

Índice.

ÍNDICE.	1
PARTE I: INTRODUCCIÓN	5
1- Introducción.	5
1.1 Fundamentos y Objetivos.	7
1.2 Sistemas Bajo Estudio.	11
1.2.I. Lípidos.	11
1.2.II. Material del Electrodo.	12
1.2.III. Cuplas Redox.	13
1.2.IV. Composición Iónica de las Soluciones.	13
PARTE II: PARTE EXPERIMENTAL	15
2- Materiales y Métodos.	15
2.1 Técnicas Empleadas:	17
2.1.1 Fundamentos Teóricos.	17
2.1.1.I. Monocapas de Lípidos en la Interfase Agua-Aire.	17
2.1.1.II. Transferencia de la Monocapa al Soporte Sólido.	20
Método de Schaefer.	21
2.1.1.III. Técnicas Electroquímicas. Generalidades.	22
2.1.1.III-a. Pulsos de Potencial.	25
2.1.1.III-b. Voltametría Cíclica.	25
2.1.1.III-c. Espectroscopia de Impedancia Electroquímica.	26
2.1.1.IV. Técnicas Ópticas y Microscópicas.	26
2.1.1.IV-a. Elipsometría.	26
2.1.1.IV-b. Microscopia de Epifluorescencia.	28
2.1.1.IV-c. Microscopia de Fuerza Atómica.	28
2.1.1.IV-d. Espectroscopia Infrarroja.	29
2.1.2 Interpretación de los Resultados. Modelos Empleados.	31
2.1.2.I. Isotermas en la Interfase Agua-Aire.	31
2.1.2.I-a. Presión Lateral-Área Molecular.	31
2.1.2.I-b. Potencial Superficial-Área Molecular.	33
2.1.2.II. Técnicas Electroquímicas.	35
2.1.2.II-a. Cronoamperometría.	35
2.1.2.II-b. Voltametría Cíclica.	35
Difusión Lineal.	36
Difusión No Lineal.	40
2.1.2.II-c. Espectroscopia de Impedancia Electroquímica.	49
Circuito RC.	49
Circuito de Randles.	50
2.1.2.II-d. Elipsometría.	51

2.2 Equipos y Reactivos.	53
2.2.I. Monocapas de lípidos.	53
2.2.II. Medidas Electroquímicas.	53
2.2.III. Medidas Ópticas.	54
PARTE III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
3- Características de las Reacciones de Óxido-Reducción Empleadas.	59
3.I. Perfil Corriente-Potencial de Carbono Vítreo.	61
3.II. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.	61
3.III. $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$.	66
3.IV. $\text{FeEDTA}^{1-}/\text{FeEDTA}^{2-}$.	66
3.IV. $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$.	68
4- Comportamiento de los Lípidos en la Interfase Solución Acuosa-Aire.	69
4.I. Dimiristoilfosfatidilcolina (dmpe).	71
4.II. Esfingomiolina (sphm).	73
4.III. Sulfátido (sul).	75
4.IV. Galactocerebrósido (galcer).	76
4.V. Presiones de transferencia.	78
5- Resultados Electroquímicos de Electrodos Modificados y Correlación con el Comportamiento de Interfase del Lípido:	79
5.1 Efecto de una Capa de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.	81
5.1.I. Perfiles Corriente-Potencial de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre Electrodos Modificados por una capa de Lípido.	81
5.1.II. Correlación entre los Voltagramas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en Ausencia de Ca^{2+} y las Isotermas sobre una solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6+\text{NaNO}_3$.	85
5.1.III. Correlación entre los Voltagramas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en Presencia de Ca^{2+} y las Isotermas sobre una solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + \text{NaNO}_3 + \text{Ca}^{2+}$.	86
5.1.IV. Modelado del Proceso de transferencia de carga para Electrodos Cubiertos por una Capa de dmpe.	87
Arreglo de películas de lípido tipo A.	91
Arreglo de películas de lípido tipo B.	91
5.2 Efecto de una y cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$.	95
5.2.I. Perfiles Corriente-Potencial de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ sobre Electrodos Modificados por 1 y 4 Capas de Lípido:	95
Dmpe.	97
Galcer.	97
Sphm.	98
Sul.	99
5.2.II. Correlación entre los Voltagramas de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ en Ausencia de Ca^{2+} y las Isotermas sobre una solución de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3 + \text{NaNO}_3$.	99

5.2.III. Correlación entre los Voltagramas de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+} / \text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ en Presencia de Ca^{2+} y las Isotermas sobre una solución de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3 + \text{NaNO}_3 + \text{Ca}^{2+}$:	100
Dmpc.	101
Sphm.	101
Galcer.	101
Sul.	102
5.3 Efecto de cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.	103
5.3.I. Perfiles Corriente-Potencial de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre Electrodos Modificados por 4 Capas de cada Lípido.	103
5.3.II. Efecto del Ion Ca^{2+} en la Respuesta Electroquímica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ / $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre Electrodos Cubiertos por 4 Capas de cada Lípido.	105
5.4 Comportamiento de Sulfátido en Ausencia de Moléculas con Actividad Redox en Solución.	109
5.5 Efecto de cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{FeEDTA}^{1-} / \text{FeEDTA}^{2-}$ y $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+} / \text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$.	115
6- Resultados Obtenidos por Microscopia de Epifluorescencia.	119
7- Resultados Obtenidos por Microscopia de Fuerza Atómica.	125
8- Resultados Obtenidos por Elipsometría:	131
8.1 Interfase Electrodo-Aire.	133
8.2 Interfase Electrodo-Solución Acuosa. Efecto de la Aplicación de un Campo Eléctrico.	141
9- Resultados Obtenidos por Espectroscopia Infrarroja:	147
9.1 Capas de Galcer.	149
9.2 Capas de Sul y Otros lípidos.	157
9.2.I. Espectros IR de Sul.	157
9.2.I. Espectros IR de Otros lípidos.	160
 PARTE IV: CONCLUSIONES	 161
10- Conclusiones Generales.	163
 REFERENCIAS	 167

Referencias Bibliográficas.

- [1] Maggio B., Prog. Biophys. Molec. Biol. 62 (1994) 55.
- [2] Birdi K.S. en: "Lipid and Biopolimer Monolayers at Liquid Interfaces", Plenum Press, New York, 1989.
- [3] Zheng.Y., Dias F.B., Wriht.P.V., Ungar G., Bhatt D., Batty S.V., Richardson T., Electrochim. Acta 43 (1998) 1633.
- [4] Tien H.T., Ottova A.L., Electrochim. Acta 43 (1998) 3587.
- [5] Fujihira M., Araki T., Bull. Chem. Soc. Jpn. 59 (1986) 2375.
- [6] Sugawara M., Kojima K., Sazawara H., Umezawa Y., Anal. Chem. 59 (1987) 2842.
- [7] Nagase S., Kataoka M., Naganawa R., Komatsu R., Odashima K., Umezawa Y., Anal. Chem. 62 (1990) 1252.
- [8] Odashima K., Minoru K., Sugawara M., Umezawa Y., Anal. Chem. 65 (1993) 927.
- [9] Bain C. D., Troughton E. B., Tao Y.T., Evall J., Whitesides G.M., Nuzzo R., J. Am. Chem. Soc, 111 (1989) 321.
- [10] Finklea, H.O. en: "Electroanalytical Chemistry" Bard, A.J.; Rubinstein, I; Eds., Marcel Dekker, Inc.: New York, Vol. 19, 1996.
- [11] Pierrot O., Lechat N., Bourdillon C., Laval J.M., Langmuir 13 (1997) 4112.
- [12] Fujihira M., Araki T., Bull. Chem. Soc. Jpn. 59 (1986) 2375.
- [13] Otan M., Kuwabata S., Yoneyama H., Anal. Chem. 69 (1997) 1045.
- [14] Goldenberg L.M., J. Electroanal. Chem. 379 (1994) 3.
- [15] Fujihira M., Araki T., J. Electroanal. Chem. 205 (1986) 329.
- [16] Sharp M., Petersson M., Edstrom K., J. Electroanal. Chem. 95 (1979) 123.
- [17] Guo L. H., Facci J. S., McLendon G., J. Phys. Chem. 99 (1995) 4106.
- [18] Tomi T., Li T., Weaver M.J., J. Am. Chem. Soc. 106 (1984) 6107.
- [19] Miller C., Cuedet P., Gratzel M., J. Phys. Chem. 95 (1991) 877.
- [20] Miller C., Gratzel M., J. Phys. Chem. 95 (1991) 5225.
- [21] Finklea H., Zinder D. A., Fedyk J., Langmuir 6 (1990) 371.
- [22] Sabatani E.; Rubinstein, J. Phys. Chem.91 (1987) 6663.
- [23] Srinivasan R., De Levie R.; Miller C., Gratzel M., J. Phys. Chem. 95 (1991) 5225.
- [24] Lipkowsky J., Buess-Herman C.I., Lambert J.P., Gierst L., J. Electroanal. Chem. 202 (1986) 169.
- [25] Lipkowsky J. en: "Modern Aspects of Electrochemistry", B. E. Conway et al. (Eds.), Plenum Press, New York, Vol. 23, 1992.
- [26] Guidelli R., Foresti M.L., J. Electroanal. Chem 113 (1980) 171.
- [27] Gabrielli C., Takenouti H., J. Electroanal. Chem. 302 (1991) 59.
- [28] Sabatani E., Rubinstein I., J. Electroanal. Chem. 219 (1987) 365.
- [29] Popov B.N., Alwohaibi M. A., White R.E., J. Electrochem. Soc.140 (1993) 947.
- [30] Heiduschka P., Dittrich J., Electrochim. Acta 37 (1992) 2573.
- [31] Guidelli R., Foresti M.L., J. Electroanal. Chem. 77 (1977) 73.
- [32] Sharp M., Aberg S., J. Electroanal. Chem. 449 (1998) 137.
- [33] Tjarnhage T., Sharp M., Electrochim. Acta 39 (1994) 623.
- [34] Lee H., Kepley L.J., Hong H.G., Akhel S., Mallouk T., J. Phys. Chem. 92 (1988) 2597.
- [35] Yang B., Smart N.G., Bockris J.O.M., Electrochim. Acta 37 (1991) 317.

- [36] Cuypers P.A., Corsel J.W., Janssen M.P., Kop J.M.M., Hermens W.T., Hemker H.C., *J. Biol. Chem.* 258 (1982) 2426.
- [37] Joo S. W., Han S. W., Kim K., *J. Phys. Chem. B* 103 (1999) 10831.
- [38] Auer F., Scotti M., Ulman A., Jordan R., Sellergren B., Garno J., Liu G.y., *Langmuir* 16 (2000) 7554.
- [39] Shin D.M., Park M.K., Lim S.T., *Thin Solid Films* 327-329 (1998) 607.
- [40] Noda H., Ataka K., Wan L.J., Osawa M., *Surf. Sci.* 427-428 (1999) 190.
- [41] Bain C. D., Greene P. R., *Coll. Int. Sci.* 6 (2001) 313.
- [42] Seo B.I., Lee H., Cheng J.J., Cha S.H., Lee K.H., Seo W. J., Chao Y., Park H.B., Kim W.S., *Thin Solid Films* 327-329 (1998) 722.
- [43] Ohler B., Revenko I., Husted C., *J. Structural Biology* 133 (2001) 1.
- [44] Chunbo Y., Ying W., Xiaomin Y., Zuhong L., Juzheng L., *App. Surf. Sci.* 103 (1996) 531.
- [45] M. F. Suárez, R.G. Compton, *J. Electroanal. Chem* 462 (1999) 211
- [46] Rossier J. S., Bercier P., Schwarz A., Loridant S., Girault H.H., *Langmuir* 15 (1999) 5173.
- [47] Gao W., Dickinson L., Grozinger C., Morin F. G., Reven L., *Langmuir* 13 (1997) 115.
- [48] Leoporatti S., Akari S., Bringezu F., Brezesinski G., Mohwald H., *Appl. Phys. A* 66 (1998) S1249.
- [49] Joo S. W., Han S. W., Kim K., *J. Phys. Chem. B* 103 (1999) 10831.
- [50] Maggio B., Cumar F.A., Caputto R., *Biochim. J.* 189 (1980) 435.
- [51] Randin J.P., Yeager E., *J. Electroanal. Chem.* 58 (1975) 313.
- [52] Rivas G., Tesis doctoral, Universidad Nacional de Córdoba (1991).
- [53] Maggio B., Fidelio G.D., Cumar F.A., Caputto R., *Chem. Phys. Lipids*, 42 (1986) 49.
- [54] Maggio B., Ariga T., Sturtevant J.M., Yu R.K., *Biochim. Biophys. Acta*, 818 (1985) 1.
- [55] Tocanne J.F., Tessié J., *Biochim. Biophys. Acta* 1031 (1990) 111.
- [56] Maggio B., Sturtevant J.M., Yu R.K., *Biochim. Biophys. Acta*, 901 (1987) 173.
- [57] Gaines G. L. en: "Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces", John Willey & Sons, Inc., New York, 1966.
- [58] Ulman A. en: "An Introduction to Ultrathin Organic Films, From Langmuir-Blodgett to Self-Assembly", Academic Press, Inc., New York, 1991.
- [59] Kato T., *Jpn. J. Appl. Phys. Part 2*, 27 (1988) L1358.
- [60] Kato T., Arai M., Ohshi K., *Nippon Kagaku Kaishi* (1988) 1774.
- [61] Gileadi E., Capítulo 7 de: "Electrode Kinetics for Chemists, Chemical Engineers, and Material Scientists", John Wiley and Sons, VCH Publishers Inc. 1993.
- [62] Weissberger A., Rossiter B. W. (Eds.) en: "Electrochemical Methods" Vol. I parte II A: "Physical Methods of Chemistry", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1971.
- [63] Southampton Electrochemistry Group: Greef R., Peat R., Peter L.M., Pletcher D., Robinson J. en: "Instrumental Methods in Electrochemistry", John Wiley & Sons, New York, 1985.
- [64] Bard A. J., Faulkner L. R. en: "Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1980.
- [65] Sluyters-Rehbach M., Sluyters J.H.en: "Comprehensive Treatise of Electrochemistry", Yeager E. (Ed.), Plenum Press, New York, Vol.9, 1984.
- [66] Zholkovskij E. K. en: "Impedance of Multilayer Membrane Systems", capítulo 20 en: "Surface Chemistry and Electrochemistry of Membranes". Sørensen T. S. (Ed.) Surfactant Science Series, Marcel Dekker, Inc., New York, 1999.
- [67] Azzam R.M. A., Bashara N.M. en: "Ellipsometry and Polarized Light", North-Holland, Amsterdam, 1986.

- [68] Muller R. H. en: "Ellipsometry as an *in situ* Probe for the Study of Electrode Processes", capítulo en: "Techniques for Characterization of Electrodes and Electrochemical Processes", Varma R., Selma J.R. (Eds.), John Wiley & Sons, New York, **1991**.
- [69] Arwin H. en: "Ellipsometry", Capítulo 17 en: "Physical Chemistry of Biological Interfaces". Baszkin A., Norde W. (Eds), Marcel Dekker, Inc., New York, **2000**.
- [70] Bibliografía empleada en el Curso de formación específica: "Microscopías Modernas de barrido y microanálisis", dictado por los Dres. E. Klein (Israel) y M. Patrito en el Dpto. de Fisicoquímica de la Fac. de Cs. Químicas, UNC: "Scanning Electron Microscopy" Capítulo 1: "Advances in Micoscopy".
- [71] Mc Connel H.M., Annu. Rev. Phys. Chem, 42 (**1991**)171.
- [72] Bowen W. R., Hilal N., Lovitt R. W., Wright C. J. en: "Atomic Force Microscopy Studies of Membrane Surfaces", capítulo 1 en: "Surface Chemistry and electrochemistry of membranes", Sørensen T. S. (Ed.), Surfactant Science Series, Marcel Dekker, Inc., New York, **1999**.
- [73] Iwasita T., Nart F. en: "In situ Fourier Transform Infrared Spectroscopy: A Tool to characterize the Metal-Electrolyte Interface at a Molecular Level", capítulo en: "Advances in electrochemical science and engineering ", Gerisher H., Tobias C. (Eds.), Alemania, Vol. 4, **1995**.
- [74] Allara D. L., Parikh A. N., J. Chem. Phys. 96 (**1992**) 927.
- [75] Dluhy R.A. en: "Infrared Spectroscopy of Biophysical Monomolecular Films at Interfaces: Theory and Applications", capítulo 21 en: "Physical Chemistry of Biological Interfaces", Baszkin A., Norde W. (Eds), Marcel Dekker, Inc., New York, **2000**.
- [76] Nicholson R. S., Shain R., Anal. Chem. 36 (**1964**) 706.
- [77] Nicholson R. S., Anal. Chem. 37 (**1965**) 1351.
- [78] Pletcher D. en: "Why Microelectrodes?", capítulo en: "Microelectrodes: Theory and Applications". Montenegro M.I., Queirós M. A. , Daschbach J. L.. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, **1990**.
- [79] Evans D.H. en: "Review of Voltammetric Methods for the Study of Electrode Reactions", capítulo en: "Microelectrodes: Theory and Applications". Montenegro M.I., Queirós M. A. , Daschbach J. L.. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, **1990**.
- [80] Scharifker B.R. en: "Ensembles of Microelectrodes", capítulo en: "Microelectrodes: Theory and Applications". Montenegro M.I., Queirós M. A. , Daschbach J. L.. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, **1990**.
- [81] Gueshi T., Tokuda K., Matsuda H., J. Electroanal. Chem. 89 (**1975**) 247.
- [82] Gueshi T., Tokuda K., Matsuda H., J. Electroanal. Chem. 101 (**1979**) 29.
- [83] Dilger, Fisher, Haydon. Chem. Phys. of Lipids. 30 (**1982**) 159.
- [84] Maggio, B.; Cumar, F.A. Brain Res. 77 (**1974**) 297.
- [85] Radin N. S.; Brown, J. R. Biochem. Prep. 7 (**1960**) 31.
- [86] Lee C., Anson F., J. Electroanal. Chem. 323 (**1992**) 381.
- [87] Peter L. M., Durr W., Bindra P., Gerisher H., J. Electroanal. Chem. 71 (**1976**) 31.
- [88] Campbell S.A., Peter L.M., J. Electroanal. Chem. 364 (**1994**) 257.
- [89] Iwasita T., Schmickler W., Herrmann J., Vogel U., J. Electrochem. Soc. 130 (**1983**) 2027.
- [90] Bindra, H. Gerisher, L.M Peter, Electroanal. Chem. And Interfacial Electrochem. 57 (**1974**) 435.
- [91] Schmickler W. en "Interfacial Electrochemistry", Oxford University Press, New York, **1996**.
- [92] Stynes H. C., Ibers J. A., Inorganic Chem, 10, 10 (**1971**) 2304
- [93] Cevc, G.; Marsh, D. en: "Phospholipid Bilayers. Physical Principles and Models", Capítulo en: "Cell Physiology: a series of Monographs", Bittar, E.E. (Ed.), Wiley-Interscience: New York, vol. 5, **1987**.

- [94] Maggio, B. J. *Lipid Res.* 40 (1999) 930.
- [95] Carrer, D.C.; Maggio, B. J. *Lipid Res.* 40 (1999) 1978.
- [96] Vogel V.; Möbius, D. *Thin Solid Films.* 159 (1987) 73
- [97] Boggs, J.M. *Biochim. Biophys. Acta.* 906 (1987) 353.
- [98] Maggio, B. J. *Lipid Res.* 40 (1999) 930.
- [99] Maggio, B.; Cumar, F.A.; Caputto, R. *Biochem. J.* 171 (1978) 559.
- [100] Cumar, F.A.; Barra, H.S.; Maccioni, H.J.; Caputto, R. *J. Biol. Chem.* 243 (1988) 3807.
- [101] Maggio, B. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* 65 (1994) 55.
- [102] Amatore, C; Savean, J.M.; Tessier, D. *J Electroanal. Chem.* 147 (1983) 39.
- [103] Gurney. *Proc. Royal Soc. London A* (1931) 137.
- [104] Bonnemay. *Compt. Rend.* (1946) 1222. *J. Chem. Phys.* (1947) 187
- [105] Ramdin, Yeager. *J. Electroanal. Chem.* 58 (1975) 313
- [106] Papahadjopoulos, D.; Jacobson, K.; Nir, S.; Isac, T. *Biochim. Biophys. Acta.* 311 (1973) 330.
- [107] Quinn P.J., Sherman W.R., *Biochim. Biophys. Acta*, 233 (1971) 734.
- [108] Gileadi E., Capítulo 25 de: "Electrode Kinetics for Chemists, Chemical Engineers, and Material Scientists", John Wiley and Sons, VCH Publishers Inc. 1993.
- [109] March J. en: "Advanced Organic Chemistry", John Wiley and Sons, New York, 1992.
- [110] Hudlicky, M., *J. Chem Ed.* 54 (1977) 100.
- [111] Pospíšil L., Müller E., Emons H., Dörfler H.D., *J. Electroanal. Chem.* 170 (1984) 319.
- [112] Bizzotto D., Wong E., Yang Y., *J. Electroanal. Chem.* 480 (2000) 233.
- [113] Shepherd J., Yang Y., Bizzotto D., *J. Electroanal. Chem.* 524 (2002) 54.
- [114] Khun H., Möbius D., Büchner H. en: "Spectroscopy of monolayer assemblies", capítulo en: Weissberger A., Rossiter B. W. (Eds.), Part IIIB: "Optical, Spectroscopic and Radioactivities Methods" en: "Physical Methods of Chemistry", Wiley-Interscience, New York, vol. 1, 1972, pag. 557.
- [115] Khun H., *J. Chem. Phys.* 53 (1970) 101.
- [116] Abidor I.G., Arakelyan V.B., Chernomordik L.V., Chizmadzhev Y.A., Pastushenko V.F., Tarasevich M.R., *Bioelectrochem. Bioenerg.* 6 (1979) 37.
- [117] Johnston D. S., Chapman D., *Biochim. Biophys. Acta* 937 (1988) 10.
- [118] Ducharme D., Max J. J., Salesse C., Leblanc R. M., *J. Phys. Chem.* 94 (1990) 1925.
- [119] Socrates G. en: "Infrared Characteristic group frequencies", Wiley-Interscience Pubs., John Wiley and Sons, 1980.

Capítulo 1: Introducción.

1.1 Fundamentos y Objetivos.

Las moléculas anfipáticas poseen una anisotropía intrínseca: dentro de la misma molécula hay zonas de diferentes características, una polar y otra apolar. Debido a la minimización de la energía libre, estas moléculas forman arreglos de estructura supramolecular ordenada, la cual depende altamente del medio en el que se encuentran. Los lípidos son moléculas de estas características y forman estructuras muy ordenadas, de gran importancia en la biología: las biomembranas.

Son numerosos los métodos utilizados para explorar la estructura de biomembranas y asociar sus propiedades y las condiciones del medio ambiente con la organización intermolecular y, en algunos casos, la función de membranas. Para ello se utilizan modelos de membranas artificiales reconstituidas con proteínas y lípidos definidos. Estos estudios confirman y amplían el concepto de biomembranas como estructuras dinámicas.

En las últimas décadas gran parte de la información se ha obtenido a partir del empleo de monocapas de lípidos en la interfase agua-aire [1]. Sin embargo, existen múltiples técnicas que requieren que la película se encuentre sobre un soporte sólido. Por ello se desarrollaron diversos métodos de formación de capas ordenadas sobre superficies sólidas, entre los que se destacan las películas de Langmuir-Blodgett (L-B), en honor a I. Langmuir y K. Blodgett [2] y las películas autoensambladas (Self assembled monolayers, SAMs) [10]. Las películas de L-B se obtienen transfiriendo una monocapa generada en la interfase agua-aire al soporte sólido, mientras que en las SAMs es necesario que la molécula se adhiera espontáneamente al soporte. Las películas de L-B tienen la ventaja frente a las SAMs de que en ellas es posible controlar la compactación de las capas formadas, así como la cantidad de las mismas, además del hecho de que no todas las moléculas se adhieren espontáneamente a todo soporte sólido. En el caso de moléculas de lípido, éste es el método más empleado. Estos sistemas tienen una variedad de aplicaciones incluyendo su utilización como aislante de espesor controlado para interfases en dispositivos electrónicos de estado sólido [3].

Cuando el soporte sólido de la capa de L-B o SAM es un electrodo, es posible emplear técnicas electroquímicas de análisis. Estos sistemas se estudian actualmente en el área de la química analítica, para desarrollar electrodos de gran selectividad adhiriendo una molécula que interaccione preferentemente con el analito [4,5]. En este sentido, se han descrito sensores en los que varias capas de lípidos sintéticos recubren al electrodo y cuya estructura depende de la concentración de diferentes metales presentes en solución. Si se disuelve en la celda electroquímica una especie con actividad redox y se realizan medidas electroquímicas, la respuesta de la especie, a la que llamaremos ion marcador, depende de la estructura de las capas del lípido. Por lo tanto, la señal electroquímica del ion marcador dependerá de la concentración del metal, siendo éste por tanto, un método para su determinación analítica [6-8].

En electroquímica, los electrodos cubiertos por capas de moléculas orgánicas son de gran interés debido a diversos motivos. Ya se explicó la utilidad de estos sistemas en el área de la electroanalítica. En el caso del estudio de corrosión de metales, se emplean como aditivos en la

formación de recubrimientos metálicos, o bien como protectores del metal a la corrosión. En este sentido, está ampliamente estudiado el uso de alcanotioles, los cuales se adhieren espontáneamente a una superficie de oro a través de enlaces covalentes, formando SAMs [9-10]. Este tipo de SAMs también se emplea como soporte para adherir enzimas al electrodo y poder así detectar la presencia de algún analito que sea sustrato de la enzima, generando sensores altamente específicos [11].

Por otro lado, la molécula adherida al electrodo puede, a su vez, tener actividad redox. Resulta en este caso interesante el estudio de la respuesta electroquímica de la especie adherida bajo diferentes grados de empaquetamiento, o bien, a diferentes distancias entre el sitio redox y el electrodo, o bajo diferentes fuerzas iónicas [12-17]. Cuando se varía la distancia entre el sitio redox y el electrodo es posible analizar la dependencia de la probabilidad de transferencia de carga a través de efecto túnel con la distancia donador-aceptor del electrón, encontrándose que algunas reacciones de transferencia de carga pueden ocurrir a distancias relativamente largas (10-20 Å). Se observa además que la constante de velocidad del proceso de transferencia de carga cae exponencialmente con la distancia [17,18].

Por último, estos sistemas son interesantes para la electroquímica básica, ya que permiten ampliar el conocimiento respecto a la naturaleza de las reacciones de transferencia de carga. En este sentido, se ha estudiado el efecto de surfactantes adsorbidos al electrodo en la velocidad de la reacción de transferencia de carga heterogénea, para lo cual es de gran importancia que la película de surfactante sea homogénea y no deje zonas del electrodo sin cubrir. Mucho se ha publicado en la búsqueda de sistemas que cumplan con este requisito, sin embargo, por lo general tanto las películas de L-B como las SAMs dejan sitios sin cubrir. Miller et al. encontraron que electrodos de oro cubiertos por ω -hidroxi tioles son relativamente homogéneos [19], permitiendo así medir la cinética de reacciones electroquímicas en un amplio rango de potenciales ya que la capa adsorbida actúa como barrera al efecto túnel, disminuyendo la velocidad de transferencia de carga [20]. Esto permitió a los autores comparar resultados experimentales con lo que predice la teoría de Marcus a valores elevados de campos eléctricos aplicados [20]. Para obtener capas compactas con bloqueo completo de la superficie del electrodo, también se ha propuesto la generación de reacciones de polimerización en los huecos dejados por las capas de SAMs o L-B [21].

Se ha reportado también la utilización de estos sistemas para la determinación de la constante de velocidad del proceso de transferencia de carga de reacciones rápidas, para las cuales otros métodos no son útiles [22]. Además posibilitan la distinción entre una reacción de esfera externa y una de esfera interna en la que es necesario un contacto directo con la superficie del electrodo [23].

Debido a estas utilidades, el proceso de transferencia de carga sobre electrodos modificados por capas de surfactantes es un área de creciente interés y se han publicado muchos trabajos que intentan describirlo [24-27].

Las propiedades de estos sistemas se estudian mediante técnicas electroquímicas [19,28-33] y otras técnicas como Elipsometría [33-37], Espectroscopia Infrarroja [38-41], medidas con Microbalanza de Cuarzo [33,42], Microscopía de Fuerza Atómica [43-45], medidas de Ángulo de Contacto [46], Resonancia Magnética Nuclear [47], difracción de rayos X [48] y Espectroscopia Raman [41,49].

En el área de la biofísica, este tipo de sistemas puede resultar de interés para estudiar las propiedades eléctricas y permeabilidad a iones o moléculas de películas de diferentes lípidos de interés en biología. También es posible analizar el efecto de la fuerza iónica, la temperatura, el pH, la presión de transferencia, etc, sobre las propiedades de conducción de la película de lípido. Por otro lado,

empleando electrodos como soporte de capas de L-B es posible aplicar campos eléctricos sobre las capas ordenadas, y analizar así el efecto que éste tiene en la estructura de la película.

Como se dijo anteriormente, las películas de L-B sobre electrodos son muy estudiadas desde un punto de vista cualitativo en química analítica, y desde un punto de vista cuantitativo en electroquímica básica. Sin embargo, no se conoce mucha literatura en la que estos sistemas se estudien desde un punto de vista biofísico, para obtener información sobre la estructura supramolecular de moléculas de interés biológico sobre el electrodo.

El presente trabajo de tesis propone como objetivos principales estudiar por medio de técnicas electroquímicas la permeabilidad y conductividad de capas de lípido constituyentes de membranas celulares sobre electrodos preparadas según el método de L-B. Se propone también estudiar el comportamiento de cada lípido en la interfase solución acuosa-aire y así correlacionar las propiedades de conducción del lípido con su estructura supramolecular. Como ésta depende a su vez, entre otros factores, de la estructura de la molécula, se estudiará una serie de moléculas de estructuras similares y con diferencias conocidas ya sea en el grupo polar o en la cadena hidrocarbonada. Así, se pretende también relacionar la estructura molecular con los resultados revelados por electroquímica.

Otro tópico de interés en la presente tesis es estudiar el efecto del campo eléctrico sobre la estructura de la película de lípido, analizar la existencia de posibles reestructuraciones de la película así como la reversibilidad de estos procesos. Para ello se proponen diversas técnicas ópticas, se ponen a punto para estos sistemas y se interpretan los resultados.

Para cumplir con los objetivos propuestos se emplearon técnicas electroquímicas, ópticas, microscopias e isotermas en la interfase agua-aire.

En cuanto a las técnicas electroquímicas, si se disuelve en solución la especie oxidada de una cupla redox y se modifica el potencial del electrodo de forma tal de que ocurra la reducción, la especie debe atravesar la capa de lípidos para poder reaccionar sobre el electrodo, como se esquematiza en la figura 1.1. De esta forma, es posible analizar las propiedades de conducción de la película de lípido, así como su permeabilidad al ion electroactivo y las posibles interacciones entre el lípido y el ion.

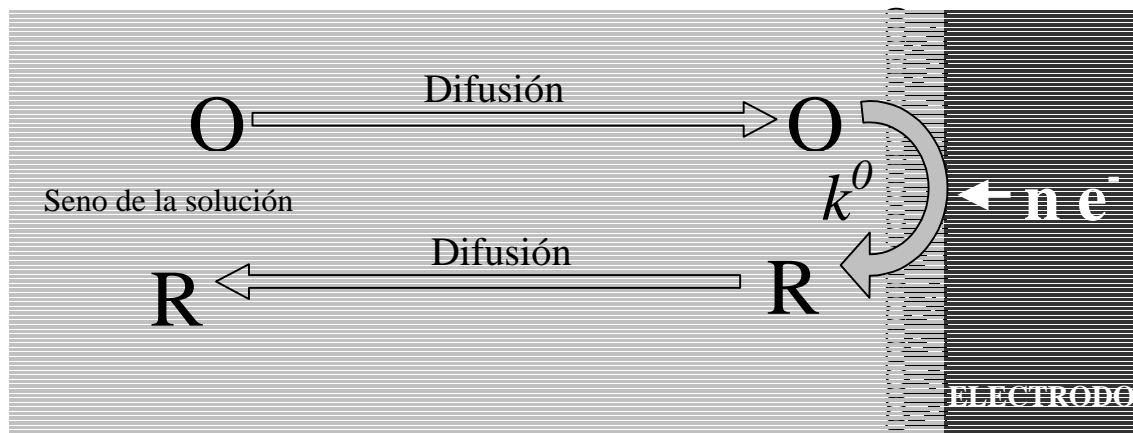


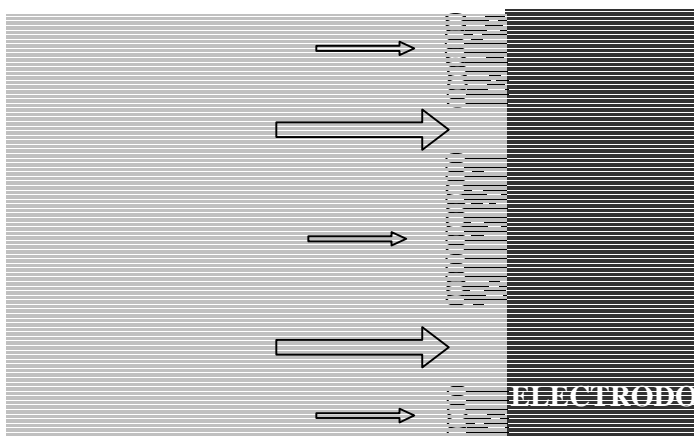
Fig. 1.1. Esquema del proceso de transferencia electrónica de una cupla redox presente en solución sobre de un electrodo cubierto por una monocapa homogénea de lípido.

Para estudiar solamente la permeabilidad de la película al ion y su conductividad, se pueden utilizar cuplas redox hidrofílicas y que no posean interacciones específicas con el lípido, así como comparar el resultado obtenido con diferentes iones electroactivos.

Este método de análisis sólo es posible si la corriente principal circulante por el sistema se debe a la reacción de óxido-reducción del ion que atravesó la capa de lípido. Sin embargo, si por alguna razón el lípido forma capas no homogéneas, dejando zonas del electrodo libres, y esos huecos son suficientes como para que la corriente que no circula a través de ellos sea despreciable, mediante una medida voltamétrica se obtendrá información acerca de la estructura de la película, tamaño de huecos y distribución de los mismos (ver figura 1.2) más que de su permeabilidad.

Los resultados empleando técnicas electroquímicas se muestran en los Capítulos 3 y 5.1 al 5.5. Estos resultados se analizan en función de las características de interfase de cada lípido, mostradas en el Capítulo 4.

Fig. 1.2. Esquema del proceso de transferencia electrónica de una cupla redox presente en solución sobre de un electrodo semi-cubierto por una monocapa de lípido. Las flechas representan corriente eléctrica circulando por cada zona del sistema.



Una vez caracterizadas las capas de lípido a través de la respuesta voltamétrica de iones electroactivos presentes en solución, se emplearon otras técnicas que permitan estudios microscópicos de la película. Las técnicas ópticas empleadas fueron Elipsometría (Capítulo 8.1) y Espectroscopia Infrarroja (Capítulo 9). En cuanto a las microscopias, se empleó Microscopia de Fuerza Atómica (Capítulo 7) y Microscopia de Epifluorescencia empleando películas mezcladas con un marcador de fluorescencia en pequeña proporción (Capítulo 6).

Asimismo, se analizó el efecto del campo eléctrico aplicado empleando Elipsometría y Espectroscopia Infrarroja (Capítulos 8.2 y 9).

1.2 Sistemas Bajo Estudio.

Durante esta tesis se estudiaron películas de lípidos empleando diferentes técnicas, la mayoría de las cuales requieren de la presencia del lípido sobre un electrodo. A continuación se describen las partes que conforman los sistemas estudiados, es decir, los lípidos empleados, el material del electrodo, las cuplas redox disueltas en solución y las sales utilizadas como electrolito soporte en las medidas electroquímicas.

1.2.I. Lípidos

Los lípidos empleados forman espontáneamente capas mono-moleculares en la interfase agua-aire si se las siembra a partir de una solución de aproximadamente $1 \text{ nmol } \mu\text{L}^{-1}$ en cloroformo:metanol (2:1).

Se estudió la siguiente serie de lípidos: Dimiristoilfosfatidilcolina (dmpc), esfingomielina (sphm), galactocerebrósido (galcer) y sulfátido (sul). Un esquema de los mismos se muestra en la figura 1.3. Los criterios para su elección se basan en la comparación de los efectos producidos por diferente tipo de cadenas hidrocarbonadas de lípidos con igual grupo polar (dmpc y sphm), y por diferencias conocidas en el grupo polar para lípidos que poseen similar porción hidrofóbica (sphm, galcer y sul). Además, esta serie de esfingolípidos (sphm, galcer y sul) y particularmente los glicosfingolípidos (galcer y sul) poseen una complejidad creciente en la cadena oligosacárida de su grupo polar. Esto introduce diferencias muy marcadas en su empaquetamiento intermolecular y en sus propiedades dipolares [1,50] lo cual permite comparar de manera controlable la influencia del grupo oligosacárido sobre sus propiedades de superficie.

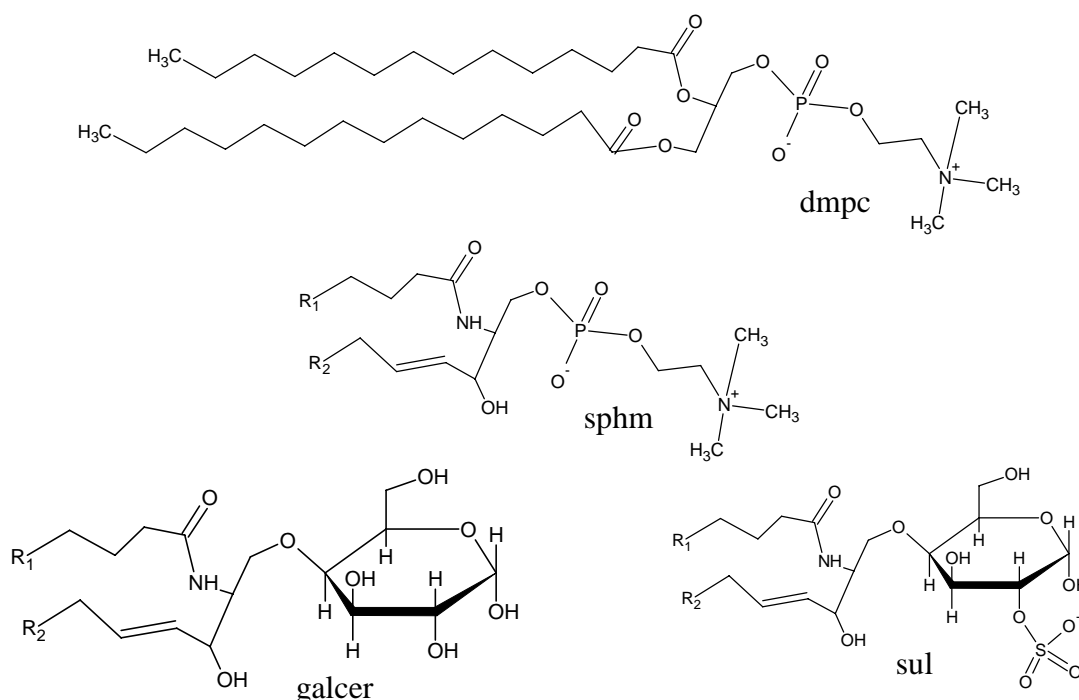


Fig. 1.3. Esquema de los lípidos estudiados.

De los lípidos utilizados, uno sólo (sul) está cargado a los pH de trabajo. A estos pH, Sul se encuentra cargado negativamente [107], Galcer se encuentra neutro [107] mientras que dmpe y sphm son zwitterionicos [55].

La composición aproximada de las cadenas hidrocarbonadas de dichos lípidos es la siguiente:

- dmpe: Es un lípido único, de composición conocida, sintetizado en laboratorio. Sus cadenas hidrocarbonadas están formadas por la unión éster de dos ácidos mirísticos (ácido n-tetradecanoico) y glicerol.

- Esfingolípidos: Son mezclas de lípidos de diferentes cadenas hidrocarbonadas, purificados a partir de cerebro bovino. Sus cadenas hidrocarbonadas están formadas por la unión amida de un ácido graso y un alcohol de cadena larga. El alcohol es en su mayor parte esfingosina de cadenas lineales de 18 y 20 átomos de carbono monoinsaturadas. La mezcla de ácidos grasos contiene principalmente ácido esteárico (ácido n-octadecanoico), ácido araquídico (ácido n-eicosanoico) y ácido nervónico (ácido n-cis-15-tetracosenoico).

1.2.II. Material del Electrodo.

Para llevar a cabo los objetivos planteados, se requiere de un electrodo sobre cuya superficie se transfieran las capas de lípido lo más homogéneamente posible, para lo que se necesita una buena adherencia del lípido al electrodo. También, es importante que el electrodo no introduzca complicaciones adicionales, siendo lo más inerte posible. La elección del material de electrodo es de suma importancia ya que la calidad de la transferencia es altamente dependiente del mismo. El método de transferencia utilizado (método de Schaefer, el cual se describe en el Capítulo 2.1) requiere que el soporte sea hidrofóbico, ya que las cadenas hidrocarbonadas quedan orientadas hacia él. Por otro lado, para que el soporte pueda ser utilizado como electrodo en medidas electroquímicas, es necesario que sea conductor. Estas dos condiciones no son cumplidas por muchos sólidos.

El carbono vítreo es un material hidrofóbico, por lo que la interacción del lípido con este sustrato es buena, asegurando una buena transferencia. Sin embargo, no es ideal desde el punto de vista electroquímico ya que si bien posee una amplia ventana útil de potencial, las transferencias electrónicas en esta superficie no siempre son rápidas y dependen del estado superficial del electrodo. Sin embargo, luego de realizar estudios con otros materiales de electrodo, se eligió carbono vítreo para realizar los estudios priorizando el hecho de que sobre él se transfieren todos los lípidos bajo análisis.

El carbono vítreo es un material preparado por carbonización y subsiguiente tratamiento térmico de materiales orgánicos. Es un carbono que se caracteriza por la isotropía de sus propiedades, alta pureza, dureza y baja permeabilidad a gases y líquidos. Su estructura ha sido objeto de muchos estudios. El modelo más aceptado involucra la presencia átomos de carbonos de hibridización sp^2 y sp^3 . La cantidad relativa de carbono trigonal depende del tratamiento térmico. Se ha propuesto un modelo de semiconductor con un gap de energía relativamente pequeño [51].

El carbono vítreo cumple con los requisitos del soporte mencionados. Sin embargo, para obtener una superficie reproducible y sobre la cual ocurran transferencias electrónicas rápidas, es común activar el electrodo. Existen varios métodos de activación de superficies [52], algunos son químicos y otros electroquímicos. Se probaron dos de ellos:

- 1) Ciclado en H_2SO_4
- 2) Pulsos de potencial en KOH

Con ambos métodos se logró una buena activación superficial del electrodo; sin embargo, la activación implica la formación de grupos ceto, ácidos y alcoholes en la superficie del electrodo, lo cual se correlaciona con un aumento en la hidrofiliidad de la superficie. Esto hace que el electrodo sea menos hidrofóbico, con una consecuente disminución en la interacción lípido-carbono vítreo que dificulta la transferencia de la monocapa desde la interfase aire-agua a la superficie del electrodo. Por esta razón se utilizó la superficie de carbono vítreo limpia, recién pulida y sin otro pretratamiento, y cada voltograma fue comparado con el voltograma sobre la superficie limpia (Capítulos 3 y 5 a 8).

Como material de electrodo se eligió entonces carbono vítreo pulido a mano con alúmina de diferente tamaño de grano (1; 0,5 y 0,03 μm), enjuagado con agua ultrapura y sin ningún otro tratamiento posterior.

Los espectros de infrarrojo por reflexión externa, sin embargo, no pudieron ser realizados sobre este sustrato (Capítulo 9). En este caso particular se utilizó oro policristalino.

1.2.III. Cuplas Redox.

Se utilizaron diferentes cuplas redox, todas hidrofílicas de forma tal de minimizar su interacción con la monocapa lipídica y su permeación a través de la misma. En todos los casos, tanto la especie oxidada como la reducida son solubles para evitar su adsorción al electrodo y competencia con el lípido por la superficie. Se buscaron cuplas con las que se pueda trabajar a pH neutro, o al menos no extremadamente ácido ni básico y que posean diferente carga y reversibilidad electroquímica. Ellas fueron: $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$, $\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{1+}$ y $\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-}/\text{Fe}(\text{EDTA})^{2-}$.

1.2.IV. Composición Iónica de las Soluciones.

Es conocido que algunos iones provocan perturbaciones sobre la estructura de algunas monocapas lipídicas. En particular, el ion Ca^{2+} induce cambios marcados en las propiedades dipolares, electrostáticas y del empaquetamiento molecular de interfases formadas por fosfolípidos y glicosfingolípidos, así como en la interacción entre ellos [53-55]. La presencia de grupos con carga negativa en el grupo polar de glicosfingolípidos introduce cambios adicionales dependiendo de la localización del grupo cargado a lo largo de la cadena oligosacárida que se extiende hacia la fase acuosa [50]. Se ha descrito previamente la participación de Ca^{2+} en la segregación lateral de fases en monocapas y bicapas lipídicas [56] lo cual introduce defectos de topografía en el plano de la interfase. Por todo esto, se analizó el efecto de agregados sucesivos de Ca^{2+} a la celda electroquímica así como en la subfase cuando se analizó el comportamiento de interfase de estos lípidos.

Como electrolito soporte se empleó NaNO_3 , ya que tanto el NO_3^- como el Na^+ no interaccionan marcadamente con ninguno de los lípidos empleados.

Capítulo 2: Materiales y Métodos.

2.1. Técnicas Empleadas.

2.1.1. Fundamentos Teóricos.

2.1.1.I. Monocapas de Lípidos en la Interfase Agua-Aire.

En 1917, Irving Langmuir demostró que muchas moléculas anfipáticas forman espontáneamente capas mono-moleculares insolubles en la interfase agua-aire, con el grupo polar inmerso en el agua y la cadena hidrocarbonada hacia el aire o paralela a la interfase, dependiendo de la compactación [57]. Estas estructuras se denominan comúnmente monocapas de Langmuir (L).

Muchas sustancias no difunden solas en la interfase para formar la monocapa, por lo que normalmente se utilizan soluciones de las mismas en algún solvente. El solvente debe favorecer la dispersión del soluto en la interfase agua-aire y luego eliminarse del sistema, por lo que se suelen usar solventes volátiles e insolubles en agua. Para formar la monocapa se inyectan pequeñas gotas de esta solución sobre diferentes zonas de la interfase limpia, utilizando una jeringa calibrada, de forma tal de conocer el volumen total de solución utilizada (y por tanto de soluto). Este proceso se denomina comúnmente “siembra” [2, 57,58].

La siembra se realiza en una cuba de material hidrofóbico y lipofóbico (puede ser politetrafluoretileno, PTFE), completamente limpia. Antes de cada medida, todo el sistema se lava con alcohol etílico, el cual disuelve a muchos surfactantes que puedan estar presentes. El área total de la interfase, y por tanto, de la monocapa puede ser modificada utilizando dos barreras móviles del mismo material de la cuba que barren la superficie de agua. Así se modifica el área promedio de cada molécula en la monocapa y, consecuentemente, la concentración superficial de lípido.

Las fuerzas de interacción intermoleculares son asimétricas en una interfase, generando sobre las moléculas interfaciales una fuerza neta hacia el interior de cada fase, de forma tal que el sistema buscará minimizar la superficie de contacto. El aumento del área de interfase irá acompañado de un aumento en energía libre proporcional a él. La constante de proporcionalidad es la tensión superficial (γ), la cual se define como:

$$\gamma = \left(\frac{\partial G}{\partial s} \right)_{T, V, n_i} \quad \text{Ecuación 2.1}$$

en donde G es la energía libre de Gibbs, y s es el área de interfase.

Los surfactantes son moléculas que modifican la tensión superficial. En particular, los lípidos son surfactantes, y en su presencia γ disminuye respecto a la interfase limpia, a este cambio se lo denomina presión lateral o de superficie (π).

$$\pi = -\Delta\gamma = \gamma_0 - \gamma \quad \text{Ecuación 2.2}$$

siendo γ , la tensión superficial de la interfase en presencia del lípido y γ_0 , la tensión superficial de la interfase en ausencia de lípido (limpia).

Para las medidas de presión superficial se utilizó el método de Wilhelmy. En este método, un cuerpo delgado de material hidrofílico se suspende desde un dinamómetro muy sensible en la superficie de líquido. Las fuerzas actuantes sobre el cuerpo son el empuje de Arquímedes y los efectos de la tensión superficial y gravitatorios. Es posible demostrar que para un cuerpo de material completamente hidrofílico (ángulo de contacto nulo), delgado y rectangular, el cambio en fuerza medido por el dinamómetro debido a la presencia de la monocapa está dado por [57]:

$$\Delta F = -2 \pi (a + b) \tag{Ecuación 2.3}$$

en dónde a y b son el espesor y el ancho del cuerpo. La balanza se calibra para la geometría del cuerpo y se ajusta el cero de tensión superficial con la interfase limpia. Al agregar el lípido, se calcula la presión superficial a partir de la fuerza soportada por el dinamómetro. En la figura 2.1 se muestra un esquema de la balanza, la cual se denomina balanza de Langmuir por ser análoga al equipo utilizado por Langmuir.

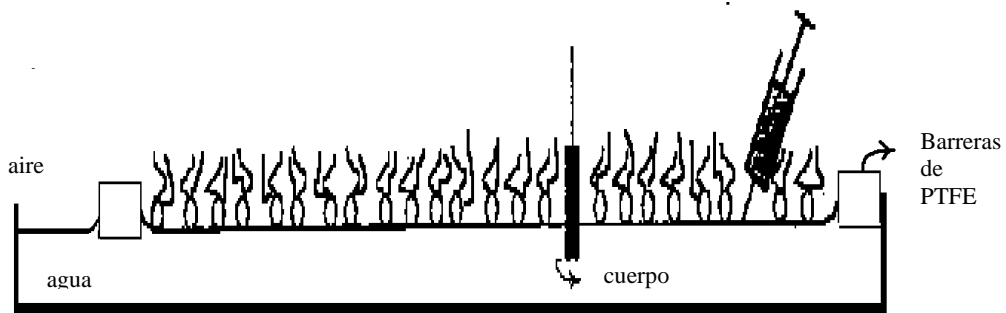


Fig.2.1. Esquema de una balanza de Langmuir.

A medida que se varía el área interfacial, cambia la concentración superficial de lípido, por lo que también cambia la presión lateral. Una gráfica de la presión lateral en función del área molecular promedio es llamada isoterma presión lateral-área molecular. En la figura 2.2 se muestra un esquema del montaje experimental.

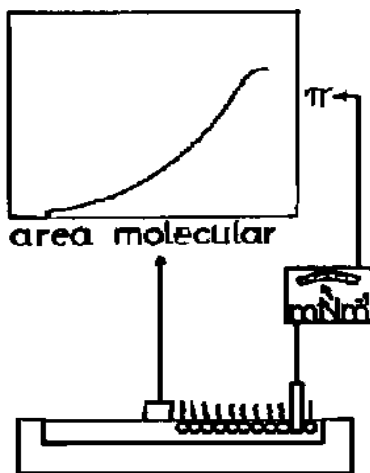


Fig.2.2. Esquema del sistema utilizado para determinar las isotermas presión-área de una monocapa lipídica.

El requisito fundamental que debe cumplir el material del cuerpo es que debe ser hidrofílico. En este sentido, muchos materiales han sido utilizados: platino, vidrio, cuarzo, mica papel, etc. El platino sin embargo, tiene la gran ventaja de que si entre cada medida se flamea sobre llama, se obtiene una superficie limpia y altamente hidrofílica [57].

En la interfase entre un líquido polar (como el agua) y otra fase, existirá una tendencia de las moléculas de agua a orientarse. Como las moléculas de agua son dipolos, esta orientación producirá un campo eléctrico asimétrico cerca de la superficie. Al introducir otra molécula polar o cargada en la interfase se producirá un cambio en este campo. Dependiendo de las condiciones de pH de la subfase, los lípidos pueden encontrarse neutros o cargados. Los lípidos neutros poseen generalmente una distribución asimétrica de carga, generando dipolos permanentes.

En la electrostática clásica, el potencial en un punto se define como el trabajo requerido para traer una carga de prueba desde el infinito a ese punto. El campo eléctrico interfacial se podría obtener a partir de la diferencia de potencial entre dos puntos, uno en cada fase. Sin embargo, este potencial (llamado de Galvani) no es accesible experimentalmente, ya que el trabajo requerido para trasladar la carga de una fase a la otra también tendrá componentes que no son puramente electrostáticos, sino que son efectos químicos resultantes de diferencias en las interacciones intermoleculares, etc.

El potencial de Volta se define como el trabajo necesario para traer una carga de prueba desde el infinito a un punto inmediatamente fuera de la fase, muy cerca de ella. La diferencia de potenciales de Volta en el contorno de una fase será entonces la diferencia de potencial de Volta de las dos fases, y es accesible experimentalmente.

El cambio en el potencial de Volta que se produce cuando en una interfase limpia se genera una monocapa insoluble se llama comúnmente potencial superficial (ΔV) de la película [57].

El potencial superficial se puede medir utilizando dos electrodos, uno en la subfase y otro en el aire (figura 2.3). Un potenciómetro incorporado al circuito se opone al potencial de Volta, y se mide el voltaje requerido para anular la corriente que fluye en el sistema. Para ello es necesario que ambas fases sean conductoras, lo que se logra ionizando el aire entre la interfase y el electrodo y disolviendo un electrolito fuerte en la subfase. El aire se ioniza montando en el electrodo una pequeña cantidad de material radioactivo, que puede ser Americio (^{241}Am). El Am tiene un tiempo de vida media largo (458 años), por lo que tiene una larga duración. Su emisión de rayos γ es débil, emite principalmente radiación α la cual produce ionización intensa en cortas distancias. Estas dos propiedades lo convierten en una buena elección [57].

