



UNIVERSITAT DE BARCELONA



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

# Anexo

## **1. Efecto RLS (*Resonant Light Scattering*)**

El efecto RLS<sup>174</sup> se manifiesta como un incremento de la intensidad de dispersión o *scattering* en la  $\lambda$  de absorción de una especie de agregado molecular o en una  $\lambda$  próxima a ésta. Este efecto puede aumentar diversos órdenes de magnitud cuando existe un fuerte acoplamiento electrónico entre cromóforos y además la dependencia de la  $\lambda$  de esta técnica permite la observación selectiva de agregados incluso en sistemas multicomponente que incluyan una amplia fracción de monómeros u otros agregados.

Al pasar un haz de luz a través de una solución de especies agregadas, si el solvente no absorbe por sí mismo, ocurren dos procesos: la absorción y el *scattering* de los agregados.

La dispersión es debida a diferencias en la polarizabilidad de los agregados y el solvente. El haz de luz electromagnética incidente induce un dipolo oscilante en el ensamblaje que irradia luz en todas direcciones. La relación de la energía dispersada respecto de la energía de la radiación incidente se denomina sección transversal de dispersión ( $C_{\text{sca}}$ : *scattering cross section*) y la relación de energía absorbida respecto de la energía de la radiación incidente se denomina sección transversal de absorción ( $C_{\text{abs}}$ : *absorption cross section*). Si el dipolo inducido por la radiación electromagnética incidente se considera ideal, asumible si el tamaño del agregado es pequeño en relación con la longitud de onda de la luz en el solvente ( $\lambda_m$ ), ambas secciones transversales  $C_{\text{sca}}$  y  $C_{\text{abs}}$  se relacionan con la polarizabilidad de los agregados de manera simple:

$$C_{\text{sca}} = \frac{k_m^4}{6\pi} |\alpha|^2 = \frac{k_m^4}{6\pi} (\alpha_r^2 + \alpha_i^2) \quad \text{Ec. 1}$$

$$C_{abs} = k_m \alpha_i \quad \text{Ec. 2}$$

donde  $k_m$  es el vector de onda de la luz en el solvente ( $k_m = 2\pi/\lambda_m$ ), y  $\alpha_r$  y  $\alpha_i$  son las partes real e imaginaria de la polarizabilidad de los agregados.

La absorción a una determinada  $\lambda$  de una solución de agregados se puede entender como resultado de un máximo en la parte imaginaria de la polarizabilidad en esa región del espectro de manera que para una muestra de grosor  $L$  podemos definir la absorbancia ( $A$ ) como:

$$A = 2,3^{-1} \left( \frac{N}{V} \right) C_{abs} L \quad \text{Ec. 3}$$

Donde  $N/V$  representa el número de agregados por unidad de volumen. Las partes real e imaginaria de la polarizabilidad ( $\alpha_r$  y  $\alpha_i$ ) de los agregados están relacionadas de manera que cuando se produce una absorción en un rango de  $\lambda$ ,  $\alpha_i$  se maximiza, y se produce también un aumento de la dispersión. En condiciones normales este incremento de *scattering* es difícil o imposible de detectar a causa del incremento paralelo de la absorción, pero cuando se estudia este efecto para agregados formados por cromóforos fuertemente acoplados el aumento de la señal de RLS puede ser enorme.

Si comparamos las ecuaciones 1 y 2 vemos que la absorción varía linealmente con la polarizabilidad de las partículas, la cual a su vez depende linealmente del volumen del agregado. Así, una solución con una concentración fija no exhibirá cambios en la  $A$  al transcurrir el proceso de agregación, porque el producto de  $(N/V)$  por  $\alpha_i$  permanece constante. En cambio la dispersión varía con el cuadrado de la polarizabilidad (o con el cuadrado del volumen del agregado) que aumenta durante el proceso de agregación y esto hace que la técnica de RLS sea más sensible que la UV-Vis para detectar la formación de agregados incluso a muy bajas concentraciones.

## 2. Dicroísmo Circular y Lineal

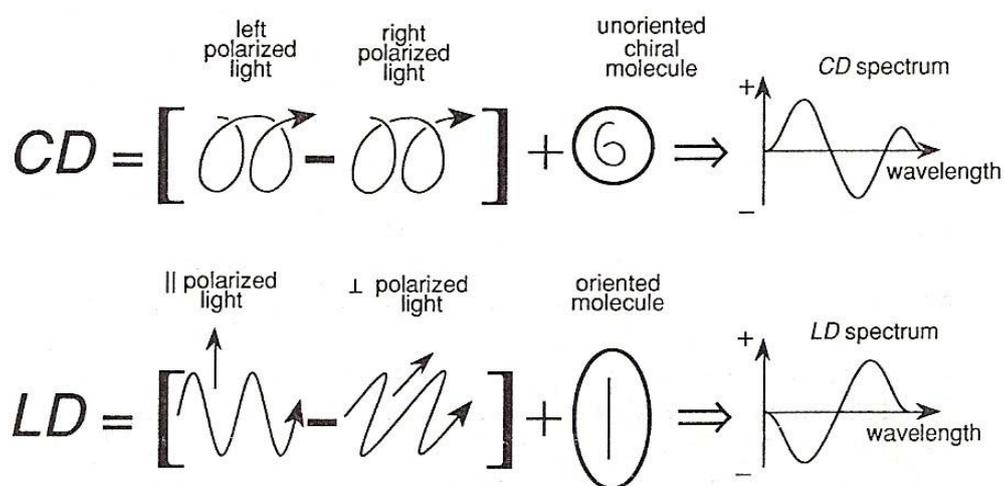
El dicroísmo circular o lineal y la espectroscopia UV-Vis son técnicas de espectroscopia de absorción electrónica basadas en el mismo proceso, el cambio de configuración electrónica molecular del estado fundamental a un estado excitado debido a la absorción de radiación electromagnética. En el caso del UV-Vis se utiliza luz no polarizada y en cambio en los procesos dicroicos la luz está polarizada.

El dicroísmo circular (DC) es la diferencia de absorción de la luz polarizada circularmente a izquierda ( $A_L$ ) y derecha ( $A_R$ ) y es particularmente útil para el estudio de sistemas quirales.

$$DC = A_L - A_R \quad \text{Ec. 4}$$

El dicroísmo lineal (DL) es la diferencia de absorción de la luz polarizada linealmente paralela y perpendicular al eje de orientación y se utiliza en sistemas que presentan una orientación intrínseca o que se orientan durante el experimento.

