos vibraciones de la molécula, sin embargo, no todos los modos vibratorios conducen a una fuerte vibración Raman esto es parte de las reglas de selección.

3.3 Sección transversal de dispersión.

Un concepto muy importante para entender la espectroscopia Raman, es la sección transversal de dispersión que en otras palabras está conformada por el número de fotones incidentes que son absorbidos. Por definición la sección eficaz de dispersión correspondo al área efectiva de la molécula vista por un haz incidente homogéneo sobre la cual la molécula absorberá cada fotón y matemáticamente este dado por ⁽²⁾

$$P = \sigma S_{inc} \quad \text{ec. 03}$$

Donde:

$P = \text{Potencia absorbida}$

$S_{inc} = \text{Potencia incidente}$

$\sigma = \text{Sección eficaz de dispersión}$

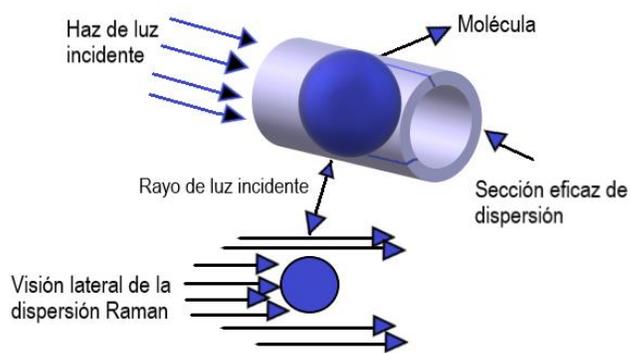


FIGURA 4. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA SECCIÓN EFICAZ DE
DISPERSIÓN. FIGURA ADAPTADA DE LA FIGURA 2.5 ⁽²⁾.

3.4 Efecto SERS

El efecto SERS o bien “Surface enhanced Raman scattering” o bien en español “Dispersión Raman mejorada en superficie” fue descubierto en 1974 pero no fue sino hasta 1977 que fue correctamente interpretada ⁽²⁾. El efecto SERS amplifica la señal en la espectroscopia Raman varios ordenes de magnitud en el sentido de que una sustancia se puede diluir en varios órdenes de magnitud y aún será detectable gracias al incremento de la señal. La señal Raman se ve amplificada debido a las interacciones de la luz con un metal a través excitaciones también conocidas como resonancia de plasmones ⁽⁹⁾.

El efecto SERS es un fenómeno “físicoquímico” en particular su aspecto físico se refiere al estudio de la teoría electromagnética de la resonancia de plasmones localizados de superficie. Se conoce como plasmones localizados de superficie a la oscilación de una densidad de electrones en la superficie por un campo electromagnético oscilante, a diferencia de los plasmones de superficie y los volumétricos estas excitaciones estos no viajan a través del material, los electrones que interactúan con la luz son los electrones superficiales correspondientes a las nanopartículas metálicas del substrato SERS, entrando en resonancia debido al acoplamiento de las nanoestructuras con el campo electromagnético.

La presencia de nanopartículas metálicas (Au en nuestro caso) mejora de dos formas distintas la señal electromagnética. Primero la mejora del campo local, debido a la excitación de los plasmones localizados de superficie (densidad electrónica superficial) se generan pequeñas regiones (hot-spots, figura 5) donde el campo eléctrico es mucho más intenso que sin la presencia del metal, la segunda mejora es en la radiación, la presencia de la estructura metálica cercana a la molécula modifica

la eficiencia con la que radia la molécula, esto se debe a que las nanopartículas metálicas actúan como un dipolo ⁽¹⁰⁾.

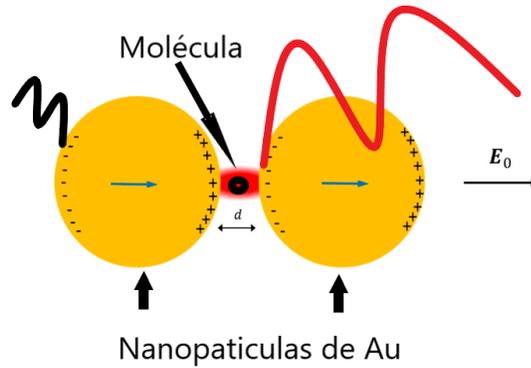


FIGURA 5. EFECTO SERS, FIGURA READAPTADA DE LA FIGURA 1 ⁽²¹⁾. LA SEÑAL INCIDENTE (NEGRA) LLEGA AL SUBSTRATO SERS, DONDE LA MOLÉCULA SE ENCUENTRA ENTRE DOS PARTICULAS DE AU, LA SEÑAL SE VE AMPLIFICADA EL CAMPO INTENSO (ZONA ROJA HOT-SPOT) Y POR EL DIPOLO INDUCIDO EN LA NANOPARTICULA, RESULTANDO EN UNA SEÑAL MAS INTENSA (ROJA).

Para entender mejor el origen y la naturaleza del efecto SERS consideremos el caso de una nano esfera metálica cuyas dimensiones $R \ll \lambda$ (λ , es longitud de onda correspondiente a la onda de la luz incidente), la cual es muy útil para describir nanoestructuras por debajo de los 100 nm ⁽¹⁰⁾. Al interactuar la esfera metálica con el campo eléctrico se induce una carga sobre la superficie de la esfera lo que provoca un apantallamiento del campo eléctrico inicial y un momento dipolar al interior de la esfera. Dados por ⁽¹⁰⁾:

$$\phi = -E_0 r \cos\theta + \frac{\mathbf{P} \cdot \mathbf{r}}{4\pi\epsilon_0\epsilon_m r^3} \quad ec\ 04$$

$$\mathbf{P} = 4\pi\epsilon_0\epsilon_m R^3 \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} \mathbf{E}_0 \quad ec\ 05$$

La polarización inducida en la esfera alcanza un máximo cuando $|\epsilon + 2\epsilon_m|$ es mínimo, siendo esta condición de resonancia también conocida como la condición de Fröhlich ⁽¹⁰⁾, al cumplirse la condición de resonancia implica un incremento del campo.

Para calcular analíticamente el factor de amplificación debido al efecto SERS producido por la presencia de nanopartículas metálicas debemos tener un sustrato de control sin nanopartículas metálicas, hacer una espectroscopía Raman a una disolución con la molécula que queremos poner a prueba y nos fijaremos en 4 parámetros experimentales distintos; La intensidad del espectro Raman tanto en el sustrato SERS como el de control, es decir; el número de fotones dispersado en la longitud de onda correspondiente al modo normal de vibración y las concentraciones de las disoluciones usadas en cada uno de estos casos, así pues, matemáticamente se puede expresar que ⁽¹¹⁾

$$A_{SERS} = \frac{I_{SERS}}{I_{Control}} * \frac{C_{control}}{C_{SERS}} \quad ec. 06$$

A_{SERS} = Coeficiente analítico de amplificación SERS

I_{SERS} = Intensidad espectro raman sustrato SERS

$I_{control}$ = Intensidad espectro raman sustrato de control

$C_{control}$ = Concentracion de la disolucion usada en el sustrato de control

C_{SERS} = Concentracion de la disolucion usada en el sustrato SERS

Sí simplificamos el experimento usando la misma disolución en el sustrato SERS y en el de control la segunda fracción es igual a uno, y solo tenemos que comparar las intensidades de los espectros Raman. (véase la tabla 2)

3.5 La molécula de la rodamina B y 6G.

La rodamina B es un compuesto, color violeta que pertenece al grupo de las rodaminas, las cuales son compuestos orgánicos heterocíclicos fluorescentes, en otras palabras, está conformado por una cadena de carbonos en la que la serie de los átomos de carbono están entrelazados en forma de anillo, además los patrones cíclicos están conformados de carbono hidrógeno y otro elemento como el nitrógeno y el oxígeno.

La rodamina es una molécula relativamente pequeña, tiene un total de 65 átomos ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$) que forman 3 anillos en línea con enlaces dobles y triples entre los carbonos y un cuarto anillo conectado a la anterior línea con un enlace simple, cada

anillo esta unido una pequeña cadena conformada por oxígeno, nitrógenos y etiles, véase la figura 6. La rodamina B y la 6G son isómeros es decir dos sustancias que comparten la misma composición química pero debido a su distribución geométrica algunas características son muy distintas, estructuralmente la principal diferencia entre estas dos rodaminas es que la rodamina B cuenta con dos dobles enlaces en el anillo central a diferencia de la 6G que solo cuenta con uno (figura 5), además los radicales unidos a los nitrógenos metíles a diferencia de la rodamina 6G que se une a dos grupos étil, si bien sus modos normales son prácticamente idénticos algunas propiedades físicas son distintas como por ejemplo su pigmentación siendo la primera un tono más violeta-rosado a diferencia de la 6G cuya coloración es un poco más rojizo.

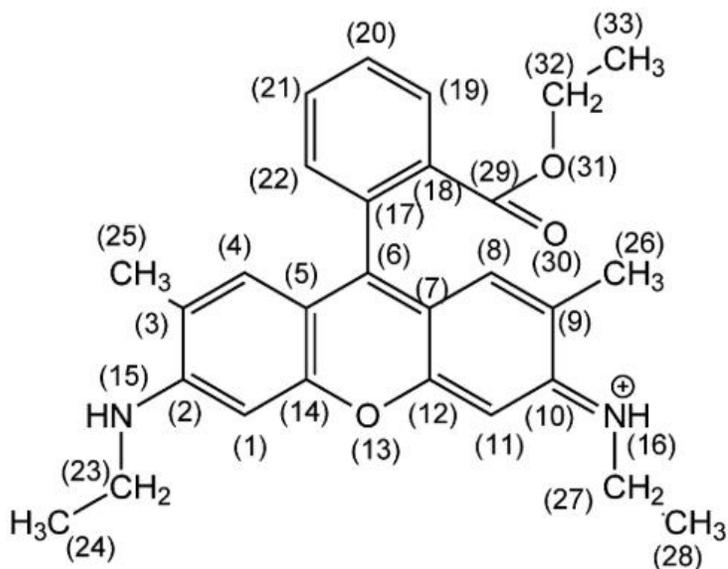


FIGURA 6. ESTRUCTURA MOLECULAR DE LA RODAMINA 6G. ⁽¹²⁾

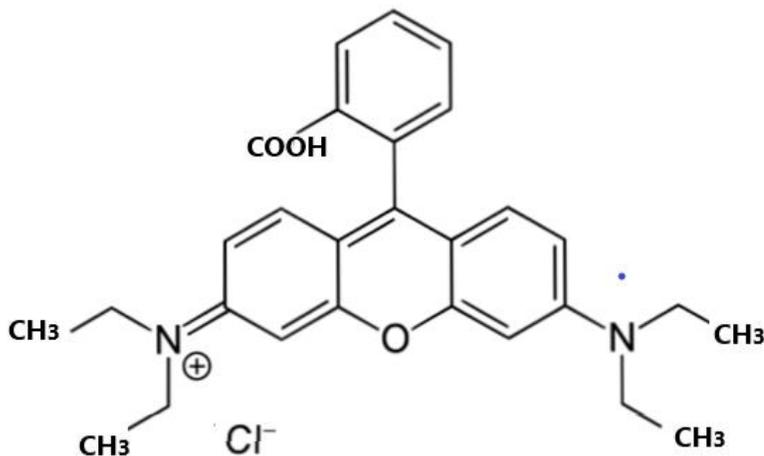


FIGURA 7. ESTRUCTURA MOLECULAR DE LA RODAMINA B. ⁽¹²⁾

La rodamina B se utiliza ampliamente como colorante para determinar la velocidad y la dirección del flujo, su aplicación en la biología va desde tinte fluorescente para detectar a través de la fluorescencia es uso de herbicidas hasta su uso como un biomarcador en vacunas orales para animales salvajes. La rodamina es una molecula ampliamente reportada en la literatura ⁽¹²⁾, gracias a ello es una excelente candidata a ser una molécula de prueba para técnicas de luminiscencia, en particular en nuestro caso la rodamina B la utilizaremos como molécula de prueba para censar la efectividad de nuestros sustratos SERS ante la espectroscopía Raman pues los modos normales de vibración han sido previamente reportados ⁽¹²⁾ con sustratos SERS hechos a base de plata (Ag).

