

Revista cubana de Física

Vol. 26, No. 1A, 2009

*Nanotecnología
cubana 2009*

Sociedad Cubana de Física
Facultad de Física, Universidad de La Habana



La Revista Cubana de Física (*RCF*), publica artículos originales de investigación, revisión y divulgación en el campo de la Física.

Editor

Dra. María Sánchez Colina
Facultad de Física,
Universidad de la Habana 10400
San Lázaro y L, Vedado
Ciudad de la Habana. Cuba
maruchy@fisica.uh.cu

Editores asociados

Dr. Víctor Fajer Ávila
Dr. Ernesto Altshuler
Dr. Augusto González
Dr. Oscar Díaz Rizo
Dr. Roberto Mulet

Edición WEB

Dr. Arnaldo González Arias
arnaldo@fisica.uh.cu



Instrucciones a los autores

1. Los manuscritos enviados a la RCF son contribuciones originales que no están bajo la consideración de otra revista. La revista publica artículos de tres categorías (a) de revisión, conciliados previamente con el Consejo Editorial, con una extensión máxima de 10 páginas; (b) de investigación, con un máximo de 6 páginas; (c) de divulgación, con extensión no mayor de 6 páginas. Se aceptan artículos en español e inglés.
2. El manuscrito deberá ajustarse a las instrucciones y formato de la plantilla que se proporciona, a descargar del sitio www.fisica.uh.cu/biblioteca/revcubfi/index.htm, usando cualquier versión de Microsoft Office Word. No se aceptan otros formatos. También es posible solicitar el envío de la plantilla por correo electrónico al editor correspondiente.
3. Hay una plantilla para artículos/revisiones y otro para divulgación. **Las instrucciones en el cuerpo de la plantilla se deben leer detenidamente** para evitar retrasos posteriores. *Los manuscritos que no se ajusten a las especificaciones de la plantilla serán devueltos sin iniciar proceso.*
4. El procedimiento de arbitraje consta de un sólo paso. El Comité Editorial, oído el criterio de los árbitros, aceptará o rechazará el artículo de forma definitiva. En caso de aceptación, y de acuerdo al arbitraje, el artículo podrá ser remitido al autor para correcciones.
5. Enviar el manuscrito por correo electrónico a rcf@fisica.uh.cu. Las figuras en formato .jpg ó .gif, ancho no mayor de 8.0 cm (instrucciones en la plantilla). Posibles excepciones en el tamaño a conciliar con el Consejo Editorial.

Correo ordinario:

Editor Revista Cubana de Física
Facultad de Física
Universidad de la Habana
San Lázaro y L, La Habana 10400
Cuba.

Editorial: Nanociencia y nanotecnología cubanas. O. de Melo	1
Almacenamiento de hidrógeno en nanocavidades. E. Reguera	3
Construction of sea anemone cytolyisin-based immunotoxins for selective killing of cancer cells. M. Tejuca, V. Pérez-Barzaga, F. Pazos, C. Álvarez and M.E. Lanio	15
Las vesículas liposomales: obtención, propiedades y aplicaciones potenciales en la biomedicina. M.E. Lanio, M.C. Luzardo, R. Laborde, O. Sánchez, Y. Cruz-Leal, F. Pazos, M. Tejuca, A. Valle, M.E. Alonso, L.E. Fernández, C. Alvarez	23
Obtención de nanodispositivos a partir del autoensamblaje de mono y multicapas sobre superficies de oro y plata. R. Cao	31
Crecimiento controlado a capas atómicas. O. de Melo, E. M. Larramendi	37
TeO₂-doped ZnO micro and nanostructures grown by the vapour–solid technique. A. Iribarren, P. Fernández y J. Piqueras	42
Actividad peroxidasa en nanopartículas de ferrita de manganeso MnFe₂O₄. V. Figueroa-Espí, A. Alvarez-Paneque, A. J. Otero-González y E. Reguera	47
Efecto de tamaño en granos superconductores de (Bi,Pb)₂Sr₂Ca₂Cu₃O_{10+y}. E. Govea-Alcaide, L. Pérez-Acosta, P. Muné, y R. F. Jardim	51
Caracterización del mineral zeolítico para el desarrollo de materiales nanoestructurados. G. Rodríguez-Fuentes e I. Rodríguez-Iznaga	55
Propiedades universales en el espectro de energías de puntos cuánticos semiconductores. Alexander Odriazola, Alain Delgado, Augusto González	61
Estudio microestructural por microscopía electrónica de transmisión de materiales magnéticos nanocristalinos. E. Estévez Rams, A. Pentón Madrigal, J. Fidler	71
Micro y nano-biotecnologías en la detección y caracterización de inhibidores de proteasas de interés biomédico. R. García-Fernández, E. Salas, A. del Monte, M. Alonso del Rivero, Y. Guerra, M. A. Chávez.	76
Dependencia térmica de la corriente umbral en láseres semiconductores a pozo cuántico. M. Sánchez, N. Suárez Rojas, J. A. Martín y Elis Mon	83
Puntos cuánticos en microcavidades ópticas. H. Vinck-Posada, B.A. Rodríguez y A. González	89
Potencialidades de la magnetometría vibracional en el estudio de nano inclusiones magnéticas. S. Díaz-Castañón [†] y J.C. Faloh-Gandarilla	97