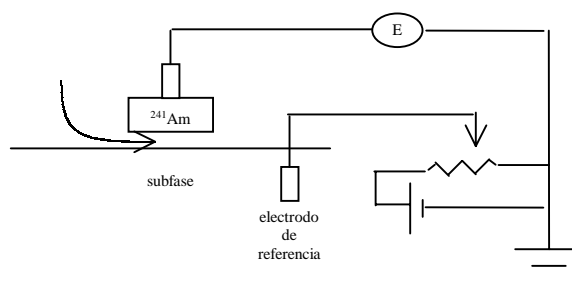


Fig.2.3 Esquema del diseño de equipo para medidas de potencial superficial. La flecha señala la zona de aire ionizado.

Las medidas de potencial superficial se llevan a cabo en la siguiente celda:

Electrodo 1 (de ^{241}Am) | Aire | Subfase | Electrodo 2 (calomel u otro electrodo de referencia)

La interfase de interés es: Aire | Subfase. Se toma como referencia el potencial de superficie de la interfase limpia, y todos los potenciales son informados respecto a éste. Se asume que los cambios en potencial observados al sembrar la monocapa reflejan sólo propiedades de la película. Como el ΔV de interés es la diferencia entre dos medidas de potencial consecutivas, no interesan los valores de potencial de las otras interfases, ni las resistencias de la celda, siempre y cuando se mantengan constantes.

El ΔV se puede registrar a medida que se varía el área total de la monocapa, obteniendo así una isoterma ΔV -área molecular.

Tanto para estas isotermas como para las isotermas presión lateral-área molecular es de suma importancia que la cuba donde se realicen las medidas esté protegida del medio ambiente para evitar la contaminación de la interfase, y que se encuentre dentro de una jaula de Faraday conectada a tierra, para evitar señales de potencial parásitas.

2.1.1.II. Transferencia de la Monocapa al Soporte Sólido.

Muchos métodos para estudiar monocapas insolubles involucran la presencia de la monocapa en una interfase sólido-líquido o sólido-gas. Por ello, es importante poder transferir las monocapas formadas en la interfase agua-aire (monocapas L) a un soporte sólido. Las dos formas de transferencia más utilizadas son [57,58]:

- Depósito vertical, demostrado por primera vez por Langmuir y Blodgett.
- Método de Schaefer o de contacto, propuesto por Langmuir y Schaefer.

Aquí sólo se explicará el segundo método, por ser el empleado en la presente tesis (ver más adelante).

Una vez transferidas al soporte sólido, las monocapas reciben el nombre de monocapas de Langmuir-Blodgett (L-B). Katherine Blodgett demostró que es posible transferir más de una capa, formando multicapas. Cuando hay multicapas, las películas de L-B se clasifican de acuerdo a la orientación de cada capa respecto al resto y respecto al sustrato. En el caso en que la primera capa tenga el grupo polar hacia el sustrato, la siguiente se encuentre al revés, y así sucesivamente, se denomina “tipo Y”. Este es el tipo más estable de multicapas, ya que las interacciones entre capas adyacentes son hidrofílicas o hidrofóbicas. Sin embargo, pueden formarse multicapas en las que las capas sucesivas se encuentren orientadas con el grupo polar hacia el mismo lado. Si el grupo polar se encuentra hacia el sustrato se denominan “tipo Z”, caso contrario será “tipo X”. En la figura 2.4 se muestra un esquema de cada tipo de multicapas de L-B [58].

Para que el proceso de transferencia sea reproducible y cuantitativo, es de suma importancia que el sólido se encuentre limpio, y la presión lateral de la monocapa de L no sea muy baja para que las moléculas estén cerca una de la otra. La transferencia de la monocapa es altamente dependiente de la naturaleza del sustrato: puede ocurrir que la monocapa se escape de la superficie del sólido al ser sumergido en agua, o que se adhiera tan fuertemente que sea necesario

un tratamiento químico destructivo para removerla. El pre-tratamiento al que sea sometido el sustrato puede afectar dramáticamente la transferencia [57,58].

Es difícil evitar los artefactos introducidos debido a la manipulación mecánica de las monocapas de L-B. Si hay irregularidades en el movimiento del sustrato, se pueden generar estrías en la capa depositada. Pueden existir otro tipo de imperfecciones debidas a gotas de agua que queden atrapadas entre el sólido y la monocapa [57,58].

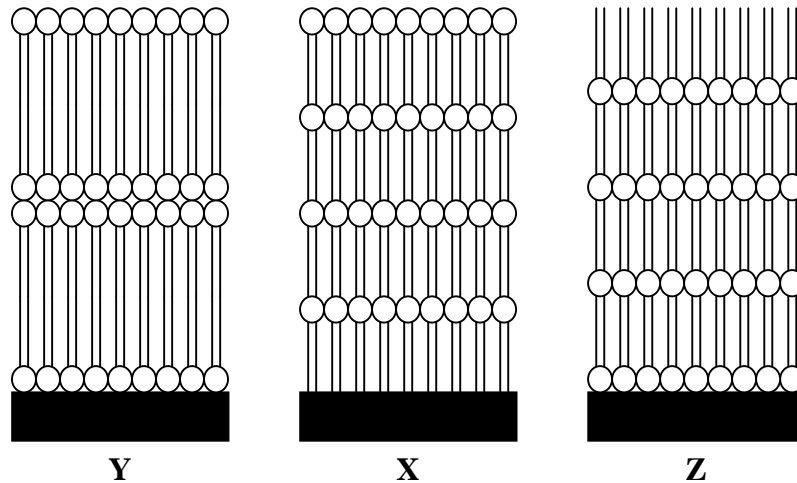


Fig. 2.4. Multicapas de L-B tipo X, Y y Z

Método de Schaefer

Aquí solamente se discutirá el método de transferencia de Schaefer, por ser el utilizado en la presente tesis. En este método, primero se prepara una monocapa de L, la cual debe encontrarse lo más comprimida posible. Luego, un sustrato plano es puesto horizontalmente en contacto con la

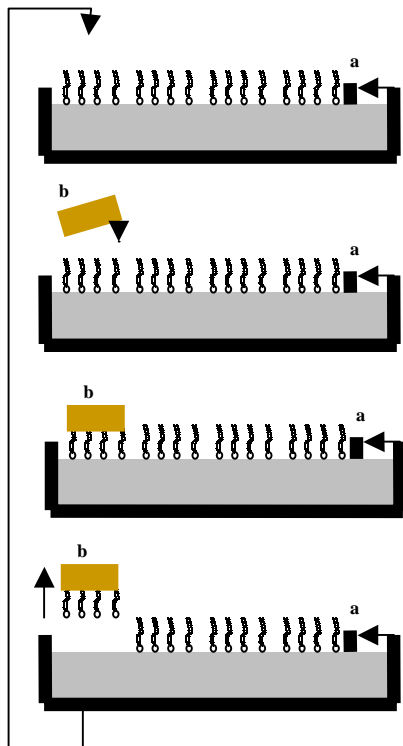


Fig. 2.5. Método de Transferencia de Schaefer.

(a) Barrera que mantiene la presión lateral constante, (b) Sustrato.

El procedimiento se repite la cantidad de veces que sea necesario.

monocapa. Cuando el sustrato es levantado y separado de la superficie de agua, la monocapa es transferida, quedando con la misma orientación molecular que en la interfase agua-aire, es decir, con las cadenas hidrocarbonadas hacia el sustrato (monocapas tipo X). La presión lateral debe mantenerse constante durante todo el procedimiento. En la figura 2.5 se muestra un esquema simplificado del procedimiento. Se han informado casos en los que monocapas preparadas por este método se encuentran orientadas al revés (tipo Y), implicando la presencia de un reordenamiento [59,60].

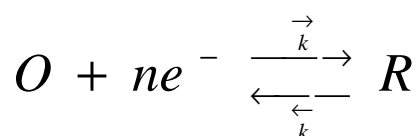
El procedimiento se repite cuantas veces sea necesario, formando así multicapas. Entre cada depósito es necesario dejar secar cada monocapa transferida, para que la próxima se adhiera.

2.1.1.III. Técnicas Electroquímicas. Generalidades.

Para todas las medidas electroquímicas se utilizaron celdas de tres electrodos: un electrodo de referencia, un electrodo auxiliar o contra-electrodo y el electrodo de trabajo. La corriente circula entre el electrodo de trabajo y el auxiliar, mientras que los cambios de potencial son aplicados o medidos entre el electrodo de trabajo y el de referencia, a través del cual prácticamente no circula corriente, por lo que su potencial se puede considerar constante e independiente de la corriente que circula a través del electrodo de trabajo [61].

Cuando tanto la especie oxidada como la reducida son solubles en el solvente utilizado para la medida, se pueden describir las reacciones de transferencia de carga con el siguiente modelo [62]:

- 1) El reactante llega a la vecindad del electrodo mediante transferencia de masa.
- 2) Existe una reorganización estructural de las especies que tomarán parte en la reacción de transferencia de carga.
- 3) Ocurre la reacción de transferencia de carga en sí:



en donde \vec{k} y $\overset{\leftarrow}{k}$ son las constantes de velocidad para el proceso de reducción y de oxidación respectivamente.

- 4) Existe una nueva reorganización estructural del producto recién formado.
- 5) El producto de transferencia de carga es removido hacia el seno de la solución mediante transferencia de masa.

La transferencia de carga entre el reactante y el electrodo requiere un contacto con el electrodo. Este contacto puede ser visualizado como un solapamiento entre un orbital molecular del reactante y el nivel de Fermi del electrodo. Para que ocurra este solapamiento, se supone que debe haber una reorganización estructural del reactante. Este proceso es análogo a la formación de un complejo activado en reacciones homogéneas. El producto inmediato de la transferencia de carga no suele tener la estructura precisa de la especie que se aleja del electrodo, por lo que es necesaria una reorganización estructural del mismo [62].

Este modelo explica porqué distintas reacciones difieren en velocidad. Si sólo se requieren mínimas reorganizaciones para alcanzar el estado de transición, la reacción será rápida. Alternativamente, si la molécula debe sufrir grandes reorganizaciones, el proceso ocurrirá más lentamente. Esto se relaciona con la reversibilidad electroquímica: una reacción electroquímicamente reversible es aquella en la que las concentraciones interfaciales corresponden a los valores de equilibrio para cada potencial aplicado. Para que el sistema se mantenga bajo condiciones de reversibilidad, la velocidad del paso 3) debe ser lo suficientemente rápida como para que a todo tiempo se alcancen los valores de equilibrio en la interfase. Esto depende de \vec{k} y $\overset{\leftarrow}{k}$, y también de las condiciones experimentales. Cuando esto se deja de cumplir, los procesos se denominan cuasi-reversibles o, en el caso extremo, irreversibles.

La transferencia de masa puede ocurrir de tres formas diferentes:

- 1) Migración: normalmente se minimiza utilizando un electrolito inerte en exceso, llamado electrolito soporte.
- 2) Convección: muchas técnicas utilizan soluciones quiescentes, siendo por tanto esta forma de transferencia de masa despreciable. Cuando existe convección, esta es controlada y con flujos descritos por ecuaciones conocidas.
- 3) Difusión: siempre está presente y no hay forma de minimizarla, ya que se debe a los gradientes de concentración resultantes de la depleción de reactivo y el consecuente aumento de producto en la superficie del electrodo. La ecuación de difusión utilizada para describir los gradientes de las especies electroactivas en función del tiempo y la distancia al electrodo es la dada por la segunda ley de Fick, en las coordenadas que sean óptimas para describir la simetría del sistema [63]:

$$\frac{\partial C_i(\vec{x}, t)}{\partial t} = D_i \nabla^2 C(\vec{x}, t) \quad \text{Ecuación 2.4}$$

siendo $C_i(\vec{x}, t)$ la función que describe la concentración de la especie i en un dado punto del espacio \vec{x} y a un dado tiempo t , y D_i el coeficiente de difusión de dicha especie.

El potencial de equilibrio es el potencial en el que no hay flujo neto de corriente en el sistema, es decir, las densidades de corriente anódica (de oxidación) y catódica (de reducción) suman cero o, dicho de otra forma:

$$|I_a| = |I_c| = I_0$$

Así queda definida I_0 , la corriente de intercambio, como el valor absoluto de la densidad de corriente anódica o catódica cuando no hay flujo neto de corriente, es decir cuando el potencial es el de equilibrio. En esta situación, el potencial electroquímico de los reactivos y los productos (especie oxidada y reducida y electrones transferidos al electrodo) deben ser iguales. Esto lleva a la conocida ecuación de Nerst [63]:

$$E_e = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln(C_O / C_R) \quad \text{Ecuación 2.5}$$

en donde E_e y E^0 son los potenciales de equilibrio y estándar del electrodo, n es la cantidad de electrones transferidos, F es la constante de Faraday y C_O y C_R son las concentraciones de la especie oxidada y reducida en la superficie del electrodo. Al modificar el potencial nos alejamos del equilibrio, hasta que se alcance uno nuevo al nuevo valor de potencial. La densidad de corriente neta que circula en este lapso es descripta por la ecuación de Butler-Volmer [63]:

$$I = I_0 \left[\exp\left(\frac{\alpha_a n F}{RT} \eta\right) - \exp\left(-\frac{\alpha_c n F}{RT} \eta\right) \right] \quad \text{Ecuación 2.6}$$

en donde η es el sobrepotencial: $\eta = E - E_e$; α_a y α_c son los coeficientes de transferencia de carga anódico y catódico respectivamente y se definen como las siguientes derivadas parciales [63]:

$$\left(\frac{\delta \log I_0}{\delta \log C_R^\infty} \right)_{C_O^\infty} = \alpha_c \quad \text{y} \quad \left(\frac{\delta \log I_0}{\delta \log C_O^\infty} \right)_{C_R^\infty} = \alpha_a = 1 - \alpha_c \quad \text{Ecuación 2.7}$$

C_O^∞ y C_R^∞ son las concentraciones de O y de R en el seno de la solución. Los coeficientes α_a y α_c dan una idea de cuan fácil es la oxidación respecto a la reducción. Son una fracción por lo que suman la unidad, como se indica en las ecuaciones 2.7.

La ecuación 2.6 tiene comportamientos límites a valores de sobrepotencial bajos y altos:

$$I = \frac{I_0 n F \eta}{RT} \quad \text{para} \quad \eta \ll \left(\frac{RT}{\alpha_c n F} \right) \quad \text{o} \quad \eta \ll \left(\frac{RT}{\alpha_a n F} \right) \quad \text{Ecuación 2.8}$$

$$I \approx I_c = -I_0 \exp(-\alpha_c n F \eta / RT) \quad \text{para sobrepotenciales muy negativos} \quad \text{Ecuación 2.9}$$

$$I \approx I_a = I_0 \exp(\alpha_a n F \eta / RT) \quad \text{para sobrepotenciales muy positivos} \quad \text{Ecuación 2.10}$$

Las ecuaciones 2.9 y 2.10 son conocidas como ecuaciones de Tafel, y gráficos de $\log |I|$ versus η se denominan gráficos de Tafel. Estos gráficos permiten obtener información sobre la corriente de intercambio y los coeficientes de transferencia de carga anódico y catódico [63].

La corriente de intercambio también puede expresarse en función de las constantes cinéticas para la reacción de oxidación y reducción:

$$I_0 = n F k^0 (C_R^\infty)^{\alpha_c} (C_O^\infty)^{1-\alpha_c} \quad \text{Ecuación 2.11}$$

en donde k^0 , la constante de transferencia de carga estándar, queda definida por:

$$\bar{k} = k^0 \exp\left(-\frac{\alpha_c n F}{RT} \eta\right) \quad \text{Ecuación 2.12}$$

y por:

$$\bar{k} = k^0 \exp\left(\frac{\alpha_a n F}{RT} \eta\right) \quad \text{Ecuación 2.13}$$

El proceso de transferencia de carga de una molécula electroactiva también puede estudiarse utilizando otras técnicas electroquímicas en donde no se cumplen las ecuaciones de Tafel: Pulsos de Potencial, Voltametría Cíclica, Espectroscopia de Impedancia Electroquímica, entre otras.

2.1.1.III-a. Pulsos de Potencial.

En los experimentos de pulso de potencial, el potencial del electrodo de trabajo se cambia bruscamente, como se muestra en la figura 2.6, y se adquiere la respuesta corriente-tiempo o carga-tiempo. Si lo que se analiza es el flujo de corriente, la técnica se denomina cronoamperometría [63].

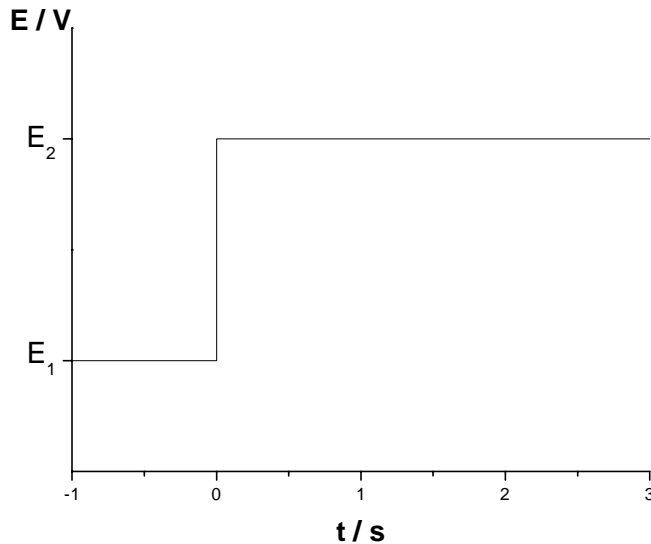


Fig. 2.6. Perfil potencial-tiempo para un pulso único de potencial en un experimento de cronoamperometría.

Si inicialmente sólo se encuentra presente la especie oxidada (O), E_1 y E_2 se eligen de forma tal de que las especies estables en solución sean O y R (especie reducida) respectivamente. En $t=0$ el potencial se cambia instantáneamente a E_2 , al cual ocurre la reducción de O a una velocidad controlada por difusión.

Resolviendo la segunda ecuación de Fick, con las condiciones iniciales y de contorno adecuadas, y para un electrodo plano se obtiene la ecuación conocida como de Cottrell [63]:

$$|I| = \frac{nFD^{1/2}C_o^\infty}{\pi^{1/2}t^{1/2}} \quad \text{Ecuación 2.14}$$

Esta ecuación es válida siempre y cuando el control sea difusional y la convección sea despreciable.

2.1.1.III-b. Voltametría Cíclica.

La técnica más empleada en el área de la electroquímica es la voltametría cíclica. Esta técnica se basa en aplicar una onda triangular de potencial tal como se esquematiza en la figura 2.7a y medir la respuesta en corriente del sistema sin agitar. Los potenciales E_i y E_c de la figura se eligen a fin de que ocurra la oxidación o reducción de la especie electroactiva. El tiempo en el que se revierte el barrido de potencial es t_c .

En voltametría cíclica, la única forma de transferencia de masa considerada es la difusión. Los voltagramas (gráficos de corriente en función de potencial) proveen cuatro parámetros de importancia; la corriente del pico catódico i_p^c , el potencial del mismo E_p^c , y la corriente i_p^a y el

potencial del pico anódico E_p^a . El proceso anódico corresponde a la oxidación y el catódico a la reducción. Un potencial anódico es un potencial más positivo que uno catódico. En la figura 2.7b se muestra un ejemplo cualitativo. Existen relaciones entre estos parámetros, las que pueden brindar información sobre el mecanismo de reacción [62-64].

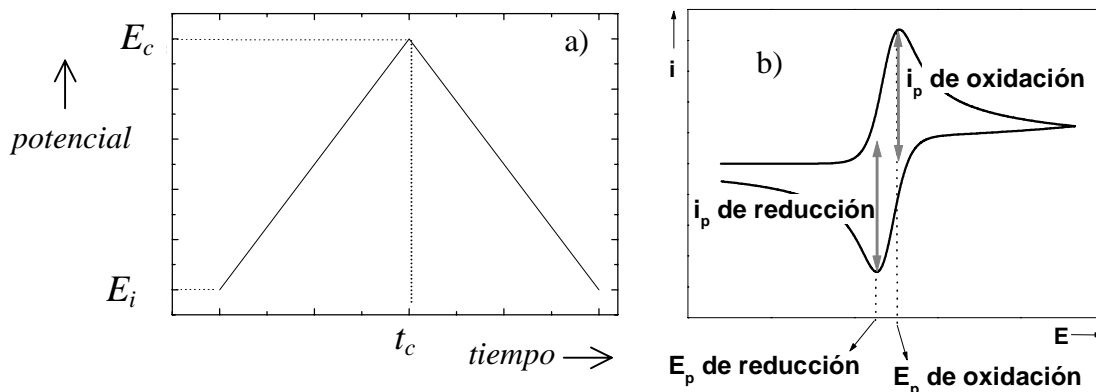


Fig.2.7. a) Perfil de potencial-tiempo para un experimento de voltametría cíclica. b) Respuesta tipo del sistema bajo la aplicación de un barrido de potencial como el mostrado en la figura a) y parámetros de importancia en el análisis.

2.1.1.III-c. Espectroscopia de Impedancia Electroquímica.

Otra técnica electroquímica muy utilizada es la Espectroscopia de Impedancia Electroquímica. Consiste en perturbar al sistema con una onda sinusoidal de potencial (o corriente) y analizar la respuesta en corriente (o potencial). El sistema relajará la perturbación enviando una señal diferente en amplitud y fase. La señal adquirida es el valor de impedancia a diferentes frecuencias, el cual es un número complejo cuyo módulo es el cociente entre las amplitudes del voltaje y de la corriente y su argumento es la diferencia de fase. El comportamiento del sistema bajo estudio se compara con el de un circuito electrónico (llamado circuito equivalente) y a cada componente del circuito se le asigna un significado físico [65,66].

2.1.1.IV. Técnicas Ópticas y Microscópicas.

2.1.1.IV-a.Elipsometría.

La elipsometría se basa en iluminar una superficie con luz de una determinada longitud de onda y un determinado estado de polarización. El haz incidente suele ser plano polarizado, y con un ángulo de 70° respecto al plano de incidencia, es decir, el plano que contiene los haces incidente y reflejado. Si la polarización del haz es paralela al plano de incidencia, se lo designa p, si es perpendicular, s. La superficie a medir debe ser reflectante, de forma tal de que parte del haz incidente sea reflejado hacia un analizador rotatorio, que mide la intensidad de luz en función del tiempo a medida que rota. El analizador envía la señal a una PC, en donde es procesada, dando como resultado dos ángulos: Δ y Ψ . Estos ángulos describen el estado de polarización del haz reflejado: Δ mide el corrimiento de fase de la componente s respecto de la p, mientras que Ψ mide

el cociente en amplitud entre ambas componentes. Las figuras 2.8a y 2.8b muestran esquemas de lo antes explicado [67].

En general, para toda superficie reflectante, los valores de Δ y Ψ de la luz reflejada describen una luz elípticamente polarizada. La forma de la elipse depende de las propiedades ópticas del sustrato, descritas a través de su constante óptica, que se puede expresar como el índice de refracción complejo [68]:

$$\hat{n} = n - i\kappa \quad \text{Ecuación 2.15}$$

La componente real del índice de refracción complejo es el índice de refracción n , que es el cociente de la velocidad de propagación de la onda en el vacío respecto al medio de interés:

$$n = \frac{c}{v} \quad \text{Ecuación 2.16}$$

La componente compleja es el coeficiente de extinción κ , que es una medida de la absorción de luz por el medio.

Cuando el sustrato está cubierto por una capa delgada, los valores de Δ y Ψ dependerán de las propiedades ópticas del sustrato y también de las de la película, además de su espesor [67-69]. Es decir que el número de variables desconocidas será como mínimo 5 (n y κ del sustrato, n y κ de la película y espesor de la película), esto es si el film es isotrópico. Si este fuera anisotrópico existirían 2 valores de n y dos valores de κ para la película. Normalmente se estudia el sustrato limpio, para conocer sus propiedades ópticas, y luego se estudia la película sobre el sustrato ya conocido. Aún así, el número de variables desconocidos es como mínimo 3, y los parámetros conocidos son sólo 2. Por esto es necesario o bien suponer algún valor de n , κ ó espesor, o bien variar alguno de éstos parámetros, de los cuales el espesor es el experimentalmente más accesible.

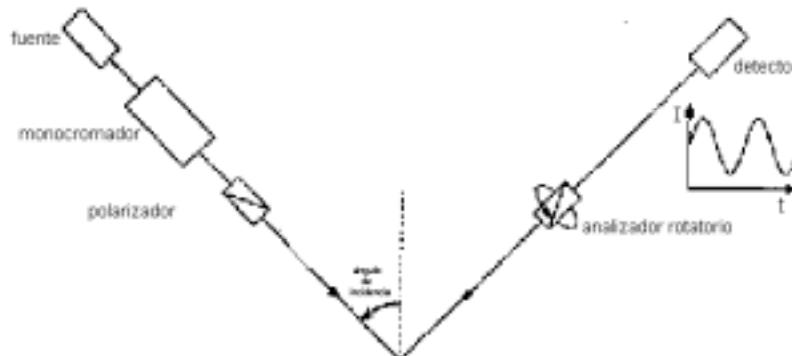
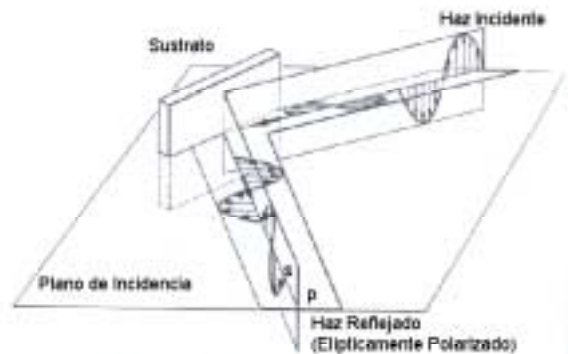


Fig. 2.



68].

Fig. 2.8b. Haz incidente y reflejado en una medida elipsométrica [68].

En el caso de películas de L-B, se pueden depositar capas sucesivas de lípido, variando así el espesor de la película, y medir Δ y Ψ luego de cada transferencia.

Lo usual en esta técnica es graficar Ψ en función de Δ para cada espesor, ya que la curva descrita por este gráfico depende de n y κ de la película [67-68]. La curva experimental se ajusta con una teórica utilizando el modelo más indicado para el sistema bajo estudio.

2.1.1.IV-b. Microscopia de Epifluorescencia.

Otra variable de gran importancia en este tipo de monocapas (tanto las L como las L-B) es la homogeneidad de la película. Para obtener información al respecto es deseable observarlas utilizando alguna técnica. El microscopio óptico tiene una resolución máxima de 0,2 μm y permite visualizar objetos que sean parcialmente transparentes al haz de luz [70]. Los objetos opacos pueden ser observados usando la luz reflejada. Las capas mono-moleculares de lípidos no absorben en el visible, siendo totalmente transparentes, por lo que no pueden ser vistas directamente sino que es necesario modificar sus propiedades ópticas. Existen moléculas anfipáticas fluorescentes que son miscibles con diferentes lípidos y que pueden ser utilizadas como marcadores de fluorescencia, agregándolas en la solución de sembrado de lípido en un 0,5-1 %. Para observar objetos fluorescentes en el microscopio, el haz de luz de excitación debe encontrarse del mismo lado que el objetivo, llamándose a este tipo de microscopia, de epifluorescencia (fluorescencia de superficie).

Estos marcadores de fluorescencia pueden particionar preferentemente en monocapas fluidas (o condensadas), quedando segregada de los dominios condensados (o fluidos) presentes. De esta forma es posible visualizar la estructura supramolecular de la monocapa y detectar la presencia de zonas de diferente estado de fase [71]. También es posible observar la monocapa de L-B y analizar si la monocapa transferida reproduce la estructuración de la monocapa en la interfase agua-aire.

2.1.1.IV-c. Microscopia de Fuerza Atómica.

Para estudiar la homogeneidad de la monocapa a una escala más pequeña, es necesario utilizar un microscopio de mayor resolución. En este sentido, la Microscopia de Fuerza Atómica (AFM) puede ser de gran utilidad. El microscopio de fuerza atómica emplea una punta muy fina (de alrededor de 10 nm de diámetro) al final de un soporte flexible de unos 100-200 μm de largo para realizar un muestreo de la superficie de interés. Las deflexiones del soporte medidas a una resolución de décimas de nanómetros sirven para determinar el contorno de la muestra, generando imágenes que muestran la topografía de la superficie analizada.

A medida que la punta se mueve sobre la muestra, las fuerzas existentes entre la punta y la superficie hacen que el soporte se doble. Un detector mide esta deflexión y permite que una computadora genere un mapa topográfico de la superficie. La figura 2.9 muestra un esquema de este equipo. En el AFM de contacto (método empleado en este trabajo de tesis), la punta se encuentra a menos de un nanómetro de la superficie, la fuerza interatómica entre la punta y la muestra es repulsiva ya que la componente dominante de la fuerza es la repulsión de Born. A medida que se muestrea la superficie, el cambio en topografía resulta en un cambio en la interacción punta-muestra. Por lo tanto, la fuerza incidente en la punta es alterada, lo cual se detecta como una deflexión del soporte [72].

La resolución de esta técnica depende del tamaño de la punta empleada. En la presente tesis no se utilizó la resolución máxima ya que se tomaron micrografías de tamaños entre 250 x 250 nm y 8,5 x 6,5 μm .

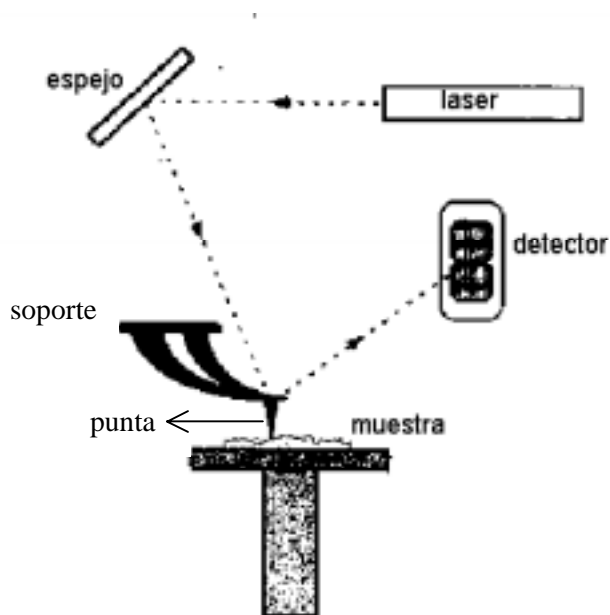


Fig. 2.9. Esquema de un microscopio de fuerza atómica [72].

2.1.1.IV-d. Espectroscopia infrarroja por reflexión externa y ATR (attenuated total reflection).

La espectroscopia infrarroja provee una herramienta poderosa para caracterizar el sistema bajo estudio a un nivel molecular. En el caso de películas de L-B, es necesario utilizar una técnica diferente de la espectroscopia de transmisión para su estudio. En este sentido, la espectroscopia por reflexión externa (ERS, External Reflectance Spectroscopy) permite la toma de espectros de moléculas adheridas a un soporte sólido reflectante, y es ideal para el estudio del empaquetamiento molecular y la orientación de películas orgánicas ultra-finas.

En la técnica de ERS, el haz incide sobre la superficie de interés y se refleja en ella, como se esquematiza en la figura 2.10a. El espectro de la superficie limpia se toma como línea de base y luego se registran los espectros en presencia de las moléculas de interés [73]. El espectro obtenido depende de la interacción del campo eléctrico de la luz con la molécula y también con los electrones del sustrato, por lo que el espectro depende tanto de la molécula bajo estudio como del sustrato. Las propiedades ópticas del carbono vítreo son tales que en presencia de lípido se modifica la línea de base, con la consecuencia de que los espectros sobre esta superficie tienen picos bimodales de muy difícil interpretación [74].

A causa de esto, se realizaron los espectros sobre una superficie metálica, sobre la cual la interpretación es más sencilla. Sobre un metal, se cumple la “regla de selección superficial” [73], la cual establece que para moléculas que están adsorbidas a una distancia cercana al electrodo solamente son activos en IR los modos con un momento dipolar perpendicular a la superficie.

Para conocer el espectro de cada lípido en particular, se realizaron además medidas por ATR (Attenuated Total Refraction). La técnica de ATR se basa en hacer incidir un haz de luz IR en

una ventana de forma trapezoidal, dentro de la cual se producen múltiples reflexiones internas como se muestra en la figura 2.10b [75]. Los lípidos de la solución que se han adsorbido a la ventana absorben una pequeña porción del haz que incide en ella. La señal de una sola reflexión sería muy débil, por esto es que las reflexiones deben ser múltiples. La ventana puede ser de Ge, Si o ZnSe.

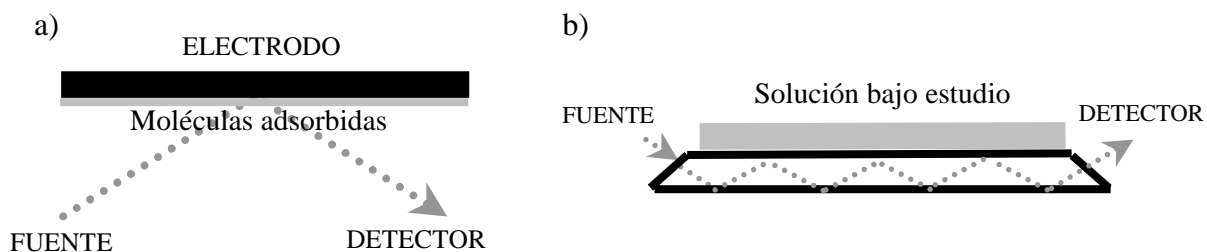


Fig. 2.10. Esquemas de experimentos de las dos técnicas de espectroscopia empleadas: a) ERS-IR, b) ATR.

2.1.2 Interpretación de los Resultados. Modelos Empleados.

2.1.2.I. Isotermas en la Interfase Agua-Aire.

2.1.2.I-a. Presión Lateral-Área Molecular.

Una monocapa insoluble, formada a partir de la siembra de una solución de la molécula anfipática no es un estado de equilibrio estable, sin embargo si la barrera energética es lo suficientemente grande, estos estados metaestables pueden perdurar un tiempo lo suficientemente largo como para estudiar sus propiedades.

A medida que la monocapa es comprimida, existen cambios en las interacciones moleculares, que se manifiestan en la presión lateral (π). Estas películas pueden ser comprimidas hasta una presión característica, a partir de la cual es imposible aumentar π . En estas condiciones, el área disminuye al mantener π constante, o π disminuye si el área se mantiene constante. Estas condiciones se denominan punto de colapso, el cual queda caracterizado por la presión y el área de colapso. La presión de colapso es la mayor presión a la cual una monocapa puede ser sometida sin que exista expulsión de las moléculas para formar una nueva fase [2,57]. Esta presión es altamente dependiente de las condiciones experimentales como temperatura, composición de la subfase, velocidad de compresión, historia previa de la película, etc.

Cuando la presión a la que está sometida la película es cercana a la de colapso, hasta la fluctuación térmica puede llevar a que las moléculas sean forzadas fuera de la interfase. La película bajo alta compresión se pliega como se esquematiza en la figura 2.11. Las moléculas son forzadas fuera de la superficie, formando multicapas o yéndose a la subfase [57].

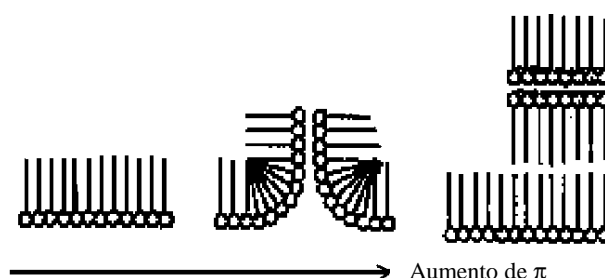


Fig.2.11. Comportamiento de una monocapa a presiones mayores que la presión de colapso [57].

Antes de la presión de colapso, las moléculas pueden existir en diferentes estados, análogos a los estados líquido, sólido y gaseoso en las tres dimensiones. Los estados en que se pueden encontrar las monocapas se dividen en tres: condensado (líquido o sólido), expandido y gaseoso. En algunos casos es posible transformar una película de un estado a otro cambiando la temperatura o la presión superficial. Cada estado está caracterizado por un cierto grado de libertad molecular o de orden, que resulta de las fuerzas intermoleculares de la película y entre la película y la subfase.

En estado gaseoso las moléculas se encuentran separadas lo suficiente como para experimentar una fuerza intermolecular baja. La presión de superficie de estas monocapas se aproxima

asintóticamente a cero a medida que aumenta el área disponible para la monocapa. Se propone que en este estado las cadenas hidrocarbonadas de los lípidos se encuentran paralelas a la interfase [57].

El estado condensado se encuentra en el extremo opuesto del estado gaseoso. En este estado las moléculas forman un arreglo de máximo empaquetamiento, y se ubican casi perpendicularmente a la interfase. Los perfiles de presión-área son casi lineales y con una alta pendiente, lo cual indica baja compresibilidad. Esto refleja la presencia de fuertes interacciones entre las cadenas hidrocarbonadas, las que mantienen a las moléculas en su empaquetamiento máximo, con poca dependencia de la presión superficial [57].

El estado expandido es un estado intermedio entre los estados gaseoso y condensado. Los perfiles presión-área de estas películas muestran una curvatura considerable que resulta de una compresibilidad relativamente alta. Este estado puede ser visualizado como una fase líquida delgada. Las porciones hidrofóbicas están orientadas en forma aleatoria, mientras que el grupo polar se encuentra en contacto con la subfase [57].

En la figura 2.12 se observa una isoterma presión-área tipo en la que puede verse el comportamiento de cada estado, mientras que la figura 2.13 muestra un esquema de la orientación molecular de una monocapa de lípidos en cada estado de agregación.

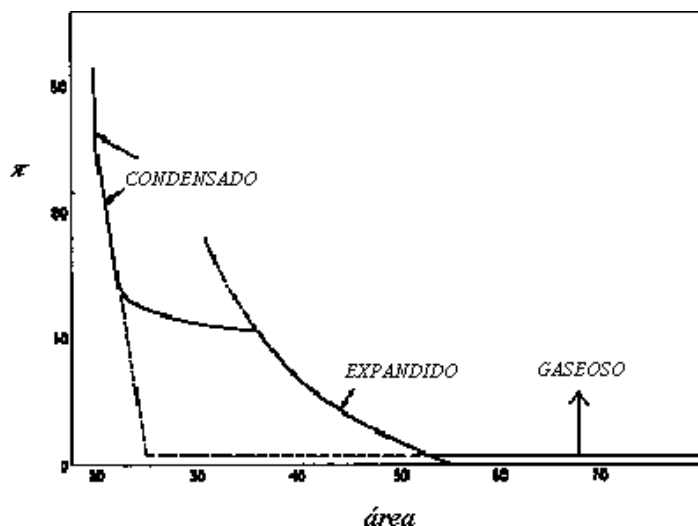


Fig. 2.12. Isoterma presión-área esquemática de una monocapa que presenta tres cambios de fase y cuatro estados diferentes: gaseoso, expandido y dos estados condensados de distinta compresibilidad [57].

Como puede verse en la figura 2.12, cada estado de la monocapa se puede caracterizar por su compresibilidad, siendo el estado gaseoso el más compresible y el sólido condensado el más rígido. Esto se puede cuantificar a través del factor de compresibilidad κ definido como:

$$\kappa = -A_m \left(\frac{\partial \pi}{\partial A_m} \right)_T \quad \text{Ecuación 2.17}$$

en donde A_m es el área molecular. Mientras mayor sea κ , más compacta será la monocapa y más difícil será modificar su área.

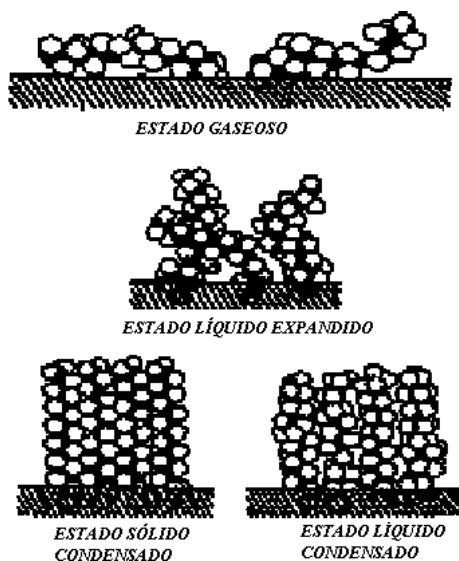


Fig. 2.13. Representación esquemática de los estados de una monocapa y orientación de las moléculas en la interfase agua-aire [2].

2.1.2.I-b. Potencial Superficial-Área Molecular.

A medida que cambia el área disponible para cada molécula es esperable que el potencial superficial (ΔV) también cambie. Para relacionar el potencial con las propiedades moleculares, es necesario tener en cuenta el cambio en la concentración superficial a medida que se comprime la monocapa. La forma más simple de hacer esto es dividiendo el ΔV por la concentración superficial: $\Delta V/n$, en donde n es el número de moléculas por centímetro cuadrado.

Un modelo muy utilizado para la interpretación de los resultados del potencial de superficie involucra la comparación de la película con un condensador de placas paralelas. La película se supone un arreglo de dipolos, cuyo momento dipolar efectivo es en la dirección perpendicular, μ_p . Este modelo tiene serias limitaciones pero es muy utilizado, por lo que se define el momento dipolar superficial como [57]:

$$\mu_p = A_m \Delta V / 12\pi \quad \text{Ecuación 2.18}$$

En el caso de monocapas ionizadas, debe haber contra-iones disueltos que mantienen la electro-neutralidad del sistema. La presencia de los contra-iones y la monocapa insoluble genera una doble capa iónica en la superficie (figura 2.14).

Una interpretación cuantitativa de las propiedades de monocapas ionizadas requiere restar al potencial medido la componente debida al potencial de la doble capa iónica. El potencial de superficie estará dado por [57]:

$$\Delta V = 4\pi n \mu_p + \phi \quad \text{Ecuación 2.19}$$

en donde el primer término es el momento dipolar superficial convencional para monocapas neutras, y ϕ representa la diferencia de potencial entre la superficie y el seno de la solución debido a la doble capa.

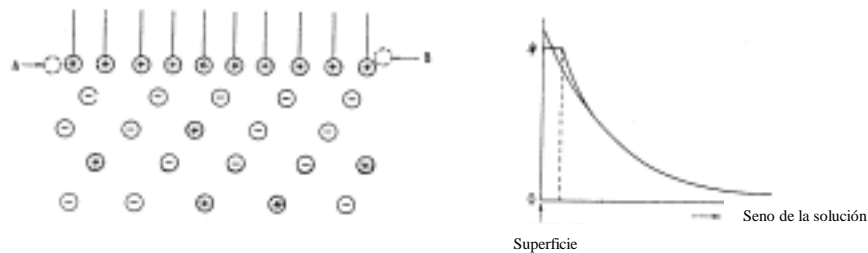


Fig. 2.14. Una monocapa cargada genera una doble capa iónica en la superficie. Como los contra-iones pueden penetrar entre los iones de la monocapa (posición A) o inclusive alcanzar posiciones encima de ellos (posición B), es difícil decidir cual es la distribución efectiva de potencial en la interfase y cerca de ella. Esto se indica esquemáticamente con dos curvas de potencial diferentes en el diagrama de potencial [57].

Puede realizarse una estimación de ϕ utilizando el modelo de Gouy-Chapman, a través del cual la ecuación 2.19 toma la forma [57]:

$$\Delta V = 12\pi \frac{\mu_p}{A_m} + 50,4 \sinh^{-1} \left(134 / A_m c^{1/2} \right) \quad \text{Ecuación 2.20}$$

en donde A_m es el área molecular y c es la concentración de electrolito, en. Esto es válido a 20°C siempre y cuando el electrolito sea 1:1.

Si el electrolito es 1:2 (dos aniones por cada catión), es una buena aproximación calcular ϕ como:

$$\phi = \ln \left(\frac{7,31 \cdot 10^{-33}}{A_m^2 c_{anión}} + 1,5 \right) \frac{RT}{F} \quad \text{Ecuación 2.21}$$

Tanto en el caso de monocapas neutras como ionizadas, el cambio en el potencial interfacial al formarse la monocapa insoluble en la interface agua-aire contiene tres contribuciones: el cambio en los dipolos del agua cerca de la interfase (μ_1), los dipolos del grupo polar (μ_2) y los de la cadena hidrocarbonada (μ_3). Cada uno de ellos puede tener diferente orientación. Lo que se obtiene a partir de la ecuación 2.18 o 2.20 es el dipolo global, y no se puede descomponer en cada contribución particular [2]. Al comprimir la monocapa, muchas veces se observan cambios en el momento dipolar global, esto puede deberse a cambios en la orientación de la cadena hidrocarbonada, en el grupo polar o bien a una reestructuración del agua de hidratación que rodea al grupo polar inserto en la subfase. La medida del potencial superficial sólo permite obtener un valor global del momento dipolar superficial.

2.1.2.II. Técnicas Electroquímicas.

2.1.2.II-a. Cronoamperometría.

En la cronoamperometría la densidad de corriente para un electrodo plano semi infinito está dada por la ecuación de Cottrell (ecuación 2.14), que se puede reordenar para dar:

$$|I| t^{1/2} = \frac{nF}{\pi^{1/2}} D^{1/2} C_0^\infty \quad \text{Ecuación 2.22}$$

Si se conoce la concentración de la especie en el seno de la solución, es posible calcular el coeficiente de difusión de la especie [63]. Para ello se grafica $|I| t^{1/2}$ en función del tiempo. De acuerdo con la ecuación 2.22, esta gráfica debería ser la de una función constante. Sin embargo, como se dijo en el Capítulo 2.1.1, esta ecuación es sólo válida si el control es difusional, la convección es despreciable y la corriente que circula en el sistema es sólo faradaica. Al aplicar un pulso de potencial al electrodo ocurren procesos que no han sido tenidos en cuenta y que son inevitables [63]:

- Frente al cambio de potencial del electrodo hay un reordenamiento de los iones presentes en solución. Este proceso provoca un flujo de corriente llamada capacitiva. Este proceso es rápido (pocos cientos de milisegundos), por lo que los primeros valores de corriente no deben ser tenidos en cuenta en el experimento.
- Aunque no se provoque convección mecánica durante el experimento, a tiempos mayores a 10 s, los gradientes de concentración comienzan a ser tan grandes que existen diferencias en densidad entre las zonas de diferente concentración. Esto genera un flujo conveccional llamado convección natural, el cual no puede ser evitado. Para tiempos grandes, por tanto, la ecuación tampoco es válida.

Es decir que sólo existe un intervalo intermedio de tiempos en los que se cumple la linealidad de $|I|$ con $t^{1/2}$ y esta es la zona que se considera para el cálculo de D . Los tiempos típicos están comprendidos entre 1 ms y 10 s [63].

La condición de que exista control difusional se logra utilizando un potencial lo suficientemente grande como para que no haya control cinético ni mixto, sino que el proceso determinante de la velocidad sea la llegada de la especie oxidada al electrodo [63].

2.1.2.II-b. Voltametría Cíclica.

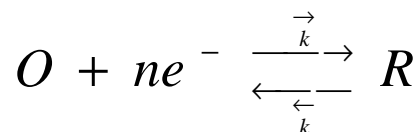
La voltametría cíclica provee una señal corriente-tiempo, la cual se convierte a corriente-potencial conociendo la velocidad a la cual se modifica el potencial, llamada velocidad de barrido v . La forma del perfil corriente-potencial depende del tipo de flujo difusional existente y del proceso de transferencia de carga global.

Normalmente se parte de una solución que contiene sólo una especie (supongamos que es la oxidada O), y de un potencial al cual esta especie es estable, por lo tanto no hay corriente faradaica.

En el caso de que sólo exista la reacción redox, sin reacciones químicas acopladas, el proceso global consta de tres etapas: dos etapas difusionales (llegada del reactivo al electrodo y partida del producto hacia el seno de la solución) y la etapa de transferencia del electrón, cuya velocidad depende de la constante de transferencia de carga k^0 . Como se dijo en la Sección 2.1.1, un proceso electroquímico puede ser reversible, cuasi-reversible o irreversible. La forma precisa del perfil corriente-potencial o voltograma depende de ello. Sin embargo, la forma cualitativa del voltograma es fácil de entender. En el barrido de ida, la corriente aumenta a medida que el potencial se acerca al potencial estándar de la cupla, pasa por un máximo y luego disminuye a medida que el se consume en reactivo en la superficie del electrodo y se produce una corriente de reducción limitada por difusión. Por lo tanto, la respuesta es un pico de corriente asimétrico. En el barrido de vuelta, continúa habiendo corriente catódica mientras el potencial sea lo suficientemente negativo como para producir la reducción de O. Sin embargo, cuando el potencial se acerca al estándar, R puede retornar al electrodo y oxidarse, por lo que la corriente pasa por cero y se vuelve anódica [63].

Difusión lineal.

Cuando el electrodo es macroscópicamente plano y de dimensiones grandes (radio mayor al micrómetro), el régimen de transporte de masa es de difusión lineal semi infinita, independientemente del tamaño y forma del electrodo. La difusión sólo ocurre en dirección normal al electrodo. Describiremos a continuación el método de cálculo de voltogramas teóricos descrito por Nicholson [76-77], ya que es el que se utilizó en la presente tesis. Llamemos x a la coordenada perpendicular a la superficie del electrodo y asumamos el siguiente mecanismo:



Se cumplirán las siguientes condiciones iniciales y de contorno:

$$t = 0, x \geq 0 \quad C_O = C_O^\infty; \quad C_R = C_R^\infty \quad \text{Ecuación 2.23}$$

$$t \geq 0 \quad \lim_{x \rightarrow \infty} C_O = C_O^\infty; \quad \lim_{x \rightarrow \infty} C_R = C_R^\infty \quad \text{Ecuación 2.24}$$

$$t \geq 0, x = 0 \quad D_O \frac{\partial C_O}{\partial x} + D_R \frac{\partial C_R}{\partial x} = 0 \quad \text{Ecuación 2.25}$$

$$t \geq 0, x = 0 \quad D_O \frac{\partial C_O}{\partial x} = k_i C_O - k_v C_R \quad \text{Ecuación 2.26}$$

Las ecuaciones de Fick del sistema expresadas en coordenadas cartesianas toman la forma:

$$\frac{\partial C_O}{\partial t} = D_O \frac{\partial^2 C_O}{\partial x^2} \quad y \quad \frac{\partial C_R}{\partial t} = D_R \frac{\partial^2 C_R}{\partial x^2} \quad \text{Ecuación 2.27}$$

Utilizando la ecuación de Buttler-Volmer, la ecuación 2.26 se convierte en:

$$D_O \frac{\partial C_O}{\partial x} = k^0 e^{-\frac{\alpha n F}{RT}(E-E^0)} \left[C_O^{x=0} - e^{\frac{n F}{RT}(E-E^0)} C_R^{x=0} \right] \quad \text{Ecuación 2.28}$$

Un barrido de potencial triangular simétrico puede expresarse como:

$$E : \begin{cases} E_i - vt & 0 \leq t \leq t_c \\ E_i + vt - 2vt_c & t \geq t_c \end{cases} \quad \text{Ecuación 2.29}$$

En donde t_c es el tiempo al cual se invierte el barrido de potencial y E_i es el potencial de inicio. Si se combinan las ecuaciones 2.28 y 2.29, la ecuación 2.26 toma la forma:

$$D_O \frac{\partial C_O}{\partial x} = k^0 \left(\frac{C_O^\infty}{C_R^\infty} \right)^{-\alpha} [S(t)]^{-\alpha} \left[C_O^{x=0} - \left(\frac{C_O^\infty}{C_R^\infty} \right) S(t) C_R^{x=0} \right] \quad \text{Ecuación 2.30}$$

La función $S(t)$ se define como:

$$S(t) = \begin{cases} e^{-mt} & t < t_c \\ e^{mt-2mt_c} & t > t_c \end{cases} \quad \text{Ecuación 2.31}$$

En donde:

$$m = nFv / RT \quad \text{Ecuación 2.32}$$

Utilizando el método de la transformada de Laplace aplicado a la ecuación 2.30 se obtiene:

$$\frac{\chi(y) \left[\Upsilon \left(C_O^\infty / C_R^\infty \right) S(y) \right]^\alpha}{\psi} = 1 - S(y) - \int_0^y \frac{\chi(z) dz}{\sqrt{y-z}} - \Upsilon \left(C_O^\infty / C_R^\infty \right) S(y) \int_0^y \frac{\chi(z) dz}{\sqrt{y-z}} \quad \text{Ecuación 2.33}$$

Para que la ecuación 2.33 sea adimensional, se realizaron las siguientes sustituciones y cambios de variable:

$$\Upsilon = (D_O / D_R)^{1/2} \quad \text{Ecuación 2.34}$$

$$y = mt \quad \text{Ecuación 2.35}$$

$$\chi(y) = D_o \frac{\partial C_o}{\partial x} / C_o^\infty \sqrt{\pi m D_o} \quad \text{Ecuación 2.36}$$

$$\psi = Y^\alpha k^0 / \sqrt{\pi m D_o} \quad \text{Ecuación 2.37}$$

La ecuación 2.33 puede ser resuelta de la siguiente forma: El intervalo de integración se divide desde $mt = 0$ a M en N subintervalos igualmente espaciados, a través del siguiente cambio de variables:

$$z = \delta \eta \quad \text{Ecuación 2.38}$$

definiendo: $n = y / \delta$

Aquí, δ es el paso de integración ($\delta = M / N$) y n es el número serial del subintervalo. Así se llega a la siguiente igualdad:

$$\int_0^y \frac{\chi(z) dz}{\sqrt{y-z}} = \frac{1}{\sqrt{\delta}} \int_0^n \frac{\chi(\delta \eta) d\eta}{\sqrt{n-\eta}} \quad \text{Ecuación 2.39}$$

El punto singular $n = \eta$ en la ecuación 2.39 puede ser eliminado a través de una integral por partes para dar:

$$\int_0^n \frac{\chi(\delta \eta) d\eta}{\sqrt{n-\eta}} = 2 \left[\chi(0) \sqrt{n} + \int_0^n \sqrt{n-\eta} d[\chi(\delta \eta)] \right] \quad \text{Ecuación 2.40}$$

La integral del lado derecho de la igualdad 2.40 puede ser reemplazado por una sumatoria, de forma tal que la ecuación 2.40 se convierte en:

$$\int_0^n \frac{\chi(\delta \eta) d\eta}{\sqrt{n-\eta}} = 2 \left[\chi(1) \sqrt{n} + \sum_{i=1}^{n-1} \sqrt{n-i} [\chi(i+1) - \chi(i)] \right] \quad \text{Ecuación 2.41}$$

Reemplazando la ecuación 2.41 en la ecuación 2.33 se obtiene:

$$\chi(n) \frac{(gS)^\alpha}{\psi} = 1 - S - 2\sqrt{\delta} (1 + gS) \left\{ \chi(1) \sqrt{n} + \sum_{i=1}^{n-1} \sqrt{n-i} [\chi(i+1) - \chi(i)] \right\} \quad \text{Ecuación 2.42}$$

En donde:

$$g = Y (C_o^\infty / C_R^\infty) \quad \text{Ecuación 2.43}$$

Para calcular $\chi(n)$ a partir de la ecuación 2.42 es necesario conocer $\chi(1)$ el cual se obtiene a partir de esta misma ecuación para $n = 1$:

$$\chi(1) = 1 - e^{-\delta} / \left[(ge^{-\delta})^\alpha \psi^{-1} + (1 + ge^{-\delta}) 2\sqrt{\delta} \right] \quad \text{Ecuación 2.44}$$

Para $i = n-1$, el cálculo de $\chi(n)$ requiere conocer $\chi(n)$. Por ello se realiza lo siguiente:

$$\chi(n) \frac{(gS)^\alpha}{\psi} = 1 - S - 2\sqrt{\delta} (1 + gS) \left\{ \chi(1)\sqrt{n} + \sum_{i=1}^{n-2} \sqrt{n-i} [\chi(i+1) - \chi(i)] \right\} - 2\sqrt{\delta} (1 + gS) [\chi(n) - \chi(n-1)] \quad \text{Ecuación 2.45}$$

Con lo cual $\chi(n)$ se calcula a partir de la ecuación final:

$$\chi(n) = \frac{1 - S - 2\sqrt{\delta} (1 + gS) \left\{ \chi(1)\sqrt{n} - \chi(n-1) + \sum_{i=1}^{n-2} \sqrt{n-i} [\chi(i+1) - \chi(i)] \right\}}{\frac{(gS)^\alpha}{\psi} + 2\sqrt{\delta} (1 + gS)} \quad \text{Ecuación 2.46}$$

Analizando la variación de $\chi(n)$ con ψ , se encuentran diferentes zonas de comportamiento de la función $\chi(n)$. Un valor alto de ψ implica una k^0 alta o bien una ν baja, lo cual implica un proceso reversible. Por el contrario, un valor bajo de ψ se corresponde con un proceso irreversible. En general, del análisis del comportamiento de $\chi(n)$ en cada zona, se pueden extraer los siguientes criterios de diagnóstico [62]:

Criterios para una reacción reversible:

El potencial de pico (E_p) es independiente de la velocidad de barrido (ν).

