



Universidad de Valladolid

Máster en Nanociencia y Nanotecnología Molecular.

Trabajo Fin de Máster:

Preparación de películas de LB de nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol y su aplicación como sensores electroquímicos.

Autor: Patricia R. Carrión Jorge

Tutor: M^a Luz Rodríguez Méndez

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera dar las gracias a la Dra. María Luz Rodríguez Méndez, catedrática de la Universidad de Valladolid, por recibirme en su grupo de investigación y darme la oportunidad de poder realizar este trabajo.

Dar las gracias también a mis compañeros de laboratorio, por su compañía durante todos estos meses.

A Ángel; por todo, por escucharme, por entenderme y por su apoyo incondicional.

A mis amigas, que siempre saben sacar el lado positivo de las cosas.

Y en especial a mi familia, que me anima a no abandonar un sueño.

Índice

Resumen

Abstract

1. Introducción.....	2
1.1 Motivación y justificación del TFM.....	2
1.2 Objetivos.....	2
1.3 Estado del arte.....	3
1.3.1 Clasificación de nanomateriales.....	4
1.3.2 Fabricación de nanomateriales.....	5
1.3.3 Nanopartículas.....	5
1.3.3.1 Nanopartículas de oro.....	8
1.3.4 Técnicas de preparación de películas.....	14
1.3.5 Sensores.....	20
1.3.5.1 Sensores químicos.....	21
1.3.5.2 Modificación de sensores.....	25
1.3.6 Antioxidantes.....	26
2. Desarrollo experimental.....	28
2.1 Síntesis de AuNPs y preparación de nanopartículas.....	28
2.2 Caracterización de nanopartículas.....	29
2.2.1 Espectrofotometría de UV-vis.....	29
2.2.2 Microscopía de Transmisión Electrónica.....	30
2.3 Preparación de los sensores electroquímicos.....	31
2.3.1 Preparación de películas de Langmuir-Blodgett.....	31
2.3.2 Microscopía BAM.....	34
2.4 Caracterización de las películas.....	34
2.5 Caracterización electroquímica de los sensores.....	34
3. Resultados y discusión.....	36
3.1 Caracterización de nanopartículas funcionalizadas con dodecanotiol.....	36
3.2 Caracterización y optimización de las condiciones.....	38
3.2.1 Caracterización de películas de Langmuir.....	38
3.2.2 Transferencia a sustrato sólido. Películas de LB. Parámetros.....	42
3.3 Caracterización electroquímica de los sensores.....	44
3.4 Estudio de estabilidad.....	51
4. Conclusiones.....	58
5. Bibliografía.....	60

RESUMEN

Desde el siglo pasado se han llevado a cabo numerosas investigaciones acerca de la formación de monocapas flotantes de diferentes tipos de aceites y su transferencia a sustratos sólidos, desarrollando diferentes estrategias con el fin de manipular y ensamblar las películas.

Uno de los trabajos más significativos y que hoy en día es considerado como uno de los métodos más importantes para la fabricación de estructuras moleculares con propiedades específicas propias de sistemas bidimensionales y con aplicaciones en diversas áreas es la Técnica de Langmuir-Blodgett.

Esta técnica se basa principalmente en la naturaleza anfifílica de las moléculas que constituyen la monocapa, la cual se forma sobre una interfase aire-agua.

Con el fin de continuar investigando la fabricación de estructuras bidimensionales de organización controlada y estructura bien definida diseñada inicialmente para moléculas anfifílicas, se ha llevado a cabo este trabajo en el que se pretende preparar películas nanoestructuradas de nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol, así como el estudio de la influencia de las condiciones de preparación para su posterior aplicación como sensores electroquímicos.

La primera parte del proyecto va dirigida a la síntesis de nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol en cloroformo mediante el método de Brust-Schiffrin y su posterior caracterización con las técnicas de espectrofotometría de UV-visible y Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM). Así mismo, se pretende comparar las propiedades para preparar películas de estas nanopartículas con las nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol disueltas en tolueno adquiridas en Alfa Aesar GmbH & Co KG.

La siguiente etapa consiste en la preparación las películas de Langmuir-Blodgett, donde primeramente se forma la monocapa flotante sobre la interfase aire-agua y después se transfiere a un sustrato sólido, en este caso un ITO (Indium Tin Oxide). Son numerosos los parámetros a tener en cuenta a la hora de preparar películas de Langmuir-Blodgett, por ello, uno de los objetivos del presente trabajo es, precisamente, estudiar la influencia de algunos de ellos a la hora de formar la monocapa y su posterior transferencia. Esos parámetros son la cantidad de muestra a depositar en la interfase aire-agua, disolvente en el que se encuentran disueltas las nanopartículas, presión de transferencia de la película de LB, velocidad de inmersión y emersión del sustrato y el número de capas depositadas. La formación de la monocapa puede visualizarse mediante Microscopía BAM.

La caracterización electroquímica de los sensores preparados, con el fin de evaluar su actividad redox, se lleva a cabo mediante Voltametría Cíclica (CV). Esta técnica permite comprobar el efecto electrocatalítico del sensor cuando es modificado con nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol. Las medidas se realizan en una disolución de catecol $10^{-3}M$, un tipo de polifenol con propiedades antioxidantes utilizado en distintas industrias como la alimentaria o la cosmética, entre otras.

Por último, y en base a los trabajos previos realizados en el grupo, se estudia la estabilidad tanto de las nanopartículas sintetizadas como de los sensores preparados. Para ello, se llevan a cabo los experimentos en un plazo de 2 meses después y se comparan los resultados con los obtenidos inicialmente.

Palabras clave:

Nanopartículas de oro, Langmuir-Blodgett, estabilidad nanopartículas, voltametría cíclica.

ABSTRACT

Since the last century, numerous investigations have been conducted into the formation of floating monolayers of different types of oils and their transfer to solid substrates, developing different strategies in order to manipulate and assemble films.

One of the most significant works that is considered one of the most important methods for the manufacture of molecular structures with specific properties of two-dimensional systems and applications in different areas is the Langmuir-Blodgett technique.

This technique is mainly based on nature amphiphile of the molecules constituting the single-layer, which forms on an interface air.

In order to continue researching two-dimensional structures of controlled organization and well-defined structure designed initially to amphiphilic molecules, this work has carried out to prepare nanostructured films of gold nanoparticles functionalized with dodecanethiol, as well as the study of the influence of the conditions in the preparation for their subsequent application as electrochemical sensors.

The first part of this project is directed to the synthesis of gold nanoparticles functionalized with dodecanethiol in chloroform through the method of Brust-Schiffrin and its characterization with microscopy electronic transmission (TEM) and UV-visible spectrophotometry techniques. Likewise, these nanoparticles and their properties to prepare films are compared to the nanoparticles of gold functionalized with dodecanethiol dissolved in toluene acquired in alpha Aesar GmbH & Co KG.

The next stage consists in the preparation of Langmuir-Blodgett films. First of all, floating monolayer on the interface air-water is formed and then, it is transferred to a solid substrate, in this case, an ITO (Indium Tin Oxide). There are numerous parameters to take into account to prepare Langmuir-Blodgett films, then, one of the objectives of this project is to study the influence of some of them at the time of form the monolayer and its subsequent transfer. Those parameters are the amount of sample to deposit in the interphase air -water, the solvent in which nanoparticles are dissolved, the pressure transfer of LB film, the rate of immersion and emersion of the substrate and the number of deposited layers. The formation of the monolayer can be displayed by Microscopía BAM.

Electrochemical characterization of sensors, in order to assess its redox activity, is carried out by cyclic voltammetry (CV). This technique allows checking the effect electrocatalytic of the sensor when it is modified with gold nanoparticles functionalized with dodecanethiol. The measurements are carried out in a solution of catechol 10^{-3} M, a type of polyphenol with antioxidant properties, used in different industries such as food or cosmetics, among others.

Finally, and based on previous work in the group, is studying the stability of synthesized nanoparticles as sensors. For it, the experiments are conducted within a period of 2 months later and the results are compared with those obtained initially.

Key words:

Gold nanoparticles, Langmuir-Blodgett, stability of nanoparticles, cyclic voltammetry.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 MOTIVACIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL TFM

Desde 1992, el grupo UvaSens de la Universidad de Valladolid trabaja en el desarrollo de sensores y matrices de sensores (narices y lenguas electrónicas) para el análisis de alimentos, siendo pioneros en el diseño de matrices de sensores voltamperométricos modificados químicamente con materiales electroactivos.

En los últimos años, la actividad del grupo está dedicada al desarrollo de sensores nanoestructurados preparados a partir de nanomateriales como nanopartículas o nanomateriales combinados con enzimas.

Con el fin de continuar en esta línea de trabajo y aportar nuevos datos se ha llevado a cabo este proyecto que consiste en la preparación, en diferentes condiciones, de películas nanoestructuradas de nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol mediante la técnica de Langmuir-Blodgett; que es una de las técnicas más interesantes que ha sido y es objeto de estudio de muchos científicos y que permite preparar este tipo de películas.

1.2 OBJETIVOS

El objetivo general es preparar películas nanoestructuradas de nanopartículas mediante la técnica de Langmuir-Blodgett y estudiar su comportamiento electroquímico mediante la técnica de Voltametría Cíclica.

Para ello, se persiguen los siguientes objetivos específicos:

- Síntesis de nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol en cloroformo mediante el método de Brust-Schiffrin y su caracterización.
- Preparación de películas bajo diferentes condiciones; disolvente, cantidad de muestra depositada, presión, velocidad de barrido y velocidad de inmersión y emersión del dipper.
- Realización de la transferencia de dichas monocapas a un soporte sólido (vidrio-ITO) manteniendo su organización, mediante la técnica de deposición vertical Langmuir-Blodgett. Estudio de las diferentes velocidades de subida y bajada del dipper.
- Caracterización de las películas mediante la técnica óptica de UV-vis.
- Evaluación de las condiciones de preparación en las propiedades electroquímicas.
- Estudio de la estabilidad.

1.3 ESTADO DEL ARTE

Puede decirse que el comienzo de la Nanotecnología se remonta a 1959 cuando el físico y premio Nobel R. Feynman pronunció en el Instituto de Tecnología de California su ahora famoso discurso "*There is plenty of room at the botom*". Feynman trató en su conferencia el problema de la manipulación individual de objetos tan pequeños como átomos y moléculas y de las múltiples oportunidades tecnológicas que ofrecería dicha manipulación. En aquel momento su discurso no tuvo una gran repercusión, pero hoy día muchas de sus predicciones se han cumplido con bastante exactitud. Sin embargo, la palabra Nanotecnología no aparece mencionada en dicho discurso. En realidad, el término "Nanotecnología" fue acuñado en 1974^[1] por el profesor N. Taniguchi de la Universidad de Ciencia de Tokio en un artículo^[2] titulado "*On the Basic Concept of 'Nanotechnology'*", que se presentó en una conferencia de la Sociedad Japonesa de Ingeniería de Precisión. En este contexto, la Nanotecnología se presenta como la tecnología que nos permitirá separar, consolidar y deformar materiales átomo a átomo o molécula a molécula.

En el año 1986 las ideas de Feynman y Taniguchi se concretaron algo más, cuando E. Drexler publicó el libro ^[3] titulado "*Engines of Creation*" en el que describe cómo será viable construir desde ordenadores hasta maquinaria pesada, ensamblando molécula a molécula, ladrillo a ladrillo, mediante nanorobots ensambladores, que funcionarán de un modo parecido a como lo hacen los ribosomas y otros agregados moleculares en las células de nuestro cuerpo. Este conjunto de ideas, elaboradas y desarrolladas en el periodo 1960-1990, han sido el punto de arranque de lo que hoy en día conocemos por Nanotecnología, el bagaje creciente de conocimientos teórico-prácticos que nos permitirán dominar la materia en la región de dimensiones comprendida entre 1 y 100 nm, y que denominamos nanoescala.

Por lo tanto, la **Nanotecnología**, basada en la nanociencia, puede ser entendida como un nuevo tipo de ingeniería aplicable en la escala nano. Se trata de un campo muy amplio y heterogéneo de la tecnología en el que se diseñan, caracterizan, producen y aplican estructuras, componentes y sistemas manteniendo un control sobre el tamaño y la forma de sus elementos constituyentes (átomos, moléculas o macromoléculas) a nivel de la escala de los nanómetros, de tal manera que dichas estructuras, componentes o sistemas poseen al menos una propiedad característica nueva o mejorada, como propiedades mecánicas, ópticas, químicas, magnéticas o electrónicas, debido al pequeño tamaño de sus constituyentes.

La nanociencia, por el contrario, es el conjunto de conocimientos científicos necesarios para mover, manipular y construir objetos de estos tamaños, es decir, para la nanotecnología.

1.3.1 Clasificación de los nanomateriales.

Existen diversos tipos de materiales nanoestructurados como nanopartículas, nanocristales, nanotubos, nanoalambres, etc. de composiciones diversas obteniendo nanomateriales orgánicos e inorgánicos en distintas dimensiones con múltiples aplicaciones y funciones en campos como la medicina hasta la electrónica.

Tienen tamaños inferiores a los 100 nm, lo cual les confiere propiedades y comportamientos diferentes a los exhibidos por la materia de la misma composición a escala macroscópica.

En función de sus dimensiones, los nanomateriales pueden clasificarse como:

- **0D (cero dimensiones)**

Es la estructura más simple que se puede obtener en el diseño de nanomateriales. Las dimensiones son inferiores a 100 nm. A este grupo corresponden las nanopartículas, nanocristales y nanoclusters.

- **1D (una dimensión)**

Son materiales que presentan una sola dimensión. Tienen una longitud variable. Pertenecen a este grupo nanohilos y nanotubos.

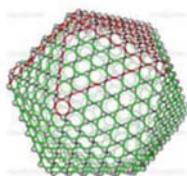
- **2D (dos dimensiones)**

Son nanomateriales formados por capas muy finas: nanocapas o películas delgadas con áreas de tamaño indefinido y un espesor entre 1 y 100 nm. Un ejemplo es el grafeno.

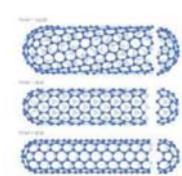
- **3D (tres dimensiones)**

Las tres dimensiones superan los 100 nm y se pueden encontrar materiales estructurados como policristales o composites.

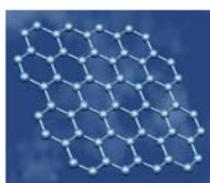
A continuación (*figura 1*) se muestra un ejemplo de cada tipo de nanomaterial.



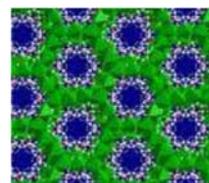
0D Nanoclusters



1D C Nanotubos



2D Grafeno



3D Nanoporous Ni

1.3.2 Fabricación de nanomateriales.

Las dos aproximaciones a la fabricación en el ámbito de la Nanotecnología^[4] son la “**top-down**” (de arriba a abajo) y la “**bottom-up**” (de abajo hacia arriba) (figura 2).

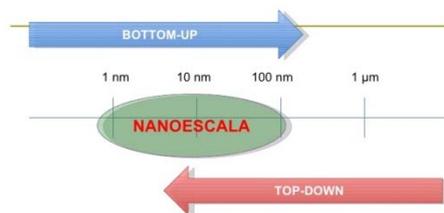


Figura 2. Esquema de aproximación de fabricación de nanomateriales.

La primera, “**top-down**”, consiste en la división de sólidos másicos en porciones más pequeñas. Este enfoque puede involucrar la molienda o el desgaste, métodos químicos, y la volatilización de un sólido seguido por la condensación de los componentes volatilizados. La segunda aproximación, “**bottom-up**”, consiste en imitar la naturaleza mediante el desarrollo de estructuras a partir de los niveles atómico y molecular mediante la fabricación de nanopartículas a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución. Este último enfoque es mucho más popular en la síntesis de nanopartículas, donde las nanopartículas pueden ser soportadas o no y el soporte les da estabilidad, además de que les puede conferir propiedades específicas.

En esta primera etapa de incorporación de las Nanotecnologías que estamos viviendo en estos momentos predominan las técnicas “top-down”, que seguramente sobrevivirán aún un largo tiempo. La llegada de las técnicas “bottom-up” requieren más esfuerzo en investigación básica, y se necesitará más tiempo para que existan productos elaborados mediante metodologías “bottom-up” en el mercado.

1.3.3 Nanopartículas

Uno de los objetivos centrales de la nanociencia es construir pequeñas estructuras para el diseño de materiales avanzados, nanodispositivos de alto rendimiento y miniaturización de dispositivos electrónicos.

Junto a los nanotubos de carbono, las nanopartículas representan los materiales con una repercusión tecnológica más inmediata. Además de sus propiedades intrínsecas, debido a su pequeño tamaño, las nanopartículas pueden convertirse en diminutos dispositivos capaces de realizar otras funciones, como transportar un medicamento específico, entre otras.

Como su propio nombre indica, el término “nanopartícula” designa una agrupación de átomos o moléculas que dan lugar a una partícula con dimensiones nanométricas, cuyo tamaño está comprendido entre 1 y 100 nm. Dependiendo de cuáles sean los átomos o moléculas que se agrupen se obtienen diferentes tipos de nanopartículas.

Una estrategia para la formación de nanopartículas es recubrirlas con distintas capas, de manera que le aporte funcionalidades diferentes al sistema.

Los elementos metálicos se han utilizado históricamente como materiales para la fabricación de objetos, incluso las formas coloidales de varios metales también han sido empleados durante siglos para proporcionar color al vidrio. Las nanopartículas inorgánicas resultan particularmente atractivas para tales propósitos, debido a sus propiedades ópticas, electrónicas, magnéticas y catalíticas únicas, muchas de las cuales pueden ser moduladas simplemente cambiando su tamaño, forma, o la funcionalización de la superficie de la nanopartícula, sin cambiar la composición del material ^{[5][6]}. Hasta ahora se han realizado avances significativos utilizando estrategias de química húmeda para sintetizar nanopartículas de alta calidad de una gran variedad de materiales inorgánicos incluyendo oro, plata, óxido de hierro y semiconductores.

La manipulación de las condiciones de síntesis ^[7] permite el control de la morfología de las partículas y provee los medios para adaptar las propiedades de los materiales durante el proceso de síntesis. Otro aspecto fundamental de la síntesis de nanopartículas es su estabilización, de tal manera que pueda mantenerse su tamaño y su forma en función del tiempo. Los avances en los procesos de síntesis han permitido el control preciso sobre los parámetros estructurales que gobiernan la formación de las nanopartículas lo que ha permitido adaptar las propiedades de estos átomos artificiales de acuerdo con su uso específico. La síntesis y el ensamblado modular de nanopartículas permiten explotar sus propiedades únicas, lo que puede llevar a nuevas aplicaciones en catálisis, electrónica, fotónica, magnetismo, así como sensores químicos y biológicos.

Por lo tanto, las dos propiedades fundamentales de las nanopartículas que hacen que sus propiedades sean muy diferentes al material masivo bulk son:

- **Incremento en el área de superficie**

La relación superficie/volumen aumenta, lo cual conlleva a un aumento considerable de la reactividad química porque el número de átomos en la superficie aumenta. (figura 3)

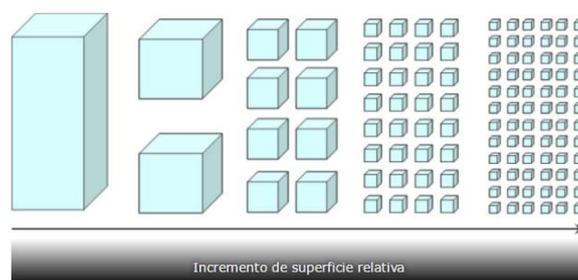


Figura 3. Relación superficie/volumen

Los átomos situados en la superficie de las nanopartículas son inestables, tienen un mayor nivel energético y las fuerzas con que son atraídos por los átomos situados en el interior de la masa son muy débiles. En consecuencia, tienen un mayor potencial de reacción, son muy reactivos químicamente teniendo la capacidad de unirse a otros átomos superficiales de otras nanopartículas más próximas (autoensamblado), con velocidades de reacción muy superiores y formando enlaces químicos más fuertes.

Este fenómeno provoca una aglomeración de las NPs como mecanismo para disminuir su energía superficial, ya que esta se encuentra en exceso en comparación con la energía de formación de las NPs convirtiéndose en compuestos termodinámicamente inestables.

- **Confinamiento cuántico de los electrones dentro de la nanopartícula.**

Se basa en que los efectos cuánticos se realzan debido al efecto del confinamiento cuántico que modifica las propiedades de electrones y huecos. Por ello las NPs adoptan unas propiedades químicas, ópticas, eléctricas, térmicas y magnéticas únicas.

