



Departament de Química Orgànica

Programa de doctorat: Química Orgànica

Bienni: 2002-2004

# **HOMOASOCIACIÓN DE PORFIRINAS SOLUBLES EN AGUA**

Memoria que presenta Carlos Escudero Rodríguez para optar al título de Doctor en  
Química

Revisada por:

Josep M<sup>a</sup> Ribó i Trujillo (director de tesis)  
Departament de Química Orgànica,  
Universitat de Barcelona.

Carlos Escudero Rodríguez,  
Departament de Química Orgànica,  
Universitat de Barcelona.

Barcelona, octubre de 2007

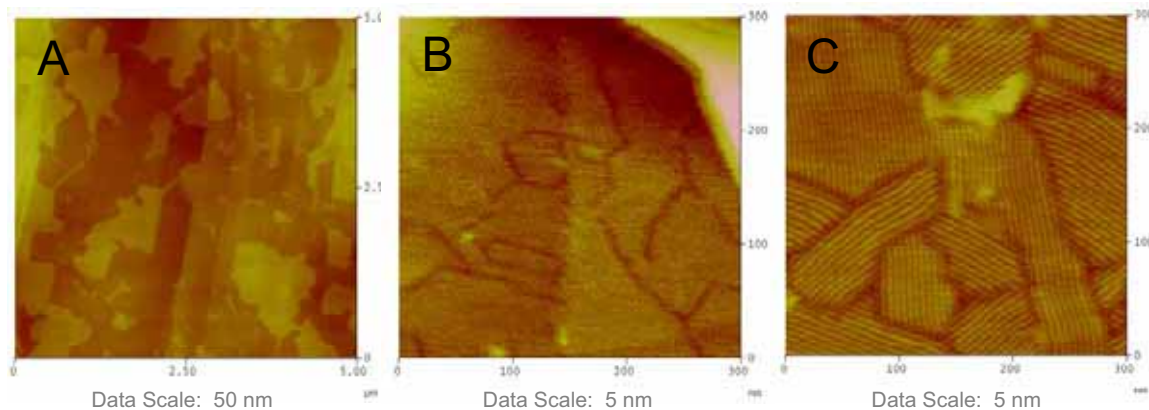
## Capítulo III

# FORMACIÓN DE MONOCAPAS DE MONOESTEARATO DE 1-GLICERILO

Como se ha indicado en el capítulo II, al trabajar con las porfirinas anfifílicas  $H_4TPPS_4$  y  $H_3TPPS_3$  se observó una importante interacción con superficies de vidrio y cuarzo que nos forzó a utilizar materiales de plástico para su almacenamiento y manipulación. El material de laboratorio utilizado para el almacenamiento fueron tubos de polipropileno nuevos, tubos de centrífuga de base cónica de 50 mL y 15 mL de Deltalab (Rubí, España). Para su manipulación se utilizaron micropipetas con puntas de un solo uso, también de polipropileno (ver parte experimental).

En los estudios por AFM de las soluciones de porfirina se obtuvieron depósitos cuya presencia no presentaba relación con las especies de porfirina. Al estudiar por AFM los depósitos obtenidos sobre grafito (HOPG) a partir de soluciones ácidas (0,05 M  $H_2SO_4$  M) muy diluidas de estas porfirinas ( $1 \times 10^{-7}$  M), almacenadas en recipientes de polipropileno de 50 mL, se detectó una monocapa con una arquitectura definida, formando hileras (Fig. III-1B,C). Estas hileras se distribuían en paralelo formando dominios que se orientaban formando ángulos de  $60^\circ$  o  $120^\circ$  como consecuencia de la epitaxis con el grafito. Entre hileras la distancia era de  $5,6 \pm 0,1$  nm y la altura del depósito con respecto al grafito era de  $0,45 \pm 0,1$  nm (medida por análisis de sección en zonas de frontera entre dominios). También se observaron unas planchas de altura  $4,0 \pm 0,2$  nm (por encima de la monocapa de hileras) distribuidas por toda la superficie (Fig. III-1A). Estas

nanoestructuras aparecían utilizando diferentes tiempos de deposición, desde unos segundos hasta varios minutos, pero mientras las planchas se observaron fácilmente, la monocapa fue muy sensible a los parámetros instrumentales del AFM haciendo más difícil su detección.

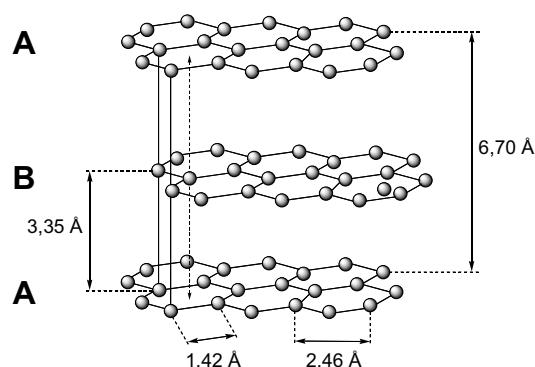


**Fig. III-1** Imágenes de AFM de: A) el depósito durante 1 min de una solución de  $H_4TPPS_4$   $1 \times 10^{-7}$  M en  $H_2SO_4$  0,05 M ( $5 \mu m \times 5 \mu m$ ); B) ampliación de una zona de la imagen anterior ( $300 \text{ nm} \times 300 \text{ nm}$ ); y C) imagen obtenida a partir de otra solución en las mismas condiciones que A y B ( $300 \text{ nm} \times 300 \text{ nm}$ ).

En cambio con soluciones de mayor concentración ( $1 \times 10^{-4}$  M– $1 \times 10^{-3}$  M) se observaron el mismo tipo de nanoestructuras pero sólo cuando se depositó la solución durante unos segundos. Al llenar un tubo sólo con agua, esperar unos 30 min y realizar la deposición de este  $H_2O$  sobre grafito (según el procedimiento descrito en la parte experimental) también se obtuvieron las planchas y la monocapa completa de hileras descritas anteriormente. Por tanto estas estructuras detectadas por AFM en la interficie grafito/aire eran debidas a una o varias especies contaminantes provenientes de las puntas de las micropipetas o los tubos de polipropileno. Al agitar vigorosamente  $\sim 25$  mL de  $H_2O$  en un tubo de plástico durante unos minutos se observó la aparición de cierto grado de espuma, lo cual confirmaba que el origen de la contaminación detectada estaba en los tubos utilizados.

## 1. Estudio del origen de la monocapa

La forma más común del grafito en la naturaleza es el grafito hexagonal,<sup>175</sup> cuya estructura cristalina se representa en la Fig. III-2. Las diferentes capas están espaciadas 3,35 Å entre sí, mientras que dentro de cada capa la distancia entre C vecinos es 1,42 Å y la constante de red en el plano es 2,46 Å.<sup>151</sup>



**Fig. III-2** Estructura cristalina más común del grafito. Las constantes de red son 2,46 Å (en el plano) y 6,70 Å (en el eje perpendicular a las capas).<sup>151</sup>

Las capas vecinas están alternadas entre sí, mostrando una ordenación ABABAB..., y una constante de red en el eje perpendicular a los planos grafiticos de 6,70 Å. Esta secuencia y ordenación dan lugar a la existencia de dos tipos de posiciones no equivalentes para los átomos de C dentro de la superficie bidimensional de la celda unidad. Unos átomos de C presentan otros átomos de C vecinos directamente debajo en la capa siguiente (posición  $\alpha$ ), mientras que otros átomos de C están localizados justo encima del centro del anillo de grafito hexagonal de la capa adyacente (posición  $\beta$ ). La estructura corresponde a una red triangular con una constante de red de 2,46 Å y tres orientaciones principales (epitaxis del grafito). La existencia de estas dos posiciones no equivalentes para los átomos de C es la causa de que cuando se realizan medidas de STM de superficies grafiticas (HOPG) sólo se resuelvan tres de los seis átomos de C de cada anillo hexagonal. La detección de formas regulares de periodicidades aparentes en AFM,

a frecuencias bastante por debajo de la resolución de la técnica es consecuencia del fenómeno de *aliasing*. Según el teorema del muestreo de Shannon, el *aliasing* ocurre cuando el muestreo de una señal se realiza con una frecuencia menor que el doble de la frecuencia más alta presentada por la señal (criterio *Nyquist*).<sup>176</sup> En nuestro caso pudimos justificar que este efecto de *aliasing* o cualquier otro tipo de efecto relacionado con el muestreo regular del instrumento no era el origen del patrón regular observado, debido a que:

