



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
Facultad de Ciencias Exactas
Departamento de Química

Trabajo de Tesis Doctoral

Diseño, construcción y caracterización de dispositivos
nanofluídicos basados en nanocanales de estado sólido

Gonzalo Perez Mitta

Director: Omar Azzaroni,
Co-Directora: María Eugenia Toimil-Molares

2017

Esta Tesis se realizó bajo la dirección de Omar Azzaroni y la co-dirección de Maria Eugenia Toimil-Molares en el Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA) perteneciente a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y en el GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung en la ciudad de Darmstadt, Alemania. La misma se presenta a consideración de las autoridades de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP para acceder al título de doctor.

La Plata, Noviembre de 2017

*A la memoria de
Ludovico Armando Mitta*

Resumen

La capacidad de los seres vivos para responder a estímulos y procesar información proveniente de sus entornos ha alentado a los científicos a desarrollar nanosistemas integrados que muestren funciones y capacidades similares. En este sentido, los poros biológicos han sido una gran fuente de inspiración debido a su exquisito control sobre el transporte de iones hacia dentro y fuera de las células, una característica que en última instancia juega un papel preponderante en múltiples procesos fisiológicos como por ejemplo, en la transducción de estímulos físicos en señales nerviosas. El desarrollo de nanoporos y nanocanales abióticos, que responden a determinados estímulos químicos, físicos o biológicos produciendo señales “*iontrónicas*”^{*}, es ahora una realidad gracias a la combinación de las ciencias de las superficies “*blandas*” con distintas técnicas de nanofabricación. La interacción entre la riqueza funcional de componentes moleculares prediseñados y las notables características físicas de los nanoporos y nanocanales desempeña un papel crítico en la integración racional de las funciones moleculares en los entornos nanofluidicos, lo que nos permite prever y diseñar nanosistemas biomiméticos basados en nanoporos que responden a una variedad de estímulos externos tales como pH, potencial redox, concentración de moléculas, temperatura o luz. La transducción de estos estímulos en una respuesta “*iontrónica*” predefinida puede amplificarse explotando el nanoconfinamiento y efectos fisicoquímicos tales como distribución de carga, restricciones estéricas, desplazamientos de equilibrio o cambios locales en la concentración iónica, por citar algunos ejemplos. Mientras que en las últimas décadas los científicos y tecnólogos se han centrado principalmente en sus aspectos fundamentales y en el estudio en profundidad de sus interesantes propiedades de transporte, desde hace varios años la investigación de sistemas nanofluidicos ya ha empezado a desplazarse hacia el desarrollo de aplicaciones prácticas específicas. En este trabajo doctoral se muestran diversas formas de construcción de dispositivos nanofluidicos iontrónicos utilizando como herramienta fundamental la técnica *ion-track-etching* de fabricación de nanocanales junto con técnicas de modificación de superficies para conferir responsividad específica a diferentes estímulos, entre ellos el pH, concentración de potasio, azúcares, urea e incluso, potencial eléctrico. Las técnicas de modificación utilizadas en esta tesis van desde la formación de monocapas de moléculas funcionales covalentemente unidas a la superficie de los nanocanales o la

^{*} *Iontrónica*: Es una tecnología emergente que consiste en el control sofisticado de iones como portadores de señales y que funciona como puente entre la electrónica de estado-sólido y los sistemas biológicos

polimerización química y electroquímica de polímeros conductores hasta la formación de ensamblados electrostáticos híbridos biológicos combinando polielectrolitos y enzimas.

Abstract

The ability of living beings to respond to stimuli and process information from their environments has encouraged scientists to develop integrated nanosystems that show similar functions and capabilities. In this sense, biological pores have been a great source of inspiration due to its exquisite control over the transport of ions in and out of cells, a feature that ultimately plays a preponderant role in multiple physiological processes such as the transduction of physical stimuli in nerve signals. The development of abiotic nanopores and nanochannels, which respond to certain chemical, physical or biological stimuli producing "*iontronic*" signals, is now a reality thanks to the combination of "soft" surface sciences with different nanofabrication techniques. The interaction between the functional richness of pre-designed molecular components and the remarkable physical characteristics of nanopores and nanochannels plays a critical role in the rational integration of molecular functions in nanofluidic environments, which allows us to predict and design biomimetic nanosystems based on nanopores that respond to a variety of external stimuli such as pH, redox potential, concentration of molecules, temperature or light. The transduction of these stimuli in a predefined "*iontronic*" response can be amplified by exploiting nanoconfinement and physicochemical effects such as charge distribution, steric restraints, equilibrium displacements or local changes in ionic concentration, to name a few examples. While in the last decades research has been focused mainly on its fundamental aspects and on the in-depth study of its interesting transport properties, during the last years research of nanofluidic systems has already begun to move towards the development of specific practical applications. In this doctoral work, various forms of construction of iontronic nanofluidic devices are shown, using the *ion-track-etching* technique of nanochannel fabrication as a fundamental tool together with surface modification techniques to confer specific responsiveness to different stimuli: pH, concentration of potassium, sugars, urea and even, electric potential. The modification techniques used in this thesis range from the formation of monolayers of functional molecules covalently bound to the surface of nanochannels or chemical and electrochemical polymerization of conductive polymers to the formation of electrostatic biological hybrid assemblies combining polyelectrolytes and enzymes.

Resumen	i
Abstract	iii
Índice	v
1. Introducción	1
2. Contextos, conceptos y objetivos	
2.1. ¿Qué es la Nanofluídica y para qué sirve?	5
2.2. Conceptos fundamentales	8
2.2.1. Potencial Químico y teoría de Poisson-Boltzmann	8
2.2.2. Interacciones electroestáticas en superficies. Importancia de la Doble Capa Eléctrica (DCE)	10
2.3. Generación de señales " <i>iontrónicas</i> " en dispositivos nanofluídicos	14
2.4. Medidas de transporte iónico	20
2.4.1. Características de Corriente-Potencial (Curvas I-V)	21
2.4.2. Eficiencia (factor) de rectificación	22
2.5. Modelado del transporte iónico. Ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck	23
2.6. Explicación del fenómeno de rectificación de la corriente iónica	24
2.7. Objetivos de la presente tesis doctoral en base al marco conceptual expuesto	27
2.8. Referencias	28
3. Fabricación y caracterización de dispositivos nanofluídicos	
3.1. Métodos típicos de fabricación de nanoporos y nanocanales	31
3.2. Técnica "Ion-Track-Etching"	33
3.2.1. <i>Etching</i> químico de los <i>ion-tracks</i>	39
3.2.2. Nanocanales cilíndricos (y bicónicos) en PET y PC	41
3.2.3. Nanocanales cónicos en PC y PET	43
3.2.4. Nanocanales con perfil parabólico en PET. <i>Etching</i> asistido por surfactante	45
3.3. Caracterización de la geometría por microscopía electrónica de barrido (Scanning electron microscopy, SEM)	47
3.3.1. Método de fabricación de nanoestructuras por el método de plantilla o replica	48
3.3.2. Método de imágenes transversales (cross-sections)	49
3.4. Referencias	50

4. Química supramolecular “anfitrión-huesped” en nanocanales de estado sólido. Modulación del transporte iónico impulsada por iones K⁺ en diodos nanofluídicos	
4.1. Uso de interacciones específicas inspiradas en la naturaleza:	
Biomimética	53
4.2. Fabricación de nanocanales modificados con éteres corona	55
4.3. Funcionalización de los nanocanales track-etched mediante química de carbodiimida	56
4.4. Conclusiones	62
4.5. Parámetros utilizados para el modelado teórico	62
4.6. Referencias	64
5. Polidopamina: un enfoque integral bio-inspirado para la modificación de superficies para adaptar las propiedades funcionales de diodos nanofluídicos	
5.1. Introducción	67
5.2. Polidopamina como plataforma universal de modificación superficial	68
5.3. Fabricación de nanocanales modificados con Polidopamina (PDOPA)	71
5.4. Procedimiento blando “bottom-up” para mejorar las propiedades de rectificación de diodos nanofluídicos con polidopamina	71
5.5. Efecto anfotérico de la capa de polidopamina para conferir al transporte iónico responsividad al pH	74
5.6. Reacciones secundarias sobre la capa de Polidopamina	76
5.7. Conclusiones	80
5.8. Referencias	81
6. Construcción de dispositivos nanofluídicos funcionales basados en la síntesis electroquímica de polímeros conductores en nanocanales de estado sólido	
6.1. Diodos nanofluídicos con propiedades de rectificación dinámica derivadas de conversiones electroquímicas reversibles en polímeros conductores	85
6.1.1. Introducción	85
6.1.2. Ventajas de la integración de polímeros conductores en	86

nanocanales	
6.1.3. Síntesis de Polianilina en nanocanales track-etched cónicos de policarbonato	88
6.1.4. Estudio del comportamiento del sistema en función del pH	92
6.1.5. Estudio del comportamiento del sistema en función del potencial electroquímico	93
6.1.6. Conclusiones	96
6.2. Regímenes de rectificación en diodos nanofluídicos modulados por efectores químicos	97
6.2.1. Introducción	97
6.2.2. Fabricación de nanocanales modificados con PAPAB	99
6.2.3. Responsividad de los nanocanales modificados con PAPAB al pH. Titulación nanofluídica	103
6.2.4. Uso de efectores químicos para modular el equilibrio de cargas de un nanocanal	105
6.2.5. Conclusiones	110
6.3. Referencias	110
7. Diodo Nanofluídico de efecto de campo no-metálico conectado por una capa de polímero conductor	
7.1. Introducción	115
7.2. Fabricación y caracterización de los nanocanales modificados con PEDOT	116
7.3. Respuesta nanofluídica. Diodo iónico reconfigurable por efecto de campo	120
7.4. Medidas de transistor de efecto de campo nanofluídico	126
7.5. Conclusiones	129
7.6. Referencias	129
<i>Técnicas de modificación no-covalentes</i>	
8. Funcionalización no-covalente de nanocanales de estado sólido via el autoensamblado de “anfipols”	
8.1. Introducción	133
8.2. Alternativa de diseño nanofluídico: interacciones no-covalentes	134

8.3. Fabricación de nanocanales modificados con “Anfípols”	134
8.4. Responsividad al pH del nanocanal modificado	139
8.5. Influencia de la concentración de electrolito en la respuesta nannoflúidica	143
8.6. Conclusiones	146
8.7. Referencias	146
9. Dispositivos nanoflúidicos fabricados mediante la integración electroestática de polielectrolitos en nanocanales de estado sólido	
9.1. Introducción	149
9.2. Enfoque no covalente hacia la construcción de diodos nanoflúidicos con propiedades de rectificación reversibles controlables mediante el pH	
9.2.1. Estudio de polielectrolitos en nanoconfinamiento	150
9.2.2. Métodos Teóricos	151
9.2.2.1. Modelo analítico	151
9.2.2.2. Simulaciones Monte Carlo (MC)	152
9.2.3. Modificación de nanocanales con PAH	153
9.2.4. Conclusiones	159
9.3. Diodos nanoflúidicos biomiméticos responsivos a la concentración de fosfatos en solución regulados por interacciones poliamina-fosfato	
9.3.1. Introducción	160
9.3.2. Diseño de nanocanales responsivos a fosfatos	162
9.3.3. Simulaciones Monte Carlo	166
9.3.4. Conclusiones	173
9.4. Biosensor nanoflúidico de urea basado en la amplificación iontrónica de un cambio en el grado de protonación de un polielectrolito mediante una reacción enzimática	
9.4.1. Introducción	174
9.4.2. Fabricación de nanocanales modificados con PAH y Ureasa	176
9.4.3. Conclusiones	186
9.5. Referencias	186
10. Conclusiones Generales y Perspectivas	193
A1. Protocolos de fabricación de nanocanales Track-etched	199
A2. Resolución unidimensional de las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck	201

A3. Distribución iónica 2D calculada mediante simulaciones Monte Carlo	205
Publicaciones asociadas a esta tesis doctoral	207
Agradecimientos	209

Capítulo 1

Introducción

Gran parte de la inspiración de científicos y tecnólogos para construir dispositivos altamente funcionales proviene de la búsqueda del hombre de imitar el diseño tecnológico de la naturaleza. Las estructuras biológicas proporcionan una amplia gama de sistemas con diferentes funciones que sirven como fuente de inspiración a las ciencias físicas y de los materiales. De esta manera, la investigación en materiales *biomiméticos* facilitó numerosas vías para la creación de materiales multifuncionales mezclando conceptos de diferentes disciplinas.^{1,2} Por ejemplo, a medida que nos adentramos en el nuevo siglo, la convergencia entre la química, la física y la nanotecnología parece ofrecer oportunidades casi ilimitadas para construir nanosistemas y dispositivos biomiméticos a través de enfoques tanto “*bottom-up*” como “*top-down*”. En todos los sistemas vivos los canales biológicos funcionan como nanodispositivos encargados de regular funciones claves como el mantenimiento del potencial eléctrico transmembrana, flujos iónicos y el transporte molecular a través de los límites de las células. Además, los organismos vivos utilizan la transducción y amplificación de señales basadas en estos canales biológicos de respuestas químicas selectivas y hacia estímulos particulares. Desde una perspectiva pragmática podríamos decir que la transducción y la amplificación de señales que implican el transporte de iones a través de canales entran en juego en casi todos los dominios de la vida. En este sentido, las virtudes de trabajar con elementos fluídicos nanoestructurados son cada vez más reconocidas por la comunidad científica.^{3,4} Esto ha llevado a la aparición de la nanofluídica, un área de investigación que está actualmente a la vanguardia de la ciencia de los materiales y la ingeniería.^{5,6} El advenimiento de nuevas estrategias para crear nanoporos y nanocanales de estado sólido ha dado lugar a un creciente dominio en la construcción de estructuras nanofluídicas y ha dado un impulso decisivo no sólo al desarrollo de esta excitante área de la nanotecnología, sino también abrió nuevas posibilidades para el desarrollo de una ingeniería de nanoporos y nanocanales en donde arquitecturas con diversas formas y diámetros pueden ser controladas hasta unos pocos nanómetros.⁷ Ejemplos típicos son los nanocanales *track-etched*,⁸

nanopipetas,⁹ y nanoelectrodos.¹⁰ Este esfuerzo dio lugar a conceptos de diseño para construir nanocanales completamente "abióticos" con dimensiones comparables a las de los poros biológicos.¹¹

Una de las principales atracciones de estos elementos nanoflúidicos es su excelente capacidad para controlar y manipular el transporte de las especies químicas y bioquímicas que fluyen a través de ellos, permitiendo así la construcción de circuitos iónicos capaces de detectar o separar diversas especies en soluciones acuosas. Además, se ha demostrado que estos dispositivos nanoflúidicos presentan propiedades de transporte similares a los canales iónicos de proteínas biológicas ya que en ambos se observan fenómenos tales como selectividad iónica, rectificación de corriente, inhibición de flujo por pH o cationes divalentes, e incluso fluctuaciones de corrientes iónicas relacionadas a las propiedades del canal. En el caso particular de nanocanales asimétricos, surgen interesantes efectos de rectificación cuando la superficie del canal está cargada y las dimensiones son comparables a la longitud de Debye.¹² Estas fascinantes propiedades fisicoquímicas mostradas por nanocanales o nanoporos cargados proporcionaron un escenario ideal para crear nuevas arquitecturas nanoflúidicas funcionales y direccionables y también llevaron al nacimiento de una nueva área de investigación sobre el diseño de dispositivos basados en nanocanales que dependen del transporte iónico gobernado por carga superficial. Este campo se ha llamado "*iontronica*", y fue mencionado por primera vez por Han *et al.* por analogía con la electrónica que se ocupa de dispositivos que controlan el transporte de electrones (o huecos).¹³ Sin embargo, con el fin de conferir selectividad y manipular el transporte iónico a través de nanocanales de estado sólido, es necesario desarrollar y explorar nuevos métodos para la funcionalización de las paredes de los nanoporos y nanocanales. Por lo tanto, la creación de nanocanales funcionales capaces de actuar como canales iónicos selectivos o sensores nanoflúidicos inteligentes depende fundamentalmente de nuestra capacidad para ensamblar y construir arquitecturas moleculares dentro de geometrías confinadas con dimensiones comparables al tamaño de los bloques de construcción. Para realizar operaciones de transporte iónico utilizando dispositivos nanoflúidicos necesitamos dotarlos de mecanismos adicionales de *gating* artificial a través de la integración de propiedades específicas de materiales poliméricos, supramoleculares y biológicos para beneficiarse de los efectos de volumen excluido, distribuciones de carga y funciones específicas que estos bloques de construcción pueden conferir a los nanocanales. De esta manera, podríamos diseñar sistemas nanoflúidicos con la capacidad de transducir

señales físicas, biológicas o químicas en una corriente iónica medible y controlable, es decir, lectura "iontrónica".¹⁴

El uso de nanocanales de estado sólido u otros elementos nanofluidicos para el desarrollo de nuevos paradigmas para aplicaciones de transducción y detección de señales se basa en la preparación de sistemas capaces de responder específicamente a un determinado estímulo (físico, químico o biológico) que genere un producto químico predefinido o cambios bioquímicos o supramoleculares en las paredes de los poros. La idea central se basa en el hecho de que estímulos físicos, químicos o biológicos podrían modular las características físico-químicas de la pared de poros con un efecto concomitante en las propiedades de transporte iónico.¹⁵ Como tal, la sinergia resultante de la combinación de componentes orgánicos, poliméricos o incluso biológicos con funciones pre-seleccionadas y las notables características físicas de los nanocanales de estado sólido puede ofrecer nuevas vías de procesamiento de información, detección, transducción y amplificación de señales.

Referencias

- [1] C. Zhang , D. A. Mcadams II , J. C. Grunlan, *Adv. Mater.*, 2016, **28**, 6292–6321.
- [2] R.L. Ripley, B. Bhushan, *Phil.Trans.R.Soc. A*, 2016, **374**, 20160192.
- [3] X. Hou, L. Jiang, *ACS nano*, 2009, **3**, 3339–3342.
- [4] X. Hou, W. Guo, L. Jiang, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 2385–2401.
- [5] L. Wen, Y. Tian, J. Ma, J. Zhai, Lei Jiang, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012, **14**, 4027–4042.
- [6] H. Zhang, Y. Tian, L. Jiang, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 10048.
- [7] X. Hou, Hu. Zhang, L. Jiang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, **51**, 2–14.
- [8] A. Spende , N. Sobel, M. Lukas, R. Zierold, J. C. Riedl, L. Gura, I. Schubert, J. M. Montero Moreno, K. Nielsch, B. Stühn, C. Hess, C. Trautmann, M. E. Toimil-Molares, *Nanotech.*, 2015, **26**, 335301-335312.
- [9] P. Actis, A. C. Mak, N. Pourmand, *Bioanal Rev.*, 2010, **1**, 177–185.
- [10] J. T. Cox, B. Zhang, *Annu. Rev. Anal. Chem.*, 2012, **5**, 253–72.
- [11] J.-F. Pietschmann, M.-T. Wolfram, M. Burger, C. Trautmann, G. Nguyen, M. Pevarnik, V. Bayer, Z. Siwy, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, **15**, 16917.
- [12] H. Daiguji, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 901–911.

- [13] J.-H. Han, K. B. Kim, H. C. Kim, T. D. Chung, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**, 3830 – 3833.
- [14] Y. Tian, L. Wen, X. Hou, G. Hou, L. Jiang, *ChemPhysChem*, 2012, **13**, 2455 – 2470.
- [15] S. Howorka, Z. Siwy, *Chem. Soc. Rev.*, 2009, **38**, 2360–2384.

Capítulo 2

Contextos, conceptos y objetivos

2.1. ¿Qué es la Nanofluídica y para qué sirve?

Como lo expresaron Eijkel y van den Berg, la nanofluídica puede definirse como *el estudio y la aplicación del movimiento de fluidos dentro y a través de estructuras que tienen al menos una dimensión entre 1 y 100 nm.*¹ Si bien el nombre es relativamente nuevo, la nanofluídica es si no lo es, estando implícita en muchas otras disciplinas. El motivo por el cual esta ciencia de los fluidos en la nanoescala que se mantuvo implícita durante muchos años haya recibido un nombre en particular se debe al desarrollo de su hermana mayor, la microfluídica durante la década de 1990, como así también del desarrollo y prominencia de las nanociencias y nanotecnologías. La invención de nuevas herramientas de caracterización y fabricación en la nanoescala, tales como los microscopios de barrido por sondas, las técnicas de litografía con haces de electrones, rayos X o iones conjuntamente con el desarrollo de técnicas de microfabricación como la litografía blanda y las técnicas de ensamblado “*bottom-up*” han permitido que el estudio y la aplicación de la nanofluídica sea mucho más accesible, al mismo tiempo que ofrecen un control antes impensado de las propiedades de los materiales en la escala del nanómetro. Es por esto que las expectativas puestas en este campo son naturalmente altas.

La definición de nanofluídica como se la presento aquí, incluye el estudio estructuras tales como **nanocanales**, **nanoporos** y **nanotubos** así como de materiales mesoporosos y ciertos canales de proteínas cuyos tamaños están dentro del rango nanométrico (como las porinas α -hemolisina o la porina micobacteriana) los cuales en su conjunto se pueden nombrar genéricamente como *dispositivos nanofluídicos*. Con el fin de evitar ambigüedades al utilizar los diferentes nombres de estos dispositivos, se ha propuesto que el término **nanoporo** se mantenga para estructuras con baja relación de aspecto (longitud / diámetro), es decir, estructuras donde el largo del elemento fluídico es comparable a su diámetro; mientras que el término **nanocanal** se utilice para estructuras con alta relación de aspecto, estructuras para las

cuales la longitud del eje principal es mucho mayor que el diámetro. Por otra parte, el término **nanotubo** se utiliza para estructuras en las que el componente fluido no está soportado inicialmente por una membrana. Materiales mesoporosos es un nombre común para los materiales sintéticos que contiene una alta densidad de nanoporos por unidad de superficie. La razón por la cual esta disciplina se encarga del estudio de todos estos diferentes materiales está relacionada con el hecho de que todos ellos comparten el mismo comportamiento físico relacionado con sus dimensiones reducidas, *i.e.* nanoconfinamiento. Durante los últimos años ha habido un gran aumento en las publicaciones relacionadas con la nanofluídica (Figura 2.1), especialmente impulsado por la publicación de varias obras seminales que demostraron la importancia de la nanofluídica para las tecnologías futuras, como son el caso de los chips para química analítica basados en "molécula únicas", micro-sistemas de análisis total (μ TAS) y conversión de energía. Además, en los últimos años hemos presenciado la aparición de una nueva tecnología de secuenciación de ADN utilizando nanoporos, que lentamente se está convirtiendo en el futuro del análisis genético (Figura 2.1). Más aún, se ha ido desarrollando un consenso sobre la valoración de las temáticas relacionadas a la nanofluídica relacionadas a diversos campos de estudio, particularmente en las ciencias biológicas. Los organismos biológicos, a nivel primario celular, funcionan en un entorno nanofluídico en donde el transporte selectivo de iones y moléculas es de principal importancia para la creación de gradientes de energía (impulso nervioso) o para llevar a cabo diversas reacciones bioquímicas (como la replicación o transcripción de ADN) con gran eficiencia. Los dispositivos nanofluídicos celulares, típicamente canales iónicos proteicos, cumplen un rol fundamental en la fisiología de los organismos, comparable al rol que cumplen las enzimas en los procesos metabólicos (Figura 2.1).

Sin embargo, mientras se sigue trabajando y desarrollando este campo con el objetivo de desarrollar nuevas tecnologías que permitan revolucionar los campos de la química, bioquímica y ciencias de los materiales y biomédicas en general, es importante no dejar de lado las raíces de la nanofluídica - *las cuales se encuentran en diversas disciplinas*. De no tener esto en cuenta se puede dar con el "redescubrimiento" de fenómenos clásicos como ha sucedido recientemente, por ejemplo, con el fenómeno de exclusión de co-iones (Donnan)². Es por esto mismo, que en este capítulo nos encargaremos de describir los fenómenos fisicoquímicos que a nuestro entender son fundamentales para entender y reconocer la importancia de los experimentos realizados en esta tesis.

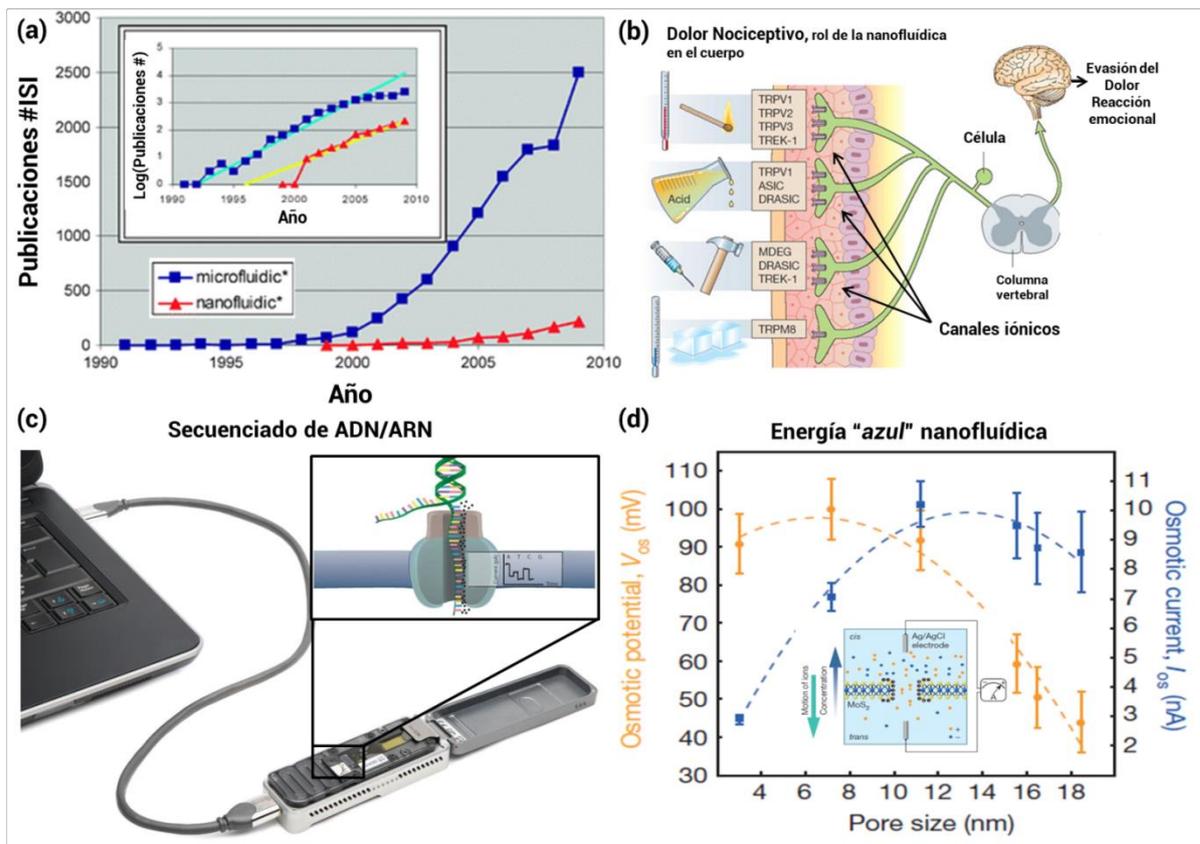


Figura 2.1. (a) Crecimiento del número de publicaciones ISI encontradas con "microfluidic*" y "nanofluidic*" desde el año 1990 hasta el 2010. La inserción muestra el mismo gráfico de forma logarítmica, indicando un tiempo de duplicación de publicación de 15 meses para "microfluidic*" y un tiempo de duplicación de 20 meses para "nanofluidic*" (líneas azul claro y amarillo respectivamente). (b) Esquema simplificado de la recepción del dolor nociceptivo. Aquí se pone en evidencia la importancia de receptores "nanofluidicos" como sensores biológicos a estímulos externos cuya presencia se transduce en una cascada de información que determina la reacción de un organismo (evasión del dolor, por ejemplo). (adaptado de ref.3) (c) Fotografía de un dispositivo Mini-ion de Oxford nanopore technologies conectado a una computadora portátil. Este dispositivo marcó la culminación de la primera etapa de desarrollo de secuenciadores portátiles de ADN y el comienzo de la tercera generación de secuenciadores ya que permite la determinación de genomas completos en tiempo real y con tiempos en el orden de minutos a días (dependiendo de la extensión del genoma) y bajos costos. El dibujo añadido, muestra de manera simplificada el fundamento de

medición del dispositivo, que funciona sensando pulsos resitivos. (d) Gráficos de potencial y corriente osmótica versus tamaño de poro para un dispositivo de conversión de energía a partir de un gradiente de concentración generado por el fenómeno de polarización de la concentración; la permselectividad del sistema (nanoporos de MoS_2) contribuye a la generación de un potencial osmótico. Se observa un cruce de las curvas para un tamaño de ~ 10 nm, en este punto se encuentra el máximo de la potencia generada por el dispositivo que es de 10^6 Watts/m² (adaptado de ref.4)

2.2. Conceptos fundamentales

Los diversos dispositivos nanofluídicos que existen en la actualidad son sistemas altamente inhomogéneos y químicamente complejos. Con el objetivo de proveer cimientos sólidos para entender los fenómenos nanofluídicos, en las próximas secciones de este capítulo vamos a describir algunos conceptos termodinámicos y de fenómenos de transporte de relevancia para los experimentos realizados en los capítulos siguientes.

2.2.1. Potencial Químico y teoría de Poisson-Boltzmann

Un sistema en equilibrio, en contacto con un reservorio térmico y de presión, minimiza la energía libre de Gibbs sobre sus múltiples estados a la temperatura y presión de los reservorios. Debido a esto, la energía libre de Gibbs es de gran utilidad para sistemas a T y P constantes, lo cual es el caso normal para las reacciones químicas que ocurren en la naturaleza. La ecuación fundamental de Gibbs se puede escribir como,

$$dG = -SdT + Vdp + \sum_i \mu_i dn_i \quad (1)$$

Donde la energía libre de Gibbs se define como la suma de los productos de los diferenciales de cantidades extensivas con sus cantidades intensivas conjugadas energéticamente. Para el caso de n (número de moléculas), la cantidad intensiva asociada se denomina *potencial químico* de dicha especie y se define formalmente como,

$$\mu_i = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i} \right)_{n_j(j \neq i), p, T} \quad (2)$$

El μ_i da una medida de la tendencia de la especie a cambiar su posición en el espacio o de reaccionar con otras sustancias o transformarse en otro estado de agregación. Por ejemplo, si el potencial químico de A es mayor que el de B, una sustancia se transportaría de A a B, se transformará de A en B o cambiará de la fase A a la B.⁵ En equilibrio, los potenciales químicos de todas las especies son constantes a través del sistema, por lo tanto no hay flujos netos de moléculas o reacciones químicas.

El potencial químico puede escribirse separando sus distintas contribuciones,

$$\mu = \mu_0 + k_B T \ln \left(\frac{c_i(\mathbf{r})}{c^*} \right) + \mu_i^{ex}(\mathbf{r}) \quad (3)$$

donde μ_0 es el potencial químico estándar en un estado ideal (estado de referencia), C_i es la concentración de la especie, C^* es la concentración estándar y k_b la constante de Boltzmann. El último término es el exceso de potencial químico el cual está relacionado con la presencia de interacciones con otras partículas o campos de fuerza, como por ejemplo un campo electrostático. Como uno podría imaginarse, este último término es de gran importancia para la nanofluidica debido al hecho de que necesitamos considerar el efecto que tienen los campos eléctricos provenientes de las cargas de la superficie de los nanocanales sobre los iones. Si consideramos solamente la presencia de un campo electrostático externo $\mu_i^{ex} = q_i \psi(\mathbf{r})$, entonces podemos reescribir la ecuación 3 como,

$$\mu = \mu_0 + k_B T \ln \left(\frac{c_i(\mathbf{r})}{c^*} \right) + q_i \psi(\mathbf{r}) \quad (4)$$

Esta forma de escribir el potencial químico suele llamarse *potencial electroquímico* en algunas disciplinas. Como fue explicado anteriormente, en equilibrio no existe ningún gradiente de potencial químico y por lo tanto el gradiente de fuerzas difusionales (que provienen de los primeros dos términos) deben ser iguales al gradiente de fuerzas electrostáticas (último término),

$$\nabla \mu_i = -q_i \nabla \psi(\mathbf{r}) \quad (5)$$

Si resolvemos esta ecuación considerando los valores de "bulk" ($\psi = 0$, $n_i = n_i^\infty = 1000N_{ACi}$) obtenemos la ecuación de Boltzmann la cual nos provee de la distribución espacial local de cada tipo de ion como función del potencial electrostático,

$$n_i = n_i^\infty \exp\left(-\frac{q_i \nabla \psi(\mathbf{r})}{k_B T}\right) \quad (6)$$

El paso siguiente es aplicar la ecuación de *Poisson* para encontrar como se relaciona la distribución de los distintos iones con el potencial eléctrico,

$$\nabla^2 \psi = \frac{d^2 \psi}{dr^2} = -\frac{\rho}{\epsilon_0 \epsilon_r} \quad (7)$$

Donde ρ es la densidad volumétrica de carga de todos los iones cerca de la superficie y ϵ_0 , ϵ_r son las permitividades del vacío y del solvente (agua). Combinando las ecuaciones 6 y 7 y considerando la densidad volumétrica de carga $\rho = \sum_i n_i q_i = e \sum_i n_i z_i$ se obtiene finalmente la ecuación de Poisson-Boltzmann,

$$\nabla^2 \psi = \frac{d^2 \psi}{dr^2} = -\frac{e}{\epsilon_0 \epsilon_r} \sum_i n_i^\infty z_i \exp\left[\frac{-z_i e \psi(\mathbf{r})}{k_B T}\right] \quad (8)$$

Como se verá a continuación, esta ecuación es ampliamente utilizada para el estudio de fenómenos de superficies.

2.2.2. Interacciones electrostáticas en superficies. Importancia de la Doble Capa Eléctrica (DCE)

Como ocurre en muchos casos de la fisicoquímica, el comportamiento y las propiedades de los sistemas macroscópicos presentan importantes transformaciones a medida que reducimos su tamaño, donde típicamente las longitudes de los sistemas se hacen comparables con las distancias moleculares o las distancias características de las interacciones. En el caso de la nanofluídica, donde nos interesa entender la relación entre campos de energía aplicados y el comportamiento de iones dentro de estructuras confinadas, la escala de longitud característica a tener en cuenta es la de las *interacciones electrostáticas*. En los ámbitos de la ciencia de

superficies y electroquímica esta relación es parcialmente descrita por la *teoría de la doble capa eléctrica*.

La doble capa eléctrica se puede entender como un efecto de polarización de las concentraciones de iones hacia una superficie cargada cuando ésta se encuentra inmersa en una solución electrolítica. Este fenómeno da lugar a la formación de una capa de contraiones fuertemente adsorbida cerca de la pared (capa de Helmholtz) y una capa más débilmente adsorbida (capa difusional). La longitud de la DCE es una función de la concentración de los electrolitos y puede ser determinada a partir de la resolución analítica de la ecuación de Poisson-Boltzmann (PB, ecuación 8) bajo la suposición de que el potencial eléctrico dentro de la DCE es bajo, i.e. $z_i e \psi < 25.7$ mV. En este caso, las exponenciales se pueden expandir como $\exp(-\alpha) = 1 - \alpha$ resultando la ecuación de PB en,

$$\nabla^2 \psi = \frac{d^2 \psi}{dr^2} = \kappa^2 \psi(\mathbf{r}) \quad (9)$$

Donde

$$\kappa = \left(\frac{e^2 \sum_i n_i^\infty z_i^2}{\epsilon_0 \epsilon_r k_B T} \right) \quad (10)$$

El parámetro κ es conocido como parámetro de Debye-Huckel y las ecuaciones como ecuaciones de Debye-Huckel. Aquí, n_i^∞ es la concentración del ion i en solución, Z_i su carga formal, ϵ_0 , ϵ_r y k_B las permitividades del vacío, del medio (relativa) y la constante de Boltzmann, respectivamente. Como se puede ver en la figura 2.2, dentro de la DCE el potencial eléctrico decae exponencialmente desde la superficie. La distancia característica de este decaimiento, $\lambda_d = \kappa^{-1}$ es conocida como la *longitud de Debye* y es considerada como la dimensión de la DCE. La tabla 1 muestra los valores de la λ_d para distintas concentraciones de una sal monovalente en agua ($\epsilon_r=78$) a una temperatura de 300 K.

C(mol.l ⁻¹)	λ_d (nm)
0.001	9.62
0.01	3.04
0.1	0.96
1	0.30

Tabla 1. Valores de longitud de Debye para distintas concentraciones de sal monovalente a 300 K.

Puede verse que para concentraciones que varían entre 10-100 mM, la λ_d toma valores entre \sim 1-3 nm por lo que su contribución al comportamiento de una solución en el interior de un canal puede ser despreciada para canales micrométricos; sin embargo, para canales cuyas dimensiones oscilan entre 10 y 50 nm, la contribución comienza a ser más sustancial mientras que en confinamiento extremo < 5 nm puede incluso llegar a darse el caso donde la DCE se solape consigo misma (Figura 2.2). En este caso, la solución dentro del nanocanal está completamente polarizada, lo que significa un incremento en la concentración de *contraiones* y un decrecimiento de la concentración de *coiones*. Este fenómeno se conoce como *polarización de concentración* y se caracteriza experimentalmente como una meseta a bajas concentraciones en un diagrama de conductancia iónica en función de la concentración (Figura 2.3), lo que significa que en esta región la concentración de portadores de corriente dentro del canal está regulada (o determinada) por la **superficie** de los canales y no por la concentración de *bulk* de la solución. Fuera de esta región, la conductancia aumenta linealmente con la concentración de *bulk*. El hecho de que en los canales nanométricos el control de la concentración de iones esté regulado por la superficie y particularmente, por la distribución, tipo y magnitud de la densidad carga superficial, es de importancia capital para la mayoría de las aplicaciones nanofluídicas, debido a que el cambio de esta distribución permite regular la concentración de los portadores y en última instancia el transporte de dichas especies dentro de los canales.

Un modelo simplificado para explicar la relación entre la conductancia (G) de un nanocanal con la concentración de electrolito en solución y con los parámetros geométricos del canal fue presentado por Schoch *et al.* Considerando tanto la conductancia de *bulk* como el exceso de conductancia de contraiones que proviene de aplicar la condición de electroneutralidad y del apantallamiento de las cargas superficiales,⁶

$$G = (\mu_{K^+} + \mu_{Cl^-})cN_A e \frac{wh}{d} + 2\mu_{K^+}\sigma_s \frac{w}{d} \quad (11)$$

Donde w , h y d son la anchura, la altura y la longitud de un nanocanal, respectivamente.

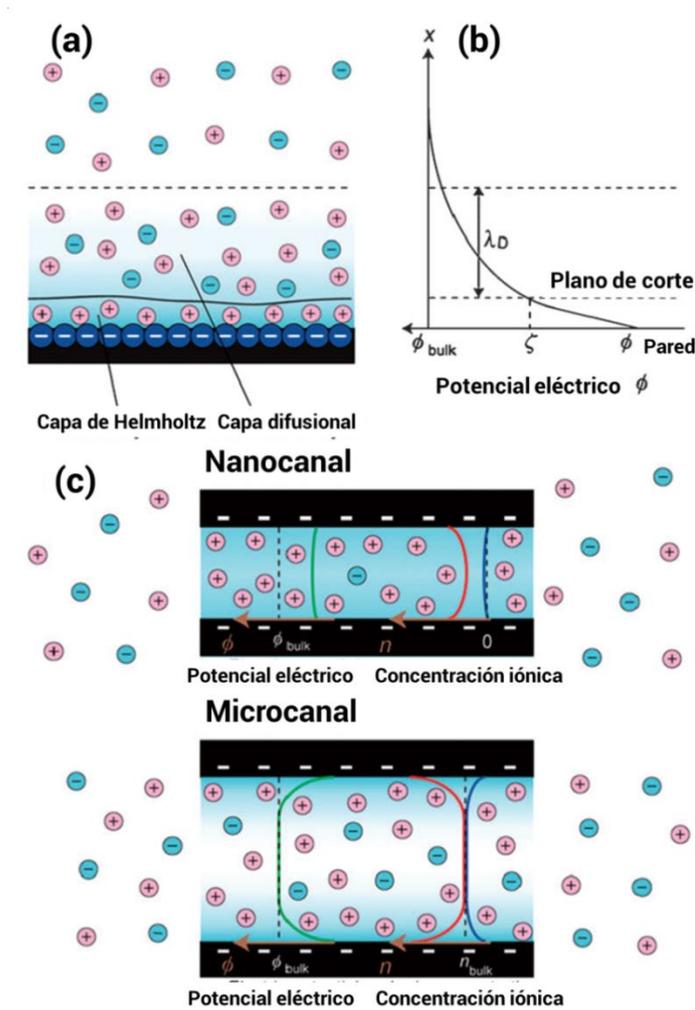


Figura 2.2. (a) Esquema de la doble capa eléctrica, donde se puede observar la capa de Helmholtz (fuertemente adsorbida) y la capa difusional. (b) Gráfico esquemático de la evolución del potencial eléctrico en función de la distancia normal a la superficie (x), se representa aquí la longitud de Debye (λ_D) y la posición del plano de corte, cuyo potencial se conoce como potencial zeta (ζ). Este último es un parámetro que puede medirse experimentalmente. (c) Esquemas de un microcanal y un nanocanal en donde se puede observar el incremento en el fenómeno de polarización de la concentración con el confinamiento de la solución.

El primer término de esta ecuación es la conductancia de *bulk* mientras que el segundo es la conductancia por exceso de contraiónes, Un análisis rápido de esta ecuación muestra que para una concentración de iones alta prevalece el primer término, el cual conduce al comportamiento lineal típico del *bulk* y a una dependencia también lineal con la altura del canal. Es importante marcar que el canal considerado en este modelo es una ranura donde la dimensión nanométrica es la altura, h . Por otro lado, a concentraciones de iones bajas, es el

segundo término el que prevalece debido a que no posee ninguna dependencia con la concentración, aunque sí con los parámetros geométricos del nanocanal. La Figura 2.3 muestra cómo afecta cada parámetro el comportamiento de la conductancia del nanocanal.

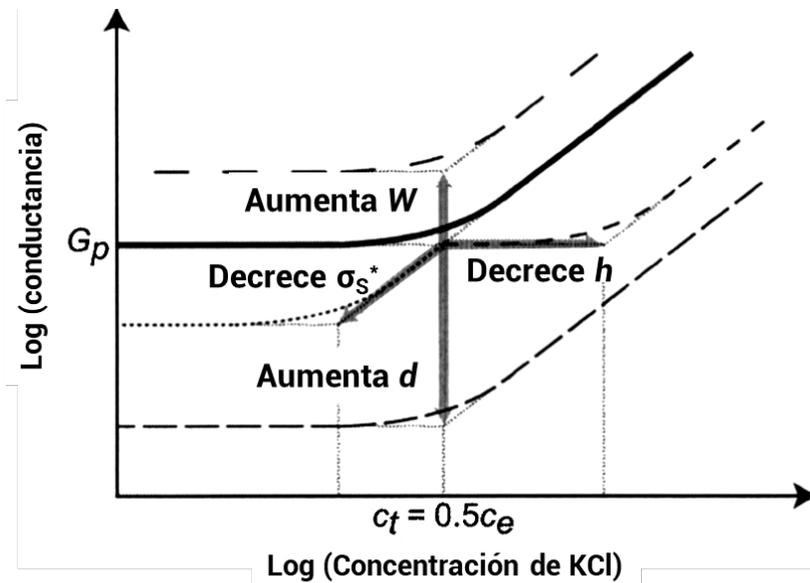


Figura 2.3. Gráfico log-log de la conductancia de un nanocanal versus la concentración de electrolito. Se muestran la influencia de la carga superficial (σ_s^*) así como de cada parámetro geométrico del nanocanal presentados en la ecuación 3.

2.3. Generación de señales "iontrónicas" en dispositivos nanofluídicos

Un predecesor verdaderamente icónico de las tecnologías actuales de nanoporos y nanocanales es la técnica de *Coulter-counting*,⁷ en la que pequeños objetos que pasan a través de un poro micrométrico desencadenan una perturbación detectable de la corriente iónica que fluye a través del mismo. Posteriormente, durante la década de 1970, la investigación experimental basada en medidas de corrientes a través de canales iónicos surgió como un enfoque valioso para caracterizar los canales iónicos biológicos inmersos en las membranas celulares.^{8,9} Este nuevo enfoque experimental permitió el estudio de los canales iónicos responsivos al voltaje (*Voltage-gated*), los cuales son capaces de controlar el paso de iones a través de las membranas plasmáticas de las células excitables en respuesta a diferentes estímulos externos, tales como moléculas específicas llamadas ligandos. Una de las lecciones más importantes que podemos aprender de los poros biológicos es que, a pesar de que el

proceso de *gating* está principalmente mediado por cambios conformacionales, en general, el mecanismo de *gating* depende del estímulo.

En estrecha analogía con los poros biológicos, la presencia de estímulos específicos también puede provocar cambios detectables de la corriente iónica que pasa a través de nanocanales sintéticos a partir de medidas conductimétricas. Los procedimientos de medida de corrientes iónicas son sumamente asequibles ya que requieren de instrumentación muy simple en comparación con otras tecnologías de detección tales como resonancia de plasmón superficial (SPR), microbalanza de cristal de cuarzo (QCM) o técnicas de fluorescencia. Además, las tecnologías de detección basadas en nanoporos o nanocanales son compatibles con el uso de arreglos de nanocanales para que diferentes señales físicas, químicas o biológicas puedan ser procesadas simultáneamente.

El proceso de medición conductimétrico de nanocanales de estado sólido típicamente implica la realización de medidas de "*estado estacionario*" que muestran cambios en las características "corriente-potencial" del canal (I-V) antes y después de exponer al mismo a cierto estímulo. En los últimos años, el enfoque de estado estacionario ha ganado interés creciente debido a su simplicidad experimental intrínseca para transducir diferentes estímulos específicos en señales iónicas reproducibles.

La respuesta I-V primaria del nanocanal depende en gran medida de sus características geométricas y particularmente de la simetría de su distribución de cargas en la superficie, las cuales afectan a su vez la distribución de iones dentro del canal. Las geometrías simétricas o asimétricas de los nanocanales definen las propiedades de transporte iónico simétrico (ohmico) o asimétrico (no óhmico) (Figura 2.4).

Los nanocanales simétricos, como por ejemplo los nanocanales cilíndricos, exhiben una respuesta óhmica, es decir, curvas I-V lineales. Por otra parte, los nanocanales asimétricos - respecto al plano principal de la membrana o lámina que contiene el canal - exhiben propiedades de *rectificación* iónica observadas experimentalmente como una respuesta asimétrica (no lineal) en las curvas I-V. Este comportamiento no-ohmico implica que la magnitud de las corrientes iónicas para voltajes aplicados de una polaridad difiere significativamente de la magnitud de corrientes iónicas para voltajes de la polaridad opuesta.¹⁰ Actualmente está ampliamente aceptado que la rectificación iónica es consecuencia de la ruptura en la simetría de la distribución del potencial eléctrico dictado por la interacción entre

la carga de las paredes de canal y los portadores iónicos, es decir: los iones que pasan a través del canal.^{11,12} Esta ruptura de simetría se puede observar en nanocanales cónicos cargados (asimetría geométrica) pero no en nanocanales cilíndricos (simetría geométrica) para una distribución homogénea de carga en ambos casos. También se ha demostrado que una distribución no homogénea o asimétrica de las cargas superficiales de canales simétricos también puede conferir propiedades de rectificación a los dispositivos nanofluídicos.¹³

Por lo tanto, las capacidades de detección y transporte iónico de los nanocanales asimétricos dependen fuertemente de la forma (o asimetría) de los poros, es decir, de parámetros tales como el diámetro de la punta y la base o de la longitud del nanocanal.¹⁴ Una característica importante de nanocanales asimétricos, en comparación con los nanocanales cilíndricos, es que la mayor parte de la caída de potencial causada por el nanocanal está concentrada alrededor de la punta (la apertura más pequeña). En este contexto, debemos mencionar que, en principio, la selectividad iónica sólo puede conseguirse si el diámetro del canal (o al menos de la punta) es comparable al espesor de la doble capa eléctrica para una solución con una fuerza iónica dada (Ecuación 10). Ejemplos comunes en donde se observa rectificación de la corriente iónica son nanopipetas de vidrio,¹⁵ nanocanales *track-etched*,¹⁶ y nanoporos de nitruro de silicio.¹⁷

La fabricación de canales adecuados para "iontrónica", es decir, con pocos nm de diámetro y geometría controlada, es muy difícil. Las nanopipetas de vidrio se preparan en su mayor parte mediante técnicas estándar de tracción usando láseres y proporcionan nanocanales de diámetro ~ 20-50 nm. Los nanoporos de nitruro de silicio se preparan mediante técnicas de haces de electrones o iones proporcionando canales con pocos nm de diámetro y longitudes de pocas decenas de nm. Por otro lado los nanocanales *Track-etched* se preparan por una técnica desarrollada en la década de 1980 en el GSI Helmholtz Center en Darmstadt (Alemania) mediante una combinación única de irradiación con iones pesados rápidos (alta energía), y posterior degradación química (*etching*), produciendo nanocanales individuales en láminas poliméricas tales como politereftalato de etileno (PET), policarbonato (PC) y poliimida (PI) con excelente control sobre la geometría de los poros y el tamaño. Además, la presencia de grupos carboxilo en la superficie de nanocanales *track-etched* permite la modificación química subsiguiente de las láminas lo que confiere nuevas propiedades a los nanocanales.

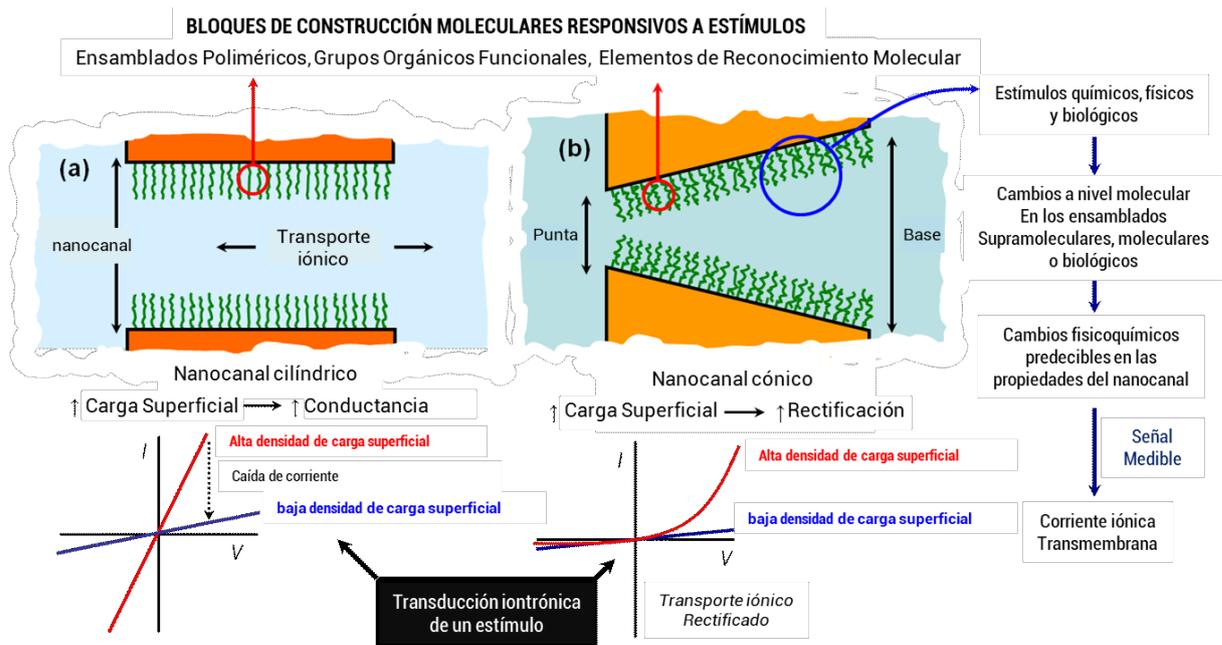


Figura 2.4. Dibujo simplificado que describe las principales características de los nanocanales (a) cilíndricos y (b) cónicos funcionalizados con bloques de construcción sensibles a estímulos determinados. La figura también indica los cambios esperados en la corriente iónica transmembrana tras las variaciones en las condiciones ambientales que conducen a estados de alta y baja densidad de carga superficial en la capa modificada con el ensamblado responsivo. El aumento de la carga superficial conduce a una mayor conductancia iónica para los canales cilíndricos (izquierda) y a una rectificación más pronunciada para los poros cónicos (derecha).

En estrecha similitud con los poros biológicos, los nanocanales de estado sólido también pueden mostrar propiedades de "gating", es decir: de apertura y cierre en respuesta a estímulos externos. El uso de nanocanales de estado sólido para el desarrollo de dispositivos nanofluidicos para aplicaciones analíticas depende de nuestra creatividad e ingenio para crear sistemas que sean capaces de responder específicamente a un cierto estímulo modulando el transporte iónico a través del poro. La integración de bloques de construcción prediseñados en nanocanales y nanoporos puede conducir a la fabricación de dispositivos nanofluidicos direccionables. A pesar de que el término "bloque de construcción" evoca una amplia variedad de unidades funcionales, que van desde moléculas orgánicas hasta entidades biológicas, en este caso se refiere a un escenario en el que la respuesta de las unidades moleculares que decoran las paredes nanocanales pueda ser controlada con precisión y conveniencia de acuerdo con el estímulo deseado. Esto es particularmente atractivo cuando

pensamos en un nanocanal como un elemento nanofluidoico con características físicas notables cuya capacidad de modular el paso de iones puede ajustarse con precisión ajustando una señal externa química, física o biológica. Cuando pensamos de esta manera se revelan oportunidades interesantes. Diferentes mecanismos de *gating* proporcionan perspectivas complementarias a partir de las cuales se puede manipular el transporte iónico a través de los nanocanales y, de esta manera controlar la generación de señales iontrónicas en respuesta a los estímulos externos.

El aprovechamiento de la capacidad para preconfigurar cambios en las propiedades fisicoquímicas de las arquitecturas moleculares y supramoleculares tras la exposición a estímulos particulares representa la base del control dinámico sobre el proceso de *gating* de los nanocanales.¹⁸ En general, hay tres mecanismos principales que controlan la apertura y el cierre de los nanocanales: (a) efectos de volumen excluido o efectos estéricos, (b) modulación de carga superficial, y (c) cambio en la mojabilidad.

Los efectos de *volumen excluido* pueden provenir de transiciones conformacionales o de la reorganización de las unidades moleculares incluidas en las paredes de los canales. La unión de analitos a las paredes de los canales también puede causar efectos de volumen excluido significativos cuando las moléculas que se unen son lo suficientemente grandes, en comparación con la apertura de los poros, como para provocar una oclusión parcial o incluso completa del poro. En este caso, el cambio de corriente es proporcional a la disminución de la sección eficaz del nanocanal. La *modulación de la carga superficial* representa otro mecanismo de *gating* comúnmente usado para transducir estímulos externos en señales iónicas. Los experimentos basados en cambios de cargas superficiales pueden ser más versátiles en comparación con el enfoque estérico, especialmente en el caso de los nanocanales asimétricos, ya que la magnitud y naturaleza de las cargas de superficie que cubren las paredes de los nanocanales pueden determinar no sólo la magnitud de la corriente iónica sino también la dirección de la corriente rectificadora, es decir: transporte iónico "*vectorial*". Dependiendo de las características geométricas del nanocanal asimétrico (tamaño de la punta, base, relación de aspecto) y de la densidad superficial de los grupos cargados en las paredes del canal, estos elementos nanofluidoicos se comportan como diodos iónicos que muestran una rectificación de la corriente iónica muy alta.

Debido a que la corriente iónica que pasa a través de estos diodos depende fuertemente de la densidad de carga superficial, cambios sutiles en la magnitud de la carga superficial debido a

la influencia de un estímulo externo, por ejemplo, la unión del analito en la punta del poro, se traducen inmediatamente en un cambio de la magnitud de la rectificación. En el caso de los nanocanales simétricos se debe considerar que las cargas superficiales inducen un *gating* electrostático sobre los fenómenos de transporte electrocinéticos que se traduce en grandes cambios sobre la conductancia del nanocanal. Como resultado, la modulación de las cargas superficiales en nanocanales simétricos debido a la influencia de una señal externa es detectada como un cambio en la pendiente de las curvas I-V.

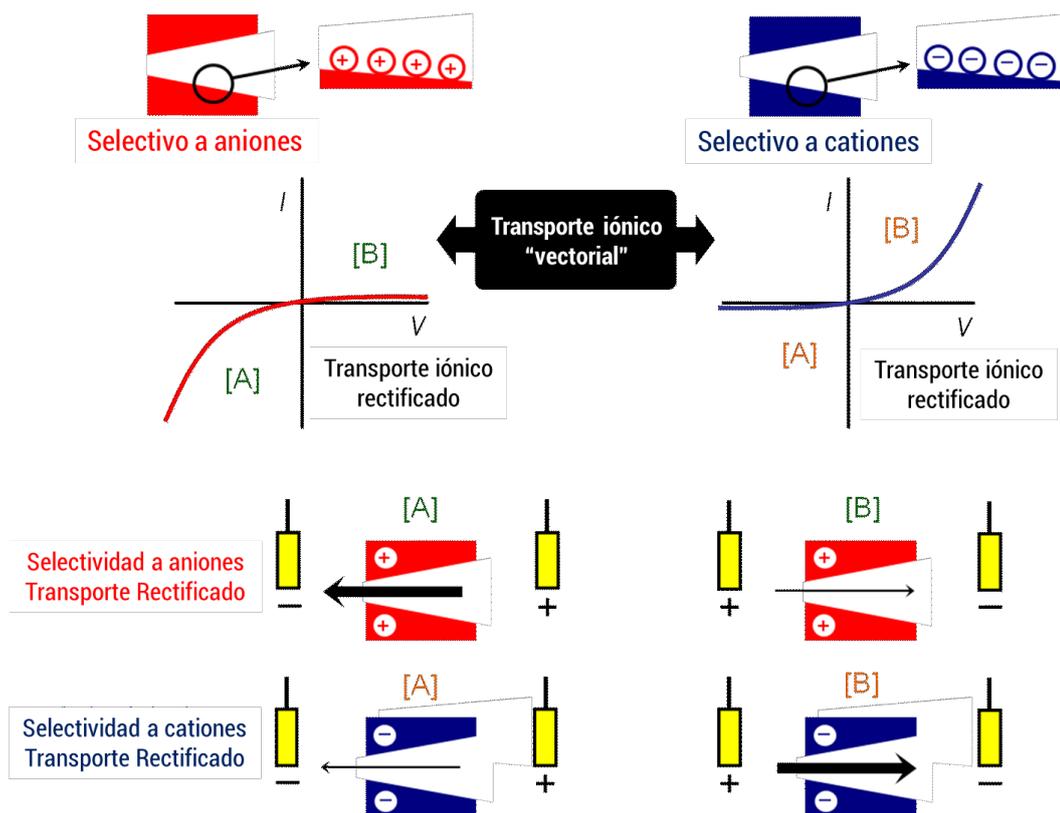


Figura 2.5. La ilustración indica el flujo preferencial de cationes a través de nanocanales cónicos cargados positiva y negativamente en diferentes condiciones de polarización ([A] y [B]). Las flechas indican la dirección de la corriente eléctrica bajo el potencial aplicado y, por lo tanto, siempre apuntan en la dirección del movimiento de iones positivos. Las flechas gruesas (delgadas) indican la dirección de la corriente en el estado de alta (baja) conductancia. Las curvas de corriente-voltaje de los nanocanales están dictadas principalmente por las propiedades de la punta de los canales, que es la región de los nanocanales con mayor impedancia. Si el poro está cargado positivamente, el estado de alta conductancia se obtiene cuando los portadores mayoritarios (aniones) entran primero desde la punta del nanocanal. Esto corresponde a $V < 0$ según los criterios de signo. Por otro lado,

si el poro está cargado negativamente, el estado de alta conductancia se encuentra de nuevo cuando los portadores mayoritarios (cationes) entran primero por la punta de los nanocanales. Esto ocurre ahora para $V > 0$.¹⁹

Con respecto al mecanismo de *cambio de mojabilidad*, debemos tener en cuenta que un gran número de estudios biofísicos han demostrado que la hidrofobicidad de un poro es un parámetro muy importante para la permeabilidad iónica en membranas biológicas.²⁰ Las interacciones desfavorables entre las paredes de los poros hidrofóbicos y las moléculas de agua en la solución pueden conducir a un "*dewetting*" del nanocanal, lo que conduce a una barrera energética a la conducción iónica. Este proceso, también conocido como "gating hidrofóbico", es explotado por canales iónicos biológicos para regular el flujo de iones a través de membranas. De manera similar, en el caso de nanocanales sintéticos, o dispositivos nanofluidicos en general, se ha demostrado que se pueden detectar cambios significativos en la conductancia iónica (*gating* ON / OFF) cuando la superficie del poro se conmuta de un estado hidrofóbico a un estado hidrófilico en el que el nanocanal se llena nuevamente de solución.²¹ Por lo tanto, la modulación de las propiedades de mojado en respuesta a un estímulo particular puede ser explotada como un interesante mecanismo de control para controlar las corrientes iónicas que fluyen a través de un nanocanal.

2.4. Medidas de transporte iónico

Para estudiar el transporte de iones a través de membranas el método típico consiste en aplicar una diferencia de potencial a través de la membrana y registrar la corriente. Para el caso de láminas que contienen un solo nanocanal, se debe contar con un equipo capaz de medir con precisión corrientes del orden de 1 nA. Como se explicó en la sección anterior existen dos métodos fundamentales para estudiar el transporte en nanocanales, uno consiste en aplicar un potencial fijo y estudiar los cambios en la corriente en función del tiempo. En una solución que solo contiene un electrolito simple (KCl) la respuesta es una corriente constante dada por la conductancia del canal. Sin embargo si en solución se encuentra alguna molécula cuya dimensión es comparable con el tamaño del canal, se van a observar caídas en la corriente cada vez que una de estas moléculas atraviese el canal (pulso resistivo), este es el fundamento del método de sensado por pulso resistivo, ampliamente utilizado en ciencias biomédicas. Para este tipo de medidas se requiere de un amplificador que pueda registrar valores a una alta frecuencia.

Por otro lado, en lugar de aplicar un potencial constante puede aplicarse una función triangular de potencial que barra un rango preestablecido a una velocidad determinada. Si esta velocidad es lo suficientemente baja, puede considerarse que el registro de la corriente se realiza en estado estacionario y se obtienen curvas que son más representativas de las características del canal (geometría, carga) las cuales se denominan características de corriente-potencial o curvas I-V.

2.4.1. Características de Corriente-Potencial (Curvas I-V)

En esta tesis se emplearon dos arreglos experimentales distintos para registrar las curvas de corriente-potencial. El primer arreglo fue un equipo construido de modo "*ad-hoc*" en el cual el potencial eléctrico fue generado por una computadora mediante una rutina escrita en Labview y conectada a un picoamperímetro (Keithley 6485) mediante una placa adquisidora de datos (National Instruments PCI-6221). Este arreglo permitió realizar medidas utilizando dos electrodos para la polarización de la celda, los cuales fueron electrodos caseros de Ag/AgCl.

Por otro lado, el segundo arreglo consistió en el uso de un potenciostato disponible comercialmente (Gamry, Reference 600) con un conjunto de cuatro electrodos (trabajo, referencia 1, referencia 2 y contraelectrodo) para minimizar la contribución de los procesos que ocurren en las superficies de los electrodos. De esta manera, podemos medir las variaciones de corriente derivadas únicamente de los cambios en el nanocanal.²² Para este arreglo, tanto los electrodos de trabajo como el contraelectrodo fueron construidos de platino mientras que se utilizaron electrodos de Ag/AgCl disponibles comercialmente como electrodos de referencia. Debido a las consideraciones experimentales anteriormente mencionadas, éste fue el arreglo elegido para la medida de las curvas I-V, mientras que el otro arreglo experimental fue utilizado principalmente para el *etching* de nanocanales cónicos. En ambos casos se utilizó una celda de conductividad *ad-hoc* en la cual los compartimentos están conectados por un solo nanocanal. (Figura 2.6)

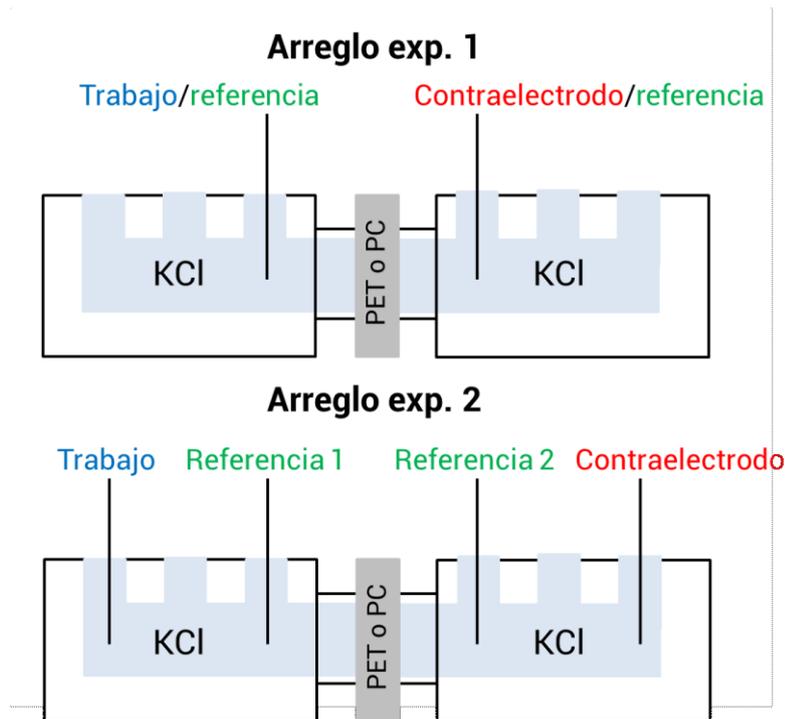


Figura 2.6. Esquemas de los arreglos experimentales utilizados para las medidas de transporte iónico. El arreglo experimental 1, consiste en el uso de un equipo casero donde se utiliza un picoamperímetro para registrar la corriente y un sistema de 2 electrodos de Ag/AgCl. El arreglo experimental 2 consistió en el uso de un potenciostato comercial con un sistema de 4 electrodos, los electrodos de trabajo y contraelectrodos fueron de Platino y los electrodos de referencia, electrodos comerciales de Ag/AgCl.

2.4.2. Eficiencia (factor) de rectificación

Como se explicó en la sección 2.3, los nanocanales simétricos presentan un comportamiento de transporte iónico óhmico ante la aplicación de un potencial de transmembrana, es decir, la corriente iónica es una función lineal del potencial aplicado. Sin embargo, esto no es cierto para los nanocanales asimétricos, los cuales se comportan como diodos iónicos presentando rectificación de la corriente. Para estudiar las variaciones de esta propiedad de rectificación, se definió un factor de rectificación (f_{rec}), que permite cuantificar la eficiencia de dicho fenómeno. En todos los experimentos discutidos en esta tesis la definición del f_{rec} fue,

$$f_{rec} = \pm \frac{|I(1V \text{ or } -1V)|}{|I(-1V \text{ or } 1V)|}$$

donde la corriente en el numerador es el valor de corriente más grande correspondiente a la rama de alta conductancia, mientras que el del denominador es el valor de corriente más bajo que corresponde a la rama de baja conductancia. Adicionalmente, dependiendo de la configuración de los electrodos en cada experimento (Figura 2.6), si la corriente más alta corresponde a un potencial positivo (o negativo) entonces el factor de rectificación se multiplica con -1 para condiciones en las que se sabe que la carga superficial es negativa. Esta definición permite asignar *un f_{rec} negativo para el caso de un nanocanal con carga superficial negativa y un f_{rec} positivo para cargas superficiales positivas*. Esta definición simplifica la interpretación de los resultados experimentales en términos de carga superficial. Es importante mencionar que la carga superficial de los nanocanales de PC y PET es negativa debido a los grupos carboxilato que se forman a partir de la hidrólisis de las cadenas poliméricas después del proceso de *etching*. Para láminas de PC y PET hidrolizadas se han determinado valores de densidad de carga superficial en el rango de -0.9 a -1.7/nm².

2.5. Modelado del transporte iónico. Ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck

Ante la importancia de los fenómenos de transporte iónicos de los nanocanales tales como los cambios de la conductancia por regulación superficial o la modulación de la rectificación en nanocanales asimétricos, se hace evidente la necesidad de un marco teórico en el cual se puedan reconocer cuales son los parámetros que afectan estas propiedades y en qué medida. Debido a la naturaleza dinámica de estos procesos, las teorías descriptas en equilibrio como por ejemplo la teoría de Poisson-Boltzmann (ecuación 8), no son las más adecuadas. Sin embargo, ciertos elementos de estas teorías pueden ser utilizados bajo la *hipótesis de equilibrio local*²³ la cual supone que existe cierta escala de longitud ante la cual puede considerarse al sistema en equilibrio - en donde las variables termodinámicas tienen las mismas relaciones entre ellas que en equilibrio. Este es el caso del potencial químico el cual como fue explicado anteriormente (ver potencial químico) describe la dirección del transporte de las especies en la dirección opuesta a su gradiente espacial ($-\nabla\mu$) y por lo tanto puede ser utilizado para describir el flujo de iones (J_i) como,

$$J_i(\mathbf{r}) = -D_i C_i(\mathbf{r}) \nabla \beta \mu_i(\mathbf{r}) \quad (12)$$

Donde D_i , C_i y β son el coeficiente de difusión, la concentración de la especie i y la constante termodinámica ($1/RT$) respectivamente y \mathbf{r} es la posición en el sistema. Reemplazando la

expresión para el *potencial electroquímico* (ecuación 4) en la ecuación anterior para el flujo iónico (ecuación 12) obtenemos la ecuación de *Nernst-Planck* de la forma,

$$J_i(\mathbf{r}) = -D_i \nabla C_i(\mathbf{r}) - D_i q_i \nabla \beta \psi(\mathbf{r}) \quad (13)$$

Esta ecuación, en combinación con la ecuación de *Poisson* (ecuación 7), forman el conjunto de ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck (PNP) ampliamente utilizado para resolver problemas de transporte iónico. A lo largo de los últimos años ha habido un gran número de publicaciones destinadas a encontrar soluciones analíticas y numéricas de estas ecuaciones.²⁴ En el apéndice 2 puede encontrarse el detalle del procedimiento aplicado a lo largo de esta tesis para resolver las ecuaciones de PNP en una dimensión. Estos cálculos a lo largo de la tesis, al igual que simulaciones complementarias tipo Monte Carlo, fueron realizados en colaboración con Alberto G. Albesa del INIFTA, en La Plata.

2.6. Explicación del fenómeno de rectificación de la corriente iónica

La Figura 2.7 muestra medidas de curvas I-V para un nanocanal de estado sólido en politereftalato de etileno (PET) cuya superficie se encuentra cargada negativamente (línea continua gris). Una vez aplicado el modelo PNP (puntos azules), se observó que una excelente concordancia entre los resultados experimentales y teóricos cuando se aplica el modelo de PNP. La teoría de PNP permite entonces correlacionar las características corriente-potencial y por lo tanto también la *eficiencia de rectificación* de un nanocanal dado, con la *carga superficial*. Para una geometría fija (cónica), se observó que existe un aumento monótonico del factor de rectificación al aumentar la carga superficial (Figura 2.7b), lo que confirma que una molécula funcional que puede modificar su estado de carga puede, por consiguiente, transducir estos cambios en la dirección y magnitud de la transporte iónico.

Como se mencionó anteriormente, la teoría de PNP ha sido ampliamente utilizada para reproducir los resultados experimentales, principalmente porque puede ser utilizada para dilucidar algunos de los fenómenos característicos de los dispositivos nanofluídicos y en particular de los nanocanales cónicos. La primera pregunta que nos interesa responder es: ¿cuáles son los fundamentos físicos de la existencia de rectificación en nanocanales asimétricos? Existen una gran cantidad de teorías que pretenden explicar este fenómeno pero sin duda la más intuitiva y sencilla es la teoría de la rueda dentada (*Ratchet*)²⁵, la cual está

basada en la forma que adoptan los perfiles de potencial eléctrico a lo largo de un nanocanal asimétrico cuando éste es sometido a distintos potenciales de transmembrana. Si bien esta teoría fue presentada intuitivamente, finalmente pudo ser corroborada mediante la utilización del formalismo de PNP, pudiéndose calcular los perfiles de potencial para distintos potenciales de transmembrana (Figura 2.8).