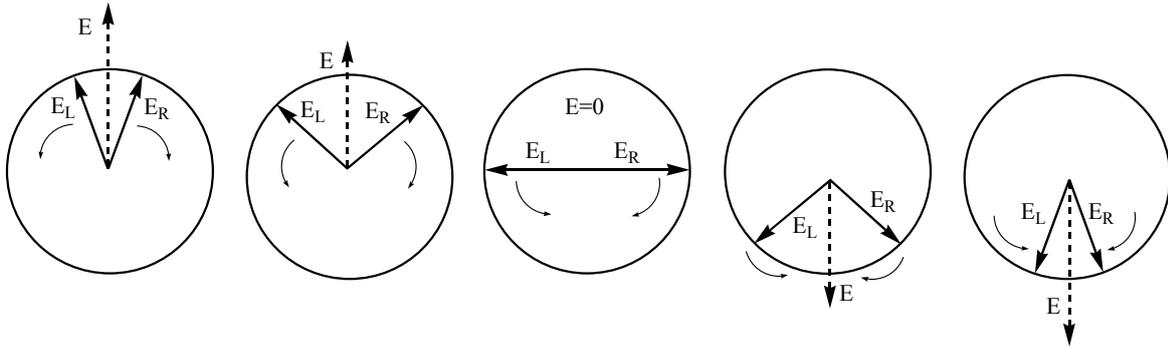
$$DL = A_{\parallel} - A_{\perp} \quad \text{Ec. 5}$$



**Fig. 1** Ilustración esquemática del Dicroísmo Circular, DC ("CD"); y el Dicroísmo Lineal, DL ("LD").

## 2.1. Birrefringencia y Dicroísmo Circular

La luz polarizada en el plano en la dirección del campo eléctrico ( $E$ ) se puede considerar como la suma de dos ondas coherentes de luz polarizada circularmente ( $E_R$  y  $E_L$ ) de fase contraria una respecto a la otra (ver Fig. 2).



**Fig. 2** Representación del vector campo eléctrico ( $E$ ) de la luz polarizada linealmente.  $E$  es el vector suma de dos componentes  $E_R$  y  $E_L$ .

Cuando la luz polarizada en el plano pasa a través de un medio aquiral o isotrópico, sus componentes circularmente polarizadas a derecha e izquierda ( $E_R$  y  $E_L$ ) pasan a la misma velocidad y están en fase en todo momento, por lo tanto no se produce rotación alguna respecto del plano de luz polarizada original.

Fresnel postuló en 1825 que al atravesar un medio ópticamente activo, sólido, líquido o gas, el índice de refracción de las dos componentes polarizadas circularmente de la luz polarizada en el plano es diferente. A este medio ópticamente activo lo denominó *circularmente birrefringente* y se caracteriza por una diferencia neta entre los dos índices de refracción de la luz polarizada circularmente a derecha ( $n_R$ ) e izquierda ( $n_L$ ).

$$\Delta n = n_L - n_R \neq 0 \quad \text{Ec. 6}$$

Debido a esta diferencia una de las dos componentes circularmente polarizadas de la luz polarizada en el plano se retarda respecto a la otra, ambas dejan de estar en fase y por tanto la suma de las estas componentes tras atravesar

un medio *circularmente birrefringente* rota un ángulo  $\alpha$ , denominado rotación óptica, respecto del plano original. Matemáticamente la rotación óptica se puede expresar como  $\alpha$  o  $\phi$  según las unidades empleadas:

$$\phi = \left( \frac{\pi}{\lambda} \right) \cdot (n_L - n_R) = \frac{\text{rad}}{\text{cm}} \quad \text{Ec. 7}$$

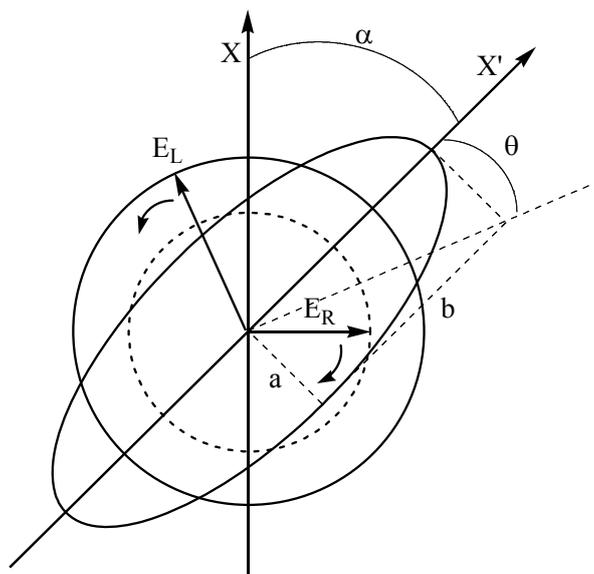
$$\alpha = \phi \cdot \left( \frac{1800}{\pi} \right) = \left( \frac{1800}{\lambda} \right) \cdot (n_L - n_R) = \frac{\text{grados}}{\text{dm}} \quad \text{Ec. 8}$$

El estudio de la rotación óptica a diferentes  $\lambda$  da lugar a la *dispersión óptica rotatoria* (ORD) y se observa que las variaciones más importantes en los índices de refracción tienen lugar en las regiones espectrales donde se produce absorción.

En este tipo de regiones de absorción además del retardo entre las dos componentes circulares de la luz polarizada en el plano (*birrefringencia circular*) se observan absorciones diferentes para cada una de las dos componentes. Esto implica un coeficiente de absorción molar ( $\varepsilon$ ) diferente para cada componente polarizada circularmente y la diferencia entre las dos  $\varepsilon$  es lo que se denomina *dicroísmo circular*.

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R \neq 0 \quad \text{Ec. 9}$$

En un medio ópticamente activo (anisotrópico) las dos componentes circularmente polarizadas de la luz polarizada linealmente en el plano están desfasadas y si además el medio absorbe presentan una amplitud diferente. La resultante es luz polarizada elípticamente (Fig. 3).



**Fig. 3** Representación de la luz polarizada circularmente como resultado de la diferente velocidad y absorción de cada una de las dos componentes circularmente polarizadas de la luz polarizada en el plano.  $\theta$  es el ángulo de elipticidad y  $\alpha$  el ángulo de rotación óptica que forman el plano original de la luz X con el plano X' de la luz resultante polarizada elípticamente.

En la espectroscopia de Dicroísmo Circular (DC) la diferencia de absorptividad molar entre las dos componentes circularmente polarizadas de la luz ( $\Delta\varepsilon$ ) se expresa como *elipticidad molar* ( $[\theta]$ ), siendo  $\theta$  el ángulo de elipticidad.

$$[\theta] = \left( \frac{\theta}{c' \cdot l} \right) \cdot \left( \frac{M}{100} \right) \quad \begin{array}{l} c': \text{concentración (g}\cdot\text{mL}^{-1}) \\ l: \text{longitud de la cubeta (dm)} \\ M: \text{Peso molecular de la sustancia (g}\cdot\text{mol}^{-1}) \end{array} \quad \text{Ec. 10}$$

$$[\theta] \approx 2,303 \cdot \left( \frac{4500}{\pi} \right) \cdot (\varepsilon_L - \varepsilon_R) = 3300 \cdot (\Delta\varepsilon) \quad \text{Ec. 11}$$