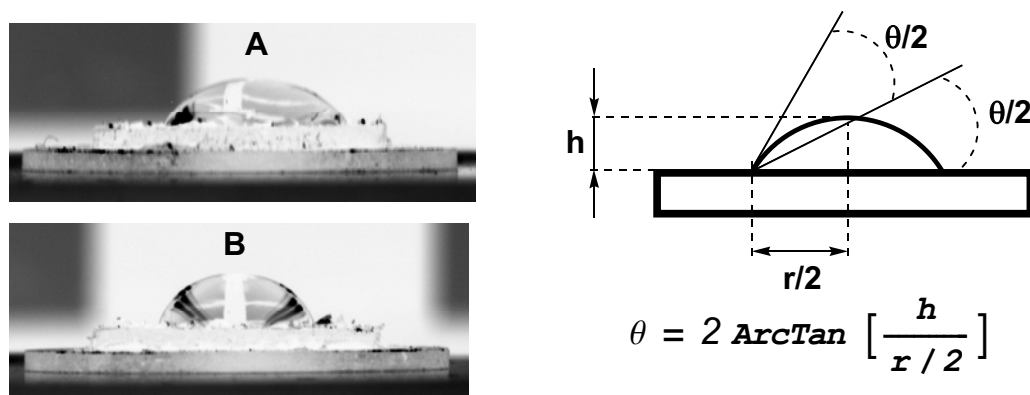
- a) La morfología del adsorbato se mantuvo invariable al cambiar el tamaño de la imagen escaneada incluso a magnificaciones muy grandes de  $50 \times 50 \text{ nm}^2$ .
- b) El patrón de hileras se conservó al variar algunos parámetros instrumentales para eliminar el posible *aliasing* de la velocidad de escaneo lineal con la velocidad del muestreo digital o con el sistema de retroalimentación (*feedback*, para más información véase anexo).
- c) La periodicidad detectada de las hileras y los ángulos entre los diferentes dominios que conforman no cambiaron al rotar la dirección del barrido de la punta de AFM respecto al sustrato.

Por tanto estas observaciones experimentales junto con la reproducibilidad de los resultados al utilizar instrumentos de AFM con diferentes electrónicas, confirmaron que el origen del patrón de hileras detectado no se debía a un fenómeno corriente de interferometría o de *moiré*,<sup>177,178</sup> sino que se debía a la deposición de especies presentes en el tubo de polipropileno utilizado para almacenar las muestras. Una vez establecido que el patrón en hileras no era un artefacto experimental, procedimos a su identificación.

### 1.1. Estudio del ángulo de contacto

Depositamos una gota de  $\text{H}_2\text{O}$  ( $50 \mu\text{L}$ ) sobre una superficie de grafito recién clivada y medimos el ángulo de contacto que formaba, obteniendo un valor de

$55 \pm 1^\circ$  (de acuerdo con su naturaleza hidrofóbica, Fig. III-3A). Clivamos de nuevo esta misma placa de grafito y preparamos la deposición de  $H_2O$  ( $50 \mu L$ ) que había sido agitada durante 30 min en un tubo de polipropileno. Después de comprobar la presencia de las planchas y la monocapa de hileras por AFM, realizamos una nueva deposición de  $H_2O$  ( $50 \mu L$ ) para medir el ángulo de contacto, obteniendo un valor de  $71 \pm 1^\circ$  (Fig. III-3B). El resultado indica el carácter hidrofóbico del contaminante depositado sobre el grafito.

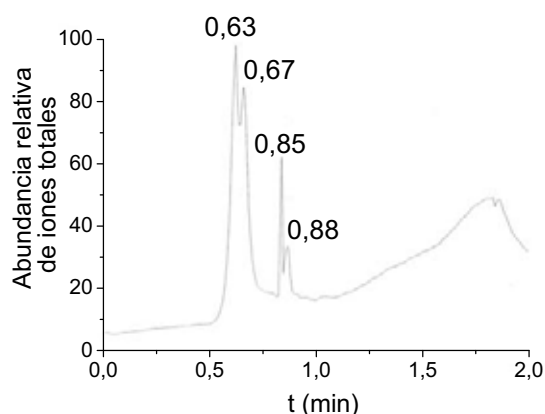


**Fig. III-3** Imágenes obtenidas para medir el ángulo de contacto de una gota de  $H_2O$  ( $50 \mu L$ ) sobre: A) una placa de grafito recién clivada; B) la misma placa de grafito anterior con planchas y la monocapa de hileras. A la derecha de estas imágenes se describe el método de determinación del ángulo de contacto.

## 1.2. Aislamiento y caracterización de la especie contaminante

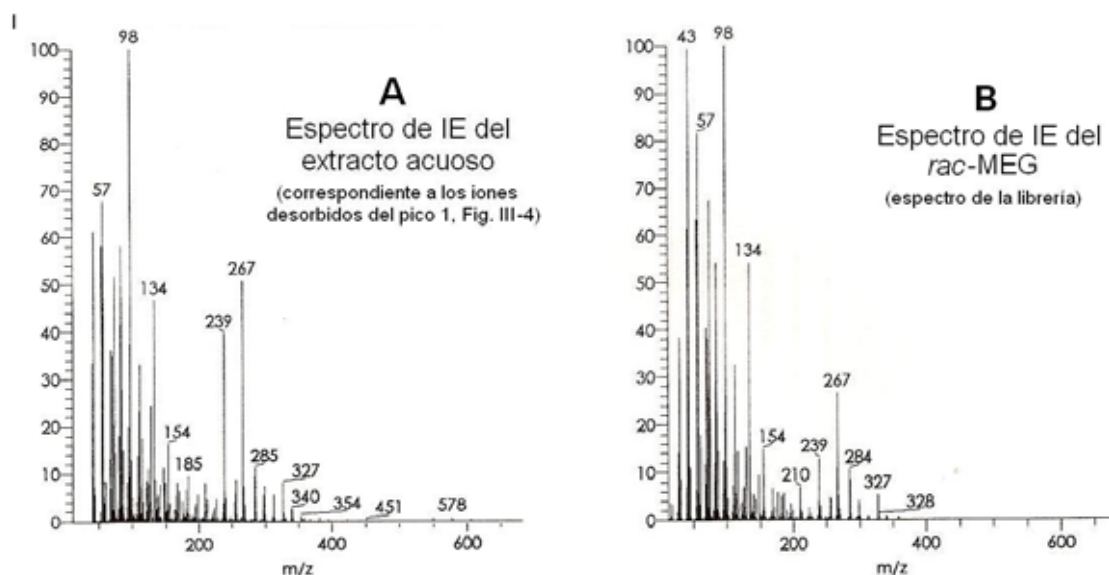
Primero se optó por reproducir las condiciones experimentales utilizadas en AFM y por tanto añadimos 25 mL de  $H_2O$  a un tubo de polipropileno, agitamos durante unos 10 min y trasvasamos todo el líquido a un nuevo tubo, siguiendo este procedimiento con 20 tubos para concentrar las especies presentes. El extracto final presentaba una gran cantidad de espuma, y se procedió a su análisis mediante diferentes técnicas (RMN, UV-Vis, EM).

En una sonda de deposición (DEP) del instrumento de EM/IE se depositó 1  $\mu$ L del extracto acuoso de los 20 tubos y se secó bajo una lámpara de IR. La operación se repitió dos veces más y realizamos la medida por EM/IE. Se obtuvieron 5 picos debido a la desorción de diversas especies con la temperatura (Fig. III-4).



**Fig. III-4** Representación de la abundancia relativa de iones desorbidos de la sonda con el depósito del extracto acuoso por EM/IE.

Al analizar los espectros de masas obtenidos para cada uno de los picos detectados y cotejarlos con los espectros de la librería de espectros, observamos que el del pico que aparecía en primer lugar, de mayor intensidad, se ajustaba con una alta probabilidad al espectro del monoestearato de 1-glicerilo (Fig. III-5). El siguiente pico, segundo en intensidad, se correlacionaba con una probabilidad del 50 % con el del 1,2-diestearato de glicerilo. Para los tres picos restantes no se obtuvieron correspondencias claras con otros compuestos.