$E_p^c - E_p^a = \Delta E_p = 59 \text{ mV} / n$ a 25°C y es independiente de ν (n es el número de electrones que se intercambian en la reacción)

$i_p / \nu^{1/2}$ es independiente de ν .

$i_p^c / i_p^a = 1$ e independiente de ν .

Criterios para una reacción cuasi-reversible:

E_p cambia con ν .

ΔE_p a 25°C se puede aproximar a $59 \text{ mV} / n$ a bajas ν , pero aumenta al hacerlo ν .

$i_p / \nu^{1/2}$ es virtualmente independiente de ν .

$i_p^c / i_p^a = 1$ si $\alpha_c = \alpha_a = 0,5$.

La respuesta voltamétrica se asemeja a la de una reacción irreversible a medida que ν aumenta.

Criterios para una reacción irreversible:

E_p se corre $30 / \alpha n$ mV hacia potenciales catódicos por cada década de incremento de ν .

$i_p / \nu^{1/2}$ es independiente de ν .

No se observa pico de corriente en el barrido inverso.

En las figuras 2.15a y 2.15b se muestra como ejemplo voltagramas para diferentes valores de los parámetros ψ y α calculados empleando el procedimiento de Nicholson antes descrito.

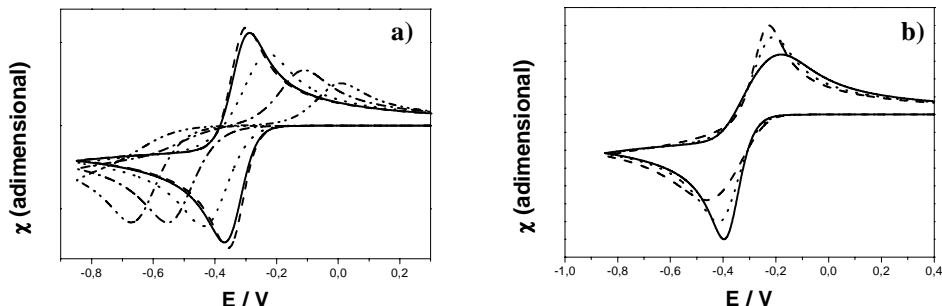


Fig. 2.15 a) Perfiles corriente-potencial teóricos calculados siguiendo el procedimiento de Nicholson (ver texto) con $\alpha_c = \alpha_a = 0,5$. Valores de ψ : 10 (----); 1,0 (—); 0,10 (.....); 0,010 (---); 0,0010 (-----). b) Perfiles corriente-potencial teóricos calculados siguiendo el procedimiento de Nicholson (ver texto) con $\psi = 0,10$. Valores de α_c : 0,50 (----); 0,70 (—); 0,30 (— —)

Difusión no lineal.

Cuando al menos una dimensión del electrodo es muy pequeña, el régimen de transporte de masa es función del tamaño. La difusión deja de ser lineal, y depende de la forma del electrodo. Estos electrodos se denominan microelectrodos [78,79]. Para electrodos esféricos, la difusión será esférica, para un disco plano de radio pequeño será hemisférica, etc (ver figura 2.16). Si la difusión no es lineal, los criterios antes expuestos se dejan de cumplir. La densidad de corriente será mayor que para el caso de difusión lineal ya que estas formas de difusión son más rápidas, por lo que aumenta la velocidad del proceso de transferencia de masa. Se puede considerar que la densidad de corriente para difusión esférica contiene dos componentes [78,79]:

$$i = i_{plano} + i_{esferico} = f(v) + f(r) \quad \text{Ecuación 2.47}$$

La corriente por difusión plana depende de v y la corriente por difusión esférica depende del radio del electrodo r (o del parámetro que mide la dimensión del electrodo que es pequeña), aumentando si éste disminuye. Por lo tanto, la corriente por difusión esférica se evidenciará a bajas v y para electrodos pequeños. En el caso límite, la forma del perfil corriente-potencial será la de una sigmoidea, sin pico, y cuyo valor de corriente mayor se denomina corriente límite (figura 2.18 b) y está dada por [78-79]:

$$i_l = 4nFDC_o^\infty r \quad \text{Ecuación 2.48}$$

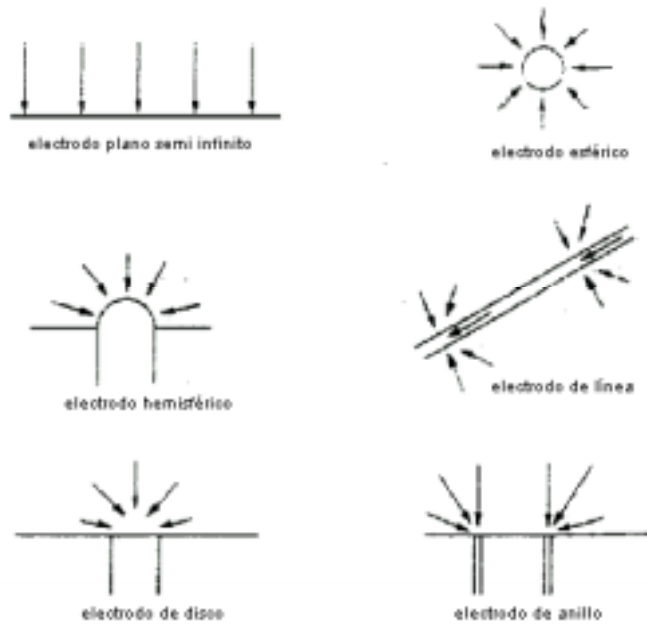


Fig. 2.16. Esquema de los tipos más comunes de microelectrodos y sus campos difusionales [78].

1

Si en vez de un electrodo pequeño se tiene un arreglo de microelectrodos (figura 2.17), se debe tener en cuenta la interacción de los flujos difusionales de cada microelectrodo individual. A tiempos cortos (velocidades de barrido altas) la concentración de O difiere de la del seno de la solución sólo muy cerca de la superficie activa, y la difusión es lineal. A tiempos intermedios, el gradiente de concentración se extiende a mayores distancias, comparables al tamaño del sitio activo, y la difusión se hace hemisférica. A tiempos largos (velocidades de barrido bajas), el gradiente de concentración se extiende a distancias comparables con la distancia entre microelectrodos, los campos difusionales individuales se solapan y la difusión lineal domina nuevamente el flujo de masa (figura 2.18) [80]. Cual valor de velocidad es alto y cual es bajo depende del sistema en particular (tamaño del sitio activo y separación de los mismos).

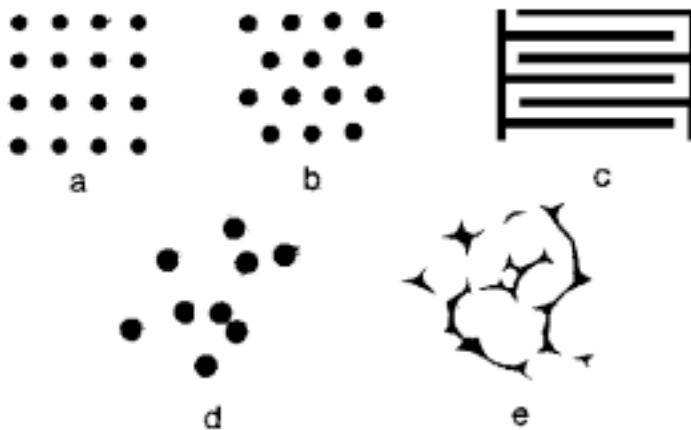


Fig. 2.17. Arreglos de microelectrodos tipo disco en patrones ordenados en cuadrados (a) y hexagonales (b), o microbandas interdigitadas (c), microdiscos ordenados al azar (d) o arreglos irregulares y desordenados (e) [80].

Se han hecho muchas descripciones cuantitativas del transporte de masa en arreglos de microelectrodos. Todas las aproximaciones coinciden en el comportamiento a bajas y a altas velocidades de barrido. En ambos casos la respuesta es la misma que se obtiene cuando el electrodo es macroscópico (difusión lineal). La corriente es proporcional al área geométrica total del electrodo (zonas activas e inactivas), para bajas velocidades y al área activa total para altas velocidades. A tiempos intermedios, cuando los campos difusionales comienzan a interactuar y eventualmente a solaparse, aparecen diferencias entre los distintos tratamientos del problema. Es solamente durante este intervalo que la corriente depende de la forma en que están ordenados los microelectrodos en el arreglo [80].

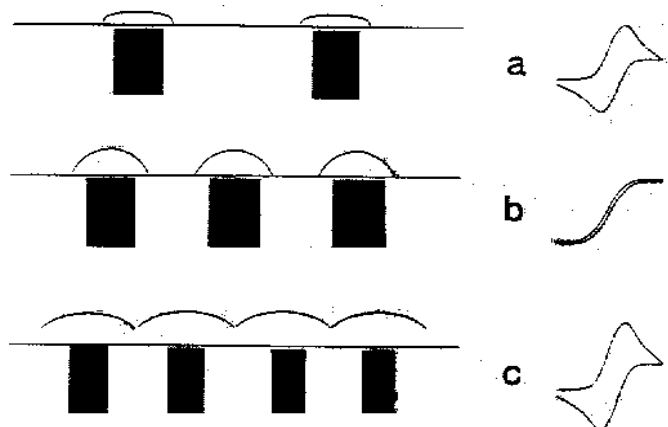


Fig. 2.18. Evolución de los perfiles de difusión en arreglos de microelectrodos. Las velocidades de barrido de los experimentos son: (a) altas (b) intermedias y (c) bajas. También se muestran esquemáticamente los voltagramas en cada caso [80].

A continuación se analizará el tratamiento del problema descrito por T. Gueshi, K. Tokuda y H. Matsuda [81,82], al cual denominaremos “modelo de Matsuda”. Consideremos el caso particular en el que N regiones activas circulares de radio a se ordenan en un arreglo hexagonal rígido, como el que muestra la figura 2.19a. Se puede dividir el espacio adyacente al electrodo en N prismas hexagonales semi infinitos con bases hexagonales regulares mostradas en la figura 2.19b. Por simplicidad, se considerará círculos cuya área sea igual a la del hexágono. Cada cilindro semi infinito será una celda unidad en el espacio (figuras 2.19). Por simetría, no hay flujo neto de reactivo entre las celdas unidades. Con estas consideraciones podemos definir:

$$\text{Area total de sitios activos: } q(1 - \theta) = \pi a^2 N \quad \text{Ecuación 2.49}$$

$$\text{Area total de sitios inactivos: } q(\theta) = \pi(b^2 - a^2)N \quad \text{Ecuación 2.50}$$

en donde q es el área geométrica del electrodo, θ es el cubrimiento ($\theta = 1 - (a/b)^2$) y b es el radio de la celda unidad. La ecuación de difusión de Fick escrita en coordenadas cilíndricas toma la forma:

$$\frac{\partial C_o}{\partial t} = D \left\{ \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial C_o}{\partial r} \right) + \frac{\partial^2 C_o}{\partial z^2} \right\} \quad \text{Ecuación 2.51}$$

en donde z es la coordenada normal a la superficie del electrodo.

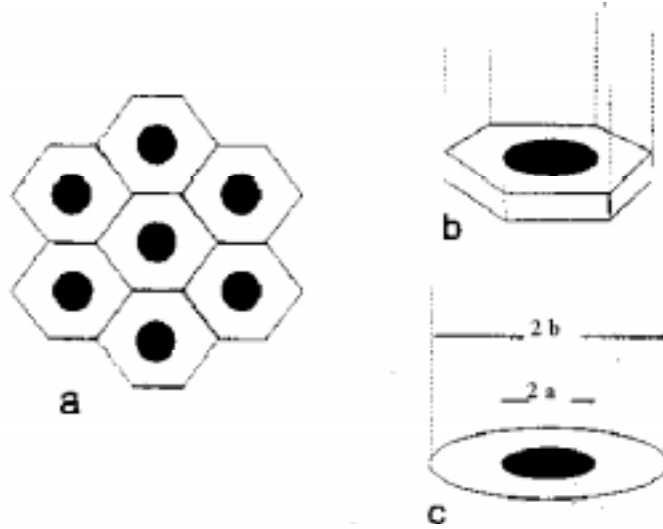


Fig. 2.19. Arreglo hexagonal de microdiscos (a), y celda unidad semi infinita de base hexagonal (b) y circular (c) [80].

Las condiciones de inicio y de contorno son:

$$\left. \begin{array}{l} t = 0, z \geq 0 \\ t > 0, z \rightarrow \infty \end{array} \right\} : C_o = C_o^\infty \quad \text{Ecuación 2.52}$$

$$t > 0, z = 0 : D \frac{\partial C_o}{\partial z} = \begin{cases} i/nF & (0 \leq r \leq a) \\ 0 & (a \leq r \leq b) \end{cases} \quad \text{Ecuación 2.53}$$

$$\left. \begin{array}{l} t \geq 0, r = b \\ t \geq 0, r = 0 \end{array} \right\} : D \frac{\partial C_o}{\partial r} = 0 \quad \text{Ecuación 2.54}$$

La corriente total que fluye a través del electrodo se obtiene integrando la densidad de corriente sobre toda la superficie del electrodo:

$$I = 2(nFDq/b^2) \left(\frac{\partial}{\partial z} \int_0^a C_o r dr \right)_{z=0} \quad \text{Ecuación 2.55}$$

Definamos:

$$\bar{C}_1 = \frac{2}{b^2} \int_0^a C_o r dr, \quad \bar{C}_2 = \frac{2}{b^2} \int_0^b C_o r dr \quad \text{Ecuación 2.56}$$

Entonces, utilizando las ecuaciones 2.49, 2.50, 2.53 y 2.55, se llega al siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\frac{\partial \bar{C}_1}{\partial t} = \frac{2aD}{b^2} \left(\frac{\partial C_o}{\partial r} \right)_{r=a} + D \frac{\partial^2 \bar{C}_1}{\partial z^2} \quad \text{Ecuación 2.57}$$

$$\frac{\partial \bar{C}_2}{\partial t} = -\frac{2aD}{b^2} \left(\frac{\partial C_o}{\partial r} \right)_{r=a} + D \frac{\partial^2 \bar{C}_2}{\partial z^2} \quad \text{Ecuación 2.58}$$

El término $D \left(\frac{\partial C_o}{\partial r} \right)_{r=a}$ denota el flujo de O de la zona II a la zona I (figura 2.20b). Como es difícil evaluar este término rigurosamente, se hará la siguiente aproximación: es razonable asumir que el transporte de masa entre II y I es proporcional a la diferencia de concentraciones medias en ambas zonas. El problema puede ser tratado como difusión radial en estado estacionario a un cilindro. Las concentraciones medias en las zonas I y II se encuentran en puntos internos y externos del cilindro divisor ($r = a$), a una distancia εa y $\varepsilon (b-a)$ respectivamente (figura 2.20b). Entonces para

$$r = a + \varepsilon(b-a) : C_o = \bar{C}_2 / \theta \quad \text{Ecuación 2.59}$$

$$r = a - \varepsilon a : C_o = \bar{C}_1 / (1 - \theta) \quad \text{Ecuación 2.60}$$

se cumple:

$$D \left\{ \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial C_o}{\partial r} \right) \right\} = 0 \quad \text{Ecuación 2.61}$$

La resolución de la ecuación 2.61 lleva a:

$$D \left(\frac{\partial C_o}{\partial r} \right)_{r=a} = \frac{D}{a\theta \ln(1 + \varpi / \sqrt{1 - \theta})} (\bar{C}_2 - \vartheta \bar{C}_1) \quad \text{Ecuación 2.62}$$

En donde:

$$\vartheta = \theta / (1 - \theta), \quad \varpi = \varepsilon / (1 - \varepsilon) \quad \text{Ecuación 2.63}$$

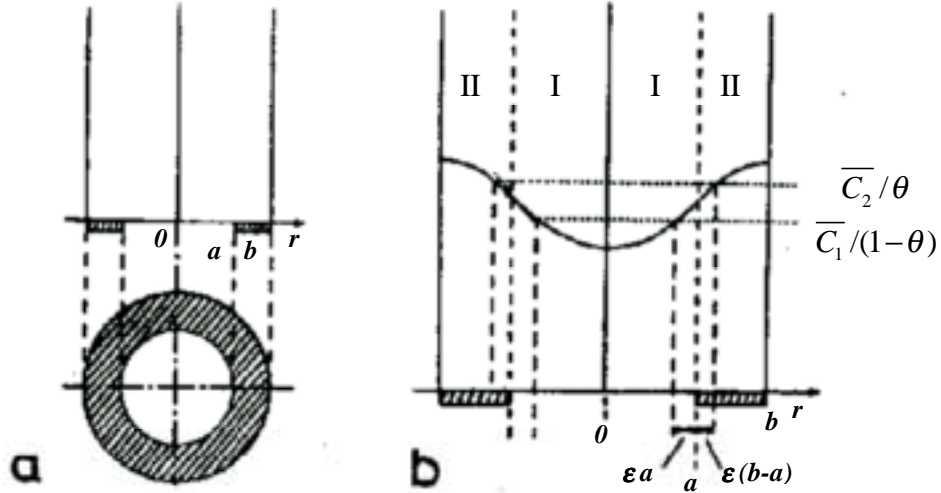


Fig. 2.20. Diagramas esquemáticos de las coordenadas del modelo de electrodo (a) y de los perfiles de concentración en el plano z [81].

Substituyendo la ecuación 2.62 en las 2.57 y 2.58 se obtiene:

$$\frac{\partial \bar{C}_1}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \bar{C}_1}{\partial z^2} + \lambda (\bar{C}_2 - \vartheta \bar{C}_1) \quad \text{Ecuación 2.64}$$

$$\frac{\partial \bar{C}_2}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \bar{C}_2}{\partial z^2} - \lambda (\bar{C}_2 - \vartheta \bar{C}_1) \quad \text{Ecuación 2.65}$$

en donde:
$$\lambda = \frac{D}{b^2} \frac{2}{\theta \ln(1 + \varpi / \sqrt{1 - \theta})} \quad \text{Ecuación 2.66}$$

La solución de este sistema es:

$$(\bar{C}_{j1})_{z=0} = (1-\theta) \left[C_j^0 \mp \int_0^t \frac{I(u) du}{nFq\sqrt{\pi D_j(t-u)}} \mp \frac{\theta}{1-\theta} \int_0^t \frac{\exp[-\lambda(t-u)] I(u) du}{nFq\sqrt{\pi D_j(t-u)}} \right] \quad \text{Ecuación 2.67}$$

La densidad de corriente durante el barrido de potencial está dada por la ecuación de Buttler-Volmer:

$$i(t) = nF \left\{ \bar{k}(C_O)_{z=0} - \bar{k}(C_R)_{z=0} \right\} \quad \text{Ecuación 2.68}$$

siendo:

$$\bar{k} = k^0 \exp[-\alpha(nF/RT)\{E(t) - E^0\}] \quad \text{Ecuación 2.69}$$

$$\bar{k} = k^0 \exp\left[(1-\alpha)(nF/RT)\{E(t) - E^0\}\right] \quad \text{Ecuación 2.70}$$

Reemplazando la ecuación 2.67 en la 2.68, se tiene:

$$i(t)/nFq = (1-\theta)k^0 e^{-\alpha\xi} \left[(D_o/D_R)^{\alpha/2} C_o^\infty \left\{1 - \sqrt{D_R/D_o} (C_R^\infty/C_o^\infty) e^\xi\right\} - (1+e^\xi) \int_0^t \frac{i(u)du}{nFq\sqrt{\pi D(t-u)}} \right]$$

$$\frac{1}{(1-\theta)} \int_0^t \left[\frac{\exp\{-\lambda_o(t-u)\} + \exp\{\xi - \lambda_R(t-u)\}}{nFq\sqrt{\pi D(t-u)}} \right] i(u)du \quad \text{Ecuación 2.71}$$

Como se dijo anteriormente, para un barrido de potencial triangular simétrico, definiendo t_R como el tiempo al cual se invierte el sentido del barrido de potencial, ξ toma la forma:

$$\xi(t) : \begin{cases} \frac{nF}{RT} (E_i - vt - E^0) & 0 \leq t \leq t_R \\ \frac{nF}{RT} (E_i - 2vt_R - E^0) & t \geq t_R \end{cases} \quad \text{Ecuación 2.72}$$

Definiendo D según la ecuación 2.73 y reordenando la ecuación 2.71, se obtiene la ecuación 2.74:

$$D = D_o^{1-\alpha} D_R^\alpha \quad \text{Ecuación 2.73}$$

$$\frac{i(t)}{nFq} = k_o e^{-\alpha\xi(t)} (1-\theta) \left\{ \left(\frac{D_o}{D} \right)^{1/2} C_o^\infty - \left(\frac{D_R}{D} \right)^{1/2} e^{\xi(t)} C_R^\infty - A - \frac{\theta}{1-\theta} B + C \right\} \quad \text{Ecuación 2.74}$$

en donde:

$$A = (1+e^{\xi(t)}) \int_0^t \frac{i(u)du}{nFq\sqrt{\pi D(t-u)}} \quad \text{Ecuación 2.75}$$

$$B = \int_0^t \frac{e^{-\lambda_o(t-u)} i(u)du}{nFq\sqrt{\pi D(t-u)}} \quad \text{Ecuación 2.76}$$

$$C = e^{\xi(t)} \int_0^t \frac{e^{-\lambda_R(t-u)} i(u)du}{nFq\sqrt{\pi D(t-u)}} \quad \text{Ecuación 2.77}$$

Siguiendo el procedimiento de Nicholson, se define: $m = nFv/RT$ y se realiza el siguiente cambio de variables: $mu = z$, con lo cual $i(u) = g(z)$ y $\xi(t) = \Psi(mt)$:

$$\Psi(mt) : \begin{cases} \frac{nF}{RT}(E_i - E^0) - mt & 0 \leq t \leq t_R \\ \frac{nF}{RT}(E_i - E^0) - 2mt_R + mt & t \geq t_R \end{cases} \quad \text{Ecuación 2.78}$$

Con lo que las ecuaciones 2.75-2.77 quedan:

$$A = \frac{(1 + e^\xi)}{nFq\sqrt{\pi D}} \int_0^t \frac{i(u) du}{\sqrt{(t-u)}} = \frac{(1 + e^{\Psi(mt)})}{nFq\sqrt{\pi D}} \int_0^{mt} \frac{g(z) dz}{\sqrt{m}\sqrt{(mt-z)}} \quad \text{Ecuación 2.79}$$

$$B = \frac{1}{nFq\sqrt{\pi D}} \int_0^t \frac{e^{-\lambda_o(t-u)} i(u) du}{\sqrt{(t-u)}} = \frac{1}{nFq\sqrt{\pi D}} \int_0^{mt} \frac{e^{-\frac{\lambda_o}{m}(mt-z)} g(z) dz}{\sqrt{m}\sqrt{(mt-z)}} \quad \text{Ecuación 2.80}$$

$$C = \frac{e^\xi}{nFq\sqrt{\pi D}} \int_0^t \frac{e^{-\lambda_R(t-u)} i(u) du}{\sqrt{(t-u)}} = \frac{e^{\Psi(mt)}}{nFq\sqrt{\pi D}} \int_0^{mt} \frac{e^{-\frac{\lambda_R}{m}(mt-z)} g(z) dz}{\sqrt{m}\sqrt{(mt-z)}} \quad \text{Ecuación 2.81}$$

Normalizando la corriente $g(mt)$ se obtiene una función proporcional adimensional, a la que llamaremos función corriente $\chi(mt)$:

$$\chi(mt) = \frac{g(mt)}{nFqC_o^\infty \sqrt{\pi D m}} \quad \text{Ecuación 2.82}$$

Como se hizo anteriormente con la ecuación 2.33 para difusión lineal semi-infinita, dividiremos el intervalo de integración desde $mt = 0$ a M en N subintervalos igualmente espaciados, a través del siguiente cambio de variables:

$$z = \delta \eta \quad \text{Ecuación 2.83}$$

definiendo: $n = mt / \delta$

Aquí, δ es el paso de integración ($\delta = M / N$) y n es el número serial del subintervalo. Así se llega a la siguiente ecuación:

$$\chi(\delta n) = \frac{k_o e^{-\alpha \Psi(\delta n)} (1 - \theta)}{\sqrt{\pi D m}} \left\{ \left[\left(\frac{D_o}{D} \right)^{1/2} - \left(\frac{D_R}{D} \right)^{1/2} e^{\Psi(\delta n)} \frac{C_R^\infty}{C_o^\infty} - (1 + e^{\Psi(\delta n)}) \int_0^n \frac{\chi(\delta \eta) \sqrt{\delta}}{\sqrt{n - \eta}} d\eta \right] - \frac{\theta}{(1 - \theta)} \left[\int_0^n \frac{e^{-\frac{\lambda_o \delta}{m}(n - \eta)} \chi(\delta \eta) \sqrt{\delta}}{\sqrt{n - \eta}} d\eta + e^{\Psi(\delta n)} \int_0^n \frac{e^{-\frac{\lambda_R \delta}{m}(n - \eta)} \chi(\delta \eta) \sqrt{\delta}}{\sqrt{n - \eta}} d\eta \right] \right\} \quad \text{Ecuación 2.84}$$

De forma similar a lo hecho anteriormente para el caso de difusión lineal, se pueden reescribir las integrales en forma de sumatorias, como se indica:

$$\int_0^n \frac{\chi(\delta\eta)\sqrt{\delta}}{\sqrt{n-\eta}} d\eta = 2\sqrt{\delta} \left[\chi(1)\sqrt{n} + \sum_{i=1}^{n-1} \sqrt{n-i}(\chi(i+1) - \chi(i)) \right] \quad \text{Ecuación 2.85}$$

$$\sqrt{\delta} \int_0^n \frac{e^{-\frac{\lambda_o \delta}{m}(n-\eta)}}{\sqrt{n-\eta}} \chi(\delta\eta) d\eta = \chi(1)\sqrt{\frac{\pi n}{\lambda_o}} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_o n}{m}}\right) + \sqrt{\frac{\pi n}{\lambda_o}} \sum_{i=1}^{n-1} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_o(n-i)}{m}}\right) (\chi(i+1) - \chi(i)) \quad \text{Ecuación 2.86}$$

$$\sqrt{\delta} \int_0^n \frac{e^{-\frac{\lambda_R \delta}{m}(n-\eta)}}{\sqrt{n-\eta}} \chi(\delta\eta) d\eta = \chi(1)\sqrt{\frac{\pi n}{\lambda_R}} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_R n}{m}}\right) + \sqrt{\frac{\pi n}{\lambda_R}} \sum_{i=1}^{n-1} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_R(n-i)}{m}}\right) (\chi(i+1) - \chi(i)) \quad \text{Ecuación 2.87}$$

Como se observa en las ecuaciones 2.85-2.87, para calcular $\chi(n)$ es necesario conocer $\chi(1)$ el cual se obtiene tomando $n = 1$:

$$\chi(1) = \frac{k_o e^{-\alpha\Psi(\delta)}(1-\theta) / \sqrt{\pi D m} \left[\left(\frac{D_o}{D}\right)^{1/2} - \left(\frac{D_R}{D}\right)^{1/2} e^{\Psi(\delta)} \frac{C_R^\infty}{C_o^\infty} \right]}{1 + \frac{k_o e^{-\alpha\Psi(\delta)}(1-\theta)}{\sqrt{\pi D m}} \left\{ (1 + e^{\Psi(\delta)}) 2\sqrt{\delta} + \frac{\theta}{(1-\theta)} \sqrt{\pi m} \left[\frac{1}{\sqrt{\lambda_o}} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_o}{m}}\right) + \frac{e^{\Psi(\delta)}}{\sqrt{\lambda_R}} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_R}{m}}\right) \right] \right\}} \quad \text{Ecuación 2.88}$$

Para $i = n-1$, el cálculo de $\chi(n)$ requiere conocer $\chi(n)$. Por ello se realiza lo siguiente:

$$\sum_{i=1}^{n-1} \sqrt{n-i} [\chi(i+1) - \chi(i)] = \chi(n) - \chi(n-1) + \sum_{i=1}^{n-2} \sqrt{n-i} [\chi(i+1) - \chi(i)] \quad \text{Ecuación 2.89}$$

Con lo cual $\chi(n)$ se calcula a partir de la ecuación final:

$$\chi(n) = \frac{k_o e^{-\alpha\Psi(\delta)}(1-\theta)}{\sqrt{\pi D m}} \left\{ \left(\frac{D_o}{D}\right)^{1/2} - \left(\frac{D_R}{D}\right)^{1/2} e^{\Psi(\delta)} \frac{C_R^\infty}{C_o^\infty} - (1 + e^{\Psi(\delta)}) 2\sqrt{\delta} \left[\chi(1)\sqrt{n} + \sum_{i=1}^{n-2} \sqrt{n-i} [\chi(i+1) - \chi(i)] - \chi(n-1) \right] \right. \\ \left. - \frac{\theta\sqrt{\pi m}}{(1-\theta)\sqrt{\lambda_o}} \left[\chi(1) \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_o n}{m}}\right) + \sum_{i=1}^{n-2} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_o(n-i)}{m}}\right) (\chi(i+1) - \chi(i)) - \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_o}{m}}\right) \chi(n-1) \right] \right\}$$

$$-\frac{\theta\sqrt{\pi m}}{(1-\theta)\sqrt{\lambda_R}} \left[\chi(1) \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_R n}{m}}\right) + \sum_{i=1}^{n-2} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_R (n-i)}{m}}\right) (\chi(i+1) - \chi(i)) - \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_R}{m}}\right) \chi(n-1) \right] /$$

$$/ \left\{ 1 + \left[(1 + e^{\psi(\delta n)}) 2\sqrt{\delta} + \frac{\theta\sqrt{\pi m}}{(1-\theta)\sqrt{\lambda_o}} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_o}{m}}\right) + \frac{\theta\sqrt{\pi m} e^{\psi(\delta n)}}{(1-\theta)\sqrt{\lambda_R}} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\frac{\delta\lambda_R}{m}}\right) \frac{k_o e^{-\alpha\psi(\delta n)} (1-\theta)}{\sqrt{\pi D m}} \right] \right\}$$

Ecuación 2.90

El valor de ε fue determinado experimentalmente por Matsuda et al. [82-83] empleando electrodos semibloqueados de diferente cubrimiento y valores de a , encontrándose un valor de 0,21 independiente de la estructura de la superficie.

En las figuras 2.21a y 2.21b se muestra como ejemplo voltagramas para diferentes valores de los parámetros θ y b calculados empleando el modelo de Matsuda et al. antes descrito.

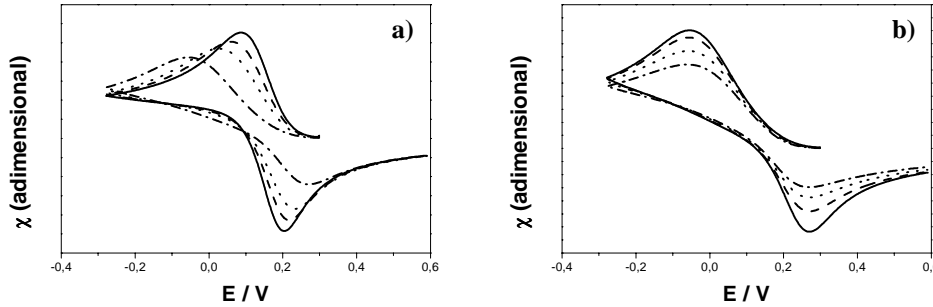


Fig. 2.21 a) Perfiles corriente-potencial teóricos calculados siguiendo el modelo de Matsuda et al. (ver texto) con $\alpha_c = \alpha_a = 0,5$. $D = 7 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$; $k^0 = 1 \cdot 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$; $b = 3 \cdot 10^{-3} \text{ cm}$; $\varepsilon = 0,210$, $\nu = 0,100 \text{ V s}^{-1}$. Valores de θ : 0,10 (—); 0,50 (— —); 0,70 (----); 0,90 (— - —). b) Perfiles corriente-potencial teóricos calculados siguiendo el modelo de Matsuda et al. con $\alpha_c = \alpha_a = 0,5$. $D = 7 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$; $k^0 = 1 \cdot 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$; $\theta = 0,90$; $\varepsilon = 0,210$, $\nu = 0,100 \text{ V s}^{-1}$. Valores de b : $1 \cdot 10^{-3} \text{ cm}$ (—); $3 \cdot 10^{-3} \text{ cm}$ (— —); $5 \cdot 10^{-3} \text{ cm}$ (----); $7 \cdot 10^{-3} \text{ cm}$ (— - —).

2.1.2.II-c. Espectroscopia de Impedancia Electroquímica.

En esta técnica, el circuito experimental debe ser comparado con un circuito electrónico cuya respuesta ante la misma perturbación sea análoga, llamado circuito equivalente. Los circuitos equivalentes más usuales son: una resistencia en serie con una capacidad y el circuito de Randless. Los mismos se detallan a continuación [65].

Circuito RC.

En la figura 2.22 se esquematiza este circuito, en donde una resistencia se encuentra en serie con un capacitor de placas paralelas. Este circuito se correlaciona a un experimento en el que sólo existe

corriente capacitiva, con ausencia de corriente faradaica. Es decir que es el caso en el que no se encuentra presente ninguna reacción redox sino solamente el electrolito soporte [65].

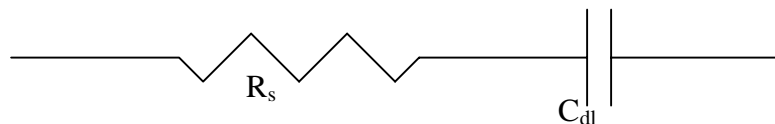


Fig. 2.22. Esquema de un circuito en donde una resistencia se encuentra en serie con un condensador

La resistencia se interpreta como la resistencia de la solución, la cual depende de la fuerza iónica, y la capacidad equivale a la capacidad de acumulación de iones en la zona de doble capa [65].

Circuito de Randles.

En la figura 2.23 se esquematiza este tipo de circuito, en donde una resistencia se encuentra en serie con una capacidad, la cual está en paralelo con una pseudocapacitancia. La interpretación física de este circuito implica la presencia de corriente faradaica y corriente capacitiva [65].

La pseudocapacitancia se suele separar en dos componentes:

1. Resistencia pura (R_c) relacionada con la corriente de intercambio.
2. Impedancia de Warburg (W) relacionada con la difusión de las especies.

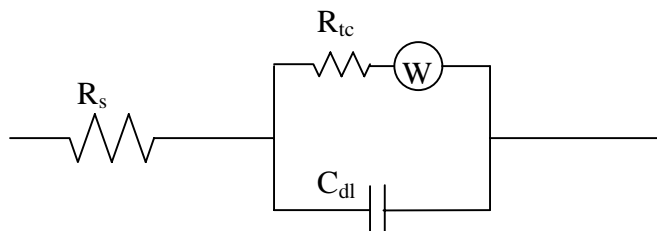


Fig. 2.23. Esquema de un circuito en donde una resistencia se encuentra en serie con un condensador, el cual está en paralelo con una pseudocapacitancia.

A través de algún software de ajuste es posible obtener los valores de R_c , R_{tc} , W y C_{dl} . En esta tesis se empleó el software de ajuste “Equivert” (“Equivalent Circuit”, por el Dr. B. Boukamp, de la Universidad de Twente, Países Bajos). Una vez obtenidos estos valores, es de interés relacionarlos con los parámetros que caracterizan el sistema bajo estudio. Para la interpretación de C_{dl} en presencia de moléculas orgánicas sobre el electrodo, se debe considerar que la capacidad de la doble capa disminuye respecto a la superficie limpia, debido a que la acumulación de iones se ve impedida por la presencia de las moléculas hidrofóbicas. Si la monocapa transferida al electrodo es compacta, se puede considerar que la interfase se comporta como un capacitor [83]. En ese caso:

$$C = \frac{\epsilon\epsilon_0}{d_H} \quad \text{Ecuación 2.91}$$

en donde d_H es el espesor de la cadena hidrocarbonada, ϵ_0 es la permitividad del vacío y ϵ la de la monocapa.

Se puede demostrar que, para un proceso electroquímico cuasi reversible, con coeficientes de difusión para la especie oxidada y reducida (D) iguales, e igual espesor de capa difusa δ , la resistencia a la transferencia de carga está dada por [65]:

$$R_{tc} = \frac{RT}{n^2 F^2 k^0} \frac{1 + \frac{D}{\delta k^0} \exp(\alpha_c \psi) + \exp(\psi)}{\left[\alpha_c \frac{D}{\delta k^0} + \exp(\alpha_a \psi) \right] C_0^\infty + \left[\alpha_a \frac{D}{\delta k^0} + \exp(\psi) \right] C_R^\infty} \quad \text{Ecuación 2.92}$$

En donde $\psi = \frac{nF}{RT} \eta$; y el resto de los símbolos tienen el significado usual.

2.1.2.II-d. Elipsometría.

Para el análisis de los resultados elipsométricos se empleó un modelo de película simple, homogénea, con anisotropía óptica según el eje normal al electrodo [67]. Los programas utilizados para el ajuste de los datos experimentales no fueron desarrollados durante la presente tesis por lo que su detalle no se discuten aquí.

2.2 Equipos y Reactivos.

2.2.I. Monocapas de Lípidos.

Dimiristoilfosfatidilcolina (dmpe), galactocerebrósido (galcer) y esfingomielina (sphm) (de cerebro bovino) fueron adquiridos de Avanti Polar Lipids y utilizados sin purificación adicional. Sulfátido (sul) fue purificado de cerebro bovino como se describe en [84,85].

Las soluciones utilizadas como subfase fueron preparadas con agua ultrapura sistema MilliQ (18 M Ω) o bidestilada. Las isotermas se realizaron sobre agua pura o sobre las soluciones que se emplearon para las medidas electroquímicas.

Para las isotermas presión lateral-área molecular se utilizó una cuba de PTFE con barreras del mismo material, refrigerada con un termostizador Haake F3C. La temperatura se mantuvo en (25 ± 1) °C. La balanza utilizada emplea el método de Wilhelmy con un cuerpo de platino platinizado y fue construida en el laboratorio.

El potencial superficial se midió con un electrodo de ^{241}Am y un electrodo de calomel saturado conectado con la subfase a través de un puente salino. Para la adquisición de datos de las isotermas se acoplaron la balanza y el multímetro a un registrador xy.

Como mínimo, se registraron y promediaron tres isotermas individuales.

2.2.II. Medidas Electroquímicas.

Las medidas electroquímicas se llevaron a cabo en una celda convencional para tres electrodos fabricada en el laboratorio, con posibilidad de purgar la solución con N_2 y de mantenerla termostalizada. Como electrodo de trabajo se utilizó carbono vítreo de fabricación casera y comerciales (CH Instruments). Siempre fueron pulidos a mano con alúmina de diferente tamaño de grano (1; 0,5 y 0,03 μm) adquiridos en CH Instruments sobre paños suaves del mismo origen.

Como contra electrodo se utilizó una malla de platino, y como electrodo de referencia un electrodo comercial de $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$ (3M) de Cypress System. Todos los potenciales de la presente tesis se informan respecto al potencial de este electrodo de referencia. Este electrodo fue colocado dentro de un tubo de vidrio que termina en un capilar de Luggin para disminuir la resistencia pseudo-ohmica.

Siempre se partió de una solución de entre 1 y 5 mM de la especie oxidada. Como electrolito soporte en todos los casos se utilizó NaNO_3 20 mM (grado analítico, Mallinckrodt). Las soluciones se prepararon con agua ultrapura sistema MilliQ (18 M Ω). El CaCl_2 empleado fue de marca Sigma.

Las soluciones de la especie oxidada para cada cupla redox se prepararon como se indica a continuación:

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$: Se utilizó hexacianoferrato de potasio, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (NBS, Biologicals), al pH de la solución (alrededor de 7).

$\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$: Se utilizó cloruro de hexaaminrutenio (III), $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ (Stream Chemicals), al pH de la solución (alrededor de 5).

$\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$: Este complejo se preparó a partir de nitrato de cobre (II) trihidratado $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Anedra) y NH_4OH (Carlo Erbo) en exceso. Luego el pH se llevó a alrededor de 9 con HNO_3 (Cicarelli).

$\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-}/\text{Fe}(\text{EDTA})^{2-}$: Este complejo se preparó a partir de nitrato de hierro (III) nonahidratado, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ (Sigma) y EDTA ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$) marca Merck al pH de la solución (alrededor de 4).

Todos los reactivos empleados fueron de grado analítico.

Las medidas por voltametría cíclica fueron realizadas utilizando un potenciostato y generador de ondas Solartrón Modelo SI 1287A, acoplado a un registrador xy (BAS o Hewlett Packard) o a un software de adquisición de datos elaborado en el laboratorio. También se utilizó un Analizador electroquímico Autolab Modelo PGSTAT 30.

Para las técnicas de pulso se utilizó el potenciostato y generador de ondas Solartrón Modelo SI 1287A, acoplado a un registrador xy (BAS o Hewlett Packard).

Las medidas de impedancia electroquímica se realizaron con un equipo Zhaner Modelo IM5d.

2.2.III. Medidas Ópticas.

Las medidas de epifluorescencia se realizaron utilizando como marcador perclorato de 1,1'-didodecil-3,3,3',3'-tetrametilindocarbocianina (DiIC_{12}) y perclorato de 1,1'-dioctadecil-3,3,3',3'-tetrametilindocarbocianina (DiIC_{18}), de Molecular Probes. Las observaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente, en una cuba de PTFE especialmente diseñada, equipada con barreras de PTFE y un cuerpo de platino platinizado acoplado a una microbalanza Cahn C32. Tanto la cuba como la microbalanza fueron montados en el microscopio. Un cilindro de PTFE, abierto en un costado fue utilizado a fin de restringir el movimiento lateral de la monocapa y poder así fotografiarla. Se utilizó un microscopio de epifluorescencia Zeiss Axioplan (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) con lámpara de mercurio HBO 50, diferentes objetivos y un set de filtros de fluoresceína. Los tiempos de exposición fueron del orden de los 0,1-1 s. Las fotos fueron tomadas con una video cámara CCD (Micromax, Princeton Instruments, inc. , USA) comandada a través del software Metamorph 3.0 (Universal Imaging Corporation, PA. USA). Para el análisis de las monocapas transferidas se observó directamente el electrodo modificado por diferente cantidad de capas de cada lípido en estudio.

Para las medidas elipsométricas se utilizó un elipsómetro para películas delgadas, tipo 43702-200E, de Rudolph Research, Flanders, N. J., U.S.A. La lámpara fue de W/Halógeno, con un filtro que solo deja pasar luz de 546.1 nm de longitud de onda. En la figura 2.24 se muestra un esquema de la vista lateral de la celda empleada para las medidas en la interfase electrodo-solución, tanto a circuito abierto como bajo la acción de un campo eléctrico. Al frente de esta celda se encuentra un capilar de Luggin de vidrio donde se coloca el electrodo de referencia y detrás hay un tubo de vidrio que permite el burbujeo de N_2 .

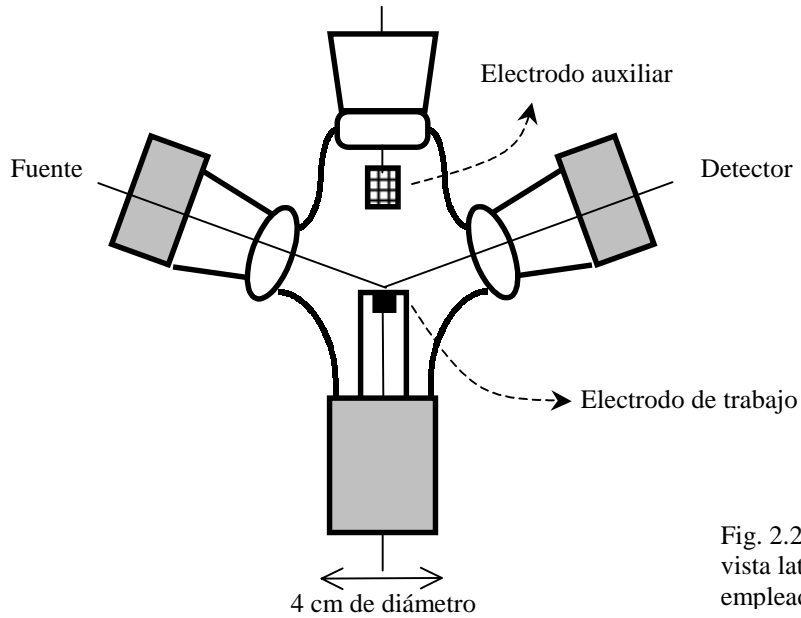


Fig. 2.24. Esquema de la vista lateral de la celda empleada para las medidas

Las medidas de microscopia de fuerza atómica se realizaron utilizando un microscopio de Molecular Imaging, con puntas de silicona cubiertas con W/Al de forma triangular y de $0,35$ ó 6 N m^{-1} de constante de fuerza. En la figura 2.25 se muestra un esquema del electrodo empleado, el cual consta de una barra de carbono vítreo de $0,4 \text{ cm}$ de diámetro y $0,2 \text{ cm}$ de alto, empotrada en PTFE. Las medidas se realizaron colocando una gota de agua sobre el electrodo, entre la punta y el carbono vítreo. El electrodo se adhirió a un soporte metálico el cual se monta al equipo por medio de imanes.

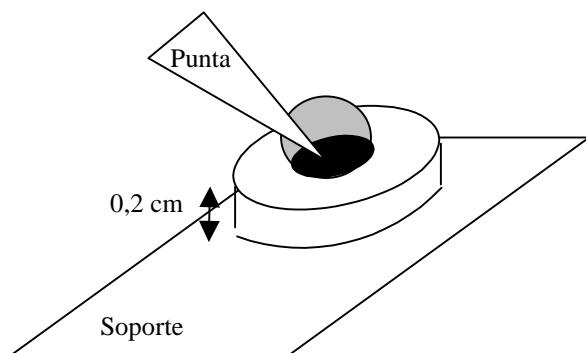


Fig. 2.25. Esquema del electrodo empleado en las medidas de AFM.
El carbono vítreo es una barra de $0,4 \text{ cm}$ de diámetro.

Para los espectros de Infrarrojo se utilizó un espectrómetro modelo Nexus (Nicolet) con Transformada de Fourier, con detector de Mercurio, Cadmio y Telurio, refrigerado con aire líquido. Las ventanas utilizadas fueron de CaF_2 . Para las medidas por reflexión externa (ERS) se utilizaron

prismas de 60° de CaF_2 y para las medidas por ATR (attenuated total reflection) se utilizó un prisma de Germanio. En la figura 2.26 se muestra un esquema de la celda empleada para las medidas en la interfase electrodo-solución, tanto a circuito abierto como bajo la acción de un campo eléctrico.

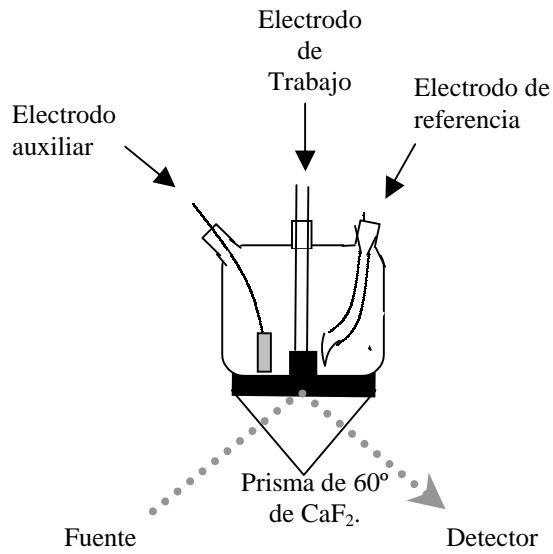


Fig. 2.26. Esquema de la celda empleada para las medidas de ERS-IR.

Capítulo 3. Características de las Reacciones de Óxido-Reducción Empleadas.

Resumen

En este capítulo se analiza el comportamiento electroquímico de cada reacción de transferencia electrónica empleada durante la presente tesis, así como las características y el ancho de la ventana de potencial para el electrodo y el electrolito soporte utilizados. Para caracterizar el comportamiento de cada reacción, se calculó la velocidad del proceso de transferencia de carga sobre electrodos de carbono vítreo limpio, recién pulido. También se calcularon los coeficientes de difusión de cada ion electroactivo y se estudió el efecto de la presencia del ion Ca^{2+} en la celda electroquímica.

Así, se encontró que la cupla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, a pesar de ser una de las cuplas más usadas como ejemplo de reacción reversible [6,7], no tiene una respuesta sencilla, sino que es altamente compleja y su respuesta es muy dependiente del estado superficial del electrodo, así como de la fuerza iónica. Estos resultados coinciden con la bibliografía existente en esta área [86-90]. Esta cupla, en presencia de la cupla $\text{Ru}(\text{NH})_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH})_6^{2+}$ se hace más rápida y parece formar alguna especie insoluble.

La cupla catiónica $\text{Ru}(\text{NH})_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH})_6^{2+}$ es rápida, de esfera externa e independiente de la composición iónica de la solución, confirmando lo que se afirma en bibliografía [91].

Las dos cuplas restantes, $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$ y $\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-}/\text{Fe}(\text{EDTA})^{2-}$, tienen velocidades intermedias y la respuesta electroquímica de ambas depende de la cantidad de Ca^{2+} presente en la celda electroquímica.

3.I. Perfil Corriente-Potencial de Carbono Vítreo.

El carbono vítreo se caracteriza por tener una amplia ventana útil de potencial. Para las soluciones con las que se trabajó (NaNO_3 como electrolito soporte, pH entre 3 y 9), los límites de la ventana están dados por reducción de oxígeno disuelto (límite catódico) y por formación de óxidos (límite anódico). Siempre se trabajó a potenciales lejos del límite anódico pero cerca del catódico, por lo que las soluciones empleadas siempre se encuentran saturadas de N_2 para minimizar la cantidad de O_2 disuelto, minimizando así la corriente faradaica debido a este proceso.

3.II. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

Se comenzó utilizando esta cupla redox debido a que existen antecedentes en los que se había empleado para fines similares [6]. El $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ es muy empleado y su reacción electroquímica suele ser considerada como de esfera externa, reversible y sencilla. Sin embargo, se

conoce de literatura que éste no es el caso, sino que es una reacción altamente compleja y que el proceso a través del cual ocurre la óxido-reducción depende de la naturaleza y concentración de iones presentes en solución. También es altamente dependiente del estado superficial del electrodo [86-90].

Teniendo esto en cuenta, sumado a que las condiciones superficiales del electrodo utilizado no son óptimas ya que solamente fue pulido a mano sin activación química ni electroquímica (ver Capítulo 1.2), es esperable que los voltagramas obtenidos sean sumamente irreproducibles. Por ello se realizaron reiterados experimentos, luego de lo cual se analizó la significancia de cada resultado.

La figura 3.1 muestra ejemplos de voltagramas medidos sobre diferentes superficies de carbono vítreo recién pulido.