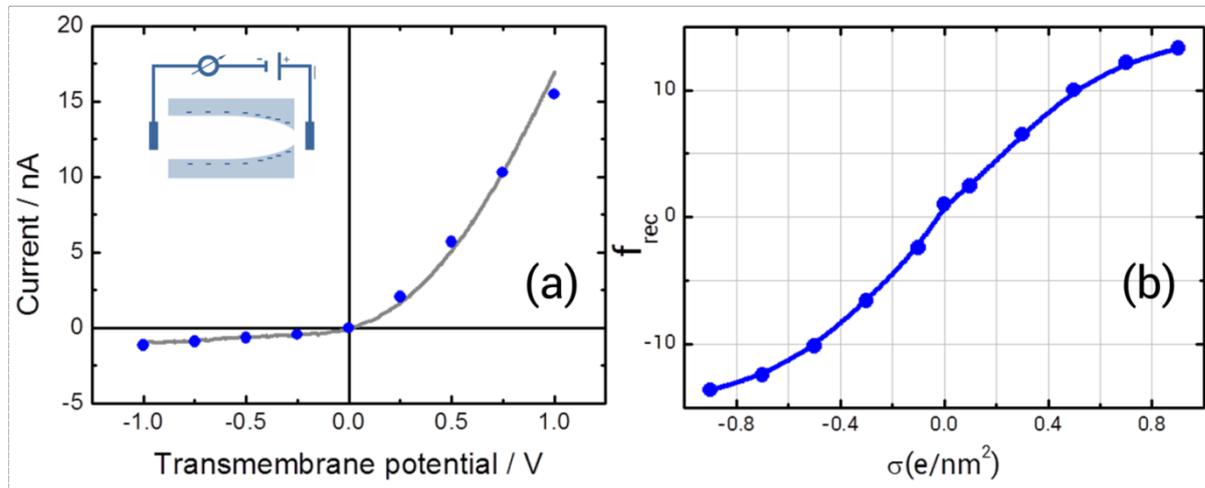


Figura 2.7. (a) Resultados experimentales (línea gris) y ajuste con el modelo PNP (curva con puntos azules) para un nanocanal de PET fabricado en forma de bala. Recuadro: Esquema simplificado que muestra la configuración de los electrodos para la medición de las curvas. (b) Factor de rectificación en función de la densidad de carga superficial obtenida de la teoría PNP para un nanocanal cónico (con forma de bala). Diámetro de la punta: 20 nm, diámetro de la base: 500 nm.

La Figura 2.8 muestra la forma de estos perfiles para un nanocanal cónico negativamente cargado donde el potencial es aplicado desde la punta; aquí puede verse que a potencial 0, el potencial se mantiene relativamente constante a excepción de una disminución hacia la entrada del nanocanal ($x=0$), debido a la condición impuesta de exclusión Donnan. Vale la pena aclarar que debido a que el potencial eléctrico por convención se define en función de una carga positiva, para entender el desplazamiento de los aniones hay que “seguir” las curvas por debajo, desde menores a mayores potenciales. Al aplicar un potencial de transmembrana negativo (-0.5 V), los cationes (K^+) se ven impulsados desde la base del canal hacia la punta mientras que los aniones (Cl^-) lo hacen en el sentido contrario, en ambos casos siguiendo el descenso del perfil de potencial eléctrico. Sin embargo, puede verse que existe una pequeña barrera de potencial a la entrada del nanocanal, la cual impide el transporte de los aniones. Es debido a esta barrera que la contribución de los aniones a la corriente total es muy baja frente

a la contribución de los cationes. De hecho, mediante el cálculo de los números de transporte para cationes y aniones en un nanocanal con las mismas condiciones, puede verse que para potenciales negativos, el número de transporte para cationes es >0.9 para una solución $0,05$ M de KCl y el de aniones es <0.1 , es decir, que más del 90 % de la corriente es transportada por los cationes y la selectividad del sistema es muy alta. Sin embargo, debido a que la condición de electroneutralidad debe mantenerse los únicos cationes que se encuentran disponibles para transportar la corriente son los que están en equilibrio con las cargas de la superficie del canal y es por esto que las corrientes son muy bajas. Por otro lado, cuando se aplica un potencial positivo (0.5 V), que se corresponde a los cationes yendo desde la punta hacia la base y a los aniones desde la base hacia la punta, no se observa la aparición de ninguna barrera de potencial que impida el transporte de aniones. Debido a esto, se puede observar que el número de transporte es cercano al 0.5 para ambos tipos a potenciales positivos, es decir, casi el 50 % de la corriente iónica es transportado por cada especie y debido a esto, la condición de neutralidad se satisface y las corrientes son mucho más altas, dando lugar a la región de alta conductividad. Por supuesto la inversión de la carga de la superficie de los canales genera una inversión de los perfiles de potencial lo que finalmente conduce a la reversión de la forma de las curvas I-V y del valor del factor de rectificación.

Para realizar el cálculo de los números de transporte, se estimó la fracción de la corriente total transportada por cada ion, simulando las curvas de corriente-voltaje para cada ion en ausencia del otro, y dividiendo los valores obtenidos por la corriente total I ,

$$\text{Numero de } T \text{ de la especie } i = \left| \frac{I_i}{I} \right| \quad (14)$$

Donde I_i se calculó como,

$$I_i = z_i F \pi a^2 J_i \quad (15)$$

Donde J_i es el flujo iónico calculado a partir de las ecuaciones de transporte, Z_i la carga del ion y a el radio del nanocanal.

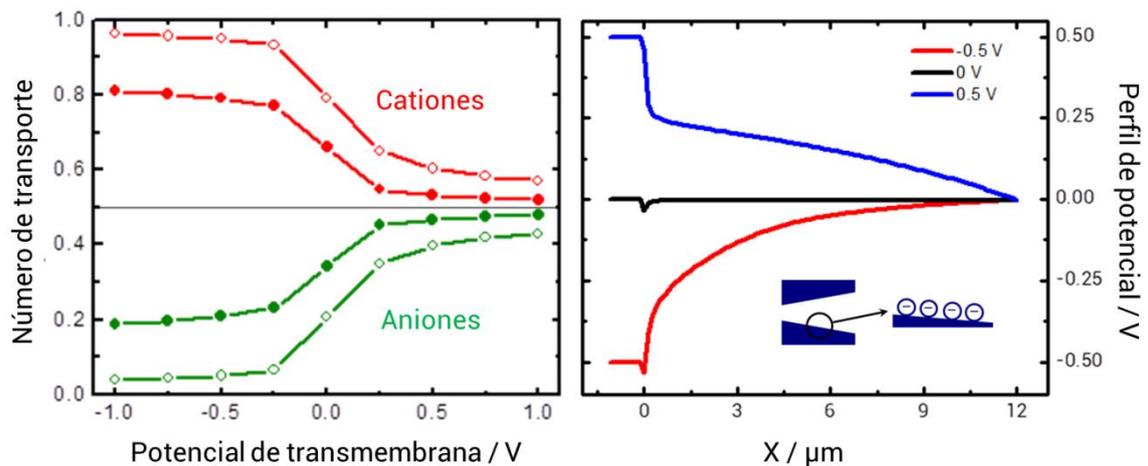


Figura 2.8. (izquierda) Números de transporte para K^+ (rojo) y Cl^- (verde) en función del potencial de transmembrana calculados utilizando el modelo de PNP, para una concentración de 0.05 M (círculos vacíos) y 0.1 M (círculos llenos). (derecha) Perfiles de potencial eléctrico a lo largo de un nanocanal, cónico a distintos potenciales de transmembrana, -0,5, 0 y 0,5 V.

2.7. Objetivos de la presente tesis doctoral en base al marco conceptual expuesto

En este punto, nos encontramos suficientemente munidos de los fundamentos de la nanofluídica como para poder apreciar los aspectos de la misma que requieren de mayor investigación y entendimiento. Puntualmente, la transducción iontrónica de estímulos físicos y químicos específicos, es un campo novedoso y de sumo interés para la comunidad científica principalmente para aquellos que buscan el desarrollo de dispositivos tecnológicos que tengan la capacidad de controlar el transporte de especies en entornos reducidos. Este campo incipiente ha comenzado en los últimos 5 años a concebir sus primeros dispositivos comerciales los cuales ya han comenzado una revolución en el campo de biosensado macromolecular a raíz de lo cual se esperan muchos más avances con una significancia similar.

Sin embargo, aún queda mucho por entender, ya sea sobre la físico-química de los fenómenos de transporte en confinamiento como sobre la fabricación de sistemas nanofluídicos. Por ejemplo, el desarrollo de plataformas complejas de transporte molecular, llamados circuitos moleculares o circuitos acuosos, requiere del desarrollo de componentes *iontrónicos* de

características análogas a los componentes estándar de los circuitos *electrónicos* como son resistores, díodos, transistores y amplificadores.

En este contexto particular esta tesis pretende contribuir al desarrollo de la construcción de *dispositivos nanofluidicos iontronicos* utilizando como estrategia de fabricación la incorporación de ensamblados moleculares responsivos sobre la superficie de nanocanales de estado sólido fabricados utilizando la técnica *ion-track-etching*. La combinación única de técnicas de nanofabricación y diversas estrategias químicas y físicas de modificación superficial ha demostrado ser un paradigma muy eficaz para cumplir este objetivo. La principal estrategia utilizada en este trabajo doctoral ha sido la fabricación de nanocanales asimétricos (tipo cónicos o con perfil parabólico), los cuales se comportan como diodos iónicos presentando rectificación de la corriente iónica cuya magnitud y dirección puede ser regulada modulando la carga superficial, la geometría o la mojabilidad del canal. Mediante la modificación ulterior de estos canales con diversas moléculas o ensamblados macromoleculares dotados de la capacidad prediseñada de modificar su estado de carga, volumen o hidrofobicidad ante determinado estímulo (pH, iones, potencial químico, moléculas) se han podido obtener nanocanales que permitan regular el transporte de iones ante la presencia de tales estímulos (transducción iontrónica).

2.8. Referencias

- [1] J. C.T. Eijkel, A. van den Berg, *Microfluidics and nanofluidics*, 2005, **1**, 249-267.
- [2] Q. Pu, J. Yun, H. Temkin, S. Liu, *Nano Lett.*, 2004, **4**, 1099–1103.
- [3] J.Scholz, C. J. Woolf, *Nature Neuroscience*, 2002, **5**, 1062 – 1067.
- [4] J. Feng, M. Graf, K. Liu, D. Ovchinnikov, D. Dumcenco, M. Heiranian, V. Nandigana, N. R Aluru, A. Kis, A. Radenovic, *Nature*, 2016, **536**, 197–200.
- [5] G. Job, F. Herrmann, *Eur. J. Phys.*, 2006, **27**, 353.
- [6] R. B. Schoch, P. Renaud, *Applied Physics Letters.*, 2005, **86**, 253111.
- [7] W. H. Coulter, US Pat., 2656508, 1953.
- [8] S. B. Hladky and D. A. Haydon, *Nature*, 1970, **225**, 451–453.
- [9] E. Neher, B. Sakmann, *Nature*, 1976, **260**, 799–802.
- [10] Z. S. Siwy, *Adv. Funct. Mater.*, 2006, **16**, 735–746.
- [11] P. Hanggi and R. Bartussek, *Lect. Notes Phys.*, 1996, **476**, 294–308.
- [12] P. Hanggi, F. Marchesoni, *Rev. Mod. Phys.*, 2009, **81**, 387–442.

- [13] R. Karnik, C. Duan, K. Castelino, H. Daiguji and A. Majumdar, *Nano Lett.*, 2007, **7**, 547–551.
- [14] Y. Choi, L. A. Baker, H. Hillebrenner, C. R. Martin, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2006, **8**, 4976.
- [15] C. Wei, A. J. Bard and S. W. Feldberg, *Anal. Chem.*, 1997, **69**, 4627–4633.
- [16] P. Y. Apel, Y. E. Korchev, Z. Siwy, R. Spohr and M. Yoshida, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B*, 2001, **184**, 337–346.
- [17] P. Chen, T. Mitsui, D. B. Farmer, J. Golovchenko, R. G. Gordon and D. Branton, *Nano Lett.*, 2004, **4**, 1333–1337.
- [18] R.E. Özel, S. Kahnemouyi, H. Fan, W.H. Mak, A. Lohith, A. Seger, M. Teodorescu and N. Pourmand, *ACS Sens.*, 2016, **1**, 265–271.
- [19] G. Pérez-Mitta, A. G. Albesa, M. E. Toimil Molares, C. Trautmann, O. Azzaroni, *ChemPhysChem*, 2016, **17**, 1 – 9.
- [20] P. Aryal, M.S.P. Sansom, S.J. Tucker, *J. Mol. Biol.* 2015, **427**, 121-130.
- [21] I. Vlassioug, C. Park, S. A. Vail, D. Gust and S. Smirnov, *Nano Lett.* 2006, **6**, 1013-1017.
- [22] <https://www.gamry.com/application-notes/electrodes-cells/two-three-and-four-electrode-experiments/>
- [23] Lebon, G.; Jou, D.; Casas-Vásquez, J. *Understanding Non-Equilibrium Thermodynamics*; Springer-Verlag: Berlin, 2008.
- [24] M. Tagliazucchi, I. Szleifer. *Chemically Modified Nanopores and Nanochannels*; Elsevier: Cambridge MA, 2017.
- [25] Z. S. Siwy, *Adv. Func. Mater.*, 2006, **16**, 735–746.

Capítulo 3

Fabricación y caracterización de dispositivos nanofluídicos

3.1. Métodos típicos de fabricación de nanoporos y nanocanales

Tal como se explicó en el capítulo anterior, la caracterización de los dispositivos nanofluídicos, en particular en lo que respecta a su capacidad para transducir estímulos físico-químicos mediante señales iónicas, no representa un gran desafío experimental. Esta consideración se basa en el hecho de que el equipamiento necesario podría considerarse de bajo costo y es ampliamente disponible comercialmente. No obstante, el gran desafío de la nanofluídica se encuentra en los métodos de fabricación *per se*. A lo largo de los últimos 20 años se han desarrollado un gran número de técnicas de fabricación de dispositivos nanofluídicos soportados en diferentes materiales tanto inorgánicos como orgánicos, y hasta híbridos biológico-inorgánicos. Sin embargo, el mayor desafío está en la fabricación de sustratos nanoporosos que contengan un solo elemento fluídico, es decir un solo nanoporo o un solo nanocanal. En términos generales, los métodos de fabricación que permiten la construcción de un solo nanoporo o nanocanal dependen de la interacción de sustratos con fuentes de electrones o iones que perforan el material formando las nanoestructuras buscadas.¹⁻⁴

Para el caso de las técnicas de fabricación de nanoporos basadas en el uso de electrones se requiere el uso de un haz enfocado de electrones direccionado para lo cual se suele utilizar un microscopio de transmisión de electrones (TEM) mediante el cual se puede fabricar o “*perforar*” el nanoporo directamente en el material a la vez que se observa su crecimiento (Figura 3.1 (a)). Sin embargo, cabe destacar que este procedimiento es muy lento e ineficiente a la vez que está limitado a sustratos con un grosor inferior a 50 nm por encima del cual el tiempo de fabricación se hace prohibitivamente largo. Utilizando esta técnica, se han podido obtener nanoporos de tamaños inferiores a 5 nm.^{5,6}

Por otro lado, el uso de iones ofrece dos posibilidades generales de fabricación dependiendo de la energía alcanzada por los iones. El uso de iones con energías bajas, conseguidas típicamente con equipos de haces de iones enfocados (*Focused ion beam*, FIB) permite la remoción de los átomos de la superficie de un material (*sputtering*) y se utiliza para fabricar nanoporos en sustratos previamente “excavados” químicamente (figura 3.1 (b)). Esta técnica se ha utilizado ampliamente para la fabricación de nanoporos en sustratos de silicio, dióxido de silicio y carburo de silicio. Una desventaja de esta técnica se presenta en la dificultad de obtener nanoporos de menos de 30 nm de diámetro de forma reproducible; aunque actualmente con el uso de haces desenfocados y iones de mayores energías se han podido obtener nanoporos de hasta 5 nm de diámetro en sustratos de SiN. Otra desventaja es que, al igual que con haces de electrones, existe una correlación entre el tamaño mínimo alcanzable y el espesor del sustrato.^{7,8}

Un enfoque alternativo en el uso de esta técnica consiste en utilizar el FIB para “esculpir” los nanocanales, es decir, utilizar los iones para cerrar el nanoporo en lugar de abrirlo. Esto se logra trabajando a temperaturas más altas (~10 °C) para las cuales la difusión lateral de los átomos de la superficie se ve fuertemente favorecida en lugar del *sputtering* de los mismos.

Esta técnica también condiciona el uso de la elección de los materiales a láminas de grosores que no excedan un espesor de 50 nm.

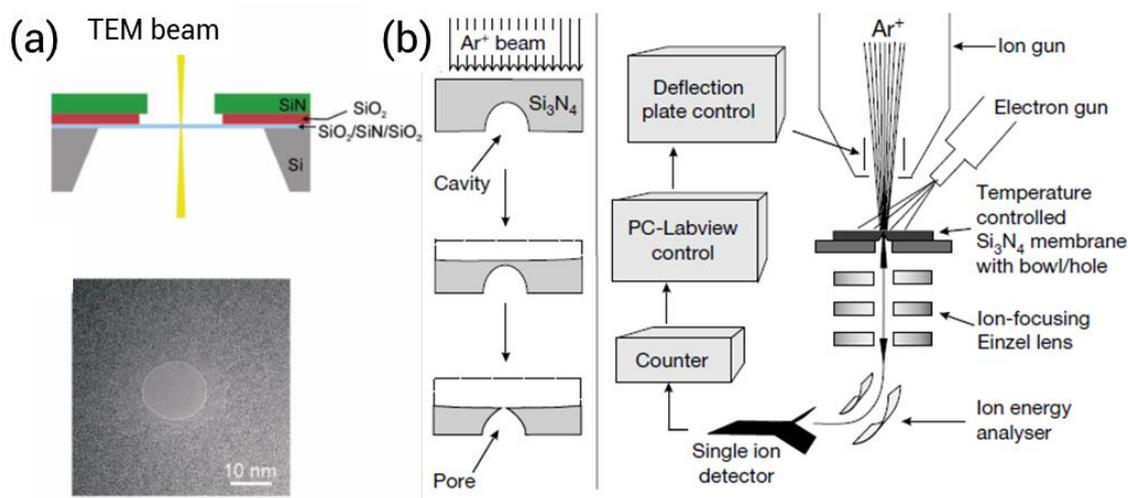


Figura 3.1. Técnicas de fabricación de un solo nanoporo o nanocanal. (a) Esquema representando la técnica de haces enfocados de electrones, para la cual se utiliza un microscopio electrónico de transmisión (TEM). (adaptado de ref. 9) (b) Esquema que representa el equipamiento utilizado para la técnica de haces enfocados de iones (FIB). (adaptado de ref. 10)

Sin embargo, este último problema que condiciona tanto el uso de electrones como de iones de baja energía, puede ser evitado mediante la utilización de iones de alta energía, las cuales pueden ser alcanzadas mediante el uso de aceleradores de iones, como los encontrados típicamente en complejos de investigación de física nuclear como por ejemplo el GSI en Darmstadt (Alemania), el JINR en Dubna (Rusia) o el TIARA en Takasaki (Japón). Cuando iones rápidos (de alta energía) penetran en un material (no conductor) estos dejan un daño denominado *track*, que puede ser removido selectivamente mediante un proceso de degradación química llamado *etching* dando lugar a la formación de un nanoporo o nanocanal en el material (figura 3.2). Debido a esta sucesión de pasos, este procedimiento se conoce como *ion-track-etching* y su uso está únicamente limitado al rango del ion dentro del material que se pretenda utilizar, lo que depende del tipo de ion, su energía y la naturaleza química del material. Por ejemplo, para polímeros de condensación típicos y iones con energías de 11 MeV por nucleón, el rango es de alrededor de 150 μm , valor que es sustancialmente mayor al que se encuentra con cualquier otra técnica; naturalmente no existe una cota mínima, al punto que esta técnica ha sido utilizada para fabricar nanoporos en grafeno.¹¹ Cabe destacar que esta última es la técnica utilizada en esta tesis para fabricar nanocanales en sustratos poliméricos.

3.2. Técnica “*Ion-Track-Etching*”

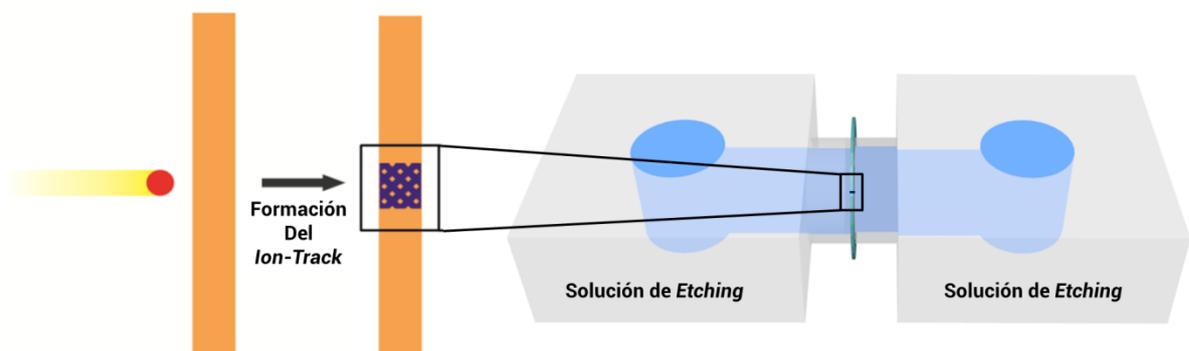


Figura 3.2. Esquema que muestra el procedimiento de *ion-track-etching*.

Las grandes instalaciones de aceleradores permiten el uso de haces de iones altamente energéticos para la fabricación de nanoporos o nanocanales de estado sólido en materiales dieléctricos, con la posibilidad de alcanzar energías de varios GeV por ion.¹²⁻¹⁴ Como se ha explicado antes, el haz de iones enfocado hace uso de iones acelerados para perforar o esculpir nanoporos en materiales, interactuando con átomos de la superficie ya sea

eliminándolos (*sputtering*) o haciéndolos difundir sobre la superficie. Sin embargo, estos no son los fenómenos predominantes cuando la energía de los iones es mayor.

La técnica llamada "*ion-track-etching*" hace uso de iones pesados rápidos para fabricar nanoestructuras. Para la fabricación de nanocanales se usan normalmente iones de ^{197}Au , ^{206}Pb o ^{238}U los cuales se aceleran típicamente a velocidades de $\sim 10\%$ de la velocidad de la luz (11,4 MeV por nucleón). Dependiendo del acelerador utilizado, la fluencia, es decir, la cantidad de iones por cm^2 , puede ser ajustada desde iones individuales ($1 \text{ ion}/\text{cm}^2$) a decenas de órdenes de magnitud, siendo la limitación en este caso la superposición del daño dejado por los iones sobre el material (Figura 3.3).

Cuando un ion atraviesa un material, este pierde energía debido a la interacción con los átomos del mismo. La energía depositada por unidad de distancia se denomina pérdida de energía y corresponde a la energía acumulada por el material "*objetivo*" (dE/dx) la cual puede ser definida como la suma de las pérdidas de energía electrónica y nuclear,

$$\frac{dE}{dx} = \left(\frac{dE}{dx}\right)_e + \left(\frac{dE}{dx}\right)_n \quad (1)$$

La pérdida de energía nuclear es el fenómeno dominante a bajas energías ($\leq 0.01 \text{ MeV} / \text{nucleón}$) y corresponde a colisiones elásticas entre los núcleos proyectiles y los átomos del material objetivo. Debido a estas colisiones, se producen desplazamientos de los átomos del objetivo y esto lleva a la formación de defectos, como por ejemplo vacancias intersticiales.

Por otro lado, a altas energías ($\geq 0.1 \text{ MeV} / \text{nucleón}$) el proceso de frenado dominante es el electrónico debido a que a estas energías la interacción de los iones proyectiles se da principalmente con los electrones del material objetivo. Los iones en movimiento se ven despojados de parte de sus electrones orbitales adquiriendo una carga neta positiva de Z^* , también conocida como carga efectiva. Z^* se define empíricamente como,

$$Z^* = Z \left(1 - e^{-\frac{130\beta}{Z^3}} \right) \quad (2)$$

Donde Z es el número atómico del ion acelerado y β la velocidad relativa del ion respecto a la velocidad de la luz. Por ejemplo, para el caso de iones que se mueven a energías relativistas,

todos los electrones son removidos llevando a $Z^*=Z$ y las pérdidas de energía se ven dominadas por las fuerzas eléctricas entre el ion y los electrones de los átomos del objetivo.

Esta pérdida de energía electrónica puede ser determinada utilizando la fórmula de Bethe-Bloch,

$$\left(\frac{dE}{dx}\right)_e = \frac{4\pi N Z_t Z^{*2} e^4}{m v^2} \left[\ln\left(\frac{2m v^2}{I}\right) - \beta^2 - \delta - U \right] \quad (3)$$

- N = densidad de átomos en el objetivo
- Z_t = número atómico de los átomos del objetivo
- e = carga del electrón
- m = masa del electrón
- v = velocidad del proyectil
- I = energía de ionización de los átomos del objetivo
- δ = factor de corrección relativístico
- U = factor de corrección para bajas velocidades

Los principales efectos relacionados con las pérdidas de energía electrónica son la excitación de los electrones del objetivo a niveles de energía superiores o en casos extremos su eyección (ionización). Éste último proceso resulta en la emisión de electrones de alta energía, también conocidos como rayos delta, los cuales pueden a su vez inducir la ionización o excitación de los átomos circundantes ubicados dentro de cierto radio desde el camino del ion proyectil. Esta cascada de electrones, que ocurre desde el camino del ion, es lo que en última instancia determina la formación de un *ion-track* (estela del ion). Debido a que $(dE/dx)_e$ escala con $(Z^*)^2$, la pérdida de energía de los iones pesados es significativamente más grande que la producida por iones de bajo número atómico.¹⁵

Actualmente, existe una gran cantidad de modelos que han sido propuestos para explicar el fenómeno de formación de *ion-tracks*.^{16,17} Un ejemplo es el modelo de explosión coulombica, el cual sugiere que los *ion-tracks* resultan de la repulsión electroestática de los átomos del material objetivo fuertemente ionizados o en estados excitados. Otro modelo, denominado modelo del pico-térmico (Thermal-spike) asume, en cambio, que los *tracks* se forman por un fuerte aumento de la temperatura debido a la gran cantidad de energía depositada por los iones proyectiles.

Los polímeros en general son muy sensibles a la radiación y es fácil registrar *ion-tracks* en ellos debido al daño irreversible que sufren en su estructura química. Hoy en día, debido a una gran cantidad de experimentos y simulaciones llevadas a cabo en las últimas dos décadas, existe un fuerte consenso sobre la naturaleza radialmente isotrópica (cilíndrica) de los *tracks* en polímeros. Es sabido que el diámetro de estos *tracks* cilíndricos puede llegar a alcanzar varios cientos de nanómetros.

Dehaye *et al.* mostraron que los daños provocados por irradiación iónica dependen de la energía y número atómico de los iones proyectiles; los cuales producen una pérdida de energía (dE/dx) dada por la ecuación de Bethe-Bloch (ecuación 3).¹⁸ En los experimentos contenidos en esta tesis, se utilizaron proyectiles de Au. Con el uso de Au a energías específicas de entre 11.1-11.4 MeV por nucleón, la deposición de energía a lo largo del *track* debería ser suficiente para alterar cualquier tipo de enlace químico.^{19,20} Sin embargo, es de esperar que los daños más importantes se produzcan sobre los grupos con enlaces más débiles, por ej.: los grupos carbonato.¹⁸

Otros efectos, relacionados con la excitación electrónica o la formación de radicales son, la desgasificación de fragmentos volátiles como CO, CO₂, CH₄ y C₂H₂, el entrecruzamiento de cadenas y la formación de enlaces insaturados (formación de alquinos). Estos fenómenos fueron observados utilizando espectroscopia infrarroja y de masas.^{18,21-23}

La distancia que un ion puede recorrer en un material antes de que su energía sea cero se denomina **rango** y está determinado por la energía cinética inicial del ion (E_0) y su pérdida de energía en el material (dE / dx),

$$R = \int_0^{E_0} \left(\frac{dE}{dx} \right)^{-1} dE \quad (4)$$

Para un ion de Au con una energía cinética específica de 11.1 MeV por nucleón interactuando con una muestra de policarbonato, el rango proyectado es de 150 μm . Esto significa que incluso después de atravesar 100 μm del polímero, la energía restante es todavía de 4.1 MeV por nucleón, es decir, suficiente para seguir propagando la formación del *track*.

Para la irradiación de las muestras utilizadas en esta tesis, se utilizaron pequeñas pilas de láminas poliméricas (principalmente de politereftalato de etileno y policarbonato) cuyo espesor total fue siempre inferior a 110 μm , es decir, por debajo del rango proyectado. Esto se

hizo así con el fin de asegurar que la pérdida de energía a través de las láminas sea homogénea.¹⁸⁻²⁶ Cada ion que atraviesa el material, deja un *track* individual. Debido a esto se puede regular la densidad de *tracks* en el material controlando la fluencia (*fluence*) de iones. También pueden realizarse distintos patrones de distribución de iones utilizando máscaras metálicas durante la irradiación.

En el desarrollo de esta tesis, el procedimiento de irradiación de los materiales para construir los nanocanales fue realizado íntegramente en el centro de investigación de iones pesados, *GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH*, en la localidad de Darmstadt en Alemania. La Figura 3.3 muestra un esquema del GSI donde se pueden ver los distintos componentes del instituto. El procedimiento de irradiación fue realizado en la línea X0 del UNILAC (Universal Linear Accelerator) marcado en color violeta en el esquema del instituto. El UNILAC es un acelerador de iones lineal que permite acelerar iones desde protones hasta Uranio con energías de hasta 12 MeV por nucleón. Sin embargo, la capacidad de ionizar y acelerar iones de cualquier número atómico no es la característica más importante del UNILAC para aplicaciones de nanofluidica sino que lo es la posibilidad de desenfocar el haz de iones regulando de esta manera la densidad de iones que interactúan con el material objetivo en un intervalo de tiempo determinado (Figura 3.3). El caso más extremo de esta capacidad está dado por la posibilidad de fabricar sustratos que contengan un solo *track*. Para ello se debe incluir en la preparación de la muestra una máscara metálica (aluminio) que reduzca el tamaño efectivo expuesto al haz de iones. Esto se hace debido a que el desenfoco máximo del haz asegura una separación promedio entre los iones de varios cientos de μm , por lo cual utilizando una máscara con una apertura de $\sim 200 \mu\text{m}$ se puede asegurar que en un intervalo corto de tiempo, solo un ion atraviese el metal. Cabe destacar que durante el proceso de irradiación se registran todos los iones que atraviesan el material, permitiendo disparar un mecanismo de cierre una vez que la cantidad de iones deseada ha sido obtenida.

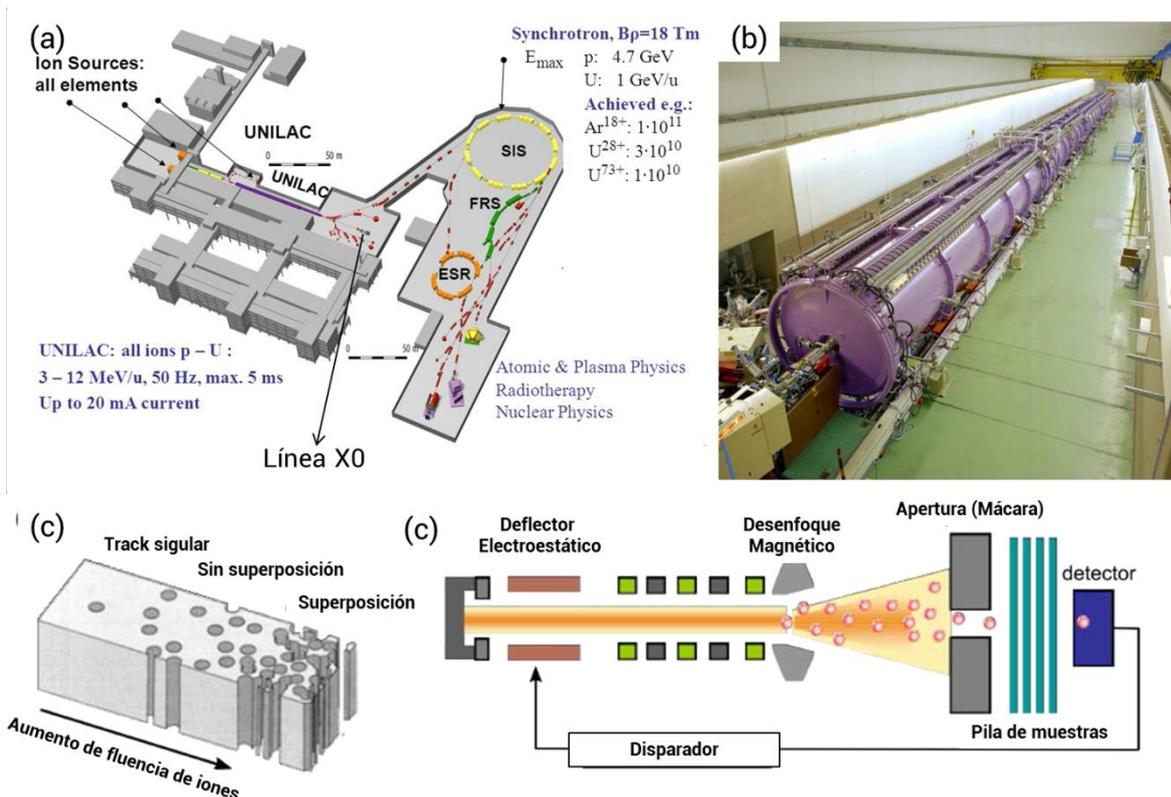


Figura 3.3. (a) Diagrama que muestra los distintos componentes del centro de investigación de iones pesados (GSI) En Darmstadt, Alemania. Se encuentran identificados el acelerador lineal UNILAC el acelerador sincrotrón SIS y el anillo de guardado ESR. La línea X0 es donde se encuentra la cámara experimental utilizada por el departamento de materiales y biofísica (b) Fotografía del acelerador lineal universal (UNILAC) en el GSI. (c) Lámina track-etched ilustrando los regímenes de porosidad disponibles con la tecnología de ion-tracks (track singular, multitrack sin y con superposición de los tracks) (d) Esquema que muestra el arreglo utilizado para la irradiación de tracks singulares.

Luego de la irradiación con los iones pesados y antes de realizar el *etching* químico, las láminas que contienen los *tracks* suelen irradiarse con luz ultravioleta (UV) (30 W, T-30M, Vilbert Lourmat) durante 1 a 35 horas en una o ambas caras, dependiendo el tipo de *etching* que fuera a realizarse posteriormente. En muestras con altas densidades de poros, es sabido que la irradiación UV ayuda a reducir la distribución de los tamaños de poros después del *etching*.²⁷ Virk *et al.* demostraron que una muestra prístina de policarbonato es transparente a la luz UV mientras que una muestra de policarbonato irradiada con iones no lo es. Por lo tanto, la irradiación con luz UV afecta selectivamente a los *tracks* pero no al polímero no irradiado (llamado polímero *bulk* o *matriz*). También es sabido que el daño selectivo de los

tracks por foto-degradación genera un aumento de la velocidad de *etching* de los *tracks* frente a la del material masivo (*bulk*).²⁸⁻³¹

Apel *et al.* mostraron mediante una serie de estudios conductimétricos realizados con *tracks* en policarbonato y politereftalato de etileno que los *tracks* están constituidos por dos zonas con diferentes comportamientos de *etching*.³²⁻³⁴ Por un lado, se encuentra el núcleo del *ion-track* (*core*), el cual es altamente reactivo al hidróxido de sodio utilizado durante el *etching*. Como consecuencia, la velocidad de *etching* del *track* mucho más alta que la del material masivo. Por otro lado, está la región del *halo*, la cual se forma alrededor del núcleo por la cascada electrónica derivada de la irradiación y que puede llegar a tener varios cientos de nanómetros de diámetro. En esta región, se determinó que la velocidad de *etching* era más baja que la del material masivo, probablemente debido a entrecruzamiento de las cadenas poliméricas.

3.2.1. *Etching* químico de los *ion-tracks*

Con el fin de crear los nanocanales a partir de un material que contiene *ion-tracks*, estos últimos deben eliminarse selectivamente mediante un procedimiento de *etching* químico en el que el reactivo utilizado dependerá de la naturaleza química del material irradiado. Para materiales poliméricos (PET, PC) que son los más ampliamente utilizados para aplicaciones nanofluídicas y los utilizados en esta tesis, el procedimiento de *etching* suele ser una hidrólisis alcalina utilizando soluciones concentradas (6-9 M) de hidróxido de sodio.

Debido al importante daño que se produce en un material a través de la trayectoria del ion, los *ion-tracks* suelen presentar una velocidad de *etching* (v_t) distinta a la del material masivo o *bulk* (v_b). La velocidad de *etching* radial (v_r) se define como la velocidad de crecimiento perpendicular a la dirección del *track* de los nanocanales. La figura 3.4 muestra la competencia de estos parámetros a un tiempo de *etching* t determinado, la cual determina la geometría final del nanocanal.

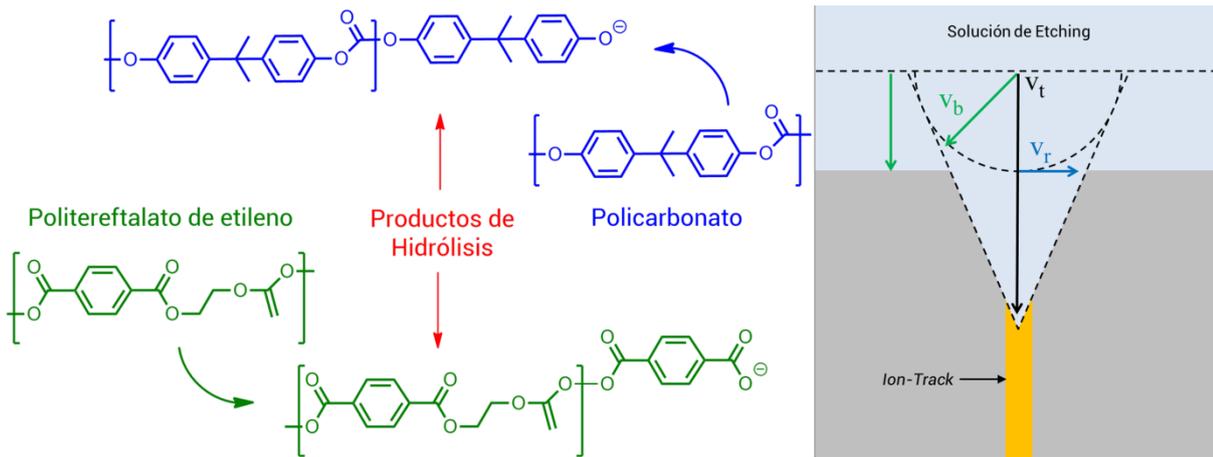


Figura 3.4. (Izquierda) Hidrólisis de los polímeros de condensación utilizados típicamente para la fabricación de nanocanales, politereftalato de etileno (PET) y policarbonato (PC) (derecha) esquema representativo donde se pueden observar las distintas velocidades de etching que determinan la geometría final del nanocanal.

La formación de un nanocanal por *etching* está caracterizada por su tiempo de penetración t_b así como por la longitud inicial del *track* $l_T(t=0)$,

$$v_t = \frac{l_T(t = 0)}{2 * t_b} \quad (5)$$

El valor de longitud inicial del *track* está dado por el espesor inicial de la lámina polimérica D_0 . Bajo las mismas condiciones de *etching*, la velocidad de *etching* masiva se define como,

$$v_b = \frac{D_0 - D_t}{2 * t} \quad (6)$$

Donde $D_t = l_T(t)$ es el espesor final de la lámina polimérica después de un tiempo t de etching.

El módulo de la velocidad de *etching radial* $v_r(z,r)$ depende directamente de v_t y v_b . Por un lado, el canal se puede agrandar solo si el núcleo del *track* fue removido y reemplazado por la solución de *etching*. Por otro lado, la velocidad de *etching radial* no es constante y varía en función del radio y concomitantemente, con el tiempo. De hecho, al comienzo del proceso de *etching*, la velocidad de *etching radial* es igual a la velocidad de *etching del track*, siendo así debido a que el *etching* ocurre directamente sobre la zona del núcleo, que es la más dañada. Este proceso inicial del *etching* de un nanocanal también pone una cota mínima respecto al tamaño más pequeño alcanzable. Por ejemplo, para una lámina de 10 μm de espesor este

tamaño es de 10 nm, siendo mayor para membranas de mayor tamaño (espesor). Para tiempos de *etching* más largos, los *tracks* son completamente removidos prevaleciendo entonces la velocidad de *etching* masiva.

$$\lim_{t \rightarrow 0} (v_r) = v_t \quad (7)$$

y

$$\lim_{t \rightarrow \infty} (v_r) = v_b \quad (8)$$

Existe una gran cantidad de trabajos dedicados al estudio de la influencia de la energía depositada por un ion sobre la correlación existente entre la velocidad de *etching* y el radio del canal para distintos polímeros.^{32,33} En general, se observa que existe un período inicial donde la velocidad es constante ($v_r=v_t$) seguido por un rápido decaimiento de la velocidad durante la hidrólisis del halo y finalmente un aumento progresivo de la velocidad hasta llegar a la velocidad de *etching* masiva a tiempos grandes.

De la figura 3.4 surge que es posible ajustar la geometría de los nanocanales mediante el ajuste de la relación v_t/v_b . Experimentalmente, esto puede hacerse de varias maneras, una de las más directas es cambiando las condiciones de *etching* tales como la concentración de hidróxido o la temperatura. Cambiar la concentración de hidróxido aumenta tanto la v_t como la v_b . Por el contrario, agregar solventes orgánicos miscibles con agua como metanol o etanol, resulta en un mayor decrecimiento de la velocidad de *etching* del *track* respecto a la velocidad de *etching* masiva. Otras estrategias incluyen el uso de campos eléctricos opuestos al sentido de difusión de los iones hidroxilos para “frenarlos” y aumentar el ángulo cónico del nanocanal o el uso de surfactantes para “proteger” una superficie del *etching* reduciendo la velocidad de *etching* masiva. A continuación se describirán las distintas estrategias de *etching* de nanocanales utilizadas en esta tesis para obtener distintas geometrías. Además, en el apéndice 1 se describen de manera resumida diversas estrategias de *etching* con referencias bibliográficas con el objetivo de ser un elemento de consulta rápido para aquella persona interesada en la fabricación de nanocanales mediante la técnica *track-etched*.

3.2.2. Nanocanales cilíndricos (y bicónicos) en PET y PC

En el caso de *etching* cilíndricos, la velocidad de *etching* masiva (v_b) es despreciable frente a la velocidad de *etching* del *track* (v_t). De esta manera el *etching* a lo largo del *track* prevalece

llegándose rápidamente a la penetración de la lámina. Los canales resultantes son cuasi-cilíndricos y con un diámetro muy pequeño, siendo 10-15 nm los diámetros mínimos alcanzables.³⁵ La continuación del *etching* después de la penetración lleva al crecimiento homogéneo de los nanocanales a una velocidad de crecimiento radial, v_r (Figura 3.5). En este caso, mediante el control del tiempo de *etching* se puede regular el diámetro del nanocanal. Típicamente, se puede obtener experimentalmente el valor de v_r como la pendiente de un gráfico de diámetro de los nanocanales (obtenidos por medidas conductimétricas o microscopía electrónica de barrido) versus el tiempo de *etching*.

Las condiciones de *etching* utilizadas para la fabricación de nanocanales cilíndricos suelen involucrar concentraciones de hidróxido de sodio entre 2 a 6 M y temperaturas entre 30 y 50 °C. En esta tesis se realizó la fabricación de nanocanales cilíndricos en PC a 50 °C e hidróxido de sodio 6 M, en donde se registra una v_r de 23 nm/min. El uso de soluciones más concentradas (8-9 M) y temperaturas más altas (≥ 60 °C) lleva a la formación de nanocanales bicónicos (reloj de arena) a tiempos cortos debido al aumento de la velocidad de *etching* masivo. Zhang *et al.* utilizaron este tipo de *etching* para producir toda una familia de geometrías bicónicas donde demostraron que la posición de la constricción central puede ser cambiada de lugar dentro del nanocanal, produciendo una gran variedad de respuestas nanofluídicas (Figura 3.5).

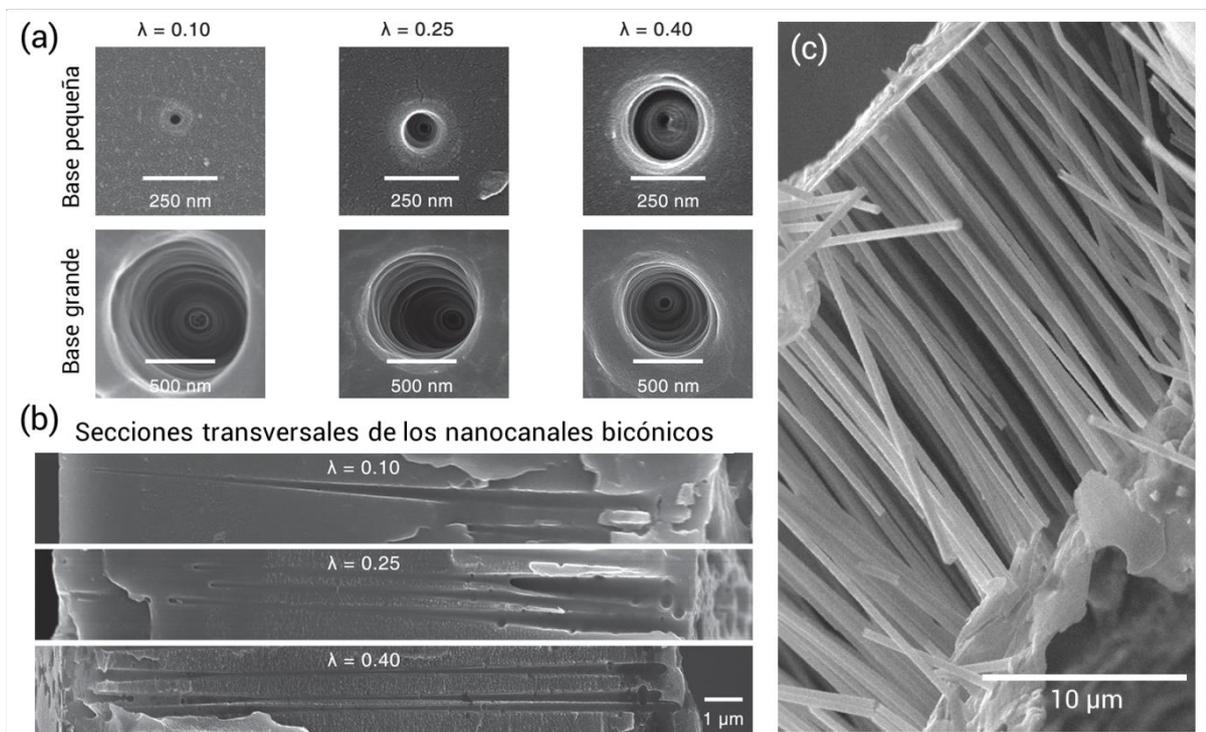


Figura 3.5. (a) Imágenes SEM de las bases pequeñas y grandes de nanocanales bicónicos en PET con distintos valores de $\lambda=X_T/L$, donde X_T es la posición de la constricción respecto al largo (L) del nanocanal, 0.5 indica que la constricción se encuentra en el centro. (adaptado de ref.36) (b) Imágenes transversales de nanocanales bicónicos con distintos valores de λ , se puede observar la variación de la posición de la constricción. (c) Nanohilos de Ni fabricados usando la técnica asistida por plantilla. Esta es una técnica alternativa para observar la geometría de nanocanales cilíndricos en PC. (adaptado de ref. 37)

3.2.3. Nanocanales cónicos en PC y PET

En el caso de nanocanales de geometría cónica, la velocidad de *etching* del *track* es ligeramente más alta que la del material masivo ($v_t > v_b$) por lo cual el agrandamiento del canal y el *etching* del *track* suceden simultáneamente. Aplicando condiciones simétricas de *etching*, el proceso ocurre desde ambos lados de la lámina polimérica conduciendo a la formación de nanocanales bicónicos. Para obtener poros cónicos, es decir, asimétricos respecto al plano principal de la lámina, deben usarse condiciones asimétricas de *etching* lo que se conoce como *etching anisotrópico*. En este caso, solo una cara de la lámina es expuesta a la solución de *etching* mientras que la otra cara es expuesta a agua pura o a alguna solución de “frenado” que suele ser una solución de ácido más diluida (*chemical stopping*). Nuevamente, existen varias estrategias para regular la geometría final de los nanocanales. Una de las más comunes es el uso de un campo eléctrico para “repeler” los iones hidroxilos de la punta del nanocanal cónico (*electrical stopping*). Martin *et al.* demostraron mediante la aplicación de potenciales a través de la celda de *etching* desde 1 hasta 30 V, que el uso de campos eléctricos puede utilizarse para aumentar el ángulo cónico de los nanocanales.³⁸ Otro motivo para la utilización de campos eléctricos es la posibilidad de monitorear el proceso de *etching* mediante la medida de la corriente transmembrana. En la Figura 3.6 se muestra una curva típica registrada durante el *etching* cónico de un nanocanal en PET utilizando 9 M NaOH a 30 °C. Se puede ver que el valor de corriente permanece constante durante la hidrólisis del núcleo del *track* hasta que se produce la penetración, a partir de la cual la corriente empieza a crecer progresivamente conforme crece el tamaño del nanocanal. Si bien en principio debería ser posible regular la geometría final del nanocanal mediante el seguimiento de la corriente transmembrana, experimentalmente resulta prácticamente imposible ya que las membranas resultantes suelen mostrar gran variabilidad respecto a los tamaños de las puntas de los nanocanales cónicos.

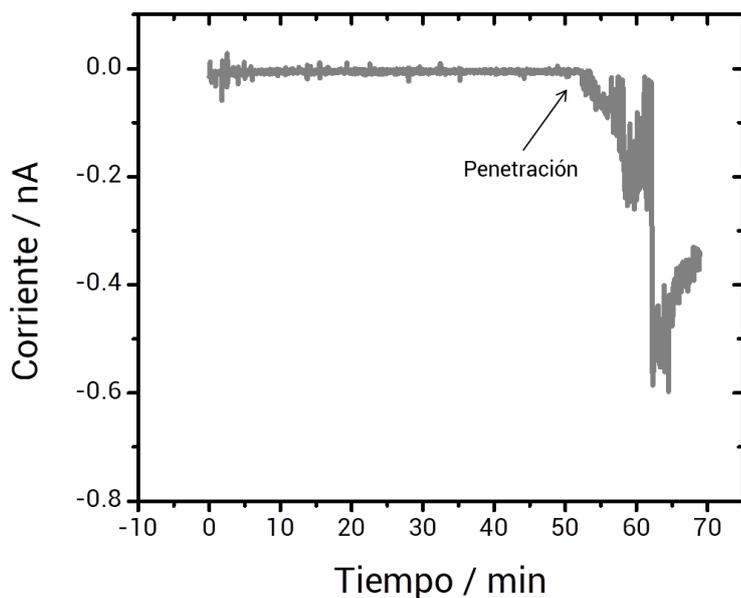


Figura 3.6. Curva de corriente versus tiempo registrada durante el etching de un nanocanal cónico en PET. Puede verse claramente el momento (~50 min) en el que se produce la penetración que indica la finalización del etching del núcleo del track iónico.

En este trabajo, para la fabricación de nanocanales cónicos en PC, se utilizó un procedimiento de *etching* anisotrópico en el cual la solución de *etching* fue una mezcla de 9 M NaOH:Metanol (relación en volumen 40:60) y la solución de frenado fue agua pura. Adicionalmente, una diferencia de potencial de 1 V fue aplicado entre dos electrodos de Au tanto para generar un campo eléctrico de “frenado” como para monitorear el proceso de *etching*. Durante el *etching* la temperatura se mantuvo a 30 °C usando una platina calefactora.

Por otro lado, para la fabricación de nanoporos cónicos en PET se utilizó una solución de *etching* 9 M NaOH y una solución de frenado de ácido fórmico 1 M más 1 M KCl a 30 °C. También para este caso se mantuvo un potencial de transmembra de 1 V durante todo el proceso. En general, tanto para PC como para PET el *etching* fue interrumpido 15-20 minutos después de la penetración. Es importante notar que el tiempo de penetración suele variar entre 40 minutos y una hora y media para muestras con un solo *track*. Si bien la geometría alcanzada por este método se ha considerado históricamente como cónica, recientemente se ha discutido que debido al perfil observado en imágenes de *cross-sections* y a medidas de conductimetría que esta geometría es más bien asintótica (forma de trompeta).³⁹

3.2.4. Nanocanales con perfil parabólico en PET. *Etching* asistido por surfactante

En este caso se utiliza un surfactante mezclado con la solución de *etching* para proteger la superficie del polímero de la hidrólisis y reducir de este modo la velocidad de *etching* masiva (v_b) en la superficie de la lámina polimérica. Debido a que la velocidad de difusión de los iones hidroxilo es mucho más alta que la del surfactante, este último no impide que se produzca el *etching* del track, dando lugar a un tipo de *etching* parecido al cilíndrico en el cual $v_t \gg v_b$.⁴⁰ Sin embargo, debido a que la superficie de la membrana se encuentra protegida por el surfactante adsorbido inicialmente, se da lugar a la formación de una geometría en la cual se observa un perfil parabólico (con el vértice ubicado en la superficie de la lámina) seguido por una sección cilíndrica (figura 3.7). Si el *etching* se realiza asimétricamente, la forma final se asemeja a la forma de una bala (*bullet-like*) mientras que si se lleva a cabo simétricamente, la geometría resultante tiene forma de cigarro (*cigar-like*).

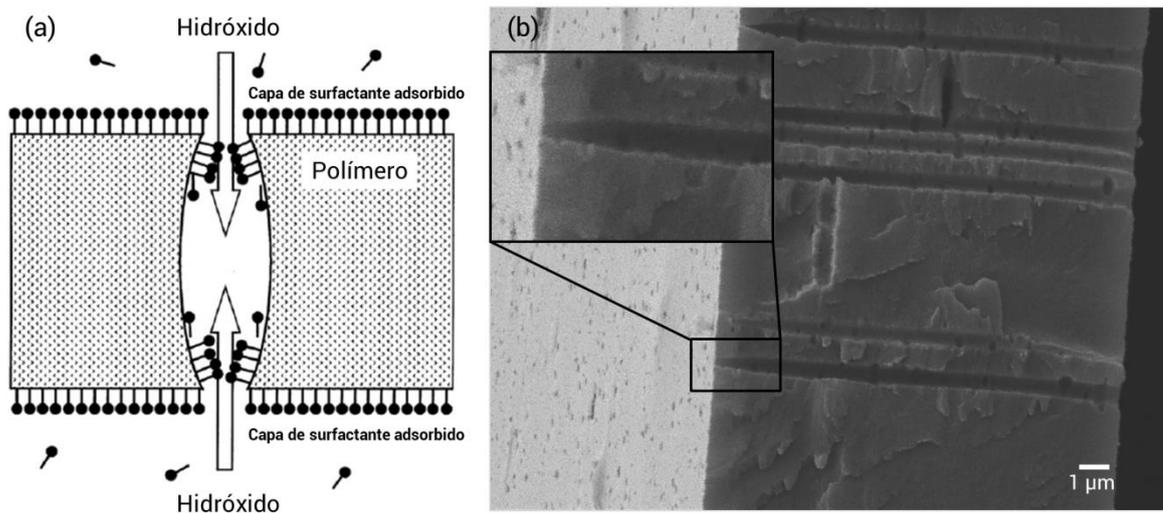


Figura 3.7. (a) Esquema donde se muestra el fundamento del *etching* asistido por surfactante. El surfactante protege la superficie de la lámina con tracks, pero debido a que la difusión de los iones hidroxilos es mayor que la del surfactante, la hidrólisis del track ocurre dentro del nanocanal. (Adaptado de ref.41) (b) Imagen SEM tomada de una lámina de PET irradiada a una fluencia de 10^9 iones/ cm^2 y procesada utilizando la técnica descrita en la sección 3.3.2. El recuadro negro muestra la región parabólica, i.e. punta, en mayor detalle.

Para la fabricación de nanocanales con forma de bala, un lado de la celda se llena con la solución de *etching*, NaOH 6 M, mientras que el otro se llena con solución de *etching*, NaOH

6 M y surfactante, Dowfax 2a1 0,04 % en volumen. Antes del *etching*, las láminas pueden irradiarse con luz UV en el lado de la lámina que estará en contacto con la solución de *etching*. Este procedimiento induce la foto-oxidación de los grupos en la superficie de las láminas de polímero con *tracks*, aumentando el mojado de la membrana y disminuyendo la adsorción del surfactante. Para evaluar el efecto final de la luz UV en la respuesta conductimétrica, varios *etchings* fueron realizados manteniendo todos los parámetros iguales excepto el tiempo de exposición a la luz UV (figura 3.8). El resultado fue que el efecto de la exposición UV sobre la respuesta final no es tan significativo como para justificar su uso, ya que solo es importante a tiempos de irradiación largos (>24 hs) los cuales también inducen un debilitamiento mecánico de las láminas. Por esto, en general, los *etchings* de este tipo fueron realizados prescindiendo de irradiación UV, a diferencia de otros protocolos presentados en la literatura.

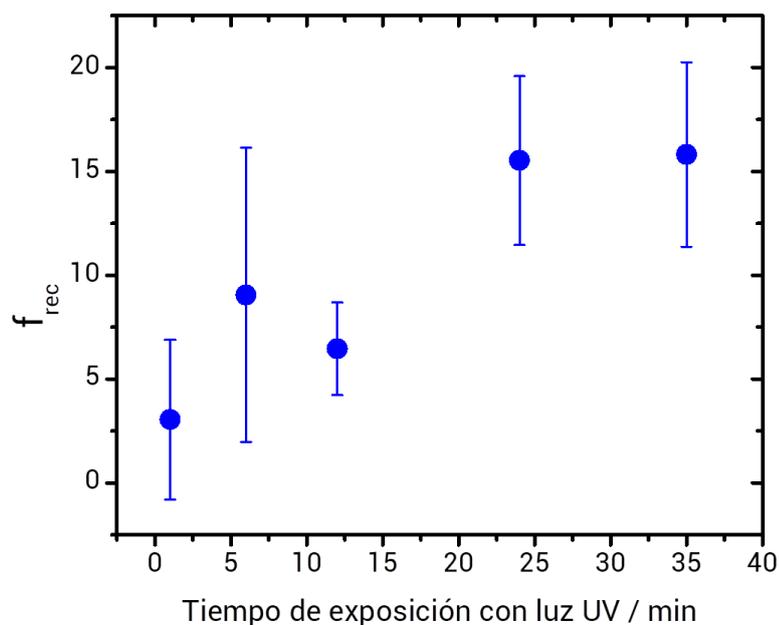


Figura 3.8. Gráfico que muestra cómo cambia la eficiencia de rectificación de la corriente iónica (f_{rec}) en función del tiempo de exposición de la base de las láminas. Se observa un cambio significativo para tiempos de exposición mayores a 24 hs.

El tiempo total de *etching* utilizado generalmente oscila entre 5:00 y 6:30 minutos a una temperatura de 60 °C, dependiendo de la eficiencia de rectificación de la corriente iónica buscada. Para este rango de tiempos, se observa una rectificación iónica considerable la cual disminuye rápidamente a tiempos de *etching* más altos.⁴²

En el caso del presente trabajo de tesis, muchos nanocanales fabricados en PET utilizando el procedimiento de *etching* cónico (3.2.3) tuvieron que ser desechados porque no mostraron conductancia iónica, es decir, estaban “cerrados”. En otros casos, los nanocanales se “cerraron” poco después de las mediciones iniciales pudiendo ser reabiertos sólo después de aplicar mayores potenciales transmembrana. Además, el factor de rectificación de corriente iónica de estos nanocanales era mucho menor que los obtenidos por el procedimiento asistido por surfactante. El procedimiento asistido por surfactante dio como resultado nanocanales que presentaban altos factores de rectificación con un alto grado de reproducibilidad. Es por esto, que para los experimentos que requirieron el uso de nanocanales asimétricos (diodos iónicos) se optó, en general, por la utilización de los nanocanales con perfiles parabólicos.

3.3. Caracterización de la geometría por microscopía electrónica de barrido (Scanning electron microscopy, SEM)

La microscopía electrónica de barrido (SEM) es en la actualidad una de las técnicas más utilizadas para el estudio de materiales nanoestructurados. Esta técnica consiste fundamentalmente en la observación indirecta de la interacción entre electrones acelerados mediante un campo eléctrico con el material que queremos estudiar, el cual debe ser conductor o en su defecto estar recubierto por un material conductor. Los SEM convencionales suelen manejar voltajes de hasta 30 kV. El enfoque del haz sobre la muestra se realiza mediante lentes magnéticas mientras que el uso de bobinas deflectoras que permiten el barrido del haz de electrones sobre la muestra. La detección se realiza mediante los electrones secundarios emitidos debido a la interacción de los electrones acelerados y los átomos de la muestra.

Las imágenes presentadas en esta tesis fueron obtenidas utilizando un microscopio electrónico de barrido de efecto de campo (FESEM) modelo JSM-7401F (JEOL) operado a 10 o 20 kV utilizando el detector de electrones secundarios (SEI) para obtener las imágenes aunque para ciertos casos particulares se utilizó también un segundo detector de electrones secundarios ubicado más cerca del plano de la muestra llamado detector bajo (LEI) que permite obtener información más precisa de la topografía de la muestra. Este modelo tiene una resolución máxima de 1 nm aunque debido a los efectos de carga de las muestras utilizadas en este trabajo, esa resolución nunca pudo ser alcanzada. Las imágenes de microscopía electrónica fueron muy útiles a la hora de dilucidar los parámetros geométricos de los nanocanales que

luego fueron utilizados en las simulaciones teóricas, como así también para corroborar la arquitectura y morfología de los nanocanales. A continuación se presentaran dos métodos utilizados para identificar la estructura completa de los nanocanales, el Método de fabricación de nanoestructuras por el método de plantilla y el método de imágenes transversales (*cross-sections*).

3.3.1. Método de fabricación de nanoestructuras por el método de plantilla o replica

Una manera de caracterizar completamente la geometría de los nanocanales, es la utilización de las láminas *track-etched* como plantillas o moldes para depositar metales en su interior. Una vez terminado el depósito electroquímico del metal (típicamente Cu, Ni, Au, Ag) el “molde” polimérico se puede disolver con un solvente adecuado revelando las estructuras formadas en su interior. En esta tesis se ha utilizado esta técnica para electrodepositar Au en láminas *track-etched* en PC y en PET (Figura 3.9). Los nanohilos adoptan la forma y el tamaño de los canales y de esta manera se pueden obtener los parámetros geométricos característicos de los nanocanales que los contienen. Esta técnica es particularmente útil para identificar características morfológicas del interior de los nanocanales. Por ejemplo, se pudo observar que los nanocanales fabricados en PET son sumamente rugosos en su interior (Figura 3.9 (b)) mientras que los fabricados en PC son perfectamente lisos. Se ha argumentado que esto se debe a la naturaleza semicristalina del PET para la cual la porción amorfa tiene una velocidad de *etching* distinta a la porción cristalina del material. Por otro lado el PC es un polímero amorfo y presenta una velocidad de *etching* más isotrópica.

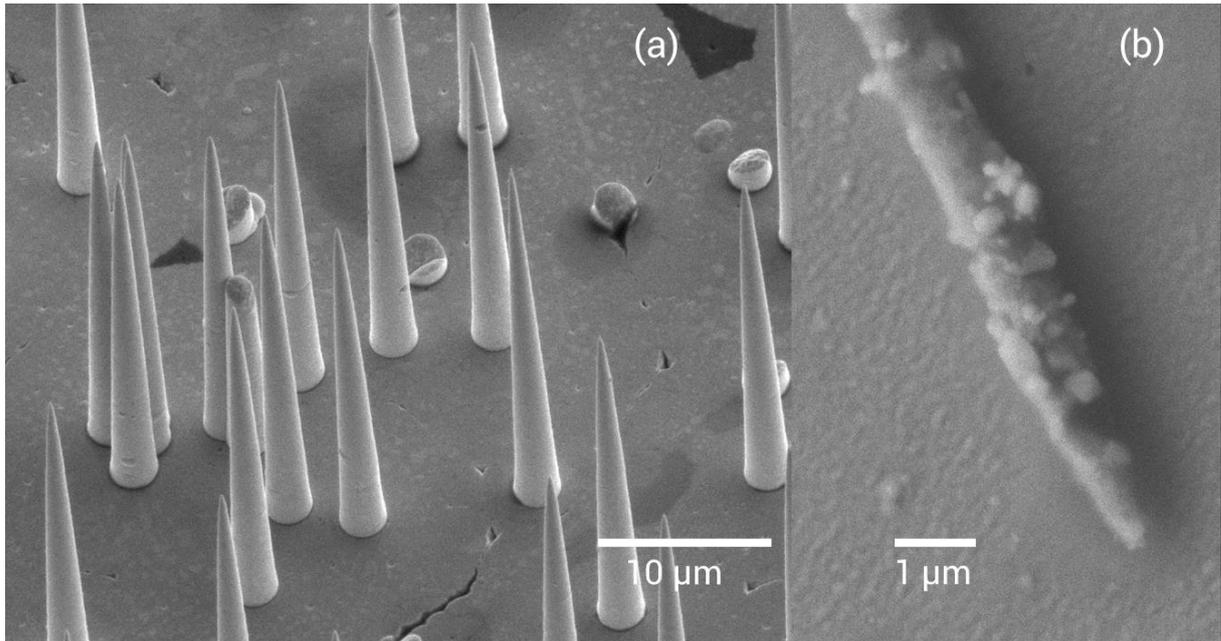


Figura 3.9. Imágenes SEM de nanoconos de oro fabricadas por la técnica de réplica utilizando una lámina multiporo de policarbonato (10^7 tracks/cm^2) (b) Imagen SEM de un nanohilo de Cu depositado en una membrana multiporo de PET (10^9 tracks/cm^2) fabricada mediante etching asistido por surfactante.

3.3.2. Método de imágenes transversales (cross-sections)

Para producir las imágenes transversales fue necesario utilizar un método de varios pasos. Primero se requiere de la utilización de láminas de polímero con una alta densidad de *tracks*, típicamente $5 \times 10^{10} \text{ tracks/cm}^2$, esto asegura que se desarrolle una mayor fragilidad en el material en los pasos subsiguientes. Una vez obtenidas las láminas con *tracks* se realiza en ellas el *etching* que produce la geometría que se quiera estudiar (cilíndrica, cónica, etc.)

El próximo paso consiste en irradiar las láminas con luz UV por, al menos, 24 hs en cada lado para PC y por 72 hs para PET. Una vez terminada la irradiación de las láminas ya puede percibirse una mayor fragilidad de las mismas aunque todavía la tensión no es lo suficientemente baja como para poder fracturarlas sin alterar las características geométricas de los nanocanales. Por lo tanto, para reducir aún más la tensión del material, las láminas se sumergen en nitrógeno líquido por un par de minutos, luego de los cuales las láminas se pueden fracturar fácilmente. Una vez fracturadas, las láminas se pueden montar en soportes

especialmente diseñados para observar en el SEM a 90° respecto a la superficie de los nanocanales. (Figura 3.7)

3.4. Referencias

- [1] T. Deng, Me. Li, Y. Wang, Z. Liu, *Sci. Bull.*, 2015, **60**, 304–319.
- [2] A. G. Ahmadi, N. P. Sankar, J. Hesketh (ed.), *BioNanoFluidic MEMS*. Springer-Verlag: Berlin, 2008.
- [3] C. Duan, W. Wang, Q. Xie, *Biomicrofluidics.*, 2013, **7**, 26501.
- [4] J. Kudr, S. Skalickova, L. Nejdil, A. Moulick, B. Ruttkay–Nedecky, V. Adam, R. Kizek, *Electrophoresis*, 2015, **36**, 2367–2379.
- [5] M. J. Kim, Ben McNally, K. Murata, A. Meller, *Nanotechnology*, 2007, **18**, 205302
- [6] A. J. Storm, J. H. Chen, X. S. Ling, H. W. Zandbergen, C. Dekker, *Nature Materials*, 2003, **2**, 537-540.
- [7] C. J. Lo, T. Aref, A. Bezryadin, *Nanotechnology*, 2006, **17**, 3264–3267.
- [8] P. Chen, M. Y. Wu, H. W. M. Salemink, P. F. A. Alkemade, *Nanotechnology*, 2009, **20**, 015302.
- [9] M.-Y. Wu, D. Krapf, M. Zandbergen, H. Zandbergen, P. E. Batson, *Appl. Phys. Lett.*, 2005, **87**, 113106.
- [10] J. Li, D. Stein, C. McMullan, D. Branton, M.J. Aziz, J.A. Golovchenko, *Nature*, 2001, **412**, 166–169.
- [11] L. Madauß, J. Schumacher, M. Ghosh, O. Ochedowski, J. Meyer, H. Lebius, B. Bannard'Etat, M. E. Toimil-Molares, C. Trautmann, R. G. H. Lammertink, M. Ulbricht, M. Schleberger, *Nanoscale*, 2007, **9**, 10487-10493.
- [12] Z. Siwy, P. Apel, D. Dobrev, R. Neumann, R. Spohr, C. Trautmann, K. Voss, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2003, **208**, 143–148.
- [13] P. Yu. Apel, I. V. Blonskayaa, N. V. Levkovich, O. L. Orelovich, *Petroleum Chemistry*, 2011, **51**, 555–567.
- [14] P. Yu. Apel, A. P. Akimenko, I.V. Blonskaya, T. Cornelius, R. Neumann, K. Schwartz, R. Spohr, C. Trautmann, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2006, **245**, 284–287.
- [15] Helborg, R.; Whitlow, H. J.; Zhang, Y. *Ion beams in Nanoscience and Technology; Particle acceleration and detection; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2010.*
- [16] R. Spohr, *Ion Tracks and Microtechnology*. Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft GmbH: Wiesbaden: 1990.

- [17] R. L. Fleischer, P. B. Price, R. M. Walker, *Nuclear Tracks in Solids*. University of California press: 1975.
- [18] F. Dehaye, E. Balanzat, E. Ferain, R. Legras, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2003, **209**, 102-112.
- [19] Z. Zhu, Y. Jin, C. Liu, Y. Sun, M. Hou, C. Zhang, Z. Wang, J. Liu, X. Chen, B. Li, et al. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2000, **169**, 83-88
- [20] D. Fink, *Fundamentals of Ion-irradiated Polymers*. Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, 2004.
- [21] H. Virk, S. A. Kaur, G. S. Randhawa. *J. Phys. D. Appl. Phys.*, 1998, **31**, 3139-3145.
- [22] T. Steckenreiter, E. Balanzat, H. Fuess, C. Trautmann, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 1999, **151**, 161-168.
- [23] Y. Sun, Z. Zhu, Z. Wang, Y. Jin, J. Liu, M. Hou, Q. Zhang, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2003, **209**, 188-193.
- [24] Chemical modifications induced in bisphenol A polycarbonate by swift heavy ions, NIMB 289 (2003) 103
- [25] Small angle scattering from oriented latent nuclear tracks, NIMB 2 (1984) 702
- [26] Swift heavy ions on polymers: Hydrocarbon gas release, NIMB 146 (1998) 496
- [27] T. W. Cornelius, P. Y. Apel, B. Schiedt, C. Trautmann, M. E. Toimil-molares, S. Karim, R. Neumann, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2007, **265**, 553-557.
- [28] C. Trautmann, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 1995, **105**, 81-85.
- [29] Z. Zhu, M. J. Kelley, *Polymer*, 2005, **46**, 8883-8891.
- [30] E. Ferain, R. Legras, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2003, **208**, 115-122.
- [31] E. Ferain, R. Legras, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 1993, **82**, 539-548.
- [32] P. Y. Apel, A. Schultz, C. Trautmann, V. Vutsadakis, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 1998, **146**, 468-474.
- [33] P. Y. Apel, I. V. Blonskaya, O. L. Orellovitch, B. Sartowska, R. Spohr, *Nanotechnology*, 2012, **23**, 225503.