RCF

REVISTA CUBANA DE FÍSICA

UNIVERSIDAD DE LA HABANA

Dos números al año



*Una publicación conjunta de la
Sociedad Cubana de Física y la
Facultad de Física de la Universidad de la Habana.*

San Lázaro y L. Colina Universitaria, Vedado, Ciudad Habana.

Artículos originales de investigación, revisión y divulgación en inglés y español en el campo de la Física. ISSN: 0253-9268.

Editorial

Nanociencia y nanotecnología cubanas

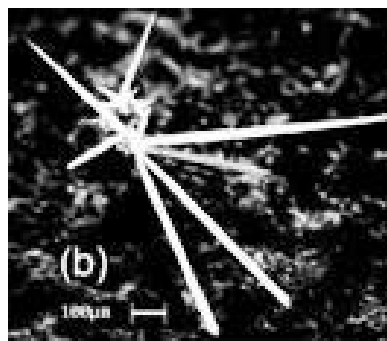
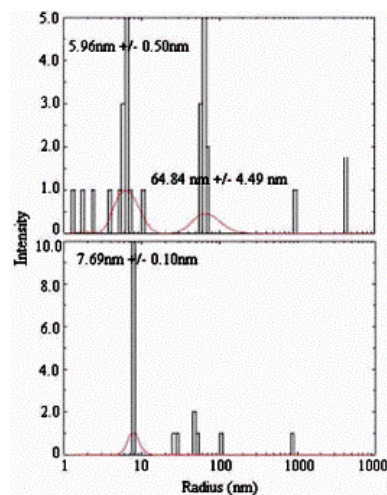
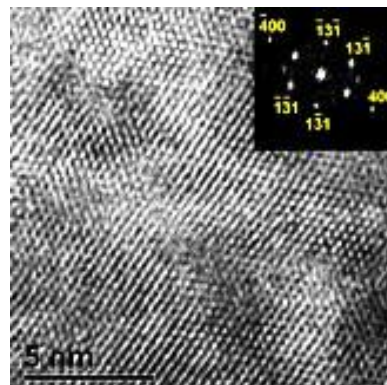
Cumpliendo un acuerdo de la junta directiva de la Sociedad Cubana de Física, y a propuesta de la Facultad de Física y del Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales de la Universidad de La Habana, se presenta este número dedicado a la nanociencia y nanotecnología cubanas. Recoge un grupo de trabajos relacionados con la ciencia y la tecnología en la escala del nanómetro cuyo elemento en común es que en todos se presentan resultados de científicos cubanos de diferentes especialidades. Hemos procurado que todos los que han realizado investigaciones científicas en este tema hayan sido invitados a participar.

Podemos sentirnos orgullosos de que, aun trabajando en muy difíciles condiciones, los profesionales cubanos hayan logrado, con su trabajo de años, que esta importante actividad científica no constituya hoy una novedad en nuestro país. Por eso, este número pudiera servir también a los encargados de tomar decisiones sobre la ciencia para distinguir a algunas de las personas que pudieran ser de ayuda a la hora de desarrollar diferentes tipos de proyectos o elaborar ideas en materia de nanociencia y nanotecnología. Muchos de los trabajos aquí presentados han sido objeto de premios a diferentes niveles, han sido resultados de tesis de licenciatura, maestría o doctorado, o también han sido publicados en revistas de impacto nacional o internacional.