Este ángulo de elipticidad está relacionado con la diferencia en los índices de absorción ( $\kappa_L - \kappa_R$ ) de manera análoga a la dependencia del *ángulo de rotación*  $\phi$  con la diferencia de los índices de refracción ( $n_L - n_R$ ). Ambas magnitudes  $\theta$  y  $\phi$  están relacionadas mediante el *poder rotatorio complejo* ( $\Phi$ ) que se expresa como:

$$\theta = \left( \frac{\pi}{\lambda} \right) \cdot (\kappa_L - \kappa_R) \quad \text{Ec. 12}$$

$$\Phi = \phi - i \theta = \left( \frac{\pi}{\lambda} \right) \cdot (N_L - N_R) \quad \text{Ec. 13}$$

$$N = n - i\kappa \quad \text{Ec. 14}$$

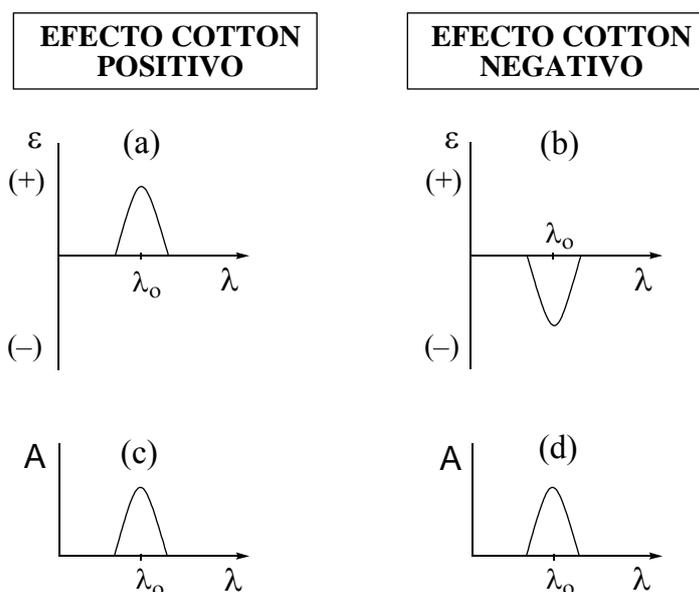
De esta manera el dicroísmo circular corresponde a la parte imaginaria y la dispersión óptica a la parte real de un mismo fenómeno físico. Ambas magnitudes se relacionan mediante los tratamientos matemáticos de Kramers-Kronig que relacionan la parte imaginaria ( $\kappa$ ) y real ( $n$ ) de un número complejo ( $N$ ) de modo que son magnitudes diferentes pero cada una contiene información de la otra (Ec. 14).

La dispersión óptica rotatoria se puede detectar a cualquier  $\lambda$  porque se basa en las variaciones de los índices de refracción de la luz circularmente polarizada,  $n_L$  y  $n_R$ , al atravesar un medio ópticamente activo y el dicroísmo circular sólo es detectable si el medio además absorbe ya que se basa en la variación de los índices de absorción.

## 2.2. Efecto Cotton y quiralidad excitónica

Si sometemos a una radiación electromagnética, de luz ultravioleta o visible no polarizada, a un cromóforo aislado situado en una molécula quiral o en un entorno quiral éste absorberá la energía correspondiente al salto energético que hay entre el estado fundamental y el excitado. Pero si la radiación está polarizada circularmente habrá una preferencia por absorber y retardar una de las componentes respecto de la otra como hemos explicado anteriormente, es lo que se denomina *efecto Cotton*.

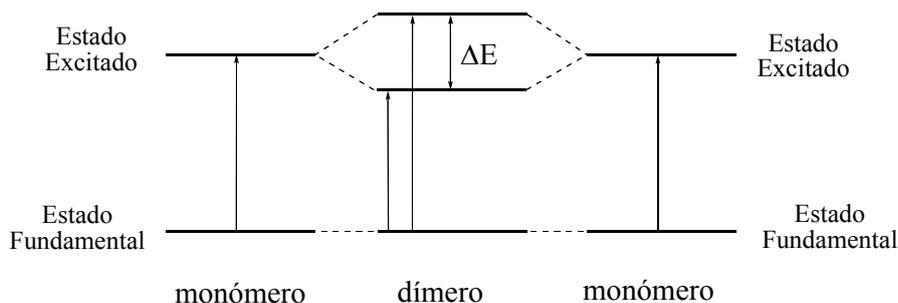
En la espectroscopia de dicroísmo circular, el *efecto Cotton* se manifiesta en la aparición de unas bandas a una energía similar a cada una de las transiciones electrónicas observadas en el espectro UV-Vis. Las bandas de DC pueden tomar valores positivos o negativos ( $\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R$ ) y su valor máximo o mínimo coincide con el máximo de absorción en el espectro UV-Vis.



**Fig. 4** Aspecto de las señales obtenidas por DC (a y b) de dos bandas de absorción (c y d) con efecto Cotton positivo (parte izquierda) y negativo (parte derecha), siendo  $\lambda_0$  la longitud de onda correspondiente al máximo de absorción.

Esto era para el caso de que la interacción con otros cromóforos iguales o muy similares sea negligible, cuando no es así debido a su proximidad (por enlace o interacción no covalente) se produce un acoplamiento de sus momentos dipolares de transición de manera que no podemos saber cuál es el cromóforo excitado, es lo que se denomina *acoplamiento excitónico*. El efecto Cotton observado en estos sistemas excitónicamente acoplados ha dado lugar al método de quiralidad excitónica para la determinación de configuraciones absolutas.

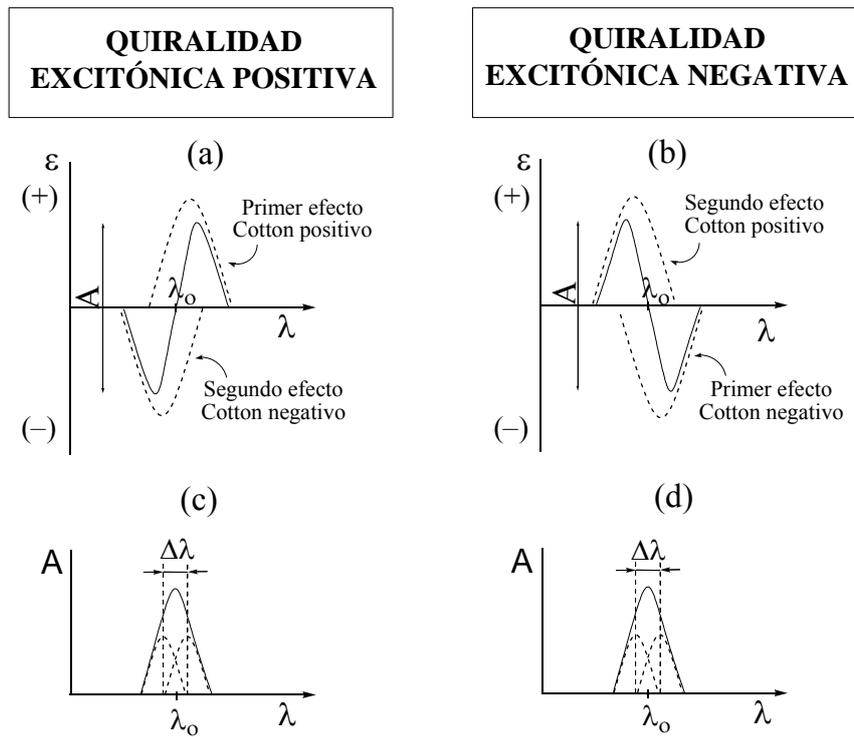
En el caso de dos cromóforos iguales o muy similares acoplados se observa un desdoblamiento en el estado excitado de la molécula.