- [34] P. Y. Apel, A. P. Akimenko, I. V. Blonskaya, T. Cornelius, R. Neumann, K. Schwartz, R. Spohr, C. Trautmann, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2000, **168**, 527-532.
- [35] O. Picht, S. Müller, I. Alber, M. Rauber, J. Lensch-Falk, D. L. Medlin, R. Neumann, M. E. Toimil-Molares, *J. Phys. Chem. C*, 2012, **116**, 5367-5375.
- [36] H. Zhang, X. Hou, Z. Yang, D. Yan, L. Li, Y. Tian, H. Wang, L. Jiang, *Small*, 2014, **11**, 786-791.
- [37] I. M. Enculescu, E-MRS Fall Meeting 2007, Symposium B (Poster)
- [38] C. C. Harrell, Z. S. Siwy, C. R. Martin, *Small*, 2006, **2**, 194 – 198.
- [39] P. Y. Apel, P. Ramirez, I. V. Blonskaya, O. L. Orelovitch, B. A. Sartowska, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2014, **16**, 15214-15223.
- [40] P. Y. Apel, I. V. Blonskaya, A. Y. Didyk, S. N. Dmitriev, O. L. Orelovitch, D. Root, L. I. Samoilova, V. A. Vutsadakis, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2001, **179**, 55-62.
- [41] P. Y. Apel, I. V. Blonskaya, S. N. Dmitriev, O. L. Orelovitch, A. Presz, B. A. Sartowska, *Nanotechnology*, 2007, **18**, 305302.
- [42] Apel, P. Yu.; Blonskayaa, I. V.; Levkovich, N. V.; Orelovich, O. L. *Petroleum Chemistry* 2011, 51, 555–567.

Capítulo 4

Química supramolecular “anfitrión-huesped” en nanocanales de estado sólido. Modulación del transporte iónico impulsada por iones K^+ en diodos nanofluídicos

4.1. Uso de interacciones específicas inspiradas en la naturaleza: Biomimética

“...El químico puede encontrar inspiración en el ingenio de los eventos biológicos y estímulo en la demostración de que eficiencias, selectividades y velocidades tan altas pueden ser sin duda alcanzadas..”

Jean-Marie Lehn, Nobel Lecture, Diciembre 8, 1987

Haciendo eco de las palabras del premio Nobel en química Jean-Marie Lehn (por su contribución al desarrollo de la química supramolecular), durante la última década, químicos y científicos de la ciencia de materiales han explotado los principios biológicos como guía para el desarrollo de nuevas estrategias que puedan llevar a la creación de dispositivos avanzados con un amplio impacto en múltiples campos.¹ Por ejemplo, distintos grupos de investigación han buscado inspiración en los canales biológicos para desarrollar nuevas clases de dispositivos con capacidad para modular el transporte molecular.²

Como fue explicado en el capítulo 2, uno de los aspectos más intrigantes de los nanocanales asimétricos es su habilidad para rectificar el transporte de iones que fluyen a través de ellos, de manera similar a los canales iónicos biológicos regulados por la aplicación de un potencial eléctrico.³ Una de las características centrales que determinan las características de rectificación de los nanocanales cónicos es el control preciso de la carga superficial en las paredes de los poros.⁴ La eficiencia con la cual muchos poros biológicos regulan el transporte iónico a través de membranas biológicas usando diferentes especies químicas como disparador, ha sido una fuente de inspiración para los químicos para imitar tales procesos usando nanocanales de estado sólido.⁵ En particular, con respecto a desencadenantes o

disparadores químicos de relevancia biológica, los iones potasio pueden considerarse de crucial interés, ya que modulan la actividad de los músculos y nervios cuyas células están equipadas con canales iónicos que transportan esta especie química con un alto grado de especificidad.⁶ Jiang y sus colaboradores han sido los pioneros en el desarrollo de dispositivos nanofluídicos sensibles al potasio.⁷ Estos autores aprovecharon la versatilidad de las cadenas de ADN tipo *G-quadruplex* (estructuras secundarias ricas en Guanina) para someterse a un cambio conformacional sensible al potasio, las cuales una vez inmovilizadas en un nanocanal sintético inducen un cambio en el tamaño efectivo del mismo ante la presencia de potasio. Estos autores mostraron que las características de la respuesta nanofluídica del sistema pueden ser reguladas por la naturaleza de la estructura G-quadruplex mediante el ajuste de la concentración de potasio en solución.⁷

La elaboración de estrategias para manipular el transporte de iones a través de nanocanales funcionalizados con especies responsivas a K^+ es un paso clave hacia el diseño de dispositivos funcionales complejos impulsados por la presencia de cationes específicos. El progreso sustancial alcanzado en los últimos años en la química del reconocimiento molecular ha dado lugar a la posibilidad de diseñar compuestos *anfitriones (host)* con un alto grado de reconocimiento molecular, equivalente a la especificidad encontrada en los receptores de las membranas biológicas. Por ejemplo, se sabe que es posible mediar el transporte de cationes a través de membranas lipídicas con la ayuda de poliéteres macrocíclicos sintéticos, así como por antibióticos o incluso *ionóforos* naturales tales como monensina y nigericina.⁸ Esta permeabilidad iónica facilitada por “*portadores*” también puede ser inducida por poliéteres macrocíclicos sintéticos comúnmente denominados **éteres corona**.⁹

Los compuestos tipo corona son elementos quintaesenciales de la química supramolecular *anfitrión-huésped (Host-Guest)* ya que son capaces de unir cationes alcalinos y alcalinotérreos dentro de sus cavidades en entornos acuosos de una manera muy específica.¹⁰⁻¹² Los éteres corona típicos son fundamentalmente oligómeros cíclicos de óxido de etileno y para clasificarlos se utiliza una nomenclatura particular en la cual se nombra la cantidad de átomos en la molécula seguido por el nombre “corona” y el número de oxígenos presentes en la molécula. En la figura 4.1 se ven los tres éteres corona más comunes llamados 12-corona-4, 15-corona-5 y 18-corona-6. Debido a que cada uno de estos éteres posee una cavidad hidrofílica de distinto tamaño así como una denticidad distinta, cada uno presenta una afinidad particular por un tipo distinto de ion alcalino, ya sea litio, sodio o potasio.

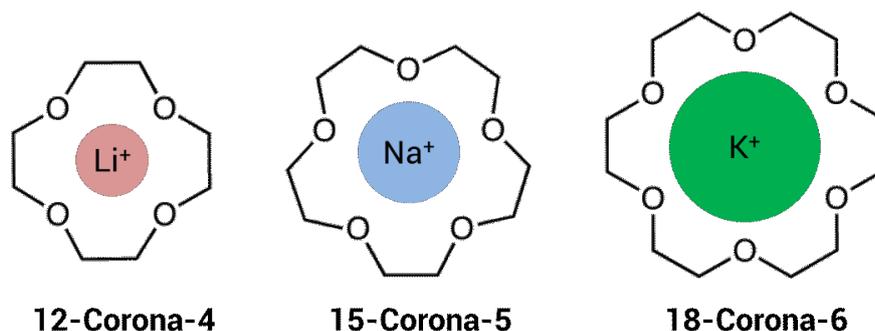


Figura 4.1. Estructuras de los éteres corona más comunes indicando el ión alcalino por el cual presentan mayor afinidad.

En el pasado reciente ha habido ciertos acercamientos entre la química de los éteres corona y los dispositivos nanofluídicos. Por ejemplo, Heins *et al.*¹³ estudiaron el efecto de agregar éteres corona en la solución de electrolito encontrando que las propiedades de rectificación de nanocanales asimétricos aumentaban cuando los éteres eran ubicados en un solo lado del nanocanal debido a la formación de un potencial de unión dado por la formación del complejo éter corona-potasio.

Teniendo en cuenta estos conceptos y siendo conscientes de las atractivas características de la química *anfitrión-huesped* nos hemos encontrado particularmente interesados en la posibilidad de activar y modular las propiedades de rectificación de los nanocanales de estado sólido mediante la incorporación de éteres corona como elementos de reconocimiento de iones en su arquitectura interna.¹⁴ Por lo tanto, en esta sección se describirá la construcción de diodos nanofluídicos responsivos a potasio mediante la funcionalización de nanocanales *track-etched* con éteres corona 18-corona-6 cuyas propiedades de rectificación fueron fácilmente moduladas por la formación específica de complejos entre los éteres corona y K^+ sobre una amplia gama de concentraciones iónicas e incluso en presencia de otros iones alcalinos.

4.2. Fabricación de nanocanales modificados con éteres corona

Para la realización de estos experimentos se fabricaron nanocanales en láminas de PET irradiadas con un solo ión de Au (25^+) a una energía de 11.1 MeV por nucleón. Se realizó un *etching* asistido por surfactante con el objetivo de obtener nanocanales de perfil parabólico (con forma de bala) como se describió en el capítulo 3. Mediante modelado teórico usando las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck se obtuvo un valor de diámetro de punta de $(d) \sim 30$ nm

mientras que el valor del diámetro de la base (D) se obtuvo de imágenes SEM y fue de ~ 410 nm (Apéndice 1). El *etching* químico de los *tracks* generados por los iones a lo largo de sus trayectorias dio como resultado la generación de grupos carboxilo ($-\text{COO}^-$) en la superficie del canal, dando como resultado nanocanales con densidad de carga negativa al pH de trabajo (agua deionizada, ~ 6).

4.3. Funcionalización de los nanocanales track-etched mediante química de carbodiimida

Los grupos carboxilato remanentes en la superficie de los nanocanales luego del *etching* se derivatizaron con éteres corona utilizando una reacción de acoplamiento mediada por carbodiimida. Las carbodiimidas son agentes de entrecruzamiento de longitud cero que se usan para mediar la formación de un enlace amida o fosforamidato entre un grupo ácido carboxílico y un grupo amina primaria o entre un grupo fosfato y una amina. Son conocidos como agentes de entrecruzamiento de longitud cero debido a que en el enlace formado entre las moléculas conjugadas no se agrega ninguna estructura química adicional. Las carbodiimidas N-sustituidas pueden reaccionar con ácidos carboxílicos para dar derivados de O-Acilisourea, los cuales son compuestos altamente reactivos que reaccionan rápidamente con especies nucleofílicas, como las aminas primarias, para formar un enlace amida (Figura 4.2).

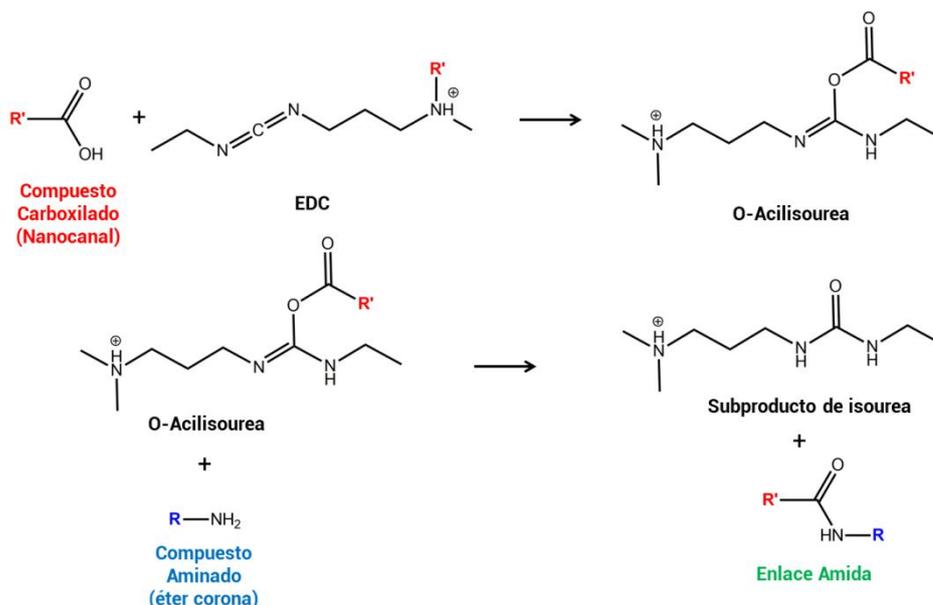


Figura 4.2. Reacción en dos pasos de la formación de un enlace amida a partir de un compuesto carboxilado y uno aminado. En este caso el compuesto carboxilado es la superficie del nanocanal track-etched mientras que el compuesto aminado es el éter corona.

Para la funcionalización de los nanocanales *track-etched* con éteres corona se utilizó una solución acuosa 10 mM de *hidrocloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida* (EDC). En la mezcla de reacción se agregó también *N-hidroxisulfosuccinimida* (sulfo-NHS) 5mM. La presencia de sulfo-NHS se utiliza para transformar los grupos ácidos carboxílicos en esteres activos que reaccionan rápidamente con el EDC para dar la formación del enlace amida.¹⁵ Para unir los éteres corona a la superficie de los nanocanales se utilizó *4'-aminobenzo-18-corona-6* (5 mM) el cual provee la amina necesaria para la formación del enlace (figura 4.3). La reacción se llevó a cabo por 48 hs para asegurar una conversión total. Como es bien sabido, los éteres 18-corona-6 funcionan como ligandos para cationes de metales alcalinos con especial afinidad hacia los cationes potasio. En este sentido, nuestro paradigma conceptual se basó en el uso de la interacción específica *anfitrión-huésped* entre los éteres 18-corona-6 y los iones de potasio, con el fin de controlar supramolecularmente la densidad de carga en la pared de poro con la consecuente influencia en sus propiedades de transporte y rectificación. La Figura 4.4 muestra las curvas I-V de nanocanal *track-etched* asimétrico tipo bala completamente derivatizado con unidades del éter 18-corona-6 en presencia de soluciones de NaCl y KCl

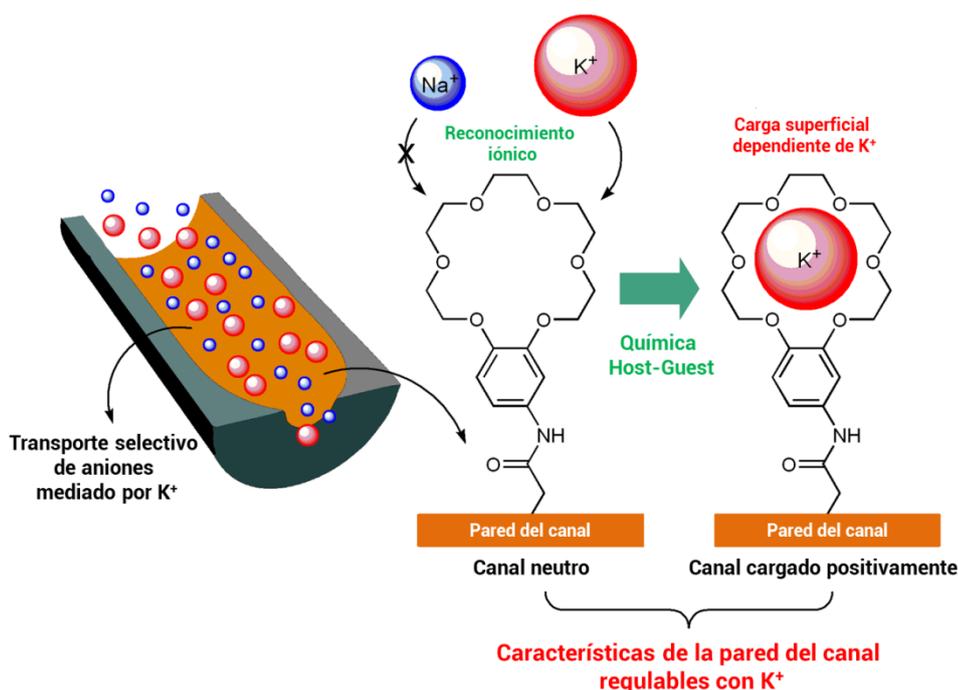


Figura 4.3. Representación esquemática correspondiente a un nanocanal asimétrico (tipo bala) modificado con unidades de 18-corona-6. También se indican la estructura química del éter corona y el equilibrio anfitrión-huésped asociados al comportamiento dependiente de K^+ del dispositivo supramolecular.

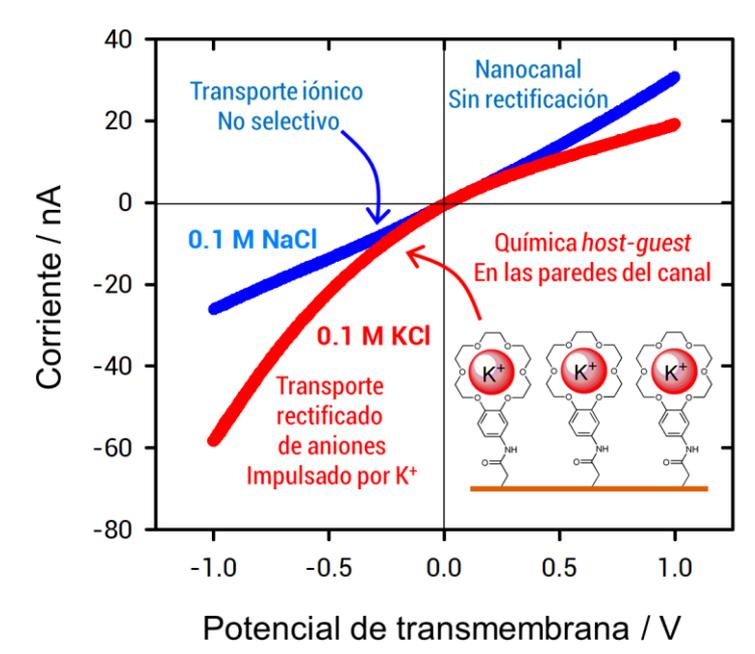


Figura 4.4. Curvas de corriente-potencial transmembrana de un nanocanal asimétrico completamente derivatizado con unidades de 18-corona-6 en presencia de soluciones de NaCl 0,1 M (curva azul) y KCl 0,1 M (curva roja).

La dirección de la rectificación en canales asimétricos se basa únicamente en la polaridad y magnitud de las cargas superficiales (ver capítulo 2). Debido a esto, una vez que los grupos carboxilos fueron derivatizados con éteres corona, las cargas negativas efectivas en las paredes de los canales se neutralizan. Como resultado, considerando que el Na^+ no forma complejos con los grupos 18-corona-6 tan fuertemente como el K^+ , en presencia de 0,1 M NaCl el nanocanal se comportó como un dispositivo no rectificador, *i.e.* un resistor iónico (Figura 4.4). Sin embargo, esta situación cambió cuando se utilizó solución de KCl en lugar de NaCl. Se puede observar que en presencia de iones K^+ , la carga superficial del canal cambió de neutra (curva azul) a positiva (curva roja), dando como resultado la aparición de rectificación en la corriente iónica a través del nanocanal, es decir, *selectividad aniónica*. El proceso de reconocimiento de iones *anfitrión-huésped* que tuvo lugar en las paredes del nanocanal fue responsable de la generación de un dispositivo nanofluidico “sintonizable” cuya densidad de carga superficial dependió de la presencia K^+ . Contrariamente a lo que ocurre en presencia de Na^+ , los K^+ fueron reconocidos, complejados y confinados supramolecularmente en las paredes de los canales, lo que provocó la generación de cargas positivas netas en las paredes de los mismos.

El siguiente objetivo fue conseguir un ajuste fino de las cargas superficiales a través de la interacción entre las cargas negativas nativas del canal y las cargas positivas producto de la complejación de los éteres corona con los iones potasio. En las paredes de los canales, se pudo conseguir que los éteres corona puedan coexistir con grupos carboxilos sin reaccionar reduciendo el tiempo de reacción para la amidación (a 12 hs) evitando así la conversión completa. Como resultado, las paredes de los canales expusieron simultáneamente grupos carboxilos negativos y unidades de éteres 18-corona-6, que en presencia de K^+ generaron cargas positivas confinadas en la superficie y que en última instancia pudieron neutralizar las cargas negativas provenientes de los grupos carboxilo vecinos (Figura 4.5). Contrariamente al caso presentado anteriormente (conversión completa) en el que los iones K^+ desencadenaron el transporte rectificado de aniones, en este caso la estrategia se basó en el uso de iones K^+ para ajustar el transporte rectificado de cationes modulando el exceso de carga negativa sobre las paredes de los poros.

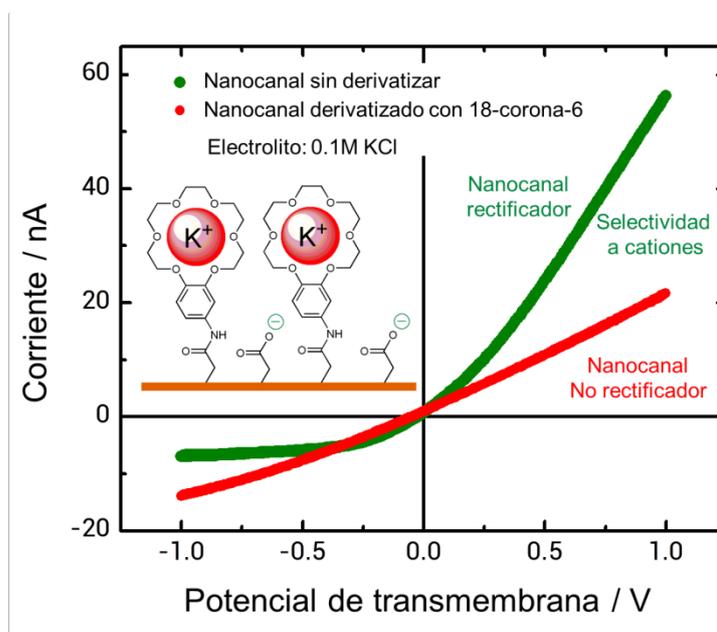


Figura 4.5. (a) Curvas de corriente-potencial de transmembrana correspondientes a un nanocanal asimétrico (traza verde) y un nanocanal asimétrico parcialmente derivatizado con unidades de 18-coronas-6 (traza roja) en presencia de KCl 0,1 M.

La Figura 4.5 muestra en la misma gráfica la respuesta I-V de un nanocanal *track-etched* y un nanocanal similar parcialmente derivatizado con grupos de 18-corona-6, ambas curvas fueron medidas en solución de KCl 0,1 M. El nanocanal no derivatizado mostró una respuesta de corriente rectificadora selectiva a cationes típica, que se originó a partir de los grupos de carboxilos expuestos en las paredes de los poros. Por otra parte, el nanocanal asimétrico que

expuso grupos carboxilos y 18-corona-6, prácticamente no muestra propiedades de rectificación como resultado de la "neutralización" de las cargas fijas sobre las paredes de los poros. A pesar de que las cargas negativas eran independientes de la naturaleza de los cationes, el reconocimiento iónico de K^+ condujo a una disminución marcada en las propiedades de rectificación del poro, es decir: las cargas negativas totales se redujeron. El comportamiento cuasi-lineal de la curva I-V (figura 4.5, traza roja) indica que la superficie de los diodos nanofluidicos parcialmente derivatizados se volvió neutra en presencia de K^+ . En este punto debemos enfatizar que los experimentos fueron realizados utilizando una serie de nanocanales que exhiben ligeras diferencias en sus dimensiones, debido a la variabilidad inherente al procedimiento de *etching*. Esto se reflejó en diferencias en términos de las corrientes iónicas totales medidas en las distintas configuraciones.

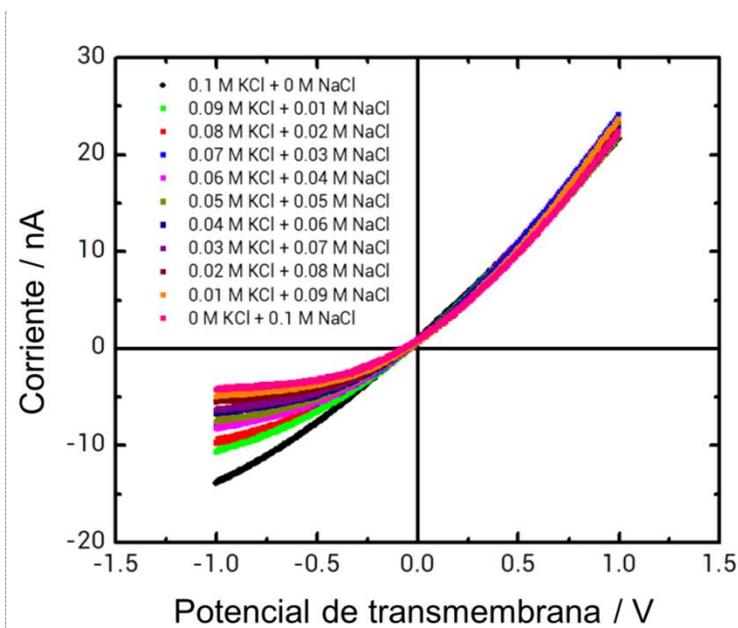


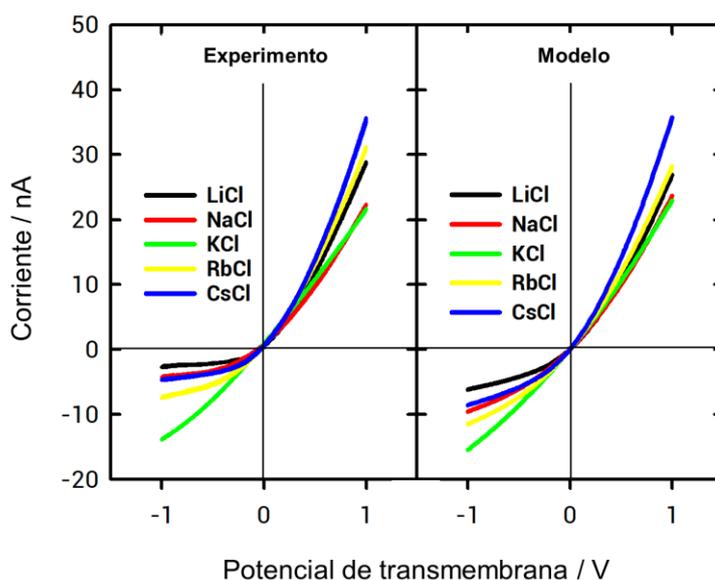
Figura 4.6. Curvas I-V correspondientes a un nanocanal asimétrico parcialmente derivatizado con unidades de 18-corona-6 en presencia de diferentes cantidades de iones K^+ y Na^+ . Obsérvese que la concentración total de electrolito monovalente es constante.

La riqueza química de la química *anfitrión-huésped* que operó en los nanocanales residió en el hecho de que la concentración de potasio actuó como un parámetro químico preciso responsable de establecer condiciones electrostáticas bien definidas en las paredes de los canales. Por lo tanto, cuando la concentración de iones K^+ se incrementó a fuerza iónica constante, la población de cargas negativas fijas en las paredes de los poros disminuyó, dando origen a un nanocanal neutro (figura 4.6).

Como era de esperar, al incrementar gradualmente la fracción de iones de potasio en el baño electrolítico, las propiedades de rectificación del dispositivo nanofluídico comenzaron a disminuir como resultado de la variación de las cargas fijas netas en las paredes de los canales, un proceso que podría denominarse neutralización supramolecular de la superficie. Es importante señalar que este proceso de reconocimiento condujo a la aparición de propiedades de rectificación bien definidas en presencia de un estímulo químico muy específico.

Para demostrar la especificidad de este enfoque hemos realizado experimentos similares utilizando diferentes iones alcalinos. La Figura 4.7 muestra las curvas I-V de un nanocanal parcialmente derivatizado con 18-corona-6 en presencia de soluciones 0,1 M de sales de cloruro de diferentes metales alcalinos. Como era de esperar, la respuesta funcional del nanocanal fue extremadamente sensible a la naturaleza del catión. Los resultados experimentales fueron descritos teóricamente en términos del modelo basado en las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck (capítulo 2, apéndice 1) con el objetivo de estimar la carga superficial efectiva de las paredes de los nanocanales en presencia de diferentes cationes alcalinos. La comparación entre la teoría y los experimentos reveló una excelente concordancia. Por lo tanto, a partir del modelado de la respuesta I-V pudimos estimar que la carga superficial del nanocanal en presencia de K^+ , Na^+ , Rb^+ , Cs^+ y Li^+ correspondió a 0,1; 0,25; 0,275; 0,5 y 0,5 e/nm^2 , respectivamente. La tendencia observada concordó perfectamente con la afinidad de 18-corona-6 con los iones alcalinos: $K^+ > Na^+ \sim Rb^+ > Cs^+ \sim Li^+$.

Figura 4.7. (Izquierda) Curvas I-V experimentales de un nanocanal asimétrico parcialmente derivatizado con unidades de 18-corona-6 en presencia de diferentes iones alcalinos. (Derecha) Resultados teóricos obtenidos con un modelo basado en las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck (PNP).



4.4. Conclusiones

En este capítulo se ha demostrado que la integración de elementos de reconocimiento de iones dentro de nanocanales *track-etched* asimétricos permite la construcción nanodispositivos químicos altamente funcionales. En particular, se demostró el uso de éteres corona como elementos de reconocimiento supramoleculares los cuales proporcionan una herramienta única para manipular y ajustar finamente la carga superficial de las paredes de los nanocanales de manera específica. La evidencia experimental aquí expuesta describe el uso de los éteres macrocíclicos 18-corona-6 para modificar la superficie de los canales y así explotar el equilibrio químico dependiente de K^+ de estas unidades de reconocimiento, obteniendo de esta manera un ajuste fino del transporte iónico mediante el pre-establecimiento de la concentración de K^+ en solución. De esta manera se obtuvo un alto grado de control sobre las propiedades de transporte de iones del sistema. En otras palabras, la carga superficial efectiva del dispositivo nanofluídico puede ajustarse mediante la regulación de la concentración de K^+ , indicando así que el nanocanal decorado con éteres corona permite la sintonización del transporte rectificado permselectivo en estrecha semejanza con un canal de potasio celular. En este contexto, decorar las paredes internas del nanocanal con diferentes "*Anfitriones*" podría introducir una ruta química fácil para crear canales nanofluídicos responsivos. Consideramos que estos resultados pueden conducir a nuevas estrategias para diseñar dispositivos nanofluídicos inteligentes basados en la interacción entre la riqueza química de la química supramolecular anfitrión-huésped y las notables características físicas de nanocanales asimétricos.

4.5. Parámetros utilizados para el modelado teórico

Los parámetros geométricos utilizados para resolver las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck se muestran en la tabla 1, mientras que en la tabla 2 pueden encontrarse los coeficientes de difusión utilizados para cada ion. Para los valores de d (largo del nanocanal), a_B (diámetro de la base, Figura 4.8) y σ , se utilizaron valores experimentales, mientras que los parámetros d/h , n y a_L (parámetros que controla la forma del nanocanal), fueron ajustados mediante las curvas experimentales.

Parametros	valores
a_L / nm	30
a_B / nm	410
$d / \mu\text{m}$	12
$\sigma / e . \text{nm}^{-2}$	1.5
d/h	8
n	1.2

Tabla 1. Parámetros geométricos utilizados para el modelado teórico de las curva de la figura 7.

Ion	Coef / $10^{-5} \text{ cm.s}^{-1}$
Li^+	1.029
Na^+	1.334
K^+	1.957
Rb^+	2.072
Cs^+	2.056
Cl^-	2.03

Tabla 2. Coeficientes de difusión utilizados para cada ion para el modelado teórico con las ecuaciones de PNP de las curvas presentadas en la figura 7

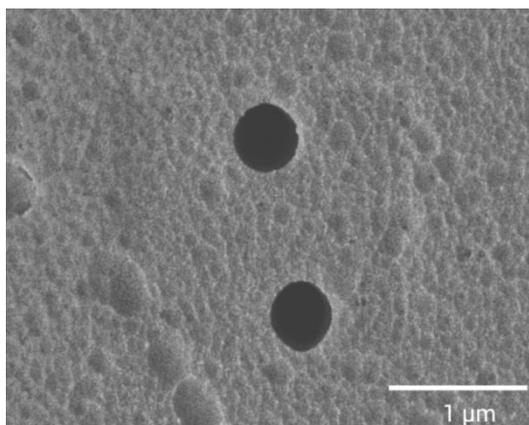


Figura 4.8. Imagen SEM de las utilizadas para determinar el tamaño de la base de los nanocanales. El tamaño de la punta no se pudo determinar por este método por problemas relacionados a la carga de la muestra.

4.6. Referencias

- [1] L. Jiang, L. Feng, *Bioinspired Intelligent Nanostructured Interfacial Materials*. World Scientific: Singapore, 2010.
- [2] (a) L. A. Baker and S. P. Bird, *Nat. Nanotechnol.*, 2008, **3**, 73; (b) C. R. Martin and Z. Siwy, *Science*, 2007, **317**, 331; (c) S. Howorka and Z. Siwy, *Chem. Soc. Rev.*, 2009, **38**, 2360; (d) C. Dekker, *Nat. Nanotechnol.*, 2007, **2**, 209; (e) Y. Fu, H. Tokuhisa and L. A. Baker, *Chem. Commun.*, 2009, 4877; (f) M. Wanunu and A. Meller, *Nano Lett.*, 2007, **7**, 1580; (g) I. Vlassiuk, Z. S. Siwy, *Nano Lett.*, 2007, **7**, 552; (h) M. Ali, B. Yameen, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll and O. Azzaroni, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 16351; (i) E. N. Ervin, R. Kawano, R. J. White, H. S. White, *Anal. Chem.*, 2009, **81**, 533–537; (j) D. K. Lathrop, E. N. Ervin, G. A. Barrall, M. G. Keehan, R. Kawano, M. A. Krupka, H. S. White, A. H. Hibbs, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 1878–1885; (k) X. Hou, W. Guo, L. Jiang, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 2385–2401.
- [3] (a) L.T. Sexton, L.P. Horne, C.R. Martin, *Mol. BioSyst.* 2007, **3**, 667. (b) Z. Siwy, *Adv. Funct. Mater.* 2006, **16**, 735. (c) C. Wei, A.J. Bard, S.W. Feldberg, 1997, **69**, 4627. (d) Z. Siwy, A. Fuliński, *Phys. Rev. Lett.* 2002, **89**, 198103-1/4. (e) Z. Siwy, Y. Gu, H.A. Spohr, D. Baur, A. Wolf-Reber, R. Spohr, P. Apel, Y.E Korchev, *Europhys. Lett.* 2002, **60**, 349.
- [4] (a) J. Cervera, B. Schiedt, R. Neumann, S. Mafé, P. Ramírez, *J. Chem. Phys.* 2006, **124**, 104706. (b) I. D. Kosińska, I. Goychuk, M. Kostur, G. Schmid, P. Hänggi, *Phys. Rev. E*, 2008, **77**, 031131.
- [5] X. Hou, H. Zhang and L. Jiang, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2012, **51**, 5296–5307.
- [6] J.M. Evans, T.C. Hamilton, S.D. Longman, and G. Stemp. *Potassium Channels and Their Modulators*. Taylor and Francis Ltd: London, 2004.
- [7] (a) X. Hou, W. Guo, F. Xia, F.-Q. Nie, H. Dong, Y. Tian, L. Wen, L. Wang, L. Cao, Y. Yang, J. Xue, Y. Song, Y. Wang, D. Liu, and L. Jiang, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, **131**, 7800–7805. (b) M. Liu, H. Zhang, K. Li, L. Heng, S. Wang and Y. Tian, *Adv. Funct. Mater.* 2015, **25**, 421-426.
- [8] D.A. Haydon, S.B. Hladky, S. B. Quart. *Rev. Biophys.* 1972, **5**, 187- 282.
- [9] K. H. Wong, K. Yagi and J. Smid, *J. Membr. Biol.*, 1974, **18**, 379–397.
- [10] G. Gokel, *Crown Ethers and Cryptands*. Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1991.
- [11] Patai, S., Rappoport Z. (eds.). *Crown Ethers and Analogues*. New York: Wiley 1989,
- [12] Dietrich, B., Viout, P., Lehn, J.-M., *Macrocyclic Chemistry*; Weinheim: VCH, 1993.

- [13] E. A. Heins, L. A. Baker, Z. S. Siwy, M. O. Mota and C. R. Martin, *J. Phys. Chem. B*, 2005, **109**, 18400– 18407.
- [14] F. Lindoy, *The Chemistry of Macrocyclic Ligand Complexes*. Cambridge University Press: Cambridge, 1990.
- [15] G. T. Hermanson. *Bioconjugate Techniques*. Elsevier: Cambridge, 2013.

Capítulo 5

Polidopamina: un enfoque integral bio-inspirado de modificación de superficies para adaptar las propiedades funcionales de diodos nanofluídicos

5.1. Introducción

El uso de nanocanales asimétricos de estado sólido para la construcción de dispositivos nanofluídicos funcionales representa uno de los esfuerzos de investigación más importantes en el área de rápido desarrollo de la nanofluídica.¹⁻⁴ Parte del atractivo de los diodos nanofluídicos se basa en sus interesantes características del transporte iónico, las cuales se asemejan mucho a las propiedades de selectividad iónica y rectificación de la corriente iónica de los canales iónicos biológicos.^{5,6} Uno de los factores clave que determinan las características de rectificación de los nanocanales asimétricos es el control sobre las propiedades superficiales de las paredes de los canales en la nanoescala.⁷ Como se explicó en el capítulo 2, resultados experimentales⁸ y teóricos⁹ han demostrado que las propiedades de rectificación de nanocanales asimétricos emergen debido a una sinergia entre una fuerza impulsora entrópica causada por la asimetría del canal y los efectos electrostáticos debidos a las cargas fijas en la pared del poro.¹⁰⁻¹²

Durante la última década, el aumento en la comprensión los factores que rigen el comportamiento de los dispositivos nanofluídicos dio lugar a la creación de una amplia variedad de arquitecturas nanofluídicas que responden a estímulos externos como el pH,¹³ iones específicos,¹⁴ temperatura,¹⁵ biomoléculas,¹⁶ campos eléctricos,¹⁷ presión¹⁸ y luz.¹⁹ El elemento clave de estos dispositivos nanofluídicos iónicos es la posibilidad de desencadenar cambios en la carga superficial de las paredes de los canales en presencia de un estímulo ambiental dado, lo que finalmente conduce a cambios en el tipo y concentración de iones dentro del nanocanal. Como consecuencia, encontrar nuevas vías para manipular la química superficial y la naturaleza de las cargas fijas de nanocanales asimétricos es de suma

importancia para ganar control sobre el transporte de iones a través del dispositivo y ampliar aún más las potencialidades de estos sistemas nanométricos.

5.2. Polidopamina como plataforma universal de modificación superficial

En los últimos años se han desarrollado varias técnicas macromoleculares y supramoleculares para modificar las superficies y conferirles características funcionales, por ejemplo: ensamblados capa por capa, deposición por Langmuir-Blodgett, monocapas autoensambladas, etc. Sin embargo, a pesar de haber sido aplicadas con éxito en ciertas superficies, todas estas técnicas tienen un problema en común: *no son transferibles a cualquier tipo de materiales*. Normalmente, estos métodos están restringidos a superficies con determinadas características. Por ejemplo, el auto-ensamblado electrostático está restringido a las superficies que tienen una carga de un signo determinado, o la química de Au-tiol para formar monocapas autoensambladas no es directamente compatible con superficies poliméricas. Debido a este problema existe una gran demanda de nuevos enfoques que conduzcan a técnicas más generalizadas para la funcionalización de las superficies de dispositivos nanofluídicos. Consecuentemente, la elaboración de estrategias que permitan la integración de diferentes químicas superficiales en la misma superficie de un mismo tipo de nanocanal es un desafío remanente en la investigación nanofluídica. En este contexto, los derivados de la polidopamina parecen ser candidatos ideales para alcanzar esta meta. La polidopamina, un polímero formado por *3,4-dihidroxi-L-fenilalanina* (dopamina), se sintetiza espontáneamente en solución acuosa mediante un proceso oxidativo. Este proceso se produce en presencia de un oxidante en condiciones alcalinas ($\text{pH} > 7.5$) y se produce tanto en solución como sobre superficies.

En 2007, Messersmith y sus compañeros de trabajo^{20,21} propusieron varias maneras de sintetizar y usar polidopamina (PDOPA) para modificar una gran variedad de superficies (Figura 5.1) las cuales posteriormente, fueron estudiadas a fondo por numerosos grupos. A pesar de que la composición química de la PDOPA no se ha elucidado completamente, se sabe que ciertos grupos funcionales están presentes en el polímero, entre ellos, catecoles, iminas y aminas. Esto es importante porque la química de estos grupos hace posible modificar la capa de PDOPA posteriormente para obtener superficies con características mejoradas para aplicaciones específicas. Un tipo de reacción que se ha utilizado para modificar las capas de PDOPA es la adición de Michael,²² que permite la unión de especies nucleofílicas tales como

aminas primarias o tioles al polímero.^{20,23,24,25} Por otra parte, otra reacción que se ha utilizado - en este caso para obtener materiales híbridos metal-polímero - es la reducción de iones metálicos durante y después de la polimerización de la PDOPA haciendo uso de la oxidación de los grupos catecol presentes en el polímero.^{26,27} A pesar de que la PDOPA ha sido ampliamente estudiada para una gran variedad de aplicaciones, el uso de PDOPA como un "primer universal" para desarrollar dispositivos nanofluídicos sensibles sigue siendo un campo totalmente inexplorado. Debido a la versatilidad del PDOPA para polimerizar sobre virtualmente cualquier superficie y por su facilidad para ser químicamente modificado, este polímero representa un bloque de construcción ideal para ser combinado con dispositivos nanofluídicos para mejorar el control sobre los fenómenos de transporte de iones en la nanoescala. Es importante destacar que Messersmith y colaboradores desarrollaron la PDOPA inspirándose en la proteína contenida en la placa adhesiva de los mejillones (mefp-5), la cual contiene una gran cantidad de grupos amina y catecol que se supone le dan a estos moluscos su gran adherencia.

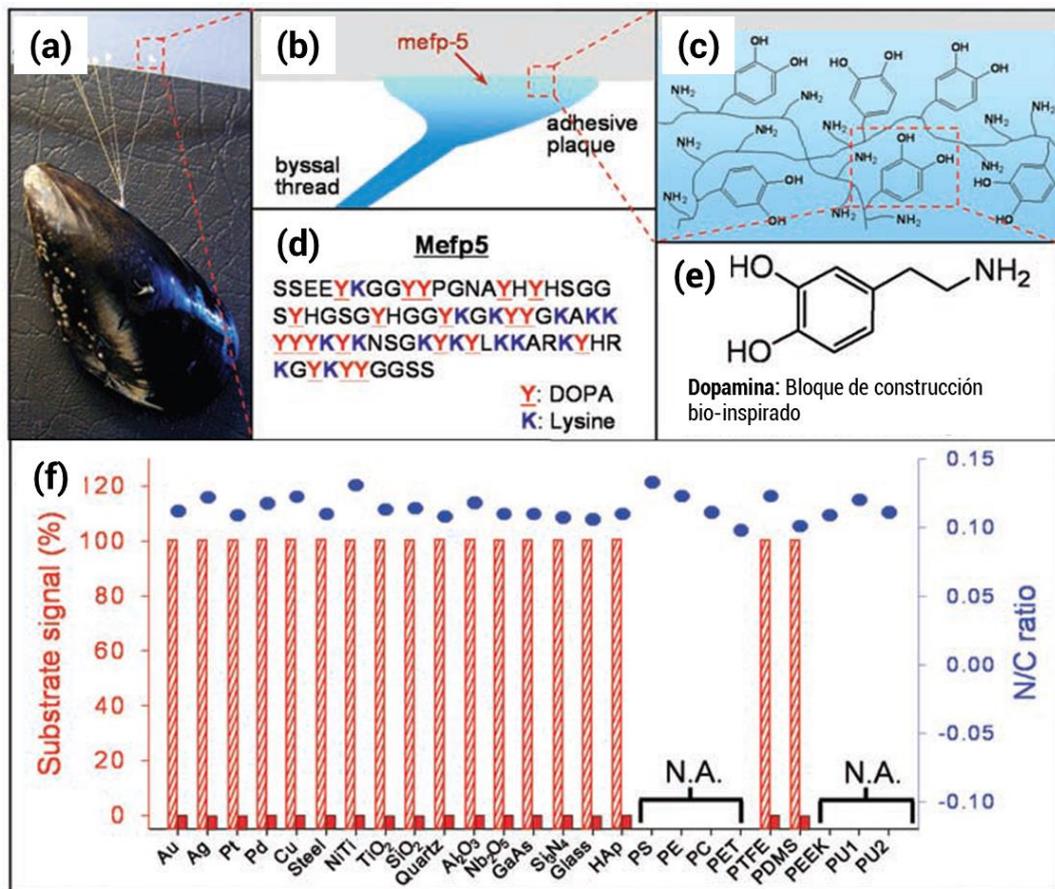


Figura 5.1. (a) Fotografía de un mejillón unido a PTFE comercial. (b y c) Ilustraciones esquemáticas de la placa adhesiva de Mefp-5 (proteína del pie de *Mytilus Edulis* - 5) y una representación molecular simplificada de la proteína la cual contiene grupos característicos de aminas y catecoles. (d) La secuencia de aminoácidos de Mefp - 5. (e) Así como la Mefp-5, la dopamina contiene grupos funcionales amina y catecol y se usó como un bloque de construcción molecular para recubrimientos de distintas superficies. (f) Caracterización por XPS de 25 superficies recubiertas de polidopamina. El gráfico de barras representa la intensidad de la señal del sustrato antes (columnas rayadas) y después del revestimiento (columnas sólidas) por polidopamina. La intensidad de la señal del sustrato no modificada fue normalizada en cada caso al 100%. Los sustratos con características indistinguibles de la señal de polidopamina están marcadas con "N.A." Los círculos azules representan el N/C después del revestimiento de polidopamina. (figura adaptadas de ref.20)

Una característica que los trabajos previos en nanofluidica tienen en común es que la configuración de las dimensiones de los nanocanales y en particular el tamaño de la punta para el caso de nanocanales asimétricos queda prefijada a través del procedimiento de *etching* químico. La naturaleza irreversible de los protocolos de *etching* hace que los nanocanales necesiten ser descartados si se obtienen canales cuyos diámetros son demasiado grandes como para que presenten buenas propiedades de rectificación. En este contexto, sería altamente deseable desarrollar una técnica de fácil implementación para modificar no sólo la química, sino también el tamaño de la punta y la geometría de los nanocanales después de la construcción.

En éste capítulo presentamos un enfoque versátil para conferir múltiples propiedades funcionales a los nanocanales de estado sólido mediante el uso de la polimerización de dopamina. Mostramos que es posible obtener diodos iónicos responsivos al pH con propiedades de rectificación mejoradas a partir de nanocanales asimétricos que muestran inicialmente bajas eficiencias de rectificación, mediante la explotación de los cambios dimensionales y superficiales que tienen lugar durante el crecimiento de PDOPA dentro de los poros. Además, hemos aprovechado la química de la PDOPA para adaptar las propiedades del nanocanal como una prueba de la versatilidad de la capa polimérica para desarrollar diversos dispositivos nanofluidicos. Para ello, aplicamos dos protocolos diferentes. En primer lugar, la capa de PDOPA fue modificada químicamente con 3-aminobencilamina por medio de una reacción de adición de Michael y, en segundo lugar, se han utilizado los grupos catecol de la PDOPA para reducir iones de oro con el fin de obtener un material híbrido constituido por

PDOPA y nanopartículas de oro. A continuación, la superficie de oro se modificó con monocapas de tioles autoensambladas los cuales llevaban grupos amina cuaternarios.

5.3. Fabricación de nanocanales modificados con Polidopamina (PDOPA)

Etching químico: Para esta serie de experimentos se utilizaron nanocanales fabricados en láminas de PET irradiadas con un solo ion pesado ($\text{Au } 25^+$, 11.1 MeV por nucleón) a los cuales se les realizó un *etching* asistido por surfactante que les otorgó una forma parabólica (tipo bala). Este *etching* se llevó a cabo como fue descrito en el capítulo 3. El tiempo total de *etching* fue de 8,0 minutos a una temperatura de 60 ° C, ya que se buscó una baja eficiencia de rectificación. Como se explicó en el capítulo 3, a un tiempo de ~6.5 hay una rectificación considerable la cual disminuye rápidamente a tiempos mayores (> 7 min).

Polimerización de dopamina (DOPA): Se dejó una solución de DOPA 10 mM en contacto con la lámina de PET a pH 8,5 (ajustada con buffer Tris 0,1 M) durante 2 horas. Se añadió cloruro de potasio hasta una concentración de 0,1 M para realizar medidas de conductividad durante la formación de la polidopamina (PDOPA) en las paredes de nanocanales.

5.4. Procedimiento blando “*bottom-up*” para mejorar las propiedades de rectificación de diodos nanofluidicos con polidopamina

El papel dual de PDOPA como un bloque de construcción capaz de alterar las propiedades químicas y dimensionales de los nanocanales se demostró utilizando un nanocanal que mostró inicialmente escasas propiedades de rectificación como consecuencia de un tamaño de punta demasiado grande. Éste fue obtenido mediante la utilización de tiempos de *etching* prolongados (8 min a 60 °C). Después de caracterizar la respuesta I-V inicial, se lavó la lámina que contenía el nanocanal con agua Milli-Q y se volvió a poner en la celda de conductividad con una solución de dopamina a pH 8,5 (buffer de Tris), condiciones bajo las cuales la reacción de polimerización comenzó inmediatamente. Con el fin de seguir el cierre de la punta del canal durante el crecimiento del polímero sobre su superficie, se midió la corriente iónica transmembrana en función del tiempo (Figura 5.2). Este experimento nos permitió estimar el *radio aparente* (R_{app}) del nanocanal a medida que la polimerización avanzaba dentro del canal. Este radio aparente se definió como el radio de un canal cilíndrico

que tiene la misma conductancia G que el nanocanal medido. El R_{app} se calculó utilizando una ecuación de conductancia típica,²⁸

$$R_{app} = \sqrt{\frac{GL}{\kappa\pi}} \quad (1)$$

Donde L es la longitud del canal (en nuestro caso 12 μm) G es la conductancia del canal y κ es la conductividad específica del electrolito. En la Figura 5.2 se puede observar que hay una rápida disminución en el R_{eff} durante los primeros 15 minutos, con una tasa de cambio de $R_{app} \sim 24 \text{ nm/min}$. Después de este periodo, la velocidad de reducción de R_{app} disminuyó a $\sim 4 \text{ nm/min}$ durante $\sim 80 \text{ min}$, lo que pudo deberse a una reducción de la velocidad de polimerización dentro del poro. El régimen final tuvo una velocidad de 2 nm/min y duró más de 30 minutos sin llegar a observarse el cierre efectivo del poro.

Como era de esperar, la curva I-V del nanocanal después de la polimerización mostró valores más bajos de corrientes iónicas transmembrana como consecuencia de la reducción del tamaño de punta resultante del crecimiento de la PDOPA. Sin embargo, el nanocanal mostró un marcado incremento en la eficiencia de rectificación (f_{rec}) de 2 a 10 después de la polimerización de PDOPA (Figura 5.3).

Se puede observar que hay una diferencia entre la corriente inicial en la figura 5.2 y la corriente correspondiente en la figura 5.3b. Las causas de esta diferencia se encontraron en el hecho de que el pH de la solución de polimerización era más alto y también debido a un ligero cambio entre los potenciales de los electrodos de referencia utilizados durante la polimerización, los cuales no fueron electrodos comerciales de Ag/AgCl debido a que el proceso de polimerización de PDOPA podía producir su contaminación.

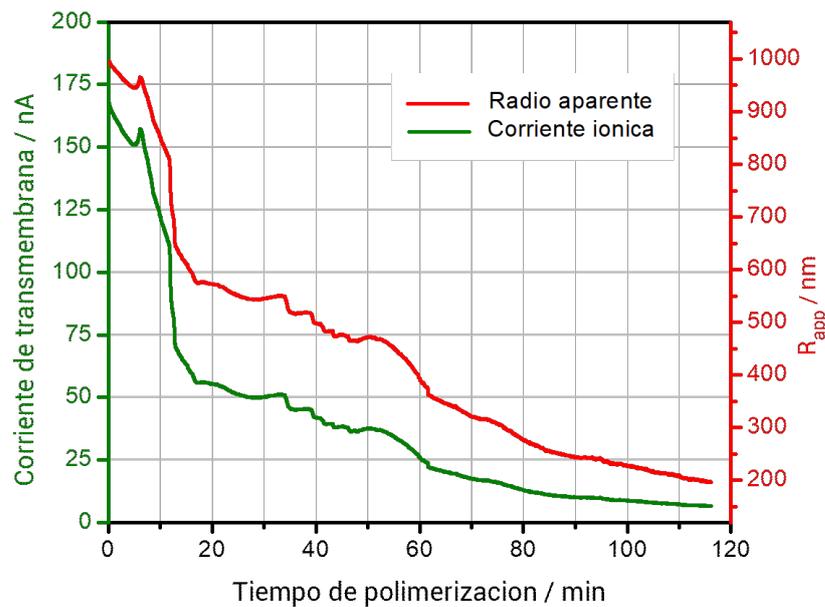


Figura 5.2. Corriente iónica transmembrana (curva verde) y cambio en el radio aparente del nanocanal (curva roja) medida durante la formación de la capa de polidopamina en la superficie del nanocanal y calculada con la ecuación 1, respectivamente. Se muestra que la punta de poro no está bloqueada incluso después de 2 horas de polimerización.

Hasta la fecha, la mayoría de los protocolos para obtener diodos nanofluidicos se han basado en enfoques “*bottom-up*” en los que las características geométricas que son responsables de la rectificación de la corriente iónica se obtienen mediante un estricto control sobre las variables durante la fabricación de los canales. Estas variables incluyen el tiempo de *etching*, la temperatura o el potencial de transmembrana.²⁹⁻³² Usando sólo este enfoque, es casi imposible recuperar un comportamiento no-ohmico, tipo diodo, después de superar cierto diámetro de punta en un nanocanal asimétrico. Aquí, se utilizó un nuevo enfoque utilizando la auto-polimerización de la dopamina para ocluir el nanocanal de manera controlada, no sólo para reducir el tamaño del canal sino también para aumentar las propiedades de rectificación del dispositivo nanofluidico. En este ejemplo, la auto-polimerización de PDOPA permitió reducir drásticamente el radio aparente a un 20% del valor inicial sin bloquear el paso de iones a través de la membrana. Estos resultados hacen que la técnica sea muy atractiva porque proporciona un protocolo para obtener nanodispositivos a partir de canales o poros de diámetros mayores. Teóricamente, debería ser posible escalar este procedimiento a canales con diámetros del orden de micrones.

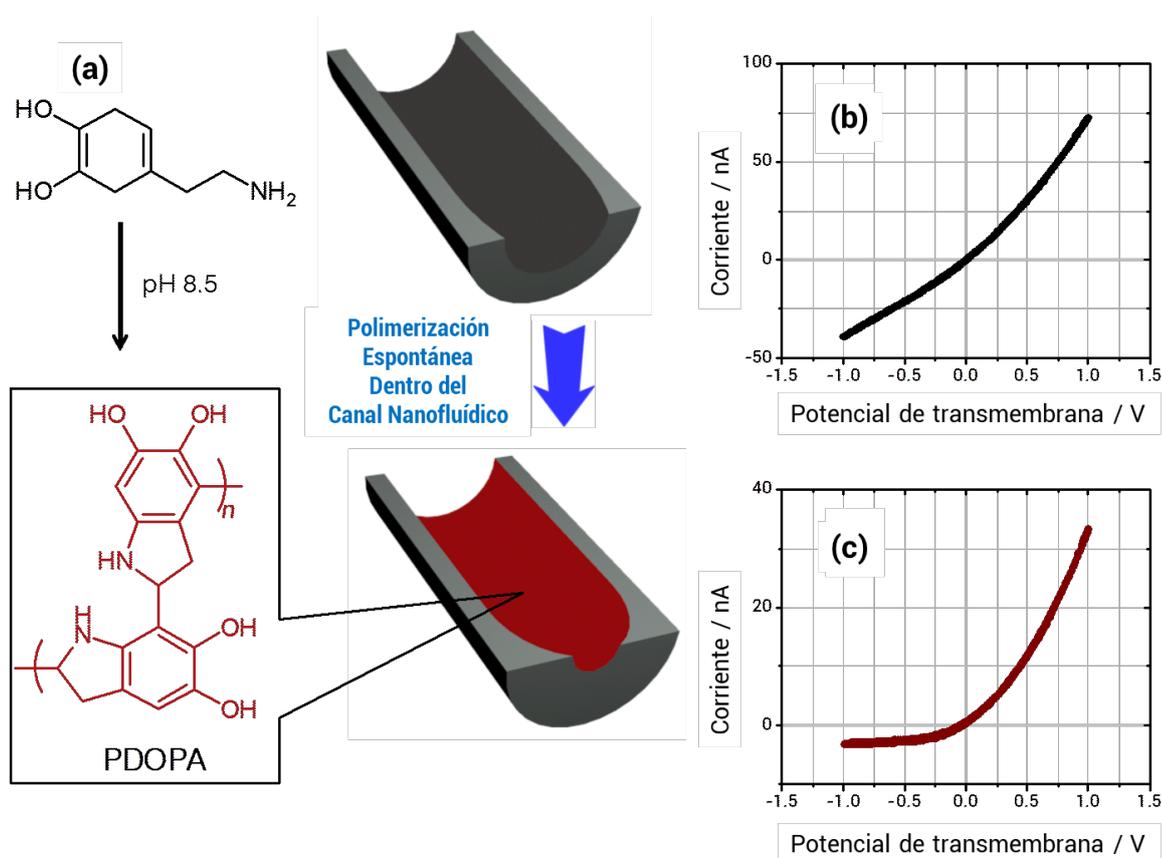


Figura 5.3. (a) Esquema que muestra la formación de la capa de PDOPA en las superficies de un nanocanal reduciendo su tamaño efectivo. Características I-V de un nanocanal antes (B) y después (C) de la polimerización.

5.5. Efecto anfotérico de la capa de polidopamina para conferir al transporte iónico responsividad al pH

A continuación, se estudió el comportamiento de la respuesta de los nanocanales modificados con PDOPA en función del pH. Recientemente, Zhou y sus colaboradores demostraron que la presencia de aminas y grupos fenólicos confieren propiedades anfotéricas o zwitteriónicas a la PDOPA.³³ Con esta idea en mente hemos explorado el uso de la PDOPA como una capa anfotérica capaz de controlar la naturaleza de las cargas superficiales en las paredes de los poros, y por lo tanto la rectificación del nanocanal mediante el ajuste del pH de las soluciones electrolíticas (Figura 5.4a). El comportamiento del sistema se estudió en el rango $2 < \text{pH} < 12$ (Figura 5.4b). Dentro de este intervalo, la rectificación varió de valores positivos a negativos, indicando así la variación desde la *selectividad aniónica* a la *selectividad catiónica* (Figura

5.4c). Mediante la medición de curvas I-V a diferentes valores de pH, se observó una región en el intervalo $4,5 < \text{pH} < 6,4$ en la cual el $|f_{\text{rec}}| \sim 1$. Esta observación corresponde a un comportamiento óhmico que a su vez corresponde a la ausencia de carga superficial neta, es decir: una región "isoelectrica" (Figura 5.4c).

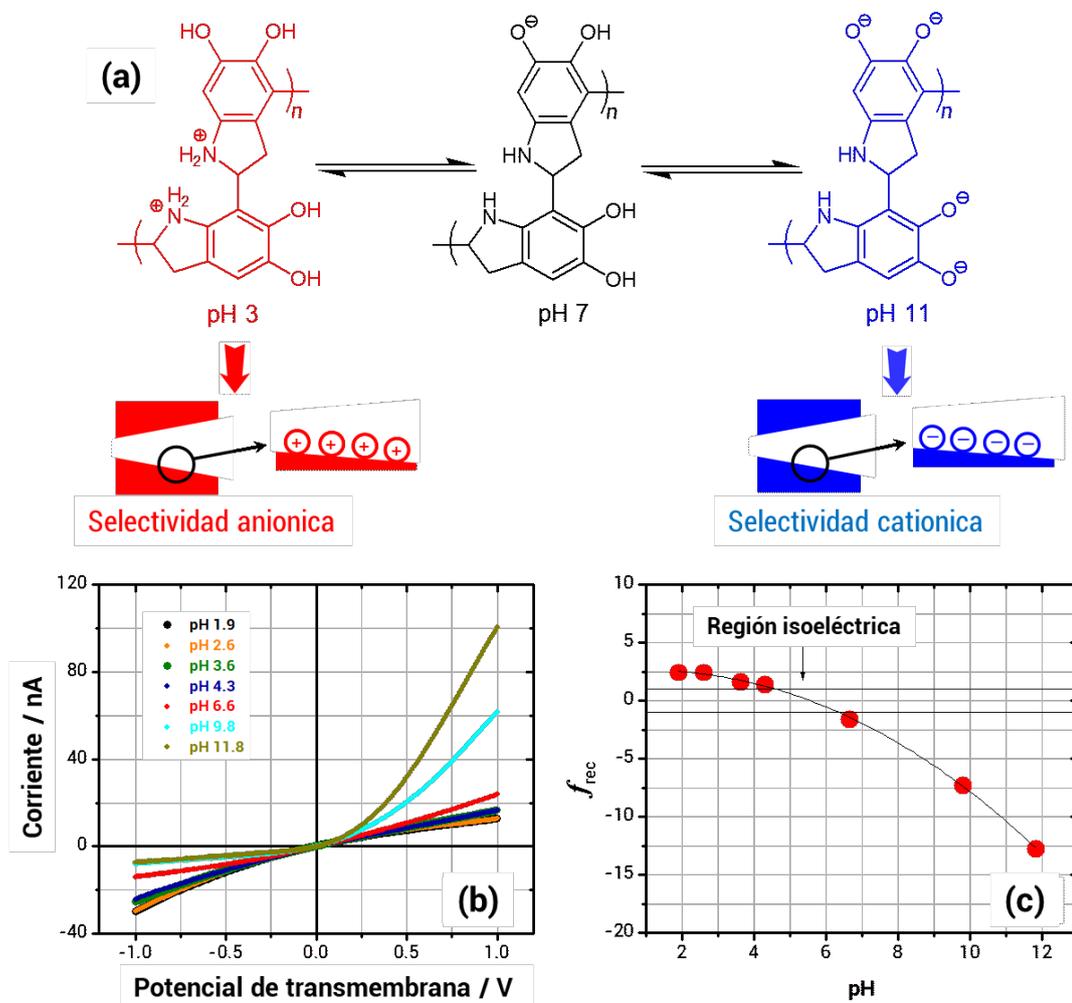


Figura 5.4. (a) Equilibrio químico asociado al comportamiento anfotérico dependiente del pH de PDOPA. (b) Características I-V de un nanocanal modificado con PDOPA bajo diferentes condiciones de pH. (c) Eficiencia de rectificación (f_{rec}) en función del pH. Se puede observar que la naturaleza anfotérica de la polidopamina conduce a la inversión de la rectificación por debajo y por encima de la región isoelectrica ($4,5 < \text{pH} < 6,4$). La curva negra no es un ajuste sino una guía de ojo.

La modificación del nanocanal con PDOPA confirió al dispositivo fluido responsividad al pH debido a la capacidad de la capa de polímero de soportar tanto cargas negativas como positivas dependiendo de las condiciones de pH. La eficiencia de rectificación bajo

condiciones alcalinas fue mayor que la observada en soluciones ácidas. En consecuencia, se puede proponer que la densidad de carga superficial positiva a pH bajos es menor que la negativa a pH altos. Esta característica también ha sido observada recientemente por Ball *et al.* Quienes midieron el potencial zeta de películas de dopamina-melanina bajo diferentes condiciones de pH.³⁴ Estos autores propusieron que las quinona-iminas y los grupos de catecol presentes en el polímero son las responsables de las cargas negativas en condiciones alcalinas, mientras que a valores de pH inferiores las cargas positivas podrían surgir de grupos indol presentes en el polímero. En nuestro experimento, se encontró una región de pH entre 4,5 y 6,4 para la cual se supuso que la densidad neta de carga superficial era cero debido a la falta de rectificación de corriente (Figura 5.4c). Un punto interesante a destacar es que el valor informado por Ball *et al.* para el punto isoeléctrico (PI) de la PDOPA utilizando nuestras mismas condiciones experimentales fue aproximadamente de 4, siendo éste un valor cercano al obtenido en nuestros experimentos.

5.6. Reacciones secundarias sobre la capa de Polidopamina

Modificación química de PDOPA mediante reacción de Michael: Usando una reacción de adición de Michael, se modificó la PDOPA con 3-aminobencilamina (ABA).²³ Los nanocanales modificados (PET/PDOPA) se dejaron en una solución de ABA 2 mg / ml durante 72 h (pH 8,5 ajustado con buffer Tris 0,1 M).

Síntesis química de nanopartículas de oro: Los grupos catecol de la capa de PDOPA se utilizaron como agentes reductores. Las láminas de PET modificadas con PDOPA se dejaron durante la noche en una solución de H₂AuCl₄ 5 mM con el fin de obtener una capa híbrida Au NP / PDOPA. Para corroborar nuestro procedimiento realizamos dos series de experimentos. En primer lugar, se utilizó espectroscopia UV-Vis para monitorear la aparición de la señal del plasmón característica de las NP de oro después de la etapa de metalización (Figura 5.6). Las medidas se realizaron usando un espectrómetro Lambda 35 UV-Vis de Perkin Elmer. El segundo conjunto de experimentos empleó las medidas de transporte iónico que verificaron la modificación de la rectificación de los nanocanales

Una vez caracterizada la respuesta del nanocanal modificado con PDOPA al pH aprovechamos la riqueza química de la capa de PDOPA para modificar el nanocanal covalentemente con grupos funcionales a través de la reacción de *adición de Michael* de

aminas primarias. Como prueba de concepto, se utilizó como reactivo *3-aminobencilamina* (ABA), principalmente porque porta un segundo grupo amino protonable que invertiría la dirección de la rectificación después de su integración covalente en la capa PDOPA (Figura 5.5a). Para lograr la modificación completa, las láminas de PET/PDOPA deben sumergirse en una solución de ABA de 2 mg / ml (pH 8,5 ajustada con buffer Tris 0,1 M) durante 5 días. Tiempos de reacción menores no llevaron a la inversión completa de las curvas I-V. Como era de esperar, las características I-V de los nanocanales de PDOPA modificados con ABA a través de la reacción de adición de Michael exhibieron una inversión de la dirección de rectificación (figura 5.5b) como consecuencia de las cargas superficiales positivas introducidas por las aminas primarias. Esta inversión de la rectificación también se relaciona con la presencia de selectividad aniónica.

Estos experimentos ilustran la versatilidad de la combinación de la capa de PDOPA y la reacción de adición de Michael para adaptar la química superficial de las paredes de los canales a través de la integración de grupos funcionales predefinidos. En consecuencia, una gran variedad de nanosistemas funcionales pueden concebirse utilizando aminas primarias disponibles comercialmente.

Por último, se exploró el papel dual de PDOPA como precursor ("primer") para la metalización de los nanocanales de estado sólido. La metalización química de nanocanales con oro fue estudiada por primera vez por el grupo de Martin³⁵ como una etapa intermedia para la modificación adicional de las paredes de los nanocanales con monocapas de tioles autoensambladas. Este procedimiento permite la incorporación directa de elementos funcionales en las paredes interiores de los canales; sin embargo, el paso correspondiente a la metalización con oro requiere un control cuidadoso de las condiciones experimentales con el fin de evitar el bloqueo de la punta de los mismos. Por eso es deseable diseñar estrategias alternativas que permitan la metalización de la pared interna de los dispositivos nanofluidicos fácilmente. Esto puede conseguirse mediante la explotación directa de los grupos químicos funcionales ya existentes en la pared de nanocanales previamente modificados con PDOPA. La aplicación de PDOPA en procesos de metalización sobre superficies planas fue propuesta por primera vez por Lee *et al.*²⁰ quienes demostraron que los grupos catecol en la capa de PDOPA pueden reducir los iones metálicos en solución.

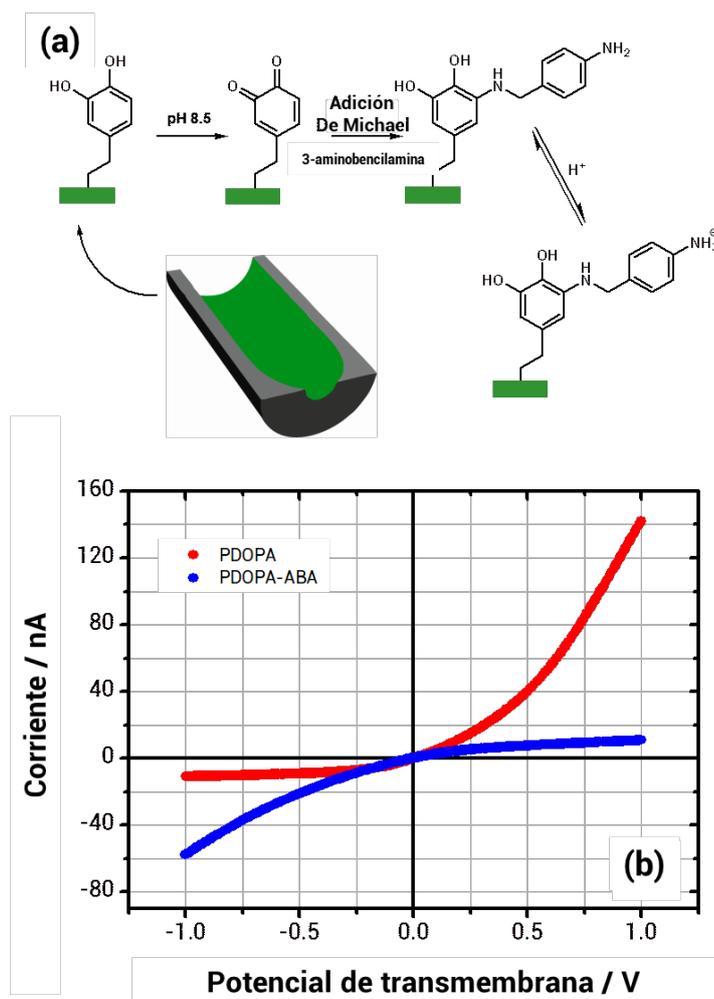


Figura 5.5. (a) Esquema que muestra la modificación covalente con 3-aminobencilamina de la capa de PDOPA mediante la reacción de adición de Michael en un nanocanal de estado sólido. (b) Características I-V del nanocanal recubierto de PDOPA antes (traza roja) y después (curva azul) de la modificación con 3-aminobencilamina. Las curvas I-V se midieron en KCl 0,1 M (pH 5).

En nuestro caso, se utilizó HAuCl_4 para formar una capa compuesta de Au coloidal/PDOPA en las paredes de los canales. Esto se logró sumergiendo la lámina porosa modificada con PDOPA en una solución de HAuCl_4 5 mM a pH 8,5 (Tris) con el fin de desplazar el equilibrio hacia la formación de grupos quinona (Figura 5.6a).^{26,27,36} La reacción de metalización se llevó a cabo durante la noche, después de la cual las láminas se lavaron extensivamente con agua. Para corroborar el proceso de metalización con oro, se tomaron espectros UV-Vis de sustratos modificados con PDOPA antes y después de la inmersión en solución de HAuCl_4 . La Figura 5.6b muestra la absorción plasmónica típica de coloides de oro en aquellas muestras sumergidas en el precursor metálico durante la noche, confirmando así que la reducción de

oro tiene lugar en presencia de la capa de PDOPA. Las curvas I-V de los nanocanales metalizados mostraron una ligera disminución de la corriente iónica como resultado del proceso de metalización que condujo a una disminución en el tamaño efectivo de la punta (figura 5.6c). Sin embargo, en diferentes conjuntos de experimentos, no se observó evidencia de bloqueo total, lo que indica que la metalización mediada por PDOPA se produce de una manera suave sin interrumpir o bloquear el transporte de iones a través de la membrana.