Para comprender mejor cómo cambian las propiedades electrónicas de un material metálico al reducir su tamaño, hay que analizar los niveles electrónicos. Se sabe, que la distancia entre los estados energéticos contiguos aumenta al disminuir el volumen de las partículas. Esto conlleva a que el espectro continuo de bandas (que refleja la situación del material masivo *bulk*), cambie a un conjunto de estados discretos al disminuir el tamaño hasta la escala nanométrica (*figura 4*)

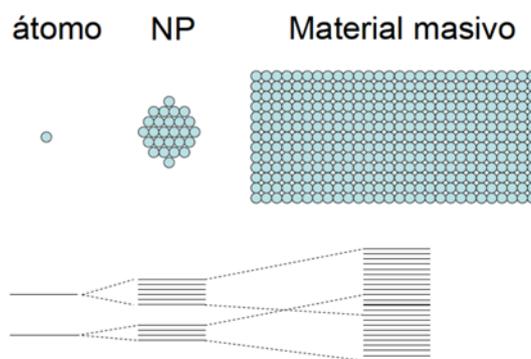


Figura 4. Cómo varía el espectro desde un estado discreto del átomo a un estado continuo de bandas del material masivo (*bulk*).

Como consecuencia del cambio del espectro a un estado discreto, se producen modificaciones en las propiedades físicas que afectan a las propiedades electrónicas, ópticas o magnéticas ^[8]; de manera que, al cambiar las propiedades electrónicas, las propiedades ópticas cambian ya que dependen de los estados electrónicos. En concreto, las NPs metálicas, se caracterizan por la frecuencia de resonancia del plasmón ^[9].

Resonancia del plasmón

En los metales existe una gran cantidad de electrones que no se encuentran ligados a un determinado núcleo atómico, de modo que se pueden mover libremente dentro del material formando un plasma. Con la aplicación de campos eléctricos, estos electrones fluyen a través del material dando lugar al fenómeno de la conducción eléctrica. Cuando se hace incidir radiación electromagnética (i.e. campos electromagnéticos oscilantes) sobre los metales, se pueden inducir excitaciones colectivas de los electrones libres, denominadas plasmones ^[10]. Estas ondulaciones electrónicas se pueden propagar en la interfase de un metal y un material dieléctrico dando lugar a un plasmón superficial (*figura 5*).

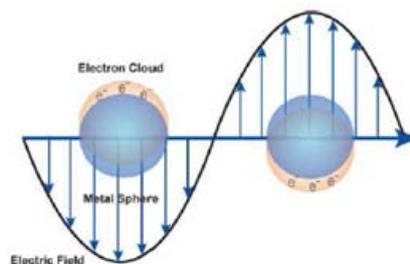


Figura 5. Efecto de la resonancia del plasmón de superficie (SPR) en las NPs metálicas.

Cuando la frecuencia de la radiación incidente coincide con la frecuencia resonante de la oscilación colectiva de los electrones de conducción, se produce un fenómeno de absorción. En el caso de metales con baja dimensionalidad (películas delgadas y metales nanométricos), la resonancia del plasmón (que llamaremos resonancia del plasmón superficial localizado, LSPR según sus siglas en inglés *Localized Surface Plasmon Resonance*) presenta una frecuencia característica fuertemente dependiente del tamaño y forma del material debido a efectos de confinamiento^[11]. En el caso de las nanoestructuras de los metales nobles como el oro y la plata, la banda de extinción LSPR cae dentro del espectro visible, de modo que estas nanoestructuras presentan colores diferentes a los observados en sus análogos macroscópicos y que pueden variar según el tamaño de partícula (figura 6).

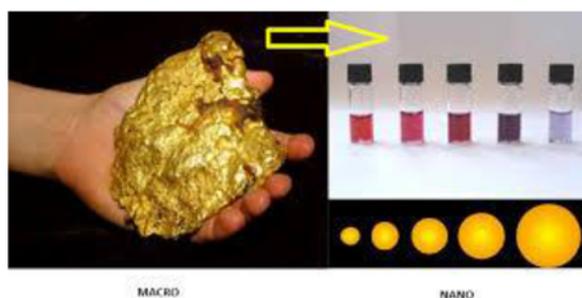


Figura 6. Efecto del tamaño de la nanopartícula de Au en el color de la disolución.

1.3.3.1 Nanopartículas de oro

Uno de los metales más estudiados y del cual se han realizado numerosos trabajos experimentales acerca de sus propiedades en forma coloidal es el oro^[12].

Las disoluciones coloidales de oro se preparan con facilidad por reducción en medio acuoso del ión Au^{3+} . Existen diferentes métodos de síntesis de nanopartículas de oro, los cuales han sido estudiados a lo largo de los años. En 1857 Michael Faraday^[13] publicó un estudio acerca de la preparación y propiedades del oro coloidal. Desde entonces, se han desarrollado una gran variedad de métodos de síntesis^{[14][15][16]} de NPs de oro que emplean ácido tetracloroáurico ($\text{H}[\text{AuCl}_4]$) como precursor de Au y citrato sódico como agente reductor.

Se ha demostrado que, el tamaño de la nanopartícula varía cuando cambia la concentración del agente reductor ^[17] (figura 7) de manera que cuanto mayor es la concentración de la disolución precursora, menor es el tamaño de la nanopartícula y mayor es su dispersión, es decir, el pico de absorción a parecerá a menores longitudes de onda y la banda será más ancha.

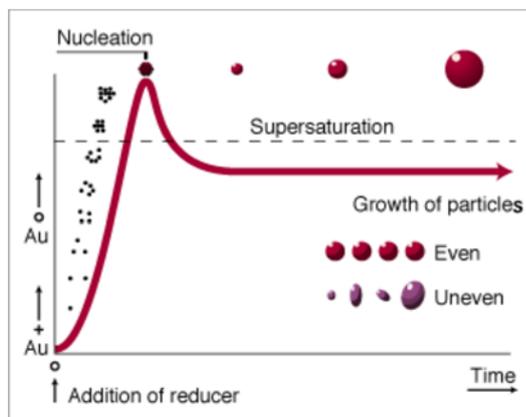


Figura 7. Proceso de nucleación de la nanopartícula a medida que aumenta la cantidad de reductor.

Así mismo, la reactividad de los complejos de oro, reflejados en los potenciales de reducción del agente reductor, cambia notablemente cuando se varía el pH de la disolución precursora ^[18], ya que incide en el proceso de nucleación y crecimiento de la nanopartícula, obteniéndose así diversos tamaños.

Otros factores que afectan al tamaño de las NPs de oro durante la síntesis son la temperatura del medio de reacción, de manera que a temperaturas muy bajas la reacción no puede producirse y por tanto los picos de resonancia del plasmón de superficie serían de muy baja intensidad, y a temperaturas muy altas aumentaría la dispersión de tamaños y, por tanto, se ensancharía el pico, llegando incluso a desdoblarse.

El disolvente es otro factor a tener en cuenta, ya que afecta, no sólo al tiempo de reacción sino también a las características y la estabilidad del producto obtenido.

➤ Síntesis de Nanopartículas

Existe una multitud de protocolos experimentales de todo tipo para hacer crecer NPs (metálicas o no) que sean estables en medios polares (sobre todo en agua) así como en disolventes orgánicos poco polares ^[19].

La síntesis de NPs, se centran en controlar el tamaño, forma, estructura y propiedades para posteriormente implementarlo en aplicaciones tecnológicas y es en esta etapa donde tiene que resaltar la habilidad del investigador para diseñar autoensamblados de NPs multifuncionales para reconocimiento químico o biológico, o para la aplicación pertinente en cada caso.

Las AuNPs, al igual que otras NPs, se pueden obtener con diferentes geometrías o disposiciones. Normalmente se obtienen por síntesis coloidal, dando lugar por ejemplo a NPs esféricas mediante técnicas de reducción química de una sal metálica.

➤ **Funcionalización**

Para la construcción de dispositivos nanoestructurados es conveniente la funcionalización específica de la superficie. Esta funcionalización puede obtenerse durante la síntesis de las nanopartículas adicionando el agente conveniente. Cuando el agente funcionalizador no es soluble en agua, se puede recurrir a una síntesis en dos fases como el método desarrollado por Schiffrin y colaboradores ^[16]. El agente funcionalizador de la partícula no necesita enlazarse covalentemente a ella. La aplicación de diferentes materiales protectores o la preparación de partículas mixtas bimetálicas permiten controlar el tamaño y la forma de las nanopartículas.

En 1994, el grupo de Schiffrin, en la Universidad de Liverpool, abrió nuevas posibilidades de investigación al describir un método para la preparación de nanopartículas de oro protegidas o recubiertas con una capa de alcanotiolatos. En el método original de Schiffrin, el complejo AuCl_4^- (transferido al tolueno por la presencia de un catión hidrofóbico adecuado) reacciona con dodecanotiol, dando lugar a un complejo de tipo polimérico. Este se reduce por acción del borohidruro (BH_4^-) para formar clusters atómicos de oro recubiertos de una monocapa compacta, integrada por moléculas de dodecanotiol que se encuentran enlazadas a la superficie de los clusters a través de sus átomos de azufre. Estos núcleos metálicos protegidos se pueden formular en general como $\text{Au}_x(\text{SR})_y$ y su preparación se puede extender a otros metales, a otros alcanotioles con gran variedad de cadenas alifáticas (C_3 - C_{24}), funcionalizadas o no en su extremo opuesto, así como disulfuros alquílicos. El producto resultante se puede aislar fácilmente.

La monocapa orgánica que protege al núcleo metálico le imparte sus propiedades químicas, determinando sus características de solubilidad y reactividad. Por ejemplo, el equipo de Murray de la Universidad de Carolina del Norte ^[20] ha demostrado que los clusters de oro protegidos con alcanotioles funcionalizados con bromuros terminales exhiben una reactividad química similar a las de los bromuros de alquilo primarios. Por lo tanto, en términos generales, los clusters atómicos metálicos recubiertos con monocapas de alcanotiolatos presentan un comportamiento que se asemeja al de los compuestos químicos.

Las dimensiones del núcleo metálico de estos clusters de oro protegidos por monocapas de alcanotioles suelen ser inferiores a los 5 nm.

Las monocapas protectoras están constituidas por un conjunto de alcanotiolatos enlazados covalentemente a los átomos de oro superficiales, es decir, el enlace está más próximo al extremo covalente (RS-Au) que al iónico ($\text{RS}^- \text{Au}^+$).

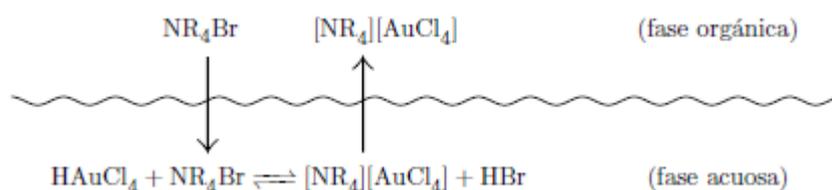
Las nanopartículas metálicas protegidas con alcanotioles son muy solubles en disolventes orgánicos no polares como el cloroformo, entre otros.

Síntesis de AuNPs en fase orgánica. Método Brust-Schiffrin

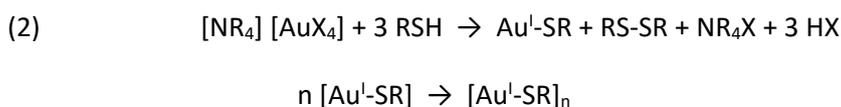
El método de Brust-Schiffrin ^[16], junto con el método de Turchevich ^[15] son los dos métodos más representativos para sintetizar AuNPs esféricas controlando su tamaño. A continuación, se muestra en la figura un esquema de obtención de AuNPs.

En detalle, el método de Brust-Schiffrin^[16] consiste en la reducción de un precursor de Au, como ácido tetracloroáurico (HAuCl₄) mediante un reductor fuerte, que generalmente es borohidruro de sodio (NaBH₄), en presencia de tioles de carácter hidrofóbico, como los alcanotioles. La solución acuosa del precursor de Au se coloca en contacto con un solvente orgánico de baja polaridad (generalmente tolueno) donde se encuentra disuelta una sal de amonio cuaternaria (NR₄X), que puede ser bromuro de tetraoctilamonio (ToABr) u otra con diferente largo de cadena hidrocarbonada. El catión de esta sal actúa como agente de transferencia de fase, produciendo el transporte de los iones [AuCl₄]⁻ desde la fase acuosa a la fase orgánica. Posteriormente, se descarta la fase acuosa y la fase orgánica puede ser lavada con agua desionizada para eliminar el HBr que pueda permanecer, proveniente de la fase acuosa ^[21].

En el siguiente gráfico (1) se esquematiza el proceso de transferencia de fase:



Una vez que se obtiene el precursor metálico en la fase orgánica, se agrega el tiol que se usará para proteger a las NPs que se sintetizarán. Estas moléculas producen una reducción de las especies de Au^{III} a Au^I. Durante más de 15 años desde la publicación de este método de síntesis, era aceptado que el agregado de tioles producía la formación de especies poliméricas de [Au^I-SR]_n de acuerdo a las siguientes reacciones ^[22]:



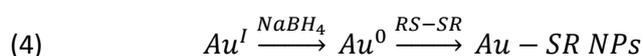
Sin embargo, experimentos recientes realizados por el grupo de R. B. Lennox ^[23], han demostrado que los precursores reales en la síntesis de NPs son pares iónicos de tetraalquilamonio y halogenuros de Au^I, en lugar de las especies poliméricas. Mediante medidas de espectroscopía UV-vis y de resonancia magnética nuclear protónica (1H RMN) encontraron que la estequiometría de la reacción es la siguiente:



Posteriormente, el grupo de Y. J. Tong^{[24][25]} ha confirmado este hallazgo mediante experimentos de espectroscopía Raman y ha propuesto un mecanismo que indica que las especies de Au^I se encuentran en la fase orgánica encapsuladas dentro de las micelas inversas formadas por los cationes de tetraalquilamonio. Además, estos autores encontraron que, si no se quita la fase acuosa

del medio de reacción antes del agregado del tiol, entonces los intermediarios en la síntesis están compuestos por una mezcla de $[NR_4] [AuX_4]$ y $[Au^I-SR]_n$. Condiciones similares fueron utilizadas por Whetten^{[26][27]} y colaboradores anteriormente, quienes propusieron un mecanismo como el dado por la Ec. (3). Este comportamiento también fue comentado por Goulet y Lennox, quienes lo atribuyeron a la ruptura o la ausencia de los pares iónicos $[NR_4] [AuX_4]$. Por lo tanto, el agua (y los solventes polares en general) juegan un papel importante en esta síntesis.

Después de la adición de tiol, el siguiente paso es la adición del reductor para producir las NPs. En general, se utiliza $NaBH_4$ en un gran exceso respecto al metal. Este reactivo produce la reducción de las especies de Au^I a Au^0 , creándose así núcleos de Au metálico en el interior de las micelas inversas. A medida que estos aglomerados crecen, protegidos por tetraalquilamonio, las moléculas de tiol (ahora en forma de RS-SR o mezcla de ambos si la relación molar RSH:Au > 2) se adsorben en la superficie de estos núcleos limitando su crecimiento como NPs, es decir, en el rango de algunos nanómetros, evitando su aglomeración con otras partículas. De esta forma, se producen AuNPs protegidas por tiolato (Au-SR NPs). Este proceso puede esquematizarse de la siguiente manera:



Una vez preparadas las NPs, es necesario su lavado para eliminar restos de reactivos utilizados en la síntesis, sobre todo moléculas de tiol libre. Para esto se reduce el volumen de tolueno mediante evaporación rotatoria sin aumentar la temperatura del baño por encima de 30°C para evitar la descomposición de las moléculas orgánicas. Luego, las partículas son dispersadas en etanol. Este disolvente permite, por su polaridad, la disolución de las moléculas de tiol pero a la vez no forma suspensiones estables de las NPs. La mezcla se mantiene durante 4h a -18°C y el precipitado marrón oscuro se filtra para el eliminar el sobrenadante y se lava de nuevo con etanol.

A partir de aquí las NPs pueden almacenarse o utilizarse como si se tratara de un compuesto químico. En solventes de baja polaridad, forman suspensiones muy estables que, a simple vista, tienen gran similitud con una solución. El solvente por excelencia para estas partículas es el tolueno.

➤ *Caracterización de las nanopartículas.*

Espectrofotometría de UV-vis.

Una de las técnicas más utilizadas para caracterizar nanopartículas es la espectrofotometría UV-Visible, que permite conocer la concentración, forma, tamaño y homogeneidad de las nanopartículas.

Los espectros de absorción que se obtienen se centran en la banda de resonancia del plasmón superficial. La posición y la forma de esta banda están influenciadas por diferentes factores tales como el metal, el medio circundante, el tamaño, la forma, la polidispersidad de las partículas y las sustancias adsorbidas en la superficie. De manera que cuanto más definido esté el pico de absorción menor dispersión de tamaño hay y, por tanto, más uniformes son las

nanopartículas; en cambio, un pico de absorción más ancho implica mayor dispersión de tamaño y, por tanto, el tamaño de las nanopartículas varía en un rango más amplio. Así mismo, cuando el tamaño de la nanopartícula disminuye, el pico de absorción se desplaza hacia valores de longitud de onda menores. Esto puede observarse con el color de la disolución coloidal de la nanopartícula (*figura 8*).

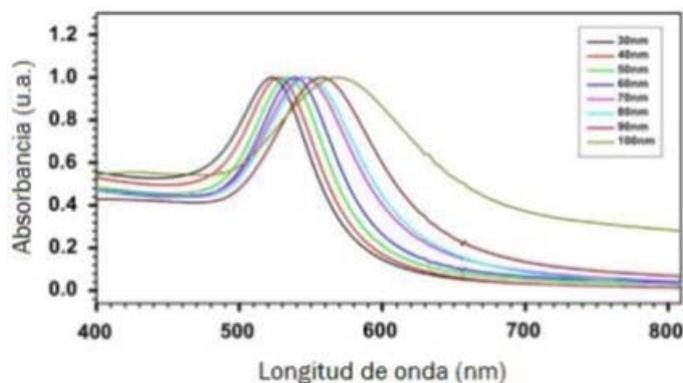


Figura 8. Espectro Uv-vis normalizado de AuNPs con distintos tamaños en solución acuosa.

Se observa una banda de absorción ancha, lo cual implica una dispersión de tamaño debido a que la velocidad de reacción redox es relativamente lenta dando lugar a una velocidad de crecimiento también relativamente lenta, formándose así NPs de diferentes tamaños.

Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM)

Existen varios tipos de microscopios electrónicos como SEM (del inglés Scanning Electron Microscope), o TEM (del inglés Transmission Electron Microscopy), en el caso del presente proyecto, se utilizará el microscopio TEM, ya que el SEM no alcanza la suficiente resolución como para poder obtener micrografías adecuadas de las NP.

Por tanto, el TEM, permite la caracterización estructural y morfológica de las muestras mediante la adquisición de micrografías. A partir de estas micrografías se puede calcular el tamaño de las NPs o su distribución de tamaños, además de poder visualizar la forma o el estado de agregación de las NPs. Las imágenes del TEM pueden aumentar un objeto hasta un millón de veces.

Se pueden obtener dos tipos de micrografías en el TEM, las de campo oscuro (micrografías producidas por los electrones difractados o dispersados) y las de campo claro (micrografías producidas por los electrones que se propagan a través de la muestra, lo que forma el haz transmitido).

Para visualizar las NPs, hay que preparar una suspensión diluida, para ello, se toma una sola gota de la suspensión y por último se deposita sobre una rejilla de cobre recubierta de una película de carbono y/o plástico. La gota se deposita comúnmente en la cara de la película de carbono y/o plástico dejándola secar a temperatura ambiente. La elección del disolvente donde se suspenden las partículas es crítica ya que de ello depende su correcta visualización. El

disolvente debe de ser de bajo punto de ebullición y que logre estabilizar total o parcialmente a las NPs.

Generalmente, la microscopía electrónica es un método destructivo, por lo que la misma muestra no puede ser analizada dos veces.

1.3.4 Técnicas de preparación de películas.

La tecnología de la deposición de películas delgadas ha experimentado un gran avance, debido a la necesidad de alcanzar nuevos productos y dispositivos aplicables, fundamentalmente, en las industrias óptica y electrónica. Estos métodos de deposición permiten obtener láminas de muy alta calidad y excelentes características.

Las tecnologías de las deposiciones son físicas o químicas, y se diferencian en el rango de espesor de película que se obtiene con cada tipo de técnica.

Los principales métodos de preparación de películas delgadas y multicapas moleculares son:

En fase vapor:

- Deposición Química en Fase Vapor (CVD)
- Deposición Física en Fase Vapor (PVD)

En fase Líquida:

- Spin-Coating
- Self-assembled Monolayers (SAMs)
- Langmuir-Blodgett (LB)
- Layer by Layer (LBL)

Además de otras técnicas como Sputtering o E-beam evaporation, para deposición en fase vapor; y Screen printing para deposición en fase líquida.

A continuación, se describe la técnica de Langmuir-Blodgett que es el objetivo del presente trabajo.

