



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS**

**Monocapas Autoorganizadas  
sobre Metales:**

*Adsorción no específica de  
moléculas bioactivas y su aplicación  
en el desarrollo de Biosensores*

**Trabajo final de  
Laboratorio de Procesos Biotecnológicos**

**María Antonieta Daza Millone**

**2006**

El presente trabajo se llevó a cabo en el Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, bajo la dirección del Dr. Mariano H. Fonticelli. El mismo se presenta a consideración de las autoridades de dicha Facultad para acceder al grado académico de Lic. en Biotecnología y Biología molecular

*A mi mamá,  
la persona que más quiero y respeto en este mundo;  
no sólo me dio amor incondicional sino que me enseñó  
que uno disfruta de sus logros si ha trabajado duro  
para conseguirlos: aquí están.*

## Agradecimientos

- Al Dr. Mariano Fonticelli, que no sólo dirigió este trabajo, sino que me brindó su amistad y ayuda desinteresada desde el primer día que ingresé a la Facultad
- A las autoridades del INIFTA, por haber accedido a que desarrollara mi trabajo en esa institución.
- A la Dra. María Elena Vela que invirtió tiempo y dedicación en este trabajo.
- Al Dr. Roberto Salvarezza por haberme incluido en su grupo de investigación.
- Al personal del Lab. de Nanoscopías del INIFTA, quienes me ayudaron en la adquisición de las imágenes de STM.
- Al Dr. Guillermo Benítez por haber realizado los estudios de espectroscopía Auger.
- Al Dr. Nicolás G. Tognalli y al Dr. Alejandro Fainstein quienes realizaron las medidas de espectroscopía Raman.
- Al personal técnico, científico y administrativo del INIFTA.
- Al Dr. Pedro Aymonino y a su esposa, Nérida Mercante, por haberme brindado un hogar y sustento para que pudiera estudiar en La Plata, no me alcanzan las palabras para expresar mi gratitud.
- A Tony y Coco, mis abuelos maternos, por todo

Quiero agradecer a aquellos que me acompañaron a lo largo de la carrera: familia, amigos, compañeros y profesores. Sin sus consejos y su apoyo me hubiera sido increíblemente difícil poder concluirla.

Gracias a todos.

# ÍNDICE

<b>Introducción</b>	<b>i-1</b>
<b>Capítulo 1: Fundamentos teóricos y técnicas</b>	<b>1-1</b>
1.1 – Importancia de la Nanotecnología	1-2
1.2 – Monocapas Autoorganizadas (SAMs)	1-3
1.2.1 – ¿Qué es una monocapa autoorganizada?	1-4
1.2.2 – Reacción de Formación	1-4
1.2.3 – Estructura	1-5
1.2.4 – Proceso de Crecimiento y Estudios cinéticos	1-6
1.2.5 – Aplicaciones	1-7
1.3 – Microscopías de barrido	1-8
1.3.1 – Microscopía de Efecto Túnel (STM)	1-9
1.3.2 – Microscopía de Fuerzas Atómicas (AFM)	1-11
1.3.3 – Aplicaciones	1-13
1.4 – Medidas electroquímicas	1-13
1.4.1 – Generalidades	1-13
1.4.2 – Voltamperometría cíclica	1-14
1.5 – Referencias	1-16
<b>Capítulo 2: Parte experimental</b>	<b>2-1</b>
2.1 – Experiencias electroquímicas	2-2
2.1.1 – Preparación y caracterización de sustratos	2-2
2.1.2 – Celda de medida	2-3
2.1.3 – Soluciones	2-4
2.1.4 – Aparatos de medida y registro	2-5
2.1.5 – Modificación de sustratos mediante inmersión	2-5
2.2 – Medidas con microscopios de barrido	2-6
2.3 - Referencias	2-6

<b>Capítulo 3: Caracterización del sustrato metálico, Au (111)</b>	<b>3-1</b>
3.1 – Introducción	3-2
3.2 - Resultados	3-3
3.2.1 – Caracterización topográfica	3-3
3.2.2 – Caracterización electroquímica	3-4
3.3 – Conclusiones	3-6
3.4 – Referencias	3-7
<b>Capítulo 4: Cinética de adsorción de <i>n</i>-dodecanotiol sobre Au(111)</b>	<b>4-1</b>
4.1 – Introducción	4-2
4.2 – Determinación de recubrimientos de especies adsorbidas	4-3
4.2.1 - Medidas de Capacidad de la interfase: $\theta_{total}$	4-4
4.2.2 - Curvas de electrodesorción: $\theta_{quim}$	4-5
4.3 – Resultados y discusión	4-6
4.4 – Conclusiones	4-10
4.5 – Referencias	4-10
<b>Capítulo 5: Azul de metileno sobre Yodo</b>	<b>5-1</b>
5.1 – Introducción	5-2
5.2 – Resultados	5-3
5.2.1 - Au(111) cubierto por una monocapa de yodo	5-3
5.2.2 - MB inmovilizado en una monocapa de yodo sobre Au(111)	5-4
5.3 – Discusión	5-5
5.3 – Conclusiones	5-7
5.4 – Referencias	5-7
<b>Conclusiones</b>	<b>c-1</b>

## Introducción

Bioteología es toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos. Aunque es un nombre que se ha escuchado recientemente –en las últimas décadas– ésta tecnología es milenaria, siendo el pan, el vino y la cerveza, algunos de los primeros productos obtenidos aplicando sus principios.

Con los nuevos avances de la ciencia, adquirió nombre propio y se refiere más a un conjunto de tecnologías que abarca los campos de la ingeniería química, la biología y la bioquímica. Es decir, es una ciencia interdisciplinaria, que busca cubrir la etapa de investigación y desarrollo de nuevos productos y/o procesos. Una característica singular de la bioteología es su transversalidad, que se presenta metafóricamente como una completa “caja de herramientas” aplicable a un sinnúmero de potenciales soluciones tecnológicas que sólo tiene sus fronteras en los límites de la imaginación de los científicos y tecnólogos. Además, gracias a la interacción entre distintas disciplinas se ha logrado la resolución de problemas que -siguiendo las técnicas convencionales- ya no podían ser resueltos.

En este trabajo se pretendió estudiar sistemas biomiméticos utilizando conceptos de la química, la física y la bioteología. ¿Qué es un sistema biomimético? Es, en el contexto de este trabajo, un sistema que intenta reproducir las interacciones en los ambientes biológicos mediante un modelo simple.

A partir de la segunda mitad del siglo XX, surgió un creciente interés en la preparación y organización de películas orgánicas delgadas (especialmente monocapas) sobre una superficie bien definida debido, además del interés en el conocimiento básico en sí, a los múltiples campos de aplicación como la bioteología, el microanálisis, la nano- y microfabricación, en los nanodispositivos y en la protección contra la corrosión.

La formación espontánea de monocapas orgánicas sobre superficies sólidas fue

demostrada por primera vez en 1946 por Bigelow *et al.* para el caso de alquilaminas sobre Pt. Las monocapas autoorganizadas – también conocidas como monocapas autoensambladas (SAMs)- se forman desde solución o desde la fase vapor y combinan las ventajas de UHV (ultra alto vacío) y del método de Langmuir-Blodgett. Como en el caso de las películas formadas por UHV, el método es simple y se establece una fuerte interacción entre el adsorbato y el sustrato, ya que las moléculas son quimisorbidas. Por otro lado, como en las películas de Langmuir-Blodgett, las interacciones cadena-cadena –que involucran fuerzas hidrofóbicas y de Van der Waals- aseguran un empaquetamiento eficiente de la monocapa, y su estabilidad aumenta al incrementarse la longitud de la cadena.

En general, se pueden preparar fácilmente SAMs con distintos grupos terminales, lo que abre las puertas a una gran variedad de aplicaciones. Además, las SAMs pueden ser formadas sobre objetos de todos los tamaños y distintas formas, no sólo superficies planas. Después de los trabajos pioneros de Bigelow *et al.*, la mayor parte de la actividad en el campo de las SAMs fue iniciada en los '80s: se prepararon SAMs de alquiltriclorosilano sobre vidrio en 1980 (Sagiv), SAMs de diaquildisulfuros sobre Au en 1983 (Nuzzo y Allara) y SAMs de ácidos alcanóicos sobre  $Al_2O_3$  en 1985 (Allara y Nuzzo). Actualmente, las SAMs más importantes (y las más estudiadas) son de alcanotioles ( $CH_3CH_{n-1}SH$ ), y otros compuestos con cabeza sulfurada –como disulfuros y sulfuros- sobre metales, especialmente Au -pero también Ag, Cu, Pt, Fe y Ni- y semiconductores, como GaAs.

En este trabajo se estudian sistemas biomiméticos que presentan potenciales aplicaciones en el desarrollo de biosensores. Estos sistemas están compuestos por: un sustrato metálico – Au(111) -, una monocapa autoorganizada soportada sobre dicho sustrato – compuesta por dodecanotiol o yodo- y una molécula inmovilizada en la monocapa – azul de metileno, sólo para monocapas de yodo-. ¿Por qué se eligió el azul de metileno? Porque si bien exhibe propiedades redox y una estructura química similares al dinucleótido de flavín adenina (FAD) y al dinucleótido de nicotín adenina (NADH) –que son transportadores de electrones en los sistemas biológicos- tiene la ventaja de ser una molécula más sencilla, lo que permite comprender las interacciones capaces de inmovilizarla sobre superficies de manera controlada y estudiar sus propiedades de transferencia de carga. Además la posibilidad de inmovilizar el azul de metileno y liberarlo en ciertas condiciones de potencial eléctrico aplicado a la interfase, permite su utilización en la liberación controlada de drogas en la terapia fotodinámica.

Se desea conocer cómo el azul de metileno interacciona con la monocapa y encontrar una condición en la cual el sistema se pueda emplear en biosensores. A tales efectos, se comienza el estudio con una caracterización del sustrato metálico (capítulo 3), ya que su correcta preparación es de suma importancia para los sistemas de SAMs. Luego se prosigue con el estudio de la cinética de adsorción de las SAMs (capítulo 4), habiéndose empleado al dodecanotiol como unidad constituyente ya que posibilita la formación de monocapas ordenadas. Por último, se estudió el sistema de azul de metileno inmovilizado sobre una SAM de yodo (capítulo 5), ya que permite inmovilizar la mayor cantidad de azul de metileno posible - esto es fundamental para su aplicación en terapias fotodinámicas - y constituye un sistema bien definido para estudiar las



propiedades de transferencia de carga debido a que se trata de un espaciador de distancia totalmente definida.

En el capítulo 1, se describen los fundamentos teóricos y las técnicas empleadas para desarrollar este trabajo y en la parte experimental (capítulo 2) se detallan los materiales, los equipos y los procedimientos utilizados.

Por último, se presentan las conclusiones generales (capítulo 6) alcanzadas mediante el presente trabajo.

# Capítulo 1

## Fundamentos teóricos y técnicas

Aquí se describen algunos conceptos necesarios para comprender los temas que se desarrollan en el presente trabajo. Asimismo, se intenta mostrar el interés creciente en la nanobiotecnología a través de sus diversas aplicaciones y describir aspectos relevantes de las técnicas empleadas.

## 1.1 – Importancia de la nanotecnología

El término *nanotecnología* se utiliza para describir los campos interdisciplinarios de la ciencia que se dedican a el estudio de fenómenos y estructuras que sólo aparecen a escala nanométrica. La diversidad de aplicaciones y la complejidad de los problemas abordados implican la participación de físicos, químicos, biólogos, biotecnólogos, bioquímicos, farmacéuticos, médicos y representantes de otras disciplinas. La nanotecnología involucra materiales y sistemas que miden entre 1 y 100nm en, al menos, una dirección (**tabla 1.1**).

La primera mención de algunos de los conceptos característicos de la nanotecnología (que precedieron al uso de dicho nombre) fue en “Hay mucho lugar en el fondo” (“*There’s plenty of room at the bottom*”), una charla dada por el físico Richard Feynman en la American Physical Society en un encuentro en Caltech el 29 de diciembre de 1959. Feynman describió un proceso mediante el cual la habilidad de manipular átomos y moléculas individuales sería desarrollado, notando que al cambiar de escala variaría la magnitud de varios fenómenos físicos: la gravedad sería menos importante, la tensión superficial y las fuerzas de Van der Waals serían más importantes, etc. Las partículas tienen capacidades muy diferentes a sus contrapartes macroscópicas. El oro, por ejemplo, que es químicamente inerte en escalas normales, puede ser un potente catalizador en *nanoescalas*.

Uno de los problemas que enfrentaba esta propuesta era la organización de los átomos y moléculas en la preparación de nuevos materiales y dispositivos. Para ello, la biología fue la fuente de inspiración [1]: las células y sus componentes se construyen por autoensamblado de biomoléculas como fosfolípidos, proteínas, bases nitrogenadas, etc. Es decir, se puede encontrar un vínculo entre fenómenos observados en sistemas biológicos y los aprovechados en nanotecnología, ya que la célula (la unidad fundamental de la vida) es esencialmente, desde un punto de vista, una colección de sofisticadas nanomáquinas.

Las herramientas nanocientíficas tienen un enorme impacto en la biología, la biotecnología y la medicina [2]. De la misma manera, la comprensión de la biología con la ayuda de la nanotecnología posibilitaría la producción de materiales biomiméticos con arquitectura a nanoescala. Siendo los nanomateriales y los materiales biológicos -como los anticuerpos y las proteínas- de dimensiones comparables, se facilita el uso de los primeros para aplicaciones en biología y medicina. Los nanomateriales y nanodispositivos están siendo desarrollados de modo tal que posean

**Tabla 1.1.** Tamaños de objetos de nanoescala

Objeto	Diámetro
Átomo de hidrógeno	0,1 nm
Seis átomos de C alineados	1 nm
DNA	2 nm
Nanotubo	3 – 30 nm
Proteínas	5 – 50 nm
Dendrímeros	10 – 20 nm
Microtúbulos	25 nm
Ribosoma	25 nm
Virus	75 – 100 nm
Nanopartículas	2 a 100 nm
Vesícula secretoria	100 – 1000 nm
Mitocondria	500 – 1000 nm
Bacteria	1000 – 10000 nm
Capilar	8000 nm
Linfocito	10000 nm

características de diseño controladas a nivel molecular y tengan el potencial de interactuar directamente con las células y las macromoléculas.

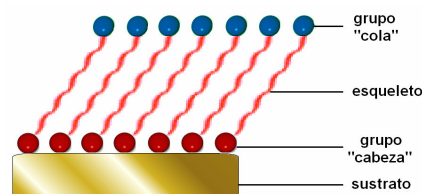
Las propiedades de los componentes de dimensiones nanométricas deben ser trasladadas a la dimensión de los dispositivos para su utilización. Uno de los pasos clave para ello es sintetizar las nanoestructuras con diseños de redes bidimensionales (2D), redes tridimensionales (3D) o estructuras jerárquicas más complejas; o el ensamblado de componentes preformados a nanoescala en estructuras utilizables. Entre los métodos de síntesis de sistemas nanoestructurados, el uso de interacciones no covalentes – fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, electrostáticas, fuerzas capilares e interacciones  $\pi$ - $\pi$  – entre los componentes ofrece una ruta simple y eficiente. Entre las distintas técnicas de síntesis, la autoorganización ha surgido como una de las rutas más prometedoras para sintetizar una gran variedad de nanoestructuras debido a que posee las siguientes ventajas:

- Facilita uno de los pasos más difíciles en la nanofabricación –aquellos que involucran la modificación de estructura a nivel atómico- usando las técnicas de síntesis química que han sido altamente desarrolladas.
- Puede incorporar estructuras biológicas directamente como componentes del sistema.
- Como las estructuras formadas son estables, tienden a estar libres de defectos y a autorrepararse.

Los sistemas nanoscópicos tienen composiciones y estructuras distintivas, las que les confieren propiedades inigualables. Esto abre un gran rango de aplicaciones como la conversión de energía, el almacenamiento de información, el desarrollo de dispositivos electrónicos avanzados, la selección de drogas, y en sensores químico/biológicos [3].

## 1.2 – Monocapas autoorganizadas (SAMs)

En la naturaleza, la autoorganización -en ocasiones designada como *autoensamblado*- resulta en organizaciones jerárquicas supramoleculares de componentes entrecruzados que proveen sistemas muy complejos [4]. Las monocapas autoorganizadas –también llamadas monocapas autoensambladas -, abreviadas como SAMs (*self-assembled monolayers*), pueden formarse espontáneamente por inmersión de un sustrato adecuado en una solución que contenga los adsorbatos. Estas moléculas pueden diseñarse de modo tal que contengan grupos funcionales determinados, tanto en sus “cabezas” como en sus “colas” (**Figura 1.1**); además, en su “esqueleto” (generalmente una cadena alquílica) pueden tener sustituyentes, lo que provee una gran flexibilidad en el diseño de estos sistemas. La autoorganización refleja la información codificada - como la forma, las propiedades de superficie, la



**Figura 1.1.** Diagrama esquemático de una SAM (estructura “levantada”). Los círculos rojos indican el grupo cabeza quimisorbido y los azules son el grupo final que puede poseer alguna funcionalidad.

carga, la polarizabilidad, el dipolo magnético, la masa, etc.- en estos componentes individuales, ya que estas características determinan las interacciones entre ellos. El diseño de los componentes es la clave para las aplicaciones del autoensamblado.

En general, las monocapas sintetizadas resultan altamente ordenadas y orientadas, esta habilidad las convierte en excelentes sistemas en estudios básicos sobre el proceso de autoorganización en sí mismo, las relaciones estructura-propiedad y los fenómenos de interfase. Pero el mayor interés en esta área ha surgido debido a su relevancia en la ciencia y la tecnología [2, 3]. Además de tener potenciales aplicaciones en la prevención de la corrosión, protección contra el desgaste, y muchas otras, la naturaleza biomimética y biocompatible de las SAMs provee futuras aplicaciones en sensores químicos y bioquímicos [2, 3, 5]

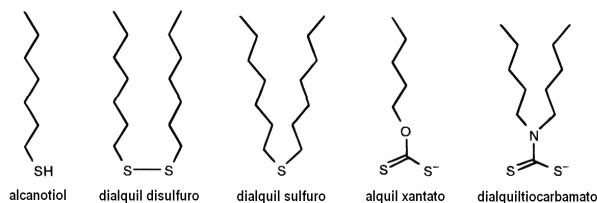
### 1.2.1 - ¿Qué es una monocapa autoorganizada?

El término autoorganización, en sentido general, se define como la formación espontánea de estructuras jerárquicamente complejas a partir de moléculas prediseñadas [6]. Específicamente, las monocapas autoorganizadas son arreglos moleculares ordenados que se forman espontáneamente por la adsorción de una sustancia con una afinidad específica de su grupo “cabeza” a un sustrato.

La formación de SAMs puede llevarse a cabo en diferentes ambientes. Los procedimientos más comunes se realizan en fase gaseosa, electroquímicamente o por inmersión en soluciones de adsorbato. La adsorción desde soluciones es la vía que se usa con mayor frecuencia ya que es un proceso sencillo, y accesible en la mayoría de los laboratorios, y permite obtener SAMs muy ordenadas [4, 6].

Las monocapas de tioles sobre oro son el sistema autoorganizado más

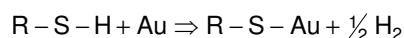
extensamente estudiado. Los compuestos organosulfurados (**figura 1.2**) tienen una alta afinidad hacia las superficies de metales de transición y se han empleado un gran número de ellos, de los cuales los más estudiados son los alcanotioles simples o funcionalizados.