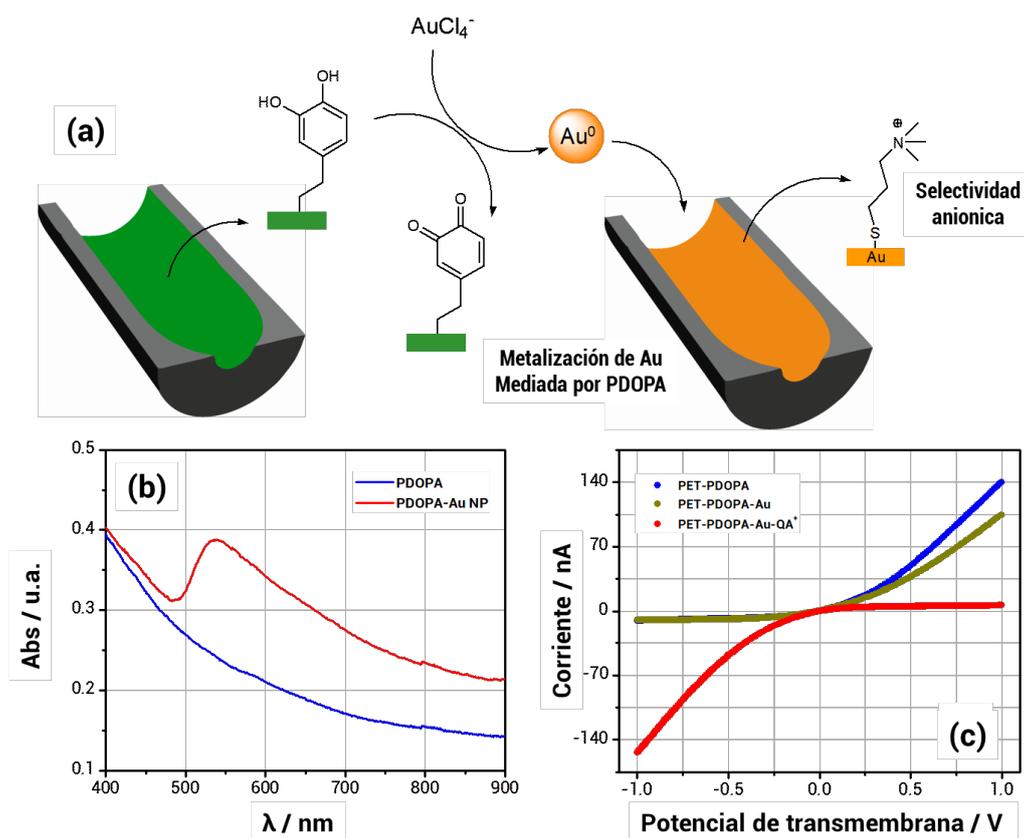


Figura 5.6. (a) Esquema que describe el proceso de metalización de nanocanales mediado por PDOPA. La ilustración muestra los procesos redox que ocurren en las paredes de los poros cuando los precursores metálicos están en contacto con los grupos de catecoles expuestos. (b) Espectros UV-Vis mostrando la absorción plasmónica de oro después de la metalización de PDOPA con precursores $HAuCl_4$ (curva roja). La curva azul muestra los espectros UV-Vis de la PDOPA antes de la metalización con oro. (c) características I-V de un nanocanal asimétrico modificado con PDOPA antes (traza azul) y después (traza verde) del proceso de metalización. La curva I-V roja muestra los cambios en las propiedades de selectividad iónica y rectificación después de la quimisorción de monocapas autoensambladas de cloruro de N, N, N-trimetil (3-mercaptopropil) amonio (NTMAC) sobre

nanocanales previamente metalizados. Se observa una reversión en la dirección de la rectificación correspondiente a un cambio en el signo de la carga superficial.

Una vez que se obtuvo el recubrimiento híbrido PDOPA/Au, se procedió a la funcionalización de la superficie de oro expuesta con *cloruro de N, N, N-trimetil (3-mercaptopropil) amonio* (NTMAC) para formar una monocapa auto-ensamblada (SAM) de tioles portadora de los grupos amina cuaternaria. Las monocapas ensambladas de NTMAC se crearon sobre láminas revestidas de PDOPA/Au por inmersión de los sustratos en una disolución de etanol 10 mM en condiciones ambientales. En este experimento, la modificación de poros se demostró por la inversión de las propiedades de rectificación debido a la presencia de grupos terminales cargados positivamente en la monocapa quimisorbida. Las curvas I-V de los diodos iónicos modificados con monocapas NTMAC formadas en los nanocanales recubiertos de PDOPA/Au muestran que la presencia de la monocapa catiónica induce una marcada inversión de las propiedades de rectificación, cambiando así el f_{rec} de -10 a 25 después de la quimisorción (figura 5.6c) entre tioles y PDOPA después de la formación de nanopartículas es la quimisorción de tioles sobre las partículas metálicas y no una adición de Michael de los tioles a PDOPA.³⁷

5.7. Conclusiones

En resumen, en este capítulo hemos presentado la integración de polidopamina en nanocanales asimétricos para obtener nanodispositivos químicos altamente funcionales. El concepto de integración propuesto se basa en la modificación química de los dispositivos nanofluídicos mediante autopólimerización de dopamina y luego en la utilización de la química de la polidopamina para llevar a cabo reacciones secundarias mediadas por la superficie. Demostramos que la propia polimerización proporciona una forma de ajustar las características dimensionales del nanocanal mejorando la rectificación de la corriente, es decir, el comportamiento del nanocanal como un diodo nanofluídico, contribuyendo asimismo a modificar las propiedades de transporte iónico del nanodispositivo de una manera dependiente al pH de la solución. Hemos demostrado que la presencia de diferentes grupos funcionales facilita la formación de cargas positivas o negativas en las superficies de los poros en condiciones ácidas o alcalinas, respectivamente, lo que a su vez conduce a la construcción de dispositivos nanofluídicos con propiedades de selectividad y rectificación de iones reversibles al pH. Además, se demostró que el nanocanal recubierto de PDOPA puede modificarse adicionalmente explotando la riqueza química de los grupos funcionales expuestos en la

superficie de la PDOPA. Para introducir grupos 3-aminobencilamina (ABA) en la capa de PDOPA se llevó a cabo una reacción de adición tipo Michael en condiciones suaves, dando como resultado la construcción de nano-canales decorados con grupos amino primarios. La protonación de estos grupos amino condujo a la formación de dispositivos nanofluídicos que muestran propiedades de rectificación controladas por el pH anión-selectivas. Además, utilizando la capacidad reductora inherente de PDOPA, se demostró que puede realizarse la reducción de oro en las paredes de poros para metalizar el interior del canal nanofluídico. La subsecuente modificación del material híbrido Au/PDOPA con tioles funcionales confirmaron que la formación de monocapas autoensambladas es factible, abriendo así la puerta a la potente combinación de técnicas de autoensamblado y dispositivos nanofluídicos usando protocolos preparativos altamente robustos y reproducibles. Creemos que el sinergismo que surge de la combinación de la "caja de herramientas" proveniente de la química de la polidopamina - la cual es sumamente versátil - y las notables características físicas de nanocanales asimétricos ofrece un marco prometedor para explorar nuevos conceptos de diseño en dispositivos nanofluídicos.

5.7. Referencias

- [1] Daiguji, H. *Chem. Soc. Rev.* 2010, **39**, 901–911.
- [2] Xu, H.; Wei, G.; Lei, J. *Chem. Soc. Rev.* 2011, **40**, 2385–2401.
- [3] Choi, Y.; Baker, L. A.; Hillebrenner, H.; Martin, C.R. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2006, **8**, 4976–4988.
- [4] Wen, L.; Tian Y.; Ma J.; Zhai J.; Jiang, L. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012, **14**, 4027–4042
- [5] Tian, Y.; Wen, L.; Hou, X.; Hou, G.; Jiang, L. *ChemPhysChem*, 2012, **13**, 2455–2470.
- [6] Hou, X.; Zhang, H.; Jiang, L. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2012, **51**, 5296–5307.
- [7] Siwy, Z.; Heins, E.; Harrell, C. C.; Kohli, P.; Martin, C. R. *J. Am. Chem. Soc.* 2004, **126**, 10850–10851.
- [8] (a) Sexton, L. T.; Horne, L. P.; Martin, C. R. *Mol. BioSyst.* 2007, **3**, 667–685. (b) Siwy, Z. *Adv. Funct. Mater.* 2006, **16**, 735–746. (c) Wei, C.; Bard, A. J.; Feldberg, S. W. *Anal. Chem.* 1997, **69**, 4627–4633. (d) Siwy, Z.; Fulinski, A. *Phys. Rev. Lett.* 2002, **89**, 198103.
- [9] (a) Cervera, J.; Schiedt, B.; Neumann, R.; Mafé, S.; Ramírez, P. *J. Chem. Phys.* 2006, **124**, 104706. (b) Kosinska, I. D.; Goychuk, I.; Kostur, M.; Schmid, G.; Hänggi, P. *Phys. Rev. E* 2008, **77**, 031131.
- [10] Siwy, Z. and Fulinski, A. *Am. J. Phys.* 2004, **72**, 567.

- [11] Vlassiounk, I.; Kozel, T. R.; Siwy, Z. *J. Am. Chem. Soc.* 2009, **131**, 8211–8220.
- [12] Siwy, Z.; Heins, E.; Harrell, C. C.; Kohli, P.; Martin C.R. *J. Am. Chem. Soc.* 2004, **126**, 10850-10851.
- [13] X. Hou, Y. J. Liu, H. Dong, F. Yang, L. Li and L. Jiang, *Adv. Mater.*, 2010, **22**, 2440.
- [14] (a) X. Hou, W. Guo, F. Xia, F. Q. Nie, H. Dong, Y. Tian, L. P. Wen, L. Wang, L. X. Cao, Y. Yang, J. M. Xue, Y. L. Song, Y. G. Wang, D. S. Liu and L. Jiang, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 7800; (b) Y. Tian, X. Hou, L. P. Wen, W. Guo, Y. L. Song, H. Z. Sun, Y. G. Wang, L. Jiang and D. B. Zhu, *Chem. Commun.*, 2010, **46**, 1682.
- [15] (a) B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll and O. Azzaroni, *Small*, 2009, **5**, 1287; (b) W. Guo, H. W. Xia, F. Xia, X. Hou, L. X. Cao, L. Wang, J. M. Xue, G. Z. Zhang, Y. L. Song, D. B. Zhu, Y. G. Wang and L. Jiang, *ChemPhysChem*, 2010, **11**, 859.
- [16] (a) I. Vlassiounk, T. R. Kozel and Z. S. Siwy, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 8211; (b) C. P. Han, X. Hou, H. C. Zhang, W. Guo, H. B. Li and L. Jiang, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 7644; (c) Z. Y. Sun, C. P. Han, L. Wen, D. M. Tian, H. B. Li and L. Jiang, *Chem. Commun.*, 2012, **48**, 3282; (d) S. J. Li, J. Li, K. Wang, C. Wang, J. J. Xu, H. Y. Chen, X. H. Xia and Q. Huo, *ACS Nano*, 2010, **4**, 6417.
- [17] W. H. Guan, R. Fan and M. A. Reed, *Nat. Commun.*, 2011, **2**, 506.
- [18] W. J. Lan, D. A. Holden and H. S. White, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 13300.
- [19] M. Zhang, Z. Meng, J. Zhai, L. Jiang *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 2284--2286
- [20] Lee, H.; Dellatore, S. M.; Miller, W. M.; Messersmith P. B. *Science* 2007, **318**, 426.
- [21] Waite, J. H.; Tanzer, M. L. *Science* 1981, **212**, 1038.
- [22] S. Kim, S. Kang, G. Kim, Y. Lee, *J. Org. Chem.*, 2016, **81**, 4048-4057.
- [23] Lee, H.; Rho J.; Messersmith, P.B. *Adv Mater.* 2009, **21**, 431–434.
- [24] Schaubroeck, D.; Vercammen, Y.; Van Vaeck, L.; Vanderleyden, E.; Dubruel, P.; Vanfleteren, J. *Applied Surface Science* 2014, **303**, 465–472.
- [25] Cao, Y.; Zhang, Y.; Tao, L.; Li, K.; Xue, Z.; Feng, L.; Wei, Y.; *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2013, **5**, 4438–4442
- [26] Xu, H.; Liu, X.; Su, G.; Zhang, B.; Wang, D. *Langmuir* 2012, **28**, 13060.
- [27] Baron, R.; Zayat, M.; Willner, I. *Anal. Chem.* 2005, **77**, 1566-1571.
- [28] Apel, P. Yu.; Blonskaya, I. V.; Orelovitch, O. L.; Ramirez, P.; Sartowska, B.A. *Nanotechnology* 2011, **22**, 175302.
- [29] Apel, P. Yu.; Korchev, Yu.E.; Siwy, Z.; Spohr, R.; Yoshida, M.; *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 2001, **184**, 337-346.

- [30] Trautmann, C.; Briichle, W.; Spohr, R.; Vetter, J.; Angert, N.; *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 1996, **111**, 70-74.
- [31] Harrell, C. C.; Siwy, Z.; Martin, C. R. *Small* 2006, **2**, 194 – 198.
- [32] Apel, P. Yu.; Blonskaya, I.V.; Cornelius, T.W.; Neumann, R.; Spohr, R.; Schwartz, K., Skuratov, V.A.; Trautmann, C. *Radiation Measurements* 2009, **44**, 759–762.
- [33] Yu, B.; Liu, J.; Liu, S.; Zhou, F. *Chem Comm.* 2010, **46**, 5900–5902.
- [34] Bernsmann, F.; Frisch, B.; Ringwald, C.; Ball, V. *Journal of Colloid and Interface Science* 2010, **344**, 54–60.
- [35] (a) Baker, L. a.; Jin, P.; Martin, C. R. *Crit. Rev. Solid State Mater. Sci.* 2005, **30**, 183–205. (b) Wirtz, M.; Parker, M.; Kobayashi, Y.; Martin, C. R. *Chem. Rec.* 2002, **2**, 259–267. (c) Martin, C. R. *Science* 1994, **266**, 1961–1966.
- [36] Fu, Y.; Li, P.; Xie, Q.; Xu, X.; Lei, L.; Chen, C.; Zou, C.; Deng, W.; Yao, S.; *Adv. Funct. Mater.* 2009, **19**, 1784–1791.
- [37] Niu, H.; Wang, S.; Zeng, T.; Wang, Y.; Zhang, X.; Meng, Z.; Cai, Y. *J. Mater. Chem.* 2012, **22**, 15644.

Capítulo 6

Construcción de dispositivos nanofluídicos funcionales basados en la síntesis electroquímica de polímeros conductores en nanocanales de estado sólido

6.1. Diodos nanofluídicos con propiedades de rectificación dinámica derivadas de conversiones electroquímicas reversibles en polímeros conductores

6.1.1. Introducción

Durante las últimas décadas, los dispositivos nanofluídicos sintéticos han atraído la atención de diferentes áreas científicas debido, entre otras cosas, a su gran importancia como herramientas para comprender mejor los fenómenos de transporte en membranas biológicas.¹⁻³ Al mismo tiempo, se ha impulsado la búsqueda de aplicaciones tecnológicas de nanoporos y nanocanales debido a su capacidad inherente de controlar el transporte de especies cargadas. Con respecto a este punto, como se ha demostrado y explicado en los capítulos anteriores, es la modificación de la geometría y la carga superficial de los nanocanales la responsable de su capacidad para regular la corriente iónica. La ruptura de la simetría en la geometría o en la densidad de carga superficial genera una asimetría en la conductividad iónica lo que finalmente conduce a la rectificación iónica. Existe un especial interés en la obtención de diodos nanofluídicos equipados con funcionalidades superficiales capaces de hacerlos responder a diferentes estímulos físicos o químicos.⁴ Dentro de este marco, se han desarrollado una amplia variedad de nanocanales con conductividades iónicas asimétricas que responden a diferentes estímulos tales como el pH,⁵ temperatura,⁶ moléculas y iones,^{7,8} y luz.⁹⁻
¹¹ Inclusive, han sido desarrollados varios dispositivos con características responsivas a dos estímulos distintos.¹²⁻¹⁵

Sin embargo, todos estos estímulos son difíciles de controlar experimentalmente particularmente en espacios reducidos. Es por esto que surgió la necesidad de producir

dispositivos nanofluidicos cuya conductancia y propiedades de transporte puedan controlarse mediante la aplicación de **potenciales eléctricos** como sucede con los transistores de efecto de campo, es decir, se busca la creación de un *transistor de efecto de campo nanofluidico*. En esta búsqueda, el control del transporte de iones a través de membranas con grupos redox ajustables ha atraído considerable atención durante los últimos años. El trabajo seminal de Martin y sus colaboradores describió el transporte selectivo de cationes electro-modulado a través de nanotubos de oro modificados a su vez con ferroceno mediante la formación de monocapas autoensambladas, demostrando así la versatilidad de la electroquímica como una herramienta clave para manipular la carga superficial de los nanoporos.¹⁶ A pesar de su relevancia, se sabe poco sobre el comportamiento de rectificación de nanocanales cónicos equipados con cargas superficiales electroquímicas incorporadas y más aún cómo la electroquímica puede contribuir a ganar mayor control sobre sus propiedades de rectificación. A este respecto, el uso de polímeros conductores (PCs) para revestir superficies de nanocanales ofrece una opción adecuada.

6.1.2. Ventajas de la integración de polímeros conductores en nanocanales

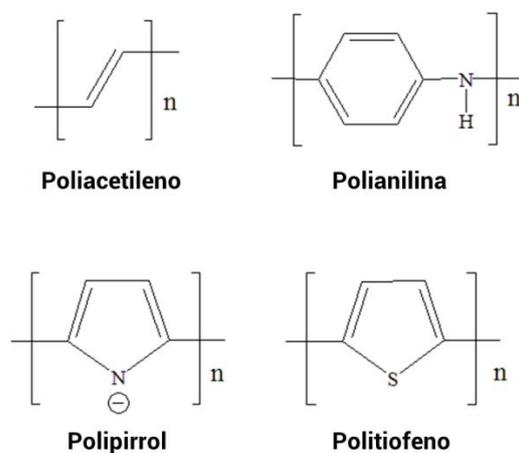
“... Una nueva generación de polímeros: materiales que exhiben las propiedades eléctricas y ópticas de metales y semiconductores mientras retienen las atractivas propiedades mecánicas y las ventajas de procesamiento de los polímeros...”

Alan J. Heeger, Nobel Lecture, 8 de Diciembre, 2000

Desde su descubrimiento en la década de 1970' por Heeger, Macdiarmid y Shirakawa, los polímeros conductores han atraído la atención de la comunidad científica en gran medida debido a sus interesantes propiedades eléctricas y electroquímicas.¹⁷⁻¹⁹ Los polímeros conductores son polímeros conjugados donde los enlaces químicos llevan a la presencia de un electrón desapareado (electrón- π) por átomo de carbono. El enlace tipo π , en el cual el carbono se encuentra en una configuración sp^2p_z y en el cual los orbitales de los átomos de carbono sucesivos a lo largo de la cadena principal del polímero se encuentran solapados, lleva a la deslocalización de los electrones a lo largo del polímero. Esta deslocalización electrónica provee una “*autopista*” para el movimiento de cargas a lo largo de la cadena polimérica.²⁰ Desde la síntesis del polímero conjugado más simple, el *poliacetileno*, hasta el día de hoy, se han obtenidos una gran variedad de polímeros conductores para diversas aplicaciones. La Figura 6.1 muestra algunos de los PC más utilizados hoy en día.

Los PC también representan una opción de bajo costo y alta fidelidad para aplicaciones en dispositivos electrónicos orgánicos como diodos emisores de luz, dispositivos fotovoltaicos y transistores de efecto de campo.²¹⁻²³ Particularmente, la polianilina (PANI) ha sido una de las PCs más estudiadas, principalmente debido a su facilidad de preparación y estabilidad. Actualmente, la PANI es considerada como uno de los PCs modelo, debido a que ha sido ampliamente estudiado y caracterizado. Sin embargo, no hay informes previos sobre la síntesis de PANI para construir dispositivos nanofluidicos funcionales. La PANI puede encontrarse en tres estados de oxidación diferentes llamados, *leucoesmeraldina* (LE), *esmeraldina* (E) y *pernigranilina* (PG).²⁴ Cada estado se caracteriza por diferentes composiciones relativas de grupos imina (o unidades quinoides) y amina secundaria (unidades aromáticas); consecuentemente, cada estado tiene un pK_a distinto. Siendo un polielectrolito con grupos protonables, la PANI muestra un acoplamiento entre sus equilibrios acido-base y el potencial redox.^{25,26} Esto implica que los cambios en el potencial electroquímico aplicado promueven cambios en el estado de protonación del polímero y por lo tanto en su carga neta. Por el contrario, las variaciones del pH modifican su grado de protonación, que a su vez altera el estado redox del polímero.²⁶

Figura 6.1. Ejemplos de estructuras de polímeros conductores frecuentemente utilizados hoy en día, poliacetileno, polianilina, polipirrol y politiofeno.



En este capítulo presentamos el desarrollo de un *transistor de efecto de campo nanofluidico de doble respuesta (pH, potencial electroquímico)* basado en la polimerización electroquímica de anilina en nanocanales asimétricos de policarbonato recubiertos con oro. Además, se muestra que la síntesis electroquímica selectiva de PANI en la abertura más pequeña del nanocanal, es decir, la punta, puede aumentar las propiedades de rectificación iónica de los dispositivos nanofluidicos.

6.1.3. Síntesis de Polianilina en nanocanales cónicos *track-etched* de policarbonato

Para esta serie de experimentos se irradiaron láminas de policarbonato de 30 μm de espesor con un ion pesado ($2 \text{ GeV Au } 25^+$). Los *tracks* formados en las láminas irradiadas fueron transformados en nanocanales cónicos mediante un *etching* químico explicado en el capítulo 3 (Sección 3.2.3). Para caracterizar la geometría de los nanocanales, se usaron dos enfoques distintos (Capítulo 3, sección 3.3). El primero implicó la obtención de imágenes de sección transversal de las membranas las cuales se tomaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) (Figura 6.2 (d)). En segundo lugar, se realizó la fabricación de nanohilos por método de plantilla. Para este caso, se electrodepositó oro potenciales estáticamente en membranas multicanal (10^7 tracks/cm^2) sintetizadas en las mismas condiciones que los canales individuales, es decir con geometría cónica. Después de la posterior disolución de la lámina de policarbonato, los conos resultantes se observaron mediante SEM a 30° y 90° respecto al plano de la muestra (Figura 6.2 (a) - (b)). Las imágenes resultantes mostraron geometrías cónicas con un diámetro de punta de $\sim 60 \text{ nm}$ y una base de $\sim 4000 \text{ nm}$.

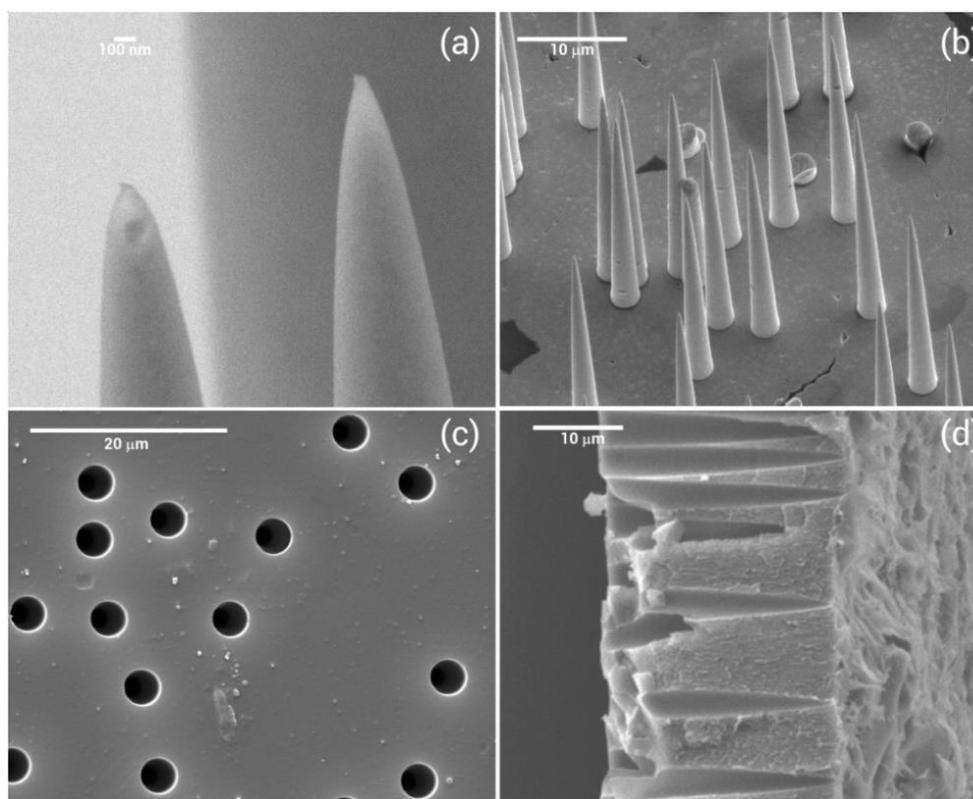


Figura 6.2. Imágenes de SEM tomadas a 90° (a) y 30° (b) de nanoconos de oro fabricadas por el método de plantilla. En la figura (a) se puede observar la punta en mayor detalle donde se ven los diámetros de $\sim 60 \text{ nm}$. (c) Imagen SEM del lado de la base de una lámina

multicanal track-etched de policarbonato (10^9 iones/cm²). (d) Imagen SEM de la sección transversal de una lámina de PC multicanal que producidos por un tipo de etching cónico.

Estos nanocanales se comportaron como resistores iónicos (comportamiento óhmico), no presentando rectificación de la corriente iónica, probablemente debido al gran diámetro de la punta.²⁷ Incluso después de la deposición de una capa de Au en el lado de la punta mediante recubrimiento por *sputtering*, los nanocanales presentaron baja eficiencia de rectificación ($f_{rec} < 2$) (Figura 6.4). Es importante mencionar que el grosor de la capa de Au es de 80 nm en la dirección normal a la superficie, según el cálculo realizado utilizando los parámetros de calibración del equipo. El análisis realizado utilizando imágenes SEM (Figura 6.3) muestra que la reducción del tamaño de la punta es de 10-15 nm.

Una vez metalizadas, las láminas con nanocanales *track-etched* se modificaron adicionalmente mediante la electropolimerización *in situ* de anilina. Para llevar a cabo la funcionalización, se sustituyó la solución de KCl 0,1 M empleada para las medidas de curvas I-V por la solución de síntesis, anilina 0,1 M en H₂SO₄ 0,5 M. La síntesis electroquímica se llevó a cabo potenciodinámicamente mediante *voltamperometría cíclica* (Figura 6.3), ciclando entre -200 y 800 mV a una velocidad de barrido de 100 mV/s con la capa de metal (Au) actuando como electrodo de trabajo. La funcionalización completa se representa esquemáticamente en la Figura 6.3.

Durante el transcurso de la síntesis electroquímica, con el objetivo de monitorear el cambio de conductancia durante la polimerización, la solución de anilina fue reemplazada por KCl 0,1 M y se registraron curvas I-V ciclando el potencial (transmembrana) entre -1 y 1 V. Sin embargo, para el cálculo de la conductancia del nanocanal, se utilizó la pendiente de las curvas I-V entre -0,1 y 0,1 V, debido a que dentro de este rango el comportamiento de las curvas es lineal. Después de cada medida de curvas I-V, se continuó la síntesis electroquímica usando una solución de monómero fresca. La Figura 6.4 muestra la variación de la conductividad iónica del nanocanal en función de la carga anódica voltamétrica de PANI después de sucesivas etapas de polimerización. La carga integrada corresponde al proceso de oxidación y toma en cuenta todas las unidades redox del sistema, siendo así proporcional a la cantidad de polímero. Aunque en la literatura se han informado correlaciones entre esta carga y el espesor de la película de polímero, se debe tener un cuidado especial al emplearlas para las estimaciones de grosor de la capa polimérica ya que dependen fuertemente de las condiciones experimentales.²⁸ Por ejemplo, empleando la equivalencia dada por Gottesfeld *et*

al. los espesores de la película de PANI para nuestro caso se pudieron estimar en 525 nm . Este valor para el espesor claramente no se corresponde a nuestros resultados. Sin embargo, es importante tener en cuenta que en cualquier caso, mayores cargas integradas se corresponden a películas más gruesas. Los resultados en la figura 6.4 indican que la punta del nanocanal se hace más y más estrecha a medida que crece la capa de polímero conductor. En particular, la conductividad, que está relacionada con el diámetro de la punta del nanocanal, disminuye hasta un valor límite de 10 nS , un orden de magnitud menor con respecto al valor inicial.

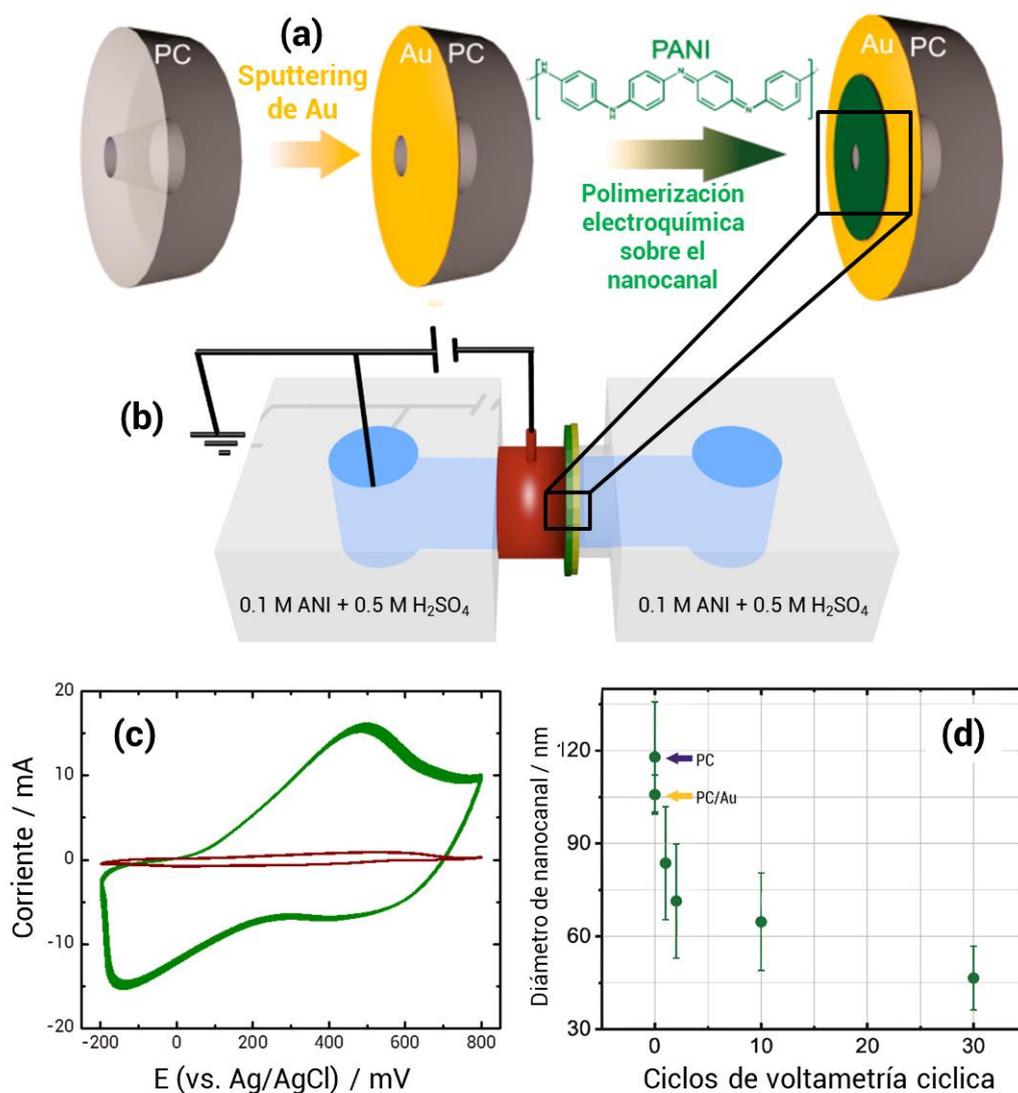
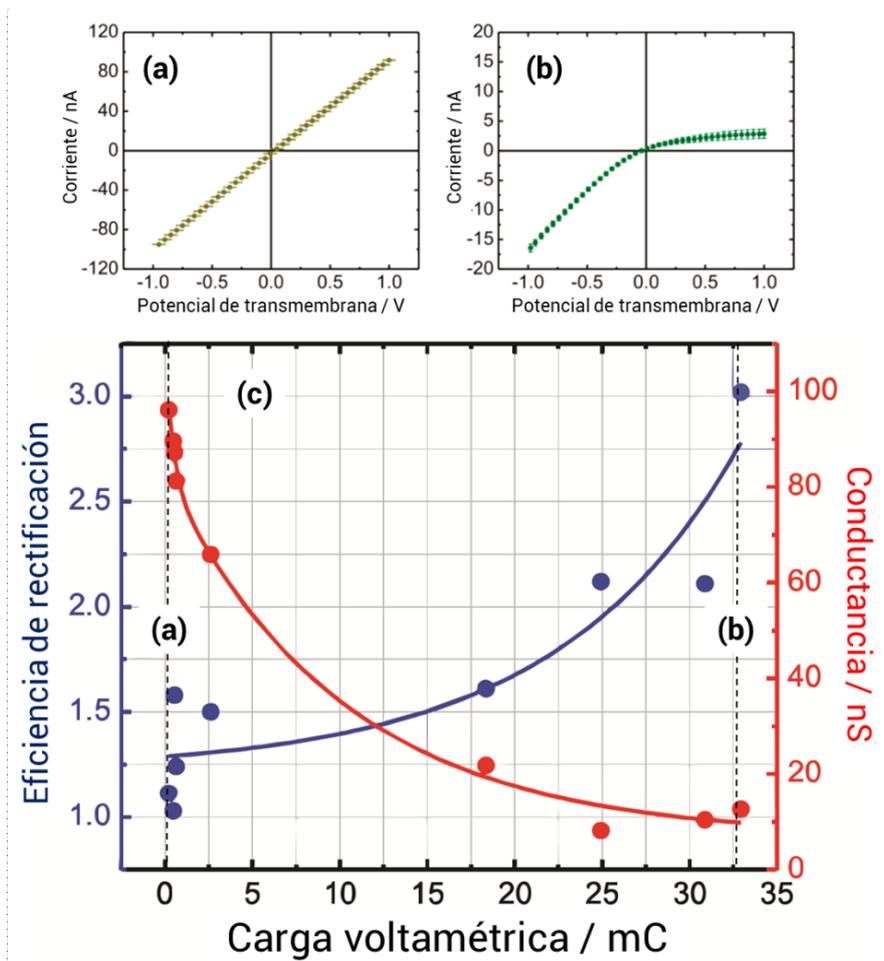


Figura 6.3. (a) Representación esquemática de la metalización de la membrana de policarbonato (PC) y de la polimerización electroquímica de anilina. (b) Esquema de la celda utilizada para la polimerización de Anilina donde se puede ver el detalle del anillo de cobre utilizado para hacer el contacto con la lámina metalizada y oficial de electrodo de trabajo (c) Ciclos 1 y 30 de la polimerización potenciodinámica de anilina, se puede observar la

aparición de los picos relacionados al polímero. (d) Grafico de la reducción del canal medido con microscopía electrónica de barrido en función del ciclo de polimerización. Los valores fueron obtenidos mediante el promedio de al menos 50 nanocanales.

Una indicación adicional del cierre de la punta del nanocanal viene dada por la aparición de un comportamiento no-ohmico en la conductancia transmembrana después de la polimerización (Figura 6.4). Puede observarse que existe una correlación inversa entre la eficiencia de rectificación - la cual aumenta durante la polimerización - y la conductancia, la cual disminuye (Figura 6.4). Esto quiere decir que la síntesis electroquímica de PANI en el lado de la punta del nanocanal permite la creación de un diodo nanofluídico rectificador a partir de un nanocanal no rectificador y por lo tanto representa un nuevo enfoque de “*top-down*” para obtener dispositivos nanofluídicos no óhmicos de manera similar a lo ocurrido con la síntesis de polidopamina presentada en el capítulo anterior. El cierre del canal fue también corroborado con imágenes SEM (Figura 6.3).

Figura 6.4. Curvas I-V antes (a) y después (b) de la polimerización de anilina. (c) Cambio en la conductancia iónica (curva roja) y en la eficiencia de rectificación (curva azul) del nanocanal en función de la carga voltamétrica de la película polimérica. Las medidas de curvas I-V se realizaron en KCl 0,1 M.



Otra similitud interesante con el caso de la polimerización de dopamina es el hallazgo de un valor límite no nulo para la conductancia del nanocanal el cual podría explicarse ya sea por un cambio en la termodinámica de la síntesis debido al creciente confinamiento de las especies que reaccionan, lo cual limitaría la polimerización en la parte interna de la punta, o alternativamente, a que el polímero podría efectivamente llenar el nanocanal en un estado hidratado el cual permitiría la conducción de iones debido a su conductancia iónica intrínseca.

6.1.4. Estudio del comportamiento del sistema en función del pH

La respuesta del nanocanal modificado con PANI al pH se estudió midiendo las curvas I-V en soluciones de KCl 0,1 M a diferentes valores de pH, liberando al mismo tiempo el nanocanal modificado con PANI del control electroquímico, es decir, sin aplicar un potencial eléctrico (potencial de circuito abierto). Los resultados para tres valores de pH distintos se presentan en la Figura 6.5. Como no se aplicó ningún potencial externo a la membrana modificada con PANI, el estado redox del polímero durante las medidas fue *esmeraldina* (E) ya que éste es el estado más estable en condiciones ambientales así como también el de mayor conductividad. El estado E se describe normalmente como una combinación de unidades de tipo aromático y quinoide (Figura 6.3, a). Debido a su particular estructura química y electrónica, los equilibrios de protonación de los grupos nitrogenados del esqueleto polimérico han sido difíciles de describir y no hay modelos disponibles que sean ampliamente aceptados. Sin embargo, se han realizado algunos esfuerzos para racionalizar el complejo comportamiento ácido-base del polímero en términos de valores de *pKa aparentes* ($pK_{a,app}$), los cuales dependen de las condiciones de síntesis²⁹ y de las medidas experimentales.³⁰ Además, como suele suceder con los polielectrolitos, las curvas de titulación de PANI son más anchas que las esperados para las sustancias simples.²⁵ Como consecuencia de esto, existe una amplia dispersión de los valores de *pKa* en la literatura que van desde 3 a 8 para el estado E.³¹ La Figura 6.5 muestra curvas de rectificación para diferentes valores de pH. El factor de rectificación (f_{rec}) se define como la relación entre las corrientes medidas a voltajes de la misma amplitud pero con polaridades diferentes (ver capítulo 2). A pH 12, el nanocanal no mostró rectificación iónica, lo que corresponde a una densidad de carga superficial neta baja. Disminuir el pH a 7 produce un aumento en la eficiencia de rectificación de un 500%, de un factor de rectificación de $\sim 1,5$ a ~ 7 , lo que evidencia un aumento en la carga superficial consecuente con un mayor grado de protonación del polímero. Una reducción adicional del

pH a 2 produce un factor de rectificación de ~ 52 , es decir un aumento ulterior del 700 % en la eficiencia de rectificación.

La pronunciada dependencia de la conductividad iónica del nanocanal al pH puede explicarse por el aumento en el grado de protonación de la PANI desde casi cero (a pH altos) hasta $\sim 100\%$ a valores bajos de pH. A pH 12, ni los grupos imina ni los grupos amina están cargados, por lo tanto, se espera una ausencia de carga neta en la superficie de los canales. El aumento del factor de rectificación a pH 7 y luego de nuevo a pH 2 es un indicativo claro de que se puede conseguir un estado de carga más alto en la superficie de los nanocales modificados con PANI mediante la protonación sucesiva de grupos iminas y aminas.

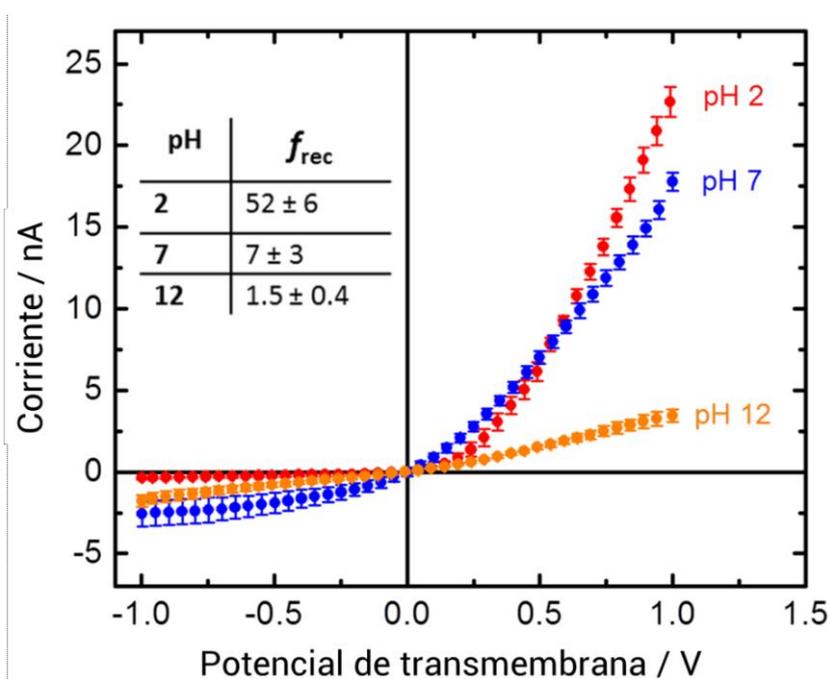


Figura 6.5. Curvas I-V de un nanocanal modificado con PANI a diferentes pH. La tabla ubicada en el gráfico muestra los factores de corrección correspondientes a cada pH. Las medidas de curvas I-V se realizaron en KCl 0,1 M.

6.1.5. Estudio del comportamiento del sistema en función del potencial electroquímico

A continuación, evaluamos la dependencia de las propiedades de transporte del nanocanal a diferentes potenciales electroquímicos o equivalentemente, a diferentes estados de oxidación de PANI. Para ello, un nanocanal modificado con PANI se sometió a diferentes potenciales electroquímicos aplicados durante 2 min cada vez. Este procedimiento se realizó a pH 1 debido a la mayor estabilidad de la PANI hacia la conversión electroquímica en condiciones

ácidas. El tiempo de 2 min fue seleccionado para asegurar una conversión completa de la PANI.³² Después de la aplicación de cada potencial, se midieron las curvas I-V para corroborar los cambios en el comportamiento iónico del nanocanal (Figura 6.6). Como se muestra en la Figura 6.6, la modulación del potencial electroquímico de la membrana modificada por PANI alteró las características de las curvas I-V como consecuencia del cambio en el grado de oxidación del polímero conductor. La ventana de potencial electroquímico en la que trabajamos nos permitió observar los tres estados de oxidación de la PANI (Figura 6.6). El pH a lo largo de todas las medidas de curvas I-V se ajustó a 7, ya que a este pH la diferencia en el equilibrio ácido-base entre cada estado de oxidación era más notable.

Los cambios en el comportamiento de la rectificación de la corriente iónica con el potencial aplicado pueden explicarse teniendo en cuenta el acoplamiento que existe en esta familia de polímeros conductores entre el estado redox y el equilibrio de protonación. A -200 mV la PANI se redujo completamente a leucoesmeraldina (LE).²⁶ En esta forma reducida (LE), la PANI está compuesta principalmente de unidades bencénicas (aminas). La unidad ácido-base repetitiva de la LE se asemeja al de la *N,N*-difenilamina²⁹ de la cual se ha informado recientemente un *pKa* experimental de aproximadamente 1.^{26,31} Por lo tanto, la LE tiene un grado de protonación relativamente bajo a pH 7 lo que experimentalmente se tradujo en una superficie escasamente cargada y una mayor linealidad en la respuesta I-V. A medida que aumentó el potencial aplicado, las características de transporte iónico permanecieron prácticamente constantes hasta que se alcanzó un valor de potencial de aproximadamente 200 mV. A este potencial se produjo la transición de LE a E.²⁶ Como se mencionó anteriormente, el *pKa_{app}* de la forma conductora es más alto que el de LE, produciéndose un grado de protonación comparativamente más elevado. La consecuencia experimental en este caso fue un aumento en el factor de rectificación hasta un valor de ~8 que fue aproximadamente el doble del factor a potenciales por debajo de 200 mV.

Prosiguiendo con el incremento del potencial, la rectificación del nanocanal aumentó a ~ 17 cuando el potencial alcanzó el valor necesarios para la transición de E al estado PG (~700 mV).^{17,24,33} Como este estado tiene una composición relativa mayor de grupos tipo imina frente a grupos amina, se esperaba un grado de protonación aún más alto. El *pKa* de este estado no se ha medido con exactitud, pero se supone que es superior a 8. Por lo tanto, se supone que la PANI en el estado PG se encuentra casi completamente protonada a pH 7.

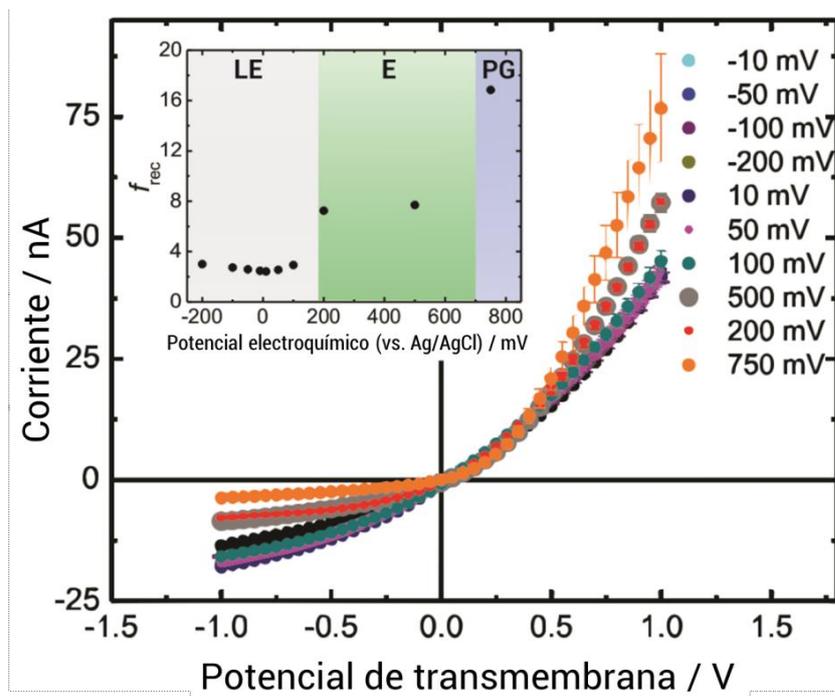


Figura 6.6. Curvas I - V para un nanocanal modificado con PANI para diferentes potenciales (electroquímicos) aplicados, a pH 7. Recuadro: Factores de rectificación en función del potencial electroquímico aplicado. Se indican los tres estados redox de PANI: Leucoesmeraldina (LE), Esmeraldina (E) y Pernigranilina (PG). Los valores de potencial electroquímico pre-aplicados durante 2 min se refieren al electrodo Ag / AgCl / 3 M NaCl. Las medidas de I - V se realizaron en KCl 0,1 M.

Para probar la reversibilidad del sistema, se aplicaron dos potenciales extremos sucesivamente a la lámina de Au/PC modificada con PANI (a pH 1). Nuevamente después de la aplicación de cada potencial, la solución se reemplazó por KCl 0,1 M ajustado a pH 7 y para medir la curvas I - V . Con el potencial inferior (-200 mV), el polímero se encuentra en el estado LE, que se encuentra prácticamente desprotonado, mientras que para el potencial más alto (750 mV) el polímero se encuentra en la forma PG, altamente protonada a pH 7. Mediante la conmutación del potencial aplicado entre -200 mV y 750 mV, la PANI alterna su grado de protonación entre dos extremos promovidos por el potencial electroquímico aplicado, lo cual se correlaciona con una alternancia en la carga superficial del nanocanal (Figura 6.7). Esta alternancia de la carga superficial neta induce un cambio pronunciado en las propiedades de transporte del nanocanal (transducción *iontrónica* del estímulo) convirtiendo el comportamiento del nanocanal de un tipo prácticamente no rectificador a altamente rectificador como se muestra por los cambios en los factores de rectificación representados en

la Figura 6.6. Es importante notar que el potencial electroquímico aplicado tiene un efecto más fuerte sobre el comportamiento del estado de menor conductividad (potenciales transmembrana negativos), produciendo así un efecto de *gating* que es completamente reversible, esto es un comportamiento tipo *transistor de efecto de campo nanofluídico*, en el cual la conductancia del canal puede ser modificada por un potencial de *gating*, que modula el estado de carga de la molécula responsiva (PANI), ante un potencial transmembrana determinado. Estos experimentos demuestran claramente que la modificación con PANI convierte el nanocanal en un dispositivo nanofluídico sintonizable en el que el potencial electroquímico aplicado modifica la rectificación iónica de acuerdo con las conversiones redox que se producen en la película de PANI.

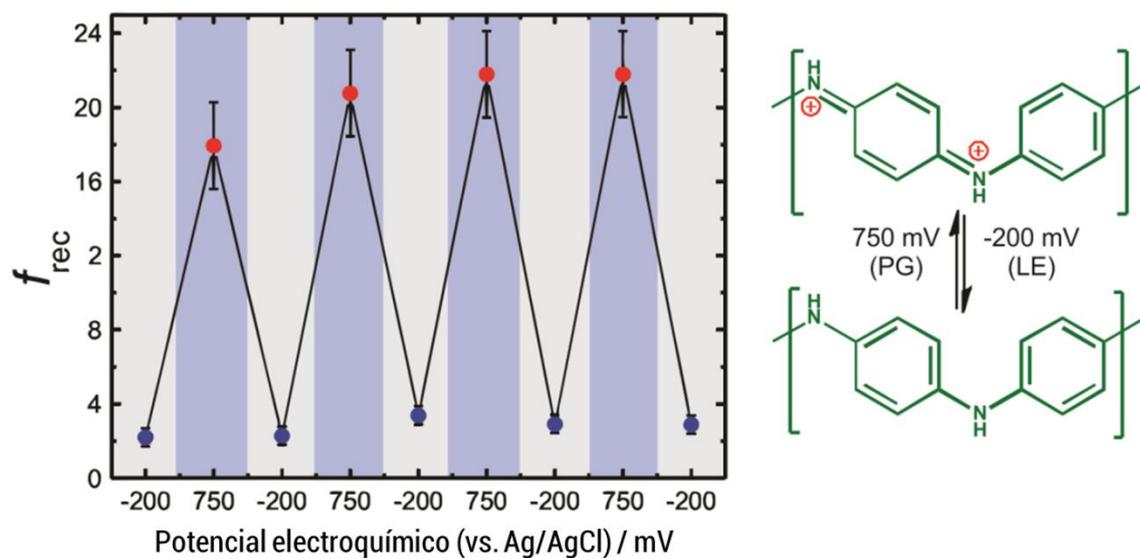


Figura 6.7. Ensayo de reversibilidad para el cambio en la rectificación de la corriente iónica en función del potencial electroquímico aplicado, medido a pH 7. Los valores de los potenciales electroquímicos pre-aplicados durante 2 min se refieren al electrodo Ag / AgCl / 3 M NaCl. Las medidas se realizaron en KCl 0,1 M.

6.1.6. Conclusiones

En esta sección se mostró la integración electroquímica del polímero conductor Polianilina (PANI) en nanocanales asimétricos para obtener diodos nanofluídicos de respuesta dual y electroquímicamente direccionables los cuales mostraron propiedades de rectificación reversibles. La evidencia experimental aquí presentada demostró el uso de la conmutación electroquímica de las unidades monoméricas de PANI, persiguiendo el objetivo de obtener un ajuste fino del transporte iónico mediante el preestablecimiento de un potencial

electroquímico determinado. Este sistema permitió un buen grado de control sobre las propiedades de transporte iónico del sistema en función del pH y el potencial. La magnitud de las cargas generadas electroquímicamente en la superficie que se derivaron del acoplamiento entre los equilibrios de protonación y del potencial redox de la PANI fueron las responsables de controlar el transporte iónico transmembrana y las propiedades de rectificación del nanodispositivo. Se espera de este modo que la combinación de polímeros conductores y nanocanales asimétricos pueda conducir a una gran variedad de nuevos diseños de diodos nanofluídicos con aplicaciones en diferentes áreas tecnológicas, tales como biosensado, suministro controlado de fármacos o conversión de energía. En la siguiente sección mostraremos un ejemplo de la variedad de sistemas que pueden obtenerse siguiendo este protocolo de fabricación con derivados de PANI u otros polímeros conductores.

6.2. Regímenes de rectificación en diodos nanofluídicos modulados por efectores químicos

6.2.1. Introducción

Como se discutió en la sección anterior, actualmente existe un gran interés en el desarrollo de dispositivos nanofluídicos que permitan regular el transporte de especies iónicas con estímulos controlados experimentalmente como el pH, la temperatura, la luz o la presencia de ciertas moléculas en solución.³⁴⁻³⁶ Para lograr este objetivo, se necesitan técnicas de fabricación nanofluídicas que combinen diferentes tipos de modificaciones superficiales, desde la química orgánica hasta métodos físicos, como la deposición atómica de capas (*atomic layer deposition*) o el *sputtering* de metales.³⁷⁻³⁸ La implementación de varias técnicas de modificación de superficies permite incluir diferentes grupos funcionales dentro de las estructuras nanofluídicas con el objetivo de conferirles un comportamiento particular. Entre la gran variedad de técnicas de fabricación de nanocanales disponibles en la literatura, la tecnología de *ion-track-etching* es una de las más utilizadas por varias razones. La razón principal es que la combinación de irradiación iónica y *etching* químico permite la fabricación de nanocanales con geometrías (cilíndrica, cónica, bicónica) y tamaños controlados. Esto, a su vez, confiere a los canales funciones *iontrónicas* únicas, ya sea como rectificadores, diodos o transistores de efectos de campo.³⁹⁻⁴²

En particular, el comportamiento rectificador (diodo) de los nanocanales cónicos se ha utilizado para transducir estímulos específicos en solución en señales de corriente transmembrana bajo el principio de cambiar la magnitud y el signo de las cargas en la superficie de los canales. Un cambio en el signo de la carga superficial genera un cambio concomitante en el tipo de ion excluido de los canales y por lo tanto, controla el transporte de cationes y aniones selectivamente.⁴³ Por lo tanto, la mayor parte del trabajo realizado en el campo de la nanofluídica para modificar nanocanales consiste en incorporar moléculas que cambian la magnitud y tipo de carga superficial bajo estímulos específicos. Más aun, existe un gran interés en desarrollar sistemas que respondan a múltiples estímulos que permitan realizar operaciones nanofluídicas más complejas mediante la aplicación de dos o más estímulos de forma independiente o coordinada. Existen ejemplos de este tipo de sistemas que responden al pH y la luz o al pH y la temperatura.⁴⁴⁻⁴⁵ En este sentido, en la sección anterior hemos mostrado un ejemplo de un sistema que responde simultáneamente al pH y al potencial eléctrico. La presencia de PANI nos permitió controlar selectivamente el transporte de iones mediante la aplicación de diferentes potenciales electroquímicos a la membrana modificada, o mediante el pH de la solución.

El siguiente paso hacia la incorporación de dispositivos nanofluídicos en circuitos moleculares integrados con aplicación en ciencias biológicas exige el desarrollo de sistemas que puedan controlarse mediante la presencia de ciertas moléculas de interés en solución. Este es un concepto emergente que surge de la biomimética, ya que en las células sus funciones son reguladas mediante moléculas (ligandos) que permiten el paso selectivo de iones y moléculas a través de la membrana celular.

En esta sección, mostraremos el desarrollo de un nanocanal responsivo a pH cuyo equilibrio ácido-base se puede modular por la presencia de azúcares en solución. El procedimiento de fabricación incluyó la síntesis electroquímica del derivado de polianilina (PANI) *ácido poly(3-aminofenilborónico)* (APAB) en nanocanales cónicos de policarbonato metalizados con oro. El APAB tiene un grupo boronato en cada monómero que le confiere una carga negativa que compite con las cargas positivas de los grupos de nitrógeno de la cadena principal del polímero, lo que permite la inversión de carga alrededor del punto isoeléctrico del APAB, un fenómeno que no pudo observarse con los nanocanales modificados con PANI debido a la estructura química de este polímero. Además, debido a la tendencia de los boronatos a formar complejos con dioles con constantes de acidez diferentes que la forma

nativa, es posible modular la capacidad de respuesta al pH regulando la concentración de azúcares en solución. En esta serie de experimentos utilizamos fructosa como caso de estudio.

6.2.2. Fabricación de nanocanales modificados con PAPAB

Los nanocanales cónicos fueron fabricados utilizando el mismo protocolo que para la sección anterior, y por lo tanto exhibieron un diámetro de base (D) de $\sim 4 \mu\text{m}$ y un diámetro de punta (d) de $\sim 60 \text{ nm}$ (Figura 6.2). Como era de esperar para nanocanales con puntas tan grandes, el tipo de transporte iónico exhibido fue simétrico (óhmico), sin ninguna rectificación. Numerosas publicaciones demostraron que para las geometrías cónicas, se requieren diámetros de punta inferiores a 20-30 nm para que exista rectificación de corriente iónica. Solo para geometrías de asimetrías exageradas hacia la punta (por ejemplo, las geometrías parabólicas o tipo bala) el diámetro mínimo para observar la rectificación puede ser mayor que estos valores (30-50 nm).⁴⁶⁻⁴⁹

Una vez que se midieron las características de I-V de los nanocanales metalizados por *sputtering*, el ácido *poli(4-aminofenilborónico)* (PAPAB) fue sintetizado electroquímicamente sobre la superficie dorada de los nanocanales. El PAPAB se depositó potenciodinámicamente realizando un total de 30 ciclos entre -100 mV y 900 mV V a una velocidad de 100 mV/s usando una solución de *ácido 3-amino-fenilborónico* 0.05 M (APAB) en KF 0.2 M y HCl 0.5 M (Figura 6.8 (a))⁵⁰

Con el objetivo de aproximar el espesor de la capa de PAPAB sintetizada electroquímicamente sobre las láminas que contienen nanocanales, se realizaron medidas de resonancia de plasmón superficial (*SPR*) durante la síntesis electroquímica de PAPAB en un electrodo de oro plano en condiciones idénticas al crecimiento electroquímico de PAPAB en los nanocanales (Figura 6.8 (b)). Los resultados revelaron una tasa de crecimiento de 1,5 nm/ciclo. Por lo tanto, estimamos que durante la síntesis en los nanocanales dorados se depositó una capa de PAPAB de 45 nm de espesor.

La naturaleza química del material electrodepositado fue corroborada por espectroscopia Raman (Figura 6.8 (c)). Las bandas más intensas aparecen en el rango de $1000\text{-}1700 \text{ cm}^{-1}$ y el espectro está dominado por las bandas bien establecidas de los polímeros derivados de PANI.^{51,52} Los modos de flexión en el plano de los enlaces C-H aparecen alrededor de 1160,⁵³ Mientras las bandas asignadas al estiramiento del enlace C-N aparecen alrededor de 1310-

1400 cm^{-1} (catión radical) y 1470-1490 cm^{-1} (diimina quinona).⁵⁴ El estiramiento del enlace C=C en las unidades quinoides aparece en el rango de 1570-1595 cm^{-1} cuya presencia está relacionada con la forma conductora del polímero.^{55,56} Se espera que las bandas características debidas a la presencia de los grupos boronato para el estiramiento del enlace B-F y para los modos de flexión de los B-OH aparezcan en 900 y 1100 cm^{-1} , respectivamente, mientras que para el modo de estiramiento del enlace B-O se espera una banda en los 1330 cm^{-1} .⁵⁷⁻⁶¹ Debido a que la posición de estos picos se encuentra dentro de la región de la estructura de PANI la cual tiene una alta intensidad de señal se comparó la señal producida por el PAPAB y por el derivado de PANI poli(3-aminobencilamina) el cual es similar al PAPAB pero sin los grupos boronato.⁶² Las flechas en la figura 6.8 muestran la presencia los grupos característicos del APAB. Las bandas a 900 y a 1100 cm^{-1} son claramente visibles, mientras que la banda predicha a 1300 cm^{-1} aparece como un hombro en la intensa banda tipo PANI en esta región. Después de incubar la muestra por una hora en fructuosa 100 mM, este hombro asignado al estiramiento B-O aumentó debido a la formación del éster cíclico con el azúcar.⁵⁷⁻⁶¹ También el aumento de la señal alrededor de 1200 cm^{-1} puede ser debido a los modos de estiramiento de C-O en el azúcar, los cuales han sido reportados a 1225 cm^{-1} .⁵⁹ La tabla 1 muestra la asignación de las bandas Raman asignadas al PAPAB y a los grupos boronato.

Se realizaron medidas de curvas I-V utilizando una solución de KCl 0,1 M, antes y después de la polimerización de PAPAB. Estas curvas mostraron que hubo una reducción del 50 % de la conductancia iónica inicial del nanocanal (de ~ 44 nS a 22 nS). Además, se observó un gran incremento en la eficiencia de rectificación (f_{rec}) (Figura 6.8 (d)). En este caso, se observó un cambio en el f_{rec} de 1,4 (sin rectificación) a 9 (alta rectificación). Esto era esperable ya que, al igual que con el caso de la polianilina, debido al hecho de que el APAB se sintetizó solo en un lado de la membrana, se espera el desarrollo de una fuerte asimetría en la distribución longitudinal de la carga eléctrica de los nanocanales y, por lo tanto, un incremento de la rectificación de las curvas I-V.

$\Delta\nu / \text{cm}^{-1}$	Asignación
Bandas asignadas en este trabajo a la estructura tipo-PANI	
813	C-H flexión fuera del plano de las unidades bencénicas p-sustituidas. ^{1,2}
878	C-H flexión fuera del plano de las unidades bencénicas 1,2,4 -sustituidas. ²
900	C-H flexión en el plano. ²
1164	C-H flexión de la unidades aromáticas; ^{3,4} estiramiento de Q=NH ⁺ -B; ² estiramiento de N=Q=N. ⁵
1207	Estiramiento de C=N=C. ⁵
1239	Estiramiento asimétrico en el plano de C-N. ^{1,2,5}
1370	Estiramiento radical C-N ⁺ ; ³ estiramiento de C-N. ^{1,2}
1470	Estiramiento de C-N. ¹
1500	Estiramiento de C=NH ⁺ (ES), C=N (EB); ^{3,4} Estiramiento de N-B-N; ² Estiramiento de Q=N-B. ¹
1596	Estiramiento de N=Q=N. ¹⁻⁵
Bandas reportadas para los grupos boronato	
830	Estiramiento simétrico de BO. ⁶
888	Estiramiento de B-F. ⁷⁻⁹
986	Flexión de B-OH. ^{7,9,10}
1115	Flexión de B-OH. ^{7,9,10}
1330	Estiramiento asimétrico de B-O. ^{7-9,11,10}
Bandas reportadas para la unión de azúcares	
1063	Estiramiento de C-O ⁸ y modos de flexión de la fructosa. ⁹
1225	Estiramiento asimétrico C-O de la azúcar ⁹

Tabla 1. Asignaciones de las bandas Raman principales para la capa de PAPAB sintetizada electroquímicamente y las bandas para los grupos boronatos.

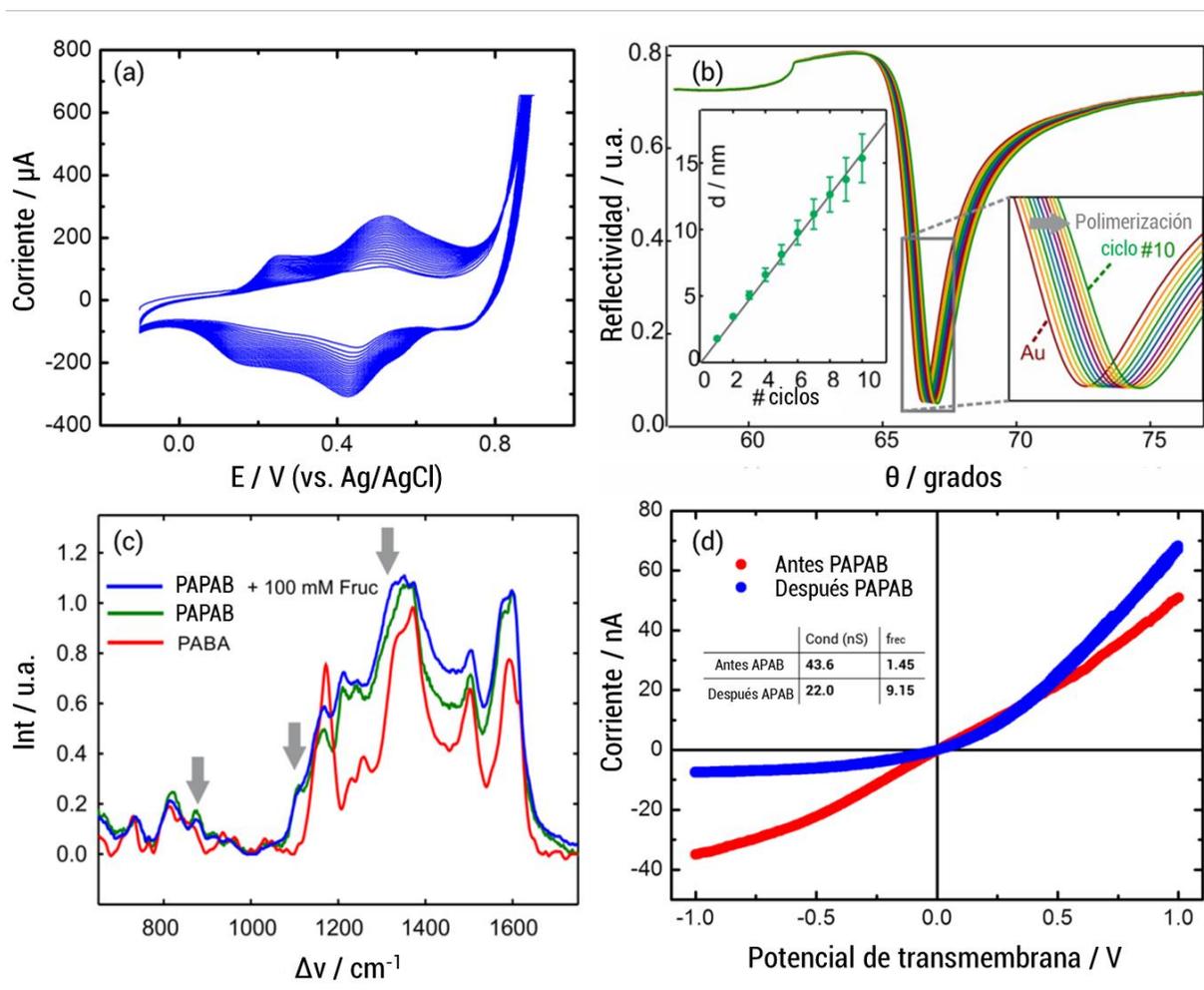


Figura 6.8. (a) Voltamperometría cíclica de la electropolimerización de APAB sobre un nanocanal cónico metalizado de policarbonato. (b) Curvas de exploración angular SPR para diferentes números de ciclos voltamétricos durante la electrosíntesis de una película de APAB en un sustrato plano de Au. En el recuadro se presentan los valores de espesor determinados por el ajuste de las curvas. Mediante ajuste lineal de la curva se obtuvo una tasa de crecimiento de 1,51 nm por ciclo. (c) Espectros Raman corregidos del fondo de las películas APAB electrosintetizadas en Au. Se añadió el espectro de una película de poli(3-aminobencilamina) para comparación. (d) Curvas I-V para un nanocanal de PC antes y después de la polimerización de APAB. Recuadro: Valores de conductancia iónica y factores de rectificación para el nanocanal antes y después de la modificación.

6.2.3. Responsividad al pH de los nanocanales modificados con PAPAB. *Titulación nanofluídica*

El PAPAB es un polímero anfotérico que se carga positiva o negativamente a pH inferiores o superiores a su punto isoeléctrico (PI), respectivamente (esquema en la Figura 6.9).⁶³ Las cargas positivas provienen de las aminas secundarias presentes en la cadena principal del polímero, mientras que las cargas negativas surgen de los grupos boronato pendientes. La presencia de estos grupos protonables da como resultado una dependencia al pH de la carga superficial de nanocanales modificados con PAPAB. Debido a que la limitación en la precisión de la regulación de la rectificación de la corriente iónica está relacionada con la capacidad de modular la carga superficial de los nanocanales, macromoléculas protonables tales como el PAPAB, que presentan un equilibrio ácido-base continuo, permiten obtener un ajuste fino de las características de rectificación mediante pequeños cambios del pH.

La figura 6.9 muestra las curvas I-V obtenidas para un nanocanal modificado con PAPAB a tres valores de pH diferentes. Se pueden observar rectificaciones positivas (selectividad aniónica), neutras (no hay selectividad) y negativas (selectividad catiónica) para pH 1, 5 y 11, respectivamente. La rectificación positiva se debe a la presencia de cargas positivas en los grupos de nitrógeno (aminas secundarias o imina) del polímero PAPAB. Mediante el aumento del pH las aminas presentes en el PAPAB comenzaron a desprotonarse a la vez que se produjo la formación de complejos de los grupos boronato con iones hidroxilo. El primer efecto observable es la neutralización de las cargas positivas de las aminas llevando a un estado no rectificador (curvas I-V lineales). Incrementos adicionales del pH produjeron una reversión de la carga a valores negativos con la consiguiente reaparición de la rectificación, pero en la dirección opuesta. El hecho de que se haya podido observar una reversión de la rectificación presenta una ventaja con respecto a los experimentos presentados en la sección anterior usando polianilina (PANI) como molécula funcional, en cuyo caso no fue posible lograr una reversión de la carga superficial debido al hecho de que la polianilina no tiene grupos funcionales negativos.

Las curvas I-V se midieron en KCl 0,1 M sin uso de buffer con adiciones gota a gota de HCl y NaOH 0.5 M para ajustar el pH a los diferentes valores. Para estudiar los cambios en la rectificación relacionados con el pH, se calcularon los f_{rec} como se los definió en el capítulo 3. Como se explicó anteriormente la definición del f_{rec} se realizó de tal manera de poder relacionar un f_{rec} positivo con el PAPAB protonado (carga positiva) y un f_{rec} negativo con el

APAB coordinado con OH (carga negativa) (Figura 10). Mediante la medición de curvas I-V a diferentes pH, se pudieron obtener curvas de titulación aparentes para un nanocanal modificado con APAB. Llamamos a estos experimentos “*titulación nanofluídica*” debido a su similitud fundamental con la técnica de titulación por potencial zeta (ζ), en el sentido de que el f_{rec} evoluciona de manera similar al cambio de la carga superficial (potencial ζ , Figura 2.2) del nanocanal.^{64,65} Este método nanofluídico no es necesariamente específico de este sistema y podría generalizarse y ser utilizado para un gran número de moléculas como proteínas, polielectrolitos o tensioactivos, entre otros.⁶⁶

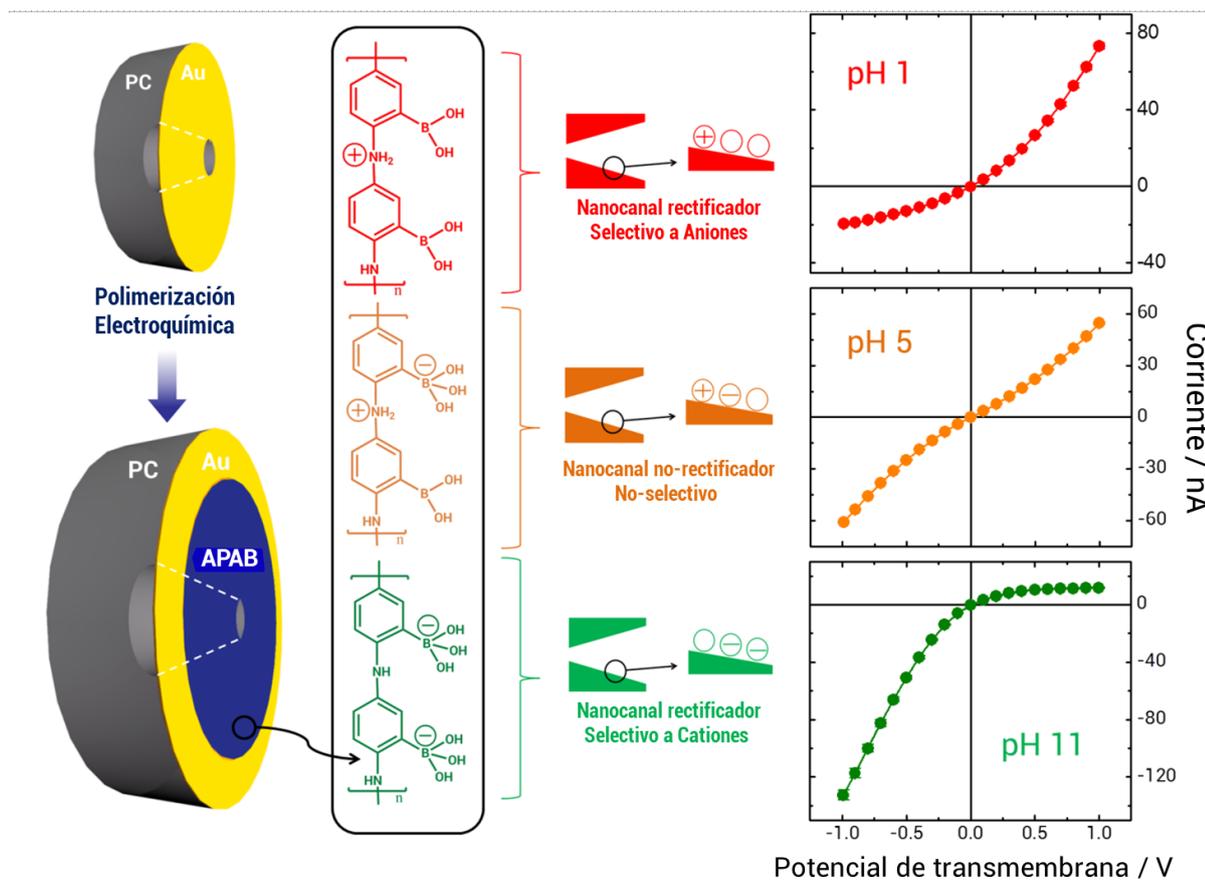


Figura 6.9. Esquema que describe la funcionalización de un nanocanal de policarbonato metalizado y el estado de carga del canal. Los esquemas están relacionados con las medidas de corriente-voltaje para pH 1 (rojo), 6 (naranja) y 11 (verde) realizadas en solución de KCl 0,1 M.