➤ TÉCNICA DE LANGMUIR-BLODGETT (LB)

La técnica de LB es un método para preparar películas ordenadas y de espesor controlado.

Desde la edad antigua se tenía una idea básica del comportamiento que generaba la interacción entre el agua y el aceite, sin embargo, no fue hasta 1744 cuando Benjamin Franklin llevó a cabo su experimento para estudiar el comportamiento de una pequeña cantidad de aceite en un estanque lleno de agua. El resultado fue la formación de una capa de aceite sobre el agua donde observó cómo el aceite producía una calma instantánea en toda la superficie. Franklin expuso estos

hechos ante la Royal Society y emitió su teoría al respecto, según la cual el aceite lubricaba la superficie del agua de tal manera que un viento externo sería incapaz de provocar la formación de ondas como sucedería en una superficie limpia.

Años después, Lord Rayleigh^{[28][29][30][31][32]} investigó la tensión de superficie de las películas de aceite depositadas sobre el agua. Logró estimar que el grosor de esas películas era en el rango de 1-2 nm, que es próximo al espesor de una molécula.

En 1891 Agnes Pockels, un científico aficionado, ideó un instrumento con el que obtuvo las primeras isotermas presión-área. El dispositivo consistía en un estanque con una barrera superficial móvil. Esto ayudó a Rayleigh a medir espesores de otros tipos de películas de aceite, mientras que Pockels estudió la tensión superficial de diferentes tipos de aceites. Con la ayuda de Lord Rayleigh, Pockels publicó sus resultados en Nature en el año de 1891^{[33][34][35]}. Este diseño fue posteriormente utilizado en investigaciones en el campo de las monocapas. Cabe destacar las aportaciones de Devaux^[36] quién confirmó los resultados obtenidos por Rayleigh y demostró que las películas se comportaban a veces como sólidos y a veces como fluidos, y de Hardy^[37], quien comprobó que las moléculas sin grupos funcionales polares no se extienden sobre la superficie del agua.

Entre los años 1910 y 1920, Irving Langmuir^[38] realizó el estudio sistemático de la formación de monocapas flotantes de ácidos grasos, ésteres y alcoholes sobre agua. A principios de 1920 Langmuir reportó la transferencia homogénea de monocapas de ácidos grasos hacia sustratos sólidos. No obstante, la primera descripción detallada de la transferencia secuencial de monocapas de ácidos grasos fue dada años después por la asistente y colaboradora de Langmuir, Katherine Blodgett^[39]. En aquellos experimentos, la monocapa era retenida sobre una superficie a presión constante y posteriormente se transfería a un sustrato sólido. La densidad, espesor y homogeneidad de las monocapas se mantenían cuando se producía la transferencia de la película. Esto permitía la obtención de estructuras formadas por multicapas organizadas las cuales podían ser de varias composiciones. Sus experimentos apoyaron la hipótesis de la existencia de interacciones de corto alcance y dieron la base para predecir los distintos tipos de moléculas que podían formar este tipo de películas. Debido a sus contribuciones estas monocapas ensambladas son conocidas como películas de Langmuir-Blodgett. Gracias a estas investigaciones en 1932 Langmuir fue galardonado con el Premio Nobel de Química.

En 1965 Hans Kuhn^[40] estudió las propiedades espectroscópicas de estas películas. Su investigación pareció generar mayor interés en las propiedades de las películas de Langmuir-Blodgett.

La primera conferencia internacional sobre las películas de Langmuir-Blodgett fue realizada en 1979, a partir de esto, esta técnica fue ampliamente utilizada por diversos científicos en diferentes campos de investigación. Actualmente, la técnica de Langmuir-Blodgett es considerada como uno de los métodos más importantes para la fabricación de estructuras moleculares organizadas con propiedades específicas y únicas, propias de sistemas bidimensionales y con aplicaciones en muchas y diversas áreas^{[41][42][43]} que pueden incluir el control de la evaporación de fluidos, simulación de membranas biológicas, óptica no lineal, dispositivos piezo y piroeléctricos, dispositivos electrónicos, LED y OLED, conductores y semiconductores orgánicos, electrodos modificados^{[44][45]}, estudios de catálisis, sensores^[46], células fotovoltaicas, etc.

La formación de monocapas de Langmuir en la interfase aire-agua se basa principalmente en la naturaleza anfifílica de las moléculas que la constituyen, es decir, en que éstas posean una parte hidrofóbica (una o varias cadenas alifáticas) y una parte hidrofílica (grupos funcionales tipo ácido, alcohol o amina). La mayoría de los trabajos realizados con la técnica de Langmuir-Blodgett han centrado sus investigaciones en el estudio de moléculas con propiedades adecuadas para la formación de películas ^{[47][48]}. La preparación de las monocapas en la interfase aire-agua se lleva a cabo añadiendo una determinada cantidad de moléculas anfifílicas disueltas en un disolvente volátil e inmiscible en agua, sobre una superficie de agua ultrapura contenida en un recipiente llamado bañera o cubeta de algunos milímetros de profundidad que suele ser de teflón (PTFE) por su naturaleza inerte. La elección del disolvente, o mezcla de disolventes, es importante para favorecer la máxima dispersión de las moléculas sobre la interfase aire-agua. Una vez evaporado el disolvente, las moléculas se disponen en la subfase formando una monocapa de forma que su situación sea lo más energéticamente favorable; en el caso de moléculas anfifílicas sería con los grupos polares inmersos en la subfase y las colas hidrofóbicas fuera de ella.

El área disponible para la monocapa está limitada por las paredes de la cubeta y por dos barreras móviles. El equipo dispone de una balanza electrónica que mide las variaciones de la tensión superficial o fuerza con la que la interfase tira de una placa (generalmente de platino y con geometría rectangular) llamado "*plato Wilhelmy*", cuando éste está en contacto con ella. La tensión superficial depende de la temperatura y del área por molécula en la monocapa. El software del equipo permite controlar el movimiento de compresión o expansión de las barreras para que la tensión superficial mantenga un valor determinado. La tensión superficial (γ) de la zona cubierta por la monocapa disminuye respecto a la tensión superficial del agua limpia (γ_0). Este cambio se expresa en función de la presión superficial π , que se expresa como:

$$\pi = \gamma_0 - \gamma$$

Tras la evaporación del disolvente la monocapa se comprime, se reduce el área superficial y la densidad de las moléculas aumenta, disminuyendo así γ y aumentando π .

Representando π frente al área por molécula (A), como muestra la figura (figura 9), se obtiene la isoterma y se observa como la presión superficial π aumenta cuando el área disminuye.

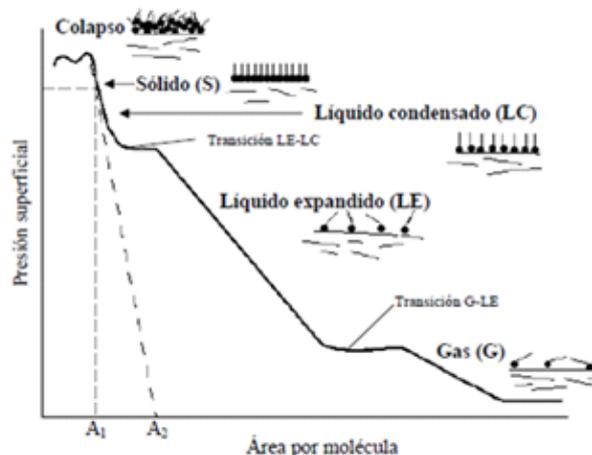


Figura 9. Representación de la presión superficial frente al área por molécula

Las isothermas π -A dan información acerca de la estabilidad de la monocapa en la interfase aire-agua, así como de la organización de las moléculas en la monocapa y de las interacciones entre ellas.

A partir de ellas, se obtienen también dos parámetros esenciales. Uno de ellos es el valor del *área límite*, obtenido por extrapolación del tramo de mayor pendiente de la isoterma a presión superficial cero que corresponde con el área ocupada por la molécula en su situación de máximo empaquetamiento. El otro parámetro, llamado *presión de colapso*, hace referencia al valor máximo de presión superficial al cual la monocapa pierde su estabilidad.

El análisis de las isothermas π -A muestra distintas regiones que corresponden a los diferentes estados de organización o fases en los que se encuentra la monocapa, así como las regiones en las que coexisten dos fases. Las distintas fases que se pueden observar para una molécula anfifílica en una isoterma de compresión son:

- **Fase gaseosa (G)**, es decir, en completo desorden y con ausencia de interacciones entre moléculas, para áreas por molécula de cientos de angstroms cuadrados por molécula, es decir, las moléculas disponen de un área mucho mayor que sus dimensiones, por eso la presión superficial es baja.
- **Transición gas-líquido expandido**, región de presión superficial constante. Hay una coexistencia de fases.
- **Líquido expandido (LE)**, en esta fase las moléculas experimentan unas fuerzas atractivas suficientemente intensas como para que empiecen a adoptar una estructura más o menos compacta. Se considera una situación intermedia entre la fase gaseosa y la fase condensada.
- **Transición líquido expandido - líquido condensado**
- **Líquido condensado (LC)**, en esta fase se establecen interacciones entre las moléculas y dan lugar a una estructura líquido-cristalina, donde la parte hidrófoba de las moléculas se orienta casi perpendicularmente a la interfase.
- **Fase sólida (S)**, donde la película es muy rígida y las cadenas hidrófobas forman un empaquetamiento compacto.
- **Colapso**, se produce cuando el área por molécula es muy pequeño, incluso menor al área física real que ocupa la molécula.

No todas las isothermas de compresión π -A muestran estas fases, ya que las fases observadas y la estabilidad de la monocapa dependen no sólo del sistema estudiado sino también de diversos factores como el pH de la subfase, la presencia de iones, la temperatura, la velocidad de compresión de las barreras, etc.

Para completar el estudio y caracterizar la monocapa formada se utilizan distintas técnicas microscópicas, como Difracción de Rayos X, Espectroscopía de IR con Transformada de Fourier o Microscopía de Ángulo de Brewster, entre otras, que permiten obtener detalles de la estructura.

Microscopía BAM

La Microscopía de Ángulo de Brewster (BAM) suele ser de las más utilizadas, ya que permite la visualización de películas flotantes durante su formación. Su sistema de formación de imágenes se realiza a través de un objetivo de microscopio sobre una cámara CCD. Lo diferente respecto al resto de microscopios convencionales es que la iluminación se realiza con un ángulo de incidencia de aproximadamente 53° y la observación y la captura de imágenes con una inclinación también de aproximadamente 53° para captar la luz reflejada especularmente en la muestra.

El BAM utiliza el Principio del Ángulo de Brewster aire/agua como sistema de mejora del contraste en las imágenes, lo que da lugar a buenos contrastes en capas muy delgadas, incluso cuando son monocapas. Es, por tanto, un instrumento de muy alta sensibilidad para películas muy delgadas y estructuras superficiales que se formen sobre la superficie del agua. También permite obtener información cuantitativa de las imágenes en tiempo real, como es la distribución del tamaño de los dominios.

Fundamentos del BAM

Cuando un haz de luz polarizada-p (polarizada paralelamente al plano de incidencia) incide sobre un sustrato dieléctrico, hay un ángulo de incidencia específico donde no se produce reflexión alguna. Toda la luz se refracta en el sustrato. Un detector que observe la luz reflejada producirá una señal de salida de mínima intensidad (idealmente cero) para este ángulo, denominado Ángulo de Brewster.

El *Ángulo de Brewster* está relacionado con los índices de refracción de los dos medios ópticos mediante la relación:

$$\tan \alpha = n_{\text{sustrato}} / n_{\text{aire}}$$

Para la interfase aire-agua, este ángulo toma el valor de 53° que es cuando no se produce reflexión, en cambio, si sobre la subfase (sustrato) se encuentra una película delgada con un índice de refracción distinto al del sustrato, entonces no se cumple la condición del ángulo de Brewster ni en la interfase aire-película ni en la interfase película-sustrato. En este caso, tienen lugar algunas reflexiones en ambas interfaces y puede haber reflexiones múltiples en la película, las cuales se superponen coherentemente y producen una señal que puede ser detectada con un sensor, como por ejemplo una cámara CCD. Por lo tanto, la intensidad reflejada depende del espesor de la película y de sus parámetros ópticos.

Transferencia de las películas

Las películas de Langmuir-Blodgett pueden ser transferidas a una superficie sólida manteniendo su densidad, espesor y homogeneidad inicial. Incluso, pueden obtenerse estructuras multicapa de la misma composición o de varias composiciones.

La deposición se realiza tradicionalmente en la fase 'sólida', donde la presión superficial es lo suficientemente alta para asegurar la suficiente cohesión en la monocapa. Esto significa que la atracción entre las moléculas en la monocapa es suficiente para evitar que la monocapa caiga durante la transferencia al sustrato sólido y, además, se asegura la formación de multicapas

homogéneas. La presión superficial que da los mejores resultados depende de la naturaleza de la monocapa y generalmente se establece empíricamente. Generalmente, para moléculas anfifílicas, rara vez se produce con éxito la transferencia a presiones inferiores a 10 mN/m y presiones por encima de 40 mN/m de presión de colapso, ya que la rigidez de la película plantea problemas. Cuando el sustrato sólido es hidrofílico (cristal, SiO₂ etc.) la primera capa se deposita por levantar el sustrato sólido de la sub-fase a través de la monocapa, mientras que si el sustrato sólido es hidrofóbico (HOPG- Highly Oriented Pyrolytic Graphite-, superficies silanizadas, SiO₂ etc.) la primera capa se deposita mediante la introducción del sustrato en la subfase a través de la monocapa. El sustrato está sujeto con un “*dipper*”, una pinza que atrapa al sustrato y realiza ciclos consecutivos programados de inmersión y emersión de la subfase con el fin de transferir el número requerido de monocapas. Tanto el movimiento del *dipper*, como la presión de la superficie y el movimiento de las barreras de compresión, son controlados por ordenador para garantizar la homogeneidad de la película depositada.

La deposición repetida permite obtener multicapas bien organizadas sobre el sustrato sólido. La deposición multicapa más común es la multicapa *Tipo Y*, que se produce cuando se transfiere la monocapa al sustrato sólido tanto en la inmersión como en la emersión. Cuando la monocapa se deposita sólo en la emersión, se dice que es de *Tipo Z*, y cuando se produce sólo en la inmersión se dice que es de *Tipo X* (figura 10).

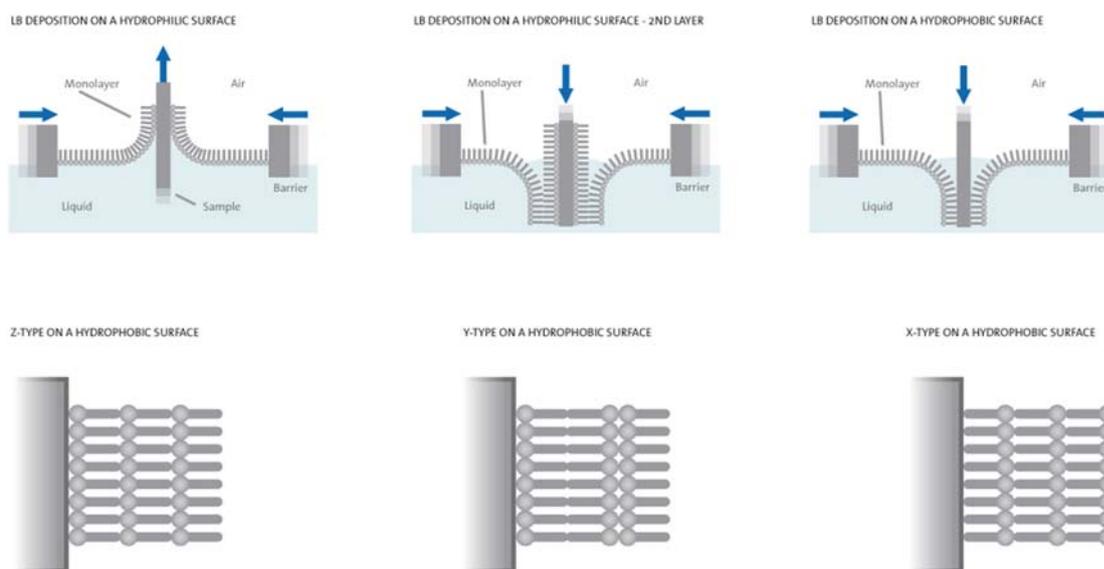


Figura 10. Tipos de deposición sobre el sustrato sólido

El proceso de deposición mediante la técnica de Langmuir-Blodgett desarrollado originalmente para moléculas anfifílicas puede extenderse a la fabricación de estructuras bi-dimensionales bien definidas y de organización controlada, de materiales como quantum dots de semiconductores, partículas metálicas o aislantes y nanopartículas, en una interfase aire-agua [49][50][51][52][53][54].

La mayoría de los trabajos realizados con la técnica de Langmuir-Blodgett han centrado sus investigaciones en el estudio de moléculas con propiedades adecuadas como son moléculas anfifílicas, moléculas modificadas con restos anfifílicos o moléculas π (como ftalocianinas) para la formación de películas [55][56][57]. Se ha demostrado que nanopartículas adecuadamente cubiertas pueden organizarse en la interfase aire-agua con un procedimiento similar al de la deposición de moléculas anfifílicas, de manera que las películas obtenidas poseen semejanzas a las monocapas de Langmuir clásicas. Los estudios realizados no sólo se basaban en nanopartículas metálicas sino también fueron interés de estudio las distintos tipos de funcionalización [58][59][60][61][62]. Así como la longitud de la cadena hidrocarbonada que se encuentra capando a la nanopartícula, que es un factor decisivo en la capacidad de dichas partículas para formar monocapas sobre la subfase y obtener isothermas con π -A definido, ya que dependiendo de cuál sea, el valor de la presión de colapso será una u otra.

La hidrofobicidad de las nanopartículas también afecta, de forma que, si su hidrofobicidad es baja, las nanopartículas se hunden; mientras que, si son muy hidrofóbicas, las nanopartículas se mantienen en la superficie acuosa.

Fendler y sus colaboradores demostraron que las nanopartículas en la interfaz de aire – agua, al igual que las moléculas anfifílicas, también pueden transferirse a un soporte sólido mediante la técnica de Langmuir-Blodgett y la técnica de Schaeffer. En muchos casos, puede alcanzarse una relación de transferencia de 1. Además, existen evidencias experimentales de que el espesor de la capa cambia de forma lineal con el número de capas depositadas, permitiendo así el diseño de superredes de partículas diferentes.

1.3.5 Sensores

Hoy en día la tecnología de los sensores está experimentando un crecimiento continuo como consecuencia del creciente interés en realizar controles de productos de forma rápida, fiable y económica. Los sensores están experimentando un importante desarrollo debido a la intensa investigación que se está llevando a cabo sobre ellos, permitiendo realizar medidas “in situ” y reduciendo notablemente su tamaño en contraposición con las técnicas convencionales.

Un sensor es un dispositivo capaz de transformar la información física o química de una muestra en una señal eléctrica. Dicha información se transfiere de manera directa, continua, rápida, selectiva y reversible. Consta de un elemento de reconocimiento molecular que produce una interacción selectiva con el analito en contacto físico con un transductor (*figura 11*).

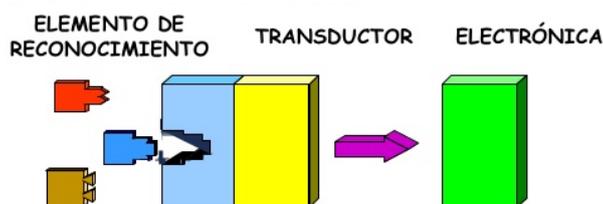


Figura 11. Esquema del funcionamiento de un sensor.

Los elementos del sensor son:

- **Receptor:** Elemento de reconocimiento molecular o iónico. Se encarga de reaccionar con un determinado componente de la muestra o analito de forma selectiva, es decir, discrimina un único componente.
- **Transductor:** Elemento instrumental que traduce la interacción en una señal procesable. La señal primaria (de tipo electroquímico, másico, etc) se transforma por medio del transductor en una señal secundaria de tipo eléctrico.

Los sensores se pueden clasificar según el tipo de información que son capaces de transformar:

- **Sensores físicos**, detectan cambios en parámetros físicos como la temperatura, masa, presión, etc.
- **Sensores químicos**, detectan cambios en algún parámetro químico como el pH, la concentración, composición, etc.

Para entender mejor el trabajo desarrollado, se explica con detalle los sensores químicos.

1.3.5.1 Sensores químicos

Un sensor químico es un dispositivo que transforma información química en una señal medible y útil. Consta principalmente de dos partes: un receptor o elemento de reconocimiento molecular o iónico y un elemento instrumental (transductor). Además, suelen incorporar también un amplificador de señal que se encarga de amplificar, acondicionar, procesar y presentar la señal en formato de dato. Cuando el elemento de reconocimiento es un reactivo biológico el sensor toma el nombre de biosensor.