3.5.1 Modos vibracionales de la rodamina.

Como vimos en los diagramas de Jabloski (figura 3) existen transiciones electrónicas y vibracionales, si dejamos fijo el estado electrónico es decir no hay un cambio de energía electrónica, y solo consideramos transiciones de energía debido a su geometría podemos hacer un estimado del número de modos normales de vibración que puede tener nuestra rodamina B.

Consideremos el número de grados de libertad de una molécula, 3 grados de libertad serán utilizados para describir el movimiento por cada átomo de la molécula⁽¹³⁾, es decir si tenemos una molécula con un total de N átomos, tendríamos en principio un total de $3N-3$ grados de libertad⁽¹³⁾, por ejemplo el agua (H_2O) una molécula formada por dos hidrógenos y un oxígeno, es una molécula de 3 átomos aplicando la regla anterior mencionada tendríamos un total de 3 grados de libertad lo que se traduce a 3 modos normales de vibración como se muestra en la figura 7:

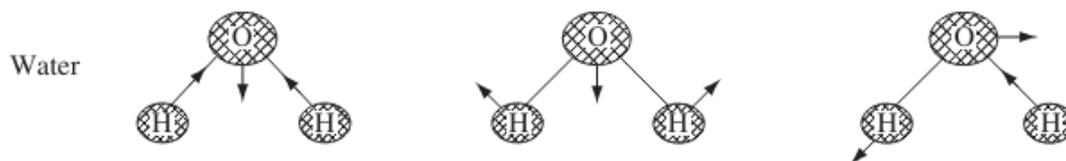


FIGURA 8. MODOS NORMALES DE VIBRACIÓN DEL AGUA. ⁽¹³⁾

Para el caso particular de la rodamina también podemos hacer el cálculo estimado de los modos normales de vibración de nuestra molécula, como la rodamina B (o 6G) tienen un total de 65 átomos entonces tendríamos un total de 192 modos normales de vibración.

3.6 DFT. (Teoría funcional de densidad)

3.6.1 Ecuación de schrödinger

La teoría de densidad funcional por sus siglas en inglés DFT (Density Funtional Theory) es la mejor forma para resolver la ecuación de schrödinger para un sistema de varios cuerpos, la idea principal es en lugar de encontrar la solución, es decir la función de onda, se calcula la densidad que solo depende de las coordenadas espaciales, a su vez la energía solo depende de la densidad, es decir es una función de la densidad. ⁽¹⁴⁾

La ecuación de schrödinger (ecuación 07) describe la evolución de un sistema cuántico para sistemas no relativistas, es decir para partículas de la escala de moléculas y átomos y que no viajan a velocidades cercanas a la velocidad de la luz.⁽¹⁵⁾

$$i\hbar \frac{\partial \psi(r, t)}{\partial t} = \hat{H}\psi(r, t) \quad ec. 07$$

$\psi(r, t)$ es solución de esta ecuación y se llama función de onda y esta contiene la información sobre la evolución de sistema en el tiempo, \hat{H} es el operador hamiltoniano y este depende de las interacciones del sistema. El operador hamiltoniano es análogo al hamiltoniano en mecánica clásica, si consideramos que este no depende del tiempo se dice que estamos en un sistema estacionario ⁽¹⁵⁾ y la ecuación es simplificada de la siguiente manera:

$$\hat{H}\psi(r) = E\psi(r) \quad ec. 08$$

Donde la función de onda ya solo depende de las coordenadas espaciales, y la complejidad del problema vendrá el hamiltoniano que describa el sistema. Para el caso de un sistema de N electrones y M nucleidos, considerando la atracción electrostática entre los electrones y los nucleidos, la repulsión entre los electrones, la repulsión entre los mismos nucleidos y usando la aproximación de Born-Oppenheimer para separar los movimientos electrónicos y del núcleo ⁽¹⁵⁾:

$$\frac{[T_e + V_{ee} + V_{ne} + V_{nn}]\psi(x, R)}{\psi(x, R)} + \frac{T_n \Theta(R)}{\Theta(R)} = E \quad ec. 09$$

Donde el lado de la izquierda es la parte electrónica y a la derecha encontramos nuclear, la primera la podemos reescribir (ecuación 9). Las soluciones de la ecuación de schrödinger electrónica forman un conjunto de funciones propias ortogonales, $\psi(x, R)$ las cuales corresponden a un valor propio $\xi(R)$, por lo que para cada una de

las soluciones electrónicas existe una ecuación schrödinger nuclear, considerando el estado base electrónico tenemos que la ecuación nuclear correspondiente es:

$$[T_e + V_{ee} + V_{ne} + V_{nn}]\psi(x, R) = E\psi(x, R) \quad ec. 10$$

Para resolver la ecuación 10, primero se suele resolver la parte electrónica (ecuación 9) y al obtener la energía correspondiente sustituirla y proceder a resolver la parte nuclear, sin embargo, no siempre podemos resolver de manera analítica, la ecuación de schrödinger electrónica, se torna complicada para el caso de más de dos electrones para ello usaremos una técnica para aproximar la función de onda basado en el principio variacional, cual establece que el valor esperado de la energía con cualquier función de onda siempre será mayor la energía del estado base.⁽¹⁵⁾

La función de onda de un sistema tiene mucha información del sistema en particular siempre nos interesa la energía total del sistema y sus transiciones. El proceso para encontrar la energía del estado base electrónico se fundamenta en el principio variacional, podemos aproximar dicha energía minimizando con una función de prueba el valor esperado de la energía, es decir:

$$E_{Base} = \min_{\psi} \langle \Psi | H | \Psi \rangle \quad ec. 11$$

3.6.2 Teorema de Hohenberg-Kohn

EL teorema de Hohenberg-Kohn (HK) es una parte muy importante de DFT se podría decir que es el corazón de la teoría de densidad funcional, es importante porque garantiza que sea equivalente usar la densidad electrónica a encontrar la función de onda para un sistema de varios cuerpos, usar la densidad electrónica es más

conveniente ya que esta solo depende de 3 variables $n(r)$ a diferencia de la función de onda cuya dependencia es de $3N$ variables $\Psi(r_1, r_2, \dots, r_N)$.

$$n(r) = \int \psi(r_1, \dots, r_N) \bar{\psi}(r_1, \dots, r_N) dr_1 \dots dr_N \quad ec. 12$$

El teorema establece que “la densidad electrónica del estado base $n_0(r)$ puede ser determinada por el funcional de la energía $E(n_0(r))$ a través del principio variacional y solo con la variación de la energía” ⁽¹⁵⁾. Dada la densidad de un estado base $n_0(r)$, es posible, en principio, calcular la función de onda del estado fundamental. Esto significa que Ψ_0 es funcional de n_0 . En consecuencia, todos los observables del estado fundamental son funcionales de n_0 también. Si Ψ_0 se puede calcular a partir de n_0 y viceversa, ambas funciones son equivalentes y contienen exactamente la misma información. ⁽¹⁶⁾

$$E(n_{prueba}(r)) \geq E(n_0(r)) = E_0 \quad ec. 13$$

3.6.3 Método Khon-Sham.

Este método utiliza el hecho de que el potencial externo $v(r)$ es un único funcional de la densidad electrónica $n(r)$, salvo una constante aditiva, también conocido como el primer teorema HK ⁽¹⁵⁾. Se define el funcional universal de HK $F(n(r))$ como la suma de la energía cinética de los electrones y la energía potencial debido a la interacción entre ellos mismos. ⁽¹⁵⁾

$$F(n(r)) = T_e(n(r)) + V_{ee}(n(r)) \quad ec. 12$$

Por lo que la energía total se puede escribir como:

$$E(n(r)) = F(n(r)) + \int n(r) v(r) dr \quad ec. 15$$

El funcional universal de Hk es independiente del potencial externo y es muy difícil de aproximar de manera completamente exacta, el método khon-sham es precisamente una de las mejores formas de aproximar este funcional universal. La idea consiste en dividir la parte potencial $V_{ee}(n(r))$ en la interacción coulombiana clásica entre los electrones $J(n)$ y las interacciones no clásicas, mejor conocidas como energía potencial de intercambio y correlación $V_{nc}(n)$ ⁽¹⁵⁾. Para la parte cinética se hace una simplificación sobre el sistema, se considera un sistema ficticio de partículas no interactuantes que generan la misma densidad electrónica que el sistema interactuante ⁽¹⁵⁾, de esta manera cambiamos la dificultad analítica por una aproximación computacional que replique los resultados del sistema original. Se separa la energía cinética en dos partes, la energía debido al sistema de electrones no interactuantes $T_s(n)$ y el resto $T_c(n)$ entonces la energía total de la ecuación 13 puede ser rescrita como:

$$E(n(r)) = T_s(n) + T_c(n) + J(n) + V_{nc}(n) + \int n(r) v(r) dr \quad ec. 16$$

Podemos definir la energía de intercambio y correlación $E_{xc}(n)$ como la suma de $V_{nc}(n)$ y $T_c(n)$ y definir el funcional de potencial externo como la integral en el último termino de la ecuación 14, $V(n)$ con lo que se puede reescribir como:

$$E(n(r)) = T_s(n) + J(n) + E_{xc}(n) + V(n) \quad ec. 17$$

Con:

$$E_{xc}(n) = V_{nc}(n) + T_c(n) \quad ec. 18$$

$$V(n) = \int n(r) v(r) dr \quad ec. 19$$

Para minimiza el funcional de energía se usa un sistema de N orbitales no interactuantes independientes entre ellos mismos, es decir se resolverían N ecuaciones de schödinguer del tipo (en unidades atómicas).