La capacidad de los ácidos borónicos para unirse a 1,2 o 1,3 dioles para formar ésteres cíclicos de cinco o seis miembros está bien documentada en la literatura.⁶⁷ Además, se sabe que la unión de boronatos con *cis*-dioles, como los presentes en los monosacáridos, es más

fuerte que para dioles acíclicos o *trans*-dioles. También se conoce, que los complejos formados entre boronatos y azúcares tienen un pK_a diferente al boronato mismo; por lo tanto, la unión de los monosacáridos se puede detectar como un cambio en el grado de protonación causado por un desplazamiento de pK_a . En este sentido, existen muchos ejemplos de sensores potenciométricos de azúcares que hacen uso de esta propiedad de los boronatos presentes en PAPAB.^{68,69} Sin embargo, aunque este cambio en el comportamiento ácido-base del PAPAB debido a la unión de este con azúcares es reconocida por la comunidad, la modificación del estado de carga del polímero nunca se ha determinado experimentalmente.

6.2.4. Uso de efectores químicos para modular el equilibrio de cargas de un nanocanal

Para identificar el cambio producido en el equilibrio ácido-base del PAPAB por los azúcares y consecuentemente, en el equilibrio de cargas sobre las paredes de los nanocanales modificados con este polímero, se obtuvieron curvas de titulación nanofluídica usando diferentes concentraciones de azúcar para un rango de pH de 1 a 11. De acuerdo a nuestro conocimiento, esta es la primera vez que los cambios del estado de carga de PAPAB, siempre asumidos como consecuencia de un putativo desplazamiento pK_a , son monitoreados directamente. La fructosa se usó como caso de estudio porque se demostró que tiene una unión más fuerte al boronato que otros monosacáridos.⁶⁹ Las curvas de titulación se realizaron midiendo las características de corriente-voltaje en ausencia de fructosa, así como con dos concentraciones distintas de fructosa, 10 mM y 100 mM (Figura 6.10).

Las curvas de titulación muestran la potencialidad del uso de azúcares como efectores químicos para realizar operaciones nanofluídicas complejas, como por ejemplo la conmutación del tipo de selectividad, *cación-anión* o el *gating* del transporte de iones. Al usar fructosa, como un monosacárido representativo, se pueden producir cambios en el equilibrio ácido-base local dentro del nanocanal que en última instancia desencadena diferentes regímenes nanofluídicos, como explicaremos a continuación.

Como se puede observar en la figura 6.10, la fructosa actúa como efector para casi todo el rango de pH. Sin embargo, la región más interesante para el estudio del control ejercido por la fructosa sobre las operaciones nanofluídicas está situada dentro del rango entre pH 1 y 8. Se observaron cuatro regiones diferentes del efecto que producen los azúcares a diferentes pH.

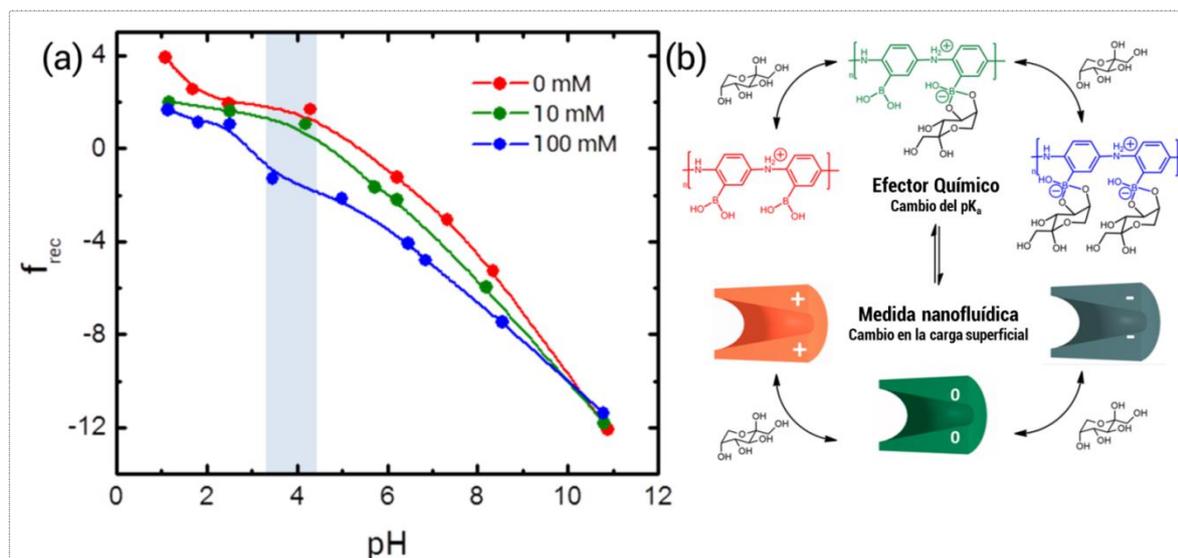


Figura 6.10. Factor de rectificación versus pH para diferentes concentraciones de fructosa, 0 mM (rojo), 10 mM (verde) y 100 mM (azul). La sombra azul indica la posición de la región de inversión, la región donde la fructosa produce una reversión de la rectificación a un pH fijo. (b) Esquema que representa la relación entre la complejación de azúcares con el APAB con el cambio de carga superficial en los nanocanales modificados para diferentes concentraciones de fructosa.

El efecto de la concentración de azúcar en el comportamiento de rectificación se presenta en la figura 6.11 para el caso de pH 7. El valor del factor de rectificación aumentó en función de la concentración de azúcar que finalmente alcanza una meseta asintótica reflejando una respuesta típica de unión simple (tipo Langmuir).^{70,71} Los valores de f_{rec} prácticamente no cambiaron en el rango de concentraciones comprendido entre 60 mM a 100 mM de fructosa, lo que indicó que a esta concentración los sitios de unión están prácticamente saturados. Utilizando un ajuste mediante una isoterma tipo Langmuir se pudo observar que para una concentración de 100 mM se obtiene una cobertura superficial de casi un % 80. Debido a esto, para inspeccionar el efecto de los estados *libre de azúcar* y *unido a azúcares* en el comportamiento nanofluídico del nanocanal se midieron las curvas I-V a 0 mM (sin formación de complejos) y 100 mM (~% 80 de los grupos complejados) de fructosa dentro del rango de pH de 1 a 11.

La primera región, se ubicó a pH ~ 1-2 y por lo tanto se denominó *región ácida*. Esta región se caracterizó por una transición entre un estado donde los nanocanales se encontraban cargados positivamente (selectivo a aniones) a un estado no cargado o neutro (no selectivo)

(Figura 6.12 (a)). En esta región, el efecto de agregar azúcar a la solución fue la disminución de la corriente a voltajes positivos que correspondió al flujo de aniones desde la punta hasta la base de los nanocanales cónicos y de los cationes desde la base hasta la punta. Se produjo una disminución en la eficiencia de rectificación (pérdida de selectividad) desde un comportamiento tipo diodo a un comportamiento óhmico (Figura 6.12 (e)).

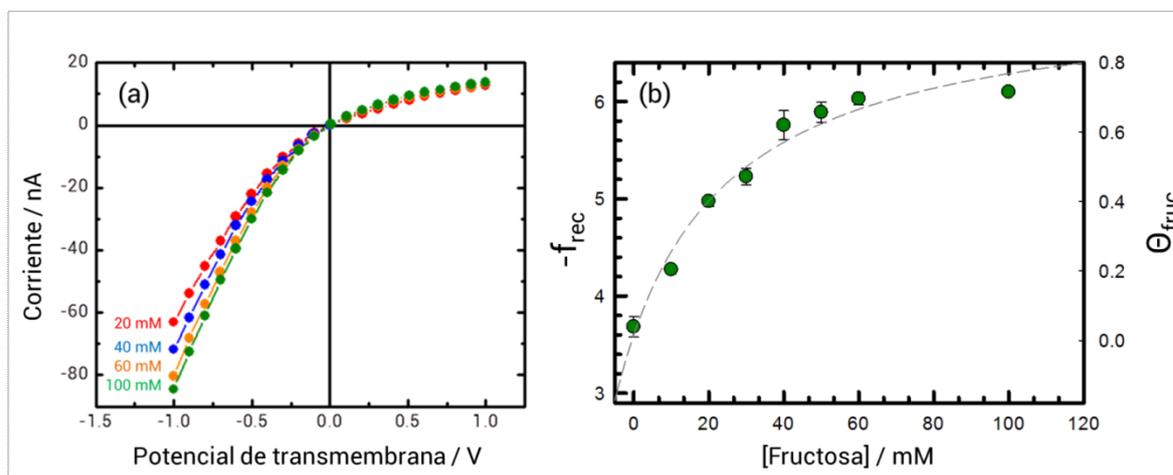


Figura 6.11. (a) Ejemplos de curvas I - V medidas a pH 7 para diferentes concentraciones de fructosa entre 0 y 100 mM. (b) $-f_{rec}$ (derecha) y cobertura superficial (izquierda) en función de la concentración de fructosa. Se presenta el ajuste de los datos experimentales mediante una isoterma de tipo Langmuir como línea discontinua. El f_{rec} se multiplicó por -1 para el cálculo de la isoterma.

La segunda región, también estuvo ubicada en una ventana estrecha de pH , en este caso entre ~ 3 y ~ 4.5 . Utilizando un criterio más funcional, esta región se denominará *región de inversión* y se pudo observar como una sombra en la Figura 10. La llamamos así porque dentro de este rango de pH , la presencia de azúcar en la solución produjo una “reversión” de la carga superficial del nanocanal, cambiando el sistema de selectivo a aniones a selectivo a cationes. La respuesta nanofluidica de este efecto fue un cambio en la dirección de la rectificación del nanocanal como se ve en la Figura 12 (b) y (e).

La tercera región, llamada *región neutra*, ubicada a pH 6-7, representa la operación nanofluidica opuesta a la de la región ácida. En este caso, la presencia de azúcares en la solución desencadenó la aparición de cargas superficiales negativas, mejorando así la rectificación de la corriente iónica al disminuir selectivamente la corriente iónica en potenciales positivos (Figura 6.12 (c) y (e)). Debido a esto, el nanocanal se volvió selectivo a cationes.

La última región, denominada *región alcalina*, se encontró entre pH 7 y 11. Dentro de esta región, la presencia de azúcares desplazó el equilibrio hacia la formación del complejo azúcar-boronato, haciendo que la superficie del canal cargado negativamente sea aún más negativa. La respuesta nanofluídica de este efecto fue el aumento tanto de las corrientes iónicas a potenciales negativos como de los factores de rectificación (Figura 6.12 (d) y (e)).

El efecto de los azúcares en la región alcalina disminuyó para pH más altos, volviéndose insignificante a pH mayores a 9. Esta característica era de esperarse ya que los valores altos de pH están muy por encima del pK_a de los grupos boronato del polímero, tanto para el estado sin complejar como para el estado complejado con azúcares. Por lo tanto, la magnitud de cargas negativas (y simultáneamente la rectificación) está en su valor máximo a un $pH > 9$ independientemente de la concentración de azúcares.

Los resultados anteriormente mencionados muestran que hay una amplia gama de operaciones nanofluídicas que se pueden realizar mediante el uso de combinaciones de pH y concentraciones de azúcar en solución dentro de un rango de pH de 1-8. El cambio del equilibrio ácido-base mediante la formación de complejos de azúcar-boronato permiten realizar la activación y desactivación de la rectificación en las regiones *ácida* y *neutra*, mientras que permite invertir la dirección de la rectificación de corriente iónica en la *región de inversión* o aumentar la corriente selectiva a cationes en la *región alcalina* (Figura 6.12 (e)).

Debido al hecho de que los nanocanales modificados con PAPAB responden a la presencia de fructosa en solución, se vuelve natural pensar en este sistema como un potencial sensor de azúcares. Sin embargo, para desarrollar un biosensor basado en estos procedimientos, es necesario realizar mayores esfuerzos para mejorar la sensibilidad del dispositivo y mejorar los límites de detección.

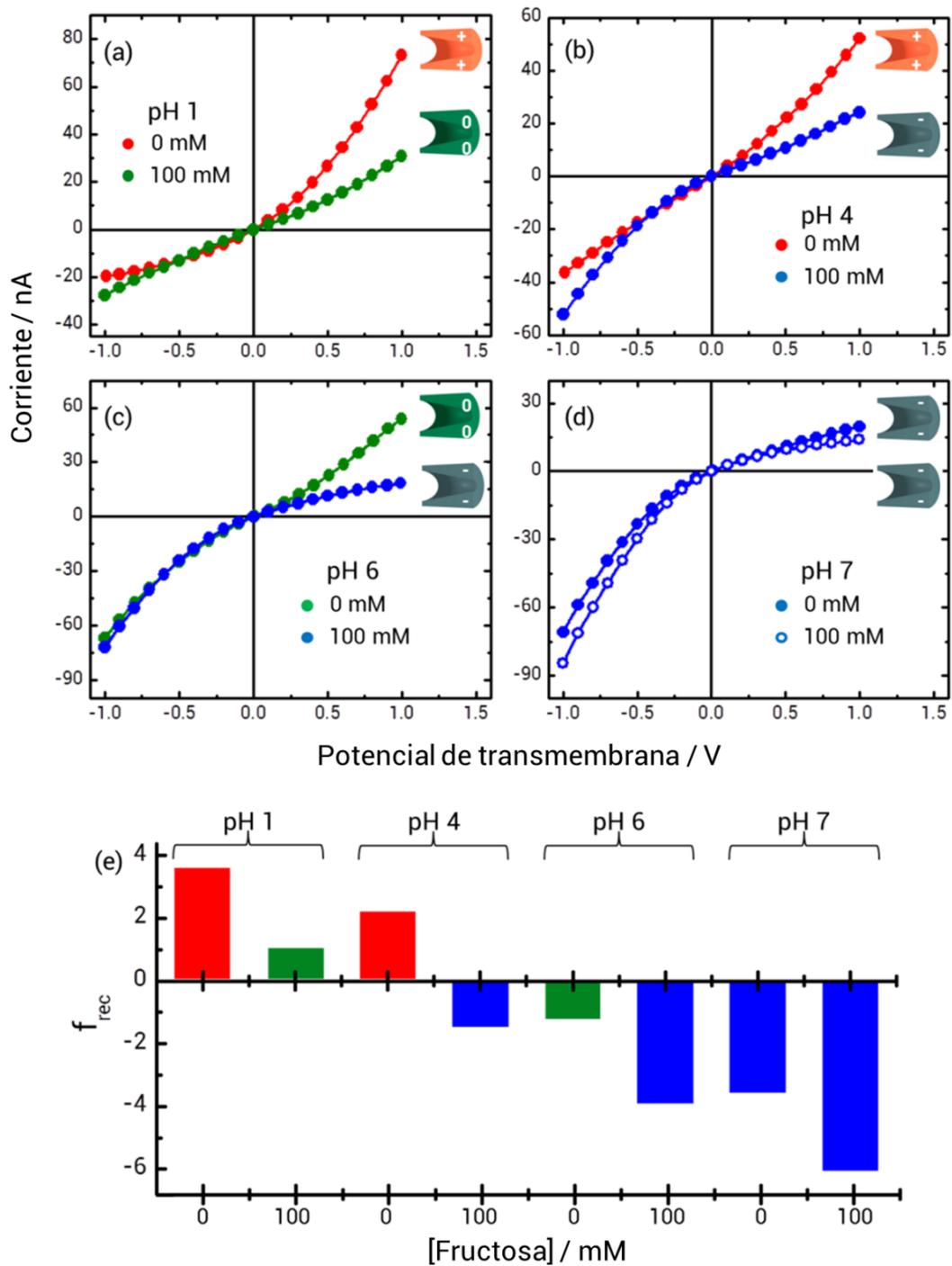


Figura 6.12. Curvas I-V para un nanocanal modificado con APAB medidas en cada una de las cuatro regiones dentro del rango efector de pH (1-8) en ausencia y presencia de fructosa: región (a) ácida, (b) de inversión, (c) neutra y (d) alcalina. (e) Factores de rectificación (f_{rec}) calculados para cada región en ausencia y presencia de fructosa.

6.2.5. Conclusiones

En esta sección hemos presentado la construcción de un diodo nanofluídico sensible al pH regulado por azúcares mediante la integración de una capa electrolimerizada de *ácido poli (3-aminofenilborónico)* (PAPAB) en un nanocanal de policarbonato cónico previamente metalizado con Au. El cambio con la concentración de fructosa del comportamiento tipo diodo dependiente del pH, reveló la modificación de la carga superficial neta causada por el desplazamiento del pK_a - inducida por la unión con el azúcar - de los grupos boronatos. Se demostró que la presencia de azúcar produce un fuerte efecto en la respuesta nanofluídica del dispositivo disparando diferentes respuestas dentro de un amplio rango de pH entre 1 y 8. Se encontraron cuatro regiones de actuación: *ácida* (incremento de la corriente selectiva a cationes), *de inversión* (reversión de selectividad), *neutra* (incremento de la corriente selectiva a aniones) y *alcalina* (aumento de la corriente selectiva a aniones).

6.3. Referencias

- [1] C. Dekker, *Nat. Nanotechnol.* 2007, **2**, 209.
- [2] S. Howorka, Z. Siwy, *Chem. Soc. Rev.* 2009, **38**, 2360.
- [3] X. Hou, W. Guo, L. Jiang, *Chem. Soc. Rev.* 2011, **40**, 2385.
- [4] X. Hou, H. Zhang, L. Jiang, *Angew. Chem., Int. Ed.* 2012, **51**, 5296.
- [5] B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, O. Azzaroni, W. Knoll, *Chem. Commun.* 2010, **46**, 1908.
- [6] B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, O. Azzaroni, *Small*, 2009, **5**, 1287.
- [7] L. Wang, L. Sun, C. Wang, L. Chen, L. Cao, G. Hu, J. Xue, Y. Wang, *J. Phys. Chem. C*, 2011, **115**, 22736.
- [8] P. Actis, A. Rogers, J. Nivala, B. Vilozy, R. A. Seger, O. Jejelowo, N. Pourmand, *Biosens. Bioelectron.* 2011, **26**, 4503.
- [9] M. Zhang, Z. Meng, J. Zhai, L. Jiang, *Chem. Commun.* 2013, **49**, 2284.
- [10] W. Guo, H. Xia, L. Cao, F. Xia, S. Wang, G. Zhang, Y. Song, Y. Wang, L. Jiang, D. Zhu, *Adv. Funct. Mater.* 2010, **20**, 3561.
- [11] Y. Zhou, W. Guo, J. Cheng, Y. Liu, J. Li, L. Jiang, *Adv. Mater.* 2012, **24**, 962.

- [12] L. Wen, Q. Liu, J. Ma, Y. Tian, C. Li, Z. Bo, L. Jiang, *Adv. Mater.* 2012, **24**, 6193.
- [13] S.F. Buchsbaum, G. Nguyen, S. Howorka, Z. S. Siwy, *J. Am. Chem. Soc.* 2014, **136**, 9902.
- [14] M. Liu, H. Zhang, K. Li, L. Heng, S. Wang, Y. Tian, L. Jiang, *Adv. Funct. Mater.* 2015, **25**, 421.
- [15] Q. Zhang, Z. Liu, K. Wang, J. Zhai, *Adv. Funct. Mater.* 2015, **25**, 2091.
- [16] Kalman, E. B.; Sudre, O.; Vlasiouk, I.; Siwy, Z. S. *Anal. Bioanal. Chem.* 2009, **394**, 413.
- [17] Inzelt, G. *Conducting Polymers: A New Era in Electrochemistry*. Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2012
- [18] J. Heinze, B. A. Frontana-Urbe, S. Ludwigs, *Chem. Rev.* 2010, **110**, 4724.
- [19] J. Stejskal, *Prog. Polym. Sci.* **2015**, *41*, 1.
- [20] A. Heeger, *Nobel Lecture*, 2000.
- [21] C. Brabec, U. Scherf, V. Dyakonov, *Organic Photovoltaics: Materials, Device Physics, and Manufacturing Technologies*. John Wiley & Sons: New Jersey, 2011.
- [22] Z. Bao, J. Locklin, *Organic Field-Effect Transistors*; CRC Press: Boca Raton, 2007.
- [23] S. R. Forrest, M. E. Thompson, *Chem. Rev.* 2007, **107**, 923.
- [24] G. Inzelt, G. Horanyi, *Electrochim. Acta.* 1990, **35**, 27.
- [25] Marmisollé, W. A.; Inés Florit, M.; Posadas, D. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010, **12**, 7536.
- [26] W. A. Marmisollé, M. I. Florit, D. Posadas, *J. Electroanal. Chem.* 2013, **707**, 43.
- [27] C. Kubeil, A. Bund, *J. Phys. Chem. C*, 2011, **115**, 7866.
- [28] W. A. Marmisollé, M. I. Florit, D. Posadas, *J. Electroanal. Chem.* 2011, **655**, 17.
- [29] H. Okamoto, T. Kotaka, *Polymer*, 1998, **39**, 4349.
- [30] T. Lindfors, L. Harju, *Synth. Met.* 2008, **158**, 233.
- [31] W.A. Marmisollé, M. I. Florit, D. Posadas, *J. Electroanal. Chem.* 2014, **734**, 10.
- [32] M. A. Rodrigues, M.-A. De Paoli, M. Mastragostino, *Electrochim. Acta.* 1991, **36**, 2143.
- [33] B. Palys, P. Celuch, *Electrochim. Acta.* 2006, **51**, 4115.
- [34] Y. Shang, Y. Zhang, P. Li, J. Lai, X.-Y. Kong, W. Liu, K. Xiao, G. Xie, Y. Tian, L. Wen and L. Jiang, *Chem. Commun.*, 2015, **51**, 5979–5981.
- [35] W. Guo, H. Xia, F. Xia, X. Hou, L. Cao, L. Wang, J. Xue, G. Zhang, Y. Song, D. Zhu, Y. Wang and L. Jiang, *ChemPhysChem*, 2010, **11**, 859–864.

- [36] L. Wen, X. Hou, Y. Tian, F. Q. Nie, Y. Song, J. Zhai and L. Jiang, *Adv. Mater.*, 2010, **22**, 1021–1024.
- [37] L. Wen, Y. Tian, J. Ma, J. Zhai and L. Jiang, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012, **14**, 4027.
- [38] A. Spende, N. Sobel, M. Lukas, R. Zierold, J. C. Riedl, L. Gura, I. Schubert, J. M. M. Moreno, K. Nielsch, B. Stühn, C. Hess, C. Trautmann and M. E. Toimil-Molares, *Nanotechnology*, 2015, **26**, 335301.
- [39] I. Vlassiouk, S. Smirnov and Z. Siwy, *ACS Nano*, 2008, **2**, 1589–1602.
- [40] Z. Siwy, P. Apel, D. Dobrev, R. Neumann, R. Spohr, C. Trautmann and K. Voss, *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms*, 2003, **208**, 143–148.
- [41] E. B. Kalman, I. Vlassiouk and Z. S. Siwy, *Adv. Mater.*, 2008, **20**, 293–297.
- [42] Y. Ai, J. Liu, B. Zhang and S. Qian, *Sensors Actuators, B Chem.*, 2011, **157**, 742–751.
- [43] B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll and O. Azzaroni, *Nano Lett.*, 2009, **9**, 2788–2793.
- [44] Y.-B. Zheng, S. Zhao, S.-H. Cao, S.-L. Cai, X. Cai and Y.-Q. Li, *Nanoscale*, 2016, 433–439.
- [45] H. Zhang, X. Hou, L. Zeng, F. Yang, L. Li, D. Yan, Y. Tian and L. Jiang, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 16102–16110.
- [46] P. Ramírez, P. Y. Apel, J. Cervera and S. Mafé, *Nanotechnology*, 2008, **19**, 315707.
- [47] P. Y. Apel, I. V. Blonskaya, O. L. Orelovitch and S. N. Dmitriev, *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms*, 2009, **267**, 1023–1027.
- [48] Z. S. Siwy, *Adv. Funct. Mater.*, 2006, **16**, 735–746.
- [49] M. L. Kovarik, K. Zhou and S. C. Jacobson, *J. Phys. Chem. B*, 2009, **113**, 15960–15966.
- [50] B. Fabre and L. Taillebois, *Chem. Commun.*, 2003, **1**, 2982–2983.
- [51] W. A. Marmisollé and O. Azzaroni, *Nanoscale*, 2016, **8**, 9890–9918.
- [52] Z. Morávková, M. Trchová, M. Exnerová and J. Stejskal, *Thin Solid Films*, 2012, **520**, 6088–6094.
- [53] M. Bartonek, N. S. Sariciftci and H. Kuzmany, *Synth. Met.*, 1990, **36**, 83–93.
- [54] Y. Furukawa, F. Ueda, Y. Hyodo, I. Harada, T. Nakajima and T. Kawagoe, *Macromolecules*, 1988, **21**, 1297–1305.
- [55] S. Quillard, K. Berrada, G. Louam and S. Lefrant, *Synth. Met.*, 1995, **69**, 201–204.
- [56] R. Mazeikiene, A. Statino, Z. Kuodis, G. Niaura and A. Malinauskas, *Electrochem. commun.*, 2006, **8**, 1082–1086.

- [57] B. A. Deore and M. S. Freund, *Chem. Mater.*, 2005, **17**, 2918–2923.
- [58] Y.-P. Zhang, S.-H. Lee, K. R. Reddy, A. I. Gopalan and K.-P. Lee, *J. Appl. Polym. Sci.*, 2007, **104**, 2743–2750.
- [59] C. L. Recksiedler, B. A. Deore and M. S. Freund, *Langmuir*, 2005, **21**, 3670–3674.
- [60] S. Li, Q. Zhou, W. Chu, W. Zhao and J. Zheng, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 17638–17645.
- [61] J. A. Faniran and H. F. Shurvell, *Can. J. Chem.*, 1968, **46**, 2089–2095.
- [62] W. A. Marmisollé, D. Gregurec, S. Moya and O. Azzaroni, *ChemElectroChem*, 2015, **2**, 2011–2019.
- [63] B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll and O. Azzaroni, *Chem. Commun. (Camb.)*, 2010, **46**, 1908–10.
- [64] V. Ball, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, 2010, **363**, 92–97.
- [65] V. Ball, J. Gracio, M. Vila, M. K. Singh, M.-H. Metz-Boutigue, M. Michel, J. Bour, V. Toniazzi, D. Ruch and M. J. Buehler, *Langmuir*, 2013, **29**, 12754–12761.
- [66] M. Ali, B. Yameen, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll and O. Azzaroni, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 16351–16357.
- [67] H. S. Mader and O. S. Wolfbeis, *Microchim. Acta*, 2008, **162**, 1–34.
- [68] E. Shoji and M. Freund, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 12486–12493.
- [69] B. Deore and M. S. Freund, *Analyst*, 2003, **128**, 803–806.
- [70] S. Zhao, Y.-B. Zheng, S.-L. Cai, Y.-H. Weng, S.-H. Cao, J.-L. Yang and Y.-Q. Li, *Electrochem. commun.*, 2013, **36**, 71–74.
- [71] B. Vilozy, A. L. Wollenberg, P. Actis, D. Hwang, B. Singaram and N. Pourmand, *Nanoscale*, 2013, **5**, 9214–21.

Capítulo 7

Diodo Nanofluídico de efecto de campo no-metálico conectado por una capa de polímero conductor

7.1. Introducción

En la actualidad existe un creciente interés en el desarrollo de dispositivos nanofluídicos que presenten la capacidad de regular externamente el flujo de diferentes moléculas dentro de circuitos integrados miniaturizados.¹⁻⁴ En este sentido, puede considerarse que los dispositivos nanofluídicos tienen un funcionamiento análogo al de los canales iónicos biológicos los que de acuerdo a su estructura se comportan como resistencias iónicas o diodos.^[5,6] Además, se han fabricado sistemas nanofluídicos más complejos, tales como transistores de efecto de campo y transistores bipolares con sorprendentes aplicaciones tecnológicas en campos tales como biosensado o ciencias de los materiales.⁷⁻¹² Estos primeros avances en el campo de la nanofluídica o más bien “*iontrónica*” pueden compararse con el progreso inicial realizado en el desarrollo de la electrónica basada en la tecnología de semiconductores.

Sin embargo, todavía queda un largo camino para lograr un control completo sobre el transporte de moléculas en circuitos iónicos integrados. Los diodos iónicos son muy prometedores como elementos fundamentales de tales sistemas porque regulan el transporte selectivo de iones de una manera dependiente del voltaje. Su selectividad iónica puede ser fácilmente modulable permitiendo ser detectada por la rectificación de la corriente iónica en medidas de corriente-voltaje (I-V).¹³ Tanto cationes como aniones pueden ser excluidos como portadores de corriente dependiendo de la carga superficial neta de la estructura nanofluídica.¹⁴

Se han hecho varios intentos para modular la respuesta de los diodos iónicos con el objetivo de cambiar a voluntad la magnitud y la dirección de esta rectificación. Hasta ahora, en general se ha podido cumplir con este objetivo mediante estímulos químicos específicos en solución, como el pH o mediante la regulación de los equilibrios ácido-base de moléculas responsivas,

como los experimentos mostrados en el capítulo anterior.¹⁵⁻¹⁷ Con el objetivo de implementar tales dispositivos nanofluídicos en diseños más complejos, debemos ser capaces primero de modular las corrientes iónicas mediante estímulos experimentales que sean más fáciles de controlar, tales como el potencial eléctrico, y que a su vez no dependan fuertemente de parámetros de la solución.¹⁸ En este sentido, en el capítulo anterior ya se ha demostrado que la combinación de nanocanales de estado sólido y polímeros conductores sintetizados electroquímicamente es una plataforma de partida prometedora.¹⁹ Sin embargo, los métodos presentados en el capítulo anterior incluyen pasos, como el *sputtering* de Au sobre las superficies, que dificultan su fabricación además del problema de mantener condiciones prefijadas de pH en la solución para asegurar el correcto funcionamiento de los dispositivos. Para solucionar estos problemas en este capítulo mostraremos un método de fabricación de diodos iónicos reconfigurables basados en el concepto de "efecto de campo" utilizando para ello la síntesis química del polímero conductor *poli(3,4-etilendioxotiofeno)* (PEDOT) sobre un nanocanal polimérico de estado sólido. La capa de PEDOT mejora las propiedades de rectificación del nanocanal y lo más importante, actúa como un electrodo de compuerta (*gate*) no-metálico de efecto de campo cambiando su estado electroquímico mediante la aplicación de diferentes potenciales sobre la lámina modificada.

7.2. Fabricación y caracterización de los nanocanales modificados con PEDOT

Síntesis de PEDOT: para producir el PEDOT, se disolvió el monómero EDOT (24,2 μ l) en butanol (440 μ l) junto con piridina (33 μ l) y una solución de tosilato de hierro 40 % en butanol (1,43 ml). La solución preparada se limpió con un filtro de 0,22 μ m para soluciones orgánicas. 200 μ l de la solución de reacción se depositaron por *spin-coating* a 1000 rpm (Laurell, modelo WS-650MZ) sobre la cara de una lámina de PET *track-etched* (etching tipo parabólico, 8 min, ver capítulo 3) del lado que contenía la pequeña abertura del nanocanal (punta). Las membranas se secaron en condiciones ambientales o utilizando aire levemente caliente. La polimerización tiene lugar en este punto mediante la oxidación del monómero promovida por los iones Fe (III) (Figura 7.1). Este procedimiento se repitió 3 veces. Para eliminar los iones restantes de hierro, las muestras se enjuagaron repetidas veces con agua desionizada. Las medidas de voltametría cíclica sobre las láminas *track-etched* modificadas con el PEDOT muestran claramente la aparición de respuesta electroquímica (Figura 7.1).

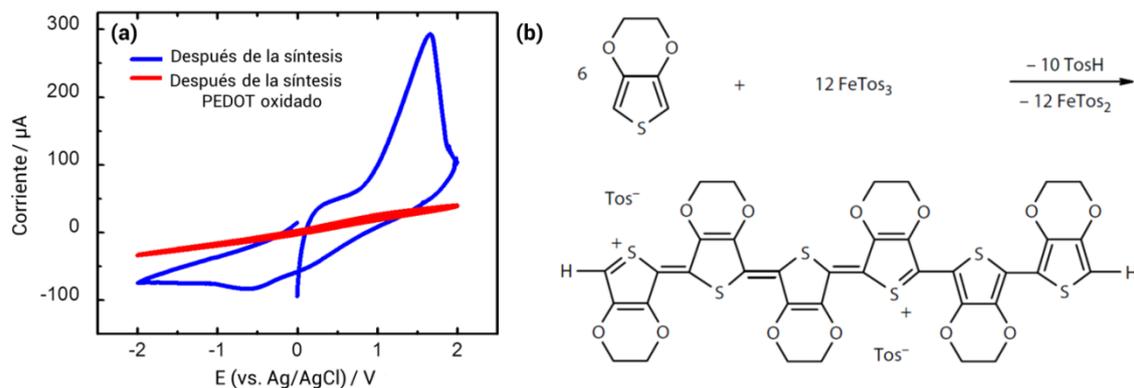


Figura 7.1. (a) (Azul) Voltametría cíclica de un nanocanal de PET modificado con PEDOT. Se observan, un pico de oxidación alrededor de $0.2V$ y dos picos de reducción a $0.2V$ y $-0.5V$, respectivamente. Se observa un pico grande debido a la degradación por sobre-oxidación del polímero a aprox. $1.6V$. La curva roja es una voltametría cíclica registrada después de aplicar voltajes de sobre-oxidación ($\geq 1.6V$) durante 10 minutos. (b) Esquema de síntesis de un oligomero de EDOT, en el cual se muestra la síntesis oxidativa del PEDOT y las cargas positivas remanentes estabilizadas por los contraiones de TOS.

Elipsometría: La caracterización de la capa de PEDOT por elipsometría se realizó con un elipsómetro espectroscópico (alfa-SE) de J. A. Woollam Co. con un ángulo de incidencia de 70 grados. Se depositó una capa de PEDOT mediante “*spin-coating*” sobre un sustrato de oro reflectante con el mismo programa de centrifugado que se empleó para las láminas *track-etched* de PET. Se utilizó un modelo B-spline para modelar la capa PEDOT (Figura 7.2). El espesor obtenido al ajustar los datos elipsométricos (Figura 7.2) para una sola capa de PEDOT fue de **56 nm** con una rugosidad de 10 nm.

Medidas de ángulo de contacto (AC): Las imágenes de AC (Figura 7.3) se adquirieron usando un goniómetro Ramé-Hart, Modelo 790. El análisis digital de las imágenes para la determinación de ángulos de contacto medios se realizó con el software DROPimage Advanced. Los ángulos de contacto promedio fueron de 57° y 70° para la lámina PET (después del *etching*) y la membrana PET modificada con el PEDOT, respectivamente.

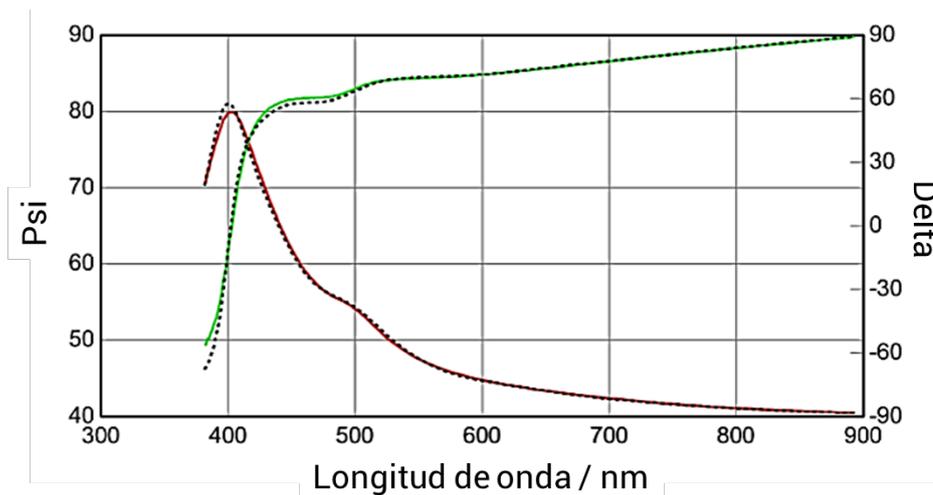


Figura 7.2. Datos de espectroscopía elipsométrica de una capa de PEDOT depositados sobre un sustrato de Au reflectante.

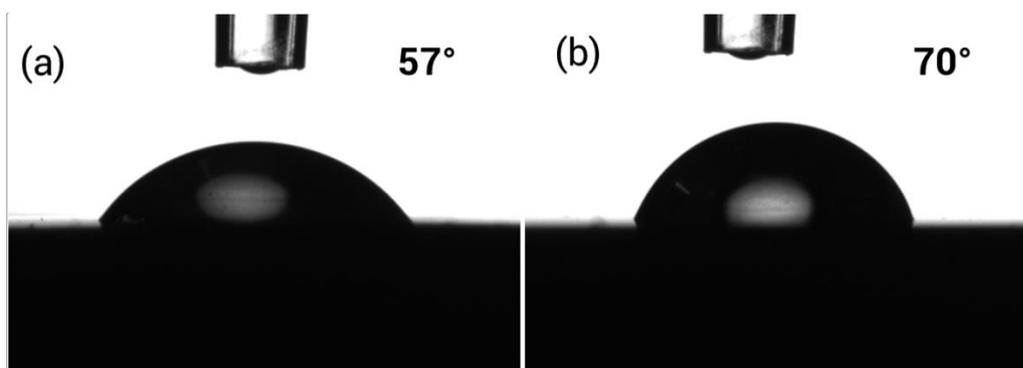


Figura 7.3. Medidas de ángulo de contacto para un lámina de PET hidrolizada antes (a) y después (b) de la modificación con PEDOT.

Medidas de espectroscopía Raman: Los espectros de Raman se adquirieron usando un espectrómetro Raman modelo BW415-532S (i-Raman, BWTek). La longitud de onda de excitación fue de 532 nm y el láser se enfocó en los sustratos mediante un microscopio óptico de aumento 20X (BAC151B, BWTek). La potencia operativa en las muestras fue de 10 mW. La región espectral analizada fue de 100 a 4000 cm^{-1} . La capa de PEDOT fue producida también sobre un sustrato de oro para obtener un espectro PEDOT sin la contribución del sustrato plástico como referencia.

La Figura 7.4 muestra los espectros de Raman en la región de 400 a 1900 cm^{-1} para diferentes muestras de PEDOT. El espectro de Raman de una película de PEDOT depositada sobre un sustrato de oro (espectro rojo) muestra los picos típicos reportados en la literatura. El pico a

440 cm^{-1} se asigna a la flexión de SO_2 , el pico a 990 cm^{-1} se asigna a la deformación del anillo de oxietileno, el pico a 1365 cm^{-1} corresponde al estiramiento de $\text{C}_\beta\text{-C}_\beta$, el pico a 1420 cm^{-1} a el estiramiento simétrico $\text{C}_\alpha = \text{C}_\beta$ (-O), y el pico a 1517 cm^{-1} se asigna al estiramiento asimétrico $\text{C}_\alpha = \text{C}_\beta$, respectivamente.²⁰⁻²²

Por otro lado, los espectros Raman de la lámina de PET muestran dos bandas principales a 1287 y 1722 cm^{-1} , relacionadas con el grupo éster, que se han asignado a los modos de estiramiento de los enlaces $\text{C}(\text{O})\text{-O}$ y $\text{C}=\text{O}$, respectivamente.²³ Otra banda intensa a aproximadamente 1615 cm^{-1} se ha asignado al estiramiento simétrico de los carbonos 1,4 de los anillos de benceno,²⁴ mientras que la banda a 860 cm^{-1} corresponde a un modo de estiramiento del anillo.²⁵

Los resultados en la Figura 7.4 muestran que el espectro correspondiente a la película PEDOT depositada en PET (espectro azul) presenta todas las características asignadas a PEDOT con una importante contribución del sustrato PET. La concordancia del espectro de Raman de las películas sintetizadas en este trabajo con las publicadas en otros lugares demuestra la efectividad del procedimiento sintético.

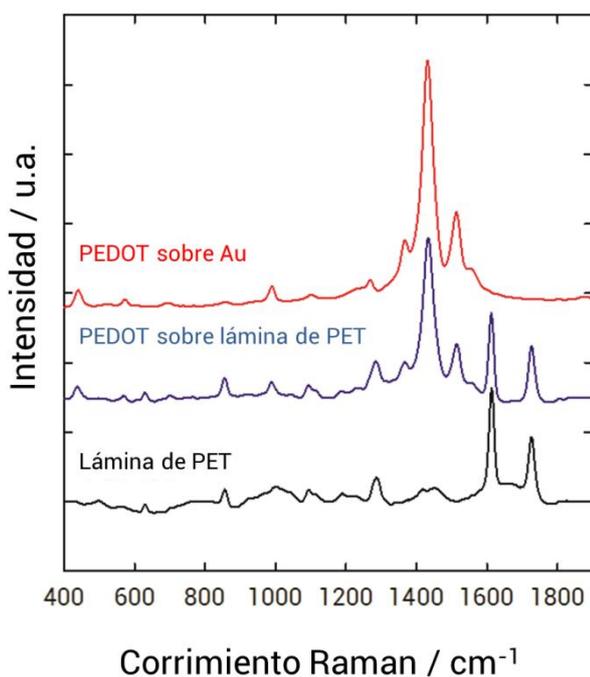


Figura 7.4. Espectros Raman de la lámina de PET antes (negro) y después del recubrimiento por spin-coating y polimerización de PEDOT (azul). Se incluyó un espectro de PEDOT polimerizado en un sustrato de oro como referencia (rojo).

7.3. Respuesta nanofluidica. Diodo iónico reconfigurable por efecto de campo

Medidas de efecto de campo: para estas medidas se utilizó un bipotenciostato compuesto por dos potenciostatos idénticos (Reference 600 - Gamry Instruments) instalados en una configuración bipotenciostática. De esta manera fue posible realizar independientemente las curvas I-V (o I-t) de transmembrana y la aplicación de potenciales de *gate* sobre la capa de PEDOT. Un potenciostato se utilizó para medir las curvas I-V del nanocanal usando para ello una configuración de cuatro electrodos, mientras que el otro potenciostato se utilizó simultáneamente para aplicar los diferentes voltajes de *gate* utilizando una configuración electroquímica típica de tres electrodos. En la Figura 7.5 se muestra una fotografía y esquema detallado de la celda electroquímica *ad-hoc* construida para las medidas de efecto de campo.

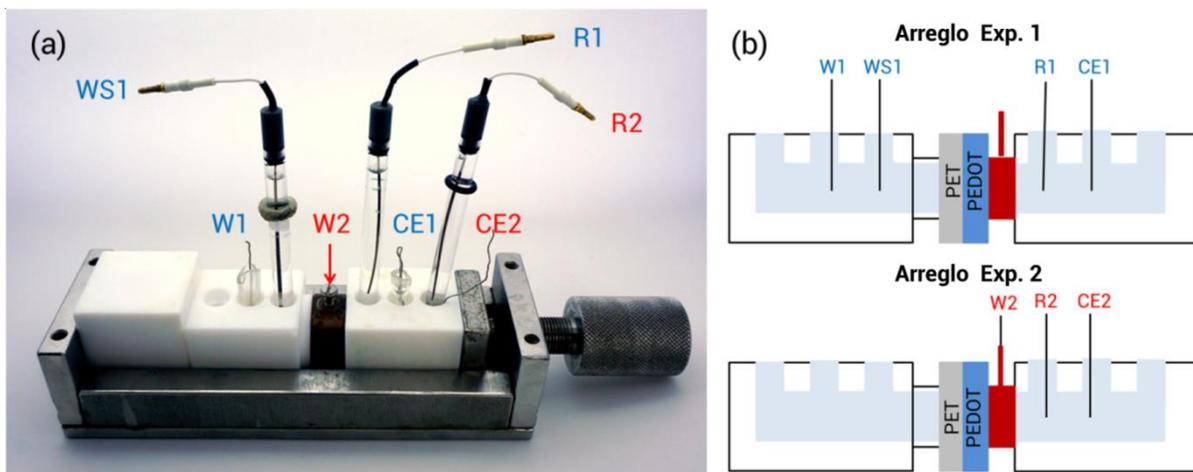


Figura 7.5. (a) Fotografía de la celda electroquímica utilizada para realizar las medidas de efecto de campo. Las dos configuraciones de electrodos (arreglos experimentales) utilizadas para medir de forma independiente las curvas transmembrana de corriente-voltaje (o tiempo) y para aplicar los distintos voltajes de *gate* se detallan en azul y rojo, respectivamente. (b) Diagramas simplificados de la celda electroquímica utilizada para las medidas en donde se representa separadamente los dos conjuntos de electrodos diferentes utilizados para las medidas de efecto de campo. W, WS, CE y R, se refieren al trabajo, referencia 1, contraelectrodo y referencia 2, respectivamente. Los números 1 y 2 se refieren a los dos potenciostatos diferentes utilizados.

La superficie de una membrana la cual contenía un solo nanocanal de geometría tipo bala (parabólico) fue revestida con una fina capa de PEDOT, la cual redujo la sección efectiva de los nanocanales mediante el llenado parcial del canal en la región de la apertura más pequeña

o punta. Los experimentos fueron realizados utilizando nanocanales con diámetros de canal varios órdenes de magnitud mayores que la longitud de Debye (>100 nm) a concentraciones de sales entre 10-100 mM (~ 1 nm). Como consecuencia de esto, el incremento (o disminución) en la concentración de portadores iónicos en la punta de los nanocanales, que es lo que finalmente produce el fenómeno de rectificación de corriente, se hace insignificante y el comportamiento se convierte en óhmico. Para observar rectificación en la corriente iónica en nanocanales *track-etched* fabricados utilizando la técnica asistida por surfactante (tipo bala), se requieren diámetros de puntas menores que $\sim 50-70$ nm. **Error! Marcador no definido.**^{b,26}

Como se evidencia por la linealidad de la curva corriente-potencial (I-V), el nanocanal mostró inicialmente un comportamiento óhmico (Figura 7.6 (b)).

El recubrimiento de los nanocanales con PEDOT se realizó selectivamente del lado de la apertura pequeña mediante “*spin-coating*”, utilizando una solución de tosilato de hierro (III) como oxidante y estabilizante.²⁷ Después del recubrimiento, la curva I-V mostró una notable rectificación de la corriente iónica (Figura 7.6 (c)) presumiblemente causada por una mayor asimetría así como por un mayor confinamiento de la solución electrolítica, ambos causados por la reducida apertura del canal. Medidas de elipsometría (Figura 7.2) mostraron que después de cada ciclo de “*spincoating*” y polimerización de PEDOT se deposita una capa de ~ 60 nm de espesor.

Este tipo de enfoque *top-down* para la síntesis de diodos nanofluídicos, utilizado también para los experimentos con polidopamina mostrados en el capítulo 5 y con polianilina y derivados en el capítulo 6, es muy prometedor para el desarrollo de dispositivos nanofluídicos a partir de arquitecturas no-nanométricas.²⁸ Para caracterizar las películas PEDOT sobre las láminas de PET, se realizaron espectroscopias Raman y medidas de ángulo de contacto (Figuras 7.3 y 7.4). El espectro de Raman presentó todas las características asignadas a PEDOT mientras que los datos de mojabilidad mostraron un ligero aumento en la hidrofobicidad de la lámina después de la modificación.

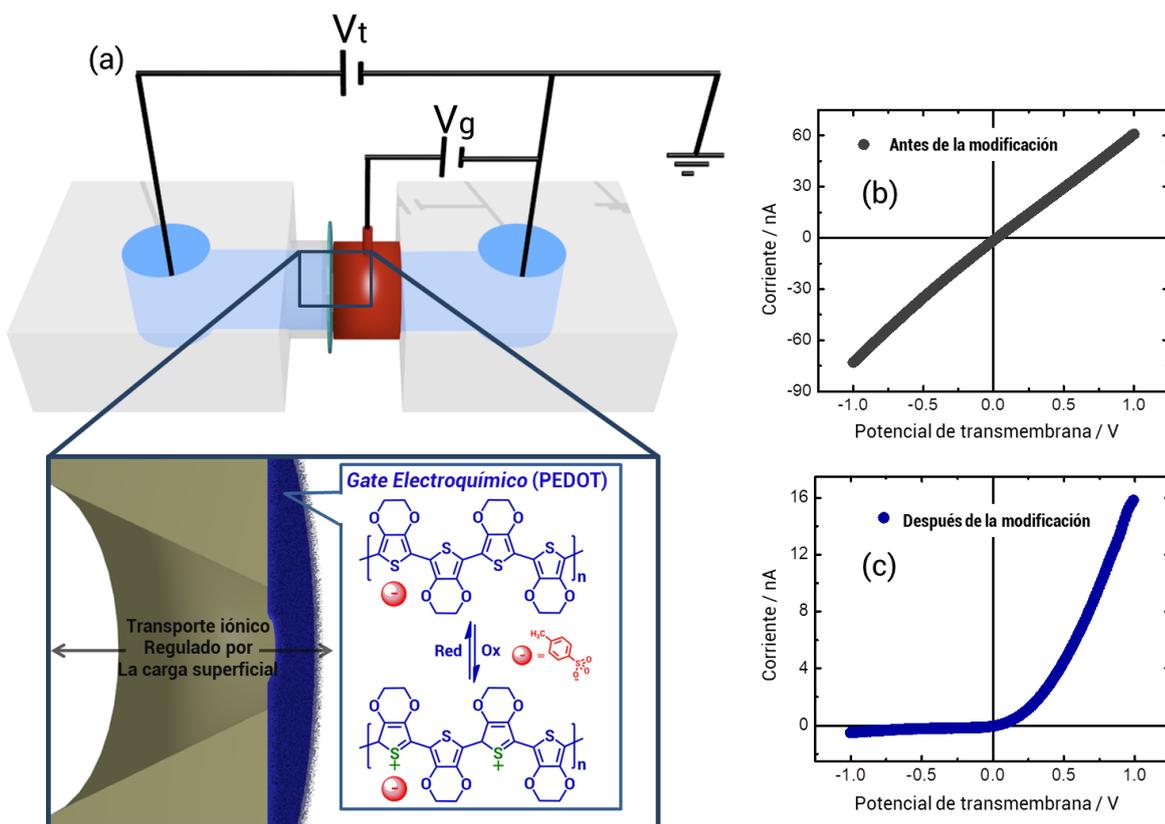


Figura 7.6. (a) Esquema de configuración experimental utilizado para los experimentos, compuesto por dos hemiceldas huecas conectadas a través de la lámina track-etched que contiene el nanocanal. Para las medidas de efecto de campo uno de los compartimentos fue modificado para incluir un anillo de cobre aislado de solución el cual se conecta eléctricamente con la capa de PEDOT actuando como gate, permitiendo aplicar diferentes voltajes de gate, V_g . V_t denota el potencial transmembrana aplicado entre los dos compartimentos. El esquema ampliado de la membrana muestra el nanocanal recubierto con una capa de PEDOT:Tosilato y su transformación electroquímica cuando se aplica un voltaje, lo que finalmente condiciona un cambio del comportamiento I-V. Curvas I-V (b) antes (Ohmica) y (c) después del recubrimiento con PEDOT (rectificación). La reducción de la conductancia iónica en (c) indica un cierre parcial mientras que el aumento de la eficiencia de rectificación indica la modificación asimétrica del nanocanal.

Una vez fabricado el electrodo de gate polimérico, se estudió su funcionalidad electroquímica mediante voltamperometría cíclica (VC) en KCl 100 mM (Figura 7.1). El barrido de potencial electroquímico se hizo entre -2 V y 2 V. Se observaron dos picos de oxidación (a 0,2 V y 1,6 V) y un pico de reducción (a -0,5 V), siendo éstos coincidentes con datos electroquímicos reportados previamente para PEDOT. La oxidación es conocida por producir una forma

conductor, debido a la formación de polarones en la estructura del polímero; estos son cationes radicales que permiten el transporte de corriente eléctrica como "agujeros" (semiconductor tipo p).²⁹ Es por este motivo que la oxidación del PEDOT se denomina a veces *dopaje p*, o también *dopaje aniónico*, debido a la inclusión de aniones en el polímero para compensar las cargas positivas.³⁰ La reducción del polímero se conoce como *dopaje n* o *dopaje catiónico* por razones análogas. Es importante mencionar que para el *dopaje n*, las cargas negativas provienen de contraiones incluidos durante la oxidación (o durante la síntesis) para la neutralización electrostática de las cargas positivas formadas en el polímero, por ejemplo, para estos experimentos el contraión fue el tosilato (Figura 7.6).

El tipo de dopaje de la película de PEDOT se vuelve esencial para las aplicaciones nanofluídicas, ya que modifica la naturaleza de los contraiones de las paredes del canal y asociadamente al tipo de portador de la corriente iónica. De esta manera, el nivel de dopaje del polímero determina el tipo y la magnitud de la conductancia iónica del nanocanal o diodo nanofluídico. Adicionalmente, este nivel de dopaje puede ajustarse fácil y reversiblemente mediante reacciones electroquímicas (reguladas por el voltaje de *gate*), que constituyen un caso análogo al electrodo de *gate* en transistores de efecto de campo de estado sólido. Este control de efecto de campo sobre los portadores iónicos fue explorado experimentalmente utilizando la misma configuración mostrada en la Figura 7.6, mediante la aplicación de diferentes voltajes de *gate* (V_g) a la película polimérica, *i.e.* oxidando o reduciendo el PEDOT, y registrando simultáneamente las curvas I-V midiendo la corriente a través del canal mientras se realizaba un barrido de potencial *transmembrana* (V_t) (figura 7.6). El uso de una configuración bipotenciostática permitió la aplicación de programas de potencial independientes para el potencial de *gate* V_g y para el potencial *transmembrana* V_t .

Inmediatamente después de la síntesis, el PEDOT se encuentra en el estado oxidado conductor (dopado tipo p). Mediante la reducción electroquímica aplicando un $V_g = -0,2$ V, las curvas I-V se volvieron prácticamente lineales debido a la neutralización de las cargas positivas del polímero. La ausencia de efectos de rectificación indicó que la película de polímero es prácticamente neutra (Figura 7.7). La aplicación de potenciales de *gate* negativos (V_g) menores a $-0,2$ V (reducción electroquímica adicional, dopaje tipo n) indujeron la aparición de rectificación negativa, es decir, los nanocanales se cargaron negativamente - lo que se relaciona con un incremento de la selectividad hacia cationes. Por el contrario, la oxidación o dopaje p de la película de PEDOT aumentó la rectificación positiva, relacionada con un incremento en la selectividad hacia aniones (carga superficial positiva). Para V_g

superiores a 0,8 V, la película comenzó a degradarse debido a reacciones de sobre-oxidación. El gran pico observado en el voltamperograma a 1,6 V está relacionado con este proceso de degradación (Figura 7.7).³¹ Todas las medidas se realizaron en una celda electroquímica (Figura 7.2 y 7.3 (a)) empleando una solución de electrolito de concentración dentro del rango fisiológico (KCl 100 mM). De acuerdo a nuestro conocimiento, este es el primer ejemplo de la construcción de un diodo nanofluídico completamente modulable electroquímicamente que pueda trabajar a concentraciones fisiológicas; trabajos anteriores describieron sistemas que modulaban la rectificación sólo a concentraciones por debajo de 1 mM.¹⁸

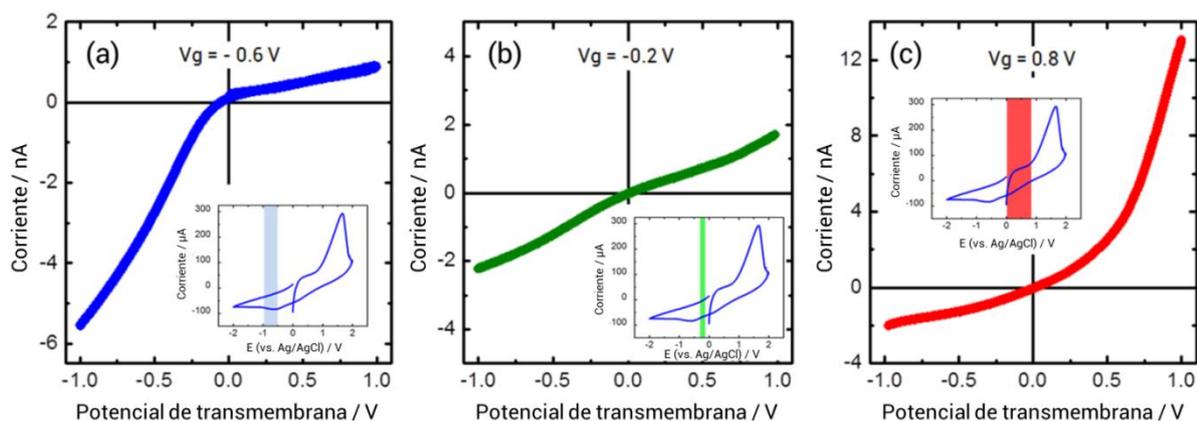


Figura 7.7. Curvas I - V para un nanocanal modificado con PEDOT a tres voltajes de gate distintos (V_g), (a) $-0,6$ V, (b) $-0,2$ V y (c) $0,8$ V evidenciando selectividad catiónica, neutralización y selectividad aniónica, respectivamente. Las figuras insertadas muestran como sombras las regiones del voltamperograma de PEDOT afectadas por cada V_g .

Los factores de rectificación (f_{rec}) se calcularon como el cociente de las corrientes a $V_t = \pm 1$ V, siendo el numerador el mayor valor (Capítulo 3). Con el fin de observar claramente el comportamiento de f_{rec} a diferentes voltajes de gate, los f_{rec} se multiplicaron por un factor -1 si la corriente mayor era positiva. De esta manera es posible relacionar cualitativamente cada f_{rec} con la carga superficial: *una rectificación negativa significa una carga superficial negativa y viceversa*. Por debajo del potencial de sobre-oxidación, la f_{rec} muestra una tendencia lineal respecto al potencial aplicado (V_g) (Figura 7.8 (a)), lo que significa que la concentración de cargas positivas (polarones) dentro de la película PEDOT crece monótonamente con la oxidación de la capa de PEDOT. Es importante mencionar que experimentos de resonancia paramagnética de electrones han mostrado una respuesta similar, con la diferencia de que a potenciales mayores que 0,2 V deja de observarse un aumento en la señal debido a que la concentración de especies paramagnéticas disminuye a medida que se unen formando

especies diamagnéticas (bipolarones). Sin embargo, en nuestro caso estas especies siguen siendo observables. Dado que el valor de f_{rec} está relacionado con la carga neta en la superficie en lugar de propiedades magnéticas, podemos observar el incremento de la concentración de centros positivos por encima del comienzo de formación de bipolarones, una característica nunca antes informada y que pone en evidencia nuevamente la capacidad de las medidas nanofluídicas para obtener parámetros fisicoquímicos relevantes en una amplia variedad de materiales.

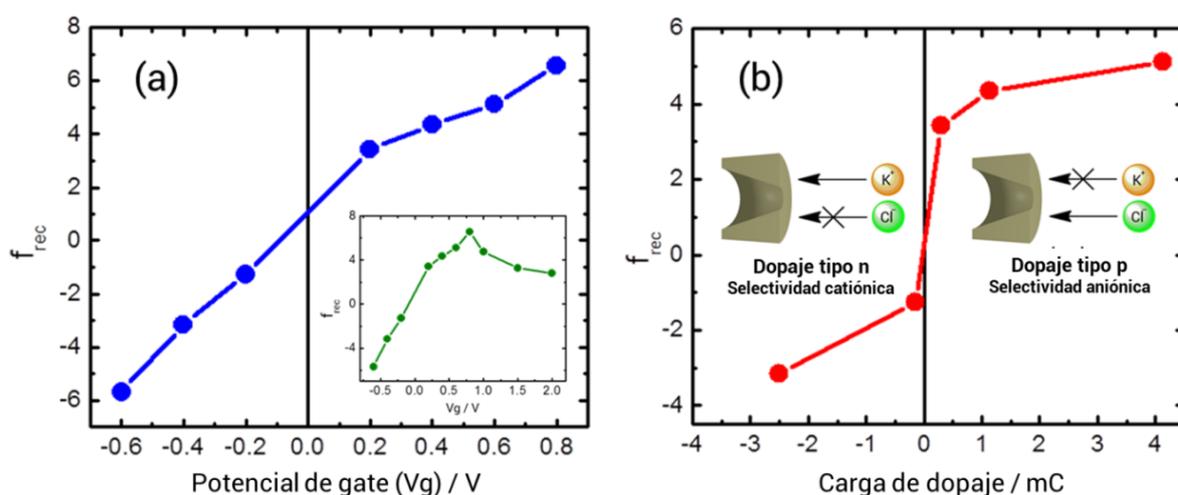


Figura 7.8. (a) Factor de rectificación f_{rec} en función del voltaje de gate para un nanocanal de PET revestido con PEDOT. La inserción muestra la curva completa la cual incluye $V_g \geq 1$ donde tiene lugar la degradación oxidativa de la capa PEDOT. (b) Factor de rectificación versus carga de dopaje de la capa de PEDOT, dando evidencia de la correlación entre el tipo de dopaje y el comportamiento de la rectificación de la corriente iónica.

Para interpretar los resultados en función del tipo y magnitud del dopaje electroquímico se calcularon las cargas de dopaje para cada medida las cuales se calcularon a partir de la integración de las medidas de corriente en función del tiempo realizadas para cada voltaje de *gate* aplicado al electrodo de PEDOT. Para obtener las cargas que fluyeron a través de la capa de PEDOT, la parte lineal de estas curvas fue extrapolada a $t = 0$ para restar la carga debida a las corrientes residuales (Figura 7.9).³²

El comportamiento del f_{rec} con respecto a las cargas de dopaje también se ilustra en la figura 7.8 (b) que muestra que los cambios en la selectividad del nanocanal están fuertemente regulados por el tipo de dopaje de la película PEDOT que actúa como electrodo de *gate*. Los nanocanales modificados con PEDOT mostraron selectividad catiónica para el *dopaje tipo n*

(<-0,2 V) y selectividad aniónica para el *dopaje tipo p* (> 0,2 V).³³ Nuestro enfoque nos permitió transducir una señal de entrada puramente *electrónica* en una señal de salida *iontrónica*.³⁴

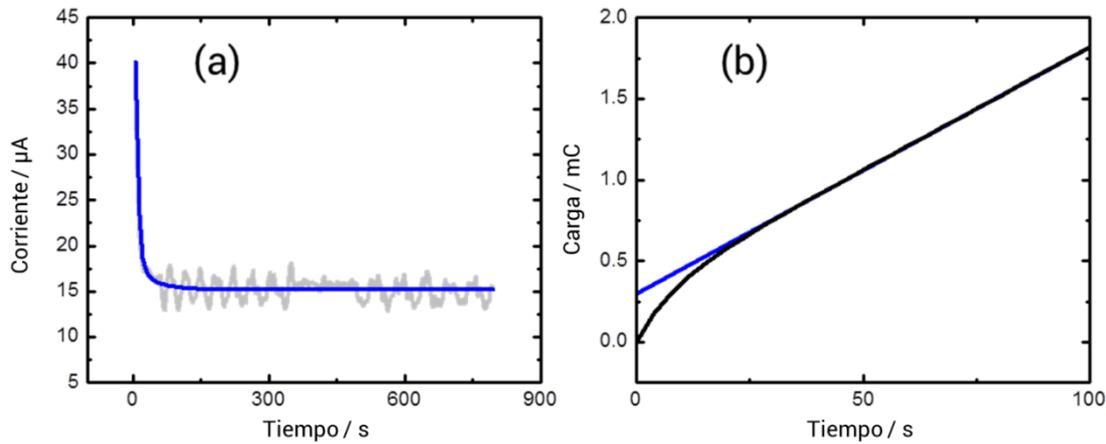


Figura 7.9. (a) Curva cronoamperométrica de la película PEDOT medida al aplicar un potencial de $V_g = -0.2$ V a la capa PEDOT. La línea gris es la corriente medida mientras que la línea azul es el ajuste utilizado para el cálculo. (b) Carga frente al tiempo calculada a partir de la integración de la curva $I-t$. La línea azul es la extrapolación al origen de la parte lineal de la curva. La intersección de la curva es la carga de dopaje. En este caso, el valor fue 0.304 mC.

7.4. Medidas de transistor de efecto de campo nanofluidoico

Para un V_t dado, la aplicación de diferentes voltajes de gate pudo ser transducida directamente en cambios en la conductancia iónica del nanocanal, pareciéndose a una medición típica de transistor de efecto de campo (FET) (Figuras 7.10 y 7.11 (a)).

La conductancia iónica del nanocanal para $V_t = 1$ V se presenta en la figura 7.11 (a) como función del potencial de *gate* V_g aplicado a la capa de PEDOT. Los dos regímenes de alta y baja conductancia sugirieron que el voltaje de *gate* podía emplearse como un interruptor de "encendido-apagado" ("ON/OFF"), ya que es capaz de incrementar o restringir el paso de iones a través del nanocanal. Aquí, se puede observar que no hubo una diferencia significativa para la conductancia para diferentes potenciales de *gate* negativos dentro del estado "apagado" (-0,2, -0,4 y -0,6 V). Esta característica se corroboró adicionalmente midiendo las corrientes iónicas en $V_t = 1$ V para tensiones diferentes dentro del régimen de apagado Figura 7.11 (b).

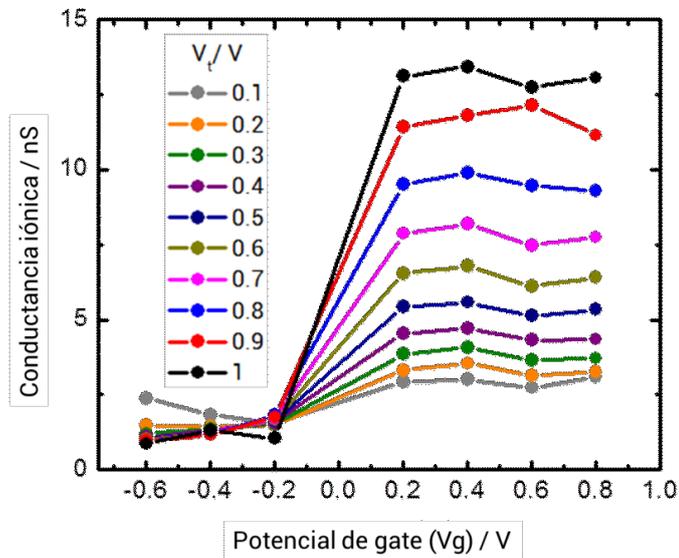


Figura 7.10. Medidas de transistor de efecto de campo, de conductancia iónica en función del potencial de gate. Se ve que el efecto de gating es más importante para potenciales de transmembrana más altos.

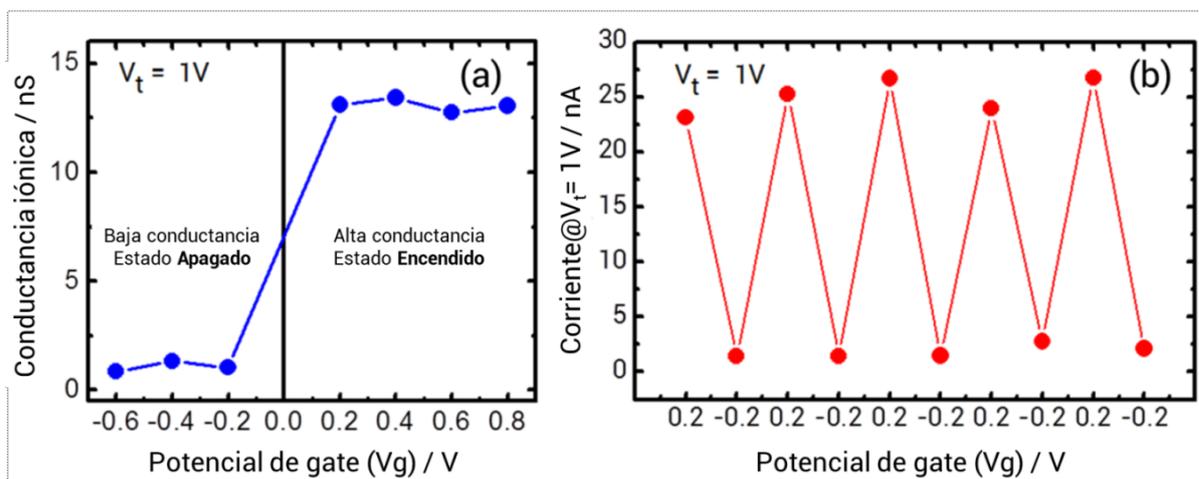


Figura 7.11. (a) Conductancia iónica de un nanocanal de PET modificado con PEDOT en función del potencial de gate para un potencial de transmembrana constantes a $V_t = 1$. Pueden observarse dos estados de conductancia claramente definidos para $V_t = 1$. (b) La corriente medida a $V_t = 1$ V y regulada entre $V_g = -0,2$ V (estado apagado) y $V_g = 0,2$ V (estado encendido) muestra una buena reversibilidad para ciclos sucesivos.

Como se ilustra en la Figura 7.11 (b), se observó el efecto de encendido y apagado de la corriente iónica al establecer alternativamente el V_g en la región de encendido ($V_g = 0,2$ V) y

en la región de apagado ($V_g = -0,2$ V). Las corrientes iónicas aumentaron entre el estado encendido y apagado en aproximadamente 2500% como consecuencia del cambio en la conductancia del nanocanal. Un punto interesante que debemos remarcar es que la respuesta de la película de PEDOT y su correspondiente efecto nanofluídico ocurrió casi inmediatamente después de la aplicación del potencial de *gate*; una característica que se puede observar claramente en la curva de corriente-tiempo que muestra el *gating* reversible de la corriente iónica sobre la aplicación sucesiva de diferentes voltajes de *gate* para los estados de encendido y apagado (Figura 7.12). Este comportamiento dinámico del nanocanal modificado con PEDOT es muy interesante porque permitió una conmutación rápida de la corriente iónica. Una comparación entre la cronoamperometría de la película PEDOT a una determinada tensión de *gate* (por ejemplo, $-0,2$ V) con la respuesta de la corriente iónica resuelta en el tiempo permite observar el acoplamiento entre la electroquímica del electrodo de *gate* (capa de PEDOT) y el control del transporte iónico del diodo nanofluídico (Figura 7.11). Es importante señalar que los resultados presentados en las figuras 7.11 y 7.12 corresponden a experimentos realizados utilizando diferentes nanocanales, cuyos valores de conductancia inicial fueron también diferentes. Esta es la razón por la cual los valores difieren cuantitativamente.

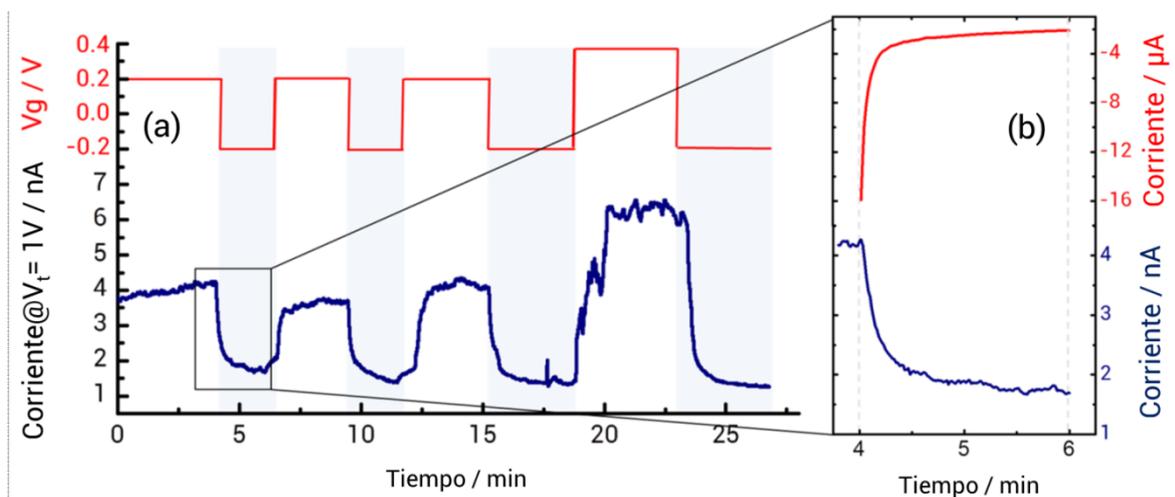


Figura 7.12. (a) Curva de corriente versus tiempo para un nanocanal modificado con PEDOT que muestra el *gating* reversible de la corriente iónica. (b) Cronoamperometría de la película PEDOT (rojo) y curva de tiempo actual para el nanocanal (azul) medida simultáneamente bajo el mismo voltaje de *gate* ($-0,2V$). Las figuras a, b y c-d se midieron utilizando diferentes nanocanales.