**Fig. III-5** Espectros de impacto electrónico (IE) de: A) el extracto acuoso (el pico principal detectado); y B) el *rac*-MEG (espectro de la librería).

Se realizó una extracción con 1 mL de  $\text{CHCl}_3$  del  $\text{H}_2\text{O}$  utilizada para “lavar” los 20 tubos y se analizó la fase orgánica mediante impacto electrónico. En este caso se depositó 1  $\mu\text{L}$  del extracto orgánico y se obtuvo un único pico, correspondiente a la desorción de una sola especie, su espectro era el del monoestearato de 1-glicerilo. Tal como se comprobó al analizar una muestra comercial de monoestearato de 1-glicerilo racémico, el espectro de impacto electrónico de este compuesto comercial en cloroformo fue muy similar al espectro obtenido para el extracto acuoso de los 20 tubos y al obtenido mediante una extracción con  $\text{CHCl}_3$  del agua de “lavado” de los 20 tubos.

A continuación procedimos a buscar las condiciones experimentales más adecuadas para comprobar si las nanoestructuras se debían a la contaminación de monoestearato de 1-glicerilo. Su formación tendría lugar por autoensamblaje bidimensional sobre la superficie de grafito de la mezcla racémica del monoestearato de 1-glicerilo. La monocapa podría ser racémica o enantiomórfica, por ello procedimos a estudiar el comportamiento del monoestearato de 1-glicerilo racémico (*rac*-MEG) y del 3-*sn*-monoestearato de glicerilo (3-*sn*-MEG), el único enantiómero disponible comercialmente. Mediante su estudio por AFM y



comparación podríamos deducir si existe discriminación quiral o no en la formación de la monocapa.

En conclusión las sustancias que se encuentran en el extracto acuoso deben proceder de los aditivos utilizados en la industria de plásticos para las operaciones de moldeo. En este sentido, el monoestearato de glicerilo y el diestearato de glicerilo son lubricantes típicos en la industria de plásticos.

## III.1. INTRODUCCIÓN

La obtención de nanoestructuras en interfaces a partir de tensioactivos ha atraído mucho la atención de varios investigadores<sup>179-183</sup> a causa del amplio potencial que muestran en muchos procesos tecnológicos como por ejemplo en electrónica molecular, o bien por la posibilidad de su uso como plantillas autoensambladas que puedan adsorber o inducir el crecimiento de otras especies de manera selectiva.<sup>184</sup> Actualmente se están realizando grandes esfuerzos para la caracterización y preparación de monocapas estructuradas de arquitectura regular, y su estudio utilizando las técnicas de Microscopia de Campo Cercano (*Scanning Probe Microscopy*, SPM).

### III.1.1. Objetivos

Primero es necesario encontrar las condiciones óptimas para la preparación de la una monocapa completa a partir de los compuestos comerciales puros y en el menor tiempo de deposición posible (como corresponde en la preparación de la monocapa a partir del contaminante de los tubos de plástico). Una vez determinado el procedimiento, el objetivo es estudiar muestras de los compuestos comerciales: del monoestearato de 1-glicerilo racémico (*rac*-MEG) y de uno de sus enantiómeros, el 3-*sn*-monoestearato de glicerilo (3-*sn*-MEG). La comparación de las monocapas debería permitir discernir si tiene lugar o no la discriminación quiral en la deposición de la especie racémica.

## III.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### III.2.1. Preparación de la muestra acuosa de surfactante

Se optimizó el procedimiento experimental para preparar soluciones que formaran monocapas completas sobre grafito en pocos segundos de deposición. Se disolvieron 9,0 mg (25 mmol) del monoglicérido (*rac*-MEG o 3-*sn*-MEG) en 0,5 mL de  $\text{CHCl}_3$  en un tubo de vidrio Pyrex. Después, con una jeringa trasvasamos el volumen necesario de la solución del monoglicérido en  $\text{CHCl}_3$  (50 mM) a un tubo de vidrio, de 15 mL de volumen, con tapón de rosca (recubierto de teflón) en el cual habíamos añadido previamente 5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  Milli-Q recién purificada. Se trabajó variando la concentración final de monoestearato de 1-glicerilo por encima y por debajo de su concentración micelar crítica ( $cmc = 30 \mu\text{M}$ )<sup>185</sup> entre 6  $\mu\text{M}$  y 300  $\mu\text{M}$  para optimizar la formación de la monocapa. Las mejores condiciones para su obtención en pocos segundos se obtuvieron trabajando a una concentración 150  $\mu\text{M}$  de 3-*sn*-MEG (15  $\mu\text{L}$  de la solución clorofórmica sobre 5 mL de agua) y 300  $\mu\text{M}$  de *rac*-MEG (30  $\mu\text{L}$  de la solución clorofórmica sobre 5 mL de agua). La adición de la solución orgánica con la jeringa se realizó dejando resbalar el líquido por las paredes del tubo de vidrio de 15 mL a 1 cm del volumen de  $\text{H}_2\text{O}$  añadido. La mezcla se agitó vigorosamente y después se dejó en reposo durante 20-30 min, antes de proceder a su deposición sobre grafito para su estudio por AFM. Este tiempo de espera desde que la preparación de las soluciones hasta su utilización resultó ser una variable crítica para la detección de la monocapa. Las soluciones recién preparadas generalmente no formaron la capa y la deposición de soluciones muy envejecidas resultó en la co-deposición de micro- y nanopartículas que interfirieron en la visualización de la misma.

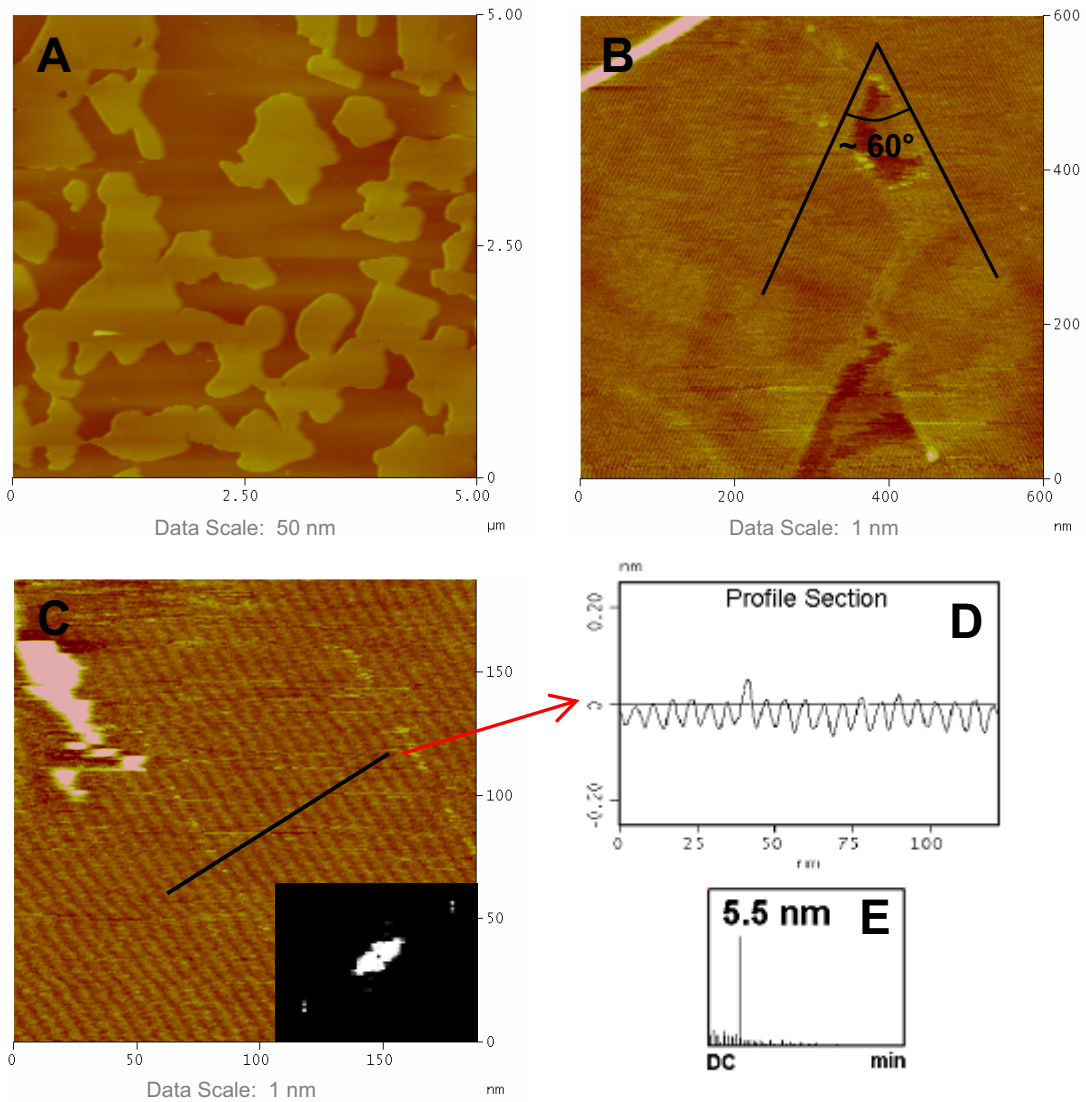
### III.2.2. Deposición de la muestra y observación por AFM