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + v_s(r)\right]\psi_i(r) = \varepsilon_i\psi_i(r) \quad ec. 20$$

Donde $v_s(r)$ es un potencial efectivo considerando todas las interacciones y contribuciones. Al final la densidad electrónica del problema original es la suma de las densidades de probabilidad electrónica para cada uno de los orbitales ficticios independientes entre sí ⁽¹⁵⁾, es decir:

$$n(r) = \sum_{i=1}^N |\psi_i(r)|^2 \quad ec. 21$$

La efectividad de cualquier cálculo con DFT usando el método de Khon-sham está limitado por que también se aproxima la energía de intercambio y correlación, por mencionar unas pocas LDA ⁽¹⁷⁾ (aproximación de densidad local), GGA (Aproximación de gradiente generalizado) ⁽¹⁸⁾, BLYP ⁽¹⁸⁾, PBE o funcionales híbridos tales como B3YLP ⁽¹⁹⁾.

IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 Fabricación de substratos SERS

En la fabricación de nuestros propios substratos, usamos una oblea de silicio cristalino, sobre la cual depositamos una película de oro de 10 nm de espesor usando una evaporadora de metales por sublimación.

Posteriormente hicimos un recocido para el cual usamos un horno (ULVAC-RIKO, MILA 5000) (Figura 8) durante 10 minutos a una temperatura de 300 ° C (figura 9) esto para favorecer la formación de nano partículas de oro sobre nuestro substrato de silicio cristalino al cual previamente depositado una pequeña capa de oro de 10 nm de espesor.

El procedimiento de operación se describe como el siguiente:

1. Verificar la temperatura de operación del líquido refrigerante esta debe estar en un rango de 15°C con tolerancia de +/- 1°C.
2. Verificar la correcta Circulación del líquido refrigerante a través de la manguera.
3. Abrir la válvula del nitrógeno gaseoso, utilizada para evitar la oxidación del metal (Au) durante la formación de nanopartículas.
4. Introducir la muestra en la compuerta en una pequeña charola que sale automáticamente después de abrir la compuerta.
5. Construir la rampa de recocido en el software, poniendo la duración de cada intervalo en segundos y los aumentos o periodos de temperatura constante en grados centígrados. Guardar el archivo de la rampa, ejecutar el archivo creado y comenzar con el recocido.
6. Vigilar que la temperatura sea la correcta en el indicador y cronometrar el tiempo de recocido para verificar la correcta ejecución de la rampa de recocido.

7. Una vez acabado de ejecutar el programa la muestra se enfriará lentamente hasta temperatura ambiente, retirar la muestra hasta que el indicador marque la temperatura ambiente.

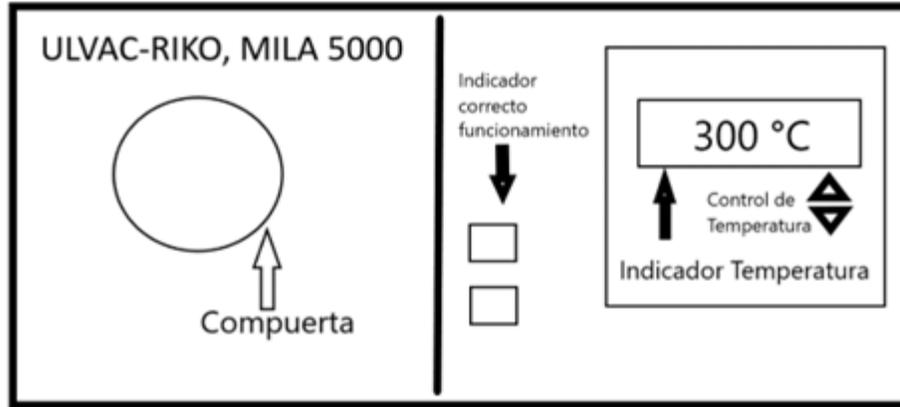


FIGURA 9. EQUIPO EXPERIMENTAL, (ULVAC-RIKO, MILA 5000), HORNO UTILIZADO PARA LA FORMACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE AU MEDIANTE EXPOSICIÓN A CALOR.

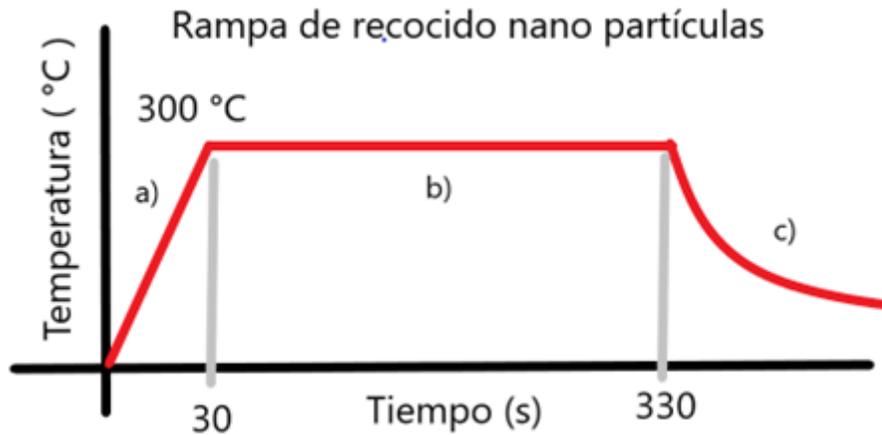


FIGURA 10. RAMPA DE RECOCIDO PARA LA FORMACIÓN DE NANO PARTÍCULAS, A) UNA SUBIDA RÁPIDA DE UNOS 30 SEGUNDO HASTA LA TEMPERATURA DE 300°C, B) PARTE PLANA DE LA RAMPA JUSTO EN ESTA PARTE SE FORMAN LAS NANOPARTÍCULAS, C) ENFRIAMIENTO HASTA TEMPERATURA AMBIENTE POR MEDIO DE INTERACCIÓN CON EL MEDIO.

4.2 Análisis empleando microscopía al sustrato.

Una vez que ya teníamos los sustratos de silicio con las nano partículas de oro, los analizamos mediante microscopía de fuerza atómica (AFM), con la finalidad de lograr tener una estadística sobre dos parámetros importantes (mediante el software image)

Analysis) el diámetro promedio de las nano partículas formadas y la rugosidad media cuadrática. Para obtener ambos parámetros se analizaron las imágenes obtenidas previamente en la AFM mediante un análisis de grano y de rugosidad superficial como se muestra en la figura 10.

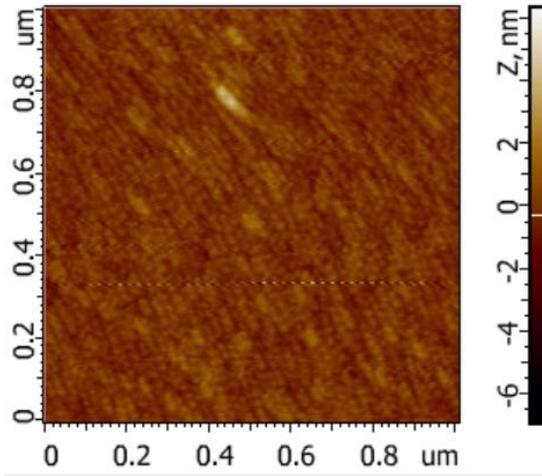


FIGURA 11. AFM DE LOS SUSTRATOS PREVIAMENTE RECOCIDOS PARA LA FORMACIÓN DE NANO PARTÍCULAS. DIÁMETRO PROMEDIO 10.8 NM Y RMSR (ROOT MEAN SQUEARE RAOUGHNESS) DE 0.571 NM.

4.3 Preparación de la disolución de Rodamina.

Preparamos 3 disoluciones de agua destilada y rodamina B con esta última a distintas concentraciones con ayuda de una pipeta milimétrica, primeramente, la concentración de 0.1 molar es decir 0.1 mol de rodamina por litro de disolución, o bien 30.03 ml de rodamina por cada 50ml de disolución.

Para la segunda disolución se tomaron 5 ml de la primera disolución y se agregaron 45 ml de agua destilada lo que diluyo la concentración de rodamina B en la nueva disolución 10 veces menos concentrada que en la primera, se repitió este proceso obteniendo una tercera disolución con rodamina 10 veces más diluida que la segunda, las disoluciones se etiquetaron de la siguiente manera. (figura 11)

I.0.1 molar

II.0.01 molar

III.0.001 molar

Colocamos 5ml con ayuda de una micropipeta de cada una de las disoluciones sobre 3 sustratos con y otros 3 sin nanopartículas de oro para poder comparar el efecto de las nanopartículas de oro en la amplificación de la señal Raman, esperamos a que se evapore el solvente y la rodamina se termine de adherir a la superficie de los sustratos.

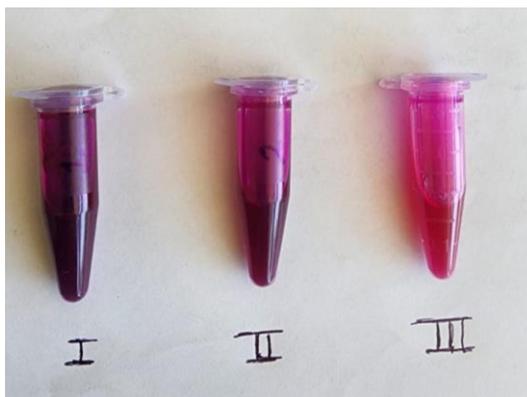


FIGURA 12. COLORACIÓN DE LA DISOLUCIONES DE RODAMINA CON AGUA

4.4 Espectroscopía Raman.

Usamos espectroscopio Raman de la marca Dilor modelo labRAM con un láser rojo con una longitud de onda de 510 nm de la marca OLYMPUS modelo BX40, los parámetros experimentales de la espectroscopía fueron un tiempo de apertura de 20 segundos para las muestras que no tenían nanopartículas y de 60 segundos para los sustratos SERS, se usó una red de 600 y FDO4 y obtenemos el espectro Raman el cual procederemos a analizar y comparar con la literatura.

4.5 Estudio Computacional.

Para entender mejor porque se activan diferentes modos vibracionales cuando interactúa con la alúmina (Al_2O_3) con respecto al sustrato de silicio cristalino (Si) se usó DFT (Teoría de la densidad funcional) para construir un modelo computacional

que prediga el espectro Raman de la rodamina en cada uno de nuestros sustratos. Aunque primero se encontraron los modos vibracionales de la rodamina B en el vacío.