**Fig. 5** Representación del desdoblamiento energético que se produce en el estado excitado de un dímero a causa del acoplamiento de los estados excitados de los dos monómeros que lo forman. La diferencia de energía ( $\Delta E$ ) entre los dos niveles energéticos del estado excitado del dímero se conoce como *Davydov splitting*.

Debido al acoplamiento quiral de los niveles energéticos de los dos cromóforos, cada una de las absorciones que se producen tendrá un efecto Cotton de signo opuesto dando lugar a bandas bisignadas en el espectro de DC centradas en los máximos de absorción.

La forma de estas curvas permite asignar mediante unas reglas empíricas una configuración absoluta al sistema de los cromóforos acoplados. Se define como quiralidad negativa cuando el primer efecto Cotton es negativo, considerando el primer efecto Cotton el que corresponde a la transición electrónica menos energética de las dos que se producen. De la misma manera definiremos la quiralidad positiva cuando el primer efecto Cotton sea positivo.



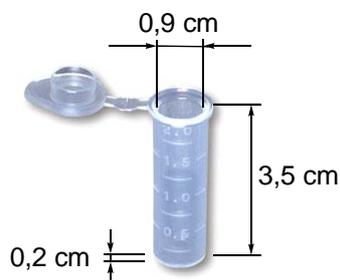
**Fig. 6** Aspecto de las señales obtenidas por DC (a y b) y por UV-Vis (c y d) para un sistema quiral de dos cromóforos acoplados excitónicamente cuando las dos transiciones tienen la misma probabilidad.  $\Delta\lambda$  corresponde al splitting de Davydov y  $A$  representa la amplitud de splitting.

### 3. Efecto de la agitación mecánica

Para el estudio del efecto de la agitación mecánica sobre la inducción quiral por agitación del homoasociado de  $H_3TPPS_3$  hemos realizado experimentos en placas agitadoras y rotaevaporadores. En este apartado se comparan los dos métodos de agitación mecánica utilizados para la inducción quiral en la bifurcación o ruptura de simetría producida en la homoasociación de esta porfirina aquiral.

#### 3.1. Agitadores

Los agitadores magnéticos utilizados (ver parte experimental) permiten la agitación en ambos sentidos. Todos los experimentos se han realizado con núcleos magnéticos de agitación de 2 mm x 5 mm (ancho x largo) en tubos de microcentrífuga de plástico de 2 mL con las dimensiones indicadas en la Fig. 7:



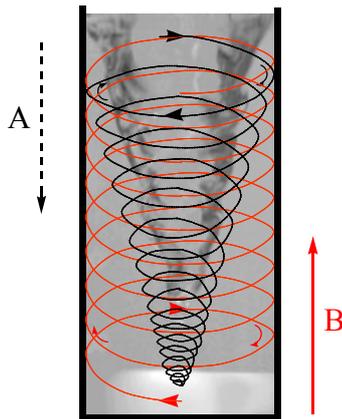
**Fig. 7** Dimensiones de los tubos utilizados para los experimentos de agitación en las placas agitadoras. Son tubos de 3,5 cm de altura; 0,9 cm de diámetro interno; y con una base cónica plana de 0,2 cm de altura.

Una estimación del número de Reynolds ( $Re$ ) permite caracterizar el movimiento de un fluido y predecir el régimen turbulento o laminar en ciertos casos. Es un número adimensional que representa la importancia de los términos convectivos respecto de los términos viscosos de las ecuaciones de Navier-Stokes que gobiernan el movimiento de fluidos y viene dado por la relación siguiente:

$$Re = \frac{\rho \cdot v \cdot D}{\eta} \quad \text{Ec. 15}$$

Donde  $\rho$  es la densidad del fluido,  $v$  su velocidad,  $D$  el diámetro del tubo y  $\eta$  su viscosidad. Si el número de Reynolds es menor de 2000 el flujo será laminar y si es mayor de 4000 el flujo será turbulento. El mecanismo y muchas de las razones por las cuales un flujo es laminar o turbulento es todavía hoy objeto de especulación. En nuestro sistema experimental una estimación aproximada de  $Re^*$  indica que el vórtice generado es turbulento, pero hay que considerar que el flujo de retorno laminar en las paredes del tubo (desde la parte inferior a la parte superior del mismo) no puede ser suprimido pese a que el sistema opere en régimen turbulento.

El sentido del vórtice creado por una barra magnética agitadora desde la parte superior a la parte inferior del tubo cambia su signo en el flujo de retorno de la parte inferior a la parte superior del tubo ya que se mantiene el mismo sentido de rotación circular pero cambia la dirección de progresión (Fig. 8).



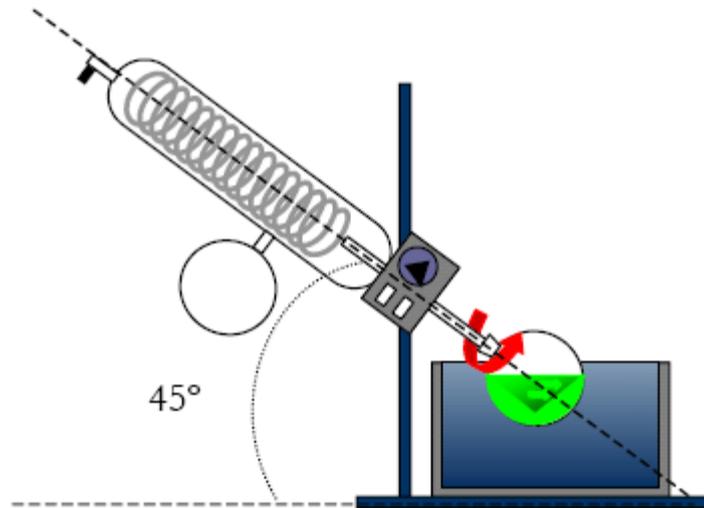
**Fig. 8** Vórtice obtenido en un sistema con agitación mediante una barra magnética. En el flujo de arriba hacia abajo (A) y de abajo hacia arriba (B) se mantiene el sentido de rotación circular, pero al cambiar la dirección de progresión se invierte el sentido del vórtice. El vórtice del fluido que desciende es en este caso dextrógiro (P) y el de ascenso levógiro (M).

\* Los cálculos aproximados del número de Reynolds ( $Re$ ) de nuestro sistema experimental fueron realizados por el Prof. F. Cunill y el Prof. J. Llorens, a los cuales quiero mostrar mi agradecimiento por sus consejos sobre la hidrodinámica de la agitación.

