



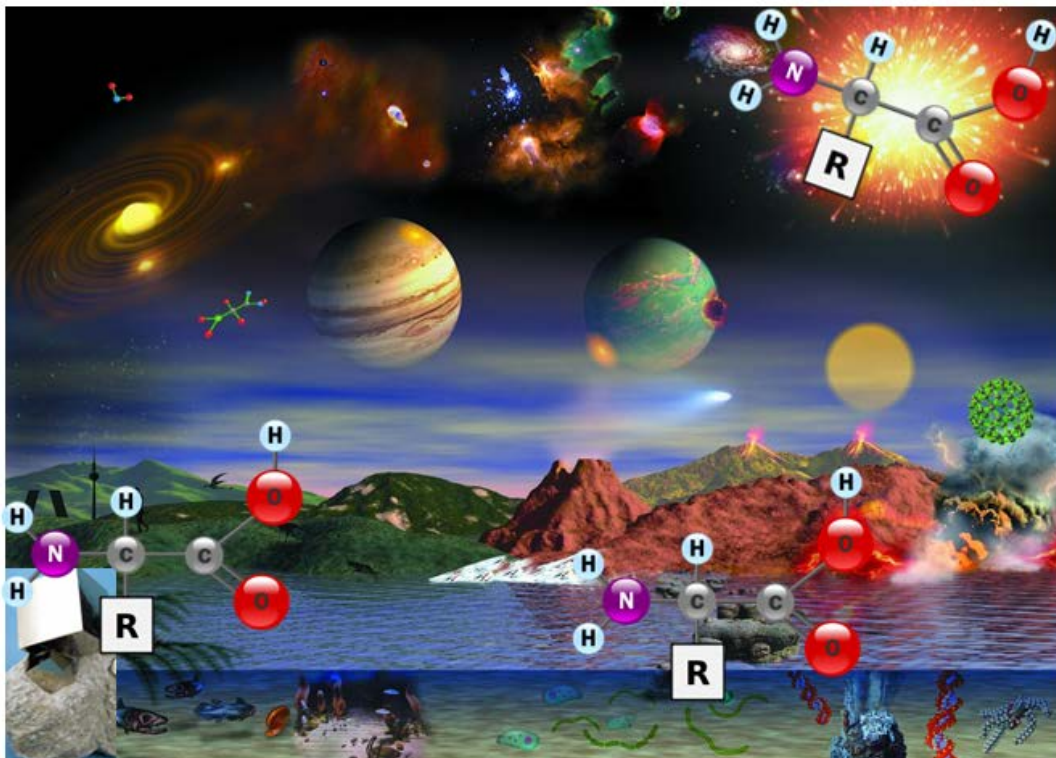
CENTRO DE ASTROBIOLOGÍA
ASOCIADO AL NASA ASTROBIOLOGY INSTITUTE



CSIC



**AUTO-ORGANIZACIÓN, INTERACCIÓN Y
REACTIVIDAD DE AMINOÁCIDOS EN
SUPERFICIES:
QUÍMICA PREBIÓTICA EN SUPERFICIES**



MARÍA SÁNCHEZ ARENILLAS

**CENTRO DE ASTROBIOLOGIA (CSIC-INTA).
MADRID 2016.**

**AUTO-ORGANIZACIÓN,
INTERACCIÓN Y REACTIVIDAD DE
AMINOÁCIDOS EN SUPERFICIES:
QUÍMICA PREBIÓTICA EN
SUPERFICIES**

Memoria de la tesis doctoral presentada por
MARÍA SÁNCHEZ ARENILLAS

Para optar al título de doctor en física por el departamento
de **FÍSICA APLICADA** de la **UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE MADRID.**

DIRIGIDA POR:
Dr. EVA MATEO MARTÍ.

“Mi madre me enseñó que no hace falta ser un genio para dedicarse a la ciencia. Lo importante es ser feliz con la investigación y si de paso puedes mejorar un poquito el mundo con tu trabajo, todavía mejor” (Hèléne Langevin-Joliot)

SUEÑA EN GRANDE, PLANEA BIEN, TRABAJA DURO, SONRÍE SIEMPRE Y
LOS MILAGROS EMPIEZAN A SUCEDER.

Agradecimientos

Se acerca el final de otra etapa. Una etapa que, desde que pise la universidad por primera vez, con 18 años, supe que quería realizar. Siempre me gusto la investigación, pasar horas en el laboratorio, entender el porqué de todo lo que me rodeaba. Buscar respuestas, hacerme preguntas. Recuerdo que cuando leía artículos o salían en la televisión noticias sobre algún científico que investigaba la vacuna del VIH, la cura del Alzheimer, tratamientos más eficaces y menos dolorosos para el tratamiento del cáncer, nuevas terapias para que las personas con parálisis volvieran a caminar...me emocionaba pensando cuántas cosas maravillosas podría hacer por el mundo si me dedicaba a la ciencia. Y es que la ciencia lo es todo. Ciencia es cada reacción que ocurre en nuestro organismo, desde la extracción de nutrientes de los alimentos para producir energía hasta la sensación extraordinaria que sentimos cuando nos enamoramos. Ciencia es el Planeta Tierra, las diferentes galaxias, el universo. La noche que te envuelve y las estrellas que brillan en su cielo infinito. Y por eso, hoy, estoy aquí, escribiendo los agradecimientos de esta tesis.

Después de casi cinco años de trabajo duro, constancia, perseverancia, paciencia, nervios, estrés, alegrías y tristezas a partes iguales, es el momento de escribir el punto final de esta etapa de mi vida y son multitud los sentimientos que se agolpan en mi corazón. Por un lado felicidad porque, por fin, se ha terminado. Por otro, dudas y miedos por lo que está por venir. Y vacío, sí, vacío también. El vacío que dejan las cosas por las que luchan con ahínco y después de tanto esfuerzo te dejan con la duda de si todo ello habrá merecido la pena.

Pero lo importante es que he llegado hasta el final de esta carrera de obstáculos y no hay mejor victoria que la de sentir que has alcanzado la meta por muy lejos que en

ocasiones pareciera. Y en esta carrera, me han apoyado y ayudado muchas personas, sin las cuáles, mi estrella interior, la fuente de mi energía interna, no hubiera brillado cada mañana. Por tanto, en esta tesis, no podía faltar una (o varias) página de agradecimientos para todas ellas.

En primer lugar quiero agradecer a mi tutora, Eva Mateo-Martí, todo lo que me ha enseñado durante estos años. Los resultados expuestos en este trabajo no hubieran sido posibles sin todos los conocimientos que me ha transmitido. No sé si ser doctora marcará la diferencia de mi carrera profesional pero sí se, que gracias a todo lo que he aprendido, tengo mucho más que aportar en mis futuros trabajos.

Gracias a mis compañeros y tutores del Surface Science Research Centre por hacer que mi estancia en Liverpool fuera provechosa y muy enriquecedora. Especialmente a Rasmita Raval por dejarme realizar una estancia de cuatro meses en su laboratorio, a Sam Haq, por su infinita paciencia, por enseñarme tantas cosas increíbles del microscopio de efecto túnel y por ayudarme a conseguir grandes y motivadores resultados y a Iván Scivetti, por sus charlas, sus ánimos, sus consejos, sus bromas... y por haberse convertido en un gran amigo.

Gracias a Carlos Escudero y Virginia Pérez-Dieste, por toda la ayuda que nos prestaron durante nuestra estancia en ALBA. Fue una semana muy productiva, altamente motivante y el broche de oro para cerrar la parte experimental de esta tesis.

También quisiera dar las gracias a mis profesores, del colegio, instituto y universidad. Porque la labor de un maestro es fundamental para crear una sociedad mejor y yo he tenido la suerte de cruzarme con grandes profesores a lo largo de mi vida. Especialmente Don Agustín, mi profesor de educación primaria, y Catalina, mi profesora de química de bachillerato. Hace tiempo que os perdí la pista y probablemente

nunca lleguéis a leer esta tesis pero, para mí, vuestras clases fueron fundamentales, no solo para formarme académicamente, sino también como persona. Gracias por hacer que los pilares que sostienen mis valores sean inquebrantables. En este punto también debo dar gracias a mi familia. Por la educación que me han transmitido, por enseñarme que lo más importante no es lo lejos que llegues profesionalmente sino lo gigante que puedas llegar a ser como persona.

Gracias mama, porque siempre has estado ahí, porque has luchado contra viento y marea para que tus hijos lleguen tan lejos como se propongan. Porque has sufrido cuando nos has visto tristes y has sido inmensamente feliz con nuestras alegrías. Porque tu amor es el más incondicional, puro y verdadero que pueda existir. Porque no sabes cuánto te necesito cerca a pesar de ser ya adulta.

Gracias Luis, mi hermano, el mejor hermano que se podría desear y una de las mejores personas que he conocido a lo largo de este camino que llaman vida. Gracias por tu paciencia infinita cuando me explicabas sin rechistar (a pesar de mis enfados) las matemáticas, la física o la química del instituto y de la universidad. Gracias a ti obtuve resultados increíbles, me acabe entusiasmando por las ciencias y ahora puedo transmitírselas con entusiasmo a todos mis alumnos. Gracias por estar ahí, siempre, para tu hermanita pequeña.

Gracias Felipe, por haber llegado a mi vida cuando menos lo esperaba. Por hacerme sentir cosas tan bonitas cada vez que te tengo cerca. Por acordarte de mí cada día. Por apoyarme, escucharme y ayudarme. Por todo lo que estamos viviendo y por todo lo que nos queda por vivir juntos.

Mi abuela María no podía faltar en estos agradecimientos. Eres mi mejor confidente y consejera y nunca me cansaré de pasar tiempo contigo, de contarte mis cosas, de reírme

de tus ocurrencias, de abrazarte fuerte. Estoy eternamente agradecida a Dios, o a quién quiera que mueva este mundo, por permitir que sigas a mi lado en estos momentos y me veas convertirme en doctora. Aún te quedan muchas más cosas por ver de mi vida y te pediría que no me faltarás nunca, aunque sepa que eso es imposible.

Gracias tía Rosa, por ser como una segunda madre para mí. Por estar siempre ahí, por ilusionarte por mí, por verme enorme incluso cuando me siento muy pequeñita.

Gracias papa, tías, Floren y Maribel, por todo vuestro apoyo. Por creer en mí siempre. Por sonreír con mis victorias y sufrir con mis derrotas. Gracias por alimentar el motor de mi motivación para que nunca deje de producir energía.

Y no puedo olvidarme de los que ya no están.

Abuela Pilar, no sabes cuánto te he echado de menos desde que te fuiste. Me hubiera encantado que me hubieras visto llegar hasta aquí aunque, estoy segura, desde el cielo, cuidas de mí cada día. Hay una estrella en el cielo infinito que brilla más fuerte desde que te marchaste y que nunca me cansó de mirar. A ti también abuelo Salvador, te dedico esta tesis. Sé que te hubieras sentido muy orgulloso de tu nieta.

Mis tíos, Mari Pili y Gonzalo. Recuerdo ser una adolescente y conversar con vosotros de ciencia. Lo mucho que os gustaba y lo felices que os hacía verme estudiar química. Siempre creísteis en mí y sé que os hubiera encantado saber todo lo que he hecho y aprendido durante estos años en el centro de astrobiología. Conservo con cariño infinito vuestro telescopio. Cuando os lo comprasteis no imaginarías que yo acabaría trabajando en un centro lleno de astrofísicos y haciendo astroacampadas para mirar el cielo a través de él. Me hubiera encantado hacer alguna de esas observaciones nocturnas con vosotros. Estoy segura que hubieseis disfrutado una barbaridad con todas las historias maravillosas sobre el universo que me han enseñado mis compañeros del CAB.

Compañeros del CAB y muchos de ellos ahora también amigos. Vosotros habéis sido fundamentales en esta etapa.

Primero agradecer a mis compañeros de laboratorio toda su ayuda. El trabajo en equipo siempre es más gratificante que en solitario. La de instrumentación que hemos tenido que reparar juntos, la de manuales que hemos leído, la de quebraderos de cabeza que nos ha dado la bendita pistola de rayos X, la de tornillos perdidos que hemos tenido que buscar. Pero todo resultaba más fácil con vuestras conversaciones, vuestras risas, vuestro apoyo. Espero que la vida os sonría y lleguéis tan lejos como os propongáis.

Mis queridos CABernicolas, Sofía, Rogger, Tania, Alejandro, Margot, Alejandra, Nuria, Alicia, Cristina, Bea, Ana, Rafa, Jesús, Joana, Diego, Santos, María (invernadero), Pablo, Irene, Vicky, Gisela, Patricia... habéis hecho posible que la vida en la CABerna fuera mucho más fácil. Con vosotros me he reído y he llorado. Gracias por escucharme en mis momentos de crisis absoluta y por hacerme reír incluso cuando parecía imposible. Nunca olvidaré nuestras conversaciones “cajas de Pandora” durante las comidas. Nuestras horas interminables en la becaria. Nuestros viajes, nuestras cenas, nuestras fiestas, nuestras salidas... de todos vosotros me llevo recuerdos inolvidables y grandes amigos. Gracias a los astrofísicos por enseñarme el cielo y gracias al destino por haberos puesto a todos en mí camino. Lo mejor de la vida no son los lugares, sino las personas que te encuentras en ellos, que te enriquecen y te convierten en alguien mejor y yo no podría haber sido más rica en vivencias, experiencias y moralejas aprendidas.

Por último, dar las gracias a otros amigos que, aunque no hayan trabajado conmigo, han estado apoyándome desde cerca o en la distancia. Gracias a mis compis del master de Materiales avanzados (José, Armando, Leo, Rubén, José Antonio, Norberto, mi gran

amigo Christian...) con los que, el primer año de tesis, entre clase y clase, compartí tan gratos momentos. Gracias Olga, Laura, Raquel, José y Carol, porque ya son muchos años de amistad que espero sigan acumulando mucho más tiempo. Gracias por dejarme formar parte de vuestros momentos más especiales. Gracias Amparo y Patricia, mis queridas compis de Alemania, quién me iba a decir a mí, cuando llegue a Kaiserslautern aquel día de reyes, con la nieve por la rodilla, oscuridad, frío, nervios y miedo, que acabaría llevándome tantos recuerdos y ganando a dos de mis mejores amigas. Gracias Ilda, Bego, Zuriñe, Mertxe, Miriam...por demostrarme que los cientos (o miles) de Km que nos separan no suponen una barrera para conservar a un gran amigo. A pesar de la distancia, os he sentido muy cerca y me encanta que cada vez que nos reencontremos, parezca que el tiempo no ha pasado. Y, finalmente, gracias a mis compis voluntarios de la Fundación Juan XXIII y especialmente a los chicos del club de ocio y tiempo libre de los que me encanta ser monitora porque vosotros me habéis enseñado que no existen barreras inquebrantables.

Gracias al Centro de Astrobiología, al Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial y al ministerio de economía y competitividad (MINECO) por concederme un programa de doctorado FPI (BES-2011-044395 / Proyecto Plan nacional FPIMAT2010-17720 “Quiralidad y auto-organización de aminoácidos en superficies) para poder realizar esta tesis. Gracias de nuevo al MINECO por concederme un programa de estancias breves (Ayudas para estancias breves en otros centros de I+D, subprograma FPI EBB-I-13-06706) que he realizado en el Surface Science Research Centre de la universidad de Liverpool. Gracias al Sincrotrón ALBA (CELLS, Beamline CIRCE / NAPP) por financiar mi estancia en sus instalaciones.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 17 |
| 1.1 Relevancia de la interacción de las moléculas en superficies..... | 17 |
| 1.2 Importancia de las superficies y su estudio a nivel de nanoescala | 18 |
| 1.3 Estudios de aminoácidos sobre superficies metálicas..... | 20 |
| 1.4 Estudios sobre superficies minerales. Pirita FeS ₂ | 23 |
| 1.5 Estudios con radiación sincrotrón..... | 28 |
| 2. TÉCNICAS Y MÉTODOS EXPERIMENTALES | 37 |
| 2.1 Ciencia de superficies | 37 |
| 2.2 Espectroscopia de fotoemisión de rayos X (XPS) | 37 |
| 2.3 Difracción de electrones de baja energía (LEED) | 42 |
| 2.4 Microscopía de efecto túnel (STM) | 45 |
| 2.5 Espectrometría de masas (SM) | 48 |
| 2.6 Equipo experimental | 50 |
| 2.6.1 Cámara de UHV | 50 |
| 2.6.2 Montaje de la muestra | 54 |
| 2.6.3 Línea de gases | 54 |
| 2.6.4 Evaporador de moléculas | 55 |

| | |
|-----------|---|
| | 12 |
| 2.6.5 | Puesta a punto de la cámara de UHV. Horneo y desgasificaciones..... 58 |
| 2.6.6 | Procedimiento experimental..... 60 |
| 2.7 | Grandes instalaciones. Radiación sincrotrón 62 |
| 2.7.1 | Radiación sincrotrón 62 |
| 2.7.2 | Sincrotrón ALBA. Línea BL-24. Circe. Espectroscopia de fotoemisión cercana a presiones ambientales (NAPP) 64 |
| | |
| 3. | AUTO-ORGANIZACIÓN DE AMINOÁCIDOS EN SUPERFICIES |
| | METÁLICAS: Cu (110) y Au (111) 71 |
| 3.1 | Auto-organización de L-cisteína sobre Cu (110)..... 71 |
| 3.1.1 | Estudio de una monocapa de L-cisteína sobre Cu (110)..... 73 |
| 3.1.2 | Estudio de multicapas de L-cisteína sobre Cu (110)..... 76 |
| 3.1.3 | Estudio del sistema L-cisteína /Cu (110) a 110°C..... 79 |
| 3.2 | Auto-organización de L-cistina sobre Cu (110)..... 89 |
| 3.2.1 | Estudio de multicapas de L-cistina sobre Cu (110)..... 90 |
| 3.2.2 | Estudio del sistema L-cistina / Cu (110) a 110°C 92 |
| 3.3 | Auto-organización de L-cistina sobre Au (111) 95 |
| 3.3.1 | Estudio de multicapas de L-cistina sobre Au (111) 96 |
| 3.3.2 | Estudio del sistema L-cistina /Au (111) a 110°C 98 |
| | |
| 4. | ESTUDIO Y REACTIVIDAD DE AMINOÁCIDOS SULFURADOS SOBRE |
| | PIRITA (100). 107 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 4.1 | Metodología del tratamiento y caracterización de la superficie de pirita (100) para obtener los patrones de difracción | 108 |
| 4.1.1 | Estudio del proceso de bombardeo | 109 |
| 4.1.2 | Estudio del proceso de calentamiento | 113 |
| 4.2 | Metodología para estudiar las implicaciones químicas de la superficie de pirita (100) mediante adsorción de aminoácidos | 118 |
| 4.2.1 | Adsorción de L-cistina sobre superficie monocristalina de pirita (100) ... | 120 |
| 4.2.2 | Adsorción de L-cisteína sobre superficie monocristalina de pirita (100) .. | 125 |
| 4.2.3 | Adsorción de L-metionina sobre superficie monocristalina de pirita (100) | 130 |
| 4.2.4 | Adsorción de L-alanina sobre superficie monocristalina de pirita (100)... | 134 |
| 5. | ESTUDIO DE LA SUPERFICIE DE PIRITA SOMETIDA A DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES | 147 |
| 5.1 | Reactividad de la pirita bajo condiciones oxidantes | 147 |
| 5.1.1 | Estudio del sistema cistina / pirita desde disolución | 148 |
| 5.1.2 | Estudio del sistema cistina / pirita en atmósfera de oxígeno mediante radiación sincrotrón | 155 |
| 5.2 | Co-adsorción de dos aminoácidos sobre la superficie de pirita (100) | 163 |
| 5.2.1 | Estudio del péptido dialanina sobre pirita (100) | 163 |
| 5.2.2 | Estudio del sistema cisteína + serina sobre superficie de pirita (100) | 169 |
| 6. | CONCLUSIONES GENERALES | 181 |

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Relevancia de la interacción de las moléculas en superficies

El conocimiento sobre la adsorción, interacción y reactividad de biomoléculas, como aminoácidos, péptidos o proteínas sobre superficies sólidas, presenta gran importancia en diversos campos de la ciencia como medicina, química-física de superficies, ciencia de materiales, corrosión, catálisis o materiales híbridos, debido al gran número de aplicaciones existentes (1-14).

El fuerte impacto de esta rama de investigación se refleja en el crecimiento, logrado en las últimas décadas, en diversas áreas de la ciencia como nanotecnología o desarrollo de órganos artificiales. El primer paso para desarrollar nuestros conocimientos en estas áreas radica en comprender la naturaleza de las biomoléculas y es esencial entender cómo se comportan química y estructuralmente empleando este conocimiento en el diseño e investigación de nuevos materiales (4).

Por otro lado, el proceso de autoensamblaje, de monocapas de biomoléculas, sobre superficies bien controladas, proporciona una herramienta fundamental en el diseño de dispositivos biomoleculares. La simplicidad y flexibilidad de las monocapas autoensambladas y la posibilidad de controlar las orientaciones del sistema biomolécula-superficie son claves para el desarrollo de aplicaciones en diversas áreas de la ciencia (biotecnología, sensores o microelectrónica) (3, 15). Estas capas moleculares han sido analizadas estructuralmente y sus formas de adsorción química han sido ampliamente estudiadas. Sin embargo, poco es conocido sobre la formación de estas capas y para su entendimiento se requiere una gran comprensión del balance de energía entre substrato-molécula y las interacciones molécula-molécula. Un modo de

comprender estas estructuras altamente ordenadas y los mecanismos de autoensamblado que las gobiernan es comenzando por el estudio de aminoácidos (moléculas sencillas) sobre superficies a nivel molecular (16).

1.2 Importancia de las superficies y su estudio a nivel de nanoescala

Los nanomateriales presentan una razón importante de superficie a volumen que proporciona la aparición de nuevos efectos mecánico-cuánticos. Los materiales exhiben propiedades muy diferentes a nivel nanoescala o a nivel macroescala. A nivel nanométrico las superficies pueden alterar algunas de sus propiedades como la solubilidad o la luminiscencia o generar algunos efectos nuevos. Algunos materiales inertes, como el platino o el oro, a nivel macroscópico, se transforman en catalizadores a nivel nanométrico o algunos aislantes se transforman en conductores cuando son estudiados a escala nanométrica. Por ello, la superficie juega un papel fundamental en muchos procesos químicos y físicos y resulta esencial comprender su estructura y propiedades (17).

Cuando se reduce a escala molecular el tamaño de una partícula se observa un incremento muy importante tanto en su área superficial relativa como en el número de átomos de su superficie lo que a su vez incrementa la reactividad química de la superficie de las nanopartículas. Los átomos de la superficie son inestables, tienen un mayor nivel energético y las fuerzas con las que son atraídos por los átomos situados en el interior del material son muy débiles. Por ello presentan una elevada reactividad que les permiten unirse a otros átomos superficiales de otras nanopartículas más próximas dando lugar a procesos de autoensamblado (18).

La física de superficies nos ha demostrado que mediante procesos de reconstrucción de la superficie se pueden mover átomos desde la superficie a los sitios de red, además los enlaces libres pueden introducir nuevos estados electrónicos y la adsorción de moléculas (surfactantes, adsorbatos o ligandos) puede alterar la energía y reactividad de un cristal. También influyen en sus propiedades electrónicas y ópticas y proporcionan estabilidad estérica o electrostática. Además, las reacciones de intercambio de ligandos o sustitución de los mismos, amplían la versatilidad de los materiales permitiendo la síntesis de especies enfocadas a aplicaciones concretas. Por otro lado, ciertos ligandos, pueden bloquear la interacción de la superficie con otras moléculas no deseadas (17). En todos ellos, la física de superficies y la ciencia de materiales están presentes y la nanotecnología en evolución constante, siendo imprescindible el uso de técnicas y métodos que nos permitan estudiar las superficies a escala nanométrica.

Las técnicas espectroscópicas, microscópicas y métodos de cálculo nos permiten obtener información acerca de las interacciones presentes en la superficie y entre la superficie y los ligandos, la composición química, estructural y orientación de las moléculas o las monocapas presentes en la superficie y diversas propiedades como el grosor, densidad o constante dieléctrica (17).

Detalles estructurales como la naturaleza química de las especies adsorbidas, su enlace y orientación son mejor obtenidas por técnicas espectroscópicas como la espectroscopia infrarroja de reflexión-adsorción (RAIRS), la espectroscopia de pérdida de energía de electrones (EELS) o la espectroscopia de fotoemisión de rayos X (XPS). Aspectos sobre la auto-organización de las moléculas sobre la superficie y el orden que adquieren han sido investigados exitosamente mediante difracción de electrones de baja energía (LEED) o microscopía de efecto túnel (STM) (19). Por otro lado, los estudios teóricos, como la teoría funcional de la densidad (DFT), descartan las dificultades asociadas con

el trabajo experimental y se utilizan para crear modelos sobre las interacciones electrónicas producidas entre la superficie y las moléculas (17).

1.3 Estudios de aminoácidos sobre superficies metálicas

El estudio teórico y experimental de la adsorción de aminoácidos sobre superficies metálicas es esencial para comprender la forma en la que proteínas y moléculas de mayor tamaño interactúan con las superficies (20). Los aminoácidos son moléculas que en su estructura disponen de dos grupos funcionales, ácido y amino (COOH y NH_2), que pueden estar involucrados en el enlace con la superficie. Algunos aminoácidos, como cisteína o cistina, disponen, además, de un grupo reactivo adicional en su cadena lateral que también puede contribuir en el enlace con la superficie (grupo tiol, SH o puente disulfuro, S-S). La forma química del aminoácido varía desde neutra (NH_2RCOOH), aniónica (NH_2RCOO^-), catiónica ($\text{NH}_3^+\text{RCOOH}$) o zwitterion ($\text{NH}_3^+\text{RCOO}^-$) y dependerá del medio en el que se encuentre (disolución, fase gas, fase sólida), pH, la superficie sobre la que sea adsorbido o el grado de recubrimiento molecular. Por otro lado, la interacción por puentes de hidrógeno que puede establecerse entre los aminoácidos adsorbidos sobre una superficie, influirá en los procesos de auto-organización de los mismos y en la formación de estructuras ordenadas. Este orden, a su vez, puede favorecerse gracias a parámetros como la temperatura de la superficie o el tiempo de difusión molecular (19).

Otra característica fundamental de los aminoácidos es que todos ellos, a excepción de la glicina, son quirales, existiendo tanto en su forma enantiomérica levógira (L) como dextrógira (D). La quiralidad es la propiedad de un objeto de no ser superponible con su imagen especular y tiene importantes efectos en física, química y biología. En los

sistemas orgánicos la quiralidad suele estar presente por la existencia de un carbono quiral, es decir un carbono con cuatro sustituyentes diferentes. El interés fundamental de estas moléculas en física de superficies radica en como la adsorción de moléculas quirales puede otorgar quiralidad a una superficie previamente no quiral (19). También las superficies pueden presentar quiralidad, por tanto, el estudio de la quiralidad de las superficies y de las moléculas, ha sido ampliamente investigado en campos como la catálisis enantioselectiva, cromatografía o sensores (21-24).

Por otro lado, la interacción química y reacción de aminoácidos con iones metálicos es esencial en muchos procesos biológicos. Por ejemplo, el grupo imidazol presente en la histidina puede funcionar como un ligando con iones metálicos en un gran número de metaloproteínas, el ion Fe^{2+} presente en la molécula de hemoglobina o una gran variedad de metaloenzimas que contienen cobre y están presentes en plantas y animales (25). Hay, por tanto, diversos estudios sobre la adsorción de aminoácidos sencillos (como glicina, alanina, valina o serina) adsorbidos sobre diferentes caras monocristalinas de superficies metálicas (Cu, Au, Pd, Ni, Ge) desde disolución o desde fase gas (26-29). También existen numerosas investigaciones sobre aminoácidos más complejos o aminoácidos que contienen grupos azufre en su estructura, depositados sobre Cu, Au o Ag (21, 30-34) e interesantes estudios mediante temperatura programada para ver como evoluciona y desorbe el aminoácido sobre la superficie al aplicar temperatura al sistema (35). Para todos estos estudios una gran variedad de técnicas espectroscópicas (XPS, RAIRS), microscópicas (STM, AFM) y técnicas de difracción (LEED) han sido empleadas, así como métodos teóricos, proporcionándonos importante información sobre la forma química, la naturaleza de la interacción, la orientación o el ordenamiento de los aminoácidos sobre la superficie (36).

Los aminoácidos sobre superficies (metálicas y minerales) estudiados a lo largo de esta tesis han sido los siguientes (véase figura 1):

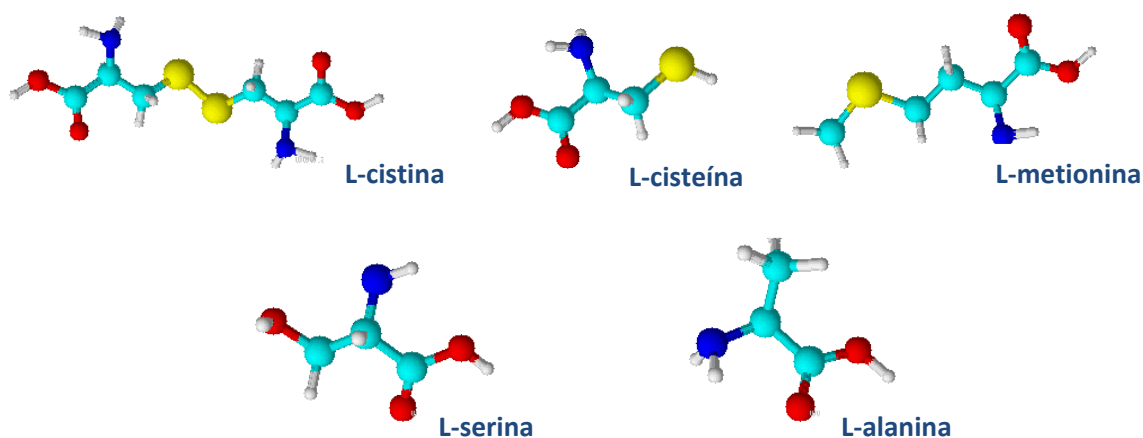


Figura 1. Aminoácidos estudiados: *L*-cistina, *L*-cisteína, *L*-metionina, *L*-serina y *L*-alanina.

También hemos realizado el estudio de un péptido (*L,L*-dialanina) sobre la superficie de pirita (véase figura 2):

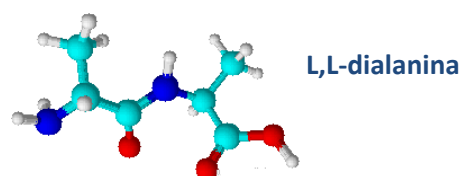


Figura 2. Péptido estudiado. *L,L*-dialanina.

Los aminoácidos *L*-cistina, *L*-cisteína y *L*-metionina han sido seleccionados para nuestro estudio por la presencia del átomo de azufre en su cadena carbonada. Estudiamos como la presencia del azufre en diferentes grupos funcionales (tiol (-SH), puente disulfuro (S-S), tiolato (-S-)) puede afectar a la interacción del aminoácido con la superficie. *L*-alanina, es el aminoácido quiral más sencillo, sin grupos azufre en su cadena, nos permite estudiar la reactividad de la superficie de pirita

y verificar si la ausencia del átomo de azufre en su estructura influye en la reactividad de la misma y en la forma química adsorbida sobre la superficie. LL-dialanina nos permite establecer una comparación directa entre un solo aminoácido y dos aminoácidos (dipéptido) adsorbidos sobre la misma superficie. Finalmente también hemos estudiado la co-adsorción de dos aminoácidos diferentes para investigar las posibles propiedades catalíticas de la pirita mediante la reacción de dos aminoácidos sobre su superficie (L-cisteína y L-serina).

1.4 Estudios sobre superficies minerales. Pirita FeS₂

Los minerales son superficies prometedoras en el estudio de los procesos de interacción entre moléculas y superficies. Entre todos los minerales, la pirita (FeS₂) es uno de los más importantes y abundantes en la tierra y presenta importantes aplicaciones en un amplio rango de procesos tecnológicos y geológicos. Además, muchas reacciones químicas, geoquímicas y biológicas, basadas en equilibrios redox, como el ciclo del S o del Fe, tienen lugar sobre dicha superficie (37-39).

La pirita es también un mineral semiconductor, por lo tanto su estructura electrónica es ampliamente estudiada para aplicaciones en biocatálisis o fotovoltaica (40, 41). La presencia de defectos cristalinos como escalones, dislocaciones, impurezas o vacantes, podría alterar la reactividad de materiales semiconductores y modificar sus propiedades electrónicas (42). Además, debido a su actividad catalítica, la superficie de pirita juega un papel importante en catálisis heterogénea (43, 44).

La estructura cristalina de la pirita es de tipo cúbico NaCl con iones Fe²⁺ en los sitios catiónicos y dímeros S₂²⁻ en los sitios aniónicos, alineados a lo largo de la diagonal del

cubo en la dirección $\langle 111 \rangle$. La cara monocristalina (100) de la pirita, usada en los experimentos presentados en esta tesis, es el plano de pirita más estable (45).

Por otro lado, el estudio de las propiedades físicas de pirita y su reactividad es crucial en la teoría del “mundo de hierro-azufre” (46). Wächtershäuser propuso que las primeras reacciones que se llevaron a cabo para la formación de aminoácidos no ocurrieron en una disolución en los océanos (teoría de la sopa prebiótica) sino en la superficie de minerales como la pirita. Estas superficies son potencialmente adecuadas para facilitar la polimerización de moléculas prebióticas. Los minerales podrían haber adsorbido, concentrado estas biomoléculas y catalizar reacciones entre ellas que diesen lugar a moléculas de mayor complejidad, siendo, por tanto, el papel de los minerales crucial en el origen de la vida (47).

Recientes experimentos sugieren que los aminoácidos son fuertemente adsorbidos por superficies minerales y que esta adsorción podría haber facilitado la formación de péptidos mediante el incremento de la concentración efectiva de aminoácidos y los sitios catalíticos que proporciona la superficie (48).

Un reducido número de investigaciones se han centrado en la adsorción de biomoléculas sencillas sobre la superficie de pirita. Entre ellos cabe destacar la adsorción de la nucleobase adenina sobre la superficie de pirita estudiada por espectroscopia de estructura fina de la adsorción de rayos X cercana al borde (NEXAFS) en ultra alto vacío. El estudio demostró que un substrato como pirita, que impone una adsorción molecular ordenada, es un buen candidato para promover el origen de la vida (49). Por otro lado, moléculas de ácido nucleico peptídico (PNA), modificadas con un grupo tiol, adsorbidas sobre una superficie de pirita natural, interaccionan fuertemente con el hierro de la superficie a través de las bases nitrogenadas en lugar de hacerlo a través del grupo

tiol, además no se observa ninguna orientación molecular preferencial (38, 47). El comportamiento de la adsorción de glucosa sobre pirita también ha sido estudiado, demostrando que la adsorción física domina la interacción entre la molécula y el mineral (50).

La adsorción de moléculas orgánicas o biopolímeros sobre superficies minerales puede alterar sustancialmente la morfología del mineral, así como la composición de la superficie y su reactividad, adaptando de este modo sus propiedades. Estudios sobre la reactividad de la pirita han sido realizados, sin embargo es necesaria una investigación más exhaustiva, a nivel molecular, para comprender en más detalle la interacción entre el mineral y la molécula adsorbida y el potencial que puede presentar la pirita debido a su actividad catalítica.

Estudios de oxidación de la pirita muestran que la pirita es reactiva bajo condiciones ambientales y se oxida rápidamente en aire formando sulfato férrico, otros posibles productos de oxidación son hidróxidos de hierro, oxihidroxidos de hierro, monosulfuros, disulfuros y polisulfuros. La formación de estos productos de oxidación depende de las condiciones y de la duración del proceso oxidativo. La reactividad de la pirita en disolución es determinada por la habilidad de las primeras capas oxidadas para adsorber ciertas moléculas, pasivar la superficie y prevenir oxidaciones adicionales (51).

Los sulfuros minerales son también una gran fuente de elementos tóxicos como As, Pb, Cd, Tl y Hg. Por tanto, para prevenir los riesgos derivados de su descomposición oxidativa, los mecanismos de oxidación de la pirita y su cinética deben ser estudiados en profundidad y bajo diferentes condiciones (52). Así como conocer más profundamente sus propiedades catalíticas, tanto para desarrollar nuevos dispositivos, como para tratar de comprender el origen de la vida.

La química prebiótica estudia la formación de moléculas orgánicas complejas a partir de moléculas orgánicas e inorgánicas más simples, presentes en la Tierra primitiva. La hipótesis sobre la importancia de la formación de polímeros orgánicos en el origen de la vida es bastante general, sin embargo, los tipos de moléculas orgánicas y los entornos presentes en la Tierra primitiva siguen planteando cuestiones sin resolver (48).

Para el estudio de la química prebiótica es de gran importancia comprender la contribución de superficies sólidas, como los minerales, que han sido considerados como centros clave para la concentración de moléculas orgánicas y que poseen un gran potencial catalizador. Comprender la química de moléculas orgánicas en superficies es uno de los temas más prometedores para comprender el papel que las superficies juegan en la formación de los precursores prebióticos. La posible contribución de las superficies minerales en la formación de péptidos es crucial en varios modelos propuestos sobre el origen de la vida (48).

Dentro del contexto de química prebiótica, nosotros proponemos un estudio en profundidad que nos permita comprender la interacción molecular de los aminoácidos, bloques biológicos esenciales para la vida, sobre superficies minerales, como la pirita, las cuáles han existido desde los orígenes de la Tierra primitiva. Los resultados presentados en esta tesis son los primeros estudios para entender la interacción, adsorción y reactividad de aminoácidos sobre la superficie monocristalina de pirita (100). En este contexto, el principal objetivo que presentamos es investigar como diferentes tratamientos realizados sobre la superficie de pirita modifican su estructura y reactividad pudiendo determinar la forma química del aminoácido adsorbido en su superficie.

La pirita es una superficie altamente reactiva y contiene dos tipos de grupos funcionales que conducen la química molecular de la superficie y son dependientes de las condiciones del entorno (53). Por ejemplo, los procesos de calentamiento de la superficie a diferentes temperaturas son claves en la ordenación y reactividad de la pirita.

Mediante potentes técnicas de física de superficies, como espectroscopia de fotoemisión de rayos X (XPS) y difracción de electrones de baja energía (LEED), hemos abordado el estudio de temas de química prebiótica en los que, dichas técnicas, son herramientas innovadoras que nos proporcionan importante información estructural y datos espectroscópicos.

Por lo tanto, una parte importante de esta tesis se enfoca en el contexto de química prebiótica, mostrando la relevancia de las propiedades físico-químicas de las superficies minerales, concretamente la pirita. Nuestro estudio se enfoca en comprender la interacción y reactividad entre minerales (pirita), que ya existían en la Tierra primitiva, y aminoácidos, los cuáles son los bloques biológicos esenciales en la formación de proteínas. En la tabla 1 se presenta un resumen de los aminoácidos, superficies y condiciones estudiadas en esta tesis así como las técnicas empleadas para la caracterización de cada sistema de estudio (molécula / superficie).

Tabla 1. Tabla resumen de superficies, moléculas y condiciones experimentales estudiadas en esta tesis así como las técnicas de caracterización empleadas para cada sistema (molécula / superficie).

| SUPERFICIE | MOLÉCULA | TÉCNICAS | CONDICIONES |
|--------------|-------------------|------------------|------------------|
| Au (111) | Cisteína | XPS / LEED | UHV |
| Cu (110) | Cisteína | XPS / LEED / STM | UHV |
| | Cistina | XPS / LEED | UHV |
| Pirita (100) | Cistina | XPS / LEED | UHV / Oxidativas |
| | cisteína | XPS / LEED | UHV |
| | metionina | XPS / LEED | UHV |
| | alanina | XPS / LEED | UHV |
| | dialanina | XPS / LEED | UHV |
| | cisteína / serina | XPS / LEED | UHV |

1.5 Estudios con radiación sincrotrón

Los progresos en ciencia se relacionan con la aparición de nuevas técnicas. A través de espectroscopias y microscopias empleadas en UHV ha sido posible estudiar las superficies a escala atómica adquiriendo importantes conocimientos sobre su cristalografía, composición y estructura electrónica (54). Sin embargo también es de gran interés conocer cómo se comportan las superficies en presencia de gases o sometidos a diferentes atmósferas que simulan condiciones reales de estudio. Entender las interfases entre gases y sólidos es fundamental en un gran número de procesos

medioambientales, generación de energía o catálisis heterogénea (55). En catálisis estas técnicas son muy prometedoras ya que permiten estudiar el estado químico del catalizador durante la reacción. Por ejemplo, es posible conocer el estado de oxidación del catalizador durante una reacción redox, el cual puede cambiar fácilmente en función de la mezcla de gases a la que es sometido. Se puede conocer la composición de la superficie así como productos y contaminantes que pueden estar presentes solo en un estado gaseoso de intercambio con la fase gas. Algunos ejemplos de investigaciones realizadas dentro del campo de la catálisis son la oxidación del Pd (111), el estudio de la química redox del cobre (proceso de oxidación de Cu_2O a CuO) o diversas reacciones catalíticas como la oxidación de MeOH en presencia de cobre (54), adsorción de glicina y alanina sobre Cu (110) en presencia de agua (56) o el análisis in situ de superficies activas catalíticamente de Pd, de diferente orientación, oxidadas con CO (57).

Una característica de las superficies expuestas a presión ambiental es que son cubiertas por densas capas de moléculas como H_2O . Los metales, por ejemplo, son fácilmente oxidados en contacto con el O_2 atmosférico y es necesario conocer cómo se comportan estos materiales en condiciones reales y como dichas capas pueden afectar a su estructura y reactividad (54). Técnicas de análisis de superficies como espectroscopia infrarroja (IR), espectroscopia de emisión de rayos X (XES), microscopia de efecto túnel (STM) o espectroscopia de fotoemisión de rayos X (XPS) nos permiten estudiar interfaces vapor /sólido aunque se deben tener en cuenta ciertas consideraciones. Las partículas (electrones, fotoelectrones, neutrones) son fuertemente dispersadas por las moléculas de gas, lo que requiere grandes desarrollos tecnológicos para la aplicación de técnicas como XPS a altas presiones. Esta atenuación de las partículas, por las moléculas de gas, puede ser evitada mediante sistemas de bombeo diferenciales que permiten a los espectrómetros operar a presiones de hasta 130 mbar. Otro requerimiento

importante es mantener el detector de electrones, el analizador hemisférico y la fuente de rayos X bajo condiciones de UHV, lo cual también es conseguido mediante este sistema de bombeo diferencial (55).

Entre las aplicaciones destacan experimentos sobre moléculas adsorbidas en superficies monocristalinas. Mediante espectroscopias a altas presiones, cercanas a la presión atmosférica, además de entender las propiedades ya estudiadas desde UHV, podemos obtener información sobre la termodinámica de las fases, sobre la adsorción y ocupación de sitios específicos o la formación de nuevas fases en la superficie debido a la exposición a gases o a diferentes atmósferas. Además de poder realizar un estudio comparativo entre condiciones desde UHV y condiciones a altas presiones cercanas a la presión atmosférica (55).

En nuestro caso, si tratamos de profundizar en la teoría de Wächtershäuser sobre las propiedades catalíticas de los minerales o entender si las condiciones reductoras fueron las que primaban en los orígenes de la vida en la Tierra, es necesario comprender la reactividad de la pirita en presencia de atmósfera de oxígeno o agua. Los estudios en radiación sincrotrón a altas presiones y su comparación directa con los estudios realizados desde disolución o desde UHV nos permiten profundizar en el entendimiento de estos conceptos.

Durante la realización de esta tesis doctoral se ha realizado una estancia en el sincrotrón ALBA para el estudio de la reactividad de la pirita a altas presiones de oxígeno (1 mbar). También se estudió la interacción de la cistina sobre pirita oxidada y se realizó la medida de XPS de este sistema (Cistina/pirita oxidada) tanto en ultra alto vacío como en atmósfera de oxígeno. Todos los resultados obtenidos fueron comparados con los experimentos realizados en el laboratorio en UHV.