Por las razones explicadas arriba no quisimos incluir trabajos que se refirieran exclusivamente a política científica o que constituyeran únicamente revisiones de trabajos de terceros (sin desconocer la importancia que también tiene este tipo de artículos). Aún cuando hemos pedido a los autores que los artículos sean escritos en un lenguaje que pueda ser accesible a profesionales de diferentes ramas, tampoco fue el propósito de este número presentar trabajos de pura divulgación científica.

Ninguna antología es completa; podrán encontrarse algunas ausencias también en este número. Más de 20 investigadores fueron invitados a participar a partir de las propuestas de las diferentes secciones de la sociedad y de especialistas con reconocido prestigio en el tema de la nanociencia. Sin embargo, no todos han deseado o podido colaborar con el número. No obstante este muestrario parece ser representativo del trabajo cubano en la temática.

Dr. Osvaldo de Melo
Presidente
Sociedad Cubana de Física



Almacenamiento de hidrógeno en nanocavidades

E. Reguera

Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales, Universidad de La Habana, Cuba, y Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del IPN, Unidad Legaria, México; ereguera@yahoo.com

Recibido el 18/03/2009. Aprobado en versión final el 19/06/09.

Sumario. El hidrógeno, dado su alto calor de combustión, 572 kJ/mol, tres veces el de la gasolina, y a que el subproducto que genera (agua) es compatible con el medio ambiente, está siendo considerado como una alternativa a los derivados de combustibles fósiles, en particular, para aplicaciones en transporte automotor. La aplicación del hidrógeno en tecnologías móviles supone tres retos: la producción a partir de alguna fuente renovable como podría ser la disociación del agua; disponer de un método reversible, seguro y económicamente viable para su almacenamiento; e implementar su uso mediante celdas de combustible donde la energía química se transforma directamente en electricidad. El H_2 libre prácticamente no existe en la naturaleza; es por ello que hay que producirlo, no es una fuente primaria de energía como sí lo es el petróleo, sino un portador secundario. Su almacenamiento es, probablemente, el más difícil de esos retos debido a que el H_2 tiene muy baja temperatura crítica ($T_c = 32.97$ K) y a temperaturas ordinarias es un gas en estado supercrítico. La licuefacción del H_2 es posible cuando la fortaleza de las interacciones H_2-H_2 (de tipo van der Waals y cuadrupolo-cuadrupolo) supera a la energía térmica (kT). Esto sugiere la posibilidad de lograr su almacenamiento a temperaturas por encima de T_c a través de una fuerte interacción H_2 -superficie en sólidos de elevada superficie específica, por ejemplo, en materiales laminares o nanoporosos. En esta contribución se evalúan las posibles interacciones H_2 -superficie que podrían estar presentes en este método de almacenamiento y su contribución relativa a la energía de adsorción del H_2 en materiales de superficie extendida. El alcance de esas interacciones se discute a partir de resultados experimentales acerca del almacenamiento de H_2 en nanocavidades. Asimismo, se evalúa el *estado del arte* y las perspectivas de este método de almacenamiento.

Abstract. Hydrogen, because of its large combustion heat, 572 kJ/mol, three times that of gasolines, and an environmentally compatible byproduct, water, is being considered as an alternative to fossil fuels derivatives; particularly in vehicular applications. The application of hydrogen as combustible in mobile technologies involves three challenges: the production from the water splitting, for instance; the availability of a reversible, safe and economically viable storage method; and its use through appropriate fuel cells where the chemical energy is directly transformed in electricity. Nature practically has no free H_2 . From this fact, H_2 must be produced. It is a secondary energy bearer, not a primary source like petroleum. The storage is probably the main of these challenges because H_2 has very low critical temperature ($T_c = 32.97$ K) and at ordinary temperatures it is supercritical gas. The H_2 liquefaction is possible when the strength for the H_2-H_2 interactions (of van der Waals and quadrupole-quadrupole type) surpasses the thermal energy (kT). This suggests the possibility of be able the H_2 storage at temperatures above T_c through a strong H_2 -surface interaction in solids of extended surface, layered or nanoporous materials, for instance. In this contribution the possible H_2 -surface interactions that could be present in such storage method and their relative contributions to the H_2 adsorption energy in materials of extended surface are discussed. The role of these interactions is dicussed from experimental results on H_2 in nanocavities. The *state of art* and perspectives on this storage method are also evaluated.