### 3.2. Rotaevaporadores

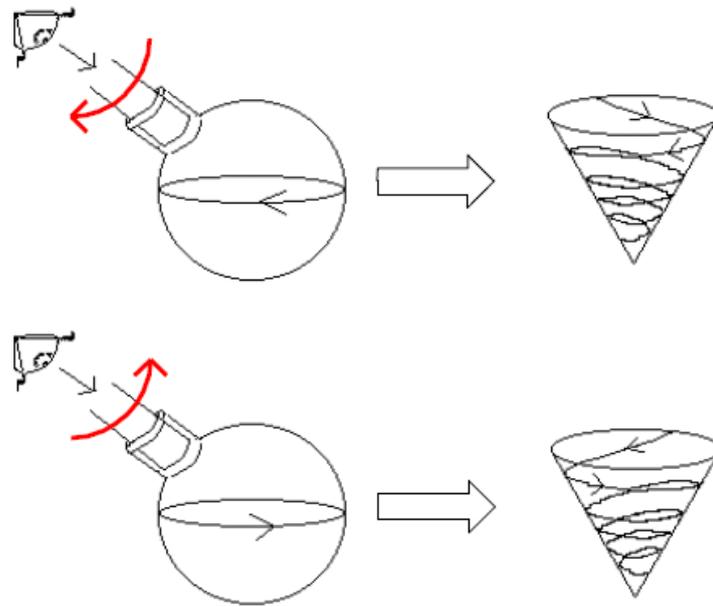
Los rotaevaporadores utilizados (ver parte experimental) poseen un conector que permite la inversión de la polaridad del motor de rotación permitiendo el giro en ambos sentidos (CW y ACW).

La inclinación del refrigerante respecto a la horizontal era de  $45^\circ$  (Fig. 9). Este grado de inclinación influye en la forma del vórtice generado y a  $45^\circ$  se generan vórtices lo más simétricos posible respecto a la vertical.



**Fig. 9** Rotaevaporador en sentido antihorario.

Experimentalmente se observa que un rotaevaporador, el motor del cual gira en un sentido dextrógiro (horario, CW) respecto al eje refrigerante-matraz de fondo redondo visto desde el refrigerante, genera un vórtice del mismo sentido en la solución a evaporar. De la misma manera cuando el motor del rotaevaporador gira hacia la izquierda respecto al mismo eje y punto de referencia se genera un vórtice de sentido levógiro (antihorario, ACW) (Fig. 10).



**Fig. 10** Esquema de los vórtices generados en los dos rotaevaporadores.

Los vórtices generados en el matraz de fondo redondo mantienen su estructura cónica a lo largo del proceso de evaporación hasta un cierto *volumen crítico*. La relación altura-base del vórtice va disminuyendo pero su estructura cónica se mantiene siempre que el volumen sea superior al *volumen crítico*. Se ha establecido experimentalmente en nuestro grupo que en el caso de un rotaevaporador con una inclinación de  $45^\circ$  y un matraz de fondo redondo de 1 L el *volumen crítico* es  $14 \pm 1$  mL.<sup>122</sup> En nuestros experimentos hemos trabajado con un matraz de 1 L de fondo redondo silanizado.

## 4. Microscopias de Campo Cercano (*Scanning Probe Microscopy, SPM*)

Las técnicas de Microscopia de Campo Cercano (SPM) son actualmente poderosas herramientas para caracterizar la topografía de superficies de materiales con una resolución por debajo del nanómetro. Su origen data de 1982, fecha de la creación del primer microscopio de esta familia denominado Microscopio de Efecto Túnel (*Scanning Tunneling Microscopy, STM*) por Binnig y Rohrer.<sup>204-206</sup> En pocas décadas se han ido desarrollando diferentes modos de trabajo creando así un variado conjunto de técnicas englobadas en lo que se denominan técnicas SPM que tienen la gran ventaja de ser aplicables en diversos medios: aire, ultra-alto vacío (UHV) o líquido. En la Tabla 1 podemos ver un resumen de las dos principales:

**Tabla 1** *Técnicas de Microscopia de campo cercano (SPM).*

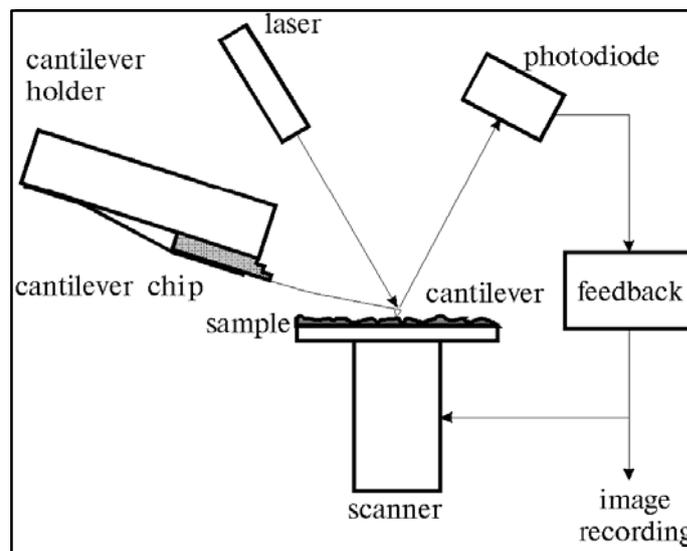
Nombre(s) de la técnica	Acrónimo(s)	Modo de operación	¿Qué medimos?
Microscopia de Efecto Túnel	STM	El control de corriente túnel permite al sistema de retroalimentación (sistema de <i>feedback</i> ) regular la posición en z.	Imagen 3D de pseudotopografía (a partir de la densidad electrónica) a escala atómica y determinación de la estructura electrónica.
Microscopia de Fuerzas Atómicas o Microscopia de Escaneo de Fuerzas	AFM, SFM	La deflexión de la micropalanca o <i>cantilever</i> permite al sistema de retroalimentación regular la posición en z.	Imagen 3D de topografía real a escala nanométrica y medidas de todo tipo de propiedades de materiales a escala nanométrica (dominios magnéticos, eléctricos, nanodurezas, etc).

### 4.1. Microscopia de Fuerzas Atómicas (*Atomic Force Microscopy, AFM*)

La invención del AFM por Binnig, Quate y Gerber en 1986 superó las limitaciones del STM provocando una nueva revolución en la ciencia de materiales.<sup>207</sup> Esto hizo posible la extensión del campo de aplicación de las técnicas

de SPM a muestras no conductoras conservando una resolución nanométrica. Además de obtener perfiles topográficos reales de superficies se puede obtener información local de propiedades como la elasticidad, la distribución de carga, la magnetización o la reactividad química.

En este trabajo la técnica más utilizada es el AFM y por lo tanto es la que explicaremos con más detalle. El AFM se basa en la medida de pequeñas fuerzas de interacción atractivas y repulsivas, típicamente del orden de  $1 \times 10^{-7}$  N a  $1 \times 10^{-9}$  N, entre una punta integrada en una micropalanca o *cantilever* (Fig. 11) y la superficie de la muestra (el conjunto de micropalanca y punta se denomina sonda). El valor de la fuerza de interacción depende de la distancia entre la punta y la superficie. Dado que el radio de la punta es muy pequeño, mediante el escaneo de la punta sobre la muestra podemos obtener mapas de topografía superficial con resolución nanométrica.

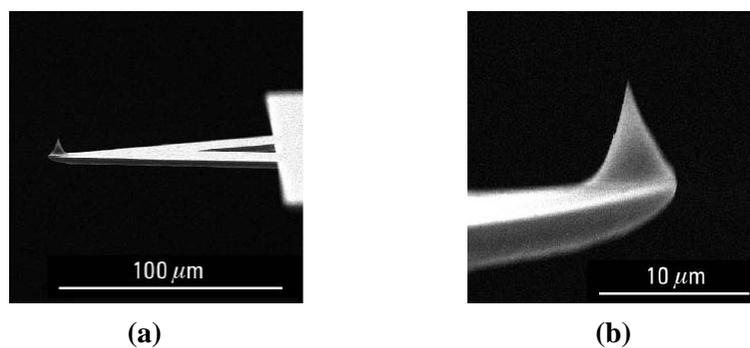


**Fig. 11** Esquema del funcionamiento de un Microscopio de Fuerzas Atómicas (AFM).

El movimiento preciso de la punta se realiza con un escáner basado en un tubo de material piezoeléctrico. La aplicación de una determinada tensión al material se traduce en una determinada deformación mecánica del mismo consiguiendo movimientos precisos a nivel del ángstrom.