REFERENCIAS

1. C. Joachim, J.K. Gimzewski, A. Aviram. *Nature*, **2000**. 408. 541.
2. C.M. Niemeyer, C.A. Mirkin. *Nanobiotechnology: Concepts, applications and perspectives*. Wiley, John&Sons, New York, **2004**.
3. E. Mateo-Martí, C. Briones, C.M. Pradier, J.M. Martín-Gago. *Biosens. Bioelectron*, **2007**. 22. 1926.
4. Angelika Kühnle. *Tesis doctoral*. Molecular self-assembly and chiral recognition: Biologically relevant molecules on metal surfaces. University of Aarhus, Denmark. **2002**.
5. K. Welter. *Avances en química*, **2008**. 3(3). 99.
6. M.T. García Fernández. *Tesis Doctoral*. Materiales híbridos orgánicos-inorgánicos basados en disilanos como unidades estructurales. Universitat politècnica de València. **2012**.
7. M. P. Kapoor, A. K. Sinha, S. Seelan, S. Inagaki, S. Tsubota, H. Yoshida, M. Haruta, *Chemical Communications*, **2002**, 2902.
8. D. J. Collins, H.-C. Zhou, *Journal of Materials Chemistry*, **2007**, 17, 3154.
9. O. Dag, C. Yoshina-Ishii, T. Asefa, M. J. MacLachlan, H. Grondey, N. Coombs, G. A. Ozin, *Advanced Functional Materials*, **2001**, 11, 213.
10. K. J. Shea, D.A. Loy, *Chemistry of Materials*, **2001**, 13, 3306.
11. B. V. Harbuzaru, A. Corma, F. Rey, P. Atienzar, J. L. Jordá, H. García, D. Ananias, L. D. Carlos, J. Rocha, *Angewandte Chemie International Edition*, **2008**, 47, 1080.
12. H. Jiang, A. K. Kakkar, *Journal of the American Chemical Society*, **1999**, 121, 3657.
13. O.A. Yokus, F. Kardas, O.Akyildirim. T. Eren, N. Atar, M.L. Yola. *Sensors and Actuators B: chemical*, **2016**, 233, 47.
14. M. Checa Gómez. *Tesis doctoral*. Glycerol transformation on several heterogeneous acid-base and supported metal catalysts under different redox conditions. Universidad de Córdoba. **2016**.
15. E. Mateo-Martí, C. Briones, E. Román, E. Briand, C.M. Pradier, J.A. Martín-Gago. *Langmuir*, **2005**, 21, 9510.
16. E. Mateo-Martí, C. Rogero, C. Gonzalez, J.M. Sobrado, P.L. de Andrés, J.A. Martín-Gago. *Langmuir*, **2010**, 26 (6), 4113.
17. M. A. Boles, D. Ling, T. Hyeon, D. V. Talapin. *Nature Materials*, **2016**, 15, 141.

18. L. C. Alvarez. *XVII Curso de Geotecnia aplicada*. La revolución nanotecnológica en los nuevos materiales. Un reto tecnológico para el siglo XXI. Universidad de Jaén. **2015**.
19. S. M. Barlow, R. Raval. *Surface Science reports*, **2003**, 50, 201.
20. A.P. Sandoval, J.M. Orts, A. Rodes, J.M. Feliu. *Electrochimica Acta*, **2013**, 89, 72.
21. T. Popa, E.C.M. Ting, I. Paci. *Surface Science*, **2014**, 629, 20.
22. S.M. Barlow, S. Louafi, D. Le Roux, J. Villiams, C. Muryn, S. Haq, R. Raval. *Surface Science*, **2005**, 590, 243.
23. R. Raval. *Current opinion in solid state materials science*, **2003**, 7, 67.
24. E. Mateo-Martí, S.M. Barlow, S. Haq, R. Raval. *Surface Science*, **2002**, 501, 191.
25. B. Liedberg, C. Carlsson, I. Lundström. *Journal of colloid and interface science*, **1987**, 120(1), 64.
26. J. Williams, S. Haq, R. Raval. *Surface Science*, **1996**, 368, 303.
27. J. N. James, J. Woo Han, D. S. Sholl. *Applied surface science*, **2014**, 301, 199.
28. R.E.J. Nicklin, A. Cornish, A. Shavorskiy, S. Baldanza, K. Schulte, Z. Liu, R.A. Bennett, G. Held. *The Journal of Physical chemistry C*, **2015**, 119, 26566.
29. Y. S. Youn, H.Lee, S. Kim. *Chemphyschem*, **2010**, 11, 354.
30. E. Mateo-Martí, Ch. Methuier, C.M. Pradier. *Langmuir*, **2004**, 20, 10223.
31. S. Fischer, A.C. Papageorgiou, M. Marschall, J. Reichert, K. Diller, F. Klappenberger, F. Allegretti, A. Nefedov, C. Wöll, J.V. Barth. *The journal of physical chemistry C*. **2012**, 116, 20356.
32. K. Uvdal, P. Bodö, B. Liedberg. *Journal of colloidal and interface science*. **1992**, 149(1), 162.
33. G. Gonella, S. Terreni, D. Cvetko, A. Cossaro, L. Mattera, O. Cavalleri, R. Rolandi, A. Morgante, L. Floreano, M. Canepa. *J. Phys. Chem. B*, **2005**, 19, 18003.
34. G. Doderò, L. De Michieli, O. Cavalleri, R. Rolandi, L. Oliveri, A. Dacca, R. Parodi. *Colloids and surfaces A*, **2000**, 175, 121.
35. F. Gao, Z. Li, Y. Wang, L. Burkholder, W.T. Tysoe. *Surface Science*, **2007**, 601, 3276.
36. G. Jones, L. B. Jones, F. Thibault-Starzyk, E.A. Sedon, R. Raval, S. J. Jenkins, G. Held. *Surface Science*, **2006**, 600, 1924.
37. K.M. Rosso, U. Becker Jr, M.F. Hochella. *American Mineralogist*, **1999**, 84, 1535.
38. E. Mateo-Martí, C.Rogero, C. Briones, J.A. Martín-Gago. *Surface Science*, **2007**, 601, 4195.

39. A.G. Schaufub, H.W. Nesbitt, I. Kartio, K. Laajalehto, G.M. Bancroft, R. Szargan. *Surface Science*, **1998**, 411, 321.
40. M. Barrawi, I.J. Ferrer, E. Flores, S. Yoda, J.R. Ares, C. Sánchez. *Journal Phys. Chem. C*, **2016**. DOI: 10.1021 / acs.jpcc.5b11482.
41. Y. Bi, Y. Yuan, C.L. Exstrom. S.A. Darveau, J. Huang. *American Chemical Society*, **2011**, 11(11), 4953.
42. F.W. Herbert, A. Krishnamoorthy, K.J. Van Vliet, B. Yildiz. *Surface Science*, **2013**, 618, 53.
43. L. Tao, I. Temprano, S.J. Jenkins, D. A. King, S.M. Driver. *Phys. Chem. Chem. Phys*, **2012**, 14, 11491.
44. L. Tao, I. Temprano, S.J. Jenkins, D. A. King, S.M. Driver. *Journal. Phys. Chem. C*, **2013**, 117(2), 10990.
45. F.W. Herbert, A. Krishnamoorthy, K.J. Van Vliet, B. Yildiz. *Electrochim. Acta*, **2014**, 127, 416.
46. G. Wächtershäuser. *Chem. Biodiversity*, **2007**, 4, 584.
47. E. Mateo-Martí, C. Briones, C. Rogero, C. Gómez-Navarro, Ch. Methivier, C.M. Pradier, J.A. Martín-Gago. *Chem. Phys*, **2008**, 352, 11.
48. K. Marshall-Bowman, S. Ohara, D.A. Sverjensky, R.M. Hazen, H.J. Cleaves. *Geochim. Cosmochim*, **2010**, 74, 5852.
49. O. Plekan, V. Feyer, F. Sutara, T. Skála, M. Svec, V. cháb, V. Mantolín, K.C. Prince. *Surface Science*, **2007**, 601, 1973.
50. W. Zhaohui, X. Xuehui, X. Shengmu, L. Jianshe. *Hydrometallurgy*, **2010**, 102, 87.
51. E. C. Todd, D.M. Sherman, J.A. Purton. *Geochim. Cosmochim*, **2003**, 67, 881.
52. Q. Guohong, L. Yao, C. Cheng, L. Qiang, T. Wenfeng, L. Fan, L. Chengshuai. *Journal of environmental sciences*. **2016**. [Doi:10.1016/j.jes.2016.01.012](https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.01.012)
53. M. Sánchez-Arenillas, E. Mateo-Martí. *Chemical Physics*, **2015**, 458, 92.
54. M. Salmeron, R. Schlögl. *Surface Science reports*, **2008**, 63, 169.
55. D.E. Starr, Z. Liu, M. Hävecker, A. Knop-Gericke and H. Bluhm. *Chem. Soc. Rev*, **2013**, 42, 5833.
56. A. Shavorskiy, F. Aksoy, M.E. Grass, Z. Liu, H. Bluhm, G. Held. *J. Am. Chem. Soc*, **2011**, 133, 6659.
57. H. Kondoh, R. Toyoshima, Y. Monya, M. Yoshida, K. Mase, K. Amemiya, B. Simon Mun. *Catalysis Today*, **2016**, 260, 1.

CAPÍTULO 2

TÉCNICAS Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

2. TÉCNICAS Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

2.1 Ciencia de superficies

Para comprender la reactividad y propiedades de una superficie se requiere información sobre su topografía, su composición y estructura química, su estructura atómica, sus estados electrónicos e información sobre los enlaces de moléculas presentes en la superficie. Para conseguir toda esta información varias técnicas complementarias suelen ser empleadas (1). A pesar de la gran importancia que presentan las superficies, solo una muy pequeña proporción de los átomos de un sólido se encuentran en ella y esta proporción es dependiente de la forma, rugosidad o composición de cada material. Por ello, las técnicas de análisis deben ser extremadamente sensibles y eficientes en el filtrado de la señal de la gran mayoría de los átomos presentes en la muestra (2).

En nuestros estudios hemos empleado tres técnicas fundamentales dentro del campo de ciencia de superficies. Espectroscopia de fotoemisión de rayos X (XPS), Difracción de electrones de baja energía (LEED) y microscopia de efecto túnel (STM). Además de emplear un espectrómetro de masas para controlar los gases presentes en la cámara y los procesos de limpieza de la misma.

2.2 Espectroscopia de fotoemisión de rayos X (XPS)

La espectroscopia de fotoemisión de rayos X (XPS) fue desarrollada a mediados de los años 60 por Kai Siegbahn y su grupo de investigación de la Universidad de Uppsala, Suecia. En los años setenta comenzó su comercialización y abastecimiento por los laboratorios del mundo y en 1981 Siegbahn fue galardonado con el Premio Nobel de Física por su trabajo con XPS.

La espectroscopia de fotoemisión está basada en el efecto fotoeléctrico, en el cuál, un electrón libre es expulsado de un átomo después de que éste haya absorbido la energía de un fotón procedente de una fuente, normalmente rayos X o ultravioleta (véanse figura 1 y 2). La relación entre la energía cinética del electrón libre (E_k), la energía de enlace (E_b), la energía del fotón ($h\nu$) y la función del trabajo (ϕ) puede ser expresada como:

$$E_k = h\nu - E_b - \phi$$

Conociendo la energía del fotón que incide y midiendo la energía cinética del electrón libre, podemos obtener la energía de enlace. Dependiendo de la fuente de fotones que se emplee se excitarán los electrones de un nivel u otro. Si empleamos rayos X (XPS), los electrones principalmente excitados serán los del *Core Level*, mientras que si la fuente empleada es ultra-violeta (UPS), los electrones excitados serán los de la banda de valencia. La energía emitida por los fotoelectrones es analizada por un espectrómetro y los datos representados en una gráfica de intensidad (expresada en número de cuentas) frente a energía de enlace. La energía cinética del electrón es dependiente de la energía del fotón de los rayos X empleados y, no es, por tanto, una propiedad intrínseca del material. La energía de enlace del electrón (E_b) es un parámetro que identifica al electrón específicamente, en términos del elemento y nivel de energía atómica del que procede. Todos los electrones con una energía de enlace menor que la energía del fotón se incluirán en el espectro (2).

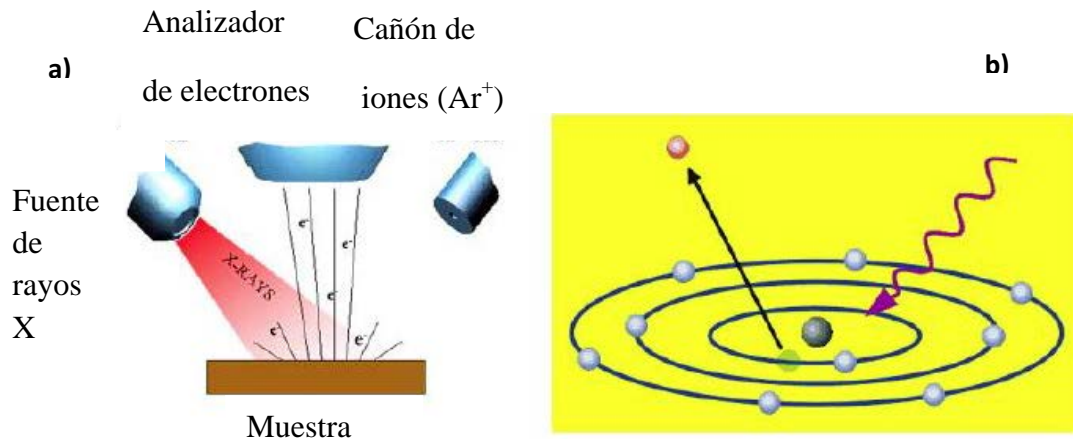


Figura 1. (a) Electrones emitidos al irradiar una superficie con una fuente de fotones de alta energía. (b) Electrón expulsado de un átomo tras absorber la energía de un fotón procedente de una fuente.

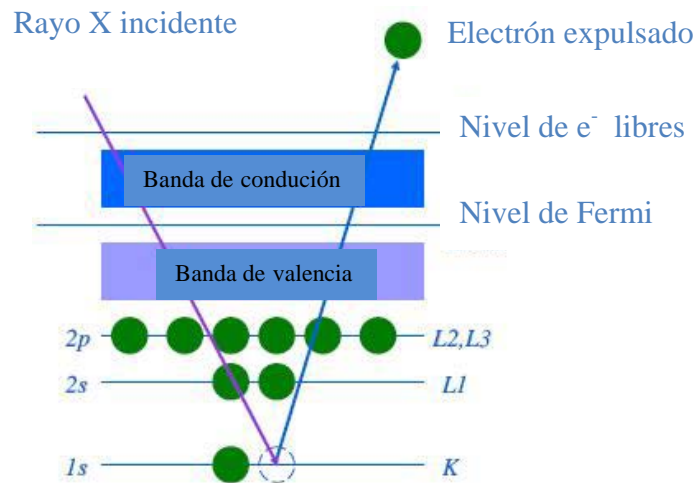


Figura 2. Diagrama de energías del proceso de fotoemisión inducida por rayos X.

La instrumentación necesaria para un sistema de XPS está formada por una fuente de haz primaria (de rayos X), un analizador para filtrar la energía y un sistema de detección para medir la cantidad de electrones que llegan, como el flujo de los mismos es bajo, se necesita un multiplicador de electrones (Channeltron). Todo ello dentro de una cámara de ultra alto vacío con presiones entre 10^{-8} a 10^{-11} mbar. Las razones por las que se requiere condiciones de UHV son:

-La concentración de moléculas de gas residual deben mantenerse a un nivel aceptable ya que los electrones de baja energía pueden ser fácilmente dispersados por ellas, decreciendo la intensidad del espectro y aumentando el ruido del mismo.

-Debido a la gran sensibilidad de la superficie. A una presión de 10^{-6} mbar, una monocapa de gas puede ser adsorbida en tan solo 1 segundo confundiendo los resultados.

Para conseguir una radiación con un intervalo de longitud de onda restringido y conseguir la fotoionización de al menos un electrón de niveles internos, se requiere de monocromadores. Las fuentes de rayos X estándar, para laboratorios, normalmente tienen dos ánodos, uno de magnesio (K_{α} , $h\nu = 1253,6$ eV) y otro de aluminio (K_{α} , $h\nu = 1486,6$ eV).

El analizador de nuestro laboratorio es de tipo hemisférico (HSA), consta de un par de electrodos hemisféricos concéntricos entre los que se establece un hueco para que los electrones pasen, entre la muestra y el analizador hay una serie de lentes, la energía cinética de los electrones expulsados de la muestra es demasiado grande para el analizador y deben ser retrasados, esto se consigue a través de dichas lentes (2).

Las muestras deben ser estables en las cámaras de UHV. Materiales muy porosos y con una alta presión de vapor (10^{-7} mbar, en este contexto, es considerada una alta presión de vapor) pueden causar problemas. Además debe tratarse de muestras conductoras o semiconductoras, las muestras aislantes no dan señal (2).

Con esta espectroscopia estudiamos que elementos están presentes en la superficie, que estados químicos presentan dichos elementos, que proporción de cada estado químico, de cada elemento, está presente. Además, si los materiales están presentes en una

película delgada en la superficie, podemos averiguar el grosor de la película, saber si el espesor es uniforme y como de uniforme es la composición de dicha película (2).

La técnica es también conocida por el acrónimo ESCA (Espectroscopia de electrones para el análisis químico), precisamente porque el mayor valor de esta técnica analítica radica en su capacidad de especificidad química. XPS no es solo capaz de definir los elementos presentes en el análisis, sino también su estado químico, así, por ejemplo, en el caso del Fe, los espectros de Fe^0 , Fe^{2+} y Fe^{3+} son totalmente diferentes y fácilmente distinguibles (2).

La técnica de XPS es ampliamente empleada en investigaciones dentro del campo de ciencia de materiales: en metalurgia, ingeniería de superficies, materiales y dispositivos microelectrónicos, polímeros y estudios de adhesión, en el análisis de revestimientos metálicos y no metálicos y procesos de corrosión.

Finalmente mencionar que aunque XPS esencialmente es una técnica para analizar la superficie de los materiales también es posible usar esta técnica para proporcionar información sobre la composición del material en función de su profundidad. Este estudio se puede realizar de modo destructivo y no destructivo, de forma no destructiva sería cambiando la geometría del experimento o la energía emitida por los electrones y de modo destructivo consistiría en la eliminación de material desde la superficie de la muestra bien, in-situ, por bombardeo con iones o bien, ex-situ, mediante procedimientos mecánicos (2).

En cuanto al espectro de XPS primero se realiza un barrido amplio de todo el espectro (desde 1200 eV aproximadamente hasta -6,5 eV), de este modo se obtiene un análisis global de todas las regiones de la muestra. Cada región representa un átomo diferente, presente en la muestra, objeto de estudio. A continuación se realiza un análisis detallado

de cada una de las regiones de interés (véase figura 3). Midiendo una acumulación de espectros para facilitar la determinación de los componentes más débiles y minimizar el ruido. La energía de enlace nos permite diferenciar tanto los átomos presentes en la muestra, como su estado de oxidación o su forma química.

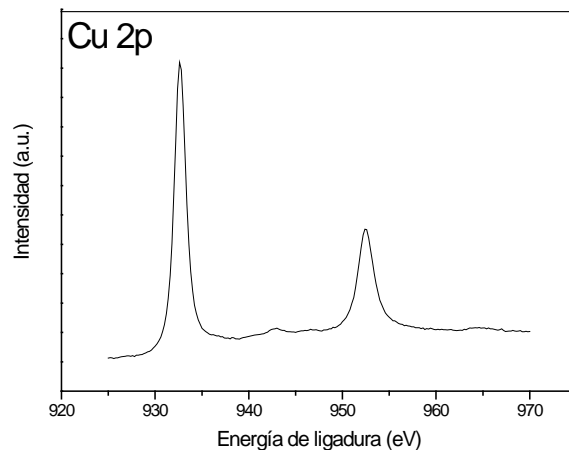


Figura 3. Espectro XPS de una muestra limpia de Cu (110). La señal del nivel Cu 2p posee dos componentes centradas a energías de ligadura de 932,6 y 952,5 eV. Espectro adquirido en el laboratorio del centro de Astrobiología con nuestro equipo experimental de medida.

2.3 Difracción de electrones de baja energía (LEED)

Desde el desarrollo de la tecnología de UHV, la difracción de electrones de baja energía (LEED) ha sido ampliamente estudiada y empleada. Sus bases se fundamentan en los trabajos realizados por Bragg (1912) para lograr la aplicación de la difracción de rayos X a la cristalografía y en la teoría sobre la dualidad onda-partícula postulada por Broglie (1924).

La ley de Bragg permite predecir las direcciones en la que la difracción de rayos X sobre la superficie de un material con estructura atómica periódica (material cristalino)

produce interferencias constructivas. La interferencia es constructiva cuando la diferencia de fase entre la radiación emitida por diferentes átomos es proporcional a 2π .

Dicha condición es expresada por la ley de Bragg:

$$n\lambda = 2d \cdot \text{Sen}(\theta)$$

Pero, no fue hasta finales de los años 20 cuando, casi simultáneamente, Davisson y Gemen, así como Thomson y Reid realizaron los primeros experimentos que mostraban que los electrones (al igual que los rayos X) podían ser difractados por sólidos cristalinos. Sin embargo, el primer experimento de LEED fue atribuido a Davisson y Gemen, quienes observaron efectos de difracción en los electrones retrodispersados desde un monocristal de níquel (1).

Una muestra cristalina es bombardeada por un haz de electrones de energía variable (20-200 eV), los electrones son retrodispersados desde la superficie de la muestra hacia un sistema de rejillas situadas alrededor de la pistola de electrones. Los electrones dispersados son de dos tipos: electrones dispersados elásticamente, que forman un conjunto de haces de difracción creando los patrones de LEED y electrones dispersados inelásticamente que, a pesar de representar el 99% del flujo total, no son requeridos. El sistema consta de tres rejillas y los electrones dispersados elásticamente alcanzan la primera rejilla, que está cargada a tierra, y serán acelerados hacia la pantalla fluorescente, la cual tiene un alto potencial positivo (del orden de 5 Kv). Los electrones en los haces de difracción tendrán suficiente energía para excitar fluorescencia en la pantalla dando lugar a un patrón de brillantes puntos de difracción LEED. Por otro lado, las otras dos rejillas, que tienen potencial negativo, se encargan de rechazar los electrones dispersados inelásticamente, que, además, contribuyen al brillo, difundiendo a través de la pantalla (1) (véase figura 4).

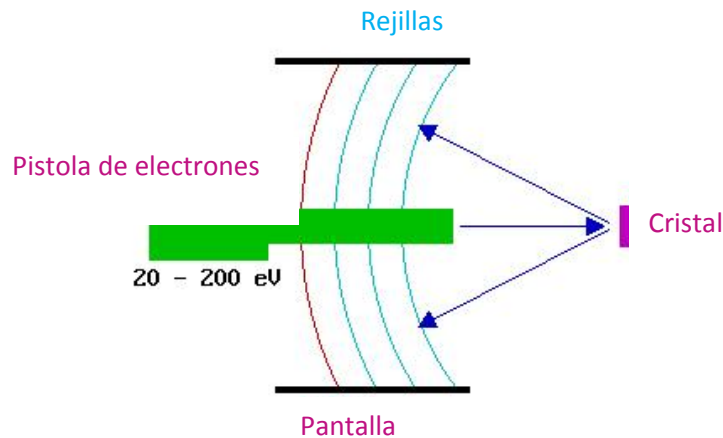


Figura 4. Sistema experimental de difracción de electrones de baja energía.

En la mayoría de los laboratorios la técnica de LEED es empleada para medir la posición de los puntos de la pantalla, obteniéndose información sobre la limpieza y el orden de la superficie objeto de estudio. Dada la alta sensibilidad de la técnica a la contaminación y rugosidad de la superficie, la apariencia de los patrones de LEED, su brillo y la forma de sus puntos es clave para determinar si el proceso de limpieza fue óptimamente realizado. Además puede proporcionarnos información sobre la simetría o reconstrucción de la superficie, o la presencia de imperfecciones, escalones o islas en la misma. También podemos emplear LEED para saber si ciertas moléculas han sido adsorbidas sobre la superficie, de forma ordenada o aleatoria, pudiendo obtener información sobre el tamaño de su celdilla unidad y sobre su orientación con respecto al sustrato.

La técnica de LEED también puede proporcionarnos información cuantitativa, especialmente necesaria en aplicaciones donde se miden transformaciones de fases en la superficie. Para ello se registra la intensidad de los diferentes haces difractados en función del haz incidente (curvas I-V). Estas curvas se comparan con teóricas ya existentes pudiéndose obtener información muy exacta de las posiciones atómicas (1).

Los patrones de LEED son un reflejo del espacio recíproco, la distancia entre puntos adyacentes en el patrón del LEED es inversamente proporcional a la distancia entre los puntos en la correspondiente dirección de la celdilla unidad real de la superficie. El tamaño, nitidez o brillo de los puntos obtenidos nos proporciona información sobre el grado de ordenamiento de la superficie, puntos pequeños, brillantes y con poco fondo son indicativos de una superficie ordenada, limpia y libre de defectos.

2.4 Microscopía de efecto túnel (STM)

En 1986, Binnig y Rohrer, dos científicos de IBM en Zurich, consiguieron el premio Nobel por inventar el STM. El desarrollo de la microscopía de efecto túnel ha sido uno de los avances más importantes en las últimas décadas. Esta técnica ofrece la posibilidad de conseguir resolución atómica, pudiendo llegar a observar átomos individuales de las superficies objeto de estudio, con una preparación mínima de las muestras. Obteniendo importante información sobre procesos de superficie y pudiendo ser empleada en varias ramas de la ciencia, desde procesos biológicos hasta física del estado sólido.

El microscopio de efecto túnel (STM) es un instrumento que emplea una pequeña punta metálica como sonda (el caso ideal sería que el extremo final de la punta fuera un solo átomo). Esta punta recorre la superficie de la muestra, sin tocarla, a una distancia de aproximadamente 5\AA , se aplica una diferencia de potencial del orden de 10^{-2} V y se establece, por efecto túnel, una corriente eléctrica débil (aproximadamente 1 nA) entre la punta y la muestra. Al registrarse esta interacción, la punta reproduce esta información atómica del material obteniéndose una imagen de la topografía de la superficie. La relación establecida entre la corriente túnel y la distancia punta-muestra es la siguiente:

$$j = A.V.N.e^{(-B.\sqrt{\Phi}.d)}$$

j: Corriente túnel.
A y B: Factores de proporción.
V: Voltaje aplicado entre punta y muestra.
N: Densidad de estados ocupados y desocupados en punta y muestra.
 Φ : Función de trabajo del material que se estudia.
d: Distancia punta-muestra.

Como se ha mencionado, el fenómeno clave de esta técnica es el efecto túnel. El efecto túnel es un proceso por el cual una partícula es capaz de atravesar una barrera de potencial mayor que la propia energía cinética de la partícula. Este fenómeno viola las leyes de la mecánica clásica, pero, a escala cuántica, los objetos presentan un comportamiento ondular. En estos rangos de distancia atómica, es posible la aparición de un flujo de corriente por efecto túnel, sin que haya contacto entre la punta y la muestra, permitiendo a los electrones “saltar” la barrera de potencial. Las superficies empleadas deben ser metálicas o semiconductoras, ya que para que los electrones puedan atravesar la barrera de potencial por efecto túnel, deben de estar cerca del nivel de Fermi (1).

Los componentes clave en un microscopio de efecto túnel son: la punta, un sistema que permita posicionar con gran precisión y delicadeza la punta sobre la muestra y moverla en las tres direcciones del espacio (x,y,z) y un ordenador para controlar todo el proceso de la operación, adquirir los datos a tiempo real y procesarlos.

El buen control de la posición de la punta (tanto lateral como vertical) se consigue a través de unas cerámicas piezoeléctricas, sobre las cuales tanto la muestra como la punta son montadas. El piezoeléctrico se deforma al aplicarle una diferencia de potencial haciendo posible que pueda mover la punta que lleva pegada en su extremo con una gran precisión (véase figura 5).

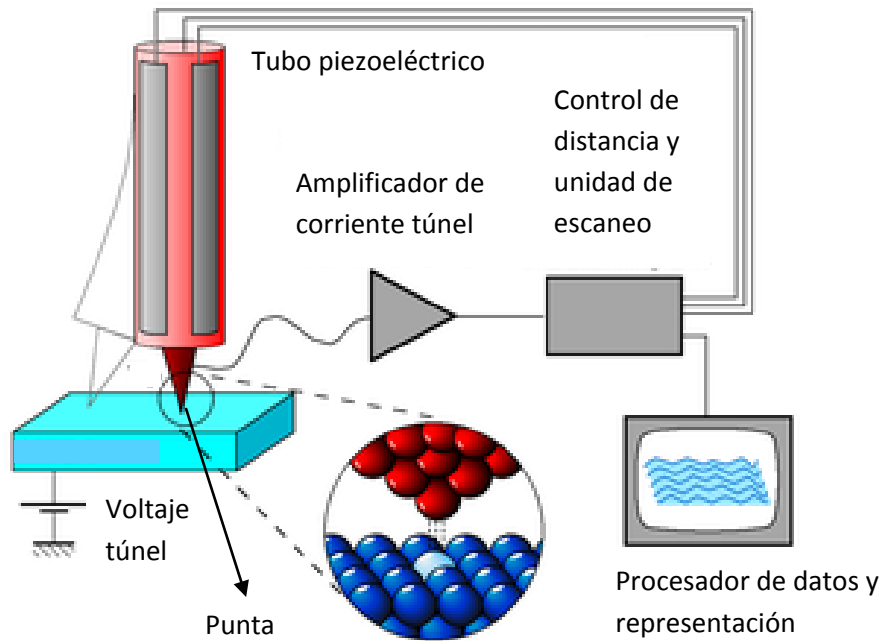


Figura 5. Microscopio de efecto túnel.

Existen dos modos de operación para el microscopio de STM. A corriente constante y a altura constante. En ambos modos, la punta es acercada a la superficie y una diferencia de potencial es aplicada, provocando que la corriente túnel empiece a fluir, monitorizándose a medida que la punta recorre la superficie. En el modo de corriente constante, la punta recorre la superficie y va cambiando de altura, acercándose o alejándose de la superficie para mantener la corriente túnel siempre constante. Al registrarse las variaciones de altura se obtiene la imagen topográfica. Este método es adecuado para superficies no del todo planas y el más empleado para medir. En el modo de altura constante, la punta barre la superficie siempre a la misma distancia y midiendo la corriente túnel generada. Esta corriente aumentará o disminuirá según la punta y la superficie estén más o menos próximas (1).

La punta empleada en el STM puede ser preparada de diversas formas, a través de una preparación mecánica, se corta una pieza de hilo metálico fino (normalmente platino, iridio o wolframio) en un ángulo oblicuo con un par de cortadores de alambre afilados.

Otro método usado supone un ataque electroquímico, un filamento de Wolframio se afila electroquímicamente a partir de una disolución de NaOH, el desgaste químico durante la electrolisis, hace que el hilo se vaya desgastando hasta adquirir la forma adecuada. Este último procedimiento es el más empleado en nuestro laboratorio.

La estructura de la punta juega un papel importante en determinar la imagen del STM. Variaciones en la geometría de la punta puede provocar variaciones de las imágenes obtenidas. Cuando la punta es preparada correctamente, las imágenes de STM son capaces de proporcionarnos información sobre la estructura, enlaces de átomos y moléculas en la superficie (1).

El registro de la variación de la altura de la punta (Z) al desplazarse, en función a sus distancias laterales (X, Y), nos proporciona una imagen de STM. El barrido y la formación de la imagen se realizan línea a línea. Así, la punta, gracias al piezoeléctrico, realiza un recorrido de ida y vuelta en la dirección X, al volver a la posición de partida, se desplaza ligeramente en la posición Y, y vuelve a efectuar otra línea de barrido en la dirección X. Los perfiles registrados constituyen un mapa de los contornos de la superficie. Los cambios locales son mostrados a través de contrastes de color. Las imágenes de STM observadas, corresponden, a la densidad de carga, en torno a los átomos de la superficie objeto de estudio.

2.5 Espectrometría de masas (SM)

La espectrometría de masas es una técnica fundamental de análisis desde 1970. Permite determinar en fase gas, con cantidades muy pequeñas de muestra, el peso molecular de una sustancia y en muchos casos su fórmula molecular. Esta técnica nos permite analizar los gases presentes en las cámaras de UHV, pudiendo realizar un estudio de los

gases que desorben de la muestra durante un proceso de calentamiento, los compuestos que son evaporados y depositados sobre la superficie o los gases generados durante las desgasificaciones. Además, nos permite analizar los compuestos procedentes de la línea de gases y tener un control riguroso de las condiciones de limpieza de las cámaras de UHV. También es de gran utilidad para la detección de posibles fugas durante los procesos de apertura-cierre de las cámaras.

Se basa en la determinación de masas de iones individuales. Analiza los gases a través de su relación masa / carga. En primer lugar se ionizan las moléculas del gas a analizar bombardeándolas con electrones de cierta energía, posteriormente son aceleradas por un campo electromagnético y, finalmente, los iones son dispersados en función de su relación masa / carga (3) (véase figura 6).

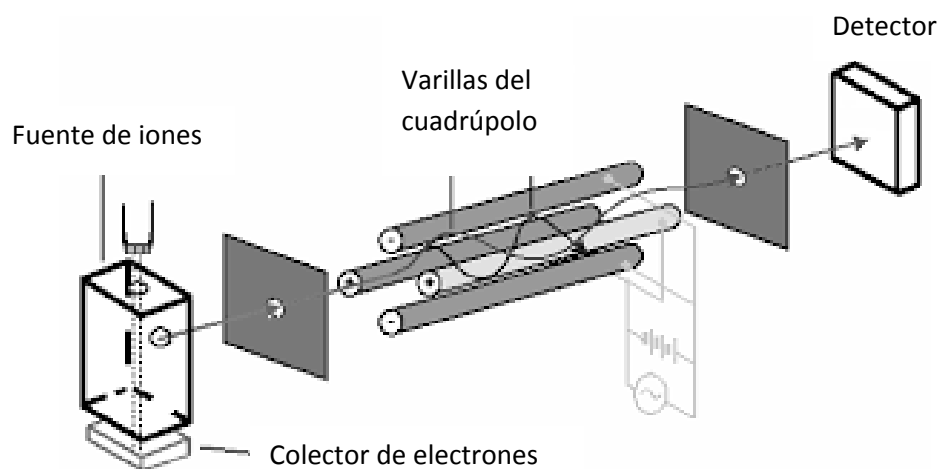


Figura 6. Espectrómetro de masas.

La información obtenida es mostrada en un espectro de masas en el que se representa la masa de cada elemento frente a su intensidad. En este espectro cada pico irá acompañado de otros debido a los diferentes isótopos de los distintos elementos que constituyen el compuesto. La intensidad de cada pico isotópico es proporcional a la abundancia relativa de los isótopos que contribuyen a su existencia. Para tomar el

espectro se puede realizar un análisis de todas las moléculas presentes en el gas residual, midiendo todas las masas o, medir únicamente la masa de interés y ver el aumento de la intensidad de dicha masa con el tiempo, método empleado durante la búsqueda de fugas, en el sistema de UHV, con Helio.

2.6 Equipo experimental

2.6.1 Cámara de UHV

El trabajo presente en esta tesis se basa en el estudio, mediante el empleo de técnicas de microscopia y espectroscopia, de la adsorción de diferentes aminoácidos sobre diversas superficies metálicas y minerales. Para llevar a cabo los experimentos realizados han sido necesarias condiciones de ultra alto vacío, lo que nos ha permitido trabajar en condiciones de alta pureza, en ausencia de oxígeno y carbono atmosférico que pudiera enmascarar nuestros resultados. Varias de las técnicas empleadas, además, requieren condiciones de ultra alto vacío para poder operar.

Nuestro equipo de trabajo espectroscopias y microscopias en superficies (SMS) consiste en dos cámaras de ultra alto vacío, de acero inoxidable, conectadas entre sí, a través de una válvula de guillotina manual. Y de una precámara, o sistema de introducción de muestras, conectada a una de las cámaras principales a través de otra válvula de guillotina. Esta precámara dispone de aperturas directas y de una barra de introducción que nos permite realizar transferencias desde presión atmosférica a la cámara de análisis de UHV, para poder medir las superficies de los experimentos en los que la adsorción de la molécula se hace desde disolución. En la primera cámara disponemos de la instrumentación necesaria para poder realizar el proceso de limpieza de las superficies

(bombardeo iónico/ calentamiento), de un espectrómetro de masas (SM) para analizar los gases presentes en la cámara y testear las posibles fugas que pueden aparecer durante los procesos de apertura-cierre de las cámaras y la técnica de fotoemisión de rayos X (XPS). En la segunda cámara, dos técnicas están presentes, el microscopio de efecto túnel (STM) y la difracción de electrones de baja energía (LEED), además del sistema de evaporación de moléculas (véase figura 7).

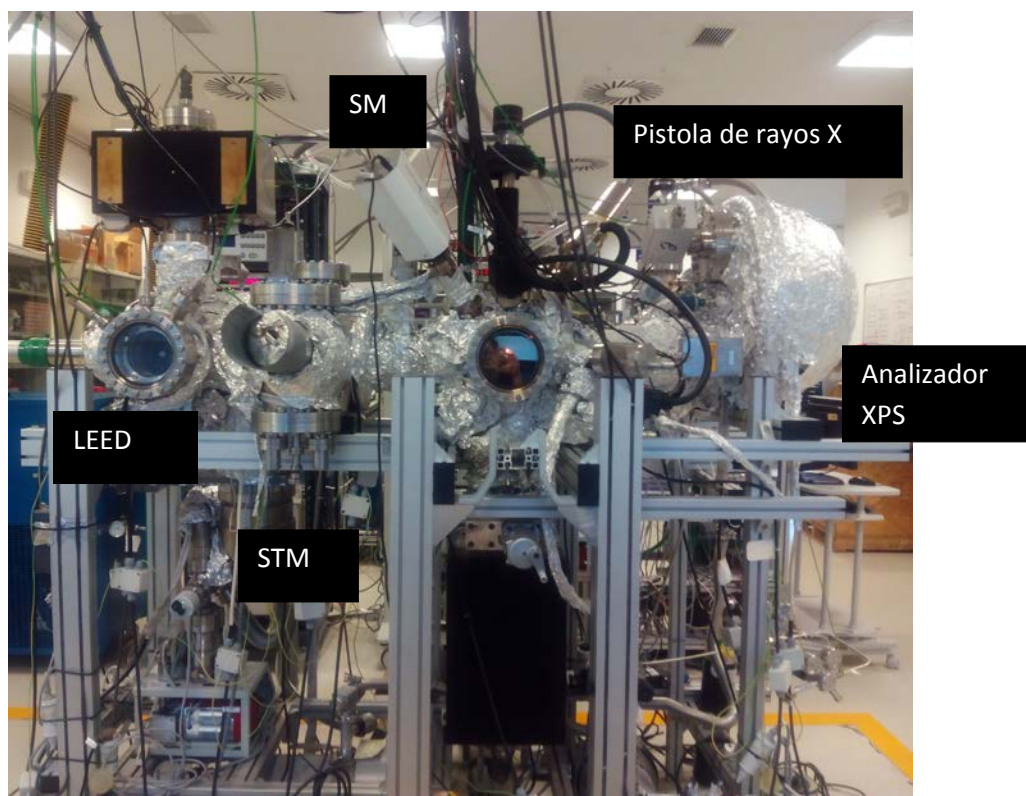


Figura 7. Equipo SMS del laboratorio de simulación de la evolución de ambientes interestelares y planetarios y microscopía del CAB (CSIC-INTA).

Durante todos los experimentos hemos trabajado con una presión del orden de 3×10^{-10} mbar. Para conseguir esta presión, nuestras cámaras disponen de varias bombas primarias y secundarias distribuidas como redacto a continuación. En la precámara disponemos de una bomba Scroll y una bomba turbo molecular pequeña, ambas bombas nos permiten llegar a una presión del orden de 10^{-8} mbar. Esta misma bomba scroll

también bombea la línea de gases cuando es necesario. En la cámara del XPS disponemos de una bomba iónica y una bomba de sublimación de titanio (TSP). Y en la cámara del STM y LEED disponemos de una bomba scroll, una bomba turbo molecular, una bomba iónica y una bomba Getter (NEG). Con todas ellas logramos alcanzar condiciones de ultra alto vacío ($P < 1 \times 10^{-10}$ mbar). La zona del evaporador, a su vez, es bombeada a través de un grupo de bombeo independiente que dispone de una bomba de membrana y una bomba turbomolecular, alcanzando, en esta zona, una presión del orden de 10^{-9} mbar (véase figura 8).

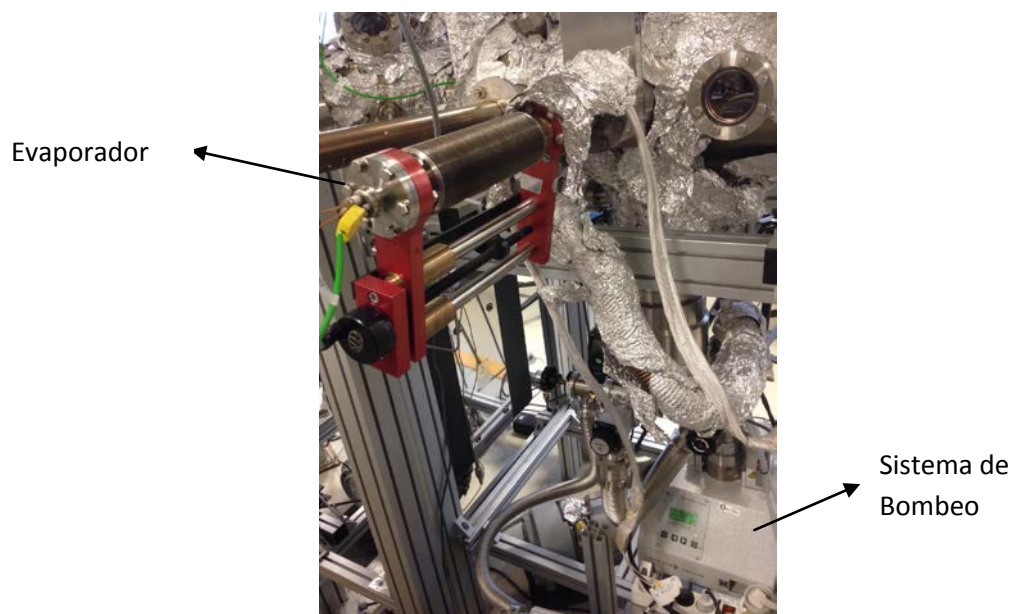


Figura 8. Sistema de dosificación de moléculas en SMS del laboratorio de simulación de la evolución de ambientes interestelares y planetarios y microscopía del CAB (CSIC-INTA).

Entendemos por vacío un espacio en el cual la presión del gas es baja comparada con la presión atmosférica. El rango de presiones de vacío es, por tanto, muy amplio. Pudiendo ir desde un vacío medio (de 1 a 10^{-3} mbar), a un alto vacío (de 10^{-3} a 10^{-8} mbar) y hasta un ultra alto vacío (de 10^{-8} a 10^{-12} mbar). Un alto vacío es necesario en los procesos de limpieza de la superficie (bombardeo iónico / calentamiento) y para el uso de diversas

técnicas como las empleadas durante la realización de esta tesis. Un ultra alto vacío es ampliamente usado en aplicaciones para investigación donde es importante que las superficies estén libres de contaminación por captura de moléculas de los gases residuales durante un periodo de tiempo suficiente que nos permita realizar nuestros experimentos (4).

La función de una bomba de vacío es retirar el gas de un volumen designado de modo que la presión se reduzca al valor adecuado para los experimentos a realizar. Dada la gran variedad de aplicaciones existentes de la tecnología de vacío un gran rango de bombas han sido diseñadas (4).

Para alcanzar un vacío medio se usan bombas mecánicas. Para conseguir un alto vacío, bombas turbo moleculares combinadas con las mecánicas y para llegar a ultra alto vacío, bombas iónicas deben ser añadidas (4).

En nuestras cámaras las bombas mecánicas están situadas en la parte inferior de la cámara, las turbo moleculares se sitúan en contacto directo a la parte inferior de las cámaras y en serie con las mecánicas para que éstas últimas sirvan de apoyo en la extracción del aire y les proporcionen un vacío previo, necesario para su funcionamiento. Finalmente, en la cámara del XPS disponemos de una bomba iónica y una TSP unidas directamente a la cámara por su parte inferior y en la cámara del LEED y el STM disponemos de una bomba iónica y una NEG unidas directamente a la cámara por su parte superior. Las iónicas dispones de válvulas, que nos permiten aislarlas, durante los procesos de bombardeo iónico, evitando su contaminación.

2.6.2 Montaje de la muestra

Los monocristales han sido montados en un portamuestras de tamaño adecuado al horno del manipulador donde debe ser colocado. Se trata de un portamuestras de forma cuadrada, de aluminio. Dispone de cuatro pestañas o hilo de tántalo para fijar la muestra y evitar su caída durante las manipulaciones (véase figura 9). A su vez, dispone de un ojal a través del cual se agarra la pinza tanto de la precámara como de las cámaras principales, permitiéndonos hacer las transferencias. Durante los procesos de limpieza de la muestra, realizados dentro de la cámara, ha sido calentado a temperaturas superiores a 450 °C, sin sufrir ningún daño. El calentamiento ha sido realizado por el horno situado en el manipulador y la temperatura controlada por un pirómetro infrarrojo colocado en el exterior de la cámara de UHV y que mide la temperatura a través de una ventana.



Figura 9. Portamuestras utilizado en los experimentos, superficie de Cu (110).