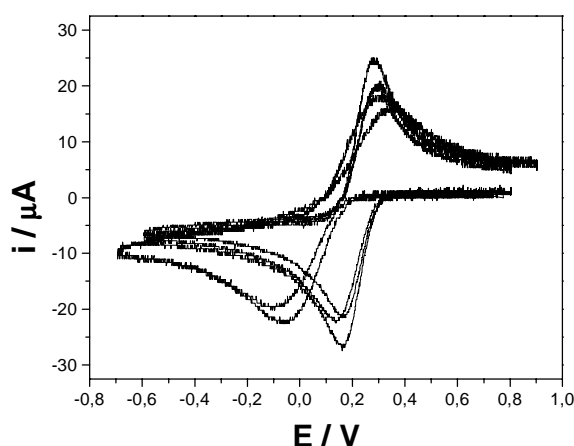


Fig. 3.1. Perfiles corriente-potencial para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre carbono vítreo recién pulido para cinco experimentos independientes. Electrolito soporte: NaNO_3 20 mM. pH de la solución (aproximadamente 6). Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

Estos voltagramas fueron ajustados con perfiles teóricos calculados a partir del modelo de cálculo de Nicholson explicado en el Capítulo 2. Así se obtuvo una constante de velocidad de transferencia de carga promedio de $2 \cdot 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$.

Utilizando cronoamperometría se calculó el coeficiente de difusión para la especie oxidada. La figura 3.2 muestra la corriente en función de la recíproca de la raíz cuadrada del tiempo para un experimento de pulso. Este gráfico debería ser lineal siempre que se cumpla la ecuación de Cottrell (capítulo 2), lo cual ocurre a tiempos intermedios. Por cuadrados mínimos se ajustó esta zona a una función lineal de cuya pendiente se obtuvo el coeficiente de difusión (D). El valor encontrado fue mayor al informado en literatura [81,82]. Se encontró un coeficiente de difusión de $3,7 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, mientras que el de bibliografía es $7 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Las fuentes de error conocidas de la técnica empleada son el área del electrodo y la concentración de la especie con actividad redox. La concentración introduciría error en D por defecto ya que la misma sólo puede ser menor a la teórica. El área geométrica puede ser mayor a la teórica empleada en el cálculo de D ya que el electrodo no es perfectamente plano sino que siempre se encuentra redondeado, aunque este efecto se trate siempre de minimizar. Por otro lado, puede ocurrir que no se encuentre perfectamente empotrado dentro del recubrimiento de plástico, y que por tanto se introduzca solución entre el plástico y el carbono vítreo. Ambas fuentes de error se traducirían a un D mayor al real, por lo que ambos efectos, así como algún error indeterminado, pueden ser causantes de la diferencia entre el D de bibliografía y el calculado.

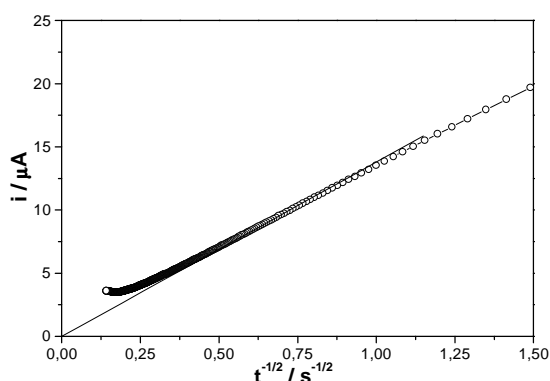


Fig. 3.2. Corriente en función de $t^{-1/2}$ en un experimento de cronoamperometría (\circ). Ajuste por cuadrados mínimos ($—$) Composición de la solución: $K_3Fe(CN)_6$ 1,28 mM + $NaNO_3$ 26 mM.

Uno de los objetivos propuestos al iniciar la tesis fue analizar el efecto producido por el catión Ca^{2+} en las capas de lípido sobre el electrodo a través del efecto sobre la respuesta voltamétrica del ion electroactivo. Por ello se estudió el efecto del Ca^{2+} sobre esta reacción de óxido-reducción. En bibliografía se informa que la cupla $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$ cambia su comportamiento en medios de alta fuerza iónica [86-88,90]. Se encontró que en particular, el ion Ca^{2+} modifica en forma dramática su reversibilidad. En la figura 3.3 se observan dos voltagramas para esta reacción en presencia y en ausencia de $CaCl_2$. El voltagrama en presencia de $CaCl_2$ presenta una diferencia de picos anódico y catódico menor que el voltagrama en ausencia de Ca^{2+} . A su vez, la corriente también se ve afectada, siendo mayor en presencia que en ausencia de Ca^{2+} . En la figura 3.4 se muestra la variación de la constante de velocidad para el proceso de transferencia de carga a medida que se agrega $CaCl_2$ a la celda electroquímica. La constante de velocidad fue calculada utilizando el procedimiento de Nicholson descrito en el Capítulo 2 y luego fue normalizada, dividiéndola por el valor encontrado en ausencia de $CaCl_2$. Los valores mostrados y las bandas de error en la figura provienen de promediar siete experimentos independientes. Puede observarse que para concentraciones mayores a 0,02 M, la constante prácticamente no varía.

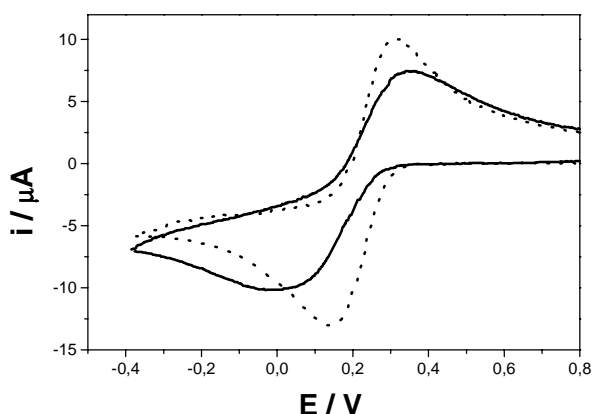


Fig. 3.3. Perfil corriente potencial para la reacción de oxidoreducción del $K_3Fe(CN)_6$ en ausencia ($—$) y en presencia (\cdots) de $CaCl_2$. Composición de la solución: $K_3Fe(CN)_6$ 4,8 mM + $NaNO_3$ 20 mM. $CaCl_2$ 20 mM. Velocidad de barrido: $0,100\text{ V s}^{-1}$.

Para intentar explicar los efectos provocados por el ion Ca^{2+} en la respuesta voltamétrica de $K_3Fe(CN)_6$ se realizaron espectros UV-V de soluciones de los iones por separado y de la mezcla. Como se observa en la figura 3.5, en solución no existe ningún tipo de interacción entre ambas

especies, por lo que el aumento de velocidad de la reacción de transferencia no es debido a la formación de alguna especie en solución.

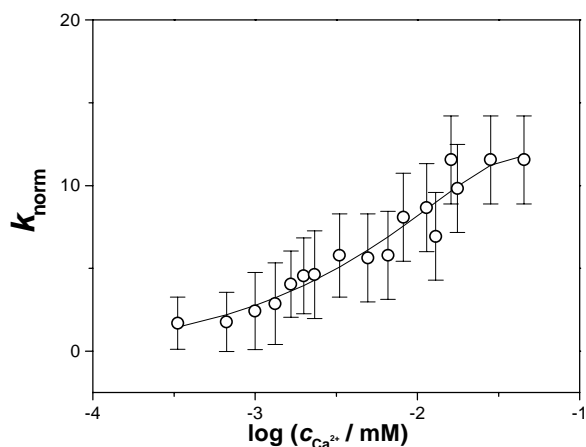


Fig. 3.4. Variación de la constante de velocidad para el proceso de transferencia de carga de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ normalizada por la constante en ausencia del ion Ca^{2+} con la concentración de Ca^{2+} agregado a la celda electroquímica.

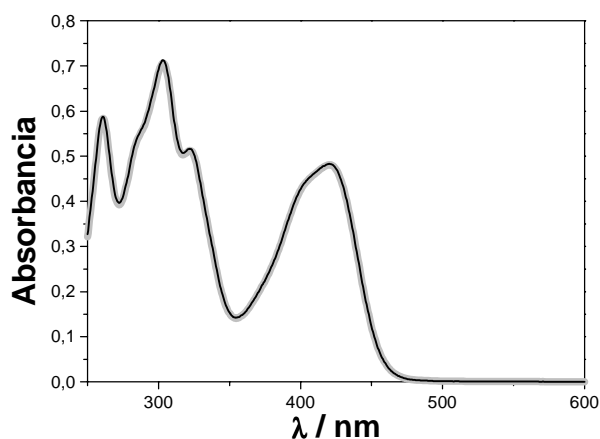


Fig. 3.5. Espectro UV-V de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (—), y de la mezcla del complejo con el ion Ca^{2+} (---).

Durante la tesis se intentó analizar el efecto de la presencia de capas de lípido sobre el electrodo simultáneamente para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ y $\text{Ru}(\text{NH})_6^{3+} / \text{Ru}(\text{NH})_6^{2+}$. Para ello, se analizaron voltagramas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en presencia de $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH})_6$. Así se encontró que esta reacción de óxido-reducción también cambia su comportamiento en medios que contienen el complejo de $\text{Ru}(\text{NH})_6^{3+} / \text{Ru}(\text{NH})_6^{2+}$. El proceso de transferencia de carga de esta cupla ocurre a mayor velocidad si en la celda electroquímica se encuentra presente una pequeña cantidad de $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH})_6$, como se muestra en la figura 3.6.

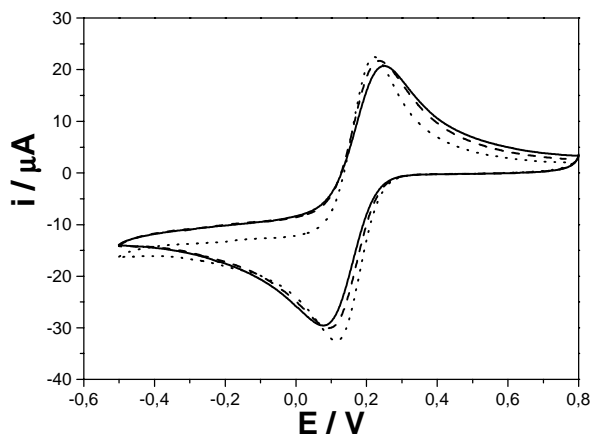


Fig. 3.6. Perfil corriente-potencial para la reacción $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en ausencia de $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH})_6$ (—), y en presencia de $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH})_6$: 6,4 μM (línea cortada) y 14,1 μM (····). Composición de la solución: $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + NaNO_3 20 mM.

En la figura 3.7 se grafica la constante de velocidad del proceso de transferencia de carga de la reacción de óxido-reducción $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en presencia de distintas cantidades de $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH})_6$. A concentraciones del complejo de Rutenio mayores a 100 μM la constante ya no modifica su valor. A altas concentraciones de $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH})_6$ se observa también la aparición de un sólido anaranjado, formado por ambos complejos.

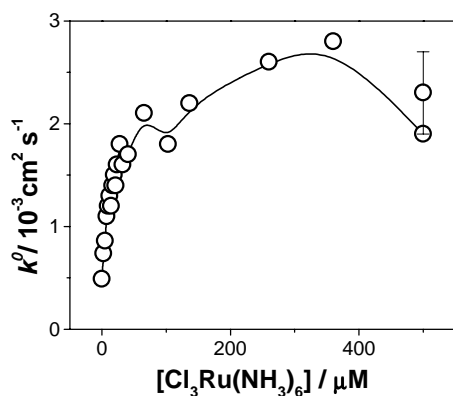


Fig. 3.7. Valores de la constante de velocidad para el proceso de transferencia de carga en función de la concentración de $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH})_6$ presente en la celda electroquímica. Composición de la solución: $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + NaNO_3 20 mM.

La reacción de óxido reducción de $\text{Ru}(\text{NH})_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH})_6^{2+}$ ocurre a potenciales más catódicos que la reacción de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (ver figura 3.8) por lo que no es posible que $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH})_6$ actúe como mediador redox. Es posible que el par iónico formado por ambos complejos disminuya la carga del complejo aniónico y ayude así a su transferencia de carga, tal como ocurre por el agregado de Ca^{2+} .

Es evidente que tanto $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH})_6$ como Ca^{2+} tienen una interacción muy particular con el complejo aniónico, ya que tanto el ion Na^+ como el ion Mg^{2+} no inducen cambios tan marcados en la respuesta electroquímica del mismo (datos no mostrados).

3.III. $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+} / \text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$.

A diferencia del caso anterior, los dos iones que forman esta cupla se encuentran siempre con carga positiva. Esta cupla es conocida por su alta reversibilidad electroquímica, así como por ser de esfera externa, de naturaleza sencilla e independiente del electrodo [91,92]. Su respuesta tampoco depende de la cantidad de electrolito soporte (siempre y cuando esté en exceso, como para toda cupla) ni de la naturaleza del mismo. La figura 3.8 muestra perfiles corriente-potencial típicos para esta reacción redox. La constante de velocidad del proceso de transferencia de carga promedio para esta cupla bajo estas condiciones es $4 \cdot 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$.

En la figura 3.9 se observa la corriente como función de la recíproca de la raíz cuadrada del tiempo en un experimento de cronoamperometría. De la pendiente de esta gráfica en la zona de tiempos intermedios en los que el comportamiento es lineal, se puede obtener un valor de coeficiente de difusión de $9,4 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Este valor fue calculado teniendo en cuenta la corrección por diferencias entre área geométrica real y teórica encontradas en el cálculo del coeficiente de difusión de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$.

Para esta cupla redox no hay cambios en el perfil corriente-potencial cuando se agrega CaCl_2 a la celda electroquímica en cualquier proporción.

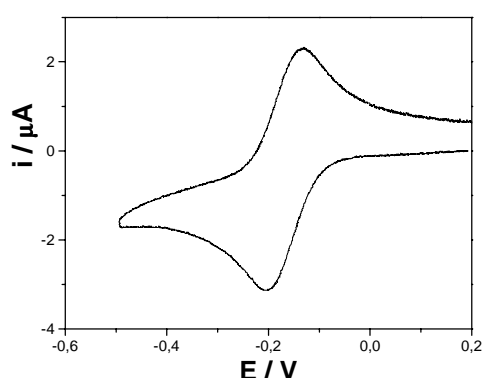


Fig. 3.8. Perfil corriente-potencial para la reacción de óxido-reducción de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$. Composición de la solución: $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH}_3)_6$ 1 mM + NaNO_3 26 mM. Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

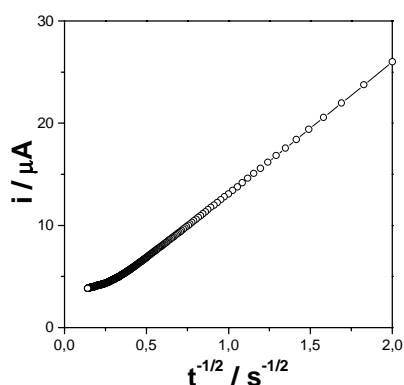


Fig. 3.9. Corriente en función de $t^{-1/2}$ en un experimento de cronoamperometría. Composición de la solución: $\text{Cl}_3\text{Ru}(\text{NH}_3)_6$ 1,20 mM + NaNO_3 27 mM.

3.IV. $\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-} / \text{Fe}(\text{EDTA})^{2-}$.

En la figura 3.10 se observa la respuesta corriente-potencial típica para esta reacción redox. Para la misma se encuentra una constante de velocidad para el proceso de transferencia de carga promedio de $8 \cdot 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$. El coeficiente de difusión calculado utilizando cronoamperometría y corrigiendo el área del electrodo es de $8,5 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

En este caso, el agregado de CaCl_2 en concentraciones de 0,02 M o menores (cantidades en las que la respuesta voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ya no cambia) no afectan la forma del voltograma. Cantidades superiores producen primero un ligero aumento en la corriente de pico anódico y disminución en la diferencia de potencial de pico, y luego producen efectos contrarios

(ver figuras 3.11 a 3.13). La razón de este comportamiento se desconoce y este fenómeno no fue estudiado en más detalle.

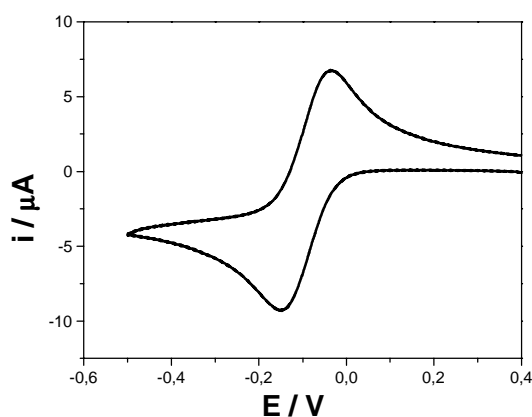


Fig. 3.10. Perfil corriente-potencial para la reacción de óxido-reducción de $\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-}$. Composición de la solución: 1 mM $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ + 10 mM EDTA +20 mM NaNO_3 . Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

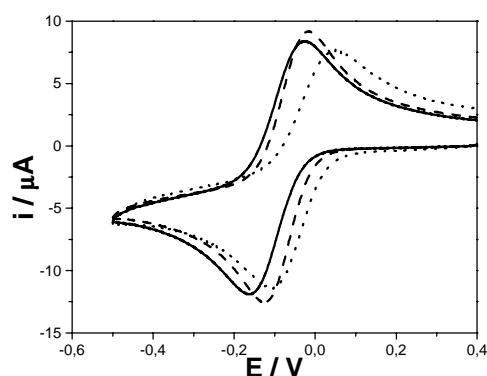


Fig. 3.11. Efecto del CaCl_2 en el perfil corriente-potencial para la reacción de óxido-reducción de $\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-}$. Composición de la solución: 1 mM $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ + 10 mM EDTA +20 mM NaNO_3 (—), idem + CaCl_2 48 mM (---), idem + CaCl_2 0.6 M (.....). Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

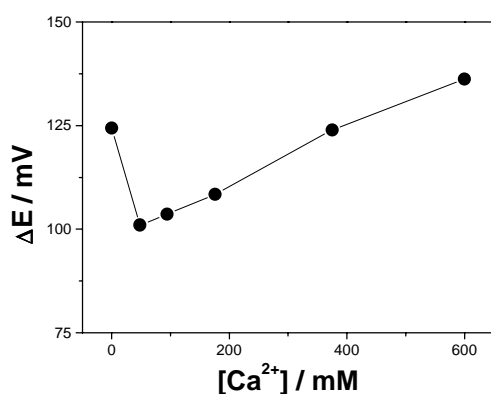


Fig. 3.12. Efecto del CaCl_2 en la diferencia de potencial de pico para la reacción de óxido-reducción de $\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-}$. Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

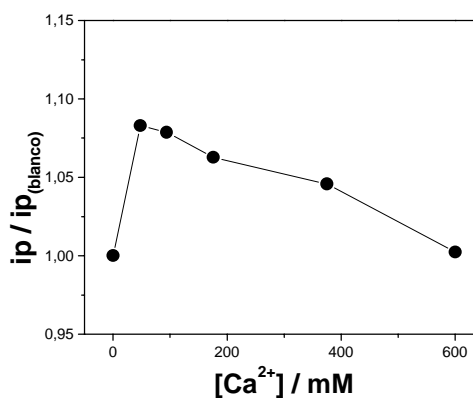


Fig. 3.13. Efecto del CaCl_2 en la corriente de pico anódico para la reacción de óxido-reducción de $\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-}$. Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

3.V. $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+} / \text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$.

En la figura 3.14 se observa la respuesta corriente-potencial típica para esta reacción redox. Ajustando el voltagrama a perfiles teóricos utilizando el procedimiento de Nicholson, se encontró una constante de velocidad para el proceso de transferencia de carga promedio de $3 \cdot 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$. El coeficiente de difusión calculado utilizando cronoamperometría y corrigiendo el área del electrodo es de $15 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

El efecto del CaCl_2 sobre esta cupla se observa en la figura 3.15. El agregado de Ca^{2+} a la celda electroquímica produce una disminución de las corrientes de pico con un concomitante aumento en la diferencia de potencial de pico. En la figura 3.16 se resume la variación de la corriente de pico catódica normalizada en función de la concentración de Ca^{2+} . Como en el caso de $\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-} / \text{Fe}(\text{EDTA})^{2-}$, la razón de este comportamiento se desconoce y este fenómeno no fue estudiado en más detalle.

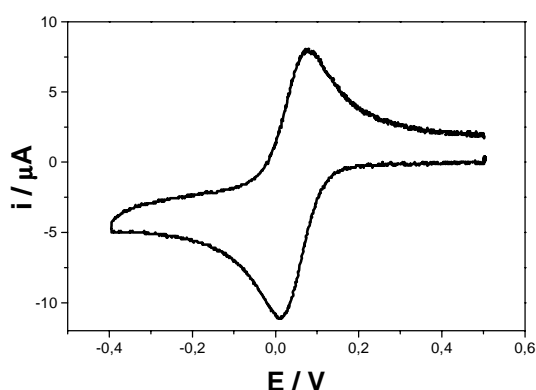


Fig. 3.14. Perfil corriente-potencial para la reacción de óxido-reducción de $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$. Composición de la solución: $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ y NaNO_3 20 mM, pH = 9. Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

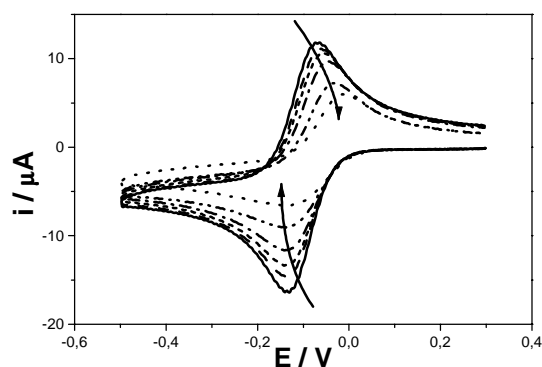
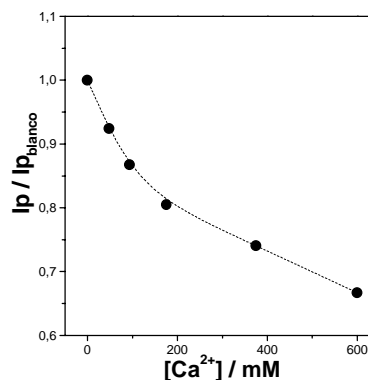


Fig. 3.15. Efecto del CaCl_2 en el perfil corriente-potencial para la reacción de óxido-reducción de $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$. Composición de la solución: $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ y NaNO_3 20 mM, pH = 9 (—). Los demás tienen cantidades crecientes de CaCl_2 según las flechas en las cantidades que se detallan a continuación: 48, 94, 176, 375 y 600 mM. Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

Fig. 3.16. Efecto del CaCl_2 en la corriente de pico anódica para la reacción de óxido-reducción de $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$. Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.



Capítulo 4: Comportamiento de los Lípidos en la Interfase Solución Acuosa-Aire.

Resumen

En este capítulo se analiza el comportamiento de interfase de cada lípido empleado durante la presente tesis. Con el objeto de estudiar el efecto de cada ion en el empaquetamiento del lípido, se utilizan como subfases agua o las soluciones empleadas en las medidas electroquímicas.

Se encuentra que galcer forma las monocapas más compactas en la interfase agua-aire y dmpe las más laxas, encontrándose sul y sphm en un estado intermedio, como se informa en bibliografía [93,99].

En general, la presencia de iones en la subfase no produce cambios drásticos en las isothermas presión lateral-área molecular, salvo en el caso de dmpe sobre $K_3Fe(CN)_6$ y $CaCl_2$, en el cual se induce un cambio de fase.

Luego de realizar un análisis comparativo de las isothermas de cada lípido, se decide que la presión de transferencia a emplear para cubrir el electrodo con capas de lípido será de 40 mN m^{-1} , ya que a esta presión ningún lípido ha colapsado aún y los cuatro se encuentran en un alto estado de compactación.

4.I. Dimiristoilfosfatidilcolina (dmpe).

A 25°C , este lípido forma sobre agua una monocapa en estado líquido-expandido (figura 4.1a), con una presión de colapso de $(49 \pm 4) \text{ mN m}^{-1}$ y un área molecular promedio mínima de $40,4 \text{ \AA}^2$, lo cual concuerda con lo informado en bibliografía [93]. Los valores del factor de compresibilidad κ son siempre bajos (ver figura 4.1b) lo cual es esperable para una monocapa en estado líquido-expandido. κ aumenta a medida que las moléculas se van acercando e interaccionando más fuertemente, hasta que llega a un máximo. Luego disminuye hasta que la monocapa colapsa. Esto es debido a que el colapso de esta monocapa no es abrupto sino que las moléculas se van escapando de la interfase lentamente y sin cooperatividad.

En la figura 4.1a se muestra también el momento dipolar perpendicular a la interfase (μ_p) calculado como se explica en el Capítulo 2, como función del área molecular promedio. A medida que la monocapa líquido-expandida es comprimida desde un área molecular de aproximadamente 110 \AA^2 , la película se vuelve más compacta y μ_p aumenta en forma abrupta hasta los 95 \AA^2 (aproximadamente 5 mN m^{-1}). Esto se debe probablemente a que las cadenas hidrocarbonadas adoptan una orientación más perpendicular debido a la compresión, ya que ellas poseen un momento dipolar relativamente grande con el extremo positivo hacia el aire [94]. Luego, el momento dipolar decrece gradualmente a medida que la película es llevada a un estado más

empaquetado, revelando una contribución opuesta a la de la cadena hidrocarbonada [94,95]. Esto puede ser causado por reorientaciones de los momentos dipolares fundamentales o cambios en la capa de hidratación.

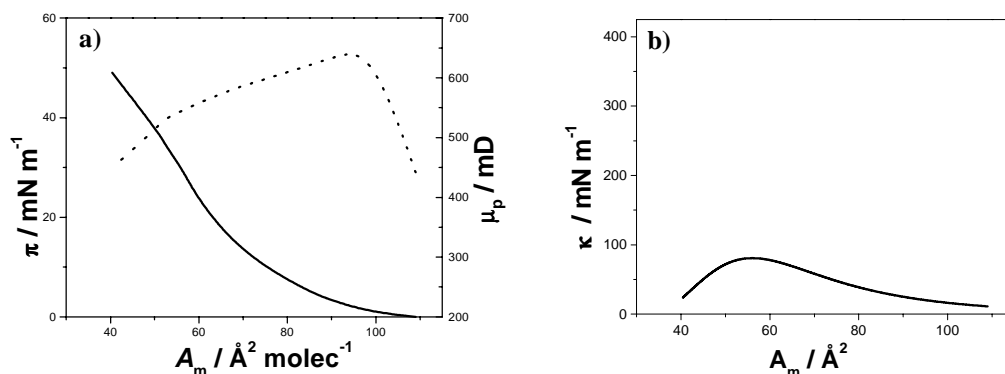


Figura 4.1. Isothermas de compresión para una monocapa de dmpc sobre agua a 25°C.

a) π - A_m (—), μ_p - A_m (····), b) κ - A_m .

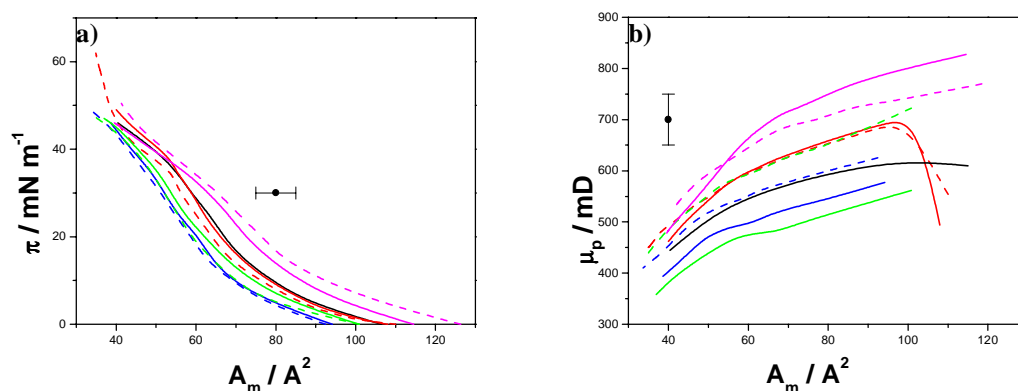


Figura 4.2. Isothermas de compresión para una monocapa de dmpc sobre diferentes subfases a 25°C.

a) π - A_m b) μ_p - A_m .

La composición de la subfase es: agua (línea negra), $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + NaNO_3 26 mM (—), $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + NaNO_3 20 mM + CaCl_2 1 mM (---), $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 1 mM + NaNO_3 20 mM (—), $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 1 mM + NaNO_3 20 mM + CaCl_2 30 mM (---), $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 1 mM + EDTA 10 mM + NaNO_3 20 mM (—), $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 1 mM + EDTA 10 mM + NaNO_3 20 mM + CaCl_2 500 mM (---), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ + NaNO_3 20 mM (—), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ + NaNO_3 20 mM + CaCl_2 30 mM (---).

En la figura 4.2 se muestran las isothermas π - A_m (a) y μ_p - A_m (b) para dmpc sobre las diferentes soluciones acuosas utilizadas en las medidas electroquímicas. Como puede observarse, en la mayoría de los casos el efecto provocado por los iones presentes en la subfase no es muy marcado (considerar la banda de error presente en ambos gráficos). El único caso en el que se observa un gran cambio en el comportamiento de la isoterma es aquel en el cual en la subfase se encuentran presentes tanto $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ como NaNO_3 y CaCl_2 a concentraciones de 0,1 mM o mayores (figura 4.2a, línea roja cortada). En este caso, la monocapa en vez de colapsar, a presiones mayores de 45 mN m^{-1} cambia de fase a una fase líquido-condensada (aproximadamente a 38 mN

m^{-1} y 47 \AA^2), y recién después colapsa, a aproximadamente 60 mN m^{-1} . Este proceso puede ser observado a una escala microscópica mezclando la muestra en un 1% con una sonda fluorescente que particione preferentemente en la fase expandida y siguiendo el proceso de cambio de fase a través de microscopía de epifluorescencia. De esta forma se obtienen las micrografías mostradas en la figura 4.3, las cuales revelan coexistencia de fases líquido-expandidas y líquido-condensadas en dominios separados sólo cuando en la subfase se encuentran presentes las tres moléculas: $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, NaNO_3 y CaCl_2 .

Para los demás iones sólo se observan cambios en el área molecular promedio, mientras que la forma general de la isoterma permanece inalterada. Cuando la subfase contiene $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, EDTA y NaNO_3 , tanto en ausencia como en presencia de CaCl_2 , toda la isoterma se desplaza a mayores valores de área, indicando que cada molécula ocupa un espacio ligeramente mayor. En los dos casos restantes ocurre lo contrario.

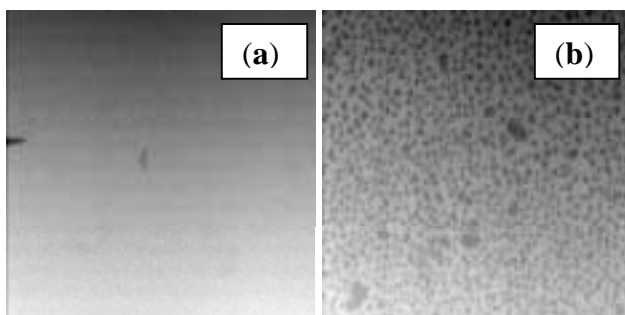


Fig. 4.3. Micrografías de epifluorescencia ($225 \mu\text{m} \times 177 \mu\text{m}$) de monocapas de dmpc sobre agua a 34 mN m^{-1} (a), y sobre $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + NaNO_3 20 mM + 2 mM CaCl_2 a 35 mN m^{-1} (b). Sonda fluorescente: DiI C_{18} .

El cambio de fase observado en la isoterma π - A_m cuando la subfase contiene $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, NaNO_3 y CaCl_2 no es detectable a través del momento dipolar perpendicular a la interfase, el cual permanece inalterado cuando se agrega CaCl_2 a la subfase. El μ_p de dmpc aumenta ligeramente en presencia de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, EDTA y NaNO_3 (tanto con, como sin CaCl_2), y disminuye ligeramente cuando en la subfase hay $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ + NaNO_3 20 mM. Al agregar CaCl_2 a esta subfase el μ_p vuelve a su valor original. En el caso de los demás iones no se observan cambios distinguibles dentro del error experimental.

4.II. Esfingomielina (sphm).

A 25°C , este lípido muestra sobre agua una transición de fase bidimensional a $(13,0 \pm 0,8) \text{ mN m}^{-1}$ y $70 \pm 2 \text{ \AA}^2$; colapsando a $51 \pm 2 \text{ mN m}^{-1}$ a un área molecular límite promedio de $46,9 \text{ \AA}^2$ (figura 4.4a). En la zona del cambio de fase la variación de la presión lateral con el área molecular debería ser nula (proceso a presión constante, lo cual es una característica de un cambio de fase de primer orden), siendo la monocapa infinitamente compresible durante ese lapso, y por tanto con un valor de factor de compresibilidad nulo. Sin embargo, el factor de compresibilidad de la monocapa no se anula (figura 4.4b) sino que pasa por un mínimo. Esto puede deberse a artificios experimentales o a que en realidad el proceso es de primer orden difuso. El orden de una transición de fase en monocapas en la interfase agua-aire es un tema que actualmente se encuentra en discusión y sobre el cual no haremos hincapié en esta tesis.

Luego, a medida que las moléculas se acercan más entre ellas, el factor de compresibilidad aumenta, indicando que se hace más difícil su compresión, hasta que la monocapa colapsa.

En la figura 4.4a se muestra también la variación de μ_p con el área molecular promedio. Se puede observar que μ_p es positivo para todas las áreas moleculares, pero menor que en el caso

de dmPC. Además, su comportamiento bajo compresión es diferente. Se observa un aumento inicial de μ_p entre 150 y 200 mD, a medida que la película se vuelve más coherente (hasta aproximadamente 5 mN m^{-1} y un área molecular cercana a 90 \AA^2), luego del cual permanece insensible a la compresión. La transición de fase se refleja como un punto de inflexión a áreas moleculares de $70\text{-}80 \text{ \AA}^2$.

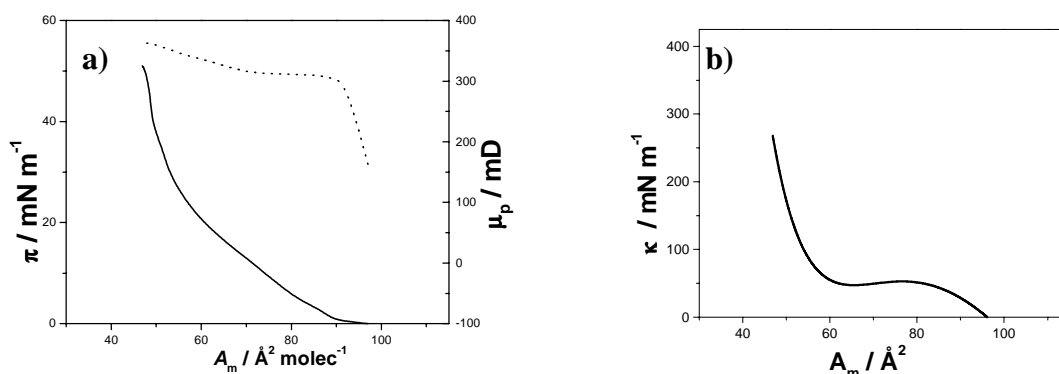


Figura 4.4. Isotermas de compresión para una monocapa de sphm sobre agua a 25°C.

a) π - A_m (—), μ_p - A_m (·····), b) κ - A_m .

Sphm y dmPC tienen el mismo grupo polar, pero la porción hidrocarbonada es diferente. El esqueleto interfacial del esfingolípido contiene un doble enlace carbono-carbono, un grupo hidroxilo y una unión amida en lugar de la unión éster presente en dmPC. Las cadenas hidrocarbonadas en sphm de cerebro son en promedio más largas: de 18-20 carbonos en la base esfingosina y mayormente 18 carbonos en el ácido graso, contra 14 carbonos en dmPC. Por ello, el momento dipolar resultante de las cadenas hidrocarbonadas de sphm debería ser mayor al de dmPC en 80-100 mD. Sin embargo, el μ_p de sphm es menor que el de dmPC. No se conoce cómo las diferentes porciones hidrocarbonadas de sphm modifican las propiedades de hidratación del grupo polar fosforilcolina. Asumiendo que esto es similar en los dos lípidos, la diferencia en el valor de μ_p y en su dependencia con el área molecular promedio debe ser atribuida a las diferentes propiedades de la región interfacial. En esfingolípidos, existe una red de uniones puente hidrógeno en la región interfacial, con grupos donores y aceptores de puente hidrógeno [96]. Para glicerofosfolípidos, debajo de la región interfacial, en la subfase, ocurre formación de puente hidrógeno mediada por agua entre los grupos fosfatos de la fosforilcolina.

En la figura 4.5 se muestran las isotermas π - A_m (a) y μ_p - A_m (b) para sphm sobre las diferentes soluciones acuosas utilizadas para las medidas electroquímicas. Al igual que para dmPC, el efecto provocado por los iones presentes en la subfase no es muy marcado. Para este lípido, cuando la presencia de iones modifica la isoterma π - A_m , el efecto es un aumento en el área molecular promedio sin cambiar la compresibilidad de la monocapa y un leve corrimiento en la posición del cambio de fase. El mayor cambio en la isoterma π - A_m ocurre cuando la subfase contiene $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ y NaNO_3 (tanto en presencia como en ausencia de CaCl_2). Sin embargo, este cambio no se ve reflejado en el valor de μ_p ya que casi no varía. Las isotermas μ_p - A_m sólo cambian significativamente cuando en la subfase hay soluciones de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$, NaNO_3 y CaCl_2 o $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, EDTA, NaNO_3 y CaCl_2 , casos en los que μ_p aumenta respecto a cuando en la subfase sólo hay agua.

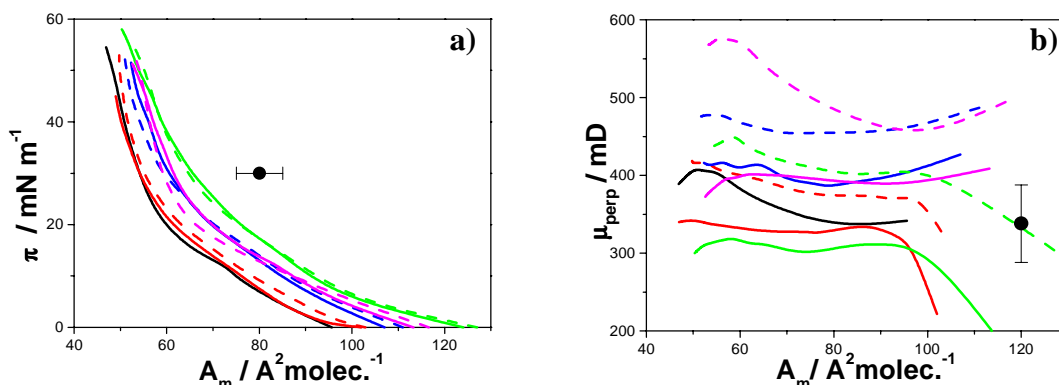


Figura 4.5. Isotermas de compresión para una monocapa de sphm sobre diferentes subfases a 25°C.

a) π - A_m b) μ_p - A_m .

La composición de la subfase es: agua (línea negra), $K_3Fe(CN)_6$ 5 mM + $NaNO_3$ 26 mM (—), $K_3Fe(CN)_6$ 5 mM + $NaNO_3$ 20 mM + $CaCl_2$ 3 mM (---), $Ru(NH_3)_6Cl_3$ 1 mM + $NaNO_3$ 20 mM (—), $Ru(NH_3)_6Cl_3$ 1 mM + $NaNO_3$ 20 mM + $CaCl_2$ 30 mM (---), $Fe(NO_3)_3$ 1 mM + EDTA 10 mM + $NaNO_3$ 20 mM (—), $Fe(NO_3)_3$ 1 mM + EDTA 10 mM + $NaNO_3$ 20 mM + $CaCl_2$ 500 mM (---), $Cu(NO_3)_2$ 1 mM en buffer de NH_4^+/NH_3 + $NaNO_3$ 20 mM (—), $Cu(NO_3)_2$ 1 mM en buffer de NH_4^+/NH_3 + $NaNO_3$ 20 mM + $CaCl_2$ 30 mM (---).

4.III. Sulfátido (sul).

La isoterma de este lípido sobre agua a 25 °C muestra una película en estado líquido-expandido y colapsa a (52 ± 2) mN m^{-1} a un área molecular promedio de $37,5 \text{ \AA}^2$ (figura 4.6 a). La monocapa es muy compresible hasta valores de área molecular de aproximadamente 45 \AA^2 , en donde el factor de compresibilidad aumenta bruscamente hasta que la monocapa colapsa (figura 4.6 b). El momento dipolar perpendicular a la subfase es cercano a cero a valores altos de área molecular y adquiere un valor positivo (alrededor de 150 mD) cuando el empaquetamiento es máximo.

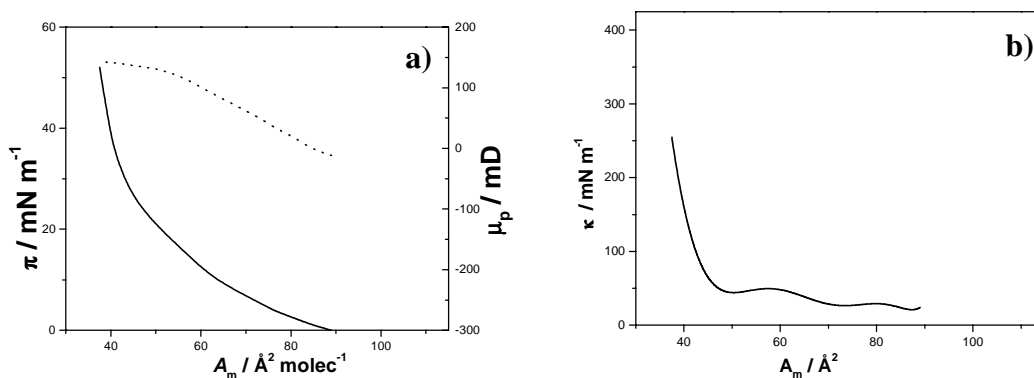


Figura 4.6. Isotermas de compresión para una monocapa de sul sobre agua a 25°C.

a) π - A_m (—), μ_p - A_m (⋯), b) κ - A_m .

En sul, la base esfingosina es similar en largo a la de sphm, pero la composición del ácido graso enlazado por unión amida contiene, en promedio, cadenas más largas (20-24 carbonos) y un 30% de ellos están hidroxilados cerca del esqueleto interfacial contribuyendo a la red de puente hidrógeno superficial [97]. La gran disminución de μ_p respecto a sphm indica la contribución de un gran momento dipolar apuntando en dirección opuesta (hacia la subfase acuosa) a la cadena hidrocarbonada, esto fue encontrado también para una serie de glicosfingolípidos complejos [95,98].

La figura 4.7 muestra isothermas de monocapas de este lípido comprimidas sobre las soluciones utilizadas en las medidas electroquímicas. Al igual que sphm, este lípido no muestra cambios en el comportamiento de la presión lateral frente a compresión. La isoterma entera se traslada a mayores valores de área molecular cuando la subfase contiene $K_3Fe(CN)_6$, $NaNO_3$ y $CaCl_2$ o $Cu(NO_3)_2$ en buffer de NH_4^+/NH_3 , $NaNO_3$ y $CaCl_2$.

No sería sorprendente que las isothermas μ_p - A_m de este lípido varíen mucho al agregar iones en la subfase ya que se trata de un lípido cargado. Sin embargo, sólo difieren de los valores de μ_p sobre agua las isothermas sobre $Ru(NH_3)_6Cl_3$, $NaNO_3$ y $CaCl_2$; sobre $Fe(NO_3)_3$, EDTA, $NaNO_3$, $CaCl_2$ y sobre $K_3Fe(CN)_6$, $NaNO_3$. Las dos primeras tienen valores μ_p mayores (alrededor de 200 mD por encima) y la tercera tiene valores unos 150 mD por debajo de los valores sobre agua.

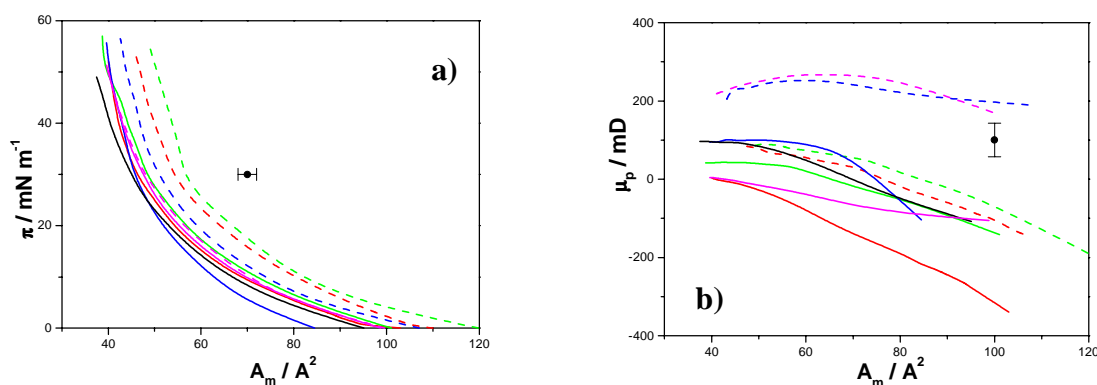


Figura 4.7. Isothermas de compresión para una monocapa de sul sobre diferentes subfases a 25°C.

a) π - A_m b) μ_p - A_m .

La composición de la subfase es: agua (línea negra), $K_3Fe(CN)_6$ 5 mM + $NaNO_3$ 26 mM (—), $K_3Fe(CN)_6$ 5 mM + $NaNO_3$ 20 mM + $CaCl_2$ 3 mM (---), $Ru(NH_3)_6Cl_3$ 1 mM + $NaNO_3$ 20 mM (—), $Ru(NH_3)_6Cl_3$ 1 mM + $NaNO_3$ 20 mM + $CaCl_2$ 30 mM (---), $Fe(NO_3)_3$ 1 mM + EDTA 10 mM + $NaNO_3$ 20 mM (—), $Fe(NO_3)_3$ 1 mM + EDTA 10 mM + $NaNO_3$ 20 mM + $CaCl_2$ 500 mM (---), $Cu(NO_3)_2$ 1 mM en buffer de NH_4^+/NH_3 + $NaNO_3$ 20 mM (—), $Cu(NO_3)_2$ 1 mM en buffer de NH_4^+/NH_3 + $NaNO_3$ 20 mM + $CaCl_2$ 30 mM (---).

4.IV. Galactocerebrósido (galcer).

Este lípido forma, sobre agua a 25 °C, monocapas en estado líquido-condensado [99], con una presión de colapso de $(44 \pm 2) mN m^{-1}$ a un área molecular promedio de 42\AA^2 (figura 4.8a). El factor de compresibilidad es alto para todos los valores de área, y aumenta a medida que la monocapa es comprimida, hasta que la misma colapsa (figura 4.8b). Para esta monocapa μ_p es siempre positivo, similar a dmpc y sphm, y completamente diferente a sul. Sin embargo, galcer y sul tienen una relación directa en su vía metabólica. Galcer es el precursor para la biosíntesis de sul

a través de la enzima PAPS-Galcer-sulfotransferasa [100]. La única diferencia entre ambos lípidos es la presencia de un grupo $-\text{SO}_3^-$ en el OH del carbono 3 de la galactosa del grupo polar del glicosfingolípido aniónico. Por tanto, la gran disminución de μ_p en sul es debido a la contribución negativa del grupo cargado $-\text{SO}_3^-$ [101].

Para este lípido, el efecto producido por cualquier ion es el de aumentar su área molecular promedio, así como su valor de μ_p (figura 4.9).

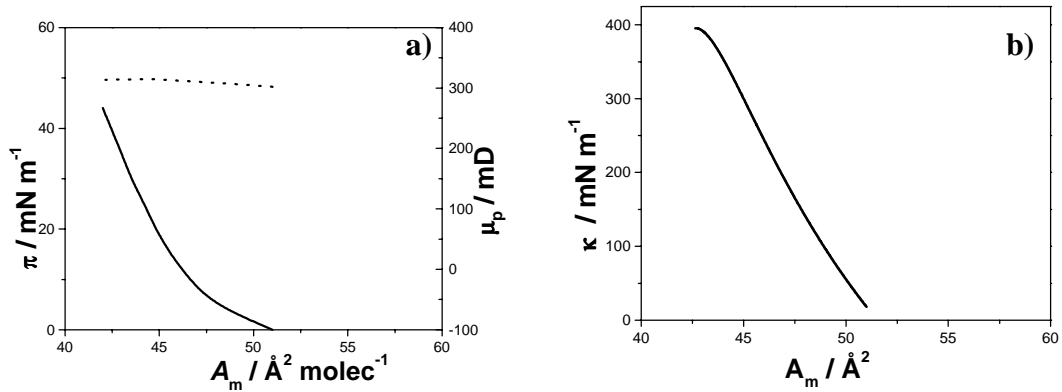


Figura 4.8. Isothermas de compresión para una monocapa de galcer sobre agua a 25°C.

a) π - A_m (—), μ_p - A_m (.....), b) κ - A_m .

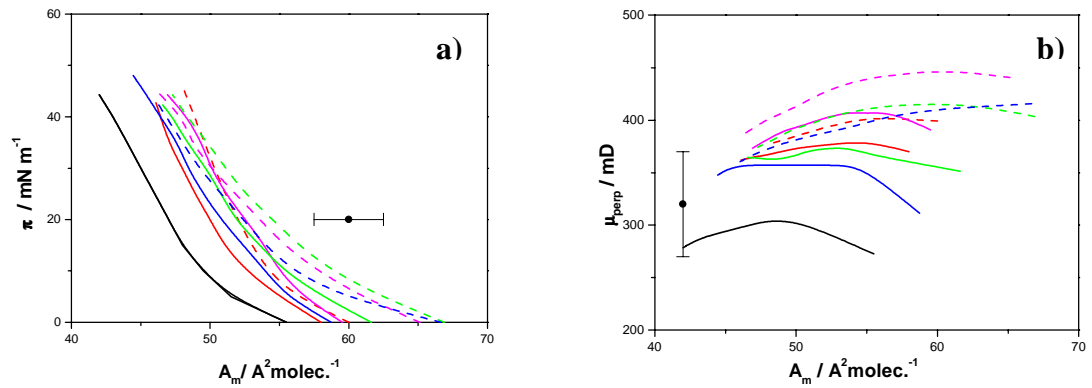


Figura 4.9. Isothermas de compresión para una monocapa de galcer sobre diferentes subfases a 25°C.

a) π - A_m b) μ_p - A_m .

La composición de la subfase es: agua (línea negra), $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + NaNO_3 26 mM (—), $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + NaNO_3 20 mM + CaCl_2 3 mM (---), $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 1 mM + NaNO_3 20 mM (—), $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 1 mM + NaNO_3 20 mM + CaCl_2 30 mM (---), $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 1 mM + EDTA 10 mM + NaNO_3 20 mM (—), $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 1 mM + EDTA 10 mM + NaNO_3 20 mM + CaCl_2 500 mM (---), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ + NaNO_3 20 mM (—), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ + NaNO_3 20 mM + CaCl_2 30 mM (---).

4.V. Presiones de transferencia.

El método de transferencia usado en la presente tesis requiere, para que se formen películas reproducibles, que la monocapa de Langmuir sea lo más compacta posible, sin haber colapsado aún. Por ello, como presión de transferencia se eligió 40 mN m^{-1} , que es una presión alta para todos los lípidos, sin que ninguno haya colapsado. En todos los experimentos de esta tesis se ha empleado esta presión de transferencia, exceptuando los experimentos elipsométricos (Capítulo 8.1) en donde se aclara qué presión se ha empleado en cada caso.

5.1 Efecto de una Capa de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

Resumen

En este capítulo se analiza el efecto de una capa de lípido transferida al electrodo sobre la respuesta voltamétrica de la reacción de óxido-reducción de la cupla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. El perfil voltamétrico presenta diferentes grados de irreversibilidad dependiendo de la naturaleza del lípido transferido al electrodo.

El agregado de CaCl_2 a la celda electroquímica modifica el comportamiento observado en ausencia del mismo. La cantidad de CaCl_2 necesaria para producir efectos similares depende de la naturaleza del lípido, indicando algún tipo de interacción entre el Ca^{2+} y cada lípido bajo estudio.

La dependencia de la respuesta electroquímica en presencia y ausencia de CaCl_2 se relaciona con el comportamiento de interfase de cada lípido.

El efecto provocado por el lípido en el perfil corriente-potencial se analiza con mayor profundidad para el sistema formado por dmpc, ya que es el lípido más estudiado en la interfase agua-aire, y por tanto el más conocido. Estos últimos estudios se realizaron comparando los perfiles corriente potencial experimentales con perfiles teóricos calculados por medio del modelo de Matsuda [81,82] y utilizando espectroscopia de impedancia electroquímica.

5.1.I. Perfiles Corriente-Potencial de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre Electrodo Modificados por una Capa de cada Lípido.

Los electrodos cubiertos por compuestos orgánicos no electroactivos han sido muy empleados para obtener información sobre procesos de transferencia de carga [22,25]. La composición y el espesor de la capa superficial pueden ser variados y controlados de diferentes maneras. En películas homogéneas, la difusión del reactante tiene un carácter lineal y la reacción de transferencia de carga puede ocurrir por permeación o partición del reactante entre la capa y la solución, o por transferencia del electrón a través de la película por efecto túnel. Sin embargo, usualmente la distribución de moléculas sobre el electrodo no tiene un carácter uniforme y, por consiguiente, existen zonas del electrodo cubiertas y zonas descubiertas. Esto puede tener diversas causas, una de las cuales es que exista una heterogeneidad energética de la superficie del sólido. Cuando la película no es homogénea,

5.1 Efecto de una Capa de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

su presencia puede afectar tanto la velocidad del proceso de transferencia de carga en sí, como la velocidad del proceso de transferencia de masa de reactivos y productos, dando lugar a fenómenos de difusión no lineal [10,80-82,102]. Como consecuencia de estos fenómenos, la forma del perfil voltamétrico depende del cubrimiento, distribución de sitios libres y tiempo del experimento. En ciertas condiciones experimentales, la difusión a las zonas activas del electrodo puede ser hemiesférica y equivalente a un arreglo de ultramicroelectrodos [10,80-82,102].