Para la deposición de la muestra se siguió el mismo procedimiento utilizado para las porfirinas. Se añadió una gota de la solución de *rac*-MEG o 3-*sn*-MEG (50  $\mu$ L) sobre la superficie de grafito (HOPG), se dejó la gota en contacto con el sustrato grafitico durante un tiempo variable (de 2 s a 1 min) y secó con papel de filtro y con flujo de  $N_2$ . Inmediatamente después se procedió a la obtención de imágenes de AFM.

Para determinar parámetros estructurales como la anchura de las hileras y los ángulos entre hileras de dominios adyacentes, se han realizado medias a partir de un gran número de observaciones individuales en pares de imágenes de una misma zona obtenidas escaneando de arriba a abajo y de abajo a arriba (media de la deriva). Además la deriva se minimizó trabajando a una magnificación de imagen baja (500 nm x 500 nm), pero que permitiera identificar con claridad la dirección de las hileras. Esto nos ha permitido medir ángulos con un error de  $\pm 2^\circ$ . La estructura de las hileras se determinó en las imágenes con poca deriva y a magnificaciones mayores que 200 nm x 200 nm. En relación a las hileras debemos remarcar que la resolución de la técnica determinó que éstas no pudieran ser observadas cuando la dirección de barrido de la sonda de AFM coincidió con la de su alineación. Esto, como veremos más adelante, es debido a que la corrugación en la dirección perpendicular al patrón de hileras es muy baja.

#### III.2.2.1. *rac*-MEG

Las imágenes de AFM mostraron, en el rango del micrómetro, una monocapa dividida en dominios con un patrón de hileras orientadas en direcciones definidas. También se observaron unas planchas con una altura fija de  $4,0 \pm 0,2$  nm (respecto la monocapa, Fig. III-6A) y en algunos depósitos partículas irregulares. Dentro de cada dominio, entre hileras paralelas (Fig. III-6C) se midió una distancia regular de  $5,6 \pm 0,1$  nm con una corrugación de menos de 0,1 nm para los valores pico-valle (ver Fig. III-6D).



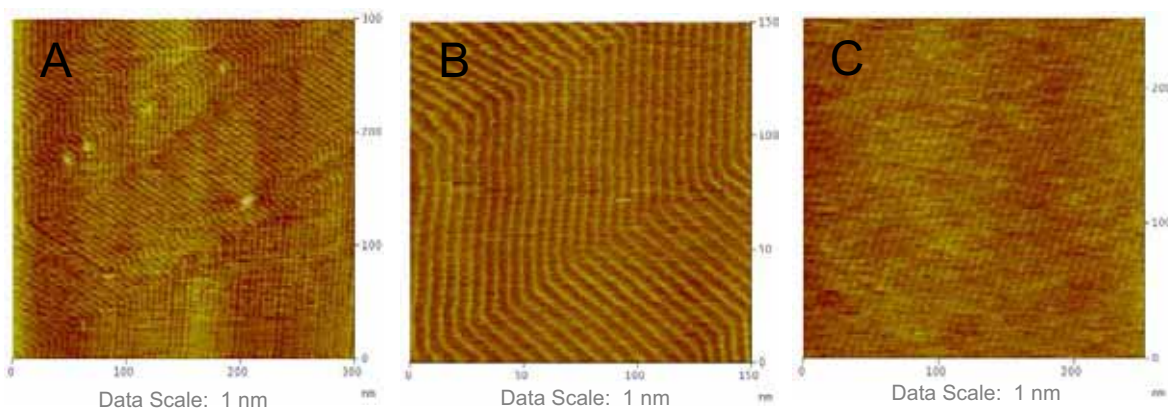
**Fig. III-6** Imágenes de AFM del depósito de una solución acuosa de *rac*-MEG  $300 \mu\text{M}$  (depositada durante 2 s) mostrando: A) planchas de altura constante ( $5 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$ ); B) dominios con el patrón de hileras ( $600 \text{ nm} \times 600 \text{ nm}$ ); C) imagen del patrón de hileras en paralelo con la transformada de Fourier 2D del patrón insertada en la imagen ( $180 \text{ nm} \times 180 \text{ nm}$ ); D) análisis de sección del perfil marcado en la imagen C; y E) histograma de frecuencias de la imagen C mostrando el período regular entre hileras.

En las zonas de frontera entre dominios pudimos medir la altura de las hileras respecto la superficie del grafito mediante un análisis de sección:  $0,45 \pm 0,1 \text{ nm}$ . Estos parámetros y los patrones estructurales de las imágenes

obtenidas fueron indistinguibles respecto a las obtenidas con el contaminante de los tubos de plástico. Se confirmó por tanto que la sustancia contaminante que formaba estas nanoestructuras correspondía al *rac*-MEG. La altura ( $0,45 \pm 0,1$  nm) elimina la posible presencia de cualquier estructura micelar o hemicelar formada por moléculas de *rac*-MEG perpendiculares al plano del sustrato y confirma que la capa de hileras corresponde a una monocapa de moléculas de *rac*-MEG dispuestas planarmente.

Las hileras seguían unas orientaciones determinadas, formando dominios degenerados con direcciones intercambiables por rotaciones de  $60^\circ$ . Esto está de acuerdo con la simetría hexagonal del grafito utilizado como sustrato (Fig. III-6B) e indica un claro crecimiento epitaxial de la monocapa.

En algunas imágenes observamos que las hileras se estructuraban en zigzag sin aparentes discontinuidades de las hileras al variar la orientación (Fig. III-7A y III-7B). Al estudiar la evolución temporal del depósito de *rac*-MEG sobre grafito, observamos que después de 48 h ya no se detectaban este tipo de estructuras en zigzag (Fig. III-7C) y se detectó un claro crecimiento del tamaño de los dominios. Esto indica una alta estabilidad del autoensamblaje, no obstante, las nanopartículas descritas (tanto las estructuras en hileras como las planchas) no resistieron el AFM en modo contacto (véase anexo) y fueron barridas por la punta incluso aplicando fuerzas pequeñas de cientos de pN usando micropalancas de SiN blandas.

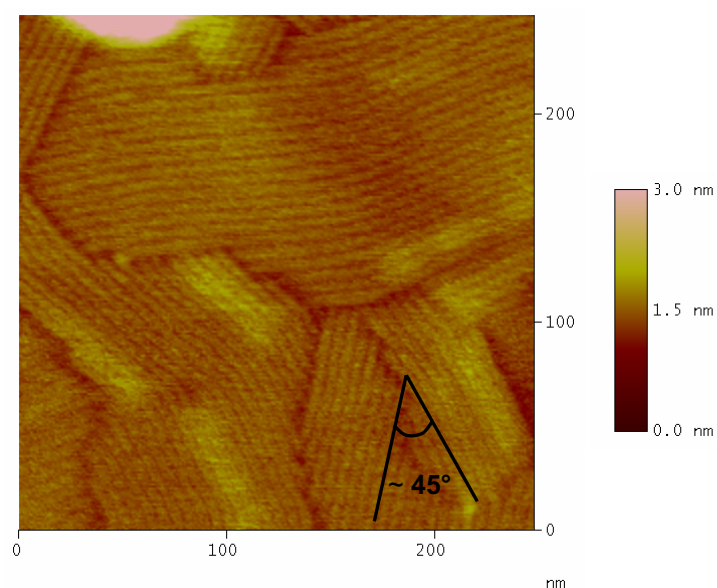


**Fig. III-7** Imágenes de AFM del mismo depósito de una solución acuosa de *rac*-MEG  $300 \mu\text{M}$  (depositada durante 2 s): A)  $300 \text{ nm} \times 300 \text{ nm}$ ; B)  $150 \text{ nm} \times 150 \text{ nm}$ ; y C) después de 48 h,  $250 \text{ nm} \times 250 \text{ nm}$ .