#### 4.1.1. Sondas

Las sondas están formadas por una micropalanca o *cantilever* y una punta fabricadas del mismo material. El *cantilever* permite seguir el movimiento vertical de la punta, la parte más importante de la sonda ya que es la que entra en contacto directo con la superficie de la muestra y por tanto determina la resolución espacial de la técnica (Fig. 12).



**Fig. 12** (a) Imagen de una sonda típica de AFM con la punta integrada en la micropalanca; y (b) ampliación de la punta, la parte de la sonda que interacciona con la muestra.

El *cantilever* se flexiona comportándose como un oscilador lineal, cuya ecuación de fuerza viene dada por la ley de Hooke:

$$\mathbf{F} = -K \mathbf{d} \quad \text{Ec. 16}$$

La fuerza ( $\mathbf{F}$ ) que ejerce la micropalanca sobre la superficie tiene la misma dirección y sentido opuesto a su deflexión ( $\mathbf{d}$ ). La constante de fuerza característica de la micropalanca ( $K$ ) nos da una idea de la capacidad de deflexión de la misma. Su valor depende de la geometría de la micropalanca:  $K$  es mayor al aumentar el grosor de la micropalanca y disminuir su longitud. Las micropalancas presentan diferentes formas, dimensiones e incluso composiciones dependiendo del modo de trabajo, el medio y las características de la muestra a estudiar (Fig. 13).



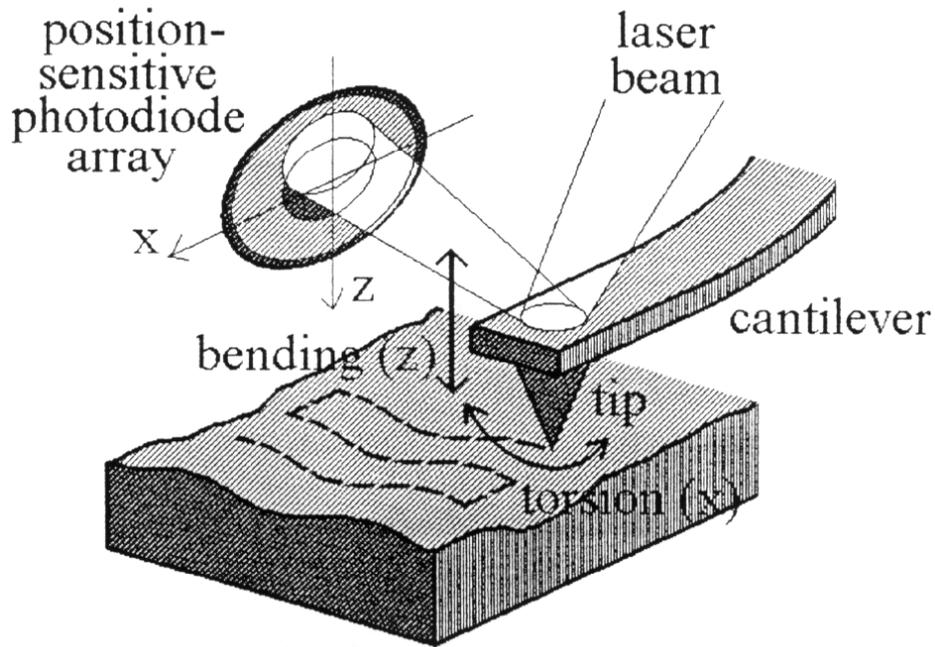
**Fig. 13** Modelos de micropalanca, con geometría rectangular y triangulares.

Los materiales más utilizados en la fabricación de sondas son Si o  $\text{Si}_3\text{N}_4$ , materiales fácilmente mecanizables. Las sondas están recubiertas generalmente de un material reflectante que permite una buena reflexión del haz láser. En nuestro caso hemos utilizado puntas de Si cuyas principales características se describen en la Tabla 2.

Constante de fuerza, K ( $\text{N m}^{-1}$ )	20-100
Frecuencia de resonancia (KHz)	200-400
Radio nominal de curvatura (nm)	5-10
Longitud de la micropalanca ( $\mu\text{m}$ )	125
Geometría de la micropalanca	Rectangular
Recubrimiento reflectante	Al

#### 4.1.2. Sistema de detección

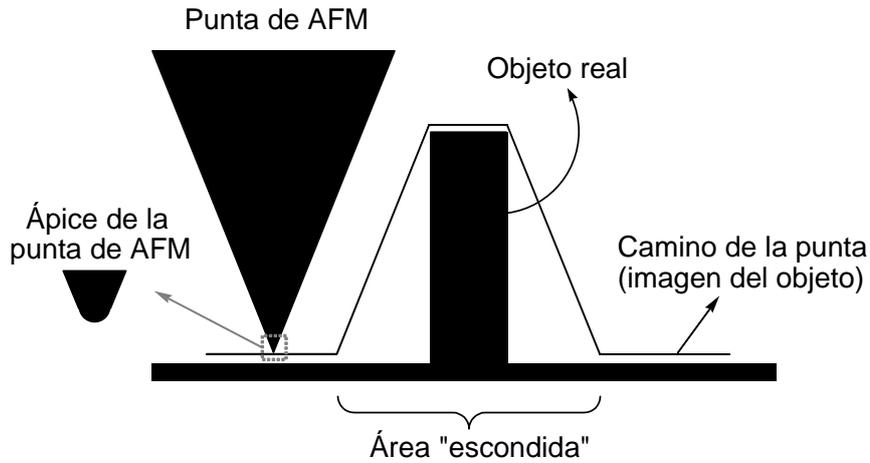
El sistema de detección del movimiento vertical de la micropalanca utilizado es óptico, basado en el enfoque de un haz láser sobre el *cantilever*, justo encima de la punta. El haz reflejado se enfoca en un fotodiodo dividido en cuatro segmentos y la señal recogida se amplifica en un amplificador diferencial. De esta manera un desplazamiento angular del *cantilever* hace que uno de los segmentos del fotodiodo reciba más luz que el otro de manera que la señal de salida del fotodiodo es proporcional a la deflexión del *cantilever*. Con este sistema se pueden llegar a detectar deflexiones del orden del ángstrom (distancias interatómicas).



**Fig. 14** Esquema de cómo el movimiento de la punta es transmitido al fotodetector a través de la desviación del haz láser.