Los sensores químicos se pueden clasificar en función del tipo de transducción en:

- **Electroquímicos:** son aquellos sensores que transforman la señal electroquímica producida debido a la interacción entre el analito y el receptor en una señal eléctrica de salida.
- **Ópticos:** son aquellos sensores que transforman la señal óptica resultante de la interacción entre el analito y el receptor en una señal eléctrica.
- **Resistivos:** son aquellos sensores en los que la interacción entre el analito y el receptor da lugar a un cambio en la conductividad que se transforma en una señal eléctrica.
- **Másicos:** son aquellos sensores que transforman las variaciones de masa producidas sobre la superficie del receptor, al darse la interacción, en señales eléctricas de salida.
- **Térmicos:** son aquellos sensores que transforman el efecto calorífico producido por la interacción analito-receptor en una señal eléctrica.
- **Otros:** magnéticos, etc.

Dentro de la clasificación de sensores químicos, los sensores que se han usado para la experimentación de este trabajo han sido de tipo electroquímico. La posible utilización de

reducidas cantidades de analito para su estudio, el abaratamiento de costes respecto a otros métodos de análisis, la ventaja de que la señal obtenida con este tipo de sensores se obtiene de forma inmediata y, por tanto, la interpretación de resultados obtenidos es directa, además de que no necesitan una instrumentación de elevada complejidad, son los motivos de la elección de esta técnica.

Entre los sensores electroquímicos, los más utilizados son los potenciométricos, amperométricos, voltamétricos e impedimétricos debido a su especificidad, alta sensibilidad, bajo tiempo de respuesta y facilidad de operación.

En los sensores potenciométricos, un electrodo de trabajo cubierto con una membrana se introduce en la muestra a analizar. El potencial creado en la interfase membrana/solución, que depende de la naturaleza del material del electrodo y de la composición de la solución es medido. Estos sensores se pueden preparar de diferentes materiales, membranas y técnicas.

En los sensores amperométricos, se fija el potencial de oxidación del analito. Una vez establecido, se llevan a cabo medidas amperométricas para medir la corriente eléctrica entre los electrodos.

En los sensores impedimétricos, el electrodo se somete a una señal eléctrica alterna de diferente frecuencia. Entre las diferentes representaciones gráficas de los datos impedimétricos, las más comunes son los diagramas de Nyquist y los diagramas de Bode que dan información sobre el proceso electroquímico que ocurre en el electrodo en disolución

En los sensores voltamétricos, se aplica un voltaje de polarización mientras se mide la corriente. Los voltamogramas muestran picos asociados a la oxidación y reducción de las moléculas presentes en la solución y su intensidad es proporcional a la concentración. Este sistema es muy versátil porque se pueden utilizar diferentes materiales en los electrodos y se pueden aplicar diferentes técnicas de estudio (voltametría cíclica, voltametría de pulso o voltametría de onda cuadrada).

➤ **Voltametría**

Históricamente, el campo de la voltamperometría se desarrolló a partir de la polarografía, que es un tipo particular de voltamperometría donde el electrodo de trabajo es un electrodo de gotas de mercurio (DME).

La voltametría es muy utilizada por químicos inorgánicos, físicos y biólogos para estudios fundamentales de procesos de oxidación y reducción en diferentes medios, procesos de absorción en superficie y mecanismos de transferencia electrolítica en superficies de electrodos modificados químicamente.

A mediados de los años sesenta se desarrollaron diversas modificaciones importantes de las técnicas voltamperométricas clásicas que aumentaron significativamente la sensibilidad y la selectividad del método. Así mismo, la utilización de amplificadores operacionales de bajo coste hizo posible el desarrollo comercial de instrumentos relativamente baratos. El resultado ha sido el interés en la aplicación de los métodos voltamperométricos para la determinación de multitud

de especies, en particular de aquellas de interés farmacéutico, ambiental y biológico. De la misma forma, es una técnica muy utilizada en el estudio de procesos de oxidación y reducción, así como en procesos de adsorción.

➤ *Voltamperometría cíclica*

Existen diferentes tipos de voltametría en función de cómo se realice el barrido de potencial. De esta forma se conoce la voltametría lineal, de onda cuadrada, de impulso diferencial o voltametría cíclica.

De todas ellas, la Voltametría Cíclica (CV) ha sido el método seleccionado para llevar a cabo el trabajo desarrollado.

Para una Voltametría Cíclica, el sistema electroquímico consiste en una celda electroquímica y un potencióstato.

La celda electroquímica (*figura 12*) está constituida por un recipiente que contiene la disolución electrolítica y varios electrodos. Un *electrodo de trabajo (WE)*, un *contraelectrodo (CE)* o *electrodo auxiliar (AE)* y un tercer electrodo, denominado *electrodo de referencia (RE)* para completar el circuito cuyo potencial es conocido y su función es actuar como referencia en la medición y controlar el potencial de los electrodos.

Como electrodos de trabajo existen diferentes tipos de sustratos que pueden ser platino, oro, mercurio, entre otros. En este trabajo, el electrodo de trabajo utilizado es un ITO modificado con nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol.

El contraelectrodo o electrodo auxiliar (CE o AE) está fabricado de un material conductor que transmite la corriente desde la fuente al electrodo de trabajo a través del analito. En este caso se ha trabajado con una placa de platino como contraelectrodo.

Y, por último, los electrodos de referencia. Los más utilizados son los de calomelanos saturados o los de Ag/AgCl/KCl. En este caso, se ha utilizado el segundo, que consiste en un hilo de plata recubierto de una solución de cloruro de plata (AgCl), el cual se introduce en una solución de cloruro potásico (KCl). La función del mismo es la de medir la diferencia de potencial existente entre el electrodo de trabajo y éste, siendo el potencial al que se encuentra dicho electrodo de referencia constante.

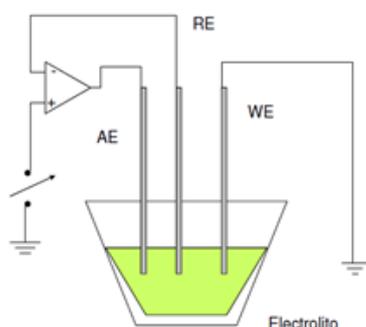


Figura 12. Celda electroquímica con 3 electrodos

En Voltamperometría Cíclica (CV), la variación de corriente en un electrodo estacionario pequeño colocado en una disolución no agitada provoca una señal de forma triangular, de manera que el potencial varía primero linealmente entre dos valores de potencial (E_1 y E_2) y cuando se alcanza el valor fijado (E_2), el sentido del barrido se invierte y el potencial vuelve a su valor original (E_1) (figura 13).

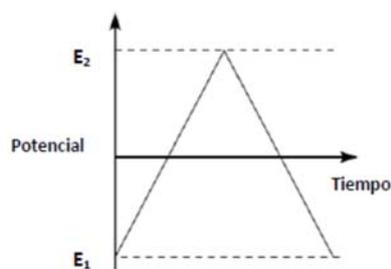


Figura 13. Potencial de barrido aplicado para una CV.

Los potenciales a los cuales tiene lugar la inversión se denominan *potenciales de inversión* y es aquel en el que tiene lugar la oxidación o la reducción controladas por difusión de uno o más analitos. Dependiendo de la composición de la muestra, la dirección de barrido inicial puede ser negativa o positiva. Por ello, hay que establecer un convenio:

- Intensidad positiva: corriente anódica.
- Intensidad negativa: corriente catódica.
- Picos intensidades positivas: picos de oxidación.
- Picos a intensidades negativas: picos de reducción.

La información registrada se recoge en un gráfico denominado *voltamograma* donde se representa la intensidad de corriente registrada en función del voltaje aplicado (figura 14).

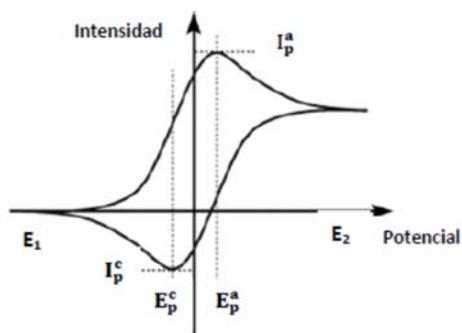


Figura 14. Voltamograma registrado para una voltametría cíclica.

Las ventajas de este método se basan en su especificidad, ya que no es necesaria la separación previa de componentes, y en la posibilidad de trabajar con concentraciones reducidas de analito.

La información sobre el analito se deduce de la medida de la intensidad de corriente en función del potencial aplicado en condiciones que favorezcan la polarización de un electrodo indicador o de trabajo.

Otro aspecto importante es la reversibilidad o irreversibilidad del proceso redox, la cual se determina a partir de la respuesta voltamétrica obtenida. Para determinar la reversibilidad o irreversibilidad de un proceso es necesario atender a distintos parámetros, que se detallan a continuación:

- La diferencia de potencial entre ambos picos debe tomar el valor:

$$\Delta E = E_p^a - E_p^c = \frac{59}{n} \text{ mV}$$

- El potencial de aparición de los picos no presenta una variación con respecto a la velocidad de barrido.
- El cociente entre las intensidades de los picos de reducción y oxidación es igual a 1, por tanto, estas intensidades son idénticas:

$$\left| \frac{I_p^a}{I_p^c} \right| = 1$$

- Las intensidades de los picos son proporcionales a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido.

1.3.5.2 Modificación de Sensores

Los sensores electroquímicos se pueden modificar ^{[63][64][65][66][67][68][69]} por ejemplo, depositando AuNPs, con objeto de mejorar de las propiedades electrocatalíticas del sensor^{[70][71][72]}. El tamaño de las AuNPs y su morfología, tienen una gran repercusión en su aplicación en sensores. El hecho de añadir AuNPs a los sensores, supone un aumento de la relación superficie/volumen del sensor, provocando así una mayor rapidez de la adsorción y desadsorción del analito. Además, mejoran la detectabilidad y sensibilidad del sensor, y a veces incluso modifican la selectividad de la respuesta.

En el caso concreto de la presencia de AuNPs obtenidas del método de Brust-Schiffrin funcionalizadas con un grupo tiol, proporcionan una elevada relación señal/ruido en las mediciones, así como una buena reproducibilidad.

En este trabajo, se ha llevado a cabo la preparación de dichos sensores mediante la técnica de Langmuir-Blodgett, así como la optimización de condiciones de preparación de los mismos.

1.3.6 Antioxidantes

El objetivo de desarrollar sensores modificados con AuNPs es detectar antioxidantes ^[69] presentes en los alimentos y sus concentraciones, especialmente en el vino, como pueden ser los polifenoles^{[65][73]}.

Los polifenoles son constituyentes fundamentales del mundo vegetal, se encuentran en gran variedad de alimentos retardando o previniendo su oxidación. Dentro de este grupo, existen cientos de compuestos, pero todos se basan en poseer varios grupos bencénicos que llevan asociados grupos hidroxilo (-OH). Además, los antioxidantes son fundamentales en la preservación de los alimentos ^[74].

La principal fuente de polifenoles son las bayas, el té, la cerveza, el vino, el aceite de oliva, las nueces, etc. Los polifenoles son generalmente subdivididos en taninos, ligninas y flavonoides y juegan un papel importante en los atributos organolépticos del alimento.

De los distintos polifenoles, en este trabajo se ha prestado atención al catecol, el cual se usa principalmente en las industrias del caucho, química, fotográfica, colorantes, grasas, aceites, cosméticos y productos farmacéuticos.

Catecol, también conocido como pirocatecol o 1,2-didroxibenceno. Su fórmula estructural es C₆H₆O₂, su masa molecular es 110,1 g/mol y su densidad 1,34 g/cm³. Se presenta comercialmente en forma de cristales de plumas blancas, fácilmente solubles en agua. En la *figura 15* se representa su estructura molecular.

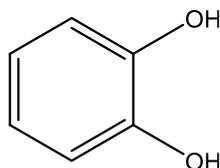


Figura 15. Estructura molecular del catecol.

El catecol al ser un antioxidante con actividad redox (*figura 16*), se puede analizar mediante CV. Anteriormente a la CV, las técnicas usadas para detectar antioxidantes se enfocaban en análisis de muestras a nivel de laboratorio con técnicas lentas y complejas, por lo que la CV supone un gran avance en este aspecto al ser una técnica rápida y sencilla para la industria.

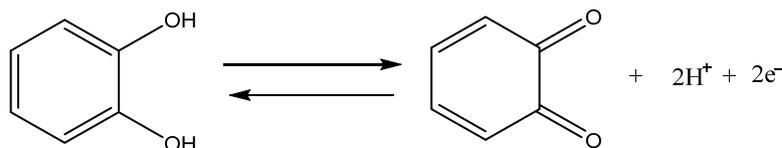


Figura 16. Esquema que representa la actividad redox de la molécula de catecol.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 Síntesis de AuNPs y preparación de nanopartículas.

Todos los productos químicos utilizados fueron de grado reactivo analítico, sin purificación adicional. Las soluciones se obtuvieron disolviendo las sustancias en agua desionizada.

a) AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol en cloroformo

Se lleva a cabo el método de Brust-Schiffrin que permite obtener nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol en un sistema bifásico líquido-líquido.

Para ello, se preparan 50 ml de una disolución acuosa de $\text{AuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ de concentración 30 mmol/L. Se observa una disolución transparente de color amarillo.

Por otro lado, se preparan 100 ml de una disolución de TOAB (Bromuro de tetraoctil amonio) de concentración 50 mmol/L en tolueno. Se observa una disolución incolora.

Una vez preparadas ambas disoluciones, se toman 30 ml de la disolución de $\text{AuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y se vierte a un embudo de decantación. Después se miden 80 ml de la disolución de TOAB y se vierte al embudo de decantación. Se agita vigorosamente la mezcla hasta que el Au de la fase acuosa se transfiere a la fase orgánica. Tras dejar reposar la mezcla se observa un sistema bifásico en el que la fase orgánica tiene un color marrón oscuro y la fase acuosa es de color anaranjado. Durante la transferencia de fase se observa un cambio de color de anaranjado a incolora debido a la transferencia del Au a la fase orgánica. Tras unos segundos de reposo, se observan dos fases completamente separadas, una fase orgánica marrón oscuro que contiene las AuNPs y una fase acuosa incolora (*figura17*).



Figura 17. Transferencia de fase de los aniones AuCl_4^- de la fase acuosa a la fase orgánica.

Cuando ambas fases están separadas, se extrae la fase acuosa de la orgánica, desechándose la fase acuosa y reservando la fase orgánica.

A continuación, la fase orgánica se lleva a un matraz y se añaden 200 μl de dodecanotiol. Se agita la mezcla en una placa y durante la agitación se va añadiendo lentamente 25 ml de la disolución de NaBH_4 0,4 M que ha sido preparada previamente. Hay que destacar que, durante la adición de

NaBH₄, se observa un cambio en la coloración de la disolución siendo éste de marrón oscuro a negro violáceo debido a la reducción del Au^I a Au⁰.

Una vez que se han añadido los 25 ml de la disolución de NaBH₄, se continúa agitando la mezcla durante tres horas para que se complete la reducción del Au, se formen los clústers de nanopartículas, se establezcan los enlaces Au-SR y se estabilicen.

Pasado el tiempo de agitación, se separa de nuevo la fase orgánica de la fase acuosa y la fase orgánica se lleva al rotavapor para eliminar el tolueno. Al sólido resultante se le añaden 400 ml de etanol y se almacena a -18°C durante 4h. Pasado este tiempo, se observa un coloide de color morado oscuro casi negro y un líquido incoloro. Se filtra la mezcla para obtener el coloide, y se lava de nuevo con etanol. Se repite el lavado con etanol unas tres veces. Después se añaden 10 ml de cloroformo (disolvente elegido en este trabajo para el posterior estudio de las condiciones de optimización de la técnica de Langmuir-Blodgett en la preparación de películas; pero puede ser tolueno, metanol, hexano u otros) para separar las aglomeraciones de nanopartículas.

El almacenamiento de la disolución de nanopartículas debe ser en refrigeración en un frasco de color ámbar para evitar que las nanopartículas entren en contacto con la luz y debe añadirse etanol para mantener la suspensión de las mismas.

b) AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol en tolueno

Las nanopartículas son "*n-Dodecanthiol gold nanoparticles, 2% (w/v) soln. In toluene, 2-5 nm particles*" que fueron adquiridas en Alfa Aesar GmbH & Co KG.

2.2 Caracterización de las nanopartículas

2.2.1 Espectrofotometría UV-Vis

Las nanopartículas se caracterizan mediante la medida de absorción en el espectro UV-Vis.

El equipo utilizado ha sido el Espectrofotómetro Uv-Vis Shimadzu 1603 (figura). Este equipo está disponible en el laboratorio. Posee una lámpara de deuterio y otra de wolframio. Las medidas se realizaron en un rango espectral de 190 nm a 1000 nm y un valor de resolución medio (figura 18).

La cubeta utilizada para la medida fue una cubeta de cuarzo de 1 mm de paso óptico.



Figura 18. Espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu 1603.

2.2.2 Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM)

Para el estudio del tamaño, morfología, distribución, estructura y cristalinidad de las nanopartículas obtenidas se ha empleado el Microscopio de Transmisión Electrónica Jeol Jem-FS2200HRP Field Transmission Electron Microscope con un voltaje de 200 KV (*figura 19*).



Figura 19. Microscopio TEM Jeol Jem-FS2200HRP

En la preparación de las muestras para su observación en TEM, es necesario realizar una dispersión de las nanopartículas en un solvente, depositar una o dos gotas de la suspensión coloidal de nanopartículas sobre una rejilla y dejarlas secar (*figura 20*)

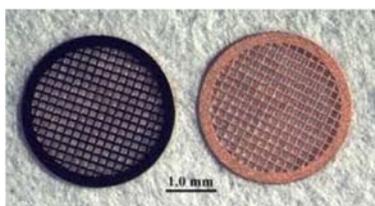


Figura 20. Rejilla de cobre con entramado cuadrado para análisis en TEM.

2.3 Preparación de los sensores electroquímicos

La preparación de los sensores electroquímicos se ha llevado a cabo utilizando la técnica de Langmuir-Blodgett.

Para la preparación del sensor, se utiliza como sustrato un ITO (Indium Tin Oxide), semiconductor de tipo n perteneciente al grupo de los semiconductores transparentes, de dimensiones 20x10x1 mm.

2.3.1 Preparación de películas de Langmuir-Blodgett

Para la preparación de películas mediante la técnica de LB se utilizó el equipo KSV 5000 LB Langmuir Blodgett System equipado con una placa Wilhelmy (*figura 21*).



Figura 21. Equipo KSV 5000 LB Langmuir Blodgett System equipado con una placa Wilhelmy

Antes de comenzar a utilizar el equipo hay que tener en cuenta una serie de consideraciones fundamentales para su correcta utilización.

En primer lugar, el equipo debe encontrarse protegido de polvo, vibraciones y corrientes de aire, ya que la limpieza es primordial para evitar todo tipo de interferencias, partículas en el aire o suciedad que pueda afectar a la transferencia de la película o a su uniformidad.

Para la limpieza de la superficie de la bañera se utiliza acetona, ya que el material del cual está fabricada la bañera (teflón) es resistente a este disolvente y permite eliminar residuos de muestras y posible contaminación. La limpieza se efectúa al menos un par de veces con un paño impregnado de acetona que no desprenda residuos. De la misma forma, se limpian las barreras.

Una vez limpia la superficie de la bañera y las barreras, se procede a llenar con agua desionizada. Para ello, se enciende el software que controla la bañera. En él, se indica cuál es la tensión superficial del agua gracias al plato Wilhelmy. Cuando el contenido de la bañera es sólo agua, el valor de la tensión superficial será $\pi = -70\text{mN/m}$.

El siguiente paso es comprobar que, efectivamente, la superficie del agua está exenta de cualquier tipo de interferencia. Para ello, se hacen cerrar las barreras a una velocidad de compresión de 10 mm/min hasta que alcanzan el tope. Si al cerrarse, la tensión superficial se mantiene, entonces, la subfase está limpia; por el contrario, si la tensión superficial varía, entonces hay que

eliminar las impurezas de la subfase mediante una bomba de agua hasta que quede perfectamente limpia.

Este proceso debe llevarse a cabo previamente al uso del equipo y siempre que se cambie el tipo de muestra.

Una vez que la superficie está limpia, se abren de nuevo las barreras y se deposita la muestra por toda la superficie del agua.

La cantidad de muestra a depositar es uno de los parámetros a optimizar, ya que ésta debe ser suficiente para poder formar una monocapa uniforme sobre la subfase y que pueda transferirse al sustrato, pero no en exceso, ya que habría demasiadas moléculas y al comprimirse, podrían ser expulsadas de la monocapa dando lugar a multicapas desordenadas.

Tras depositar la cantidad de muestra correspondiente sobre la subfase hay que esperar entre quince y veinte minutos para que el disolvente se evapore y se forme la monocapa sobre la subfase de agua. Transcurrido ese tiempo, comienzan a moverse las barreras para que se produzca la compresión.