En este capítulo se estudian las propiedades de las películas de L-B de los esfingolípidos enunciados en comparación con dmpe, a través del efecto de la presencia de estas moléculas sobre el electrodo en la transferencia de carga de la cupla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. Para ello, se utiliza voltametría cíclica como técnica electroquímica y se correlacionan los resultados electroquímicos con el comportamiento de cada lípido en la interfase aire-solución acuosa.

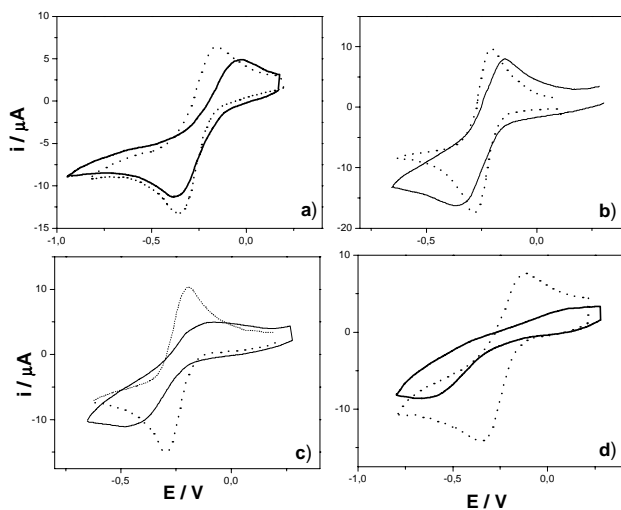


Fig. 5.1. . Perfiles corriente-potencial de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre electrodos recién pulidos (—), y sobre electrodos cubiertos por 1 capa de cada lípido (----).

Composición de la solución:

$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM y NaNO_3 20 mM.

Lípido que recubre el electrodo: dmpe (a), sphm (b), galcer (c) y sul (d).

Velocidad de barrido: $0,005 \text{ V s}^{-1}$.

La figura 5.1 muestra el comportamiento voltamétrico de la cupla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre electrodos de carbono vítreo limpios y modificados por una capa del lípido indicado. Esta reacción sobre electrodos de carbono vítreo no activado es lenta e irreproducible. Esto implica que aun sobre electrodos recién pulidos existen diferencias entre cada experimento. Por este motivo, los experimentos fueron repetidos de forma de asegurar la reproducibilidad de la respuesta en presencia de cada lípido. Por la misma razón, cada voltagrama obtenido en presencia del lípido es comparado siempre con la correspondiente medida sobre el electrodo limpio, antes de transferir la película, al cual llamaremos blanco. A pesar de que los voltagramas sobre el electrodo limpio son diferentes, el efecto producido por el lípido es reproducible y siempre se muestran perfiles representativos de una serie de medidas.

Como puede verse en la figura 5.1, en todos los casos existe un aumento en la diferencia de potencial de pico ΔE_p , y una disminución en la corriente de pico, i_p con respecto al blanco (ΔE_p^b y i_p^b). También aumenta el intervalo de potenciales en los que ocurren los procesos anódico y catódico. El cambio en estos parámetros puede indicar un aumento en la irreversibilidad del sistema, o un cambio en alguna de las etapas del proceso por el cual ocurre la transferencia electrónica. También puede verse que

la presencia de la película afecta la forma del perfil corriente-potencial de diferente manera, dependiendo de la naturaleza del lípido que la forme. El mayor cambio en el voltagrama es producido por la capa de sul, y el menor por sphm. Galcer y dmpe muestran un efecto intermedio, induciendo galcer mayores cambios que dmpe.

La presencia de corriente en todos los perfiles corriente-potencial de la figura 5.1 indica que las capas no son homogéneas y que el proceso de transferencia de carga tiene lugar en huecos pequeños dejados por los lípidos, los cuales se pueden haber formado durante el proceso de transferencia o después, debido a un reordenamiento a circuito abierto o bajo la acción del campo eléctrico aplicado al realizar la medida voltamétrica.

Cuando se agrega CaCl_2 a la celda electroquímica, el bloqueo producido por el lípido es parcial o totalmente anulado, dependiendo de la naturaleza del lípido que recubre el electrodo. Como ejemplo, se muestra la figura 5.2 el efecto producido por el agregado de diferentes cantidades de CaCl_2 cuando dmpe cubre el electrodo. Se debe recordar que, aun el caso en que el ion Ca^{2+} no interaccione con el lípido, se debe esperar un aumento en la velocidad del proceso de transferencia de carga de esta cupla, como se explicó en el Capítulo 3.

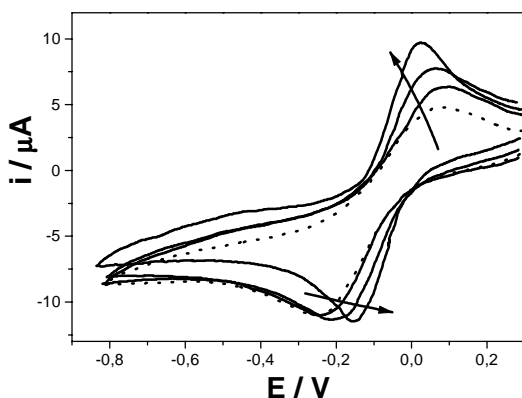


Fig. 5.2. Perfil voltamétrico para la reacción $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ sobre electrodos de carbono vítreo cubiertos por una capa de dmpe. Velocidad de barrido: $0,005 \text{ V s}^{-1}$. Composición de la solución: $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM y NaNO_3 20 mM (.....); $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM, NaNO_3 20 mM y cantidades crecientes de CaCl_2 en la dirección indicada por las flechas (—).

En la figura 5.3 se observa la diferencia de potencial de pico y corriente de pico catódico normalizados por los valores del voltagrama en ausencia de CaCl_2 en función de la concentración de CaCl_2 agregada a la celda para cada lípido bajo estudio. Estos parámetros son extraídos de experimentos como el mostrado en la figura 5.2.

Como se observa en la figura 5.3, en algunos casos el proceso electroquímico se hace inclusive más reversible que el voltagrama en ausencia de lípido (i_p/i_p^b mayor que la unidad). Por otro lado, la cantidad de CaCl_2 necesaria para producir un dado cambio depende del tipo de lípido. En el caso de dmpe, 1mM de CaCl_2 es suficiente para revertir completamente el efecto de la capa de lípido. Sin embargo, para galcer el perfil inicial no es recuperado para ninguna concentración de CaCl_2 . Como en el caso de dmpe, cuando el electrodo esta cubierto por sul, pequeñas cantidades de CaCl_2 aumentan sustancialmente la corriente catódica, mientras que para sphm se necesitan mayores cantidades. Es decir que se observan cambios drásticos solamente para dmpe y sul.

5.1 Efecto de una Capa de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

En ningún caso es posible la desorción del lípido ya que se vuelve a observar el bloqueo electroquímico si se introduce el electrodo cubierto desde la celda con CaCl_2 en exceso a una celda sin CaCl_2 en la que se encuentra la cupla redox (datos no mostrados).

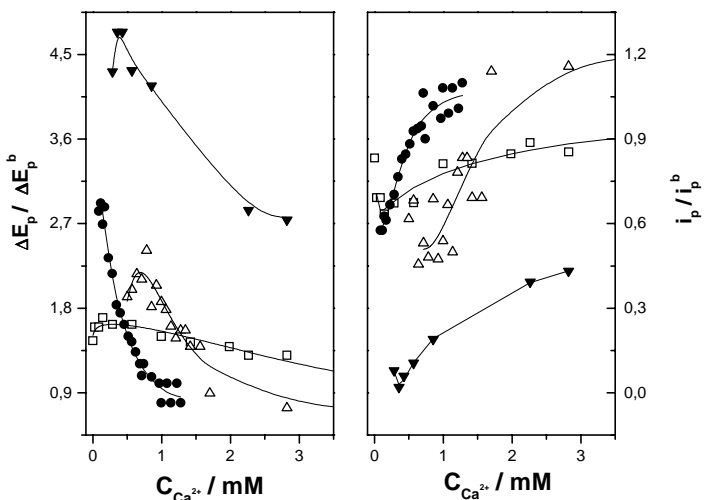


Fig. 5.3. Dependencia de la diferencia de potencial de pico (ΔE_p) y la corriente de pico catódica (i_p^c) normalizados por los valores del voltograma sin CaCl_2 , con la concentración de CaCl_2 para electrodos cubiertos por una capa de sphm (\square), dmpe (\bullet), sul (\triangle) y galcer (\blacktriangledown). $v = 0,005 \text{ V s}^{-1}$.

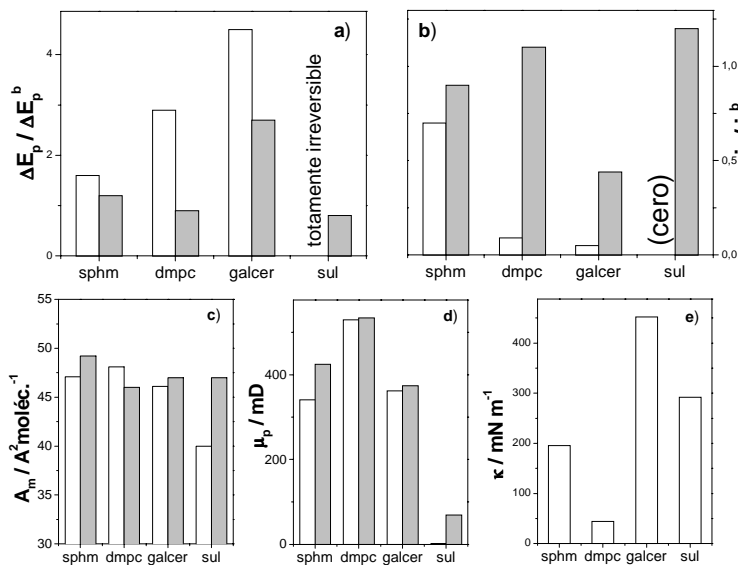


Fig. 5.4. Parámetros electroquímicos (a y b) y no electroquímicos (c, d y e) medidos sobre soluciones de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + NaNO_3 20 mM (barras blancas) y $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + NaNO_3 20 mM + CaCl_2 (barras grises). Parámetros electroquímicos : ΔE_p normalizado (a) y i_p^c normalizado (b). Parámetros no electroquímicos : Área molecular promedio (c), momento dipolar perpendicular a la interfase (d) y factor de compresibilidad de la monocapa (e) cerca de la presión de colapso.

El efecto de la presencia del lípido sobre el voltograma y del agregado de CaCl_2 depende de la naturaleza del lípido, por lo que debería haber alguna correlación entre estos resultados y los parámetros que describen el comportamiento del lípido en la interfase solución acuosa-aire. En principio se pueden realizar algunas consideraciones. Es lógico suponer que cuando el electrodo se encuentre cubierto por un lípido en estado líquido-condensado el bloqueo electroquímico será mayor. También se puede esperar que cuando el área molecular promedio de cada molécula de lípido sobre el electrodo sea pequeña (concentración superficial grande) el bloqueo sea mayor. Con respecto al momento dipolar perpendicular a la interfase del lípido (μ_p), es importante recordar que la especie

electroactiva es negativa, por lo que el proceso de transferencia de carga podría ocurrir más fácilmente si el electrodo se encuentra cubierto por moléculas que contribuyan con un dipolo cuyo extremo positivo se encuentre hacia el electrodo y negativo hacia la solución (μ_p positivo). En la figura 5.4 se muestran los valores de los parámetros electroquímicos (ΔE_p , y i_p figuras 5.4a y 5.4b) y no electroquímicos (A_m , μ_p , κ , figuras 5.4c, 5.4d y 5.4e) para cada sistema bajo análisis. A pesar de que el lípido es transferido al electrodo desde la interfase agua-aire, se analiza el comportamiento del lípido utilizando como subfase las soluciones empleadas para las medidas electroquímicas, ya que el lípido se encuentra en este medio en el experimento voltamétrico.

5.1.II. Correlación entre los Voltagramas de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en Ausencia de Ca^{2+} y las Isotermas sobre una Solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + \text{NaNO}_3$.

Considerando los factores antes citados, podemos afirmar que es esperable la respuesta electroquímica encontrada para sul (figura 5.4a y 5.4b), ya que además de tratarse de una monocapa cargada negativamente, A_m es pequeña (figura 5.4c) y μ_p negativo. Todos estos factores causarían bloqueo en el proceso de transferencia de carga. κ también tiene un alto valor (figura 5.4e), pero mucho mayor es para galcer, en cuyo caso éste es el factor predominante, causando un alto bloqueo de la reacción electroquímica, aunque menor que en el caso de sul.

El efecto provocado por una capa de sphm es menor al de los otros esfingolípidos estudiados. Esto puede correlacionarse con el hecho que de forma monocapas menos compactas en la interfase solución acuosa-aire, y a su área molecular y μ_p promedio relativamente grandes, ya que un espaciado intermolecular grande y un ordenamiento molecular favorable deberían facilitar la transferencia de carga comparado con los otros lípidos.

Dmpc no sigue iguales tendencias que las encontradas para los esfingolípidos, excepto por el valor de A_m . Por su bajo módulo compresional y su alto valor de μ_p se esperaría un menor bloqueo electroquímico que para sphm. Es evidente que este glicerofosfolípido sigue un patrón de conducta diferente al seguido por los esfingolípidos, ya sea debido a las diferencias en las cadenas hidrocarbonadas o en la región interfacial. Para un mejor análisis al respecto es necesario considerar una familia de glicerofosfolípidos análogamente a la familia de esfingolípidos estudiada. Este lípido fue incluido en el estudio como base de comparación ya que ha sido informado en trabajos previos como modificador de respuestas voltamétricas [6], y además contiene el grupo polar fosforil colina, al igual que sphm.

Los resultados encontrados para la serie de esfingolípidos estudiados indican que cuando una capa de los mismos recubre el electrodo, la respuesta voltamétrica no se correlaciona de una manera simple con ninguna de las regiones de la molécula (cadena hidrocarbonada y grupo polar) del lípido que forma la capa, sino más bien depende de una combinación de efectos provenientes de diferentes regiones de la molécula y de la organización intermolecular de la superficie. En todos los casos, la capa de lípido formada no es homogénea, sino que existen zonas del electrodo a través de las cuales ocurre la reacción de óxido-reducción de la cupla.

El efecto producido por dmpc no tiene igual tendencia que la serie comparativa de esfingolípidos. Esto puede ser debido a que contiene cadenas hidrocarbonadas más cortas y una

estructura interfacial diferente. Por otro lado, el efecto del campo que soporta la capa de lípido cuando se aplica un potencial al electrodo depende del vector de polarización eléctrico del lípido en la interfase, el cual es diferente para glicerofosfolípidos que para esfingolípidos [94]. Se ha demostrado que efectos de campos eléctricos superficiales, en combinación con el momento dipolar resultante del lípido son determinantes importantes para el desplazamiento de cargas interfaciales locales y para rearrreglos electrónicos, que a su vez afectan a reacciones enzimáticas interfaciales [94].

5.1.III. Correlación entre los Voltagramas de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en Presencia de Ca^{2+} y las Isotermas sobre una Solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + \text{NaNO}_3 + \text{Ca}^{2+}$.

Como se muestra en la figura 5.3, la respuesta de electrodos cubiertos por sul o dmpc es drásticamente alterada por la presencia de CaCl_2 . A pesar de que las pendientes del gráfico de parámetros electroquímicos versus concentración de Ca^{2+} sean iguales, es necesaria una mayor cantidad de este ion para producir el mismo efecto en la respuesta voltamétrica en sul que en dmpc. El comportamiento de la isoterma permite interpretar los diferentes efectos observados en presencia de este ion.

En el caso de dmpc, la isoterma sobre $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ y NaNO_3 en presencia de Ca^{2+} presenta, a altas presiones, un cambio de fase bidimensional. Un cambio de fase se caracteriza por presencia de defectos [26,29], los cuales fueron observados utilizando microscopia de epifluorescencia (ver Capítulo 4). La microheterogeneidad superficial generada por la coexistencia de fases aumenta la permeabilidad interfacial [106], facilitando la accesibilidad $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ al electrodo, y por tanto, el proceso de transferencia de carga.

La figura 5.4 muestra los valores de los parámetros electroquímicos cuando la concentración de CaCl_2 es 1 mM (para dmpc) o 3 mM (para el resto), y de los parámetros no electroquímicos de las isotermas llevadas a cabo sobre $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, NaNO_3 y la misma cantidad de CaCl_2 a presiones cercanas a la de colapso.

Para los esfingolípidos, los cambios observados al agregar CaCl_2 en la subfase no son tan drásticos como para dmpc. Tanto sul como galcer ocupan una mayor área en presencia de CaCl_2 , lo que lleva a una menor concentración superficial de lípido, y por tanto a que el ion electroactivo reaccione con mayor facilidad. También μ_p se ve modificado por la presencia de CaCl_2 . Los cambios en área son mayores para sul que para sphm, mientras que los cambios en μ_p son similares. Sin embargo el cambio relativo en μ_p es mayor para sul ya que deja de ser nulo o negativo para poseer un valor positivo. Todo esto explica que para sul se observen mayores cambios electroquímicos en presencia de este ion que para sphm.

Las isotermas de galcer no son afectadas marcadamente por la presencia del ion Ca^{2+} en la subfase. Esto significaría ausencia de cambios en la respuesta electroquímica. Sin embargo, en presencia de CaCl_2 se observa un aumento en la reversibilidad del proceso. Esto sólo puede explicarse teniendo en cuenta que aún en ausencia de lípido, la reversibilidad de la cupla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ aumenta debido al aumento en la concentración de Ca^{2+} (ver Cap. 3). Si bien en nuestro caso no se alcanzan las concentraciones de iones necesarias para observar este efecto, es posible que la presencia

de la monocapa cause un aumento en la concentración interfacial de iones, de forma tal que localmente se llegue a los valores necesarios.

Resumiendo, en el caso de esfingolípidos, el gran bloqueo en la respuesta electroquímica se puede correlacionar con bajos valores de A_m y μ_p , y altos valores de κ . Por lo tanto es esperable que un aumento en los valores de corriente del voltagrama se relacione con un aumento en A_m y μ_p , como fue observado. La presencia del ion Ca^{2+} en la subfase no afecta el comportamiento de galcer en la interfase solución acuosa-aire, sin embargo, como se muestra en la figura 5.3, la respuesta electroquímica si se modifica. Esto es debido al cambio en el comportamiento electroquímico de la cupla redox, el cual existe aún en ausencia de lípido. Este efecto está presente en todos los sistemas analizados, y es probable que sea el causante de que tanto para dmpe como para sphm, el voltagrama en presencia de altas concentraciones de Ca^{2+} muestre valores de corriente mayores que el voltagrama blanco.

En conclusión, podemos decir que existe una correlación entre parámetros electroquímicos obtenidos de la isoterma del lípido en la interfase solución acuosa-aire y el efecto en la respuesta electroquímica en capas de L-B sobre carbono vítreo. Sin embargo, la correlación es compleja ya que los parámetros que caracterizan el comportamiento interfacial del lípido pueden influir en el proceso de transferencia de carga de diferentes maneras.

Entre estos parámetros, la carga y la orientación del momento dipolar del lípido son importantes, debido a posibles interacciones electrostáticas existentes entre el lípido y el ion electroactivo. Este es el caso de sul.

Considerando el mecanismo de transferencia de carga, la forma del voltagrama indica que el proceso tiene lugar a través de micro-huecos formados durante el proceso de transferencia del lípido o después, debido a re-arreglos de la película, ya que la transferencia de carga por efecto túnel o permeación del ion electroactivo generaría perfiles voltamétricos diferentes a los encontrados. Las inhomogeneidades de la película dependen de los mismos parámetros que determinan las características de la monocapa del lípido en la interfase solución acuosa-aire. Por ejemplo, las monocapas más condensadas dejarían huecos más pequeños.

5.1.IV. Modelado del Proceso de Transferencia de Carga para Electrodo Cubiertos por una Capa de dmpe.

Para entender el origen de la señal voltamétrica observada cuando el electrodo se encuentra cubierto por lípido se analizó más profundamente un lípido en particular. Se eligió la dmpe debido a que es el único con largo de cadena definido (14 átomos de carbono), lo que permite la máxima reproducibilidad, y además presenta grandes cambios en presencia de CaCl_2 . Por otro lado, de esta serie de lípidos es el más estudiado, por lo que existe una amplia bibliografía al respecto. Como método de análisis se compararon los voltagramas experimentales con voltagramas teóricos obtenidos utilizando diferentes modelos de superficie modificada. Para demostrar la validez de cada modelo en particular, se calcularon los coeficientes de transferencia de carga y las constantes de velocidad del proceso de

5.1 Efecto de una Capa de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

transferencia de carga tanto para el electrodo limpio como modificado utilizando pulsos de potencial y espectroscopia de impedancia electroquímica.

Se comenzó analizando el modelo más sencillo de transferencia de carga, en el cual tanto el reactivo como el producto deben difundir bajo condiciones de difusión lineal semi-infinita. El proceso de transferencia de carga ocurre con una velocidad determinada por la constante k^0 (ver Capítulo 2.1.2). Se compararon los voltagramas experimentales con voltagramas teóricos según este modelo, siguiendo el método de Nicholson [76,77]. Con este modelo sencillo se encuentran buenas correlaciones para la reacción electroquímica sobre el carbono vítreo limpio, no así cuando está presente la capa lipídica. La correlación vuelve a ser satisfactoria en presencia de un exceso de iones Ca^{2+} (ver figura 5.5).

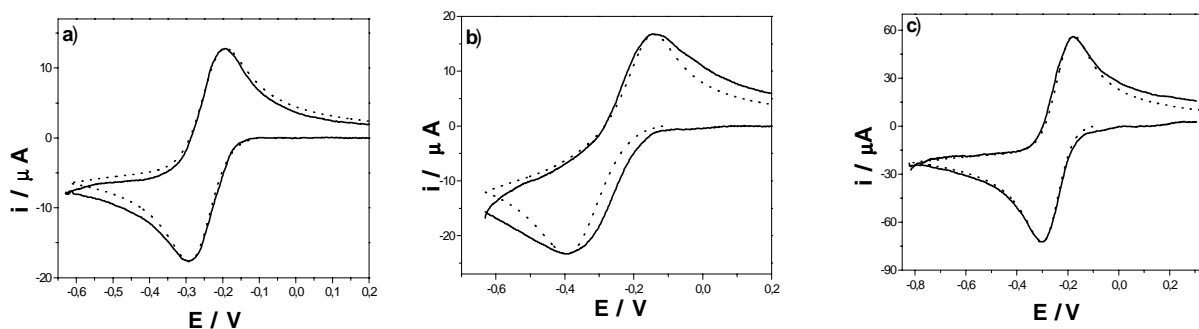


Fig. 5.5 Perfiles corriente-potencial para la cupla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ y NaNO_3 como electrolito soporte. Voltagrama experimental (—), voltagrama teórico (.....). Parámetro de simulación fijo: $D_O=D_R=6 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$. Los demás parámetros se utilizaron para ajuste. **a)** Carbono vítreo limpio, velocidad de barrido $0,003 \text{ Vs}^{-1}$. Parámetros de ajuste: $k^0=1,1 \cdot 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}, \alpha_C=0,55$ **b)** Carbono vítreo modificado por la monocapa, velocidad de barrido $0,010 \text{ Vs}^{-1}$. Parámetros de ajuste: $k^0=2,5 \cdot 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}, \alpha_C=0,44$ **c)** Carbono vítreo modificado por la monocapa en presencia de exceso de CaCl_2 , velocidad de barrido $0,050 \text{ Vs}^{-1}$. Parámetros de ajuste: $k^0=2,65 \cdot 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}, \alpha_C=0,51$

Para el ajuste del voltagrama teórico al experimental se utilizó un coeficiente de difusión fijo de $6 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ tanto para la especie oxidada como para la reducida. k^0 y α_C fueron utilizados como parámetros de ajuste. Como se explicó en el Capítulo 2, el efecto principal de k^0 es el de aumentar la diferencia de potencial de pico, disminuyendo las corrientes máxima y mínima del voltagrama y ensanchando un poco los picos, mientras que α_C ensancha el pico catódico, disminuyendo la corriente de pico, respecto al anódico. El efecto del α_A es el opuesto.

Cuando el electrodo está limpio se encuentran valores de $k^0=1,1 \cdot 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ y $\alpha_C=0,55$. Para el electrodo cubierto por dmpc y en presencia de exceso de CaCl_2 se encuentran valores de $k^0=2,65 \cdot 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ y $\alpha_C=0,51$. Los valores de constante de transferencia de carga indican que en presencia de Ca^{2+} la reacción de transferencia de carga es más rápida que en ausencia del ion, a pesar de la presencia de lípido. Esto apoya la afirmación de que además de influir sobre la estructura de la capa de lípido, este ion también afecta la reacción redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, favoreciendo el proceso, de forma tal de que ocurra más rápido en exceso de Ca^{2+} aún cuando el electrodo se encuentra cubierto por una capa de dmpc.

En ausencia de CaCl_2 se observa que la diferencia de potencial de pico se corresponde con una k^0 de $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$. Sin embargo la forma del voltagrama experimental es diferente a la del teórico, por lo que es evidente que el mecanismo de transferencia de carga utilizado para la simulación en presencia

5.1 Efecto de una Capa de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

de la película y en ausencia de CaCl_2 no es el indicado. Tanto la oxidación como la reducción ocurren en un amplio intervalo de potenciales. Esto podría deberse a que el coeficiente de transferencia de carga (α) sea menor que 0,5 para ambos, ya el efecto de este parámetro en el voltograma es el de ensanchar el pico correspondiente. Si la vía de oxidación es la misma que la de reducción, los α catódicos y anódicos deben sumar la unidad. Sin embargo, si las vías seguidas son diferentes, $\alpha_C + \alpha_A$ no necesariamente debe ser uno [103,104]. En nuestro caso, si las especies oxidadas y reducidas afectan de diferente forma la estructura de la monocapa, el resultado podría ser $\alpha_C + \alpha_A < 1$ y cada uno de ellos menor a 0,5. Esto llevaría a un perfil corriente-potencial teórico similar al experimental. En la figura 5.6 se muestran ajustes para las corrientes anódicas y catódicas en forma separada. Se pueden obtener buenos resultados liberando la restricción $\alpha_C + \alpha_A = 1$.

Para decidir cual es el mecanismo seguido, se aplicaron pulsos de potencial a soluciones que contenían iguales cantidades de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ y de $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, se midieron las corrientes estacionarias resultantes y se calcularon los α_C y α_A utilizando la ecuación de Butler-Volmer (ecuación 2.6). Se encontró que $\alpha_C + \alpha_A = 1$ y que ambos tienen valores cercanos a 0,5; por lo que el mecanismo de oxidación debe ser el mismo que el de reducción.

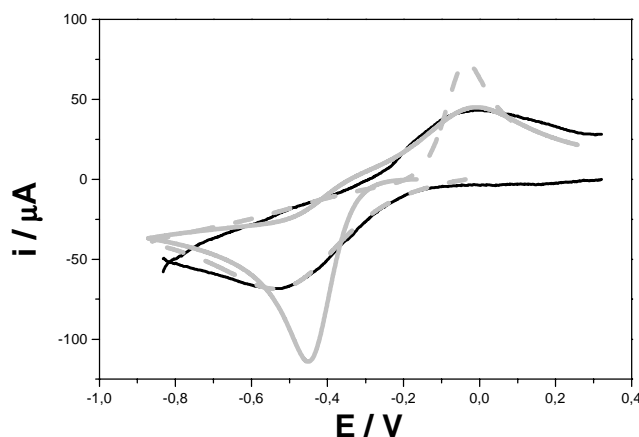


Fig.5.6. Perfiles corriente-potencial Negro: experimental $\nu = 0,1 \text{ V s}^{-1}$, una capa de dmpc recubre el electrodo. Grises teóricos con los siguientes parámetros:
Constante de transferencia de carga estándar: $4 \cdot 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$.
Coeficiente de difusión de la especie oxidada = Coeficiente de difusión de la especie reducida: $1 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.
Pico anódico (—):
Coeficiente de transferencia de carga anódico: 0,25
Pico catódico (----):
Coeficiente de transferencia de carga catódica: 0,3

La constante de velocidad de la reacción de transferencia de carga (k^0) no pudo ser medida por este método ya que es demasiado alta para obtenerse por la aproximación de Tafel a altos campos o por Butler-Volmer (la zona de control cinético es muy pequeña). A bajos campos los valores obtenidos tienen mucho error ya que las corrientes son muy bajas.

Para obtener la constante de velocidad del proceso de transferencia de carga del sistema se utilizó Espectroscopia de Impedancia Electroquímica. Se encontró que la superficie de carbono vítreo recién pulida puede ser simulada con un circuito equivalente que involucra zonas de diferente capacidad [105].

5.1 Efecto de una Capa de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

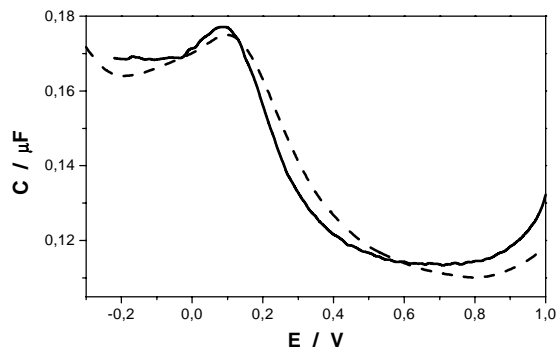


Fig.5.7. Medidas de capacidad del electrodo limpio (—) y cubierto por dmpc (----) a una frecuencia de 500 Hz, en función del potencial aplicado. La solución contiene NaNO_3 21 mM.

La capacidad promedio de la superficie es muy baja (figura 5.7) y es similar a la de la superficie cubierta por la monocapa (del orden de 10^{-2} F m^{-2}). Si la monocapa es suficientemente homogénea, se puede estimar el largo de la cadena hidrocarbonada considerando que la interfase se comporta como un capacitor de placas paralelas, utilizando la ecuación 2.91 (ver Capítulo 2) [83]. El largo de la cadena carbonada así calculado sería de 2 nm, considerando que ϵ vale 2 (los valores de ϵ para muchos hidrocarburos varía entre 2,0 y 2,2). A pesar de lo simplificado del modelo, este valor indicaría la validez de los resultados experimentales, dado que se sabe que el largo de la cadena hidrocarbonada de dmpc es aproximadamente de 1,7 nm.

Utilizando el circuito equivalente de Randless (ver Capítulo 2), se obtuvieron los valores de resistencia de transferencia de carga así como de coeficiente de Warburg. La forma en que estos parámetros varían con el potencial depende de, entre otras cosas, la constante de velocidad de la reacción de transferencia de carga (k^0) y del espesor de la capa difusional, δ (ver ecuación 2.31) [65]. El valor de δ fue obtenido a partir de los valores de corrientes estacionarias límites para una celda con sólo la especie oxidada en solución, sabiendo que:

$$i_l = -nFDC_o^\infty / \delta \quad \text{Ecuación 5.1}$$

Se obtuvo un valor de 0,03 cm tanto en ausencia como en presencia de la capa de dmpc. Comparando las curvas de resistencia de transferencia de carga-potencial con curvas teóricas, se obtuvo el valor de k^0 para la reacción de transferencia de carga de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ sobre carbono vítreo modificado por la capa de dmpc (figura 5.8b). Para el ajuste se consideró principalmente la zona de sobrepotenciales mayores a -0,10 V, ya que a sobrepotenciales más catódicos ocurre la reducción del O_2 disuelto, el cual es un proceso no deseado.

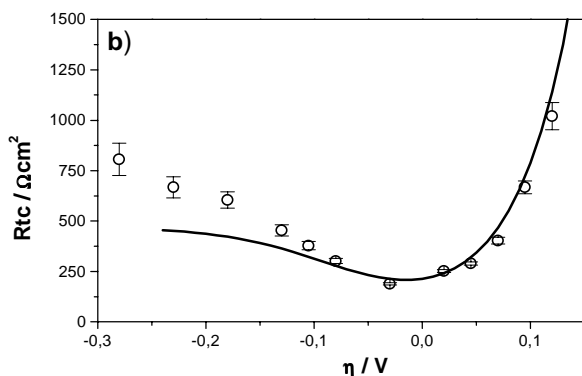


Fig.5.8. Resistencia a la transferencia de carga en función del sobrepotencial (\odot) para un electrodo cubierto por dmpc y una solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM + NaNO_3 20 mM. Curva teórica empleando δ : 0,03 cm, k^0 : $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$ y la ecuación 2.31 (—).

Conociendo el valor de la constante de velocidad para la reacción de transferencia de carga es posible postular otros mecanismos para la reacción electroquímica. En este sentido se plantean dos modelos para la estructura de la monocapa:

Arreglo de películas de lípido tipo A.

En este caso la transferencia electrónica sólo ocurre en las zonas libres de lípidos (zonas activas), las cuales forman el arreglo indicado en la figura 5.9 (las zonas sombreadas son inactivas). Si el tamaño de las zonas activas es suficientemente pequeño, la difusión dejará de ser lineal y el perfil corriente-potencial se verá afectado por este cambio. Este mecanismo está basado en el modelo sugerido y desarrollado por Matsuda [81,82].

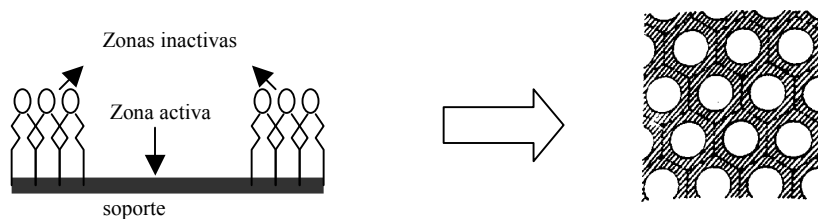


Fig. 5.9. Esquema del arreglo de película de lípido tipo A. Izquierda: ordenamiento de los lípidos sobre el electrodo. Derecha: Esquema del arreglo supramolecular del lípido sobre el electrodo; las zonas blancas corresponden a las “zonas activas”, es decir, las zonas sin lípido.

Arreglo de películas de lípido tipo B.

En este caso, el electrodo se encuentra cubierto por el lípido en diferentes grados de compactación, por lo que la transferencia electrónica ocurre simultáneamente a diferentes velocidades, dependiendo a qué zona del electrodo llegue el reactivo ya que de ello depende cual será la barrera lipídica que tiene que atravesar el ion electroactivo para reaccionar (ver figura 5.10). La difusión se sigue considerando lineal. El voltagrama observado será la suma de los aportes de cada reacción y la k^0 obtenida por espectroscopia de impedancia electroquímica será el promedio pesado de las k_i^0 de cada reacción i .

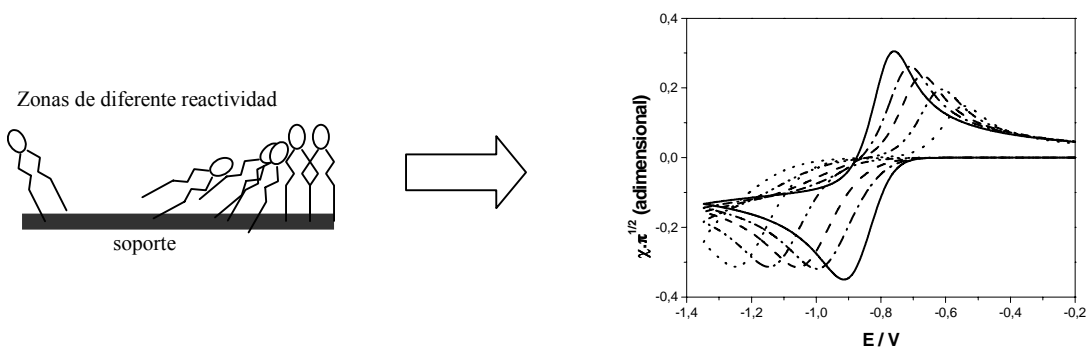


Fig. 5.10. Esquema del arreglo de película de lípido tipo B. Izquierda: ordenamiento de los lípidos sobre el electrodo. Derecha: Voltagramas teóricos obtenidos para diferentes k^0 utilizando el modelo de Nicholson: a medida que aumenta la diferencia de potencial de pico, los valores de k^0 empleadas son: 0,2; 2; 5; 10 y $50 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

Los correlaciones encontradas para ambos modelos son buenas (figura 5.11), por lo que no es posible discernir entre alguno de los dos. Sin embargo, empleando el modelo propuesto por Matsuda sólo se obtienen buenos ajustes con una k^0 menor a la del voltagrama registrado sobre el electrodo limpio, lo cual no tiene sentido físico ya que según este modelo la reacción de transferencia de carga ocurre en las zonas libres, por lo que la k^0 del electrodo cubierto debería ser la misma que la del electrodo limpio.

Es probable que ambos sean modelos demasiado simples para describir completamente el sistema experimental real, y que la estructura de la película de dmpc sobre el electrodo posea zonas con huecos en los que la difusión es hemi-esférica y zonas con lípido en estructura desordenada en los que la reacción ocurre más lentamente.

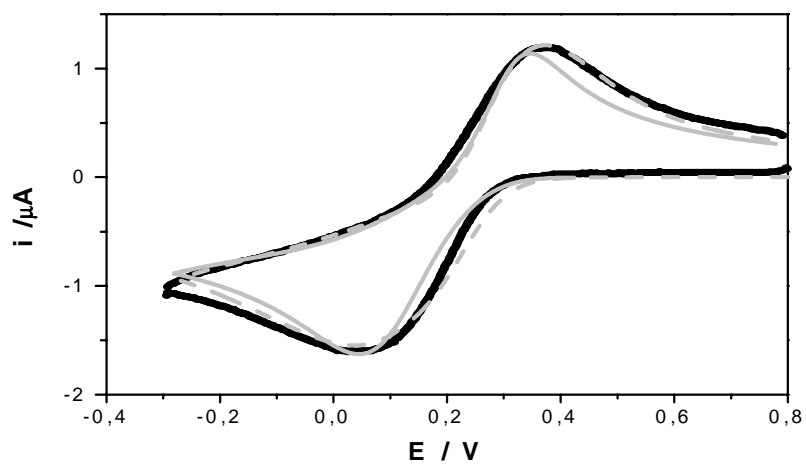


Fig.5.11 Voltagrama experimental a $0,100 \text{ V s}^{-1}$ (negro) para una solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5mM y NaNO_3 21mM y voltagramas teóricos según los dos modelos planteados (gris). Modelo de Matsuda (—) y suma de procesos con difusión lineal y diferentes velocidades de reacción (----).

5.2 Efecto de una y cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$.

Resumen

En este capítulo se analiza el efecto de capas de lípido transferidas al electrodo sobre la respuesta voltamétrica de la reacción de óxido-reducción de la cupla $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$. La reacción de óxido-reducción de este complejo es mucho más rápida y sencilla que la reacción $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. Probablemente debido a esto, el efecto producido por el lípido es mucho menor para $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$. Una sola capa de dmpc transferida al electrodo no modificó de forma apreciable la respuesta voltamétrica, por lo que se transfirieron cuatro capas de cada lípido y se analizó el efecto de las mismas.

Al igual que para la cupla aniónica antes estudiada, también se encontró que cada lípido provoca un efecto diferente en la respuesta electroquímica del ion electroactivo.

En ausencia de lípido, el ion Ca^{2+} no modifica la respuesta electroquímica de esta cupla redox, por lo que en este caso, si se observan cambios en el voltagrama sobre el electrodo modificado, los mismos se deberán exclusivamente a modificaciones en la estructura de la película o en las interacciones entre el ion electroactivo y el lípido.

Al igual que para la cupla aniónica, la respuesta electroquímica en presencia y ausencia de CaCl_2 se relaciona con el comportamiento en la interfase agua-aire de cada lípido. Cada voltagrama resultante se compara con voltagramas teóricos calculados utilizando el modelo propuesto por Matsuda [81,82].

5.2.I. Perfiles Corriente-Potencial de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ sobre Electrodo Modificados por una y cuatro Capas de cada Lípido.

Debido a la irreproducibilidad de la cupla aniónica y a su complejidad, así como el efecto indeseado que produce el ion Ca^{2+} , se seleccionó una cupla conocida por ser de esfera externa, rápida y sencilla [91].

Se comenzó estudiando el efecto provocado por una capa de dmpc sobre la respuesta voltamétrica de esta reacción redox. En la figura 5.12 se muestra la respuesta electroquímica de esta cupla sobre electrodo modificado por una capa del lípido a diferentes velocidades de barrido. A todas las velocidades de barrido analizadas (desde $0,010 \text{ V s}^{-1}$ hasta $7,000 \text{ V s}^{-1}$), se encuentra que el perfil voltamétrico es insensible a la presencia del lípido.

5.2. Efecto de una y cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$.

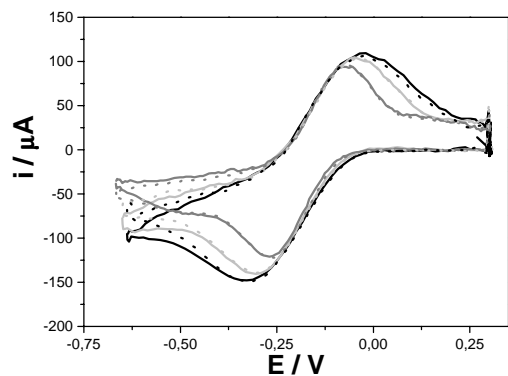


Fig. 5.12. Perfil corriente-potencial para la reacción de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ sobre el electrodo limpio (—) o modificado por una capa de dmpc (----). Velocidades de barrido: 5 (negro), 4 (gris claro) y 2.5 V s^{-1} (gris oscuro). Composición de la solución: $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 1 mM + NaNO_3 20 mM.

Debido a que una sola capa no parece cubrir el electrodo suficientemente, se transfirieron 4 capas, dejando secar cada capa durante 30 min antes de cada nueva transferencia. En la figura 5.13 se muestran los perfiles voltamétricos correspondientes a la reacción de transferencia de carga de la cupla $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ cuando 4 capas de cada lípido cubren el electrodo.

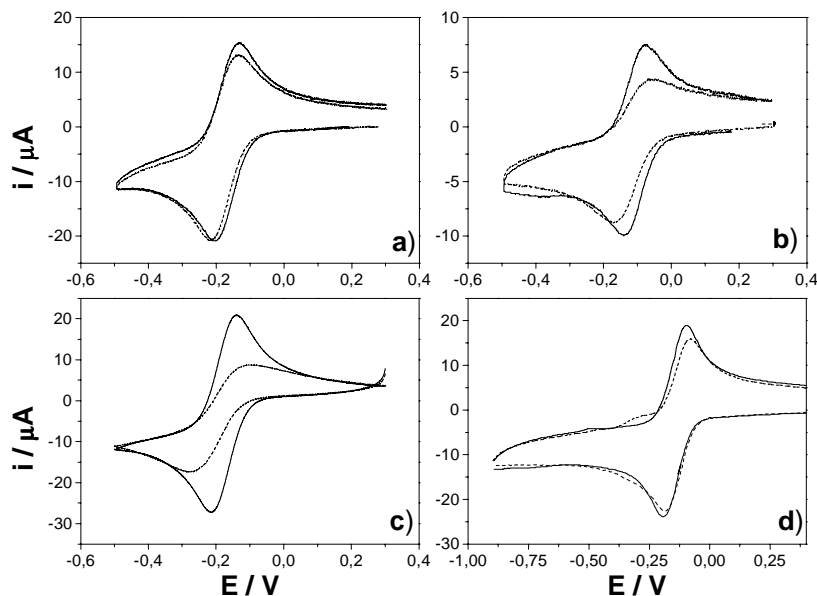


Fig. 5.13. Perfiles corriente-potencial de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ sobre electrodos recién pulidos (—), y sobre electrodos cubiertos por 4 capas de cada lípido (----). Composición de la solución: $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 1 mM + NaNO_3 20 mM. Lípido que recubre el electrodo: dmpc (a), sphm (b), galcer (c) y sul (d). Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

A partir de la figura 5.13, podemos decir que en todos los casos se observa una disminución en las corrientes de pico. Sin embargo, a pesar de que han sido transferidas 4 capas al electrodo, tanto para sul como para dmpc esta disminución es pequeña. En este caso, al igual que para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, analizando la respuesta voltamétrica cuando una capa de lípido recubre el electrodo, la corriente que circula por el sistema es indicativa de que las capas de lípido no son homogéneas, sino que quedan huecos por donde la reacción puede ocurrir. Tanto para dmpc como para sul, la reacción inclusive ocurre dando casi la misma señal que cuando el electrodo se encuentra descubierto. Teniendo esto en cuenta, se

5.2. Efecto de una y cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$.

compararon los perfiles corriente-potencial experimentales con perfiles teóricos calculados utilizando el modelo de Matsuda [81,82]. La forma del voltagrama resultante de este modelo depende de la fracción de área bloqueada (θ), el radio de la celda unidad (b), la constante de velocidad del proceso de transferencia de carga (k^0), y el coeficiente de transferencia de carga (α). Como de acuerdo a este modelo, la reacción ocurre en las zonas libres de lípido, la k^0 se obtuvo de los voltagramas sobre el electrodo limpio, utilizando el método de Nicholson [76-77]. El valor hallado para la k^0 de esta reacción antes de transferir el lípido es de $(1,5 \pm 0,5) 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$. Para el ajuste se utilizaron $\alpha = 0,5$ y el coeficiente de difusión de la especie oxidada y reducida $= 7 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ como parámetros fijos y θ y b como parámetros de ajuste. Todos los ajustes se realizaron a varias velocidades de barrido, aunque aquí sólo se muestran a $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

A continuación se realiza un análisis detallado del resultado encontrado para cada lípido:

Dmpc

Como ya fue mencionado, sólo se observan pequeños cambios en el voltagrama cuando 4 capas de este lípido cubren el electrodo (figura 5.13a). De hecho, el perfil voltamétrico puede ser simulado utilizando el procedimiento de Nicholson para difusión lineal (figura 5.14).

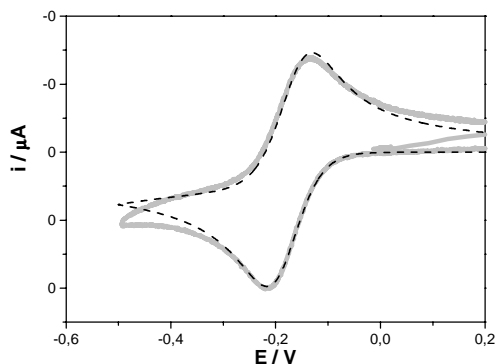


Fig. 5.14 Voltograma experimental (—) y teórico (---) para el proceso de transferencia de carga de la cupla redox $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ sobre electrodos cubiertos por 4 capas de dmpe. Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

Parámetros de simulación: $\alpha = 0,5$; coeficiente de difusión de las especies oxidada y reducida $= 7 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$; $k^0 = 1,5 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$.

El hecho de que una sola capa de dmpe modifique la respuesta voltamétrica de la cupla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ y que al transferir el lípido al electrodo se observe siempre una disminución del área total de la monocapa indican que el lípido se ha adherido al electrodo. Sin embargo, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ muestra sólo pequeños cambios en el voltagrama en presencia de dmpe, con corrientes de pico proporcionales al área geométrica del electrodo, por lo que debe existir sobre el electrodo una distribución de micro-huecos muy cercanos uno de otro, en los que las capas difusionales de cada uno de ellos se solapan, resultando un flujo de masa neto de régimen lineal (ver Capítulo 2.1.2) [80].

Galcer

Este lípido provoca las corrientes más bajas en los voltagramas de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ (Figura 5.13c). La figura 5.15 muestra la comparación entre voltagramas experimental y teórico calculado mediante el modelo de Matsuda con $\theta = (0,90 \pm 0,02)$ y $b = (3,0 \pm 0,5) \times 10^{-3} \text{ cm}$. Como se observa en esa figura, el ajuste es muy bueno indicando que el modelo planteado se acerca bastante al

5.2. Efecto de una y cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$.

arreglo verdadero del lípido sobre el electrodo. El alto valor de θ indica que galcer forma capas compactas dejando pocos huecos en donde la reacción de transferencia de carga tiene lugar.

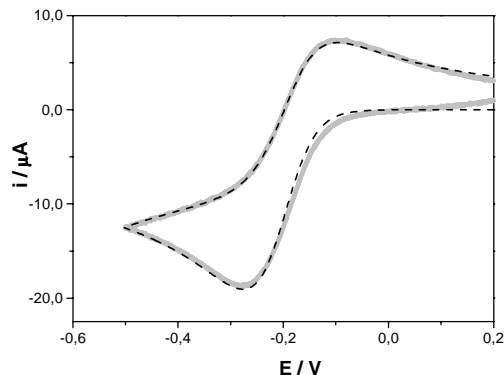


Fig. 5.15 Voltograma experimental (—) y teórico (----) para el proceso de transferencia de carga de la cupla redox $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ sobre electrodos cubiertos por 4 capas de galcer. Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$. Parámetros de simulación: $\alpha = 0,5$; coeficiente de difusión de las especies oxidada y reducida = $7 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$; $k^0 = 1,5 \cdot 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$; $\theta = (0,90 \pm 0,02)$ y $b = (3,0 \pm 0,5) \times 10^{-3} \text{ cm}$

Sphm

Este lípido tiene comportamientos intermedios entre galcer y dmpc tanto en la interfase agua-aire como en la interfase electrodo-solución (figura 5.13b). Se encuentra un buen ajuste entre los voltagramas experimental y teórico calculado mediante el modelo de Matsuda et al. utilizando $\theta = (0,65 \pm 0,05)$ y $b = (7 \pm 2) \times 10^{-3} \text{ cm}$ (figura 5.16).

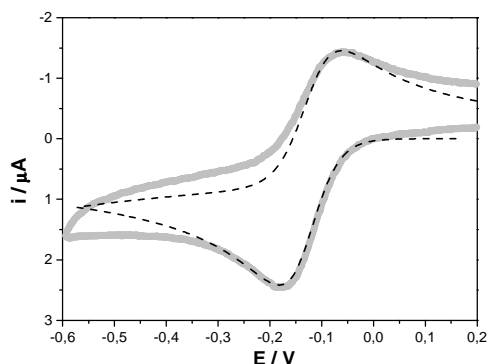


Fig. 5.16 Voltograma experimental (—) y teórico (----) para el proceso de transferencia de carga de la cupla redox $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ sobre electrodos cubiertos por 4 capas de sphm. Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$. Parámetros de simulación: $\alpha = 0,5$; coeficiente de difusión de las especies oxidada y reducida = $7 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$; $k^0 = 1,5 \cdot 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$; $\theta = (0,65 \pm 0,05)$ y $b = (7 \pm 2) \times 10^{-3} \text{ cm}$

Este ajuste fue realizado considerando principalmente los picos del voltograma, excluyendo la zona entre $-0,4$ y $-0,6 \text{ V}$, ya que en allí se produce la reacción indeseada de reducción de oxígeno.

Como puede observarse en la figura 5.16, el ajuste en este caso no es tan bueno como para galcer, lo que indica que el modelo elegido puede no ser el óptimo para describir el sistema.

Por otro lado, el cubrimiento encontrado para este lípido es menor que para galcer, lo cual es esperable considerando el comportamiento de interfase de ambos lípidos.

Sul

Este es el único lípido cargado de la serie analizada; el bloqueo de la corriente no está de acuerdo con su factor de compresibilidad, ya que teniendo este parámetro en cuenta debería producir similar bloqueo que sphm. Las interacciones electrostáticas generadas entre la película de lípido y el complejo electroactivo son atractivas y deberían actuar favorablemente al proceso de transferencia de carga.

Como el modelo de transferencia de carga considerado hasta ahora no tiene en cuenta la presencia de interacciones entre la película bloqueante y la molécula electroactiva, no puede ser aplicado en este caso.

Como puede verse en la figura 5.13d, el voltagrama de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ sobre cuatro capas de sul presenta un hombro a potenciales más catódicos que la descarga de la cupla redox. Este proceso será analizado con mayor detalle en el Capítulo 5.4.

5.2.II. Correlación entre los Voltamperogramas de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ en Ausencia de Ca^{2+} y las Isotermas sobre soluciones de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3 + \text{NaNO}_3$.

Así como en el caso de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, la respuesta voltamétrica de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ depende de la naturaleza del lípido que recubre el electrodo. Bajo las condiciones experimentales analizadas, las disminuciones en corriente siguen el orden: galcer > sphm > dmpe \cong sul.

Para explicar este orden, se recurrió al comportamiento del lípido en la interfase solución acuosa-aire, utilizando como subfase las soluciones empleadas en las medidas electroquímicas, en forma similar a lo realizado para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (ver Capítulo 5.1). Para realizar esta comparación, en la figura 5.17 se grafican los diferentes parámetros que caracterizan el comportamiento de interfase del lípido, así como el comportamiento electroquímico de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ cuando 4 capas de cada lípido recubren el electrodo.

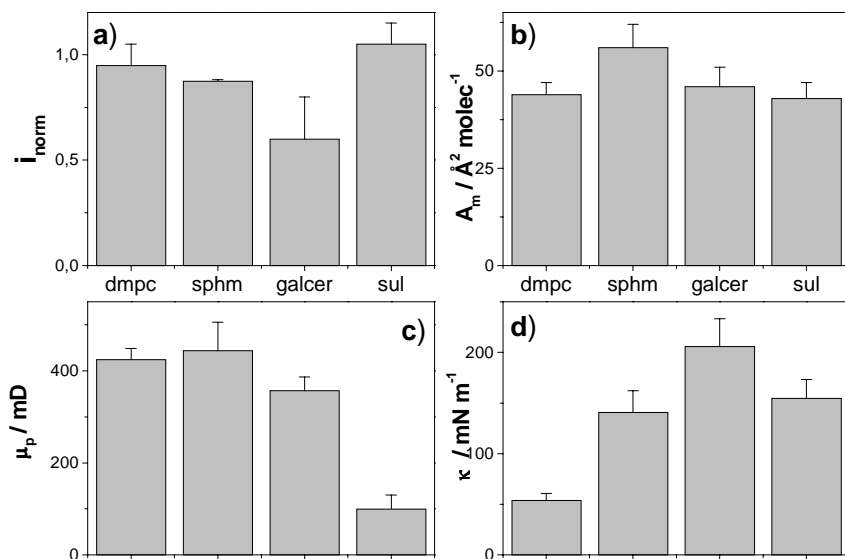


Fig. 5.17. Efecto del lípido en la respuesta electroquímica y parámetros de la isoterma.