**Figura 2.2.** Compuestos organosulfurados utilizados en la formación de monocapas sobre oro.

### 1.2.2 - Reacción de formación

La quimisorción de alcanotioles puede ser considerada formalmente como una adición oxidativa del enlace S-H a la superficie del oro, seguida de una eliminación reductiva del hidrógeno. Cuando se usa una superficie de oro limpia, el hidrógeno del grupo mercaptano se separa probablemente como una molécula de H<sub>2</sub> [4]:



Debe observarse, que en la reacción propuesta, la especie que se quimisorbe sobre el oro es un alcanotiolato y que la principal fuerza impulsora es la fortaleza del enlace Au-S que se forma [7].

### 1.2.3 – Estructura

La cantidad de material que se adsorbe en una monocapa autoorganizada depende fuertemente del tamaño de la molécula que se adsorbe y de su orientación sobre el sustrato. Las moléculas pueden adsorberse sobre la superficie del sustrato de diferentes maneras y con diferentes patrones.

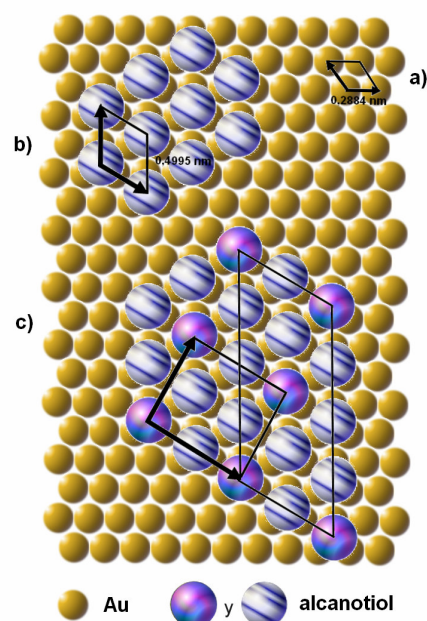
Las monocapas de alcanotioles de cadena larga (con cadenas hidrocarbonadas de diez átomos de carbono o más) sobre Au (111) tienen un arreglo estructural básico que se conoce como red  $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})R30^\circ$  (**figura 1.3b**). Esta notación relaciona la celda unidad del sustrato –la superficie (111) del Au es un arreglo hexagonal de átomos con empaquetamiento compacto y distancia a primeros vecinos de 0,2884 nm [8]- con la celda unidad de la monocapa: la geometría indica que la distancia tiol-tiol es  $\sqrt{3}$  veces mayor que la distancia Au-Au y la fila de moléculas de tiol está en un ángulo de  $30^\circ$  con respecto a la dirección de primeros vecinos de átomos de oro que se encuentra en la superficie inferior.

Debido a la fuerte interacción de la cabeza azufrada con el oro, las moléculas pueden formar una estructura ordenada de empaquetamiento compacto.

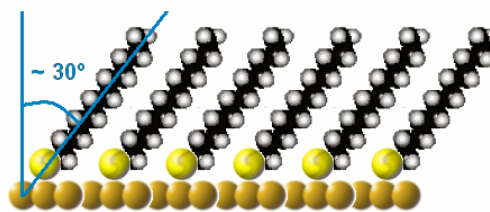
Los estudios topográficos con microscopios de barrido (microscopio de efecto túnel, STM, y microscopio de fuerzas atómicas, AFM) [4] revelan una superestructura tradicionalmente conocida como  $c(4 \times 2)$ , la que no es estrictamente una celda unidad primitiva sino que se trata de una notación de celda centrada (ocupa dos veces el área de la celda unidad primitiva). Esta superestructura se denota más apropiadamente como  $(2\sqrt{3} \times 3)$  [8], teniendo en cuenta el registro con respecto al sustrato, y comprende 4 moléculas (**figura 1.3c**).

Los estudios de FTIR (espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier) [4] muestran que el ángulo de inclinación de las cadenas hidrocarbonadas es de  $\sim 26^\circ$ - $28^\circ$  con respecto a la normal a la superficie. Esta inclinación es resultado del establecimiento de interacciones de tipo van der Waals entre las cadenas que se encuentran unidas a las cabezas azufradas. La distancia S-S es de  $\sim 5 \text{ \AA}$ ; esto es, mayor que la distancia de  $\sim 4,6 \text{ \AA}$  que es la usual cuando las cadenas alquílicas están interaccionando mediante fuerzas de van der Waals. El

**Figura 1.3.** Diagrama en 2D de la estructura de la red de alcanotioles sobre Au (111) vista desde la dirección normal (las cadenas hidrocarbonadas no se representan). a) celda unidad hexagonal del Au (111), b) celda unidad  $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$ , c) celda unidad  $(3 \times 2\sqrt{3})$  o superestructura  $c(4 \times 2)$  de  $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$ . En todos los casos se marcan los vectores que denotan la celda.



hecho de encontrar cadenas inclinadas respecto de la normal a la superficie y una separación mayor que la observada en el caso de la adsorción de alcanos sobre metales puede explicarse considerando que, de este modo, se maximizan las interacciones de van der Waals y, simultáneamente, se forman redes conmensurables con el sustrato. Además esta alta densidad implica que todas las unidades en las cadenas están en la conformación *trans*, lo que corresponde a una menor energía.



**Figura 1.4.** Disposición de las cadenas hidrocarbonadas del alcanotiol sobre la superficie de oro.

## 1.2.4 – Proceso de crecimiento y estudios cinéticos

El crecimiento de una monocapa autoorganizada es un proceso complejo y está formado por varios pasos. Si bien no se conoce con detalle la naturaleza precisa de estos pasos, se puede especular que dependen fundamentalmente de la longitud de la cadena hidrocarbonada, la concentración del tiol, la naturaleza del solvente, la temperatura y la naturaleza de la superficie.

En un trabajo reciente sobre la cinética de adsorción de alcanotioles sobre Au(111) se propone un esquema general que contempla los resultados obtenidos por diferentes grupos de investigación [9].

La primera etapa de crecimiento se describe como el agregado de adsorbatos en un gas bidimensional. Las moléculas en esta fase son altamente móviles: sólo hay especies que forman enlaces débiles con la superficie.

La segunda etapa comienza con la nucleación de islas formadas por moléculas orientadas con sus ejes moleculares paralelos al plano de la superficie; por tanto esta fase se denomina “acostada”.

La tercera etapa comienza luego de alcanzarse un recubrimiento crítico, cuando la superficie se cubre completamente por adsorbatos orientados paralelamente a la superficie, y conduce a la reorientación de las moléculas. Así, los ejes moleculares se mueven hacia la normal a la superficie, alcanzando su inclinación característica de  $\sim 30^\circ$ . Esta etapa ocurre hasta que prácticamente se completa la monocapa. Sin embargo, las monocapas obtenidas en este estadio presentan numerosos defectos.

La cuarta etapa involucra la “reparación” de los defectos de la SAM y ocurre en una escala de tiempo mayor. Esta reparación involucra el llenado de sitios vacantes en la monocapa y la organización de las cadenas hidrocarbonadas.

Se han realizado diversos estudios acerca de la adsorción de alcanotioles sobre Au (111), en los que se utilizaron diferentes técnicas experimentales. Sin embargo, aunque se ha alcanzado un amplio conocimiento de los procesos de crecimiento desde la fase vapor [1], no se comprenden de manera satisfactoria los procesos de crecimiento desde solución.

Estudios cinéticos de adsorción de alcanotioles en superficies de Au (111), mediante medidas de ángulo de contacto [10], han mostrado que, para soluciones relativamente diluidas

( $10^{-3}$  M), se pueden observar dos cinéticas distintas: un paso rápido, que dura unos minutos, al final del cual el recubrimiento es cerca del 80-90% del máximo, y un paso lento, que dura varias horas, al final del cual el recubrimiento es total. Se encontró que el paso inicial, descrito como una adsorción de tipo Langmuir controlada por difusión, depende fuertemente de la concentración de tiol. Para una solución 1 mM la primera etapa termina después de ~1 min, mientras que se requieren más de 100 min para una concentración 1  $\mu$ M. La ecuación de recubrimiento según la cinética de Langmuir es,

$$\frac{d\theta}{dt} = \frac{1-\theta}{\tau} \quad (1.1)$$

resultando, a partir de la integración de la ecuación (1.1),  $\theta(t) = 1 - \exp(-t/\tau)$ , donde  $\tau$  es la constante de tiempo del proceso. Sin embargo, esta descripción no es del todo correcta ya que el sistema no cumple con todas las suposiciones de la cinética de Langmuir (que no haya interacciones laterales; que la probabilidad de adsorción esté solamente determinada por los sitios disponibles). Sin embargo, si no se dispone de información adecuada para proponer un modelo complejo, es común interpretar fenómenos de adsorción a través de aproximaciones simples como la de Langmuir.

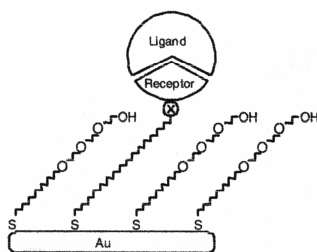
El segundo paso puede ser descrito como un proceso de cristalización superficial, donde las cadenas alquílicas salen del estado desordenado y forman un cristal bidimensional. Por tanto, la cinética de la primera etapa estaría gobernada por la reacción entre el grupo cabeza y la superficie. Por otro lado, la cinética de la segunda etapa está relacionada con el desorden de las cadenas, los diferentes componentes de la interacción cadena-cadena (fuerzas de Van der Waals, dipolo-dipolo, etc), y la movilidad superficial de las cadenas. También se encontró que la cinética es más rápida para cadenas alquílicas más largas, probablemente debido a que aumentan las interacciones de Van der Waals.

En estudios de STM en ultra alto vacío [6] se observó el transporte de átomos de oro de la superficie en presencia de la fase líquida. Esto sugiere, más allá de mostrar la complejidad de los fenómenos estudiados, que el mecanismo de dos pasos no provee una imagen completa de las reacciones de la superficie, y que los procesos de adsorción/desorción pueden tener un papel importante en la formación de la estructura final de la monocapa.

### 1.2.5 – Aplicaciones

Las SAMs son la forma más elemental de material para películas orgánicas ultrafinas y su estudio es particularmente importante en el campo de los sensores, en la prevención de la corrosión, en la nanofabricación (especialmente en la tecnología de la información), para la construcción de nanodispositivos, para implantes médicos, y en farmacología, entre otros [11]. En muchas de estas aplicaciones, las SAMs pueden ser consideradas como la interfase entre materiales con propiedades fisicoquímicas totalmente diferentes: metales, semiconductores, u otros materiales inorgánicos, por un lado, y materiales orgánicos y biológicos (polímeros, biomoléculas, moléculas orgánicas simples, etc.), por otro lado.





**Figura 1.5.** Ejemplo de biointerfase basada en SAM, involucrando moléculas para adsorción específica de proteínas (mecanismo “llave-cerradura”) y adsorbatos para evitar la adsorción inespecífica (terminación OEG) [6]

La SAM puede exponer un grupo funcional específico; por ejemplo, se puede añadir un receptor, sirviendo como una parte del par “llave-cerradura” para unir específicamente una biomolécula de interés (**figura 1.5**).

Algunas de las razones por las cuales resultan útiles son [6]:

(1) el concepto relativamente simple de unión específica con la SAM, sirviendo como ancla y generando rutas alternativas para añadir biomoléculas a superficies.

(2) la creación de superficies biológicamente “inertes” usando SAMs terminadas en OEG (oligoetilenglicol) o PEG (polietilenglicol), para así limitar la adsorción indeseada.

(3) posibilitar la adhesión de células a través de proteínas unidas a las SAMs, permitiendo así la manipulación de la estructura de las células.

(4) la compatibilidad de los sustratos de Au con las células de mamífero favorece su adherencia y funcionamiento sin evidencia de toxicidad (otros sustratos metálicos pueden generar especies tóxicas) [12].

(5) Las SAMs son apropiadas para estudios electroquímicos. El concepto de las SAMs como conectoras entre las biomoléculas y los electrodos metálicos fue desarrollado para alcanzar un eficiente contacto eléctrico con el electrodo soporte (Au para el sistema bioelectrocatalítico).

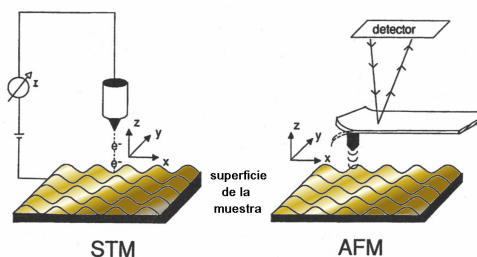
## 1.2 – Microscopías de barrido

Se han desarrollado muchos métodos para el estudio de superficies. Dentro de las técnicas de imagen de superficie, las microscopías de barrido están entre las más importantes debido a que permiten controlar la posición de una punta delgada para “mapear” superficies con resolución atómica y así generar una imagen de la superficie.

Estas técnicas, a diferencia de la microscopía electrónica de barrido (SEM), permiten generar una imagen de la superficie que tiene información topográfica (3D); además, permiten realizar medidas en aire o en ambientes líquidos. En este trabajo se emplearon dos de éstas técnicas: la microscopía de barrido por efecto túnel (STM, *scanning tunneling*

El amplio rango de aplicación de las SAMs, incluyendo a la biotecnología, se debe a la variedad de grupos terminales que se pueden anclar al sustrato. Esto hace que las SAMs permitan modificar las propiedades superficiales, formando la superficie inicial para construir estructuras más complejas.

Una de ventajas de la utilización de SAMs es la posibilidad de generar una superficie con funcionalidad biológicamente relevante.



**Figura 1.6.** Esquema básico de STM y AFM

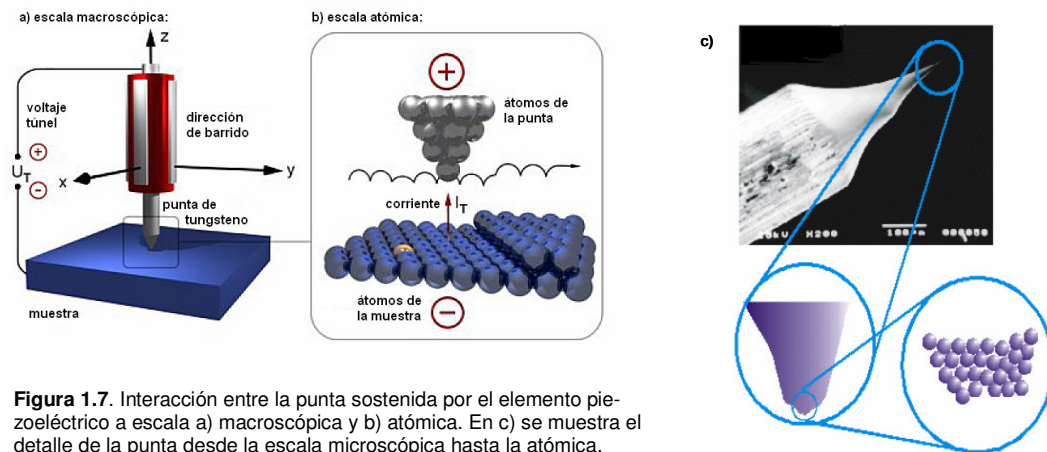
ling microscopy) y la microscopía de fuerzas atómicas (AFM, *atomic force microscopy*). Ambos microscopios, STM y AFM, consisten básicamente en una plataforma y una sonda que efectúa un barrido de la muestra (**figura 1.6**) [13].

### 1.3.1– Microscopía de Efecto Túnel (STM)

El efecto túnel, en el que se basa el funcionamiento del microscopio, tiene su origen en la mecánica cuántica. La transferencia de electrones a través de un espacio cuando se aplica una diferencia de potencial entre punta y muestra estaría “prohibida” desde el punto de vista de la física clásica. Esto da origen a una corriente que decae exponencialmente con la distancia de separación entre ambos electrodos. Para un voltaje entre punta y muestra pequeño en relación a la función trabajo,

$$I_T \propto V_T e^{-\beta d/\Phi} \quad (1.2)$$

donde ( $I_T$ ) representa la corriente túnel, ( $d$ ) la separación punta - muestra, ( $V_T$ ) el voltaje aplicado entre los dos electrodos, ( $\Phi$ ) representa la barrera local y, por último,  $\beta$  es una constante con valor  $\beta = 1.025 (\text{Å}^{-1} \sqrt{eV})^{-1}$ . Cabe aquí mencionar la diferencia entre barrera local y función trabajo. La función trabajo se refiere a una propiedad global de la superficie de un sólido que promedia sobre varias caras cristalinas en superficies policristalinas, la composición química de un sólido compuesto por varios elementos, la presencia de adsorbatos con cubrimiento no uniforme de la superficie, etc. La barrera local medida con el STM en cambio se refiere a una propiedad local de la superficie.



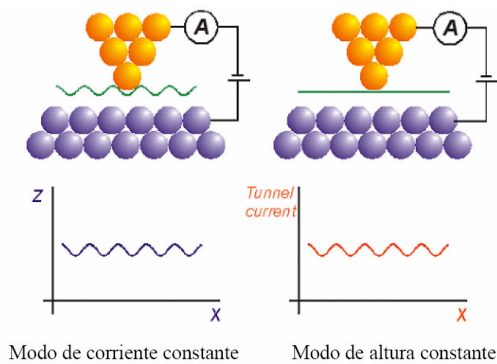
**Figura 1.7.** Interacción entre la punta sostenida por el elemento piezoeléctrico a escala a) macroscópica y b) atómica. En c) se muestra el detalle de la punta desde la escala microscópica hasta la atómica.

Las dos tecnologías esenciales que permiten la microscopía por efecto túnel son la formación de una punta metálica pequeña y el control fino de posición por parte de los piezoelementos (**figura 1.7**). Las puntas se preparan a partir de alambres de tungsteno por métodos electroquímicos o bien por corte mecánico de alambres de platino/iridio. La parte de la punta que efectivamente participa en la microscopía está formada por los átomos cercanos a la superficie barrida (véase el detalle en la **figura 1.7c**). La posiciones vertical y lateral de la punta están controladas por

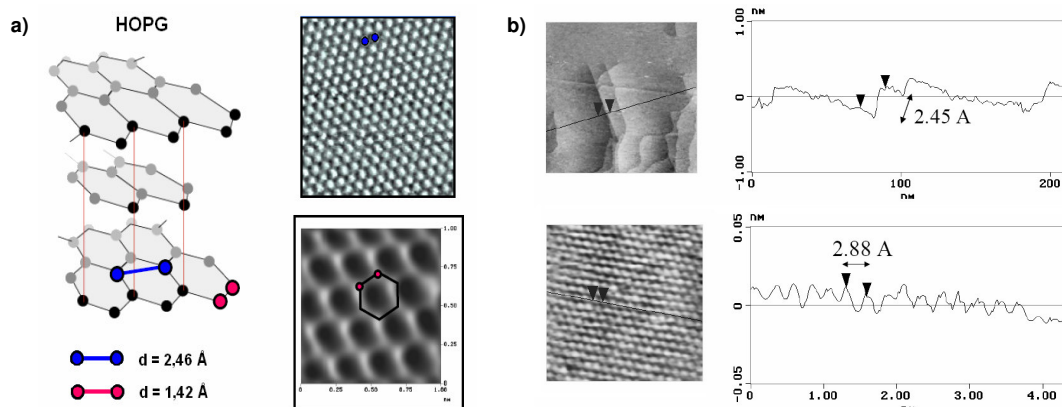
transductores piezoeléctricos, los que se deforman por aplicación de una diferencias de potencial, aplicadas por la unidad de control del microscopio.