2.6.3 Línea de gases

A través de la línea de gases podemos disponer del gas argón necesario para el proceso de bombardeo iónico. Para llenar de argón la línea de gases, en primer lugar, se bombea la línea a través de la bomba Scroll que también está conectada a la precámara (véase figura 10). Una vez bombeada, se cierra la válvula que comunica la línea con la bomba Scroll y se llena de argón la línea de gases. El procedimiento se puede realizar un par de veces para la limpieza de la línea. Finalmente, la línea de gases se deja llena de argón, asegurándonos que su presión está en el orden de 10^1 - 10^2 mbar.

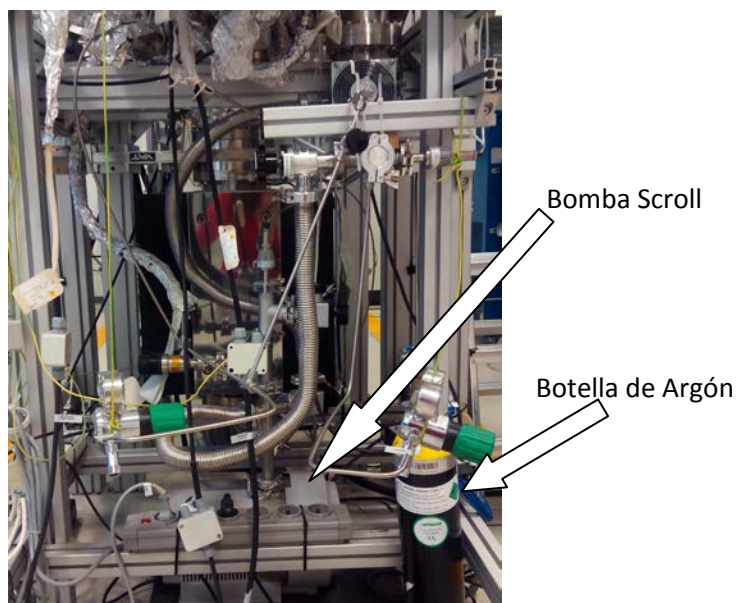


Figura 10. Foto de la línea de gases.

2.6.4 Evaporador de moléculas

Son empleados para depositar, sublimando, las moléculas de estudio sobre las superficies. La molécula se introduce en el evaporador en estado sólido.

En nuestros experimentos hemos empleado un evaporador hecho a mano formado por un sobre de tántalo donde se introduce la molécula objeto de estudio. Este sobre va soldado a dos barras de cobre a través de las cuales pasa corriente que aumentará la temperatura del tántalo haciendo posible la evaporación de la molécula. La temperatura a su vez es controlada por un termopar *Chromel-Alumen* soldado también al sobre de tántalo. En los experimentos de co-adsorción de dos aminoácidos sobre la misma superficie se empleó un evaporador doble formado por dos sistemas similares al evaporador individual (véase figura 11).



Figura 11. *Evaporadores de moléculas empleados en el laboratorio del centro de Astrobiología. (Izquierda). Evaporador con un único sobre de tantalio para la evaporación de una única molécula. (Derecha). Evaporador con dos sobres de tantalio empleado para evaporar dos moléculas sobre la misma superficie).*

Este sistema es muy limpio y nos permite evaporar un gran número de moléculas dependiendo de la corriente que se aplique. El sobre se rellena con la molécula y el sistema de evaporación es introducido en la cámara del STM y el LEED durante la evaporación, a través de una válvula que aísla la cámara principal del sistema de bombeo del dosificador de moléculas formado por una bomba de membrana y una bomba turbo molecular.

Previo a la evaporación de la molécula, se debe realizar una desgasificación de la misma. Para ello, se calienta el sobre de tantalio a una temperatura inferior a la de evaporación de la molécula, eliminándose el agua y las posibles impurezas que pudiera haber presentes en la molécula o en el evaporador.

Las moléculas empleadas en esta tesis fueron las siguientes (véase figura 12):

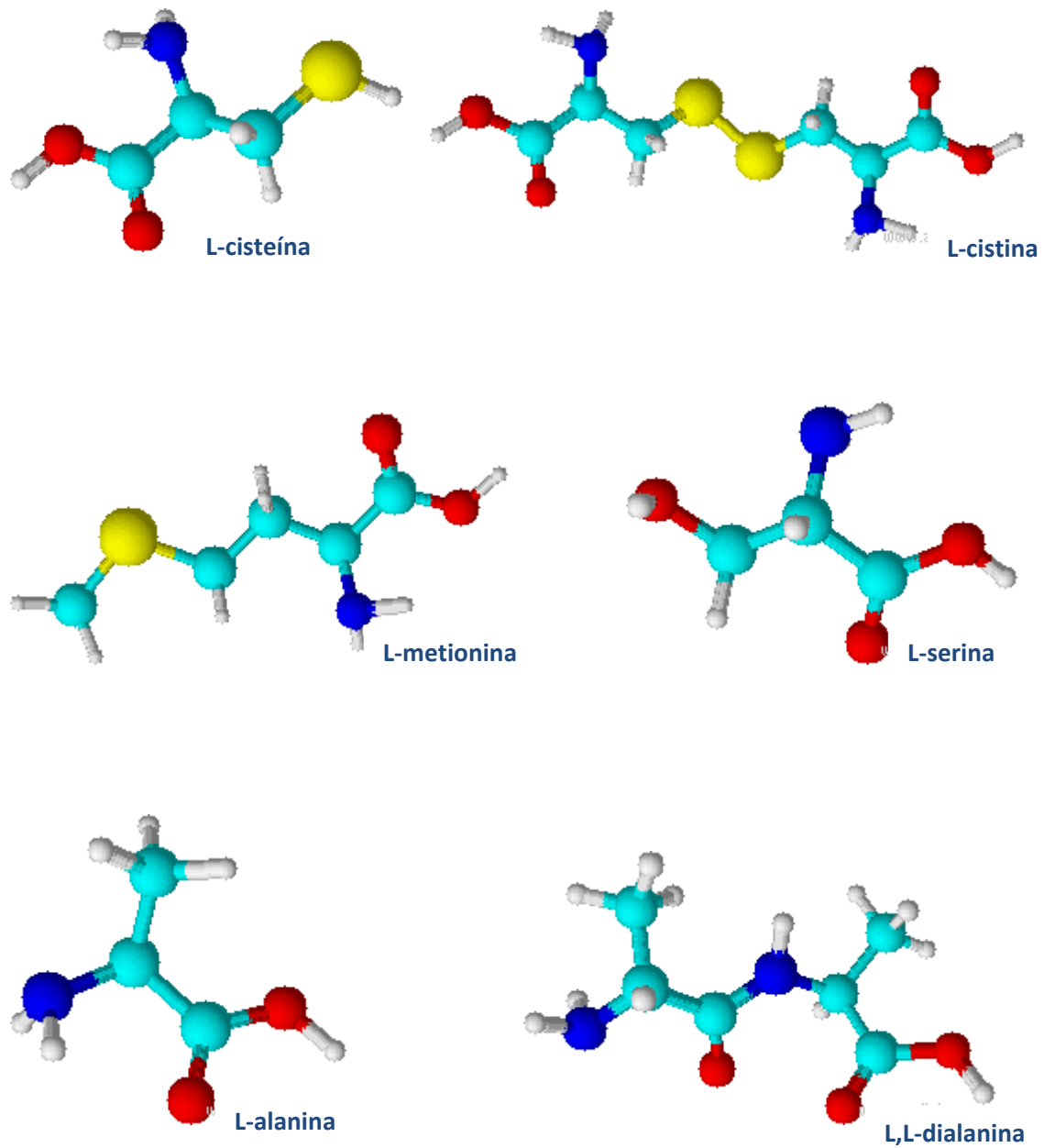


Figura 12. Moléculas empleadas: *L*-cisteína, *L*-cistina, *L*-metionina, *L*-serina, *L*-alanina, *L,L*-dialanina.

2.6.5 Puesta a punto de la cámara de UHV. Horneo y desgasificaciones

La apertura de la cámara, además de la reparación de la parte dañada, requiere, una vez cerrada, para volver a estar operativa, un largo proceso de bombeo (hasta alcanzar de nuevo una presión de 10^{-8} mbar), horneo (48 horas) y desgasificaciones de todos los filamentos, así como la búsqueda de posibles fugas.

Para el procedimiento de apertura, tanto de una cámara como de ambas, en primer lugar, se cierran las válvulas de las iónicas, las cuales se van a dejar en vacío. Después se apagan todos los filamentos y electrónicas de la cámara que queremos abrir. Si la cámara que abrimos es la del XPS se romperá el vacío a través de la precámara. Si la cámara es la del STM el vacío se romperá a través de la bomba turbomolecular que hay situada en la parte inferior. Una vez el sistema está a presión atmosférica, reparamos la parte que este en mal funcionamiento y que ha sido causante de la apertura. Una vez la cámara está cerrada se procede a su bombeo. Se deja durante varias horas hasta que la presión este en torno a 10^{-7} mbar. Cuando la presión sea adecuada se dejan bombeando ambas cámaras durante la noche. Al día siguiente, la presión esperada debería ser del orden de 10^{-8} mbar. Si la presión no es la deseada se buscan fugas. Para la detección de fugas, si la presión de las cámaras es elevada, se empleará acetona, si es baja, gas helio. El paso siguiente sería realizar un horneo de todo el equipo para eliminar el vapor de agua que haya podido entrar a las campanas del medio exterior y se haya quedado adsorbido en sus paredes. Antes del horneo hay que asegurarse de que las bombas iónicas estén abiertas, además se debe controlar rigurosamente la temperatura de cada parte de las cámaras con termopares colocados en distintos puntos de las mismas y, previo al horneo, todas las partes sensibles (flexibles, conectores, cerámicas, ventanas...) deben ser protegidas con papel de aluminio. El horneo se realiza con cintas calentadoras de fibra de vidrio y toda la cámara se recubre con papel de aluminio para

procurar que el calentamiento sea lo más homogéneo posible. Además, la cámara del XPS también dispone de una lámpara de calentamiento (bombillas lineales halógenas de potencia regulable). Durante el proceso de horneado la presión de las cámaras subirá a 10^{-6} mbar y según el vapor de agua de las paredes vaya desapareciendo irá disminuyendo hasta entrar, de nuevo, en valores de 10^{-8} mbar. El proceso de horneado suele durar 48 horas. Tras realizar el horneado se comenzaría con el proceso de desgasificación.

Durante la desgasificación hay que seguir un orden concreto, ya que hay filamentos que deben ser desgasificados en caliente y otros en frío.

- 1) Desgasificar la bomba NEG.
- 2) Se esperan aproximadamente dos horas, hasta que la temperatura de todo el equipo este en torno a 80 °C.
- 3) Desgasificar Bayer Alpert.
- 4) Desgasificar TSP
- 5) Desgasificar cuádruplo de masas.
- 6) Desgasificar cañón de iones.
- 7) Encender las bombas iónicas.
- 8) Desgasificar fuente de rayos X.
- 9) Desgasificar LEED.
- 10) Desgasificar filamento del horno.
- 11) Desgasificar muestra.

Tras todos los procesos de desgasificaciones la presión debería estar en torno a 10^{-10} mbar y las cámaras operativas para comenzar los experimentos.

2.6.6 Procedimiento experimental

La mayoría de los experimentos presentados en esta tesis han sido realizados en condiciones de ultra alto vacío. Pero, para poder llevar a cabo un estudio comparativo, algunos experimentos, también fueron realizados adsorbiendo la molécula desde disolución.

En cuanto a los experimentos desde disolución, fueron realizados para una superficie de pirita policristalina. La superficie fue limpiada por inmersión tres veces en una disolución de H_2SO_4 1M y posteriormente aclarada con agua MiliQ y secada con aire comprimido. Posteriormente, dicha superficie, fue inmersa en 10 ml de una disolución 1mM de cistina, durante 25 minutos a 65°C y con agitación. El valor del pH de la disolución fue de 6. Tras el paso de inmovilización del aminoácido sobre la superficie, esta fue aclarada con agua MiliQ y secada con aire comprimido. Posteriormente fue introducida en la cámara de UHV a través de la precámara para realizarla el correspondiente análisis de XPS.

El resto de experimentos de esta tesis fueron realizados adsorbiendo la molécula de estudio desde condiciones de ultra alto vacío.

Los estudios de adsorción molecular se han realizado sobre tres superficies monocristalinas: Cu (110), Au (111) y FeS_2 (100).

Previo a la adsorción del aminoácido, todas las superficies se sometieron a varios ciclos de limpieza (bombardeo iónico y calentamiento), cuya intensidad y temperatura fue dependiente de cada superficie.

El proceso de limpieza de la superficie afecta solo a las capas más externas del material y consiste en eliminar la contaminación (especialmente carbono y oxígeno procedente

del exterior) que pueda haber presente en la muestra. Se trata de ciclos de bombardeo iónico (sputtering) y calentamiento (annealing). El número de ciclos que se realicen dependerá del estado inicial de la superficie, del tipo de superficie objeto de estudio, de si la contaminación solo procede de la atmósfera exterior o si es debida a moléculas previamente depositadas sobre ella. También dependerá de si únicamente queremos eliminar los contaminantes o también tratamos de conseguir los patrones de difracción.

El bombardeo iónico consiste en bombardear la muestra con átomos de un gas inerte (en nuestro caso Argón) que se introduce en la campana a través de una válvula de fugas manual a una presión entre 1×10^{-5} mbar y 5×10^{-5} mbar y es ionizado a través de un cañón de iones aplicando voltajes entre 500-1500 eV. Se utilizan estos gases por ser inertes (no reaccionaran con nuestra muestra) y fáciles de eliminar de las cámaras mediante bombeo. Los átomos producidos chocaran con la superficie a altas energías y arrancaran las primeras capas de la muestra, limpiando así la superficie y eliminando los contaminantes e impurezas presentes en la misma.

Tras el bombardeo es necesario realizar un proceso de calentamiento de la muestra para que los átomos de la misma se reordenen y eliminar parte de los átomos de argón que hayan podido penetrar en el material. El horno se encuentra en el manipulador presente en la cámara de XPS y la temperatura es medida a través de un pirómetro.

Para la superficie de Pirita (100) los bombardeos iónicos realizados no fueron mayores de 15 minutos y 800 eV, empezando por esta intensidad y disminuyendo hasta 500eV en los ciclos consecutivos. Los calentamientos nunca fueron superiores a 340°C para evitar la descomposición térmica de la superficie. Se realizó un estudio de la superficie de pirita (100) en función de los tiempos de calentamiento (10 minutos, 5 horas, 10 horas).

En cuanto a las superficies metálicas se realizaron ciclos de bombardeo y calentamiento de intensidad y temperatura superiores. Para la superficie de Au (111) la intensidad del bombardeo iónico fue de 1500 eV y el proceso de calentamiento no superó los 520°C de temperatura. Para la superficie de Cu (110), el bombardeo iónico también fue de 1500 eV y el calentamiento de 500°C.

La limpieza de todas las superficies fue rigurosamente comprobada mediante XPS y LEED.

2.7 Grandes instalaciones. Radiación sincrotrón

2.7.1 Radiación sincrotrón

Un sincrotrón es una gran instalación capaz de producir radiación electromagnética (luz) de alta intensidad, polarizada (linealmente en el plano de la órbita de los electrones y circularmente por encima o por debajo de dicho plano), pulsada y con longitudes de onda que comprenden desde los rayos X hasta la luz infrarroja. Su alta intensidad permite realizar experimentos en tiempos muy cortos, con una extraordinaria relación señal-ruido y alta resolución en energía. De este modo es posible observar procesos en tiempo real como transiciones de fase o transformaciones químicas o estructurales. La polarización lineal se emplea para sistemas con anisotropía axial, obteniendo información sobre las propiedades del material en función de su orientación. La luz circularmente polarizada nos permite realizar experimentos espectroscópicos sobre materiales magnéticos o para realizar difracción magnética y obtener información estructural y magnética simultáneamente.

En un sincrotrón los electrones son acelerados hasta velocidades muy cercanas a la velocidad de la luz y son inyectados en un anillo de almacenamiento, de varios centenares de metros de diámetro, que se encuentra en ultra alto vacío para eliminar todas las moléculas de gas residual y evitar que los paquetes de electrones se desvíen de su trayectoria colisionando con ellas. A velocidades cercanas a la velocidad de la luz es necesario considerar la teoría de la Relatividad y aplicar las transformaciones de Lorentz.

$$\vec{F} = q \cdot (\vec{E} + \vec{v} \times \vec{B})$$

F: Fuerza que sufre la partícula cargada dentro del campo electromagnético.

q: carga de la partícula.

E: Valor del campo eléctrico.

B: Campo magnético.

v: Velocidad de la partícula.

Alrededor del anillo en el que giran los electrones se sitúan diferentes laboratorios (véase figura 13). El anillo está rodeado por una pared de hormigón con varias aperturas por las que sale la luz para ser empleada por dichos laboratorios (líneas de luz), cada línea está especializada en una técnica experimental determinada y a través de monocromadores seleccionan la longitud de onda necesaria para realizar sus experimentos.

La luz sincrotrón permite estudiar la estructura atómica y las propiedades de sus materiales y se emplea en campos como cristalografía de proteínas, física, química, farmacología, biología, nanociencia, ciencia de materiales, caracterización de las propiedades magnéticas y electrónicas de los materiales, litografía aplicada a la industria o medicina (5).

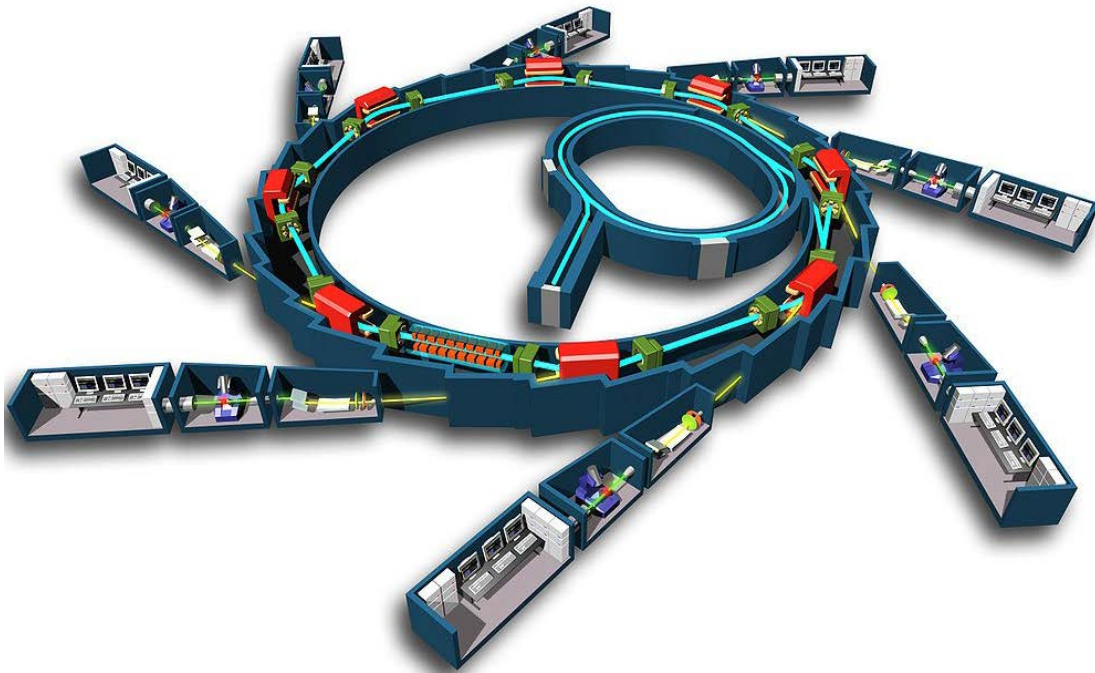


Figura 13. Esquema de un sincrotrón.

2.7.2 Sincrotrón ALBA. Línea BL-24. Circe. Espectroscopia de fotoemisión cercana a presiones ambientales (NAPP)

El sincrotrón de luz ALBA es una infraestructura científica de tercera generación. Se trata de un complejo de aceleradores de electrones que producen luz sincrotrón. Está compuesto por un acelerador lineal (LINAC), que acelera los electrones hasta 100 MeV, un anillo de propulsión de baja emitancia y máxima potencia, donde los electrones son acelerados hasta 3,0 GeV, y un anillo de almacenamiento, donde los electrones se almacenan y emiten la radiación sincrotrón que se envía a las diferentes líneas de luz. El anillo de almacenamiento funciona en modo de inyecciones continuas de menos de 1mA, manteniendo constante la corriente en el anillo de almacenamiento lo que favorece que la carga de calor en las líneas de luz sea constante y no haya variaciones térmicas que puedan alterar las mediciones en modo *top-up*. Tiene un perímetro de 270

metros y actualmente dispone de siete líneas de luz operativas que comprenden tanto los rayos X blandos como los rayos X duros.

Los aceleradores del sincrotrón ALBA disponen de varios tipos de electroimanes (imanes dipolares, cuadrupolares, de funciones combinadas y sextupolares) que sirven para guiar y enfocar los haces de electrones a lo largo de su trayectoria. Además dispone de dispositivos de inserción que hacen que la curva de electrones tenga un radio específico para producir luz con energía o características específicas (polarización circular, divergencia, alta intensidad...) en función del tipo de experimento a realizar.

Cada línea de luz dispone de un obturador de línea que comunica la cámara de vacío por la cual circulan los electrones con la línea de luz. En dicho obturador hay algunos equipos específicos como rendijas, máscaras y obturadores de fotones que también sirven para condicionar el haz de luz en función de los experimentos a realizar.

La línea de luz empleada para nuestros experimentos ha sido la BL24-Circe de espectroscopia y microscopia de fotoemisión (véase figura 14). Se trata de una línea de luz de polarización variable de rayos X blandos para realizar experimentos avanzados de fotoemisión.

La línea Circe dispone de un monocromador de rejilla plana. A través de un espejo plano y tres rejillas de difracción se cubre un rango completo de energía de 100 a 2000 eV que es compartida por dos instrumentaciones independientes: PEEM (microscopía electrónica de fotoemisión) y NAPP (estudios de fotoemisión a presiones cercanas a la ambiental). Un par de espejos dirige el haz a una u otra cámara de medida.

Las especificaciones técnicas de esta línea son las siguientes:

Energía fotón: 100-2000eV

Polarización: Variable

Energía de resolución: ≈ 8000

Flujo de fotones: $\approx 10^{13}$ ph/s.

Tamaño del punto de haz en posición PEEM (VxH) (FWHM): Variable, min $3,2 \times 36 \mu\text{m}^2$.

Tamaño del punto de haz en posición NAPP (VxH) (FWHM): $\approx 20 \times 100 \mu\text{m}^2$.

La cámara empleada para nuestros experimentos fue NAPP.

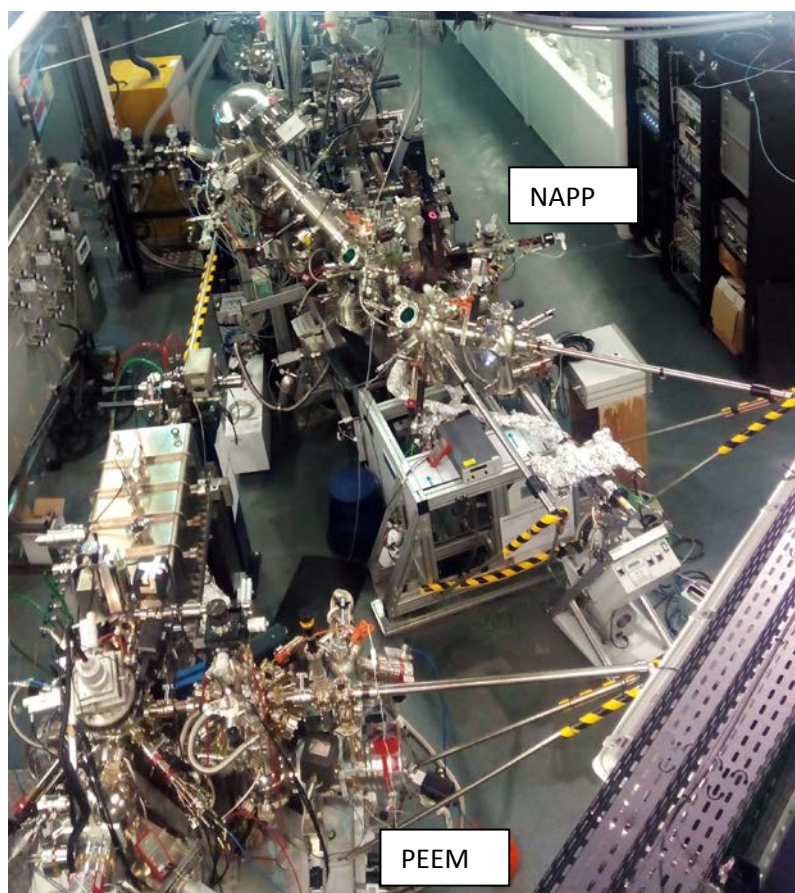


Figura 14. *Sincrotrón ALBA. Línea BL-24. Circe. Espectroscopia de fotoemisión y microscopía.*

NAPP (Near-Ambient Pressure Photoemission) es una cámara de ultra alto vacío equipada con un analizador de energía de electrones semiesférico para espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (Phoibos NAP 150 de SPECS) que es capaz de operar en

un rango de presiones desde UHV hasta 25 mbar gracias a diferentes sistemas de bombas que aseguran una diferencia de presión de 10^9 entre el detector y la muestra. Por lo tanto, además de las capacidades habituales que posee un sistema XPS convencional, es posible estudiar interfases gas-sólido y gas-líquido, permitiendo aplicaciones diversas como la caracterización “in-situ” de catalizadores heterogéneos, procesos de corrosión, humectantes, pilas de combustible, energía fotovoltaica y simulación de atmósfera oxidante en nuestro caso (6).

Dispone de tres cámaras. Una de introducción de la muestra, otra de preparación (donde se realizaron los ciclos de bombardeo con iones de Ar^+ y calentamiento y el proceso de evaporación del aminoácido sobre la superficie) y una última de medida. En la cámara de medida se pueden introducir gases a través de un sistema de dosificación. En los experimentos expuestos en esta tesis se midió el sistema L-cistina / pirita (100) tanto en UHV como en atmósfera de O_2 1mbar.

REFERENCIAS

1. J.C. Vickerman. *Surface Analysis. The principal techniques*, **2009**.
2. J. F. Watts, J. Wolstenholme. *An introduction to Surface analysis by XPS and AES*, **2003**.
3. M.C. Gutiérrez, M. Droguett. *Identificación de compuestos volátiles por CG-MS*, **2002**.
4. A.Chambers. *Modern Vacuum Physics*, **2005**.
5. A. Gutierrez, J.A. Martín-Gago, S. Ferrer. *Apuntes de ciencia y tecnología*, **2004**, número 12, 37.
6. <http://www.cells.es/es/>

CAPÍTULO 3

AUTO-ORGANIZACIÓN DE AMINOÁCIDOS EN SUPERFICIES METÁLICAS: Cu (110) y Au (111)

3. AUTO-ORGANIZACIÓN DE AMINOÁCIDOS EN SUPERFICIES METÁLICAS: Cu (110) y Au (111)

La adsorción de aminoácidos sobre superficies metálicas ha sido ampliamente estudiada por diversos grupos de investigación, empleando diferentes técnicas de ciencia de superficies: espectroscopia de absorción de reflexión infrarroja (RAIRS), difracción de electrones de baja energía (LEED), espectroscopia de fotoemisión de rayos X (XPS), microscopia de efecto túnel (STM), en condiciones de ultra alto vacío (UHV), mediante deposición del aminoácido desde fase gas o la inmovilización del mismo sobre la superficie desde disolución (1-13). El modo por el cual las moléculas interactúan con la superficie es crucial en campos como biocatálisis, biomateriales, biosensores o biocompatibilidad de tejidos (14-15). Hay diversos estudios sobre la adsorción de aminoácidos sencillos (glicina, alanina o lisina) sobre varias caras cristalinas de diferentes superficies metálicas (16-18), así como investigaciones sobre aminoácidos que contienen el grupo azufre como parte de su estructura química (metionina y cisteína) y han sido depositados sobre superficies de Cu, Au o Ag (1, 19-22).

En este capítulo hemos estudiado la adsorción de aminoácidos sobre superficies metálicas monocristalinas (Cu (110) y Au (111)) desde condiciones de UHV y mediante el uso de técnicas espectroscópicas y microscópicas en superficie.

3.1 Auto-organización de L-cisteína sobre Cu (110)

Los estudios descritos en este apartado se basan en la deposición de L-cisteína desde fase gas sobre la superficie de Cu (110). L-cisteína es un aminoácido cuyo estudio presenta gran importancia ya que dispone de un grupo azufre (véase figura 1), el cual,

tiene gran afinidad por los metales nobles (plata, oro y cobre), enlazando covalentemente a ellos como tiolato (S---Au / S---Cu) y convirtiéndose en un importante punto de anclaje de péptidos más largos (22).

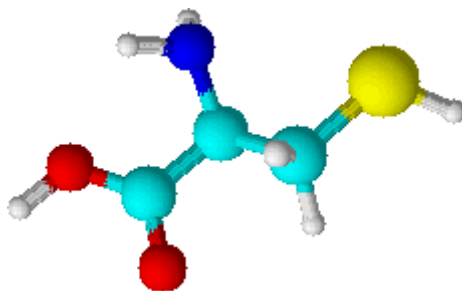


Figura 1. Fórmula de la estructura química de la molécula *L*-cisteína.

Las técnicas empleadas para este estudio han sido XPS, LEED y STM. Los análisis XPS y LEED fueron realizados en el centro de Astrobiología (CAB), obteniendo interesantes patrones de difracción e imágenes STM a resolución atómica durante mi estancia breve doctoral en el Surface Science Research Centre de la Universidad de Liverpool (Reino Unido). La combinación de todas estas técnicas nos ha proporcionado importante información sobre la forma química de la molécula adsorbida, la naturaleza de los grupos químicos involucrados en la adsorción y la auto-organización de dichos aminoácidos sobre la superficie, proponiendo un posible modelo a escala molecular para dicho proceso. Se estudian, además, las diferencias observadas entre una monocapa de molécula sobre la superficie y una multicapa, es decir, los diferentes grados de recubrimiento molecular y estudios de desorción molecular mediante temperatura para observar la fortaleza y estabilidad de la interacción del sistema aminoácido-superficie, cuando se incrementa la temperatura de la superficie produciéndose el proceso de desorción molecular.

Los análisis XPS, los patrones de LEED e imágenes STM de la muestra de Cu (110) fueron realizados después de la adsorción de L-cisteína desde fase gas (temperatura de evaporación de L-cisteína 112 °C) sobre una superficie de Cu (110) limpia tras haber sido sometida a diversos ciclos de limpieza mediante bombardeo iónico (Ar^+) y posterior calentamiento de la superficie (véase apartado 2.6.6 del capítulo de técnicas y métodos experimentales) y caracterizada por las técnicas ya mencionadas. El sistema L-cisteína / Cu (110) fue caracterizado mediante XPS, LEED y STM a temperatura ambiente y después de calentar el sistema a 110°C.

Para los análisis de los espectros XPS, la energía de enlace fue calibrada a 932,7 eV para el pico del Cu $2p_{3/2}$. Las imágenes de STM fueron tomadas a temperatura ambiente usando un microscopio Omicron a temperatura ambiente, fueron medidas en modo de corriente constante (modo topográfico) usando una punta de wolframio, con un valor de voltaje bias-1,5 V y una corriente túnel de 0,1-0,4 nA y fueron analizadas usando el software WSxM.

3.1.1 Estudio de una monocapa de L-cisteína sobre Cu (110)

Los análisis XPS de una monocapa de L-cisteína adsorbida sobre una superficie de Cu (110) muestran en la región de C 1s tres componentes. La primera fue identificada a una energía de enlace de 284,3 eV correspondiente al grupo C-S; la segunda fue observada a 285,8 eV, la cual es asignada al grupo C-N; y la tercera componente fue observada a 288,3 eV asignada a los grupos COOH / COO⁻. En la región de O 1s una solo componente es observada a 531,7eV, correspondiente al grupo carboxilato (COO⁻). De igual manera, en la región de N 1s, solo se identifica una componente a 400,0 eV, asignándose al grupo amino sin desprotonar (NH₂). En la región de S $2p_{3/2}$, aparece una

componente a una energía de enlace de 161,6 eV correspondiendo al grupo SH desprotonado (S^-) (véase figura 2) (1). Por tanto, cuando el recubrimiento molecular es bajo (menos de una monocapa), los resultados obtenidos por XPS, nos permiten confirmar la existencia de una única forma química sobre la superficie (anión). Además, la componente de S observada (S^-), puede ser indicativa de que la interacción de la molécula con la superficie se esté dando a través del átomo de azufre ($S---Cu$).

En cuanto a los ratios de las intensidades de las señales de XPS, $C/O \approx 1,5$, $N/O \approx 0,2$ y $S/O \approx 0,2$ estarían en buen acuerdo con la estequiometría molecular de la cisteína $C/O \approx 1,5$, $N/O \approx 0,5$ y $S/O \approx 0,5$.

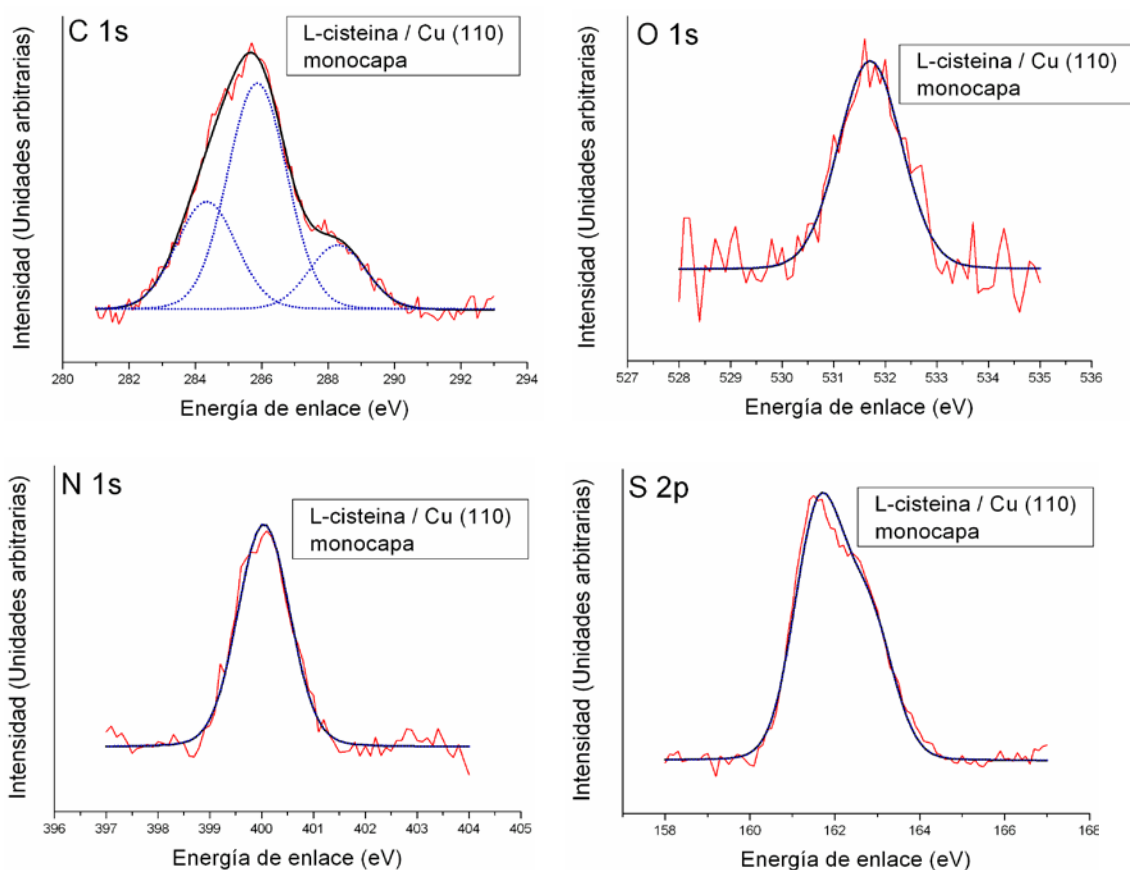


Figura 2. Espectros XPS de las regiones de C 1s, O 1s, N 1s y S 2p de una monocapa de L-cisteína adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Cu (110).

Respecto a los estudios mediante LEED, cuando una monocapa de molécula (L-cisteína) es adsorbida sobre la superficie de Cu (110) a temperatura ambiente, no muestra patrones de difracción, observándose, únicamente, el patrón de difracción de la superficie de cobre limpia (1x1).

En cuanto a las imágenes STM, cuando una monocapa de L-cisteína es depositada sobre Cu (110) a temperatura ambiente, son imágenes difusas, lo que podría sugerir que las moléculas se encuentran difundiendo y además no adquieren un orden específico. Pero, tras dejar evolucionar el sistema L-cisteína / Cu (110) durante 12 h, se volvieron a tomar las imágenes STM del mismo. Estas imágenes muestran que la molécula está difundiendo pero comienza a observarse la posible formación de dímeros. La distancia de los puntos brillantes presentes en la imagen es de 8,56Å que correspondería a dos moléculas de L-cisteína (véase figura 3). Estos dímeros podrían estar interaccionando a través del grupo NH₂ de cada molécula a través de puentes de hidrógeno o interacciones electrostáticas y, anclándose a la superficie, a través del grupo azufre y el grupo carboxilato que, como observamos en los análisis XPS, se encuentran desprotonados (S⁻ y COO⁻). No obstante, el ordenamiento de la molécula no es a largo alcance, sino a corto alcance, en estructuras circulares que podrían ser dímeros, por lo que, tras el tiempo mencionado de difusión (12h), no observamos patrón de LEED debido a estructuras moleculares.

Superficie de cobre (110) + L-cisteína

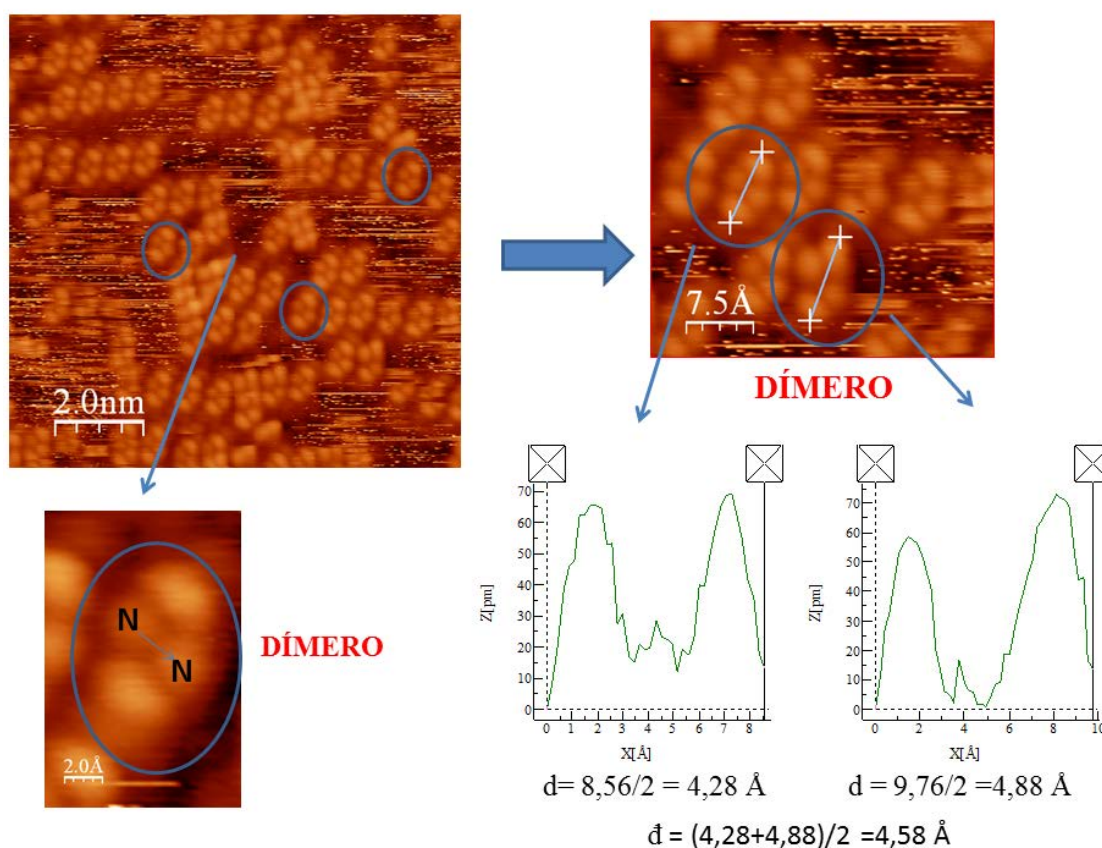


Figura 3. Imágenes y análisis del sistema superficie L-cisteína / Cu (110) tras proceso de difusión durante la noche.

3.1.2 Estudio de multicapas de L-cisteína sobre Cu (110)

El análisis XPS de la adsorción de multicapas de L-cisteína sobre la superficie de Cu (110) muestra: el pico de C1s con tres contribuciones a: 285,2, 286,6 y 288,8 eV que pueden ser asignadas al C-S, C-N y a los grupos $\text{COO}^- / \text{COOH}$ respectivamente. En la región de oxígeno dos componentes son observadas: la primera, mayoritaria, (64%) a 531,7 eV, asignada a los dos oxígenos del grupo carboxilato (COO^-) y la segunda a 534,0 eV (36%) debida a los oxígenos del grupo ácido sin desprotonar (COOH). Los porcentajes de las áreas calculados indican que el grupo ácido se encuentra

mayoritariamente desprotonado. Respecto a la región de nitrógeno dos componentes son también observadas: la componente principal a 399,9 eV, con un área total equivalente al 61%, correspondería al grupo NH_2 , mientras que la segunda componente a 401,8 eV (39% de área) es debida al grupo NH_2 protonado (NH_3^+). Finalmente, en la región de azufre se observa una única componente a 162,1 eV correspondiente al grupo SH desprotonado (S^-) (véase figura 4) (1). Según los resultados obtenidos, podemos afirmar, que en la multicapa molecular depositada sobre la superficie, la especie predominante es el anión ($-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COO}^-$) y una pequeña cantidad de catión es también observada ($-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COOH}$).

Los ratios de las intensidades del XPS, $\text{C/O} \approx 1,5$, $\text{N/O} \approx 0,3$ y $\text{S/O} \approx 0,3$, están en buen acuerdo con la estequiometría molecular de la cisteína, $\text{C/O} \approx 1,5$, $\text{N/O} \approx 0,5$ y $\text{S/O} \approx 0,5$ indicando que la molécula se adsorbe intacta y no se fragmenta cuando es depositada sobre la superficie.

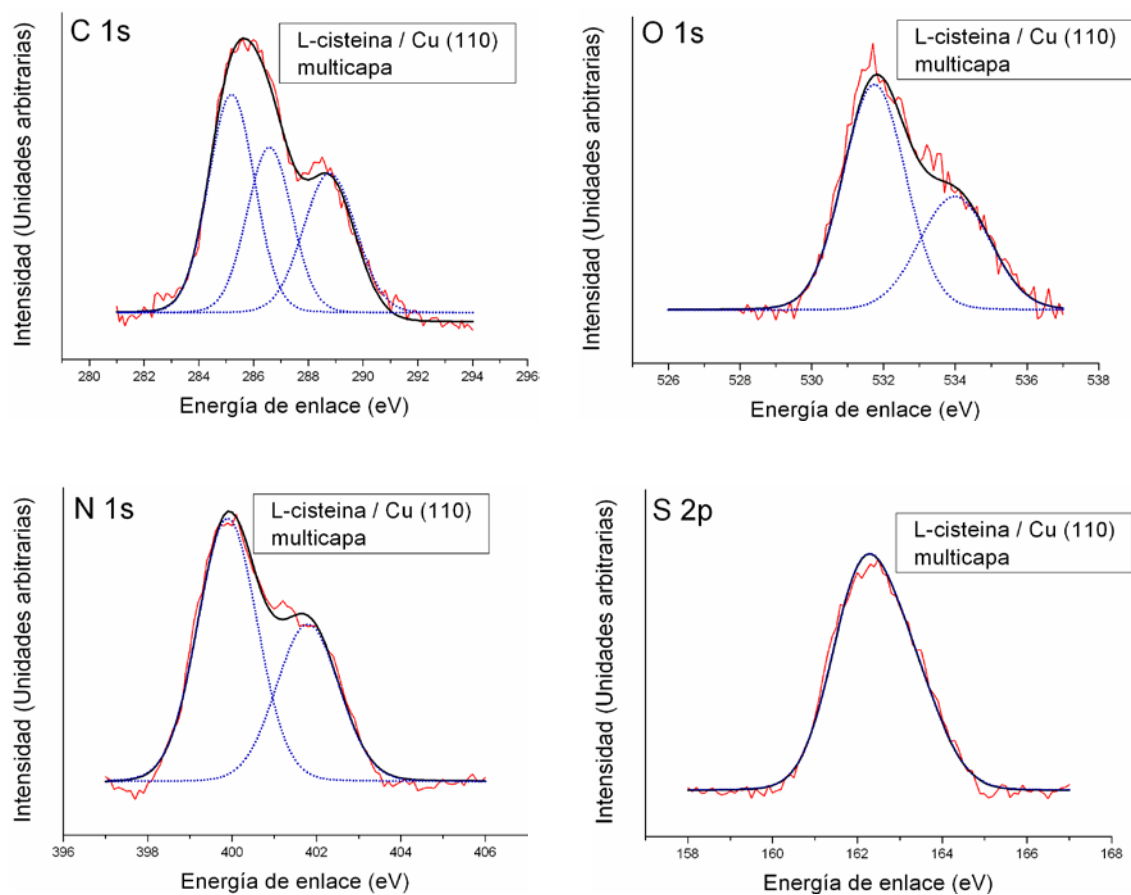


Figura 4. Espectros XPS de las regiones de C 1s, O 1s, N 1s y S 2p de multicapa de L-cisteína adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Cu (110).