La resolución obtenida por AFM del patrón de hileras mostró un mapa de fuerzas atómicas muy similar al esperado para una superestructura epitaxial formada entre el grafeno y una monocapa de monoglicérido. Las nanoestructuras tipo plancha, de altura constante ( $4,0 \pm 0,2$  nm), que representan el crecimiento en la tercera dimensión de la monocapa bidimensional, no mostraron ningún tipo de detalle estructural en su superficie.

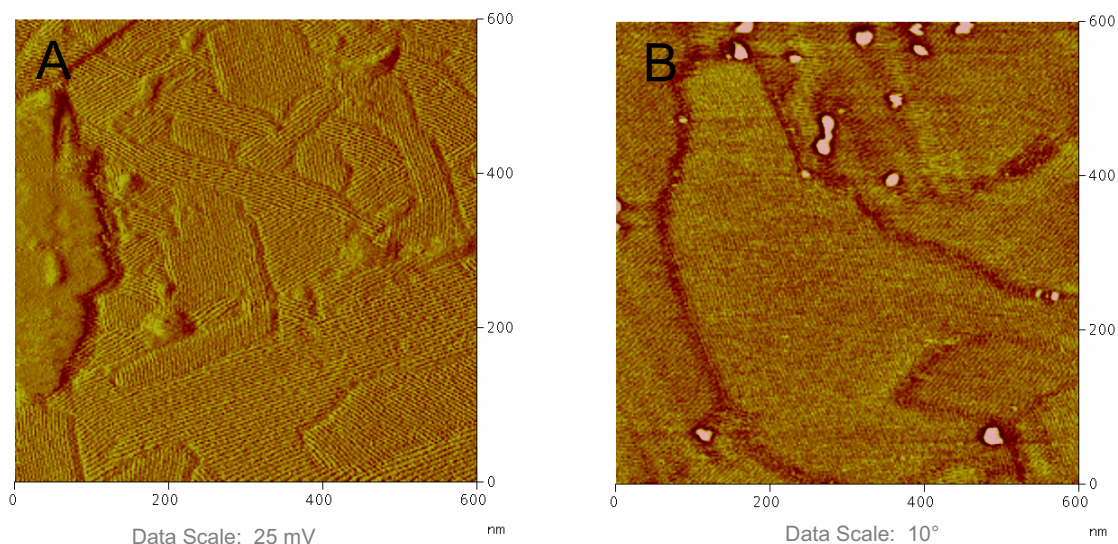
Al comparar las imágenes obtenidas a partir del *rac*-MEG con las obtenidas a partir de la contaminación del tubo de plástico observamos algunas diferencias significativas:

- En el caso del *rac*-MEG detectamos hileras *continuas* en zigzag que no observamos en el caso del H<sub>2</sub>O contaminada.
- En el caso del *rac*-MEG las hileras de dominios adyacentes siempre se orientaban en direcciones intercambiables por rotaciones de  $60^\circ$  (véase Fig. III-6B; pág. 161), mientras que en el caso del H<sub>2</sub>O contaminada no siempre se cumplía esta orientación y medimos algunos ángulos entre las hileras de dominios contiguos de  $15^\circ$  y  $45^\circ$  (Fig. III-8).<sup>186</sup>



**Fig. III-8** Imagen de AFM (250 nm x 250 nm) del depósito durante 1 min del extracto acuoso de un tubo de plástico.

- c) Los dominios obtenidos a partir del *rac*-MEG fueron, en general, más grandes en comparación con los obtenidos a partir del H<sub>2</sub>O contaminada de los tubos de plástico (Fig. III-9).



**Fig. III-9** A) Imagen de amplitud (600 nm x 600 nm) del depósito durante 1 min del extracto acuoso de un tubo de plástico; y B) imagen de fase (600 nm x 600 nm) del depósito durante 2 s de una solución acuosa de *rac*-MEG 300  $\mu$ M.

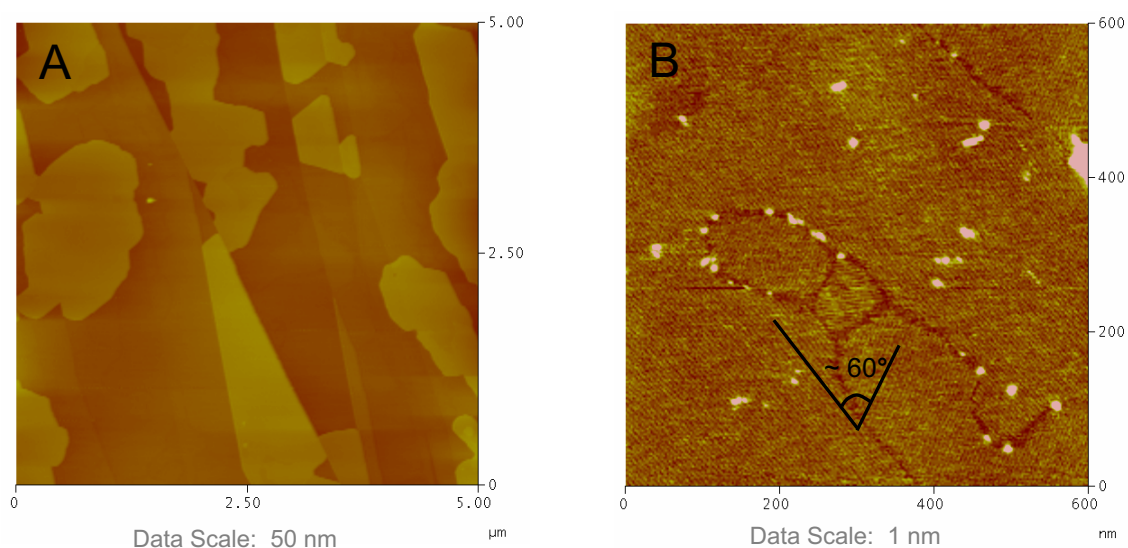
- d) En el caso de los depósitos obtenidos a partir del extracto acuoso observamos algunas zonas de las hileras que presentan una mayor altura (véanse Fig. III-1; pág. 152 y Fig. III-8; pág. anterior), mientras que en el caso de los depósitos de *rac*-MEG no observamos estas zonas.

La monocapa y las planchas hemos confirmado que se forman a partir del monoestearato de 1-glicerilo, que resultó ser el contaminante mayoritario detectado en el H<sub>2</sub>O en contacto con los tubos de plástico. La presencia de otras sustancias en las soluciones contaminadas de los tubos de plástico podría explicar las diferencias que hemos visto entre los depósitos de *rac*-MEG y del extracto acuoso de los tubos de plástico.

### III.2.2.2. 3-*sn*-MEG

Se realizó el estudio por AFM del único enantiómero comercial disponible del monoestearato de 1-glicerilo, el 3-*sn*-MEG. Su comparación con el estudio realizado para la mezcla racémica (*rac*-MEG) nos permitiría discernir cómo tiene lugar el crecimiento de estos dominios bidimensionales sobre grafito (HOPG). En el proceso de autoensamblaje de la especie racémica se podrían formar dominios racémicos, formados por ambos enantiómeros. Pero también se podría producir una resolución espontánea obteniendo dominios especulares, idénticos a los formados a partir del material enantioméricamente puro (3-*sn*-MEG). Este último caso se denomina formación de dominios de conglomerado.