Para ello es fundamental tener primeramente la molécula de la rodamina digitalizada en un archivo XYZ, un archivo que nos da información de la localización y el tipo de enlace de cada uno de los átomos que componen a la rodamina B ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$), para ello usamos un programa llamado Avogadro ⁽¹²⁾ donde dibujamos la molécula de la rodamina (figura 16).



FIGURA 13. RODAMINA ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$) EN ARCHIVO EN ARCHIVO XYZ VISUALIZADO EN EL PROGRAMA DE AVOGADRO.

Después con ayuda del mismo software hacemos una minimización de la energía para tener un punto de partida más cercano al estado base y el trabajo computacional sea menos. Exportamos el documento en formato xyz, donde se dan las coordenadas de cada uno de los átomos que componen la molécula de rodamina B (Anexo I)

Necesitamos un computador con sistema operativo Linux, instalamos el programa “deMon 2k”. Una vez instalado seguimos las siguientes instrucciones.

1. El archivo rodamina.xyz generado por Avogadro le cambiamos el nombre a deMon.inp
2. Modificamos el archivo usando el comando vi deMon.inp
3. Una vez entrado al archivo colocamos el comando l, para modificar el archivo usaremos las siguientes palabras clave.

“OPTIMIZE CARTESIAN TOL=1.0E-2”. La cual se usa para optimizar la estructura obteniendo la energía mínima posible, se pueden mejorar los cálculos bajando la tolerancia, es decir encontrar el mínimo de energía en un proceso iterativo hasta que las diferencias de energía entre un proceso y el anterior sean menores a la tolerancia establecida, por el momento una tolerancia de 1×10^{-2} fue una buena aproximación.

5. “VXCTYPE PBE” es para determinar el potencial funcional a utilizar, por el momento utilizamos el potencial PBE, que es un potencial de intercambio y correlación.

6. “BASIS (DZVP)” es para usar la base en la que queremos expandir la función de onda, en particular usamos la base por defecto del programa ya que es una base relativamente pequeña, podemos mejorar la precisión de los resultados usando la misma base que el artículo de Watanabe ⁽¹²⁾

7. “GEOMETRY CARTESIAN ANGSTROM” este comando sirve para definir la geometría y las unidades en las que están medidas las distancias entre los átomos. El comando “CARTESIAN” indica que las posiciones de los átomos están dadas en coordenadas cartesianas leyendo cada columna como una coordenada

8. Mandamos a llamar el programa deMon 2K con el comando “~/deMon/6.2.2/object.opt/deMon.6.2.2.opt” agregamos el símbolo “&” para que se ejecute en segundo plano.

9. Se iterará hasta 50 veces buscando la convergencia de la energía minimizada con una tolerancia igual a la especificada en el paso 4. Al finalizar, la última configuración de la molécula será guardada en un archivo llamado “deMon.out” aquí se divide en dos posibilidades.

- a. La energía converge y pasamos al paso 10.
- b. La energía no converge, reescribimos los datos del archivo deMon.out en el archivo deMon.inp y volvemos al paso 8, esto para seguir minimizando desde una configuración en teoría más próxima a la minimización de la energía.

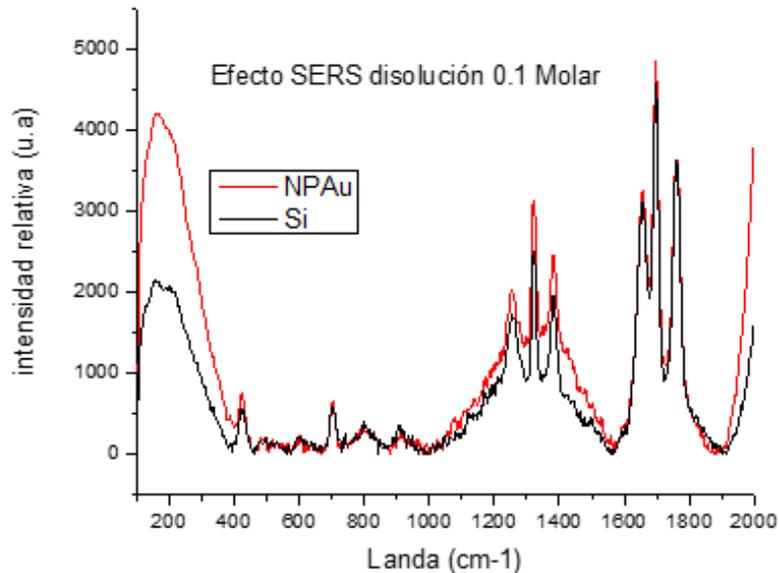
DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS MODOS VIBRACIONALES DE LA RODAMINA B Y SU COMPARACIÓN CON CÁLCULOS DFT COMO ENTRENAMIENTO PARA SU FUTURA APLICACIÓN EN BIOMARCADORES DE CÁNCER DE OVARIO.

10. Renombramos el archivo deMon.out como deMon.inp y modificamos las keywords. En lugar de usar "OPTIMIZE CARTESIAN" usamos "FREQUENCY" para encontrar los modos normales de vibración. (anexo 2) Esperamos a que termine de ejecutar el programa y obtenemos los modos de vibración de manera computacional. (anexo 3)

V.RESULTADOS Y ANÁLISIS.

5.1 Espectro Raman.

Primero analizaremos los espectros Raman de nuestras muestras, recordando que cada una de ella tiene una que sirve como control, es decir para poder visualizar el efecto de las nanopartículas de oro en el incremento de la señal debido al efecto SERS, dichas comparaciones las podemos encontrar en las figuras 13, 14 y 15.



b

FIGURA 14. LA LINEA NARANJA ES EL ESPECTRO RAMMAN DE LA RODAMINA EN PRESENCIA DE NPAU Y LA NARANJA SOLO DEPOSITADA SOBRE EL SILICIO CRISTALINO. DEBIDO A QUE LA DISOLUCIÓN CUENTA CON UNA CONCENTRACIÓN DE 0.1 MOLAR, SUFICIENTEMENTE ALTA COMO PARA NO NOTAR UN EFECTO SERS SIGNIFICATIVO.

Podemos notar que no existe un efecto SERS significativo cuando la disolución es muy concentrada esto se puede deber a que la rodamina B como molécula de prueba está en tanta concentración que cubre la superficie del sustrato y se deposita sobre si misma provocando que los puntos de alta intensidad de campo eléctrico

queden por debajo de la rodamina misma y como el efecto SERS es un efecto que tiene lugar en la superficie este no sea notorio como lo demuestra la figura 13.

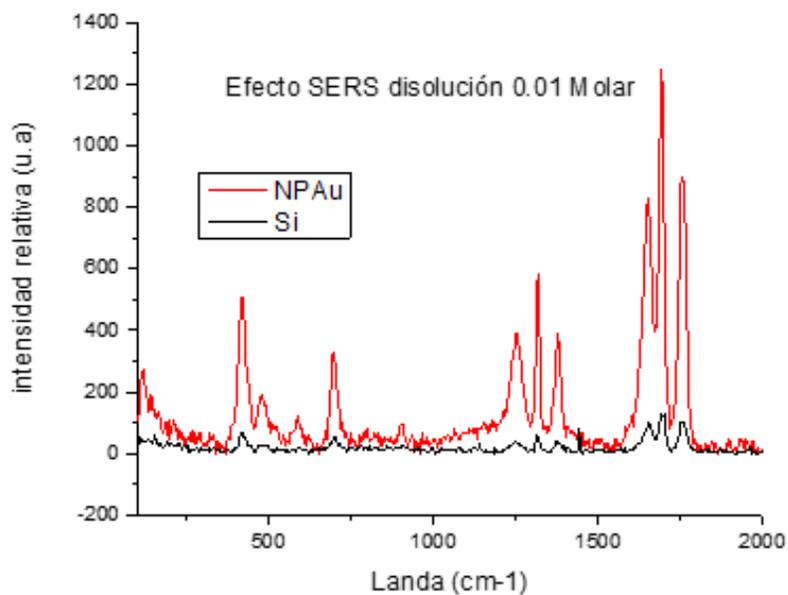


FIGURA 15. EN ESTA FIGURA AL IGUAL QUE LA ANTERIOR, LA LINEA NARANJA REPRESENTA LA RODAMINA CON NPAu Y LA NEGRA EN AUSENCIA DE ESTAS ÚLTIMAS, SIN EMBARGO PODEMOS NOTAR QUE AL REDUCIR LA CONCENTRACIÓN DE RODAMINA EN 10 VECES, EL EFECTO SERS ES SIGNIFICATIVO, HACIENDO DETECTABLE LA RODAMINA.

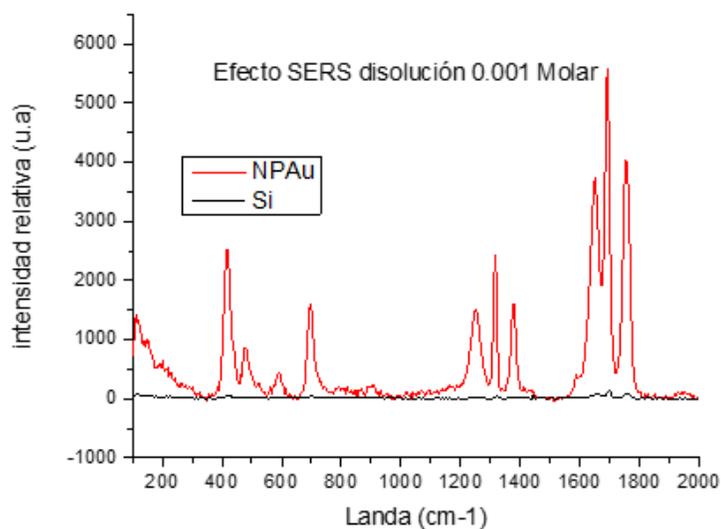
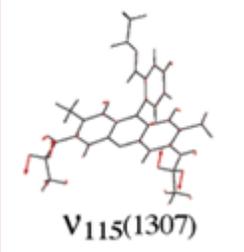


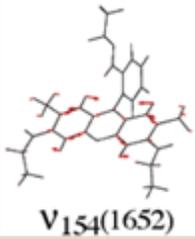
FIGURA 19. SE IDENTIFICARON LOS MODOS VIBRACIONALES EN EL ESPECTRO RAMAN EN LAS PRIMERAS 3 GRAFICAS POR SEPARADO, POR OTRO LADO EN LA ESQUINA INFERIOR DERECHA, TENEMOS LOS ESPECTROS NORMALIZADO EN FUNCIÓN DEL PICO MAS INTENSO Y NOS DAMOS CUENTA QUE ENTRE MAS DILUIDO ESTE LA RODAMINA MENOR ES EL RUIDO POR OTRO LADO LOS MODOS NORMALES MANTIENEN CONSTANTES SUS PROPORCIONES.