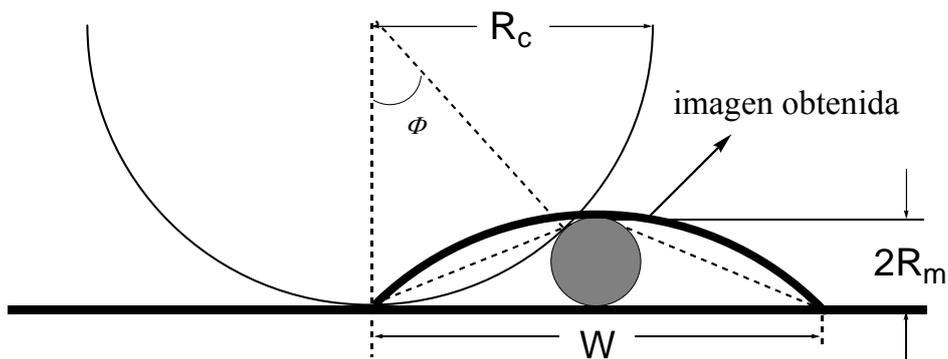
#### 4.1.3. Factores relacionados con la punta

La resolución y profundidad de campo del AFM vienen limitadas por el radio final de la punta y su ángulo de cono (*opening angle*). Debido a la proximidad de la sonda respecto de la superficie de la muestra, la resolución lateral de las imágenes está limitada por las dimensiones de la punta mientras que la resolución vertical depende principalmente del nivel de ruido durante la medida. Considerando que las puntas de AFM tienen un diámetro finito, cada imagen adquirida es una convolución de la superficie topográfica real y la forma de la punta. De esta forma, en estructuras no columnares, se obtienen anchuras más grandes que las reales dependiendo del radio final de la punta (ápice de la punta, Fig. 15), que suele ser del orden de 10 nm, por lo tanto la convolución será importante sólo cuando se midan partículas de diámetros en el mismo orden de magnitud. Cuando el objeto estudiado presenta una topografía columnar, el ángulo de cono será pues determinante en la convolución final de la imagen (Fig. 15).



**Fig. 15** Convolución de la imagen debido a la forma de la punta que presenta un cierto ángulo de cono que limita la resolución lateral de la técnica.

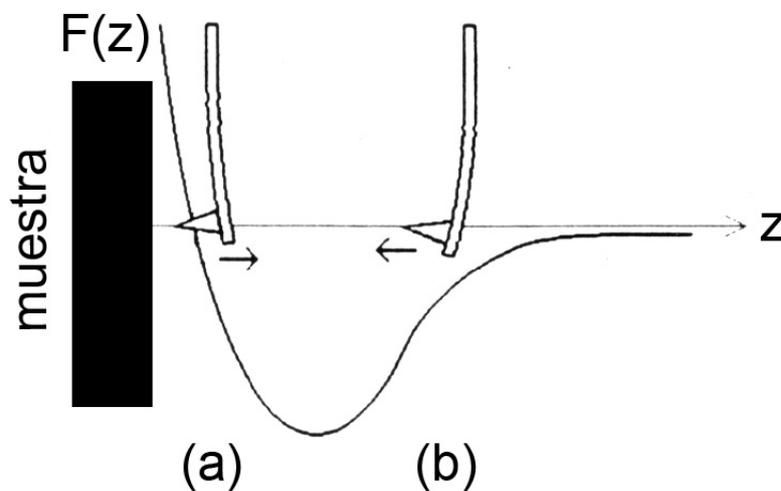
Aunque son necesarios complejos algoritmos para una precisa deconvolución de las imágenes de AFM, se puede realizar una estimación de las dimensiones reales de las estructuras estudiadas (no columnares) mediante un simple modelo geométrico de deconvolución (Fig. 16) considerando una geometría esférica para las partículas.



**Fig. 16** En el caso de una punta con un radio final de curvatura  $R_c$ , una molécula lineal de radio  $R_m$ , donde  $R_c > R_m$ , tendrá una anchura anticipada en la imagen de  $W \approx 4\sqrt{R_m R_c}$ .<sup>208,209</sup>

#### 4.1.4. Modos de trabajo

La fuerza experimentada por la punta cuando se aproxima a la superficie de la muestra se representa en la Fig. 17. La micropalanca en la región (a) del gráfico, zona de fuerzas repulsivas de corto alcance, deflexiona alejándose de la muestra como consecuencia de la interacción entre las nubes electrónicas de los átomos de la punta y la muestra. En la región (b) de fuerzas atractivas de largo alcance deflexiona hacia la muestra debido a fuerzas electrostáticas y de van der Waals.



**Fig. 17** Fuerza experimentada por la punta en su aproximación a la superficie.

Debido a la diferente naturaleza de la interacción en estas dos regiones, el AFM puede operar en modo de contacto (o repulsivo) o en modo de no contacto (o atractivo).

##### 4.1.4.1. Modo de contacto

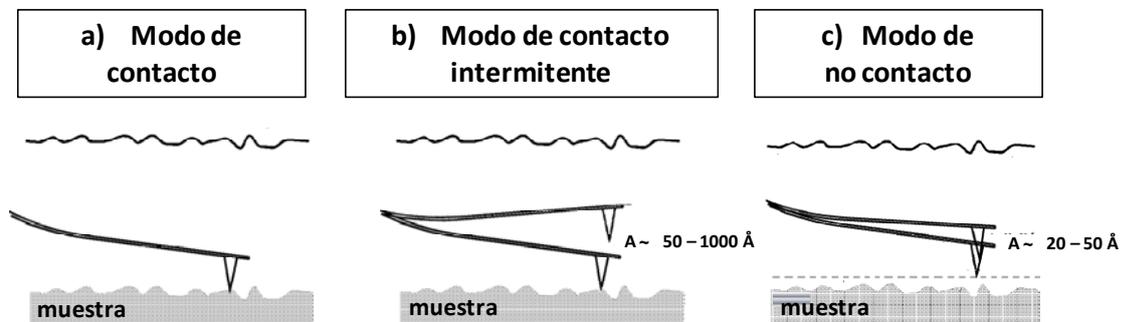
En este caso los átomos al final de la punta están situados a distancias muy cortas, del orden de 0,1-0,3 nm, respecto a la superficie de la muestra (Fig. 18a). Las nubes electrónicas de los átomos de punta y muestra se solapan y las fuerzas

que actúan sobre la punta son repulsivas. Mediante un mecanismo de retroalimentación (*feedback*) se mantiene la fuerza ejercida por el *cantilever* sobre la superficie en un valor constante y la imagen topográfica se obtiene al monitorizar el desplazamiento vertical del escáner en z necesario para mantener la deflexión del *cantilever* constante.

La ventaja del modo de contacto es su elevada resolución, llegándose incluso a resolver el parámetro de celda de la superficie estudiada. Es una técnica adecuada para estudiar muestras duras (cristales iónicos, materiales metálicos, cerámicos, etc). Pero presenta otras desventajas como la pobre resolución espacial obtenida como consecuencia de las elevadas fuerzas laterales y de cizalla que deforman cualquier superficie de material blando (polímeros, muestras biológicas, etc).

#### 4.1.4.2. Modo de no contacto

En este caso se trabaja con la punta a distancias entre 1-2 nm, donde entran en juego las fuerzas atractivas. Se ha de distinguir entre el modo de no contacto (Fig. 18c) y el modo de contacto intermitente o *tapping* (Fig. 18b), el más utilizado y con el que hemos trabajado en el cual la punta sí entra en contacto directo con la muestra de manera intermitente.