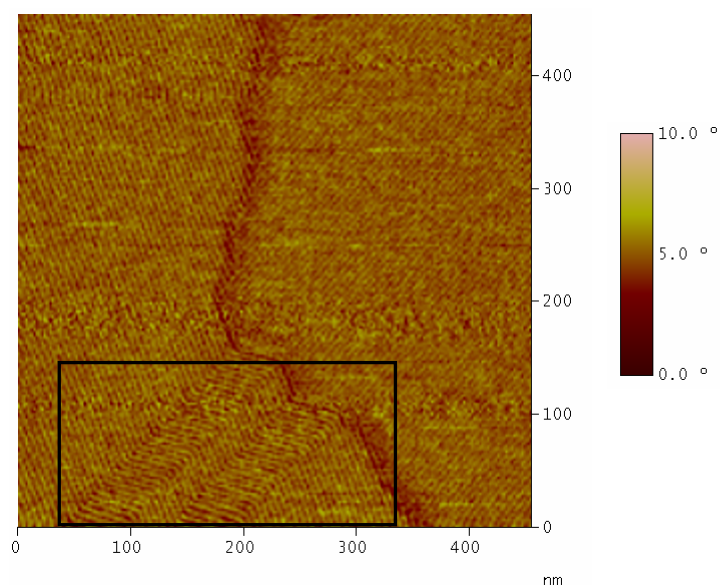
Las imágenes obtenidas para las deposiciones de soluciones de 3-*sn*-MEG se obtuvieron según el procedimiento descrito previamente y mostraron el mismo tipo de nanoestructuras que hemos descrito para la especie racémica. Se observó una monocapa completa distribuida en dominios con un patrón de hileras orientadas según la epitaxis del grafito (Fig. III-10B) y planchas de altura  $4,0 \pm 0,2$  nm respecto la monocapa (Fig. III-10A). También se detectaron partículas irregulares en algunos depósitos.



**Fig. III-10** Imágenes de amplitud del depósito durante 2 s de una solución acuosa de 3-*sn*-MEG 150  $\mu$ M: A) 5  $\mu$ m x 5  $\mu$ m; y B) 600 nm x 600 nm.



En el patrón de hileras paralelas de cada dominio se midió una distancia entre hileras contiguas de  $5,6 \pm 0,1$  nm y una altura de las hileras respecto a la superficie de grafito de  $0,45 \pm 0,1$  nm, lo cual confirmó la formación de una monocapa de 3-*sn*-MEG. También se observaron en algunas zonas hileras continuas estructuradas en zigzag (Fig. III-11), al igual que se describió anteriormente para la especie racémica.



**Fig. III-11** Imagen de AFM (450 nm x 450 nm) en modo amplitud del depósito de una solución acuosa de 3-*sn*-MEG 150  $\mu$ M (depositada durante 2 s).

Los depósitos evolucionaron en el tiempo aumentando el tamaño de los dominios y con la desaparición de las estructuras en zigzag, de nuevo un comportamiento igual al reportado previamente para el compuesto racémico. Un hecho remarcable es que mientras las condiciones óptimas para una rápida formación de la monocapa se obtenían a una concentración 300  $\mu$ M de *rac*-MEG, para el caso de 3-*sn*-MEG se obtuvieron monocapas comparables a una concentración de 150  $\mu$ M.

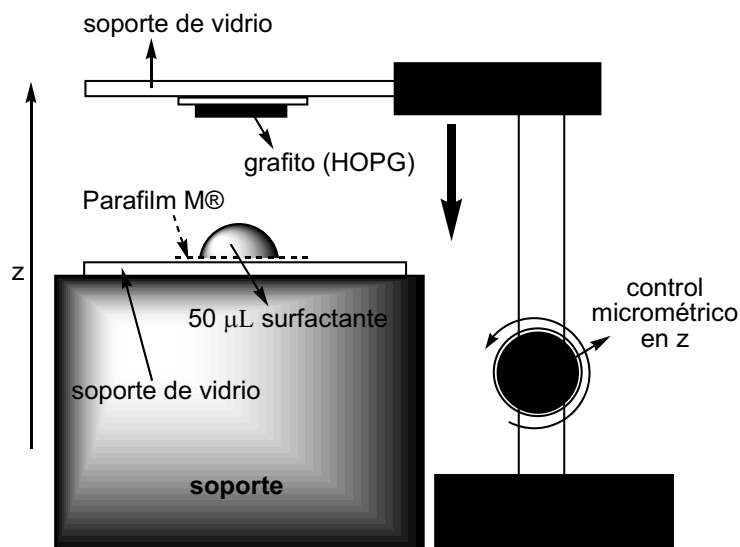
Además de la gran similitud en los depósitos de ambas especies, se observó que por lo general los dominios formados a partir de soluciones del enantiómero eran más amplios con respecto a los formados a partir de soluciones de la especie racémica. Al comparar los parámetros estructurales obtenidos para las nanoestructuras formadas a partir de 3-*sn*-MEG y *rac*-MEG, no detectamos variación alguna. La gran similitud de los depósitos de ambas especies indica que en la formación de la monocapa bidimensional por autoensamblaje tiene lugar la resolución espontánea de la especie racémica con la consiguiente discriminación quiral. En consecuencia los dominios no están formados por la especie racémica, sino por especies enantioméricas puras.

### **III.2.3. Proceso de formación de la monocapa**

El procedimiento de deposición descrito a partir de soluciones 300  $\mu\text{M}$  de *rac*-MEG y 150  $\mu\text{M}$  de 3-*sn*-MEG condujo a la formación en unos pocos segundos de la monocapa. Esto sugiere la existencia previa de ensamblajes moleculares en la gota de deposición que justificarían esta rápida formación.

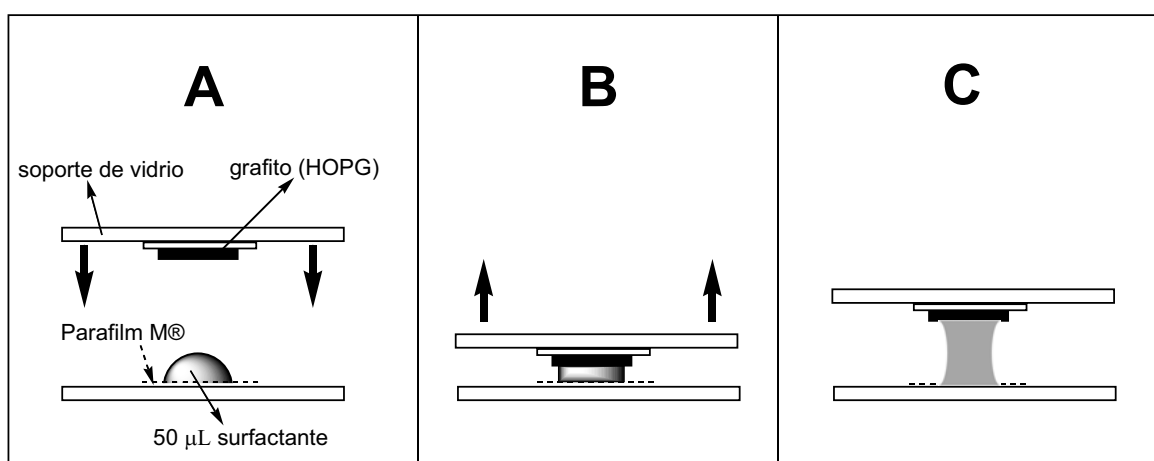
#### **III.2.3.1. Procedimiento de deposición inversa**

Decidimos diseñar un nuevo método de deposición para ver si realmente las especies que conformaban la monocapa estaban situadas en la interficie aire-agua de la gota depositada. Se añadió una gota (50  $\mu\text{L}$ ) de solución de surfactante (*rac*-MEG o 3-*sn*-MEG) sobre un trozo de Parafilm fijado en un soporte de vidrio. Mediante una plataforma móvil verticalmente (en z) con control al nivel del micrómetro se dispuso una placa de grafito sobre otro soporte de vidrio, encarando la cara del grafito a la gota depositada sobre grafito (Fig. III-12).



**Fig. III-12** Esquema del montaje realizado para llevar a cabo las deposiciones de tipo “inverso”, en las cuales se evita la deposición de partículas por gravedad.

Fuimos bajando el soporte de vidrio con el grafito en dirección a la gota (Fig. III-13A) hasta que hubo contacto (Fig. III-13B), entonces separamos cuidadosamente ambas plataformas elevando ligeramente la placa de grafito y consiguiendo así un cuello de H<sub>2</sub>O de forma cilíndrica (Fig. III-13C). Este proceso se llevó a cabo en 15 segundos. Después se dejó la gota entre el Parafilm y el grafito durante 30 segundos y se secó con papel de filtro y con un flujo de N<sub>2</sub>.