Palabras clave. Assemblies of adsorbates 68.43.Hn; Kinetics of adsorption 68.43.Mn; Structure of porous materials 61.43.Gt

1 Introducción

El progreso de la civilización humana ha estado íntimamente ligado a la disponibilidad de fuentes de energía. Desde la primera actividad industrial para la explotación del petróleo, en 1859 [1], y luego su procesamiento para obtener diferentes derivados, prácticamente todos los avances tecnológicos conocidos han estado ligados al uso de este combustible fósil. El petróleo y otros combustibles de origen fósil son recursos energéticos no renovables, y para las próximas décadas se espera una declinación progresiva en su disponibilidad y producción. Estos recursos energéticos no son otra cosa que energía de origen solar acumulada por la naturaleza durante millones de años a través del proceso de fotosíntesis; y que la civilización humana habrá consumido en apenas tres siglos. En el proceso de fotosíntesis, en presencia de radiación solar, se produce la disociación del agua para reaccionar con el CO_2 y dar lugar a la formación de carbohidratos. Para la demanda actual y futura de energía el proceso de fotosíntesis como vía para aprovechar la energía solar resulta poco eficiente. Esto permite afirmar que la opción de los biocombustibles, aunque temporalmente puede representar una alternativa, no lo sería nunca a largo plazo.

La combustión del petróleo y sus derivados da lugar a la emisión de CO_2 , el cual es responsable del calentamiento global y de los cambios climáticos relacionados [2]. Ello explica que las actividades de investigación-desarrollo acerca de fuentes de energía renovables y limpias hayan recibido un creciente interés en las últimas décadas. En este sentido, el aprovechamiento directo de la energía solar aparece como la solución más atractiva [3]. Sin embargo, para aplicaciones móviles como el transporte automotriz, y también como un medio de almacenamiento de energía, se requiere de un portador secundario. Al respecto, el hidrógeno aparece como la opción más promisoría debido a su combustión limpia (genera agua como subproducto) y a su alto valor calórico (572 kJ/mol), unas tres veces el de las gasolinas. El hidrógeno no es una fuente primaria de energía, como si lo es el petróleo; habría que producirlo a partir de la disociación del agua, por ejemplo, empleando para ello una fuente de energía renovable como la solar. Esto es lo que hace la Naturaleza en el proceso de Fotosíntesis II, donde participa un cúmulo de 4 átomos de Mn, conocido como “Cubane”, que actúa como catalizador durante la disociación de la molécula de agua.

El H_2 podría emplearse en un motor de combustión interna, sin embargo, esta no sería la forma más eficiente de utilizarlo, sino mediante las llamadas celdas de combustible, actualmente en franco proceso de desarrollo. Una celda de combustible es un dispositivo electroquímico donde tiene lugar la oxidación del combustible liberando electrones que circulan por un circuito exterior para realizar trabajo. En una celda de combustible el H_2 se combina con el O_2 para producir directamente electricidad. De modo que esta constituye una forma de pro-

ducir energía limpia no sólo de interés en el transporte, sino además, para la iluminación, las comunicaciones, el almacenamiento de información, en refrigeración, entre otros usos actuales de la electricidad. El empleo más efectivo del H_2 será la conversión directa de su energía química en energía eléctrica. Las celdas de combustible que operan con H_2 pueden alcanzar una eficiencia nominal de conversión de la energía química en eléctrica de un 60 %, prácticamente el doble de la alcanzable a partir de derivados de combustibles fósiles, que es aproximadamente un 34 %.