Composición de la solución:
 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 1 mM + NaNO_3 20 mM.
Parámetros:

a) Corriente de pico (o máxima) normalizada por el valor del voltagrama en ausencia de lípido.

b) Área molecular promedio a la presión de transferencia (40 mN m^{-1}).

c) Momento dipolar perpendicular a la interface a la presión de transferencia (40 mN m^{-1}).

d) Factor de compresibilidad a la presión de transferencia (40 mN m^{-1}).

5.2. Efecto de una y cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$.

Las barras de error de la figura 5.17 fueron calculadas del promedio de al menos tres medidas independientes. El área molecular promedio es similar para todos los lípidos (figura 5.17b). Para sphm es un poco mayor, lo que se relacionaría con menor bloqueo electroquímico, lo cual sin embargo no se observa.

El momento dipolar es similar para todos los lípidos (figura 5.17c), salvo para sul, lo que explicaría su comportamiento particular pero no las diferencias encontradas para los otros lípidos.

Al contrario de lo que ocurre con el área molecular y el momento dipolar, el factor de compresibilidad (κ) a $\pi = 40 \text{ mN m}^{-1}$ es diferente para cada lípido, y sigue el orden galcer > sphm \cong sul > dmpe (figura 5.17d). Este parámetro parece explicar la dependencia del bloqueo electroquímico con la naturaleza del lípido, al menos para los lípidos neutros. Para aclarar más este punto, en la figura 5.18 se muestran los valores de i_{norm} como función de este factor. Allí puede verse que a medida que aumenta κ , i_{norm} disminuye. El punto que se sale de este comportamiento, marcado en negro en el gráfico, corresponde a sul, para el cual es esperable que la carga juegue un papel importante.

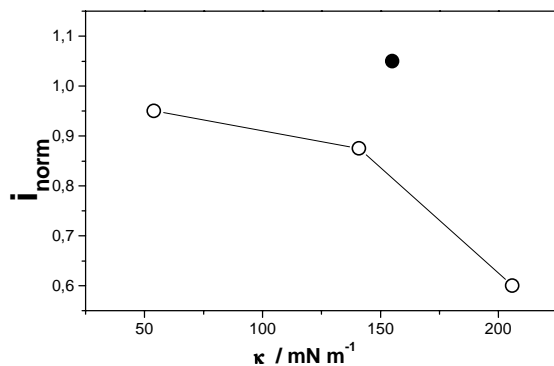


Fig. 5.18. i_{norm} como función del factor de compresibilidad de la monocapa a la presión de transferencia.

Composición de la solución:

$\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 1 mM + NaNO_3 20 mM.

Lípido que recubre el electrodo: galcer, dmpe y sphm (○); sul (●).

5.2.III. Efecto del Ion Ca^{2+} en la Respuesta Electroquímica de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ Sobre Electrodos Cubiertos por 4 Capas de cada Lípido.

Para esta cupla no existe el efecto de aumento en la velocidad del proceso de transferencia de carga como en el caso de la cupla aniónica $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre electrodos limpios. Esto hace que se pueda analizar aisladamente el efecto de este ion sobre la capa de lípido, y a su vez, el efecto de esto en la respuesta electroquímica de la cupla. La figura 5.19 muestra el voltograma de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ sobre electrodos modificados por 4 capas de cada lípido en presencia de CaCl_2 . En la misma figura se muestra el voltograma en ausencia del ion para su comparación. A continuación se analiza cada lípido por separado.

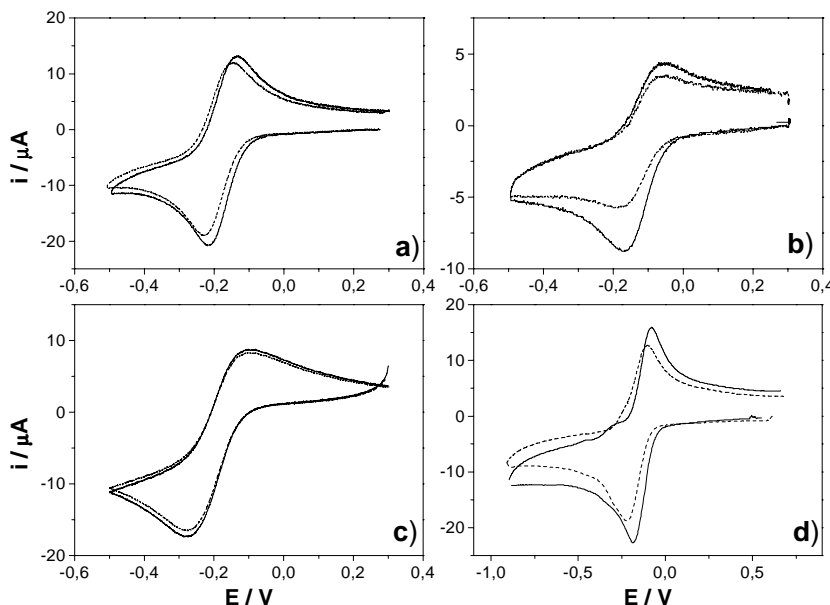


Fig. 5.19 Perfiles corriente-potencial de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ sobre electrodos cubiertos por 4 capas de cada lípido. Composición de la solución: $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 1 mM + NaNO_3 20 mM (—) + CaCl_2 0.3 mM (----).

Lípido que recubre el electrodo: dmpc (a), sphm (b), galcer (c) and sul (d). Velocidad de barrido: 0,100 V s^{-1} .

Dmpc

Cuando el ion Ca^{2+} está presente en la subfase, éste se une al grupo fosfato cargado negativamente (dmpc es un zwitterion), impartiendo al lípido una carga neta positiva [55]. La figura 5.19a muestra que en presencia del ion Ca^{2+} , la corriente de pico del voltograma disminuye ligeramente. Esto probablemente esté relacionado con la repulsión electrostática generada entre la cupla y la película, la cual ahora se encuentra cargada positivamente.

Sphm

Este lípido tiene el mismo grupo polar que dmpc, por lo que las interacciones entre el grupo fosfato y el ion Ca^{2+} generarán una película cargada positivamente, la cual interaccionará repulsivamente con el ion electroactivo. Esto se observa en el voltograma como una disminución en corriente (figura 5.19b) respecto al voltograma en ausencia de CaCl_2 .

Galcer

De las isothermas de este lípido sobre soluciones que contienen CaCl_2 podemos concluir que tiene poca o nula interacción con el catión Ca^{2+} , lo cual concuerda con información previa de literatura [107]. Por lo tanto, la estructura interfacial no se modifica al agregar Ca^{2+} a la celda electroquímica. La reacción electroquímica en sí tampoco se ve modificada por la presencia del ion. Es de esperar entonces que el perfil voltamétrico en presencia de Ca^{2+} sea similar al voltograma en ausencia del catión, como se muestra en la figura 5.19c.

Sul

El ion Ca^{2+} interacciona fuertemente con este lípido, como se desprende de los cambios en el momento dipolar perpendicular a la interfase generados en las isotermas por la presencia de este ion, lo cual está de acuerdo con reportes previos [107]. Se espera que el catión neutralice, al menos parcialmente, la película inicialmente cargada negativamente.

En la figura 5.19 se observa que la presencia del ion Ca^{2+} induce una disminución en la corriente para la cupla $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ al igual que en el caso de sphm. La atracción electrostática entre el lípido negativo y la cupla catiónica se encuentra anulada, o al menos disminuida, al disminuir la carga de la película de lípido produciendo este efecto.

En ninguno de los casos se realizaron comparaciones entre los voltagramas experimentales y voltagramas teóricos calculados mediante el modelo de Matsuda, ya que el ion Ca^{2+} genera películas cargadas tanto para dmpc como para sphm, en cuyo caso el modelo no es más aplicable. Para galcer, no hay diferencia entre los voltagramas en ausencia como en presencia de Ca^{2+} , por lo que el ajuste arrojaría resultados similares. En el caso de sul, la película no necesariamente se encuentra neutralizada en un 100 %, en cuyo caso el modelo tampoco es aplicable.

Podemos concluir que el grado de cubrimiento y distribución de huecos dejados por el lípido, así como posibles interacciones, principalmente de origen electrostático, entre las especies involucradas, son los factores principales que determinan la forma del voltagrama.

Los huecos pueden originarse al transferir el lípido, o bien después, debido a reordenamientos a circuito abierto o bajo la acción del campo eléctrico aplicado al realizar la medida.

5.3 Efecto de cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

Resumen

En este capítulo se muestran los voltagramas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre electrodos cubiertos por 4 capas de cada lípido, así como el efecto del ion Ca^{2+} . Por otro lado se comparan los resultados experimentales con perfiles corriente-potencial teóricos calculados utilizando el modelo propuesto por Matsuda.

La dependencia de la respuesta electroquímica en presencia y ausencia de CaCl_2 se relaciona con el comportamiento de interfase de cada lípido. Cada voltagrama resultante se compara con voltagramas teóricos.

5.3.I. Correlación entre los Voltagramas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en Ausencia de Ca^{2+} y las Isotermas sobre una solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6+\text{NaNO}_3$.

A pesar de todas las desventajas e inconvenientes de la cupla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (no es rápida, depende del estado superficial del electrodo y de la composición iónica de la solución, etc), si se quiere comparar los resultados encontrados para la cupla catiónica $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ con la cupla aniónica $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ es necesario analizar los voltagramas de esta cupla sobre electrodos cubiertos por 4 capas de cada lípido

En la figura 5.20 se muestra la respuesta electroquímica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre electrodos modificados por 4 capas de cada lípido, siempre en comparación con el voltagrama en ausencia de lípido respectivo. Las observaciones más destacables de estos voltagramas se resumen como sigue:

- En todos los casos se observa una disminución en corriente y un aumento en la diferencia de potencial de pico. Estos cambios dependen de la naturaleza del lípido que recubre el electrodo.
- El efecto bloqueante es máximo cuando galcer recubre el electrodo. De hecho, casi no se observa corriente en el perfil voltamétrico.

En la figura 5.20 se observa que, en contraste con el efecto provocado por dmpc sobre la transferencia de carga de la cupla $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$, el voltagrama de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ muestra marcados cambios. Al comparar el perfil experimental con perfiles teóricos, no se encuentra un buen ajuste utilizando el modelo simple de Matsuda, indicando que el mecanismo de transferencia

5.3. Efecto de cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$

de carga no es tan sencillo en este caso. Esto es esperable, considerando que esta cupla es altamente dependiente de las condiciones superficiales, inclusive sobre electrodos limpios [88].

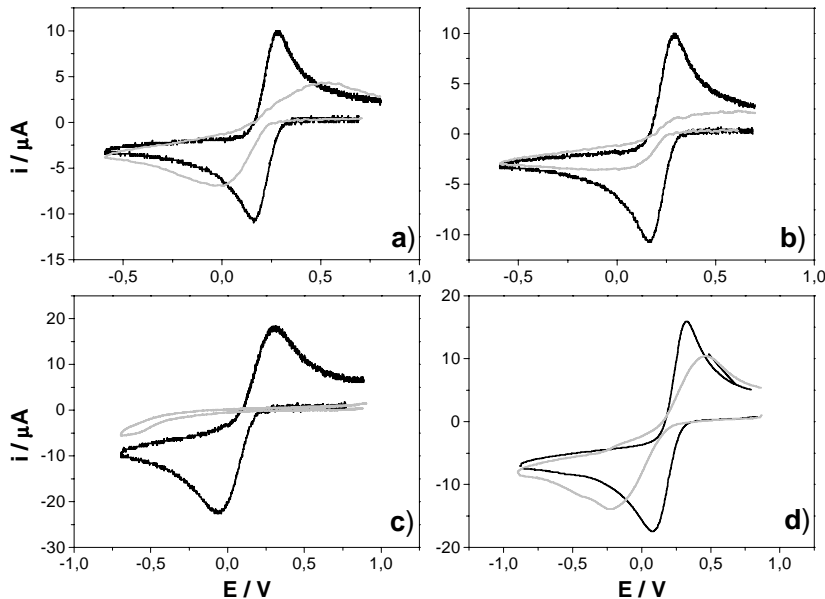


Fig.5.20. Perfiles corriente-potencial de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre electrodos recién pulidos (—), y sobre electrodos cubiertos por 4 capas de cada lípido (---). Composición de la solución: $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 1 mM + NaNO_3 20 mM. Lípido que recubre el electrodo: dmpe (a), sphm (b), galcer (c) y sul (d). Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

Por otro lado, casi no se observa corriente en los perfiles corriente-potencial cuando el electrodo se encuentra cubierto por 4 capas de galcer.

Al igual que para la cupla catiónica, el efecto producido por sphm es intermedio entre dmpe y galcer. Tampoco en este caso se encuentra un buen ajuste entre el perfil experimental y el teórico.

En el caso de sul, al tener este lípido carga de igual signo que el ion electroactivo, se generarán interacciones repulsivas entre ambas moléculas. Sin embargo, el lípido provoca un efecto intermedio entre sphm y dmpe. Por otro lado, la señal no es reproducible y además presenta un pico simétrico solapado a la corriente faradaica de la reacción redox. Esto también se observó en el caso de la cupla $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ cuando sul recubre el electrodo, por lo que no parece depender de la reacción redox. Este proceso se estudiará más detalladamente en el Capítulo 5.4.

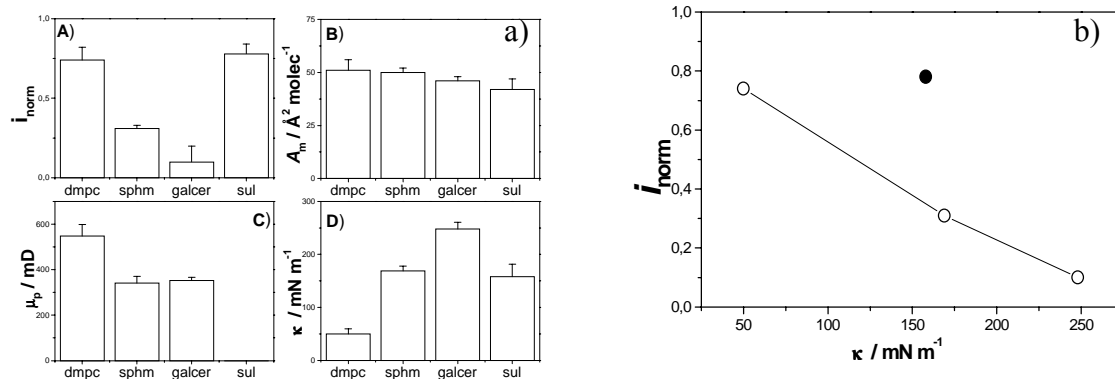


Fig. 5.21. **a)** Efecto del lípido en la respuesta electroquímica y parámetros de la isoterma. Composición de la solución: $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1 mM + NaNO_3 20 mM. Parámetros: **A)** Corriente de pico (o máxima) normalizada por el valor del voltograma en ausencia de lípido. **B)** Área molecular promedio a 40 mN m^{-1} . **C)** Momento dipolar perpendicular a la interfase a 40 mN m^{-1} . **D)** Factor de compresibilidad a la presión de transferencia (40 mN m^{-1}). **b)** i_{norm} como función del factor de compresibilidad de la monocapa a 40 mN m^{-1} . Composición de la subfase o celda electroquímica: $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1 mM + NaNO_3 20 mM. Lípido que recubre el electrodo: galcer, dmpe y sphm (○); sul (●).

Como para $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$, la respuesta electroquímica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ se analiza en función de los parámetros que caracterizan el comportamiento de interfase del lípido (figura 5.21a). Como en el caso anterior, el único parámetro que justifica el efecto provocado por el lípido en la respuesta electroquímica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ es el factor de compresibilidad, el cual disminuye a medida que la corriente normalizada aumenta. Esto se evidencia más claramente en la figura 5.21b, en donde se grafica i_{norm} como función de κ .

5.3.II. Correlación entre los Voltagramas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en Presencia de Ca^{2+} y las Isotermas sobre una solución de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + \text{NaNO}_3 + \text{Ca}^{2+}$.

Como era esperable, en todos los casos el Ca^{2+} disminuye el bloqueo producido por el lípido en la respuesta electroquímica de esta cupla redox. Esto puede tener dos fuentes:

- El proceso de transferencia de carga en sí se ve afectado, como se explicó en el Capítulo 3.
- Este ion, a su vez, afecta el comportamiento de interfase de sul, sphm y dmpc, no así de galcer (ver Sección 5.1).

La figura 5.22 muestra los perfiles voltamétricos de esta cupla sobre electrodos cubiertos por 4 capas de cada lípido en presencia de CaCl_2 . Los voltagramas en ausencia del catión se encuentran en el mismo gráfico a fin de poder compararlos.

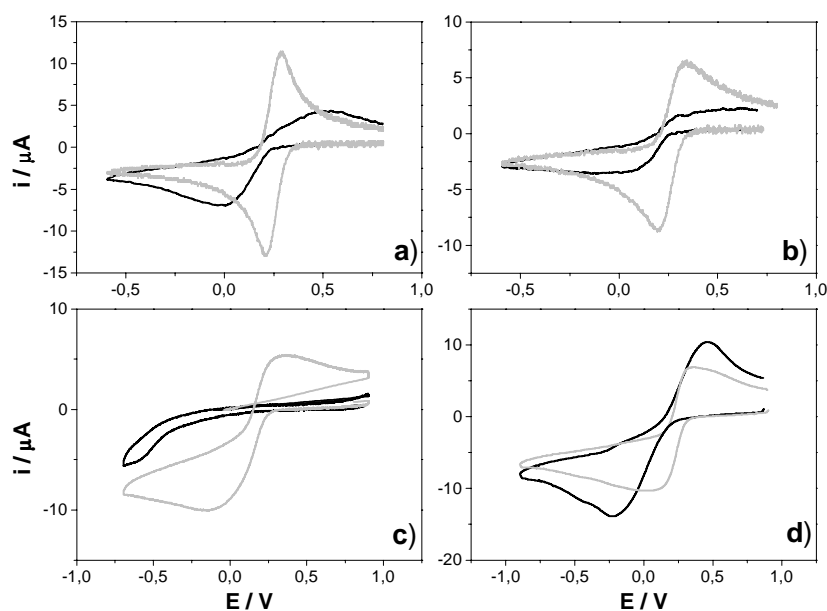


Fig.5.22. Perfiles corriente-potencial de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre electrodos cubiertos por 4 capas de cada lípido. Composición de la solución: $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 1 mM + NaNO_3 20 mM (—). $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 1 mM + NaNO_3 20 mM + CaCl_2 0,3 mM (---).

Lípido que recubre el electrodo: dmpc (a), sphm (b), galcer (c) y sul (d). Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

Como se dijo en el capítulo 5.2, el ion Ca^{2+} se une al grupo fosfato del grupo polar de dmpc y sphm, impartiendoles cargas positivas [55]. Esto genera interacciones atractivas entre el ion electroactivo y las capas de lípido, favoreciendo al proceso de transferencia de carga. Por otro lado, en el caso de

5.3. Efecto de cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$

dmpe, ocurre un cambio de fase a las presiones de trabajo cuando se encuentran presentes el catión Ca^{2+} y el anión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ en la celda electroquímica, explicando, al igual que cuando una capa recubre el electrodo (Capítulo 5.1) el gran aumento en la reversibilidad del proceso de transferencia de carga (figura 5.22a).

Para galcer no debería observarse cambios en el voltagrama ya que la estructura interfacial no se ve modificada por la presencia del catión. Por lo tanto, las diferencias observadas (figura 5.22c) sólo pueden explicarse considerando el aumento en la velocidad del proceso de transferencia de carga en sí, presente aún en ausencia de las capas de lípido. Si bien no se pueden obtener buenos ajustes comparando los voltagramas experimentales con perfiles teóricos calculados utilizando el modelo de Matsuda, este modelo predice que para un cubrimiento y separación de zonas activas fijo, al aumentar k^0 , en el voltagrama aumentan las corrientes de pico y disminuye la diferencia de potencial de pico tal como ocurre experimentalmente. En la figura 5.23 se muestran voltagramas experimentales (5.23b) y teóricos calculados mediante el modelo de Matsuda utilizando diferentes k^0 , el intervalo en el cual varía este parámetro es el intervalo de valores de k^0 encontrados experimentalmente para diferentes concentraciones de Ca^{2+} presentes en solución (ver figura 3.4).

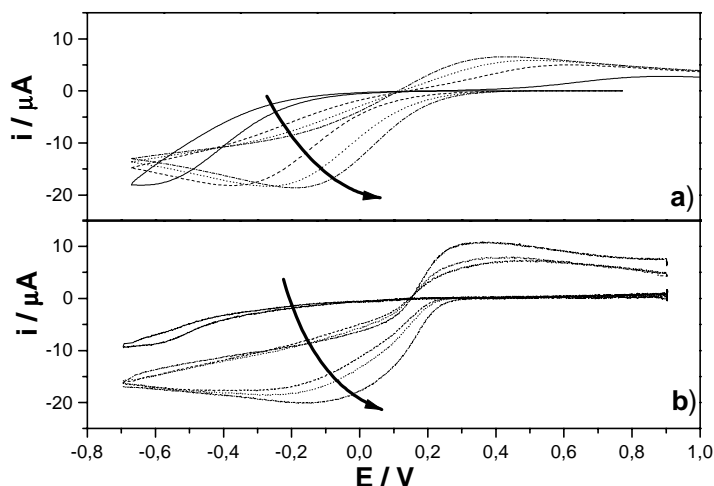


Fig. 5.23. Perfiles corriente-potencial teóricos (a) y experimentales (b).

a) El cálculo del voltagrama se realizó mediante el modelo de Matsuda con los siguientes parámetros de simulación:

Coefficiente de transferencia de carga: 0,5;
Coefficiente de difusión de la especie oxidada =
Coefficiente de difusión de la especie reducida:
 $7 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$; Cubrimiento: 0,90; b: $3 \cdot 10^{-3} \text{ cm}$;
Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

La flecha muestra el aumento en k^0 .

b) Reacción de óxido-reducción de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre electrodos cubiertos por 4 capas de galcer para diferentes concentraciones de CaCl_2 . Electrolito soporte: NaNO_3 20 mM. La flecha muestra el aumento en CaCl_2 .

Es interesante analizar el caso particular de sul, en el que sólo se observa una disminución en la diferencia del potencial de pico, sin un correspondiente aumento en corriente. Se puede concluir que el efecto bloqueante del lípido aún se conserva cuando las cargas negativas quedan anuladas por unión del lípido aniónico con el catión Ca^{2+} .

En ninguno de los casos es posible encontrar un buen ajuste entre voltagramas teóricos y experimentales, salvo en la respuesta de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sobre electrodos cubiertos por dmpe, en exceso de Ca^{2+} . En este último caso se logra una buena comparación utilizando el método de Nicholson para calcular los voltagramas teóricos, lo cual indica que cuando la reacción de transferencia de carga es suficientemente rápida, la presencia de este lípido no es detectada mediante esta técnica a las velocidades de barrido empleadas, así como se encontró para $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$.

5.3 Efecto de cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

Para realizar un análisis más detallado, comparando voltagramas experimentales con teóricos calculados utilizando modelos sencillos, es necesario utilizar una reacción redox sencilla. En este sentido, la muy usada cupla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ no es una buena elección. Las desventajas de esta cupla son salvadas utilizando la cupla $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$.

Cuando se transfieren 4 capas de lípido, el bloqueo del electrodo es mayor que con sólo una capa y la respuesta voltamétrica de la cupla redox depende principalmente del factor de compresibilidad de la monocapa en la interfase solución acuosa-aire. Este comportamiento es diferente al observado cuando sólo una capa de lípido recubre el electrodo, tal vez debido a que en esa situación el cubrimiento es demasiado bajo.

5.4 Comportamiento de Sulfátido en Ausencia de Moléculas con Actividad Redox en Solución.

Resumen

En este Capítulo se muestra el análisis de voltagramas de carbono vítreo cubierto por capas de sul en medios de distinta fuerza iónica dada por el agregado de diferentes iones.

Por otro lado, se realizaron experimentos modificando la velocidad de barrido y se analizó la dependencia de las corrientes de pico con este parámetro para analizar si el proceso observado se debe a una reacción faradaica reversible de la especie adsorbida.

Se concluye que este proceso se corresponde más que con una reacción faradaica del lípido, con una reestructuración de la película causada por el potencial aplicado, la cual produce un pico de corriente capacitiva. Sin embargo, no se cuentan con suficientes evidencias como para descartar la primer hipótesis.

Como ya se indicó en los Capítulos 5.2 y 5.3, cuando se transfieren 4 capas de sul al electrodo de carbono vítreo no sólo se observa el pico de corriente faradaica característico de las reacciones de óxido reducción de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ y $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sino que también se observa un hombro alrededor de -0,5 V. En la figura 5.24 se muestra como ejemplo las respuestas electroquímicas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ y $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ sobre electrodos modificados por 4 capas de sul

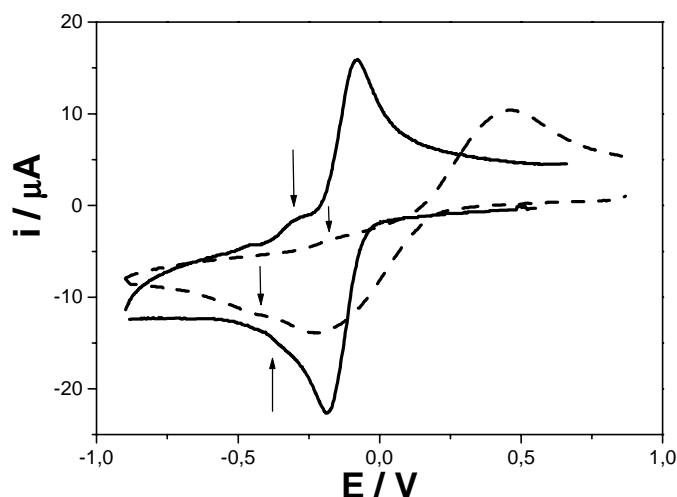


Fig. 5.24. Perfiles corriente-potencial para las reacciones redox $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$ (----) y $Ru(NH_3)_6^{3+}/Ru(NH_3)_6^{2+}$ (—) sobre electrodos cubiertos por 4 capas de sul. Electrolyte soporte: $NaNO_3$ 20 mM. Velocidad de barrido: $0,100 V s^{-1}$.

Para analizar el comportamiento de este hombro, se registraron voltagramas en soluciones que sólo contenían un electrolito inerte, es decir, en ausencia de cuplas redox en solución. Así, se encontró que aparece aún en ausencia de la cupla redox, y que crece con el tiempo a circuito abierto, hasta llegar a un estado estacionario (figura 5.25).

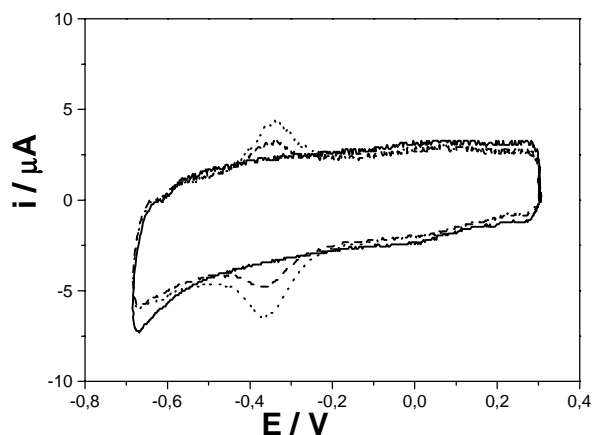


Fig. 5.25. Perfiles corriente-potencial sobre electrodos de carbono vítreo limpio (línea continua) y cubiertos por 4 capas de sul. Electrolyte soporte: KCl 5 mM. Tiempo desde que el electrodo fue sumergido en la solución: 20 (----) y 80 (.....) minutos. La solución se encuentra desoxigenada mediante burbujeo continuo de N_2 . Velocidad de barrido: $0,100 V s^{-1}$.

Se realizaron medidas utilizando diferentes iones como electrolito soporte, y este pico siempre estuvo presente, indicando que se debe a algún proceso del mismo lípido.

Para analizar sus características electroquímicas se modificó la velocidad de barrido y se midieron las corrientes de pico así como la cantidad de carga que circula por el sistema para cada pico.

La cantidad de carga se calculó como la integral del gráfico de corriente versus potencial dividido por la velocidad de barrido, tomando como línea de base para la integral el voltograma medido en iguales condiciones pero en ausencia de lípido. Estos parámetros se grafican en las figuras 5.26 y 5.27 como función de la velocidad de barrido v o de $v^{1/2}$.

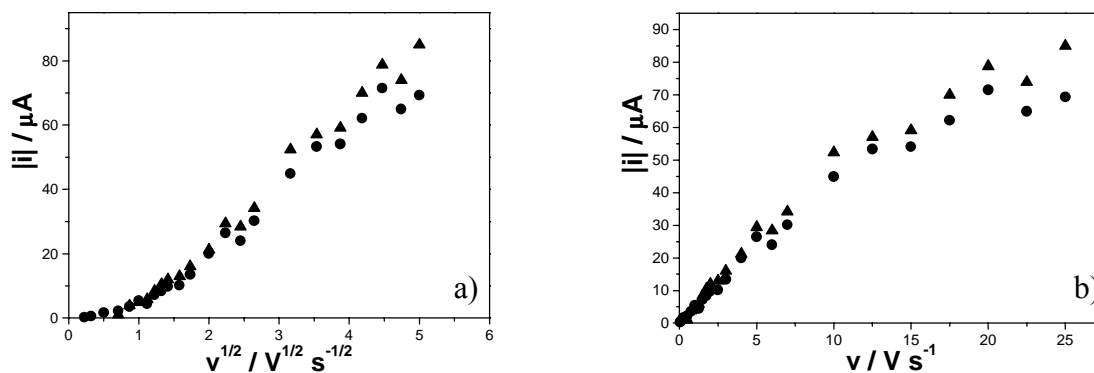


Fig. 5.26. Corrientes de pico de los procesos anódico (●) y catódico (▲) en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (a) y de la velocidad de barrido (b). Electrodo de carbono vítreo cubierto por 4 capas de sul, solución electrolítica: $NaNO_3$ 20 mM.

La figura 5.26 muestra que tanto la corriente de pico anódica como la catódica no siguen un comportamiento lineal con $v^{1/2}$ ni con v . No obstante, otros parámetros indican que podría tratarse de un proceso redox asociado a la especie adsorbida.

Por un lado, la forma simétrica del pico indica que no se trata de un proceso difusional [108]. Además, la constancia de la carga con v , y la diferencia de potencial de picos anódico y catódico (ΔE) próximo a cero y poco dependiente de v son también indicios de un proceso redox asociado a especies adsorbidas (ver figura 5.27).

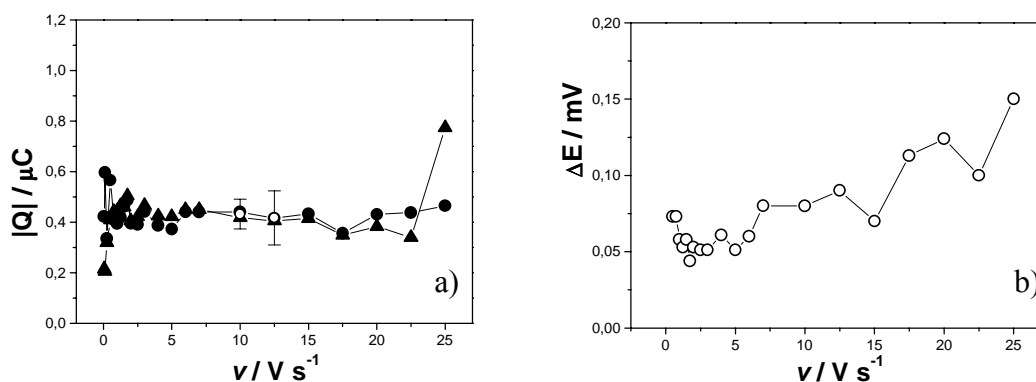


Fig. 5.27. a) Valor absoluto de la carga que circula por el sistema debido a este proceso en función de la velocidad de barrido. Proceso anódico (▲), proceso catódico (●), carga promedio (○): $(4 \pm 1) \cdot 10^{-7}$ C para el proceso anódico y $(4,3 \pm 0,6) \cdot 10^{-7}$ C para el proceso catódico. b) Diferencia de potencial de picos anódico y catódico en función de la velocidad de barrido.

Para tener la certeza sobre qué parte de la molécula es la responsable de este proceso, se realizaron experimentos similares a los anteriores transfiriendo capas de galcer al electrodo, ya que esta molécula sólo se diferencia de sul en que no posee el grupo SO_3^- en la galactosa. La figura 5.28 muestra que en iguales condiciones, galcer no presenta picos correspondientes a este proceso, por lo que el mismo debe estar relacionado con la presencia del grupo SO_3^- en sul. Es decir, la presencia del grupo SO_3^- es imprescindible para que este proceso ocurra.

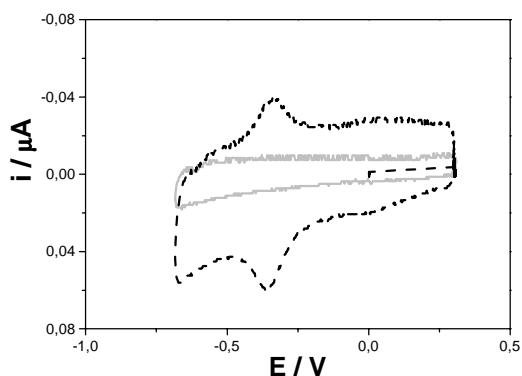


Fig. 5.28. Perfiles corriente-potencial sobre electrodos de carbono vítreo limpio cubiertos por 4 capas de sul (----) y por 4 capas de galcer (—).

Ambos voltagramas fueron registrados luego de un tiempo, cuando los sistemas se encuentran en estado estacionario.

Electrolito soporte: KCl 5 mM, ν : 0,100 V s^{-1} .

Como no se observa este pico en galcer, y para tener la certeza de que el lípido no se encuentre dañado, se realizó un control con cromatografía en placa fina (de sílica gel sobre aluminio, Merck) utilizando como fase móvil una mezcla de cloroformo:metanol:amoníaco (65:30:5), ya que si bien la isoterma de la solución de lípido en uso no se diferencia de las de sul iniciales ni de las de bibliografía, puede que este método no lo detecte. En la cromatografía aparecen los picos de las dos especies de sul presentes en la mezcla utilizada, un 62% corresponde a la especie hidroxilada y un 30% a la no hidroxilada. También hay un 1,5 % de galcer, aún proveniente de la mezcla original que no pudo ser separado durante el proceso de purificación de sul y un 8% restante cuyo origen se desconoce. Es decir que un 92% corresponde con certeza a sul sin dañar.

Para analizar la dependencia con la cantidad de lípido transferido al electrodo se realizaron experimentos similares con electrodos cubiertos por 2 y 4 capas de lípido. En la figura 5.29 se muestran los voltagramas correspondientes, los cuales indican que el proceso es dependiente de la cantidad de sul presente. El segundo pico que se observa a potenciales más catódicos corresponde a la reducción del O_2 disuelto en la solución, a pesar de purgar mediante burbujeo de N_2 . Este proceso es faradaico, y por tanto se ve bloqueado por la presencia del lípido al igual que las cuplas redox empleadas en los Capítulos 5.1-

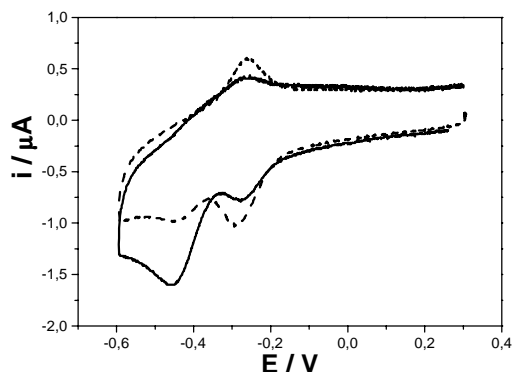


Fig. 5.29. Perfiles corriente-potencial sobre electrodos de carbono vítreo limpio cubiertos por 2 (—) y por 4 (----) capas de sul. Electrolito soporte: NaNO_3 20 mM.

Velocidad de barrido: 0,100 Vs^{-1} .

5.3 ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ y $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$), por lo que es esperable que este pico disminuya al aumentar la cantidad de lípido sobre el electrodo, como de hecho se observa en la figura 5.29.

Sin embargo, el proceso correspondiente a los picos de sul no es reproducible, por lo que no es posible comparar resultados de dos días diferentes. A su vez, se observa que depende de la concentración de sal en la celda electroquímica, sin depender de la naturaleza del catión que forme la solución. En la figura 5.30a se muestran como ejemplo voltagramas en KCl 5 mM con diferentes agregados de CsCl, observándose una paulatina disminución en la corriente de pico hasta desaparecer completamente. Esto mismo se observó con LiCl, KCl y NaCl, lo cual se muestra en la figura 5.30b en donde se grafica la corriente de pico normalizada por la corriente en ausencia de agregado de sal (voltagrama en KCl 5mM).

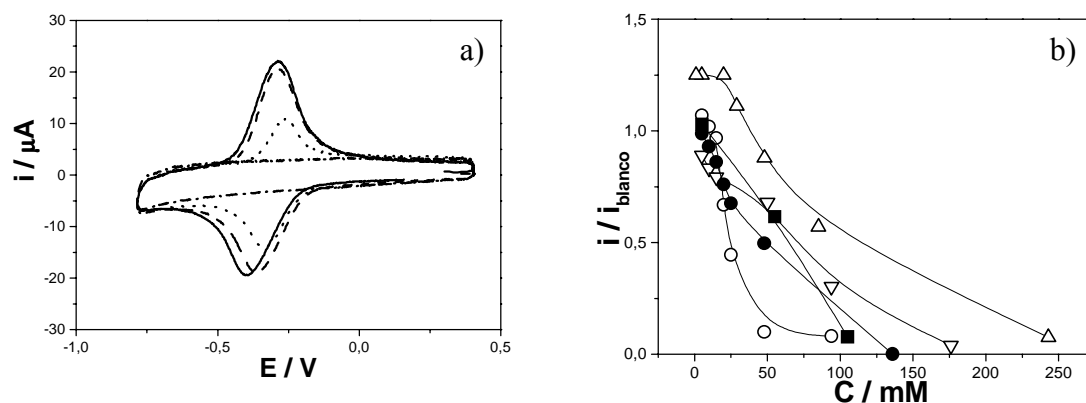


Fig. 5.30. a) Perfiles corriente-potencial sobre electrodos de carbono vítreo limpio cubiertos por 4 capas de sul. Composición de la celda electroquímica: KCl 5 mM (—) y KCl 5 mM + CsCl 0,5 mM (---), 2,6 mM (.....) y 14 mM (-.-.-). Velocidad de barrido: 1,000 Vs⁻¹.

b) Cociente de la corriente de pico catódico del proceso sobre la misma corriente del voltagrama en KCl 5 mM. Electrodo cubierto por 2 capas de sul en función de la concentración de sal agregada. Sal agregada: CsCl (○), KCl (Δ), LiCl (▽), NaCl (■). Electrodo cubierto por 4 capas de sul en función de la concentración de CsCl (●).

Las reacciones de reducción conocidas para el ácido sulfónico y sus derivados son reacciones irreversibles en las que la molécula se rompe. Por ejemplo, en ciertas condiciones puede ocurrir la siguiente reacción:



Por otro lado, una molécula de la forma RSH puede oxidarse a RSO₃H en un medio de HNO₃ u otro agente oxidante [110].

Es difícil asociar una de estas dos reacciones al proceso observado, dado que por sus características debería corresponder a una reacción reversible. No se encontraron en literatura reacciones reversibles en las que pueda participar sul. Por otro lado, si se tratara de un proceso faradaico, no es comprensible su dependencia con la fuerza iónica.

También se observan picos de corriente cuando existe un reordenamiento cooperativo de las moléculas que forman la película sobre el electrodo, ya que esto genera cambios en la capacidad del sistema dando origen a cambios bruscos en la corriente capacitiva [22,25,111,112]. Estos procesos son complejos y altamente dependientes de la fuerza iónica, más aún teniendo en cuenta que se trata de un

lípido cargado. Lamentablemente, al ser tan baja la capacidad inicial del electrodo, no es posible realizar un análisis más profundo utilizando espectroscopia de impedancia electroquímica.

Concluimos que el proceso observado es de naturaleza altamente compleja y que parece tratarse de un cambio cooperativo en la orientación de las moléculas sobre el electrodo debido al campo aplicado.

5.5 Efecto de cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{FeEDTA}^{1-}/\text{FeEDTA}^{2-}$ y $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$.

Resumen

Para conocer la dependencia del efecto provocado por el lípido sobre la respuesta voltamétrica de la reacción redox con la naturaleza de dicha reacción, se analizaron otras dos cuplas redox. Ellas fueron seleccionadas teniendo en cuenta que tanto la especie oxidada como la reducida sean solubles y que el pH de trabajo no sea extremo.

Se utilizó la reacción de transferencia de carga del complejo formado por el ligando EDTA y Fe^{3+} . La cupla $\text{FeEDTA}^{1-}/\text{FeEDTA}^{2-}$ se corresponde con una reacción relativamente lenta, aunque más rápida que $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, y también aniónica.

La segunda cupla analizada fue $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$, la cual es más rápida, aunque no tanto como $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$, y al igual que esta última, es catiónica.

Ambas cuplas tienen una dependencia complicada con la concentración de Ca^{2+} presente en solución (ver Capítulo 3), por lo que no se analizará el efecto de este ion en este caso.

Se midieron las respuestas voltamétricas de estas dos reacciones redox, $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$ y $\text{FeEDTA}^{1-}/\text{FeEDTA}^{2-}$, sobre electrodos cubiertos por 4 capas de cada lípido. En las figuras 5.31 y 5.32 se muestran los resultados encontrados para cada reacción.

5.5 Efecto de cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{FeEDTA}^{1-}/\text{FeEDTA}^{2-}$ y $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$

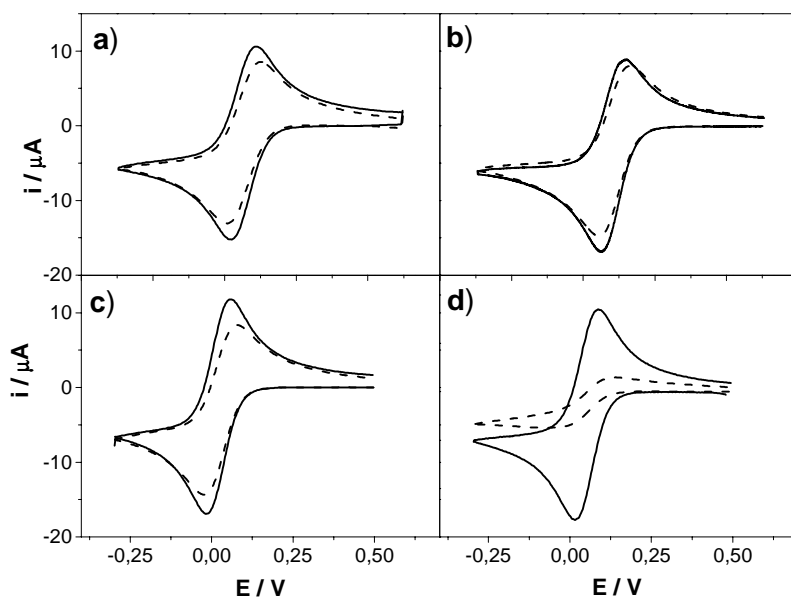


Fig. 5.31. Perfiles corriente-potencial para $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$ sobre electrodos limpios (—) y cubiertos por 4 capas de cada lípido (----). Composición de la solución: $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ y NaNO_3 20 mM, pH = 9. Cada electrodo está cubierto por: dmpc (a), sphm (b), sul (c) y galcer (d). Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

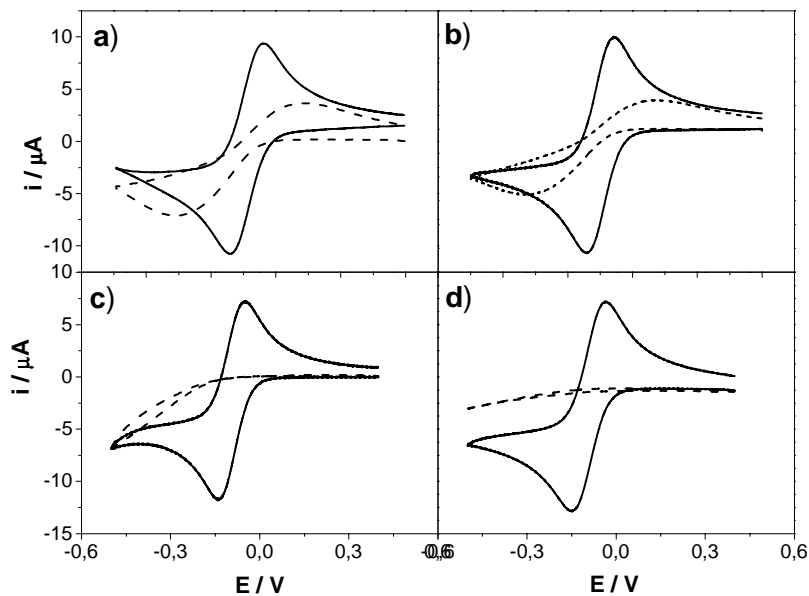


Fig. 5.32. Perfiles corriente-potencial para $\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-}/\text{Fe}(\text{EDTA})^{2-}$ sobre electrodos limpios (—) y cubiertos por 4 capas de cada lípido (----). Composición de la solución: $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 1 mM, EDTA 10 mM y NaNO_3 20 mM, pH= 3. Cada electrodo está cubierto por: dmpc (a), sphm (b), sul (c) y galcer (d). Velocidad de barrido: $0,100 \text{ V s}^{-1}$.

5.5 Efecto de cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{FeEDTA}^{1-}/\text{FeEDTA}^{2-}$ y $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$

Para la cupla $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$ (figura 5.31), se observa que todos los lípidos producen un bloqueo en la corriente. Los efectos producidos por dmpe, sphm y sul (figura 5.31 a, b y c) son similares, y mucho menores al producido por galcer (figura 5.31 c).

En el caso de la cupla aniónica $\text{FeEDTA}^{1-}/\text{FeEDTA}^{2-}$, también se observa una disminución en corriente en todos los casos (figura 5.32). Para esta reacción redox el efecto es mayor que para $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$ y más dependiente de la naturaleza del lípido que recubre el electrodo. La disminución en corriente sigue el orden: galcer > sul > sphm > dmpe. En el caso de galcer (figura 5.32d), la corriente casi se anula completamente.

La figura 5.33 muestra gráficos de barra de cada parámetro electroquímico (i_{norm}) y no electroquímico (A_m , κ , μ_p) que caracterizan cada sistema.

En la figura 5.33 se evidencia que, así como en los casos anteriores (Capítulos 5.2 y 5.3), tanto el área molecular promedio como el momento dipolar a la presión de transferencia, no explican la tendencia en i_{norm} observada en el voltograma. El factor de compresibilidad κ , por otro lado, sigue el orden: galcer > sphm \cong sul > dmpe. Este orden es el mismo para ambas cuplas redox, y sigue además el orden inverso que i_{norm} .

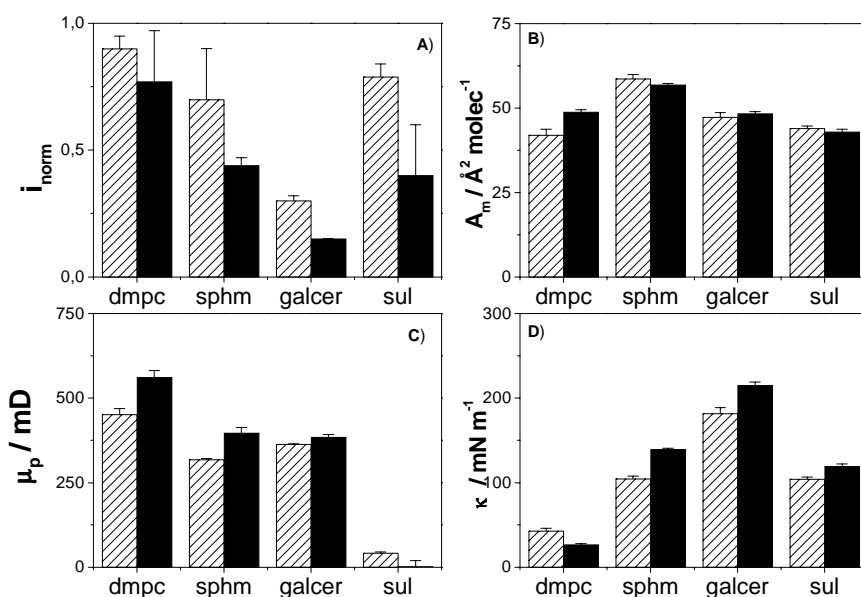


Fig. 5.33. a) Efecto del lípido en la respuesta electroquímica y parámetros de la isoterma. Composición de la solución: $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ + NaNO_3 20 mM (líneas oblicuas) y $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 1 mM + EDTA 10 mM + NaNO_3 20 mM (negro).

Parámetros:

A) Corriente de pico (o máxima) normalizada por el valor del voltograma en ausencia de lípido.

B) Área molecular promedio a la presión de transferencia (40 mN m^{-1}).

C) Momento dipolar perpendicular a la interfase a la presión de transferencia (40 mN m^{-1}).

D) Factor de compresibilidad a la presión de transferencia (40 mN m^{-1}).

5.5 Efecto de cuatro Capas de Lípido sobre la Respuesta Voltamétrica de $\text{FeEDTA}^{1-}/\text{FeEDTA}^{2-}$ y $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$

En la figura 5.34 se grafica i_{norm} como función de κ . El gráfico muestra claramente que a medida que κ aumenta, i_{norm} disminuye, especialmente en el caso de lípidos neutros.

El lípido cargado, sul, se aparta de la tendencia general, pero mucho menos que para las otras cuplas redox analizadas anteriormente. De las cuatro cuplas empleadas en la presente tesis estas dos son las que poseen menor carga. Considerando que la carga debe jugar un rol importante en el efecto producido por el lípido, es lógico que para las cuplas de menor carga el comportamiento de este lípido se aleje menos de la tendencia marcada para los lípidos neutros.

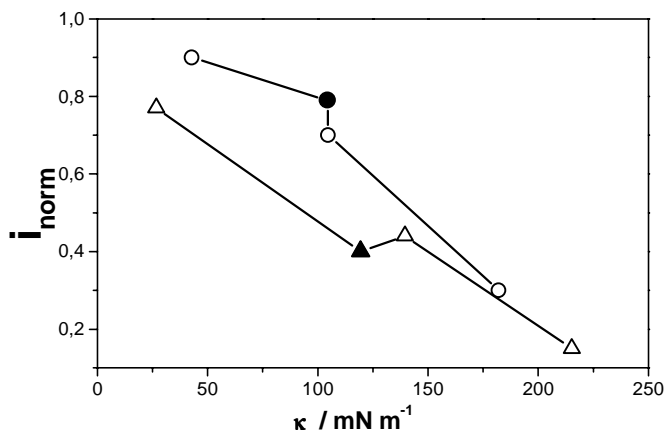


Fig. 5.34. i_{norm} como función del factor de compresibilidad de la monocapa a la presión de transferencia. Composición de la subfase o celda electroquímica: $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM en buffer de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ + NaNO_3 20 mM (círculos) y $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 1 mM + EDTA 10 mM + NaNO_3 20 mM (triángulos). Símbolos abiertos: galcer, dmpe y sphm. Símbolos negros: sul.

Podemos concluir entonces que el parámetro de la película de lípido que más influye en el efecto que la misma producirá sobre la respuesta voltamétrica de una reacción de transferencia de carga es el factor de compresibilidad, para las cuatro cuplas redox analizadas.

Por otro lado, el efecto producido por el lípido bajo las condiciones experimentales empleadas es mayor para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ y para $\text{FeEDTA}^{1-}/\text{FeEDTA}^{2-}$, ambas aniónicas y a su vez las más lentas. En general, el orden de bloqueo en la respuesta electroquímica de los lípidos neutros es: $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-} > \text{FeEDTA}^{1-}/\text{FeEDTA}^{2-} > \text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+} > \text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$. Este es el orden inverso al que sigue la constante de velocidad del proceso de transferencia de carga de las cuplas, por lo tanto, podemos concluir que, bajo estas condiciones experimentales, las reacciones de transferencia de carga lentas son más sensibles a la presencia del lípido que las rápidas.

Capítulo 6: Resultados Obtenidos por Microscopia de Epifluorescencia.

Resumen

En este Capítulo se intentó emplear esta técnica para analizar la coexistencia de fases o zonas con ausencia de lípido sobre el electrodo. Para ello se transfirieron capas de lípido mezcladas con marcadores de fluorescencia.

Esto se hizo para capas de galcer ya que resultaron ser las más compactas sobre el electrodo y porque se conocen los valores de cubrimiento y distribución de huecos de este lípido sobre el electrodo (Capítulo 5.2). Considerando el modelo de Matsuda et al. [81-82], los tamaños de huecos predichos mediante el ajuste de voltagramas deberían observarse con este tipo de microscopia. Sin embargo, no es posible encontrar zonas sin lípido mediante esta técnica. Esto puede ser explicado de dos formas diferentes:

- En vez de existir zonas con ausencia total de lípido, existen zonas en donde la estructura del lípido es más laxa, y es allí en donde ocurre la reacción de transferencia de carga.
- Los huecos se forman debido a la presencia de la solución acuosa o del campo aplicado durante la medida electroquímica.

Las capas formadas por galcer sobre carbono vítreo resultaron ser las más compactas y de estructura reproducible. Por ello se investigan estas películas con diferentes técnicas.