En la etapa de dispersión, las moléculas se expanden en la interfase aire-agua sin que se produzca ninguna interacción entre ellas; las moléculas se encuentran en un estado que se asemeja a un gas 2D, donde las distancias entre ellas son relativamente grandes y las interacciones pequeñas, por lo que cada molécula puede considerarse como aislada.

En la etapa de compresión, la imposición de la presión permite el movimiento de la barrera, el cual obliga a las moléculas a tener una cierta cohesión entre ellas gracias a la aparición de interacciones laterales de tipo Van der Waals.

A medida que las barreras se van cerrando y la monocapa de la interfase aire-agua se va comprimiendo, se registra una isoterma de compresión π -área que representa la tensión superficial en función del área ocupada por cada molécula. Cuanto mayor es la presión, menor es el área ocupada por la molécula, hasta que alcanza un incremento brusco en la pendiente, lo cual indica que se ha producido un cambio de fase en la monocapa y ha pasado de estado gas 2D a estado líquido. Si sigue aumentando la presión, pasa a estado sólido y a partir de ahí, si la presión es demasiado elevada, se alcanza la **presión de colapso**, donde las moléculas son expulsadas de la monocapa, el área por molécula disminuye y la compresibilidad tiende a infinito.

Una vez registrada la isoterma correspondiente a un tipo de molécula en un determinado disolvente, se abren las barreras, se limpia de nuevo la bañera y las barreras, tal y como se ha indicado anteriormente, y se llena de nuevo con agua desionizada limpia para volver a depositar una nueva cantidad de muestra.

El objetivo es, a partir de la isoterma obtenida y, teniendo en cuenta cuál es la presión de colapso para cada caso (dependiendo de si se trata de la disolución de AuNPs disueltas en cloroformo o en tolueno), seleccionar diferentes valores de presión a los cuales se van a llevar a cabo las distintas transferencias al sustrato.

Para llevar a cabo la transferencia del sustrato, antes de depositar la muestra hay que colocar el sustrato en el dipper (pequeña pinza, cuyo movimiento se puede controlar de forma manual con el software, que permite sujetar el sustrato) y sumergirlo en la subfase. Además, hay que configurar los parámetros necesarios de subida y bajada del sustrato, como son la velocidad y el área de sustrato que se sumerge.

Una vez determinados los parámetros del dipper y estando éste sumergido en la subfase, se procede a depositar la muestra gota a gota por toda la subfase. De la misma forma que cuando se obtuvo la isoterma, es necesario esperar unos quince o veinte minutos para que se evapore el disolvente. Transcurrido este tiempo, comienzan a cerrarse las barreras hasta que se alcance la presión fijada. La velocidad a la que se cierran las barreras es 10mm/min.

La presión que deben alcanzar las barreras para que comience a producirse la transferencia de la monocapa será cada una de las presiones seleccionadas para cada una de las disoluciones de AuNPs funcionalizadas.

Como ya se explicó en el apartado 1.3.4, la transferencia puede ser de tres tipos, *Tipo X*, *Tipo Y* y *Tipo Z*.

- **Tipo X: Hidrofóbico**

La transferencia se produce en la bajada, es decir, cuando el sustrato se sumerge en la subfase. Las moléculas anfifílicas se adhieren por la parte hidrófoba. Interacciones cabeza-cola.

- **Tipo Y: Hidrofílico**

La transferencia se produce tanto en la subida como en la bajada, por lo que hay dos tipos de interacción: cabeza-cabeza y cola-cola.

La naturaleza del sustrato también influye en la transferencia, ya que si el sustrato es hidrofílico la primera capa se deposita cuando el sustrato emerge; mientras que si el sustrato es hidrofóbico, la primera capa se deposita cuando el sustrato se sumerge.

- **Tipo Z: Hidrofílico**

La transferencia se produce sólo cuando el sustrato emerge, es decir, las moléculas se adhieren por la parte hidrofílica. Interacciones cabeza-cola.

El **índice de transferencia (TR)** es quien caracteriza el recubrimiento. Se calcula comparando la superficie ocupada por la película con respecto a la superficie del sustrato que ha sido sumergida. Lo ideal, para considerar que se ha producido una buena transferencia, es que el valor de TR no sea superior a 1 ni inferior a 0,8. Si la presión a la que se transfiere es baja, el índice de transferencia será inferior a 0,8; de la misma forma, si la monocapa es muy rígida (presiones más altas) será más difícil llevar a cabo la transferencia.

2.3.2 Microscopía BAM

Una forma de visualizar la formación de la monocapa flotante sobre la interfase aire-agua y evaluar la reproducibilidad, homogeneidad y posibles defectos morfológicos es utilizando la técnica microscópica del Ángulo de Brewster (BAM).

Para ello, se introduce un cristal de vidrio negro (*dimensiones 5,9 x 4,7 cm*) en el centro de la bañera, a la misma altura que el plato Wilhelmy. Sobre el cristal, se coloca el brazo del microscopio (*figura 22*), de manera que coincida la marca vertical del brazo del microscopio con la marca del cristal que lo divide en una parte plana y una parte inclinada (*figura 23*). La marca vertical indica el punto por el que se va a emitir la radiación láser.



Figura 22. Microscopio BAM (KSV MicroBAM)



Figura 23. Cristal de vidrio negro

2.4 Caracterización de las películas

Para caracterizar los sensores obtenidos y testar la calidad de las películas, comprobando que existe una relación lineal entre el número de capas depositadas y la absorbancia, se utiliza la espectrofotometría de UV-vis.

El equipo utilizado es el mismo que se utilizó para medir la absorbancia de las disoluciones.

2.5 Caracterización electroquímica de los sensores

El equipo utilizado para llevar a cabo las medidas electroquímicas fue el potenciostato EG&G instruments 263A disponible en el laboratorio (*figura 24*).

Se utilizó una celda convencional de tres electrodos (*figura 12*). Los sensores preparados se utilizaron como electrodo de trabajo, el electrodo de referencia fue Ag|AgCl/KCl 3M y como contraelectrodo se utilizó una lámina de platino. Los voltamogramas cíclicos se registraron a una velocidad de barrido de 0,1 V/s y en un rango de potenciales comprendido entre -0,6 V y 1,2V. Se registran 10 ciclos.



Figura 24. Potenciostato EG&G instruments 263A.

3. RESULTADOS y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de nanopartículas funcionalizadas con dodecanotiol.

Uno de los objetivos del presente trabajo es comparar la estabilidad y las propiedades como sensores de las películas de nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol preparadas en diferentes condiciones.

Se dispone de dos disoluciones diferentes, una disolución de AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol en cloroformo (*figura 25 izquierda*), cuya síntesis se llevó a cabo en el laboratorio; y una disolución es de AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol disueltas en tolueno (*figura 25 derecha*), las cuales fueron adquiridas en Alfa Aesar GmbH &Co KG.



Figura 25: A la izquierda, AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol en cloroformo (sintetizadas) y a la derecha, AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol en tolueno (comerciales)

En el caso de las nanopartículas comerciales, la concentración y el tamaño vienen determinados por la casa comercial, sin embargo, para las nanopartículas de oro sintetizadas, estos datos se desconocen y, por lo tanto, es necesario estudiar la absorción en el espectro del UV-vis y registrar las imágenes de TEM.

Las AuNPs, en términos generales, se caracterizan por presentar una resonancia del plasmón entre los 400 nm y los 600 nm según el tamaño de la AuNP, sin embargo, cuando este tamaño es inferior a los 2 nm esta banda del plasmón es inapreciable y a las AuNPs en este momento se denominan clústeres.

Una vez que ya se dispuso de dos disoluciones diferentes de nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol disueltas en diferentes disolventes, cloroformo y tolueno; se procedió a preparar las disoluciones con la concentración adecuada para la preparación de las películas.

Se diluyeron las disoluciones de nanopartículas (las comerciales y las sintetizadas) hasta una concentración de 0,2 mg/ml y se obtuvo el espectro UV-vis tanto de las nanopartículas obtenidas de la síntesis como de las diluciones.

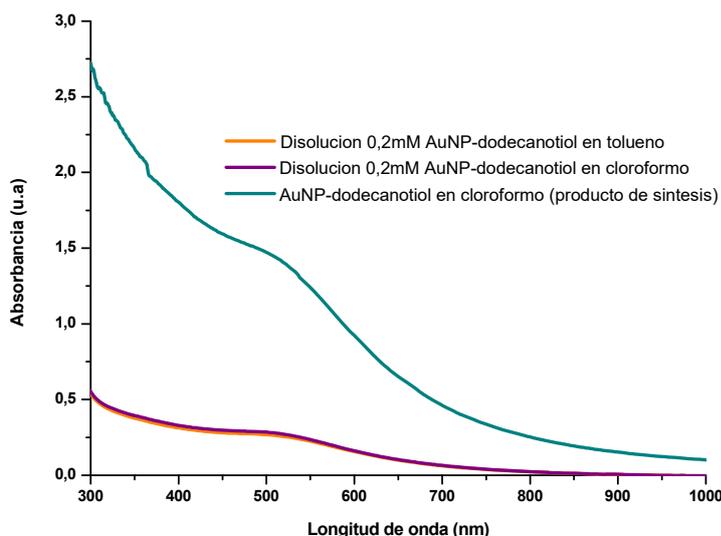


Figura 26. Comparación de los espectros UV-vis del producto de síntesis de Brust-Schiffrin: Nanopartículas de oro funcionalizadas con dodecanotiol en cloroformo y de las dos disoluciones 0,2 mM de nanopartículas de oro funcionalizadas en

En el espectro (*figura 26*) se observa la resonancia del plasmón de las nanopartículas sintetizadas a, aproximadamente, 522 nm donde la absorbancia es 1,395 u.a. Esto se corresponde con el color de la disolución, morado oscuro casi negro, lo cual se asocia a un tamaño pequeño de nanopartícula. Si la disolución fuese de color rojo o similar, la resonancia del plasmón habría aparecido a mayor longitud de onda. Se observa también que la forma de la banda de resonancia del plasmón es ancha, lo cual indica una pequeña dispersión de tamaño de las nanopartículas.

La figura también muestra los espectros de la disolución 0,2mM de las nanopartículas en tolueno y cloroformo. Se observa que en ambos la banda del plasmón aparece a una longitud de onda de, aproximadamente, 522 nm, cuya absorbancia es 0,269 u.a, lo cual indica que la dilución no ha afectado a la resonancia del plasmón porque el valor sigue siendo el mismo y, por tanto, las nanopartículas no se han agregado.

Otro aspecto a destacar es cómo influye el disolvente en la resonancia del plasmón, es decir, la polaridad del disolvente no modifica el tamaño de las nanopartículas.

Para determinar el tamaño de las nanopartículas, tanto de las sintetizadas en nuestro laboratorio como las comerciales, se obtuvieron micrografías TEM de las mismas.

Las imágenes que se tomaron fueron obtenidas con el microscopio Jeol Jem-FS2200HRP Field Transmission Electron Microscope con un voltaje de 200 KV y un aumento 1000000X. A continuación, (*figura 27*) se muestra la imagen TEM para las AuNPs en cloroformo:

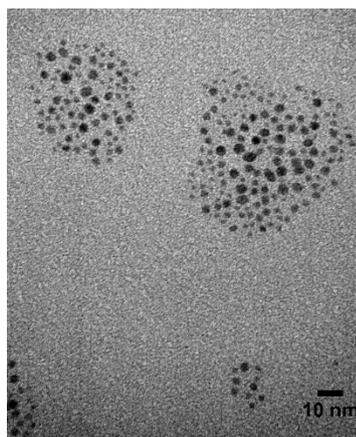


Figura 27. Imagen TEM a 200 KV y 1000000X de AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol en cloroformo.

En la imagen se puede observar que existe una pequeña dispersión de tamaños de las nanopartículas sintetizadas, tal y como se había concluido a partir del espectro UV-vis. El tamaño de las nanopartículas oscila entre 2 y 5 nm.

3.2 Caracterización y optimización de las condiciones

3.2.1 Caracterización de películas de Langmuir

Las películas preparadas mediante la técnica de Langmuir-Blodgett se caracterizan por una disposición de las moléculas bien definida. Por esta razón, el ordenamiento estructural de las películas de Langmuir-Blodgett, que es una de sus ventajas, resulta ser sumamente sensible a cambios moderados de temperatura o presión y al eventual contacto de la película con disolventes que pudieran estabilizar la forma disuelta del compuesto.

Los factores que afectan en la preparación y transferencia de las películas son numerosos, aunque cabe destacar algunos como la subfase, que se ve afectada por parámetros como el pH, la calidad del agua, la temperatura, la presencia de iones, etc. La monocapa, que debe ser lo más homogénea posible y estable; la presión superficial, el sustrato, que puede ser hidrofóbico o hidrofílico; la temperatura, el disolvente en el que se encuentran disueltas las nanopartículas, el volumen de muestra depositada en la interfase aire-agua, la presión a la que se transfiere la monocapa, la velocidad de inmersión y emersión del sustrato o el número de capas transferidas, entre otros.

En el presente trabajo, se fijaron algunos de esos parámetros como la cantidad de muestra depositada en la interfase aire-agua, el disolvente en el que se encuentran disueltas las nanopartículas, la presión a la que se transfiere la monocapa, la velocidad de inmersión y emersión del sustrato y el número de capas transferidas.

Antes de comenzar, es importante destacar algunas consideraciones acerca de la temperatura, la cual debe permanecer constante durante todo el proceso, ya que cualquier cambio puede afectar al estado de agregación de las nanopartículas en la interfase aire-agua.

Para controlar esta temperatura se utilizó un baño de agua que la mantuvo constante. La temperatura del baño de agua se fijó en 22°C.

Una vez fijada la temperatura, se prepararon películas en diferentes condiciones. Para ello, se registraron las isotermas π -A y se transfirieron diez monocapas a un sustrato ITO.

En los siguientes párrafos se recogen los resultados obtenidos en diferentes condiciones.

- **Cantidad de muestra depositada en la interfase aire-agua.**

Con el fin de evaluar la influencia de la cantidad de nanopartículas dispersadas sobre la subfase se prepararon películas a partir de la disolución 0,2 mM dispersando 250 μ l, 500 μ l y 750 μ l. Tras varias pruebas (figura 28, correspondiente a 250 μ l de muestra tanto para cloroformo como para tolueno), finalmente se llegó a la conclusión de que la cantidad óptima de muestra, no sólo para que se forme la monocapa, sino también para que se produzca la transferencia al sustrato es de **500 μ l**.

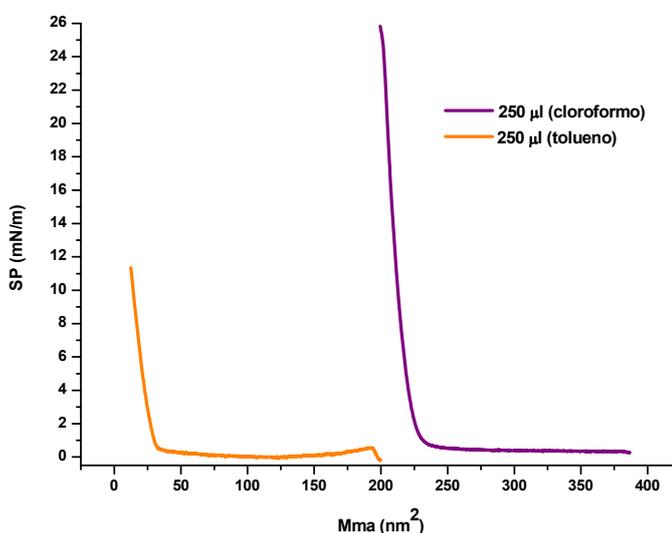


Figura 28. Isoterma obtenida para 250 μ l de muestra.

En la figura se observa que en el caso de las nanopartículas disueltas en tolueno, cuando la cantidad de muestra dispersada sobre la subfase era de 250 μ l, no llegaba a completarse la isoterma y, por tanto, no se alcanzaba la presión de colapso.

En cambio, cuando las nanopartículas están disueltas en cloroformo, para una cantidad de 250 μ l de muestra, sí se alcanza la presión de colapso, pero el área por molécula es muy grande, aproximadamente, diez veces más que cuando se deposita mayor cantidad de muestra. Esto se debe a que se comete un gran error en la dispersión al disponer de volúmenes tan pequeños.

- Disolvente en el que se encuentran disueltas las nanopartículas

Con el fin de comparar el efecto del disolvente en las películas, se utilizaron dos disoluciones diferentes:

a) AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol disueltas en *cloroformo*

b) AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol disueltas en *tolueno*

En ambos casos, se prepararon 5 ml de disolución de concentración 0,2 mg/ml.

Cabe destacar la importancia del volumen de muestra preparado, el cual no debe ser mayor de 10 ml, ya que las nanopartículas presentan cierta inestabilidad con el tiempo y el disolvente en el que se encuentran disueltas (cloroformo y tolueno en el caso de este trabajo) es muy volátil, lo cual conllevaría a una concentración de la disolución.

Las disoluciones deben mantenerse siempre a 4°C. Cuando vayan a utilizarse, unos minutos antes, se mantienen en un baño de hielo.

Una vez dispersados los 500 µl de muestra sobre la subfase, se observó que el tiempo de evaporación del disolvente era el mismo para ambos casos.

A continuación (*figura 29*), se recogen las isotermas obtenidas:

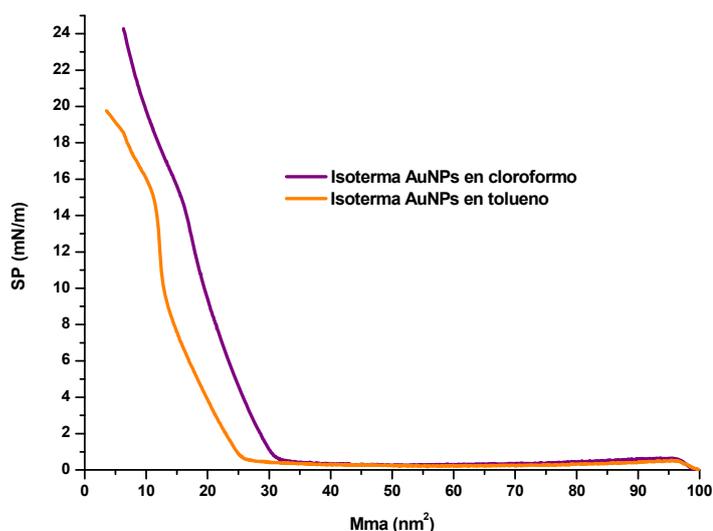


Figura 29. Isoterma AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol en cloroformo (línea morada); isoterma AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol en tolueno (línea naranja)

La isoterma de AuNPs en tolueno comienza cuando el área por molécula es 26 nm². A partir de ahí, la monocapa se encuentra en un estado de sólido bidimensional hasta que la presión superficial es de 11mN, donde la monocapa experimenta un cambio de fase que implica un cambio conformacional de la monocapa, la cual sigue siendo un sólido bidimensional. Si sigue aumentando la presión superficial, la monocapa se va comprimiendo hasta que finalmente se alcanza la presión de colapso a 20mN.

Por otro lado, la isoterma de AuNPs en cloroformo comienza cuando el área por molécula es de 32 nm². A partir de ahí, al igual que la monocapa formada cuando el disolvente es tolueno, la monocapa pasa a un estado sólido bidimensional que se mantiene hasta que la presión superficial es 13 mN. A partir de esa presión, la monocapa experimenta un cambio conformacional (cambio de fase en el sólido). La presión sobre la monocapa sigue aumentando, el área por molécula disminuye y se alcanza la presión de colapso a 24mN.

Por lo tanto, las diferencias observadas en ambas isotermas dependiendo del disolvente en el que se encuentren disueltas las nanopartículas son, la presión de colapso que es mayor para el cloroformo ($\Pi = 24$ mN) que para el tolueno ($\Pi = 20$ mN), lo que quiere decir que la monocapa es menos estable cuando el disolvente es tolueno; y el área por molécula, siendo de 26 nm² para el cloroformo y 20 nm² para el tolueno. Esto indica que en tolueno las nanopartículas están más empaquetadas y, por lo tanto, la polaridad del disolvente influye, ya que en tolueno las cadenas de dodecanotiol se encuentran más plegadas sobre sí mismas. El cambio de fase también es diferente según el disolvente en el que se encuentren disueltas las nanopartículas. Para el cloroformo, se observa a 14mN, mientras que para el tolueno se observa a 11mN. Estos cambios de fase hay que considerarlos a la hora de estudiar las diferentes presiones a las que se va a llevar a cabo la transferencia de la monocapa al sustrato.

Como ya se dijo en el apartado de desarrollo experimental, tanto la formación de la monocapa como su transferencia desde la subfase al sustrato, puede visualizarse mediante Microscopía BAM, técnica que permite ver cómo va evolucionando la formación de la monocapa sobre la subfase.