Para el caso de la rodamina en el sustrato de silicio con NPAu pudimos identificar 4 de los 8 modos vibracionales de la literatura, repetimos este análisis con los resultados de rodamina sobre alúmina y NPAu, resultados previamente obtenidos por Oscar Cigarroa en su tesis de doctorado ⁽²⁰⁾. En este caso pudimos encontrar 8 modos vibracionales que coincidían con la literatura ⁽¹²⁾, dos de estos mismos modos normales fueron activados en el caso del silicio con NPAu, con lo que podemos deducir que efectivamente la forma en la que la rodamina interactúa con el sustrato es esencial en la determinación de los modos normales de vibración que son activados.

La primera de las observaciones importantes a destacar es que al usar alúmina podemos ver una respuesta efectiva a una concentración 10^8 veces más diluida que la respuesta en silicio ⁽²⁰⁾, por lo que podríamos decir que el usar el sustrato de alúmina es muy eficiente, pues permitirá detectar concentraciones extremadamente bajas de biomarcador mediante la espectroscopia Raman.

Por otro lado, ya lo hemos adelantado, la cantidad y los modos normales de vibración activados (resonantes) dependen de la interacción de la rodamina con el sustrato, en este caso encontramos que solo dos modos fueron activados en común el ν_{115} y ν_{154} .

Silicio (cm ⁻¹)		Alumina ⁽¹⁸⁾ (cm ⁻¹)	Watanabe ⁽¹¹⁾ (cm ⁻¹)			
Experimental	Teórico	Experimental	Experimental	Teórico	modo	Imagen de modo vibracional ⁽¹¹⁾
1315.27	1311.6	1311	1311	1307	115	

1649.03	1647.2	1652	1650	1652	154	
---------	--------	------	------	------	-----	---

Los modos vibraciones que tienen en común son los modos v-115 y v-154 correspondientes a los numero de onda 1311 y 1350 (cm-1) esto nos dice que de alguna forma la alúmina y el silicio excitan estos modos normales en particular , sin embargo no todos los modos son activados, esto sucede bajo la hipótesis de que la porosidad de la alúmina favorece la producción de clústeres (muéganos) de nano partículas de oro que forman cavidades resonantes activando así otros modos resonantes a diferencia del silicio que prácticamente es un material sin porosidad. Lo que nos lleva al resultado principal de esta tesis, la forma que interacciona el sustrato con la rodamina es esencial para la activación de modos vibracionales y no la activación de otros.

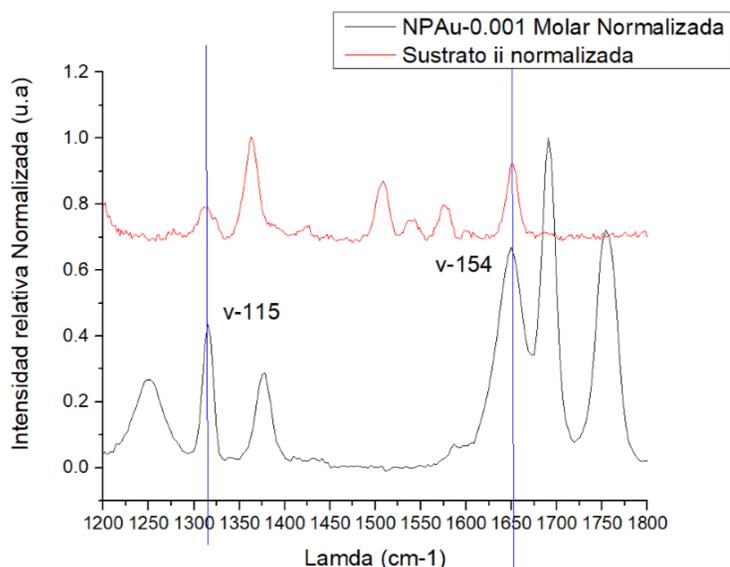


FIGURA 16. AQUÍ ES MUCHO MÁS NOTORIO EL EFECTO DE LAS NPAU AL INCREMENTAR LA SEÑAL, PUES LA SEÑAL DE LA RODAMINA SOBRE EL SILICIO ES PRÁCTICAMENTE PLANA, POR LO QUE SERÍA MUY DIFÍCIL DETECTAR CONCENTRACIONES DE 0.001 MOLAR, PERO GRACIAS AL EFECTO SERS PODEMOS DISTINGUIR CLARAMENTE LOS MODOS DE VIBRACIÓN ACTIVADOS.

En las figuras 14 y 15 podemos ver que al reducir la concentración de la rodamina en las disoluciones esta tiene un mayor efecto SERS es decir hay un aumento significativo de la señal en la presencia de las nano partículas de Au, esto puede deberse a un mejor acoplamiento de la rodamina sobre el sustrato aprovechando de mejor manera los hot-spots creados por la presencia de las nanopartículas de Au.

Por último, me gustaría añadir la siguiente comparación, que nos sirve para detectar concentraciones de rodamina de forma gráfica. Notemos que las señales son casi idénticas en intensidad por lo que podríamos concluir que la rodamina puede ser diluida hasta en 3 órdenes de magnitud y la señal seguirá siendo apreciable e identificable. También notemos que otros modos de vibración se ven amplificados ya que el sustrato de ambas no es exactamente el mismo y la forma en que interactúan las moléculas de rodamina con la superficie cambian ligeramente.

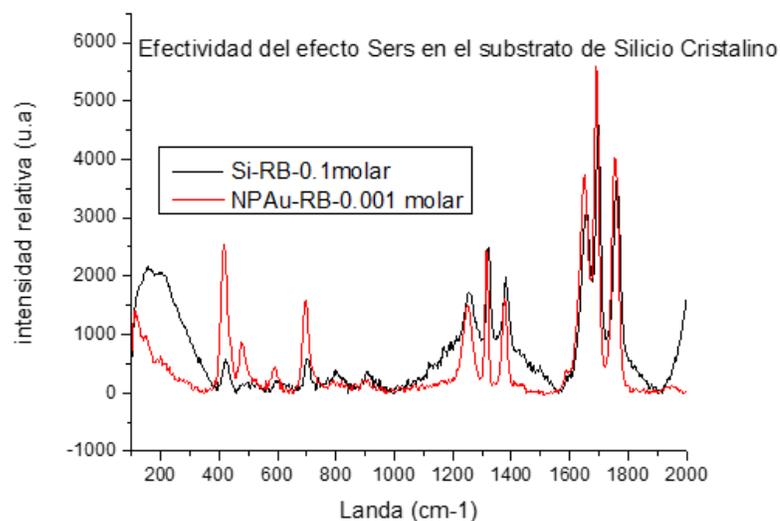


FIGURA 17. AQUÍ TENEMOS LA COMPARACIÓN DE LA MUESTRA DILUIDA 0.1 MOLAR SOBRE SILICIO (NEGRA) Y LA DISOLUCIÓN DE CONCENTRACIÓN 0.001 MOLAR EN PRESENCIA DE NPAU Y SE PUEDE NOTAR QUE PRÁCTICAMENTE SON LA MISMA SEÑAL, LO QUE DICE QUE PODEMOS ENCONTRAR CON ESTE SUBSTRATO CONCENTRACIONES DE HAS 10^{-3} MOLAR, LO CUAL HACE QUE TENGA UNA EFECTIVIDAD DE HASTA 3 ÓRDENES DE MAGNITUD.

Además de la comparación gráfica la cuál es bastante ilustrativa sobre el significado de coeficiente de amplificación SERS podemos calcularlo de manera analítica a través de la ecuación 04.

Muestra	Concentración Molar	Intensidad Raman	A_{SERS}
I	0.1 M	5589	1.274
i	0.1 M	4386	
II	0.01 M	586	1.14×10^1
I	0.01M	51.2	
III	0.001M	5569	4.2×10^2
iii	0.001M	13.6	

5.2 Identificación de los modos de vibración.

Después procedimos a comparar nuestros resultados con la literatura en especial el artículo “DFT Vibrational Calculation of Rhodamine 6G absorbed on silver: Analysis of tip enhanced Raman spectroscopy” ⁽¹²⁾, y los resultados de sustratos de alúmina (Al_2O_3) en la tesis de doctorado de nuestro compañero Oscar Cigarroa, para saber que modos vibracionales están activos en nuestra rodamina, y además los modos vibracionales activados en el caso del sustrato de alúmina. Encontrando que no todos son los mismos, pero si hay un par en común. Para ello usamos el software origin 9 Pro para realizar el análisis de los datos, usamos la herramienta de análisis de picos (figura 14) comparamos (tabla 3) y calculamos (tabla 2) los errores porcentuales de nuestros calculos teóricos con los resultados experimentales y los reportados. ⁽¹²⁾

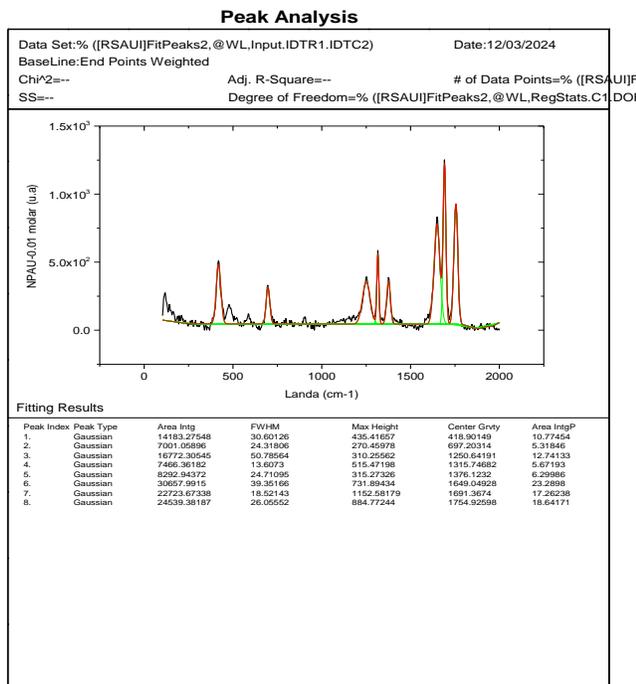


FIGURA 18. ANALISIS DE PICOS , ORIGIN PRO 9.