En cuanto a las imágenes de LEED, no se observa patrón de difracción de la molécula sobre la superficie, al igual que ocurría en el estudio de la monocapa. Las imágenes de STM, muestran una multicapa de moléculas donde ningún orden específico es observado (véase figura 5).

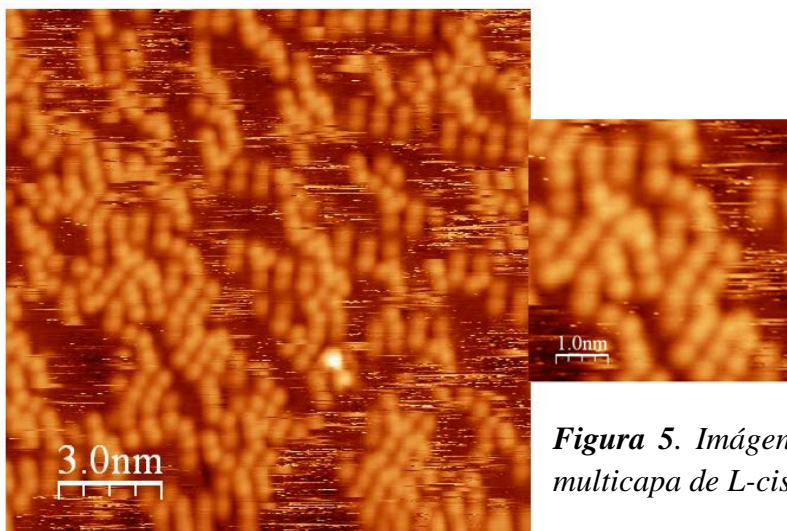


Figura 5. Imágenes STM del sistema multicapa de L-cisteína / Cu (110).

3.1.3 Estudio del sistema L-cisteína /Cu (110) a 110°C

Tras depositar una multicapa de L-cisteína sobre la superficie de Cu (110) se realizó un incremento de la temperatura de la superficie hasta 110°C. Este estudio del proceso de desorción nos permite conocer la fortaleza y estabilidad de la interacción aminoácido-superficie. Así como ver los cambios que un aporte de energía puede producir en el sistema objeto de estudio.

El mejor ajuste para el pico de C 1s fue obtenido para tres componentes: la primera fue identificada a una energía de enlace de 284,6 eV correspondiente al grupo C-S; la segunda fue observada a 285,9 eV, la cual es asignada al grupo C-N; y la tercera componente fue observada a 287,9 eV asignada a los grupos funcionales COOH /COO⁻.

Los cambios más significativos son observados en los espectros de las regiones de O 1s y N 1s. En los cuáles, tras el proceso de calentamiento, solo una componente es observada. En la región de oxígeno esta componente aparece a 531,5 eV correspondiendo al grupo ácido desprotonado (COO⁻). En la región de nitrógeno la

única componente es identificada a una energía de enlace de 399,8 eV correspondiente al grupo amino sin protonar (NH_2) (véase figura 6).

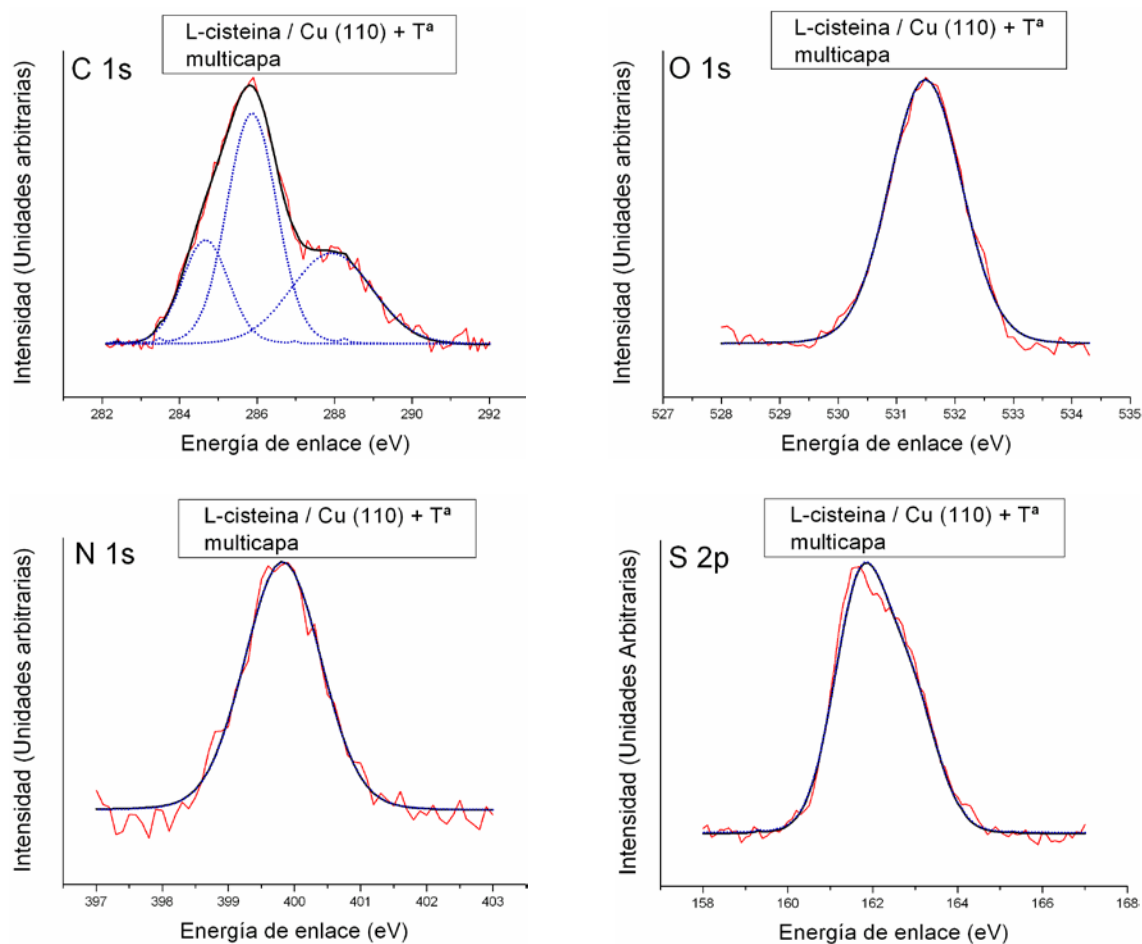


Figura 6. Espectros XPS de las regiones de C 1s, O 1s, N 1s y S 2p de multicapas de L-cisteína adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Cu (110) tras incremento de la T^a de la superficie a 110°C.

Por tanto, los espectros y análisis de XPS, nos permiten confirmar la existencia de una única forma molecular tras un calentamiento a 110°C de la superficie, siendo esta forma química el anión. Por otro lado, también cabe destacar el ligero desplazamiento que se produce en la región de azufre S 2p, desplazándose el pico principal -0,4 eV (véase figura 7). El nuevo pico aparece a una energía de enlace de 161,7 eV.

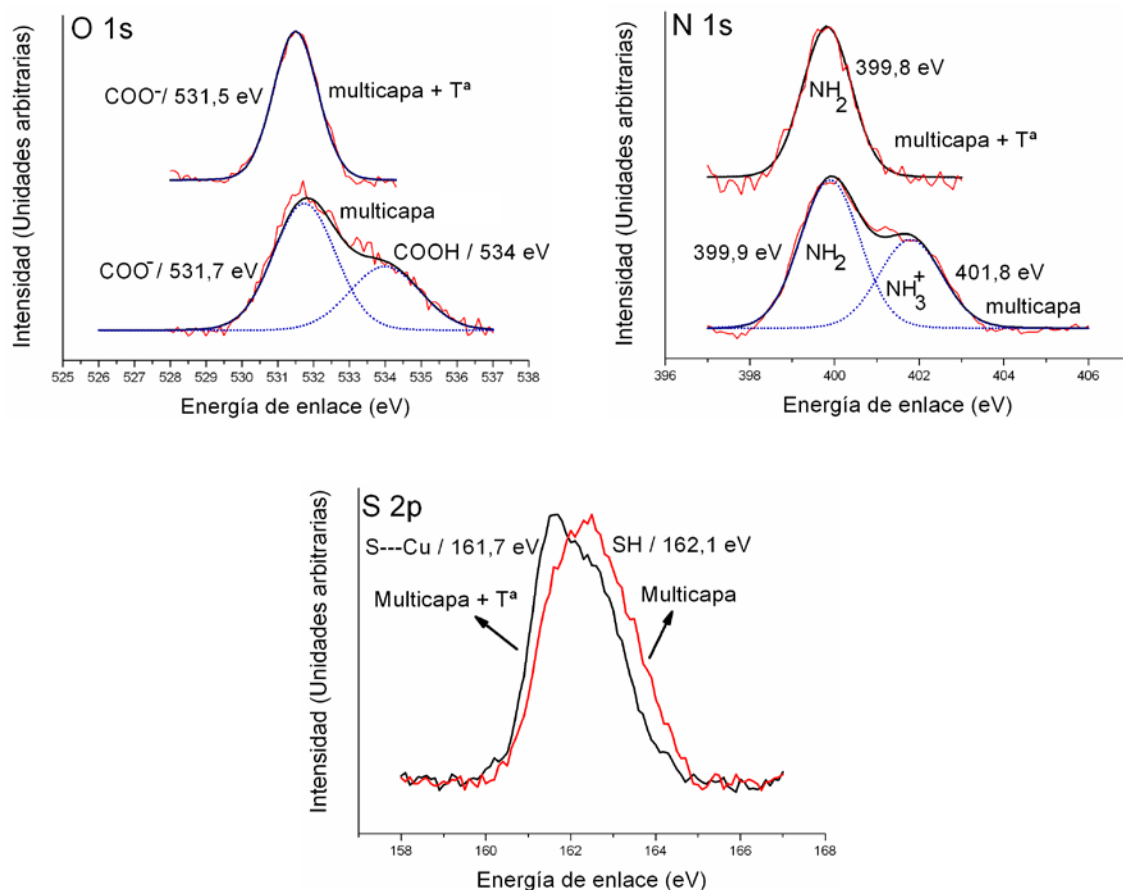


Figura 7. Comparación de espectros XPS de las regiones de O 1s, N 1s y S 2p de multicapas de L-cisteína adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Cu (110) y multicapas de L-cisteína adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Cu (110) tras incremento de la temperatura a 110°C.

Para los tres casos, (monocapa, multicapa y multicapa + T^a) la única componente observada en la región de S 2p es asignada a la interacción S-Cu, indicando que la molécula está interaccionando con la superficie a través del grupo azufre. En nuestros experimentos, en el caso de la monocapa, se observa la formación de dímeros que, aunque no suponen un ordenamiento a largo alcance (y por tanto no da lugar a patrón de LEED) si supone la formación de estructuras moleculares ordenadas de forma local. En el caso de calentamiento del sistema aminoácido / superficie, la energía aplicada es suficiente para conseguir la auto-organización molecular y por tanto la aparición de

orden a largo alcance, observado tanto por LEED como por STM y cuyas imágenes y estudio detallado son mostrados a continuación.

Estudio mediante LEED

Cuando la molécula (L-cisteína) es adsorbida a temperatura ambiente sobre Cu (110) no muestra patrón de difracción, observándose, únicamente, los puntos correspondientes al patrón de difracción de la superficie de cobre limpia (Cu (110)) (1x1). Tras depositar la molécula (L-cisteína) sobre la superficie de Cu (110) y tras calentamiento a 110°C del sistema molécula / superficie, el patrón de la molécula sobre la superficie de Cu (110) es observado, dando un ordenamiento c(2x2) (véanse figuras 8 y 9). Por tanto, el aporte de energía que conlleva el calentamiento de la superficie, conduce a una re-organización de la capa orgánica sobre la misma.

Energía a la que son tomados los patrones de LEED: 63-69 eV

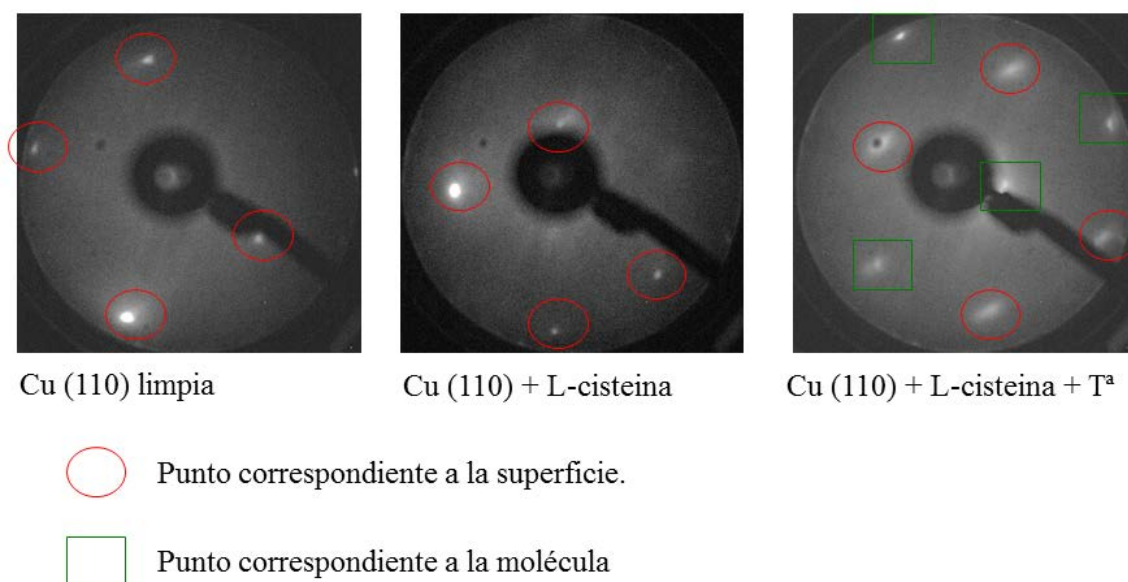


Figura 8. Comparación de patrones de LEED de la superficie de Cobre (110) tomados a 63-69 eV, recogidos para la superficie de cobre (110) limpia, el sistema multicapas L-cisteína /cobre (110) y el sistema L-cisteína/ Cobre (110)+T^a (110°C).

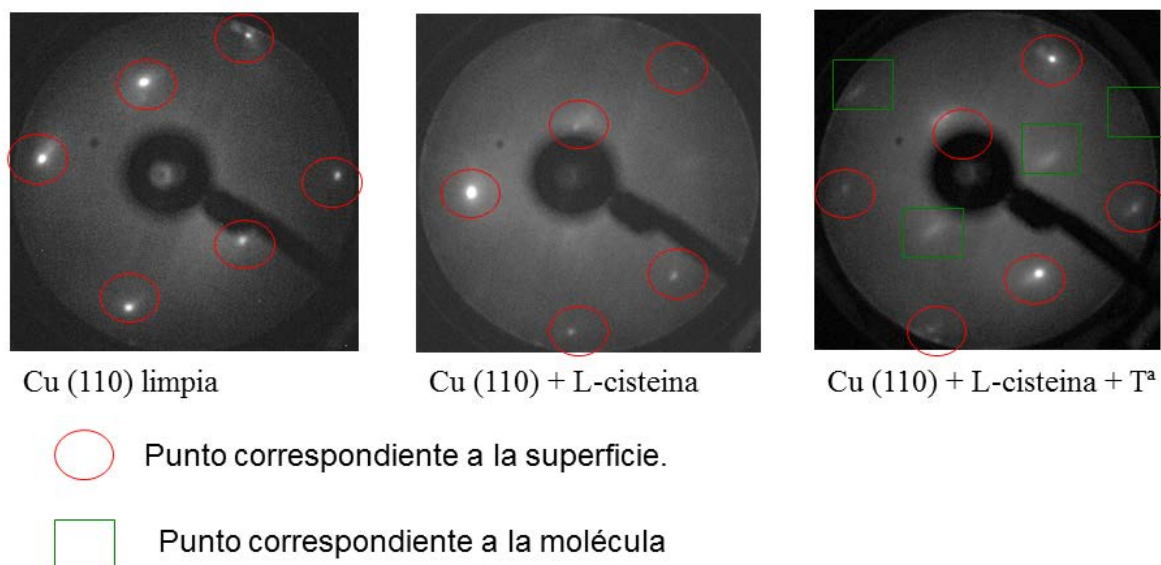
Energía a la que son tomados los patrones de LEED: 84-87eV

Figura 9. Comparación de patrones de LEED de la superficie de Cobre (110) tomados a 84-87eV, recogidos para la superficie de cobre (110) limpia, el sistema multicapa L-cisteína /cobre (110) y el sistema L-cisteína/ Cobre (110)+T^a (110°C).

Estudio mediante STM

Cuando la molécula es adsorbida sobre la superficie se observa la formación de la multicapa (figuras 10 y 11, imágenes 1 y 2). La molécula podría estar difundiendo en la superficie y no adquirir un orden específico sobre la misma.

Cuando el sistema L-cisteína / Cu (110) es sometido a un calentamiento de 110°C las imágenes de STM muestran puntos brillantes que corresponderían a las moléculas de L-cisteína (figuras 10 y 11, imagen 3). El aumento de temperatura de la superficie favorece la re-organización de la capa orgánica dando lugar a la formación de filas moleculares a lo largo de los ejes {001} y {110} de la superficie de Cu (110) (figura 12).

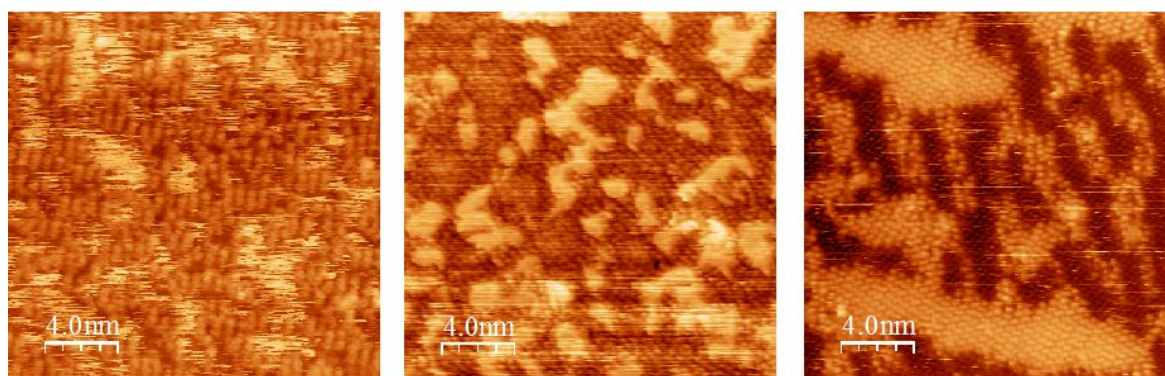


Imagen 1

Imagen 2

Imagen 3

Imágenes 20x20 nm

Imagen 1: Cu(110) + L-cisteína

Imagen 2: Cu(110) + L-cisteína (después de 24 h a temperatura ambiente).

Imagen 3: Cu (110) + L-cisteína + T^a 110°C.

Figura 10. Comparación de imágenes de STM de 20x20nm tomadas tras la adsorción de la molécula sobre la superficie (1), la difusión de la molécula sobre la superficie tras 24 horas de evolución del sistema (2) y tras calentamiento a 110°C del sistema molécula / superficie (3).

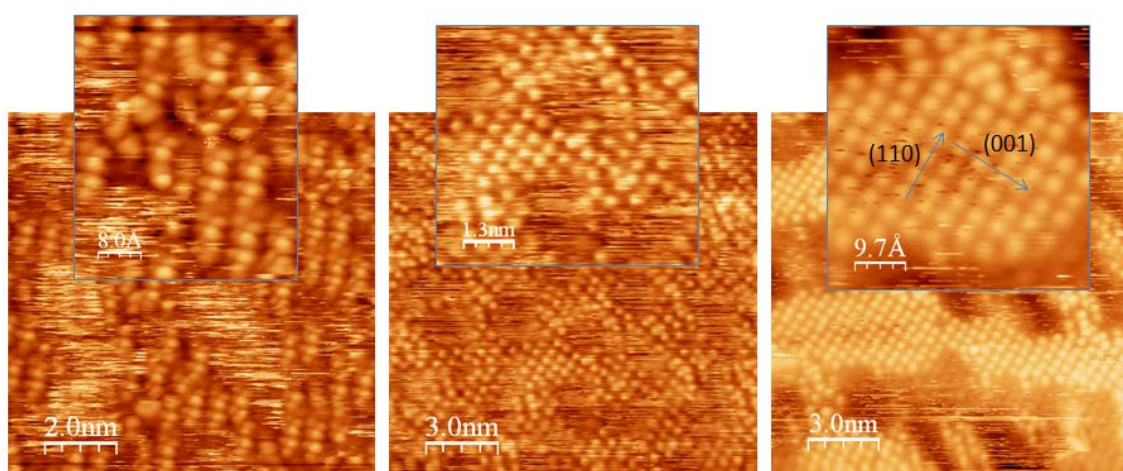


Imagen 1

Imagen 2

Imagen 3

Imágenes 15x15 nm

Imagen 1: Cu(110) + L-cisteína

Imagen 2: Cu(110) + L-cisteína (después de 24 horas a temperatura ambiente).

Imagen 3: Cu (110) + L-cisteína + T^a 110°C.

Figura 11. Comparación de imágenes de STM de 15x15nm tomadas tras la adsorción de la molécula sobre la superficie (1), la difusión de la molécula sobre la superficie tras 24 horas de evolución del sistema (2) y tras calentamiento a 110°C del sistema molécula / superficie (3).

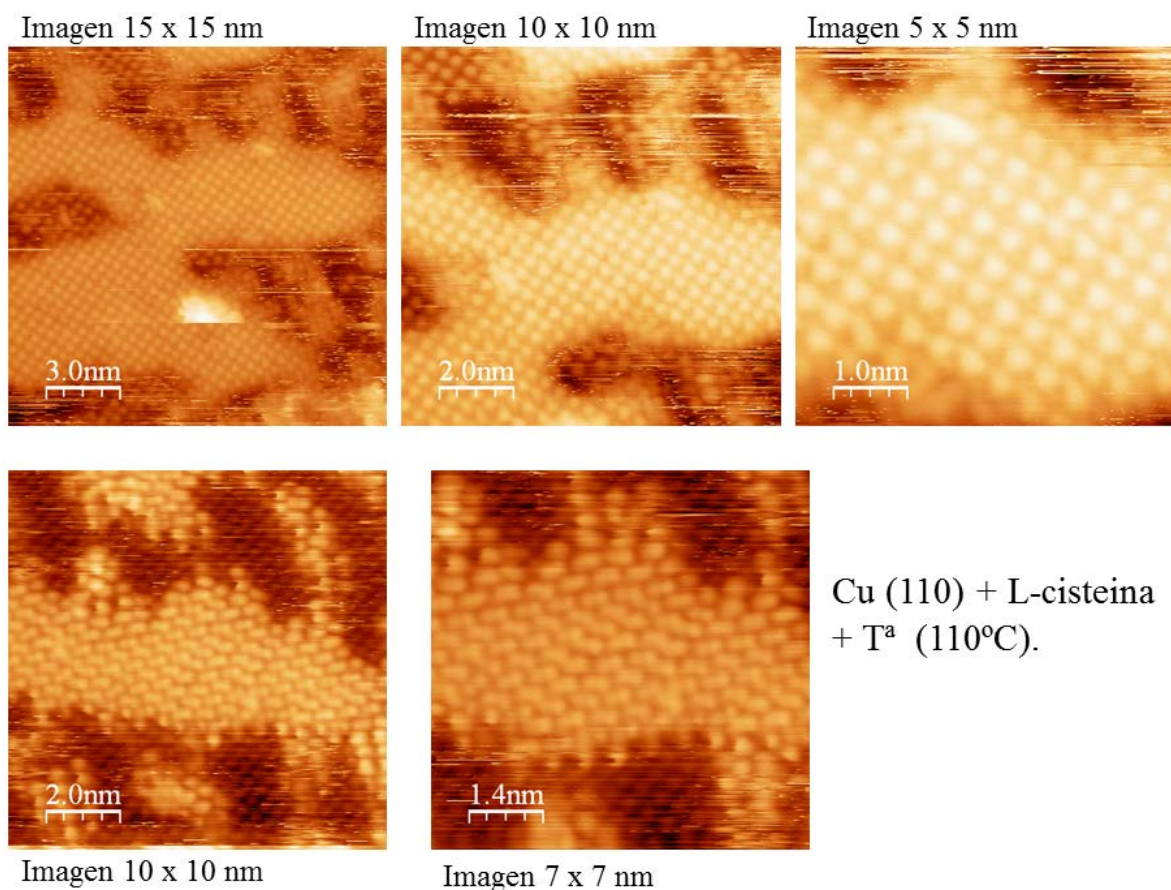


Figura 12. Imágenes de STM realizadas tras la adsorción de la molécula sobre la superficie y calentamiento a 110°C del sistema molécula / superficie.

Tras calentar el sistema L- cisteína / Cu (110), los dímeros observados tras el proceso de difusión desaparecerían, dejando el grupo NH_2 libre. Las moléculas, por tanto, se ordenarían dando filas moleculares a lo largo de los ejes $\{001\}$ y $\{110\}$ de la superficie de Cu (110). Proponemos un modelo en el que las moléculas interactúan por puentes de hidrógeno entre el grupo carboxilato de una molécula y el grupo amino de la siguiente y anclándose a la superficie a través del átomo de azufre, lo que estabiliza el sistema dando este tipo de estructuras ordenadas.

Las moléculas construyen una estructura ordenada con una distancia de vecinos cercanos de 4,56 y 4,10Å respectivamente (véase figura 13).

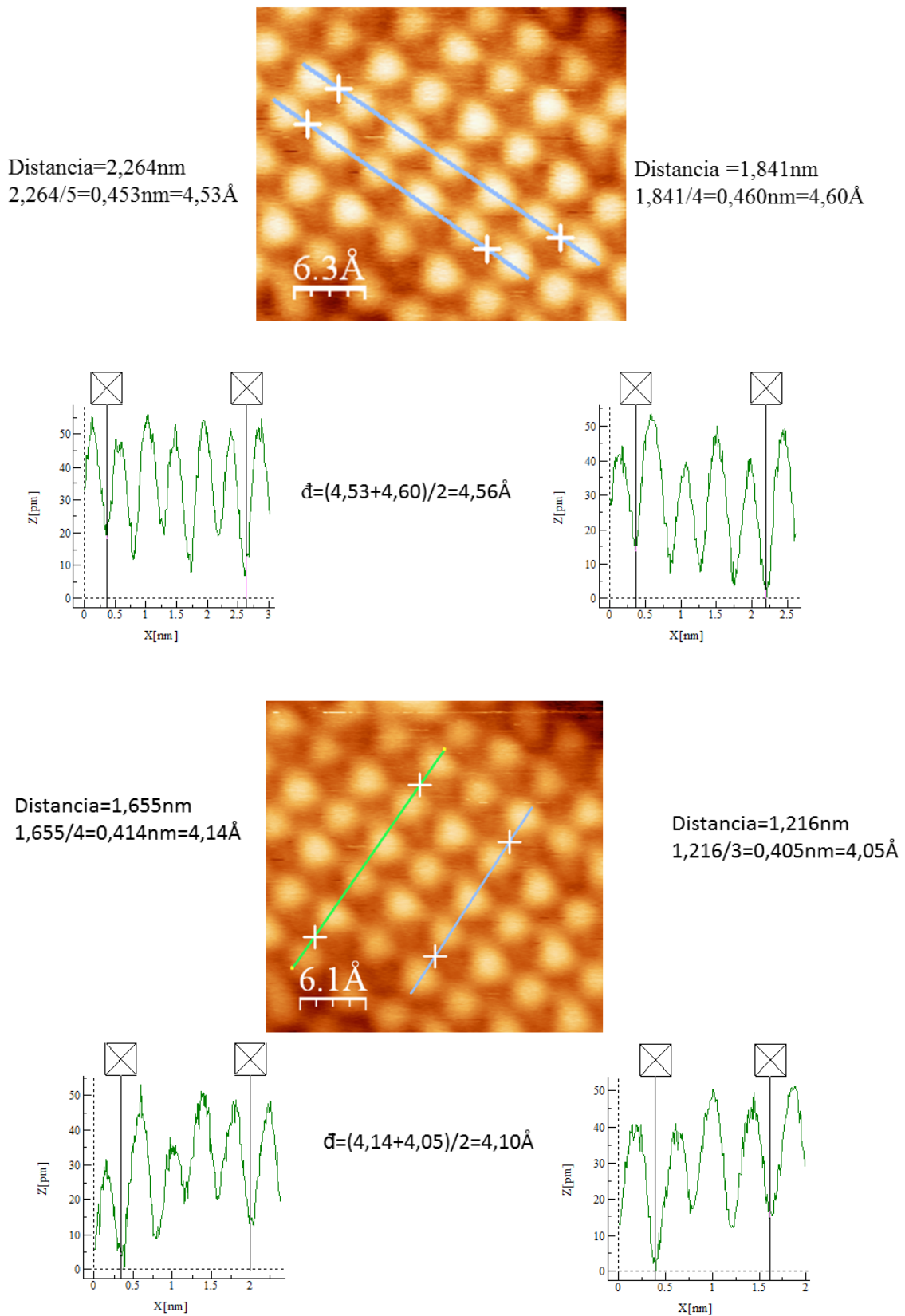


Figura 13. Imágenes y análisis obtenidos por STM del sistema superficie Cu (110) / L-cisteína + calentamiento a 110°C.

La información complementaria proporcionada por las diversas técnicas empleadas (XPS, STM, LEED) para el estudio de los procesos de auto-organización de L-Cisteína sobre Cu (110) nos revela importantes y destacables conclusiones. Podemos conocer el estado químico de las moléculas adsorbidas y la naturaleza de los grupos funcionales involucrados en la interacción tanto de una monocapa de molécula como de una multicapa, a temperatura ambiente o tras aplicar un calentamiento a T^a de 110°C al sistema. Y, es también posible, identificar el ordenamiento molecular inducido por el proceso de temperatura.

Por un lado, los análisis de XPS nos muestran que cuando la multicapa es formada, dos especies químicas son adsorbidas sobre la superficie. Anión como especie predominante ($\approx 63\%$) y catión (37%). Cuando este sistema es sometido a cierta temperatura (110°C) el catión es desorbido y únicamente el anión permanece sobre la superficie. En cuanto al grado de recubrimiento, podemos observar una gran similitud entre el espectro de la monocapa de L-cisteína sobre Cu (110) y el espectro de multicapa de L-cisteína sobre Cu(110) + T^a (110°C). En el caso de la monocapa, solo el anión es también observado. En cuanto a la región de azufre, para todos los casos estudiados, se observa una sola componente que es atribuida al grupo SH desprotonado (S^-).

Las imágenes de STM nos muestran que la molécula difunde sobre la superficie y que es necesario aportar cierta energía al sistema molécula / superficie para que la molécula se auto-organice. Tras un periodo de difusión, el orden no es observado, aunque si se observa la formación de dímeros sobre la superficie. Las distancias calculadas indican que estos dímeros podrían estar enlazados por los grupos NH_2 de cada molécula. Tras someter el sistema a calentamiento, las moléculas se auto-organizan formando filas a lo largo de los ejes $\{001\}$ y $\{110\}$ del Cu (110) y estarían estabilizadas por puentes de

hidrógeno en la diagonal a 45° del eje $\{001\}$. El espectro XPS de la región de azufre muestra una sola componente correspondiente al SH desprotonado. Este azufre puede servir, por tanto, de punto de anclaje de la molécula a la superficie (S---Cu). Además, los puentes de hidrógeno entre las moléculas de L-cisteína podrían jugar un papel importante estabilizando la estructura ordenada.

En cuanto a las imágenes de LEED observadas, la adsorción de la molécula sobre la superficie a temperatura ambiente no muestra ningún tipo de patrón de difracción. Tampoco ningún patrón de difracción es observado tras el proceso de difusión. Tras calentamiento de la superficie (110°C) se observa un orden $c(2 \times 2)$, indicando, por tanto, que la temperatura es un factor crítico para que las moléculas se auto-organicen, anclándose a la superficie a través del átomo de azufre y dando una estructura ordenada estabilizada por puentes de hidrógeno.

Con todo ello, proponemos un posible modelo para el sistema L-cisteína sobre Cu (110) tras calentamiento del mismo (110°C). (Véase figura 14 y tabla 1)

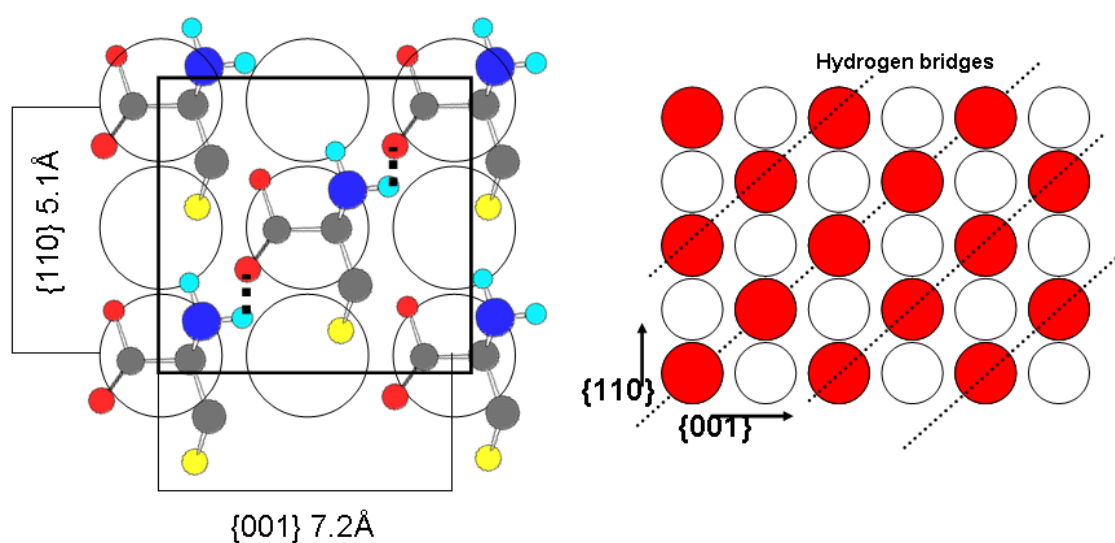
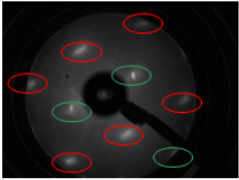
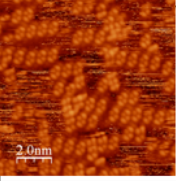
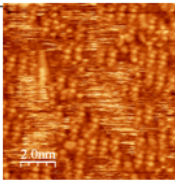
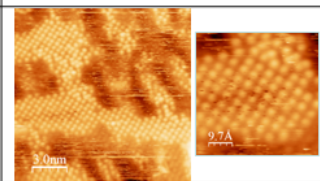
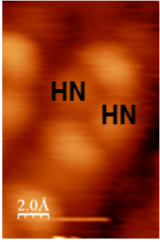
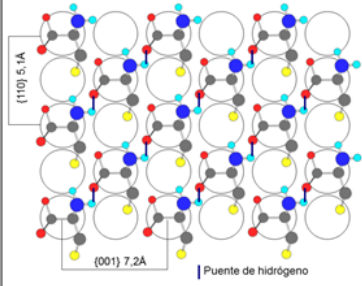


Figura 14. Modelo propuesto para un $c(2 \times 2)$ de L-cisteína sobre Cu (110).

Tabla 1. Tabla comparativa de resultados de XPS, LEED, STM y modelo experimental propuesto para el sistema L-cisteína sobre Cu (110) de monocapa, monocapa tras proceso de difusión, multicapa y multicapa tras calentamiento.

| Técnica | Monocapa | Monocapa, proceso difusión | Multicapa | Multicapa + T ^a |
|---------|---|--|--|---|
| XPS | Anión | Anión | Anión y catión | anión |
| LEED | X | X | X | C (2x2)  |
| STM | No STM La molécula esta difundiéndose en la superficie |  |  |  |
| MODELO | X |  | X |  |

3.2 Auto-organización de L-cistina sobre Cu (110)

Tras el estudio exhaustivo realizado del monómero, L-cisteína, sobre Cu (110) hemos llevado a cabo un estudio comparativo del dímero, L-cistina (véase figura 15), sobre la misma superficie, mediante XPS y LEED. Estudiamos como el tamaño de la molécula y la presencia de un grupo tiol (SH) o un puente disulfuro (S-S) pueden condicionar tanto la forma química de la molécula adsorbida sobre la superficie, como el modo de interaccionar con ella.

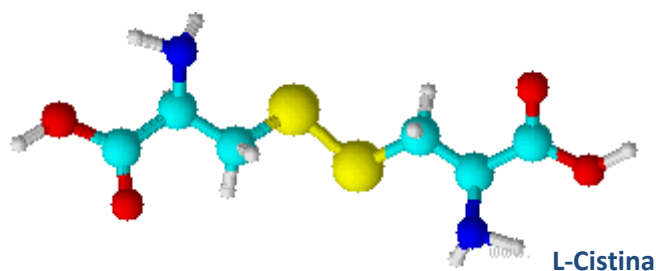


Figura 15. Fórmula química de la molécula L-cistina.

3.2.1 Estudio de multicapas de L-cistina sobre Cu (110)

Para la realización de los análisis XPS, la energía de enlace fue calibrada a 932,7 eV para el pico del Cu 2p_{3/2}. Tras el proceso de limpieza mediante bombardeo iónico con Ar⁺ y calentamiento (véase apartado 2.6.6 del capítulo de técnicas y métodos experimentales) y caracterización de la superficie limpia mediante XPS y LEED, L-cistina fue evaporada desde UHV, durante un tiempo de 1h, a una temperatura de 132°C sobre la superficie de Cu (110).

El mejor ajuste para la región de C 1s fue realizado para tres componentes: la primera componente aparece a una energía de enlace de 284,8 eV y correspondería a los grupos C-S, la segunda componente aparece a una energía de enlace de 285,9 eV correspondiendo a los grupos C-N, la tercera y última componente aparece a 287,8 eV de energía de enlace correspondiendo a los grupos COOH o COO⁻. El ratio entre las tres componentes es aproximadamente 1:1:1 (CS : CN : COOH o COO⁻) el cual estaría en buen acuerdo con la estequiometría de la molécula. En las regiones de oxígeno y nitrógeno solo una componente es observada. Apareciendo a 531,5 eV en la región de O 1s y siendo atribuida al grupo COO⁻ y a 400,0 eV en la región de N 1s siendo atribuida al grupo NH₂ (1). Por tanto, la molécula es adsorbida sobre la superficie en su

forma química de anión. En la región de S 2p una única componente es observada a 162,0 eV de energía de enlace y correspondería a la interacción S---Cu indicando que la molécula interacciona con la superficie a través del azufre (véase figura 16) (1). El cobre tiene gran afinidad por el azufre (23) por ello, es bastante probable, que al depositar la molécula sobre la superficie, esta interaccione con ella a través del puente disulfuro, bien por ruptura del mismo o bien por interacción directa entre el enlace del puente disulfuro y los átomos de cobre (S---Cu---S) (ambos razonamientos explicarían la ausencia de la componente debida al puente disulfuro y que debería aparecer a valores de energía de enlace superiores a 163,5 eV (24)).

Los cálculos de los ratios han sido realizados, pero estos datos no nos permiten establecer si se trata del monómero o del dímero, ya que ambos ratios serían iguales.

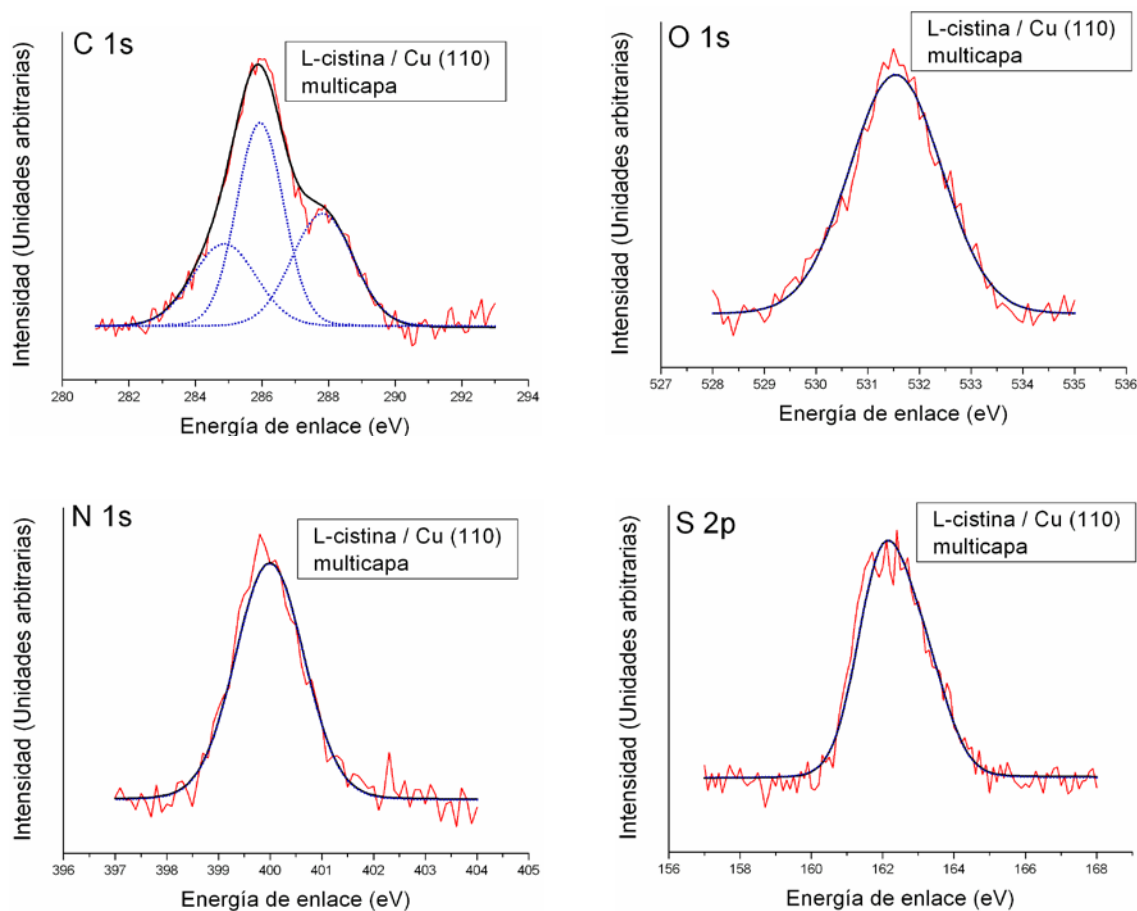


Figura 16. Espectros XPS de las regiones de C 1s, O 1s, N 1s y S 2p de multicapa de L-cistina adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Cu (110).

3.2.2 Estudio del sistema L-cistina / Cu (110) a 110°C

Tras depositar una multicapa de L-cistina sobre la superficie de Cu (110) el sistema es calentado a 110°C con el fin de determinar si la molécula es suficientemente estable sobre la superficie o si, por el contrario, sufre una fragmentación debida al aumento de temperatura de la superficie.

Las regiones de C 1s, O 1s y N 1s, no sufren cambios significativos tras el proceso de calentamiento. En la región de C 1s siguen apareciendo tres componentes, correspondientes a los grupos C-S (284,6 eV), C-N (286,0 eV) y COOH o COO⁻

(288,0 eV). En la región de O 1s una sola componente es observada, siendo asignada al grupo ácido desprotonado, COO^- (531,6 eV). En la región de N 1s, la única componente observada, correspondería, de nuevo, al grupo NH_2 (400,0 eV) (véase figura 17). En la región de S 2p se observa la componente debida a la interacción S---Cu (161,7 eV) (véase figura 18).