En la figura siguiente (*figura 30*) puede verse, como ejemplo, cómo se forma la monocapa de la disolución de AuNPs-dodecanotiol en cloroformo cuando se lleva a cabo la isoterma hasta alcanzar la presión de colapso.

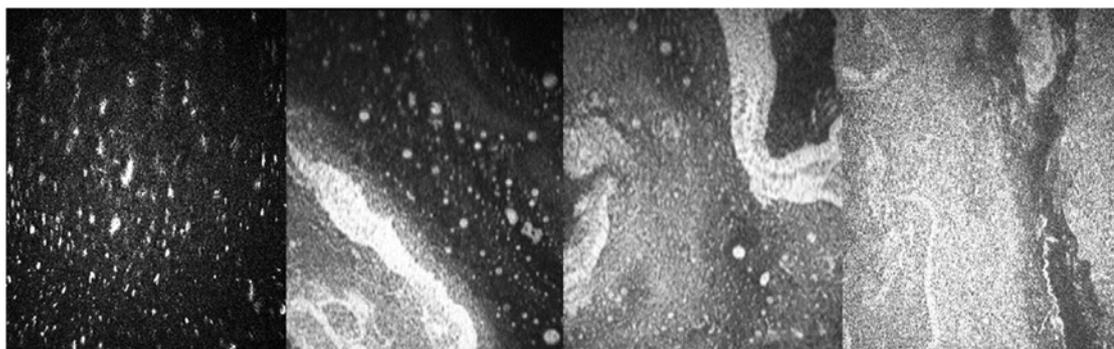


Figura 30. Imágenes del BAM de una disolución de AuNPs-dodecanotiol en cloroformo tomadas durante la obtención de la isoterma.

La primera imagen, muestra las nanopartículas dispersadas por toda la subfase. A medida que se van cerrando las barreras, se observa como las nanopartículas se van agregando unas a otras formando dominios que van creciendo cuanto más cerradas están. Finalmente, cuando las barreras están cerradas por completo, la monocapa ya se ha formado y puede observarse una película bastante homogénea, aunque puede apreciarse una cierta rugosidad debido a la presencia de pequeños agregados de nanopartículas.

3.2.2 Transferencia a sustratos sólidos. Películas de Langmuir-Blodgett. Parámetros

Una vez estudiadas las isotermas, se procedió a transferir las películas flotantes a un sustrato sólido para formar películas de LB. También en este caso se estudió el efecto de diferentes parámetros.

- **Presión de transferencia de la película de LB.**

Estudios realizados^[75] demuestran cómo la presión de superficie afecta en la formación de la monocapa de Langmuir-Blodgett.

A partir de las isotermas obtenidas se transfirieron películas a diferentes presiones para llevar a cabo la transferencia de la monocapa desde la subfase al sustrato. Se eligieron condiciones en las diferentes regiones y fases observadas en las isotermas. En la siguiente tabla (*tabla 1*) se recogen los valores de las presiones para cada una de las disoluciones:

	PRESION DE TRANSFERENCIA (mN)			
COLORFORMO	5	7	10	15
TOLUENO	4	7	10	13

Tabla1. Relación de presiones de transferencia según el disolvente.

A continuación (*figuras 31 y 32*) se muestran los resultados de los índices TR para cada una de las presiones en los distintos disolventes.

➤ **Cloroformo**

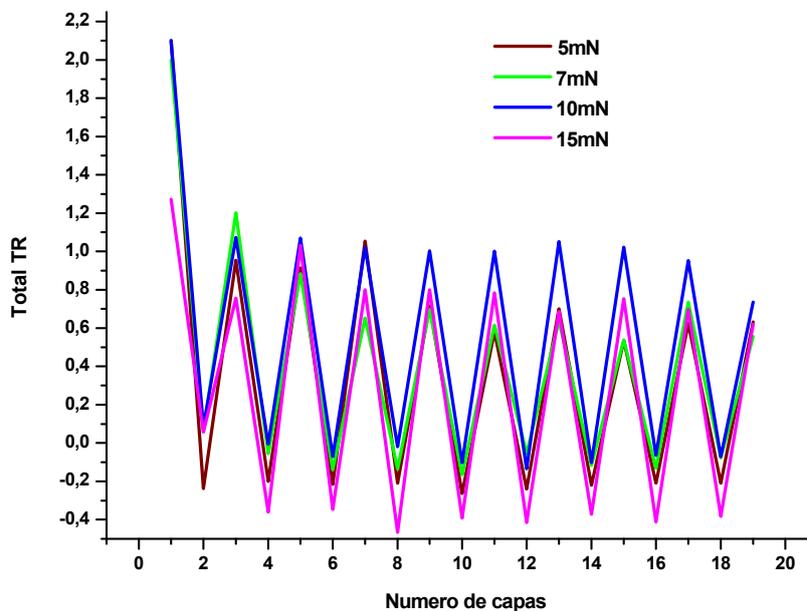


Figura 31. Índice de Transferencia (TR) para AuNPs-dodecanotiol en cloroformo.

En los valores de TR se observa que cuando la transferencia se realiza a una presión de 5mN, TR es inferior a 0,8; esto se debe a que se ha realizado la transferencia a una presión baja. Lo mismo ocurra para una presión de 7mN, donde TR tiene un valor entre 0,6-0,7; lo cual es inferior al valor óptimo, que sería entre 0,8 y 1. A 10mN el índice TR se mantiene constante durante todo el proceso y su valor es, aproximadamente, 1, por lo que es la presión más adecuada para llevar a cabo la transferencia ya que hay una monocapa bien formada. Cuando la presión es 15 mN, la película se adhiere bien en la subida, pero en la bajada se despega, por eso el valor de TR llega incluso a -0,4.

➤ Tolueno

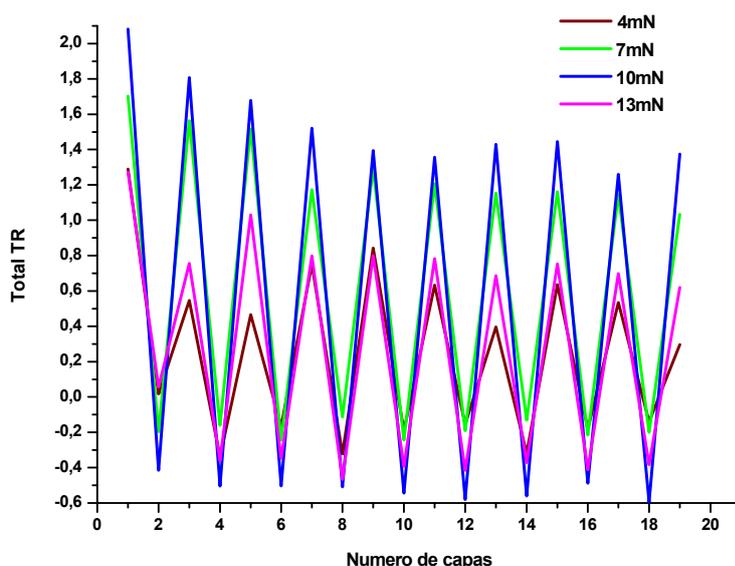


Figura 32. Índice de Transferencia (TR) para AuNPs-dodecanotiol en tolueno.

Los valores de TR indican que para una transferencia a 4mN, el valor es inferior a 0,8; lo cual es de esperar, ya que es una presión baja; mientras que, para una transferencia a 7mN, el valor de TR es, en algún caso, un poco mayor que uno, pero no se pierden moléculas en la inmersión como ocurre, por ejemplo, a presión 10mN o 13mN. Por lo tanto, la presión óptima para llevar a cabo la transferencia puede decirse que es a 7mN, que es la presión que corresponde con la mitad de la fase de sólido bidimensional que aparecía en la isoterma. Para corroborarlo, se llevaron a cabo las medidas electroquímicas.

- **Velocidad de inmersión y emersión del sustrato.**

Como ya se indicó anteriormente, existen varios tipos de transferencia, siendo la **Tipo Z** la que tiene lugar cuando se trata de AuNPs-dodecanotiol, independientemente de cual sea el disolvente.

La importancia de que sea un tipo u otro de transferencia es lo que permite evaluar cuáles deben ser las velocidades de inmersión y emersión del sustrato.

En la **Tipo Z** la deposición sobre el sustrato se produce sólo cuando el ITO emerge de la subfase, por ello, es importante que la velocidad de emersión sea lenta para que la película se vaya formando poco a poco y de forma homogénea. En este caso, la velocidad fue de 1mm/min.

Una vez que ya se ha depositado la primera capa, el sustrato debe permanecer un determinado tiempo sobre la subfase para que se adhiera bien la película. En este caso, el tiempo fue de 30 segundos.

A continuación, se produce la inmersión del sustrato en la subfase. Durante la inmersión no se produce transferencia de la monocapa, es decir, no se deposita ninguna capa, por lo que la velocidad en esta etapa puede ser mayor, así se evita que la película adherida pueda despegarse. En este caso, la velocidad fue de 150mm/min.

El tiempo que el sustrato debe permanecer dentro de la subfase debe ser muy corto, para evitar que la película adherida se despegue. El tiempo optimizado para esta etapa fue de 1 segundo.

- **Número de capas depositadas.**

La determinación del número de monocapas que debían transferirse se concluyó a partir de cómo variaba el valor de TR a medida que aumentaba el número de capas transferidas al sustrato. El número de capas que se fijó fue diez ya que, si es mayor, aparecen inconvenientes como que las barreras llegan a cerrarse antes de que se haya transferido el número de capas fijadas o que el valor de TR va disminuyendo a medida que aumenta el número de capas y, por tanto, la transferencia ya no se considera adecuada.

3.3 Caracterización electroquímica de los sensores.

Una vez preparadas las películas, se procedió a evaluar su actividad redox. Se estudió el comportamiento de las películas transferidas en distintas condiciones:

Por un lado, se estudió el comportamiento electroquímico de los sensores en disolución libre de especies con actividad redox. Para ello, se prepararon 50 ml una disolución de buffer fosfato de concentración 0,01 M y se midió el efecto electroquímico de:

- a) el sustrato, es decir, el ITO sólo.
- b) ITO + AuNPs funcionalizadas, para comparar y evaluar el efecto catalítico de las nanopartículas.

Por otro lado, se analizó la respuesta frente a catecol, un antioxidante con actividad redox de interés alimentario. Para ello, se prepararon 50 ml una disolución de catecol 10^{-3} M y, al igual que en la etapa anterior, se midió el efecto electroquímico de:

- a) el sustrato, es decir, el ITO sólo.
- b) ITO + AuNPs funcionalizadas, para comparar y evaluar el efecto catalítico de las nanopartículas.

Para llevar a cabo las medidas electroquímicas, se fijó un potencial inicial y final de 0 V para cerrar el ciclo, el intervalo de barrido de potencial fue desde -0.6 V a 1.2 V, ya que valores más extremos inducen a la descomposición del agua del medio electrolítico. Se registraron 10 ciclos, para asegurar la estabilidad del sensor, a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

Antes de comenzar a comentar los resultados obtenidos e interpretarlos, vamos a ilustrar y describir cómo son los voltamogramas obtenidos y qué información nos proporcionan.

En la siguiente figura (figura 33) se ilustra la respuesta del ITO sin modificar y del ITO modificado con NPs frente a catecol, donde puede observarse el efecto electrocatalítico del sensor.

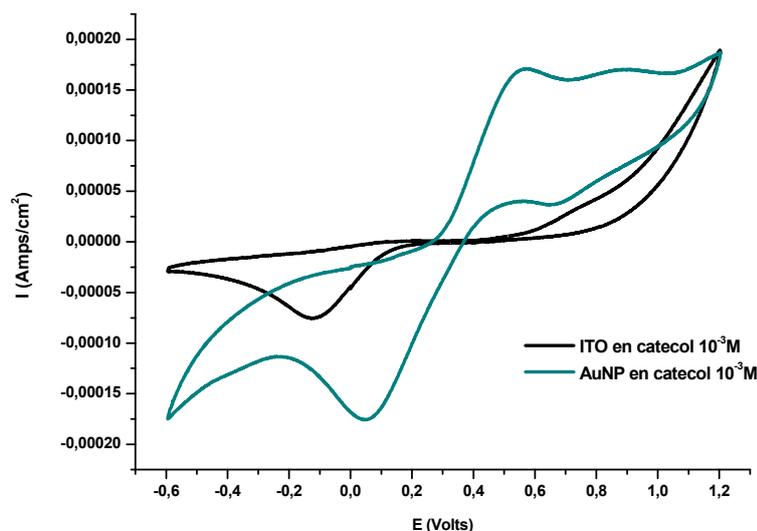


Figura 33. Voltamograma del sensor ITO (línea negra) y sensor modificado con AuNP (línea verde) medido en catecol 10⁻³M.

El voltamograma del ITO muestra cuáles son los picos de oxidación y de reducción del catecol, los cuales aparecen a 0,8V y -0,15 V respectivamente. Cuando la superficie del sensor, el ITO, es modificado con nanopartículas, se pretende no sólo aumentar la intensidad de los picos del catecol, sino también que se produzca un efecto electrocatalítico que mejore el potencial al cual aparecen las señales. A la vista del ejemplo mostrado en la figura se comprueba que, cuando el sensor es modificado, la intensidad de los picos, tanto el catódico como el anódico aumentan considerablemente y el potencial al cual se produce la oxidación y la reducción también cambia pasando de 0,8V a 0,58V para el pico de oxidación, y de -0,15V a 0,05V para el pico de reducción.

Una vez definidos estos conceptos y la información que nos proporcionan los voltamogramas, pasamos a analizar los resultados obtenidos de los sensores preparados a diferentes presiones mediante la técnica de Langmuir-Blodgett.

A continuación (figuras 34,35, 36 y 37) se muestran los resultados obtenidos de la Voltametría Cíclica.

➤ **Cloroformo.**

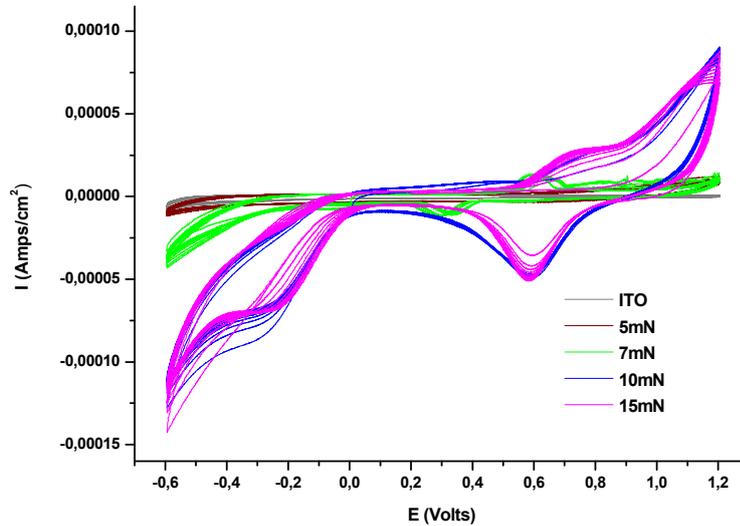


Figura 34. Voltametría cíclica ITO-AuNP-dodecanol en cloroformo medida en Buffer Fosfato 0,01M.

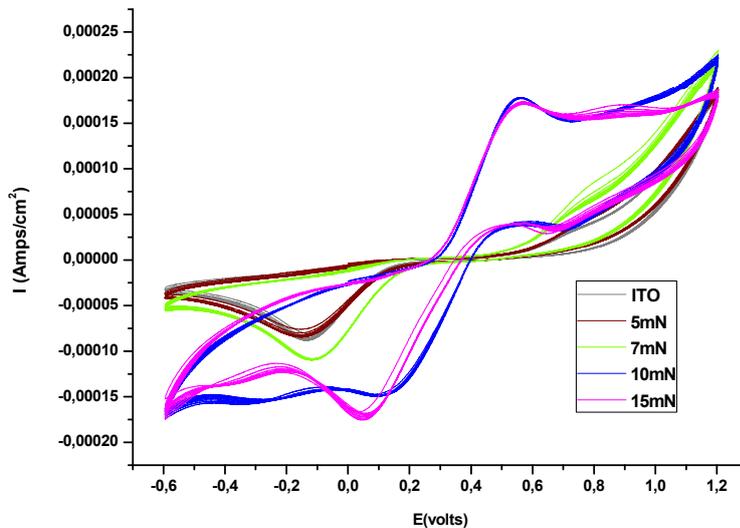


Figura 35. Voltametría cíclica ITO-AuNP-dodecanol en cloroformo medida en Catecol $10^{-3}M$.

En la figura 34 se recogen los datos electroquímicos de los sensores preparados a diferentes presiones medidos en una disolución buffer fosfato 0,01M. La señal que se observa corresponde a la señal de las nanopartículas, de manera que, cuanto mayor es la presión a la que se ha realizado la transferencia, mayor número de nanopartículas se han transferido porque el grado de empaquetamiento de la monocapa es mayor.

Por otro lado, en la figura 35, se recogen los datos electroquímicos de los sensores medidos en una disolución de un antioxidante, concretamente catecol $10^{-3}M$, para evaluar los efectos

electrocatalíticos de las nanopartículas en la señal del catecol. Se observa un importante efecto electrocatalítico que va aumentando a medida que aumenta la presión a la que se ha llevado a cabo la transferencia.

Se observa que para el sensor preparado a una presión de 5mN; en buffer la señal es prácticamente plana, es decir, no se observan picos de oxidación ni de reducción correspondientes a la nanopartícula. De la misma forma, se observa que la señal obtenida en catecol es prácticamente igual a la señal del ITO solo, lo cual indica que no se ha producido efecto electrocatalítico.

Teniendo en cuenta, además, que los valores del índice TR obtenidos en la técnica de LB eran inferiores a 0.8, lo cual indicaba una baja transferencia; se concluye que 5mN no es la presión adecuada para realizar la transferencia de la monocapa, ya que no permite obtener un sensor modificado que mejore la señal electroquímica del antioxidante.

Para el sensor preparado a una presión de 7mN; en buffer se observa un pico de oxidación a 0,6V y un pico de reducción a 0,3V correspondientes a la oxidación y reducción del Au de la nanopartícula. En la oxidación, el Au⁰ se oxida a Au^{III} y en la reducción el Au^{III} se reduce a Au^I. Por otro lado, en catecol, al igual que el sensor preparado a 5mN, la señal es prácticamente igual que la del ITO, por lo que no se observa el efecto electrocatalítico de la nanopartícula. Teniendo en cuenta que el valor de TR obtenido en la técnica de LB es 0,6-0,7, lo cual indica una baja transferencia, se puede concluir que 7mN no es una presión adecuada para preparar sensores de AuNP-dodecanotiol en cloroformo.

Para el sensor preparado a 10mN; en buffer se observa un pico de oxidación a 0,75V y dos picos de reducción a 0,6V y -0,2V. En la oxidación, el pico que aparece a 0,75V corresponde la oxidación de Au⁰ a Au^{III} mientras que, en la reducción, el pico anódico que aparece a 0,6V corresponde a la reducción del Au^{III} a Au^I, y el pico anódico que aparece a -0,2V corresponde a la reducción de Au^I a Au⁰. En la figura 35, se observa el efecto electrocatalítico del Au para el catecol. El pico catódico del catecol aparece a 0,8V y el pico anódico a -0,15V. Sin embargo, cuando el sensor es modificado con AuNP-dodecanotiol en cloroformo, se observa un desplazamiento del pico catódico a potenciales menores, 0,56V, y un desplazamiento del pico anódico a potenciales mayores, 0,18V. Esto indica que el sensor modificado ha desplazado la señal de oxidación y de reducción, aumentando además la intensidad del pico.

Para el sensor preparado a 15mN; en buffer se observan un pico de oxidación a 0,7V y dos picos de reducción a 0,6V y -0,2V. El pico de oxidación corresponde la oxidación de Au⁰ a Au^{III} y los picos de reducción corresponden a la reducción de Au^{III} a Au^I para el pico que aparece a 0,6V y la reducción de Au^I a Au⁰ para el pico que aparece a -0,2V. Por otro lado, en catecol, el efecto electrocatalítico del sensor se observa en los picos que aparecen a 0,8V para la oxidación y a -0,15V para la reducción correspondientes al catecol, los cuales pasan a 0,56V y 0,05V respectivamente. La intensidad de la señal también se ve aumentada, aunque en el caso de la reducción, se intensifica menos que para el sensor preparado a una presión de 10mN.

A la vista de los resultados, se puede concluir que de todos los sensores preparados con nanopartículas AuNP-dodecanotiol disueltas en cloroformo mediante la técnica de Langmuir-Blodgett, la presión de transferencia de la monocapa más adecuada es 10mN. Aunque los resultados

electroquímicos son muy parecidos para las presiones de 10mN y 13mN, el valor del índice TR es mayor y más constante para 10mN, lo cual indica que la transferencia ha sido más homogénea y reproducible.