Modo	Longitud de onda calculada	Error experimental silicio	Error experimental watanabe ⁽¹²⁾	Error teorico watanabe ⁽¹²⁾
20	423.9	1.29%	NA	NA
59	700.8	0.62%	0.45%	0.17%
60	706.6	1.36%	0.36%	0.22%
109	1250.9	0.04%	NA	NA
115	1311.6	0.27%	0.04%	0.35%
122	1371.6	0.35%	0.83%	1.19%
124	1384.2	0.55%	0.08%	0.41%
153	1647.2	0.11%	0.16%	0.29%
154	1673.9	1.04%	NA	NA
155	1735.2	1.11%	NA	NA

DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS MODOS VIBRACIONALES DE LA RODAMINA B Y SU COMPARACIÓN CON CÁLCULOS DFT COMO ENTRENAMIENTO PARA SU FUTURA APLICACIÓN EN

BIOMARCADORES DE CÁNCER DE OVARIO.

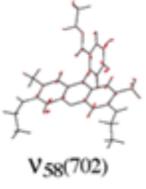
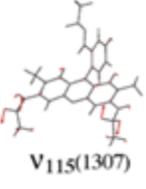
Comparación de modos de vibración								
SiO ₃ (Cm ⁻¹)					Watanabe ⁽¹¹⁾			Modo vibracional (imagen) ⁽¹¹⁾
Experimental			Teórico	Modo	Experimental	Teórico	Modo	
I	II	III						
418.41	418.90	418.41	423.9	40				
696.94	697.20	696.94	700.8	59	704	702	58	
			706.6	60				705
1250.03	1250.64	1250.03	1250.9	109				
1315.27	1313.92	1315.27	1311.6	115	1311	1307	115	
			1371.6	125				1383
1376.53	1376.12	1376.53	1384.2	126	1390	1390	124	
			1649.03	1649.04				1649.03
1691.42	1691.36	1691.42	1673.9	154				
1754.63	1735.2	1754.63	1735.2	155				

TABLA 3. COMPARACIÓN DE LOS MODOS NORMALES DE VIBRACIÓN

Además, los modos de vibración obtenidos mediante nuestra simulación computacional son consistentes con los resultados experimentales obtenidos y los de la literatura ⁽¹²⁾

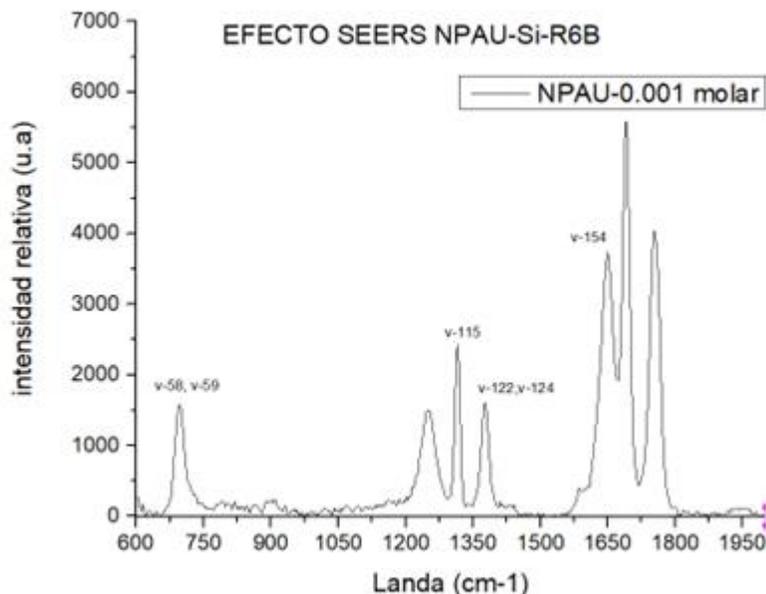


FIGURA 20. MODOS NORMALES EN COMÚN DE LA RODAMINA AL INTERACTUAR CON SUSTRATOS DE SILICIO (NEGRO) Y ALUMINA (ROJO) AMBAS EN PRESENCIA DE NPAU.

Esto último se puede ver claramente en la figura 15, los modos excitados son distintos, pero también cambian sus intensidades, por lo que, aunque en ambos casos son activados, no son excitados con la misma intensidad esto debido a la naturaleza de la superficie de ambos sustratos. En el caso de las muestras de rodamina 6G y alúmina es un sustrato poroso (figura 16) ⁽²⁰⁾, mientras que por otro lado los sustratos de silicio cristalino el material es continuo y atómicamente plano (figura 17)⁽²¹⁾ esto evita la clusterización de las nanopartículas y la obtención de cavidades resonantes de volumen nanométrico, es decir al no ser una superficie porosa a diferencia de la alúmina ⁽²⁰⁾ no se favorece la aparición de cavidades resonantes que actúen como una especie de eco en donde la molécula entre en resonancia y en donde bien pueden tenerse condiciones de Raman “hecho a una

DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS MODOS VIBRACIONALES DE LA RODAMINA B Y SU COMPARACIÓN CON CÁLCULOS DFT COMO ENTRENAMIENTO PARA SU FUTURA APLICACIÓN EN BIOMARCADORES DE CÁNCER DE OVARIO.

sola molécula” lo que sería un indicio de explicación del porque la magnificación tan elevada en los substratos porosos.

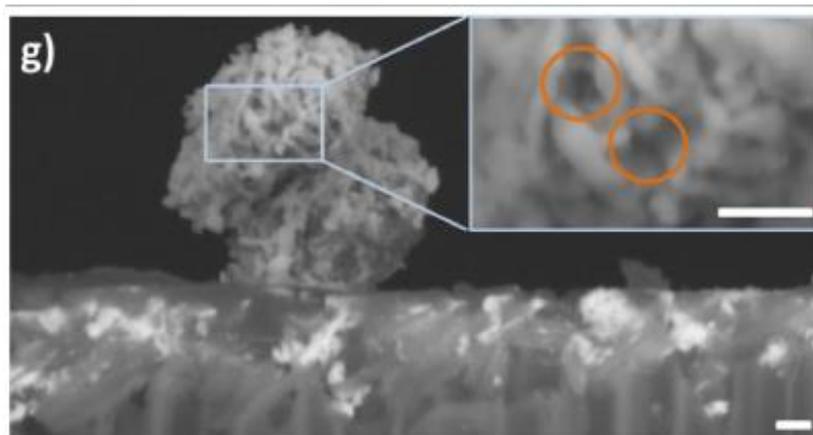


FIGURA 21. MICROGRAFÍA TOMADA DE MICROSCOPY AND MICROANALYSIS, 29 (SUPPL 1), 2023, 821–822 EN LA FIGURA LOS CÍRCULOS NARANJAS PRETENDEN SEÑALAR LAS CAVIDADES HECHAS DE NANOPARTÍCULAS OBLATAS DE AU EN DONDE SE “METEN” LAS MOLÉCULAS DE RODAMINA, Y A ESTO LE LLAMAMOS CAVIDADES RESONANTES

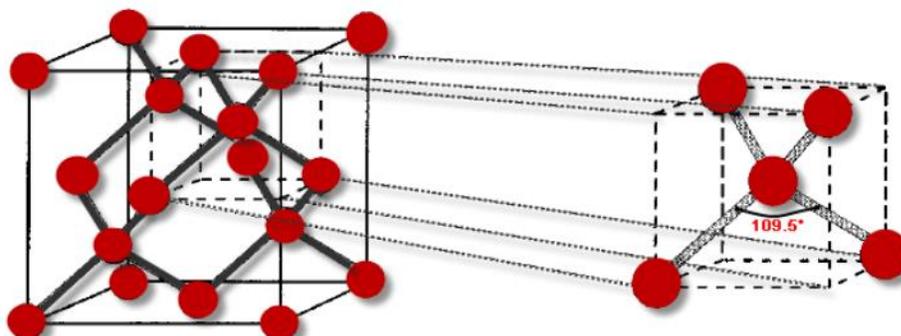
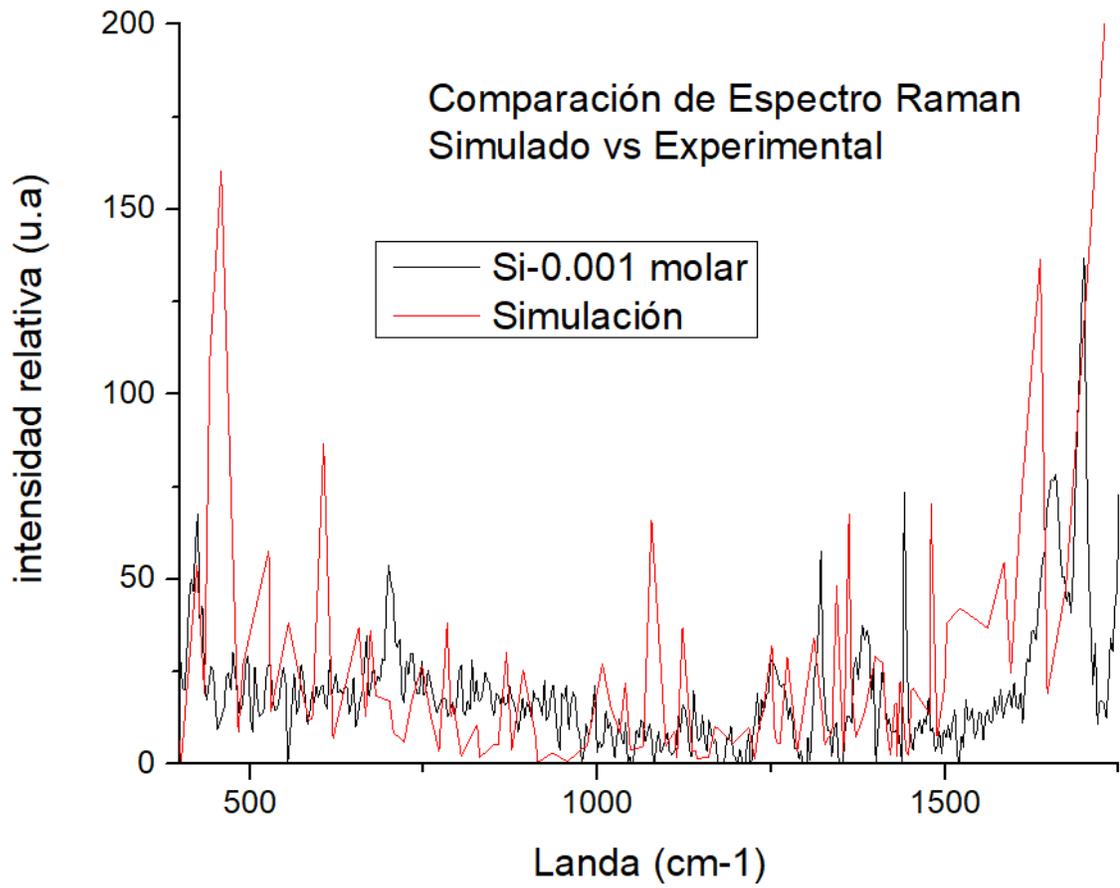


Figura 22.: ESTRUCTURA CRISTALINA DEL SI A) ESTRUCTURA FCC DEL SILICIO. B) ENLACES COVALENTES CON UNA COORDINACIÓN TETRAÉDRICA CON ÁNGULOS DE 109,5° ENTRE CADA ENLACE.⁽²¹⁾

5.3 Espectro Raman por simulación



VI. CONCLUSIONES

El efecto SERS es de suma ayuda cuando tenemos concentración de un biomarcador por debajo del límite de detección de la técnica, pues el espectro Raman se ve amplificando, pudiendo detectar a la molécula, por lo que es de suma importancia maximizar la eficiencia de nuestro sustrato teniendo un equilibrio entre la cantidad de ordenes de magnitud que podemos amplificar, el ruido que podamos tener y lo sencillo que sea de construir, en ese sentido la alúmina demuestra ser muy eficiente, por otro lado el silicio destaca por la poca cantidad de ruido que detecta y lo fácil que es tratar la señal aunque pierde varios ordenes su eficiencia en comparación con la alúmina.