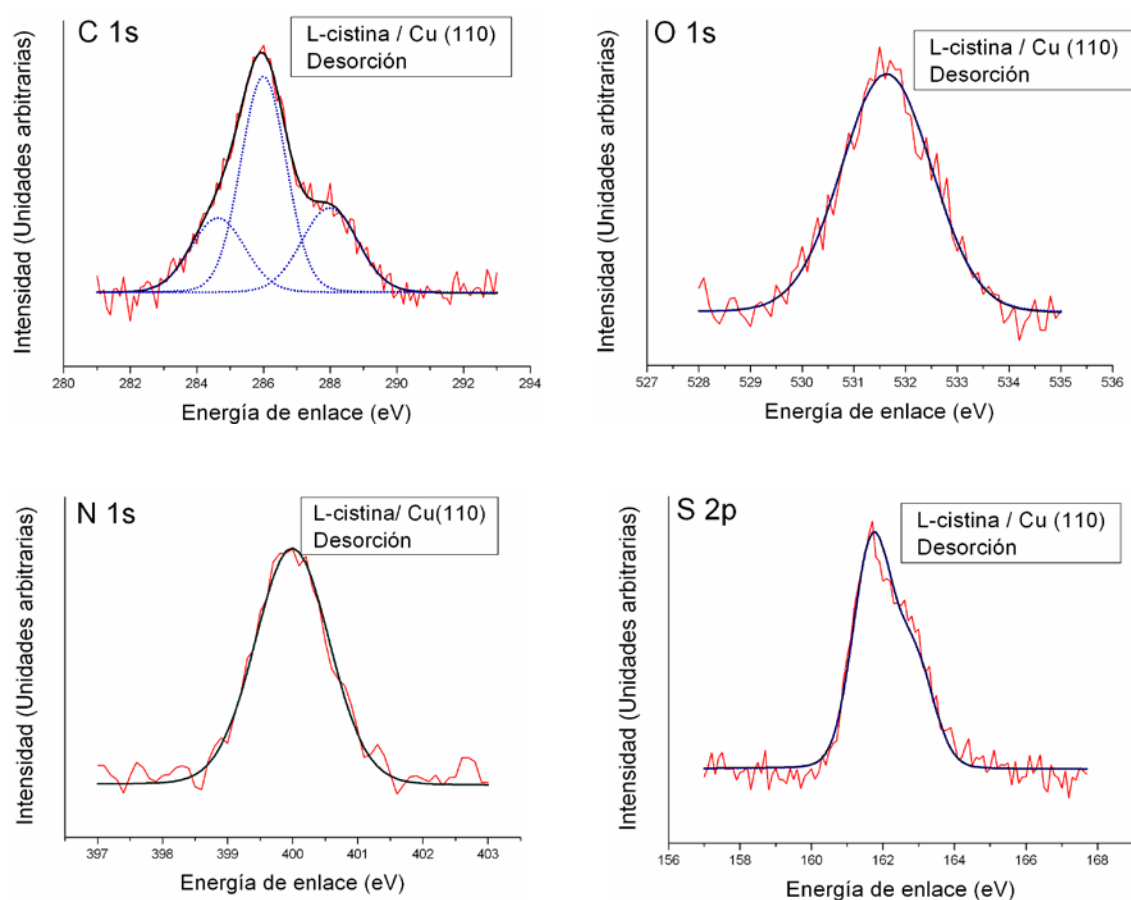


Figura 17. Espectros XPS de las regiones de C 1s, O 1s, N 1s y S 2p de L-cistina adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Cu (110) y tras calentamiento del sistema aminoácido / superficie.

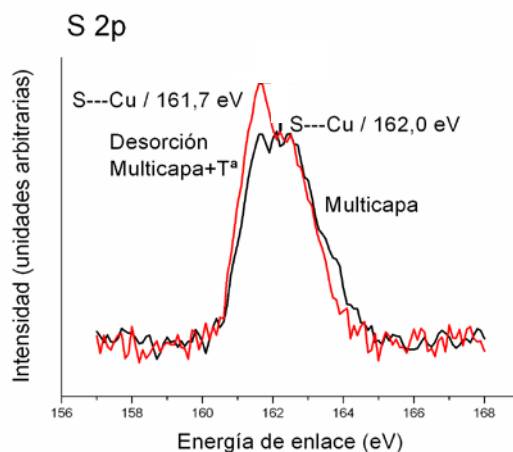


Figura 18. Comparación de espectros XPS de la región de S 2p de L-cistina adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Cu (110) (multicapa) y L-cistina adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Cu (110) tras calentamiento (multicapa + T^a).

Para comprobar si el incremento de temperatura del sistema aminoácido / superficie conlleva a la posible aparición de orden, como ocurría en el caso del monómero, se realizó un estudio del sistema aminoácido / superficie por LEED (véase figura 19).

Energía a la que son tomados los patrones de LEED: 85-87eV

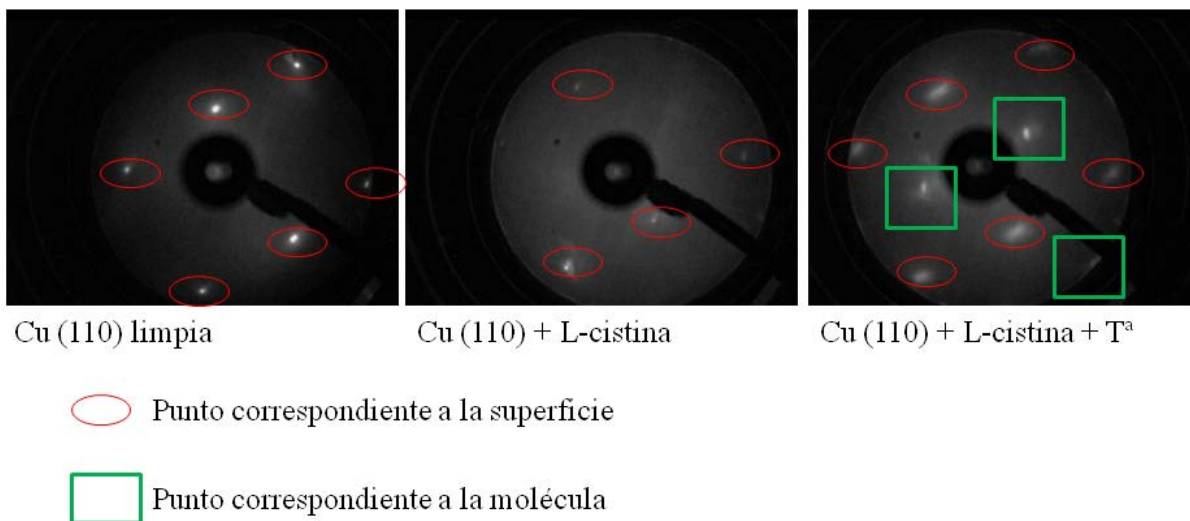


Figura 19. Comparación de patrones de LEED de la superficie de Cu (110) tomados a 85-87 eV de la superficie de Cu (110) limpia, la superficie de Cu (110) tras la adsorción de una multicapa de L-cistina y la superficie de Cu (110) tras la adsorción de una multicapa de L-cistina y posterior calentamiento del sistema a 110°C.

Previo al calentamiento del sistema, los patrones del LEED de la molécula no son observados, apareciendo únicamente los patrones de la superficie de Cu (110) limpia (1x1). Pero, tras el proceso de calentamiento aparecen patrones de difracción de la molécula dando un ordenamiento c(2x2) similar al observado en los estudios del monómero sobre la misma superficie. Con estos resultados podríamos sugerir que la molécula de L-cistina si se fragmente pudiendo dar lugar a 2 moléculas de L-cisteína cuando es depositada sobre la superficie y tras aplicar energía sobre el sistema, estos monómeros se ordenan dando idénticos resultados a los obtenidos cuando el monómero es directamente adsorbido sobre la superficie. La molécula de L-cistina tiene el doble de tamaño que la L-cisteína y sería imposible que formara el mismo ordeamiento c(2x2) con las mismas interacciones mediante puentes de hidrógeno. Además mediante XPS la ausencia del grupo S-S también apoya esta suposición.

3.3 Auto-organización de L-cistina sobre Au (111)

El estudio del monómero (L-cisteína) sobre Au (111) ha sido parcialmente descrito en la bibliografía por varios grupos de investigación (20-21, 25-26) mediante diversas técnicas espectroscópicas y microscópicas y mediante cálculos teóricos. Hemos realizado experimentos sobre la adsorción de L-cistina sobre Au (111) para poder comparar nuestros resultados con los ya existentes sobre el monómero inmovilizado sobre la misma superficie y para poder realizar una comparación exhaustiva del mismo aminoácido sobre dos superficies metálicas distintas. El Cu (110), ya estudiado en los apartados anteriores de esta sección, y el Au (111).

3.3.1 Estudio de multicapas de L-cistina sobre Au (111)

En los análisis XPS, la energía de enlace fue calibrada a 84,0 eV para el pico del Au $4f_{7/2}$. En el estudio de L-cistina sobre Au (111) se han empleado las técnicas de XPS y LEED, ambas técnicas han sido utilizadas tanto para la caracterización de la superficie limpia como para el estudio de la molécula sobre la superficie.

La superficie fue limpiada mediante ciclos de bombardeo iónico y calentamiento (véase apartado 2.6.6 del capítulo de técnicas y métodos experimentales). Tras realizar el análisis XPS de la superficie limpia y observar sus patrones de difracción con LEED, L-cistina fue evaporada desde UHV, durante 1 hora, a una temperatura de 132°C sobre la superficie.

En la región de C 1s tres componentes son observadas: la componente de menor energía de enlace aparece a 285,1 eV y ha sido asignada a los grupos C-S de la molécula. La segunda componente aparece a 286,5 eV de energía de enlace correspondiendo a los grupos C-N, la tercera componente aparece a 288,5 eV de energía de enlace correspondiendo a los grupos COOH o COO⁻. El ratio entre las tres componentes es aproximadamente 1:1:1 (CS : CN : COOH o COO⁻) el cual estaría en buen acuerdo con la estequiometría de la molécula.

En la región de O 1s una sola componente es observada a 531,8 eV siendo atribuida al grupo ácido desprotonado (COO⁻) (25). En la región de N 1s también una sola componente es identificada. A 401,4 eV, atribuida al grupo amino protonado (NH₃⁺) (25). Por lo tanto, podemos afirmar que cistina es adsorbida sobre la superficie de Au (111) en su forma zwitterion. En cuanto a la región de S 2p, el mejor ajuste correspondería a dos componentes, a 162,5 eV y 164,2 eV, asignadas a la interacción S---Au y al puente disulfuro presente en la molécula de cistina (S---S) respectivamente

(24) (véase figura 20). Esta última componente (164,5 eV) es relevante para comprender que en el caso de la superficie de Au (111) la molécula no se fragmenta cuando es adsorbida sobre la superficie. Componente que no era detectada en el caso de la superficie de cobre, mucho más reactiva frente a grupos azufre. En cuanto a la componente de menor energía de enlace de la región de azufre (162,5 eV), es indicativa de que la adsorción de cistina sobre el Au (111) puede tener lugar a través del puente disulfuro de la molécula.

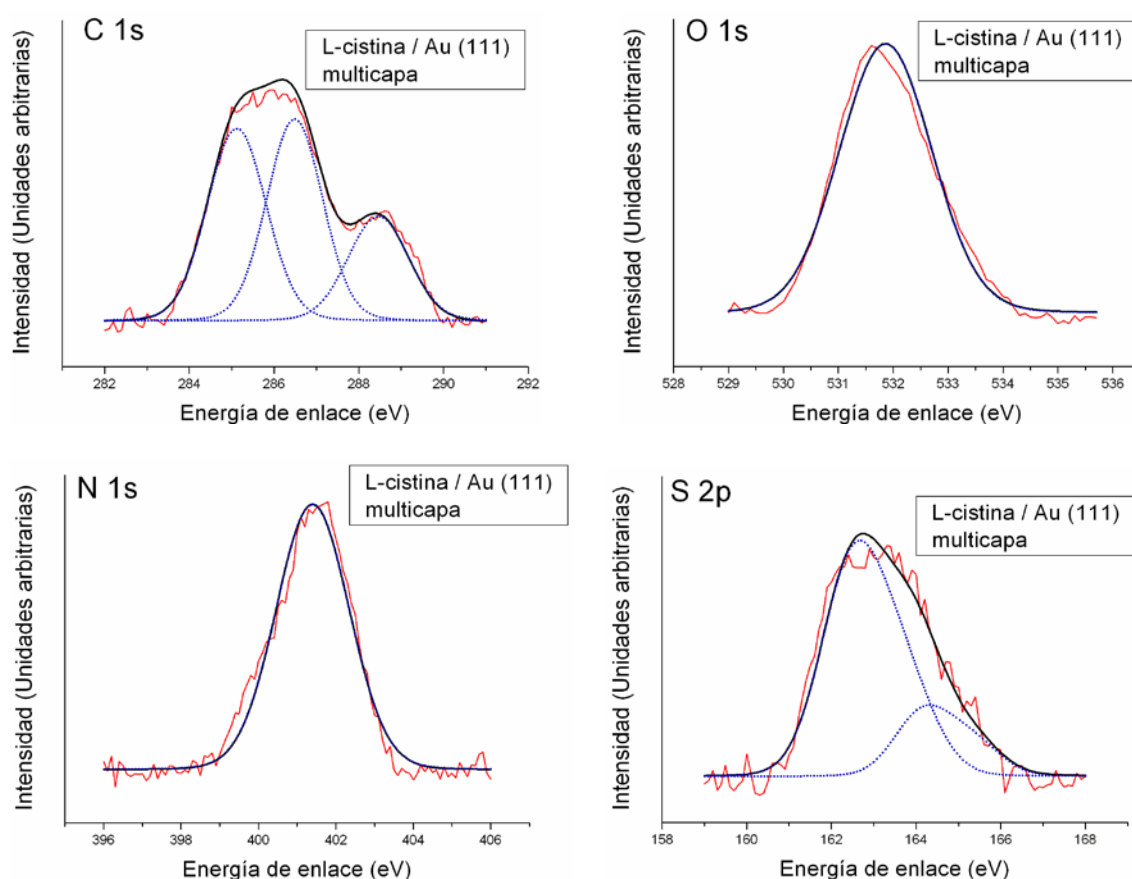


Figura 20. Espectros XPS de las regiones de C 1s, O 1s, N 1s y S 2p de multicapa de L-cistina adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Au (111).

Respecto a los resultados de LEED, cuando una multicapa de molécula (L-cistina) es adsorbida sobre la superficie de Au (111) a temperatura ambiente, no muestra patrones de difracción, observándose, únicamente, los puntos correspondientes al patrón de difracción de la superficie de oro limpia ($2\sqrt{3}\times 3$) (Au (111)).

3.3.2 Estudio del sistema L-cistina /Au (111) a 110°C

Para determinar si la interacción entre la superficie y el aminoácido es suficientemente estable a alta temperatura o si la molécula puede sufrir una fragmentación antes de ser desorbida de la superficie de oro, un estudio de desorción molecular fue realizado. Tras depositar una multicapa de L-cistina sobre la superficie de Au (111) se realizó un incremento de T^a a 110°C. El proceso fue caracterizado por XPS y LEED.

El mejor ajuste para el pico de C 1s fue obtenido para tres componentes: la primera fue identificada a una energía de enlace de 285,2 eV correspondiente al grupo C-S; la segunda fue observada a 286,6 eV, la cual es asignada al grupo C-N; y la tercera componente fue observada a 288,4 eV asignada a los grupos COOH /COO⁻. El ratio entre las tres componentes es aproximadamente 1:1:1 (CS : CN : COOH o COO⁻) el cual estaría en buen acuerdo con la estequiometría de la molécula.

En las regiones de oxígeno y nitrógeno una sola componente es observada, coincidiendo con los mismos resultados que fueron obtenidos en la adsorción de la molécula sobre la superficie de Au (111) sin calentamiento del sistema. Apareciendo, dicha componente, en la región de O 1s a 531,9 eV siendo atribuida al grupo ácido desprotonado (COO⁻) y en la región de N 1s, a 401,6 eV atribuida al grupo amino protonado (NH₃⁺) (véase figura 21). Por lo tanto, podemos afirmar que la forma molecular adsorbida sobre la

superficie de Au (111) no sufre cambios después de calentar el sistema, siendo zwitterion para ambos casos.

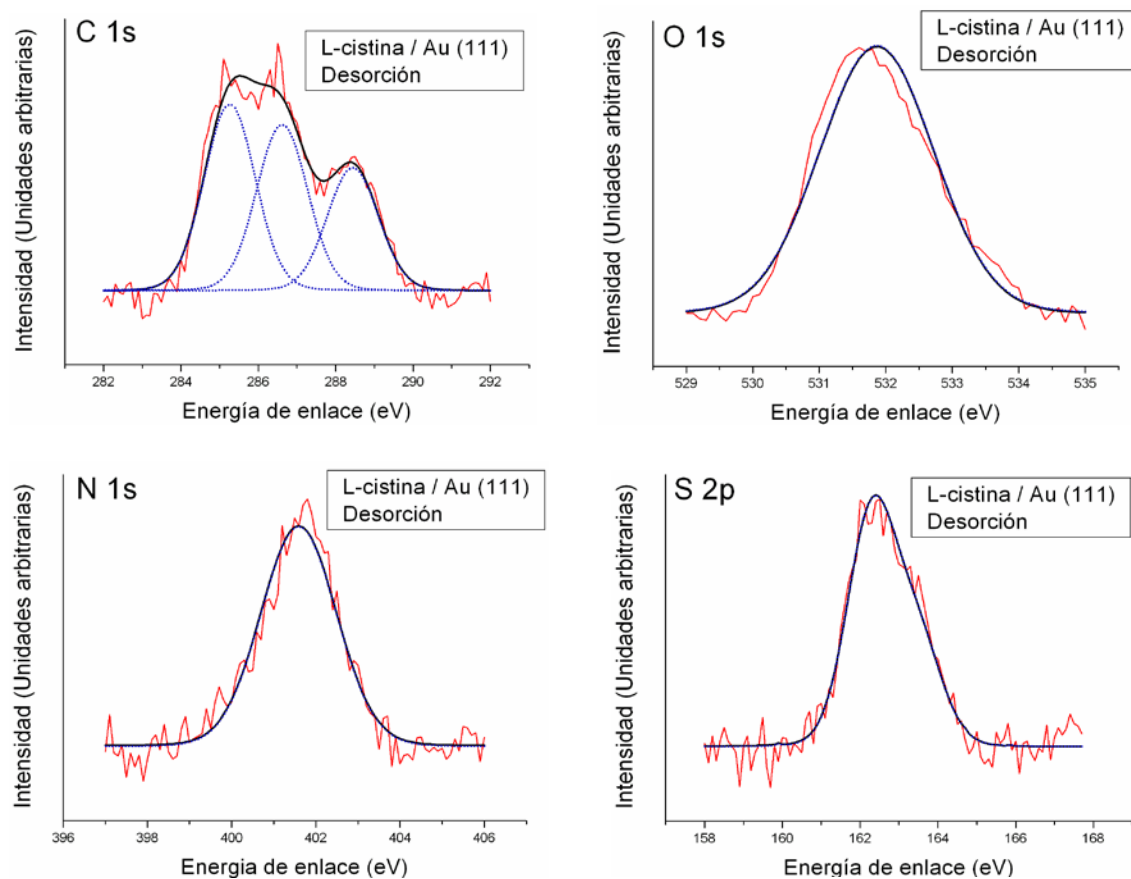


Figura 21. Espectros XPS de las regiones de C 1s, O 1s, N 1s y S 2p de L-cistina adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Au (111) y tras incremento de la T^a del sistema aminoácido / superficie.

Los cambios más significativos son observados en el espectro de S 2p (véase figura 22).

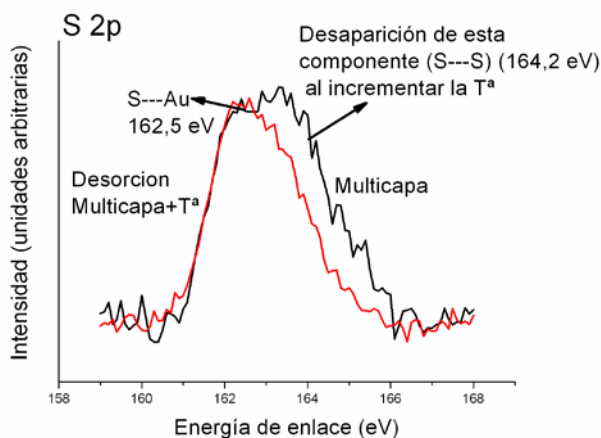


Figura 22. Comparación de espectros XPS de la región de S 2p de L-cistina adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Au (111) (multicapa) (curva negra) y L-cistina adsorbida desde fase gas sobre la superficie de Au (111) tras incremento de la temperatura (multicapa + T^a) (curva roja).

Tras el incremento de temperatura del sistema aminoácido-superficie, se observa la desaparición de la componente atribuida al puente disulfuro. El mejor ajuste correspondería para una única componente a 162,5 eV siendo atribuida a la interacción S---Au. Por lo tanto, tras el calentamiento del sistema, parte de la multicapa podría desorber, quedando una única capa de moléculas sobre la superficie interaccionando con ella a través del grupo azufre. Dado que la componente de la región de azufre correspondiente al puente disulfuro ha desaparecido y que el ratio del monómero y del dímero es el mismo, podríamos mencionar que, es posible, que tras calentar el sistema, el dímero se fragmente en dos cisteínas. En el caso de la superficie de cobre, no era necesario calentar el sistema, simplemente al adsorber el aminoácido sobre la superficie, la componente del puente disulfuro en la región de azufre no se observa y los resultados después de calentar, eran idénticos a los del monómero, tanto por XPS como por LEED. Sin embargo, sobre la superficie de Au (111) menos reactiva frente al puente disulfuro que la superficie de Cu (110), tras adsorber la molécula sobre la superficie, el puente

disulfuro si es observado y es necesario aplicar energía al sistema para que este puente desaparezca y la única componente de la región de azufre que persista sea la debida a la interacción S---Au.

Respecto a los patrones de difracción de LEED, cuando una multicapa de molécula (L-cistina) es adsorbida sobre la superficie de Au (111) y tras someter al sistema aminoácido / superficie a calentamiento, sigue sin observarse patrones de difracción de la molécula, confirmando, de nuevo, la no aparición de orden a largo alcance sobre la superficie de estudio.

Resumen resultados sobre auto-organización de los aminoácidos L-cisteína y L-cistina en superficies metálicas.

Tabla 2. L-cisteína adsorbida sobre Cu (110).

| | Monocapa | Multicapa | Multicapa + T^a |
|-----------------------------------|--|------------------------------|----------------------------------|
| Forma química molécula | Anión | Anión (60-64%) Cación | Anión |
| Interacción a.a-superficie | A través del átomo de azufre | A través del átomo de azufre | A través del átomo de azufre |
| Orden observado | A corto alcance. Formación dímeros. | No | c(2x2) A largo alcance. |

Tabla 3. L-cistina adsorbida sobre Cu (110).

| | Multicapa | Multicapa + T^a |
|-----------------------------------|---|---|
| Forma química molécula | Anión | Anión |
| Interacción a.a-superficie | A través del átomo de azufre | A través del átomo de azufre |
| Orden observado | No. Posible fragmentación de la molécula a través puente disulfuro. | A largo alcance c(2x2) Fragmentación molécula a través de puente disulfuro. Ordenamiento de los monómeros formados. |

Tabla 4. L-cistina adsorbida sobre Au (111).

| | Multicapa | Multicapa + T^a |
|-----------------------------------|------------------------------------|--|
| Forma química molécula | Anión | Anión |
| Interacción a.a-superficie | A través del átomo de azufre | A través del átomo de azufre |
| Orden observado | La molécula no se fragmenta. No | No se observa orden. Posible fragmentación molécula a través de puente disulfuro. |

REFERENCIAS

1. E. Mateo-Martí, Ch. Methivier, C.M. Pradier. *Langmuir*, **2004**, 20 (23), 10223.
2. Y. Yao, F. Zaera. *Surface Science*, **2016**, 646, 37.
3. G. Iucci, C. Battocchio, M. Dettin, R. Gambaretto, C. Di Bello, F. Borgatti, V. Carravetta, S. Monti, G. Polzonetti. *Surface Science*, **2007**, 601, 3843.
4. H. Altass, A. F. Carley, P.R. Davies, R.J. Davies. *Surface Science*, **2016**, [doi:10.1016/j.susc.2015.12.024](https://doi.org/10.1016/j.susc.2015.12.024).
5. D. Costa, C.M. Pradier, F. Tielens, L. Savio. *Surface Science Reports*, **2015**, 70, 449.
6. J. Landoulsi, M.J. Genet, S. Fleith, Y. Touré, I. Liascukiene, C. Méthivier, P.G. Rouxhet. *Applied surface science*, **2016**. PII: SO169-4332(16)30935-7.
7. J.L. Lin, Y-S. Lin, B-C. Lin, Y-H Liao, Y-T. Chen, S-W Chen, J-Y. Jhuang, Y. Lee, J-C. *Surface Science*, **2016**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.susc.2016.03.030>.
8. F.C. Calaza, T-L. Chen, D.R. Mullins, Y.Xu, S.H. Overbury. *Catalysis Today*, **2015**, 253, 65.
9. J. Choi, L. Pan, F. Zhang, J.T. Diulus, A. Asthagiri, J.F. Weaver. *Surface Science*, **2015**, 640, 150.
10. T. Thuenning, J. Walker, H. Adams, O. Furlong, W.T. Tysoc. *Surface Science*, **2016**, 648, 236.
11. E. Mateo-Martí, A. Quash, Ch. Methivier, P. Dubot, C.M. Pradier. *Colloids and surfaces*, **2004**, 249,85.
12. A. Vallée, V. Humblot, C. Méthivier, C-M. Pradier. *Surface Science*, **2008**, 602, 2256.
13. V. Humblot, A. Tejada, J. Landoulsi, A. Vallée, A. Naitabdi, A. Taleb, C-M. Pradier. *Surface Science*, **2014**, 628, 21.
14. S.M. Barlow, S. Haq, R. Raval. *Langmuir*, **2001**, 17 (11), 3292.
15. Angelika Kühnle. *Tesis doctoral*, **2002**, Molecular self-assembly and chiral recognition: Biologically relevant molecules on metal surfaces. University of Aarhus, Denmark.
16. S.M. Barlow, K.J. Kitching, S. Haq, N.V. Richardson. *Surface Science*, **1998**, 401, 322.
17. S.M. Barlow, S. Louafi, D. Le Roux, J. Williams, C. Muryn, S. Haq, R. Raval. *Surface Science*, **2005**, 590, 243.
18. V. Humblot, C. Méthivier, C.M. Pradier. *Langmuir*, **2006**, 22 (7), 3089.
19. V. Humblot, F. Tielens, N.B. Luque, H. Hampartsoumian, C. Méthivier, C.M. Pradier. *Langmuir*, **2014**, 30 (1), 203.

20. A. Kühnle, T. R. Linderoth, M. Schunack, F. Besenbacher. *Langmuir*, **2006**, 22 (5), 2156.
21. E. Mateo-Martí, C. Rogero, G. Gonzalez, J.M. Sobrado, P.L. de Andrés, J.A. Martín-Gago. *Langmuir*, **2010**, 26 (6), 4113.
22. S. Fischer, A. C. Papageorgiou, M. Marschall, J. Reichert, K. Dillert, F. Klappenberger, F. Allegretti, A. Nefedov, C. Wöll, J.V. Barth. *J. Phys. Chem*, **2010**, 116 (38), 20356.
23. R.A. Venkata Lakshmi, T. S. R. Murthy. *International Journal of engineering research and applications (IJERA)*, **2012**, 2, 1295-1299
24. D. G. Castner, K. Hinds, D. W. Grainger. *Langmuir*, **1996**, 12 (21), 5083.
25. K. Uvdal, P. Bodö, B. Liedberg. *Journal of colloid and interface science*, **1991**, 149, 162.
26. G. Doddero, L. De Michieli, O. Cavalleri, R. Rolandi, L. Oliveri, A. Daccà, R. Parodi. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects*, **2000**, 175, 121.

CAPÍTULO 4

ESTUDIO Y REACTIVIDAD DE AMINOÁCIDOS SULFURADOS Y ALANINA SOBRE PIRITA (100)

4. ESTUDIO Y REACTIVIDAD DE AMINOÁCIDOS SULFURADOS SOBRE PIRITA (100).

Diversos son los grupos que se han centrado en el estudio de la adsorción de aminoácidos sobre superficies metálicas, mientras que el estudio de superficies minerales permanece mucho más inexplorado.

A mediados del siglo pasado, V. M. Goldschmit y D. Bernal propusieron los minerales como factores esenciales en el origen de la vida. Se centraron principalmente en las arcillas, superficies sobre las cuales podrían haberse concentrado diferentes moléculas orgánicas y servir de catalizadores para la síntesis de biomoléculas. Años después, Wächtershäuser, propuso los sulfuros de hierro, como la pirita, para sostener las ideas mencionadas sobre los minerales y descartar la teoría de la sopa prebiótica, propuesta por Oparin e investigada por Miller y Urey (1).

La pirita (FeS_2) es uno de los minerales más comunes en la Tierra desde sus orígenes y presenta destacables aplicaciones en un gran rango de procesos tecnológicos y geoquímicos. Comprender la reactividad de su superficie es fundamental ya que en ella ocurren importantes y diversas reacciones químicas y biológicas (2-5), además de tener un papel fundamental en el origen de la vida, por consiguiente, tras la realización del estudio exhaustivo de L-cisteína y L-cistina sobre superficies monocristalinas de Cu (110) y Au (111), presentado en el capítulo anterior, estudiamos la interacción de dichas moléculas sobre la superficie de pirita (100).

Pirita es un mineral semiconductor y su estructura electrónica presenta gran interés en biocatálisis y fotovoltaica. Además, su superficie presenta diversos defectos cristalinos, bordes, escalones, dislocaciones, impurezas y vacantes que, dependiendo de los

procesos y tratamientos a los que la pirita sea sometida, pueden variar, modificando sus propiedades electrónicas y su reactividad (4).

La estructura cristalina de la pirita es del tipo red cúbica de NaCl formada por iones Fe^{2+} en los sitios catiónicos y dímeros S_2^{2-} en los sitios aniónicos, alineados a lo largo de la dirección diagonal del cubo $\langle 111 \rangle$. La cara monocristalina (100), empleada en los experimentos descritos en este capítulo, es el plano más estable de la pirita (6).

En nuestras investigaciones, estudiamos como la composición química y la reactividad de la pirita dependen de sus condiciones de preparación y puede dirigir el proceso de adsorción molecular.

4.1 Metodología del tratamiento y caracterización de la superficie de pirita (100) para obtener los patrones de difracción

Hay pocos estudios realizados sobre la caracterización de la superficie de pirita limpia y las condiciones más adecuadas para un efectivo proceso de limpieza de la misma. Algunos grupos de investigación han evaluado los efectos del bombardeo mediante iones de Ar^+ sobre la superficie, así como los posibles daños que, la intensidad del mismo, pueda ocasionar en la estructura de la superficie (2). También se han realizado estudios sobre la reconstrucción de la superficie a través del proceso de calentamiento con el tiempo, obteniéndose, cambios significativos, en función de la temperatura del proceso (6). Basándonos en estudios descritos en la literatura hemos desarrollado un nuevo y eficaz método de limpieza de la superficie de pirita (100) y hemos realizado un estudio detallado sobre los cambios que se producen en función de los ciclos de bombardeo y procesos de calentamiento realizados. Dichos parámetros experimentales modifican la reactividad de la superficie, haciendo posible que la forma química

adsorbida sobre la misma, varíe en función del tratamiento realizado de limpieza y reconstrucción de la superficie.

Las técnicas de análisis empleadas para la caracterización de la superficie limpia han sido LEED y XPS. El estudio de caracterización y preparación de la superficie de pirita se basa en la duración de los procesos de calentamiento (de minutos y horas), observándose diferencias significativas en la composición química de la pirita. Los ciclos de bombardeos también producen cambios significativos en la composición del mineral.

4.1.1 Estudio del proceso de bombardeo

La pirita (100) ha sido limpiada mediante repetidos ciclos de bombardeo con iones de Ar^+ . Los ciclos de bombardeo han tenido una duración de entre 10-20 minutos y se han realizado a distintas energías (500, 650, 700 y 800 eV) para comparar los cambios que este proceso puede producir en la superficie de pirita (véanse figuras 1 y 2). En este estudio no se ha realizado calentamiento posterior al bombardeo con la finalidad de estudiar, únicamente, los cambios en la estructura de pirita ocasionados por el proceso de bombardeo iónico. El proceso de limpieza ha sido caracterizado únicamente por XPS, no observándose patrones de LEED en ningún caso del proceso. Durante el proceso de bombardeo la presión del gas en la cámara fue del orden de $2,5 \times 10^{-5}$ mbar.

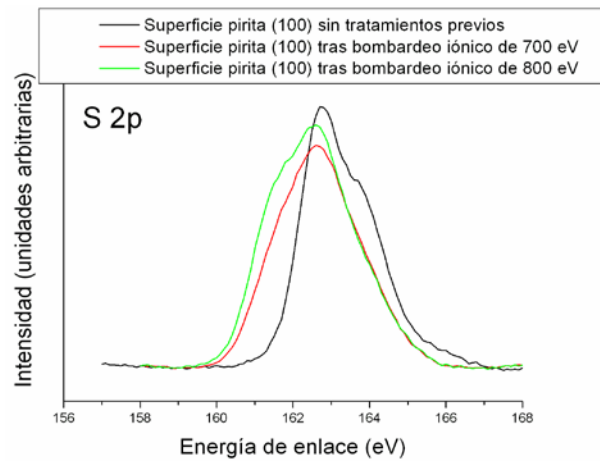


Figura 1. Comparación del espectro XPS de la región de S 2p de la superficie de pirita (100) sin tratamiento de limpieza (línea negra) y la superficie de pirita tras solo ciclos de bombardeo (línea roja a 700 eV y línea verde a 800 eV).

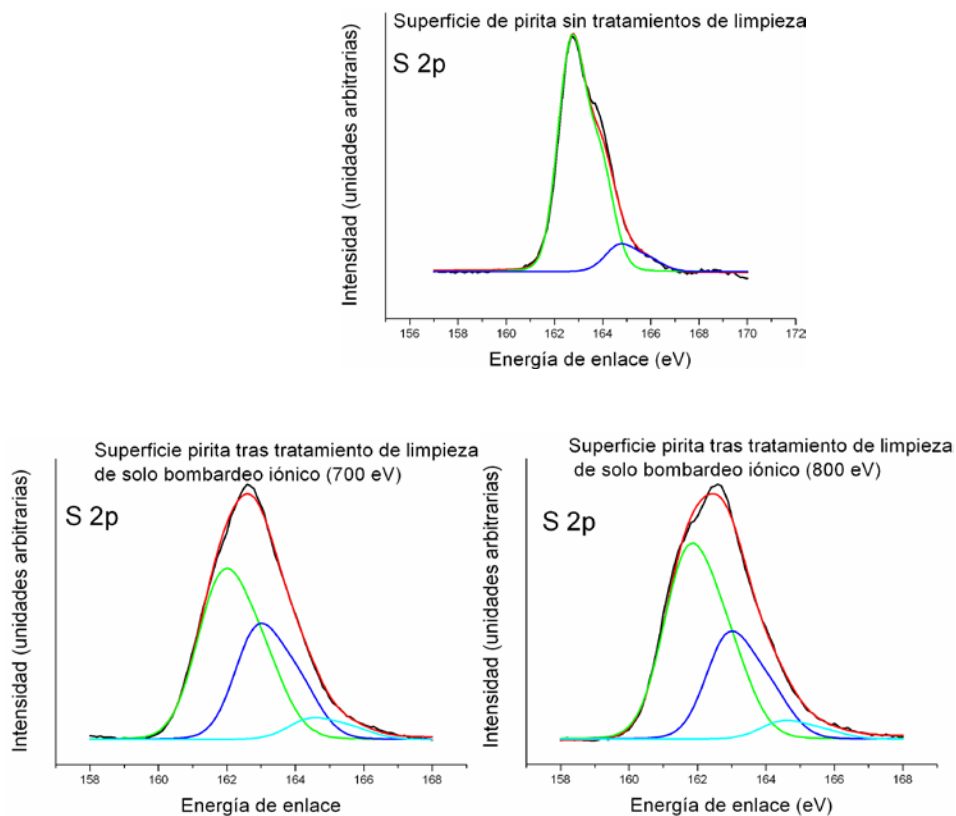


Figura 2. Espectros XPS de las regiones de S 2p de la superficie de pirita (100) sin tratamiento de limpieza, superficie de pirita tras solo ciclo de bombardeo a 700 eV y superficie de pirita tras solo ciclo de bombardeo a 800 eV.

En la figura 2 y tabla 1 se puede observar un detallado análisis del espectro XPS de la región de S 2p para la superficie de pirita (100) sin tratamientos previos de limpieza y para dicha superficie tras ciclos de solo bombardeo.

Tabla 1. Estudio comparativo de las componentes de la región de S 2p de los espectros XPS para el proceso de bombardeo.

| Asignación | S 2p BE (eV) | %Sin tratamiento | %Bombardeo700eV | %Bombardeo 800eV |
|--|--------------|------------------|-----------------|------------------|
| FeS ₂ | 162,7 | 89 | 37 | 32 |
| FeS | 161,7-161,8 | ----- | 56 | 62 |
| Polisulfuros (S _n ²⁻) | 164,4-164,5 | 11 | 7 | 6 |

La superficie de pirita (100) sin tratamientos previos de limpieza (bombardeo / calentamiento) presenta dos componentes: una a 162,7eV asignada al grupo FeS₂ (disulfuros), siendo esta mayoritaria y la segunda componente, minoritaria, aparece a una energía de enlace de 164,7eV correspondiendo a polisulfuros presentes en la pirita natural. Tras el tratamiento de bombardeo se detecta una disminución significativa de estos polisulfuros, siendo mayor la desaparición de los mismos a mayor energía del bombardeo. El proceso de bombardeo hace disminuir la componente de disulfuros (162,7eV) en favor de la aparición de una nueva componente correspondiente a monosulfuros (161,7-161,8 eV). Patrones de LEED no son observados en ninguno de los tres casos. Además la pirita natural sin tratamientos previos de limpieza presenta un pico importante tanto en la región de carbono como de oxígeno debido a la contaminación procedente del aire (exposición a la atmósfera antes de introducir la muestra en el sistema de UHV). Estos picos disminuyen muy significativamente tras el

proceso de bombardeo, lo que confirma que el proceso de limpieza es eficiente (figura 3).

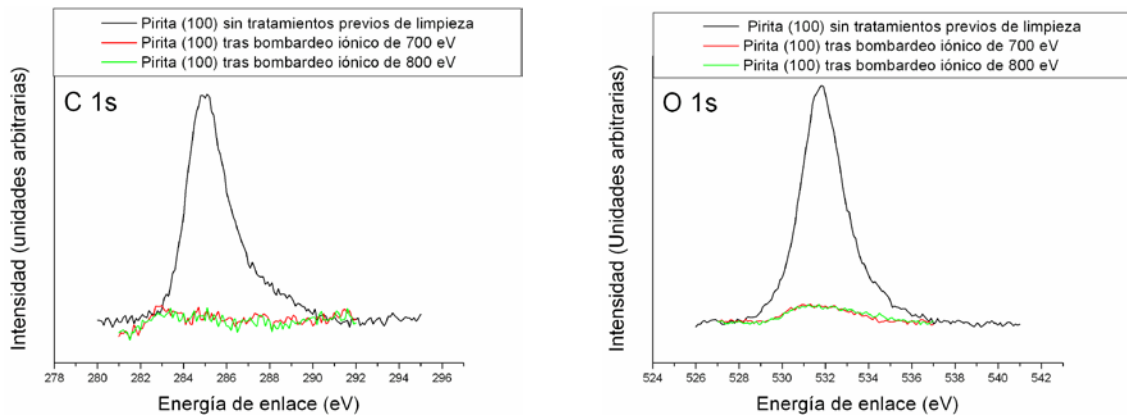


Figura 3. Espectros XPS de las regiones de C 1s y O 1s de la superficie de pirita (100) sin tratamiento de limpieza, superficie de pirita tras solo ciclo de bombardeo a 700 eV y superficie de pirita tras solo ciclo de bombardeo a 800 eV.

Según los datos de energías de enlace y porcentajes de diferentes componentes asignadas de la región de Fe, se observa una disminución de disulfuros en favor de la aparición de una nueva componente correspondiente a monosulfuros cuando el bombardeo es realizado sobre la superficie de pirita (100) (véase figura 4 y tabla 2).

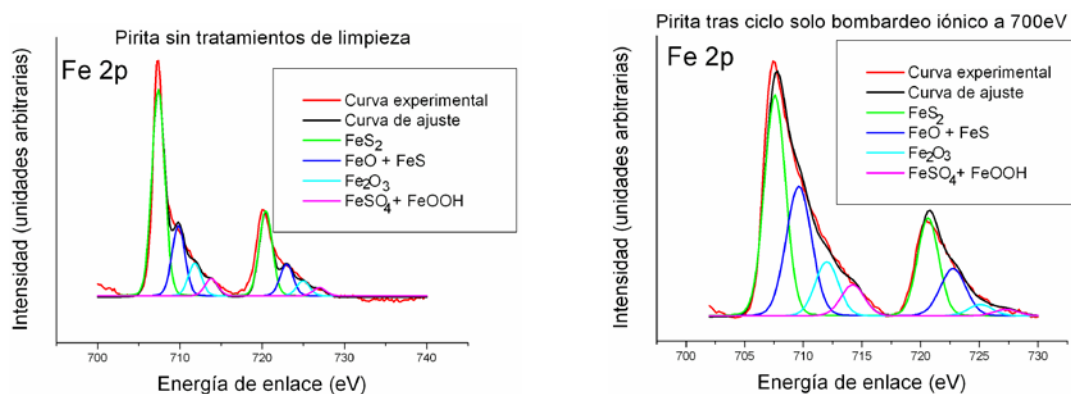


Figura 4. Espectros XPS de la región de Fe 2p de la superficie de pirita (100) sin tratamiento de limpieza y de la superficie de pirita tras solo ciclo de bombardeo a 700 eV. (El espectro XPS de la región de Fe 2p de la superficie de pirita tras solo ciclo de bombardeo a 800 eV (no mostrado) es similar al de bombardeo a 700 eV).

Tabla 2. Estudio comparativo de las componentes de la región de Fe 2p de los espectros XPS para la superficie de pirita (100) durante el proceso de bombardeo.

| Asignación | Fe 2p BE (eV) | Sin tratamiento | tras solo bombardeo |
|--------------------------------|---------------|-----------------|---------------------|
| FeS ₂ | 707,4-707,6 | 62 | 50 |
| FeO + FeS | 709,4-709,8 | 22 (solo FeO) | 33 (FeO + FeS) |
| Fe ₂ O ₃ | 711,8 | 10 | 10 |
| FeSO ₄ / FeOOH | 713,8-714,6 | 6 | 7 |

4.1.2 Estudio del proceso de calentamiento

La pirita (100) ha sido limpiada mediante ciclos repetidos de bombardeo mediante iones Ar⁺ y posterior calentamiento. El bombardeo tiene una duración de 10 minutos y se realiza a un valor de 700 eV de energía. El proceso de calentamiento ha sido realizado a 323°C y nunca sobrepasando los 340°C para evitar la descomposición térmica del mineral y la desaparición irreversible de los patrones ordenados de LEED. Además diferentes procedimientos de preparación de la superficie dependientes del proceso de calentamiento han sido realizados (10 minutos, 5 horas, 10 horas y 15 horas), los cuales afectan a la composición química de la superficie y a la presencia o ausencia de patrones de difracción en la superficie confirmado mediante LEED y el proceso de preparación fue caracterizado espectroscópicamente usando XPS.

En este apartado describimos, por tanto, la correlación existente entre una superficie de pirita (100) bien ordenada, confirmada por la presencia de los patrones del LEED (1x1), y la duración del proceso de calentamiento al que sometemos a la superficie. Nuestra

metodología basada en estudios previos al método de limpieza ya descrito por Moslemzdeh y Chaturverdi (2, 7) demuestran que el proceso de calentamiento a tiempos cortos de la superficie de pirita (inferiores a 3 horas) no muestran patrones de difracción del LEED. Sin embargo, tiempos más largos de calentamiento (5, 10 o 15 horas) muestran un patrón de difracción (1x1) bien definido de la superficie monocristalina de pirita (100) (figura 5), estos estudios han sido correlacionados con medidas espectroscópicas de XPS.

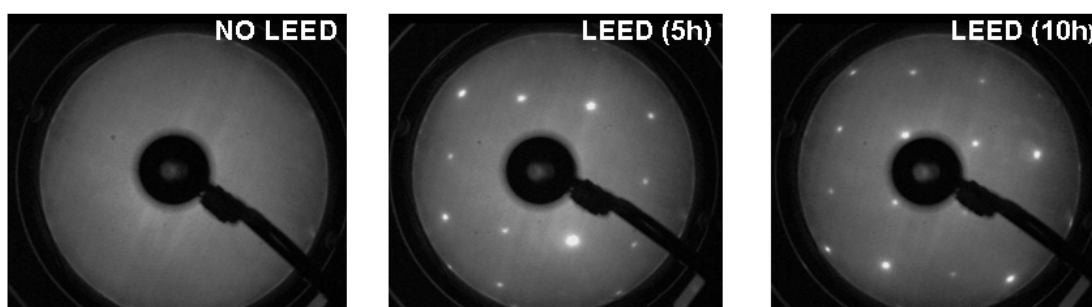


Figura 5. Comparación de patrones de LEED de la superficie de pirita (100) tomados a 100 eV antes de la aparición del LEED, la superficie de pirita (100) fue sometida a una temperatura de 323°C durante 10 minutos, y tras 5 y 10 horas a 323°C, tiempo de duración del proceso que permite la aparición de los patrones de difracción.