Utilizando microscopia de epifluorescencia es posible visualizar dominios en diferente estado de fase en capas monodimensionales de moléculas anfipáticas. Para ello se mezcla en una pequeña proporción un marcador de fluorescencia en la solución del lípido a sembrar. El marcador debe preferir una de las dos fases presentes en la monocapa, de forma tal que una de ellas fluoresca más que la otra y se puedan así diferenciar. Ya se han presentado resultados mediante ésta técnica en monocapas de dmpc en la interfase agua-aire y solución acuosa-aire (Capítulo 4)

Teniendo en cuenta el ajuste teórico de los voltagramas de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ sobre electrodos cubiertos por cuatro capas de galcer, este lípido debería dejar huecos de alrededor de $3 \cdot 10^2 \mu\text{m}^2$ (radio de la zona activa: $9,5 \mu\text{m}$). Este tamaño es observable por microscopia óptica si se utiliza algún marcador que haga visible al lípido. Para ello se utilizaron marcadores de fluorescencia anfipáticos de diferente largo de cadena hidrofóbica. Se prepararon soluciones de lípidos en cloroformo:methanol (2:1) con un 1% de marcador. Como marcador se utilizó perclorato de 1,1'-didodecil-3,3,3',3'-tetrametilindocarbocianina (DiIC_{12}) y perclorato de 1,1'-dioctadecil-3,3,3',3'-tetrametilindocarbocianina (DiIC_{18}).

Primero se realizaron micrografías de dmpc utilizando DiIC₁₂ como marcador, ya que este sistema había arrojado buenos resultados en la interfase solución acuosa-aire. Sin embargo, una vez transferido al electrodo, el lípido sólo muestra fluorescencias altas en pequeños puntos dispersos y la mayor parte del área del electrodo se observa oscura, indicando ausencia total de lípido (figura 6.1). La transferencia de capas sucesivas no aumenta la fluorescencia. En todos los casos se obtuvieron imágenes similares, como la mostrada en la figura 6.1, indicando que este lípido tiene poca adherencia al carbono vítreo, y que no forma multicapas. Por esta razón no se prosiguió el análisis de este lípido, sin embargo este resultado está de acuerdo con el efecto despreciable ejercido por dmpc en la respuesta electroquímica de las dos cuplas catiónicas. No se explica, por otro lado, el gran efecto observado para Fe(CN)₆³⁻/ Fe(CN)₆⁴⁻, aunque si se tiene en cuenta la gran dependencia de esta cupla con el estado superficial del electrodo, se puede considerar que el lípido en este caso actúa como si se tratara de impureza superficial en el electrodo.



Figura 6.1. Micrografía por epifluorescencia de carbono vítreo al cual se le ha transferido una monocapa de dmpc (890 μm x 700 μm). Las zonas oscuras indican presencia de lípido.

Se continuó entonces con el análisis de electrodos cubiertos por galcer. En este caso se encontró que las capas sí se adhieren al sustrato. Sin embargo, tanto para este lípido como para dmpc, el borde de plástico dentro del cual el carbono vítreo se encuentra empotrado presenta una fluorescencia más alta que el carbono vítreo mismo. Esto no necesariamente implica que el lípido tenga más adherencia sobre este material ya que, al ser el carbono vítreo un material conductor, puede producir una inhibición de la fluorescencia de las moléculas que se encuentren cerca de la superficie como de hecho ocurre para metales [113-115]. Teniendo esto en cuenta, solo se comparan micrografías realizadas bajo las mismas circunstancias, y de forma cualitativa.

Se observaron electrodos cubiertos por 1, 2, 3 y 4 capas de galcer en la interfase electrodo-aire. En todos los casos se encontró que las capas sí se adhieren al sustrato, pero de forma no homogénea (figura 6.2). Sin embargo, no se encontraron lugares vacíos de lípido, como en el caso de dmpc, sino que al contrario, las in-homogeneidades se deben a exceso del mismo generados durante el proceso de transferencia. Al observar el electrodo al microscopio se encuentra que toda la superficie fluoresce, algunas zonas más que otras, que se corresponden con las zonas más oscuras de la figura 6.2). Por la forma redondeada de estas zonas estimamos que se generan debido a gotas de agua ocluida que se evapora dejando exceso de lípido en los bordes.

Por otro lado, se observa que la intensidad de fluorescencia aumenta con la cantidad de capas transferidas, indicando que se forman multicapas (comparar figuras 6.2a-g). Esto se grafica cuantitativamente en la figura 6.3.

También se encontró que la heterogeneidad del film aumenta a medida que se depositan más

capas sobre el electrodo, lo que confirma que esto proviene de la transferencia del lípido. Este hecho se evidencia comparando, en la figura 6.3a, los gráficos con distinta cantidad de capas transferidas; a medida que aumenta la cantidad de capas, aumenta la dispersión en los valores de fluorescencia, indicando mayor heterogeneidad.

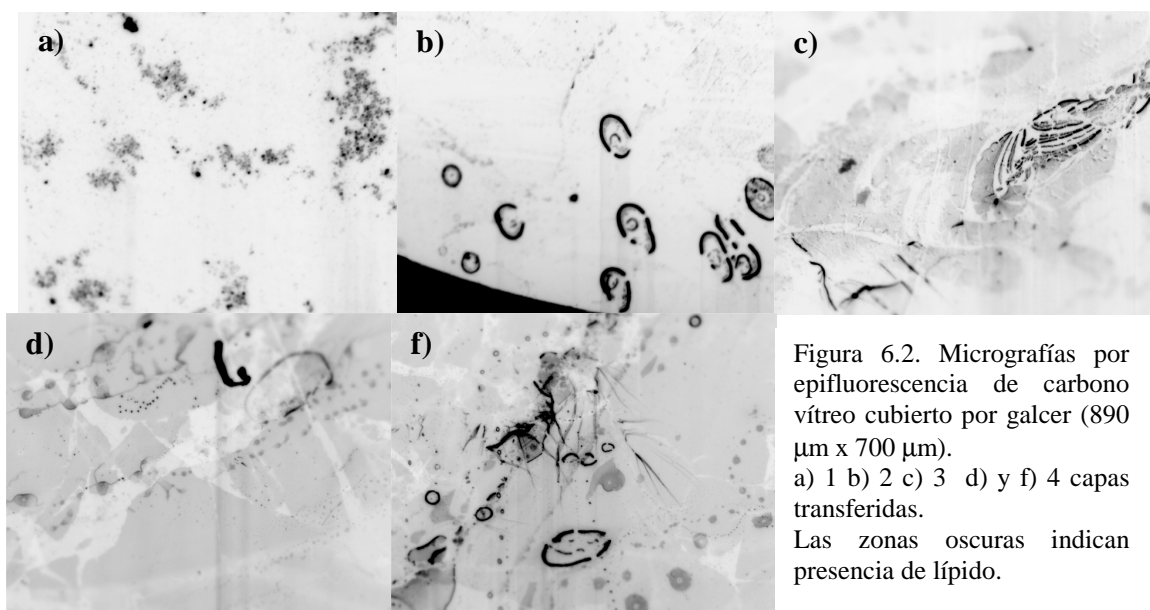


Figura 6.2. Micrografías por epifluorescencia de carbono vítreo cubierto por galcer (890 μm x 700 μm). a) 1 b) 2 c) 3 d) y f) 4 capas transferidas. Las zonas oscuras indican presencia de lípido.

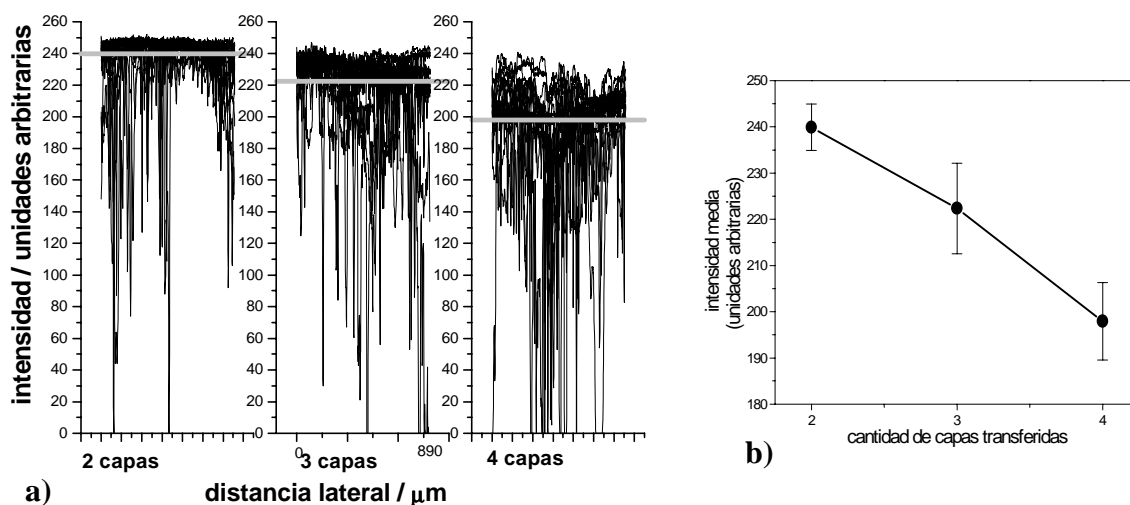


Figura 6.3. Valores de intensidad de micrografías por epifluorescencia de capas de galcer transferidas sobre carbono vítreo. A menor valor de intensidad, mayor cantidad de lípido. a) Intensidad en función de distancia para 2, 3 y 4 monocapas transferidas. b) Intensidad promedio en función de la cantidad de capas transferidas.

La ausencia de zonas libres de lípido indican que el resultado obtenido mediante el ajuste de los voltagramas utilizando el modelo de Matsuda no explica completamente el sistema bajo estudio. Cuando el electrodo se encuentra cubierto por 4 capas de lípido, se observan zonas que sólo tienen una, dos o tres capas de lípido, pero ninguna zona sin lípido. Esto puede ser explicado considerando que las zonas en donde ocurre la reacción de transferencia de carga no son zonas con una total ausencia de lípido sino que en ellas el lípido se encuentra menos compacto y hay menos capas. Otro detalle experimental a tener en cuenta es que las medidas electroquímicas se realizan en la interfase solución acuosa-electrodo y aplicando un potencial eléctrico a las capas de lípido. Estas capas son relativamente delgadas, por lo que si bien el potencial puede no ser alto, el gradiente de potencial que debe soportar el lípido si lo es. Al tratarse de moléculas dipolares, es esperable que ocurra algún tipo de reordenamiento en las capas de lípido, los cuales pueden estar generando huecos en la película en los que ocurre la reacción redox. Esta hipótesis es apoyada por lo observado en las “Black Lipid Membranes” (BLM), que son bicapas formadas entre dos soluciones acuosas. Para estos sistemas se observa que existe un potencial llamado “umbral” a partir del cual la membrana se rompe [116]. Fenómenos similares son también observados en la electroporación de células, esto es un fenómeno por el cual la membrana celular expuesta a pulsos intensos de campo eléctrico puede quedar temporalmente desestabilizada en regiones específicas. Durante este período de desestabilización, la membrana es altamente permeable a moléculas exógenas presentes en el medio que rodea la célula.

Capítulo 7: Resultados Obtenidos por Microscopia de Fuerza Atómica.

Resumen

Como no se encontraron zonas libres de lípido utilizando Microscopia de Epifluorescencia, se recurrió a la Microscopia de Fuerza Atómica (AFM; Atomic Force Microscopy), la cual permite observar el sistema a una escala más microscópica.

Sin embargo, si bien es conocido que esta técnica permite un análisis más sencillo si se utiliza una superficie microscópicamente lisa (oro monocristalino, grafito altamente ordenado, mica, etc) no se quiso cambiar el sustrato utilizado ya que seguramente la estructura de la película sobre el electrodo es altamente dependiente del estado superficial del electrodo.

Una superficie con las características de rugosidad como la empleada no permite un análisis sencillo de las micrografías. A pesar de ello, se obtuvo el espesor de la capa de lípido en la interfase electrodo-agua y se encontró que el lípido, al transferirse, sigue la topografía inicial del carbono vítreo pulido a mano.

Por ser las capas formadas por galcer las más compactas y de estructura reproducible, fueron investigadas empleando diferentes técnicas. En este capítulo se muestran imágenes por Microscopia de Fuerza Atómica (AFM, Atomic Force Microscopy) de una capa de galcer transferida a carbono vítreo.

En una primera etapa se utilizó esta técnica para estudiar un electrodo de carbono vítreo limpio pulido a mano, diseñado especialmente para ser adaptado al microscopio de fuerza atómica (ver Capítulo 2.2). Como se esperaba, el electrodo mostró una gran rugosidad superficial. La punta empleada demostró gran repulsión con el carbono vítreo, por lo que las imágenes son borrosas y con una baja relación señal/ruido (figura 7.1). Al transferir la capa de galcer se observa un notorio cambio en la interacción entre la punta y la muestra. El potencial que es necesario aplicar a la punta para que se adhiera a la muestra y barra su topografía es mucho menor en presencia del lípido. Las micrografías muestran una topografía similar al electrodo limpio, con las líneas de pulido claramente definidas (figura 7.2), pero menor rugosidad comparada con el electrodo libre de lípido; es decir que el lípido hace más suave la topografía del electrodo. Se debe tener en cuenta, sin embargo, que esta

comparación es sólo cualitativa ya que las imágenes de carbono vítreo limpio y cubierto por galcer en ningún caso corresponden necesariamente al mismo campo del electrodo.

Para tener otra evidencia de que el lípido se encuentra sobre el electrodo (además del aumento en la interacción entre la punta y la muestra), se barrió una pequeña zona de la superficie a altas velocidades y aplicando una alta fuerza a la punta. Esto generó una zona libre de lípido con la forma del barrido, el cual se muestra en la figura 7.3. A través de este método fue posible también obtener el espesor de la película de lípido.

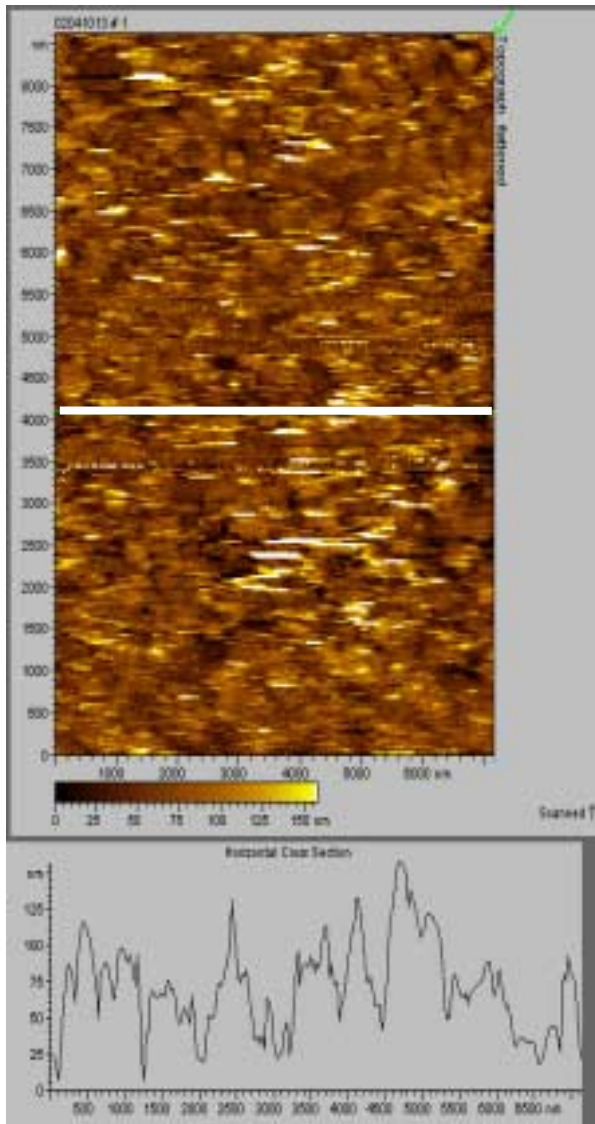


Fig. 7.1. Micrografía de fuerza atómica de carbono vítreo recién pulido (arriba). Tamaño de micrografía: 8,5 x 6,5 μm . Topografía de la línea marcada en la micrografía (abajo).

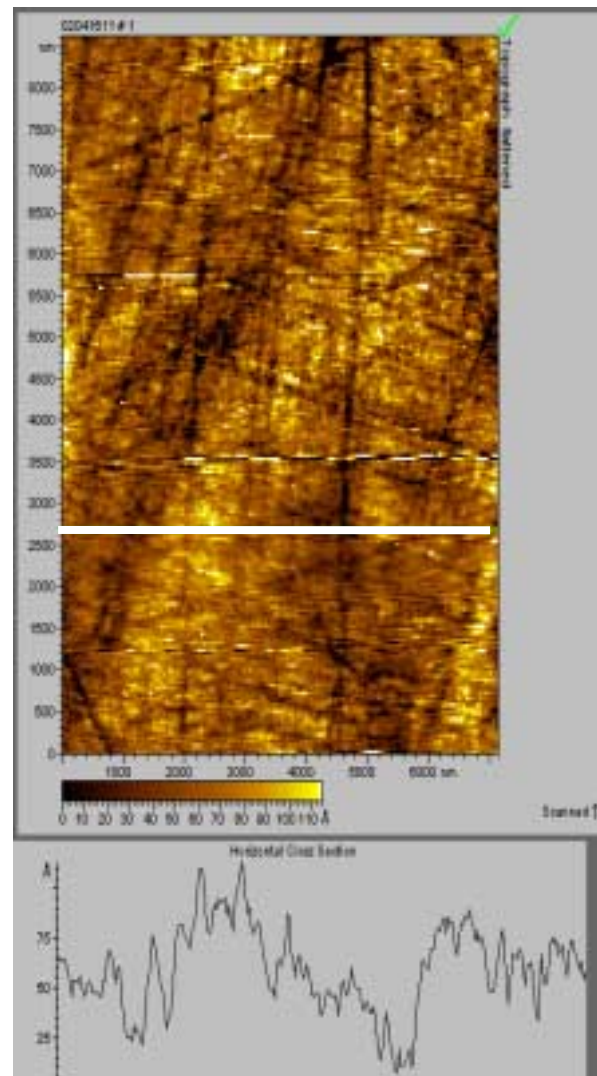


Fig. 7.2. Micrografía de fuerza atómica de carbono vítreo cubierto por una capa de galcer (arriba). Tamaño de micrografía: 8,5 x 6,5 μm . Topografía de la línea marcada en la micrografía (abajo).

Como se puede observar en el cuadro de topología de la línea marcada en la figura 7.3, el espesor de la capa de galcer, considerando como línea de base el promedio de ruido y como altura máxima el lado derecho de la figura (en el lado izquierdo se ha acumulado el lípido que se ha quitado, debido a la forma en que se realizó el barrido), se encuentra que la capa de lípido sumergida en agua tiene un espesor aproximado de 6,5 nm. Esto es un valor mucho mayor que el espesor de una monocapa de lípido, ya que considerando que este lípido tiene cadenas hidrocarbonadas de entre 18 y 24 átomos de carbonos, cada lípido tiene un largo de alrededor de 2,5-3,0 nm. Esto estaría indicando que el lípido se transfiere como bicapa, en vez de monocapa. Este tema se tratará detalladamente en el Capítulo 8.

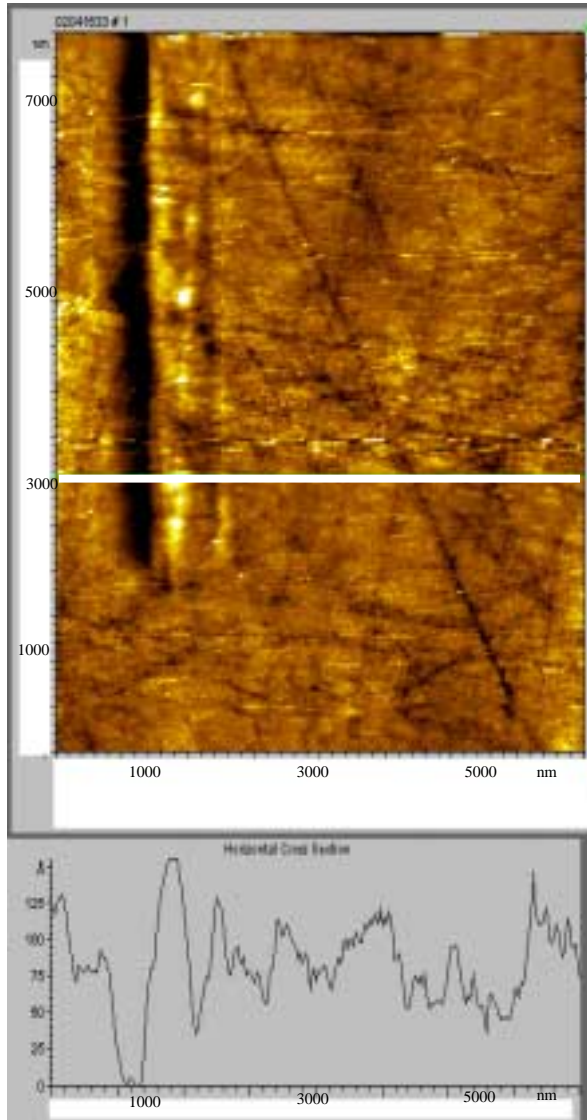
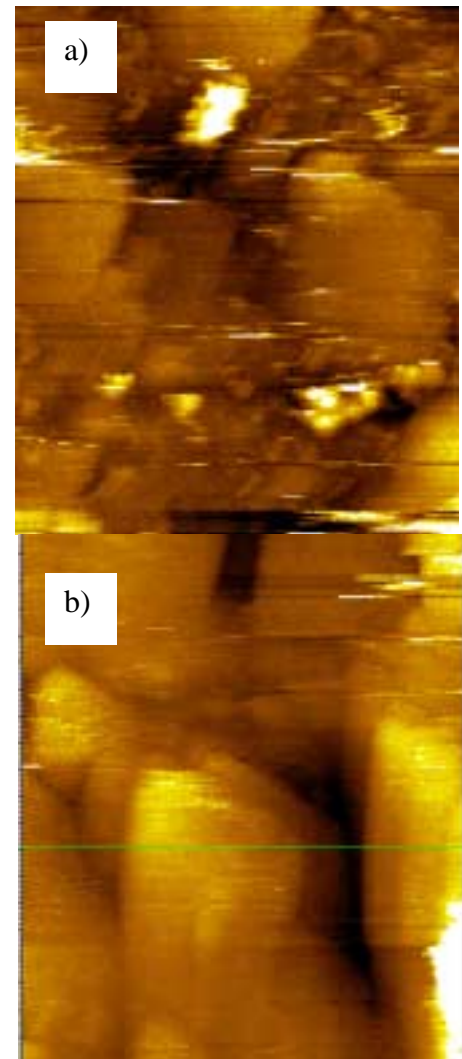


Fig. 7.3. Micrografía de fuerza atómica de carbono vítreo cubierto por una capa de galcer, la cual se ha quitado de una zona de $1 \times 10 \mu\text{m}$ (arriba). Tamaño de micrografía: $8,5 \times 6,5 \mu\text{m}$. Topografía de la línea marcada en la micrografía (abajo).

Figura 7.4. Imágenes por AFM de carbono vítreo limpio (a) y de carbono vítreo cubierto por una capa de galcer (b). Tamaño de micrografía: $500 \times 500 \text{ nm}$.



Utilizando esta técnica se realizaron medidas con mayor ampliación a las mostradas. Así, podemos observar con un mayor aumento que la capa de lípido sigue la topografía rugosa del electrodo pulido (figuras 7.4 y 7.5).

Como conclusión, podemos decir que, debido a la rugosidad de la superficie empleada sólo es posible obtener como resultado que el lípido se transfiere siguiendo la topografía inicial del carbono vítreo pulido a mano y haciéndola menos abrupta.

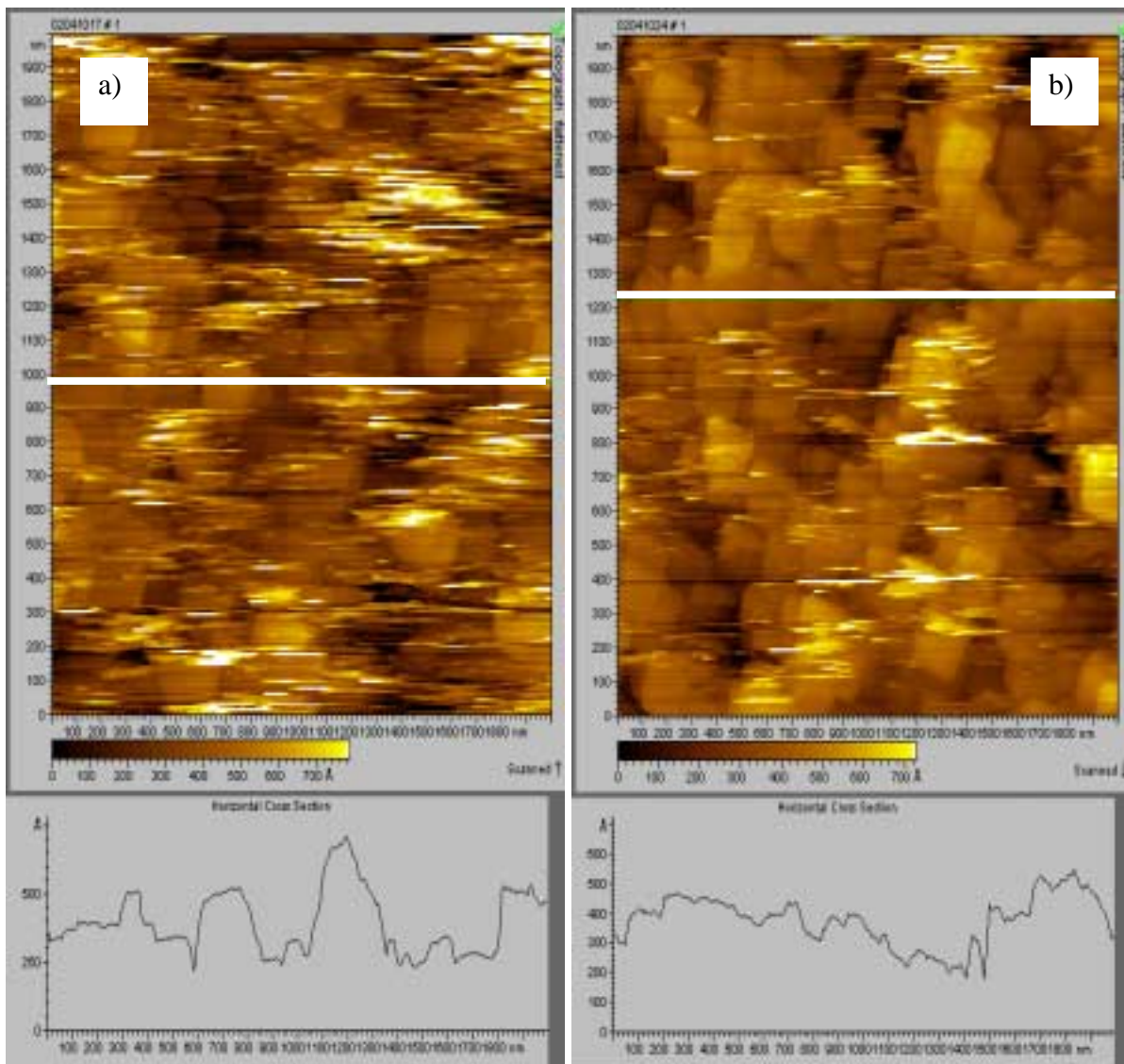


Figura 7.5. Imágenes por AFM para carbono vítreo limpio (a) y cubierto por 1 capa de galcer (b) (arriba). Tamaño de micrografía: 2 x 2 μm . Topografía de la línea marcada en la micrografía (abajo).

Capítulo 8: Resultados Obtenidos por Elipsometría.

8.1 Interfase Electrodo-Aire.

Resumen

Este Capítulo muestra los resultados encontrados empleando elipsometría aplicada a la interfase electrodo-aire. Estos experimentos confirmaron el valor de espesor correspondiente a bicapa para cada capa de galcer transferida al electrodo. También indicaron que galcer forma capas de una alta anisotropía óptica ($n_{\text{extraord}} - n_{\text{ord}} = 0,17$), y valores que se corresponden con una película muy compacta en fase condensada, de baja hidratación.

Estos resultados fueron hallados ajustando los valores de los ángulos elipsométricos de cada espesor con un modelo de película simple, con anisotropía según la dirección normal a la superficie y de propiedades ópticas homogéneas.

Las capas formadas por galcer sobre carbono vítreo resultaron ser las más compactas y de estructura reproducible. Por ello se investigan estas películas con diferentes técnicas.

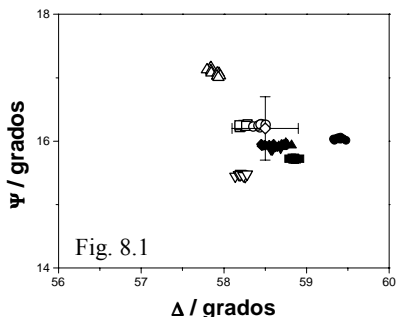
Si no se conocen las propiedades ópticas de la película ni su espesor, la elipsometría requiere que se modifique alguno de estos parámetros para así tener una serie de valores de ángulos elipsométricos y poder ajustarlos empleando un modelo. Lo normal es modificar el espesor de la película ya que éste es el parámetro de mayor accesibilidad experimental.

En nuestro caso, para variar el espesor se depositaron capas sucesivas de lípido, y se midieron Δ y Ψ luego de cada depósito. Lo usual en esta técnica es graficar Ψ en función de Δ para cada espesor, ya que la curva descrita por de este gráfico depende de n y κ de la película. Es esta curva la que se ajusta con una teórica utilizando el modelo más indicado para el sistema bajo estudio.

Se comenzó el estudio investigando las propiedades ópticas del sustrato, así como su reproducibilidad. En la figura 8.1 se muestran los valores de medidas independientes de Δ y Ψ para carbono vítreo recién pulido. Luego de una serie de 10 medidas independientes se obtuvo $\Delta = (58,5 \pm 0,4)$ grados y $\Psi = (16,2 \pm 0,5)$ grados, lo que implica que las propiedades ópticas del carbono vítreo son: $\hat{n} = 1,90 - i 0,81$.

Una vez conocidas las propiedades ópticas del sustrato, como criterio de superficie reproducible se pulió el electrodo antes de cada serie de experimentos hasta que Ψ y Δ caigan dentro del intervalo indicado.

En la figura 8.2 se muestran los valores de tres medidas independientes de Δ y Ψ para diferente cantidad de capas de galcer transferidas a carbono vítreo. El lípido se transfirió con el método usado hasta ahora, a 40 mN m^{-1} .



Figos elipsométricos para carbono vítreo limpio recién pulido.

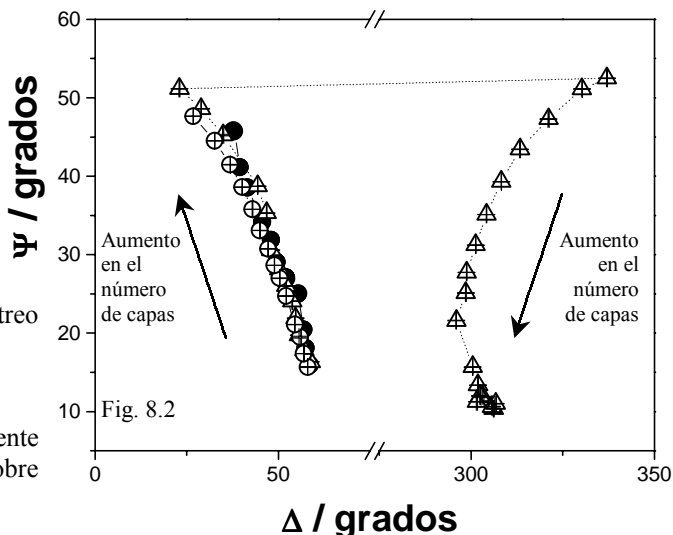


Fig. 8.2. Ángulos elipsométricos para diferente cantidad de capas de galcer transferidas sobre carbono vítreo a 40 mN m^{-1} .

Al ajustar los datos de la figura 8.2 con un modelo de película simple, homogénea y de propiedades ópticas anisotrópicas se obtiene un índice de refracción de 1,53 en la dirección paralela al sustrato y de 1,68 en la dirección perpendicular al sustrato. Al ser la película transparente, su coeficiente de extinción es nulo. El espesor encontrado para cada punto de la figura 8.2 se grafica en la figura 8.3 en función de la cantidad de capas transferidas.

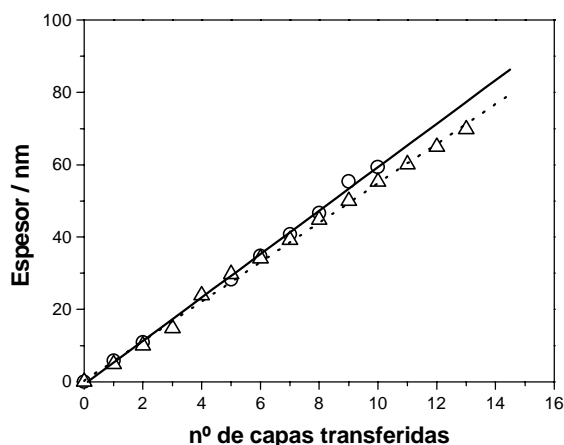


Fig.8.3. Espesor de la película luego de cada transferencia en función de la cantidad de capas transferidas. Los valores de espesor se obtuvieron del ajuste de los datos de la figura 8.2. La línea continua es la regresión lineal por cuadrados mínimos de cada serie de datos. Los círculos arrojan una pendiente de $(6,0 \pm 0,1) \text{ nm}$, los triángulos de $(5,46 \pm 0,08) \text{ nm}$.

La variación de espesor mostrado en la figura 8.3, así como el buen ajuste encontrado utilizando este modelo, indican que el lípido forma multicapas con propiedades homogéneas. Es decir que las capas sucesivas tienen propiedades similares entre ellas, exceptuando tal vez a la primera, la cual no produce tan buenos ajustes en todos los casos (datos no mostrados). Esto último es esperable ya que la superficie a la cual se adhiere esta capa es diferente a las superficies a las que se adhieren las capas subsiguientes.

La pendiente de los gráficos de la figura 8.3, calculada por medio de cuadrados mínimos será tomada como valor más probable del espesor de cada capa transferida. Los valores de espesor encontrados son de $(6,0 \pm 0,1)$ nm y de $(5,46 \pm 0,08)$ nm, considerando dos medidas independientes. Este espesor es similar al hallado previamente por AFM (Capítulo 7), y se corresponde con una bicapa de lípido.

El método de transferencia empleado produce, en teoría, monocapas de lípido sobre el soporte sólido. Se han informado casos en los que se formaron capas multimoleculares en algunas zonas del soporte [58], debido al menisco formado cuando se separan el soporte y la monocapa. Esto se esquematiza en la figura 8.4.

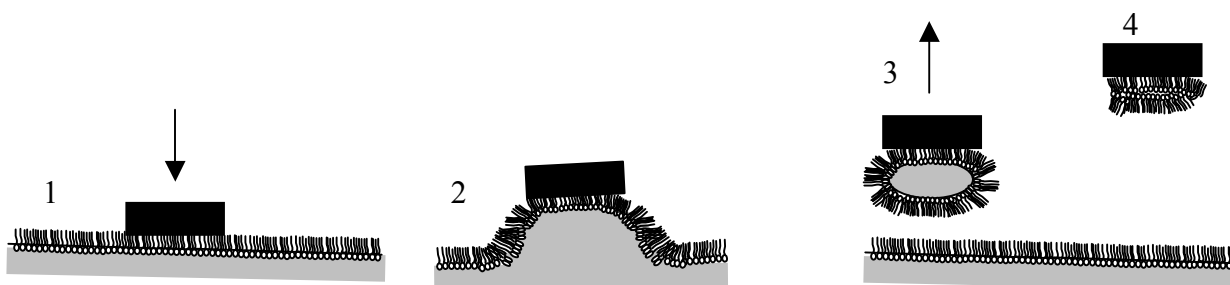


Fig. 8.4. Esquema del proceso de transferencia de una capa de lípido a un soporte sólido según el método de contacto. En (1) el soporte es contactado con la monocapa de Langmuir. Luego de un cierto tiempo el soporte se comienza a levantar (2), formándose un menisco, hasta que en (3) el menisco se rompe, dejando una gota de subfase sobre el electrodo, la cual podría estar recubierta de lípido. Al evaporarse la gota, el soporte queda cubierto de una bicapa lipídica (4).

Por esto se modificó el método de transferencia. Como siempre, se contactaron la monocapa y el electrodo durante 30 segundos, y luego, en vez de levantar el electrodo, se bajó en dirección a la subfase, luego se limpió la interfase y recién en este momento se levantó el electrodo. Este proceso se esquematiza en la figura 8.5. Se esperaba que mediante este método o bien se transfiera una monocapa de lípido, o bien no se transfiera nada, ya que la capa adherida durante el lapso de contacto se perdería cuando se levante el electrodo.

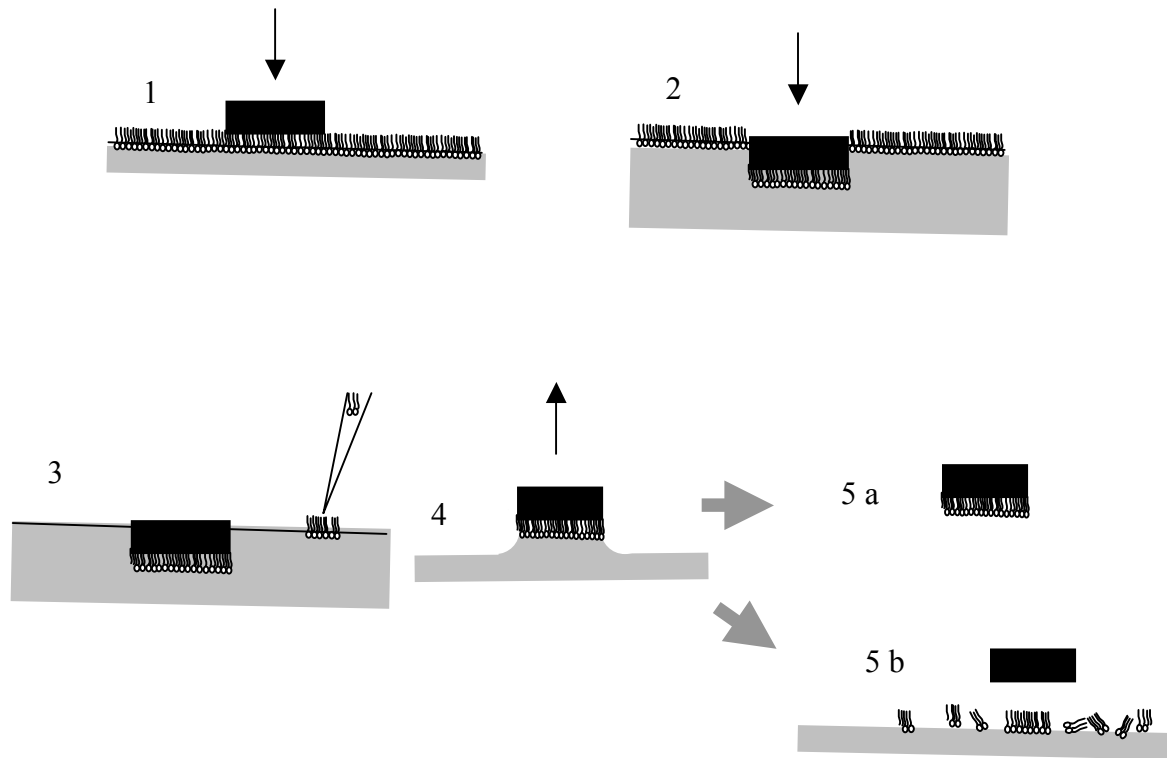


Fig. 8.5. Esquema del proceso de transferencia de una capa de lípido a un soporte sólido según el método de contacto modificado. En (1) el soporte es contactado con la monocapa de Langmuir, al igual que en la figura 8.4. Luego de un cierto tiempo, en vez de levantar el soporte se lo baja hacia la subfase (2), luego se limpia la interfase empleando una pipeta pasteur conectada a una bomba de vacío (3). Recién cuando se considera que la interfase está limpia se levanta el electrodo (4). Los resultados esperados mediante este método son: una monocapa sobre el soporte (5a) o que el soporte quede limpio (5b) y que el lípido vuelva a la interfase ya que la misma se encuentra libre de lípido.

Utilizando este método de transferencia, se midieron los ángulos elipsométricos luego de cada capa de lípido transferido, para poder así ajustar los datos experimentales con el modelo y obtener los valores de espesor de cada capa. De esta forma se obtienen los espesores indicados en la figura 8.6, los cuales arrojan una pendiente de $(5,7 \pm 0,2)$ nm. Esto indica que aún limpiando la interfase antes de levantar el electrodo, se transfieren bicapas de lípido, por lo que la formación de la bicapa es previa a la de la gota esquematizada en la figura 8.4.

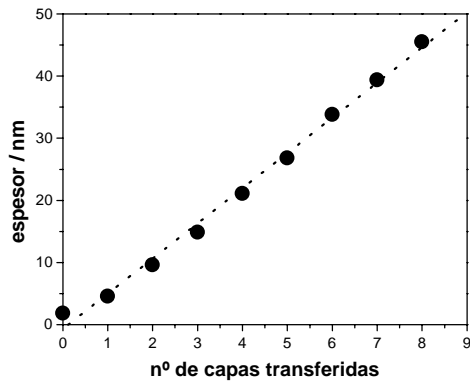


Fig. 8.6. Variación del espesor en función de la cantidad de capas transferidas para 8 capas de lípido transferidas por el método descrito en la figura 8.5.

Otra razón por la que se pueden formar bicapas sobre el electrodo es que, a pesar de que a la presión de transferencia el lípido aún no ha colapsado, se trabaja a presiones cercanas a la de colapso. Es posible entonces, que el contacto de la monocapa con el electrodo perturbe a la monocapa de tal forma de hacerla colapsar. Poco se sabe del proceso de colapso, pero se propone formación de multicapas, así como escape del lípido hacia la subfase [57]. Por ésto se realizaron experimentos similares a los anteriores pero a diferentes presiones de transferencia. En la figura 8.7 se muestran experimentos independientes a diferentes presiones laterales de transferencia.

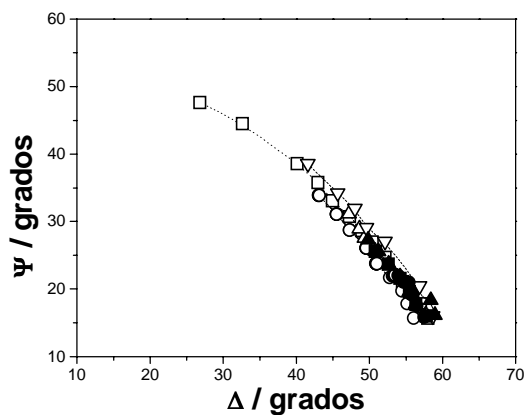


Fig. 8.7. Ángulos elipsométricos para diferente cantidad de capas de galcer transferidas sobre carbono vítreo a diferentes presiones laterales: 40 mN m^{-1} (∇ y \square), 35 mN m^{-1} (\blacktriangle), 30 mN m^{-1} (\blacksquare), 10 mN m^{-1} (\triangle) y 5 mN m^{-1} (\bullet). Los círculos abiertos corresponden a los datos de la figura 8.6.

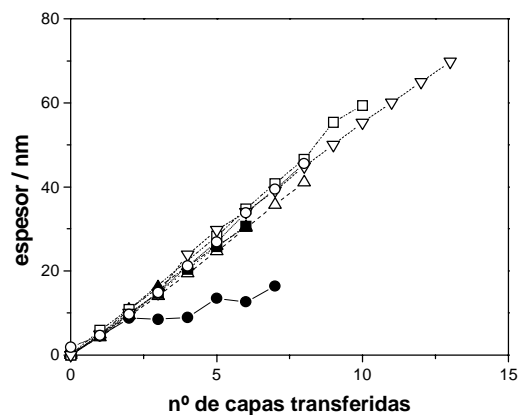


Fig. 8.8. Variación del espesor en función de la cantidad de capas transferidas para los datos mostrados en la figura 8.7.

Como se observa en las figuras 8.7 y 8.8, no existen diferencias sustanciales entre los experimentos realizados a diferentes presiones laterales de transferencia, exceptuando los datos a 5 mN m^{-1} . En este caso particular, no siempre se observan cambios en los ángulos elipsométricos luego de cada transferencia. Si consideramos que la falta de cambio en los ángulos se debe a que el lípido no se ha adherido al electrodo, y graficamos el espesor en función de la cantidad de capas real sobre el electrodo, tampoco para esta presión lateral se diferencian las rectas de espesor de la figura 8.8. Este procedimiento es validado por lo reportado en bibliografía, ya que se conoce que este método de transferencia es más reproducible y de mejor calidad mientras más compacta sea la monocapa de Langmuir [57]. Al ajustar con cuadrados mínimos las rectas de la figura 8.8 se encuentra el espesor de cada capa para cada caso en particular. En la figura 8.9 se muestran los valores de espesor como función de la presión de transferencia.

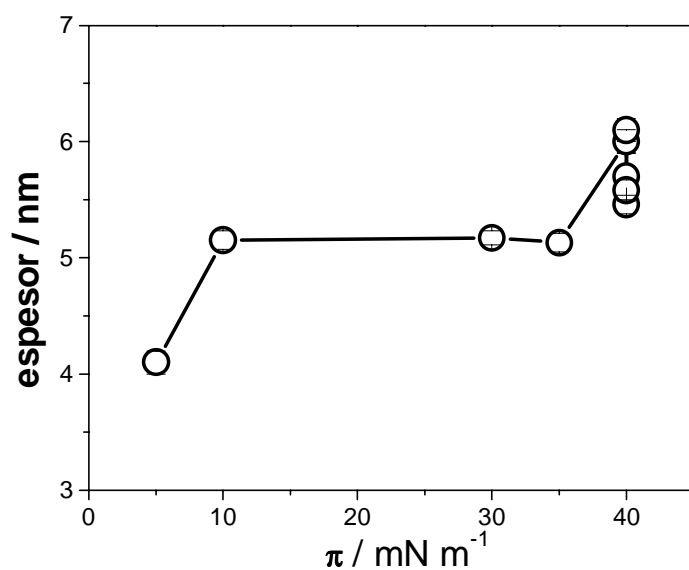


Fig. 8.9. Dependencia del espesor de cada capa de lípido con la presión lateral a la que fue transferida.

Así, podemos ver que el espesor de cada capa de lípido no depende de la presión de transferencia o su dependencia es baja, ya que la figura 8.9 muestra que a 5 mN m^{-1} el espesor es más bajo que a presiones intermedias y luego este aumenta a 40 mN m^{-1} . Esto puede deberse a diferentes ángulos de inclinación del lípido respecto al electrodo para las diferentes presiones analizadas.

Resumiendo, a todas las presiones laterales analizadas, el espesor de cada capa de lípido transferida se corresponde con una bicapa de lípido. Es posible que el contacto del electrodo con la monocapa produzca el colapso de la misma aún a bajas presiones laterales ya que, al ser un lípido tan condensado, una pequeña perturbación en área produce un gran cambio en presión lateral. Por otro lado, se ha informado que para este lípido, puede lograrse la formación de una bicapa en la interfase agua-aire si la modificación del área molecular se realiza muy lentamente (velocidad de barrido de las barreras de la balanza de Langmuir lentas) [117]. Es decir que este lípido parece tener una tendencia propia a formar bicapas, por lo que también es posible que la bicapa se forme durante el lapso en que el electrodo contacta la monocapa de Langmuir, debido a que en esta nueva interfase esa sea la configuración más

estable. En conclusión, el espesor promedio de cada capa de galcer transferida al electrodo a 40 mN m^{-1} es de $(5,6 \pm 0,3) \text{ nm}$, correspondiente a una bicapa de este lípido.

Otros parámetros de interés obtenidos del ajuste de los datos de la figura 8.7 son los índices de refracción de la película. En la figura 8.10 se grafican ambos índices en función de la presión de transferencia.

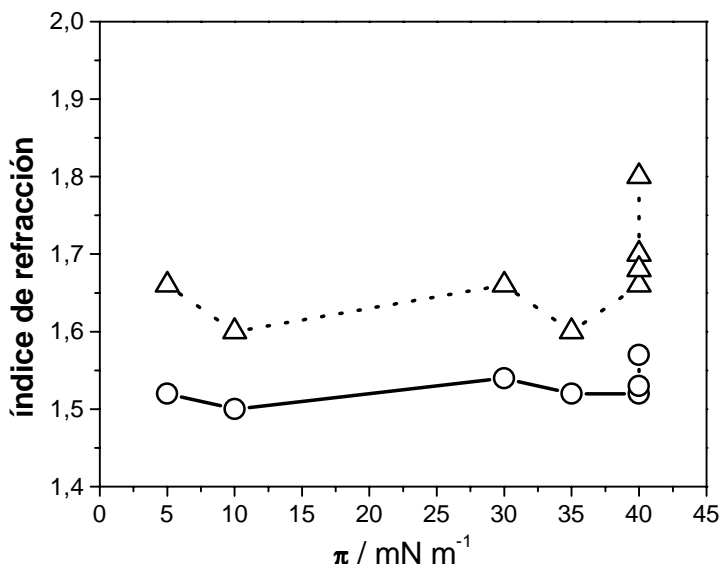


Fig. 8.10. Valores de los índices de refracción paralelo al sustrato (○) y perpendicular al sustrato (Δ) de la película en función de la presión lateral a la que fue transferida.

Los valores de índices de refracción no muestran dependencia con la presión de transferencia, indicando que las propiedades de la capa transferida son similares en todos los casos. Esto se debe a que en todos los casos la monocapa de Langmuir se encuentra en el mismo estado de fase, ya que este lípido se encuentra en una fase líquido condensada desde que la distancia intermolecular es lo suficientemente pequeña como para que exista una atracción neta entre las moléculas de lípido. Por otro lado, se encuentra una gran diferencia entre ambos valores de índice de refracción, valorando la elección de un modelo de película anisotrópica para el ajuste de los datos. El índice de refracción paralelo al sustrato promedio es de $1,528 \pm 0,009$ y el perpendicular al sustrato es de $1,70 \pm 0,04$. Estos valores tan altos indican que el lípido se encuentra muy ordenado y en un estado condensado, ya que los índices de refracción aumentan a medida que el lípido se encuentra más compacto [118].

La anisotropía obtenida es $\Delta n = 0,17 \pm 0,05$, el cual es un valor extremadamente alto. Por ejemplo, se conoce que para capas de fosfatidilcolina de diferente largo, la anisotropía es de 0,02 para el lípido en estado más laxo y de 0,03 para el que se encuentra en el estado más condensado [118]. Es esperable que la película tenga propiedades ópticas diferentes en el eje perpendicular al sustrato respecto a los ejes paralelos, debido a que se trata de moléculas intrínsecamente anisotrópicas, altamente ordenadas. Se conoce por ejemplo que para fosfatidilcolinas de diferente largo, el índice de refracción paralelo a la molécula es de 1,4, mientras que el perpendicular es de 1,5 [118].

Se concluye, entonces, que este lípido forma bicapas (debido al espesor) altamente compactas (alto valor de los índices de refracción) y ordenadas (alta anisotropía óptica).

8.2 Interfase Electrodo-Solución Acuosa. Efecto de la Aplicación de un Campo Eléctrico.

Resumen

Luego de conocer la estructura de la película de lípido en la interfase electrodo-aire, se procedió al estudio de la misma en la interfase electrodo-solución acuosa. La solución acuosa empleada fue NaNO_3 20 mM.

Primero se analizó como influye este medio incidente en la estructura de la película, realizando medidas a circuito abierto. Se encontró que el espesor no varía respecto al encontrado en la interfase electrodo-aire, a pesar de que cambian las propiedades de la película. En este medio, los índices de refracción disminuyen, acercándose a los valores del medio acuoso. La película continúa siendo altamente anisotrópica.

Luego de caracterizar el sistema a circuito abierto, se perturbó la película con un campo eléctrico variable. Bajo estas condiciones, se encontró un cambio brusco de ambos ángulos elipsométricos a potenciales negativos, volviendo a los valores iniciales a potenciales positivos (respecto a $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$ (3 M)). Estos cambios se interpretaron como disminución de ambos índices de refracción, tal vez con cambio en espesor, lo cual implica hidratación de la película.

Para analizar las propiedades de la película utilizando una solución de NaNO_3 20 mM como medio incidente se realizaron experimentos similares a los del Capítulo 8.1, sólo que, luego de cada transferencia, el electrodo fue inserto en una celda electroquímica para tres electrodos especialmente diseñada para ser acoplada al elipsómetro. En el Capítulo 2.2 se muestra un esquema de la misma. Luego de medir los ángulos elipsométricos para cada capa, el electrodo se dejó secar antes de transferir una nueva capa.

Así se obtuvieron los datos que se grafican en el plano ψ - Δ en la figura 8.11, los cuales fueron ajustados con el mismo modelo empleado en el Capítulo 8.1, obteniendo para cada punto los espesores que se grafican en función de la cantidad de capas en la figura 8.12.

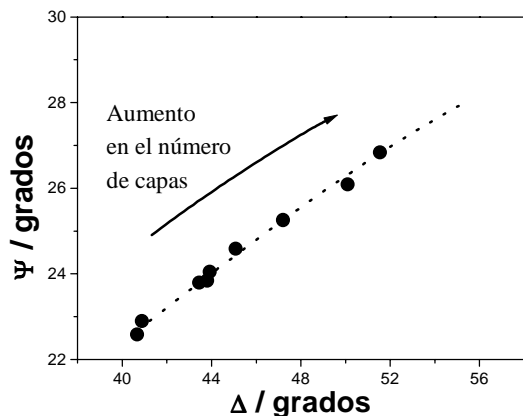


Fig. 8.11. Ángulos elipsométricos para diferente cantidad de capas de galcer transferidas sobre carbono vítreo a 40 mN m^{-1} , medidos en la interfase electrodo-solución acuosa. La línea cortada corresponde al ajuste teórico de los datos.