El STM puede ser operado de diferentes modos [14]. El más comúnmente usado es el modo de corriente constante (**figura 1.8a**). En este modo, mientras la punta barre la superficie, un sistema de retroalimentación modifica la elongación del piezoeléctrico, a través de la señal eléctrica aplicada, manteniéndose la corriente túnel constante. La imagen topográfica, la cual es una representación tridimensional de una matriz de datos  $z(x,y)$ , se obtiene a partir del voltaje que debe ser aplicado al piezoeléctrico en los puntos de la superficie con coordenadas  $(x,y)$ . Con este modo se pueden barrer superficies de elevada rugosidad, esto es, que no son necesariamente planas a nivel atómico. Una desventaja de este modo es la respuesta finita del sistema de retroalimentación, lo que limita la velocidad de barrido.

Para aumentar la velocidad de barrido, se utiliza otro modo de operación. En el modo de altura constante (**figura 1.8b**), la punta barre la superficie de la muestra rápidamente a altura constante, sin necesitar el sistema de retroalimentación. Las rápidas variaciones en la corriente túnel, que son registradas en función de la posición, permiten obtener resolución atómica. Este modo sólo se puede aplicar a superficies que sean atómicamente planas, de otra manera la punta se podría estrellar en alguna saliente mientras se barre a alta velocidad.



**Figura 1.8.** Modos de operación del STM



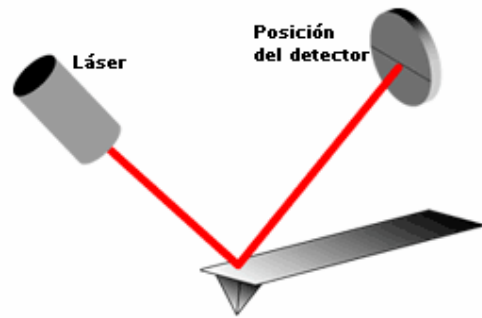
**Figura 1.9.** Patrones para la calibración del STM: a) HOPG y b) Au (111)

Debido a la alta sensibilidad vertical (0,01Å), estos microscopios se montan en sistemas antivibración, con bloques de material esponjoso que amortiguan los ruidos o sacudidas que pudieran venir del exterior del laboratorio. Por muy pequeñas que fuesen estas sacudidas, afectarían grandemente los resultados o podrían provocar choques indeseables entre piezas, ocasionando la rotura de las frágiles puntas de medición.

Antes de comenzar a medir en el STM se debe calibrar correctamente el equipo [13]. Para las dimensiones planas, se emplea un patrón de grafito (HOPG, *highly ordered pyrolytic graphite*), que consiste en láminas apiladas de átomos de carbono en empaquetamiento compacto hexagonal, del cual se conocen sus distancias características (**figura 1.9a**). Para la dimensión normal a la superficie, se utilizan los escalones monoatómicos del Au (111) (**figura 1.9b**).

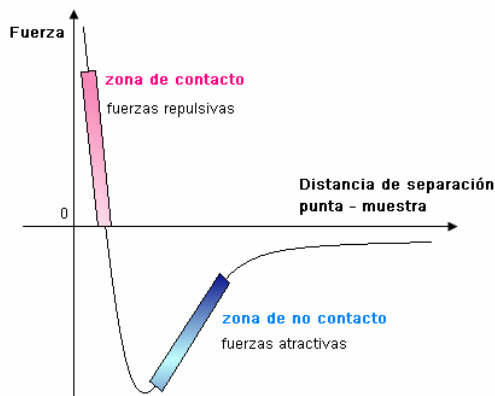
### 1.3.2– Microscopía de Fuerzas Atómicas (AFM)

Si se monta una punta fina en un muelle (cantilever) posicionado piezoeléctricamente, se pueden medir las fuerzas superficiales en un rango de  $10^{-13}$  a  $10^{-6}$  N [13]. El AFM mide las deflexiones en el cantilever debido a las fuerzas capilares, electrostáticas, de Van der Waals y friccionales entre la punta y la superficie. Esta microscopía no está restringida a superficies conductoras, por lo que se pueden hacer medidas en sistemas biológicos; además de superficies orgánicas e inorgánicas y sumergidas en líquidos. Casi todos los AFMs utilizan un sistema de deflexión de rayo láser, donde el láser es reflejado desde el cantilever reflectivo hacia un detector sensible a la posición (**figura 1.10**). El camino óptico entre el cantilever y el detector produce una amplificación mecánica de la señal del láser y, como consecuencia, el sistema llega a detectar los movimientos verticales de la punta con una precisión inferior a un angstrom.



**Figura 1.10.** Sistema de lectura y detección por deflexión de un rayo láser del AFM

Si se hace un gráfico de fuerza vs. distancia de separación punta-muestra se obtiene una curva donde se pueden notar dos regiones indicadas en la **figura 1.11**: una zona de contacto (fuerzas repulsivas) y una zona de no contacto (fuerzas atractivas). Las diferentes formas de interacción dan lugar a diversas formas de operación de este microscopio.

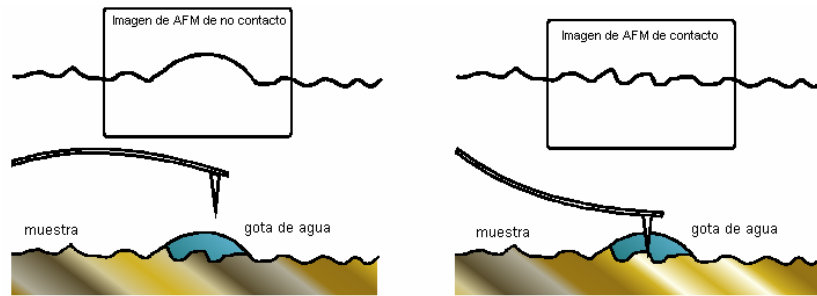


**Figura 1.11.** Curva de fuerza en relación a la distancia de separación de la punta con respecto a la muestra.

En el modo de contacto, o modo repulsivo, la punta tiene un contacto físico débil con la muestra y el cantilever empleado posee una baja constante de fuerza,  $k^*$ . A medida la punta barre la muestra, las fuerzas de contacto hacen que el cantilever se curve para acomodarse a los cambios de topografía. Una desventaja de este modo es que al estar la punta en contacto con la muestra, no se puede emplear para muestras blandas, ya que las deforma.

Además, el AFM puede ser operado de

\* La ley de Hook establece que  $F = -kx$

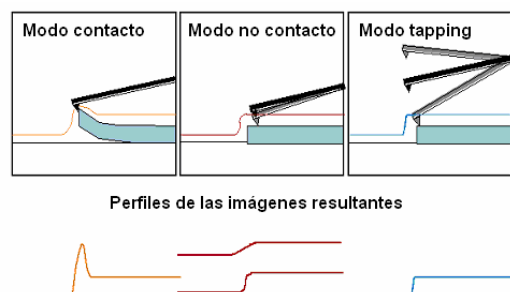


**Figura 1.12.** Inconveniente en las medidas de no contacto por gotas de agua en la superficie

dos modos equivalentes a los discutidos en el caso de STM: a altura constante o fuerza constante. En el primer caso se desactiva la retroalimentación para mantener fija la distancia entre punta y muestra. En el segundo caso, se utiliza la señal debida a la deflexión del cantilever como entrada de un circuito de retroalimentación.

En el modo no contacto el cantilever, que debe poseer una alta  $k$ , vibra en una posición cercana a la superficie, a una distancia promedio de 100 Å. En este rango de distancias las interacciones son muy débiles ( $10^{-12}$  N), pudiéndose medir topografías de muestras blandas o elásticas. Un inconveniente en las medidas al aire es la capa de agua que se forma por humedad ambiental. Como la punta no hace contacto continuo con la muestra, no atraviesa las gotas de agua y las lee como parte de la superficie (**figura 1.12**).

Uno de los problemas que presenta la técnica AFM es el deterioro que ocasiona en algunas muestras por el arrastre continuo de la punta sobre la superficie de la muestra. Para solventar este problema se utiliza una variante de la técnica AFM conocida popularmente como *Tapping Mode*, muy utilizado en muestras biológicas (**figura 1.13**). En esta aplicación, la punta vibra “tocando” la superficie por un periodo muy corto de tiempo, estando en contacto intermitente con la



**Figura 1.13.** Comparación de las imágenes resultantes con cada modo de operación del AFM

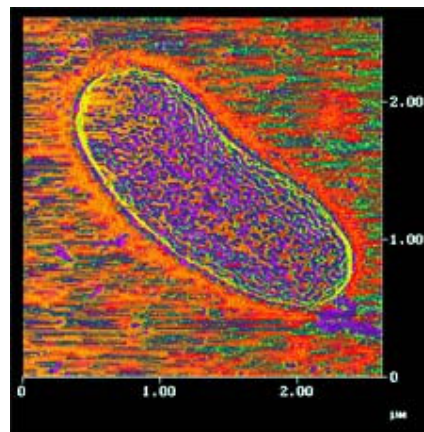
superficie a la vez que la barre. La variación de la amplitud de oscilación de la punta, debida a la amortiguación sobre la superficie es lo que se utiliza como señal de control. Esta técnica evita las fuerzas laterales y de fricción que ocurren en el modo contacto y no contacto del AFM. Las ventajas de este modo son que la medida es muy estable, la fuerza de presión es muy débil, la resolución es elevada y proporciona las mejores prestaciones para la medida topográfica de alta resolución, evitando imágenes artificiales que ocurren en AFM de contacto. Las desventajas son que no se llega a resolución atómica y que los barridos son más lentos.

Como en el caso del STM, se debe calibrar el microscopio antes de utilizarlo. Para ello se emplea un patrón provisto por la empresa fabricante del equipo (grillas para las distancias en el orden de los micrómetros y mica para resolución atómica).

### 1.3.3 – Aplicaciones

Las técnicas de microscopía de barrido permiten realizar medidas *in situ*, es decir, en el ambiente en que se encuentra la muestra. Sin embargo, dadas las dificultades que implican las medidas en estas condiciones, sólo se realizaron medidas *ex situ*.

El AFM ha ampliado la aplicación del STM hacia las muestras biológicas vivas, blandas y no conductoras [15] (**figura 1.14**). El AFM tiene varias capacidades, incluyendo la imagen de detalles topográficos desde el nivel submolecular al nivel celular, el monitoreo de procesos dinámicos de moléculas individuales en soluciones fisiológicamente relevantes, la medida de interacciones moleculares y la caracterización de propiedades mecánicas de moléculas o nanoestructuras individuales. Además se puede lograr la manipulación molecular [17], por ejemplo, la manipulación mecánica, eléctrica y química de moléculas de DNA [18].



**Figura 1.14.** Imagen de *Burkholderia cepacia* G4 mediante AFM en el modo tapping [16]

## 1.4 – Medidas electroquímicas

### 1.4.1 – Generalidades

La electroquímica es una rama de la química que estudia la interrelación de los efectos eléctricos y químicos [19]. Una gran parte de este campo se ocupa de los cambios químicos causados por el pasaje de corriente eléctrica y la producción de energía eléctrica por reacciones químicas. De este modo, abarca un gran conjunto de fenómenos, dispositivos y tecnologías.

En los sistemas electroquímicos, se estudian los procesos y factores que afectan el transporte de carga a través de la interfase entre fases químicas, por ejemplo, entre un conductor electrónico (un *electrodo*) y un conductor iónico (un *electrolito*). La carga es transportada a través del electrodo por el movimiento de electrones (y huecos). En la fase del electrolito, la carga es llevada por el movimiento de los iones.

Dos tipos de procesos ocurren en los electrodos. Un tipo comprende reacciones en donde las cargas (por ej. electrones) son transferidas a través de la interfase metal-solución. La transferencia de electrones causa la oxidación o la reducción. Como estas reacciones están gobernadas por la ley de Faraday (la cantidad de reacción química causada por el flujo de corriente es proporcional a la cantidad de electricidad pasada), se llaman procesos faradaicos. Bajo algunas condiciones, una interfase electrodo-solución mostrará un rango de potenciales donde no ocurren procesos de transferencia de carga porque dichas reacciones no son favorables termodinámicamente o cinéticamente. Sin embargo, pueden ocurrir procesos como adsorción o desorción, y la estructura

de la interfase electrodo-solución puede cambiar con la variación del potencial o de la composición de la solución. Estos procesos se llaman no faradaicos. Aunque la carga no cruce la interfase, las corrientes externas pueden fluir (al menos transitoriamente) cuando el potencial, el área del electrodo o la composición de la solución cambian. Estos procesos dan origen a la denominada “corriente de doble capa”.

Las interfases electrodo/electrolito exhiben una capacidad cuya magnitud refleja la distribución de iones en el lado de la solución de la interfase. La doble capa de electrolito está compuesta por la capa de Helmholtz, una capa de iones y solvente en contacto físico con el electrodo, y la capa difusa, una capa de iones cercana al electrodo cuya concentración se desvía de la concentración en el seno de la solución.

Cuando se autoensambla un alcanotiol de cadena larga sobre el electrodo de metal, la capa de Helmholtz cambia de una mezcla de iones y solvente de alta constante dieléctrica a una capa de cadenas hidrocarbonadas libre de iones con una baja constante dieléctrica. Por lo tanto, la capacidad de la interfase se reduce y se vuelve virtualmente independiente del potencial [20].

La capacidad total de la interfase se puede obtener dividiendo la corriente de carga por la velocidad de barrido. El modelo de capacitor en paralelo predice que la capacidad recíproca aumenta linealmente con el espesor de la capa dieléctrica. En general, las capacidades para electrodos recubiertos por SAMs con 10 o más metilenos caen en el rango de 1 a 5  $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ , más de un orden de magnitud menor que las capacidades típicas para el oro en solución electrolítica. La capacidad de la interfase está compuesta de al menos dos capacidades en serie, la capacidad de la monocapa  $C_m$  y la capacidad de la doble capa  $C_d$ .

El cálculo de la constante dieléctrica de la SAM requiere una suposición acerca de la inclinación de las cadenas hidrocarbonadas y es consistente con una capa de cadenas alquílicas con empaquetamiento compacto sin penetración de solvente electrolítico o de iones. Las variaciones de la capacidad son útiles para monitorear un empaquetamiento pobre, un aumento en la penetración del solvente y/o iones y variaciones en el ángulo de inclinación. Las medidas de capacidad también son útiles para seguir el proceso de autoorganización *in situ*.

Las SAMs de alcanotiol bloquean la superficie y disminuye por ello la contribución de los procesos faradaicos como la oxidación del electrodo y el intercambio de electrones entre las cuplas redox del electrodo y la solución. Esta propiedad de bloqueo se atribuye a la estructura densamente empaquetada de las cadenas hidrocarbonadas que impiden la aproximación de iones y moléculas de la solución a la superficie del electrodo. Las posibles aplicaciones de bloqueo por SAMs se pueden encontrar en las áreas de prevención de corrosión, litografía en nanoescala y electrodos selectivos [7].

#### 1.4.2 – Voltamperometría cíclica

La voltamperometría cíclica es un tipo de medida electroquímica donde se usa una señal de potencial que varía con el tiempo según una función lineal [19]. Permite estudiar las propiedades redox de compuestos químicos y de estructuras interfaciales. Es una herramienta importante

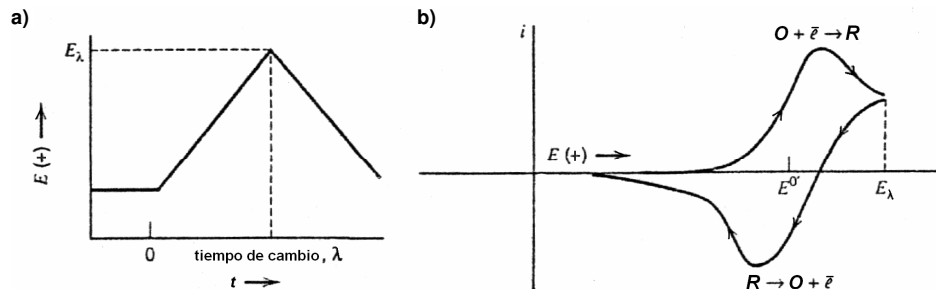
para determinar los potenciales redox formales<sup>†</sup>, para la detección de reacciones químicas que preceden o siguen a una reacción electroquímica y para la evaluación de la cinética de transferencia de carga.

Como no es posible experimentalmente tener una interfase aislada, se estudian las propiedades de una colección de interfases llamada *celda electroquímica*. Estos sistemas están definidos por al menos dos electrodos y una solución electrolítica.

El método de los tres electrodos es el más ampliamente utilizado. En este método se usa un electrodo de referencia (ER), un electrodo de trabajo (ET) y un contraelectrodo (CE, también llamado electrodo auxiliar) inmersos en una solución. Se añade un electrolito a la solución en estudio para asegurar una suficiente conductividad. La combinación del solvente, el electrolito y el material del electrodo de trabajo específico determinan el rango del potencial.

Como el electrodo de referencia tiene un potencial fijo y no circula corriente a través de este durante las medidas, cualquier cambio en el potencial aplicado a la celda modifica la polarización del electrodo de trabajo. Llevando el electrodo a potenciales más negativos, se aumenta la energía de los electrones en él, alcanzando así un nivel suficientemente alto para transferirse a estados electrónicos vacantes de especies en el electrolito. En ese caso, aparece un flujo de electrones desde el electrodo a la solución (*corriente de reducción*). De manera similar, la energía de los electrones en el metal (o semiconductor) puede ser disminuida imponiendo un potencial mayor; a cierto potencial aplicado los electrones de los solutos en el electrolito pueden ser transferidos hacia el electrodo, produciéndose procesos de *oxidación*. Los potenciales críticos en los cuales estos procesos ocurren están relacionados a los *potenciales standard*,  $E^0$ , para las sustancias químicas específicas en el sistema.

El número de electrones que cruza la interfase está relacionado estequiométricamente con la reacción química y se mide en términos de la carga total,  $Q$ , que pasa en el circuito. La corriente,  $i$ , es la velocidad del flujo de la carga (o electrones). Cuando se grafica la corriente en función del potencial, se obtienen curvas corriente-potencial ( $i$  vs.  $E$ ). Estas curvas brindan información acerca de la naturaleza de la solución y los electrodos y acerca de las reacciones que ocurren en la interfases.



**Figura 1.15.** a) Barrido cíclico de potencial. b) Voltograma cíclico resultante

<sup>†</sup> Aunque los potenciales normales son cantidades fundamentales para todos los cálculos termodinámicos, en la práctica suelen utilizarse los *potenciales formales*. Los potenciales formales difieren de los potenciales normales ya que los coeficientes de actividad,  $\gamma_i$ , difieren de la unidad y por reacciones paralelas, que modifican las concentraciones de las especies reactivas.



En la voltamperometría cíclica, el potencial aplicado se varía con el tiempo, a una velocidad ( $\Delta E/\Delta t$ ) determinada. Para las medidas que se llevaron a cabo en este trabajo se utilizaron variaciones lineales como las que se muestran en la **figura 1.15a**, de modo tal que la curva de barrido es triangular: se comienza a un potencial dado, se llega a un potencial final y luego se retorna al mismo potencial inicial. Durante el barrido de potencial, el *potenciostato* mide la corriente resultante debida al potencial aplicado. Este instrumento modifica la diferencia de potencial entre el ET y el CE y, debido a ello, circula corriente entre estos electrodos. Simultáneamente, la diferencia de potencial entre el ET y el ER se modifica de acuerdo con el programa lineal que se haya establecido. En otras palabras, el potenciostato hace pasar a través del electrodo de trabajo la corriente requerida para alcanzar el potencial deseado en un momento dado. Como la corriente y el potencial están relacionados funcionalmente, esa corriente es única.