Para las aplicaciones arriba mencionadas del hidrógeno como portador energético secundario, el principal reto es encontrar una forma tecnológicamente apropiada y económicamente rentable, para almacenarlo. El hidrógeno, en su forma molecular, H_2 , no puede ser llevado al estado líquido por encima de 32.97 K (su temperatura crítica, T_c), independientemente de la presión que se aplique, y el proceso de licuefacción consume cerca del 40 % de la energía que sería generada. Además, el enorme gradiente de temperatura con respecto a la ambiente, conduce a pérdidas por evaporación inadmisibles, en particular para largos periodos de tiempo de almacenamiento. El almacenamiento de H_2 a altas presiones tampoco resulta práctico, al menos para tecnologías móviles. Para una presión de 345 bar se alcanza una densidad de 15 g/L, relativamente baja respecto a los 70 g/L correspondientes al estado líquido.

La licuefacción del H_2 es posible cuando la energía de las interacciones $\text{H}_2\text{-H}_2$ (tipo van der Waals y cuadrupolo-cuadrupolo) supera la energía térmica (kT). Este hecho sugiere la posibilidad de lograr el almacenamiento de H_2 a relativamente altas densidades por encima de T_c a través de una fuerte interacción H_2 -superficie en sólidos de superficie extendida, por ejemplo en materiales laminares y/o nanoporosos. Se han estudiado y continúan estudiándose varias familias de sólidos con superficie extendida para almacenamiento de H_2 , entre ellos, materiales en base a carbono (nanotubos, carbones porosos, nanofibras) [4,5], zeolitas [6,7], sílices porosas [8], enrejados metal-orgánicos (MOFs, por sus siglas en idioma inglés) [9,10], polímeros de coordinación en base al ligando cianuro [11-17], entre otros. De los resultados publicados es posible extraer una valiosa información referente a la naturaleza de las interacciones H_2 -superficie y acerca de los calores de adsorción involucrados en ellas. En esta contribución se discute ese tipo de información. Además, se presta particular atención al papel que juegan el enrejado y la estructura electrónica del sólido en los potenciales de adsorción para el H_2 . La discusión de estos factores se basa en los resultados del autor y sus colaboradores sobre este tema, en particular sobre el almacenamiento de H_2 en cianometalatos porosos [18-23].

El H_2 puede ser almacenado también en jaulas (cajas) formadas por moléculas de agua [24,25], sin embargo, este método requiere presiones excesivamente altas (>> 120 bar) y el proceso está desfavorecido desde el punto de vista cinético, lo que limita sus posibilidades de apli-

cación práctica, al menos con el nivel actual del *estado del arte*. Este método de almacenamiento se basa en favorecer la formación, bajo altas presiones, de cavidades (jaulas) que contienen moléculas de hidrógeno en su interior. Las interacciones huésped-hospedero para el H₂ en estas jaulas son del tipo van der Waals.

2 Metas de referencia para el almacenamiento de H₂

Respecto al almacenamiento de hidrógeno para aplicaciones en transporte automotor, el Departamento de Energía de los Estados Unidos de Norteamérica, (DOE, por sus siglas en idioma inglés), ha establecido un conjunto de metas que hoy en día son mundialmente aceptadas como metas de referencia (ver Tabla 1) [26]. De estas metas la más notable se refiere a lograr una densidad gravimétrica de H₂ almacenado del 9% en peso para el 2015. Hasta la fecha ninguno de los materiales que han sido estudiados satisface la totalidad de los requerimientos tecnológicos contenidos en esas metas, incluyendo a los hidruros metálicos donde el hidrógeno se almacena en forma atómica [27]. Para varios hidruros se logran capacidades de almacenamiento por encima de la meta del 9% en peso, pero con el inconveniente de una baja reversibilidad para el proceso de adsorción-desorción (carga-descarga) [28].