**Fig. 18** Comparación de los diferentes modos de trabajo en AFM: a) modo de contacto; b) modo de contacto intermitente; y c) modo de no contacto.

#### **4.1.4.3. Modo de contacto intermitente o *tapping***

Actualmente existe una gran controversia en si la punta entra o no en contacto real con la muestra y podemos considerar el modo *tapping* como un modo de trabajo en la frontera entre los modos de contacto y no contacto.

En el modo *tapping*, la punta oscila mientras escanea la superficie con una amplitud de entre 20-100 nm y con una frecuencia cercana a la de resonancia del *cantilever*. La punta al interactuar con la superficie altera su amplitud de oscilación y mediante un sistema de *feedback* se consigue mantener esta amplitud constante desplazando el escáner verticalmente. El movimiento del escáner en z para mantener la amplitud constante se monitoriza como imagen topográfica de la superficie. El modo *tapping* minimiza el efecto de las fuerzas laterales y de adhesión y también la alteración de la muestra producida como consecuencia de la interacción con la punta. Esto hace del *tapping* una técnica ideal para trabajar con muestras biológicas o blandas, como es el caso de muchas muestras orgánicas entre ellas las porfirinas. Como desventajas, la velocidad óptima de escaneo es limitada y la resolución lateral obtenida ligeramente menor que en el caso del modo de contacto.

#### **4.1.5. Tipos de imagen (señales adquiridas)**

Se pueden obtener diferentes imágenes como resultado de los diferentes tipos de interacciones que se establecen entre punta y muestra. Los tipos de imagen que se establecen, al contrario que los modos de imagen, pueden ser combinados durante un mismo escaneo.

#### **4.1.5.1. Imagen topográfica (o de altura)**

Es el tipo de imagen principal y más común del AFM. La información es utilizada por el software del instrumento para crear una imagen que muestra simplemente los movimientos verticales del escáner (piezoeléctrico). A partir de este tipo de imagen es posible medir alturas de los objetos presentes.

#### **4.1.5.2. Imagen de amplitud (*edge enhancement*)**

Este tipo de señal adquirida es útil para ver pequeños detalles nanoestructurales que son difíciles de ver en la imagen de topografía. En nuestro caso hemos trabajado siempre en modo *tapping*. Como hemos visto previamente, en este modo de trabajo la punta al interactuar con la superficie altera su amplitud de oscilación y mediante un sistema de *feedback* se consigue mantener esta amplitud constante desplazando el escáner verticalmente. Cuando la punta llega al borde de una estructura, por unos instantes el sistema de retroalimentación sufre una perturbación antes de corregir la posición del escáner, de este modo obtenemos una imagen que remarca los bordes de las estructuras presentes.

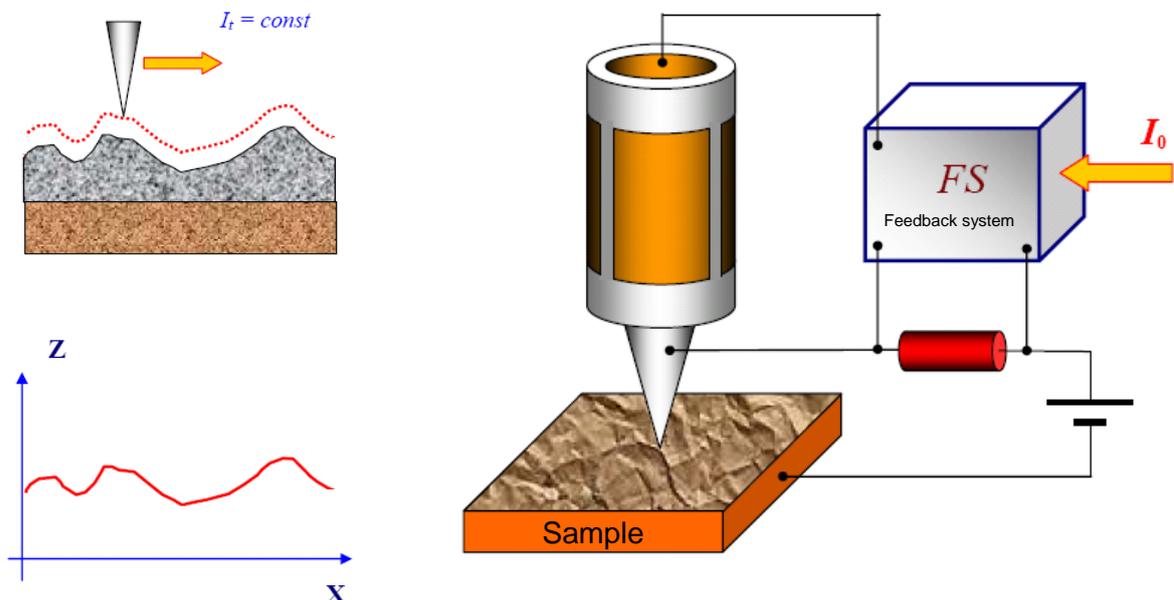
#### **4.1.5.3. Imagen de fase**

La fase, o de manera más específica el retardo de fase, es una señal que puede ser obtenida al trabajar en modo *tapping*. Cuando la punta golpea la muestra, la oscilación real de la micropalanca se desfasa con respecto a la señal de excitación del piezoeléctrico, que la hace vibrar. Esto se debe a que cada vez que la punta entra en contacto con la muestra le transfiere una pequeña cantidad de energía, que depende de la naturaleza elástica de la muestra. Para obtener un nivel razonable de contraste en las imágenes de fase es primordial que haya al menos dos componentes en la muestra con propiedades viscoelásticas lo suficientemente diferentes. La imagen de fase ofrece un mapa de la distribución de materiales con propiedades viscoelásticas diferentes en la superficie estudiada.

## 4.2. Microscopia de Efecto Túnel (*Scanning Tunneling Microscopy, STM*)

La posibilidad de conseguir resolución atómica real de superficies de metales y semiconductores ha convertido el STM en una herramienta básica en la ciencia de materiales. Una de las limitaciones más importantes de esta técnica es la necesidad de que las muestras sean conductoras.

La sonda de STM es un filamento conductor muy afilado de W u otros metales nobles como Au, Pd o Pt/Ir. El parámetro medido es la corriente túnel ( $i_{túnel}$ ) entre la sonda y la superficie de la muestra inducida por una diferencia de potencial aplicada entre ambos elementos ( $V_{Bias}$ ) separados entre sí por unos pocos ángstroms. Como la corriente túnel varía exponencialmente con la distancia de separación entre sonda y muestra, la mayoría de la corriente túnel pasa a través del último átomo de la punta y por tanto la resolución lateral es extremadamente buena.



**Fig. 19** Esquema del funcionamiento de un Microscopio de Efecto Túnel (STM) trabajando a  $i_{túnel}$  constante.

El posicionamiento y movimiento de la sonda de STM sobre la superficie estudiada se consigue uniendo la sonda a un tubo piezoeléctrico que, como en el caso del AFM, permite controlar los movimientos en las tres direcciones espaciales con una precisión de ángstroms. El sistema de *feedback* permite mantener constante la distancia punta-muestra a través de la  $i_{túnel}$  (Fig. 19).