Si se grafica la corriente vs. el potencial, se obtiene un voltagrama cíclico (**figura 1.15b**), que es una función de un gran número de parámetros físicoquímicos y, además, es dependiente del tiempo. La **figura 1.15b** ilustra la respuesta esperada para una cupla redox reversible durante un ciclo de barrido. Aquí se supone que sólo la forma oxidada O está presente inicialmente. Así, se elige un potencial que barre hacia el sentido positivo para el primer medio ciclo, empezando desde un valor en el que no se produce la reacción. A medida que el potencial aplicado se aproxima al  $E^{\circ}$  característico del proceso redox, la corriente catódica comienza a aumentar, hasta que se alcanza un pico. Después de atravesar la región de potencial en donde tiene lugar el proceso de reducción, la dirección del barrido de potencial se revierte. Durante el barrido, las moléculas R (generadas en el primer medio ciclo, y acumuladas cerca de la superficie) son reoxidadas a O y aparece un pico anódico. Como resultado se obtiene información acerca del potencial redox, las velocidades de la reacción electroquímica de los compuestos y la concentración de especies electroactivas.

## 1.4 – Referencias

- [1] Whitesides, G. M. and Grzybowski, B. *Science* **2002**, 295, 2418-2421
- [2] Kumar, C. S. S. R.; Hormes, J.; Lusschner, C. *Nanofabrication towards biomedical applications. Techniques, tools, applications and impact*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. HgA, Weinheim, 2005. Caps. 1, 3 y 10
- [3] Timp, G. *Nanotechnology*; Springer-Verlag: New York, 1999.
- [4] Ulman, A. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 1533-1554
- [5] Cunningham, A. J. *Introduction to Bioanalytical sensors*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1998
- [6] Schreiber, F. *J. Phys.: Condens. Matter* **2004**, 16, R881-R900
- [7] Finklea, H. O. In *Electroanalytical Chemistry*; A. J. Bard, I. Rubinstein Eds.; Marcel Dekker: New York, 1996; Vol. 19, pp 109-335.
- [8] Camillone III, N.; Chidsey, C. E. D.; Gang-yu L. and Scoles, G. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 3503-3511
- [9] Camillone III, N., *Langmuir* **2004**, 20, 1199-1206
- [10] Bain, C. D.; Troguhton, E. B.; You-Tai Tao; Evall, J.; Whitesides, G.M. and Nuzzo, R. G. *J. Am. Chem.* **1989**, 111, 321-335
- [11] Vericat, C.; Vela, M. E. and Salvarezza, R. C. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, 7, 3258 – 3268

- [12] Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1103-1169
- [13] Adamson, A. W. *Physical Chemistry of Surfaces* John Wiley & Sons Inc., New York, 1997
- [14] Wiesendanger, R.; Gütherodt, H.-J., *Scanning Tunneling Microscopy I*, 2da. eds., Springer-Verlag, Berlin, 1994, cap. 1
- [15] Dufrière, Y. F. *Journal of Bacteriology* **2002**, *184*, 5205-5213
- [16] imagen extraída de la página <http://www.wpi.edu/Academics/Depts/CHE/Research/BA/Projects/> perteneciente a Worcester Polytechnic Institute
- [17] Foster, J.S.; Frommer, J.E.; Arnett, P.C. *Nature* **1988**, *331*, 324-326
- [18] Yuqiu, J. *et al Nanotechnology* **1992**, *3*, 16-20
- [19] Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications*, Wiley, New York, 1980. Cap 1, 5, 6, 13
- [20] Finklea, H. O. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*; Meyers, R., Eds.; John Wiley & Sons: Chichester, 2000.

# Capítulo 2

## **Parte experimental**

En este capítulo se describe el instrumental, técnicas y materiales utilizados. En cada sección se realiza, además, una breve discusión sobre los motivos por los cuales se han utilizados las diferentes técnicas, materiales e instrumentos.

## 2. 1 – Experiencias Electroquímicas

### 2.1.1 - Preparación del sustrato metálico

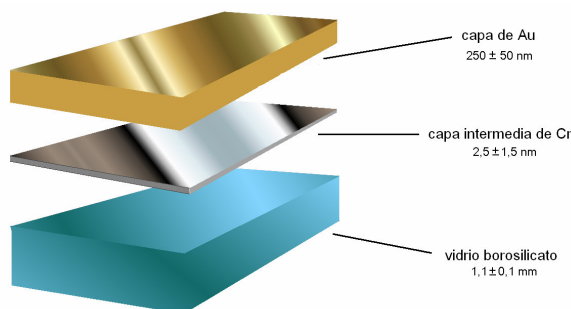
Se utilizaron películas delgadas de Au -cuya superficie tiene orientación preferencial- como sustratos para crecer las SAMs. Los sustratos de Au(111) se obtuvieron a partir de placas de Au evaporado sobre vidrio borosilicato “Robax” provistas por la firma Arrandee® de Werther, Alemania. Puesto que la adherencia del oro al vidrio no es buena, el fabricante deposita una capa intermedia de Cr de 1 a 4 nm de espesor para lograr una mejor adhesión del Au al soporte (**Figura 2.1**).

Las placas se lavaron inicialmente por inmersión durante 5 min. en solución “piraña” que es frecuentemente utilizada para remover residuos orgánicos de los sustratos. Esta solución tiene una relación 3:1 entre volúmenes de ácido sulfúrico concentrado (98 % p/p) y solución de peróxido

de hidrógeno concentrada (reactivo analítico 100 vol); y se prepara añadiendo muy lentamente el  $H_2O_2$  sobre el ácido. Como es extremadamente corrosiva y reacciona violentamente con la materia orgánica debe utilizarse con extrema precaución. Luego del lavado, las películas se enjuagaron con agua de alta pureza (Milli Q®) y se secaron en estufa a 100°C.

Las placas de Au evaporado son policristalinas, entonces, para obtener la orientación preferencial (111) y terrazas de tamaño adecuado se las debe someter a un tratamiento térmico, conocido comúnmente como recocido. Este tratamiento se puede llevar a cabo calentando los sustratos con un mechero de butano. Las películas de Au limpias, soportadas sobre vidrio, se expusieron a la llama de un mechero de butano y fueron recocidas durante algunos minutos. Las superficies fueron calentadas hasta alcanzar color rojo sombra, que corresponde a aproximadamente 650°C. En ocasiones, los recocidos se realizaron con un mechero que utiliza gas hidrógeno como combustible, en especial cuando los sustratos se usaron para medidas de STM.

Con el fin de preparar SAMs ordenadas, es provechoso contar con un sustrato cuya superficie tenga la menor cantidad posible de defectos y sea ordenado. De ese modo, además de la tendencia hacia la formación de monocapas densamente empaquetadas proveniente de las interacciones de tipo van der Waals entre las especies adsorbidas, las interacciones con el sustrato conducen a la formación de monocapas SAMs ordenadas. Por ello, se utilizaron películas de Au con una marcada textura, que presentaron terrazas (111) de tamaño adecuado en su superficie. En la cara (111) se da la mayor densidad superficial de átomos: cada átomo de Au posee 6 vecinos más cercanos en el plano superficial. Por tanto, corresponde a esta orientación una menor



**Figura 2.1.** Disposición de las capas que componen el sustrato y sus respectivos espesores (extraídos de página web\*)

\* <http://www.arrandee.com/>

energía superficial. La ecuación (1) relaciona la energía libre de Gibbs superficial,  $G^\sigma$ , con los potenciales químicos de los componentes en la región interfacial,  $\mu_i$ , las cantidades en que estos están presentes,  $n_i^\sigma$ , el área,  $A$ , y la tensión interfacial,  $\gamma$

$$G^\sigma = \sum_i \mu_i n_i^\sigma + \gamma A \quad (2.1)$$

De acuerdo con esta ecuación, en el equilibrio, la superficie debería estar formada por dominios correspondientes a distintas caras cristalinas [1]. Sin embargo, a temperatura ambiente, no es común que los sólidos presenten superficies en equilibrio. En cambio, a altas temperaturas, las grandes diferencias entre las energías superficiales de las distintas caras cristalinas son las responsables de que –debido a que los átomos superficiales adquieran movilidad suficiente- se desarrollen las caras (111) en el Au.

Para realizar medidas electroquímicas se utilizaron las películas de Au como electrodos de trabajo. Por ello, fue necesario lograr un adecuado contacto eléctrico entre la conexión del potenciostato correspondiente al electrodo de trabajo (ET) y la película de Au. Se soldó a cada placa un alambre de Au de 0,5 mm de diámetro calentando la placa y el alambre y, simultáneamente, ejerciendo presión sobre estas piezas con una pinza. El arreglo electrodo-contacto, esquematizado en la

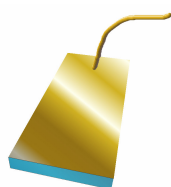


Figura 2.2. Arreglo del electrodo de Au

la **figura 2.2**, permite realizar medidas de manera reproducible. De hecho, luego de cada experiencia, las placas se limpiaron con solución piraña (70mL  $H_2SO_4$  + 30 mL  $H_2O_2$ ) durante 5 minutos, se enjuagaron con agua Milli Q, se secaron con mechero, fueron recocidas, y volvieron a utilizarse. Al repetirse las medidas voltamperométricas con el mismo electrodo se encontraron valores muy reproducibles de las cargas asociadas con los fenómenos estudiados, lo que demostró la confiabilidad de los electrodos.

## 2.1.2 – Celda de medida

La celda electroquímica empleada posee tres electrodos: electrodo de trabajo (ET), contraelectrodo (CE) y electrodo de referencia (ER), cuya disposición se muestra en la **figura 2.3**. En este arreglo la corriente circula entre el ET y el CE, y la diferencia de potencial se mide entre el ET y el ER.

El CE, en este caso de Pt, debe ser inerte. Sus propiedades electroquímicas no deben afectar el proceso estudiado; más aún, no deben producirse sustancias en cantidades suficientes para alcanzar la superficie del ET y así causar interferencias. Si esto ocurriera se debería recurrir a una celda con CE en otro compartimento, separado por una membrana porosa.

Como electrodos de trabajo se utilizaron los sustratos de oro descriptos en el inciso anterior.

Además, se utilizaron dos tipos de electrodos de refe-

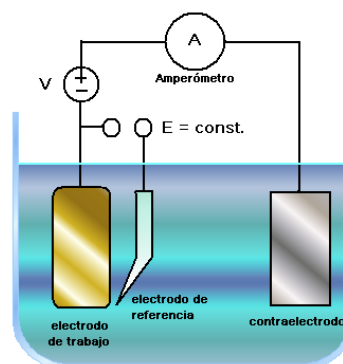


Figura 2.3. Esquema de la celda de 3 electrodos

rencia: electrodos de calomel saturado (ECS) y electrodos de hidrógeno cuasirreversibles. Ambos electrodos se construyeron en este laboratorio y sus potenciales se midieron periódicamente respecto del de un electrodo de calomel saturado comercial (Schott Geräte), cuyo potencial de electrodo es 0,241 V a 25 °C. Para evitar que la caída de potencial que se genera en la solución entre el ET y el CE afectara la medida del potencial, se utilizó un capilar de Luggin-Haber. Este dispositivo permite realizar la medida del potencial ET/solución en la región cercana al ET. Los potenciales informados en este trabajo se refieren al ECS.

Los experimentos se realizaron en una celda de vidrio borosilicato especialmente diseñada. El cuerpo de la celda fue construido en forma de cilindro. Sobre la tapa se soportaron el capilar de Luggin-Haber, el CE, el tubo burbujeador y el ET. Por el tubo burbujeador se hizo circular  $N_2$  para eliminar el oxígeno disuelto puesto que es una especie electroactiva que puede interferir en las medidas.

La celda y el material para preparar soluciones se trataron con permanganato de potasio, en medio alcalino y caliente, durante algunas horas para eliminar la materia orgánica. Y, posteriormente, se enjuagaron con peróxido de hidrógeno en medio ácido para eliminar los restos de permanganato de potasio y de dióxido de manganeso. Por último, se enjuagó con abundante agua destilada.

### 2.1.3 – Soluciones

El agua utilizada es provista por el INIFTA. Esta se obtiene por destilación del agua de red y es tratada posteriormente con un sistema Millipore – Milli-Q. Este equipo posee filtros de resina de intercambio iónico y de carbón activo, con los que se alcanzan resistividades de 18 M $\Omega$  cm.

Las soluciones empleadas se prepararon utilizando reactivos de calidad PA - KI, azul de metileno (sal de cloruro),  $Na_2S$ ,  $NaH_2PO_4$ , NaOH,  $Na_2SO_4$ , etc - sin posterior purificación.

Las soluciones de alcanotioles se prepararon realizando diluciones de otras (soluciones madre) de mayor concentración. Las soluciones madre se prepararon por pesada directa (con una precisión de 0,001 g) del alcanotiol y llevando a volumen con etanol absoluto en matraz aforado, de modo que la solución resultante fuese 5 mM.

Los pH de las soluciones amortiguadoras (*buffer*) de fosfato – 0,1M  $NaH_2PO_4$  + 0,1M  $Na_2SO_4$  – se ajustaron agregando NaOH 0,1M y midiendo, simultáneamente, el pH mediante un electrodo de vidrio.

## 2.1.4 – Aparatos de medida y registro

Las medidas de voltamperometría cíclica se realizaron con un potenciostato PAR (Princeton Applied Research) modelo 273. La información se adquirió con un programa comercial suministrado por la firma PAR y, además, se registró con un registrador marca Houston X-Y modelo 2000.

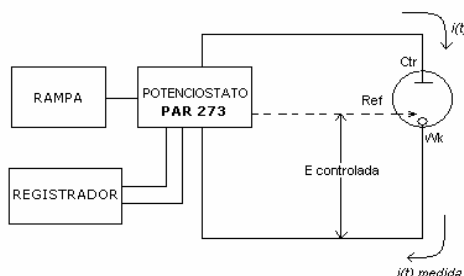


Figura 2.4. Esquema del circuito de medida.

## 2.1.5 – Modificación de sustratos mediante inmersión

La preparación de SAMs de dodecanotiol se llevó a cabo mediante inmersión de los sustratos de Au en soluciones de alcanotioles durante un tiempo determinado (figura 2.5). Luego de la incubación las placas se enjuagaron con etanol absoluto y se llevaron inmediatamente a la celda para efectuar las medidas correspondientes.

Las monocapas de yoduro sobre Au (111) fueron preparadas por inmersión de los sustratos en soluciones acuosas de KI  $3 \times 10^{-3}$  M durante 10 minutos alcanzándose 2/3 de la cobertura total [2].

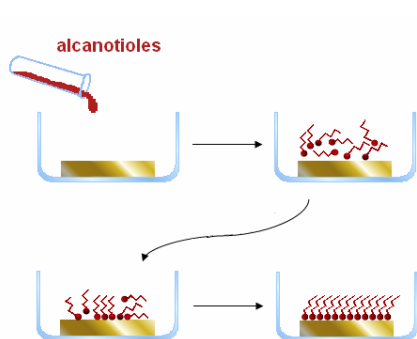


Figura 2.5. Preparación de SAMs por inmersión del sustrato en solución de alcanotioles

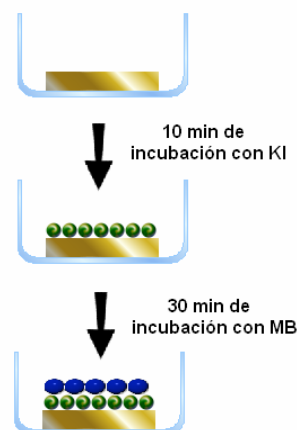


Figura 2.6. Modificación de los sustratos de Au(111) con I y MB.

Para los estudios con azul de metileno (MB), los sustratos cubiertos de monocapas de yoduro recién preparados fueron enjuagados con agua Milli Q y sumergidos en MB acuoso 0,1 mM durante 30 minutos para conseguir la inmovilización del MB (figura 2.6). Luego se las enjuagó con agua MilliQ y se las secó con  $N_2$  antes de proceder a las medidas de voltamperometría cíclica.

## 2. 2 – Medidas con microscopios de barrido

En este trabajo las medidas de STM se realizaron con un microscopio modelo Nanoscope III EC-STM, de la marca Digital Instruments, Inc (Santa Barbara, CA, EEUU). Las medidas se realizaron en general con los tubos piezoeléctricos de barrido (*scanners*) más pequeños, las cuales permiten barrer un campo máximo de 500 a 750 nm (según el *scanner*) y que son las adecuadas para obtener resolución atómica. También se realizaron algunas medidas en campo grande con *scanners* que permiten barridos en campos máximos de unos 10  $\mu\text{m}$ . La punta metálica solidaria al tubo piezoeléctrico puede ser de platino-iridio o tungsteno. En los experimentos que se describen se emplearon puntas comerciales de Platino-Iridio (Nanoprobe™ STM tips) de 8 mm de largo y 0.25 mm de diámetro que fueron limpiadas con corriente de nitrógeno antes de su uso. En cuanto al modo de operación del STM, todas las imágenes que se muestran en este trabajo han sido tomadas en el modo de corriente constante. En general se usaron voltajes túnel  $V_T$  positivos entre 0,01 y 1,5 V. Las corrientes habituales eran 0,3-30 nA. El programa (*software*) de análisis de las imágenes fue el provisto por la empresa fabricante del microscopio (NanoScope III Digital Instruments Inc., version 4.22).

En cuanto a los experimentos realizados con microscopía de fuerzas AFM se trabajó con el scanner de mayor alcance de barrido (hasta 160  $\mu\text{m}$ ) en el modo de contacto empleando cantilevers con puntas integradas de nitruro de silicio y cubiertas de oro (NanoProbers™ de Digital Instruments). En base a los perfiles de las curvas de fuerzas se pudo estimar las fuerzas de contacto utilizadas las cuales estuvieron en el rango de 10 a 350 nN.

## 2. 3 – Referencias

---

- [1]. Adamson, A. W.; Gast, A. P. *Physical Chemistry of Surfaces*, 6th ed.; Wiley-Interscience: New York, 1997.
- [2]. "IMMOBILIZATION OF METHYLENE BLUE ON SELFASSEMBLED IODINE MONOLAYERS ON GOLD"  
María E. Vela, C. Vericat, A. Daza Millone, M. Fonticelli, G. Benitez, Roberto C. Salvarezza, Nicolás G. Tognalli, Alejandro Fainstein. Aceptado para su publicación en el "Journal of Nanoscience and Nanotechnology".



# Capítulo 3

## **Caracterización del sustrato metálico, Au(111)**

En este capítulo se describen las experiencias realizadas y los resultados obtenidos para la caracterización del sustrato. Contar con un sustrato ordenado y de composición y estructuras bien definidas resulta de suma importancia para realizar estudios con superficies modificadas. La caracterización se realizó mediante las técnicas de voltamperometría cíclica y STM.

### 3.1 – Introducción

Las superficies de Au(111) son las más comúnmente utilizadas para realizar estudios que implican la modificación de superficies mediante monocapas. La preferencia por el Au(111) se da tanto en casos en los que se depositan especies inorgánicas, como metales en condiciones de subpotencial (*underpotential deposition, upd*) [1], o para depósitos de monocapas orgánicas, como las SAMs de alcanotioles. Este hecho tiene origen en diversas razones [2]: (a) El Au es un metal relativamente inerte -no forma un óxido estable en la superficie y resiste la contaminación ambiental-. (b) Se pueden obtener superficies de Au con orientación preferencial (111) en forma relativamente simple y reproducible. La cara (111) es la más densamente empaquetada y las superficies monoorientadas de Au(111) se obtienen con relativa facilidad recociendo películas delgadas de este metal soportadas sobre mica, silicio o vidrio [3]. Esto permite realizar estudios sistemáticos con superficies bien caracterizadas, que pueden requerir cientos de determinaciones, sin la necesidad de recurrir al uso de monocristales. (c) Es un material biocompatible, lo que lo hace particularmente atractivo en estudios y desarrollo de biosensores y materiales biomiméticos [2]. (d) Tiene una fuerte interacción específica muchos aniones (yoduro, sulfuro, tiocianato, cianuro, sulfamato, etc.) y con especies que presentan azufre en general, lo que permite formar monocapas ordenadas [3].