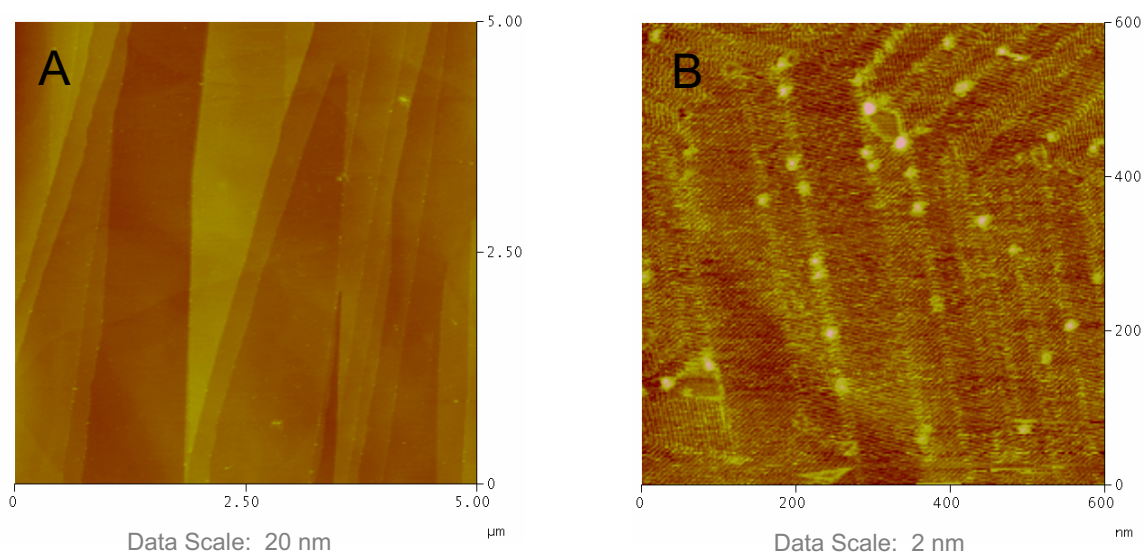


**Figura III-13** Procedimiento realizado para llevar a cabo las deposiciones de tipo “inverso”, en las cuales se evita la deposición de partículas por gravedad. Desde la deposición de la gota en la situación A hasta la situación B pasan 15 s, luego dejamos otros 30 s el sistema en la posición C antes de proceder al secado de la gota con papel de filtro y flujo de N<sub>2</sub>.

Siguiendo este procedimiento de deposición inversa se obtuvieron imágenes con amplios dominios de hileras uniformes minimizando la presencia de partículas sobre la monocapa (aún se encontraron algunos pequeños fragmentos).

### III.2.3.1.1. Deposición inversa de soluciones de *rac*-MEG

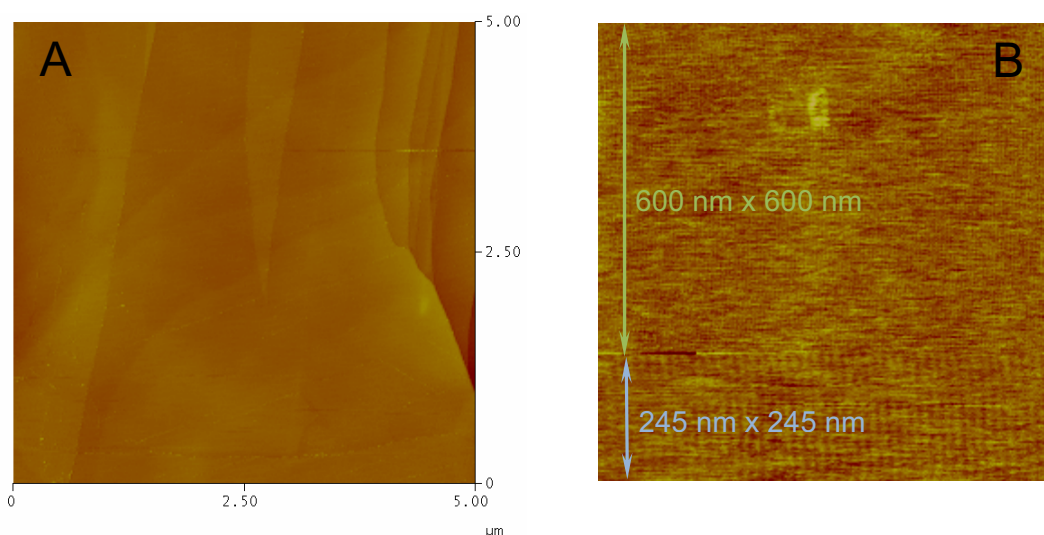
Las imágenes de la Fig. III-14 corresponden al depósito de una solución 300  $\mu\text{M}$  de *rac*-MEG siguiendo el procedimiento descrito para la deposición inversa. En la imagen de 5  $\mu\text{m}$  x 5  $\mu\text{m}$  (Fig. III-14A) se observó la ausencia de planchas de altura constante ( $4,0 \pm 0,2$  nm) que sí detectábamos en la deposición normal a partir de la misma solución acuosa de la especie racémica. En cambio sí que se detectó una monocapa formada por dominios con el patrón de hileras característico (Fig. III-14B) y también pequeñas partículas irregulares en menor número respecto a la deposición directa.



**Fig. III-14** Imágenes de AFM del mismo depósito de una solución acuosa de *rac*-MEG 300  $\mu\text{M}$  obtenido según el procedimiento descrito para la deposición inversa (Esquema III-2): A) 5  $\mu\text{m}$  x 5  $\mu\text{m}$ ; y B) 600 nm x 600 nm.

### III.2.3.1.2. Deposición inversa de soluciones de 3-*sn*-MEG

Las imágenes de AFM de deposiciones inversas (realizadas según se ha descrito previamente en el Esquema III-2) de soluciones 150  $\mu\text{M}$  de 3-*sn*-MEG mostraron una situación similar a las obtenida en las mismas condiciones para soluciones 300  $\mu\text{M}$  de *rac*-MEG. Se observó la superficie de grafito libre de planchas, con algunas partículas irregulares y se detectó de nuevo una monocapa completa con el patrón de hileras (Fig. III-15).



**Fig. III-15** Imágenes de AFM del mismo depósito obtenido a partir de una solución acuosa de 3-*sn*-MEG 150  $\mu\text{M}$  según el procedimiento descrito para la deposición inversa (Esquema III-2): A) 5  $\mu\text{m}$  x 5  $\mu\text{m}$ ; y B) El barrido empezó por la parte superior (600 nm x 600 nm) y posteriormente realizamos una ampliación en la misma imagen (245 nm x 245 nm).

### III.2.3.2. Comparación de la deposición normal e inversa

Todas estas evidencias experimentales sugieren que la formación de la monocapa podría tener lugar a partir de estructuras preformadas en la interficie aire-agua, que proporcionaría la fuerza necesaria para el empaquetamiento bidimensional del monoestearato.

El proceso de deposición inversa descrito correspondería de hecho a una aproximación simplificada de la técnica de Langmuir-Schaefer, con la cual se han descrito ya monocapas de monoestearato de glicerilo.<sup>187-189</sup>