Como ya se ha comentado, el proceso también fue estudiado por XPS. La forma del pico de azufre en los análisis, muestra la característica más destacable del procedimiento de preparación y, su estudio exhaustivo, a los diferentes tiempos, es clave para comprender los cambios químicos inducidos por el proceso de calentamiento. Se observa un importante desplazamiento de las componentes de azufre a medida que el tiempo de calentamiento es incrementado. La principal componente del espectro de S 2p muestra un desplazamiento a energías de enlace más altas relacionado con la aparición de los patrones del LEED y, por tanto, con el aumento del orden de la superficie (figura 6).

Un detallado análisis del espectro XPS de la región de Fe 2p presenta tres componentes a 707,4, 709,8 y 712,2 eV asignadas a FeS₂, FeS+FeO y Fe₂O₃ respectivamente. Durante el proceso de calentamiento, en la región Fe 2p aparecen las mismas tres componentes en los tres casos (10 minutos, 5 horas y 10 horas) observándose diferencias en el ratio de las componentes. Aumentando el porcentaje de la componente de FeS₂ y disminuyendo el porcentaje de las otras dos componentes según el tiempo de calentamiento es incrementado. (Véase tabla 3)

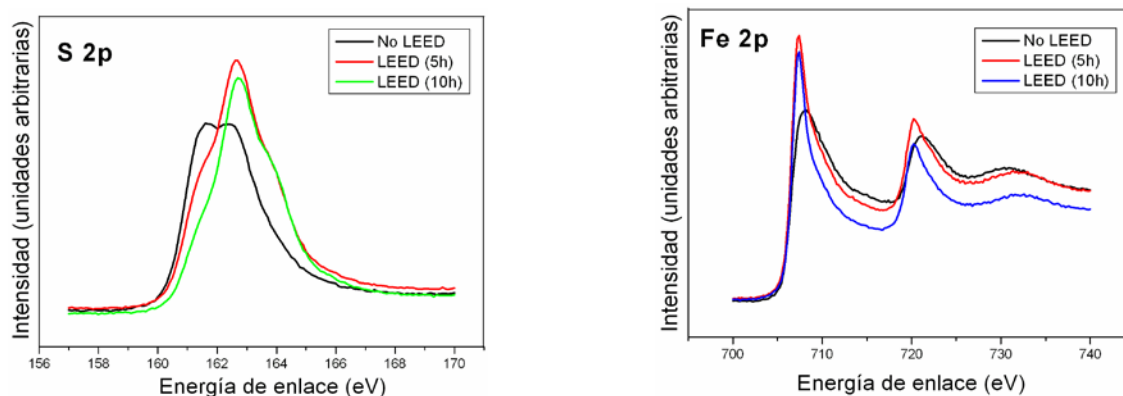


Figura 6. Comparación de los espectros XPS de las regiones de S 2p y Fe 2p de la pirita (100) tomados antes de la aparición de los patrones de LEED (tras proceso de preparación de la superficie y calentamiento de 10 min a 323°C) y después de 5 y 10 horas de calentamiento a 323°C, de la superficie de pirita (100) cuando los patrones de LEED son observados.

Por otro lado, el pico de azufre muestra tres componentes. La primera componente a 161,3 eV es asignada al FeS. La principal componente a 162,2 eV correspondería al FeS₂ (61%), la cual está en buen acuerdo con la literatura (8-9). La tercera componente a 164,4 eV es asignada a especies polisulfuros (enlaces S-S) presentes en la pirita natural. (Véase tabla 4)

Tabla 3. Estudio comparativo de las componentes de la región de Fe 2p de los espectros XPS para la superficie de pirita (100) durante el proceso de preparación de la superficie a distintos tiempos de calentamiento.

| Asignación | Fe 2p BE (eV) | % (NO LEED) | % (LEED 5h) | % (LEED 10h) |
|--------------------------------|---------------|-------------|-------------|--------------|
| FeS ₂ | 707,4 | 65 | 72 | 77 |
| FeS + FeO | 709,8 | 28 | 21 | 17 |
| Fe ₂ O ₃ | 712,2 | 7 | 7 | 6 |

Tabla 4. Estudio comparativo de las componentes de la región de S 2p de los espectros XPS para la superficie de pirita (100) durante el proceso de preparación de la superficie a distintos tiempos de calentamiento.

| Asignación | S 2p BE (eV) | % (NO LEED) | % (LEED 5h) | % (LEED 10h) |
|------------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| FeS | 161,3 | 34 | 22 | 18 |
| FeS ₂ | 162,2-162,6 | 61 | 73 | 76 |
| Polisulfuros | 164,6-164,9 | 5 | 5 | 6 |

Para comprender mejor los cambios inducidos en la superficie de pirita, la distribución de las especies de S y Fe a lo largo del proceso de calentamiento han sido representadas (figura 7). Respecto a las especies de azufre, la componente que aparece a 161,3 eV, asignada a las especies de FeS, parcialmente desaparece en favor de la componente principal a 162,2 eV, asignada a las especies de FeS₂. Sin embargo, la tercera componente a 164,9 eV, asignada a los polisulfuros, continúa invariable. En cuanto a las especies de hierro, al incrementar los tiempos de calentamiento se observa, por un lado, un incremento de la señal a 707,4 eV (FeS₂) y, por otro lado, una disminución de la

señal a 709,8 eV (FeS). Este resultado está en buen acuerdo con los resultados de XPS para la región de azufre. Finalmente, la señal de Fe_2O_3 a 712,2 eV permanece relativamente constante a los diferentes tiempos de calentamiento.

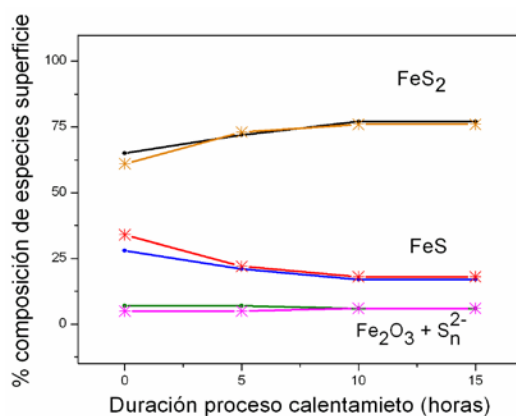


Figura 7. Distribución de especies de S (*) y Fe (.) a lo largo del proceso de calentamiento.

Por tanto, podemos confirmar que el proceso de calentamiento de la superficie a tiempos largos (5 y 10 horas) induce cambios drásticos en la forma del espectro del S 2p. Favorece la conversión de especies monosulfuras (FeS) a especies disulfuras (FeS₂). A su vez, el incremento de las especies disulfuras a largos tiempos de calentamiento inducen la aparición de un patrón ordenado de LEED (1x1) bien definido. El desplazamiento del pico de azufre a mayores energías de enlace es una prueba significativa y concluyente de que el fenómeno está sucediendo. El balance entre ambas especies es conducido por los tiempos de calentamiento, el cuál ha sido espectroscópicamente cuantificado y caracterizado. Tiempos de calentamiento superiores a 10 horas no muestran cambios significativos en el espectro de XPS, indicando que las especies químicas permanecen invariables.

Los ciclos de bombardeo conllevan la ruptura de los grupos disulfuros dando lugar a la aparición de monosulfuros que ocasionan la presencia de vacantes de azufre (10-12). Es

necesario un proceso de calentamiento largo (al menos 5 horas) para volver a reemplazar los dímeros de azufre (S_2^{2-}) regenerando las especies FeS_2 e induciendo la aparición de orden en la superficie (13). La presencia de vacantes de azufre o de dímeros de azufre en la superficie de pirita, va a ser clave en el proceso de adsorción de moléculas sobre la misma, son, de hecho, estas características de la pirita, las que dictaminaran su reactividad molecular.

4.2 Metodología para estudiar las implicaciones químicas de la superficie de pirita (100) mediante adsorción de aminoácidos

Hemos realizado un estudio riguroso de la adsorción, sobre la superficie monocristalina de pirita (100), de los aminoácidos L-cistina, L-cisteína, L-metionina y L-alanina, los cuáles son bloques biológicos esenciales para la formación de las proteínas de los seres vivos. Las técnicas empleadas han sido espectroscopia de fotoemisión de rayos X y difracción de electrones de baja energía (LEED). A través del uso de dichas técnicas y dentro del contexto de química prebiótica, hemos realizado un estudio comparativo de la interacción de estos cuatro aminoácidos sobre la misma superficie mineral.

Un aminoácido puede ser adsorbido sobre una superficie en su forma aniónica ($NH_2-R-COO^-$), catiónica ($NH_3^+-R-COOH$), zwitterionica ($NH_3^+-R-COO^-$) o en su forma neutra ($NH_2-R-COOH$). Aunque las formas zwitterionica y aniónica han sido las más frecuentemente descritas (14), no existe, a priori, una regla para decidir si un aminoácido debería desprotonarse o no en contacto con una superficie. El principal objetivo de nuestros estudios es, por tanto, tratar de demostrar que, tanto el proceso de tratamiento previo de la superficie de estudio así como la estructura química diferente

del aminoácido empleado, pueden afectar a la forma química adsorbida y al punto de anclaje de la molécula con la superficie.

Los aminoácidos están formados por un grupo ácido (COOH) y un grupo amino (NH₂). Ambos grupos funcionales pueden estar involucrados en la interacción con la superficie. Algunos aminoácidos, como metionina, cisteína o cistina, además, disponen de un azufre en su cadena. Este azufre también puede contribuir en el enlace con la superficie (14). Numerosos son los estudios que han mostrado la fuerte afinidad que el átomo de azufre tiene por diferentes superficies metálicas, siendo un punto clave para el anclaje de proteínas más largas (15).

Para continuar con las investigaciones ya realizadas en el capítulo anterior y poder extrapolarlas a la superficie de pirita monocristalina (100) hemos comenzado estudiando el aminoácido cistina, seguido de su monómero cisteína. Tras los resultados observados, ha sido interesante contrastar la información obtenida con otros dos aminoácidos: L-metionina, aminoácido con un grupo azufre intercalado en su cadena y alanina, aminoácido quiral más sencillo, sin grupos azufre en su estructura química. De este modo realizamos una comparación exhaustiva entre cuatro aminoácidos, tres de ellos con grupos azufre y uno con estructura similar a la cisteína pero sin la presencia del grupo tiol (SH). Tratando de comprobar si la presencia del átomo de azufre en la estructura molecular y su forma como tiol (SH) o puente disulfuro (S-S), pueden afectar al modo de adsorción de la molécula sobre el mineral o si, por el contrario, el único factor determinante en el modo de adsorción es la estructura química de la superficie.

4.2.1 Adsorción de L-cistina sobre superficie monocristalina de pirita (100)

Cistina es un aminoácido dimérico formado por la oxidación de dos moléculas de cisteína que se unen covalentemente a través de un puente disulfuro. Debido a que facilita la formación de enlaces disulfuro entre aminoácidos, cistina es un componente clave para la estabilización de la estructura terciaria de las proteínas jugando un papel clave en su plegamiento y funciones. Además del puente disulfuro, cistina, dispone de dos diferentes grupos funcionales en su estructura (grupo amino y grupo ácido) que, al igual que el puente disulfuro, pueden también estar involucrados en la interacción de la molécula con la superficie (véase figura 8).

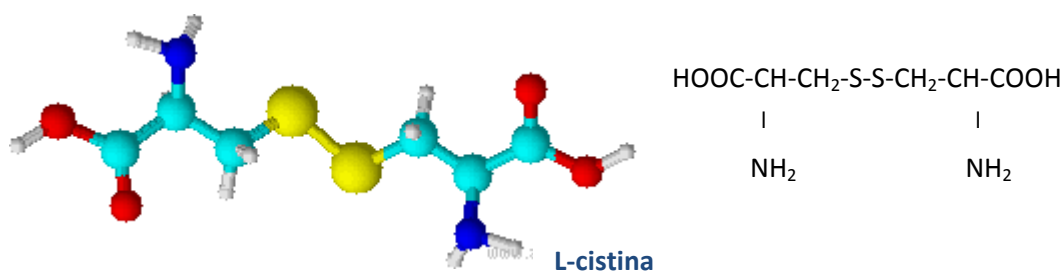


Figura 8. Esquema de la estructura química de L-cistina.

Para estudiar cómo las vacantes de azufre o los dímeros de azufre de la superficie de pirita (100), que surgen en las distintas etapas del tratamiento previo de la superficie, pueden afectar, en su reactividad y en la adsorción de moléculas sobre ella, hemos realizado un estudio detallado y exhaustivo del aminoácido L-cistina adsorbido sobre la superficie de pirita (100). Una vez la pirita (100) ha sido sometida a los tratamientos de bombardeo iónico y calentamiento, descritos en el apartado 4.1, la molécula de L-cistina fue depositada sobre la superficie. Llevándose a cabo los siguientes estudios:

1) Superficie limpia tras ciclos de 10 min de bombardeo iónico / calentamiento durante 10 min. No se observan patrones de ordenamiento de LEED. En los análisis XPS de la

región de S el pico principal aparece a 161,3 eV (monosulfuros predominantes) + *L-cistina evaporada desde UHV durante 1hora.*

2) Superficie limpia tras ciclos de 10 min de bombardeo iónico y calentamiento durante 5 horas. Se observan patrones de LEED. En los análisis XPS de la región de S el pico principal aparece a 162,2-162,6 eV (disulfuros predominantes) + *L-cistina evaporada desde UHV durante 1hora.*

3) Superficie limpia tras ciclos de 10 min de bombardeo iónico y calentamiento durante 10 horas. Se observan patrones de LEED. En los análisis XPS de la región de S el pico principal aparece 162,2-162,6 eV (disulfuros predominantes) + *L-cistina evaporada desde UHV durante 1hora.*

Estos mismos estudios han sido realizados para L-cisteína, L-metionina y L-alanina, cuyos resultados serán presentados en los apartados siguientes.

El análisis de los espectros de XPS de L-cistina evaporada desde UHV sobre la superficie de pirita (100), para los tres casos de estudio, revela la presencia de carbono, oxígeno y nitrógeno, indicando que, el aminoácido fue exitosamente depositado sobre la superficie. El mejor ajuste de la curva para la región de C 1s fue obtenido para dos contribuciones. La primera fue identificada a una energía de enlace de 286,1 eV asignada a los grupos C-S y C-N (16-17), la segunda fue observada a 288,7 eV y atribuida a los grupos COOH y COO⁻ (18). La intensidad del ratio entre las dos componentes fue 2:1 (CS+CN: COO⁻ o COOH) en buen acuerdo con la fórmula química de la molécula. El pico de oxígeno muestra también dos componentes. Una componente principal a 532,0 eV, asignada al oxígeno del grupo COO⁻ y una componente de menor intensidad a 533,9 eV atribuida al grupo COOH (figura 9) (19-21).

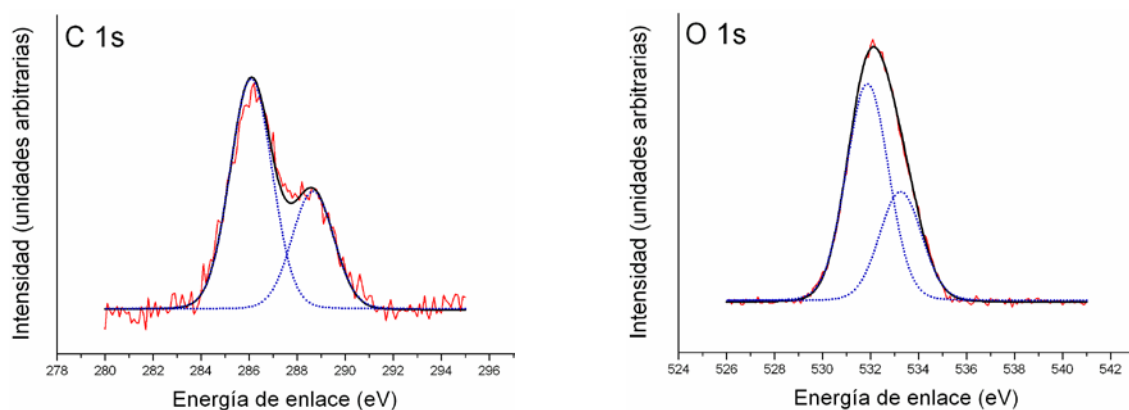


Figura 9. Espectros XPS de C 1s y O 1s de L-cistina adsorbida desde UHV sobre la superficie de pirita (100) la cual no presentaba patrones de LEED tras el proceso de tratamiento de la superficie.

Los espectros XPS de L-cistina adsorbida sobre las superficies de pirita limpias tras 5 y 10 horas de calentamiento no son mostrados ya que son similares a los presentados.

La característica más significativa la observamos en la región de nitrógeno. Debido a la preparación de la superficie mediante proceso de calentamiento a diferentes tiempos de duración, el pico de nitrógeno muestra destacables diferencias. En los tres casos, dos componentes son observadas en la región de nitrógeno, pero el porcentaje de estas componentes cambia significativamente en función de la duración del calentamiento al que fue sometida la superficie de pirita durante el tratamiento de preparación de la superficie (véase figura 10).

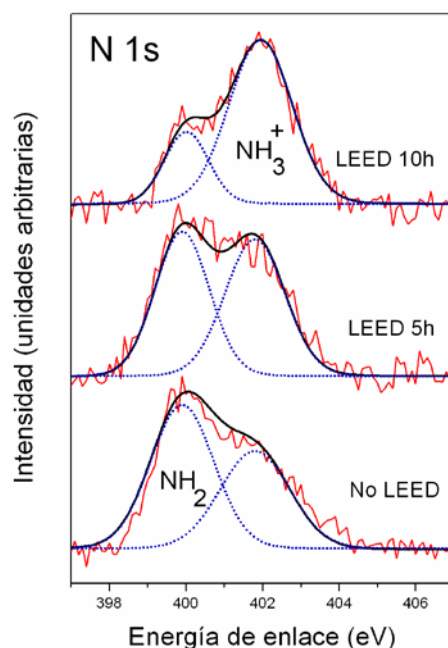


Figura 10. Comparación de los espectros de XPS de la región de N 1s para cistina adsorbida sobre la superficie de pirita (100) pretratada a diferentes tiempos de calentamiento. (Línea roja: curva experimental, línea negra: curva de ajuste, línea de puntos: componentes).

La figura 10 muestra el espectro de fotoemisión de la región de N 1s de cistina sobre la superficie de pirita (100). Se observan cambios significativos en la intensidad de cada componente de la región de nitrógeno para los estudios realizados de pretratamiento de la superficie a diferentes tiempos de calentamiento (10 min, 5 horas y 10 horas). El mejor ajuste para las regiones de N 1s fue obtenido para dos contribuciones. a 400,0 y 402,0 eV de energías de enlace, las cuales fueron asignadas al grupo NH_2 y al grupo NH_3^+ respectivamente (16, 19, 21-22).

La intensidad de la componente asignada al grupo NH_2 de la molécula decrece a favor de la componente asignada al grupo NH_3^+ al incrementarse la duración del proceso de calentamiento a los que fue sometida la superficie de pirita para su tratamiento y previo a la adsorción de la molécula sobre ella. La intensidad de la componente NH_2 decrece desde un valor de 57% a un valor de 27%, mientras que la componente NH_3^+ se incrementa desde un 43% a un 77%. Por lo tanto, la duración del proceso de

calentamiento de la superficie, modifica su estructura, lo que induce un cambio en los grupos funcionales de las moléculas al adsorberse en la superficie. Los resultados de XPS del sistema cistina / pirita confirman los cambios químicos inducidos por el proceso de calentamiento y, claramente, tiempos largos de calentamiento (5h y 10h) favorecen la protonación del grupo NH_2 (NH_3^+) de la molécula de cistina. El pico de O 1s también presenta algunos cambios aunque menos significativos que los observados en la región de nitrógeno. La componente que aparece a mayor energía de enlace en la región de oxígeno, asociada a los grupos COOH, incrementa su intensidad desde un 27% a un 37%, mientras que la contribución de la componente COO^- decrece de un 73% a un 63% cuando la superficie de pirita fue sometida a ciclos de calentamiento durante 10 horas antes de depositar la molécula sobre su superficie. En la región de carbono no se observan cambios y la intensidad de los ratios de las dos componentes de carbono permanece constante para los tres casos estudiados (tabla 5).

Tabla 5. Estudio comparativo de los picos de C 1s, N 1s y O 1s y la identificación (asignación) de sus componentes para el sistema cistina / pirita durante el proceso a diferentes tiempos de pretratamiento de la superficie a diferentes tiempos de calentamiento.

| | No LEED | | LEED 5h | | LEED 10h | | |
|----------|---------|-----------|---------|-----------|----------|-----------|-----------------------|
| Elemento | BE | % | BE | % | BE | % | Asignación |
| C | 286,1 | 64 | 286,1 | 64 | 286,4 | 62 | C-S y C-N |
| | 288,7 | 36 | 288,7 | 36 | 288,8 | 38 | COOH o COO^- |
| O | 532,0 | 67 | 532,0 | 64 | 532,0 | 63 | COO^- |
| | 533,8 | 33 | 533,9 | 36 | 533,9 | 37 | COOH |
| N | 399,9 | 57 | 400,0 | 51 | 400,0 | 23 | NH_2 |
| | 401,8 | 43 | 402,1 | 49 | 402,0 | 77 | NH_3^+ |

4.2.2 Adsorción de L-cisteína sobre superficie monocristalina de pirita (100)

El proceso de tratamiento previo de la superficie para la adsorción molecular realizado fue similar al presentado en el apartado 4.1, obteniéndose idénticos resultados.

Tras el análisis de L-cistina (S-S) sobre la superficie de pirita monocristalina (100), vamos a estudiar su monómero, L-cisteína. En este caso el grupo azufre se encuentra como tiol en el extremo de la cadena (SH).

Mediante este estudio analizaremos cómo la diferencia de los grupos funcionales con átomo de azufre (S-S y SH) y la menor complejidad de la molécula (monómero frente a dímero) puede afectar en la forma de adsorción de la molécula o, si por el contrario, la forma química del aminoácido adsorbido sobre la superficie depende del proceso de preparación previo de esta y por tanto de la estructura y composición química de la superficie.

L-cisteína es un aminoácido con un grupo SH en el extremo de su cadena (véase figura 11). Este grupo tiol es nucleofílico y fácilmente oxidable y es esta alta reactividad la causante de que este aminoácido presente numerosas funciones biológicas, como la estabilización de la estructura terciaria de las proteínas mediante la formación de disulfuros o su participación en catálisis enzimática facilitando reacciones redox, hidrólisis y alquilaciones. Participa también en el transporte y almacenamiento de iones metálicos de transición, en la formación de sitios catalíticos, estructurales y de transporte electrónico metal-azufre, además de ser una importante fuente de azufre en el metabolismo humano.

Todas estas propiedades hacen del grupo tiol SH un importante tema de estudio. Estudiamos si la forma química del aminoácido adsorbido sobre la superficie depende únicamente del proceso de preparación de la superficie de pirita o si la posición del

átomo de azufre dentro de la estructura química de la molécula también afecta al proceso de adsorción molecular.

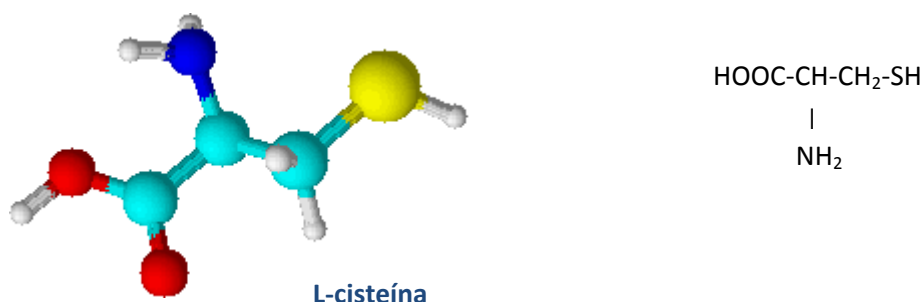


Figura 11. Esquema de la estructura química de la molécula L-cisteína.

El estudio riguroso llevado a cabo mediante espectroscopia XPS de L-cisteína evaporada desde UHV sobre la superficie de pirita (100), para los tres casos de estudio, presenta algunas diferencias significativas con respecto a su dímero adsorbido sobre la misma superficie.

El aminoácido cisteína fue exitosamente depositado sobre la superficie en todos los casos, resultado que es confirmado por la presencia de pico de carbono, oxígeno y nitrógeno en todos los espectros y cuyas proporciones corresponden a la estequiometría de la molécula estudiada.

La región de carbono fue ajustada a dos componentes, la primera a una energía de enlace de 286,2 eV correspondiente a los grupos C-S y C-N, la segunda aparece a 288,8 eV, asignada a los grupos COOH o COO⁻. La intensidad del ratio entre ambas componentes es 2:1 (CS+CN : COOH o COO⁻), en buen acuerdo con la estequiometría de la molécula. En la región de oxígeno se observa la primera diferencia con respecto a su dímero. En este caso, el mejor ajuste corresponde a una sola componente a 531,7eV de energía de enlace, asignada al grupo carboxilato (COO⁻) (figura 12). En el caso de la

cisteína, por tanto, el grupo ácido no está presente en ninguno de los casos estudiados mientras que, en el caso anterior, la cistina si presentaba el grupo COOH al adsorberse sobre pirita (véase figura 9).

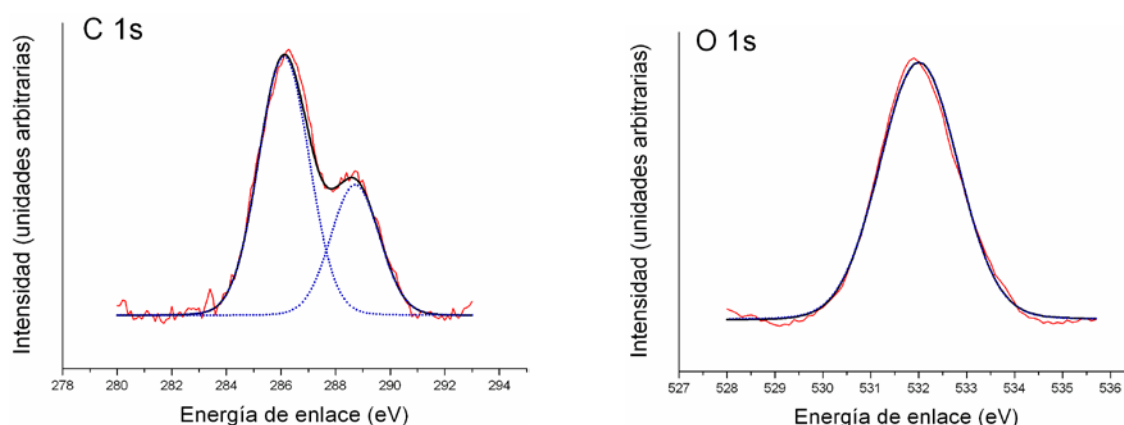


Figura 12. Espectros XPS de C 1s y O 1s de L-cisteína adsorbida desde UHV sobre la superficie de pirita (100) la cual no presentaba patrones de LEED tras proceso de 10 minutos de calentamiento.

Los espectros XPS de L-cisteína adsorbida sobre las superficies de pirita limpias tras 5 horas de calentamiento (que presentaba LEED) y tras 10 horas (que presentaba LEED) no son mostrados ya que son similares a los presentados.

En la región de nitrógeno, al igual que ocurría en el caso anterior de L-cistina, observamos el cambio más significativo (véase figura 13). Dos componentes son observadas en esta región pero, la presencia o ausencia de patrón de LEED en la superficie, resultado del tratamiento previo que se haya realizado a la superficie de pirita, modifica significativamente los porcentajes de las especies químicas adsorbidas. Cuando, tras el proceso de limpieza, la superficie no presenta LEED, la componente mayoritaria aparece a 400,1 eV y corresponde al grupo NH_2 . Sin embargo, tras un proceso de calentamiento de 5 horas y 10 horas, lo que da lugar a la aparición del patrón

de LEED, la componente mayoritaria pasa a ser el grupo amino protonado (NH_3^+) (401,9 eV). En el caso del monómero se pasa de un 27% de grupo amino protonado (NH_3^+) a un 57%. En el caso anterior del dímero se parte de mayor concentración de grupo amino protonado, 43%, y se alcanza un 77%. Siendo el incremento en ambos casos de \approx un 30%. Además, la superficie se comporta de igual modo, una vez obtenido el patrón de LEED, independientemente de la duración del proceso de calentamiento (5 o 10 h). Adsorbiéndose los mismos porcentajes de una forma química u otra sobre la superficie sometida a 5 o 10 horas de calentamiento.

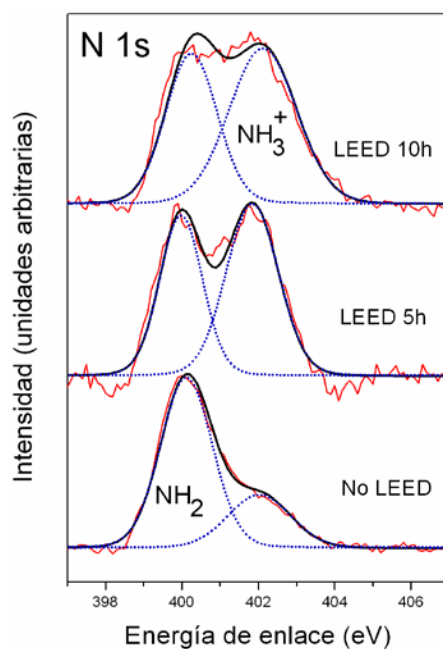


Figura 13. Comparación de los espectros XPS de la región de N 1s para L-cisteína adsorbida sobre la superficie de pirita (100) para diferentes tiempos durante el proceso de calentamiento. (Línea roja: curva experimental, línea negra: curva ajuste, línea de puntos: componentes).

La figura 13 muestra el espectro de fotoemisión de la región de N 1s de L-cisteína sobre la superficie de pirita (100). Se observan cambios significativos en la intensidad de cada componente, de la región de nitrógeno, de la molécula adsorbida, tras el proceso de limpieza y preparación de la superficie para 10 minutos y 5 horas de calentamiento. Pero, al cabo de 10 horas de calentamiento de la superficie, durante el proceso de

preparación de la superficie, parece que, tras adsorber la molécula, los cambios en las componentes permanecen invariables respecto a los resultados obtenidos para 5 h de calentamiento.

La intensidad de la componente asignada al NH_2 de la molécula decrece en favor de la componente asignada al NH_3^+ según se incrementa la duración del proceso de calentamiento, de 10 minutos a 5 h, a los que fue sometida la superficie de pirita para su limpieza y tratamiento previo a la adsorción de la molécula sobre ella. La intensidad de la componente NH_2 decrece desde un 73% a un 43%, mientras que la componente NH_3^+ se incrementa desde un 27% a un 57% y estos porcentajes se mantienen constantes a partir de las 5 h de calentamiento. Por lo tanto, los estudios de adsorción realizados con L-cisteína vuelven a confirmarnos que, el proceso de calentamiento como proceso de preparación de la superficie, modifican la interacción de las moléculas adsorbidas sobre ella, predominando la forma química de zwitterion respecto a la del anión, aunque este cambio sea menos acusado para el caso del monómero (L-cisteína) que para el caso anterior del dímero (L-cistina). En la región oxígeno y de carbono no se detectan cambios, observándose una única componente de oxígeno durante todo el proceso y manteniéndose constante la intensidad de los ratios de las dos componentes de carbono para los tres casos estudiados (véase tabla 6).

Tabla 6. Estudio comparativo de los picos de C 1s, N 1s y O 1s y el ajuste de sus componentes para el sistema L-cisteína / pirita durante el proceso de pretratamiento de la superficie a diferentes tiempos de calentamiento.

| | No LEED | | LEED 5h | | LEED 15h | | |
|----------|---------|-----|---------|-----|----------|-----|------------------------------|
| Elemento | BE | % | BE | % | BE | % | Asignación |
| C | 286,1 | 67 | 286,3 | 65 | 286,3 | 62 | C-S, C-N |
| | 288,7 | 33 | 288,9 | 35 | 288,9 | 38 | COOH o COO ⁻ |
| O | 532 | 100 | 531,6 | 100 | 531,5 | 100 | COO ⁻ / Óxidos |
| N | 400,1 | 73 | 400 | 43 | 400,2 | 43 | NH ₂ |
| | 402 | 27 | 401,8 | 57 | 402,1 | 57 | NH ₃ ⁺ |

4.2.3 Adsorción de L-metionina sobre superficie monocristalina de pirita (100)

Metionina es, junto a cisteína, uno de los dos aminoácidos proteínogénicos que contienen azufre en su estructura química. Está formada por un enlace tioéster (R-S-R) (véase figura 14). A diferencia de la cisteína que está formada por un grupo tiol (SH). Estas características les confieren propiedades químicas distintas. Metionina es un aminoácido alifático con un grupo R no polar (grupo CH₃), por el contrario, cisteína está formada por un grupo R polar, sin carga (grupo H).

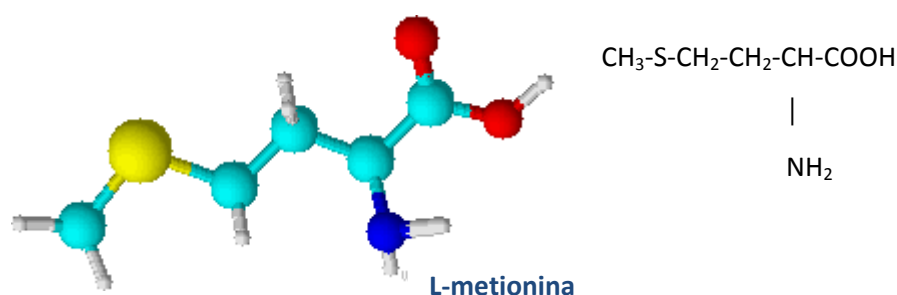


Figura 14. Fórmula de la estructura química de la molécula de L-metionina.

El análisis de los espectros de XPS realizados para el sistema L-metionina / pirita (100), para los tres casos de estudio, revela la presencia de carbono, oxígeno y nitrógeno, indicando que, el aminoácido no se fragmenta durante el proceso de evaporación, adsorbiéndose exitosamente sobre la superficie. El mejor ajuste para la región de carbono corresponde a dos componentes. La primera componente tiene una energía de enlace de 286,0 eV siendo atribuida a los grupos C-S, C-N y C-C. La segunda componente aparece a una energía de enlace de 288,8 eV y es asignada a los grupos COOH o COO⁻. La intensidad del ratio entre ambas componentes es 3:1, en buen acuerdo con la formula química de la molécula. En la región de oxígeno, al igual que ocurría con L-cistina, dos componentes son observadas. La primera y mayoritaria a 532,0 eV siendo atribuida al grupo carboxilato (COO⁻). La segunda componente aparece a 533,9 eV y es atribuida al grupo ácido sin desprotonar (COOH) (Véase figura 15).

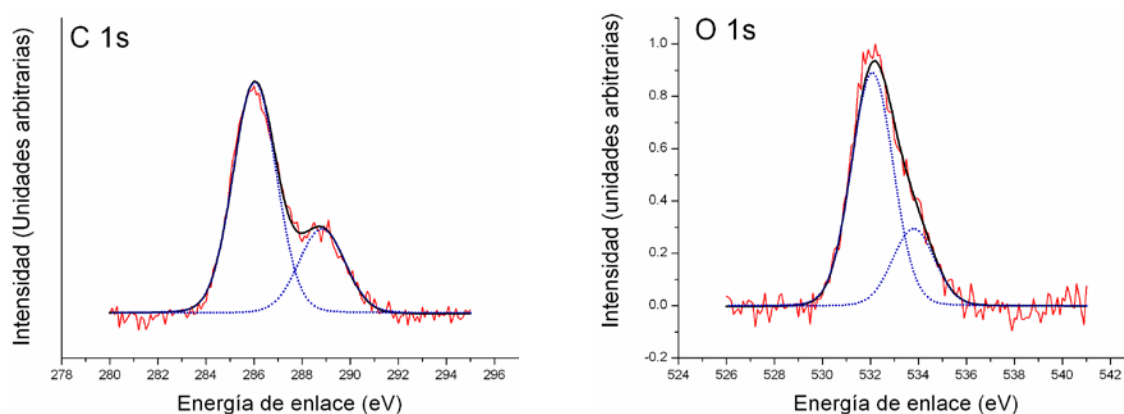


Figura 15. Espectros XPS de C 1s y O 1s de L-metionina adsorbida desde UHV sobre la superficie de pirita (100) la cual presentaba patrón de LEED tras 10 horas de calentamiento.

Los espectros XPS de L-metionina adsorbida sobre las superficies de pirita limpias tras 5 horas de calentamiento (que presentaba LEED) y tras 10 minutos (que no presentaba patrón de LEED) no son mostrados ya que son similares a los presentados.

En la región de nitrógeno también se observan dos componentes, una mayoritaria a 401,9 eV correspondiente al grupo amino protonado (NH_3^+) y una segunda, minoritaria, a 400,1eV asignada al grupo amino sin protonar (NH_2). En este caso, no se observan cambios significativos en la forma química de la molécula adsorbida, que pudieran ser debidos a la reactividad de la pirita tras su proceso de limpieza y preparación de la superficie en función de los diferentes tiempos de calentamiento. Los porcentajes de todas las componentes de la molécula, de cada región (C, N, O), permanecen invariables a pesar de tener lugar el proceso de preparación previa de la superficie mediante calentamiento y observarse la aparición o ausencia de patrones de LEED sobre la superficie (véase figura 16).

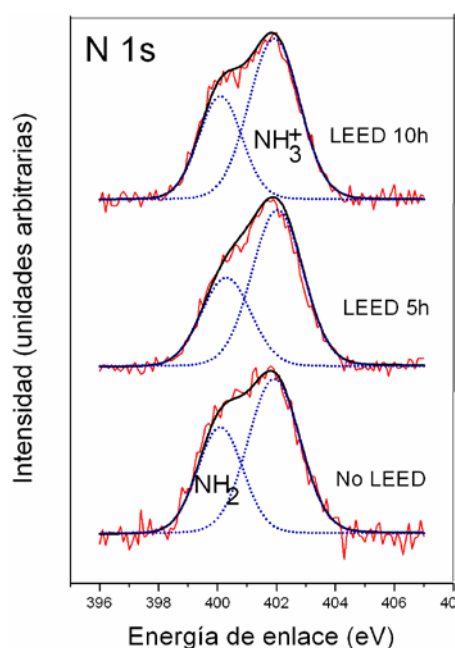


Figura 16. Comparación de los espectros XPS de la región de N 1s para L-metionina adsorbida sobre la superficie de pirita (100) durante el proceso a diferentes tiempos de calentamiento. (Línea roja: curva experimental, línea negra: curva de ajuste, línea de puntos: componentes).

La figura 16 muestra el espectro de fotoemisión de la región de N 1s de L-metionina sobre la superficie de pirita (100). No se observan cambios significativos en la intensidad de cada componente, de la región de nitrógeno, de la molécula adsorbida, tras

el proceso de limpieza y preparación de la superficie para 10 minutos, 5 horas y 10 horas de calentamiento. La intensidad de los picos de las componentes NH_2 y NH_3^+ se mantienen constantes siendo de un 36% y un 64% respectivamente durante todo el proceso. Cabe destacar que la componente mayoritaria adsorbida es el grupo amino protonado (NH_3^+) durante todo el proceso (véase tabla 7). Por lo tanto, L-metionina no se comporta de igual modo que los otros aminoácidos estudiados, pero, si nos confirma que, cuando de partida, el porcentaje de grupo amino protonado es mayoritario, no se observa un comportamiento de variación de la intensidad de los picos de NH_2 y NH_3^+ con el proceso de preparación de la superficie mediante calentamiento.

El aminoácido metionina ya se adsorbe inicialmente como zwitterion en otras superficies como Au (23, 24). Por tanto, al contrario que los aminoácidos previamente estudiados, no se observa el hecho de la protonación del grupo NH_2 a NH_3^+ con el tratamiento de preparación de la superficie mediante calentamiento a 323°C durante varias horas, factor crítico en los casos anteriores.

Tabla 7. Estudio comparativo de los picos de C 1s, N 1s y O 1s y el ajuste de sus componentes para el sistema L-metionina / pirita durante el proceso de pretratamiento de la superficie a diferentes tiempos de calentamiento.

| | No LEED | | LEED 5h | | LEED 10h | | |
|----------|---------|-----------|---------|-----------|----------|-----------|------------------------------|
| Elemento | BE | % | BE | % | BE | % | Asignación |
| C | 286 | 73 | 286 | 71 | 286 | 72 | C-S, C-N, C-C |
| | 288,9 | 27 | 288,8 | 29 | 288,8 | 28 | COOH o COO ⁻ |
| O | 531,8 | 77 | 532,2 | 74 | 532,1 | 75 | COO ⁻ |
| | 533,9 | 23 | 534,1 | 26 | 533,8 | 25 | COOH |
| N | 400,1 | 38 | 400,3 | 35 | 400,1 | 35 | NH ₂ |
| | 401,9 | 62 | 402 | 65 | 401,9 | 65 | NH ₃ ⁺ |

4.2.4 Adsorción de L-alanina sobre superficie monocristalina de pirita (100).

L-alanina se trata del aminoácido quiral más sencillo existente en la naturaleza. Formado por un grupo ácido y un grupo amino, presentes en todos los aminoácidos, y por un grupo metilo. No contiene en su cadena, por tanto, ningún otro grupo de mayor reactividad que pudiera afectar en su modo de adsorción sobre la superficie (véase figura 17).

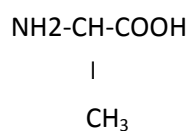
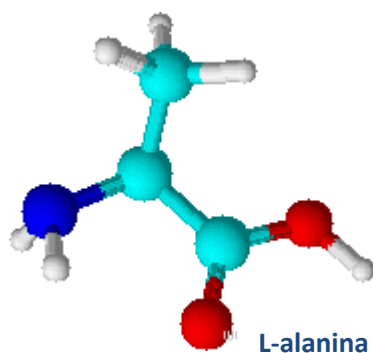


Figura 17. Fórmula de la estructura química de la molécula L-alanina.

Los espectros de XPS de la región de carbono fueron ajustados a dos componentes: una mayoritaria a 286,2 eV correspondiente a los grupos funcionales C-N y C-C. La segunda, minoritaria, aparece a 288,6 eV, correspondiente a los grupos COOH o COO⁻. El ratio entre ambas componentes es 2:1, el cual está en buen acuerdo con la estequiometría química de la molécula. En la región de oxígeno, solo una componente es observada a 531,7 eV y correspondería al grupo carboxilato (COO⁻) (véase figura 18).

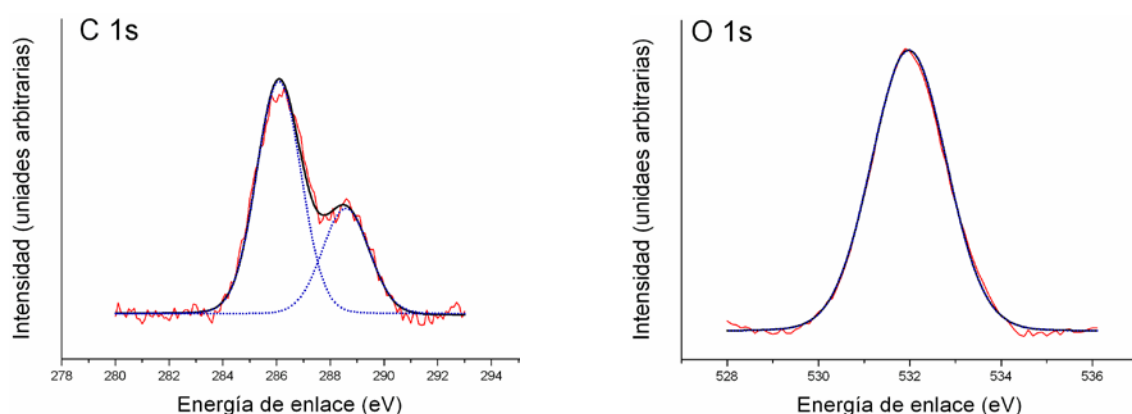


Figura 18. Espectros de XPS de C 1s y O 1s de L-alanina adsorbida desde UHV sobre la superficie de pirita (100) la cual no presentaba patrón de LEED tras proceso de 10 minutos de calentamiento.