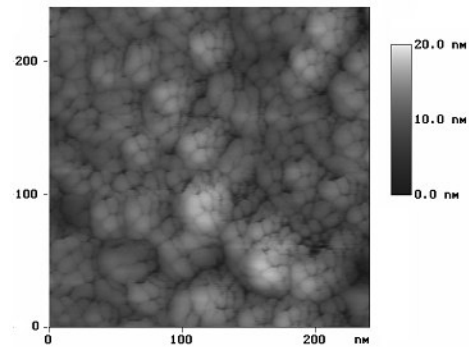
Antes de emplear un sustrato es importante prepararlo adecuadamente ya que los defectos estructurales, como la presencia de límites en los granos de cristal, se trasladan, por ejemplo, como defectos indeseables a las estructuras de las SAMs. Además, es importante preparar sustratos libres de impurezas ya que estas pueden entorpecer los procesos electroquímicos y la formación de las SAMs [4].

Entre otros motivos, la enorme difusión de los sustratos de Au(111) hizo que su preparación y análisis fueran comunes en muchos laboratorios. En el presente trabajo se emplearon voltamperometría cíclica (CV) –para estudiar las propiedades electroquímicas y a partir de ellas deducir aspectos estructurales y estimar recubrimientos de adsorbatos - y STM –para obtener información topográfica -, las que son compatibles con el estudio de las SAMs. El empleo de la CV permitió caracterizar ciertas propiedades características promediadas sobre toda la superficie. Los perfiles corriente-potencial son muy sensibles a las composiciones del medio electrolítico y del electrodo y a la estructura superficial. Por otra parte, las microscopías utilizadas son técnicas locales, pero permiten obtener información estructural a nivel atómico. Ambas técnicas son complementarias y permiten una correcta caracterización del sustrato.

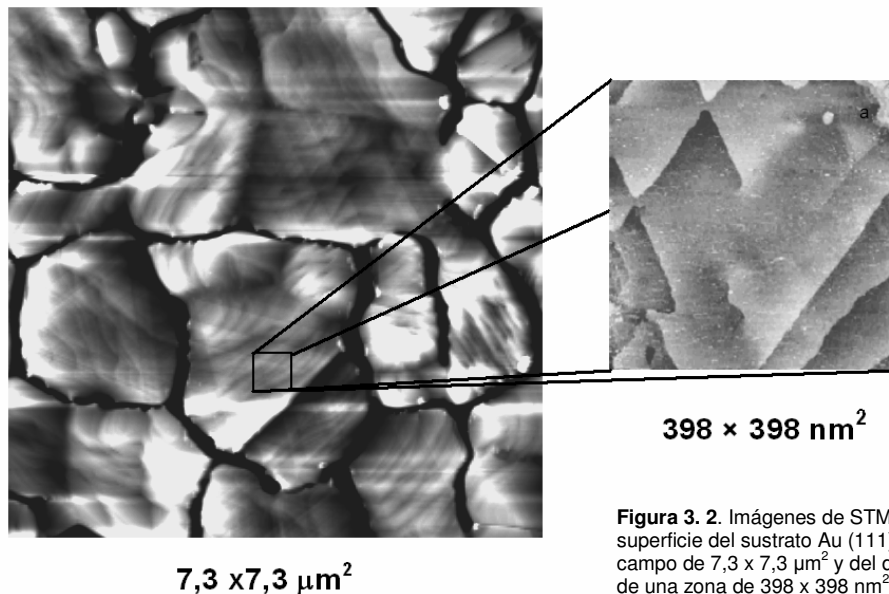
## 3.2. – Resultados

### 3.2.1 – Caracterización topográfica

Las películas de Au depositadas sobre sustratos tales como vidrio, mica o silicio son policristalinas y se componen de una capa continua de islas o granos de metal que varían en un rango de ~10 a 1000 nm [2]. La morfología de los granos varía sustancialmente dependiendo del método experimental y de las condiciones de preparación y del posterior tratamiento del sustrato metálico. Si se emplea la técnica de recocido, la textura dominante resulta (111) – para metales con empaquetamiento cúbico centrado en las caras como el Au, un arreglo hexagonal de átomos en la superficie- y el tamaño y forma de los granos cambia considerablemente; de un conjunto de granos pequeños y coliformes (**figura 3.1**), hacia un conjunto de granos de 2 a 3  $\mu\text{m}$  que presentan terrazas planas con orientación preferencial (111). El desarrollo de textura gracias al recocido se hace evidente aún en la imagen de STM tomada en un campo amplio ( $7,3 \times 7,3 \mu\text{m}^2$ , **figura 3.2**), en la que puede advertirse el desarrollo de terrazas triangulares (ángulos de  $60^\circ$ ). Aumentando la resolución (**figura 3.2**) al tomar la imagen STM, las terrazas triangulares se distinguen claramente, observándose los escalones monoatómicos y diatómicos que las separan. Estos escalones son utilizados para calibrar los piezoelementos del microscopio en la dirección perpendicular a la superficie.



**Figura 3.1.** Imagen de STM de una superficie de Au Alto Vacío. El sustrato se mantuvo a temperatura ambiente durante la evaporación.



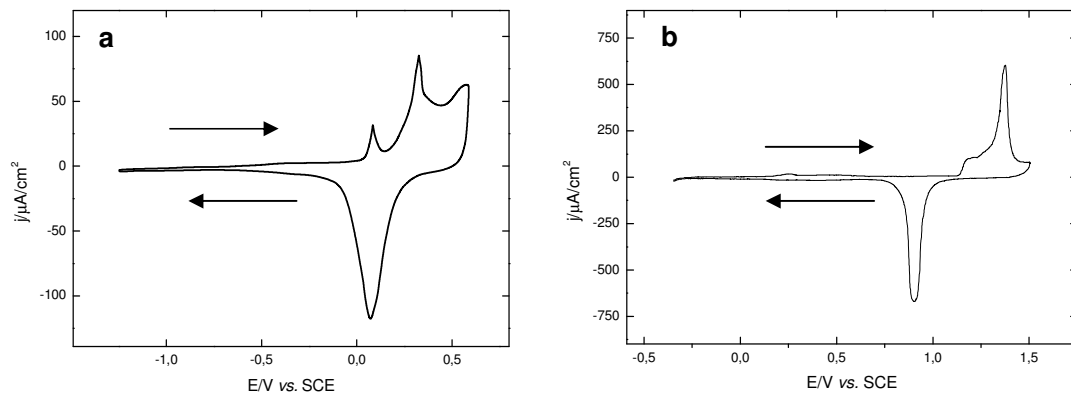
**Figura 3.2.** Imágenes de STM de la superficie del sustrato Au (111) en un campo de  $7,3 \times 7,3 \mu\text{m}^2$  y del detalle de una zona de  $398 \times 398 \text{ nm}^2$

### 3.2.2 – Caracterización electroquímica

Las superficies monocristalinas de Au(hkl) han sido caracterizadas por voltamperometría cíclica en distintos medios, demostrándose que su comportamiento electroquímico, en especial en la región de formación y reducción de óxido, depende fuertemente de las características de la superficie y del electrolito [6].

Los voltamperogramas cíclicos (de ahora en adelante CVs) se miden a una temperatura, velocidad de barrido, concentración y naturaleza del electrolito bien definidos. Otros factores importantes que afectan las medidas son la limpieza de la superficie del electrodo y la pureza de las soluciones empleadas [7]. Además, el gas utilizado para desairear las soluciones debe estar limpio y ser químicamente inerte –en este caso se utilizó  $N_2$ –, de lo contrario se observarían corrientes faradaicas en la región de doble capa debidas a reacciones en las que participarían las impurezas.

Teniendo en cuenta los mencionados parámetros los CVs pueden ser considerados como huellas digitales de la superficie del oro en ciertos rangos de potencial: la región de doble capa, la formación de la monocapa de óxido (y su subsecuente reducción), y el comienzo de la reducción de los iones hidrógeno.



**Figura 3.3.** CVs de Au (111) en a) NaOH 0,1M y b)  $H_2SO_4$  1,0 M ambos a  $25^\circ C$  y  $v = 50 mV/s$ . Las flechas indican las direcciones del barrido de potencial.

En la primera región (en la **figura 3.3a**, de -1,1 V a -0,2 V), la densidad de corriente,  $j$ , está asociada con la carga de la capacidad de la doble capa,  $C_{dc}$ , -que a su vez puede variar con el potencial- según:  $j = C(dE/dt) = Cv$ , donde  $v$  es la velocidad de barrido. Ciertas características de la doble capa deben ser derivadas estudiando esta región de potenciales con una sensibilidad mayor. La velocidad de barrido debe ser lo suficientemente grande para observar valores apreciables de  $j$  con precisión y evitar la contaminación de la superficie pero tampoco demasiado alta, ya que puede causar modificaciones irreversibles en la estructura de la superficie.

En el extremo izquierdo, se puede observar el comienzo de la reducción de los iones hidrógeno, que da lugar a una corriente catódica faradaica.

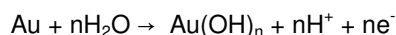
En la siguiente región (en la **figura 3a**, de -0,2 V a 0,6 V), se observan las señales correspondientes a los procesos de oxidación ( $j$  positivos) y reducción ( $j$  negativos); entonces una co-

rriente faradaica fluye a través de la interfase en respuesta al cambio de potencial con el tiempo. Los procesos superficiales – como la formación y reducción de las monocapa de óxido de oro, AuO - están electroquímicamente limitados por la cantidad del material que puede ser depositado, reducido o intercambiado en la superficie del oro, dando por lo tanto los picos de corriente.

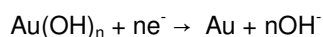
La energía de la reacción, las interacciones entre las especies en la superficie y la carga que circula a través de la interfase durante la reacción determinan, respectivamente, la posición  $E_p$  del pico de corriente en la escala de potencial, la forma del pico y el área bajo la curva  $j-E$ .

Los procesos de formación de la monocapa de óxido sobre la superficie del electrodo están fuertemente influenciados por los aniones presentes en el electrolito. Esto se debe, fundamentalmente, a la capacidad de los aniones para adsorberse específicamente en las superficies metálicas. El efecto de los aniones sobre los perfiles voltamperométricos tomados con electrodos de Au, ha sido motivo de numerosos estudios y sus características establecidas con claridad [7,8]; de hecho, la simple comparación de perfiles obtenidos en un laboratorio con los informados en la ref. [7] es prueba suficiente de la calidad del electrodo y de la pureza del medio electrolítico.

Cuando se trabaja en medio ácido, la concentración de iones hidrógeno es muy alta, por lo tanto, la formación de la monocapa de óxido y su reducción no alteran el pH en la región cercana a la superficie del electrodo. En consecuencia, no se altera el perfil de la corriente en la región de oxidación/reducción en sucesivos ciclos. En soluciones muy alcalinas, se da un efecto similar, dado que hay una elevada concentración de iones hidróxido. En cambio, en soluciones neutras que no poseen un sistema amortiguado, el pH cambia localmente en la interfase electroquímica debido a la formación de la monocapa de óxido que produce algunos iones hidrógeno en las proximidades de la superficie del electrodo:



Y la reducción de la monocapa de óxido produce  $\text{OH}^-$ :



Los resultados obtenidos en medio ácido (**figura 3.3b**) difieren sustancialmente de aquellos en medio alcalino, atribuyéndose estas diferencias a la influencia de la adsorción del  $\text{OH}^-$ , la que depende del potencial, que se solapa con la formación y especialmente la reducción del óxido. Además, en la región de formación y reducción de óxido, se producen fenómenos de reconstrucción superficial inducidos por el potencial aplicado [6].

La morfología de las curvas  $i-E$  para la formación de óxido en NaOH 0,1 M (**figura 3.3a**) es muy diferente a las obtenidas en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,0 M (**figura 3.3b**) y en solución amortiguadora (*buffer*) de fosfatos de pH 7,0 (**figura 3.4**). En NaOH 0,1 M, el primer pico positivo no corresponde a la formación de óxido [6]. En cierto grado se observa un hecho similar en medio ácido y neutro, pero usualmente a potenciales mucho menores que los correspondientes al comienzo de la formación de óxido. Al examinar el perfil hacia la dirección de mayores potenciales, en el lado positivo de la curva  $i-E$ , el segundo pico de corriente positivo, junto a un tercer pico poco definido debido a la presencia de otro proceso -probablemente el comienzo de la reacción de desprendimiento de oxígeno - es identificado con la formación de óxido. La reducción del óxido de Au se manifiesta

como un pico ancho y bien definido en el barrido negativo y centrado en 0,07 V. Se obtienen también corrientes negativas a lo largo de la región de potencial de la doble capa, las que aparecen al aumentar el límite de potencial positivo. Lo más probable es que estas corrientes se deban a la reducción de oxígeno formado en los segmentos de barrido positivo de potencial precedentes (se ha informado que la reducción de oxígeno comienza a -0,15 V en NaOH 0,1 M). Apoyando esta observación, la agitación disminuye la magnitud de las corrientes, ya que en estas condiciones se remueve el O<sub>2</sub> electrogenerado en el seno de la solución [7].

En el CV en buffer fosfato pH 7,0 (**figura 3.4**) el barrido anódico muestra que la formación de óxido comienza en 0,7V alcanzando un máximo en 0,9V y luego un mínimo en 1,1 V. El mínimo en la corriente que sigue al pico de oxidación del oro se toma como indicación de que se alcanzó el recubrimiento por la monocapa [4].

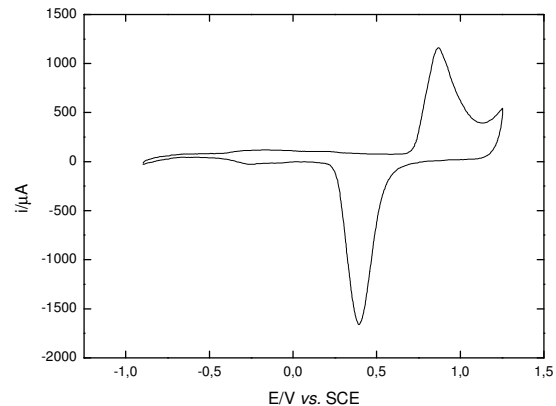
Es interesante notar que el intervalo de potenciales en el que no hay contribuciones faradaicas a la corriente, es muy diferente para cada medio electrolítico estudiado. Estas regiones de potencial, a las que suele llamarse regiones de doble capa, son aquellas en las que podría operarse un sensor sin interferencias debidas a las reacciones de formación de óxidos superficiales o a la reacción de desprendimiento de hidrógeno.

### 3.3 – Conclusiones

El sustrato metálico fue caracterizado por STM y medidas electroquímicas. Mediante las imágenes obtenidas por STM se pudo advertir que los tamaños de los granos después del tratamiento térmico eran mucho mayores (2–3 μm) en la placa sin recocer (10 – 1000 nm). Dichos granos exhibían las terrazas triangulares características de la orientación (111).

En la caracterización electroquímica en distintos medios, se obtuvieron voltagramas que poseen la misma forma que los encontrados en bibliografía [6-8] para el Au (111).

Estas dos técnicas permitieron mostrar que los métodos de preparación de las superficies son adecuados y que tanto el electrodo como las soluciones utilizadas tienen un bajo nivel de impurezas.



**Figura 3.4.** CV de Au rugoso en buffer pH 7,0 a 25°C y  $v = 200$  mV/s

### 3.4 – Referencias

- [1] (a) Lorenz, W. J.; Budevski, E. B.; Staikov, G. T. *Electrochemical phase formation and growth*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 1996; capítulo 3. (b) Herrero, E.; Buller, L. J.; Abruña, H. D. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 1897.
- [2] Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1103-1169
- [3] Finklea, H. O. En *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*; Meyers, R., Eds.; John Wiley & Sons: Chichester, 2000.
- [4] Hoogvliet, J. C.; Dijkma, M.; Kamp, B. and Van Bennekom, W. P, *Anal. Chem.* **2000**, *725*, 2016-2021
- [5] Fonticelli, M. H., Tesis, UNLP, 2002
- [6] Hamelin, A. et al., *J. Electroanal. Chem.* **1990**, *295*, 291-300
- [7] Hamelin, A. *J. Electroanal. Chem.* **1996**, *407*, 1-11
- [8] Angerstein-Kozłowska, H.; Conway, B. E.; Hamelin, A.; Stoicoviciu, L. *J. Electroanal. Chem.* **1987**, *228*, 429-453

# Capítulo 4

## **Cinética de adsorción de *n*-dodecanotiol sobre Au(111)**

En el Capítulo 1 se han mencionado algunas características de las monocapas autoorganizadas de alcanotioles sobre Au(111) y de los posibles procesos implicados en su formación. En este capítulo se presenta un estudio sobre la cinética de adsorción de dodecanotiol sobre Au(111), a partir de soluciones etanólicas con bajas concentraciones de adsorbato. Además, se discute la existencia de un intermediario fisisorbido; y las consecuencias que tendría este intermediario en la estructura de las SAMs.



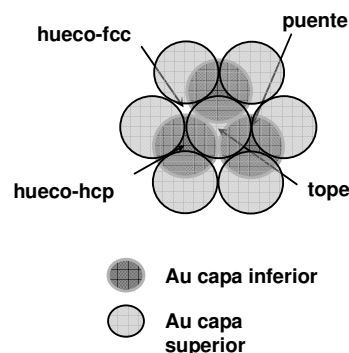
## 4.1 – Introducción

En lo referente al estudio y análisis de las estructuras de estas SAMs, se ha avanzado notablemente y se progresa en la comprensión de la información estructural [1,2]. En los experimentos de difracción superficial, en los que la mayor fracción de la radiación es dispersada por las especies en la superficie, se determinan las redes en las que se empaquetan los adsorbatos. Adicionalmente, las nanoscopías permiten “observar” la posición relativa de las especies en la superficie, obteniéndose información local. Resulta razonable, por tanto, que gracias a los diferentes aportes experimentales, se haya determinado qué redes forman los alcanotiolatos adsorbidos; en el caso de dodecanotiol sobre Au(111), las redes  $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})\text{-R}30^\circ$  y  $c(4\times 2)$  (Cap. 1).

Sin embargo, varios interrogantes permanecen aun sin responder y requieren que se continúen los estudios sobre estos sistemas. Entre las múltiples cuestiones por contestar que se plantean en la literatura, sólo nos ocuparemos de dos: (I) ¿Cuáles son los sitios de adsorción de los alcanotiolatos sobre el Au(111)? (II) ¿Mediante qué mecanismo (o mecanismos) se adsorben los alcanotioles y forman SAMs? Obviamente, dada la magnitud y complejidad de las cuestiones planteadas, sólo se pretende aquí contribuir con la formulación de posibles respuestas.

En este punto, es interesante plantear cómo puede progresarse en la comprensión de los sistemas estudiados más allá de la información experimental en sí misma. Un enfoque posible puede centrarse en avanzar sobre el modelado teórico. En este sentido, para responder cuáles son los sitios de adsorción más favorables para alcanotioles sobre Au(111), se realizaron cálculos en el contexto de la Teoría de la Funcional de Densidad (DFT) [3]; estos, arrojaron resultados diversos, probablemente debido a la presencia de mínimos locales en las superficies de energía potencial. Se encontraron diferentes sitios de adsorción posibles: hueco-fcc, hueco-hcp y puente (**figura 4.1**).