7.5. Conclusiones

En resumen, en este capítulo hemos demostrado la fabricación de un diodo nanofluídico de efecto de campo completamente sintonizable polimerizando químicamente PEDOT sobre nanocanales asimétricos. La capa de PEDOT se comportó como un electrodo de *gate* permitiendo el control preciso sobre la dirección y la magnitud de la corriente iónica rectificadora. Combinando diferentes voltajes de transmembra y de *gate* se pudo obtener un control completo de la corriente iónica que pasa a través del nanocanal. El PEDOT, que en el pasado reciente ha sido ampliamente utilizado para una multitud de aplicaciones, resulta también prometedor para el desarrollo de dispositivos nanofluídicos con funciones complejas que podrían utilizarse en la detección de analitos o el diseño de circuitos moleculares.³⁵ Es importante señalar que en estos experimentos no hay electrodos metálicos implicados en la síntesis del PEDOT ni en la fabricación del dispositivo lo que hace a este procedimiento más simple, biocompatible y rentable. Por este motivo se considera que esta prueba de concepto es un prototipo prometedor para la próxima generación de circuitos integrados nanofluídicos.

7.6. Referencias

- [1] A. Van den Berg, H.G. Craighead, P.D. Yang, *Chem. Soc. Rev.* 2010, **39**, 899.
- [2] J. H. Han, K. B. Kim, H. C. Kim, T. D. Chung, *Angew. Chem.* 2009, **48**, 3830.
- [3] Y. Zhang, K. Kong, L. Gao, Y. Tian, L. Wen, L. Jiang, *Materials* 2015, **8**, 6277; b) H. Zhang, Y. Tian, L. Jiang, *Chem. Commun.* 2013, **49**, 10048; c) J. C. T. Eijkel, A. Van der Berg, *Microfluid. Nanofluid.* 2005, **1**, 249; d) I. Vlassiuk, Z. S. Siwy, *Nano Lett.* 2007, **7**, 552.
- [4] a) Xu Hou, *Adv. Mater.* 2016, **28**, 7049. b) X. Hou, H. Zhang, L. Jiang, *Angew. Chem.* 2012, **51**, 5296.
- [5] X. Hou, W. Guo, L. Jiang, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 2385.
- [6] X. Hou, L. Jiang, *ACS Nano*, 2009, **3**, 3339.
- [7] K. B. Kim, J. H. Han, H. C. Kim, T. D. Chung, *Appl. Phys. Lett.* 2010, **96**, 143506.
- [8] R. Karnik, K. Castelino, A. Majumdar, *App. Phys. Lett.* 2006, **88**, 123114.
- [9] a) E. B. Kalman, I. Vlassiuk, Z.S. Siwy, *Adv. Mater.* 2008, **20**, 293. b) Y. Kong, X. Fan, M. H. Zhang, X. Hou, Z. Yue Liu, J. Zhai, L. Jiang, *ACS appl. mater. Interfaces.* 2013, **5**, 7931.

- [10] I. Vlassiouk, T. R. Kozel, Z. S. Siwy, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, **131**, 8211.
- [11] E. L. C. J. Blundell, R. Vogel, M. Platt, *Langmuir* 2016, **32**, 1082; b) A. Sikora, A. G. Shard, C. Minelli, *Langmuir* 2016, **32**, 2216.
- [12] J. Quick, N. J. Loman, S. Duraffour, J.T. Simpson, E. Severi, L. Cowley, J. A. Bore, R. Koundouno, G. Dudas, A. Mikhail, N. Ouédraogo, B. Afrough, A. Bah, J. H. J. Baum, B. Becker-Ziaja, J. P. Boettcher, M. Cabeza-Cabrerizo, A. Camino-Sánchez, L. L. Carter, J. Doerrbecker, T. Enkirch, I. García-Dorival, N. Hetzelt, J. Hinzmann, T. Holm, *et al. Nature* 2016, **530**, 228.
- [13] G. Pérez-Mitta, A. G. Albesa, M. E. Toimil-Molares, C. Trautmann, O. Azzaroni, *ChemPhysChem* 2016, **17**, 1.
- [14] Z. Siwy, E. Heins, C. C. Harrell, P. Kohli, C. R. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, **126**, 10850.
- [15] a) G. Wang, B. Zhang, J. R. Wayment, J. M. Harris, H. S. White, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, **128**, 7679; b) G. Pérez-Mitta, L. Burr, J. S. Tuninetti, C. Trautmann, M. E. Toimil-Molares, O. Azzaroni, *Nanoscale* 2016, **8**, 1470.
- [16] H. Zhang, X. Hou, J. Hou, L. Zeng, Y. Tian, L. Li, L. Jiang, *Adv. Func. Mater.* 2015, **25**, 1102.
- [17] X. Hou, Y. Liu, H. Dong, F. Yang, L. Li, L. Jiang, *Adv. Mater.* 2010, **22**, 2440.
- [18] W. Guan, R. Fang, M. A. Reed, *Nat. Commun.* 2011, **2**, 506.
- [19] G. Pérez-Mitta, W. A. Marmisollé, C. Trautmann, M. E. Toimil-Molares, O. Azzaroni, *J. Am. Chem. Soc.* 2015, **137**, 15382.
- [20] S. Garreau, G. Louarn, J. P. Buisson, G. Froyer, S. Lefrant, *Macromolecules* 1999, **32**, 6807.
- [21] W. W. Chiu, J. Travaš-Sejdić, R. P. Cooney, G. A. Bowmaker, *J. Raman Spectrosc.* 2006, **37**, 1354.
- [22] A. Schaarschmidt, A. A. Farah, A. Aby, A. S. Helmy, *J. Phys. Chem. B* 2009, **113**, 9352.
- [23] F. J. Boerio, S. K. Bahl, G. E. McGraw, *J. Polym. Sci.* 1976, **14**, 1029.
- [24] S. Yang, S. Michielsen, *Macromolecules* 2003, **36**, 6484.
- [25] F. Adar, H. Noether, *Polymer* 1985, **26**, 1935.
- [26] P. Y. Apel, I. V. Blonskaya, S. N. Dmitriev, O. L. Orelovitch, A. Presz, B. A. Sartowska, *Nanotechnology*, 2007, **18**, 305302.
- [27] A. Elschner, S. Kirchmeyer, W. Lövenich, U. Merker, K. Reuter, *PEDOT: Principles and Applications of an Intrinsically Conductive Polymer*, CRC Press 2011.

- [28] G. Pérez-Mitta, J. S. Tuninetti, W. Knoll, C. Trautmann, , M. E. Toimil-Molares, O. Azzaroni, *J. Am. Chem. Soc.* 2015, **137**, 6011.
- [29] Z. W. Sun, A. J. Frank, *J. Chem. Phys.* 1991, **94**, 4600. (b) A.-N. Chowdhijry, Y. Harima, Y. Kunugi, K. Yamashita, *Electrochim. Acta* 1996, **41**, 1993.
- [30] A. Zykwinska, W. Domagala, B. Pilawa, M. Lapkowskia, *Electrochim. Acta* 2005, **50**, 1625.
- [31] A. Zykwinska, W. Domagala, M. Lapkowski, *Electrochem. Commun.* 2003, **5**, 603.
- [32] Y. Harima, T. Eguchi, Yamashita. *Synth. Met.* 1998, **95**, 69.
- [33] a) J. A. Arter, D. K. Taggart, T. M. McIntire, R. M. Penner, G. A. Weiss, *Nano. Lett.* 2010, **10**, 4858; b) Y. Wen, J. Xu, D. Li, M. Liu, F. Kong, H. He, *Synth. Met.* 2012, **162**, 1308.
- [34] H. Chun, T. D. Chung, *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2015**, **8**, 1.
- [35] M. Chabynec, *Nat. Mat.* 2014, **13**, 119.

Capítulo 8

Funcionalización no-covalente de nanocanales de estado sólido *via* el autoensamblado de “anfipols”

8.1. Introducción

El trabajo pionero de Martin y sus colaboradores permitieron el desarrollo de nanotubos cilíndricos recubiertos con oro modificados con cisteína que mostraban responsividad al pH de solución, demostrando la capacidad de los grupos funcionales anfólicos para modular la carga superficial de los nanocanales o nanoporos.¹ Estos conceptos fueron ampliados posteriormente hacia la manipulación de las propiedades de rectificación de nanocanales cónicos utilizando ensamblados de monocapas y cepillos poliméricos sobre las paredes de los canales.² Hasta el momento, la modulación de la carga superficial de nanocanales cónicos se ha realizado casi exclusivamente utilizando químicas covalentes con distintos grados de complejidad. Durante muchos años, la funcionalización química de nanocanales fabricados en películas poliméricas de politereftalato de etileno (PET), policarbonato (PC) o poliimida (PI) se ha centrado casi exclusivamente en la derivatización de los grupos carboxilos residuales en las superficies de los poros con bromuro de alquilo en presencia de KF como catalizador,³ metilación con diazometano,⁴ o amidación mediante la activación de grupos carboxilo superficiales con carbodiimida y la reacción subsiguiente con moléculas terminadas en amina que llevan la funcionalidad deseada (capítulo 4).⁵ Sin embargo, muchos de estos protocolos preparativos implican el uso de solventes orgánicos en etapas de reacción consecutivas que pueden comprometer la estabilidad estructural del canal. Este factor es particularmente importante en el caso de canales nanométricos, donde pequeñas variaciones en la dimensión de los poros pueden conducir a cambios drásticos en las propiedades de rectificación. Por este motivo, es particularmente deseable desarrollar métodos para la funcionalización no covalente de nanocanales sin necesidad de protocolos exigentes.

8.2. Alternativa de diseño nanofluidoico: interacciones no-covalentes

Para cumplir con este propósito de desarrollar técnicas simples de modificación de nanocanales en solución acuosa, el autoensamblado anfifílico⁶ ofrece un método rápido y adecuado para funcionalizar nanocanales de estado sólido, debido a la simplicidad y versatilidad de las interacciones hidrofóbicas que en definitiva permiten que las películas funcionales sean diseñadas y construidas a través de pasos muy sencillos.⁷ Por ejemplo, el extenso trabajo realizado por Armes y colaboradores demostró que la adsorción directa de copolímeros anfifílicos desde solución puede conducir a la formación de una amplia variedad de superficies responsivas a diferentes estímulos.^{7,8}

A pesar de sus posibles ventajas prácticas, el uso del autoensamblado anfifílico como estrategia no covalente para funcionalizar nanocanales asimétricos de estado sólido no ha sido explorado en forma detallada. Teniendo en cuenta las ideas existentes a partir de trabajos sobre el ensamblado de polímeros anfifílicos y conociendo los beneficios potenciales derivados de la integración de unidades "responsivas" en nanocanales de estado sólido, el objetivo de esta parte del trabajo de tesis ha sido explorar este nuevo paradigma conceptual mediante la creación de un "diodo nanofluidoico anfotérico" cuyas propiedades de transporte iónico sean reguladas por el pH de la solución. Para esta serie de experimentos se han modificado nanocanales cónicos previamente metalizados con polímeros anfóteros-anfipáticos, conocidos como "*anfipols (amphipols)*"⁹, los cuales proporcionan una estrategia prometedora, robusta y no covalente para ajustar con precisión las características de rectificación de los nanocanales con la opción de manipular el transporte de iones a través de ellos simplemente variando el pH ambiental.

8.3. Fabricación de nanocanales modificados con "Anfipols"

Materiales: Los nanocanales sintéticos se fabricaron en láminas de policarbonato (Makrofol N, Bayer Leverkusen) (espesor = 30 μm). El anfipol *poli (anhídrido maleico - alt - 1 - tetradeceno), 3- (dimetilamino) - 1 - propilamina (Amphipol)* se adquirió de Sigma - Aldrich y se usó tal como se recibió.

Medidas de SPR: Se utilizó un equipo SPR Navi 210 de Bionavis para medir la adsorción de los anfípoles en el sustrato de oro. El caudal durante el experimento se ajustó a 10 $\mu\text{l} / \text{min}$ y

se usó una concentración de 1 mg / ml de amphipol. Se utilizó el software WinSpall para calcular la concentración superficial y el espesor de la capa adsorbida.

Para la realización de estos experimentos fueron utilizados nanocanales cónicos de PC cuya fabricación se describió en el capítulo 3 (nanocanales cónicos). Después del *etching*, los nanocanales se metalizaron con *sputtering* de Au sobre el lado de la lámina correspondiente a la punta del nanocanal cónico (capítulo 6). Imágenes SEM muestran que los nanocanales producidos tienen un diámetro de base de (D) $\sim 4 \mu\text{m}$ y un tamaño de punta de (d) $\sim 60 \text{ nm}$ (Figura 8.1).

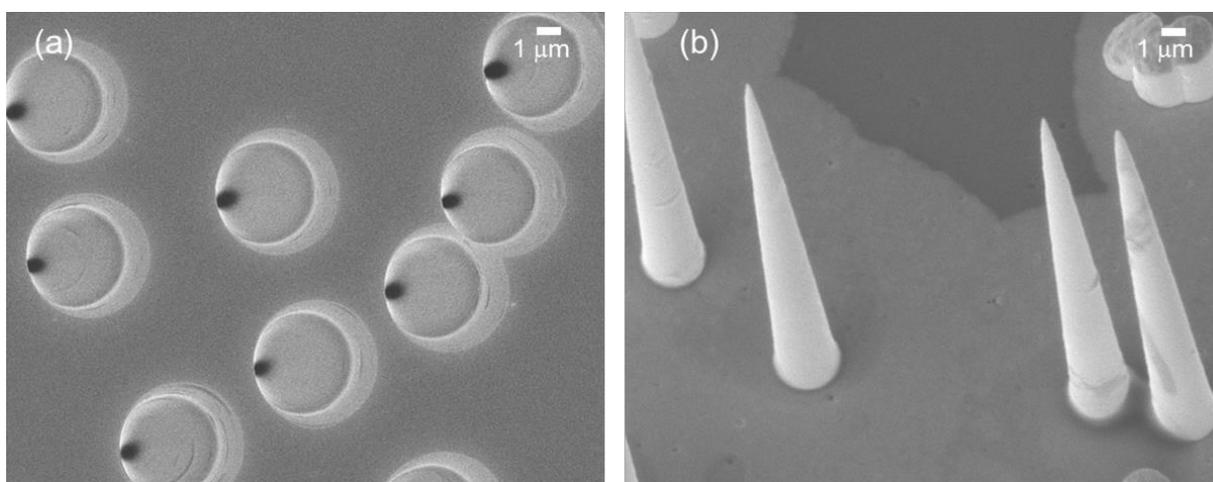


Figura 8.1. Imágenes SEM de los nanocanales cónicos (a) fabricados en PC y de nanoconos fabricados por el método de plantilla (b) tomados utilizando el detector de electrones secundarios bajo (LEI, a) y alto (SEI, b) del microscopio electrónico de barrido.

Con el fin de caracterizar la conductividad iónica de los nanocanales se realizaron medidas de curvas I-V antes y después (Figura 8.2 (a)) de la metalización con oro. Como puede verse en la figura 8.2 (a), hubo un aumento en el factor de rectificación de -2,5 a -9, como así también una disminución en la conductividad iónica de 345 nS a 98 nS después de la metalización. Si bien este fenómeno no fue observado sistemáticamente en todos los experimentos (como se puede ver en el capítulo 6), el efecto de mejorar la rectificación de los nanocanales mediante la deposición unilateral de metales ha sido descrito previamente por Hou *et al.*¹⁰

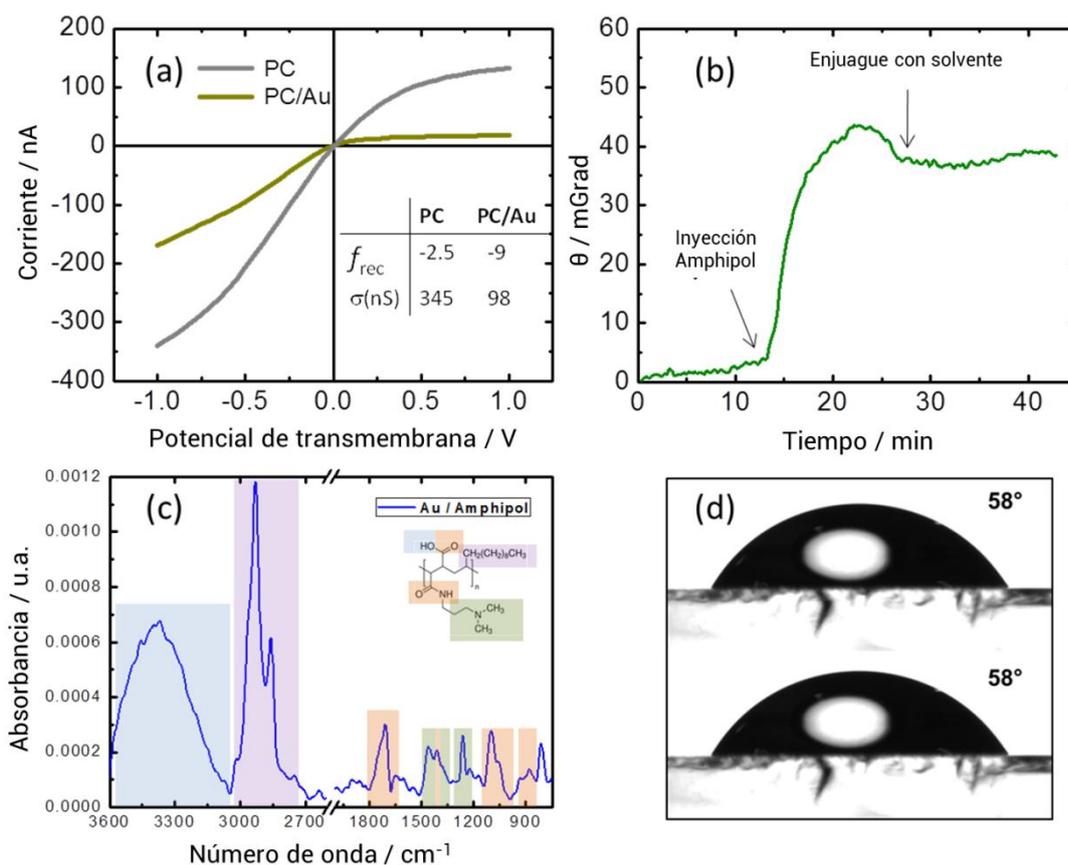
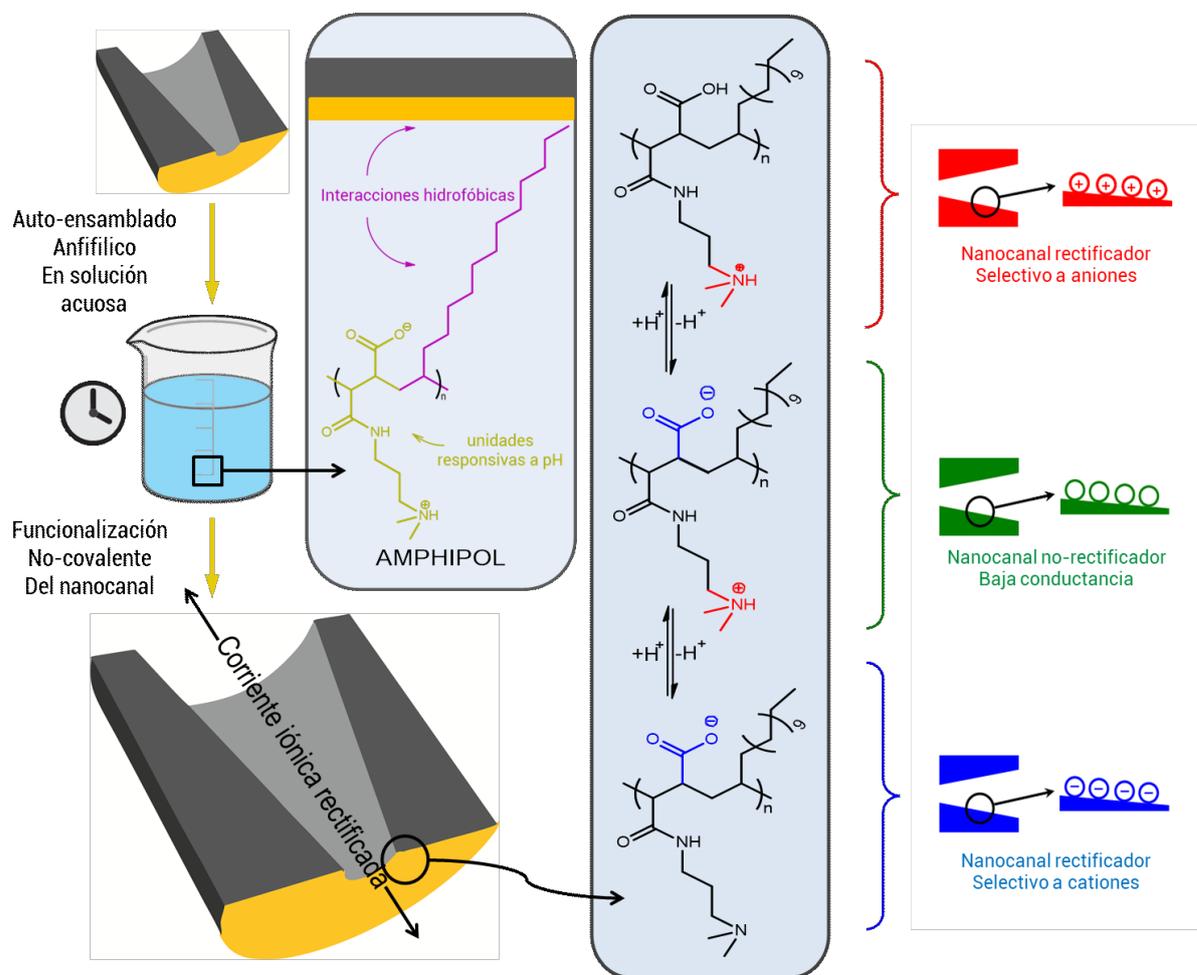


Figura 8.2. (a) Curvas de corriente-potencial para un nanocanal cónico antes (PC, curva gris) y después (PC / Au, curva amarilla oscura) del sputtering de oro sobre el lado de la punta. La inserción muestra el factor de rectificación f_{rec} y la conductividad iónica σ (nS) antes y después de la metalización. (b) Cambio en el ángulo mínimo de reflexión en función del tiempo durante la adsorción de anfipol (1 mg / ml) sobre una superficie de oro desnudo. La señal indica que el anfipol permanece inmovilizado sobre el sustrato después de enjuagar con agua. (c) Espectro IR de una superficie de oro modificada con anfipol, las mediciones se realizaron usando un modo de reflexión total atenuada. Los picos fueron remarcados con distintos colores para asignar fácilmente cada pico con su grupo funcional correspondiente. (d) Medidas de ángulo de contacto de una superficie de oro antes y después de la modificación con anfipols. Se observó un cambio en el ángulo de 72° a 58° . Los nanocanales utilizados durante estos experimentos tenían diámetros de base ~ 4000 nm y diámetros de punta con valores de ~ 50 nm.

En cuanto a las características de las curvas I-V, se observó que a potenciales negativos < -0.5 V la corriente se volvió no lineal con el voltaje con una tendencia de saturación (Figura 8.2

(a). A pesar de que hay reportes previos de este efecto utilizando nanocanales de estado sólido en la literatura, hasta donde sabemos que todavía no existe un modelo satisfactorio para explicarla.¹¹ Sin embargo, una posible explicación para este efecto podría encontrarse en el comportamiento típico de las membranas de intercambio catiónico, en las que la permselectividad de las membranas genera una polarización de concentración a través de los canales de la membrana (Capítulo 2) produciendo así una región de corriente limitante a potenciales altos.^{12,13} El procedimiento propuesto para funcionalizar el nanocanal a través de interacciones no covalentes se representa en el Esquema 1. En este enfoque, el polímero anfótero-anfifílico (anfipol) se adsorbió no covalentemente sobre las superficies expuestas mediante interacciones hidrofóbicas. La capa de anfipols unida no covalentemente contenía grupos carboxilato y aminos secundarias que pueden ser utilizados como grupos de carga regulable dependientes del pH, formando así un recubrimiento sensible a este último.



ESQUEMA 8.1. Diagrama esquemático que describe la funcionalización no covalente con anfipols de un nanocanal cónico. Se indica la estructura química del polímero anfifílico-anfótero y el equilibrio asociado al comportamiento dependiente del pH de las unidades

monoméricas protonables presentes en el polímero. Los dibujos del lado derecho muestran la carga neta de la superficie a pH, bajo (rojo, carga neta positiva), en el punto isoeléctrico (verde, sin carga neta) y a pH alto (azul, carga neta negativa).

Con el fin de probar la viabilidad de esta estrategia, primero se propuso optimizar el método de modificación. Para esto se utilizaron láminas planas de vidrio recubiertas con oro como sustratos modelo. La funcionalización irreversible no covalente de sustratos de oro se confirmó mediante *espectroscopía de resonancia de plasmón superficial* (SPR). Analizando el sensograma de SPR (figura 8.2), para el caso de una solución acuosa del *anfipol* (1 mg/ml) que fluyó a través de la celda líquida del SPR, se observó un fuerte aumento en la señal de SPR que no disminuyó incluso después de un enjuague extensivo con agua de-ionizada. Este hecho es indicativo de la presencia de una capa de *anfipol* depositada irreversiblemente sobre el sustrato recubierto de oro. Ajustando los valores obtenidos mediante el software provisto por el fabricante (WinSpall) se encontró un valor de cubrimiento superficial de 85 ng/cm² y un espesor de ~ 1 nm. Este valor indica que el recubrimiento de la superficie corresponde a una monocapa.

Para caracterizar adicionalmente la superficie modificada con el *anfipol*, se realizaron medidas de espectroscopia IR y ángulo de contacto (AC) sobre los sustratos poliméricos (Figura 8.2 (c) y (d)). Las medidas de AC indicaron un claro aumento en la mojabilidad de la superficie después de la modificación, confirmando así el éxito del proceso de modificación. Además, estos resultados permitieron suponer que los grupos ionizables de los *anfipols* están orientados hacia la solución acuosa. Las medidas de IR también confirmaron el éxito del procedimiento de modificación mostrando la aparición de picos característicos de los grupos funcionales presentes en el polímero (Figura 8.2 (c)).

Habiendo demostrado la capacidad de funcionalizar las superficies de oro con *anfipols*, se utilizó este procedimiento para la funcionalización de los nanocanales. Las membranas de PC anteriormente mencionadas que contienen un único nanocanal se recubrieron con Au solamente del lado de la lámina que contiene la punta del nanocanal cónico. Esto permitió homologar la superficie del poro con el sustrato de trabajo en donde se realizó la caracterización de SPR.

A continuación, las membranas de nanocanales previamente metalizadas se modificaron por inmersión simple en una solución acuosa 1 mg/ml de *anfipol* durante 2 horas. Posteriormente, las membranas se lavaron con agua Milli-Q y se montaron en la celda de conductividad.

8.4. Responsividad al pH del nanocanal modificado

La Figura 3 muestra las curvas I-V de un nanocanal cónico modificado con *anfipols* utilizando KCl 0,1 M (a diferentes pH) como la solución de electrolito. Teniendo en cuenta la naturaleza anfóterica del polímero anfipático adsorbido (Esquema 8.1), pudimos inferir que a pH fuertemente ácido la amina terciaria que decora la pared de poro llevaría grupos cargados positivamente correspondientes a $-N(CH_2)_3H^+$. Como es bien sabido a este punto, la presencia de rectificación requiere cargas superficiales con una distribución longitudinal asimétrica lo que se consigue generalmente por una asimetría en la geometría del nanocanal (capítulo 2), por ejemplo con una forma cónica. En nuestro caso observamos que a pH 2 la curva I-V mostró un comportamiento de rectificación bien definido lo que implicaría el transporte permselectivo de especies aniónicas (cloruros) a través del nanocanal cargado positivamente (Figura 8.3). Los mayores valores de eficiencias de rectificación (f_{rec}) - definido como la relación entre las corrientes medidas a un potencial de transmembrana dado (1V, en este caso) pero polaridades opuestas (capítulo 3) - obtenidos fueron de ~ 12 a pH alto y ~ 8 a pH bajo. Estos resultados son mayores a aquellos previamente reportados en la literatura usando nanocanales cónicos decorados con ensamblados de monocapa, $f_{rec} \sim 4$ y comparables a los valores reportados utilizando nanocanales decorados con cepillos poliméricos.^{14,15}

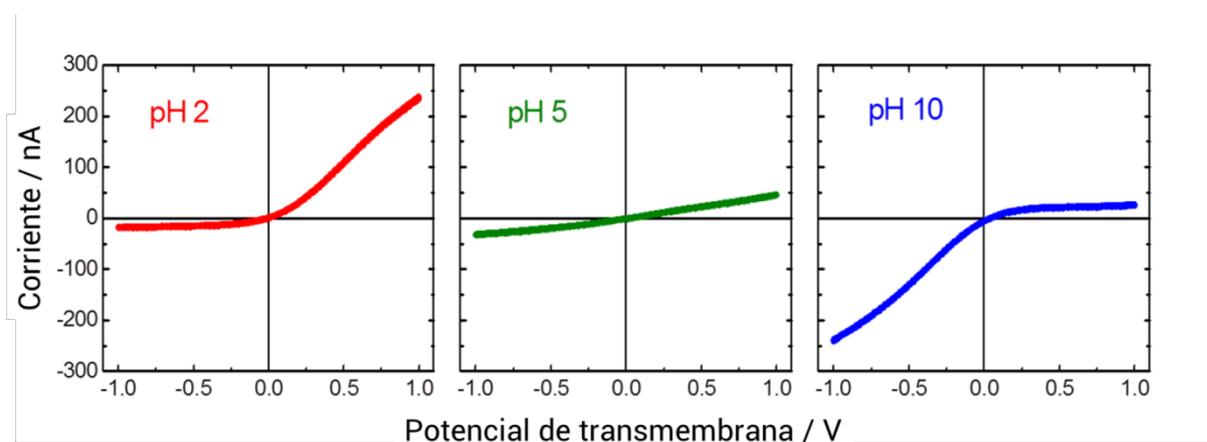


Figura 8.3. Curvas de corriente-voltaje de un nanocanal cónico modificado con *anfipols* a diferentes pH: pH = 2 (izquierda), pH = 5 (centro) y pH = 10 (derecha). Las tres curvas se midieron con el mismo nanocanal. Los nanocanales utilizados durante estos experimentos tenían diámetros de base ~ 4000 nm y diámetros de punta con valores de ~ 60 nm.

La Figura 8.4 muestra el efecto del pH sobre las curvas I-V de un nanocanal funcionalizado no covalentemente mediante auto-ensamblado anfifílico de *anfipols*. A valores de pH bajos,

las aminas terciarias se protonaron cargandose positivamente, mientras que los grupos carboxílicos (-COOH) permanecieron en estado eléctricamente neutro (estado protonado). Las cargas positivas que decoraban las paredes de los poros hicieron que el nanocanal fuese selectivo a los aniones y consecuentemente el dispositivo nanofluídico mostró las propiedades típicas de rectificación de los poros cónicos con cargas fijas positivas. En términos funcionales, en esta serie de experimentos, esto se tradujo en un estado de *alta conductividad* ("ON") para $V > 0$ y un estado de *baja conductividad* ("OFF") para $V < 0$. Por otra parte, a valores altos de pH, las aminas terciarias (-N(CH)₂) se desprotonaron (forma neutra), a la vez que los grupos carboxílicos se ionizaron (-COO⁻). Como resultado, el poro presentó cargas negativas en las paredes y el diodo nanofluídico se hizo selectivo a los cationes. Al contrario de lo observado a pH bajos, los estados "ON" y "OFF" en condiciones alcalinas aparecieron a $V < 0$ y $V > 0$, respectivamente. La transición entre ambos regímenes de rectificación ocurrió a pH = 5, que es el punto isoeléctrico aparente, PI_{app} , del *anfipol* que se caracterizó por un estado no rectificador. Nuevamente se presentó una estrategia nanofluídica para estudiar los estados de protonación de una molecula compleja, *i.e. titulación nanofluídica*.

El ajuste fino de las cargas de superficie y las propiedades de rectificación se demostraron mediante medidas I-V realizadas bajo diferentes condiciones de pH. Como se muestra en el Esquema 1, la naturaleza anfóterica de las unidades monómericas del anfipol implicó una variedad de estados de carga que fueron controlados termodinámicamente por el valor de pH de la solución. La Figura 8.5 muestra el efecto de cambios graduales en el pH en las curvas I-V del nanocanal funcionalizado. Al aumentar el pH de 2,2 a 3,0 la población de unidades de monómeros *zwitteriónicos* creció a expensas de la de la especie -N(CH)₂H⁺ dando como resultado una carga superficial neta menos positiva. La curva I-V indica que a pH ~ 3 se siguió observando un comportamiento de rectificación bien definido, pero con una disminución de la corriente rectificada. Obsérvese que la presencia de cargas positivas en las paredes de los poros promueve la exclusión de los cationes del dispositivo nanofluídico y consecuentemente, puede observarse un estado "OFF" de las corrientes iónicas rectificadas *impulsadas por cationes* para los valores de pH por debajo de PI_{app} . Simultáneamente, el estado "ON" de las corrientes iónicas rectificadas *impulsadas por aniones* pueden ajustarse fácilmente mediante ligeras variaciones de pH (Figura 8.5). Este hecho indica claramente que el *anfipol* adsorbido en la superficie del nanocanal permite la sintonización de la corriente rectificada.

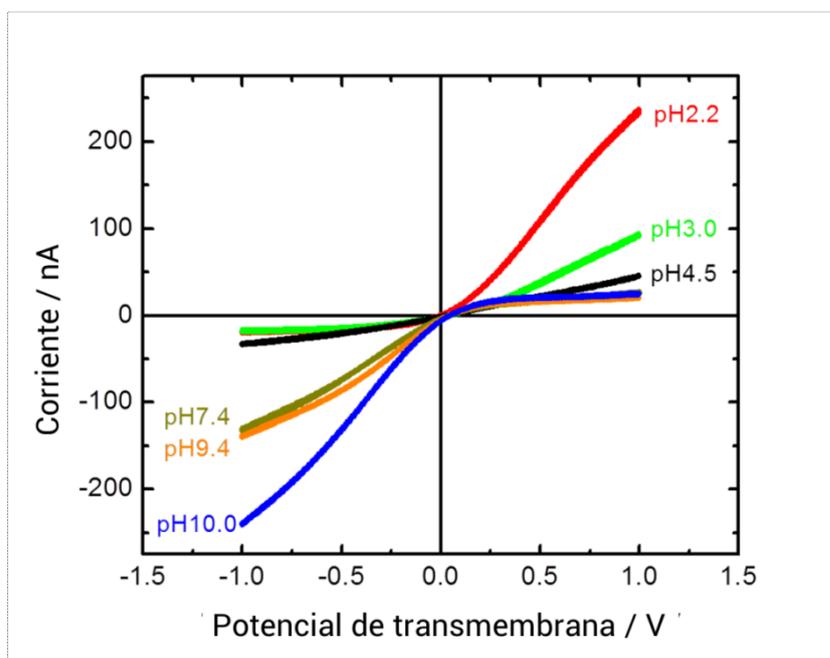


Figure 8.4. Curvas I-V de un nanocanal cónico modificado con anfipols medidas a diferentes valores de pH (usando KCl 0,1 M como electrolito). Los nanocanales utilizados durante estos experimentos tenían diámetros de base de ~ 4000 nm y diámetros de punta con valores de ~ 60 nm.

El aumento del pH a 4,5 dio como resultado una pérdida significativa tanto de la conductividad como del comportamiento de rectificación del canal. En el punto isoelectrico aparente (PI_{app}) del *anfipol* la carga neta era cero y el nanocanal no era selectivo a ningún tipo de ion (anion o cation). Esto dió lugar a la pérdida de rectificación y a una disminución de la conductividad iónica por un efecto de *gating* hidrofóbico. Un aumento adicional del pH por encima del punto isoelectrico aparente (PI_{app}) implicó un desplazamiento adicional del equilibrio *zwitteriónico* hacia la aparición de cargas negativas (COO^-), invirtiendo así las características de permselectividad y rectificación observadas a pH ácidos. En oposición a la tendencia observada en condiciones ácidas, la presencia de cargas negativas a valores altos de pH promuevió la exclusión de aniones del canal. En este caso se observó el estado "OFF" de las corrientes iónicas impulsadas por aniones a $pH > PI$ a la vez que el estado "ON" de las corrientes impulsadas por cationes se puede modular y amplificar fácilmente aumentando el pH (Figura 8.5). Tomados en conjunto, estos experimentos mostraron que el desplazamiento del equilibrio de protonación de los *anfipols* anclados no covalentemente permitió la modulación de las características de selectividad iónica y rectificación cambiando la concentración de protones en solución.

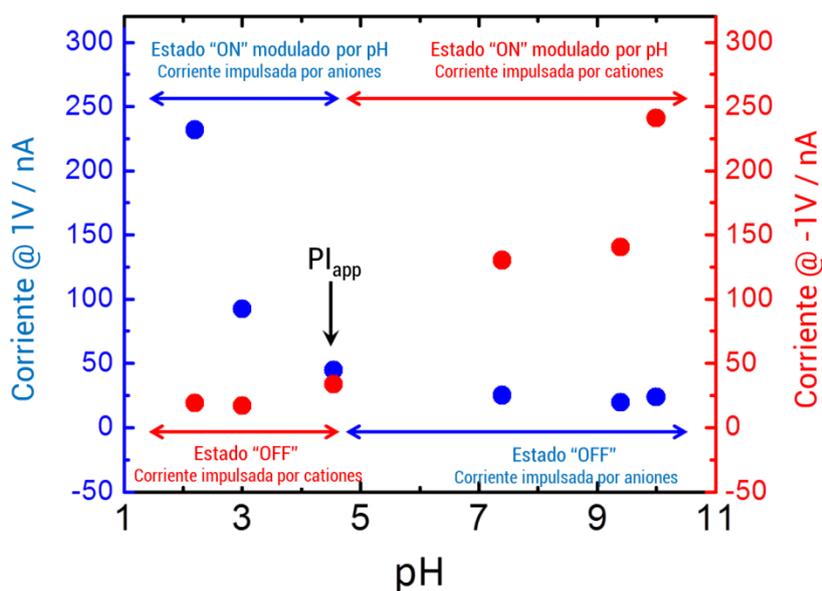


Figura 8.5. Cambios en las corrientes rectificadas versus el pH. Los datos en rojo y azul se refieren a las corrientes rectificadas medidas a -1 y 1 V, respectivamente. En la gráfica también se indican las regiones correspondientes a los estados de "encendido (ON)" y "apagado (OFF)" de las corrientes impulsadas por aniones y cationes que fluyen a través del diodo nanofluidoico. Los nanocanales utilizados durante estos experimentos tenían diámetros de base ~ 4000 nm y diámetros de punta con valores de ~ 60 nm.

La fabricación de dispositivos nanofluidoicos anfóteros a través de estrategias no covalentes plantea desafíos interesantes en el marco de la estabilidad del dispositivo. Como es bien sabido, la alteración del pH ambiental puede causar una reorganización estructural de la capa anfótera/anfipática con efectos concomitantes sobre las propiedades funcionales y reversibilidad del diodo nanofluidoico anfotérico. Por lo tanto, era muy importante demostrar su reversibilidad bajo condiciones de pH extremas. Con esto en mente, se repitieron las medidas de las curvas I-V usando la misma solución electrolítica a pH 2 y 10, alternativamente. Las medidas se realizaron cambiando manualmente las soluciones en la celda de conductividad. La Figura 8.6 presenta la variación reversible de la corriente iónica transmembrana medida a ± 1 V en presencia de cambios de pH consecutivos entre 2 y 10. Estas mediciones confirmaron la excelente reversibilidad del dispositivo nanofluidoico anfótero y proporcionaron evidencia concluyente de la estabilidad de la capa de *anfipol* unida no-covalentemente. Sin embargo, se observó que el sistema pierde su funcionalidad después de varios días de almacenamiento en agua o en aire, siendo posible recuperarla únicamente

mediante otra inmersión en la solución de *anfipol* (la solución inicial puede ser reutilizada para este fin). Este hecho no es necesariamente un inconveniente ya que permite el reciclado del nanocanal para experimentos adicionales. Además, el experimento completo se repitió tres veces con diferentes canales para probar la reproducibilidad del procedimiento, los resultados fueron concluyentes mostrando que el sistema puede ser completamente replicado.

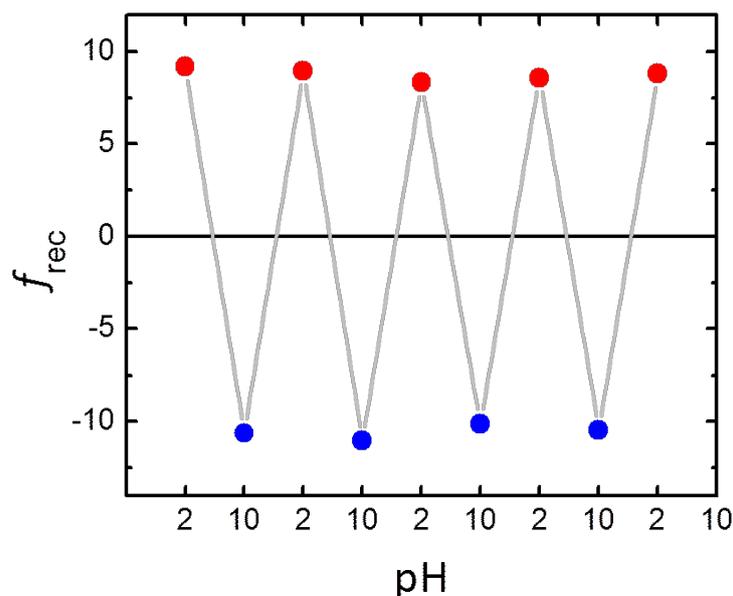


Figura 8.6. Variación reversible de la corriente iónica rectificadora que pasa a través de un diodo nanofluídico modificado con anfipols al alternar el pH ambiental entre 2 (círculos rojos, estado "ON": corriente impulsada por aniones, estado "OFF": corriente impulsada por cationes) y 10 (círculos azules, estado "ON": corriente impulsada por cationes, estado "OFF": corriente impulsada por aniones).

8.5. Influencia de la concentración de electrolito en la respuesta nanofluídica

Con el fin de tener una comprensión completa del comportamiento del diodo nanofluídico modificado con *anfipols* hemos explorado el efecto de la fuerza iónica en la eficiencia de rectificación del sistema. Para evaluar el efecto de la concentración de electrolitos, se registraron varias curvas I-V a diferentes pH (curvas de titulación nanofluídicas) utilizando tres concentraciones diferentes de KCl, 0,01 M, 0,1 M y 1 M. La Figura 8.7 muestra el comportamiento del factor de rectificación con el pH a diferentes concentraciones de KCl. Se encontró que no existe una diferencia importante entre las curvas de 0,01 M y 0,1 M en

términos de la eficiencia de rectificación, como puede verse comparando las curvas roja y azul. Por otro lado, existe una diferencia significativa entre las curvas a 0,01 M y 0,1 M con la curva a 1 M en la que la eficiencia de rectificación es menor en todo el rango de pH. Este efecto podría entenderse teniendo en cuenta que a una concentración de electrolito más alta la longitud de Debye disminuye, siendo de 0.30 nm para una solución de 1 M KCl (capítulo 2), aumentando por lo tanto el apantallamiento de las cargas superficiales. Como consecuencia, se redujo la permselectividad del sistema a cationes o a aniones.

Otra diferencia interesante en el comportamiento a diferentes concentraciones de electrolito estuvo en la magnitud de la corriente iónica alcanzada (Figura 8.8). La corriente iónica (conductancia) se cuadruplicó al cambiar de 0,01 M a 0,1 M y se sextuplicó al cambiar de 0,1 M a 1 M. Esto implica que usando diferentes concentraciones de electrolitos y diferentes pH, se puede lograr un ajuste completo de las propiedades de transporte del sistema tanto en la rectificación como en la magnitud de la corriente iónica.

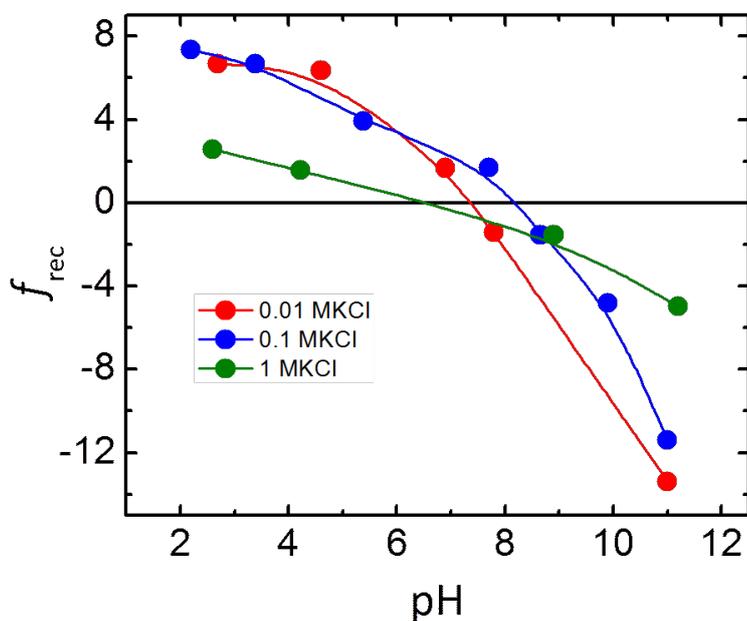
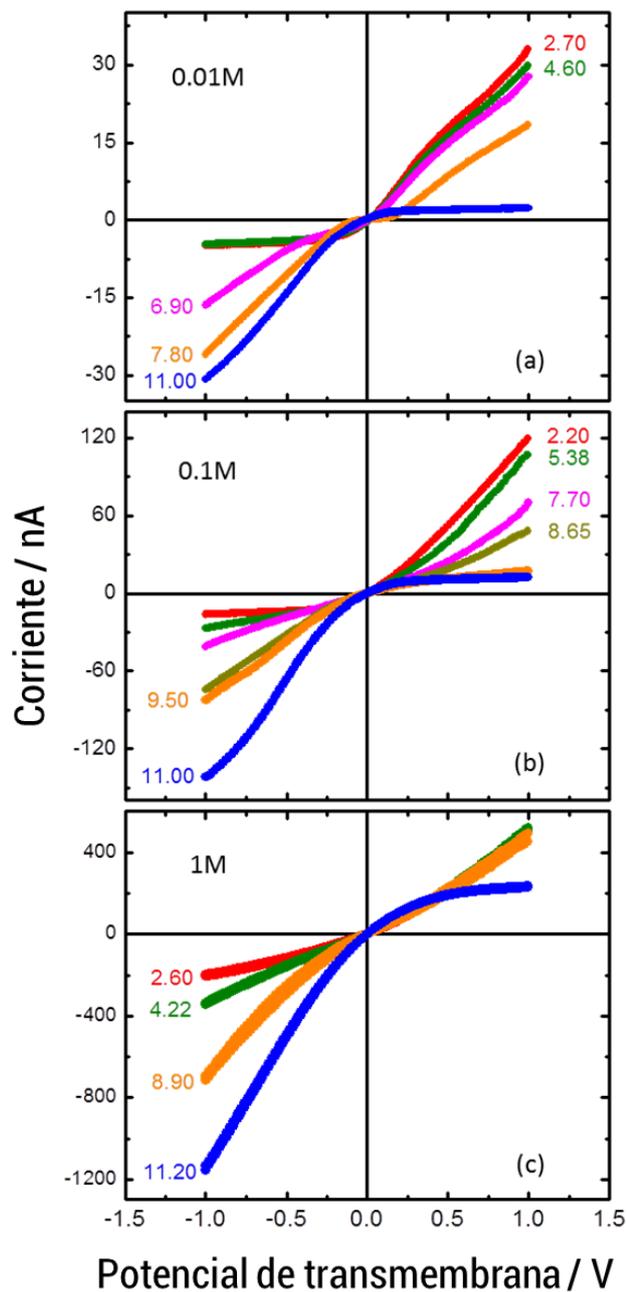


Figura 8.7. Factor de rectificación frente al pH para diferentes concentraciones de KCl, 0,01 M (curva roja), 0,1 M (curva azul) y 1 M (curva verde). Los nanocanales poseen diámetros de base ~ 4000 nm y diámetros de punta de ~ 60 nm.

Figura 8.8. Curvas IV a diferentes pH y una concentración de KCl de (a) 0,01M (b) 0,1M (c) 1 M. El pH al cual se midió cada curva se informa junto a la curva en el color respectivo. Estas curvas se midieron utilizando un nanocanal diferente del utilizado para las figuras 3 a 6 en el artículo.



8.6. Conclusiones

En resumen, en este capítulo hemos descrito la preparación de diodos nanofluidicos funcionales mediante un proceso de modificación no-covalente. Se ha demostrado que los polímeros anfipáticos-anfotéricos también conocidos como *anfipols*, son potentes bloques de construcción para modificar espontáneamente y en un solo paso la superficie de nanocanales de estado sólido. Este enfoque simple emplea la inmersión en soluciones acuosas diluidas que contienen el anfipol con funciones anfóteras predefinidas y que da lugar a un auto-ensamblado anfifílico en la superficie de los canales. El equilibrio químico dependiente del pH de sus unidades monoméricas permite un ajuste fino de la selectividad iónica y del transporte iónico rectificado. Los resultados demuestran que la química no covalente puede proporcionar un medio simple y robusto para dotar a los diodos nanofluidicos de características únicas. Este concepto adquiere gran relevancia teniendo en cuenta que recientemente los *anfipoles* modificados con ligandos se han utilizado para modificar superficies planas con fines de bioreconocimiento.¹⁶ Por lo tanto, los *anfipoles* no sólo ofrecen la posibilidad de adaptar la carga de superficie de los nanocanales, sino también la integración de sitios de reconocimiento. En este contexto, se infiere que las características particulares del ensamblado de *anfipoles* con respecto su la flexibilidad, velocidad, asequibilidad y versatilidad funcional en combinación con las propiedades de transporte de los nanocanales cónicos abrirían la puerta a nuevos nanodispositivos químicos sensibles a distintos estímulos.

8.7. Referencias

- [1] S. B. Lee, C. R. Martin, *Anal. Chem.* 2001, **73**, 768.
- [2] a) M. Ali, B. Yameen, J. Cervera, P. Ramírez, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, O. Azzaroni, 2010, **132**, 8338. b) B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, O. Azzaroni, *Nano Lett.* 2009, **9**, 2788. c) B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, O. Azzaroni, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, **131**, 2070.
- [3] a) Y. Maekawa, Y. Suzuki, K. Maeyama, N. Yonezawa, M. Yoshida, *Langmuir* 2006, **22**, 2832. b) J. Li, Y. Maekawa, T. Yamaki, M. Yoshida, *Macromol. Chem. Phys.* 2002, **203**, 2470.
- [4] C. A. Pasternak, G. M. Alder, D. T. Edmonds, C. W. Pitt, C. Terrace, P. Road, S. Petersburg, S. Petersburg, *Radiat. Meas.* 1995, **25**, 675.

- [5] a) J. Marchand-Brynaert, M. Deldime, I. Dupont, J.-L. Dewez, Y.-J. Schneider, *J. Colloid Interface Sci.* 1995, **173**, 236. b) A. Papra, H. G. Hicke, D. Paul, *J. Appl. Polym. Sci.* 1999, **74**, 1669. c) A. Mara, Z. Siwy, C. Trautmann, J. Wan, F. Kamme, *Nano Lett.* 2004, **4**, 497. e) M. Ali, B. Schiedt, K. Healy, R. Neumann, W. Ensinger, *Nanotechnology*, 2008, **19**, 085713.
- [6] Y.S. Lee, *Self-Assembly and Nanotechnology: A Force Balance Approach*, Wiley-Interscience, New York, 2008, pp. 125-145.
- [7] M. Ramanathan, L. K. Shrestha, T. Mori, Q. Ji, J. P. Hill, K. Ariga, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2013, **15**, 10580.
- [8] a) J. Du, Y. Tang, A. L. Lewis, S. P. Armes, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, **127**, 17982.
- [9] J.-L. Popot, T. Althoff, D. Bagnard, J.-L. Banères, P. Bazzacco, E. Billon-Denis, L. J. Catoire, P. Champeil, D. Charvolin, M. J. Cocco, G. Crémel, T. Dahmane, L. M. de la Maza, C. Ebel, F. Gabel, F. Giusti, Y. Gohon, E. Goormaghtigh, E. Guittet, J. H. Kleinschmidt, W. Kühlbrandt, C. Le Bon, K. L. Martinez, M. Picard, B. Pucci, J. N. Sachs, C. Tribet, C. van Heijenoort, F. Wien, F. Zito, M. Zoonens, *Annu. Rev. Biophys.* 2011, **40**, 379.
- [10] X. Hou, H. Dong, D. Zhu, L. Jiang, *Small* 2010, **6**, 361.
- [11] a) B. Schiedt, K. Healy, A. P. Morrison, R. Neumann, Z. Siwy, *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms* 2005, **236**, 109. b) J.H. Wang, C.R. Martin, *Nanomedicine* 2008, **3**, 13-20. c) E. B. Kalman, O. Sudre, I. Vlassiouk, Z. S. Siwy, *Anal. Bioanal. Chem.* 2009, **394**, 413–419. d) B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, O. Azzaroni *Small* 2009, **5**, 1287–1291.
- [12] S. J. Kim, Y.-C. Wang, J. H. Lee, H. Jang, J. Han, *Phys.Rev.Lett.* 2007, **99**, 044501.
- [13] V. M. Barragán, C. Ruíz-Bauzá *J. Col. Int. Sci.* 1998, **205**, 365–373.
- [14] M. Ali, S. Nasir, P. Ramirez, J. Cervera, S. Mafe, W. Ensinger, *ACS Nano* 2012, **6**, 9247.
- [15] B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, and O. Azzaroni, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, **131**, 2071.

[16] H. Basit, K. S. Sharma, A. Van der Heyden, C. Gondran, C. Breyton, P. Dumy, F. M. Winnikb , P. Labbé, *Chem. Commun.*, 2012,**48**, 6037.

Capítulo 9

Dispositivos nanofluídicos fabricados mediante la integración electroestática de polielectrolitos en nanocanales de estado sólido

9.1. Introducción

Como se mencionó en el capítulo 3, hasta el momento, se han desarrollado varios enfoques para la construcción de dispositivos nanofluídicos artificiales, ya sean puramente biológicos o totalmente abióticos;¹ cada uno de ellos con ventajas y desventajas particulares. Entre los problemas más comunes exhibidos por los poros biológicos podemos mencionar la falta de estabilidad mecánica. En el caso de los poros artificiales, el problema principal es que el tipo de material que se puede usar depende de la técnica de fabricación. Por ejemplo, la técnica del haces de iones enfocados exige que el grosor del sustrato que contenga el nanocanal no exceda de unas decenas de nanómetros.² En este sentido, el método de *ion-track-etching* (capítulo 3) utilizado en esta tesis emerge como uno de los procedimientos más interesantes para la obtención de nanocanales abióticos. La principal ventaja de esta técnica es su flexibilidad para adaptar la geometría y el tamaño de los nanocanales a los requerimientos de cada experimento. Además, esta técnica se puede adaptar a una amplia variedad de materiales.^{3,4,5}

Como se ha discutido en el capítulo 2, para regular la rectificación de un nanocanal y el transporte selectivo de especies iónicas, es necesario regular la carga superficial del nanocanal de manera controlada lo se puede hacer por varios medios, como se ha demostrado en los capítulos precedentes, por medios tanto químicos como físicos.⁶⁻¹⁰

Por otro lado, el autoensamblado electrostático de polielectrolitos representa un método que se ha utilizado en los últimos años para obtener dispositivos inteligentes y funcionales en una variedad de geometrías confinadas.¹¹ A pesar de que se han demostrado aplicaciones prometedoras de este método supramolecular simple y versátil, el comportamiento de los

polielectrolitos en confinamiento extremo, es decir, confinados en estructuras cuyas dimensiones son del orden molecular, aún no se entiende completamente.¹²⁻¹⁴ En este capítulo se discutirán una serie de experimentos que tienen el objetivo de demostrar la enorme utilidad y aplicabilidad de la modificación de nanocanales de estado sólido con polielectrolitos. Para ello se utilizó el polímero Poli(alilamina) (PAH) en todos los experimentos, el cual es uno de los polielectrolitos débiles más utilizados. En la primera sección de este capítulo se abordará de forma experimental y teórica el comportamiento de la PAH dentro de nanocanales cónicos en función del pH, relacionando la respuesta nanofluidica observada con el estado químico del polímero dentro de los canales. En la segunda parte, se estudiará la interacción de PAH con iones fosfato en solución, también buscando correlacionar los cambios de la respuesta nanofluidica del nanocanal con cambios en el comportamiento físico-químico del polímero con las interacciones con los iones fosfato. El análisis teórico realizado en estas dos secciones se realizó por simulaciones Monte Carlo (método estocástico) y resolución de ecuaciones Poisson-Nernst-Planck (modelo analítico). En la última sección se presenta un nuevo concepto de biosensor basado en la inclusión de enzimas - cuyos productos de reacción generen un cambio de pH - en el sistema nanocanal-polielectrolito.

9.2. Enfoque no covalente hacia la construcción de diodos nanofluidicos con propiedades de rectificación reversibles controlables mediante el pH

9.2.1. Estudio de polielectrolitos en nanoconfinamiento

Hasta la fecha, se ha estudiado la conformación de polielectrolitos dentro de los nanocanales mediante porometría de flujo de gas y microscopía electrónica de barrido. Estas investigaciones revelaron que los polielectrolitos tienden a formar nanohilos o nanotubos dentro de los canales para diámetros de nanocanales menores y mayores a ~200 nm, respectivamente.^{15,16} Sin embargo, estos experimentos se realizaron en condiciones secas y, en consecuencia, la información sobre la conformación de los polímeros no puede extrapolarse a experimentos nanofluidicos en los que los polímeros están en estado hidratado. Como alternativa, se puede recurrir al modelado teórico para obtener información sobre el efecto del confinamiento de los polímeros en entornos acuosos. Existen numerosos ejemplos en la

literatura sobre las ventajas de los enfoques teóricos para comprender el comportamiento de las especies bajo confinamiento nanométrico.^{17,18}

En esta sección, se explorará la modificación de superficies de nanocanales de estado sólido con el polication *clorhidrato de polialilamina* (PAH) y estudiarán los cambios asociados en la carga superficial de los nanocanales en función de la concentración de protones en solución. Como resultado, se obtuvo y se caracterizó un dispositivo nanofluídico sensible al pH que mostraba una rectificación iónica totalmente controlable y reversible. Con el fin de obtener una comprensión fisicoquímica completa del sistema, los experimentos fueron acompañados por cálculos teóricos basados en las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck (PNP) y simulaciones Monte-Carlo (MC). De acuerdo a nuestro conocimiento, esta es la primera vez que se utilizan simulaciones MC para explicar resultados experimentales observados en sistemas nanofluídicos modificados con especies protonables.

9.2.2. Métodos Teóricos

9.2.2.1. Modelo analítico

Con el fin de obtener información sobre la geometría y la carga superficial de los nanocanales después de la modificación con PAH, se utilizó un modelo teórico basado en el formalismo unidimensional de Poisson-Nernst-Planck (PNP) tal como está descrito en el apéndice 2. Se modelaron nanocanales tipo bala usando parámetros obtenidos experimentalmente. Se obtuvieron diámetros de apertura (base) de ~500 nm por microscopía electrónica de barrido de membranas multicanal (Figura 9.1). Otros parámetros tales como el perfil longitudinal y la carga superficial nativa del nanocanal se obtuvieron de la literatura. Se encontraron valores para la densidad de carga superficial del nanocanal entre 1,5 y 1,7 $|e|/\text{nm}^2$. Con estos parámetros, los mejores ajustes de las curvas I-V experimentales dieron como resultado un diámetro para la apertura pequeña (punta) de **20 nm**.

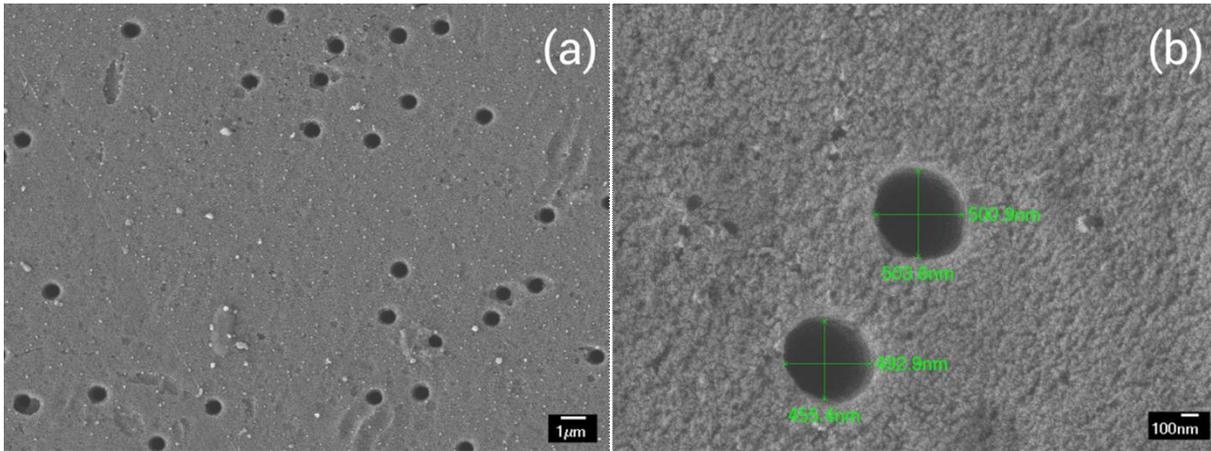
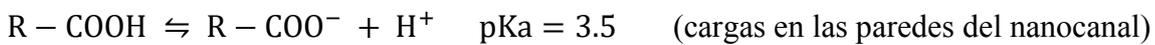
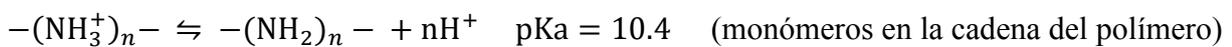


Figura 9.1. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) tomadas utilizando una magnificación de $\times 5000$ (a) y $\times 35000$ (b).

9.2.2.2. Simulaciones Monte Carlo (MC)

Se realizaron simulaciones MC para estudiar la influencia del nanoconfinamiento sobre el equilibrio ácido-base de un polielectrolito débil, en este caso: PAH. El equilibrio ácido-base tiene una fuerte influencia sobre los resultados experimentales nanofluídicos medidos como corrientes transmembrana.

Para estas simulaciones se utilizó una caja de simulación que contenía un poro de 5 nm de diámetro con una longitud de 20 nm. Tanto los monómeros de PAH como los grupos de ácido carboxílico nativos en las paredes del nanocanal se consideraron grupos iónicos débiles con los siguientes equilibrios ácido-base,



El comportamiento ácido se investigó en el conjunto gran canónico. Para realizar las simulaciones se eligió aleatoriamente un monómero y se intentó cambiar su estado de carga. El cambio de energía libre, ΔE , que gobierna el éxito del intento, se puede describir en términos de dos contribuciones principales: el cambio en las interacciones coulombicas entre monómeros, cationes y aniones, ΔE_{total} , y el cambio de energía libre correspondiente a la reacción ácido-base de un monómero aislado,^{19,20}

$$\Delta E = \Delta E_{\text{total}} \pm k_B T \log(\text{pH} - \text{pK}_i) \quad (1)$$

donde pH es el pH del sistema, y pK_i es el pK_a intrínseco del monómero o los grupos carboxílicos en las paredes de los poros. El signo más en la ecuación se utiliza cuando el monómero es protonado y el signo menos cuando se desprotona.

9.2.3. Modificación de nanocanales con PAH

Materiales: El clorhidrato de polialilamina (PAH, $M_w = 15$ kDa) fue adquirido de Sigma-Aldrich y se usó tal como se recibió. Las láminas de PET se irradiaron con un solo ion (Hostaphan RN 12, Hoechst) en el acelerador lineal UNILAC en GSI (Darmstadt, Alemania, <http://www.gsi.de>) con iones pesados rápidos (Au) que tenían una energía de 11,4 MeV por nucleón.

Modificación con clorhidrato de polialilamina (PAH): Las membranas con nanocanales se modificaron mediante recubrimiento por inmersión en una solución acuosa de PAH 10 mM (en unidades monoméricas) a pH 6 durante 2 horas. Las membranas se enjuagaron varias veces con agua destilada y se secaron en condiciones ambientales.

Los nanocanales asimétricos exhiben la capacidad de rectificar la corriente iónica que pasa a través de ellos en función del signo y de la magnitud de las cargas superficiales expuestas en sus paredes.²¹ Esto ocurre, en principio, porque los nanocanales cargados son altamente selectivos a especies iónicas de signo opuesto de la superficie.²²

La carga negativa nativa de los nanocanales deriva de la naturaleza química del PET ya que la hidrólisis realizada durante el *etching* químico del nanocanal conduce a la aparición de grupos carboxilato en la superficie. Estos grupos negativos se utilizaron para el ensamblado electrostático de PAH, un polication que interactúa fuertemente con especies negativas (Figura 9.2).

Después de la modificación con PAH, se midieron curvas I-V a diferentes valores de pH. La Figura 9.2 muestra las curvas I-V para un nanocanal modificado con PAH en KCl 0,1 M medido bajo diferentes condiciones de pH y las respectivas curvas simuladas usando el modelo PNP. El cambio en la forma de las curvas I-V siguió una tendencia continua que se puede observar claramente en los gráficos de f_{rec} vs. pH (Figura 9.3). En el intervalo de pH comprendido entre 4-8 se observó una reversión en la dirección de rectificación, es decir: se

observó la reversión del signo de f_{rec} . Este resultado fue reproducido en diferentes nanocanales.

El comportamiento del factor de rectificación con el pH mostró una región de baja rectificación extendida entre pH 5 y 8. El modelo PNP se utilizó entonces para correlacionar los factores de rectificación con la densidad de carga superficial en las paredes de los nanocanales, encontrándose que esta región exhibió una carga neta cercana a cero. Por esta razón, se optó por referirse a esta región como la *región isoeléctrica* (RI) (Figura 9.3). Para cuantificar la variación en magnitud y signo de la carga superficial con el pH, se calculó la carga para cada curva experimental medida bajo diferentes condiciones de pH (Figura 9.3b).

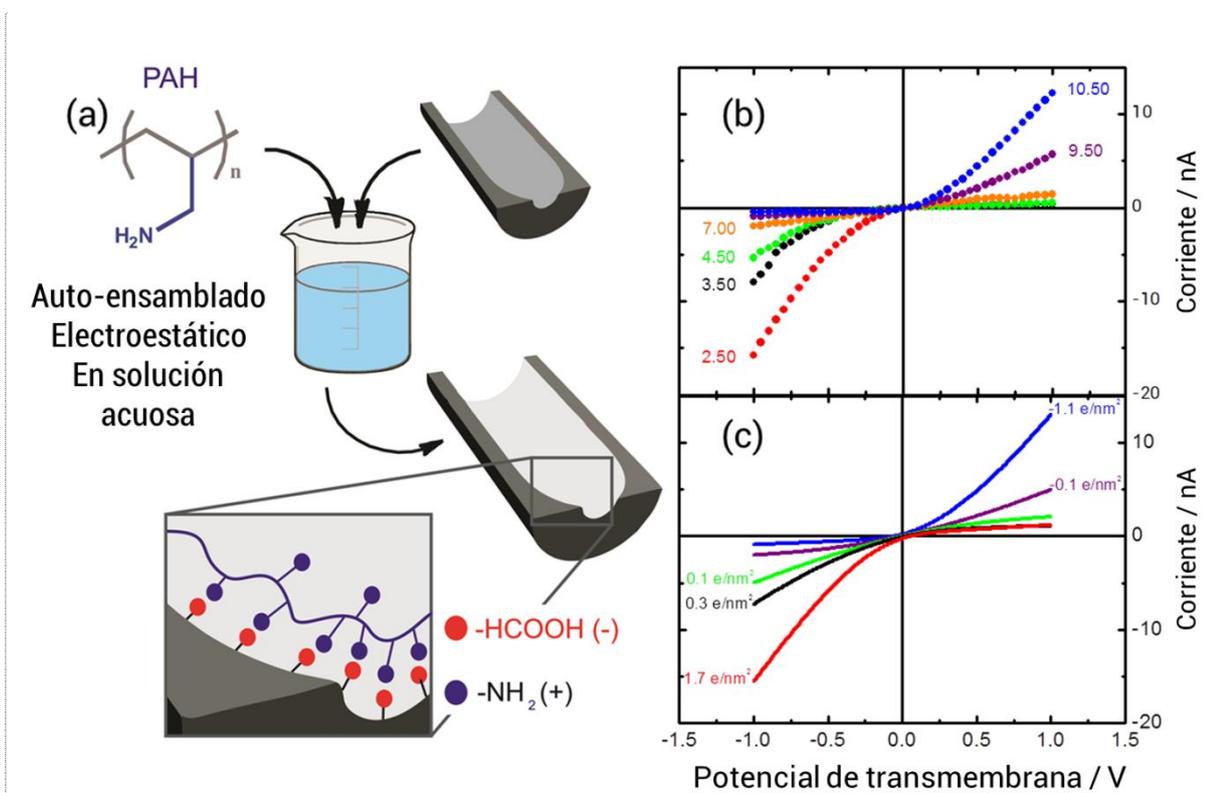


Figura 9.2. (a) Esquema que muestra la modificación del nanocanal con PAH y los grupos ionizables en la superficie. (b) Curvas experimentales del nanocanal modificado bajo diferentes condiciones de pH (c). Curvas teóricas del nanocanal modificado con diferentes cargas superficiales.

El valor máximo obtenido para un nanocanal modificado con PAH a pH bajos fue de $1.7|e|/nm^2$, el cual era cercano a la magnitud de la densidad de carga aniónica nativa del nanocanal. Por otra parte, la carga superficial negativa máxima obtenida a pHs altos tras la modificación fue de $-1.1|e|/nm^2$ que era ligeramente inferior a la carga superficial inicial del

nanocanal. Esta diferencia se puede explicar teniendo en cuenta que las cargas negativas sólo pueden surgir de la superficie de PET debajo de la capa de PAH. Después de la modificación, a pH altos, el PAH y los grupos carboxílicos del canal comenzaron a desprotonarse hasta que la carga neta se volvió negativa debido a los grupos carboxilato ionizados presentes en la lámina de PET. El hecho de que esta carga neta negativa sea inferior al valor inicial puede explicarse considerando que algunos grupos de la PAH deben permanecer protonados incluso a pH altos. De hecho, esto fue confirmado por las simulaciones Monte Carlo. Estas simulaciones mostraron que el PAH siguió estando ligeramente protonado (cargado), incluso a valores de pH muy altos (Figura 9.3).

La Figura 9.3c muestra que aún a valores de pH tan altos como 12, el 10 % de los grupos amina del PAH todavía sigue protonado. Considerando las cargas electrostáticas procedentes del polímero protonado y la superficie, fue posible calcular las contribuciones a la carga superficial que surgieron del polímero adsorbido y la superficie del nanocanal (Figura 9.3b).

A partir de estos resultados se puede observar que dentro de la *región isoeléctrica* (RI) tanto los grupos carboxílicos nativos del nanocanal como los grupos amino del polímero adsorbido permanecieron en un estado altamente cargado, interactuando fuertemente entre sí. La carga neta dentro del canal en la región isoeléctrica también se estudió mediante simulaciones MC (Figura 9.3b, curva roja). A partir de las simulaciones MC, concluimos que la región de pH entre 5 y 8 (RI) puede interpretarse como una región donde hay una carga negativa significativa proveniente de los grupos *carboxilato* altamente *desprotonados* (Figura 9.3c, curva verde) y cargas positivas de los grupos *aminas* de PAH que se encuentran, a su vez, altamente *protonados* (Figura 9.3c, curva azul). Aunque ambos grupos están fuertemente cargados, se produce la neutralización electrostática local y la carga neta es cero.