Los espectros XPS de L-alanina adsorbida sobre las superficies de pirita tras proceso de 5 horas de calentamiento (que presentaba patrón de LEED) y tras 10 horas (que presentaba patrón de LEED) no son mostrados ya que son similares a los presentados.

En la región de nitrógeno, el mejor ajuste, corresponde a dos componentes: la primera a 400,3 eV asignada al grupo amino sin protonar (NH₂) y la segunda a 402,2 eV correspondiente al grupo amino protonado (NH₃⁺). A pesar de tratarse del aminoácido quiral más sencillo y no presentar ningún grupo azufre en su estructura química, el comportamiento de la L-alanina es similar al observado para L-cistina. Pero siendo aún

mucho más acusada la diferencia de porcentajes entre las dos componentes presentes en la región de nitrógeno, en función del tratamiento de calentamiento al que fue sometida la superficie de pirita durante el proceso de preparación de la superficie. A tiempos de 10 minutos de calentamiento y por tanto, no aparición de patrón de LEED de la superficie, la forma química molecular predominante adsorbida fue el anión, mientras que tras un proceso de preparación de la superficie a 5 horas y 10 horas de calentamiento muestra aparición de patrón de LEED y la forma química de la molécula adsorbida predominante es el zwitterion (véase figura 19).

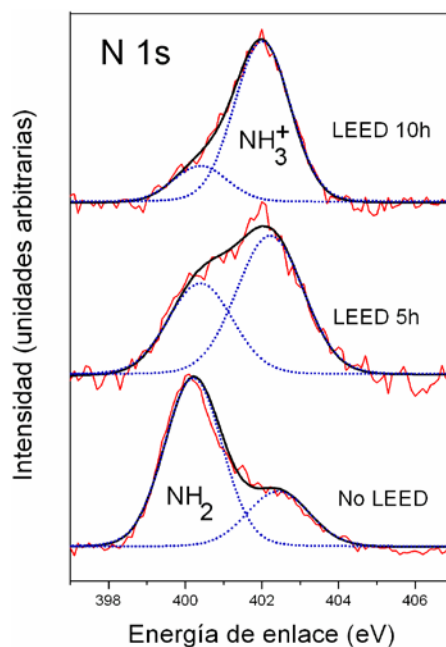


Figura 19. Comparación de los espectros XPS de la región de N 1s para L-alanina adsorbida sobre la superficie de pirita (100) para los diferentes tiempos durante el calentamiento. (Línea roja: curva experimental, línea negra: curva de ajuste, línea de puntos: componentes).

La figura 19 muestra el espectro de fotoemisión de la región de N 1s de L-alanina sobre la superficie de pirita (100). En este caso, con el aminoácido alanina, se observan los cambios más significativos en la intensidad de cada componente de la región de nitrógeno para los diferentes tiempos de calentamiento (10 min, 5 horas y 10 horas).

La intensidad de la componente asignada al grupo NH_2 de la molécula decrece en favor de la componente NH_3^+ al incrementar la duración del proceso de calentamiento al que fue sometida la superficie de pirita para su limpieza y preparación previa a la adsorción de la molécula sobre ella. La intensidad de la componente NH_2 decrece desde un 74% a un 18%, mientras que la componente NH_3^+ se incrementa desde un 26% a un 82% (véase tabla 8). Por lo tanto, el proceso de preparación mediante calentamiento de la superficie, modifica su estructura, induciendo un cambio en los grupos químicos de las moléculas adsorbidas sobre ella y favoreciendo la protonación del grupo NH_2 de la molécula (NH_3^+). La región de oxígeno, presenta una única componente, perteneciente al grupo carboxilato, en todos los casos estudiados (10 minutos, 5 horas y 10 horas). Por tanto, la formación de disulfuros durante el proceso de calentamiento, favorece la posterior adsorción de la forma zwitterionica sobre la superficie. En la región de carbono no se observan cambios y la intensidad de los ratios de las dos componentes de carbono permanece constante para los tres casos estudiados.

Este último caso de estudio, alanina, nos muestra que el grupo azufre presente en los aminoácidos anteriormente estudiados no es el responsable del cambio de la forma química ($\text{NH}_2 \rightarrow \text{NH}_3^+$) que es adsorbida sobre la pirita (100), siendo la presencia mayoritaria o ausencia de disulfuros en la superficie, el factor determinante.

Tabla 8. Estudio comparativo de los picos de C 1s, N 1s y O 1s y el ajuste de sus componentes para el sistema L-alanina / pirita durante el proceso de pretratamiento de la superficie a diferentes tiempos de calentamiento.

| | No LEED | | LEED 5h | | LEED 10h | | |
|----------|---------|-----|---------|-----|----------|-----|------------------------------|
| Elemento | BE | % | BE | % | BE | % | Asignación |
| C | 286,1 | 68 | 286,4 | 66 | 286,2 | 65 | C-N, C-C |
| | 288,6 | 32 | 288,4 | 34 | 288,7 | 35 | COOH o COO ⁻ |
| O | 532,0 | 100 | 531,4 | 100 | 531,7 | 100 | COO ⁻ |
| N | 400,2 | 74 | 400,4 | 39 | 400,4 | 18 | NH ₂ |
| | 402,4 | 26 | 402,2 | 61 | 402,0 | 82 | NH ₃ ⁺ |

Resumen resultados de la reactividad de distintos aminoácidos sobre la superficie de pirita (100) (véanse tabla 9 y figura 20).

Tabla 9. Estudio comparativo de los porcentajes de cada componente de las regiones de N 1s y O 1s para los diferentes aminoácidos, L-cistina, L-cisteína, L-metionina y L-alanina, adsorbidos sobre la superficie de pirita (100) tras ser sometida a los distintos tratamientos mediante proceso de calentamiento de la superficie con una duración diferente: 10 minutos, 5 horas, 10 horas.

| CISTINA | No LEED | | LEED 5h | | LEED 10h | |
|------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|
| Especie | Anión↑ | Zwitterion↓ | Anión↓ | Zwitterion↑ | Anión↓ | Zwitterion↑ |
| % N | NH₂ | NH₃⁺ | NH₂ | NH₃⁺ | NH₂ | NH₃⁺ |
| | 57 | 43 | 51 | 49 | 23 | 77 |
| % O | COO- | COOH | COO- | COOH | COO- | COOH |
| | 73 | 27 | 64 | 36 | 63 | 37 |
| CISTEÍNA | No LEED | | LEED 5h | | LEED 10h | |
| Especie | Anion↑ | Zwitterion↓ | Anion↓ | Zwitterion↑ | Anion↓ | Zwitterion↑ |
| % N | NH₂ | NH₃⁺ | NH₂ | NH₃⁺ | NH₂ | NH₃⁺ |
| | 73 | 27 | 43 | 57 | 43 | 57 |
| % O | COO- | COOH | COO- | COOH | COO- | COOH |
| | 100 | X | 100 | X | 100 | X |
| METIONINA | No LEED | | LEED 5h | | LEED 10h | |
| Especie | Anion↑ | Zwitterion↓ | Anion↓ | Zwitterion↑ | Anion↓ | Zwitterion↑ |
| % N | NH₂ | NH₃⁺ | NH₂ | NH₃⁺ | NH₂ | NH₃⁺ |
| | 38 | 62 | 35 | 65 | 35 | 65 |
| % O | COO- | COOH | COO- | COOH | COO- | COOH |
| | 77 | 23 | 74 | 26 | 75 | 25 |
| ALANINA | No LEED | | LEED 5h | | LEED 10h | |
| Especie | Anion↑ | Zwitterion↓ | Anion↓ | Zwitterion↑ | Anion↓ | Zwitterion↑ |
| % N | NH₂ | NH₃⁺ | NH₂ | NH₃⁺ | NH₂ | NH₃⁺ |
| | 74 | 26 | 39 | 61 | 18 | 82 |
| % O | COO- | COOH | COO- | COOH | COO- | COOH |
| | 100 | X | 100 | X | 100 | X |

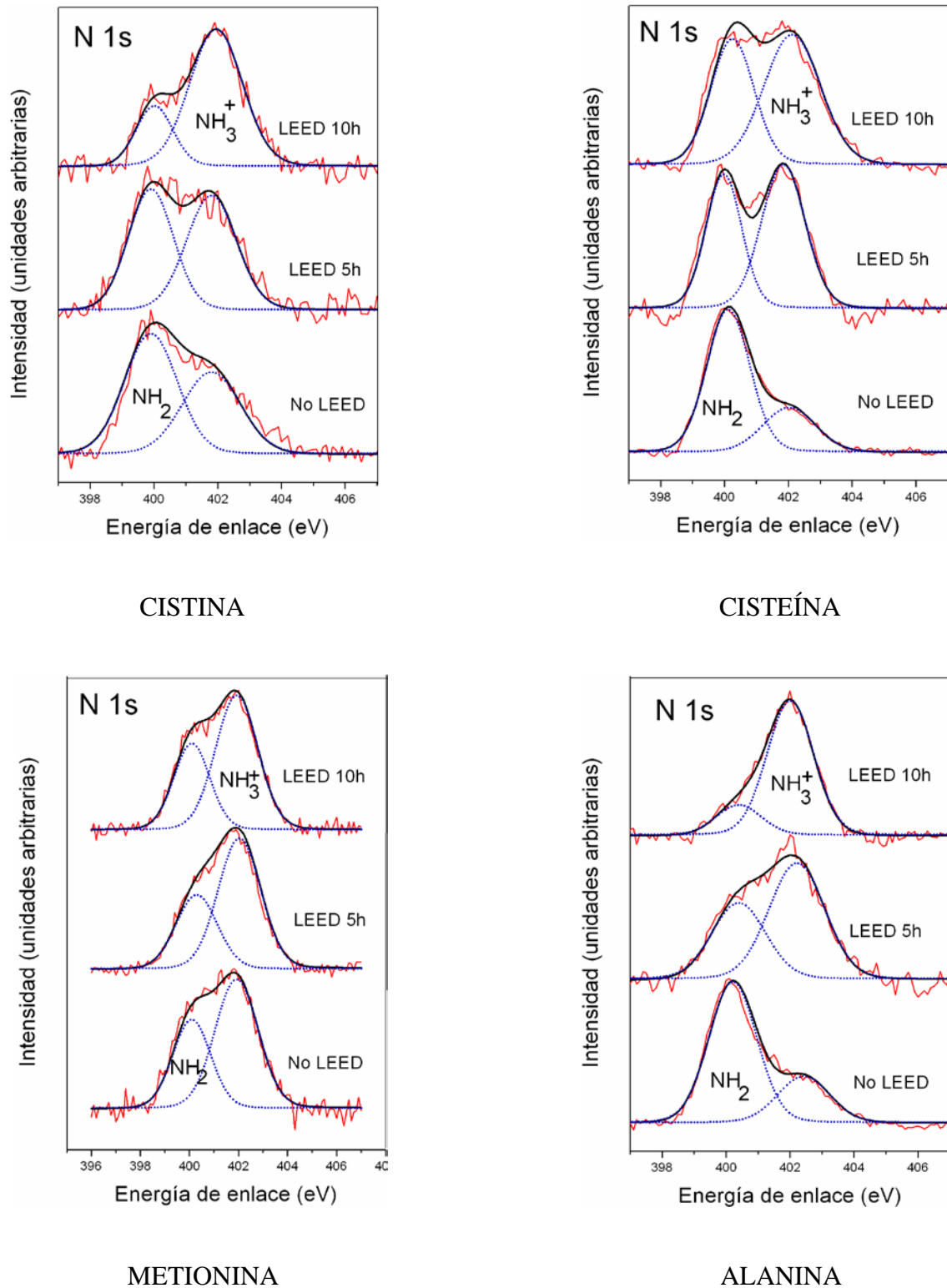


Figura 20. Comparación de los espectros XPS de la región de N 1s para L-cistina, L-cisteína, L-metionina y L-alanina adsorbida sobre la superficie de pirita (100) para los diferentes tiempos de calentamiento durante el proceso de pretratamiento de la superficie (Línea roja: curva experimental, línea negra: curva de ajuste, línea de puntos: componentes).

Los ciclos reiterados de bombardeo iónico favorecen la formación de monosulfuros de azufre (desplazamiento del pico de azufre a energías de enlace menores observadas en los espectros XPS) y por tanto se generan vacantes de azufre en la superficie de pirita. Estas vacantes se ven compensadas por la adsorción de la forma molecular del aminoácido con el grupo amino sin protonar (NH_2). Por el contrario, la formación de los patrones de difracción (1x1) observados por LEED después de tiempos de 5 h y 10 h durante el proceso de calentamiento se generan por una superficie bien ordenada y con los grupos S_2^{2-} intactos. Por lo tanto los dímeros de azufre favorecen la protonación del grupo amino del aminoácido (NH_3^+). Las condiciones de calentamiento durante 5 y 10 horas favorecen la migración de S_2^{2-} a la superficie desde el interior, conduciendo a la desaparición de las vacantes de azufre ocasionadas por el proceso de bombardeo y resultando una superficie cargada negativamente que favorece la adsorción de la forma química zwitterion de la molécula. Por tanto, podemos destacar que la presencia de dímeros de azufre en la superficie de pirita, dictamina sus propiedades de reactividad y la forma química de la molécula que será adsorbida.

Con los experimentos aquí realizados hemos demostrado que el proceso de calentamiento, para la preparación de la superficie de pirita (100), es un parámetro crítico para establecer el orden de la superficie. Hemos podido establecer la correlación existente entre la presencia y ausencia de patrones de LEED de la pirita (100) y las señales espectroscópicas obtenidas en la región de azufre. Procesos de calentamiento superiores a 3 horas reparan las vacantes de azufre de la superficie de pirita que han surgido tras el proceso de bombardeo, haciendo que las especies monosulfuros (FeS) desaparezcan parcialmente en favor de las especies de disulfuros (FeS_2) que muestran patrón LEED y que favorecen la adsorción preferencial de NH_3^+ en todos los casos estudiados, aunque la estructura química de la molécula determine el ratio $\text{NH}_3^+ / \text{NH}_2$.

Estas características juegan un papel crítico en la adsorción molecular. La adsorción de aminoácidos, por tanto, sería una exitosa metodología para estudiar las implicaciones químicas de la superficie de pirita en los procesos de adsorción. Una conclusión destacable es que la adsorción química molecular puede ser seleccionada por las condiciones del proceso de preparación de la superficie. Una selección adecuada de los parámetros experimentales podría ayudar a controlar la adsorción molecular en las condiciones deseadas. Estos hallazgos adquieren gran relevancia en diversos procesos de superficie, en un gran número de bio-nano aplicaciones y tendrían un papel fundamental en los escenarios del mundo hierro-azufre en el origen de la vida o química prebiótica.

REFERENCIAS

1. J. G. Peretó Magraner. *Orígenes de la evolución biológica. Un panorama de las ideas modernas sobre el origen de la vida*, **1994**.
2. N. Moslemzadeh, M. Tamara, R. Raval, D. Prior and M.R. Preston, *Surface and Interface Analysis*, **2009**, 41, 11.
3. K.M. Rosso, U. Becker and Jr.MF. Hochella, *American mineralogist*, **1999**, 84, 1535.
4. L. Tao, I. Temprano, S.J. Jenkins, D.A. King and S.M. Driver, *Phys. Chem. Chem. Phys*, **2012**, 14, 11491.
5. L. Tao, I. Temprano, S.J. Jenkins, D.A. King, S.M. Driver, *Journal of Physical Chemistry C*, **2013**, 117 (2), 10990.
6. F.W. Herbert, A. Ma. W. Krishnamoorthy, K.J. Van Vliet and B. Yildiz, *Electrochimica Acta*, **2014**, 127, 416.
7. S. Chaturvedi, R. Katz, J. Guevremont, M.A.A. Schoonen, and D.R. Strongin, *American Mineralogist*, **1996**, 81, 261.
8. T. Kendelewicz, C.S. Doyle, B.C. Bostick and Jr.G.E. Brown, *Surface Science*, **2004**, 558, 80.
9. E. Mateo-Martí, C. Rogero, C. Briones, J.A. Martín-Gago, *Surface Science*, **2007**, 601, 4195.
10. A.G. Schaufub, H.W. Nesbitt, I. Kartio, K. Laajalehto, G.M. Bancroft and R. J. Szargan, *Surface Science*, **1998**, 411, 321.
11. K. Andersson, M. Nyberg, H. Ogasawara, D. Nordlund, T. Kendelewicz, C.S. Doyle, G.E. Brown, L.G.M. Pettersson and A. Nilsson, *Phys. Rev. B*, **2004**, 70, 195404.
12. N.N. Nair, E.Schreiner, D.Marx, *J. Am. Chem. Soc*, **2006**, 128, 13815.
13. K.J. Andersson, H. Ogasawara, D. Nordlund, G.E. Brown and A. Nilsson, *J. Phys. Chem. C*, **2014**, 118, 21896.
14. S.M. Barlow and R. Raval, *Surface Science Reports*, **2003**, 50, 201.
15. V. Humblot and C.M. Pradier, *J. Phys. Chem. Lett*, **2013**, 4(11), 1816.
16. O. Cavalleri, G. Gonella, S. Terreni, M. Vignolo, L. Floreano, A. Morgante, M. Canepa, R. Rolandi. *Phys. Chem. Chem. Phys*. **2004**, 6, 4042.
17. G. Gonella, S. Terreni, D. Cvetko, A. Cossaro, L. Mattera, O.Cavalleri, R. Rolandi, A. Morgante, L. Floreano, M. Canepa. *J Phys Chem B*. **2005**, 109, 18003.
18. S. Fischer et al. *The Journal of Physical Chemistry C*. **2012**, 116, 20356.
19. D.T. Clark, J. Peeling, L. Colling. *Biochim. Biophys. Acta*. **1976**, 453, 533.

20. K. Uvdal, P. Bodo, A. His, B. Lieberg, W.R. Salaneck. *J. Colloid Interface Sci.* **1990**, 140, 207.
21. K. Uvdal, P. Bodö, B.J. Lieberg. *Colloid Interface Sci.* **1992**, 149, 162.
22. E. Mateo-Marti, C. Briones, E. Roman, E. Briand, C.M. Pradier, J.A. Martín-Gago. *Langmuir* **2005**, 21, 9510.
23. A. Naitabdi, V. Humblot. *Applied Physics Letters*, **2010**, 97 (22), 223112.
24. V. Humblot, F. Tielens, N.B. Luque, H. Hampartsoumian, C. Méthivier, C-M. Pradier. *Langmuir*, **2014**, 30(1), 203.

CAPÍTULO 5

ESTUDIO DE LA SUPERFICIE DE PIRITA SOMETIDA A DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES

5. ESTUDIO DE LA SUPERFICIE DE PIRITA SOMETIDA A DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES

5.1 Reactividad de la pirita bajo condiciones oxidantes

Pirita (FeS_2) es uno de los minerales sulfurados más importantes y abundantes en la Tierra. Diversas reacciones redox como el ciclo del S, Fe y otros elementos ocurren en su superficie (1). El estudio de la interacción de la superficie de pirita con oxígeno, agua o nitrógeno es fundamental y ha sido ampliamente estudiado (2-8). Además, juega un papel fundamental en separación industrial y en la contaminación del medio ambiente debido al drenaje ácido procedente de las minas ya que, la oxidación de 1 mol de pirita conduce a la formación de dos moles de ácido sulfúrico, por todo lo anteriormente detallado los estudios de oxidación de la pirita son, por tanto, fundamentales (9-16).

Estudios de oxidación realizados por otros grupos de investigación han mostrado que pirita es reactiva bajo condiciones ambientales y oxida rápidamente en contacto con el aire, formando sulfato férrico. Otros posibles productos de oxidación incluyen hidróxidos de hierro, oxihidróxidos de hierro, monosulfuros, disulfuros y polisulfuros. La formación de estos productos dependen de las condiciones y duración del proceso de oxidación y la reactividad de la pirita en disolución acuosa condicionará la adsorción de ciertas moléculas y/o la pasivación de su superficie (14).

En los siguientes dos apartados de este capítulo, estudiamos la oxidación de la pirita y los cambios que el oxígeno produce en la composición y reactividad de su superficie, afectando a la interacción de los aminoácidos (L-cistina molécula de estudio) adsorbidos sobre ella, también realizamos un estudio comparativo entre condiciones oxidantes

(presencia de O₂) y condiciones estrictamente anóxicas (ausencia de O₂) simuladas en condiciones de UHV, ya presentadas en el capítulo cuatro de esta tesis (apartado 4.2.1).

5.1.1 Estudio del sistema cistina / pirita desde disolución

Estudio comparativo de la adsorción de cistina sobre pirita, entre condiciones anóxicas (simuladas mediante UHV), cuyos resultados ya han sido mostrados en el capítulo 4 y condiciones oxidativas (las moléculas han sido adsorbidas sobre la pirita natural desde disolución), cuyos resultados son expuestos a continuación.

Estudiamos como la adsorción molecular y la química de superficies se ve drásticamente influenciada por las condiciones ambientales.

La adsorción de la molécula bajo condiciones de ultra alto vacío nos permite trabajar en un medio completamente limpio de contaminantes, ausencia de oxígeno y tener un control riguroso de los parámetros experimentales. Dichos resultados son fundamentales para comprender particulares modos de adsorción o para estudiar que sucede en ausencia de oxígeno (atmósfera anóxida). La comparación, con los experimentos realizados desde disolución es, por tanto, clave para comprender como el agua puede modificar las superficies y el papel que juega en la interfase mineral-molécula.

Mediante espectroscopia de fotoemisión de rayos X (XPS) hemos realizado un estudio riguroso de las regiones de C, O, N, S y Fe del sistema L-cistina adsorbida desde disolución sobre la superficie de pirita.

Los experimentos desde disolución han sido directamente comparados con los experimentos de adsorción de L-cistina sobre pirita desde condiciones de UHV.

El espectro XPS de la molécula sobre la superficie, desde disolución, muestra las siguientes características (véase figura 1).

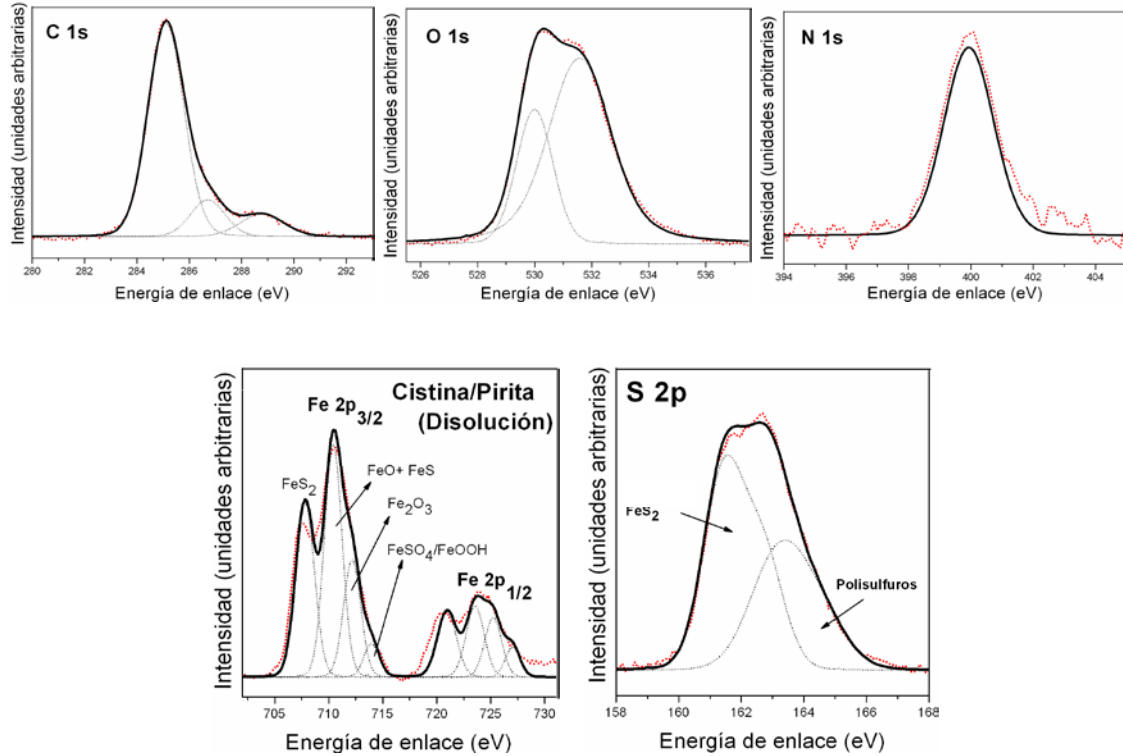


Figura 1. Espectros XPS de las regiones de C 1s, O 1s, N 1s, S 2p y Fe 2p de L-cistina adsorbida desde disolución sobre la superficie de pirita policristalina. (Línea roja: curva experimental, línea negra: curva de ajuste, línea de puntos: curva de componentes de cada región).

El pico de la región de C 1s muestra tres contribuciones a: 285,1 eV, 286,7 eV y 288,8 eV de energías de enlace, las cuáles han sido asignadas al grupo C-S, al grupo C-N y al grupo COOH/COO⁻ respectivamente. Las mismas tres componentes que también fueron obtenidas para la adsorción de cistina sobre pirita bajo condiciones de UHV. La intensidad de la primera componente, en este caso, se ve incrementada, debido a ser una muestra ex-situ que introducimos desde condiciones atmosféricas, por tanto existe una contribución del CO₂ del aire en la región de carbono que aparece a 285,0 eV (17).

Respecto a la región de O1s, dos componentes son observadas: la primera a 531,5 eV, asignada a los dos oxígenos equivalentes de la forma resonante del grupo ácido desprotonado (grupo carboxilato), esta componente también presenta una contribución importante debido al oxígeno del aire presente en la atmósfera al introducir la muestra en UHV desde condiciones atmosféricas (17). La segunda componente, a 530,0 eV, se debe a la presencia de especies óxidas (Fe_2O_3), esta componente no aparecía en los experimentos realizados desde UHV, de modo que, en este caso, la pirita es oxidada cuando el experimento se realiza en disolución acuosa.

En la región de N1s se observa una única componente centrada a 399,9 eV, la cual es asignada a las especies NH_2 (figura 1). Cabe destacar, la desaparición de la componente NH_3^+ , que si aparece cuando la adsorción de la molécula se realiza desde UHV. Además, la intensidad de la señal de nitrógeno es menor que desde UHV, esto es debido a que la presencia de especies oxidadas sobre la superficie dificulta la adsorción de cistina, la superficie oxidada, por tanto, adsorbe menos molécula que la superficie sometida a ciclos de limpieza (bombardeo iónico-calentamiento) en condiciones de UHV. Este comportamiento es contrario al que presentan las superficies metálicas, en las cuales, mayores tiempos de exposición desde disolución favorecen la adsorción de la especie molecular sobre la superficie (véase figura 2). En este caso, la superficie de pirita se bloquea con moléculas de O_2 y H_2O e impide la adsorción de la molécula.

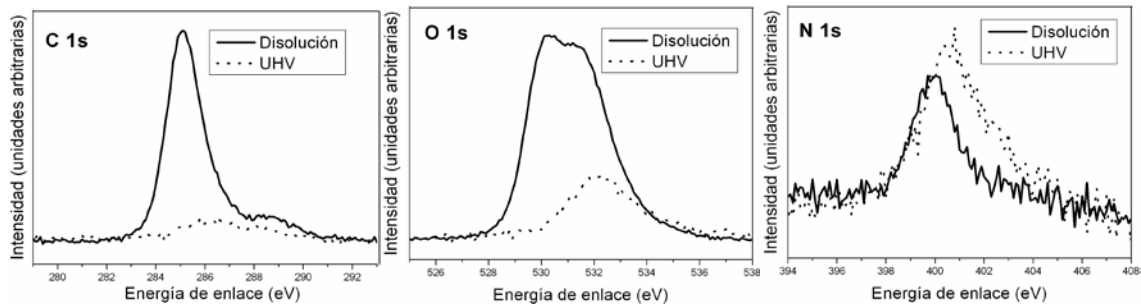


Figura 2. Comparación de los espectros XPS de las regiones de C 1s, O 1s, y N 1s de L-cistina adsorbida desde disolución (-) y desde UHV(...) sobre la superficie de pirita policristalina.

En la región de azufre se observan dos componentes. La componente principal a 161,4 eV aparece desplazada -0,4 eV respecto al pico de azufre asignado a la superficie de pirita (FeS_2 , 59%) en condiciones desde UHV y un importante incremento de intensidad en el pico asignado a polisulfuros (enlaces S-S, 41%) es también observado a 163,1 eV.

El espectro de hierro muestra cuatro componentes a 707,8, 710,4, 712,1 y 713,9 eV asignadas al Fe del FeS_2 de la pirita, monóxidos de hierro (FeO) y monosulfuros de hierro (FeS), dióxidos de hierro (Fe_2O_3) y sulfatos e hidróxidos de hierro (FeSO_4 / FeOOH), respectivamente. En este caso los óxidos de hierro son predominantes en el espectro. La transferencia de electrones de la superficie de pirita Fe^{2+} al O_2 es menor que la transferencia de electrones de pirita Fe^{2+} a Fe^{3+} presente en la superficie como un producto de oxidación. El mayor número de vecinos oxidados (aceptores) alrededor de sitios de la superficie no oxidados aumenta la probabilidad de que los sitios no oxidados se oxiden (C.M. Eggleston et al., modelo de los vecinos cercanos (15), por tanto el proceso de oxidación de la pirita podría ser considerado un proceso autocatalítico.

En cuanto al comportamiento del azufre, los grupos disulfuro son bastante reactivos en agua y la presencia de iones Fe^{3+} facilita la parcial conversión de disulfuros de hierro

(FeS₂) en monosulfuros de hierro (FeS) lo cual puede estar relacionado con el hecho de que la componente principal en la región de azufre aparezca a 161,4 eV desplazada -0,4 eV respecto del azufre del grupo FeS₂, debido a la presencia de monosulfuros de hierro (FeS) (5). La segunda componente a 163,1 eV podría ser asignada a tiosulfatos (S₂O₃²⁻) o polisulfuros (5,17), evidenciando, de nuevo, la oxidación del azufre.

La disolución acuosa induce la oxidación del FeS₂(100) como ha sido confirmado por resultados de XPS (véase figura 3).

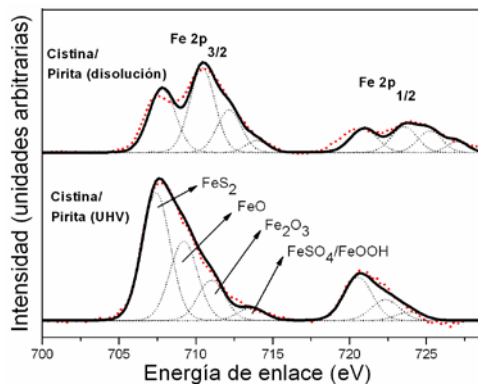


Figura 3. Comparación de los espectros XPS de la región de Fe 2p de L-cistina adsorbida desde disolución y desde UHV sobre la superficie de pirita. (Línea roja: curva experimental, línea negra: curva de ajuste, línea de puntos: curva de componentes de cada región).

La presencia de O₂ en el medio fuerza que las especies Fe³⁺ aparezcan debido a la transferencia de carga desde el ion Fe²⁺ al O₂. El catión Fe³⁺ juega un papel importante en la oxidación de los grupos disulfuro de la pirita proporcionando sitios activos para la disociación del H₂O y actuando como un fuerte oxidante de la superficie de pirita. Previos estudios de Jeffrey M. Guevremont et al (5) sugieren que el agua enlaza específicamente en sitios vacíos que son, al menos, en parte, vacantes aniónicas de azufre. La disociación del agua ocurre en estos sitios deficientes de azufre pero no en

los sitios disulfuro, los cuáles, enlazan con el agua más débilmente. Las vacantes aniónicas de azufre consiguen compensarse por las moléculas de agua. El hierro será oxidado a Fe^{3+} , por lo tanto aportará una carga extra positiva a la superficie y la molécula de cistina es adsorbida únicamente en su forma aniónica probablemente para compensar dicho exceso de carga positiva en la superficie. Por otro lado, en condiciones desde UHV donde las vacantes de azufre no han sido compensadas, la forma química catiónica y anionica de la molécula, coexistirán en la superficie de pirita.

Hemos llevado a cabo un estudio comparativo de la adsorción de cistina sobre pirita en presencia y ausencia de condiciones oxidantes. Aunque desde disolución, las señales de oxígeno (532,0 eV) y carbono (285,0 eV) son más intensas, se debe a la contribución del CO_2 y O_2 presentes en la atmósfera, pero las señales de C, O y N de la molécula son mucho más intensas desde UHV que desde disolución. Tiempos largos de exposición desde disolución fueron investigados, observándose una inhibición de la adsorción molecular con el tiempo debido a la presencia de otras especies oxidantes. La superficie de pirita es muy reactiva y presenta mayor afinidad por el agua y el oxígeno que por la molécula de cistina. El estudio espectroscópico llevado a cabo mediante XPS nos muestra la presencia de especies oxidadas en la superficie y una intensidad menor en la señal de nitrógeno, el cual, solo puede corresponder a la molécula (véase figura 2). Por tanto, las condiciones oxidantes, inhiben la adsorción molecular sobre la superficie mientras que condiciones reductoras aumentan la reactividad de la pirita favoreciendo la adsorción molecular y la diversidad de especies químicas. Estos resultados estarían en buen acuerdo con las teorías del origen de la vida y las condiciones de la atmósfera primitiva (18).

Incluso aunque la forma aniónica sea predominante cuando los aminoácidos son adsorbidos sobre la superficie, cabe destacar que la forma catiónica está también presente sobre la superficie de pirita pero solo si la adsorción molecular se realiza bajo condiciones de UHV. Las vacantes de azufre podrían ser compensadas en condiciones reductoras (ausencia de O_2 /UHV) con la adsorción de cationes de cistina, sin embargo si la superficie ya ha sido pasivada debido al agua y a la presencia de óxidos desde disolución, un exceso de carga positiva, sobre la superficie de pirita, podría ser la causa de la adsorción de aniones, como única especie, sobre la superficie. Las vacantes de azufre presentes en la pirita podrían, por tanto, ser condicionantes en la forma química molecular adsorbida.

En cuanto a los sitios de adsorción, bajo condiciones de UHV, cuando cistina es adsorbida sobre la superficie, al incrementar los tiempos de adsorción se observa también un incremento de los ratios (S/Fe). Desde 1,93 (correspondiente a la superficie limpia), a 2,21 (correspondiente a media hora de adsorción) y 2,56 (correspondiente a 1 hora de adsorción). Lo cual indica que la molécula es adsorbida preferencialmente en los sitios de Fe. Sin embargo desde disolución, cuando los tiempos de exposición de la molécula sobre la superficie son incrementados, los valores del ratio (S/Fe), permanecen constantes (2,1-2,2), indicando que no hay sitios preferenciales, ambos, hierro y azufre, son sitios de adsorción para diferentes especies. Fe presentará afinidad por cistina y oxígeno mientras que el azufre presentará mayor afinidad por el oxígeno y el agua.

En resumen, este análisis espectroscópico indica que la molécula cistina se adsorbe exitosamente sobre la superficie de pirita en su forma aniónica desde disolución, mientras que desde UHV la especie catiónica es también observada. Además, desde disolución, aparecen nuevos compuestos oxidados y nuevas especies de azufre sobre la

superficie. Cabe destacar el papel que juegan las vacantes de azufre en la forma química adsorbida de la molécula.

5.1.2 Estudio del sistema cistina / pirita en atmósfera de oxígeno mediante radiación sincrotrón

Los experimentos que se redactan a continuación fueron realizados en el sincrotrón ALBA (CELLS), en la línea BL-24, Circe, de espectroscopia de fotoemisión y microscopía. En la cámara NAPP (*Near-Ambient Pressure Photoemission*). Dicha instrumentación nos permite estudiar la oxidación in-situ de la superficie de pirita en un rango de presiones desde UHV hasta 1mbar, introduciendo O₂ durante la adquisición de los datos mediante XPS. La muestra de pirita fue tratada previamente a su introducción en la cámara de UHV mediante una disolución de H₂SO₄ para eliminar los posibles contaminantes presentes en su superficie debido a su exposición al aire. Las medidas realizadas por espectroscopia XPS fueron las siguientes:

- 1) Pirita limpia mediante disolución de H₂SO₄.
- 2) Pirita + 1mbar de O₂ (se realizó la medida de XPS a 1mbar de presión de O₂).
- 3) Pirita + O₂ + cistina (UHV) (una vez oxidada la pirita en el apartado anterior, se evaporo sobre ella L-cistina y se midió el espectro XPS en UHV, en ausencia de la atmósfera de O₂).
- 4) Pirita+O₂+cistina+O₂ (se volvió a medir el espectro XPS del sistema pirita oxidada / L-cistina pero en atmósfera de 1mbar de O₂).
- 5) Pirita+O₂+cistina+O₂ (UHV) (se mide el espectro XPS del sistema pirita oxidada / L-cistina tras ser sometida a 1mbar de presión de O₂ pero la medida ahora es realizada en UHV, en ausencia de la atmósfera de O₂).

Todas las medidas de XPS fueron realizadas con un solo scan porque se comprobó que, para más de un scan, la alta intensidad del haz dañaba la molécula adsorbida sobre la superficie. No obstante, para todos los casos, salvo nitrógeno, 1 scan fue suficiente para tomar espectros con buena resolución. En el caso del nitrógeno, se tomaron tres medidas en tres puntos distintos y se realizó la media para obtener un espectro final de mejor resolución.

Hay pocos estudios de los procesos de oxidación de pirita mediante radiación sincrotrón y en todos ellos la pirita es oxidada previa a ser analizada (19-21). En nuestro caso, no solo empleamos radiación sincrotrón para medir los espectros de XPS sino que también somos capaces de medir los espectros de la pirita y del sistema aminoácido / superficie bajo condiciones de atmósfera de oxígeno (1 mbar).

El espectro XPS, de la región de carbono, para los cinco casos estudiados, presenta tres componentes. En la superficie inicial (sistema 1) la componente mayoritaria aparece a una energía de enlace de 284,5 eV siendo atribuida al carbono proveniente del CO₂ de la atmósfera antes de introducir la muestra en condiciones de UHV. La componente que aparece a una energía de enlace de 285,9 eV es atribuida a sulfuros de carbono presentes en la pirita natural. La componente que aparece a una energía de enlace de 288,2 eV es atribuida a carbonatos de hierro presentes también en la pirita natural (10). La componente a 285,9 eV y la componente a 288,2 eV aumentan ligeramente al medir en atmósfera de oxígeno. El espectro XPS de la región de oxígeno para la superficie inicial muestra dos componentes: la primera, mayoritaria (80%), aparece a una energía de enlace de 531,7 eV, es atribuida al oxígeno proveniente del O₂ del aire antes de introducir la muestra en condiciones de UHV y la segunda componente aparece a 533,1 eV y corresponde a los hidróxidos presentes en la pirita natural. Al introducir oxígeno

en la cámara de medida, aparece una nueva componente en la región de oxígeno, a una energía menor de 530,0 eV, que es atribuida a grupos óxidos. La superficie ha sido oxidada y todos los sistemas de estudio (excepto superficie inicial) presentarán esta nueva componente. Cabe destacar que cuando la medida XPS es realizada bajo condiciones de atmósfera de oxígeno, las energías de enlace de todas las componentes de la región de oxígeno se desplazan el valor de 1eV por debajo de la energía de enlace de las mismas componentes al recuperar y medir en condiciones de UHV.

Al depositar la molécula L-cistina sobre la superficie de pirita se observa un aumento en el porcentaje de la componente COO^- (531,2 eV) ($\uparrow 15\%$) y una disminución del porcentaje de la componente COOH (532,9eV) ($\downarrow 8\%$) respecto al sistema de la superficie oxidada sin molécula. Este dato podría ser indicativo de que la molécula se adsorbe mayoritariamente con el grupo ácido desprotonado (COO^-) sobre la superficie de pirita oxidada puede, también, que la molécula se esté adsorbiendo sobre los hidróxidos de Fe y por eso disminuya la señal. No obstante, la confirmación de que la molécula L-cistina ha sido adsorbida exitosamente sobre la superficie de pirita nos lo ratifica la presencia de señal en la región de nitrógeno. Las regiones de carbono y oxígeno nos sirven para caracterizar la superficie de pirita inicial y la superficie de pirita oxidada pero, es necesario estudiar la región de nitrógeno, para poder confirmar la adsorción molecular, ya que la señal de nitrógeno solo puede tener la contribución de la molécula adsorbida.

El espectro XPS de la región de nitrógeno presenta una sola componente. Esta componente no aparece ni en la pirita inicial (sistema 1) ni en la pirita oxidada sin molécula (sistema 2), apareciendo únicamente cuando la molécula ha sido evaporada sobre la superficie. Indicando, por tanto, que la molécula si se adsorbe exitosamente

sobre la pirita oxidada. Dicha componente aparece a una energía de enlace de 399,3 eV y es atribuida al grupo amino sin protonar (véase figura 4). Confirmando que, al igual que ocurría en los experimentos desde disolución (apartado 5.1.1), L-cistina es adsorbida en su forma aniónica sobre la superficie oxidada de pirita (100).

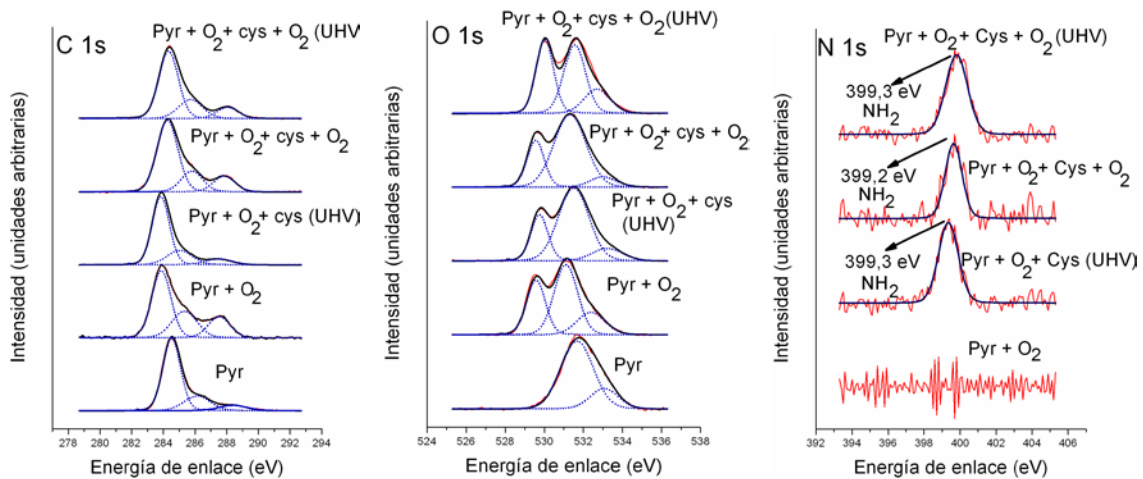


Figura 4. Espectros XPS las regiones de C 1s, O 1s y N 1s, y ajuste de sus componentes para los cinco sistemas estudiados:

- 1) Pirita limpiada mediante disolución de H_2SO_4 .
- 2) Pirita + O_2
- 3) Pirita + O_2 + cys (medido en UHV)
- 4) Pirita + O_2 + cys + O_2
- 5) Pirita + O_2 + cys + O_2 (medido en UHV)

El espectro de Fe 2p muestra cuatro componentes a 707,3, 709,4, 711,4 y 713,4 eV asignadas al Fe del FeS_2 de la pirita, monóxidos de hierro (FeO) y monosulfuros de hierro (FeS), dióxidos de hierro e hidróxidos de hierro ($Fe_2O_3 / FeOOH$) y sulfatos de hierro ($FeSO_4$), respectivamente (10). La componente FeS_2 disminuye significativamente al introducir O_2 1mbar en la cámara de medida, las componentes $FeO+FeS$ y las componentes $Fe_2O_3 + FeOOH$ aumentan debido a la oxidación de la superficie. La componente $FeSO_4$ se mantiene prácticamente constante para los cinco sistemas de estudio (véase figura 5 y 6). Al depositar L-cistina sobre la superficie de

pirita no se observan cambios significativos en las componentes asignadas. Cabe destacar que todas las señales se desplazan 1 eV por debajo de la energía de enlace asignada a las componentes de la superficie inicial cuando la medida es realizada en atmósfera de O_2 probablemente por efectos de carga debidos a medir a 1mbar y tal vez por estar viendo parte de la fase gas (22).