Los modos normales de vibración activados dependen fuertemente de la interacción de la rodamina con el sustrato, activando modos distintos en cada uno de nuestros casos, así mismo aquí es importante preguntarnos para continuar en nuestro trabajo de Doctorado en física.

¿Cuáles son los parámetros más relevantes que definen los modos de vibración activados? ¿Podemos construir un modelo teórico aplicable a nuestros dos sustratos y quizás algunos otros?, para responder esa pregunta ya se está trabajando en conjunto con el departamento de química teórica para construir un modelo computacional en base a Mecánica Molecular (MM) donde a través de DFT esperamos reconstruir el espectro Raman de ambos sustratos y que esto nos ayude a explicar por qué sus diferencias a pesar de que en principio son la misma molécula. En principio aquí se presenta la totalidad de los modos normales de vibración sin estar interactuando con algún sustrato en específico, con la finalidad de evaluar nuestro proceso de simulación, pues si bien creemos que la interacción con la superficie es crucial para determinar que modos se ven más excitados, no debería

surgir más modos y en ese sentido todos los modos reportados por "DFT Vibrational Calculation of Rhodamine 6G absorbed on silver: Analysis of tip enhanced Raman spectroscopy" ⁽⁹⁾, siendo esta una prueba de que la manera de implementar nuestro análisis computacional es correcta.

Durante el presente trabajo de maestría se reprodujeron e incluso mejoraron los resultados previos de los sustratos SERS sobre silicio para rodamina y además se empezó a utilizar el análisis computacional con el programa deMon2K para el cálculo de los modos vibracionales con la finalidad de evaluar de manera más confiable los datos experimentales y aplicar estos procedimientos y aprendizajes para la molecula que verdaderamente nos interesa, recordando que el trabajo de doctorado es diseñar un biosensor para cáncer de ovario epitelial y que los conocimientos adquiridos y la experiencia sobre sustratos SERS, espectroscopía Raman, simulación computacional serán de suma utilidad al comenzar con el desarrollo de nuestro trabajo ahora aplicado a una proteína llamada haptoglobina, quien es en pocas palabras nuestra gran candidata a ser el biomarcador.

Perspectivas.

Como ya hemos dicho este trabajo tiene sobre todo un gran aprendizaje, que servirá para un proyecto más complejo, la importancia de tener un sustrato SERS eficiente, pero a la vez sencillo y barato de producir radican en que podamos sensar con gran precisión inclusive concentraciones de haptoglobina realmente bajas, no solo para determinar la existencia del cáncer si no en función de la concentración detectada poder establecer una escala y así determinar la fase del cáncer, si este avanza o acaso está remitiendo, es decir una especie de curva que en función de la densidad de haptoglobina detectada se especifique el estado de salud de la persona, que no sea complejo y barato como en el caso del silicio permitirá el facil estudio de más aplicaciones o la producción en más y el fácil acceso a todos los rincones del mundo, por lo que me gustaría terminar diciendo que los resultados de este trabajo son importantes no solo por sí mismos y las preguntas que plantean, sino además por su

DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS MODOS VIBRACIONALES DE LA RODAMINA B Y SU
COMPARACIÓN CON CÁLCULOS DFT COMO ENTRENAMIENTO PARA SU FUTURA APLICACIÓN EN
BIOMARCADORES DE CÁNCER DE OVARIO.

latente potencial de ser aplicados en la medicina del futuro, y hacer que una enfermedad tan letal como el cáncer de ovario, pueda ser detectada y tratada a tiempo, salvando así miles de vidas anualmente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arango SS. Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. Rev. Fac. Nac. -Salud Pública 2011; 30(1): 75-82 .
2. Sishan Cui, Shuo Zhang, Shuhua Yue. (2018). Raman Spectroscopy and Imaging for Cancer Diagnosis. Journal of Healthcare Engineering.
3. E. Le ru, P. Etchegoin. (2009) Principles of Surface Enhanced Raman Spectroscopy, Elsevier. Primera edición.
4. American Cancer Society. Ovarian Cancer. 2016, Atlanta, GA: American Cancer Society;2016.
5. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. Global cancer observatory:cancer today. Francia:International Agency for Research on Cancer;2018.
6. Z. Yu, L. Gao, K. Chen, W. Zhang, Q. Zhang, Q. Li, K. Hu. (2021). Nanoparticles: A new Approach to Upgrade Cancer Diagnosis and Treatment. Nanoscale Research Letters.
7. S. Cordoba, P. R. Romano, A. MacKay, M.C. Demirel. (2011). Raman Based Hepatocellular Carcinoma Biomarker Detection.33rd Annual International Conference of the IEEE EMBS.
8. G. M. Edwards, I. Hutchinson, R. Ingley, J. Jehlička. (2017). Biomarkers and their Raman spectroscopy signatures: a spectral challenge for analytical astrobiology. Philosophical Transactions of the Royal Society.
9. César A. Sánchez-Santiago. (2019). Efecto SERS de NP's de Ag, Producidas por síntesis verde. Revista Materia, Ciencia y Nanociencia Vol 2. No.1.
10. R. Pilot , R. Signorini, C. Durante, L. Orian, M. Bhamidipati, L. Fabris. (2019) A review of Surface Enhanced Raman scattering.
11. V. Ovchinnikov. (2012), Surface Enhanced Raman Scattering (SERS), Agosto 19 2012 ICQNM Roma, Italia.

12. H. Watanabe, N. Hayazawa, Y. Inouye, S. Kawata.(2005). DFT Vibrational Calculations of Rhodamine 6G Adsorbed on Silver: Analysis of Tip-Enhanced Raman Spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* 2005, 109, 5012-5020.
13. E. Smith, G. Dent. (2005). *Modern Raman Spectroscopy- A practical Approach*. John Wiley and Sons.
14. Klaus Capelle. (2006). *A Bird's-Eye View of Density-Functional Theory*. Departamento de Física e Informática Instituto de Física de São Carlos Universidade de São Paulo Caixa Postal 369, São Carlos, 13560-970 SP, Brazil
15. J.N. Pedroza Montero. (2020). *Ajuste Iterativo de la densidad para simulaciones ab initio en nano escala (Tesis de Doctorado en Nanociencias)*. CINVESTAV Unidad Zacatenco.
16. C. Fiolhais F. Nogueira M. Marques. (2003). *A Primer in Density Functional Theory*. Springer. Primera edición.
17. Casida, M. E.; Jamorski, C.; Casida, K. C.; Salahub, D. R. *J. Chem. Phys.* 1998, 108, 4439.
18. Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* 1993, 98, 5648
19. Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* 1988, 37, 785.
20. O.E Cigarroa Mayorga. (2020). *Funcionalización de nanoparticulas metálicas para la detección de biomarcadores de cáncer epitelial de ovario y su caracterización por medio de espectroscopía Raman (Tesis de Doctorado en especialidad de Nanociencias y Nanotecnología)*. CINVESTAV Unidad Zacatenco.
21. M.I. Cuervo Chacón. *Análisis microscópico y espectroscópico de técnicas de texturización superficial en silicio multi cristalino*. Universidad del Norte.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Archivo XYZ (salida del programa Avogadro)

C	-7.16092	1.93186	-0.05755
C	-7.10938	0.50123	-0.15726
C	-5.82357	-0.08543	-0.20660
C	-5.97111	2.68146	-0.02234
C	-4.70449	2.07884	-0.08793
C	-4.65051	0.67231	-0.16996
H	-6.05982	3.75485	0.06755
H	-5.65548	-1.13181	-0.27151
C	-3.49104	2.82726	-0.04622
C	-2.26499	2.11489	-0.10032
C	-2.32218	0.64557	-0.17506
O	-3.49034	0.02920	-0.20657
C	-0.99786	2.71844	-0.11810
C	0.18261	1.95423	-0.16972
C	0.12522	0.52657	-0.21952
C	-1.14702	-0.09741	-0.22524
H	-1.25233	-1.17269	-0.27382
H	-0.90967	3.79451	-0.09423
C	1.49708	2.70100	-0.17141
H	1.35801	3.80248	-0.12913
H	2.06083	2.47102	-1.09995
H	2.09849	2.40793	0.71481
N	1.22186	-0.18184	-0.26504
C	1.25348	-1.63869	-0.32063
C	2.68758	-2.16259	-0.36320
H	0.72776	-1.99121	-1.23508
H	0.75642	-2.05969	0.58081
H	2.67932	-3.27221	-0.40496
H	3.23906	-1.84305	0.54660
H	3.21034	-1.77470	-1.26333
N	-8.33579	-0.27222	-0.19582
C	-8.63114	-1.70571	-0.29247
H	-9.21806	0.24158	-0.15209
C	-7.49102	-2.70930	-0.37483
H	-6.89440	-2.55178	-1.29779
H	-7.92110	-3.73115	-0.44404
H	-6.87830	-2.68491	0.55064
H	-9.24282	-1.98549	0.59307
H	-9.26123	-1.86031	-1.19565
C	-8.42564	2.76678	0.02086
H	-9.38914	2.23897	-0.00001
H	-8.44267	3.47827	-0.83221

DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS MODOS VIBRACIONALES DE LA RODAMINA B Y SU COMPARACIÓN CON CÁLCULOS DFT COMO ENTRENAMIENTO PARA SU FUTURA APLICACIÓN EN

BIOMARCADORES DE CÁNCER DE OVARIO.