Para el almacenamiento de H₂ a través de adsorción física un parámetro crítico a tomar en consideración es el calor de adsorción ($\Delta H^{\circ}_{\text{ads}}$), puesto que es la energía liberada en el proceso de adsorción la que determina que la molécula de H₂ pueda permanecer como especie adsorbida a una temperatura dada. Para estimar esa energía a partir de datos de adsorción debe asumirse un modelo que pueda describir el proceso de adsorción de las moléculas de H₂. Por simplicidad, supongamos que ese modelo corresponde a la adsorción localizada descrito por la isoterma de Langmuir:

$$n = KPn_m / (1 + KP) \quad (1)$$

donde n es la cantidad adsorbida a una presión P , n_m es la cantidad adsorbida a $P = \infty$, y K es una constante. Partiendo de este modelo, Bathia y Myers [4] han supuesto que el proceso de carga y descarga (adsorción-desorción) tiene lugar bajo condiciones isotérmicas entre dos presiones P_1 y P_2 . Luego la cantidad de H₂ entregado vendría dada por:

$$D(K, P_1, P_2) = (KP_1 n_m) / (1 + KP_1) - (KP_2 n_m) / (1 + KP_2) \quad (2)$$

Para valores fijos de P_1 y P_2 , el máximo valor de D , según la ec. (2), se alcanza para:

$$K = 1 / (P_1 P_2)^{1/2} \quad (3)$$

El valor de K (en la isoterma de Langmuir) depende del cambio de entropía, ΔS° , relativo a la presión estándar, P_0 (1 bar), del cambio de entalpía en el proceso de adsorción, ΔH° , y de la temperatura (T), de acuerdo a:

$$K = \exp(\Delta S^{\circ} / R) \cdot \exp(-\Delta H^{\circ} / RT) \quad (4)$$

donde R es la constante del gas ideal. En el modelo de Langmuir, el valor de ΔH° representa el calor de adsorción promedio o integral entre P_1 y P_2 y su valor ab-

soluta es igual al calor isostérico. A partir de esas consideraciones, el calor integral de adsorción para la condición de máxima desorción (descarga) viene dado por:

$$\Delta H^{\circ}_{\text{opt}} = T\Delta S^{\circ} + (RT/2) \ln(P_1 P_2 / P_0^2) \quad (5)$$

Para la adsorción de H₂ en materiales en base carbono, MOFs, y otros, se verifica que $\Delta S^{\circ} \approx -8R$ [4]. Supongamos que los ciclos de adsorción y desorción tienen lugar entre $P_1 = 30$ bar y $P_2 = 1.5$ bar. Luego, a partir de la ec. (5) se obtiene que $\Delta H^{\circ}_{\text{opt}} = -15.1$ kJ/mol a $T = 298$ K. Si P_2 se incrementa hasta 100 bar, el calor de adsorción requerido se reduciría a -13.6 kJ/mol.

El valor de ΔH° se determina usualmente a través del método isostérico, empleando isotermas registradas a dos temperaturas cercanas, digamos 77 y 87 K, y aplicando la ecuación de Clausius-Clapeyron [17-21]. Otro método de obtener el valor de ΔH° , y al mismo tiempo el de ΔS° , es tomar la forma lineal de la ec. (4) y combinarla con la ec. (1) para obtener:

$$\ln(n / (n_m - n)P) = (\Delta S^{\circ} / R) - \Delta H^{\circ} / RT \quad (6)$$

En lugar de la cantidad adsorbida " n " a la presión P , se puede tomar cualquier otra magnitud proporcional a " n ", como puede ser la intensidad integral " A " de la vibración $\nu(\text{H-H})$ de la molécula de H₂ adsorbida [28]. A partir de los valores medidos " A ", el intercepto y la pendiente de la dependencia lineal $\ln(A / (A_m - A)P)$ (ec. (6)) *versus* $1/T$ nos proporcionan directamente el valor de $\Delta S^{\circ} / R$ y de $\Delta H^{\circ} / R$, respectivamente.

A partir de los valores obtenidos para ΔH° y ΔS° es posible estimar la temperatura óptima correspondiente para el proceso de desorción, que vendría dada por:

$$T_{\text{opt}} = \Delta H^{\circ} / [\Delta S^{\circ} + (R/2) \ln(P_1 P_2 / P_0^2)] \quad (7)$$

Para materiales en base a carbono donde $\Delta H^{\circ} \approx -7$ kJ/mol, y $\Delta S^{\circ} = -8R$ [4], con $P_1 = 30$ bar y $P_2 = 1.5$ bar, resulta $T_{\text{opt}} = 138$ K. Esta es una temperatura relativamente baja respecto a la ambiente (300 K). El mismo resultado se obtiene para materiales tipo MOFs; en particular, para aquellos donde el potencial de adsorción para H₂ está determinado por interacciones del tipo van der Waals, cuyos calores de adsorción no superan los -7 kJ/mol.