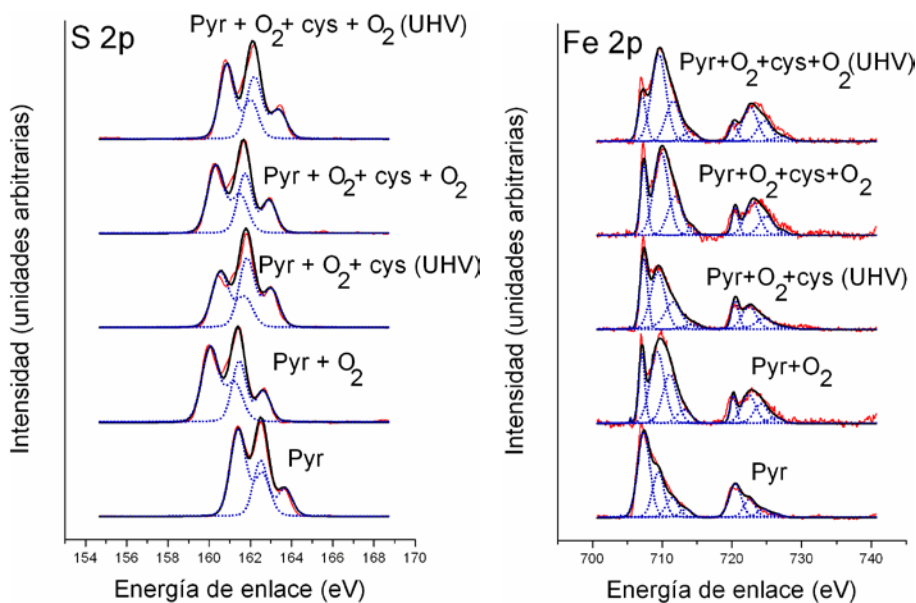


Figura 5. Espectros XPS las regiones de S 2p y Fe 2p y ajuste de sus componentes para los cinco sistemas estudiados:

- 1) Pirita limpiada mediante disolución de H_2SO_4 .
- 2) Pirita + O_2
- 3) Pirita + O_2 + cys (medido en UHV)
- 4) Pirita + O_2 + cys + O_2
- 5) Pirita + O_2 + cys + O_2 (medido en UHV)

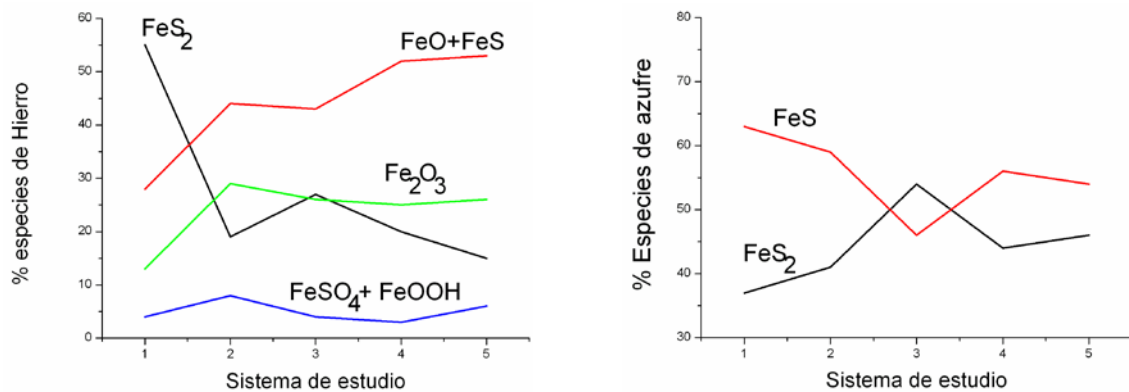


Figura 6. Representación gráfica de los % de cada especie de hierro y azufre presentes en cada sistema de estudio.

Respecto a la región de S 2p, el mejor ajuste para los espectros XPS corresponde a dos componentes y al tratarse de radiación sincrotrón tenemos mayor resolución espectral y por tanto es posible diferenciar los dobletes de ambas componentes. Para la superficie inicial la componente mayoritaria (63%) aparece a una energía de enlace de 161,4 eV y es asignada a los monosulfuros de hierro (FeS). La componente minoritaria (37%) aparece a una energía de enlace de 162,5 eV y corresponde a los disulfuros (FeS₂). Cuando la superficie es oxidada por la introducción de O₂ en la cámara de medida (sistema 2) la componente de monosulfuros comienza a disminuir en favor de la componente de disulfuros. Al evaporar la molécula de cistina sobre la superficie de pirita (sistema 3) se sigue observando una disminución en la intensidad de la señal de monosulfuros y un aumento en la intensidad de la señal de disulfuros. Finalmente, al introducir de nuevo oxígeno en la cámara de medida, los porcentajes de ambas componentes se invierten. Aumentando ahora la intensidad de la señal de monosulfuros y disminuyendo la de disulfuros (véase figura 6). Este dato puede ser indicativo de que tanto el oxígeno como la molécula estén ocupando las vacantes de azufre, lo que ocasiona que la señal de monosulfuros disminuya del sistema de estudio 1 (pirita limpia), al 2 (pirita + O₂) y al tres (pirita + O₂ + cys). Una vez las vacantes de azufre

han sido ocupadas, el comportamiento se invierte, la intensidad de la señal correspondiente a la componente de monosulfuros (FeS) vuelve a ser mayoritaria. Este comportamiento estaría en buen acuerdo con los datos obtenidos en nuestro laboratorio convencional. Cuando la superficie de pirita es oxidada en su totalidad (experimentos desde disolución (apartado 5.1.1)), las moléculas de agua ocupan todas las vacantes de azufre debiendo interactuar también con los grupos disulfuro y la señal más intensa en la región de azufre corresponde, por tanto, a la componente asignada a los monosulfuros. En el caso de una oxidación parcial, el oxígeno ocupa las vacantes de azufre, disminuyendo la señal de monosulfuros, hasta que el proceso de oxidación aumenta considerablemente, no quedan vacantes suficientes y el O₂ comienza a ocupar las posiciones de los disulfuros. Todas las energías de enlace y porcentajes de cada componente son resumidos en la tabla 1.

Tabla 1. Estudio comparativo de los picos de C 1s, O 1s, N 1s, S 2p y Fe 2p y el ajuste de sus componentes para los cinco sistemas estudiados:

- 1) Pirita limpiada mediante disolución de H_2SO_4 2) Pirita + O_2
 3) Pirita + O_2 + cys (medido en UHV) 4) Pirita + O_2 + cys + O_2
 5) Pirita + O_2 + cys + O_2 (medido en UHV)

| Átomo | 1 UHV | | 2 O_2 | | 3 UHV | | 4 O_2 | | 5 UHV | | Asignación |
|-------|-------|-----|---------|-----|-------|-----|---------|-----|-------|-----|--------------------------------|
| | BE | % | BE | % | BE | % | BE | % | BE | % | |
| C | 284,5 | 71 | 284,5 | 54 | 284,5 | 70 | 284,5 | 66 | 284,5 | 65 | C atm / C-C |
| | 286,1 | 21 | 285,9 | 27 | 285,6 | 21 | 286,0 | 19 | 285,8 | 23 | C-S/C-N |
| | 288,4 | 8 | 288,1 | 19 | 288,1 | 9 | 288,0 | 15 | 288,2 | 12 | OH/COOH/COO ⁻ |
| O | --- | --- | 529,2 | 31 | 529,4 | 24 | 528,9 | 24 | 529,4 | 38 | Óxidos |
| | 531,7 | 80 | 530,7 | 50 | 531,2 | 65 | 530,6 | 68 | 531,0 | 43 | O atm/ COO ⁻ |
| | 533,1 | 20 | 532 | 19 | 532,9 | 11 | 532,3 | 8 | 532,1 | 18 | C-OH/ COOH |
| N | --- | --- | --- | --- | 399,3 | 100 | 399,2 | 100 | 399,3 | 100 | NH ₂ |
| S | 161,4 | 63 | 160,6 | 59 | 161,1 | 46 | 160,5 | 56 | 161,0 | 54 | FeS |
| | 162,5 | 37 | 162,1 | 41 | 162,4 | 54 | 161,9 | 44 | 162,3 | 46 | FeS ₂ |
| Fe | 707,3 | 55 | 706,3 | 19 | 707,1 | 27 | 706,0 | 20 | 706,1 | 15 | FeS ₂ |
| | 709,4 | 28 | 708,5 | 44 | 709,1 | 43 | 708,5 | 52 | 708,4 | 53 | FeO+FeS |
| | 711,4 | 13 | 710,3 | 29 | 711,2 | 26 | 710,5 | 25 | 710,5 | 26 | Fe ₂ O ₃ |
| | 713,4 | 4 | 712,4 | 8 | 714,0 | 4 | 712,9 | 3 | 712,9 | 6 | FeSO ₄ +FeOOH |

5.2 Co-adsorción de dos aminoácidos sobre la superficie de pirita (100)

El estudio de las propiedades físicas de la pirita y su reactividad es crucial en el estudio del mundo de hierro-azufre. Wächtershauser propuso que las primeras reacciones que dieron lugar a la formación de los aminoácidos no ocurrieron en los océanos (teoría de la sopa prebiótica) sino en la superficie de algunos minerales como la pirita (23). Los minerales pudieron adsorber y concentrar estas moléculas y catalizar reacciones dando lugar a biomoléculas más complejas. Por tanto, el papel de las superficies minerales podría haber sido fundamental en el origen de la vida (24-27).

En los siguientes apartados de este capítulo, estudiamos la adsorción de un péptido (molécula formada por dos aminoácidos) sobre la superficie de pirita (100). Nuestros resultados muestran como, una molécula de mayor tamaño que un aminoácido, es adsorbida exitosamente sobre la misma superficie.

Por otro lado, y como punto final de esta tesis, presentamos los resultados obtenidos al depositar dos aminoácidos sobre pirita (100) y las posibles propiedades catalíticas de este mineral apoyando la teoría de Wächtershäuser.

5.2.1 Estudio del péptido dialanina sobre pirita (100)

Considerando los resultados obtenidos en el capítulo IV de esta tesis sobre los diferentes aminoácidos evaporados sobre una superficie de pirita monocristalina (100), hemos realizado un estudio riguroso del péptido L,L-dialanina sobre la misma superficie. L,L-dialanina es un dímero formado por dos aminoácidos de L-alanina, unidos a través de un enlace peptídico (véase figura 7). El enlace peptídico es el resultado de la reacción

3) L,L-dialanina evaporado sobre superficie de pirita (100) limpia mediante ciclos de bombardeo iónico (10 minutos) y calentamiento de 10 horas, sin sobrepasar los 340°C de temperatura en la superficie.

El análisis de los espectros XPS de L,L-dialanina evaporada desde UHV sobre la superficie de pirita (100) muestra resultados similares para los tres casos estudiados. En los tres casos, se observa la presencia de carbono, oxígeno y nitrógeno, indicando que el dímero fue exitosamente adsorbido sobre la superficie. Los ratios obtenidos, confirman que la molécula no se fragmenta durante el proceso de evaporación y adsorción sobre la superficie.

El mejor ajuste de la curva para la región de C 1s fue obtenido para tres contribuciones: la primera contribución aparece a una energía de enlace de 285,4 eV correspondiendo a los enlaces C-C presentes en la molécula, la segunda fue observada a 286,6 eV y corresponde a los enlaces C-N y la tercera componente aparece a una energía de enlace de 288,5 eV y ha sido asignada al carbono presente en el enlace peptídico ($-\text{HN}-(\text{CH}_3)\text{C}=\text{O}$) y a los grupos $\text{COOH} / \text{COO}^-$ (22, 28-30). La intensidad del ratio entre las tres componentes es 2:2:2 (CC : CN: C(O)-NH y $\text{COOH} / \text{COO}^-$) en buen acuerdo con la forma química de la molécula. El pico de oxígeno muestra dos componentes: la primera a 531,9 eV de energía de enlace corresponde al oxígeno del grupo ácido desprotonado (COO^-) y la segunda a una energía de enlace 533,4 eV corresponde al grupo ácido (COOH). En la región de nitrógeno se observan dos componentes: la primera, a una energía de enlace de 400,4 eV, asignada al nitrógeno presente en el enlace peptídico ($-\text{HN}-(\text{CH}_3)\text{C}=\text{O}$) y al grupo amino (NH_2) y la segunda, a una energía de enlace de 402,2 eV y atribuida al grupo amino protonado (NH_3^+) (véase figura 8). Los porcentajes calculados para cada componente indicarían un 50% de grupo amino y un 50% de grupo amino protonado para los tres casos de estudio ($\approx 75\%$ de $\text{NH}_2 + \text{HN}$ -

($\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$ y $\approx 25\%$ de NH_3^+). Sin observarse cambios significativos en esta región, para los tres casos de estudio, como sí ocurría en el caso de los otros aminoácidos estudiados en capítulos previos de esta tesis en los que la preparación de la superficie mediante el proceso de calentamiento durante distinto número de horas forzaba la adsorción molecular de distinta forma química (anión mayoritario a tiempos menores de 5 horas de calentamiento y catión mayoritario para tiempos mayores de 5 horas).

$\approx 25\%$ de NH_3^+

$\approx 75\%$ de $\text{NH}_2 + \text{HN}-(\text{CH}_3)\text{C}=\text{O} \rightarrow 25\%$ de $\text{NH}_2 + 50\%$ $\text{HN}-(\text{CH}_3)\text{C}=\text{O}$ (25% correspondería al 25% de la molécula presente con el grupo amino protonado y el otro 25% a la molécula presente con el grupo amino sin protonar).

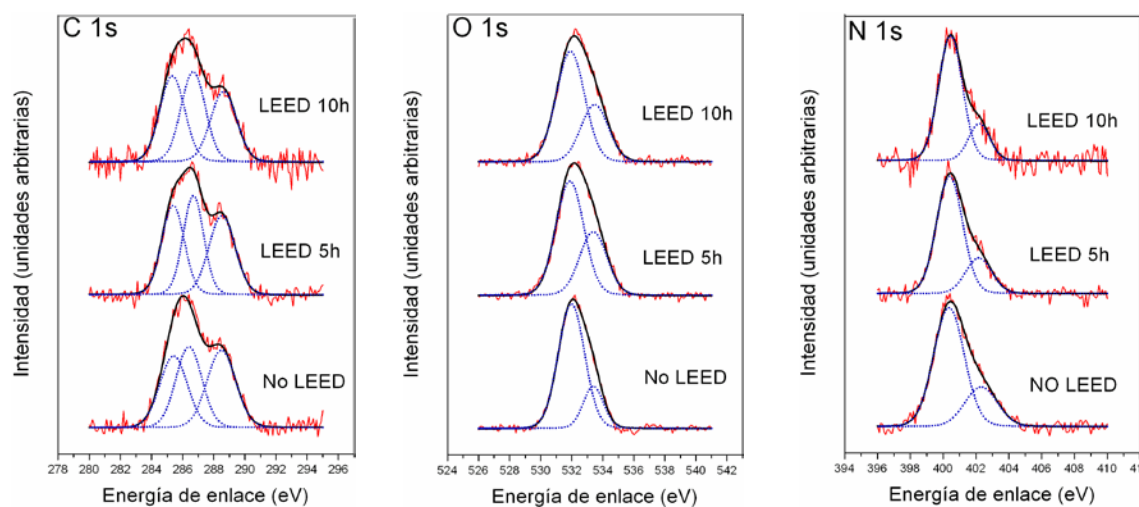


Figura 8. Gráficas comparativas de las regiones de $\text{C } 1s$, $\text{O } 1s$ y $\text{N } 1s$ para los tres casos de estudio (superficie limpia tras ciclo de 10 minutos de calentamiento + *L,L*-dialanina, tras ciclo de 5 h de calentamiento + *L,L*-dialanina, tras ciclo de 10 h de calentamiento + *L,L*-dialanina).

En la tabla 2 se pueden observar las energías de enlace y los porcentajes de cada componente obtenidos para los picos de $\text{C } 1s$, $\text{N } 1s$ y $\text{O } 1s$.

Tabla 2. Estudio comparativo de los picos de C 1s, N 1s y O 1s y el ajuste de sus componentes para el sistema L,L-dialanina / pirita durante el proceso de preparación de la superficie a distintos tiempos de calentamiento.

| | No LEED | | LEED 5h | | LEED 10h | | |
|----------|---------|----|---------|----|----------|----|--|
| Átomo | BE | % | BE | % | BE | % | Asignación |
| | 285,4 | 31 | 285,4 | 33 | 285,3 | 35 | C-C |
| C | 286,4 | 35 | 286,7 | 33 | 286,7 | 35 | C-N |
| | 288,5 | 34 | 288,5 | 34 | 288,6 | 30 | -HN-(CH ₃)C=O y COOH/COO- |
| O | 532,0 | 79 | 531,9 | 65 | 531,9 | 67 | COO ⁻ |
| | 533,4 | 21 | 533,4 | 35 | 533,5 | 33 | COOH |
| N | 400,4 | 74 | 400,4 | 77 | 400,4 | 79 | -HN-(CH ₃)C=O y NH ₂ |
| | 402,3 | 26 | 402,2 | 23 | 402,2 | 21 | NH ₃ ⁺ |

En la figura 8 se observan tres gráficos comparativos de las regiones de C 1s, O 1s y N 1s del sistema L,L-dialanina / pirita (100) en función del tiempo de calentamiento al que fue sometida la superficie previo a la evaporación de la molécula sobre la misma. En este caso, se observa que la presencia de monosulfuros (10 minutos de calentamiento) o disulfuros (5h y 10h de calentamiento) en la superficie no afecta a la forma química adsorbida. En la región de nitrógeno se observa un 50% de NH₂ y un 50% de NH₃⁺ en todo el proceso y en la región de oxígeno la componente mayoritaria es siempre el

grupo ácido desprotonado (COO^-). Podemos confirmar por tanto, que la reactividad y composición química de la superficie no afecta a la forma química adsorbida cuando se trata de un péptido. No así, con los aminoácidos que hemos estudiado en capítulos anteriores.

En el capítulo anterior se realizó el estudio de L-cistina sobre pirita (100). L-cistina es el dímero de L-cisteína pero ambos monómeros no están unidos por un enlace peptídico sino por un puente disulfuro. Cistina, por tanto, sigue conservando los carbonos unidos al grupo amino y al grupo ácido. Sin embargo, los péptidos, al formar el enlace peptídico presentan el grupo ácido y el grupo amino en carbonos distintos (véase figura 9).

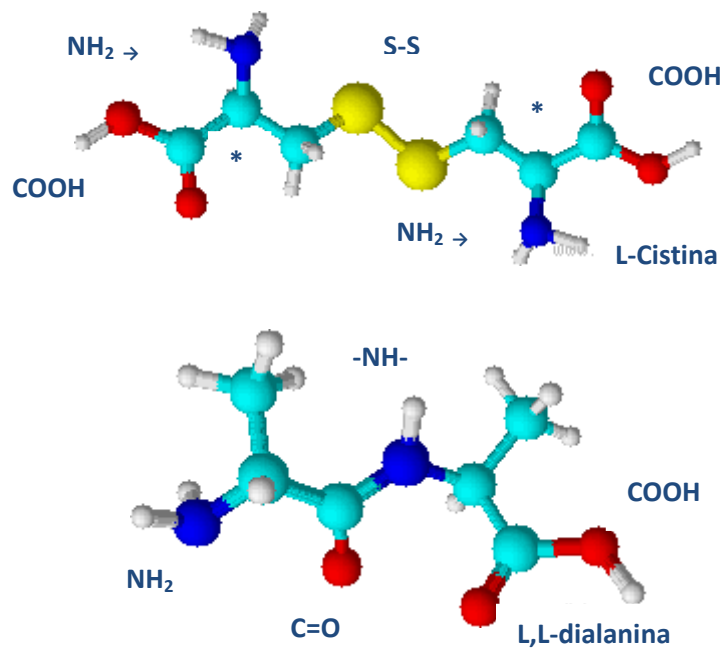
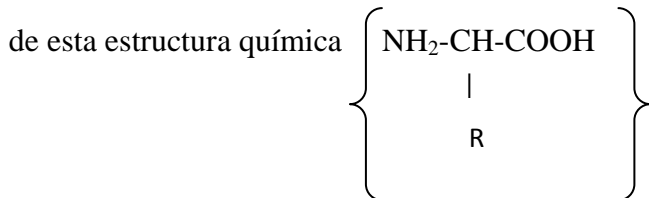


Figura 9. Estructura química del aminoácido L-cistina y el péptido L,L-dialanina.

Basándonos en los resultados obtenidos, proponemos la siguiente hipótesis: Posiblemente no solo la reactividad de la pirita afecta a la forma química adsorbida sobre la superficie, también la presencia o ausencia del grupo ácido y el grupo amino en

el mismo carbono sería un factor clave en el proceso. La presencia de los grupos NH_2 y COOH en el mismo carbono permite su protonación y desprotonación ($\text{NH}_2 / \text{NH}_3^+ / \text{COOH} / \text{COO}^-$), por ello todos los aminoácidos estudiados se comportan del modo ya descrito. En el caso del péptido estudiado el comportamiento es diferente ya que carece



Por tanto su adsorción molecular no es dirigida por la composición química de la superficie de pirita. En el caso de los aminoácidos la presencia y / o ausencia de vacantes de azufre y la estructura química juegan un papel crucial en la forma química molecular adsorbida ($\text{NH}_2 / \text{HN}_3^+$ y $\text{COOH} / \text{COO}^-$).

5.2.2 Estudio del sistema cisteína + serina sobre superficie de pirita (100)

En el trabajo que se presenta en este apartado, hemos llevado a cabo la co-adsorción de dos aminoácidos distintos, L-cisteína y L-serina, sobre la misma superficie, pirita monocristalina (100) (véase figura 10).

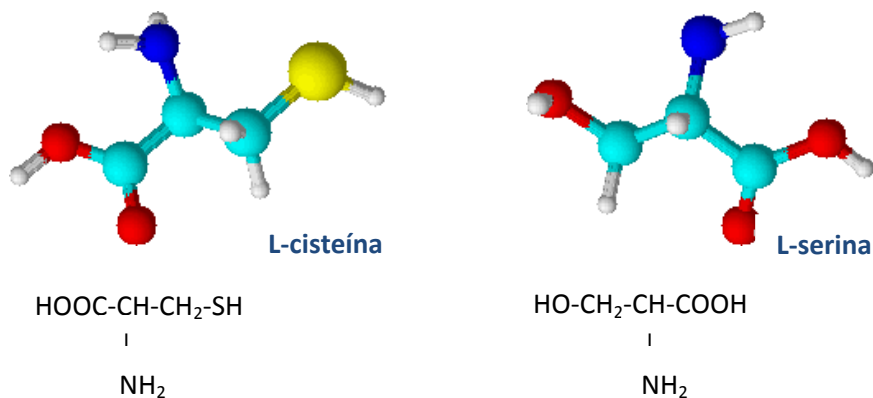


Figura 10. Estructura química de los aminoácidos L-cisteína y L-serina.

La superficie fue limpiada mediante ciclos de bombardeo con iones Ar^+ de 10 minutos y calentada durante 10 minutos obteniéndose una superficie predominante en monosulfuros. Los aminoácidos fueron evaporados desde UHV durante 30 minutos cada uno y así tener un total de 1h de evaporación molecular sobre la superficie. En primer lugar, y tras la limpieza de la superficie, L-cisteína fue evaporada. Se midió el espectro XPS del sistema L-cisteína / pirita (100) obteniéndose resultados similares a los ya presentados en el capítulo 4 de esta tesis.

La región de carbono fue ajustada a dos componentes: la primera a una energía de enlace de 286,1 eV correspondiente a los grupos C-S y C-N, la segunda aparece a 288,7 eV, asignada a los grupos COOH o COO^- . La intensidad del ratio entre ambas componentes es 2:1 (C-S+C-N: COOH o COO^-) estando en buen acuerdo con la estequiometría de la molécula. En la región de oxígeno una sola componente es observada a 531,8 eV de energía de enlace, atribuida al grupo carboxilato (COO^-). En la región de nitrógeno se observan dos componentes. La componente mayoritaria aparece a 400,1 eV de energía de enlace y corresponde al grupo NH_2 . La componente minoritaria aparece a 402,0 eV de energía de enlace, asignada al grupo NH_3^+ . La molécula es adsorbida en dos formas químicas sobre la superficie: Anión y zwitterion, siendo mayoritaria la forma aniónica (véase figura 11).

A continuación, L-serina fue evaporada durante 30 minutos sobre el sistema L-cisteína / Pirita (100) desde UHV. L-serina es un aminoácido que además de tener un grupo amino (NH_2) y un grupo ácido (COOH) presenta un grupo alcohol (OH) en su estructura. El mejor ajuste para la región de carbono fue para tres componentes: la primera a una energía de enlace de 284,9 eV, correspondiente al C-S, la segunda componente aparece a una energía de enlace de 286,4 eV, asignada a los grupos C-N y

C-OH y la tercera componente aparece a una energía de enlace de 288,5 eV y corresponde a los grupos COOH o COO⁻. El ratio de las tres componentes se aproxima al esperado para la estequiometría de las moléculas 1:3:2 (C-S: C-N+C-OH: COOH o COO⁻). El pico de oxígeno muestra dos componentes: una componente a 531,8 eV correspondiente al grupo COO⁻, que ya aparecía en el sistema L-cisteína / pirita (100), y una segunda componente a 533,3 eV de energía de enlace y que corresponde al grupo alcohol (OH) presente en la molécula de L-serina, siendo esta componente clave para poder confirmar que la molécula L-serina ha sido adsorbida exitosamente sobre el sistema L-cisteína / pirita (100). En la región de nitrógeno el mejor ajuste fue realizado para dos componentes: una a una energía de enlace de 400,1 eV y que corresponde al grupo NH₂ y una segunda componente a 402 eV de energía de enlace y que corresponde al grupo amino protonado (NH₃⁺). El porcentaje de ambas componentes es próximo al 50%. Indicando que las moléculas se encuentran presentes tanto en su forma aniónica como zwitterionica. Teniendo en cuenta que en el sistema L-cisteína / pirita (100) la forma química mayoritaria presente era el anión, se podría pensar que L-serina se encuentra mayoritariamente en su forma zwitterion ya que el porcentaje de la componente NH₃⁺ aumenta y el porcentaje de la componente NH₂ disminuye cuando L-serina es evaporada y adsorbida sobre el sistema cisteína / pirita (100).

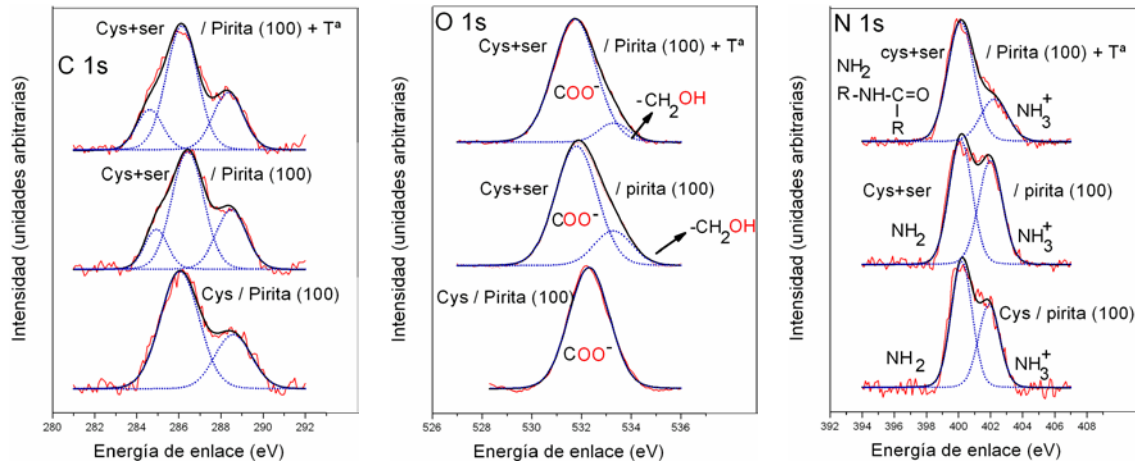


Figura 11. Gráficas comparativas de las regiones de C 1s, O 1s y N 1s para los sistemas L-cisteína / pirita, L-cisteína+L-serina / pirita y L-cisteína + L-serina / pirita tras calentamiento.

Tras medir el espectro XPS del sistema L-cisteína + L-serina / pirita (100) este fue calentado a la temperatura de 110°C tratando de no desorber ninguna de las moléculas evaporadas. El análisis del espectro XPS muestra que el mejor ajuste para la región de carbono corresponde, de nuevo, a tres componentes: la primera componente aparece a una energía de enlace de 284,6 eV y corresponde al grupo C-S, la segunda componente es observada a 286,1 eV y es asignada a los grupos C-N y C-OH y la tercera componente aparece a una energía de enlace de 288,3 eV y correspondería a los grupos COOH o COO⁻ y al carbono presente en la posible formación del enlace peptídico. Los ratios de las tres componentes están en buen acuerdo con la estequiometría de las moléculas 1:3:2 (C-S: C-N+C-OH: -HN-(CH₃)C=O +COOH o COO⁻) indicando que estas no se fragmentan durante el proceso de calentamiento. En la región de oxígeno se siguen observando dos componentes. La correspondiente al grupo COO⁻ que aparece a una energía de enlace de 531,0 eV y la correspondiente al grupo alcohol presente en la molécula de L-serina, a 533,3 eV de energía de enlace. El porcentaje de ambas componentes cambia sustancialmente. La presencia del grupo carboxilato aumenta un 11% mientras que la del grupo alcohol disminuye dicho porcentaje. Este dato es

indicativo de que el calentamiento del sistema no desorbe por completo las moléculas evaporadas sobre la superficie. En la región de nitrógeno continúan observándose dos componentes. La primera a una energía de enlace de 400,1 eV que correspondería al grupo NH_2 y al nitrógeno presente en el posible enlace peptídico formado. La segunda componente aparece a 402,2 eV y correspondería al grupo amino protonado (NH_3^+). El dato más destacable de esta región es la variación de los porcentajes de ambas componentes. La componente que aparece a menor energía de enlace aumenta notablemente pasando de un 53% a un 73%, pudiendo ser debido a la desorción de serina de las capas más externas adsorbidas o a la formación del enlace peptídico entre los dos aminoácidos adsorbidos sobre la superficie. Y cuya hipótesis será discutida a continuación. En la tabla 3 se muestra un estudio comparativo de las componentes de los picos de C 1s, N 1s y O 1s para los sistemas estudiados.

Tabla 3. Estudio comparativo de los picos de C 1s, N 1s y O 1s y el ajuste de sus componentes para los sistemas L-cisteína / pirita, L-cisteína+L-serina / pirita y L-cisteína + L-serina / pirita tras calentamiento.

| Sistema | Cys | | | Cys + Ser | | | Cys + Ser + T ^a | | |
|----------|-------|-----|------------------------------|-----------|----|------------------------------|----------------------------|----|--|
| Elemento | BE | % | Asignación | BE | % | Asignación | BE | % | Asignación |
| C | --- | --- | --- | 284,9 | 14 | C-S | 284,6 | 16 | C-S |
| C | 286,1 | 67 | C-S, C-N | 286,4 | 58 | C-N, C-OH | 286,1 | 58 | C-N, C-OH |
| C | 288,7 | 33 | COOH COO ⁻ | 288,5 | 28 | COOH COO ⁻ | 288,3 | 26 | -HN-(CH ₃)C=O y COOH/COO ⁻ |
| O | 531,8 | 100 | COO ⁻ | 531,8 | 79 | COO ⁻ | 531,7 | 90 | COO ⁻ |
| O | --- | --- | --- | 533,3 | 21 | CH ₂ -OH | 533,3 | 10 | CH ₂ -OH |
| N | 400,1 | 60 | NH ₂ | 400,1 | 53 | NH ₂ | 400,1 | 73 | -HN-(CH ₃)C=O NH ₂ |
| N | 402,0 | 40 | NH ₃ ⁺ | 402,0 | 47 | NH ₃ ⁺ | 402,2 | 27 | NH ₃ ⁺ |

En la figura 11 se pueden observar tres gráficas comparativas de las regiones de C 1s, O 1s y N 1s. En cada gráfica se muestra el mejor ajuste de componentes para cada pico en cada sistema estudiado.

En la región de carbono el mejor ajuste para el sistema cisteína / pirita corresponde a dos componentes, mientras que en el sistema cisteína+serina / pirita y cisteína+serina / pirita tras calentamiento, el mejor ajuste se realizó para tres componentes. En esta región no es posible diferenciar la componente que correspondería a la formación del enlace peptídico ya que aparece solapada con la señal correspondiente a los grupos COOH o COO⁻. Pero, esta región, si nos permite afirmar, para los tres casos, que las moléculas se adsorben exitosamente sobre la superficie ya que los ratios para los tres

sistemas están en buen acuerdo con la estequiometría de las moléculas. En la región de oxígeno, la aparición de una nueva componente, correspondiente al grupo OH, es indicativa de que L-serina es adsorbida exitosamente sobre el sistema L-cisteína / pirita. Tras calentar el sistema la componente sigue observándose indicando que la molécula L-serina no es desorbida en su totalidad. Finalmente, el estudio de la región de nitrógeno y los porcentajes presentes de cada componente tras el calentamiento del sistema nos permite proponer la hipótesis de formación de enlace peptídico. L-cisteína es adsorbida con éxito sobre la superficie y, sobre ella, L-serina es adsorbida. Por tanto, cabe esperar, que la primera molécula en desorber al calentar el sistema cisteína+serina /pirita sea la serina. Tras calentar sigue observándose, en la región de oxígeno, la componente correspondiente al grupo OH, indicando que L-serina no ha sido totalmente desorbida. Además, si dicha molécula desorbiera totalmente se esperaría volver al sistema inicial pero los porcentajes de las componentes de nitrógeno se alejan sustancialmente de lo obtenido inicialmente. El porcentaje de la componente NH₂ en la región de nitrógeno, tras calentar el sistema, aumenta considerablemente respecto al obtenido en el sistema L-cisteína / pirita. Este aumento podría ser debido, por tanto, a la formación de un enlace peptídico ya que la componente correspondiente al nitrógeno del enlace peptídico aparecería solapada en la misma región de energía de enlace que la componente NH₂. Los porcentajes de nitrógeno, a su vez, indican que aproximadamente un 50% del dímero formado estaría en forma aniónica y un 50% en forma catiónica.

≈ 25% de NH₃⁺

≈ 75% de NH₂+ **HN**-(CH₃)C=O → 25% de NH₂ + 50% **HN**-(CH₃)C=O (25% correspondería a la forma molecular con el grupo amino protonado y el otro 25% a la forma molecular con el grupo amino sin protonar).

Para confirmar esta hipótesis sería necesario tener acceso a laboratorios no convencionales como radiación sincrotrón, que nos permita una mejor resolución y distinguir en la región de carbono la componente correspondiente al enlace peptídico y que en nuestro laboratorio no podemos detectar ya que difiere en menos de 0,7 eV de la componente COOH / COO⁻ (0,7 eV es la resolución experimental de nuestro sistema XPS). Otra posibilidad sería realizar el estudio mediante otra técnica, por ejemplo desorción por temperatura programada (TPD) para poder detectar el fragmento de la molécula correspondiente al enlace peptídico. Por tanto nuestros estudios se enmarcan en la hipótesis que nos permite aproximarnos a la idea del mundo hierro-azufre formulada por Wächtershäuser. El origen de la vida podría haber sido originado sobre superficies minerales como la pirita. Los aminoácidos, bloques biológicos de la vida, podrían haber sido concentrados sobre sitios catalíticos presentes en estas superficies y reaccionar entre ellos dando lugar a moléculas peptídicas más complejas; estos innovadores experimentos de co-adsorción de moléculas en superficie apoyan esta exitosa metodología para el estudio de dichos procesos, demostrando la versatilidad e idoneidad de los sistemas de UHV para la simulación de estudios de reactividad de química prebiótica en superficies.

REFERENCIAS

1. K.M. Rosso, U. Becker Jr, M.F. Hochella. *Am. Mineral*, **1999**, 84, 1535.
2. T. L, I. Temprano, S.J. Jenkins, D.A. King, S.M. Driver. *Phys. Chem. Chem. Phys*, **2012**, 14, 11491.
3. M. Sacchi, M. C.E. Galbraith, S. J. Jenkins. *Phys. Chem. Chem. Phys*, **2012**, 14, 3627.
4. G. Qiu, Y. Luo, C. Chen, Q. Lv, W. Tan, F. Liu, C. Liu. *Journal of Environmental Sciences*, **2016**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2016.01.012>.
5. J.M. Guevremont, J. Bebie, A.R. Elsetinow, D. Strongin, M.A.A. Schoonen. *Environ. Sci. Technol*, **1998**, 32, 3743.
6. J.M. Guevremont, D.R. Strongin, M. A.A. Schoonen. *American Mineralogist*, **1998**, 83, 1246.
7. J.M. Guevremont, A.R. Elsetinow, D.R. Strongin, J. Bebie, M. A.A. Schoonen. *American Mineralogist*, **1998**, 83, 1353.
8. J.M. Guevremont, D. R. Strongin, M.A.A. Schoonen. *Surface Science*, **1997**, 391, 109.
9. M. Descostes, F. Mercier, C. Beaucaire, P. Zuddas, P. Trocellier. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, **2001**, 181, 603.
10. M. Descostes, F. Mercier, N. Thromat, C. Beaucaire, M. Gautier-Soyer. *Applied Surface Science*, **2000**, 165, 288.
11. H. Sun, M. Chen, L. Zou, R. Shu, R. Ruan. *Hydrometallurgy*, **2015**, 155, 13.
12. J.R. Mycroft, G.M. Bancroft, N.S. McIntyre, J.W. Lorimer, I.R. Hill. *J. Electroanal. Chem*, **1990**, 292, 139.
13. S. Karthe, R. Szargan, E. Suoninen. *Applied Surface Science*, **1993**, 72, 157.
14. E.C.Todd, D.M. Sherman, J.A. Purton. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **2003**, 67, 881.
15. C.M. Eggleston, J.J. Ehrhardt, W. Stumm. *American Mineralogist*, **1996**, 81, 1036.
16. K. S. Savage, D. Stefan, S.W. Lehner. *Applied Geochemistry*, **2008**, 23, 103.
17. M. Sanchez-Arenillas, E. Mateo-Marti. *Chemical Physics*, **2015**, 458, 92.
18. G.H. Shaw. *Chem. Erde Geochem*, **2008**, 68, 235.
19. T. Kendelewicz, C.S. Doyle, B.C. Bostick, G.E. Brown Jr. *Surface Science*, **2004**, 558, 80.
20. A. G. Berlich, H.W. Nesbitt, G.M. Bancroft, R. Szargan. *Surface Science*, **2013**, 611, 60.
21. A.P. Chandra, A. R. Gerson. *Geochimica et Cosmochimica*, **2011**, 75, 6239.

22. A. Vallée, V. Humblot, C. Méthivier, C-M. Pradier. *J. Phys. Chem. C*, **2009**, 113, 9336.
23. G. Wächtershäuser. *Chem. Biodiversity*, **2007**, 4, 584.
24. E. Mateo-Martí, C. Rogero, C. Briones, J.A. Martín-Gago. *Surface Science*, **2007**, 601, 4195.
25. K. Marshall-Bowman, S.Ohara, D.A. Sverjensky, R.M. Hazen, H.J. Cleaves. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **2010**, 74, 5852.
26. H. Greenwood Hansma. *Journal of Theoretical Biology*, **2010**, 266, 175.
27. J. Bujdák, B.M. Rode. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **1999**, 144, 129.
28. V. Humblot, A. Tejada, J. Landoulsi, A. Vallée, A. Naitabdi, A. Taleb, C-M. Pradier. *Surface Science*, **2014**, 628, 21.
29. A. Vallée, V. Humblot, C. Méthivier, C. M. Pradier. *Surface Science*, **2008**, 602, 2256.
30. G. Polzonetti, C. Battocchio, M. Dettin, R. Gambaretto, C. Di Bello, V. Carravetta, S. Monti, G. Iucci. *Materials Science and Engineering C*, **2008**, 28, 309.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES GENERALES

6. CONCLUSIONES GENERALES

1) La adsorción de cisteína sobre Cu (110) no produce proceso de auto-organización, es necesario un aporte extra de energía (calentamiento del sistema) para que tenga lugar el proceso de auto-organización.

2) El uso complementario de potentes técnicas de análisis de superficie (STM, LEED y XPS) nos permite establecer modelos a escala molecular de los procesos de auto-organización de aminoácidos, como es el caso de L-cisteína sobre la superficie de Cu (110).

3) El tamaño de la molécula y la presencia de puente disulfuro (S-S) condicionan tanto la forma química de la molécula adsorbida sobre la superficie, Cu (110), como el modo de interacción con ella demostrando que el dímero (L-cistina) es más reactivo que el monómero (L-cisteína).

4) La naturaleza de la superficie de estudio es crítica en los procesos de auto-organización de dímeros de aminoácidos (cistina). La superficie de cobre es más reactiva que la de oro. Los procesos de auto-organización sobre cobre se ven favorecidos, mientras que la superficie de oro no da lugar a dichos procesos.

5) El tratamiento previo de preparación de la superficie, en el caso de la pirita (100), modifica su estructura química y favorece la aparición de patrones de difracción ordenados de la superficie, lo que dirige el proceso de adsorción molecular.

6) Desarrollo de la metodología del proceso de tratamiento de la pirita que confirma la correlación entre las señales espectroscópicas de (XPS) (química) y los patrones de difracción de la superficie ordenada (LEED) (organización / orden). El proceso de

calentamiento a tiempos mayores de 3 horas favorece la conversión de especies monosulfuradas (FeS) a especies disulfuradas (FeS_2). Los ciclos de bombardeo ocasionan la ruptura de los grupos disulfuros dando lugar a monosulfuros que generan vacantes de azufre. La presencia de vacantes de azufre o de dímeros en la superficie de pirita es un factor clave en el proceso de adsorción de moléculas sobre la misma, dictaminando su reactividad molecular.

7) La formación de monosulfuros derivada del proceso de bombardeo iónico y por tanto la generación de vacantes de azufre en la superficie de pirita favorece la adsorción de la forma molecular del aminoácido con el grupo amino sin protonar (NH_2).

8) A través del proceso de calentamiento los dímeros de azufre (S_2^{2-}) son recuperados y regeneran las especies de FeS_2 induciendo la aparición de orden en la superficie (aparición de LEED) y favoreciendo la protonación del grupo amino (NH_3^+) del aminoácido.

9) El factor determinante responsable del cambio en la forma química de la molécula ($\text{NH}_2 \rightarrow \text{NH}_3^+$) que es adsorbida sobre la pirita (100) es la presencia o ausencia de disulfuros en la superficie y no la existencia o no existencia del átomo de azufre en su estructura.

10) Si la forma química inicial de adsorción excepcionalmente no es anionica (NH_2) si no que es la forma zwitterion (NH_3^+) (caso de la metionina, comportamiento que también es observado cuando es evaporado sobre superficies metálicas como Au) la molécula no sufre cambios en el grupo NH_3^+ al ser adsorbido sobre la superficie de pirita ordenada mediante el proceso de preparación y calentamiento ya que dicho grupo funcional ya está protonado inicialmente.

11) La adsorción de aminoácidos es una exitosa metodología para estudiar las implicaciones químicas de la superficie de pirita (100) en los procesos de adsorción molecular.

12) La adsorción molecular sobre superficie de pirita en condiciones oxidantes es menos favorable que bajo condiciones anóxicas (UHV). Condiciones de UHV favorece la adsorción y diversidad de las moléculas adsorbidas (anión y catión) mientras que en condiciones oxidadas solo la forma química anión es adsorbida.

13) Nuestros exitosos resultados confirman el potencial de la instrumentación NAPP en grandes instalaciones de radiación sincrotrón para estudios enmarcados en química prebiótica mediante simulación de atmósferas concretas.

14) La reactividad química de la superficie de pirita (100) no afecta a la forma química adsorbida cuando se trata de un péptido. El factor clave que determina la adsorción molecular de la especie adsorbida sobre la superficie no es solo la reactividad de la pirita sino también la presencia del grupo ácido y el grupo amino en el mismo carbono, presencia que no se da en el caso de los péptidos donde ambos grupos están interviniendo en la formación del enlace peptídico.

15) Pioneros experimentos en un sistema de UHV en el contexto de la química prebiótica, al co-adsorber exitosamente dos aminoácidos (L-cisteína y L-serina) sobre una superficie de pirita (100). Los resultados obtenidos, mediante XPS, nos permiten plantearnos la hipótesis de formación de enlace peptídico que nos aproxima a la idea del mundo hierro-azufre formulada por Wächtershäuser donde los minerales jugarían un papel esencial en el origen de la vida.

PUBLICACIONES

- 1.- M. Sanchez-Arenillas and E. Mateo-Martí, “*Spectroscopic study of cystine adsorption on pyrite surface: From vacuum to solution conditions*” **Chemical Physics** 458, 92-98 (2015).
- 2.- M. Sanchez-Arenillas and E. Mateo-Martí, “Pyrite surface environment drives molecular adsorption: Cystine on Pyrite (100) by X-ray photoemission spectroscopy and low energy electron diffraction.” ” **The Journal of Physical Chemistry Chemical Physics** (en segunda revision 2016).
- 3.- M. Sanchez-Arenillas, S. Galvez-Martinez and E. Mateo-Martí, “Sulfur amino acids and alanine on Pyrite (100) by X-ray photoemission spectroscopy: Mineral surface role”. **Journal Physical Chemistry B** (en proceso de edición 2016).
- 4.- M. Sanchez-Arenillas, S. Haq, R. Raval and E. Mateo-Martí, “*Self-organized structures of cysteine adsorption on Cu(110) surface*” **Surface Science** (en proceso de edición 2016).