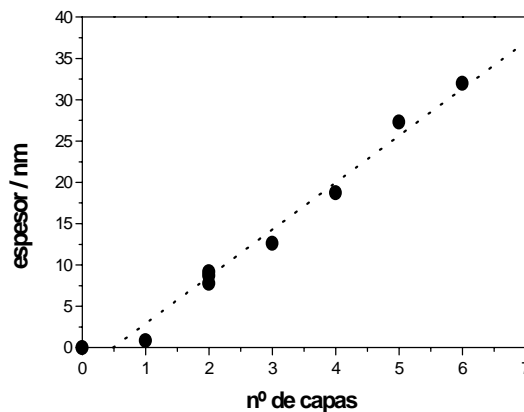


Fig. 8.12. Variación del espesor en función de la cantidad de capas transferidas para los datos mostrados en la figura 8.11. La línea cortada corresponde a ajuste por cuadrados mínimos, arrojando una pendiente de $(5,7 \pm 0,3) \text{ nm}$.

El ajuste por cuadrados mínimos de la figura 8.12 indica que en este medio el espesor de cada capa es de $(5,7 \pm 0,3) \text{ nm}$, similar al encontrado en la interfase electrodo-aire. La película continúa siendo anisotrópica en este medio, pero con valores de índice de refracción menores: 1,386 para el paralelo al sustrato y 1,556 para el perpendicular. Es decir que en este medio los valores de los índices de refracción se acercan al valor correspondiente al agua. Esto puede deberse a hidratación de la película, sin embargo debería observarse un simultáneo aumento en espesor, debido a la absorción de agua por la película. Por lo que estos resultados se interpretan como generación de dominios libres de lípido, en los que se encuentra la solución acuosa. Esta interpretación se encuentra avalada por los resultados voltamétricos, según los cuales existen zonas sin lípido sobre el electrodo. Este tipo de película, analizada con el modelo de película homogénea empleado, arrojaría valores de índices promedio, que no corresponden ni a los dominios de lípido ni a los dominios limpios. Si bien el modelo deja de ser el adecuado, es el más sencillo conocido y se seguirá empleando, interpretando los parámetros resultantes como promedio ponderado de los valores reales.

Algo interesante de analizar es que la película en la interfase electrodo-aire no tiene huecos, ya que los índices de refracción son altos y muy diferentes al índice de refracción del medio incidente ($n_{\text{aire}} = 1$). Mientras que en solución acuosa existe una reorganización de la estructura de la película, produciéndose dominios de lípido más condensado y dominios sin lípido.

Una vez conocidas las propiedades de la película en este medio, se realizaron medidas elipsométricas simultáneamente a la aplicación de un barrido lento de potencial (velocidad de barrido: 2 mV s^{-1}). El potencial se varió en forma triangular comenzando siempre en sentido negativo desde el potencial de reposo del sistema, entre $-0,6$ y $0,6 \text{ V}$ respecto a $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^- (3\text{M})$. La respuesta en corriente del sistema se muestra en la figura 8.13, y es la respuesta característica del electrodo en ausencia de reacción faradaica, salvo por la reducción del oxígeno disuelto. Esta reacción se observa aunque la solución se encuentre saturada de N_2 , ya que el diseño de la celda empleada no es óptimo para desoxigenar.

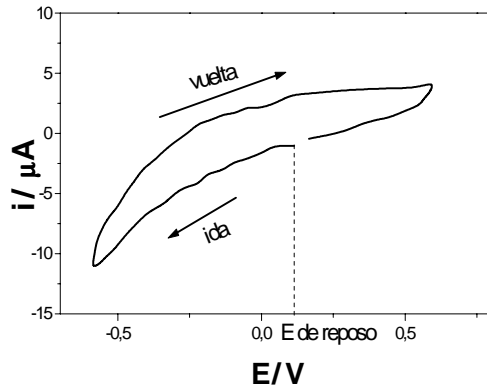


Fig. 8.13. Perfil corriente potencial para un barrido lineal de potencial sobre un electrodo de carbono vítreo cubierto por 6 capas de galcer. Electrolyte soporte: NaNO_3 20 mM.

Los valores de ambos ángulos elipsométricos para 6 capas de galcer se grafican en la figura 8.14 en función del potencial. En esta figura se observa que aproximadamente a $-0,5$ V ocurre un brusco aumento en Δ y una concomitante disminución en ψ . Estos cambios en los ángulos se revierten a potenciales positivos (alrededor de $0,2$ V).

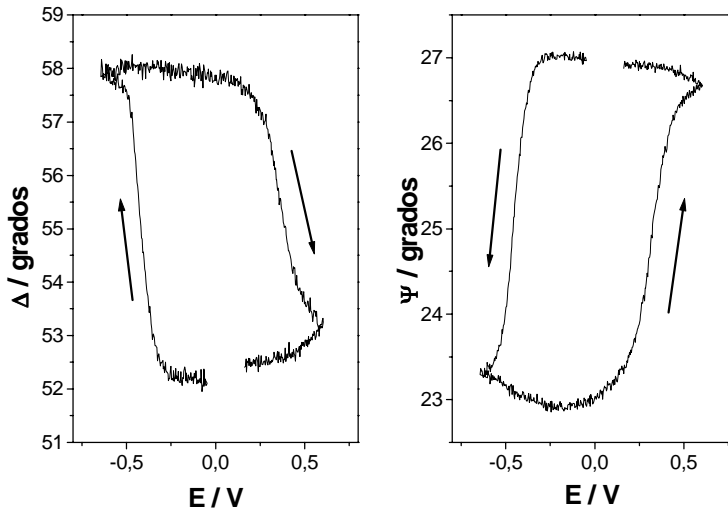


Fig. 8.14. Valores de los ángulos elipsométricos durante un barrido lineal de potencial sobre un electrodo de carbono vítreo cubierto por 6 capas de galcer. Electrolyte soporte: NaNO_3 20 mM.

Para analizar el significado físico del cambio en los ángulos elipsométricos, los mismos se grafican en el plano ψ - Δ , como se muestra en la figura 8.15. En esta misma figura se observa una curva teórica que simula los cambios en Δ y ψ que tendría una película homogénea, anisotrópica, de espesor constante, al variar ambos índices de refracción.

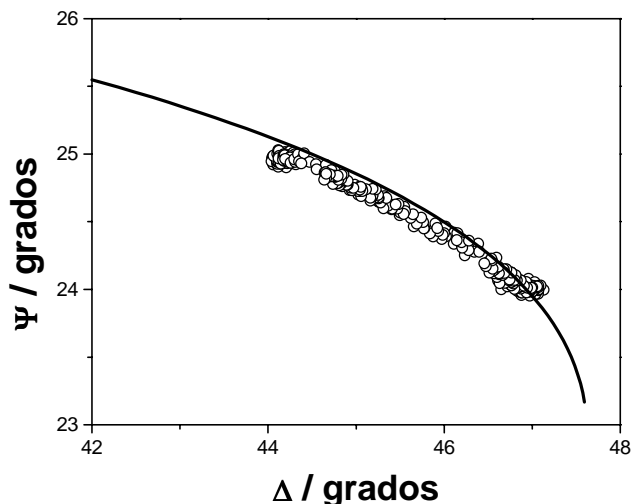


Fig. 8.15. Círculos: ψ en función de Δ durante un barrido lineal de potencial sobre un electrodo de carbono vítreo cubierto por 6 capas de galcer. Electrolito soporte: NaNO_3 20 mM.
Línea: Valores teóricos de ambos ángulos para una película homogénea, anisotrópica de espesor constante. Los índices de refracción varían según:
- índice paralelo al sustrato: desde 2 a 1,333.
- índice perpendicular al sustrato: desde 2 a 1,5.

Como puede verse en la figura 8.15, los cambios en los ángulos elipsométricos pueden explicarse considerando una disminución en los índices de refracción. Pueden también estar cambiando los espesores, aunque este cambio no se haya incluido en la simulación. Sin embargo este no es el cambio principal de la película ya que un aumento de espesor va acompañado por un aumento en ambos ángulos (ver figura 8.11).

Como los índices se acercan al valor 1,333 del agua, se pueden interpretar estos cambios como hidratación de la película. Sin embargo, al no cambiar mucho el espesor, es probable que lo que esté ocurriendo sea un aumento en el tamaño de las zonas libres de lípido. Esta interpretación, por otro lado, coincide con lo encontrado por voltametría cíclica.

Al aumentar el tamaño o la cantidad de zonas libres de lípido sobre el electrodo, los dominios cubiertos deben compactarse, o bien el lípido debe desorberse del electrodo. El proceso se revierte a potenciales positivos. Inclusive, es posible aplicar ciclos de potencial sucesivos a la película observando siempre el mismo comportamiento (figura 8.16). Sin embargo, el proceso sufre de una gran histéresis respecto al potencial.

Se concluye entonces que la presencia de un medio acuoso sobre la película de lípido transferida al electrodo genera dominios de lípido más condensado y dominios libres. Un campo eléctrico aplicado a este sistema aumenta el tamaño o bien la cantidad de zonas libres de lípido, compactando aun más las zonas cubiertas o desorbiendo el lípido. Este proceso es revertido a potenciales positivos.

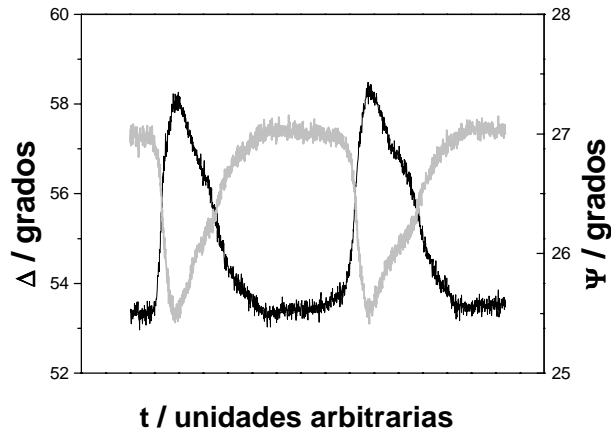


Fig. 8.16. Δ y ψ en función del tiempo durante barridos sucesivos de potencial sobre un electrodo de carbono vítreo cubierto por 6 capas de galcer. Electrolito soporte: NaNO_3 20 mM. Negro: Δ (eje izquierdo). Gris: ψ (eje de la derecha).

Capítulo 9: Resultados por Espectroscopia Infrarroja.

9.1 Capas de Galcer.

Resumen

En este Capítulo se muestran resultados obtenidos utilizando Espectroscopia Infrarroja por Reflexión Externa. La misma permite explorar a nivel molecular el efecto del campo eléctrico ya que es posible obtener espectros de las moléculas adsorbidas mientras se aplica un campo eléctrico a las mismas.

Mediante esta técnica no fue posible utilizar carbono vítreo como sustrato, por lo que se empleó oro policristalino. Sin embargo, estos resultados pueden correlacionarse con los anteriores sobre carbono vítreo.

Se encontró que existen reordenamientos de la molécula y que los mismos ocurren a potenciales negativos, volviendo al estado original a potenciales positivos. Estos resultados apoyan lo obtenido a través de elipsometría.

De acuerdo al ajuste de voltagramas experimentales de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$, galcer forma capas sobre el electrodo, dejando dominios libres de lípido o con lípido en un estado más laxo (Capítulo 5.2). Las medidas elipsométricas indican que al introducir las capas de lípido en un medio acuoso se generan huecos, y que los mismos aumentan de tamaño debido a la aplicación de potenciales negativos (Capítulo 8.2). Para caracterizar a nivel molecular este se realizaron espectros de infrarrojo de las moléculas adsorbidas sobre el electrodo a diferentes potenciales aplicados. Los experimentos se llevaron a cabo en tres modalidades diferentes:

- Primero se realizaron medidas de ATR (attenuated total reflection), para conocer el espectro de la especie.
- Luego se realizaron medidas por ERS (External Reflection Spectroscopy) en la interfase electrodo-aire, para conocer el espectro de la especie adsorbida al electrodo.
- Por último se tomaron espectros de ERS en la interfase electrodo-solución, bajo la aplicación de potencial, para conocer el efecto del campo eléctrico en las capas de lípido.

El espectro de galcer en solución se midió utilizando un prisma de Ge, luz no polarizada y cloroformo:metanol (2:1) como solvente. Las figuras 9.1 y 9.2 muestran espectros a diferentes concentraciones, la figura 9.1 a relativamente bajas y la figura 9.2 a altas concentraciones. A altas concentraciones se observan bandas positivas alrededor de 3300 y 3000 cm^{-1} (Figura 9.2) probablemente debido a exclusión del solvente por el lípido sobre la ventana de ATR, ya que también el solvente presenta picos de absorción en esta región. A estas concentraciones se observan bandas adicionales del lípido a bajas frecuencias. La tabla I muestra la asignación de bandas. Las posibles vibraciones presentes en la molécula son de estiramientos de enlace o de deformación del ángulo de enlace. Para esta última vibración adoptaremos la palabra inglesa “bending” por ser más específica.

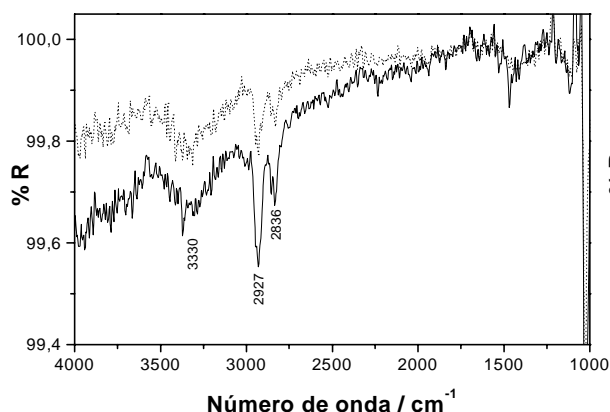


Fig. 9.1. Espectros de ATR de soluciones de galcer en cloroformo:metanol a relativamente bajas concentraciones.

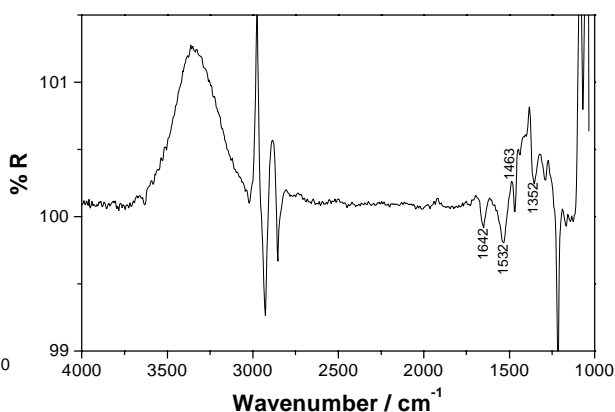


Fig. 9.2. Espectros de ATR de soluciones de galcer en cloroformo:metanol a altas concentraciones.

Número de onda / cm^{-1}	Asignación de bandas (*)
3330	estiramiento de O-H y N-H
2975-2840	estiramiento de C-H
1642	estiramiento de C=O de la amida
1532	“bending” de N-H y C-N
1463	“bending” asimétrico de C-H
1352	“bending” de O-H en el plano

Tabla I. Asignación de las bandas de las figuras 9.1 y 9.2 (*) Ref. [119].

Una vez conocido e interpretado el espectro de galcer en solución, se procedió a transferir este lípido a carbono vítreo y, empleando ERS-IR, se realizaron espectros del lípido adsorbido sobre este sustrato. La figura 9.3 muestra los espectros de diferente cantidad de capas de galcer sobre carbono vítreo, empleando como línea de base el espectro del electrodo limpio colocado en la misma posición

dentro del espectrofotómetro. Estos espectros muestran picos bimodales cerca de los 3000 cm^{-1} . Esto se debe a las propiedades ópticas particulares del carbono vítreo, ya que debido a ellas, en presencia de lípido se modifica la línea de base, con la consecuencia de que los espectros sobre esta superficie presentan picos bimodales de muy difícil interpretación [74].

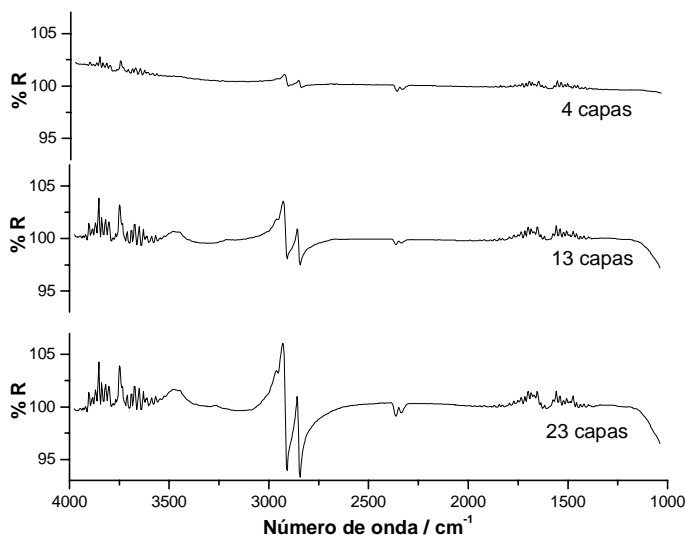


Fig. 9.3. Espectros de ERS-IR para diferente cantidad de capas de galcer transferidas a un electrodo de carbono vítreo en la interfase carbono vítreo-aire.

A causa de esto, se procedió a realizar los espectros sobre una superficie metálica, ya que la interpretación de los mismos es más sencilla. Como lo que se quiere analizar en este caso es el efecto producido por el campo eléctrico y no la organización inicial de la película sobre el electrodo, los resultados encontrados con este material de electrodo se pueden correlacionar con todos los anteriores,

sobre carbono vítreo. Se empleó un electrodo de oro policristalino pulido a espejo y limpiado con llama de hidrógeno. Como línea de base se tomó el espectro de oro limpio. Para asegurar la adherencia del lípido en este material, se determinó el área interfacial de la monocapa de Langmuir durante el proceso de transferencia. En la figura 9.4 se muestra cualitativamente la variación temporal del área de la monocapa mientras se realiza la transferencia de una capa de lípido. Se observa que al contactar la superficie de oro con la monocapa (t_1) no existe cambio en el área de la monocapa y que, por el contrario, al separarse ambas superficies, el área disminuye en una cantidad que es el doble del área del oro (t_2). Como el electrodo empleado no se encuentra empotrado en teflón, la disminución en área se debe a

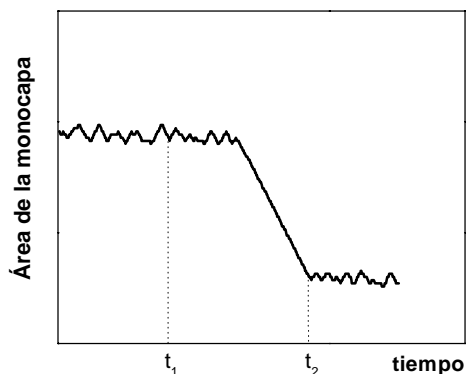


Fig. 9.4. Evolución del área de la monocapa en la interfase agua-aire durante la transferencia.

que el lípido se adhirió al oro. Con esto se demuestra que el lípido se adhiere al oro en cantidades suficientes como para formar bicapas, como se encontró por elipsometría sobre carbono vítreo.

Una vez asegurada la adherencia del lípido en este sustrato, se transfirieron sucesivamente capas de lípido y se realizaron espectros luego de cada transferencia. En la figura 9.5 se muestran espectros para algunas capas.

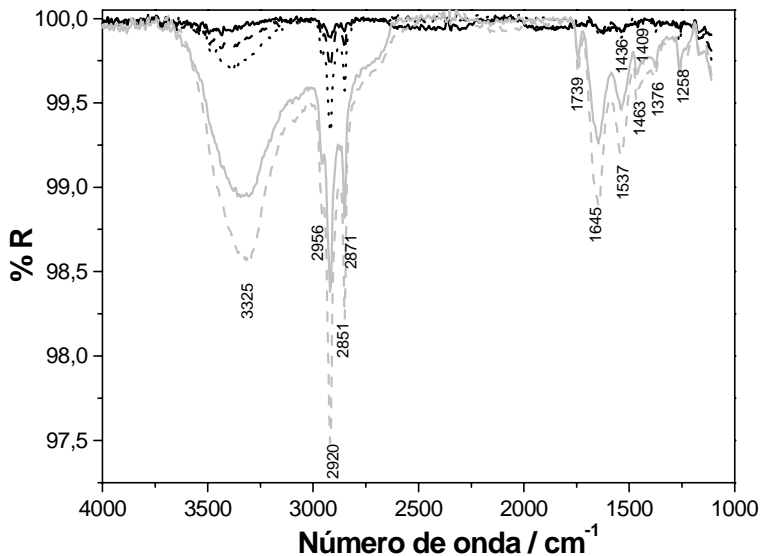


Fig. 9.5. Espectro de ERS-IR para diferente cantidad de capas de galcer transferidas a oro policristalino. Cantidad de capas transferidas al electrodo: 3 (—), 6 (----), 10 (.....), 12 (—), 15 (.....).

Número de onda / cm ⁻¹	Asignación de bandas (*)
3325	estiramiento de O-H y N-H
2956	estiramiento asimétrico de CH ₃ o simétrico de C=C-H
2920	estiramiento asimétrico de CH ₂
2871	estiramiento simétrico de CH ₃
2851	estiramiento simétrico de CH ₂
1739 – 1645	estiramiento del C=O de la amida
1537	“bending” de N-H y C-N
1463 – 1436	“bending” asimétrico de C-H
1409	“bending” de O-H en el plano
1376	“bending” simétrico de C-H
1258	estiramiento de C-C

Tabla II. Asignación de las bandas de las figura 9.5 (*) Ref. [119].

En la figura 9.5 se observa que las bandas crecen con la cantidad de capas de lípido transferidas, indicando al igual que la figura 9.4 que el lípido tiene buena adherencia a este sustrato. Al comparar la figura 9.5 con la 9.3, es evidente que los espectros de galcer sobre oro son más sencillos y por tanto más fáciles de interpretar. La asignación de las bandas se muestra en la Tabla II.

La figura 9.6 muestra el espectro de ERS de 6 capas de galcer transferidas sobre oro con luz de polarización s y p. En ambos espectros se observan las mismas bandas, aunque de diferente intensidad. Esto indica que el espesor de la película de lípido es mayor que la región afectada por la regla de selección superficial (ver Capítulo 2.1).

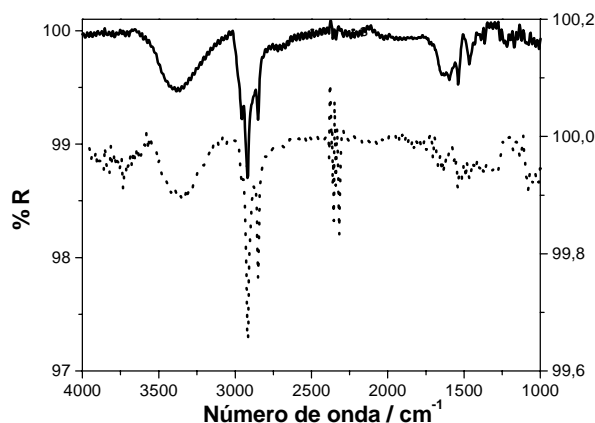


Fig. 9.6. Espectro de ERS-IR de 6 capas de galcer sobre oro en la interfase electrodo-aire con luz polarizada. Línea continua: polarización p (eje izquierdo). Línea de puntos: polarización s (eje derecho).

Utilizando oro como material de electrodo y la celda descrita en el Capítulo 2.2, las capas de L-B de lípido fueron perturbadas con un campo eléctrico. El programa de potencial utilizado se esquematiza en la figura 9.7; el potencial inicial fue siempre el de reposo (E_0) del sistema, el cual se registró antes de comenzar cada experimento. Los saltos de potencial fueron de 50 mV, y se mantuvieron durante 30 s excepto a los potenciales a los que se registraron espectros en los que se mantuvo durante 375 s. Sólo se mostrarán aquí los espectros obtenidos a los potenciales extremos (0,600 y -0,600 V), sin embargo, los mismos fueron registrados cada 100 mV.

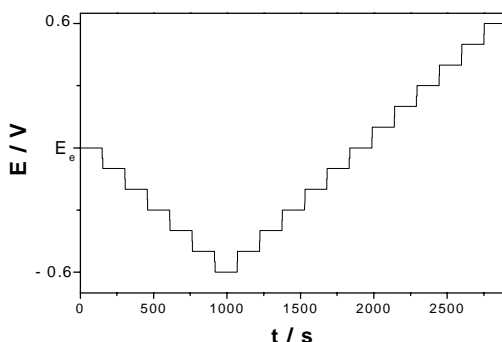


Fig. 9.7. Programa de potencial aplicado a los experimentos de ERS-IR in situ.

Para analizar el efecto del campo eléctrico en las capas de lípido es necesario que las mismas se encuentren en una interfase electrodo-solución. Esto obliga a que las medidas se realicen en presencia de agua. Luego de transferir las capas de lípido a analizar, y una vez comenzadas las medidas es imposible quitar el electrodo de la celda ya que cambiará la línea de base; por ello se toma como línea de base de los espectros el espectro del lípido a algún potencial aplicado para el cual no exista gran reorganización.

La figura 9.8 muestra espectros de 4 capas de galcer sobre oro con luz p-polarizada a los dos potenciales límites empleados, -0,600 V y 0,600 V. Los mismos fueron realizados tomando el espectro al potencial de reposo como línea de base. Esto implica que tanto en la línea de base como en el espectro de interés el lípido se encuentra presente, por lo que cualquier banda (positiva o negativa) que exista en el espectro se debe a una reorganización del lípido adsorbido. Una banda de absorción positiva es debida a un grupo funcional cuya nueva orientación desfavorece la absorción de luz (ya no se encuentra tan paralelo al plano de incidencia) y viceversa, una banda negativa se debe a un grupo funcional cuya nueva orientación es más paralela que antes al plano de incidencia.

La solución empleada en los espectros de la figura 9.8 es de NaNO_3 20 mM en agua normal. Como se ve en la figura, el agua presenta bandas de absorción intensas a alrededor de 3100 cm^{-1} y 1600 cm^{-1} . Los picos de absorción correspondientes al estiramiento del C-H de la molécula adsorbida al electrodo se solapan con la de agua a 3100 cm^{-1} . Para acceder a esta región del espectro se utilizaron soluciones en agua deuterada (D_2O). La figura 9.9 muestra espectros en condiciones experimentales similares a las de la figura 9.8 pero con D_2O . Como se observa en estas figuras, a potenciales negativos aparecen picos negativos a 3400 , 1556 y $2975\text{-}2840\text{ cm}^{-1}$ y un pico positivo a 1350 cm^{-1} . La banda a 3400 cm^{-1} también está presente a potenciales positivos. La asignación de bandas se muestra en la Tabla III.

Las bandas encontradas indican que a potenciales negativos existe un reordenamiento del lípido de forma tal que hay más planos HCH paralelos al plano de incidencia, generando las bandas negativas a $2900\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$. De acuerdo a la frecuencia en la que aparece, la banda positiva puede deberse al “bending” del O-H en el plano o al “bending” simétrico del C-H. Sin embargo, el “bending” simétrico del C-H ocurre en el mismo plano que los estiramientos del CH, por lo que debería ser negativa. Es decir entonces que esta banda corresponde a OH cuya orientación a potenciales negativos se hace más perpendicular al plano de incidencia.

A partir de estas medidas podemos decir entonces que el campo eléctrico genera cambios en la orientación de las moléculas de galcer, afectando a los grupos CH de la cadena hidrocarbonada y a los OH de la galactosa. Sin embargo, una interpretación más profunda de los espectros resultantes es compleja, más aún considerando que no se conoce la orientación inicial del lípido.

Los resultados encontrados mediante esta técnica coinciden ampliamente y corroboran los encontrados por elipsometría (ver Capítulo 8.2).

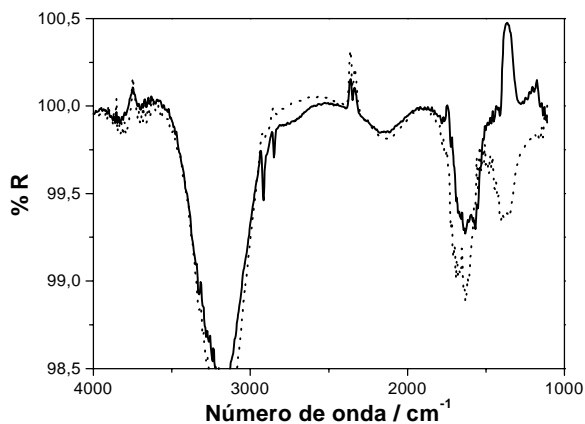


Fig. 9.8. Espectro de ERS-IR de 4 capas de galcer transferidas sobre oro a diferentes potenciales aplicados. Luz de polarización p. Línea de puntos: 0,600 V; línea continua: -0,600V. Electrolito: NaNO₃ 20 mM en H₂O.

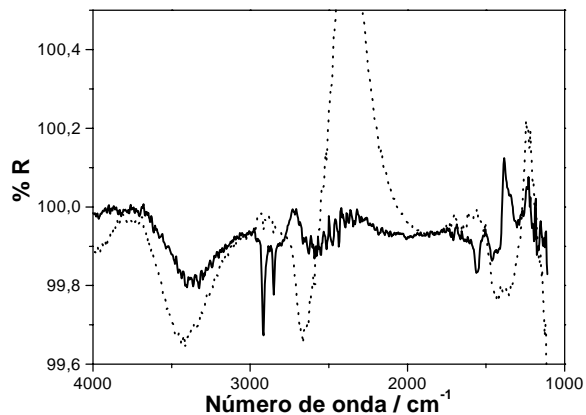


Fig. 9.9. Espectro de ERS-IR de 4 capas de galcer transferidas sobre oro a diferentes potenciales aplicados. Luz de polarización p. Línea de puntos: 0,600 V; Línea continua: -0,600 V. Electrolito: NaNO₃ 20 mM en D₂O.

Número de onda / cm⁻¹

- (-) 3400¹
- (-) 2960¹
- (-) 2918¹-2916²
- (-) 2876¹-2891²
- (-) 2850¹-2848²
- (+) 1383¹-1346²-1363²

Asignación de las bandas (*)

- estiramiento de O-H y N-H
- estiramiento asimétrico de CH₃ o simétrico de C=C-H
- estiramiento asimétrico de CH₂
- estiramiento simétrico de CH₃
- estiramiento simétrico de CH₂
- “bending” de O-H en el plano o simétrico del C-H

Tabla III. Asignación de las bandas de las figuras 9.9 (¹) y 9.8 (²) (*) Ref. [119].

9.2 Capas de Sul y otros Lípidos.

Resumen

Los resultados encontrados para galcer demuestran que la estructura de las capas de este lípido sobre el electrodo sufre un cambio debido a la aplicación de un campo eléctrico. Por esto es interesante analizar el efecto del campo en los otros lípidos utilizados en la presente tesis.

Así, se encontró que sul muestra espectros similares a galcer; la única diferencia es la presencia de la banda de absorción del grupo SO_3 , ausente en los espectros de galcer.

Frente a un campo eléctrico, este lípido se comporta en forma análoga a galcer, presentando picos negativos alrededor de 3000 cm^{-1} y un pico positivo a 1300 cm^{-1} , pero en este caso los espectros son menos reproducibles y las bandas menos intensas.

Por otro lado, tanto dmpc como sphm no se adhirieron al oro policristalino, haciendo imposible su análisis mediante esta técnica.

9.2.I. Espectros IR de Sul.

Los espectros de ATR de sul en cloroformo:metanol a diferentes concentraciones se muestran en la figura 9.10. Estas medidas fueron hechas similarmente a las de galcer, mostradas en el Capítulo 9.1. La tabla IV muestra las asignaciones de bandas. La figura 9.11 muestra la evolución temporal del área de la monocapa durante el proceso de transferencia, el cual indica que el lípido se transfiere al electrodo en cantidades suficientes como para formar bicapas, al igual que galcer. En la figura 9.12 se grafican los espectros de ERS-IR para diferente cantidad de capas de sul transferidas a oro, y en la tabla V se encuentra la asignación de bandas correspondiente.

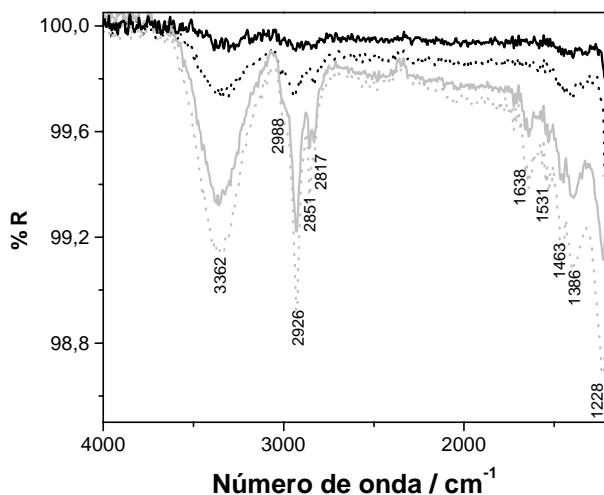


Fig. 9.10. Espectro de ATR de soluciones de sul en cloroformo:metanol en concentraciones crecientes. Luz sin polarizar.

Número de onda/ cm^{-1}	Asignación de las bandas(*)
3362	estiramiento de O-H y N-H
2988	estiramiento asimétrico de CH_3 o simétrico de C=C-H
2926	estiramiento asimétrico de CH_2
2851	estiramiento simétrico de CH_3
2817	estiramiento simétrico de CH_2
1638	estiramiento de C=O de la amida
1531	estiramiento de N-H y C-N
1463	“bending” asimétrico de C-H
1386	“bending” de O-H en el plano
1228	estiramiento asimétrico de SO_3^-

Tabla IV. Asignación de las bandas de la figura 9.10 (*) Ref. [119].

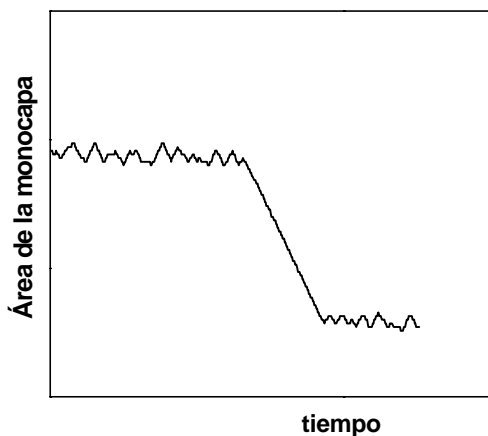


Fig. 9.11. Evolución del área molecular en el proceso de transferencia de cada capa.

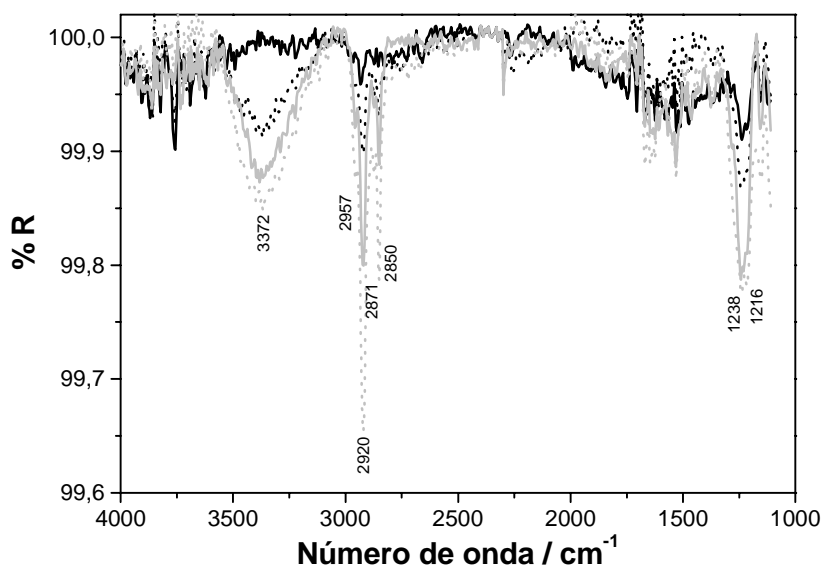


Fig. 9.12. Espectro de ERS-IR para diferente cantidad de capas de sul sobre oro en la interfase aire-electrodo: 2 (—), 4 (.....), 6 (—), 9 (.....) capas de sul transferidas. Luz sin polarizar.

Número de onda / cm^{-1}	Asignación de banda(*)
3372	estiramiento de O-H y N-H
2957	estiramiento asimétrico de CH_3 o simétrico de C=C-H
2920	estiramiento asimétrico de CH_2
2871	estiramiento simétrico de CH_3
2850	estiramiento simétrico de CH_2
1238-1216	estiramiento asimétrico de SO_3^-

Tabla V. Asignación de las bandas de la figura 9.12 (*) Ref. [119].

En las figuras 9.10 y 9.12 se observa que, como se esperaba, el espectro de sul sólo difiere del de galcer en que en sul se encuentra presente la banda de absorción del grupo SO_3 , ausente en galcer. La figura 9.13 muestra espectros de 6 capas de sul transferidas a oro con luz de polarización s y p. Como en el caso de galcer, las mismas bandas se observan en ambos espectros por lo que probablemente la película de lípido sea mayor que la región afectada por la regla de selección superficial.

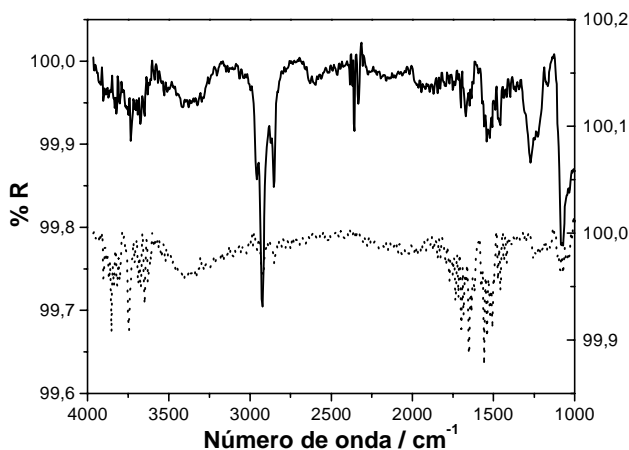


Fig. 9.13. Espectros de ERS-IR de 6 capas de sul sobre oro en la interfase electrodo-aire. Línea continua: polarización p (eje izquierdo), línea de puntos: polarización s. (eje derecho)

Así como para galcer, para analizar el efecto de un campo eléctrico variable sobre las capas de sul se aplicó un programa de potencial similar y se tomaron espectros tomando como línea de base el registrado aplicando el potencial de reposo. La figura 9.14 muestra los espectros de ERS de 4 capas de sul sobre oro con luz de polarización p a los dos potenciales límite (0,600 y -0,600 V). La figura 9.15 muestra los mismos espectros utilizando agua deuterada como solvente para la solución de NaNO_3 . Como puede verse en ambas figuras, para este lípido, el campo eléctrico sólo genera la aparición de una banda positiva a 1361 cm^{-1} , y dos bandas débiles alrededor de 2900 cm^{-1} sólo cuando el solvente es agua normal. Cuando el solvente es agua deuterada también se observa la banda positiva a 1350 cm^{-1} . Para este lípido también parece existir un reordenamiento debido al potencial, pero menor y menos reproducible

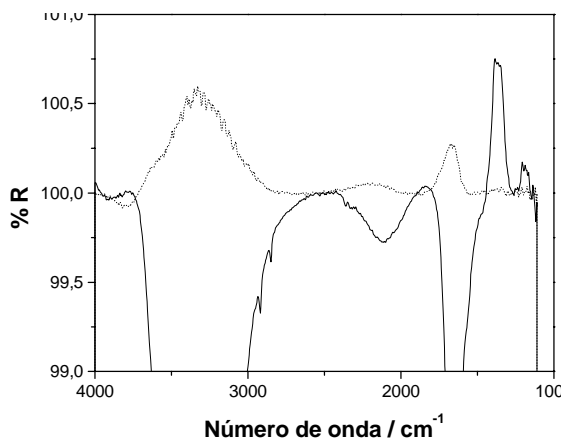


Fig. 9.14. Espectro de ERS-IR de 4 capas de sul sobre oro a diferentes potenciales aplicados. Línea de puntos: 0,600 V; línea continua: - 0,600 V. Luz de polarización p. Electrolito: NaNO₃ 20 mM H₂O.

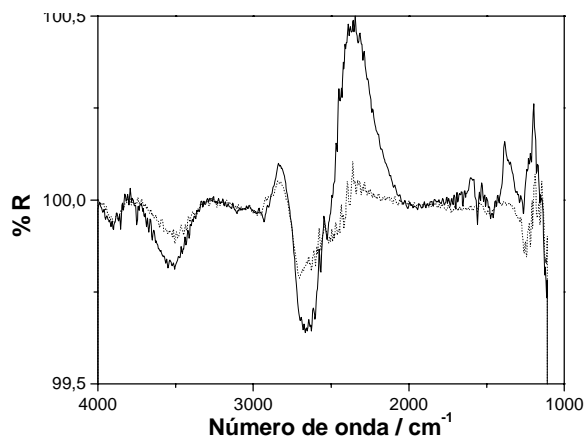


Fig. 9.15. Espectro de ERS-IR de 4 capas de sul sobre oro a diferentes potenciales aplicados. Línea de puntos: 0,600 V; línea continua: - 0,600 V. Luz de polarización p. Electrolito: NaNO₃ 20 mM en D₂O.

9.2.II. Espectros IR de Otros Lípidos.

Tanto para sphm como para dmpe, cuando se analizó la evolución temporal del área molecular promedio durante el proceso de transferencia, se observó un aumento inicial del área

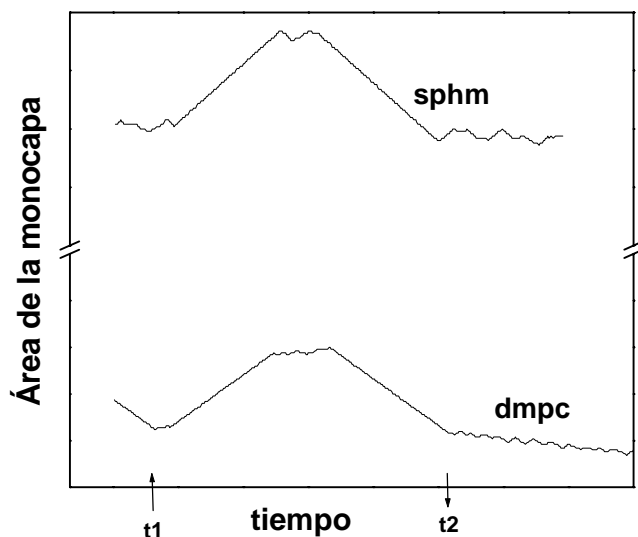


Fig. 9.16. Evolución temporal del área de la monocapa durante el proceso de transferencia.

con una posterior disminución (figura 9.16). Esto indica que el lípido no se adhiere al electrodo de oro, cuando la superficie del oro toca la monocapa (**t1**) existe una repulsión entre ambas que genera un aumento en el área, la cual disminuye hasta el valor inicial cuando el metal es retirado de la interfase (**t2**).

Por este motivo fue imposible analizar capas de estos lípidos utilizando esta técnica.

Capítulo 10: Conclusiones Generales.

Uno de los objetivos del presente trabajo de tesis fue estudiar, por medio de técnicas electroquímicas, la permeabilidad y conductividad de lípidos constituyentes de membranas celulares. Para ello se prepararon películas de lípidos sobre electrodos empleando el método de Langmuir-Blodgett para estudiar por medio de técnicas electroquímicas la Los resultados electroquímicos obtenidos se compararon con el comportamiento de los lípidos revelado por isothermas presión lateral – área molecular y potencial superficial – área molecular en la interfase solución acuosa – aire. De esta forma se pretendía correlacionar las propiedades de conducción del lípido con su estructura supramolecular, la cual a su vez depende, entre otros factores, de la estructura de la molécula. Al elegir una serie de moléculas de estructuras similares y con diferencias conocidas, ya sea en el grupo polar o en la cadena hidrocarbonada, se deseaba también relacionar los resultados revelados por electroquímica con la estructura molecular.

Sin embargo, los resultados observados empleando voltametría cíclica indican que las capas de Langmuir-Blodgett de los lípidos empleados sobre carbono vítreo no son homogéneas, sino que dejan zonas de lípido menos compacto, o donde el mismo está ausente. Esto hace que la corriente que circula por el sistema provenga principalmente de estas zonas y no de las zonas más cubiertas. Por lo tanto, no es posible analizar ni la conductividad del lípido ni la permeación de los iones bajo estudio a través de las capas de lípido.

A pesar de esto, la naturaleza del lípido influye de manera selectiva en la forma del voltagrama de la especie con actividad redox. En general, se observa un aumento en la diferencia de potenciales de pico, una disminución en las corrientes de pico, y un ensanchamiento de cada uno de ellos. La forma del voltagrama se puede explicar suponiendo que la transferencia electrónica ocurre solamente en zonas del electrodo en donde no hay lípido o bien en donde se encuentre en un estado de menor compactación. Esta in-homogeneidad estructural del electrodo generará in-homogeneidad energética, lo que puede implicar que la reacción electroquímica ocurra a diferentes velocidades en cada zona. Por otro lado, si la zona activa del electrodo es suficientemente pequeña, la difusión deja de ser lineal, lo que también implica un cambio en la forma del perfil corriente-potencial.

Se conoce que para electrodos semi-cubiertos por una película bloqueante, cuyos lugares libres son suficientemente pequeños como para que la difusión deje de ser lineal, la forma del voltagrama depende de la distribución de las zonas activas del electrodo, así como de su tamaño. Si se comparan los voltagramas experimentales con voltagramas teóricos calculados utilizando un modelo que de cuenta de este tipo de proceso, se puede encontrar en algunos casos un buen ajuste, mientras que en otros casos sólo se encuentra un parecido cualitativo.

Para explicar la dependencia de la forma del voltagrama de las especies con actividad redox con la naturaleza del lípido que recubre el electrodo, se emplearon los parámetros que caracterizan el comportamiento de interfase de cada lípido sobre la subfase correspondiente. Así se encontró que, para electrodos cubiertos por cuatro capas de cada lípido, la propiedad más importante es la interacción intermolecular del lípido, la cual hace que forme monocapas muy compactas o laxas en la interfase solución acuosa-aire. Como medida de ésto se utilizó el factor de compresibilidad κ , el cual da cuenta de la rigidez de la película de lípido. La corriente de pico de

cada voltograma, normalizada por la corriente del voltograma en ausencia del lípido se graficó como función de κ . Así, como se muestra en la figura 10.1, queda demostrado que para los lípidos neutros, el efecto que provocará una capa de lípido en la respuesta voltamétrica de una cupla redox, tiene una gran dependencia con la rigidez de la capa de lípido en la interfase solución acuosa-aire.

En el caso de sul, el único lípido cargado de la serie analizada, se observa que su efecto en la respuesta electroquímica no es el esperado considerando su factor de compresibilidad. Este comportamiento diferente es adjudicado a su carga, la cual juega un rol importante. En la figura 10.1 se observa que el efecto provocado por sul se aleja más del comportamiento esperado para las cuplas $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ y $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, que son a su vez las de mayor carga.

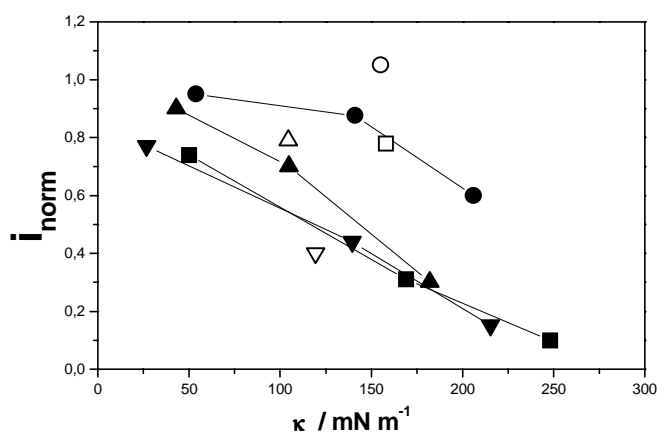


Fig.10.1. Corriente de pico normalizada en función del factor de compresibilidad de la isoterma correspondiente (ver texto).
 Círculos: Cupla $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$.
 Triángulos hacia arriba: Cupla $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}/\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{1+}$.
 Triángulos hacia abajo: Cupla $\text{Fe}(\text{EDTA})^{1-}/\text{Fe}(\text{EDTA})^{2-}$.
 Cuadrados: Cupla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.
 Símbolos llenos: galcer, dmpc y sphm.
 Símbolos abiertos: sul.

En cuanto a la dependencia de la respuesta voltamétrica con la naturaleza de la reacción redox, se encontró que las cuplas más lentas, que a su vez son las aniónicas, son más sensibles a la presencia del lípido que las catiónicas. En la figura 10.2 se muestra la variación de la corriente normalizada con la constante de velocidad para el proceso de transferencia de carga. De acuerdo a estos resultados podemos decir que, bajo las condiciones experimentales empleadas, la corriente de pico se ve más afectada por la presencia de lípidos neutros para las reacciones redox más lentas que para las rápidas. Teniendo en cuenta la técnica y las velocidades de barrido empleadas esto es esperable ya que en estas condiciones experimentales, para una reacción cuasi-reversible se modifica más el perfil voltamétrico al cambiar alguno de los parámetros que la caracterizan que para una reversible.

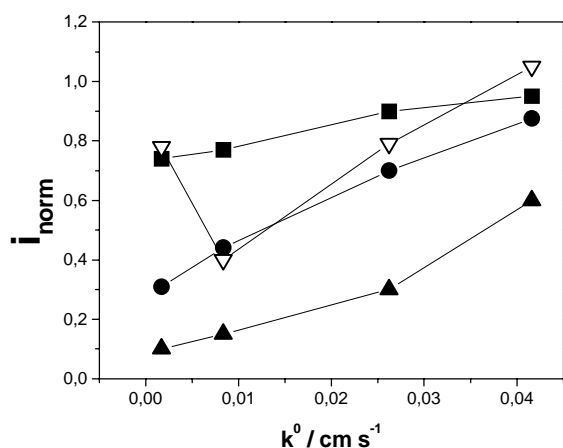


Fig.10.2. Corriente de pico normalizada en función de la constante de velocidad del proceso de transferencia de carga.
 Lípido que recubre el electrodo: sphm (●); galcer (▲); sul (▼); dmpc (■).

Es interesante el caso particular de sul (símbolos abiertos) para el cual la tendencia difiere de los otros lípidos. El comportamiento de este lípido indica que el efecto provocado por el lípido no es tan sencillo.

Al ser galcer el lípido que forma monocapas más compactas, las películas de galcer sobre carbono vítreo son las más homogéneas. Para cuatro capas de este lípido se encontró un cubrimiento de 0,9 con zonas del electrodo activas de $3 \cdot 10^2 \mu\text{m}^2$. Este resultado se obtuvo ajustando el voltograma experimental de la cupla $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ con un modelo teórico propuesto por Matuda [81,82]. Al encontrar un buen ajuste, se puede decir que en este caso el efecto principal del lípido es estérico, produciendo un bloqueo físico del electrodo sin generación de interacciones fuertes entre el ion electroactivo y el lípido.

Aún galcer, siendo el lípido más compacto, deja zonas libres no despreciables. Un área de $3 \cdot 10^2 \mu\text{m}^2$ es el área que ocuparían alrededor de $6 \cdot 10^8$ moléculas de este lípido a la presión lateral de transferencia. Por ello se consideró de importancia conocer la razón de las in-homogeneidades de la película y en que momento se producen. La forma y cantidad de huecos dependen del factor de compresibilidad, ya que de él depende la respuesta en corriente de la cupla redox presente en solución. La pregunta ahora es a qué nivel κ afecta el comportamiento electroquímico. Probablemente, κ influya sobre la respuesta electroquímica de diferentes formas. Por un lado, es sabido que el proceso de transferencia del lípido es mejor cuanto más rígida sea la monocapa [58]. Por otro lado, pueden existir reordenamientos y aparición de huecos en las capas de lípido transferidas, que a su vez dependen de κ y del potencial aplicado. Ciertamente, la respuesta depende de todos estos factores.

Para responder a estos interrogantes se estudiaron más detalladamente las capas de este lípido empleando diferentes métodos ópticos. Los resultados elipsométricos indican que en la interfase electrodo-aire las capas son altamente ordenadas y compactas. Al observar el electrodo cubierto al microscopio empleando epifluorescencia, vemos que no hay zonas libres de lípido, sino que hay zonas con exceso del mismo. La microscopía de fuerza atómica nos permite asegurar que el lípido se transfiere siguiendo la topología del sustrato. Todo indica que la transferencia es buena, y que si bien puede haber defectos no hay dominios libres del tamaño antes indicado.

Las medidas de elipsometría en la interfase electrodo-solución, en cambio, indican que en esta interfase hay lugares del electrodo hidratados en los que el lípido estaría ausente. Esto implica que en esta nueva interfase el lípido se reestructura, quizá buscando minimizar las interacciones hidrofóbicas, y expone algunas zonas del electrodo al solvente.

Tanto la elipsometría como las medidas de ERS-IR indican que si se aplican potenciales negativos a las capas de galcer se inducen nuevas reestructuraciones del lípido. Este proceso se puede revertir a potenciales positivos, es decir que no es irreversible, sin embargo sufre de una gran histéresis.

La elipsometría indica que estas reestructuraciones dependientes del potencial implican cambios en la hidratación de la película, produciéndose a potenciales negativos un incremento en las zonas libres de lípido sobre el electrodo.

En resumen, la respuesta electroquímica de iones electroactivos solubles sobre electrodos modificados por capas de L-B de lípidos brinda información acerca de la estructura de la película y depende de la naturaleza del lípido. Las películas de los lípidos estudiados no forman capas homogéneas cuando se encuentran en la interfase electrodo-solución, lo que dificulta el empleo de estos sistemas en el análisis de las propiedades de permeabilidad y conducción de la película ya que la reacción de transferencia de carga ocurre principalmente por las zonas libres de lípido o con lípido en estado más laxo.

Las técnicas electroquímicas junto con el análisis de las isothermas presión lateral - área molecular y potencial superficial – área molecular sobre diferentes subfases son complementarias y brindan información diferente que es posible de correlacionar.

El reordenamiento estructural producido por la aplicación de un campo eléctrico a la película de lípido es un efecto sumamente interesante y abre una nueva área de estudio, referida al efecto de campos eléctricos en sistemas organizados.