➤ **Tolueno.**

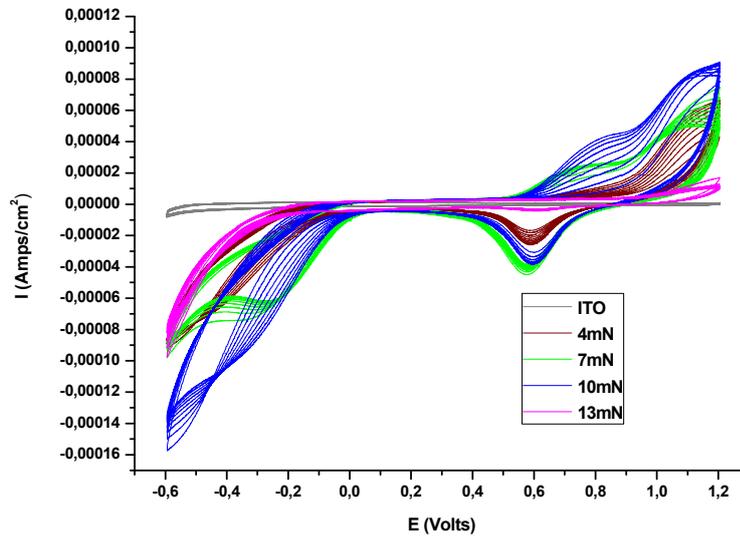


Figura 36. Voltametría cíclica ITO-AuNP-dodecanotiol en tolueno medida en Buffer Fosfato 0,01M

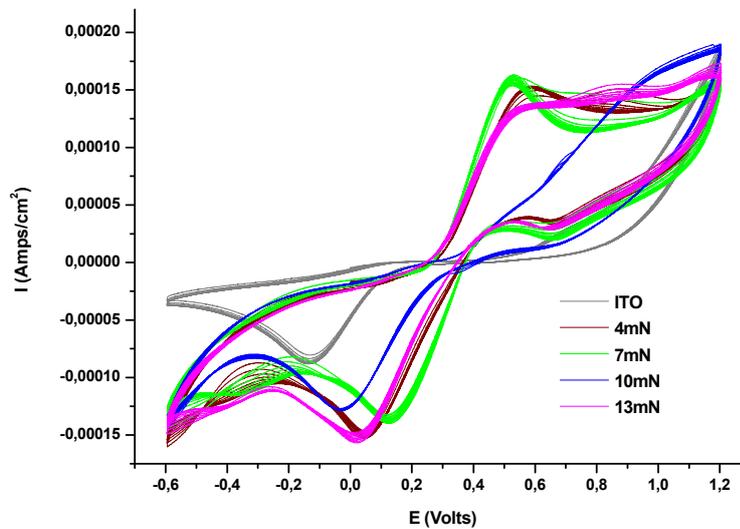


Figura 37. Voltametría cíclica ITO-AuNP-dodecanotiol en tolueno medida en Catecol $10^{-3}M$.

Ahora veamos cuáles han sido los resultados obtenidos cuando los sensores han sido preparados con nanopartículas AuNP-dodecanotiol disueltas en tolueno.

En la figura 36 se recogen los datos electroquímicos de los sensores preparados a diferentes presiones medidos en una disolución buffer fosfato 0,01M, mientras que, en la figura 37, se recogen los datos electroquímicos de los sensores medidos en una disolución de un antioxidante,

concretamente catecol 10^{-3}M , para evaluar los efectos electrocatalíticos de las nanopartículas en la señal del catecol.

Para el sensor preparado a una presión de 4mN; en buffer se observa una pequeña señal a 0,8V que corresponde a la oxidación del oro de la nanopartícula de Au^0 a Au^{III} , y un pico de reducción a 0,6V que corresponde con la reducción de Au^{III} a Au^{I} . En catecol, al contrario de lo que ocurría cuando los sensores fueron preparados con nanopartículas disueltas en cloroformo a presión baja, sí se observa efecto electrocatalítico del sensor, de manera que, los picos de oxidación y reducción del catecol que aparecen a 0,8V y -0,15V respectivamente, con el sensor modificado aparecen a 0,6V el pico de oxidación y 0,05V el pico de reducción. Se observa también un pequeño pico de reducción a 0,7V cuando el sensor se mide en catecol que correspondería a la reducción de Au^{III} a Au^{I} de la nanopartícula. Hay que tener en cuenta también el valor de TR obtenido durante la transferencia a presión 4mN, ya que el valor es inferior a 0,8 (oscila entre 0,4 y 0,8) y, por tanto, la transferencia es baja.

En el caso del sensor preparado a una presión de 7mN; en buffer, se observa que las señales de oxidación y de reducción son las más intensas de todos los sensores preparados a las diferentes presiones evaluadas y los ciclos son los más reproducibles. Aparece un pico catódico a 0,8V correspondiente a la oxidación de Au^0 a Au^{III} y un pico anódico a 0,58V correspondiente a la reducción de Au^{III} a Au^{I} . Comparando los picos de oxidación y reducción de los sensores de nanopartículas disueltas en cloroformo preparados a esta misma presión, con los picos de oxidación y reducción cuando el disolvente es tolueno, los picos aparecen desplazados a potenciales mayores para el caso del tolueno, lo cual indica la influencia del disolvente en la forma en la que la monocapa de dodecanotiol recubre a la nanopartícula de oro; siendo más uniforme o compacta cuando el disolvente es tolueno, y siendo más abierta cuando el disolvente es cloroformo, ya que al abrirse las cadenas de dodecanotiol dejan al descubierto al Au y, por tanto, en la electroquímica es más fácil que se produzca el intercambio de electrones apareciendo así los picos de oxidación y reducción a potenciales menores. Cuando se caracteriza el sensor en catecol, ocurre lo mismo que en buffer, es decir, los ciclos son los más reproducibles y las señales de oxidación y reducción son las que mejor efecto electrocatalítico muestran, ya que el pico de oxidación del catecol a 0,8V se desplaza a 0,55V y la intensidad de la señal aumenta. Lo mismo ocurre con el pico de reducción que se desplaza de -0,15V a 0,15V y su intensidad también aumenta. El valor de TR para el sensor preparado a presión de transferencia 7mN, es 1 y se mantiene constante, por lo que la transferencia se ha producido con éxito.

Cuando el sensor es preparado con una presión de transferencia de 10mN; la caracterización electroquímica en buffer muestra un pico de oxidación a 0,8V y un pico de reducción a 0,6V. En este caso, los picos son menos reproducibles por que se abren y varía por tanto la intensidad de la señal. Cuando la medida se hace en catecol, el pico de oxidación del catecol no se observa, sí lo hace, por el contrario, el pico de reducción el cual aparece desplazado de -0,15V a -0,04V y la intensidad es mayor. El valor de TR es mayor que 1, lo cual indica que en la monocapa transferida, probablemente las nanopartículas estaban muy agregadas. Por lo tanto, esta presión no es adecuada para la preparación de sensores con nanopartículas de AuNP-dodecanotiol disueltas en tolueno.

Por último, el sensor preparado a una presión de transferencia de 15mN; en buffer no da ningún tipo de señal ni de oxidación ni de reducción. A la vista de este resultado, se comprobó varias veces con diferentes sensores preparados en las mismas condiciones, y la respuesta fue reproducible en todos los casos. Sin embargo, en catecol sí se observa un efecto electrocatalítico ya que desplaza el pico de oxidación del catecol de 0,8V a 0,58V y el de reducción de -0,15V a 0,13V. Al igual que el sensor preparado a una presión de transferencia de 7mN, aparece un pequeño pico de reducción a 0,7V, que se correspondería con la reducción del Au^{III} a Au^{I} . El valor de TR es de 0,8 aproximadamente, pero hay que tener en cuenta que durante la inmersión tiene un valor de -0,4, lo cual indica que se está perdiendo parte de la película transferida. Esto se deba a que, cuando el disolvente es tolueno, a una presión de 13mN se está produciendo un cambio de fase de la monocapa y, por lo tanto, es menos homogénea, lo cual afecta a la transferencia. Se concluye, entonces, que esta presión no es adecuada para la preparación de sensores con la técnica de LB.

Por lo tanto, a la vista de todo lo comentado anteriormente, se concluye que la presión más adecuada para llevar a cabo la preparación de sensores con la técnica de LB cuando las nanopartículas están disueltas en tolueno es 7mN.

Teniendo en cuenta todos estos resultados, tanto los obtenidos para cloroformo como para tolueno, hay que comparar no sólo qué presión es la más adecuada para la transferencia, sino también que disolvente es más adecuado para la disolución de las nanopartículas y cómo afecta a la señal electroquímica.

Se ha dicho que; en el caso de las nanopartículas AuNP-dodecanotiol disueltas en cloroformo, la presión más adecuada para la transferencia de la monocapa es 10mN, mientras que para las nanopartículas AuNP-dodecanotiol en tolueno la presión más adecuada es 7mN. Comparemos entonces ambos resultados de la caracterización electroquímica para comprobar qué disolvente es el más adecuado cuando el antioxidante que se está estudiando es catecol (*figura 38*).

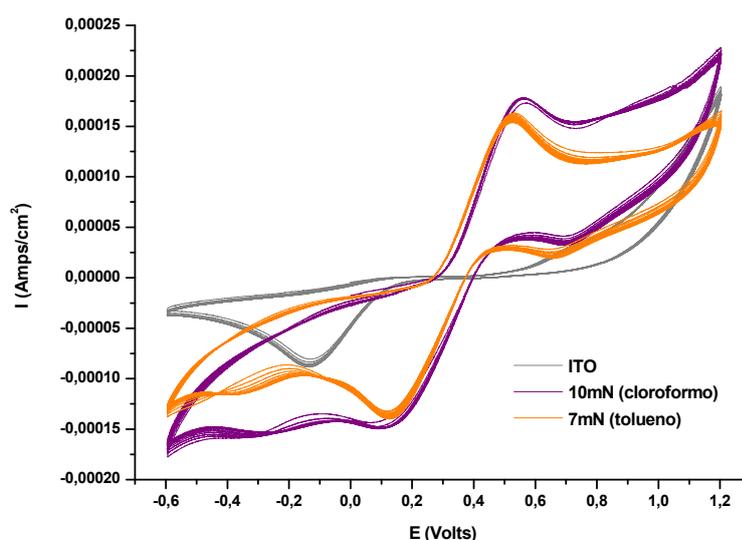


Figura 38. Comparación del efecto electrocatalítico de los sensores de AuNPs-dodecanotiol preparados a $\pi = 10\text{mN}$ (cloroformo) y $\pi = 7\text{mN}$ (tolueno) en 50 ml de una disolución de catecol 10^{-3}M .

Según la figura 38, se observa que, aunque ambos sensores desplazan los picos de oxidación y de reducción del catecol hacia potenciales prácticamente iguales, cuando el disolvente en el que se encuentran disueltas las nanopartículas es tolueno, la intensidad de los picos está más definida, por lo que se podría decir que el tolueno parece el disolvente más adecuado para la disolución de las nanopartículas y su posterior utilización en la preparación de sensores con la técnica de Langmuir-Blodgett.

3.4 Estudio de la estabilidad

Otro de los objetivos del presente trabajo es estudiar la estabilidad en el tiempo, no sólo de las nanopartículas sintetizadas, sino también de los sensores preparados.

Para estudiar la estabilidad de las nanopartículas, dos meses después se llevaron a cabo los mismos experimentos descritos en los apartados 3.2 y 3.3 con disoluciones de ambas nanopartículas preparadas nuevamente a partir de la disolución madre, es decir, de la disolución comercial, en el caso de las nanopartículas disueltas en tolueno; y de la disolución obtenida tras la síntesis, en el caso de las nanopartículas disueltas en cloroformo. Se prepararon 5ml de disolución 0,2mM y se tomaron medidas en el UV-vis para comprobar la concentración de la disolución preparada y que el tamaño de las nanopartículas no ha variado.

Una vez preparadas las disoluciones se procedió a la preparación de las películas de LB. Primeramente, se registró la isoterma (figura 39) para estudiar si se produce algún cambio en el estado de agregación de las nanopartículas que pueda afectar a la isoterma.

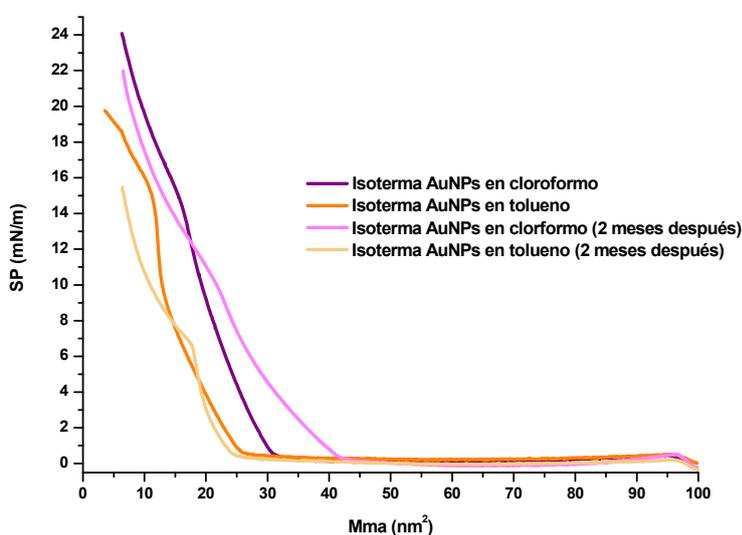


Figura 39. Isotermas AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol en cloroformo (línea morada y violeta); isotermas AuNPs funcionalizadas con dodecanotiol en tolueno (líneas naranjas)

Como puede observarse, en el caso de las nanopartículas disueltas en cloroformo, al cabo de dos meses, las moléculas se agregan y, por tanto, aumenta el área por molécula. Se observa también que el cambio de fase ya no se produce a una presión de 14mN sino a, aproximadamente, 10mN.

En el caso de las nanopartículas disueltas en tolueno, se observa que, con el paso del tiempo, el área por molécula no cambia, lo cual indica que no ha habido cambios en el estado de agregación de las nanopartículas, pero sí se observa que la presión de colapso disminuye, ya no es a 20mN sino 16mN, aproximadamente. El cambio de fase ocurre a una presión de 7mN en lugar de a 11mN, lo cual podría afectar al efecto electrocatalítico del sensor, ya que, como se dijo en el apartado 3.3, cuando las nanopartículas están disueltas en tolueno, la presión de transferencia más adecuada es 7mN.

Posteriormente, cuando se caracterizaron los sensores, se comprobó que, efectivamente, se produjeron cambios tanto en la transferencia de la monocapa como en las medidas electroquímicas.

Una vez que se obtuvieron las isotermas, se procedió a realizar la transferencia de la monocapa a distintas presiones (las mismas que se llevaron a cabo en los anteriores experimentos) y se caracterizaron los sensores electroquímicamente.

Las isotermas obtenidas y los valores de TR para cada uno de los sensores preparados se muestran a continuación (figuras 40 y 41):

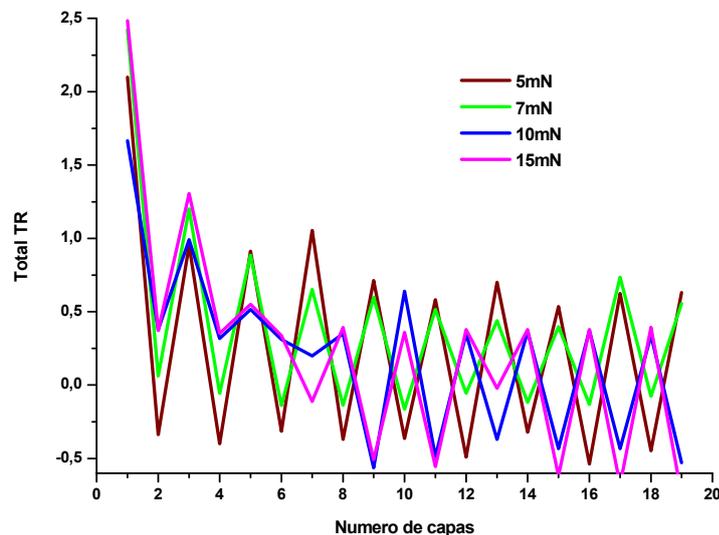


Figura 40. Índice de Transferencia (TR) para AuNPs-dodecanol en cloroformo

En cuanto a los valores de TR, no hay reproducibilidad en ninguno de los casos. Cuando la transferencia se llevó a cabo a 5mN, el valor de TR fue mayor de 0,8, lo cual no coincide con los datos obtenidos inicialmente (figura 31) donde el valor de TR era inferior a 0,8. Además, hay que tener en cuenta que, a presiones bajas el valor de TR debe ser inferior a 0,8 debido a que la monocapa se encuentra en el estado de agregación más expandido y la transferencia es peor, por lo que si ahora se obtiene un valor mayor de 0,8 es porque las nanopartículas están agregadas.

Cuando la presión de transferencia es 7mN; se observa una disminución del valor de TR a medida que aumenta el número de capas transferidas, lo cual indica que la monocapa formada no es homogénea debido a la inestabilidad con el tiempo de las nanopartículas.

A presión de 10mN; el valor de TR no sólo no es reproducible, sino que además se observa un cambio en el tipo de transferencia, es decir, ya no se produce la transferencia Tipo Z de la monocapa,

sino que pasa a ser de Tipo X y, por tanto, la transferencia se produce cuando el sustrato se sumerge en la subfase y no cuando emerge.

Y, por último, cuando la presión de transferencia es 15mN, se observa de nuevo ese cambio en el tipo de transferencia de Tipo Z a Tipo X que ocurría cuando la presión era 10mN. Los valores de TR, además, son muy bajos en comparación con los obtenidos para los primeros experimentos y con los que cabría esperar para una presión de transferencia de 15mN.

Veamos ahora que ocurre con las nanopartículas disueltas en tolueno.

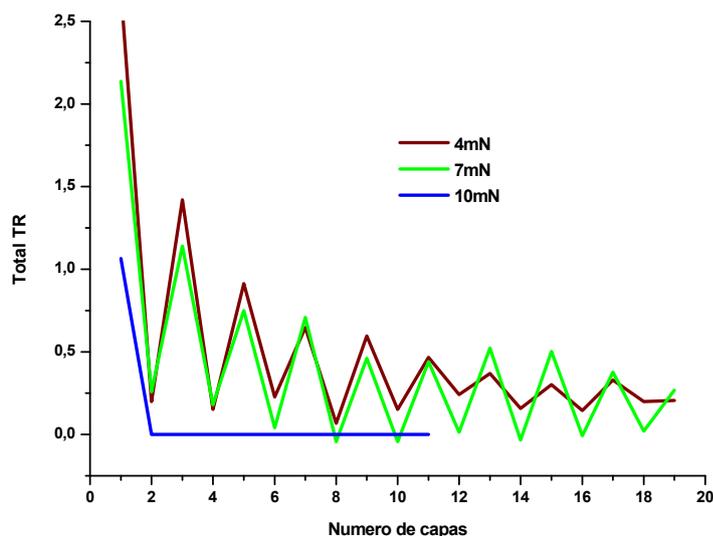


Figura 41. Índice de Transferencia (TR) para AuNPs-dodecanotiol en tolueno.

En cuanto a los valores de TR, éstos tampoco son óptimos. Cuando la presión de transferencia fue 4mN, los dos primeros valores de TR fueron mayores que 1 y después fueron disminuyendo progresivamente, es decir, la transferencia no es reproducible. Lo mismo ocurrió cuando la presión fue de 7mN, aunque en menor medida que para la transferencia a 4mN, y por último a una presión de 10mN, sólo se produjo la transferencia de la primera capa al sustrato y ya no se pudieron transferir más capas. Para una presión de 15mN, ni siquiera se pudo transferir la primera capa.

A pesar de los resultados obtenidos, tanto en las isotermas como en los índices de transferencia, se llevó a cabo la caracterización electroquímica de los sensores para comprobar el efecto electrocatalítico de los mismos frente a una disolución de catecol $10^{-3}M$.

A continuación, en las figuras 42,43,44 y 45 se muestran los resultados obtenidos:

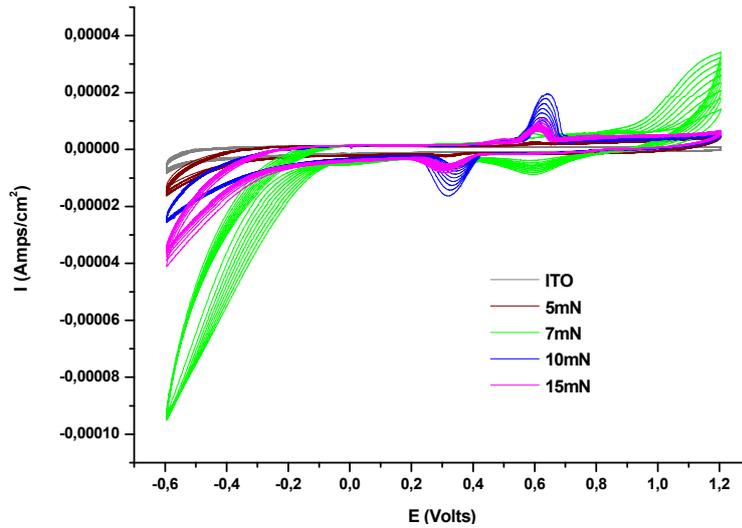


Figura 42. Voltametría cíclica ITO-AuNP-dodecanotiol en cloroformo medida en Buffer Fosfato 0,01M.