H	-8.41420	3.35292	0.96454
C	-3.49953	4.32555	0.02446
C	-4.13184	5.02205	-1.02421
C	-2.86245	5.06613	1.07054
C	-4.14561	6.41363	-1.05673
C	-3.53072	7.13830	-0.04282
C	-2.89955	6.47595	1.00929
H	-4.63444	6.93137	-1.87195
H	-4.60690	4.48014	-1.83340
H	-2.46597	7.08503	1.78771
H	-3.55016	8.22038	-0.06614
C	-2.22346	4.39302	2.25649
O	-2.56997	3.26109	2.55371
O	-1.30467	4.98958	3.06400
C	-0.34377	5.90920	2.68545
C	1.03031	5.38717	3.07698
H	-0.52847	6.87045	3.21012
H	-0.34160	6.07724	1.58669
H	1.07793	5.22428	4.17466
H	1.80883	6.12446	2.78826
H	1.23368	4.42642	2.55761
H	2.13763	0.28960	-0.26223

Anexo 2. Archivo de salida después de optimizar las coordenadas

```

GEOMETRY CARTESIANODAMINA OPT+FRE
#
VXCTYPE PBE
BASIS (DZVP)
SCFTYPE TOL=0.500E-07
GUESS RESTART
FREQUENCY RESTART
##
## Optimized Cartesian coordinates
##
GEOMETRY CARTESIAN ANGSTROM
    
```

NO.	ATOM	X	Y	Z	Z-ATOM	MASS	TYPE
OPTXYZ							
1	C	-7.143693	1.938705	-0.069664	6	12.011	QM
2	C	-7.046065	0.541165	-0.347356	6	12.011	QM
3	C	-5.768499	-0.055873	-0.333188	6	12.011	QM
4	C	-5.974717	2.686885	0.083399	6	12.011	QM

CINVESTAV-TESIS DE PARA LA OBTENCIÓN DE GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN LA
ESPERICALIDAD DE FISICA.

5	C	-4.672790	2.124948	-0.020089	6	12.011	QM
6	C	-4.628661	0.714818	-0.166544	6	12.011	QM
7	H	-6.051474	3.760501	0.309427	1	1.008	QM
8	H	-5.628767	-1.122979	-0.538083	1	1.008	QM
9	C	-3.445709	2.862245	0.048004	6	12.011	QM
10	C	-2.213806	2.132887	-0.029146	6	12.011	QM
11	C	-2.248246	0.718501	-0.137706	6	12.011	QM
12	O	-3.434631	0.017490	-0.194203	8	15.999	QM
13	C	-0.921390	2.717616	-0.078585	6	12.011	QM
14	C	0.250878	1.975962	-0.179822	6	12.011	QM
15	C	0.172319	0.554320	-0.245783	6	12.011	QM
16	C	-1.094986	-0.055843	-0.222250	6	12.011	QM
17	H	-1.202002	-1.145438	-0.292777	1	1.008	QM
18	H	-0.852485	3.814864	-0.075452	1	1.008	QM
19	C	1.594842	2.658308	-0.235147	6	12.011	QM
20	H	1.467209	3.759198	-0.217257	1	1.008	QM
21	H	2.151319	2.376177	-1.156100	1	1.008	QM
22	H	2.238498	2.382814	0.633215	1	1.008	QM
23	N	1.337478	-0.192201	-0.400366	7	14.007	QM
24	C	1.341203	-1.643954	-0.241206	6	12.011	QM
25	C	2.758470	-2.181969	-0.394782	6	12.011	QM
26	H	0.688118	-2.084653	-1.023537	1	1.008	QM
27	H	0.923759	-1.947492	0.749914	1	1.008	QM
28	H	2.749059	-3.285574	-0.302944	1	1.008	QM
29	H	3.423389	-1.784382	0.400332	1	1.008	QM
30	H	3.177880	-1.902513	-1.382650	1	1.008	QM
31	N	-8.187196	-0.201667	-0.692052	7	14.007	QM
32	C	-8.535569	-1.491408	-0.066193	6	12.011	QM
33	H	-9.010670	0.387553	-0.803288	1	1.008	QM
34	C	-7.599398	-2.659933	-0.396602	6	12.011	QM

DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS MODOS VIBRACIONALES DE LA RODAMINA B Y SU
COMPARACIÓN CON CÁLCULOS DFT COMO ENTRENAMIENTO PARA SU FUTURA APLICACIÓN EN

BIOMARCADORES DE CÁNCER DE OVARIO.

35	H	-7.296270	-2.620488	-1.461530	1	1.008	QM
36	H	-8.135163	-3.614985	-0.220402	1	1.008	QM
37	H	-6.689526	-2.660885	0.233082	1	1.008	QM
38	H	-8.627101	-1.384563	1.040563	1	1.008	QM
39	H	-9.543453	-1.745704	-0.454476	1	1.008	QM
40	C	-8.506370	2.578027	0.095485	6	12.011	QM
41	H	-9.166087	1.905229	0.684792	1	1.008	QM
42	H	-9.008008	2.790090	-0.875660	1	1.008	QM
43	H	-8.427692	3.541589	0.634694	1	1.008	QM
44	C	-3.480010	4.338404	0.090815	6	12.011	QM
45	C	-4.068654	5.025157	-0.993268	6	12.011	QM
46	C	-2.938518	5.107149	1.157350	6	12.011	QM
47	C	-4.112554	6.420343	-1.042227	6	12.011	QM
48	C	-3.582098	7.169063	0.017137	6	12.011	QM
49	C	-2.996135	6.513122	1.102404	6	12.011	QM
50	H	-4.564826	6.926974	-1.912762	1	1.008	QM
51	H	-4.481672	4.430217	-1.822930	1	1.008	QM
52	H	-2.613896	7.103113	1.948367	1	1.008	QM
53	H	-3.636443	8.268503	0.001665	1	1.008	QM
54	C	-2.515112	4.452112	2.444105	6	12.011	QM
55	O	-3.199823	3.608339	3.008019	8	15.999	QM
56	O	-1.370254	4.882212	3.069970	8	15.999	QM
57	C	-0.351844	5.626891	2.344654	6	12.011	QM
58	C	1.003200	5.176234	2.867693	6	12.011	QM
59	H	-0.504467	6.712842	2.520173	1	1.008	QM
60	H	-0.441537	5.441329	1.256590	1	1.008	QM
61	H	1.103093	5.393215	3.950427	1	1.008	QM
62	H	1.800540	5.720346	2.321233	1	1.008	QM
63	H	1.128163	4.085167	2.710547	1	1.008	QM

Anexo 3. Modos normales de vibración obtenidos

Modo	$\lambda(cm^{-1})$	Intensidad	Modo	$\lambda(cm^{-1})$	Intensidad	Modo	$\lambda(cm^{-1})$	Intensidad
6	32	2.1	28	254.4	6.8	50	584.5	11.8
7	41.1	0.4	29	266.7	1.8	51	589.9	12.4
8	48.9	1.1	30	275.9	15.2	52	606.1	86.8
9	53.3	6.1	31	295.9	4.9	53	619.5	6.9
10	72.2	11.6	32	310.4	1.4	54	656.7	36.9
11	76.8	0.8	33	317.5	11.5	55	666.6	12.7
12	84.5	1	34	334.9	12.7	56	673.2	36.3
13	101.7	8.8	35	350.9	0.6	57	680.9	18.5
14	104.9	2.3	36	364.8	1.4	58	700.8	17
15	118.5	3.5	37	393.3	16.8	59	706.6	8.5
16	124.7	3.7	38	401.1	0.8	60	721.8	6
17	140.6	0.4	39	423.9	53.7	61	733.3	17.4
18	147	1.6	40	434.7	18.9	62	747.6	26.6
19	162.8	4.7	41	442.2	109.2	63	760.1	13
20	170.6	1	42	458.6	160.3	64	772.1	3.5
21	205.6	0.6	43	483.5	8.6	65	783.7	38.1
22	210.2	1.7	44	490.3	26.9	66	789	12.6
23	226.5	0.3	45	511	44.2	67	792.7	15.9
24	229.6	0.8	46	527.2	57.8	68	804.3	2.1
25	235.1	5.6	47	530.1	14.1	69	827.2	10.6
26	245.9	6.3	48	555.7	38.2	70	830.4	1.8
27	248.1	2.8	49	572.6	22	71	851.1	5.2

DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LOS MODOS VIBRACIONALES DE LA RODAMINA B Y SU COMPARACIÓN CON CÁLCULOS DFT COMO ENTRENAMIENTO PARA SU FUTURA APLICACIÓN EN

BIOMARCADORES DE CÁNCER DE OVARIO.

72	857.1	5.2	96	1136.1	3.3	120	1364.5	25.1
73	869.1	30.1	99	1160	1.9	125	1410.7	27.2
74	876.7	3.9	100	1168.9	10.3	126	1415.3	10.6
75	893.1	25.5	101	1195.8	5.6	127	1421.4	2.5
76	910.5	7.9	102	1217.6	10	128	1427.5	16.2
77	914.1	0.5	103	1226	1.2	129	1430	16.4
78	934	2.8	104	1231.5	9.7	130	1430.7	2
79	938.2	2.7	105	1237.8	13.7	131	1435.5	22.4
80	957	0.6	106	1250.9	32.2	132	1438.4	16.7
81	975.7	3.9	107	1253.7	10.6	133	1442.4	6.6
82	984.9	4.9	108	1257.5	5.8	134	1444.3	3.4
83	1007	27.1	109	1262.5	5.5	135	1447.8	2.4
84	1018.5	15.8	110	1273	29	136	1451.7	19.9
85	1032.1	8.5	111	1287.5	3.5	137	1453.9	20.5
86	1040	21.9	112	1311.6	34.2	138	1477.7	13.5
87	1047.2	3.7	113	1323	14.4	139	1479.9	70.3
88	1056.1	4.2	114	1327.1	5.3	140	1488.5	7.4
89	1066.1	4.8	115	1337.5	8.9	141	1499.3	20.9
90	1077.8	65.9	116	1344	48.3	142	1502.7	38.3
91	1098.6	4.7	117	1351.1	14	143	1522	42.1
92	1101	5.8	118	1353.9	2.9	144	1561.1	36.8
93	1110.7	8.8	121	1367.8	14.6	145	1584.9	54.4
94	1114.2	1.7	122	1371.6	7.3	146	1594.6	24.5

CINVESTAV-TESIS DE PARA LA OBTENCIÓN DE GRADO DE MAESTRO DEN CIENCIAS EN LA
ESPERICALIDAD DE FISICA.

95	1122.1	37	123	1384.2	13.9	147	1608.9	69.9
97	1141	3.6	124	1399.7	29.1	148	1636.9	136.5
98	1143.2	1.4	125	1410.7	27.2	149	1647.2	19.1
150	1673.9	48.1	151	1735.2	214.9			