Trabajos previos han demostrado teórica y experimentalmente que el pK_a de un polielectrolito débil cambia en la medida que aumenta el confinamiento. Para el caso de las polibases como la PAH se espera un cambio en el pK_a hacia valores más altos debido a la pérdida de grados de libertad.²³⁻²⁶ Estas observaciones previas están de acuerdo con nuestros resultados. Es importante señalar que ambos métodos, PNP y MC, están en excelente acuerdo entre sí así como también con los resultados experimentales.

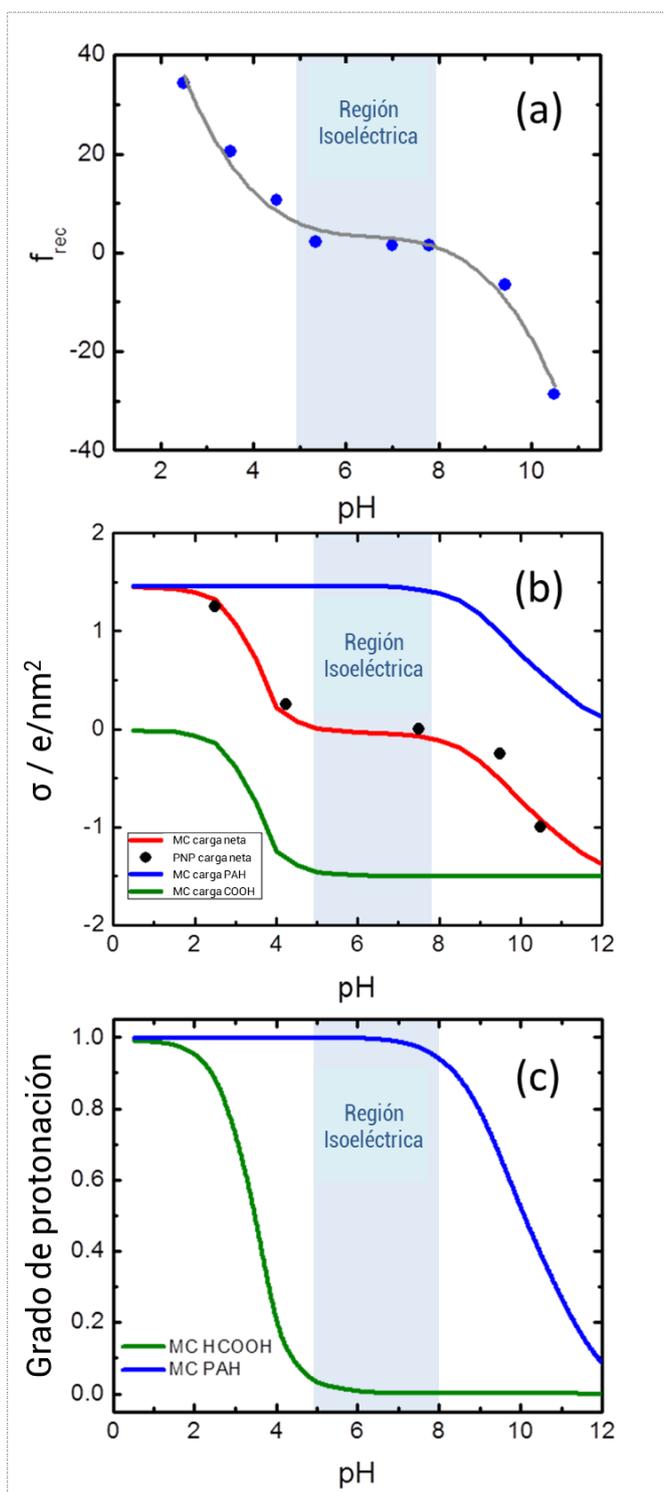
A pesar de que el modelo PNP nos permitió ajustar con precisión los resultados experimentales, evidenció ciertas dificultades a valores de pH extremos. El factor de rectificación máximo obtenido para las simulaciones fue de 15 mientras que los valores

máximos experimentales fueron de ~ 30 . La diferencia entre los valores experimentales y teóricos proviene principalmente de las corrientes iónicas en la rama de baja conductividad en las curvas I-V. Para el cálculo de los factores de rectificación (Capítulo 2), pequeñas diferencias en estos valores de corriente pueden producir grandes variaciones en los valores f_{rec} . Diferencias similares has sido reportadas anteriormente.²⁷ **¡Error! Marcador no definido. ¡Error! Marcador no definido.** Una de las causas de estas discrepancias podría ser una inhomogeneidad en la carga superficial que podría existir en nanocanales reales y que no se tiene en cuenta en la teoría.

Además, es importante tener en cuenta que el modelo PNP supone que la carga es unidimensional mientras que en nuestros experimentos se espera que la carga tenga una distribución tridimensional debido a la presencia del polímero adsorbido.²⁸ A este respecto, se demostró teóricamente que en nanocanales modificados con polielectrolitos con un grado de polimerización de 40, pueden alcanzarse factores de rectificación hasta 42.²⁷ Sin embargo, sería necesario realizar más investigaciones para dilucidar estas cuestiones.

Otra cuestión importante a tratar era la reversibilidad del sistema, es decir, la capacidad de exponer el sistema a ciclos sucesivos de valores de pH extremos sin perder su capacidad de respuesta. Se ha demostrado que en sustratos planos la aplicación de condiciones extremas de pH y de fuerza iónica puede conducir al desmontaje de multicapa de polielectrolito, especialmente cuando está constituido por polielectrolitos débiles.²⁹⁻³¹ Esta característica se ha utilizado para la administración de fármacos controlando el desensamblado de estructuras en multicapa que contienen moléculas específicas en su interior. Sin embargo, en el caso de aplicaciones nanofluídicas, el desensamblado inducido por pH de la capa funcional es indeseado. La comprobación de la reversibilidad cambiando sucesivamente el pH de la solución electrolítica entre 2,5 y 10,5 confirmó la robustez del procedimiento de modificación (Figura 9.4).

Figura 9.3. (a) Factor de rectificación en función del pH para un nanocanal de PET modificado con PAH. (b) Densidad de carga superficial frente al pH derivado del ajuste de las curvas I-V experimentales utilizando las simulaciones Monte Carlo (MC) (curva continua roja) y del formalismo PNP (puntos negros). Se muestran también las cargas, calculadas mediante simulaciones MC, provenientes de los grupos carboxílicos del nanocanal (curva verde continua) y de los grupos amina del PAH (curva azul continua). (c) Grado de protonación frente al pH obtenido de las simulaciones de Monte Carlo.



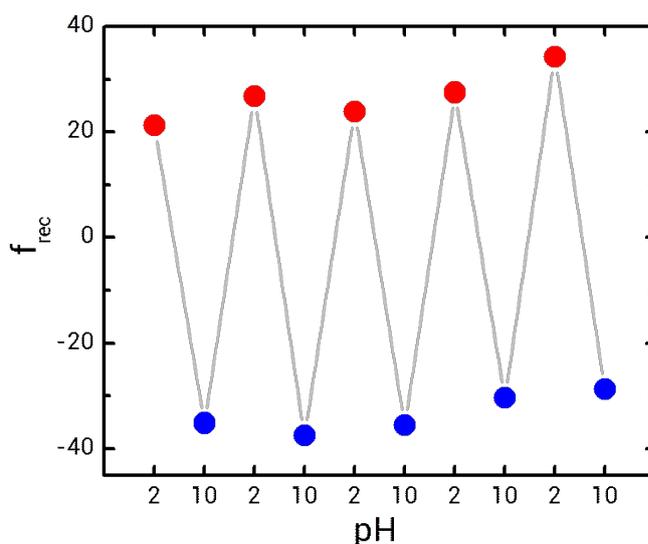


Figura 9.4. *Ensayo de reversibilidad: El f_{rec} se calculó a partir de experimentos medidos a pH extremos alternativamente. Se observa una alta reversibilidad.*

Se obtuvieron altas eficiencias de rectificación para cada ciclo. El f_{rec} normal para los nanocanales modificados con monocapas es de alrededor de ~ 5 . En nuestro caso obtuvimos f_{rec} de ~ 30 , un valor que es comparable con los valores obtenidos para nanocanales modificados con cepillos poliméricos densamente cargados, los cuales requirieron protocolos sintéticos más complejos. El hecho de que el PAH haya permanecido dentro del nanocanal incluso después de la exposición a un pH extremo puede explicarse considerando el grado de protonación del polielectrolito obtenido de las simulaciones MC (Figura 9.3). Estos resultados revelan que a pH bajos, las cadenas de PAH están completamente protonadas, mientras que los grupos carboxilato no. Por otra parte, a pH elevados, los grupos carboxilato están completamente desprotonados mientras que la PAH no. Sin embargo, incluso a valores extremos de pH tales como 2 o 10, hay grupos carboxilato y amina que permanecen desprotonados o protonados, respectivamente, permitiendo que las interacciones electrostáticas remanentes impidan que la PAH se desorba del canal.

Las características funcionales de este sistema experimental se parecen mucho a las observadas en los canales iónicos biológicos de la familia de KcsA. Esta familia de proteínas (canales iónicos) muestra *gating* de iones controlado por pH y voltaje.³² Como puede verse en la figura 9.5, el pH funciona como un interruptor de la corriente iónica “ON-OFF” a un potencial fijo. Este comportamiento se invirtió aplicando el voltaje opuesto. Esto significa que

mediante la aplicación de diferentes combinaciones de pH y potencial, el transporte selectivo de especies iónicas puede ser totalmente regulado.

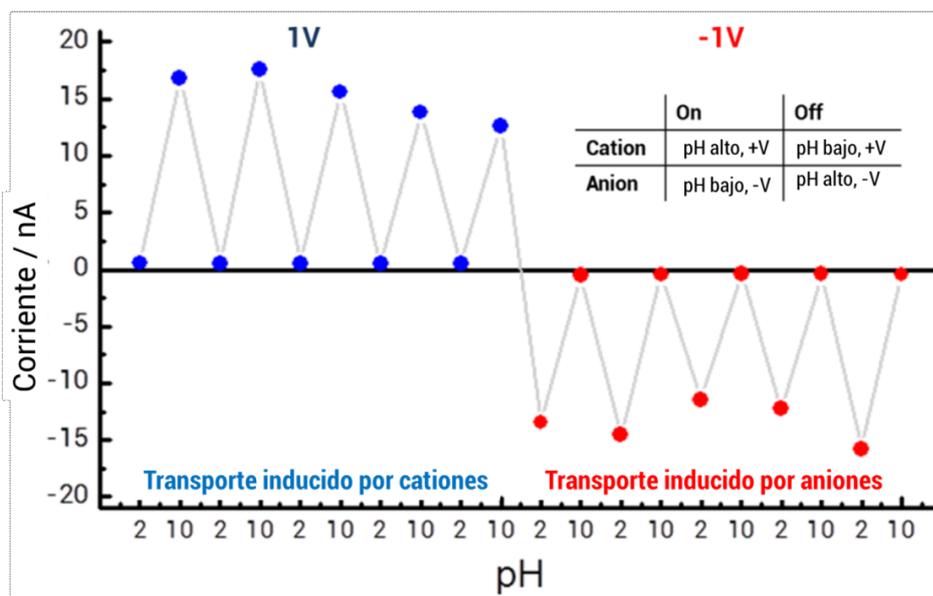


Figura 9.5. Corrientes iónicas medidas a diferentes pH y potenciales de membrana. Estos resultados muestran la capacidad de gating de un nanocanal modificado con PAH. Diferentes combinaciones de pH y voltaje permiten controlar el paso selectivo de iones a través del nanocanal.

9.2.4. Conclusiones

En resumen, en esta sección hemos demostrado una manera simple y eficaz para controlar las propiedades de transporte iónico de nanocanales asimétricos en presencia de diferentes concentraciones de protones en solución. El procedimiento consistió en recubrir una lámina que contenía nanocanales con un polielectrolito débil, *clorhidrato de polialilamina* (PAH). Se utilizaron las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck (PNP) para calcular las densidades de carga superficial en diferentes condiciones de pH y se realizaron simulaciones de Monte Carlo (MC) para estudiar la relación entre los grados de protonación de la capa de PAH, los grupos de superficie ionizables en el nanocanal y el pH de la solución. Se ha demostrado que las propiedades de transporte iónico del nanocanal se rigen por una delicada interacción entre los grupos carboxílicos negativamente cargados de las paredes de nanocanales y las aminas primarias positivamente cargadas de la capa de PAH. Se ha observado que el cambio en el grado de protonación de los grupos amina y carboxilato impide la eliminación de la capa de PAH del nanocanal debido a la presencia de cargas residuales, incluso en el caso de

condiciones extremas de pH. Además, se demostraron las capacidades del sistema para actuar como una compuerta iónica biomimética controlada por pH y voltaje. Teniendo en cuenta que la derivatización de los grupos amino pendientes de la capa de polialilamina con diferentes grupos químicos podría conferir a los nanocanales alguna respuesta predefinida, creemos que estos resultados pueden ser la piedra fundamental de más investigación hacia el diseño avanzado de dispositivos nanofluídicos. En las siguientes subsecciones se presentarán experimentos donde se profundiza la aplicación de este concepto de fabricación nanofluídico.

9.3. Diodos nanofluídicos biomiméticos responsivos a la concentración de fosfatos en solución regulados por interacciones poliamina-fosfato

9.3.1. Introducción

Durante la última década, la comunidad científica ha explorado a fondo diferentes tipos de estrategias (bio)químicas para controlar la naturaleza supramolecular, biológica y química de las paredes de los dispositivos nanofluídicos.^{33,34} En este sentido, estudiar y explotar las interacciones biológicas de los fosfatos en entornos confinados es de alta relevancia científica debido a que los fosfatos están involucrados en el metabolismo energético y son una parte importante de diversas moléculas de señalización como los ácidos nucleicos y lípidos. El mantenimiento de la concentración total de fosfatos constante en torno a 1,1 mM en todo el cuerpo es muy importante para una serie de funciones celulares y a su vez muchas enfermedades están relacionadas con un exceso o déficit de la concentración de fosfato en los medios celulares. Debido a esta necesidad de un control fino sobre su concentración para diversos procesos fisiológicos, existen varios canales biológicos encargados del transporte de fosfatos dentro y fuera de los medios intracelulares y celulares. Ejemplos claros de estos canales de proteína son la familia de cotransportadores sodio-fosfato SLC34.³⁵ Estos tipos de proteínas se encuentran en el intestino delgado y los túbulos proximales renales y son vitales para la homeostasis del fosfato.

Tanto la comprensión de estos procesos nanoconfinados como el diseño de un dispositivo nanofluídico sensible a fosfatos que imite el comportamiento de las proteínas de transporte de fosfato son de alto interés tanto científico como tecnológico.³⁶

En capítulos anteriores hemos demostrado que la combinación sinérgica de la nanotecnología y la química supramolecular es una estrategia adecuada para obtener materiales funcionales biomiméticos rentables con facilidad de producción.³⁷ En la actualidad existen de hecho varias aplicaciones tecnológicas nanofluídicas especialmente para biosensado.^{38,39} Sin embargo, se prevé que nuevas mejoras en el control de las propiedades superficiales de los sistemas nanofluídicos crearán nuevas oportunidades para modificar aún más el comportamiento del transporte iónico con fines específicos y ello conducirá al desarrollo de un gran conjunto de dispositivos tecnológicos nanofluídicos en los próximos años.⁴⁰ Por esta razón, existe un gran interés en mejorar la limitada comprensión de la fisicoquímica de materiales blandos confinados en nanoporos o nanocanales. Debido principalmente a la complejidad de obtener información experimental de estos sistemas, es importante hacer uso adicional de diferentes técnicas teóricas y computacionales para proporcionar una comprensión más completa de estos sistemas.

Con el fin de diseñar un dispositivo biomimético sensible al fosfato en solución, las interacciones biológicas de fosfatos y poliaminas pueden servir como fuente de inspiración ya que estas interacciones no covalentes son ampliamente relevantes en sistemas biológicos.⁴¹ Por ejemplo, los complejos de poliaminas y fosfatos llamados agregados nucleares de poliaminas (NAP), se encuentran dentro de una amplia variedad de células.⁴² Se sabe que estos complejos modulan los cambios en las moléculas de ADN más eficazmente que las poliaminas individuales.⁴³ También se ha sugerido recientemente que esta interacción específica de aniones fosfato con grupos amino de algunos componentes de la membrana desempeña un papel crucial en la modulación de las funciones alternativas del citocromo en condiciones preapoptóticas.⁴⁴ Estudios de P-RMN han revelado que las interacciones con fosfatos ocurren en todo el rango de pH donde una poliamina sintética típica, la polialilamina (PAH) se encuentra protonada y el fosfato es aniónico (aproximadamente 4 - 9).⁴⁵ Por otra parte, esta interacción específica entre las poliaminas y los fosfatos ha sido utilizada para invertir la carga superficial en ensamblados multicapa (capa-por-capa) de polielectrolitos.⁴⁶ Además, se demostró la adsorción específica de aniones fosfato sobre monocapas auto-ensambladas (SAM) terminadas en amino que invierten parcialmente la carga superficial e incluso mejoran la adsorción de proteínas cargadas positivamente.⁴⁷

Indagar acerca de la naturaleza fisicoquímica de la interacción entre los fosfatos y las poliaminas y cómo se comportan en entornos nanoconfinados es el primer paso para comprender estas interacciones biológicas fundamentales y para idear nuevos tipos de

biosensores sintéticos para moléculas que contienen fosfatos. Se han realizado varios intentos de modelización utilizando diferentes enfoques teóricos.⁴⁸ En el capítulo anterior hemos mostrado que una combinación entre un modelo continuo basado en las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck (PNP) y un modelo estocástico utilizando simulaciones Monte Carlo (MC) puede proporcionar información valiosa sobre la influencia de polielectrolitos funcionales en el transporte iónico de dispositivos nanofluídicos.

En esta sección, estudiaremos teórica y experimentalmente la fabricación de diodos nanofluídicos que responden a iones fosfato, basados en la modificación de un nanocanal polimérico por autoensamblado electrostático de *clorhidrato de polialilamina* (PAH). El PAH es el modelo arquetípico de poliamina y ha sido ampliamente utilizado para producir estructuras supramoleculares que se asemejan a sistemas biológicos.⁴⁹ Mostraremos que las interacciones fosfato-poliamina dictan la capacidad de respuesta de este dispositivo nanofluídico. En este sentido, mostraremos que el comportamiento de la corriente iónica en soluciones está correlacionado con la concentración de aniones fosfato. Para tener una comprensión fisicoquímica completa del sistema, se realizó un análisis teórico utilizando un modelo de transporte continuo basado en las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck y un estudio de los equilibrios de unión de iones utilizando simulaciones Monte Carlo. Vale destacar que este análisis teórico condujo a una buena comprensión de los resultados experimentales.

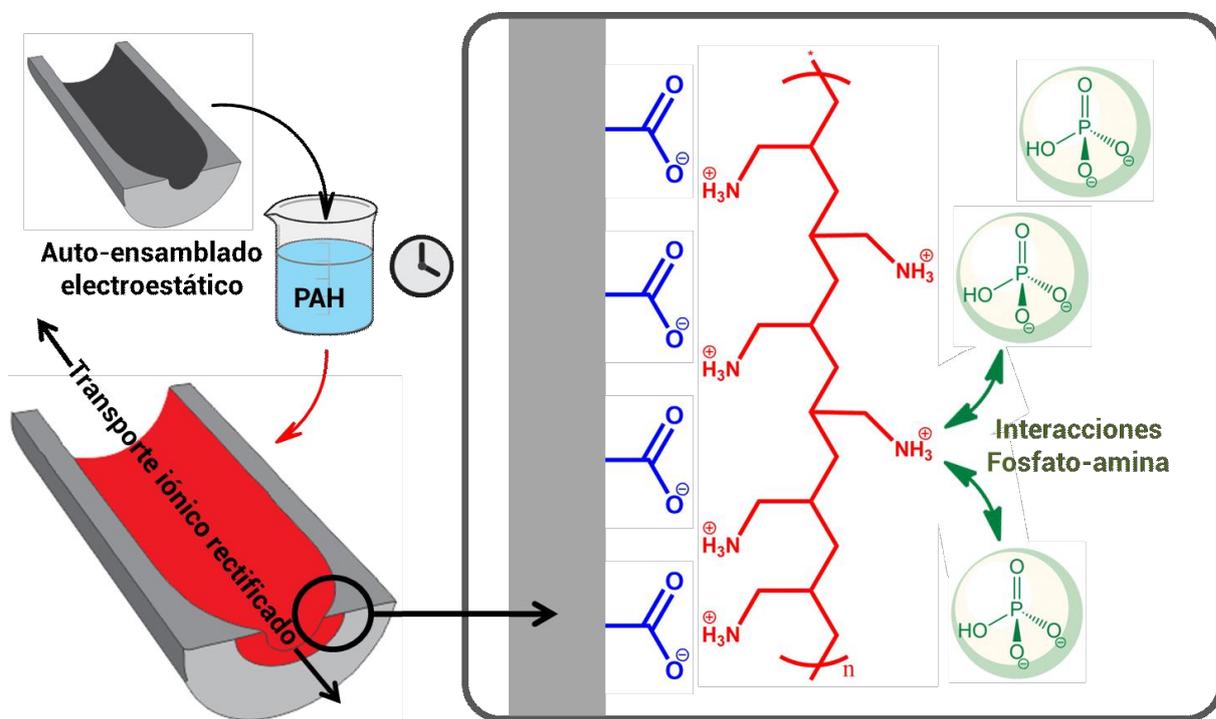
9.3.2. Diseño de nanocanales responsivos a fosfatos

Primero, se registraron curvas I-V con el fin de estudiar la conductancia de los nanocanales *track-etched*. La conductancia de los nanocanales en forma de bala mostró un comportamiento no-ohmico típico caracterizado por la rectificación del transporte selectivo de cationes. Este efecto se atribuyó a la asimetría en la densidad de carga a lo largo de los nanocanales.⁵⁰⁻⁵²

Como se explicó anteriormente, el comportamiento de rectificación de un nanocanal asimétrico es altamente dependiente de la carga de la superficie y del tamaño nanométrico del nanocanal. Esto se debe a la selectividad electrostática hacia cierto tipo de ion que se deriva de la diferencia entre los perfiles de potencial eléctrico que resultan de la superposición de la distribución de potencial eléctrico del canal y de los potenciales transmembrana aplicados.⁵³ Si la carga cambia de positiva a negativa, el sistema cambia de selectivo a aniones a selectivo a cationes,⁵⁴ y consecuentemente, la rectificación de la corriente iónica se invierte. Esta

modulación de la rectificación es de gran importancia para aplicaciones tecnológicas, especialmente para biosensores.^{55,56}

Una vez que se midieron las curvas I-V para los nanocanales *track-etched*, se funcionalizaron los nanocanales con PAH por inmersión simple (*dip-coating*). Después de la modificación, la lámina se enjuagó varias veces y se dejó secar en condiciones ambientales antes de realizar las medidas. Debido a los grupos funcionales positivos presentes en las unidades monoméricas de PAH (aminas), la dirección de la rectificación se invirtió después de la modificación (Figura 9.2). Luego, se midieron las curvas I-V en presencia de diferentes concentraciones de aniones fosfato (Figura 9.6a). Los experimentos se llevaron a cabo a pH 7 debido a que a este pH había una proporción significativa de especies hidrógenofosfato (esquema 2) así como un grado de protonación significativo del PAH (Figura 9.3). Ambos factores eran importantes para que se pudieran observar cambios del comportamiento de la rectificación debido a fosfatos. Los cambios en el comportamiento general de las curvas I-V y en la eficiencia de rectificación revelaron la coordinación de iones fosfatos en el nanocanal modificado con la poliamina. Se utilizaron concentraciones de fosfato (Pi) hasta 50 mM.



Esquema 2. Procedimiento de funcionalización de la superficie con PAH y detalle de las interacciones presentes en el sistema.

A concentraciones bajas de fosfatos, el nanocanal se comportó de manera selectiva a los aniones y la rectificación se produjo hacia potenciales negativos, lo que significa que el estado de baja conductancia estaba a potenciales positivos mientras que el estado de alta conductancia estaba a potenciales negativos. Al aumentar la concentración de fosfatos, la rectificación comenzó a desvanecerse conduciendo a un comportamiento óhmico (lineal) el cual se alcanzó a una concentración de 2,5 mM. Para concentraciones más altas se observó una inversión de la rectificación y el comportamiento se convirtió en selectivo a cationes, donde el estado de conductancia inferior estaba a potenciales negativos y el más alto a potenciales positivos.

Como la concentración de fosfatos también contribuye a la conductividad de la solución, fue importante diferenciar los efectos en las curvas I-V derivadas de cambios en la densidad de carga superficial de los efectos debidos al aumento de la conductividad de la solución. Para lograr este objetivo, analizamos los experimentos utilizando un modelo continuo basado en las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck (Figura 9.6b).

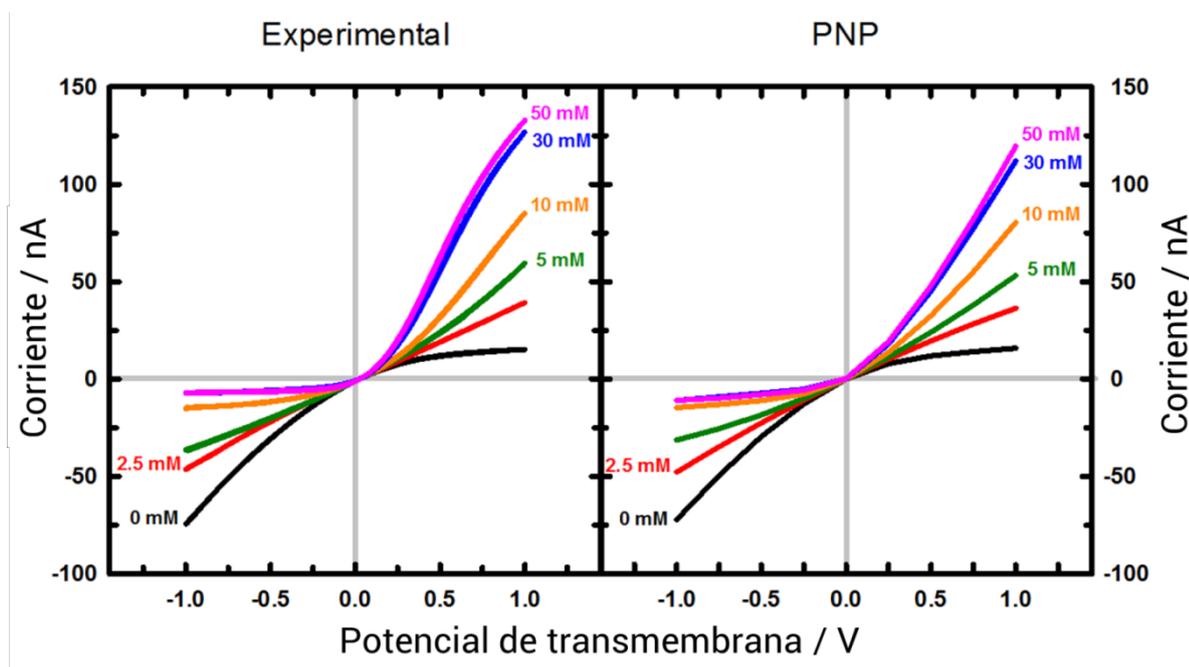


Figura 9.6. a) Curvas I - V de nanocanales modificados con PAH bajo diferentes concentraciones de fosfato en solución de KCl 0,1 M a pH 7. Se observa una fuerte reversión a altas concentraciones de fosfato. b) Simulaciones PNP de las curvas I-V con diferentes concentraciones de fosfato (P_i)

El modelo PNP permitió comparar los valores de densidad de carga superficial para cada curva I-V experimental diferente utilizando un conjunto fijo de valores geométricos (base, diámetro de punta, factor de forma). Los resultados del modelado realizado para cada concentración mostraron que la densidad de carga superficial disminuyó su magnitud hasta una concentración de 2,5 mM (punto de carga cero, $\sim 0,1 \text{ e/nm}^2$) y luego aumenta nuevamente pero con un signo opuesto (Figura 9.7, curva roja). La teoría PNP mostró que la ligera diferencia entre las curvas a 30 mM y 50 mM estaba relacionada con un cambio en la conductividad de la solución y no con un estado de carga diferente. La figura 9.7 muestra la estrecha relación que existe entre el comportamiento del factor de rectificación y la densidad de carga superficial en función de la concentración de fosfatos (P_i). Por lo tanto, para los fines de la discusión los cambios en el f_{rec} para un nanocanal particular pueden atribuirse a cambios en la carga superficial directamente. Con el fin de verificar aún más la unión de los fosfatos a la PAH y la reversión de la carga superficial, se realizaron medidas independientes del potencial zeta con nanopartículas de dióxido de silicio modificadas con PAH. Los resultados mostraron una tendencia similar del potencial zeta con la concentración de fosfatos en solución, confirmando la reversión de la carga superficial (f_{rec}) con concentraciones crecientes de fosfato (Figura 9.8).

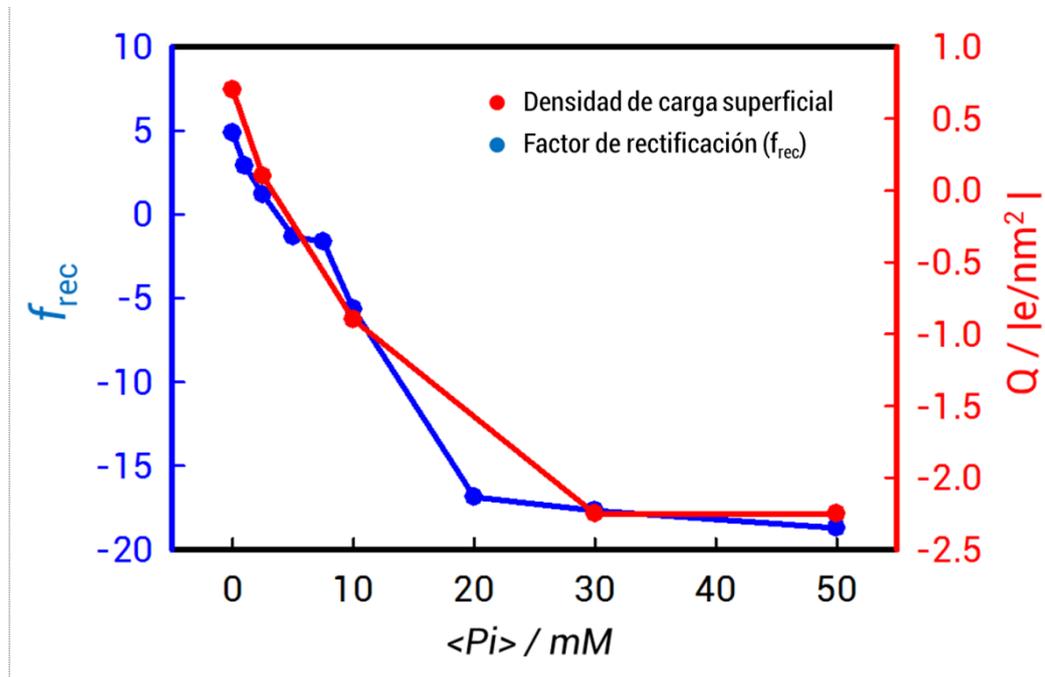


Figura 9.7. Eficiencia de rectificación y densidad de carga superficial (PNP) para un nanocanal modificado con PAH. Los resultados muestran la correspondencia entre el factor de rectificación y la densidad de carga superficial

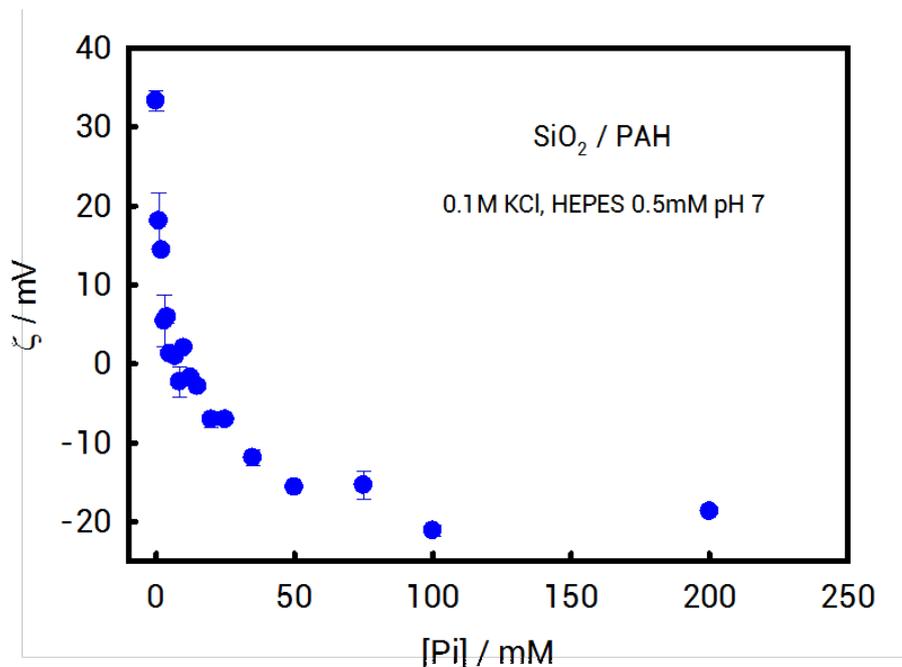


Figura 9.8. Potencial Zeta versus concentración total de fosfatos para nanopartículas de dióxido de silicio modificadas con PAH.

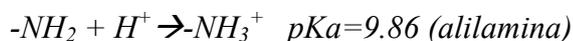
9.3.3. Simulaciones Monte Carlo

El efecto del confinamiento sobre las interacciones fisicoquímicas entre poliaminas y fosfatos se investigó mediante simulaciones de Monte Carlo (MC) utilizando nanocanales de diferentes diámetros. Simulamos nanocanales abiertos con diámetros de 10, 20 y 30 nm y una longitud de 20 nm. Para las simulaciones se mantuvo una densidad de polímero constante de 0,1 cadenas/nm². Para lograr esto, los canales se simularon utilizando 72, 144 y 216 cadenas de polímero, respectivamente. Cada cadena se formó por 10 unidades monoméricas esféricas con un radio de 0,3 nm. El volumen excluido se tuvo en cuenta considerando un potencial de esferas duras entre los monómeros y los iones, y la búsqueda conformacional se realizó permitiendo que los monómeros en la cadena giraran alrededor de un ángulo aleatorio entre π y 2π .

En este modelo sólo se consideraron interacciones electrostáticas. Por lo tanto, estos resultados pueden aplicarse también para otras especies divalentes. Sin embargo, es importante mencionar que se ha demostrado que las interacciones de las aminas son más fuertes con los fosfatos que con otras especies divalentes.^{57,58} Debido al hecho de que las simulaciones no reconocen la naturaleza química de cada ion sino sólo su carga, cuando se hable de las simulaciones MC nos referiremos a las especies iónicas genéricamente como

cationes (iones potasio), *aniones monovalentes* (iones cloruro y dihidrógenofosfato) y *aniones divalentes* (iones hidrógenofosfato).

Las unidades de monómero en el polímero tienen el siguiente equilibrio ácido - base:



El comportamiento ácido se investigó dentro del ensamble gran canónico como fue explicado en la sección anterior.

En la Figura 9.9 se muestra la concentración de cada especie iónica dentro del canal con respecto a la concentración de la sal divalente de *bulk* calculadas mediante simulaciones MC para el canal antes (desnudo) y después de la funcionalización con PAH también para tres diámetros de canal diferentes: 10, 20 y 30 nm. Las concentraciones dentro de los poros se calcularon dividiendo la suma total de cada especie por el volumen del canal.

Como los canales desnudos estaban cargados negativamente, los cationes fueron atraídos electrostáticamente mientras que los aniones fueron repelidos, produciendo así una polarización de concentración. Es decir, la carga negativa dentro del nanocanal produjo un aumento en la concentración de cationes dentro de los canales, así como una disminución en la concentración de aniones. A pesar de que esta tendencia general se observó para los tres tamaños diferentes, la diferencia entre las concentraciones de cationes y aniones se hizo más pequeña con el aumento del diámetro del canal, lo cual podría explicarse con el hecho de que hubiera una menor superposición de la doble capa eléctrica (EDL) debido al mayor tamaño.⁵⁹

La Figura 9.9 muestra que la concentración de cationes y aniones divalentes dentro de los canales desnudos aumentó con la concentración de *bulk* de la sal divalente, mientras que la concentración de anión monovalente permaneció casi constante. Estos resultados son consistentes con resultados anteriores donde se demostró experimentalmente que para nanocanales cargados negativamente a bajas concentraciones, la contribución a la corriente iónica (selectiva a cationes) de los aniones doblemente cargados es similar a la contribución de aniones monovalentes. Sin embargo, para mayor concentración de *bulk* la contribución de los aniones doblemente cargados es mayor que la de los aniones monovalentes. Por ejemplo, la contribución de aniones divalentes es casi la misma que la contribución de aniones monovalentes a una concentración de 50 mM, pero el doble a 100 mM.⁶⁰

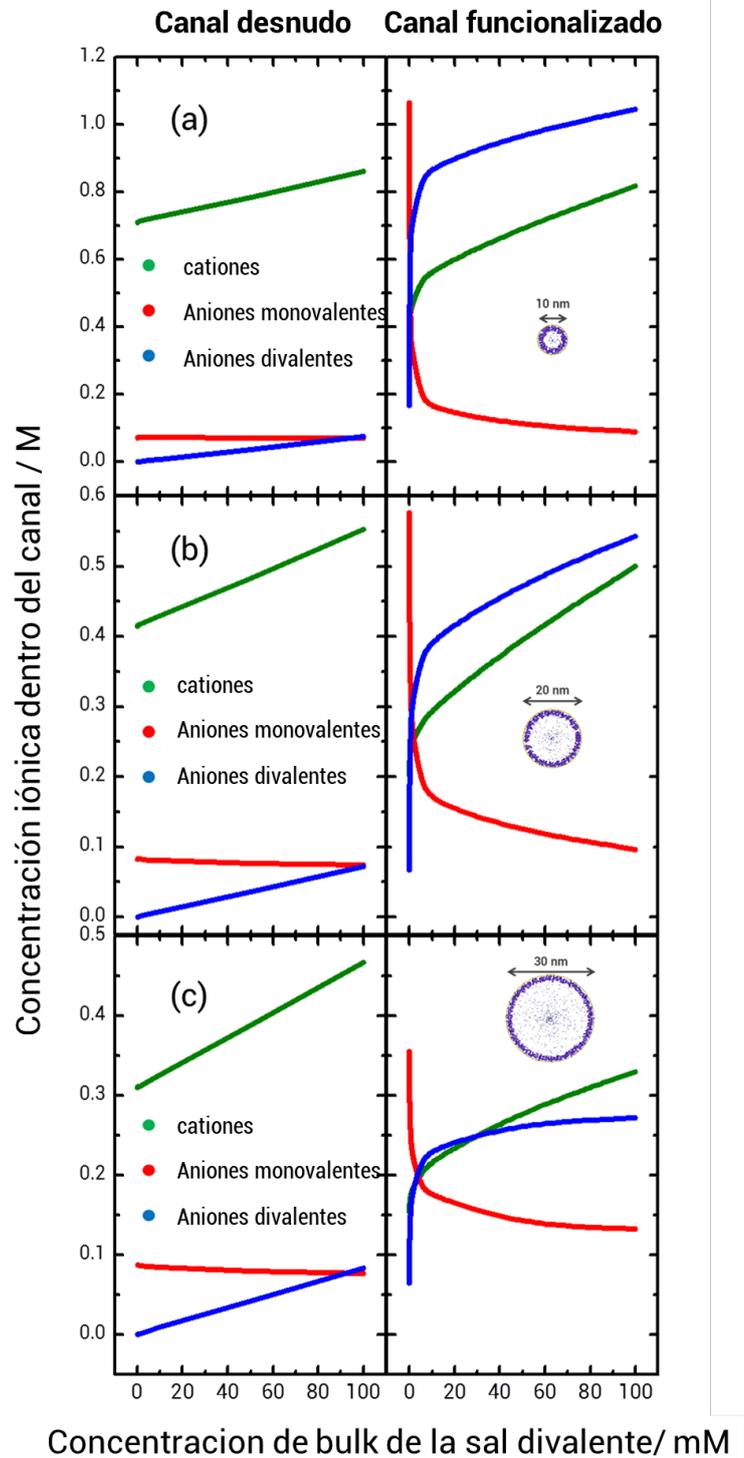
Después de la funcionalización de los canales con PAH, los perfiles de concentración cambiaron radicalmente. El cambio en los perfiles explicó a su vez los cambios en la carga superficial, de negativa a positiva así como también la influencia de la interacción entre la PAH y los aniones divalentes ya que la relación entre estos dos factores es lo que determinó la relación entre los perfiles de concentración de las especies con la concentración de *bulk* de sal divalente (DBC) y los tamaños de los nanocanales.

Se pueden hacer dos observaciones principales a partir de los perfiles de concentración para los tres diámetros de los nanocanales. En primer lugar, la concentración de aniones divalentes y cationes aumentó abruptamente con la concentración de sal divalente (DBC), mientras que la del anión monovalente disminuyó. Esta disminución de los aniones monovalentes en el interior de los canales (debido a repulsiones electrostáticas) explicó el cambio en la dirección de la rectificación observada en las curvas I-V experimentales a una concentración de P_i de 2,5 mM o punto de carga cero (ZCP, por sus siglas en inglés). En la ZCP, la cantidad de aniones divalentes fue suficiente para neutralizar la carga positiva neta proveniente de la PAH. Este punto se puede observar en los perfiles de concentración en los que se cruzan las curvas de cationes y aniones monovalentes (sin selectividad iónica). A pesar de la neutralización electrostática, cantidades más altas de aniones divalentes (P_i para las curvas I-V) continuaron uniéndose a la PAH desplazando la carga superficial a valores más negativos disminuyendo consecuentemente la concentración de aniones dentro de los canales. Se pudo obtener una corroboración adicional de este efecto a partir de la distribución radial de cada ion diferente dentro del poro (Figura 9.10). La Figura 9.10 muestra que el cambio de la concentración de sal divalente (DBC) de 1 mM a 10 mM produjo un gran incremento en aniones divalentes en la superficie del nanocanal mientras que la cantidad de aniones monovalentes se redujo en gran medida. En aras de la comparación, la distribución radial de las especies iónicas para los canales desnudos se puede encontrar en el apéndice 3 (Figura A32).

La segunda observación general es que los perfiles de concentración de cada especie siguieron un comportamiento asintótico con la DBC, lo cual es también coherente con los valores experimentales. Los factores de rectificación medidos experimentalmente (o de forma equivalente, densidad de carga superficial) saturaron a una concentración de ~ 20 mM (Figura 9.7), lo que significa que la cantidad de fosfatos que pudieran unirse a la superficie fue máxima a esta concentración de *bulk* y por lo tanto la superficie se encontraba negativamente cargada. En este sentido, las simulaciones MC mostraron saturación en la concentración de

aniones divalentes dentro de los canales a una concentración de bulk ligeramente mayor a ~30 mM (Figura 9.9).

Figura 9.9. Concentraciones iónicas de cada especie iónica dentro de un nanocanal de un diámetro de (a) 10 nm, (b) 20 nm y (c) 30 nm en función de la concentración de bulk de sal divalente. Las imágenes de los nanocanales modificados obtenidas de las simulaciones de MC se muestran en los paneles de la derecha.



Otra característica interesante es que, aunque la tendencia general fue que la concentración de aniones divalentes era mayor que la de los cationes monovalentes, esta tendencia no se mantuvo para canales de 30 nm de diámetro a concentraciones mayores a ~50 mM, donde los perfiles de concentración para aniones divalentes y cationes mostraron un cruce. Para las concentraciones de *bulk* más altas que este punto de cruce, la relación entre estos perfiles se invirtió. Tal característica no se observó para los canales de 10 y 20 nm, siendo la corriente de cationes mayor que para los aniones divalentes.

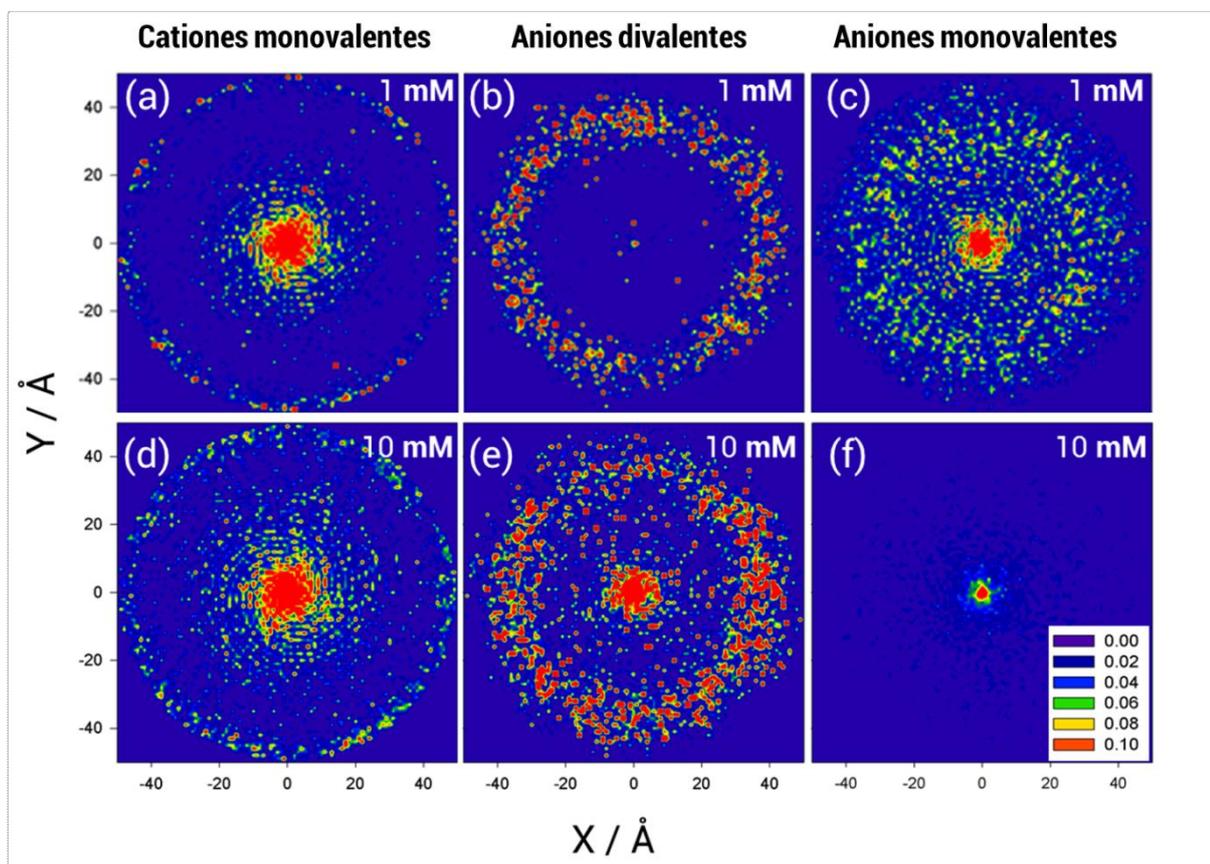


Figura 9.10. Distribución iónica 2D dentro de un canal de 10 nm de diámetro a una concentración de sal divalente de (a), (b), (c) 1 mM y (d), (e), (f) 10 mM.

Dado que los aniones divalentes se situaron sobre la superficie del canal debido a fuertes interacciones (Figura 9.10), contribuyeron a mantener una carga neta negativa sobre las superficies haciendo que el canal sea selectivo a cationes. Por lo tanto, se esperaba que la concentración de cationes aumente con la concentración de *bulk* debido a la atracción electrostática. Sin embargo, debido al hecho de que la capa de aniones divalentes tenía

aproximadamente 2 nm de espesor y los cationes se concentraban principalmente en el centro del poro (Figura 9.10), se termina generando una restricción entrópica para el incremento de concentración de cationes dentro de poros más pequeños.

Para comprender completamente los resultados experimentales era importante considerar los cambios químicos de la capa de poliamina. En este sentido, debido al hecho de que las simulaciones MC se consideró el equilibrio ácido-base de los monómeros, se pudo calcular el grado de protonación de la poliamina en función de la concentración de la sal divalente (Figura 9.11).

Se calculó el grado de protonación de la PAH como función de las concentraciones de anión divalente en *bulk* para tres diámetros de canal diferentes 10, 20 y 30 nm. De nuevo, se encontró un comportamiento distintivo para el canal de 30 nm para el cual el grado de protonación aumentó abruptamente hasta una concentración de 10 mM para luego disminuir de manera lineal. A una concentración mayor o igual a 10 mM, el polímero mostró un incremento del grado de protonación que responde a una preferencia de permanecer en un estado cargado positivamente para minimizar las repulsiones electrostáticas con los aniones presentes en la solución. Sin embargo, a concentraciones superiores a 10 mM comenzó a disminuir el grado de protonación, lo que puede entenderse como la prevalencia de la entropía tanto de los aniones disueltos como del polímero desprotonado sobre las interacciones electrostáticas. Por el contrario, para el caso de canales de 10 y 20 nm de diámetro, el grado de protonación aumentó monótonicamente con la concentración en *bulk*. Para estos dos diámetros se dio un mayor confinamiento de las especies y por lo tanto, para el balance energético, las interacciones electrostáticas se volvieron más relevantes que la contribución entrópica y como consecuencia el polímero permaneció en un estado altamente protonado incluso a altas concentraciones de *bulk*.

Las simulaciones MC para diferentes diámetros de canal se pueden utilizar para visualizar los cambios en la distribución iónica y el grado de protonación de la PAH a lo largo de un nanocanal asimétrico. A tales efectos es necesario pensar cada simulación como una sección transversal de un diámetro diferente de un nanocanal, como se muestra en el esquema de la figura 9.12b.

Utilizando este modelo, podemos argumentar que había una distribución no homogénea de la carga a lo largo de los canales debido a un grado de protonación diferente de la PAH a diferentes diámetros. Esto se tradujo en una alta densidad de cargas positivas localizadas

cerca de la punta de los canales (Figura 9.11a, curva verde), especialmente a alta concentración de sales divalentes. Esta observación fue interesante porque muestra que el creciente confinamiento del sistema puede resultar en la amplificación de la respuesta de una molécula (PAH) a un estímulo (concentraciones de aniones divalentes); lo que podría ser de suma importancia para el diseño de biosensores o dispositivos nanofluidicos. También es interesante porque parece contradecir la hipótesis de distribución homogénea de carga utilizada para el modelo PNP. Con el fin de comparar los resultados de ambos enfoques teóricos y también para abordar la influencia del tamaño en la distribución de carga, la densidad de carga superficial de la carga neta dentro del canal se obtuvo a partir de los datos MC (Figura 9.11b).

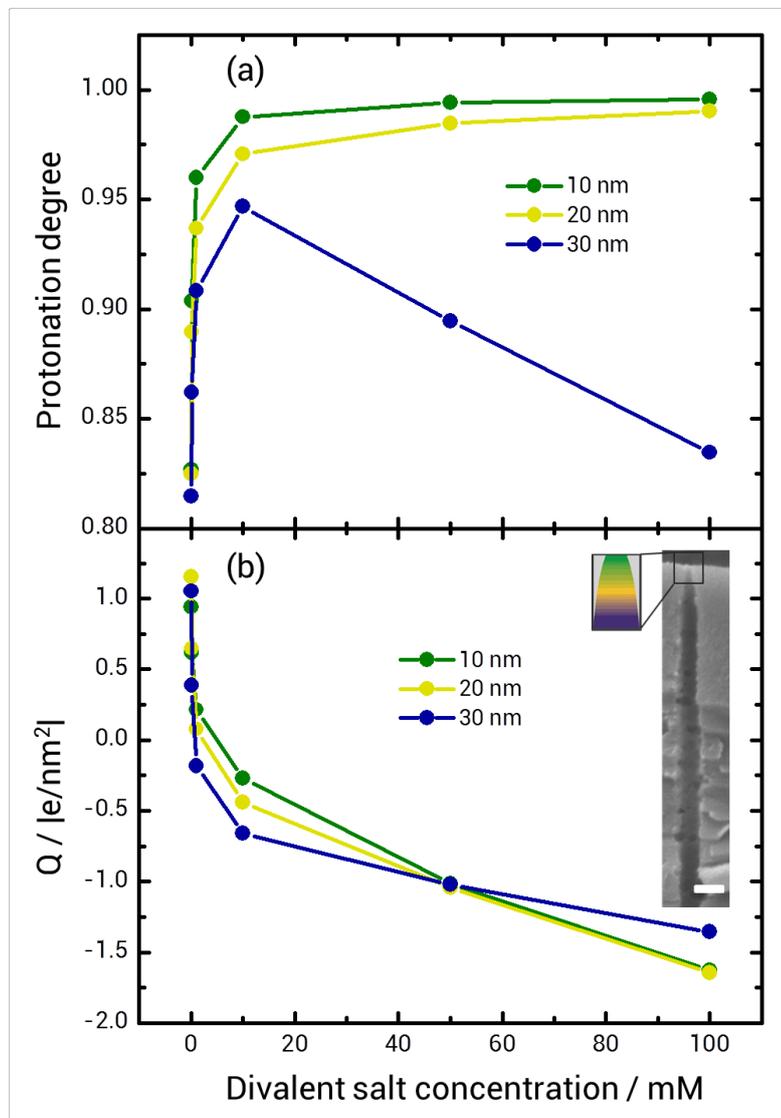


Figura 9.11. (a) Grado de protonación del PAH dentro de canales de diámetros de, 10 nm (verde), 20 nm (amarillo) y 30 nm (azul) en función de la concentración de sales divalentes. (b) Densidad de carga superficial (Q) en función de la concentración de sal divalente para canales de diámetros de 10 nm (verde), 20 nm (amarillo) y 30 nm (azul). La figura a la derecha muestra un esquema para un canal asimétrico con un código de color relacionado con las curvas para representar el cambio en las propiedades dependientes del tamaño y una imagen SEM de sección transversal de los nanocanales en forma de bala. Barra de escala, 1 μm .

La carga neta dentro del canal se calculó como el número de cargas positivas del polímero menos el doble del número de aniones divalentes menos la carga en la pared. Haciendo esto, se hizo la suposición de que todos los aniones divalentes están unidos al polímero. La densidad de carga en la pared antes de la modificación con PAH, debido a los grupos carboxilo, fue de $-1,0 \text{ |e/nm}^2\text{|}$. La Figura 9.11b presenta la densidad de carga superficial calculada para canales modificados con PAH de diferentes diámetros. Los resultados mostraron que no había una diferencia significativa en las densidades de carga entre canales de diámetros diferentes. Mediante la realización de estos cálculos se observó que las densidades de carga calculadas para diferentes concentraciones de *bulk* utilizando cálculos MC, los valores encontrados experimentalmente y los derivados de la teoría PNP mostraron una buena concordancia cualitativa (Figura 9.7 y Figura 9.10b).

9.3.4. Conclusiones

En esta sección, hemos presentado un diodo nanofluídico sensible a fosfatos basado en la funcionalización de nanocanales de estado sólido con polialilamina (PAH). La PAH es una poliamina, una familia de polímeros que pueden ser utilizados como modelos para procesos bioquímicos altamente relevantes, especialmente debido a su capacidad de interactuar fuertemente con los fosfatos. Los resultados experimentales mostraron que las características de transporte iónico de los canales se pueden regular usando diferentes concentraciones de fosfatos para modular la carga superficial de los canales. Adicionalmente, se realizaron medidas de potencial zeta en nanopartículas de SiO_2 modificadas con PAH para corroborar la tendencia de la carga superficial hacia concentraciones crecientes de Pi .

Para tener una visión más profunda sobre la fisicoquímica del sistema, se realizaron simulaciones teóricas utilizando el modelo de Poison-Nernst-Planck y simulaciones Monte

Carlo. Los resultados muestran que los perfiles de concentración de las diferentes especies iónicas dentro de los canales están gobernados por una interacción compleja entre la poliamina y los contraiones fosfato. Las simulaciones mostraron que los fosfatos divalentes están concentrados mayoritariamente en las cercanías de las paredes de los canales, cambiando así la carga efectiva de las mismas y produciendo simultáneamente un aumento en la selectividad a cationes de los canales con concentraciones de fosfato crecientes. Las simulaciones Monte Carlo realizadas utilizando diferentes diámetros de canal mostraron que el grado de protonación de la PAH aumenta con el confinamiento y la concentración de iones fosfato hasta un determinado diámetro.

9.4. Biosensor nanofluídico de urea basado en la *amplificación iontrónica* de un cambio en el grado de protonación de un polielectrolito mediante una reacción enzimática

9.4.1. Introducción

Como se comentó en la sección 2.3, los dispositivos nanofluídicos han atraído una gran atención debido al desarrollo de aplicaciones tecnológicas prometedoras en diversos campos como el sensado, desalinización de agua y conversión de energía.⁶¹⁻⁶⁵ Sin embargo, el campo de la nanofluídica en sí solo está comenzando a mostrar su potencial y no es difícil creer que tendrá un papel importante en las tecnologías futuras. La nanofluídica se ocupa del movimiento de especies iónicas y moleculares bajo la aplicación de campos de fuerza tanto eléctricos como mecánicos en ambientes altamente confinados, típicamente en el régimen del attolitro.

Algunas características específicas observadas en los dispositivos nanofluídicos relacionadas con su exquisito control sobre el transporte iónico, se han denominado "*iontrónicas*" debido a su parecido con las características de transporte observadas en los componentes electrónicos.⁶⁶ La idea detrás de este campo relativamente nuevo es la generación de componentes fluídicos que permitirían diseñar circuitos moleculares. Hasta el momento, hemos descrito la fabricación de diferentes componentes nanofluídicos (iontrónicos) tales como rectificadores iónicos (capítulos 5, 6), diodos (capítulos 4 a 8) o transistores (Capítulos 6 y 7) combinando técnicas de nanofabricación con técnicas de modificación de superficies,

demostrando que es posible controlar selectivamente de manera precisa el transporte de diferentes especies iónicas mediante la aplicación de estímulos controlados experimentalmente.^{67,68} Estos conceptos están fuertemente inspirados en sistemas biológicos que, mediante el transporte selectivo de iones y moléculas a través de membranas de alta impedancia ($10^4 \Omega/\text{cm}^2$), realizan diferentes funciones como transferencia de información, creación de gradientes de energía o realización de reacciones bioquímicas complejas las cuales dependen de un control preciso sobre las cantidades de ciertas moléculas.⁶⁹⁻⁷¹

Además, al igual que en los sistemas biológicos, los dispositivos nanofluidicos abióticos tienen el potencial no solo de permitir la separación y distribución de diferentes especies cargadas sino también su determinación cuantitativa al transducir la presencia de una determinada molécula en un resultado legible mediante medidas de corrientes iónicas.⁷² En este sentido, se han usado dos enfoques generales para la detección con nanocanales (capítulo 2). El más utilizado se basa en el principio del conteo por pulsos resistivos (RPS), la cual se basa en observar el cambio en la corriente que pasa a través de un nanoporo o nanocanal debido al bloqueo que produce la molécula.⁷³ Estas son mediciones resueltas en el tiempo las cuales requieren de equipos con buena resolución de frecuencia. Además se requiere un análisis estadístico específico, y debido a que dependen del bloqueo estérico del elemento fluido de los poros, presentan limitaciones en el tamaño de las moléculas que pueden detectar. El otro procedimiento, quizás menos explorado, consiste en mediciones de estado estacionario realizadas barriendo el potencial transmembrana a frecuencias lo suficientemente bajas ($< 0,1 \text{ Hz}$) y midiendo las características completas de corriente-voltaje.^{74,75} En este tipo de experimentos, se puede obtener una descripción más amplia del comportamiento de cada dispositivo nanofluidoico particular. Por ejemplo, en el caso de los diodos nanofluidoicos, las características de corriente-voltaje muestran una tendencia no lineal que puede relacionarse finalmente con la geometría y la carga del diodo iónico (nanocanal); geometrías o distribuciones de carga asimétricas conducen a la rectificación.⁷⁶ Esto implica que modificar la magnitud o el signo de la carga superficial de los nanocanales cambia concomitantemente la magnitud o dirección de las corrientes rectificadas, debido a la inversión de la distribución del potencial eléctrico a través de los nanocanales.⁷⁷ Debido a esto, es posible detectar moléculas que producen pequeños cambios en la carga superficial de estos diodos iónicos con una sensibilidad potencialmente alta.⁷⁸ En este sentido podríamos pensar en diodos iónicos (nanocanales asimétricos) como amplificadores que a través del confinamiento mejoran las respuestas a pequeñas conversiones químicas que podrían ser imposibles de detectar usando

métodos comunes de detección. Podríamos llamar a este concepto, *amplificación iontrónica*, el cual es en una forma un concepto relacionado con la espectroscopía Raman amplificada por superficies (SERS) para la cual el confinamiento nanométrico de los modos de superficie electrónicos mejora los espectros producidos por las moléculas en solución.⁷⁹ Bajo este concepto, la detección con diodos nanofluídicos se ha explorado previamente utilizando diferentes estrategias, como la unión directa de moléculas sensibles sobre la superficie de los poros o el ensamblaje capa por capa de polielectrolitos y moléculas sensibles.⁸⁰⁻⁸³ Sin embargo, la mayoría de los casos mostraron una baja selectividad hacia un analito específico y bajo rendimientos del dispositivo, en cuanto a los límites de detección y reproducibilidad los cuáles fueron peores que los dispositivos comerciales.

En esta sección, proponemos un nuevo enfoque para el diseño de biosensores nanofluídicos a través de la *amplificación iontrónica* de una reacción enzimática, la degradación de urea catalizada por Ureasa de *Canavalia Ensiformis*. Combinando la capacidad nanofluídica para amplificar pequeños estímulos químicos y la especificidad de las enzimas para determinados sustratos (urea en este caso), se fabricó un biosensor nanofluídico altamente sensible y controlable. El procedimiento propuesto consiste en depositar electrostáticamente el polielectrolito débil polialilamina (PAH) sobre la superficie de nanocanales asimétricos con la incorporación sucesiva de la enzima ureasa. La ureasa degrada la urea en amoníaco y dióxido de carbono, lo que cambia el grado de protonación de la poliamina y, en última instancia, cambia el estado de carga de la superficie del nanocanal de estado sólido. En esta parte de la tesis se pondrá particular énfasis en explorar este concepto y demostrar que esta fenomenología es reversible y reproducible al tiempo que proporciona un límite de detección de 1 nM que, de acuerdo a nuestro conocimiento, es el más bajo informado hasta ahora para la urea y con un tiempo de reacción de <1 min. Vale destacar que la medición de la concentración de urea tanto en sangre como en orina es de gran importancia en bioquímica clínica, ya que es una prueba de rutina para el diagnóstico de muchas enfermedades renales y hepáticas.

9.4.2. Fabricación de nanocanales modificados con PAH y Ureasa

Materiales: El *clorhidrato de polialilamina* (PAH, 15 kDa), la Ureasa de *Canavalia Ensiformis* y el surfactante Dowfax 2A1 fueron adquiridos de Sigma-Aldrich, Calzyme y Dow Chemicals, respectivamente, y se usaron tal como se recibieron. Las láminas de

politereftalato de etileno (PET) (Hostaphan RN 12, Hoechst) de 12 μm fueron irradiadas con iones pesados rápidos (Au^{+25}), con una energía de $\sim 2,2$ GeV en el GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH (Darmstadt, Alemania). El buffer HEPES se adquirió de Sigma-Aldrich y se utilizó tal como se recibió.

Modificación con PAH y ureasa: Después del *etching* asimétrico para obtener nanocanales con forma de bala, las láminas que contienen los nanocanales se modificaron con PAH mediante recubrimiento (dip coating) en una solución 10 mM de PAH (en unidades monoméricas) a pH 6 durante 1 hora, de manera similar a lo explicado en la sección experimental de la primera parte. Después de la deposición de PAH, la ureasa se incorporó al sistema también mediante inmersión usando una solución de 1mg/ml de ureasa en buffer de HEPES 0,1 mM a un pH de 7,4.

Factor de rectificación normalizado: Para poder comparar y analizar estadísticamente los resultados provenientes de distintos nanocanales los cuales muestran comportamientos cuantitativamente distintos, se definió una eficiencia de rectificación normalizada ($f_{rec,norm}$) mediante la división de todos los valores de eficiencias de rectificación provenientes de un nanocanal por la eficiencia máxima alcanzada por ese canal ($f_{rec,max}$),

$$f_{rec,norm} = \frac{f_{rec}}{|f_{rec,max}|} \quad (2)$$

Después del procedimiento de *etching*, las láminas de PET que contenían los nanocanales con forma de bala se recubrieron con PAH mediante recubrimiento por inmersión tal como se explicó en la sección experimental. El éxito del procedimiento de modificación se pudo observar debido a que la carga neta del nanocanal cambió de *negativa* (grupos carboxilato) a *positiva* (grupos amina) al pH de la solución de trabajo (~ 5.5) después de la modificación. Como se explicó previamente, un cambio en la carga de los nanocanales produce un cambio en su selectividad iónica, lo que se puede observar como un cambio en la dirección de las corrientes iónicas rectificadas (o por un cambio en la eficiencia de rectificación) a polaridades opuestas, un proceso de *gating* (Figura 9.12).

La principal ventaja de este procedimiento es que permite obtener una superficie "*anfotérica*" de una manera simple, y a su vez las superficies anfotéricas son útiles en nanofluidica como medio para controlar la selectividad iónica de los dispositivos nanofluidicos mediante el control de la concentración de protones en la solución.⁸⁴ Por lo tanto, el nanocanal modificado

con PAH (PET / PAH) mostró un comportamiento dependiente del pH que permitió alcanzar diferentes eficiencias de rectificación a diferentes pH e incluso cambiar la dirección de la rectificación. Este comportamiento dependiente del pH se caracterizó midiendo las características de corriente-voltaje, o curvas I-V, mientras se cambiaba el pH de la solución añadiendo gota a gota HCl o NaOH para explorar el espectro de pH completo o la curva de *titulación nanofluidica*. Los resultados encontrados están de acuerdo con nuestros valores informados en la sección 1 que mostraron una región isoelectrica a valores de pH cercanos a 7.

Una vez que la superficie de los nanocanales se cubrió con PAH, se incorporó la ureasa. La ureasa se ensambló electrostáticamente a pH 7,4 (buffer HEPES) donde está cargada negativamente ya que tiene un punto isoelectrico de 5,2 (figura 9.12).⁸⁵ Este procedimiento de modificación también fue confirmado midiendo las curvas I-V (figura 9.12). En este caso, el cambio de las corrientes iónicas y la eficiencia de rectificación no mostraron una reversión en la dirección de la rectificación como en el primer paso, principalmente porque la cantidad de carga electrostática soportada por la proteína no es lo suficientemente alta para sobrecompensar las cargas provenientes de la PAH. Sin embargo, las curvas I-V si mostraron una neutralización de la carga superficial, observada como una curva I-V lineal o una eficiencia de rectificación ~ 1 , así como una disminución en la conductancia del nanocanal, que está relacionada con la reducción de la sección transversal de los nanocanales debido a la presencia de las proteínas voluminosas (Figura 9.12).

Después de la incorporación de la ureasa, se volvieron a medir las características de corriente-potencial a diferentes pH. La forma de la curva de eficiencia de rectificación frente al pH fue cualitativamente la misma que con la PAH solamente (Figura 9.13) pero mostrando sistemáticamente menores eficiencias de rectificación para cada pH. Esto es comprensible por el hecho de que cierto porcentaje de las cargas positivas de la PAH fueron neutralizadas por la enzima, por lo tanto, se redujeron las cargas disponibles para contribuir a la carga neta del nanocanal. Es importante destacar que aunque la presencia de la enzima en la superficie de los nanocanales modificados con PAH (PET/PAH) redujo la magnitud de las corrientes iónicas a través del canal, no impidió la capacidad de respuesta del pH de los nanocanales manteniendo su comportamiento anfótero.

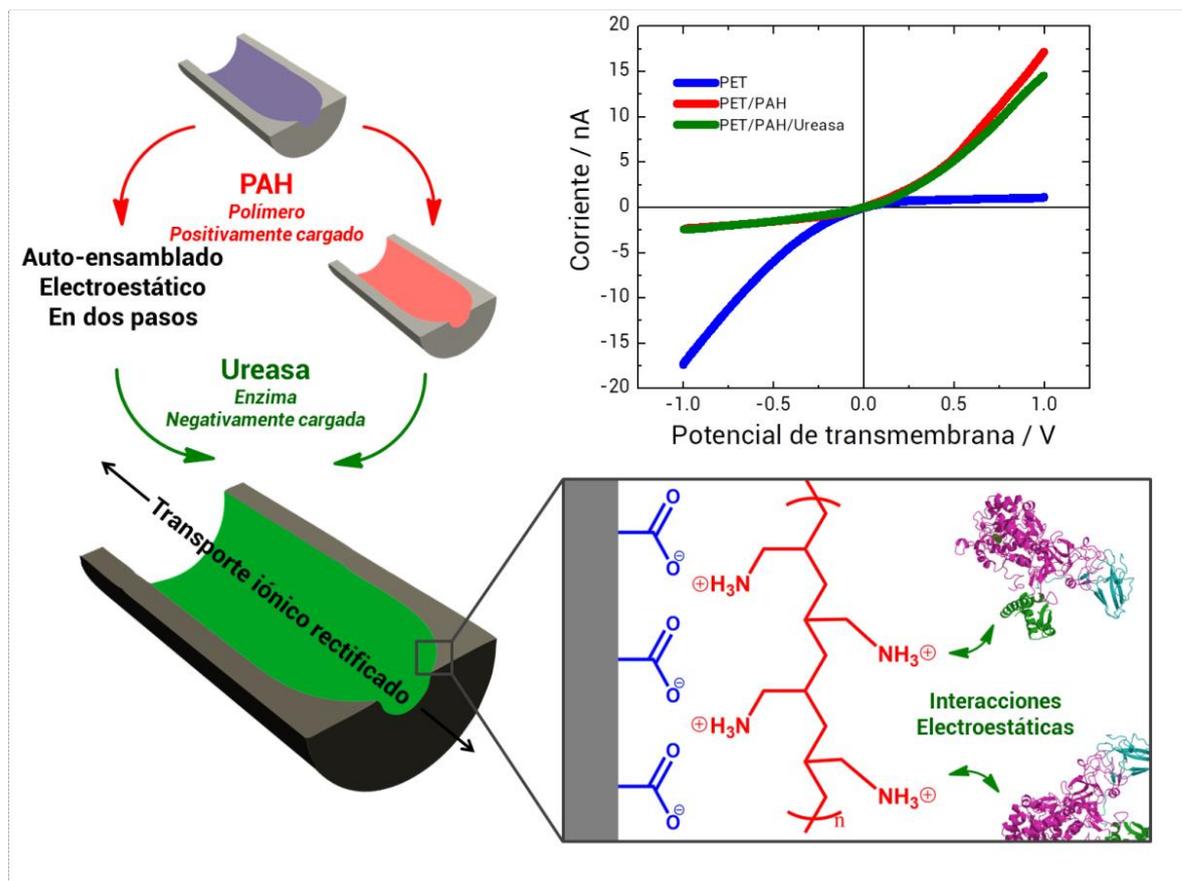


Figura 9.12. Esquema que representa el procedimiento de fabricación del nanocanal modificado con ureasa y polialilamina. El panel superior derecho muestra las curvas de corriente-voltaje medidas antes y después de cada paso de modificación, nanocanal desnudo (curva azul), después de la modificación con PAH (curva roja) y después de la modificación con ureasa (curva verde). El panel inferior muestra las interacciones presentes en la superficie del nanocanal después de la modificación.