Sin embargo, dos estudios de difracción recientes indican que la adsorción del metanotiol sobre Au(111) tendría lugar sobre sitios tope [4]. Esta controversia evidente entre los resultados experimentales y teóricos ha empujado a varios grupos de investigación a realizar nuevos estudios. Miembros del Laboratorio de Nanoscopías del INIFTA y de otros centros de investigación de Europa, realizaron un trabajo, cuyo enfoque se desea destacar, en el que se propone la existencia de dos sitios para la adsorción de dodecanotiol sobre Au(111) desde solución [2]. En el mencionado trabajo, se informan nuevas medidas de “difracción de rayos X de ángulo rasante” (GIXRD), se estudian imágenes de STM en las que se observan las redes  $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})\text{-R}30^\circ$  y  $c(4\times 2)$  y se presenta un estudio electroquímico del proceso de adsorción. Esta información se analiza, junto con antecedentes bibliográficos, de manera racional y se propone la existencia de un intermediario



**Figura 4.1.** Sitios de adsorción en una superficie de Au(111)

4-2

fisisorbido durante el proceso de adsorción.

La existencia de un intermediario fisisorbido durante la adsorción de alcanotioles en solución fue postulada con anterioridad [5]; aunque no ha sido confirmada mediante argumentos concluyentes. El origen de la presunción de un intermediario fisisorbido provino, en algunos casos, de analogías con los procesos de adsorción de alcanotioles desde la fase vapor, donde su existencia está establecida de manera unívoca [6]. Además de haberse estudiado la energética de los procesos de adsorción en fase vapor, se ha informado la existencia de estructuras ordenadas durante el crecimiento de la monocapa [7]. Por el contrario, los estudios realizados en solución permiten conocer aspectos de los procesos de crecimiento de manera parcial. Mediante el seguimiento de la adsorción mediante una microbalanza de cristal de cuarzo –como el realizado por Lee *et al.* [8]-, por ejemplo, sólo es posible conocer el aumento de masa de la interfase; lo que permite realizar la evolución de la cantidad total de adsorbato que se agrega, sin distinción sobre las características energéticas o estructurales. Los estudios mediante “Generación de Segundos Armónicos” (*Second Harmonic Generation, SHG*) permiten, en cambio, obtener información sobre el proceso de quimisorción, ya que esta técnica es sensible a los cambios en las propiedades electrónicas del sustrato de Au debidas a la formación del enlace Au-S [9]. Estos hechos, sumados a la gran dispersión en las constantes de tiempo características informadas en la literatura [10], explican la necesidad de realizar la medida simultánea de una magnitud que indique cómo se modifica la cantidad de alcanotiol fisisorbida –habiéndose supuesto que estas especies existen- y de otra que permita seguir el cambio de recubrimiento de las especies quimisorbidas. Alternativamente, como se realizó en este trabajo, es posible elegir otro par de variables independientes como función del tiempo: el recubrimiento total,  $\theta_{total}$ , y el recubrimiento de especies quimisorbidas,  $\theta_{quim}$ .

En este capítulo se presenta el estudio de la cinética de adsorción de dodecanotiol realizado mediante métodos electroquímicos. Las cantidades  $\theta_{total}$  y  $\theta_{quim}$  fueron estimadas a partir de medidas voltamperométricas para diferentes tiempos de incubación y utilizando soluciones etanólicas de distintas concentraciones. Los resultados se interpretan considerando la existencia de un intermediario fisisorbido en un paso previo a la quimisorción.

## 4.2 – Determinación de recubrimientos de especies adsorbidas

### 4.2.1 – Medidas de Capacidad de la interfase: $\theta_{total}$

Las medidas de capacidad de la interfase y las curvas de desorción del dodecanotiol se realizaron utilizando soluciones acuosas 0,1 M en NaOH como electrolito soporte y con una velocidad de barrido,  $v$ , de 0,050 V/s.

Luego de la incubación, una vez colocados en la celda electroquímica, los electrodos fueron sometidos a barridos lineales de potencial entre el potencial inicial,  $E_i$ , ( $E_i = -0,4$  V) y el potencial final,  $E_f$ , ( $E_f = -0,6$  V). En esta ventana de potencial,  $E$ , en la que no hay reacciones faradaicas ni pseudofaradaicas ( $-0,6$  V <  $E$  <  $-0,4$  V) en solución NaOH 0,1 M. La capacidad de la interfase ET/solución puede deducirse a partir de la medida de la diferencia entre las densidades

de corriente correspondientes a los barridos en sentido positivo,  $j_{dc}^+$ , y negativo,  $j_{dc}^-$ , las que están dadas por [11]:

$$j_{dc}^+ = v C_{dc} \quad (4.1)$$

$$j_{dc}^- = -v C_{dc} \quad (4.2)$$

A partir de las ecuaciones (4.1) y (4.2), se deduce:

$$j_{dc}^+ - j_{dc}^- = 2v C_{dc} \quad (4.3)$$

Entonces, la diferencia  $j_{dc}^+ - j_{dc}^-$ , también llamada "ancho de la doble capa" es una medida directa de  $C_{dc}$ , ya que la velocidad de barrido es una constante.

Las ecuaciones (4.1) y (4.2) son válidas en los casos en los que la capacidad interfacial ET/solución sea mucho menor que la correspondiente al contraelectrodo. Esto puede entenderse interpretando a este par de electrodos inmersos en la solución electrolítica mediante un circuito equivalente. Si se considera a este circuito como el formado por dos capacitores conectados en serie, su capacidad equivalente,  $C_{celda}$ , puede obtenerse a partir de la suma de los inversos multiplicativos de las capacidades de los pares ET/solución,  $C_{dc}$  y CE/solución,  $C_{dc}^{CE}$ :

$$1/C_{celda} = 1/C_{dc} + 1/C_{dc}^{CE} \quad (4.4)$$

$$C_{celda} = C_{dc} C_{dc}^{CE} / (C_{dc} + C_{dc}^{CE}) \quad (4.5)$$

Puesto que el CE tiene un área mucho mayor que el ET, la citada condición ( $C_{dc} \ll C_{dc}^{CE}$ ) se cumple y puede aceptarse la aproximación:

$$C_{celda} \cong C_{dc} \quad (4.6)$$

Las capacidades de las interfases dependen de diversos factores; entre ellos, los recubrimientos y la naturaleza de las especies adsorbidas. Por simplicidad, considérese un electrodo que inicialmente está en contacto con agua (la situación de los electrodos en la celda es aún más compleja puesto que en la solución hay iones disueltos), un medio con permitividad relativa cercana a 80, y que cuya capacidad es  $C_0$ . Si en la región interfacial se adsorben especies, tales como los alcanotioles, que producen un descenso de la constante dieléctrica del medio, se observará una disminución de la capacidad de la interfase,  $C$ , la que dependerá del recubrimiento de las especies adsorbidas. La capacidad mínima se observa cuando el recubrimiento es máximo, condición que se alcanza al formarse una monocapa de alcanotiol sobre el electrodo; por ello, se la designará con  $C_{mono}$ . Se ha demostrado, dado que la capacidad de la interfase disminuye linealmente con el recubrimiento, que las medidas de las capacidades permiten estimar el recubrimiento total,  $\theta_{tot}$ , de las especies adsorbidas mediante la ecuación siguiente ecuación, propuesta por Frumkin [12]:

$$\theta_{total} = (C_0 - C)/(C_0 - C_{mono}) \quad (4.7)$$

Dos de las cantidades en la ecuación (4.7),  $\theta_{total}$  y  $C$ , son funciones del tiempo durante la formación de una monocapa. Por tanto, tal como se ha hecho en estudios de la cinética de adsorción de alcanotioles mediante espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) [13], es posible utilizar las medidas de capacidad interfaseal con el fin de estudiar la evolución temporal del

recubrimiento total. Entonces, remarcando la dependencia con el tiempo, se expresa:

$$\theta_{total}(t) = (C_0 - C(t)) / (C_0 - C_{mono}) \quad (4.8)$$

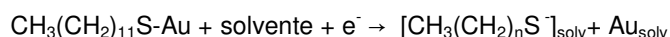
Nótese que las capacidades  $C_0$ ,  $C(t)$  y  $C_{mono}$  dependen del área del electrodo. Sin embargo, si esas cantidades son determinadas utilizando el mismo electrodo, no resulta necesario conocer el área del mismo, puesto que esta se cancela al realizar el cociente entre las diferencias.

#### 4.2.2 – Curvas de electrodesorción: $\theta_{quim}$

La voltamperometría de barrido lineal ha sido utilizada, además, para estimar el recubrimiento de especies adsorbidas,  $\theta_{quim}$ . Esta técnica es utilizada frecuentemente para estimar recubrimientos ya que permite, además de proveer información cuantitativa, evaluar cualitativamente los procesos estudiados. La presencia de impurezas en la solución o de artefactos indeseados en las señales, pueden identificarse fácilmente durante las medidas por simple observación de las curvas  $j$ - $E$ . Sin embargo, la principal desventaja en estimación de recubrimientos radica en que la concentración superficial de especies adsorbidas no se determina en forma directa, sino a través de la carga voltamperométrica,  $Q$ . La relación entre esta última y el exceso superficial de adsorbatos,  $\Gamma$ , es sencilla si es posible separar la contribución de la doble capa y no se produce adsorción específica de aniones. En ese caso, durante la electrodesorción de una SAM, la corriente se compone de dos contribuciones que supondremos separables: (i) carga de la doble capa; y (ii) transferencia de carga con las especies adsorbidas. Una aproximación frecuente, consiste en suponer que la primera contribución puede determinarse realizando medidas de CV en electrolito soporte. Tal suposición es válida, sólo si la estructura de la doble capa no se modifica debido a la presencia de especies adsorbidas. Esto difícilmente ocurre; sin embargo, los cambios cuantitativos en la densidad de corriente debida a la carga de la doble capa,  $j_{dc}(E)$ , suelen ser pequeños en comparación con las densidades de corrientes correspondientes a los procesos faradáicos o pseudofaradáicos,  $j(E)$ . Nótese que se ha indicado la dependencia de las dos cantidades mencionadas con el potencial. Si es posible estimar la corriente  $j_{dc}(E)$ , entonces, la integración de la corriente como función del tiempo permite obtener la carga debida al proceso de electrodesorción:

$$Q_{des} = n_{RS} F \Gamma_{RS_{ads}} = \int_{\text{electrodesorción}} |j(E) - j_{dc}(E)| dt \quad (4.9)$$

Donde  $Q_{des}$ , es la carga correspondiente a la electrodesorción de alcanotiolatos,  $n_{RS}$  es el número de electrones aparentes intercambiados en el proceso -el que está directamente relacionado con la “valencia de electroadsorción” [11]-,  $F$ , la constante de Faraday y  $\Gamma_{RS}$  el exceso superficial de alcanotiolatos. Para alcanotioles adsorbidos sobre Au, la electrodesorción implica la transferencia de un electrón por cada alcanotiolato [14]; por tanto,  $n_{RS} = 1$ .



Con el fin de estudiar la evolución temporal de la cantidad de alcanotiol quimisorbido, se realizaron curvas de electrodesorción para diferentes tiempos de incubación. La carga asociada

con el pico de electrodesorción,  $Q(t)$ , resultó mayor a medida que utilizaron mayores tiempos de inmersión. Para estimar el recubrimiento de especies quimisorbidas,  $\theta_{\text{quim}}(t)$ , se realizaron los cocientes entre las  $Q(t)$  y la máxima carga obtenida,  $Q_{\text{mono}}$ , la que corresponde a la formación de una monocapa.

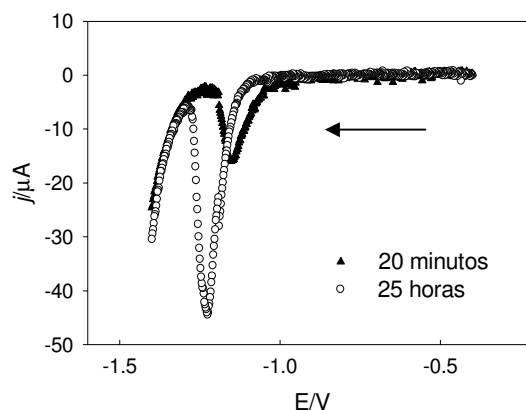
$$\theta_{\text{quim}}(t) = Q(t) / Q_{\text{mono}} \quad (4.10)$$

Nuevamente, dado que el recubrimiento se calculó como el cociente entre dos magnitudes que son proporcionales al área del electrodo, no es necesario determinar el área del electrodo con precisión. Sin embargo, con el fin de asegurar la calidad de las determinaciones y desechar posibles fuentes de error –las que podrían provenir de una modificación del área durante el recocido, por ejemplo-, se verificó periódicamente la constancia del área de los electrodos utilizados, realizando voltamperogramas, con electrodos limpios y recocidos, en ácido sulfúrico 1 M (Capítulo 3).

Luego de la incubación y de la medida de la capacidad, tal como se explicó en la sección anterior, se tomaron registros voltamperométricos ampliando el rango de potenciales ( $-0,6 < E < -1,4$  V), de modo tal que incluyera la región en la que se produce la electrodesorción de los alcanotiolatos. Este proceso se manifiesta como un pico agudo, que corresponde a un proceso de reducción, cuyo potencial de pico,  $E_p$ , es -1,15 V [14,15] (**figura 4.2**).

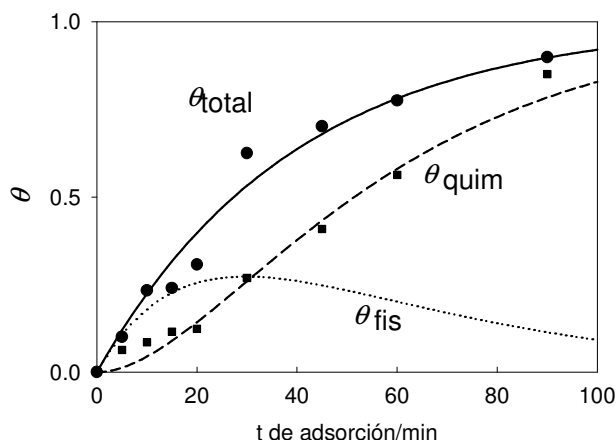
### 4.3 – Resultados y Discusión

En la **Figura 4.2** se representan curvas de polarización catódicas, obtenidas con electrodos modificados con solución etanólica  $5 \times 10^{-7}$  M de dodecanotiol, para diferentes tiempos de inmersión. Puede observarse que el área correspondiente al pico de reducción de las especies quimisorbidas aumenta con el tiempo de inmersión. Por otra parte, el potencial del pico,  $E_p$ , se desplaza hacia valores más negativos de potencial a medida que aumenta  $t$ , y, simultáneamente, se produce una disminución del ancho de pico a mitad de altura,  $\Delta E_{p,1/2}$ . De lo anterior puede inferirse que a medida que aumenta el recubrimiento de especies quimisorbidas aumenta la estabilidad de las mismas en la superficie y se favorecen sus interacciones laterales atractivas. La representación de  $\theta_{\text{quim}}$  en función  $t$  (**figura 4.3**) muestra un aumento monótono del recubrimiento con el tiempo de inmersión.



**Figura 4.2.** Curvas de polarización catódica para diferentes tiempos de incubación. NaOH 0,1M  $v = 0.05 \text{ V s}^{-1}$

**Figura 4.3.** Curvas de recubrimiento vs. tiempo obtenidas mediante medidas electroquímicas: recubrimiento total (●) proveniente de medidas de capacidad; recubrimiento de especies quimisorbidas (■) proveniente de las curvas de electrodesorción. Las curvas corresponden a ajustes de  $\theta_{total}$  (trazo continuo),  $\theta_{quim}$  (línea discontinua) y  $\theta_{fis}$  (trazo de puntos). La modificación del sustrato se realizó en solución etanólica  $5 \times 10^{-7}$  M en dodecanotiol



El recubrimiento total,  $\theta_{total}$ , también aumenta a medida que se utilizan tiempos de incubación mayores. Sin embargo, esta cantidad es significativamente mayor en los estadios iniciales que  $\theta_{quim}$  en el dominio temporal representado en la **figura 4.3**. Resulta evidente, por tanto, que -aún considerando la posibilidad de errores sistemáticos en las medidas-  $\theta_{quim}$  y  $\theta_{total}$  evolucionan de manera diferente. Esta diferencia entre los recubrimientos iniciales puede explicarse considerando la existencia de especies fisorbidas como intermediarias en el proceso de formación de las SAMs de dodecanotiol. Suponer que existe una fase superficial formada por adsorbatos fisorbidos resulta razonable, ya que la disminución de la capacidad de la interfase se ve afectada de igual forma más allá del modo en que estén presentes las especies adsorbidas. En cambio, sólo las especies quimisorbidas son electrodesorbidas con intercambio de carga con el metal. Aunque la existencia de especies fisorbidas fue sugerida con anterioridad [5,16] no se habían efectuado, hasta la realización de este trabajo, ensayos en los que se compararan recubrimientos obtenidos con técnicas sensibles a la cantidad de adsorbatos totales con la correspondiente a especies quimisorbidas. Las medidas electroquímicas realizadas en este trabajo permiten discriminar la naturaleza de las especies adsorbidas y, por ello, apoyar la existencia de un intermediario fisorbido; cuyo recubrimiento  $\theta_{fis}$ , se calcula como la diferencia entre  $\theta_{total}$  y  $\theta_{quim}$ .

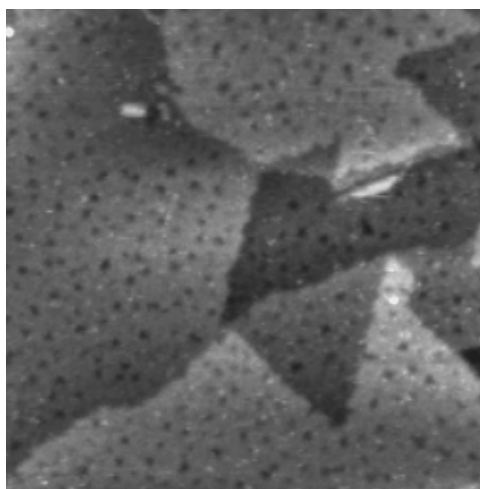
$$\theta_{fis} = \theta_{total} - \theta_{quim} \quad (4.11)$$

Usualmente, en nuestro laboratorio, las SAMs se preparan utilizando concentraciones entre  $5 \times 10^{-5}$  M y  $5 \times 10^{-3}$  M de alcanotioles en diferentes solventes orgánicos. En las experiencias realizadas en este rango de composiciones se determinó  $\theta_{quim}$  en función del tiempo. El proceso de quimisorción se produjo en un 90 % en tiempos menores que 60 s. Ya que las operaciones realizadas en las determinaciones de  $\theta_{quim}$  requieren al menos 90 s, no puede utilizarse el procedimiento descrito para la determinación de cantidades tales como constantes de velocidad. Sin embargo, ha sido posible acotar los intervalos de tiempo necesarios para la formación de fases superficiales quimisorbidas.

De lo expresado arriba se deduce que es conveniente analizar con detenimiento los resultados obtenidos con bajas concentraciones de dodecanotiol ( $5 \times 10^{-7}$  M). Sin embargo, ello implica tener en cuenta la posibilidad de que la adsorción ocurra con un control mixto; con

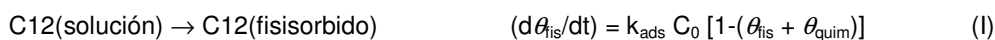
influencia de los procesos de transferencia de materia, desde el seno de la solución hacia la interfase, en la velocidad del proceso de adsorción. Este inconveniente no se presentaría con concentraciones elevadas, ya que la cantidad de adsorbato necesario para formar una monocapa es muy pequeña ( $7,70 \times 10^{-10}$  mol  $\text{cm}^{-2}$  para una SAMs con estructura  $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$ ) y no produciría una modificación apreciable en la concentración en la región cercana al electrodo. En cambio, si se intenta estimar el tiempo necesario para que se forme una monocapa de alcanotiol mediante control difusional, suponiendo difusión plana semiinfinita y concentración  $5 \times 10^{-7}$  M, se encuentra que no se satisfacen las condiciones para utilizar la ecuación de Cottrell [11], la que implica sólo transporte difusional. Con concentraciones muy bajas, el tiempo necesario para que difunda la mencionada cantidad de adsorbato es muy grande (mayor que cien minutos) y se presentan contribuciones al transporte de materia debidas a la convección (en las condiciones en las que se trabaja, convección natural).