### **III.2.4. Estudio de la monocapa por STM**

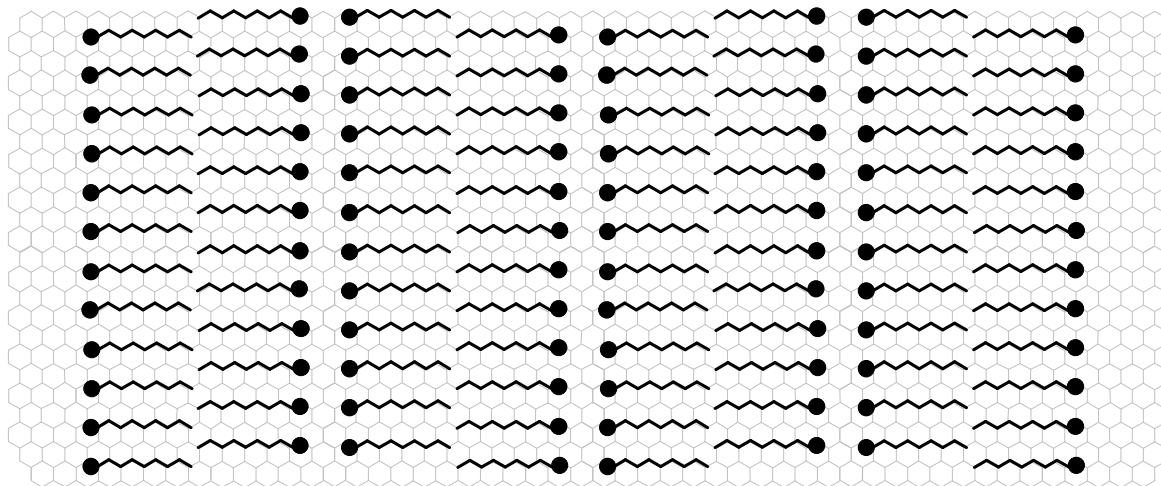
El patrón de hileras detectado por AFM nos sugirió la utilización de otra técnica con mayor resolución: la microscopia de Efecto Túnel (*Scanning Tunneling Microscopy*, STM). Sin embargo, las pruebas realizadas sobre la monocapa no permitieron obtener imágenes de calidad aceptable en la interficie sólido-aire. Con materiales dieléctricos es necesario un alto voltaje (*bias voltage*) para permitir el efecto túnel o la inyección de carga, y estos altos voltajes pueden conducir a procesos electroquímicos no deseados en presencia de oxígeno y agua. Además, las publicaciones previas sobre imágenes de STM de monocapas de moléculas análogas han sido obtenidas en condiciones de ultra-alto vacío o por deposición en solventes orgánicos. Estas condiciones experimentales o bien son de difícil acceso o no corresponden al mecanismo de transferencia desde la fase líquida que queremos demostrar.

### **III.2.5. Modelo de empaquetamiento para la monocapa**

A pesar de no haber obtenido imágenes de STM de la monocapa bidimensional de monoglicérido, los parámetros obtenidos por AFM indican un empaquetamiento que tiene en cuenta la relación epitaxial entre el cristal orgánico bidimensional y la superficie de HOPG.

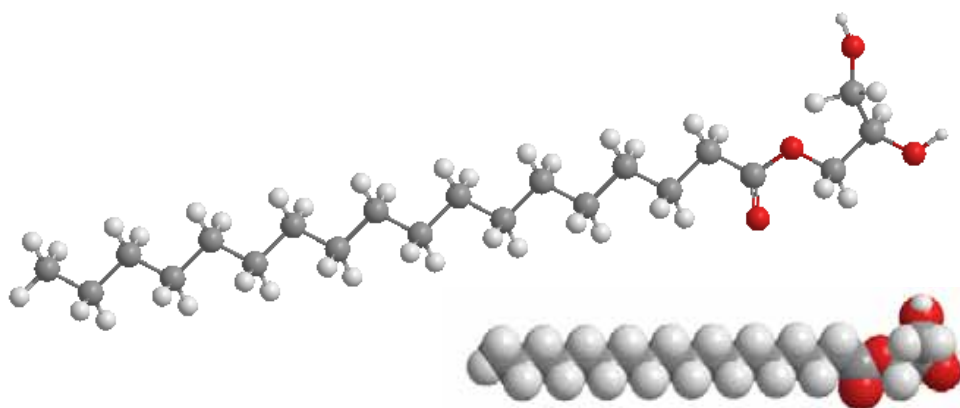
Los alcanos y algunos de sus derivados se autoensamblan sobre grafito en hileras ordenadas como resultado de la conmesuración epitaxial entre las distancias entre sus grupos 1,3-metilénicos (0,251 nm) y la constante de red en el plano del HOPG (0,246 nm).<sup>184</sup> Hay numerosos ejemplos que demuestran que el patrón en hileras paralelas que aparece en monocapas fisiadsorbidas formadas por

compuestos orgánicos con largas cadenas alquílicas, se debe a la disposición cabeza-cabeza y cola-cola de las moléculas adyacentes (Fig. III-16).<sup>179-183,190-192</sup>



**Fig. III-16** Modelo de la estructura de la monocapa formada por adsorción de moléculas de surfactante sobre la superficie de grafito (HOPG).<sup>179</sup>

Debido a las interacciones entre las cadenas alquílicas (todas en disposición *trans* para maximizar el contacto con la superficie hidrofóbica del grafito) y la superficie de grafito, los átomos de H de los grupos metileno se encaran con los anillos hexagonales de la red de grafeno.<sup>193</sup> Las moléculas fisisorbidas de monoestearato también presentan el eje de su esqueleto C–C paralelo a la superficie, siguiendo los ejes de simetría principales de la capa de grafeno del sustrato. Las moléculas se ordenan mediante interacciones cola-cola y cabeza-cabeza como muestra la Fig. III-16, de tal forma que la periodicidad que muestran las imágenes de AFM corresponde aproximadamente al doble de la longitud de la molécula extendida.<sup>179-183,190-192</sup> No es posible una determinación estructural más exacta debido a que al no disponer de imágenes de STM, no conocemos la estructura respecto a la superficie del grafito de las cabezas hidrofílicas (1-acil glicerilo) ni su interacción cabeza-cabeza. No obstante, el eje de las hileras probablemente no es perpendicular al eje de las cadenas alquílicas polimetilénicas.



**Fig. III-17** Modelos estructurales del monoestearato de 1-glicerilo.

La existencia de la red de enlaces por puentes de H entre los gliceroles terminales es predecible si tenemos en cuenta la estructura de cristales de monoestearato de glicerilo.<sup>194-196</sup> Además la conmesuración entre las cadenas largas formadas por unidades H-C y los anillos hexagonales del sustrato debería extenderse a las unidades H-C que conforman el esqueleto del residuo de glicerol. Consecuentemente, el grupo asimétrico -CHOH debe determinar un ordenamiento epitaxial que distinguirá las caras diastereotópicas de los átomos de H de los grupos -CH<sub>2</sub>-O-acilo y -CH<sub>2</sub>-OH. Por tanto deberíamos esperar diferencias significativas en la energía libre de los ordenamientos cabeza-cabeza homoquirales y heteroquirales.

### III.3. SUMARIO DEL CAPÍTULO III

A pesar de los numerosos ejemplos de estructuras periódicas de surfactantes iónicos o no-iónicos en la literatura, casi todos ellos corresponden a hemimicelas hemicilíndricas. Estas publicaciones asumen que este tipo de estructuras crecen



sobre una monocapa primaria que en la mayoría de los casos es imposible de detectar directamente.<sup>179-183</sup> También se han descrito previamente monocapas de moléculas con largas cadenas alquílicas, orientadas siguiendo la epitaxis del grafito y sin la interferencia de la formación de hemimicelas. Pero estas estructuras bidimensionales se han obtenido a partir de soluciones en solventes orgánicos muy concentradas y después de tiempos de deposición muy largos.<sup>190-192</sup> En este trabajo hemos demostrado la rápida formación de una monocapa sobre grafito y la ausencia de partículas sobre la misma por simple contacto superficial desde soluciones acuosas muy diluidas.

Hemos descrito un procedimiento simple para una rápida formación (2 s) de una monocapa de *rac*-MEG y 3-*sn*-MEG sobre grafito (HOPG) a partir de soluciones acuosas diluidas (300  $\mu$ M y 150  $\mu$ M respectivamente). La similitud estructural entre las monocapas formadas en ambos casos indica la resolución espontánea en el caso del autoensamblaje de la especie racémica. El número de publicaciones sobre discriminaciones quirales de mezclas racémicas y sobre la formación de monocapas quirales a partir de compuestos aquirales muestra un auge continuo, sugiriendo que estos procesos no son extraños. Además los 1-monoglicéridos de ácidos grasos muestran una tendencia bien conocida a cristalizar en conglomerados.<sup>194-196</sup>

Los resultados indican que la monocapa se origina a partir de especies ordenadas en la interficie aire-agua de la gota de deposición. Consecuentemente, la detección de conglomerados bidimensionales sobre el sustrato grafitico implica que la discriminación quiral ya tiene lugar en la interficie aire-agua. Estos resultados son consistentes con otros publicados previamente sobre la discriminación quiral en el caso de la formación de monocapas de Langmuir a partir de ácidos grasos monoglicéridos en su forma racémica.<sup>189,197</sup> Además, el simple procedimiento experimental descrito o métodos más elaborados (Langmuir-Schaefer), podrían ser el método óptimo para la preparación de monocapas a partir de especies surfactantes similares.