La figura 9.13 muestra la respuesta general de un nanocanal modificado con ureasa-PAH (PET/PAH/U) en función del pH, donde se puede observar que un cambio de pH de ácido a básico condujo a la reversión de la dirección de rectificación relacionada a una reversión en la selectividad del canal. Para utilizar este dispositivo como un *amplificador iontrónico* era importante primero determinar un pH en el que la respuesta de detección se amplificara en mayor medida, es decir, una región lo más cerca posible de la región de reversión, donde el efecto de *gating* sobre las corrientes iónicas es mayor. Mediante la inspección de la figura 9.13, esta región se encontró dentro del rango de pH entre 6 y 7. La siguiente característica a tener en cuenta es la actividad de la enzima que se sabe que alcanza su máximo alrededor de

pH 7.4 disminuyendo hacia condiciones más ácidas o básicas.⁸⁶ Como se muestra en la reacción a continuación, la ureasa cataliza la degradación de urea en amonio y ácido carbónico,

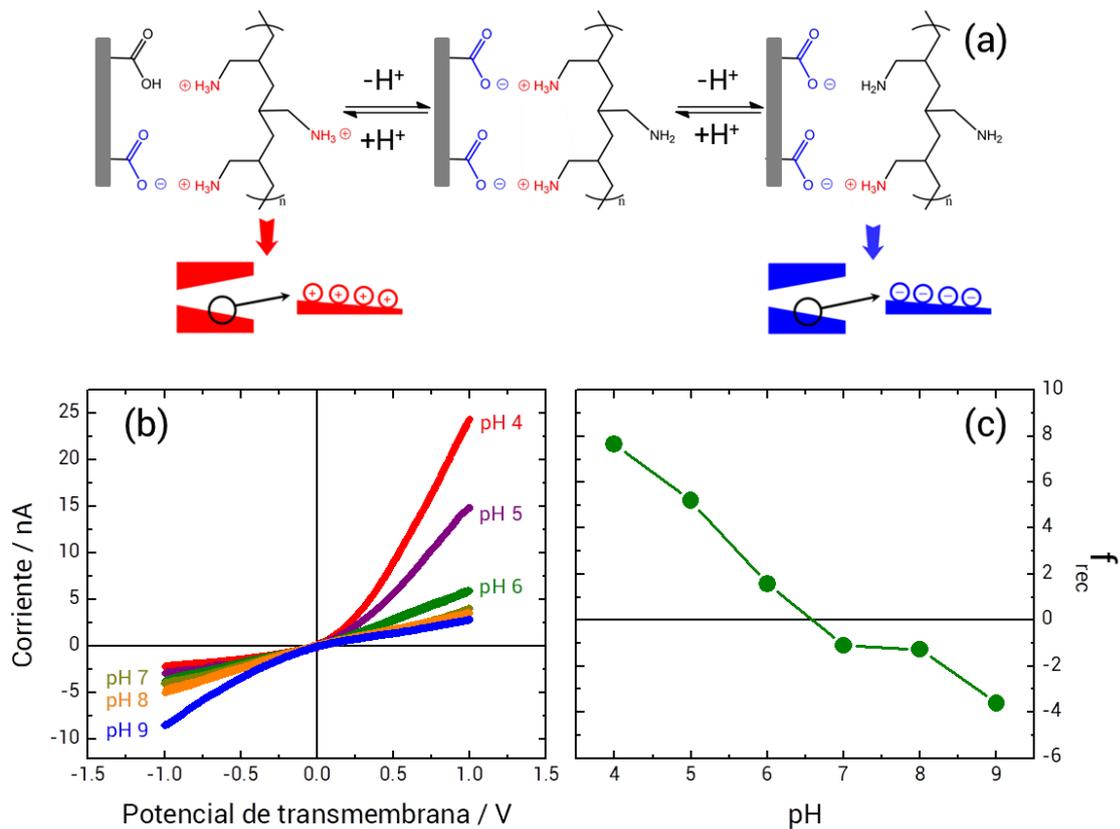


Figura 9.13. (a) Esquemas que representan los diferentes estados de protonación del nanocanal anfotérico con la carga y la selectividad resultante de los nanocanales. La Ureasa no está incluida en los esquemas por simplicidad. (b) Curvas I-V y (c) eficiencia de rectificación versus pH después de la modificación del nanocanal con PAH y con Ureasa (PET/PAH/U). Las curvas se midieron en KCl 0,1 M con adición gota a gota de NaOH o HCl para alcanzar cada valor de pH.

Durante el curso de la reacción, el pH de la solución aumenta localmente, de hecho, se ha demostrado recientemente que el pH puede cambiar varias unidades en función de la concentración de urea, alcanzando valores de pH cercanos a 9.⁸⁷ Sin embargo, ser capaz de observar tales cambios en el pH requiere una gran cantidad de proteínas ancladas en una superficie debido a que se necesitan reaccionar grandes cantidades de urea para producir un

cambio de pH lo suficientemente significativo como para ser detectado. Por otro lado, la misma cantidad de productos producidos dentro de un nanocanal produciría un cambio mayor en el pH local debido al confinamiento de la reacción en un volumen del orden de los attolitros. Por lo tanto, al aumentar la concentración de urea sería posible recorrer la curva de *titulación nanofluidica* de izquierda a derecha (Figura 9.13) generando indirectamente iones hidroxilo que cambien el grado de protonación de las unidades monoméricas de PAH hacia el estado desprotonado. Al verificar el efecto de agregar diferentes concentraciones de urea en solución a diferentes pH encontramos que la mejor amplificación iontrónica de la señal está dada a pH 6. Podemos hipotetizar que a este pH la relación entre la región de la curva de titulación que produce la máxima amplificación de la reacción enzimática y la región de mayor actividad enzimática es máxima.

Una vez que el pH de trabajo se ajustó a 6, se estudió el comportamiento del nanocanal (PET/PAH/U) dependiente de urea utilizando soluciones de urea con concentraciones que variaron entre 1 nM a 5 mM. Los resultados mostraron que al aumentar la cantidad de urea en solución, el sistema nanofluido se desplazó progresivamente desde selectividad a aniones hasta selectividad a cationes o en términos de rectificación, desde rectificación positiva a rectificación negativa. La figura 9.14 muestra la eficiencia de rectificación normalizada frente a la concentración de Urea en solución donde se observa que la tendencia fue similar a la observada para la curva de titulación, lo que no es sorprendente debido a que se esperaba que la cantidad de urea cambiase el grado de protonación del PAH a valores más bajos a través de su degradación por la ureasa. A bajas concentraciones de urea, la eficiencia de rectificación (f_{rec}) fue positiva, lo que según nuestra convención significa que la superficie del nanocanal estaba cargada positivamente y la permselectividad de los canales era hacia los aniones. Al aumentar la concentración, la eficiencia de rectificación disminuyó linealmente, hasta una concentración de 1 μ M. Esta disminución estuvo relacionada con la desprotonación de las aminas primarias de los grupos PAH y carboxilato de la superficie de los nanocanales. Las concentraciones más altas, hasta 100 μ M, no produjeron un cambio significativo. La posible razón de esta característica es que dentro de esta región, tanto el PAH como los grupos carboxilato estaban significativamente cargados, produciendo una superficie eléctricamente neutra, una *región isoelectrica* (Figura 9.3). **Error! Marcador no definido.**

Un aumento adicional de la concentración ($> 100 \mu$ M) indujo el incremento de la eficacia de rectificación en la dirección negativa, lo que de acuerdo con la convención utilizada significa

un aumento en la carga superficial negativa del nanocanal y una permeabilidad selectiva hacia los cationes. El incremento de la carga negativa saturó a una concentración de 5 mM.

Para comprobar la reproducibilidad del procedimiento de fabricación y la respuesta funcional del sistema, estos experimentos se repitieron usando diferentes nanocanales y, debido al hecho de que la señal fue cuantitativamente diferente para cada nanocanal por las diferencias inherentes en la composición de las láminas, el daño de la irradiación iónica y el procedimiento de *etching*, las eficiencias de rectificación (f_{rec}) se normalizaron dividiendo cada valor con el valor absoluto máximo obtenido para cada nanocanal (ecuación 1). Se encontró una notable reproducibilidad entre diferentes experimentos al comparar eficiencias de rectificación normalizadas ($f_{rec\,norm}$) (Figura 9.15).

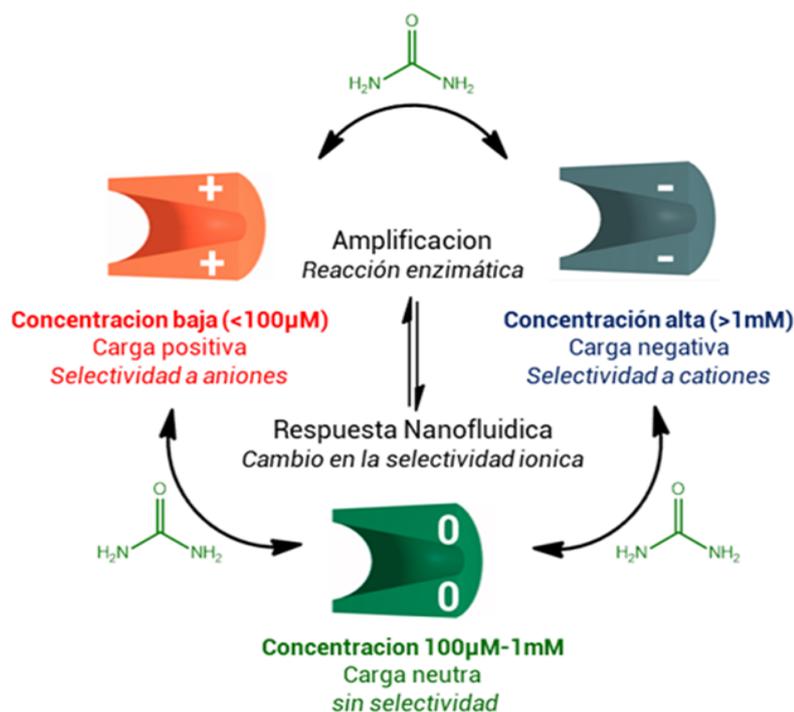


Figura 9.14. Esquema que representa la relación entre la degradación bioquímica de la Urea y la respuesta nanofluidica del nanocanal mediante la amplificación de la reacción enzimática donde bajas concentraciones conducen a superficies cargadas positivamente, mientras que altas concentraciones conducen a superficies cargadas negativamente con cambios consecuentes en la selectividad iónica de los nanocanales.

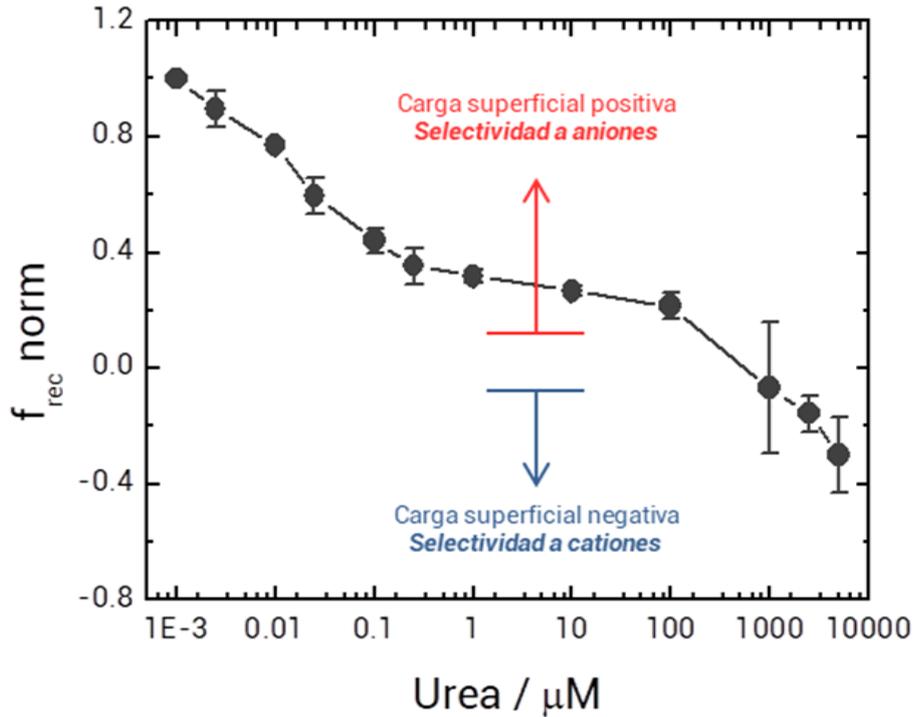


Figura 9.15. Eficiencias de rectificación normalizadas ($f_{\text{rec norm}}$) obtenidas a partir de los resultados de tres nanocanales diferentes. Los errores se calcularon a partir de la desviación estándar de los resultados.

Por lo tanto, fue posible obtener una amplia variedad de operaciones nanofluídicas, como el *gating* de las corrientes permselectivas y conmutación de la selectividad iónica mediante la regulación de la concentración de urea en solución. Este tipo de sistemas capaces de regular el flujo de iones a través de nanocanales en función de la presencia de ciertas moléculas, como el presentado en el capítulo 6 para el caso de la regulación del transporte por azúcares, son de gran interés para el campo de la nanofluídica. Con respecto a esto, era importante evaluar la respuesta cinética del sistema al estímulo químico, es decir, qué tan rápido responde el sistema a la presencia de urea en solución. Para abordar este problema, se realizó una medición resuelta en el tiempo midiendo la corriente transmembrana de un nanocanal PET/PAH/U mientras aplicamos un voltaje constante de 1 V (Figura 9.16). Después de varios minutos de mediciones continuas, se añadió una pequeña cantidad de urea (0,18 mg) a la solución en la celda de conductividad para alcanzar una concentración final de 3 mM, la respuesta fue casi inmediata; después de unos pocos segundos de la adición, se observó una disminución pronunciada en la corriente lo que demuestra que la degradación enzimática de la urea generó una reducción inmediata del grado de protonación de la PAH y una disminución simultánea de la corriente impulsada por aniones.

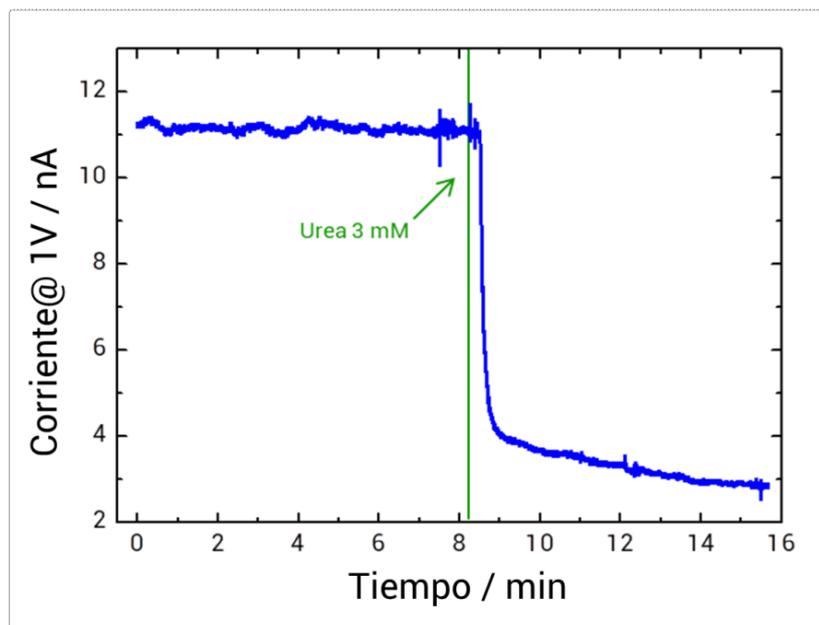
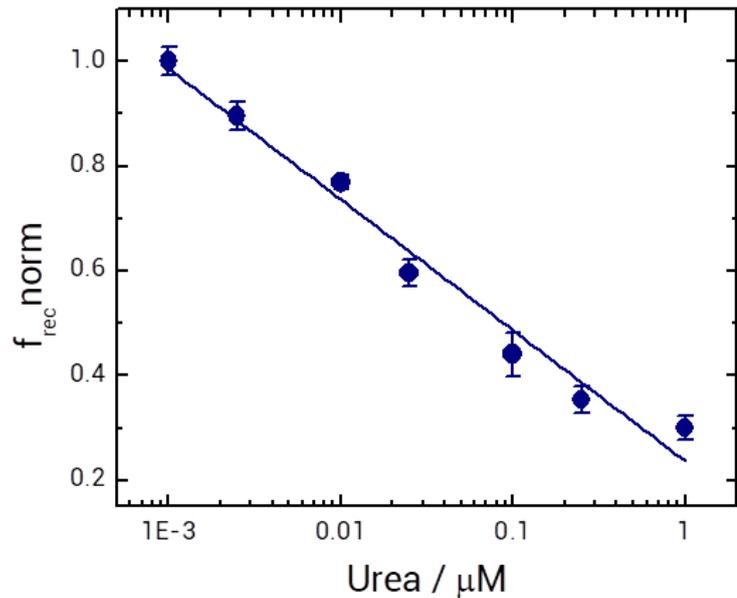


Figura 9.16. Respuesta cinética de un nanocanal PET/PAH/U a la adición de urea hasta una concentración de 3 mM en solución mientras se mide la corriente transmembrana a 1 V.

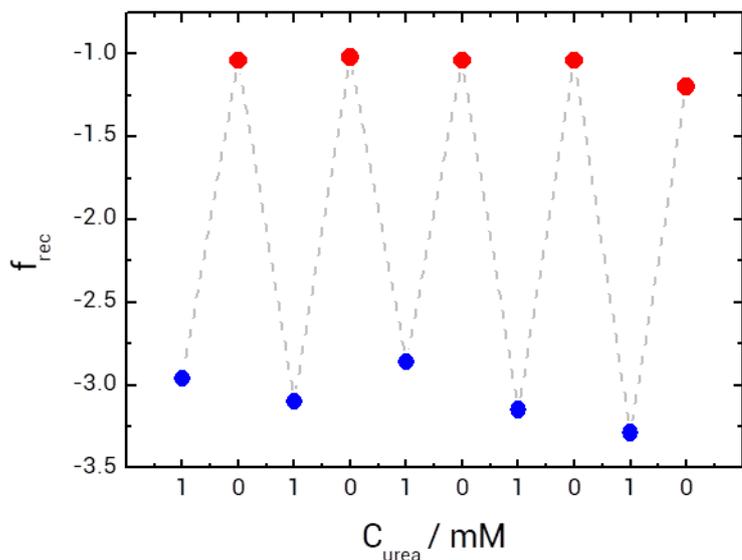
Hasta ahora hemos discutido la respuesta general del sistema a la concentración de urea en solución como regulador químico para el transporte permselectivo iónico. Los resultados mostraron un dispositivo prometedor para aplicaciones nanofluídicas. Sin embargo, en un principio estábamos interesados principalmente en las capacidades de este dispositivo para aplicaciones de biosensado. Para abordar este problema, nos enfocamos principalmente en la región lineal encontrada entre las concentraciones de 1 nM y 1 μ M de urea, donde las capacidades de amplificación del sistema son las más altas. Concentraciones más altas caen en la región isoelectrónica del sistema. De acuerdo a nuestro conocimiento, el límite de detección (LOD) de 1 nM que se obtuvo para este sistema nanofluídico es el límite más bajo jamás encontrado para urea.⁸⁷

Figura 9.17. Curva de eficiencias de rectificación normalizadas versus concentración de Urea obtenida de los datos de tres nanocanales PET/PAH/U diferentes. Se puede ver que el procedimiento de fabricación es altamente reproducible.



A pesar de que se demostró la reproducibilidad del sistema completo, también fue importante probar la reversibilidad del biosensor nanofluídico, es decir, comprobar si el sistema todavía respondía después de haber estado expuesto a altas concentraciones de urea. Con el fin de abordar este punto, se llevaron a cabo experimentos cambiando sucesivamente la solución de electrolito de una solución libre de urea a una solución de urea 1 mM, que está cerca de la región de saturación (figura 9.18). Se encontró una alta reversibilidad debido al hecho de que se pudieron realizar 6 ciclos sin pérdida de la respuesta, lo que significa que el biosensor nanofluídico puede usarse varias veces.

Figura 9.18. Pruebas de reversibilidad para un nanocanal PET/PAH/U. Las eficiencias de rectificación se calcularon usando soluciones de KCl 0,1 M que contenían 0 (puntos rojos) o 1 mM (puntos azules) de Urea a pH 6.



9.4.3. Conclusiones

En esta sección hemos demostrado la fabricación de un biosensor nanofluídico enzimático haciendo uso del concepto de *amplificación iontrónica*. Este concepto se basa en la sensibilidad de las propiedades de transporte iónico de los dispositivos nanofluídicos, y especialmente de los diodos nanofluídicos, a la carga de la superficie. Combinando esta sensibilidad con la incorporación de un polielectrolito débil, polialilamina (PAH) que da al dispositivo nanofluídico un comportamiento anfótero, se pudo hacer un dispositivo altamente sensible a los cambios locales en el pH. La incorporación adicional de ureasa en el sistema, que cataliza la degradación de la urea al mismo tiempo que aumenta el pH localmente, nos permitió controlar la respuesta nanofluídica, o las corrientes iónicas a través del nanocanal, con la cantidad de urea en solución. La alta sensibilidad del dispositivo anfótero nanofluídico a la urea lo convierte en un biosensor excepcional con un límite de detección de 1 nM y una respuesta veloz al estímulo químico. Además, se demostró que este sistema es altamente reproducible y reversible, dos características fundamentales de un dispositivo de biosensado tecnológicamente transferible. Otro aspecto destacable es que este concepto se puede aplicar a cualquier combinación de polielectrolitos débiles y enzimas que generen cambios locales en el pH, convirtiéndose así en un procedimiento de fabricación que puede ser extendido a otros biosensores nanofluídicos enzimáticos.

9.5. Referencias

- [1] Hou, X.; Guo, W.; Jiang, L.. *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 2385-2401.
- [2] Kocer, A.; Tauk, L.; Dejardin, P. *Biosensors and Bioelectronics*, 2012, **38**, 1–10.
- [3] Fleischer, R.L.; Price, P.B.; Walker, R.M. *Nuclear Tracks in Solids: Principles and Applications*, Univ. of California Press, Berkeley, 1975.
- [4] Siwy, Z. ; Apel, P.Y.; Dobrev, D.; Neumann, R.; Spohr, R.; Trautmann, C.; Voss, K.-O. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 2003, **208**, 143–148.
- [5] siwy, Z.; Dobrev, D.; Neumann, R.; Trautmann, C.; Voss, K.-O.. *Appl. Phys. A*. 2003, **76**, 781–785.
- [6] Martin, C.R. *Chem. Mater.*, 1996, **8**, 1739–1746.

- [7] Yameen, B.; Ali, M.; Neumann, R.; Ensinger, W.; Knoll, W.; Azzaroni, O. *Nano Lett.*, 2009, **9**, 2788–2793.
- [8] Zhang H., Hou X., Hou J., Zeng L., Tian Y., Li, L., Jiang L. *Adv. Funct. Mater.* 2015, **25**, 1102-1110.
- [9] Hou, X.; Liu, Y.; Dong, H.; Yang, F.; Li, L.; Jiang, L. *Adv. Mater.* 2010, **22**, 2440–2443.
- [10] Spende, A.; Sobel, N.; Lukas, M.; Zierold, R.; Riedl, J. C.; Gura, L.; Schubert, I.; Montero Moreno, J. M.; Nielsch, K.; Stühn, B. *Nanotechnology*, 2015, **26**, 335301-335312.
- [11] Azzaroni, O.; Lau, K. H. A. *Soft Matter*, 2011, **7**, 8709-8724.
- [12] Lee, D.; Nolte, A. J.; Kunz, A. L.; Rubner, M. J.; Cohen, R. E. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, **128**, 8521-8529.
- [13] Ali, M.; Yameen, B.; Neumann, R.; Ensinger, W.; Knoll, W.; Azzaroni, O. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, **130**, 16351–16357.
- [14] Ali, M.; Yameen, B.; Cervera, J.; Ramírez, P.; Neumann, R.; Ensinger, W.; Knoll, W.; Azzaroni, O. *J. Am. Chem. Soc.* 2010, **132**, 8338–8348.
- [15] Roy, C. J.; Dupont-Gillain, C.; Demoustier-Champagne, C.; Jonas, A. M.; Landoulsi, J. *Langmuir*, 2010, **26**, 3350–3355.
- [16] Alem, H.; Blondeau, F.; Glinel, K.; Demoustier-Champagne, S.; Jonas, A. M. *Macromolecules*, 2007, **40**, 3366–3372.
- [17] Cervera, J.; Schiedt, B.; Ramirez, P. A. *Europhys. Lett.*, 2005, **71**, 35–41.
- [18] Sparreboom, W.; Van den Berg, A.; Eijkel, J. C. T. *New Journal of Physics*, 2010, **12**, 015004- 015027.
- [19] Albesa, A. G.; Rafti, M.; Vicente, J. L. *Journal of molecular modeling*, 2013, **19**, 2183-2188.
- [20] Barr, S. A.; Panagiotopoulos, A. Z. *The Journal of chemical physics*, 2012, **137**, 144704.

- [21] Harrell, C. C.; Siwy, Z. S.; Martin, C. R. *Small*, 2006, **2**, 194 – 198.
- [22] Siwy, Z.S.; Martin, C. R. *Lect. Notes Phys.* 2007, **711**, 349–365.
- [23] Longo, G. S.; Olvera de La Cruz, M.; Szleifer, I. *Macromolecules*, 2011, **44**, 147-158.
- [24] Choi, J.; Rubner, M. F. *Macromolecules*, 2005, **38**, 116-124.
- [25] Itano, K.; Choi, J.; Rubner, M. F. *Macromolecules*, 2005, **38**, 3450–3460.
- [26] Petrov, A. I.; Antipov, A. A.; Sukhorukov, G. B. *Macromolecules*, 2003, **36**, 10079–10086.
- [27] Tagliazucchi, M.; Rabin, Y.; Szleifer, I.; *ACS nano*. 2013, **7**, 9085–9097.
- [28] Tagliazucchi, M.; Azzaroni, O.; Szleifer, I. *J. Am. Chem. Soc.* 2010, **132**, 12404–12411.
- [29] Lynn, D. M. *Adv. Mater.* 2007, **19**, 4118–4130.
- [30] Sukhishvili, S. A.; Granick, S. Layered, Erasable, Ultrathin Polymer Films. *J. Am. Chem. Soc.* 2000, **122**, 9550-9551.
- [31] Dubas, S. T.; Farhat, T. R.; Schlenoff, J. B. *J. Am. Chem. Soc.* 2001, **123**, 5368-5369.
- [32] Hirano, M.; Onishi, Y.; Yanagida, T.; Ide, T. *Biophysical Journal*. 2011, **101**, 2157–2162.
- [33] (a) Z. Siwy, E. Heins, C. C. Harrell, P. Kohli, C. R. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, **126**, 10850–10851. (b) G. Pérez-Mitta, W. Marmisollé, C. Trautmann, M.E. Toimil-Molares, O. Azzaroni, *Adv. Mater.* 2017, **29**, 1700972. (c) B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, O. Azzaroni, *Chem. Commun.*, 2010, **46**, 1908–1910. (d) G. Pérez-Mitta, J.S. Tuninetti, W. Knoll, C. Trautmann, M.E. Toimil-Molares, O. Azzaroni, *J. Am. Chem. Soc.* 2015, **137**, 6011–6017. (e) B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, O. Azzaroni, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, **131**, 2070–2071. (f) M. Ali, B. Yameen, J. Cervera, P. Ramírez, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, O. Azzaroni, 2010, **132**, 8338–8348.
- [34] (a) Z. Meng, H. Bao, J. Wang, C. Jiang, M. Zhang, J. Zhai, L. Jiang, *Adv. Mater.* 2014, **26**, 2329–2334. (b) L. Wen, Q. Liu, J. Ma, Y. Tian, C. Li, Z. Bo, L. Jiang, *Adv. Mater.*

- 2012, **24**, 6193–6198. (c) N. Liu, Y. Jiang, Y. Zhou, F. Xia, W. Guo, L. Jiang, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2013, **52**, 2007–2011. (c) M. Zhang, X. Hou, J. Wang, Y. Tian, X. Fan, J. Zhai, L. Jiang, *Adv. Mater.* 2012, **24**, 2424–2428.
- [35] H. Murer, I. Forster, J. Biber, *Eur. J. Physiol* 2004, **447**, 763–767.
- [36] H. Zhang, Y. Tian, L. Jiang, *Nanotoday* 2016, **11**, 61–81.
- [37] K. Xiao, L. Wen, L. Jiang, *Small* 2016, **12**, 2810–283.
- [38] Y. Wang, K. Kececi, M. V. Mirkin, V. Mani, N. Sardesai, J. F. Rusling, *Chem. Sci.*, 2013, **4**, 655–663.
- [39] H. Dong, R. Nie, X. Hou, P. Wang, J. Yue, L. Jiang, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 3102–3104.
- [40] A. van den Berg, H. G. Craighead, P. Yang, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 899–900.
- [41] M. Sumper, *Angew. Chemie Int. Ed.* 2004, **43**, 2251–2254.
- [42] L. D’Agostino, A. di Luccia, *Eur. J. Biochem.* 2002, **269**, 4317.
- [43] L. D’Agostino, M. di Pietro, A. Di Luccia, *FEBS J.* 2005, **272**, 3777.
- [44] D. A. Capdevila, W. A. Marmisolle, F. Tomasina, V. Demicheli, M. Portela, R. Radi, D. H. Murgida, *Chem. Sci* 2015, **6**, 705–713.
- [45] K. Lutz, C. Gröger, M. Sumper, E. Brunner, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2005, **7**, 2812.
- [46] J. Irigoyen, S. E. Moya, J. J. Iturri, I. Llarena, O. Azzaroni, E. Donath, *Langmuir* 2009, **25**, 3374.
- [47] W. A. Marmisolle, D. A. Capdevila, E. De Llave, F. J. Williams, D. H. Murgida, *Langmuir* 2013, **29**, 5351.
- [48] M. Tagliazucchi, I. Szleifer, *Soft Matter*, 2012, **8**, 7292.
- [49] W. A. Marmisollé, J. Irigoyen, D. Gregurec, S. Moya, O. Azzaroni, *Adv. Funct. Mater.* 2015, **26**, 4144–4152.

- [50] Z. Siwy, A. Fulinski, *Am. J. Phys.* 2004, **72**, 567.
- [51] R. Karnik, C. Duan, K. Castelino, H. Daiguji, A. Majumdar, *Nano Lett.*, 2007, **7**, 547–551.
- [52] H. S. White, A. Bund, *Langmuir* 2008, **24**, 2212–2218.
- [53] Z. Siwy, E. Heins, C. C. Harrell, P. Kohli, C. R. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, **126**, 10850–10851.
- [54] B. Yameen, M. Ali, R. Neumann, W. Ensinger, W. Knoll, O. Azzaron, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, **131**, 2070–2071.
- [55] S. Howorka, Z. Siwy, *Chem. Soc. Rev.*, 2009, **38**, 2360–2384.
- [56] B. Vilozny, A. L. Wollenberg, P. Actis, D. Hwang, B. Singaram, N. Pourmand, *Nanoscale* 2013, **5**, 9214–9221.
- [57] D. A. Capdevila, W. A. Marmisollé, F.J. Williams, D.H. Murgida, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2013, **15**, 5386–5394.
- [58] W. J. Dressick, K. J. Wahl, N. D. Bassim, R. M. Stroud, D. Y. Petrovykh, *Langmuir* 2012, **28**, 15831–15843.
- [59] R. Schoch, J. Han, Renaud, *Rev. Mod. Phys.* 2008, **80**, 839–883.
- [60] G. Pérez-Mitta, A. G. Albesa, M. E. Toimil Molares, C. Trautmann, O. Azzaroni. *ChemPhysChem*, 2016, **17**, 1–9.
- [61] Daiguji, H. *Chem. Soc. Rev.* 2010, **39**, 901–911.
- [62] Xu, H.; Wei, G.; Lei, J. *Chem. Soc. Rev.* 2011, **40**, 2385–2401.
- [63] Choi, Y; Baker, L. A.; Hillebrenner, H.; Martin, C.R. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2006, **8**, 4976–4988.
- [64] Wen, L.; Tian Y.; Ma J.; Zhai J.; Jiang, L. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012, **14**, 4027–4042

- [65] Y. Shang, Y. Zhang, P. Li, J. Lai, X.-Y. Kong, W. Liu, K. Xiao, G. Xie, Y. Tian, L. Wen, L. Jiang, *Chem. Commun.* 2015, **51**, 5979.
- [66] H. Chun, T. Dong Chung, *Annu. Rev. Anal. Chem.*, 2015, **8**, 19.1–19.22.
- [67] I. Vlassioux, C. Park, S. A. Vail, D. Gust and S. Smirnov, *Nano Lett.* 2006, **6**, 1013–1017.
- [68] R. Karnik, C. Duan, K. Castelino, H. Daiguji and A. Majumdar, *Nano Lett.*, 2007, **7**, 547–551.
- [69] C. Zhang, D. A. Mcadams II, J. C. Grunlan, *Adv. Mater.*, 2016, **28**, 6292–6321.
- [70] R.L. Ripley, B. Bhushan, *Phil.Trans.R.Soc. A*, 2016, **374**, 20160192.
- [71] X. Hou, L. Jiang, *ACS nano*, 2009, **3**, 3339–3342.
- [72] G. Pérez-Mitta, A. G. Albesa, Christina Trautmann, M. E. Toimil-Molares, O. Azzaroni *Chem. Sci.*, 2017, **8**, 890.
- [73] W. H. Coulter, US Pat., 2656508, 1953
- [74] Z. S. Siwy, M. R. Powell, E. Kalman, R. D. Astumian and R. S. Eisenberg, *Nano Lett.*, 2006, **6**, 473–477.
- [75] G. Pérez-Mitta, A. G. Albesa, M. E. Toimil Molares, C. Trautmann, O. Azzaroni, *ChemPhysChem*, 2016, **17**, 1-9.
- [76] (a) P. Hanggi and R. Bartussek, *Lect. Notes Phys.*, 1996, 476, 294–308. (b) P. Hanggi, F. Marchesoni, *Rev. Mod. Phys.*, 2009, **81**, 387–442.
- [77] (a) Sexton, L. T.; Horne, L. P.; Martin, C. R. *Mol. BioSyst.* 2007, **3**, 667–685. (b) Siwy, Z. *Adv. Funct. Mater.* 2006, **16**, 735–746. (c) Wei, C.; Bard, A. J.; Feldberg, S. W. *Anal. Chem.* 1997, **69**, 4627–4633. (d) Siwy, Z.; Fulinski, A. *Phys. Rev. Lett.* 2002, **89**, 198103-1/4.
- [78] S. Howorka, Z. Siwy, *Chem. Soc. Rev.*, 2009, **38**, 2360–2384.

- [79] M. Fleischmann, P.J. Hendra, A.J. McQuillan, *Chemical Physics Letters*, 1974, **26**, 163-166
- [80] Y. Chen, X. hua, W. M. Hong, S. Erramilli, P. Mohanty, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **133**, 593-598.
- [81] M. Ali, M. N. Tahir, Z. Siwy, R. Neumann, W. Tremel, W. Ensinger, *Anal. Chem.*, 2011, **83**, 1673–1680.
- [82] X. Wang, Y. Chen, K.A. Gibneya, S. Erramilli, P. Mohanty, *Appl. Phys. Lett.*, 2008, **92**, 013903.
- [83] L. Lin, J. Yan, J. Li, *Anal. Chem.*, 2014, **86**, 10546–10551
- [84] G. Pérez-Mitta, L. Burr, J. S. Tuninetti, C. Trautmann, M. E. Toimil-Molares, O. Azzaroni *Nanoscale*, 2016, **8**, 1470.
- [85] Dixon, N.E. et al. *Can. J. Biochem.*, 1980, **58**, 481-488.
- [86] Cesareo, S.D., Langton, S.R., *FEMS Microbiol. Lett.*, 1992, **78**, 15-21.
- [87] E. Piccininia, C. Bliem, C. Reiner-Rozmanc, F. Battaglini, O. Azzaroni, W. Knoll, *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, **92**, 661–667.

Capítulo 10

Conclusiones Generales y Perspectivas

Los grandes avances a lo largo de los últimos 20 años en técnicas de nanofabricación y detección han permitido el desarrollo de muchas disciplinas cuyos fundamentos se sostienen en fenómenos asociados a superficies que se ven amplificados en presencia sistemas nanoestructurados debido ya sea a la presencia de una alta relación superficie-volumen o a fenómenos que ocurren por la existencia de confinamiento en estructuras cuyas dimensiones son del orden de las interacciones que definen el comportamiento del sistema. La *nanofluídica*, o el estudio del movimiento de fluidos a través de nanoestructuras, podría decirse que está contenida en esta última categoría, ya que los fenómenos más interesantes que predominan en ella dependen del confinamiento de soluciones acuosas en volúmenes del orden del attolitro. El desarrollo, diseño y fabricación de estructuras con arquitecturas definidas en estas dimensiones, son por supuesto extremadamente difíciles de conseguir y se requiere de equipamiento especial para poder hacerlo, como por ejemplo microscopios electrónicos de transmisión o aceleradores de iones. Sin embargo, el desafío se encuentra más allá de la obtención de una arquitectura determinada ya que a lo largo de los último años se han desarrollado protocolos reproducibles para fabricar nanocanales con diversas geometrías, tanto simétricas (cilíndricas) o asimétricas (cónicas) y con dimensiones controlables con resolución nanométrica en la mayoría de los casos. El desafío actual es obtener *nanodispositivos regulables* con amplio control sobre el transporte de especies y que puedan ser útiles en diversas aplicaciones tales como biosensado o el desarrollo de laboratorios-en-un-chip. Para llegar a este tipo de aplicaciones se necesita del desarrollo de la nanofluídica en dos campos interconectados que podríamos llamar, *iontrónica* y el *sensado nanofluídico*. La primera requiere básicamente del desarrollo de estructuras nanofluídicas que tengan un comportamiento iónico análogo a los componentes electrónicos (resistores, diodos, transistores y amplificadores). Siendo esto un requisito para el desarrollo final de circuitos moleculares que controlen la distribución y pre-concentración de especies de interés, ya sea

para producción de reacciones (bio)químicas controladas o para la optimización e integración de sistemas de biosensado. Por otro lado, también se requiere del desarrollo de sensores nanofluidicos *per se*, lo que incluye también el uso de conceptos de iontrónica. Pero en este caso, no para el control del transporte de especies sino para transducir un estímulo (bio)químico determinado en una respuesta legible experimentalmente. Ambos campos están fuertemente relacionados y requieren de la solución del mismo tipo de problemas: el **desarrollo de dispositivos nanofluidicos funcionales y responsivos**. Éste es el contexto en el cuál se desarrolló esta tesis en donde, como se planteó en lo objetivos iniciales, se buscó generar nuevas estrategias para el desarrollo de distintos tipos de dispositivos nanofluidicos responsivos a distintos estímulos tanto químicos como físicos.

La distribución de los capítulos fue diseñada en función de las técnicas de preparación, las cuales fueron agrupadas dentro de dos grandes grupos, técnicas *covalentes* y *no-covalentes*. Sin embargo, existen otras clasificaciones igualmente válidas de los experimentos aquí mostrados. Una de ellas sería en función de la responsividad desarrollada hacia un estímulo particular, ya sea químico (pH, concentración de K^+ , fosfato, fructosa, urea) o físico (potencial eléctrico). También se podría haber utilizado un criterio más funcional o iontrónico clasificando los experimentos en función del tipo de dispositivo desarrollado (resistor, diodo, transistor). A pesar de habernos decidido por una clasificación en particular, sigue siendo necesario tener en cuenta las demás para tener una visión completa de los resultados aquí presentados. La tabla al final de este capítulo muestra de manera resumida todos estos enfoques en el contexto de cada capítulo.

En el capítulo 2 y 3 se presentaron las estrategias y los elementos utilizados para el diseño, fabricación, caracterización e interpretación de cada experimento. Se presentó la tecnología de *ion-track-etching* que fue la principal herramienta para la fabricación de nanocanales en membranas poliméricas de politereftalato de etileno (PET) y policarbonato (PC). Se mostró también como se pueden obtener nanocanales de variadas geometrías tanto simétricas como asimétricas. En los capítulos subsiguientes se describió la combinación de estos nanocanales con distintas estrategias de modificación de las superficies.

El capítulo 4 exploró el uso de entrecruzamiento químico mediado por carbodiimidas para desarrollar un diodo iónico cuya respuesta dependa de la cantidad de iones K^+ en solución, mediante la formación de una monocapa de éteres corona *18-corona-6* sobre la superficie de los canales. De esta manera se pudo regular la respuesta iónica (el transporte de especies)

mediante el ajuste de la concentración de iones K^+ . El aspecto más importante de esta serie de experimentos fue la regulación de fenómenos de transporte iónicos mediante la formación de complejos supramoleculares en las paredes de los nanocanales, es decir la *regulación supramolecular* del transporte iónico. Estos experimentos abren la puerta a una futura exploración del uso de éteres corona, criptandos y ciclodextrinas, entre otros, como entidades capaces de controlar supramolecularmente el funcionamiento de elementos nanofluidicos.

En el capítulo 5 se exploró la obtención de nanocanales responsivos al pH mediante la polimerización de dopamina sobre la superficie de los mismos. Se mostró aquí por primera vez una estrategia que fue replicada a lo largo de la tesis, que es la de utilizar una reacción de polimerización controlada para reducir las dimensiones de los nanocanales para ajustar finamente su comportamiento iontrónico. De esta manera se pudo obtener un diodo nanofluidico a partir un nanocanal que se comportaba inicialmente como un resistor iónico; siendo éste a su vez responsivo al pH por las características anfóteras de la polidopamina (PDOPA). Sin embargo, se demostró que el principal punto de esta estrategia de fabricación es la capacidad de modificar fácilmente la capa de PDOPA con especies nucleofílicas mediante la reacción de adición de Michael o la metalización mediada por la oxidación de los grupos catecol en la estructura del polímero. Es decir, la capa de PDOPA sirve como una *interfaz para la modificación* de estructuras nanofluidicas. Sin lugar a dudas esta estrategia es lo suficientemente versátil para servir al desarrollo de diversas aplicaciones mediante el anclaje de especies de interés en la capa polimérica. Cabe destacar que desde la publicación de estos experimentos, este trabajo ha inspirado el diseño de biosensores nanofluidicos y catalizadores de reacciones de interés ambiental.¹⁻³

El capítulo 6 fue el comienzo de una serie de estrategias de fabricación de nanocanales funcionales que podrían ubicarse dentro de un grupo particular de experimentos: *la integración de polímeros conductores en dispositivos nanofluidicos*, la cual tuvo una buena recepción en la comunidad científica dedicada al estudio de nanoporos.^{4,5} Cabe destacar que en todos estos experimentos de síntesis de polímeros conductores, se utilizó la estrategia de reducción de tamaño presentada por primera vez en el capítulo 5. Al principio, se estudió la modificación de nanocanales previamente recubiertos con Au con polianilina (PANI) mediante síntesis electroquímica. De esta manera pudo obtenerse un sistema nanofluidico que permitió el control del transporte selectivo a aniones de los nanocanales modificados mediante la aplicación de un potencial eléctrico sobre la capa de PANI; es decir, el sistema se comportó como un *transistor nanofluidico*. Esto es de gran importancia ya que el potencial

electroquímico es fácilmente controlable y por lo tanto permitiría integrar este tipo de dispositivos en sistemas miniaturizados. A continuación, se utilizó la misma estrategia de fabricación pero con un derivado de la PANI, el *ácido poly(3-aminofenilborónico)*, mediante el cual se produjo un sistema nanofluídico cuyas características de transporte iónico estuvieron reguladas por la presencia de azúcares (fructosa) en solución la cual actuó como un *efector químico* del transporte iónico.

En el siguiente capítulo (7) se continuó con el trabajo de integración de polímeros conductores en nanocanales, pero en este caso se hizo hincapié en la simplificación del procedimiento de fabricación, utilizando síntesis química de *poli(3,4-etilendioxotiofeno)* (PEDOT) en lugar de electroquímica, lo que redujo el control sobre el crecimiento de la capa responsiva sobre el nanocanal pero evitó el requerimiento experimental de metalizar el nanocanal. En esta serie de experimentos se demostró la fabricación de un *diodo nanofluídico reconfigurable de efecto de campo*. Si bien también podríamos llamarlo transistor nanofluídico de efecto de campo, es importante hacer esta distinción ya que en este caso pudo controlarse completamente la dirección y magnitud de la rectificación iónica mediante el potencial de gate aplicado. En este contexto vale la pena señalar que no existe un componente electrónico análogo a este dispositivo, ya que ello implicaría poder reconfigurar la naturaleza de semiconductores tipo n o p de los diodos electrónicos, lo que resulta imposible en dispositivos de estado sólido. Sin embargo, esto sí es posible con dispositivos nanofluídicos (iontrónicos) modificados con polímeros conductores.

El capítulo 8 fue el primero de una serie de estrategias de fabricación no-covalentes y se basó en la fabricación de diodos iónicos responsivos a pH mediante la integración de polímeros anfílicos-anfotéricos o "*anfipols*" en nanocanales previamente modificados con Au. Futuros esfuerzos van a estar inclinados hacia la utilización de anfipols que contengan unidades funcionales de interés para biosensado.

En el capítulo 9 se desarrolló una larga serie de experimentos basados en la modificación no-covalente de nanocanales mediante ensamblado electrostático de polielectrolitos. Debido a que la carga nativa de los nanocanales es negativa se utilizó un polication, la *polialilamina* (PAH), en toda esta serie de experimentos. La PAH es la poliamina por antonomasia y su utilización está muy difundida en diversos campos. Sin embargo, era escaso el conocimiento acerca de su comportamiento en nanoconfinamiento. Por este motivo, la primera parte de este capítulo se centró en la descripción del comportamiento de la PAH dentro de los nanocanales

y como éste afecta la respuesta nanofluídica del mismo. Los resultados más importantes muestran que la presencia de PAH permite la obtención de un “*complejo anfótero*” (PET/PAH) en conjunto con las cargas de la superficie de los nanocanales que permite regular la carga superficial del nanocanal ajustando el pH de la solución y consecuentemente la dirección de la rectificación iónica. También observamos mediante simulaciones Monte Carlo que tanto la PAH como la superficie de los nanocanales permanecen cargadas aún a pHs extremos, lo que le confiere al sistema una estabilidad excepcional. La segunda parte se basó en el diseño de un nanocanal cuya respuesta estuvo regulada por interacciones poliamina-fosfato, es decir, un sistema *responsivo a fosfatos* en solución. Se demostró que es factible obtener un ajuste fino de la carga de la superficie de los nanocanales con pequeñas cantidades de fosfatos en solución. Por último, la tercera parte de este capítulo se centró en un nuevo concepto de fabricación de biosensores nanofluídicos que consiste en la integración electrostática de enzimas dentro de nanocanales previamente modificados con PAH con el objetivo de modificar las condiciones de pH local dentro de los nanocanales. Se ha denominado a este concepto *amplificación iontrónica*, y se comprobó utilizando la enzima ureasa, la cual degrada urea produciendo un aumento en el pH dentro del canal, modificando así el grado de protonación del complejo anfótero (PET/PAH) y por ende cambiando la carga del nanocanal. Se mostró que este dispositivo es reproducible y reutilizable además de ser extremadamente sensible, presentando un límite de detección de 1 nM. Cabe destacar que se ha extrapolado este concepto a otras enzimas mostrando resultados muy prometedores para diversos analitos.

(Capítulo) Sistema	Método de fabricación	Respuesta iontrónica (antes de la modificación)	Respuesta iontrónica (después de la modificación)	Sustrato (responsividad)
(4) PET/18-Corona-6	Entrecruzado asistido por carbodiimida	Diodo iónico	Diodo iónico regulado supramolecularmente	K ⁺
(5) PET/Polidopamina	Auto-polimerización oxidativa	Resistor iónico	Diodo iónico regulado por pH	pH, adición de Michael, reducción de sales metálicas
(6) PC/Au/Polianilina	Síntesis electroquímica	Resistor iónico	Transistor iónico de efecto de campo	pH y potencial eléctrico
(6) PC/Au/Poli(ácido aminofenilborónico)	Síntesis electroquímica	Resistor iónico	Diodo iónico regulado por azúcares	pH y azúcares
(7) PET/Poli(3,4-etilendioxitiofeno)	Polimerización oxidativa con FeTOS	Resistor iónico	Díodo reconfigurable de efecto de campo	Potencial eléctrico
(8) PC/Au/Anfipol	Ensamblaje no-covalente hidrofóbico	Diodo iónico	Diodo iónico regulado por pH	pH
(9) PET/Polialilamina	Ensamblaje electroestático	Diodo iónico	Diodo iónico regulado por pH y fosfatos	pH y fosfatos
(9) PET/Polialilamina/Ureasa	Ensamblaje electroestático	Diodo iónico	Diodo iónico regulado por pH y Urea	pH y Urea

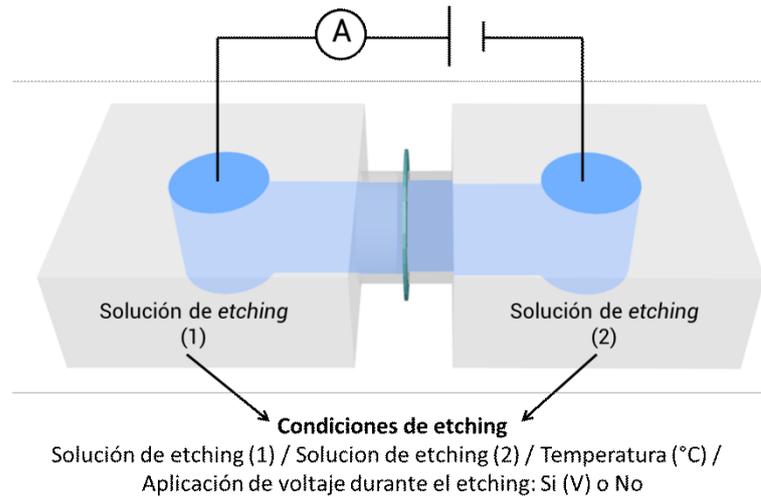
Tabla de resúmen. En esta tabla se describen los distintos sistemas experimentales estudiados en esta tesis junto con su descripción desde la técnica de fabricación, la respuesta iontrónica antes y después de ser modificados y la responsividad a distintos sustratos luego de la modificación. Aquí el material de cada nanocanal figura como PET o PC, las cuales son las siglas de politereftalato de etileno y policarbonato, respectivamente.

Referencias

- [1] M. Ali, S. Nasir, W. Ensinger, *Electrochimica Acta*, 2016, **215**, 231
- [2] Z.-G. Gu, W.-Q. Fu, X. Wua, J. Zhang, *Chem. Commun.* 2016, **52**, 772.
- [3] J. Tripathy, G. Loget, M. Altomare, P. Schmuki, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2016, **16**, 5353.
- [4] Q. Zhang, Z. Zhang, H. Zhou, Z. Xie, L. Wen, Z. Liu, J. Zhai, X. Diao, *Nano research*, 2017, **10**, 3715.
- [5] T. Xiao, Q. Liu, Q. Zhang, Z. Liu, J. Zha, *J. Phys. Chem. C*, 2017, **121**, 18954.

Apéndice 1

Protocolos de fabricación de nanocanales *Track-etched*



Material	Geometría	Condiciones de Etching	Velocidad de Etching / nm.min ⁻¹	Refs.
PC	cilíndrico	3-6 M NaOH/3-6 M NaOH/ 30-60°C/ No	~30 (a 6 M y 50°C, Au, 1hs UV cada lado) ~1 (5 M y 60°C)	1,2
PET	cilíndrico	0,2-6 M NaOH/0,2-6 M NaOH/ 30-80°C/ No	~0.8 (a 0,2 M a 80°C, Kr) ~0.3 (a 0,1 M a 80°C, Au) ~5 (a 5 M a 50°C, Au)	3,4,5
PET	cónico	9 M NaOH/ 1 M HCOOH/ 25°C/ 1 V (W, lado base)	~2 (a 9 M a 25°C, Au)	6
PC	cónico	9 M NaOH/ 1 M HCOOH/ 25°C/ 1 V (W, lado base)	~3 (a 9 M a 25°C, Au, 1V, 1hs UV cada lado) ~20 (a 9 M a 25°C, Au, 30V, 1hs UV cada lado)	7
PC	cónico	6-9 M NaOH:Metanol, 40:60/ Agua/ 30°C/ 1V (W, lado base)	~35 (40:60, 6 M a 30°C, 1V, 1hs UV cada lado)	8
PI	cónico	13% Cl activo NaOCl/ 1 M KI/ 50°C/ 1 V (W, lado base)	~10 (13% a 50°C, U)	9,10
PET	Bi-Cónico	9 M NaOH/ 9 M NaOH/	~2 (a 9 M a 25°C, Au)	11
PET	Parabólico (Bala)	6 M NaOH+0.05% 2a1 Dowfax/ 6 M NaOH/ 60 °C/ No	~15-60 (6 M a 60°C, Au)	12,13
PET	Parabólico (Cigarro)	6 M NaOH + 0.025% Sodio dodecil difenil éter disulfonato/ 6 M NaOH + 0.025% Sodio dodecil difenil éter disulfonato/ 60°C/No	~20 (6 M+0.025% a 60°C)	14

La Tabla 1 muestra los distintos protocolos que deben seguirse para la fabricación de nanocanales con determinadas geometrías en sustratos poliméricos. Para simplificar el entendimiento de la tabla se presenta arriba de esta un esquema de la celda de *etching* en donde se muestra la ubicación de los elementos que se varían en las *condiciones de etching*.

Referencias

- [1] E. Ferain, R. Legras, *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B*, 1994, **84**, 331-336.
- [2] L. Movsesyan, et al., *Semicond. Sci. Technol.* 2016, **31**, 014006.
- [3] P.Y. Apel, Radiation measurements, *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B*, 1995, **25**, 1.
- [4] P.Y. Apel et al. *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B*, 1998, **146**, 468.
- [5] M. Ali et al., *Chem. Commun.*, 2015,**51**, 3454.
- [6] P.Y. Apel et al *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res., B* 2001, **184**, 337.
- [7] C.C. Harrell et al. *small*, 2006, **2**, 194.
- [8] G. Pérez-Mitta et al. *Nanoscale*, 2016, **8**, 1470.
- [9] Z. Siwy et al. *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B*, 2003, **208**, 143.
- [10] Z. Siwy et al. *Surface Science*, (2003), **532**,1061.
- [11] H. Zhang et al. *Small*, 2014, **11**, 786.
- [12] P.Y. Apel et al. *Nanotechnology*, 2007, **18**, 305302.
- [13] G. Pérez-Mitta et al. *J. Phys. Chem. C*, 2017, **121**, 9070.
- [14] H. Zhang et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 16102.

Apéndice 2

Resolución unidimensional de las ecuaciones de Poisson-Nernst-Planck

El modelo continuo de PNP fue utilizado para modelar experimentos de transporte en nanocanales asimétricos (cónicos o con forma de bala) de longitud d , tamaño de base a_b y tamaño de punta a_L .¹⁻³ Para describir el transporte de iones en los nanocanales se utilizaron las ecuaciones de Nernst-Planck,

$$\vec{J}_i = -D_i(\nabla c_i + z_i c_i \nabla \phi) \quad (1)$$

Junto con la ecuación de Poisson,

$$\nabla^2 \phi = -\frac{F^2}{\epsilon RT} \sum_i z_i c_i \quad (2)$$

Y la ecuación de continuidad,

$$\nabla \cdot \vec{J} = 0 \quad (3)$$

Donde \vec{J}_i, D_i, z_i , son, el flujo iónico, el coeficiente de difusión y la carga del ion i , respectivamente y ϵ la permitividad de la solución dentro del nanocanal

the ionic flux, the diffusion coefficient, the charge of the ion and the permittivity of the solution inside the nanochannel, respectively.

Suponiendo que los poros son largos y estrechos, se pueden introducir algunas aproximaciones. En primer lugar, podemos suponer que el flujo tiene solo una componente axial y, por lo tanto, las ecuaciones (1) y (3) pueden reescribirse como,

$$J_i = -D_i \left(\frac{dc_i}{dx} + z_i c_i \frac{d\phi}{dx} \right) \quad (4)$$

Y

$$\frac{d}{dx} (\pi a^2 J_i) = 0 \quad (5)$$

Donde a es el radio del nanocanal el cual queda definido por la ecuación,

$$a(x) = \frac{a_R - a_L \exp[-(d/h)^n] - (a_R - a_L) \exp[-(x/d)^n (d/h)^n]}{1 - \exp[-(d/h)^n]} \quad (6)$$

Con $n > 0$

Donde n y d/h son parámetros geométricos que controlan la forma de los nanocanales.

Luego, podemos definir la condición de electroneutralidad como,

$$\sum_i z_i c_i + X_F = 0 \quad (7)$$

Donde X_F es la concentración volumétrica de cargas fijas a la superficie y puede obtenerse a partir de,

$$X_F = \frac{2\sigma}{aF} \quad (8)$$

Donde σ es la densidad de carga superficial. Asumimos que se establece un equilibrio de Donnan en las entradas del poro y por lo tanto, la concentración iónica en la base y punta de los nanocanales está dada por,

$$c_i(0) = c_L \exp(-z_i \Delta\phi_L) \quad (9a)$$

y

$$c_i(d) = c_R \exp(z_i \Delta\phi_R) \quad (9b)$$

Donde $\Delta\phi_L$ y $\Delta\phi_R$ son los potenciales Donnan dados por,

$$\Delta\phi_L = \phi(0) - \phi_L \quad (10a)$$

Y

$$\Delta\phi_R = \phi_R - \phi(d) \quad (110b)$$

Combinando las ecuaciones (9) y (10), junto con la condición de electroneutralidad (7), la concentración iónica en la base y la punta del nanocanal resulta en,

$$c_i(0) = \frac{1}{2} \left(-z_i X_F(0) + \sqrt{[X_F(0)]^2 + 4c_L^2} \right) \quad (12)$$

y

$$c_i(d) = \frac{1}{2} \left(-z_i X_F(d) + \sqrt{[X_F(d)]^2 + 4c_R^2} \right) \quad (13)$$

Finalmente, el potencial eléctrico y los perfiles de concentración iónica se pueden obtener mediante la resolución numérica de las ecuaciones (4), (5) y (7) mediante el método de diferencias finitas, junto con las condiciones de contorno (9), (10) y (11).

La corriente que fluye en cualquier sección del nanoporo se puede obtener de,

$$I = \sum_i z_i F \pi a^2 J_i \quad (14)$$

Los parámetros geométricos utilizados para resolver las ecuaciones PNP dependen en del experimento en particular. En general, para d , a_B y $\sigma^{4,5}$ hemos utilizado valores experimentales; d/h , n y a_L se ajustaron a partir de las curvas experimentales.

Referencias

- [1] Cervera, J., Schiedt, B., Neumann, R., Mafé, S., Ramírez, P. *Journal of Chemical Physics*, 2006, **124**, 104706.
- [2] Ramírez, P., Apel, P. Y., Cervera, J., & Mafé, S. *Nanotechnology*, 2008, **19**, 315707.
- [3] Pérez-Mitta, G., Albesa, A. G., Knoll, W., Trautmann, C., Toimil-Molares, M. E., Azzaroni, O. *Nanoscale*, 2015, **7**, 15594-15598.
- [4] Constantin, D., Siwy, Z.S. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 2007, **76**, 041202.
- [5] Apel, P.Yu., Blonskaya, I.V., Levkovich, N.V., Orelovich, O.L. *Petroleum chemistry*, 2011, **51**, 555.

Apéndice 3

Distribución iónica 2D calculada mediante simulaciones Monte Carlo

Se usaron simulaciones MC para obtener distribuciones radiales de especies iónicas para un nanoporo de 10 nm con y sin carga superficial.

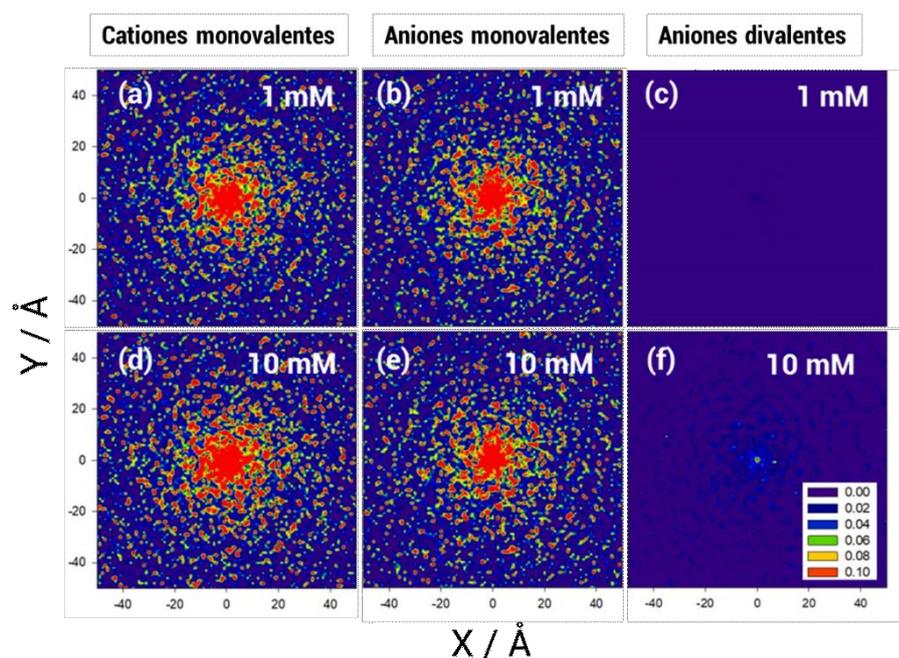


Figura A31. Distribución iónica 2D dentro de un canal desnudo de 10 nm de diámetro sin carga sobre las paredes a una concentración de sal divalente de, (a), (b), (c) 1 mM and (d), (e), (f) 10 mM.

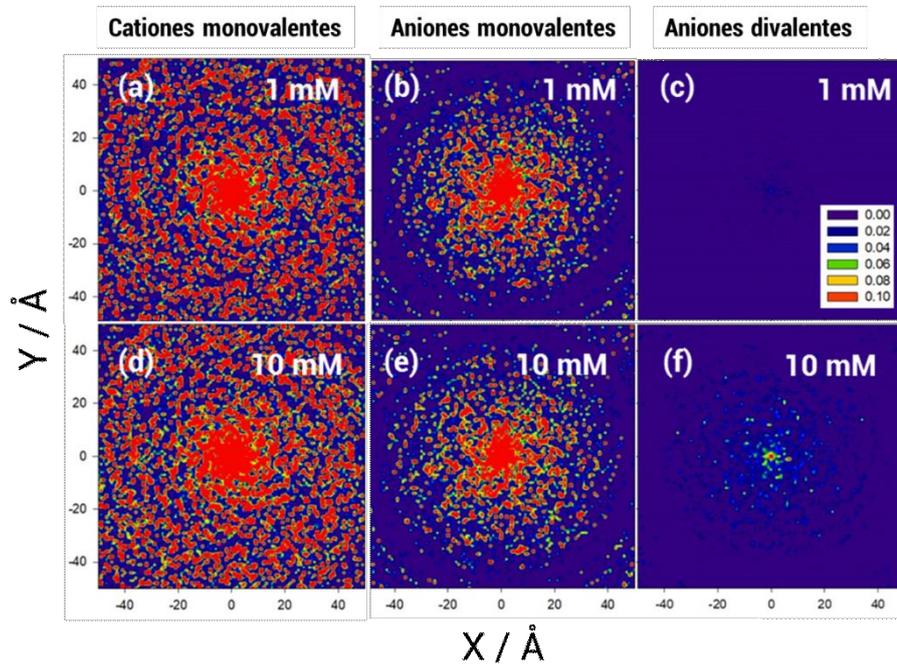


Figura A32. Distribución iónica 2D dentro de un canal desnudo de 10 nm de diámetro cargado negativamente a una concentración de sal divalente de, (a), (b), (c) 1 mM and (d), (e), (f) 10 mM.

Publicaciones asociadas a esta tesis doctoral

Capítulo 2

Gonzalo Pérez-Mitta, Alberto G. Albesa, Christina Trautmann, María Eugenia Toimil-Molares and Omar Azzaroni. *“Bioinspired integrated nanosystems based on solidstate nanopores: “iontronic” transduction of biological, chemical and physical stimuli”*. Chemical Science, **2017**, 8, 890.

Gonzalo Pérez-Mitta, C. Trautmann, M.E. Toimil-Molares and O. Azzaroni *“Chapter 3: Single Ion Track-Etched Nanochannels for Analytical Applications”* in *“Chemically Modified Nanopores and Nanochannels”* edited by Mario Tagliazucchi and Igal Szleifer, Elsevier, **2017**

Gonzalo Pérez-Mitta, Alberto G. Albesa, María E. Toimil Molares, Christina Trautmann and Omar Azzaroni. *“The Influence of Divalent Anions on the Rectification Properties of Nanofluidic Diodes: Insights from Experiments and Theoretical Simulations”* ChemPhysChem, **2016**, 17, 1 – 9.

Capítulo 4

Gonzalo Pérez-Mitta, Alberto G. Albesa, Wolfgang Knoll, Christina Trautmann, María E. Toimil-Molares and Omar Azzaroni *“Host–guest supramolecular chemistry in solid-state nanopores: potassium-driven modulation of ionic transport in nanofluidic diodes”* Nanoscale, **2015**, 7, 15594–15598.

Capítulo 5

Gonzalo Pérez-Mitta, Jimena S. Tuninetti, Wolfgang Knoll, Christina Trautmann, María Eugenia Toimil-Molares and Omar Azzaroni. *“Polydopamine Meets Solid-State Nanopores: A Bioinspired Integrative Surface Chemistry Approach To Tailor the Functional Properties of Nanofluidic Diodes”* J. Am. Chem. Soc. **2015**, 137, 6011–6017.

Capítulo 6

Gonzalo Pérez-Mitta, Waldemar A. Marmisollé, Christina Trautmann, María Eugenia Toimil-Molares and Omar Azzaroni. “*Nanofluidic Diodes with Dynamic Rectification Properties Stemming from Reversible Electrochemical Conversions in Conducting Polymers*” J. Am. Chem. Soc. **2015**, 137, 15382–15385.

Gonzalo Pérez-Mitta, Waldemar A. Marmisollé, Loïc Burr, Christina Trautmann, María Eugenia Toimil-Molares and Omar Azzaroni. “*Proton-gated rectification regimes in nanofluidic diodes switched by chemical effectors*” enviado **2017**

Capítulo 7

Gonzalo Pérez-Mitta, Waldemar A. Marmisollé, Christina Trautmann, María E. Toimil-Molares and Omar Azzaroni. “*All-Plastic Field-Effect Nanofluidic Diode Gated by a Conducting Polymer Layer*” Adv. Mater., **2017**, 26, 1700972.

Capítulo 8

Gonzalo Pérez-Mitta, Loïc Burr, Jimena S. Tuninetti, Christina Trautmann, María E. Toimil-Molares and Omar Azzaroni. “*Noncovalent functionalization of solid-state nanopores via self-assembly of amphipols*” Nanoscale, **2016**, 8, 1470–1478.

Capítulo 9

Gonzalo Pérez-Mitta, Alberto Gustavo Albesa, Facundo Matías Gilles, María E. Toimil-Molares, Christina Trautmann, and Omar Azzaroni. “*A Noncovalent Approach Towards the Construction of Nanofluidic Diodes with pH-Reversible Rectifying Properties - Insights from Theory and Experiment*” J. Phys. Chem. C, **2017**, 121, 9070-9076.

Gonzalo Pérez-Mitta, Waldemar A. Marmisollé, Alberto A. Albesa, María E. Toimil-Molares, Christina Trautmann and Omar Azzaroni. “*Phosphate-responsive biomimetic nanofluidic diodes regulated by polyamine-phosphate interactions. Insights into their functional behavior from theory and experiment*” Small, **2017**, DOI: 10.1002/smll.201702131.

Agradecimientos

El desarrollo de una tesis doctoral es una experiencia educativa sumamente particular y personal en el sentido que no hay dos doctorados iguales. El área de trabajo, la relación con el director y con los compañeros de trabajo puede configurar doctorados inmensamente disímiles y en cualquier caso, una experiencia exitosa y positiva depende de una buena interacción entre estos factores. Es por esto que en todo doctorado siempre existen personas a quienes agradecer por ser quienes hacen o hicieron que el trabajo de construcción de la “Tesis” haya podido completarse con éxito sin mayores daños físicos (o psiquiátricos).

Yendo más a lo particular, a través de los 5 años que duró este doctorado atravesé diversos estamentos profesionales que fueron constituyendo (para bien o para mal) la base del científico que seré el día de mañana. En este sentido quisiera agradecer a mi director *Omar*, mi “mentor”, de quien aprendí innumerables cosas, tanto técnicas como filosóficas sobre el quehacer científico. También a mi codirectora *Maria Eugenia* cuya buena predisposición y actitud positiva y constructiva fueron absolutamente contagiosas e hicieron posible el desarrollo de muchos de los proyectos mostrados en esta tesis. Si bien de mis directores aprendí mucho, también lo hice de mis compañeros de trabajo en el laboratorio, *Waldemar, Beto, Jimena, Lorena, Lucas, Juan, Matías, Eliana, Seba y Esteban*. Además de esto, todos ellos junto con el resto de los miembros del laboratorio, *Gabi, Marcelo, Mariana, Cata, los Agus, Pico, Iborra y Lorenzo, Ana Sol, Nico, Juan, Gus, Gonza y Gabo* siempre contribuyeron al mantenimiento de un espíritu de trabajo de colaboración, generosidad y positividad en el cual trabajar fue muy lindo. En un sentido similar, quisiera agradecer a mis amigos “de afuera” quienes me acogieron y ayudaron inmensamente durante mis estancias en Alemania, *Loïc, Dimitri, Peter, Liana, Anton, Janina, Michael y Christian* así como a *Christina* por haberme aceptado en su grupo.

En el ámbito personal, quisiera agradecer a mi familia, a mis padres *Marcelo y Adriana* por su confianza, apoyo y por valorar la educación por encima de todo lo demás y enseñarme a hacerlo también, a mis hermanos, *Santiago y Florencia* por ser ejemplos de dedicación y laboriosidad y a mi novia *Laura*, por apoyarme y acompañarme en mis aciertos y errores. También a mis amigos eternos y constantes, *Fede, Juan, Chiro, Seba, Marcos, Manu, Lea, Agus, Eze* y a *Benyi*.

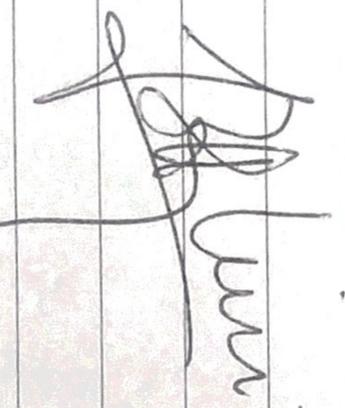
Por último quisiera agradecer a *la educación pública y gratuita* generadora de igualdad y desarrollo, a mi alma mater la Universidad Nacional de La Plata, al CONICET por el financiamiento durante mi formación doctoral y a la DAAD y DFG por el financiamiento durante mis estadias en Alemania.

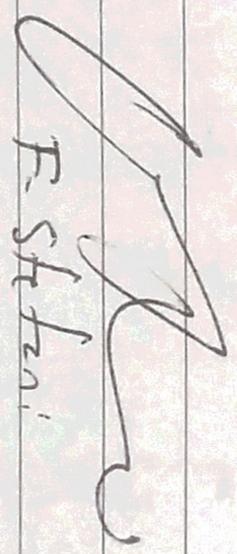
ACTA MOB

EN EL DIA DE LA FECHA, EL LIC. PÉREZ HITTA GONZALO, HA REALIZADO LA DEFENSA DE SU TESIS DOCTORAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, ÁREA QUÍMICA.

EL TESIISTA, HA APROBADO LA MISMA CON LA CALIFICACIÓN : APROBADO CON MENCIÓN ESPECIAL SEGUN LA EVALUACIÓN DEL JURADO INTEGRADO POR LOS SEÑOROS FIRMANTES.

LA PUSTA, 14 DE DICIEMBRE DE 2014




F. S. H. G.


CRISTINA HORPE

26°.- Finalizada la exposición oral y pública a cargo del doctorando, y luego de la discusión posterior que será coordinada por uno de los miembros del jurado, se levantará un Acta de evaluación en la cual los miembros del Jurado analizarán el contenido, calidad, originalidad, y valor científico del trabajo, así como la calidad y nivel de su defensa. Finalmente se calificará la Tesis como Desaprobada, Aprobada o Aprobada con mención especial del jurado, dejándose constancia de esta calificación en el Acta labrada a tal efecto. La calificación de Aprobada con mención especial del jurado sólo deberá otorgarse a aquellos trabajos de Tesis que se destaquen por un mérito excepcional en todos los aspectos analizados, el cual deberá fundamentarse en el Acta, y deberá ser otorgada por unanimidad de los miembros del jurado. Todas las decisiones del jurado serán fundadas e inapelables.

Expediente:

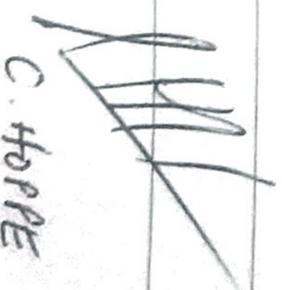
ACTA:

DICTAMEN

La tesis expone un campo nuevo, que es la penetración de dispositivos basados en el flujo de iones que permiten medir en circuitos moleculares en los distintos capítulos se describen la fabricación de dispositivos capacitivos resonantes acústicos para la caracterización de transistores, combinando técnicas de nanofabricación con técnicas de modificación de superficies. En trabajos futuros tiene los méritos siguientes: Para merecer la máxima calificación.



F. Stehni



C. Hoppe