El proceso de formación de una SAM de dodecanotiol es extremadamente complejo; por ello, difícilmente pueda comprenderse mediante un modelo simple. Este implica, al menos, los siguientes pasos: (a) transporte desde el seno de la solución a la interfase, (b) fisiorción, (c) quimisorción (d) formación de fases ordenadas. Cabe mencionar que no se conoce el orden con el que ocurren los dos últimos pasos o si se dan en forma simultánea. Además, durante la formación de las SAMs de alcanotioles se modifica la superficie de Au(111), formándose agujeros cuya profundidad es igual a la altura de una o dos capas de Au(111) [17] (**figura 4.4**).



**Figura 4.4.** Imagen de STM de Au (111) modificado con *n*-dodecanotiol en un campo de  $100 \times 100$  nm<sup>2</sup>

Con el fin de interpretar adecuadamente la información obtenida experimentalmente y sostener la existencia del intermediario fisiorbido, se propone un esquema de reacción que implica dos procesos: (I) la formación de una fase constituida por especies fisiorbidas, (II) la formación de especies quimisorbidas a partir del intermediario fisiorbido. Cada uno de estos procesos puede implicar varias etapas elementales y, además, ocurrir por distintos mecanismos. Sin embargo, a pesar de no tratarse de etapas elementales, se propone, por sencillez y carencia de información adicional, un formalismo que implica solo dos pasos y procesos de primer orden o pseudo primer orden:



C12 se refiere tanto a dodecanotiol, en solución o fisiorbido, como a alcanotiolato, fisiorbido o quimisorbido. Además,  $C_0$  es la concentración de dodecanotiol en la solución,  $k_{\text{ads}} C_0$  juega el

papel de una constante de pseudo primer orden ( $k_1 = k_{\text{ads}} C_0$ ) para la formación de especies fisisorbidas y  $k_{\text{quim}}$  es una constante de primer orden. Cabe destacar que la velocidad del primer proceso es proporcional a la concentración de alcanotiol en la solución y a la cantidad de sitios en la superficie que no han sido recubiertos por adsorbatos. A estas suposiciones se las suele hacer al utilizar el modelo de Langmuir [18]. Sin embargo, debe considerarse que el primer proceso incluye, a diferencia de lo que ocurre en un proceso de adsorción de tipo Langmuir, las limitaciones impuestas por el transporte de materia. La velocidad del segundo proceso es, simplemente, proporcional a  $\theta_{\text{fis}}$ . Así, se descarta implícitamente la posibilidad de que los adsorbatos se quimisorban directamente desde la solución, la que podría considerarse agregando, en el segundo miembro de la ecuación (II), un sumando que la contemplara. La omisión de la mencionada alternativa -quimisorción sin considerar la formación de un intermediario- se ha justificado considerando los posibles sitios de adsorción observados en monocapas completas. La formación de intermediarios fisisorbidos, y la quimisorción a partir de ellos, apoya el modelo que explica la posibilidad de existencia de dos sitios de adsorción para SAMs de dodecanotiol sobre Au(111) [2].

La integración de las leyes de velocidad de los procesos (I) y (II), con las condiciones iniciales,  $\theta_{\text{fis}} = 0$  y  $\theta_{\text{quim}} = 0$  para  $t = 0$ , resulta:

$$\theta_{\text{fis}}(t) + \theta_{\text{quim}}(t) = 1 - \exp(-k_{\text{ads}} C t) \quad (4.12)$$

$$\theta_{\text{quim}}(t) = 1 - \left( \frac{k_{\text{quim}}}{k_{\text{quim}} - k_{\text{ads}} C} \right) \exp(-k_{\text{ads}} C t) + \left( \frac{k_{\text{ads}} C}{k_{\text{quim}} - k_{\text{ads}} C} \right) \exp(-k_{\text{quim}} t) \quad (4.13)$$

Las cantidades  $\theta_{\text{total}} = (\theta_{\text{fis}} + \theta_{\text{quim}})$  y  $\theta_{\text{quim}}$  son accesibles experimentalmente y están representadas en la **figura 4.3**. El ajuste simultáneo de los datos experimentales mediante el método de cuadrados mínimos no lineales, permitió obtener valores de las constantes de velocidad,  $k_{\text{ads}}$  y  $k_{\text{quim}}$ , con los que se trazaron las curvas mostradas en la mencionada figura. Estos valores, son:  $k_{\text{ads}} = 5,1 \times 10^4 \text{ min}^{-1} \text{ M}^{-1}$  y  $k_{\text{quim}} = 4,4 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ .

Utilizando estas constantes de velocidad, calculadas mediante ajuste de los datos experimentales obtenidos con  $C_0 = 5 \times 10^{-7} \text{ M}$ , se simularon curvas  $\theta_{\text{total}}(t)$ ,  $\theta_{\text{fis}}(t)$  y  $\theta_{\text{quim}}(t)$  para diferentes valores de  $C_0$ . Las curvas correspondientes a  $C_0 = 5 \times 10^{-7} \text{ M}$ , se muestran en la **figura 4.3**. Las curvas difieren de una concentración a otra puesto que el primer proceso, que influye sobre el segundo, es de pseudo primer orden y su velocidad depende de  $C_0$ .

Los experimentos realizados utilizando  $C_0 = 2 \times 10^{-6} \text{ M}$  pudieron interpretarse mediante las curvas calculadas con las constantes de velocidad mencionadas. Lo que indica que el ajuste es satisfactorio para bajas concentraciones. Sin embargo, las curvas calculadas para altas concentraciones de alcanotiol, indican que rápidamente se alcanza un recubrimiento de especies fisisorbidas cercano a la unidad; y que el tiempo necesario para la quimisorción de la mitad de una monocapa,  $t_{1/2}$ , ( $t_{1/2} \sim 15 \text{ min}$  para  $C_0 = 5 \times 10^{-5} \text{ M}$  y  $C_0 = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) es mucho mayor que el observado experimentalmente. ( $t_{1/2} < 2 \text{ min}$ ). Por tanto, se deduce que para altas concentraciones



la adsorción ocurre mediante un mecanismo diferente del que puede ajustarse con el modelo propuesto. Probablemente esto pueda explicarse considerando que, a altas concentraciones, los procesos de transporte de materia no contribuyen significativamente al control del proceso.

#### 4.4 – Conclusiones

Mediante medidas electroquímicas se ha investigado el proceso de adsorción de *n*-dodecanotiol sobre Au(111). Esto se realizó estudiando la evolución temporal de dos magnitudes independientes: la concentración superficial total de adsorbatos y la de especies quimisorbidas. Puesto que ambas cantidades presentaron diferencias significativas, en un amplio intervalo de tiempo, se postuló la existencia de un intermediario de reacción fisisorbido en la superficie. Tal suposición permitió proponer un esquema de reacción que consta de dos procesos y lograr un buen ajuste de los datos experimentales a bajas concentraciones.

A altas concentraciones, en condiciones en que no se esperan limitaciones debidas a procesos de transferencia de materia, el esquema de reacción propuesto no explica los resultados obtenidos. Lo que podría deberse a un cambio en el mecanismo o en las etapas determinantes de la velocidad de adsorción.

La existencia de un intermediario fisisorbido, sumada a información estructural obtenida mediante técnicas de difracción superficial y STM y a la obtenida mediante cálculos de DFT, apoya un modelo que explica la existencia de dos sitios de adsorción para alcanotiolatos sobre Au(111).

#### 4.5 – Referencias

- [1] Vericat, C.; Vela, M. E.; Salvarezza, R. C. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 3258-3268.
- [2] Torrelles, X.; Vericat, C.; Vela, M. E.; Fonticelli, M. H.; Daza Millone, M. A.; Felici, R.; Lee, T.-.; Zegenhagen, J.; Munoz, G.; Martin-Gago, J. A.; Salvarezza, R. C. *J. Phys. Chem. B.*, **2006**, *110*, 5586-5594.
- [3] (a) Beardmore, K. M.; Kress, J. D.; Bishop, A. R.; Grønbech- Jensen, N. *Synthetic Metals* **1997**, *84*, 317-318; Beardmore, K. M.; Kress, J. D.; Grønbech- Jensen, N.; Bishop, A. R. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *286*, 40-45; (b) Grönbeck, H.; Curioni, A.; Andreoni, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3839-3842; (c) Yourdshahyan, Y.; Zhang, H. K.; Rappe, A. M. *Phys. Rev. B* **2001**, *63*, 081405R; (d) Vargas, M. C.; Gianozzi, P.; Selloni, A.; Scoles, G. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 9509-9513; (e) Hayashi, T.; Morikawa, Y.; Nozoye, H. *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 7615-7621; (f) Akinaga, Y.; Nakajima, T.; Hirao, K. *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 8555-8564; (g) Gottschalck, J.; Hammer, B. *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 784-790; (h) Yourdshahyan, Y.; Rappe, A. *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 825-833; (i) Cometto, F. P.; Paredes-Olivera, P.; Macagno, V. A.; Patrito, E. M.; *J. Phys. Chem. B.* **2005**, *109*.
- [4] (a) Kondoh, H.; Iwasaki, M.; Shimada, T.; Amemiya, K.; Yokohama, T.; Ohta, T.; Shimomura, M.; Kono, S. *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *90*, 066102. (b) Roper, M. G.; Skegg, M. P.; Fisher, C. J.; Lee, J. J.; Dhanak, V. R.; Woodruff, D. P.; Jones, R. G. *Chem. Phys. Lett.* **2004**, *389*, 87-91.
- [5] Tamada, K.; Hara, M.; Sasabe, H.; Knoll, W. *Langmuir*, **1997**, *13*, 1558-1566.
- [6] Lavrich, D. J.; Wetterer, S. M.; Bernasek, S. L.; Scoles, G. *J. Phys. Chem. B.* **1998**, *102*, 3456-3465

- [7] Poirier, G. E.; Pylant, E. D. *Science* **1996**, *272*, 1145-1148.
- [8] Kim, H. J.; Kwak, S.; Kim, Y. S.; Seo, B. I.; Kim, E. R.; Lee, H. *Thin Solid films* **1998**, *327-329*, 191-194.
- [9] Dannenberger, O.; Buck, M.; Grunze, M. *J. Phys. Chem. B.* **1999**, *103*, 2202-2213.
- [10] Schwartz, D. K. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2001**, *52*, 107-137.
- [11] Bard, A.J., Faulkner, L.R. “*Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications*”, 2da. Edición, John Wiley & Sons, New York, 2001.
- [12] B. B. Damaskin, O. A. Petri, V. V. Batrakov, *Adsorption of Organic Compounds on Electrodes*, Plenum Press, New York, 1971, pág. 114.
- [13] R. Subramanian, V. Lakshminarayanan, *Electrochim. Acta* **2000**, *45*, 4501-4509
- [14] Kakiuchi, T.; Usui, H.; Hobara, D.; Yamamoto, M. *Langmuir* **2002**, *18*, 5231.
- [15] Fonticelli, M.; Azzaroni, O.; Benitez, G.; Martins, M. E.; Carro, P.; Salvarezza, R. C. *J. Phys. Chem. B.* **2004**, *108*(6), 1898-1905.
- [16] Dannenberger, O.; Buck, M.; Grunze, M. *J. Phys. Chem. B.*, **1999**, *103*, 2202-2213.
- [17] Schreiber, F. *J. Phys.: Condens. Matter* **2004**, *16*, R881-R900
- [18] Chang, C. H.; Franses, E. I. *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **1995**, *100*, 1-45.

# Capítulo 5

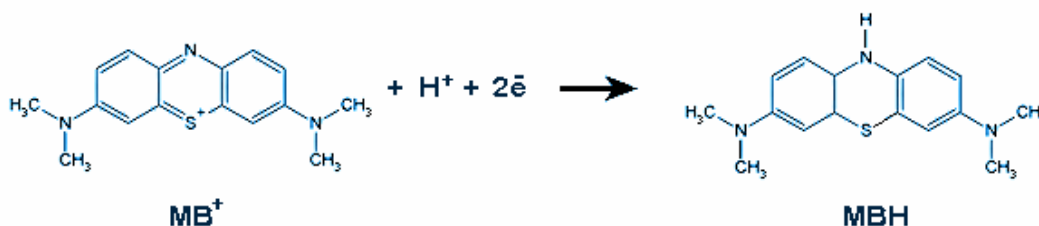
## **Azul de metileno sobre yodo**

En este capítulo se describe la inmovilización del azul de metileno sobre un sustrato de Au(111) cubierto por una monocapa de yodo. Asimismo se comentan las posibles utilidades de este sistema en biosensores y la relevancia de la molécula de azul de metileno como agente terapéutico.

## 5.1 – Introducción

El uso de moléculas y macromoléculas inmovilizadas sobre SAMs en metales ha resultado ser una ruta efectiva para el control de la química de la superficie en diferentes aplicaciones como sensores químicos, biosensores, y en el campo de catálisis heterogénea [1]. La SAM actúa como espaciador entre las moléculas inmovilizadas –iones, moléculas orgánicas, biomoléculas, nanopartículas, etc.- y el sustrato metálico permitiendo la transferencia de electrones, lo que es un punto clave para el desarrollo de sensores químicos y biosensores. La molécula espaciadora puede exponer distintos grupos funcionales permitiendo un anclaje selectivo.

El azul de metileno (MB) se encuentra como ion positivo en soluciones neutras y alcalinas y posee características redox interesantes debido a su similitud con el nucleótido de adenín nicotinamida (NADH) y el dinucleótido de adenín flavina (FAD), que actúan como transportadores de electrones en muchos procesos biológicos en los organismos vivos [2]. La reacción redox que involucra al MB es la siguiente:



donde MB<sup>+</sup> y MBH son respectivamente las formas oxidada (catiónica) y reducida (leuco) del azul de metileno. La carga positiva de la forma catiónica está localizada principalmente sobre el átomo de S [3]. Esta hidrogenación del átomo de N, que también tiene lugar en el NAD<sup>+</sup> y FAD, es rápida y reversible [4].

Se sabe que el MB es aceptor de electrones de las enzimas flavín-deshidrogenasas. De hecho, el MB en solución es capaz de aceptar electrones del complejo FAD-glucosa oxidasa (Gox) aún estando el centro activo del FAD inmerso 1,3 nm dentro de Gox, protegido por un ambiente hidrofóbico [2]. Por ello, el estudio de la molécula de MB en ambientes hidrofóbicos es importante para comprender el compartimiento redox en sistemas biológicos. Con este fin, el MB soportado sobre sustratos de estructura definida puede ser considerado como un sistema simple para estudiar los aspectos básicos de los procesos de transferencia de carga en las enzimas y las fuerzas que actúan sobre las moléculas redox y las llevan a su posición exacta en la cual tiene lugar la transferencia de carga desde o hacia la enzima.

Otra razón por la cual ha surgido un creciente interés en el MB es que se trata de una molécula fotoactiva: tiene potenciales aplicaciones en terapia fotodinámica\* para la eliminación selectiva de bacterias, hongos, virus y células cancerosas, entre otros [5].

El MB puede ser inmovilizado sobre SAMs de alcanotioles e incluso en adsorbatos más

\* La terapia fotodinámica es un método alternativo para el tratamiento de tumores malignos, que involucra la administración de un fotosensibilizador -un agente terapéutico que tiene la particularidad de ser retenido selectivamente por las células tumorales- seguida por su activación por medio de la luz visible.

simples [3]. De hecho, el MB se adsorbe en electrodos de Au (111) cubiertos de azufre, obteniéndose una monocapa activa electroquímicamente [4]. Esta monocapa de S constituye un espaciador delgado que permite una transferencia electrónica altamente eficiente. Además, provee monocapas ordenadas y de espesor definido pero la desventaja es que no es biocompatible. Por el contrario, el yodo -que posee características similares al azufre por las propiedades en diagonal de la tabla periódica- se encuentra ampliamente distribuido en los sistemas biológicos [2] y puede formar monocapas que constituyan un espaciador delgado [3].

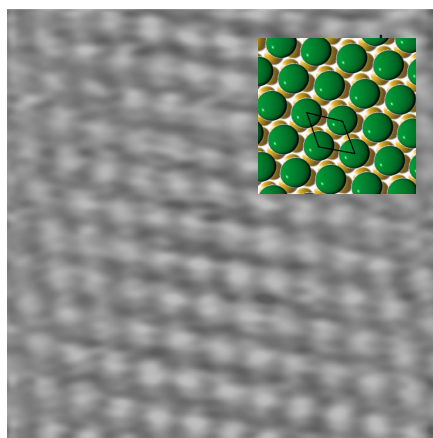
Para explorar el uso de este sistema en biosensores, en aplicaciones biocatalíticas o entrega electroquímica de moléculas fotoactivas, se necesita una completa caracterización del sustrato y del sistema molecular autoorganizado. Por ello, en este trabajo se estudia la inmovilización de moléculas de MB en sustratos de Au (111) cubiertos por una monocapa de yodo en soluciones neutras mediante el uso de técnicas electroquímicas, STM y espectroscopías Auger y Raman.

## 5.2. - Resultados

### 5.2.1 – Au(111) cubierto por una monocapa de yodo

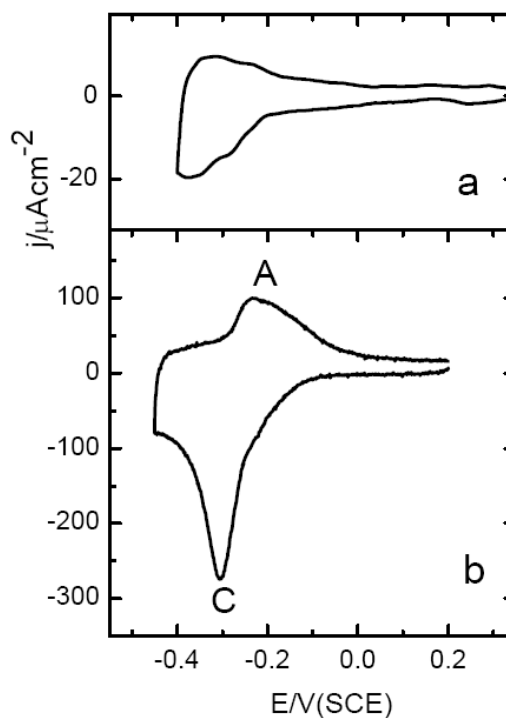
Se tomaron imágenes del sustrato de Au (111) cubierto de I (**figura 5.1**), donde se pueden apreciar esferas brillantes que forman una red hexagonal. Éstas corresponden a los adátomos de I que se encuentran sobre los átomos del sustrato Au (111) formando una red  $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$  R30° con  $\sim 0,5$  nm de distancia entre vecinos [6] que cubre toda la superficie (ver recuadro en la **figura 5.1**).