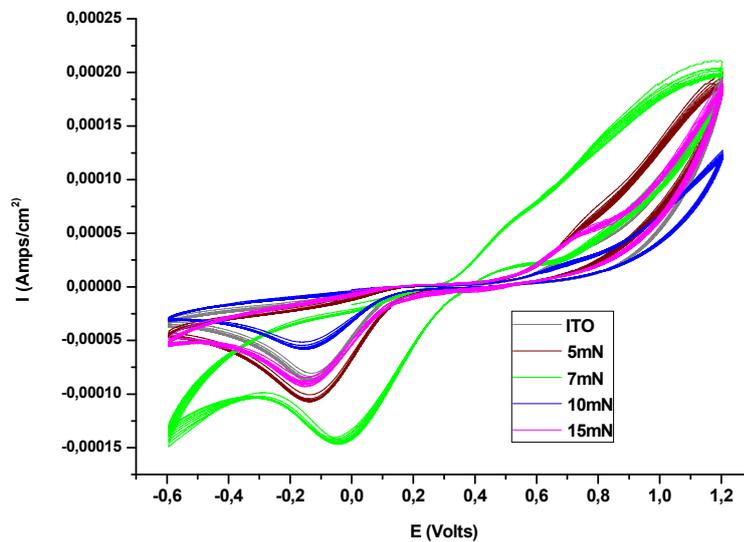


Figura 43. Voltametría cíclica ITO-AuNP-dodecanotiol en cloroformo medida en Catecol 10^{-3} M.

En la figura 42 se recogen las medidas electroquímicas realizadas en 50ml de una disolución de buffer fosfato 0,01M. Al igual que ocurría en los primeros experimentos, para los sensores preparados a una presión de 5mN, no se observan picos de oxidación ni de reducción. Sí se observan picos de oxidación y de reducción para los sensores preparados a presiones de 7mN, 10mN y 15mN, que comparados con los representados en la *figura 34*, podría decirse que la intensidad de las señales para el sensor preparado a una presión de 7mN es la misma, mientras que para los sensores preparados a 10mN y 15mN, la intensidad disminuye. Se observa además un desplazamiento del pico de oxidación de 0,8V a 0,72V y un desplazamiento del pico de reducción de 0,6V a 0,5V. Esto se debe al cambio en el estado de agregación de las nanopartículas que hace que las cadenas de dodecanotiol no formen una capa homogénea que recubra al Au, éste sea más accesible y, por lo tanto, se produzca la oxidación y la reducción a potenciales menores.

Cuando las medidas se llevaron a cabo en 50ml de una disolución de catecol $10^{-3}M$ (figura 43) los resultados también resultaron ser distintos a los obtenidos previamente (figura 35).

Para los sensores preparados a una presión de transferencia de 5mN, el resultado es el mismo que el que aparece en la figura 35, es decir, la señal del sensor modificado es idéntica a la del sensor sin modificar, con lo cual no se observa efecto electrocatalítico. Sí se observan cambios en los sensores preparados a una presión de 7mN, donde el pico de reducción del catecol ha aumentado de intensidad y se ha desplazado de -0,15V a -0,05V. El pico de oxidación sí ha aumentado de intensidad, pero no está bien definido, por lo que no se puede saber cómo ha variado el potencial.

Para el sensor preparado a una presión de 10mN, la intensidad de los picos de oxidación y de reducción es inferior a la del ITO solo, mientras que para el sensor preparado a una presión de 15 mN, los picos son idénticos, con lo cual, en ninguno de los dos casos, hay efecto electrocatalítico.

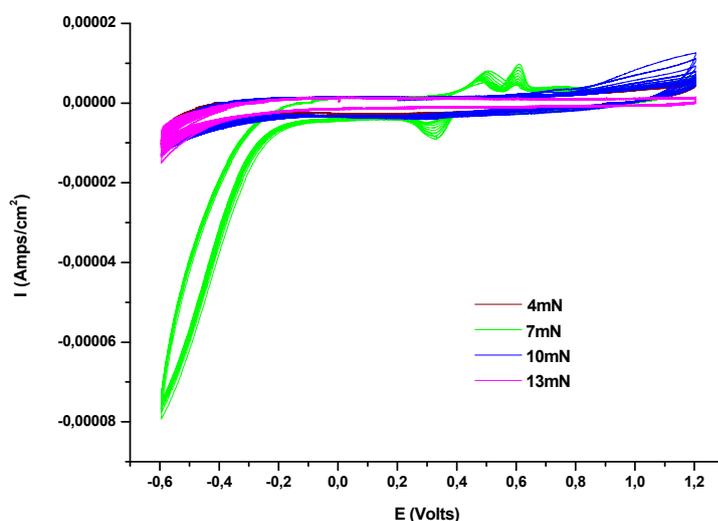


Figura 44. Voltametría cíclica ITO-AuNP-dodecanotiol en tolueno medida en Buffer Fosfato 0,01M.

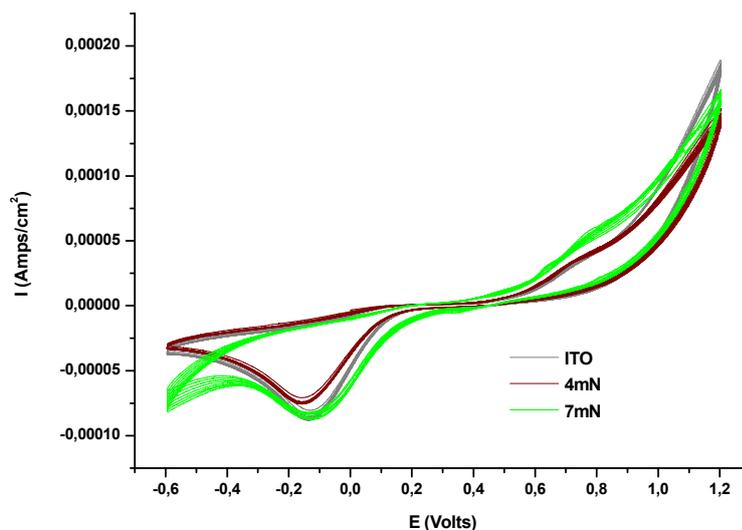


Figura 45. Voltametría cíclica ITO-AuNP-dodecanotiol en tolueno medida en Buffer Fosfato 0,01M.

En la *figura 44*, se recogen los resultados obtenidos de las medidas electroquímicas de los sensores en 50ml de una disolución buffer fosfato de concentración 0,01M. Se observa que para los sensores preparados a presiones 4mN, 10mN y 13mN no se observa ningún pico de oxidación ni de reducción, mientras que en los primeros experimentos para el único sensor que no se observaba pico fue para el preparado a 4mN. Sí se observan picos de oxidación y de reducción para los sensores preparados a 7mN, concretamente, se observan dos picos de oxidación a 0,5V y 0,62V, y un pico de reducción a 0,3V.

La *figura 45* muestra los resultados obtenidos de las medidas electroquímicas realizadas en 50 ml de una disolución de catecol 10^{-3} M. Solamente se obtuvieron resultados para los sensores preparados a presiones de 4mN y 7mN, cuyos voltamogramas son idénticos al voltamograma obtenido para el ITO solo, con lo cual no se observa efecto electrocatalítico.

Se concluye, por tanto, que tanto la disolución de nanopartículas AuNP-dodecanotiol disueltas en cloroformo como la disolución de las nanopartículas disueltas en tolueno, no son estables con el tiempo y no permiten preparar sensores mediante la técnica de Langmuir-Blodgett a ninguna presión de transferencia y esto se ha podido demostrar con las transferencias realizadas a diferentes presiones y con la caracterización electroquímica de los sensores preparados.

Veamos qué ha ocurrido con los sensores que fueron preparados hace dos meses en las condiciones descritas en el apartado 2.2.

Para estudiar la estabilidad del sensor preparado, se estudió el comportamiento electroquímico del sensor en la disolución libre de iones, es decir, en la disolución buffer fosfato 0,01M. El objetivo, en este caso, fue medir la respuesta electroquímica del sensor cuando fue preparado y la respuesta electroquímica dos meses después de otro sensor preparado en las mismas condiciones.

A continuación (*figura46*), se muestran, como ejemplo, los voltamogramas obtenidos para los sensores preparados a una presión de transferencia de 13mN.

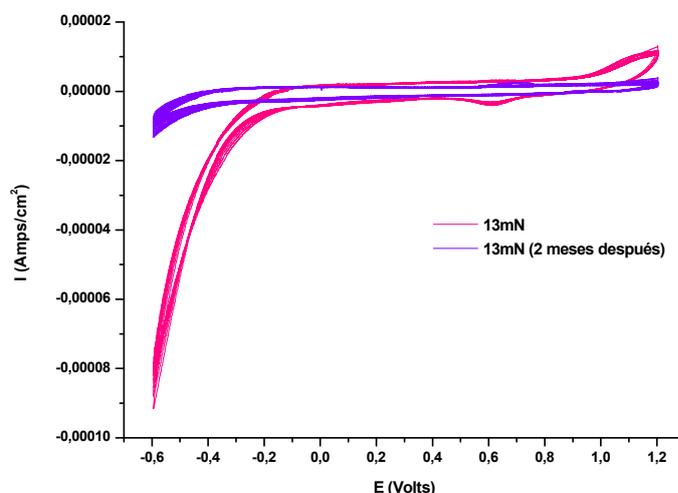


Figura 46. Voltamograma para un mismo sensor: ITO modificado con AuNP-dodecanotiol en tolueno. Comparación de la estabilidad del sensor.

A la vista de los resultados, se puede concluir que el voltamograma no presenta diferencias de la respuesta electroquímica del sensor. Esto quiere decir que los sensores preparados son estables en el tiempo, lo cual no ocurría con las nanopartículas.

Por lo tanto, si se quieren preparar sensores modificados con nanopartículas de oro funcionalizadas mediante la técnica de Langmuir-Blodgett, resulta más adecuado preparar los sensores cuando las nanopartículas son sintetizadas inmediatamente.

4.CONCLUSIONES

In this report, the particular conclusions relevant to the work described, have been included. Nevertheless, in this section, a summary of the general conclusions are presented.

- It has been carried out the synthesis of gold nanoparticles functionalized with dodecanethiol in chloroform provided through Brust-Schiffrin method.
- Monolayers of gold nanoparticles functionalized with dodecanethiol, with a high degree of organization, have been fabricated on the interface air-water in the Langmuir-Blodgett's trough.
- The monolayers have been transferred to the substrate (ITO) in different conditions to be characterized electrochemically. It has been demonstrated that the conditions of preparation of LB films affect the electrochemical response of the sensor, in such a way that:
 - The value of the pressure which is the transfer of the monolayer, which must be an intermediate pressure of the two-dimensional solid phase is important.
 - The solvent does not affect the preparation of LB films but does have an effect on the hydrocarbon chains covering the nanoparticle.
- As expected and as it was observing in previous studies carried out in the group, the nanoparticles are not stable over time. However, when the nanoparticles are deposited on the sensor, they are stable.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. *Introducción a la Nanociencia y la Nanotecnología*. Gabor L. Hornyak, H.F. Tibbals, Joydeep Dutta, John J. Moore.
2. Taniguchi, N. On the basic concepts of Nanotechnology Proceedings of ICPE, Tokyo, 1974.
3. *Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology is a 1986 molecular nanotechnology*. K. Eric Drexler with a foreword by Marvin Minsky.
4. *The Chemistry of Nanomaterials (vols 1 and 2) 2004*. C.N.R. Rao, A. Müller and A.K. Cheetham. Weinheim: Wiley-VCH.
5. D.V. Goia, E. Matijevic *New. J. Chem.* 1998, 1203.
6. M.A. El-Sayed *Acc. Chem. Res.* 2001, 34, 257.
7. Z.S. Pillai and P.V. Kamat *J. Phys. Chem.* 2004, 108, 945-951.
8. K. Lance Kelly, E. Coronado, L. Lin Zhao and G.C. Schatz. *J. Phys. Chem. B* 2003, 107, 668-677.
9. Y. Sun, Y. Xia. *Analyst* 2003, 128, 686-691.
10. W.A. Murray and W.L. Barnes *Adv. Mater.* 2007, 19, 3771-3782.
11. P. Mulvaney *Langmuir* 1996, 12, 788-800.
12. M.C. Daniel and D. Astruc *Chemical Reviews*, 2004, 104, 293-346.
13. Michael Faraday *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 1857 147, 145-181, published 1 January 1857.
14. Y. Xia and N. Halas *MRS Bull*, 2005, 30, 338-344.
15. J. Turkevich, J. Hiller and P.C. Stevenson *Discuss. Faraday Soc.*, 1951, 11, 55-75
16. M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, R. Whyman *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1994, 801.
17. S.J. Tans, A.R.M. Verschueren and C. Dekker *Nature* 1998, 393, 49.
18. Xiaohui Ji and al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129, 13945.
19. M. V. Roldán, A.L. Frattini and O.A. de Sanctis, N.S. Pellegrini.
20. W.P. Wuelfing, S.M. Gross, D.T. Miles and R.W. Murray *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 12696-12697.
21. C.M.J. Starks *Am. Chem. Soc.* 1971, 93, 195-199.
22. A.C. Templeton, W.P. Wuelfing, R.W. Murray *Acc. Chem. Res.* 2000, 33, 27-36.
23. P.J.G. Goulet, R.B.J. Lennox *Am. Chem. Soc.* 2010, 132, 9582-9584.
24. Y. Li, O. Zaluzhna, B. Xu, Y. Gao, J.M. Modest, Y.J. Tong *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 2092-2095.
25. Y. Li, O. Zaluzhna, Y.J. Tong *Langmuir* 2011, 27, 7366-7370.
26. T.G. Schaa, M.N. Shagullin, J.T. Khoury, I. Vezmar, R.L. Whetten, W.G. Cullen, P.N. First, C. Gutierrez-Wing, J. Ascensio, M.J. Jose-Yacamán *J. Phys. Chem. B* 1997, 101, 7885-7891.
27. M. Alvarez, J. Khoury, T. Schaa, M. Shagullin, I. Vezmar, R. Whetten *Chem. Phys. Lett.* 1997, 266, 91-98.
28. L. Rayleigh *Proc. Roy. Soc. London* 1890, 47, 281.
29. L. Rayleigh *Proc. Roy. Soc. London* 1890, 47, 364.
30. L. Rayleigh *Proc. Roy. Soc. London* 1890, 13, 85.
31. L. Rayleigh *Proc. Roy. Soc. London* 1890, 48, 127.
32. L. Rayleigh *Philos Mag* 1890, 30, 386.
33. A. Pockels *Nature* 1891, 43, 437.
34. A. Pockels *Nature* 1892, 246, 418.
35. A. Pockels *Nature* 1893, 48, 152.
36. H. Devaux *Smithsonian Ins., Ann Rept.* 1913, 261.
37. W. B. Hardy *Proc. Roy. Soc. London A* 1912, 86, 261.
38. I. Langmuir *J. Am. Chem. Soc.* 1917, 39, 1848.
39. K.A. Blodgett *J. Am. Chem. Soc.* 1935 57, 1007.
40. H. Khun *J. Chem. Phys.* 1970, 53, 101.

41. *An Introduction to Ultrathin Organic Films: From Langmuir-Blodgett to Self-Assembly*. A. Ulman. Academic Press, Inc., San Diego, 1991.
42. *Techniques of Chemistry, Molecular Design of Electrode Surfaces*. R. W. Murray; Wiley & Sons, 1992.
43. *B. Tiede Adv. Mater.* 1991, 3, 532.
44. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. A.J. Bard, L.R. Faulkner. Wiley & Sons, New York, 2001.
45. L.M. Goldenberg *Electroanal. Chem.* 1994, 379, 3.
46. M.C. Petty, G.G. Roberts *Electron Lett.* 1979, 15, 335.
47. G. Roberts *Langmuir-Blodgett Films*, Plenum Press, New York, 1990
48. G.G. Roberts *Adv. Phys.* 1985, 34, 475-512.
49. N. Kotow, F. Meldrum, C. Wu and J. Fendler *J. Phys. Chem.* 1994, 98, 2735-2738.
50. N. Kotow, F. Meldrum, C. Wu and J. Fendler *J. Phys. Chem.* 1994, 98, 8827-8830.
51. T. Cassagneau, J. Fendler and T.E. Mallouk *Langmuir*, 2000, 16, 241-246.
52. F. Meldrum, N. Kotow and J. Fendler *J. Phys. Chem.* 1994, 98, 4506-4510.
53. Meldrum, F., Kotow, N. and Fendler, J., *Langmuir*, 10, 2035-2040 (1994)
54. Y. Gorbunova, M. L. Rodríguez-Méndez, I. P. Kalashnikova, L. G. Tomilova and J. A. de Saja *Langmuir*, 2001, 17 (16), 5004-5010.
55. G. Roberts *Langmuir-Blodgett Films*, Plenum Press, New York, 1990.
56. G.G. Roberts *Adv. Phys.* 1985, 34, 475-512.
57. L. Valli *Adv. Coll. Interf. Sci.* 2005, 116, pp. 13-44.
58. I. Sanders, A. Tayo, Saucedo, N. Mariah, Dahl, A. Jennifer *Materials Letters* 2014, 120, 159-162
59. N. Bruchiel-Spanier and D. Mandler *Chem. ElectroChem.* 2015, 2, 795-802
60. C. Medina-Plaza, L.N. Furini, C.J.L. Constantino, J.A. De Saja, M.L. Rodríguez-Mendez *Anal. Chim. Acta* 2014, 851, 95-102.
61. J.F. Lemineur, N. Saci *Ritcey*, 2016, 498, 88-97.
62. C. Medina-Plaza, C. García Cabezón, C. García-Hernández, C. Bramorski, Y. Blanco-Val, F. Martín-Pedrosa, T. Kawai, J.A. De Saja, M.L. Rodríguez-Méndez, *Analytica Chimica Acta*, 2015, 853, 572-578.
63. C. Garcia-Hernandez, C. Medina-Plaza, C. Garcia-Cabezón, F. Martin-Pedrosa, I. Del Valle, J.A. De Saja and M.L. Rodríguez-Méndez *Sensors* 2015, 15, 29233-29249
64. M.L. Rodríguez-Mendez., C. Medina, J.A. de Saja, C. Apetrei, R. Muñoz. *Sensor arrays based on Phtalocyanines: New developments on nanostructured and biomimetic electrochemical sensors*. L. Lvova, D. Kirsanov, C. Di Natale, and Legin (Eds.) Singapore: Pan Stanford Publishing 2012.
65. V. Parra, A. Arrieta, J.A. Fernández Escudero, H. García, C. Apetrei, M.L. Rodríguez-Mendez, J.A. De Saja *Sensors and actuators-B*, 2016, 115 (1), 54-61.
66. M.L. Rodríguez-Méndez, V. Parra, C. Apetrei, M. Gay, N. Prieto, J.A. De Saja *Microchimica Acta*, 2008, 163 (1-2), 23-31.
67. C. Medina-Plaza, G. Revilla, G. Muñoz, J.A. Fernández-Escudero, E. Barajas, G. Medrano, J.A. De Saja, M.L. Rodríguez-Méndez *Journal of Porphyrins and Phtalocyanines*, 2014, 18 (1-2), 76-78.
68. C. Medina-Plaza, L.N. Furini, C.J.L. Constantino, J.A. De Saja, M. L. Rodríguez-Méndez *Analytica Chimica Acta*, 2014, 851, 95-102.
69. M. Gay Martín, J.A. De Saja, R. Muñoz, M.L. Rodríguez-Méndez *Electrochimica Acta* 2012, 68, 88-94.
70. Xiliang Luo, Aoife Morrin, Anthony J. Killard, Malcolm R. Smyth *Electroanalysis* 18, 2006, 4, 319-326.
71. S.G. Penn, L. He, M.J. Natan, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2003, 7, 609.
72. E. Katz, I. Willner, J. Wang, *Electroanalysis* 2004, 16, 19.
73. V. Parra, T. Hernando, M.L. Rodríguez-Méndez, J.A. De Saja *Electrochimica Acta* 2004, 49 (28), 5177-5185.
74. L. Luximon-Ramna, T. Bahorun, A. Crozier, *J. Sci. Food Agric*, 2003, 83, 496-502.
75. S. Huang, K.i Minami, H. Sakaue, S. Shingubara, and T. Takahagi *Langmuir* 2004, 20, 2274-2276.