En la **figura 5.2a** se muestra un voltograma cíclico de Au (111) cubierto por una monoca-

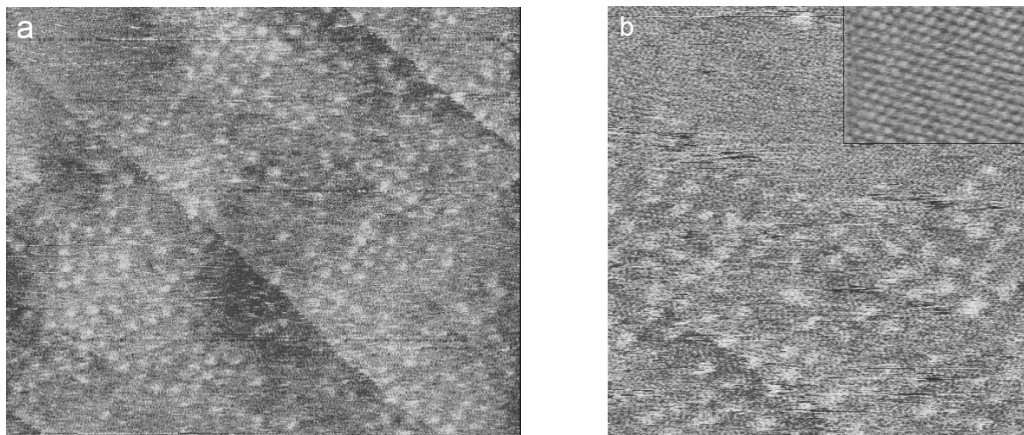


▲ **Figura 5.1.** Imagen de STM de  $5,28 \times 5,28 \text{ nm}^2$  de la red  $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$  R30° de la monocapa de I con  $d = 0,5 \text{ nm}$  soportada en Au (111). El recuadro muestra un esquema de dicha red; esferas doradas = Au y esferas verdes = I

► **Figura 5.2.** CVs para a) electrodo de Au(111) cubierto por  $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$  R30° y b) electrodo de Au(111) cubierto por I  $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$  R30° con MB en buffer oH = 6 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,1M +  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0.1M) a 50 mV/s



pa de I en solución buffer de fosfato ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,1M +  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,1M, ajustado a pH = 6 con NaOH 0,1 M) efectuado a una velocidad de barrido  $v = 50$  mV/s. El pico en la corriente catódica localizado a -0,38 V se observa también en electrolitos ácidos y ha sido asignado a la electrodesorción parcial de los átomos de I o a cierta reacomodación de la capa adsorbida [6]. En el barrido positivo, ocurre la reacción inversa y se detecta un pico anódico a -0,32 V. La desorción completa del I ocurre a potenciales menores a -0,4 V [7]. Este voltograma demuestra claramente el rango de estabilidad del espaciador, un hecho crucial para construir estructuras moleculares.



**Figura 5.3.** a) Imagen de STM de  $67,7 \times 56 \text{ nm}^2$  de MB inmovilizado sobre Au(111)-I b) Imagen de STM de alta resolución ( $32,34 \times 32,34 \text{ nm}^2$ ) mostrando el detalle de las manchas brillantes de 1,5 nm de largo y 0,9 nm de espesor. El recuadro muestra una imagen de STM de alta resolución ( $8,17 \times 5,84 \text{ nm}^2$ ) de la red  $\sqrt{3} \times \sqrt{3} R30^\circ$  del I tomada en una zona entre regiones cubiertas por MB adsorbido (manchas brillantes).

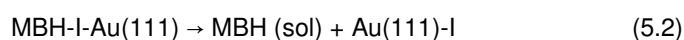
## 5.2.2 – MB inmovilizado en una monocapa de yodo sobre Au (111)

Una vez caracterizado el sustrato – Au (111) cubierto por I - se efectuó la inmersión en MB. Las imágenes de STM de las terrazas de Au cubiertas por I muestran arreglos de esferas de  $\sim 1,5$  nm de largo y 0,9 nm de espesor (**figura 5.3a**). Como el recubrimiento de la superficie no fue completo, se pueden observar zonas donde aparece la red  $\sqrt{3} \times \sqrt{3} R30^\circ$  del I (**figura 5.3b** y recuadro). La distancia de 0,5 nm no sufrió cambios lo que indica que la adsorción de MB no produjo reestructuración de la monocapa de I.

En la **figura 5.2b** se muestra el voltograma cíclico para el sistema MB-I-Au(111) en buffer fosfato pH = 6. El límite catódico de -0,45 V fue elegido para evitar la reacción de desorción del yodo [7]. A -0,30 V se observa claramente un pico catódico, mientras que el pico anódico –de menor tamaño- aparece a -0,24 V. El pico catódico corresponde a la reducción del  $\text{MB}^+$  inmovilizado hacia MBH de acuerdo a:



La menor carga en el pico anódico con respecto al catódico indica que las especies MBH reducidas no permanecen adsorbidas en la monocapa de I. Esto se debe a que la interacción entre las especies MBH y la monocapa de yodo es débil. Entonces:



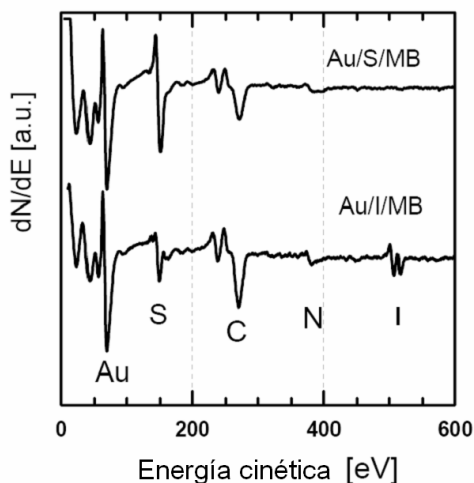
donde (sol) indica que las moléculas de MBH están en solución. Estas reacciones sugieren que la inmovilización del azul de metileno sobre yodo resulta de la interacción electrostática entre las especies  $MB^+$  y los átomos de yodo, que permanecen cargados negativamente después de su adsorción sobre la superficie de Au (111) [6].

La densidad de carga calculada para el pico catódico fue de  $35 \mu C cm^{-2}$ , esto es equivalente a un recubrimiento de la superficie por el  $MB^+$  cercano al 70%. Estos resultados muestran que una gran cantidad de  $MB^+$  permanece inmovilizado en el sustrato Au (111)-I para valores de potencial más positivos que  $-0,05 V$ . La reversibilidad de los picos catódicos y anódicos sugiere que ocurre una rápida transferencia de carga entre la superficie de Au (111) y las moléculas de MB a través de la monocapa de yodo.

### 5.3. - Discusión

Los experimentos realizados en este capítulo se realizaron en conjunto con María Elena Vela, Carolina Vericat, Mariano Fonticelli, Guillermo Benitez y Roberto Salvarezza del INIFTA –con quienes realicé las medidas de STM y de voltamperometría cíclica- y Nicolás G. Tognalli y Alejandro Fainstein del Centro Atómico Bariloche e Instituto Balseiro, habiéndose empleado espectroscopía de electrones Auger y espectroscopía Raman como técnicas adicionales para la mejor comprensión del sistema [8].

La espectroscopía de electrones Auger (AES) puede ser utilizada para obtener información precisa acerca de la composición elemental de los adsorbatos en superficies sólidas. La **figura 5.4** muestra un espectro Auger de un sustrato de Au(111) cubierto de yodo después de la inmovilización de azul de metileno. Este espectro muestra, además de las señales de Au(NVV) e I(MNN), las señales de N(KLL) y S(LMM) que provienen del azul de metileno, por lo tanto, es una prueba de que el MB fue efectivamente inmovilizado en la monocapa de yodo. El cociente de intensidades para los átomos N e I corresponde a  $N/I = 0,8 \pm 0,2$ . Este resultado es menor al esperado para una monocapa completa de MB, suponiendo que el recubrimiento completo corresponde a  $\sim 1/3$  de la red  $\sqrt{3} \times \sqrt{3} R30^\circ$  del I y que hay 3 átomos de N por molécula de MB. Este espectro se comparó con el del MB inmovilizado en Au(111) cubierto por S, ya que en este caso se sabía que se formaba una monocapa completa [6]. De hecho, el MB se adsorbe durante la inmersión en la monocapa de  $S_n$  (con  $n = 3-8$ ) y un recubrimiento efectivo de  $\sim 2/3$ . Por lo tanto el cociente N/S esperado es  $3/7$ , cercano al obser-



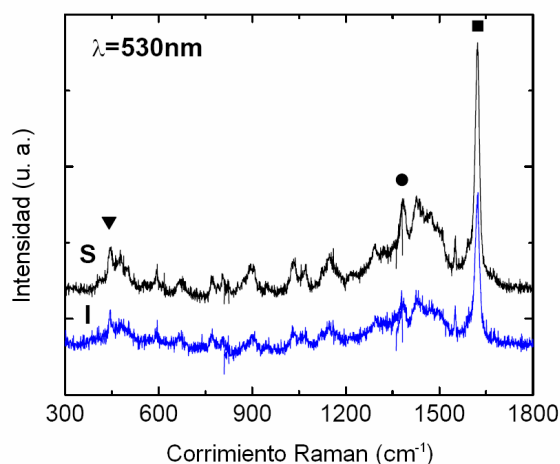
**Figura 5.4.** Espectro AES para MB inmovilizado sobre Au(111)-S (sup.) y MB inmovilizado sobre Au(111)-I (inf.). Se indican las señales para cada elemento. Ambas muestras fueron preparadas por inmersión del sustrato en una solución de MB durante 30 min

vado en el espectro. El AES da una indicación robusta acerca de la composición de la estructura MB-I formada en la superficie del oro.

Por otro lado, la espectroscopía Raman es otra herramienta útil para explorar este complejo sistema. Primero, el espectro vibracional es altamente específico y puede ser utilizado como “huella digital” de la molécula inmovilizada. Segundo, el Raman de dispersión es sensible a fracciones de monocapas [9, 10] o aún a moléculas únicas [11-13]. Tercero, el modo de corrimiento de energía vibracional y/o los cambios en las intensidades relativas de los picos de Raman proveen, en algunos casos, información acerca de la orientación y unión de las moléculas. En particular, se utilizó la técnica de espectroscopía Raman resonante para obtener información acerca de la cantidad de moléculas de MB inmovilizadas en el Au(111) cubierto por I.

En la **figura 5.5** se muestra el espectro Raman obtenido para MB inmovilizado sobre Au(111)-S y Au(111)-I. Algunos modos, específicos para el MB, fueron empleados para determinar la cantidad de MB inmovilizado. Estos modos han sido asignados a la torsión del esqueleto C-N-C, al estiramiento simétrico C-N y al estiramiento del anillo C-C [14, 15]. Considerando que el MB forma una monocapa completa sobre el S, el espectro Raman muestra que la cantidad de MB inmovilizado sobre Au(111)-I es de aproximadamente el 70%. Este resultado es consistente con la densidad de carga de  $35 \mu\text{C cm}^{-2}$  proveniente de la voltamperometría cíclica, ya que para un recubrimiento del 100% el valor es de  $50 \mu\text{C cm}^{-2}$  (para MB sobre monocapas de S) [6, 14].

**Figura 5.5.** Espectro Raman de resonancia de MB inmovilizado sobre monocapas de S (sup.) o I (inf.) el espectro fue tomado con un laser de excitación de 533,8 nm. Los modos empleados para determinar la cantidad de MB presente en las SAMs están indicados: torsión del esqueleto C-N-C ( $443 \text{ cm}^{-1}$ , indicado con  $\blacktriangledown$ ), estiramiento simétrica C-N ( $1387 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\bullet$ ) y estiramiento del anillo C-C ( $1610 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\blacksquare$ )



La cantidad de MB inmovilizada se puede estimar también a través de la información local que brinda el STM. Si se considera que un empaquetamiento compacto de MB corresponde al 100%, con un área de  $1,6 \text{ nm}^2$  y 2 electrones por molécula, la densidad de carga debería ser de  $21 \mu\text{C cm}^{-2}$ . Este valor es menor al obtenido experimentalmente  $-35 \mu\text{C cm}^{-2}$  y, teniendo en cuenta que el recubrimiento fue del 70%, se esperaría una densidad de carga de  $15 \mu\text{C cm}^{-2}$ . Sin embargo, se ha reportado que para las concentraciones de MB empleadas en este trabajo, el MB se encuentra principalmente en forma dimérica [16]. Entonces, se puede especular que cada mancha brillante observada en el STM corresponde a un dímero de MB. Estos dímeros serían activos electroquímicamente y proporcionarían una densidad de carga de  $30 \mu\text{C cm}^{-2}$ , un valor más cercano al observado experimentalmente. Las dimensiones de las manchas brillantes observadas en el STM



(figura 5.3) se podrían explicar si se piensa que corresponden a dos moléculas paralelas de MB interactuando con la superficie de Au a través de los átomos de N y S, ya que cada molécula de MB posee 1,5 nm de longitud máxima y ~0,35 nm de espesor.

## 5.4 – Conclusiones

El sustrato Au(111)-I pudo ser caracterizado mediante las técnicas de STM y voltamperometría cíclica, obteniéndose resultados que concordaban con la bibliografía.

El MB fue efectivamente inmovilizado en el sustrato. Esto se pudo comprobar a través de las distintas técnicas empleadas. En las imágenes de STM se podía apreciar un cambio en la topografía de la superficie ya que aparecían manchas brillantes de 1,5 nm de largo y 0,9 nm de espesor muy distintas a la red  $\sqrt{3}\times\sqrt{3}$  R30° de la monocapa I con  $d = 0,5$  nm. Estas manchas brillantes correspondían a dímeros de MB<sup>+</sup>.

A partir de los datos de voltamperometría cíclica, AES y Raman se pudo estimar la cantidad de MB inmovilizada que correspondió a un recubrimiento del 70%.

También se pudo apreciar un cambio significativo en la morfología del voltagrama cíclico al inmovilizar el MB. Además, de este experimento se pudo concluir que la inmovilización del MB en la monocapa de I se debía a fuerzas electrostáticas, ya que la forma MBH era fácilmente electrodesorbida. Debido a la reversibilidad de los picos anódico y catódico, se puede decir que las moléculas de MB permanecían electroquímicamente activas, produciendo una transferencia de electrones rápida con el Au (111) a través de la monocapa de I. Teniendo en cuenta estos resultados, se puede contemplar la idea de liberar en forma controlada el MB en un sistema biológico mediante el cambio en su estado de oxidación efectuado a través de la aplicación de un potencial eléctrico.

## 5.5 – Referencias

- [1] Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1103-1169
- [2] Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M. *Principles of Biochemistry*, 3rd ed.; W. H. Freeman Company, New York, 2001
- [3] Vericat, C.; Remes Lenicov, F.; Tanco, S.; Andreasen, G.; Vela, M. E. and Salvarezza, R. C. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 9114-9121
- [4] Svetlicic, V.; Zutic, V.; Clavilier, J.; Chevalet, J. *J. Electroanal. Chem.* **1987**, *233*, 199
- [5] Tang, W.; Xu, H.; Kopelman, R.; Philbert, M. A. *Photochemistry and Photobiology* **2005**, *81*, 242
- [6] Benítez, G.; Vericat, C.; Tanco, S.; Remes Lenicov, F.; Castez, M. F.; Vela, M. E. and Salvarezza, R. C. *Langmuir* **2004**, *20*, 5030-5037
- [7] Adams, M. D.; Brus, L.; Chidsey, C. D. E.; Creager, S.; Creutz, C.; Kagan, C. R.; Kamat, P. V.; Lieberman, X. M.; Lindsay, O. S.; Marcus, R. A.; Metzger, R. M.; Michel-Beyerle, M. E.; Millar, M. D.; Newton, D. R.; Sankey, O.; Schanze, K. S.; Yardley, J.; Zhu, S. J. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 6668
- [8] "IMMOBILIZATION OF METHYLENE BLUE ON SELFASSEMBLED IODINE MONOLAYERS ON GOLD" María E. Vela, C. Vericat, A. Daza Millone, M. Fonticelli, G. Benitez, Roberto C. Salvarezza,

Nicolás G. Tognalli, Alejandro Fainstein. Aceptado para su publicación en el "Journal of Nanoscience and Nanotechnology".

- [9] Tognalli, N.; Fainstein, A.; Bonazzola, C. y Calvo, E. *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 1905
- [10] Tognalli, N.; Fainstein, A.; Calvo, E.; Bonazzola, C.; Pietrasanta, L.; Campoy-Quiles, M. y Etchegoin, P. *J. Chem. Phys.* in press.
- [11] Kneipp, K.; Wang, Y.; Kneipp, H.; Perelman, L.; Itzkan, I.; Dasari, R. R. y Feld, M. S. *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78*, 1667
- [12] Shuming Nie y Steven R. Emory *Science* **1997**, *275*, 1102
- [13] Maher, R. C.; Cohen, L. F. y Etchegoin, P. *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *352*, 378
- [14] Naujok, R.R.; Duevel, R.V. y Corn, R.M. *Langmuir* **1993**, *9*, 1771
- [15] Hutchinson, K.; Hester, R. E.; Albery, W. J. y Hillman, A. R. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* **1984**, *80*, 2053
- [16] Patil, K.; Pawar, R. y Talap, P. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2*, 4313

## Conclusiones

La asignatura Laboratorio de Procesos Biotecnológicos tiene como principal objetivo la adquisición de práctica en el trabajo de laboratorio por parte del alumno. Con este fin, concurrí a diversos institutos para informarme acerca de los temas de investigación que allí se desarrollaban y de las técnicas con que podría trabajar. En el INIFTA, el Laboratorio de Nanoscopías se desarrollan investigaciones relacionados, entre otros campos, con la nanotecnología. El estudio y desarrollo de posibles aplicaciones en biotecnología y la biología molecular capturó mi atención. Esto ocurrió, fundamentalmente, porque sistemas como los estudiados en este trabajo permitirían, por ejemplo, extender significativamente los límites de detección de distintas biomoléculas y solucionar así problemas analíticos relacionados con sistemas biológicos.

El hecho de aprender técnicas tradicionales de la fisicoquímica constituyó un verdadero reto personal mediante el cual pretendí ampliar mi formación de grado.

El “entrenamiento” comenzó con el uso de microscopía STM, visualizando los sustratos de oro sin modificar. Para ello, primero aprendí a preparar los sustratos como se describe en el capítulo 2, y luego a montar estas muestras correctamente en el soporte para ser barridas. Para tomar las imágenes de STM, logré educar el ojo, para discernir las terrazas triangulares y, en mayor resolución, los escalones monoatómicos. Además del STM, aprendí a utilizar el AFM. Finalmente, decidí no incluir las imágenes tomadas con este microscopio, ya que no aportaban información adicional con respecto a las de STM; y, estas últimas, debido al sistema empleado, tenían mucha mejor calidad. Sin embargo, cabe destacar que debido a su mayor aplicación en muestras biológicas, el haber aprendido el uso del AFM me resultó fundamental. Además, pretendo usar esta técnica en futuros trabajos.

Paralelamente comencé los estudios mediante voltamperometría cíclica sobre los electrodos de oro sin modificar. Esto permitió que comprendiera la información que se podía obtener de los CVs.

Una vez, aprendidas estas técnicas, pude comenzar a trabajar con sustratos modificados,

los cuales requieren mejor dominio de las técnicas experimentales. Sobre todo, en los estudios cinéticos, donde se debían tomar muestras a tiempos cortos.

Además del trabajo experimental, también recibí formación acerca de cómo efectuar el análisis de los datos para poder exponer correctamente los resultados obtenidos.

A partir de todas estas experiencias, el trabajo final tiene las siguientes conclusiones:

- Se prepararon sustratos metálicos adecuados soportar SAMs.
- Se estudió la cinética de adsorción de *n*-alcanotioles en la formación de SAMs y se propuso un modelo que explica las experiencias realizadas y permite postular la existencia de un intermediario de reacción.
- Se obtuvo un sistema con condiciones adecuadas para una futura aplicación en biosensores

Cabe destacar que seguiré trabajando sobre estos sistemas siendo estos algunos de los posibles estudios en el futuro:

-como el sistema de monocapas con MB ya se caracterizó, se podrían repetir las experiencias empleando FAD.

-caracterización de nanoestructuras de material blando, como liposomas, mediante AFM.

-incorporación de proteínas en las SAMs.