Tabla I
Metas del DOE para sistemas de almacenamiento de hidrógeno (años 2010 y 2015)

Parámetro	2010	2015
Energía disponible (kW.h/kg)	2	3
Cap. Gravimétrica (% en peso)	6	9
Densidad Volumétrica (kg/m ³)	60	80
Costo (USD/kW.h)	4	2
Ciclo de Vida	1,000	1,500
Tiempo de Recarga (kg H ₂ /min)	1.5	2
Temperatura de Operación (K)	243/323	233/333

El modelo de Langmuir supone no sólo adsorción localizada sino además, que no ocurren interacciones (laterales) entre moléculas adsorbidas vecinas. Realmente estas dos condiciones difícilmente se cumplen para la adsorción de hidrógeno. Quizás la más fuerte de estas

dos suposiciones es la primera, por la propia naturaleza de este adsorbato. Una alternativa es realizar estimados de los calores de adsorción a través de cálculos computacionales bajo el supuesto de condiciones más cercanas a las reales. A partir de cálculos de este tipo realizados por Zhao y col. [30] se ha estimado que los valores óptimos para los calores de adsorción se encuentran entre -20 y -30 kJ/mol. Calores de adsorción en ese rango o superiores sólo se han alcanzado para un reducido número de materiales en los que están presentes iones de metales de transición con esfera de coordinación insaturada en la superficie [8,30], pero no llegan a alcanzar la meta de 6 % en peso. En tales casos, la molécula de hidrógeno podría formar un enlace de coordinación con el centro metálico superficial. Este podría ser, por consiguiente, uno de los criterios a seguir para desarrollar matrices porosas apropiadas para almacenamiento de H₂.

3 Propiedades físicas del H₂ y posibles interacciones H₂-superficie

El H₂ es la molécula más simple de la naturaleza, con solo 2 electrones, los cuales están comprometidos en un enlace σ . Ello explica que el H₂ sea relativamente poco polarizable y que las interacciones dispersivas (van der Waals) en que él participa resulten débiles. Esta molécula, dada su forma elipsoidal, posee momento cuadrupolar (Q) y, por consiguiente, es susceptible de interactuar con un gradiente de campo eléctrico (∇E). Los componentes del tensor momento cuadrupolar, en su forma diagonal, satisfacen la siguiente relación $Q = Q_{zz} = -2Q_{xx} = -2Q_{yy}$. En la Tabla 2 se resumen las propiedades físicas del H₂ que resultan de interés a los efectos de su almacenamiento en sólidos de superficie extendida. A partir de esas propiedades físicas, es posible establecer el tipo de interacciones en que podría participar esta molécula con la superficie de un material dado, en particular:

1) Polarización en presencia de un campo eléctrico local (E) fuerte, de lo cual resultaría una energía de estabilización dada por $\Delta H = \alpha E^2/2$ donde α es la polarizabilidad del H₂. La dependencia de E^2 para la energía de interacción determina que la misma sea función de r^{-4} (r : distancia de interacción) y, por consiguiente, su contribución al potencial de adsorción resultará significativa sólo cuando la molécula de H₂ pueda acercarse mucho al centro de carga; por ejemplo, en presencia de iones muy pequeños como Mg²⁺, Li⁺, y Na⁺.

2) Interacción entre el momento cuadrupolar del H₂ y el gradiente de campo eléctrico local, con una energía de estabilización dada por $\Delta H = (Q \cdot \nabla E)/3$. Esta interacción depende de r^{-3} y se manifestará a distancias mayores que la de polarización. El hidrógeno tiene un momento cuadrupolar (Q) electrónico positivo de 0.4926 ea_0^2 (ea_0^2 : unidades atómicas, e : carga del electrón, a_0 : radio de Borh) (Tabla 2), que si bien es pequeño, no lo es tanto cuando lo comparamos con el reportado para N₂ (-1.052 ea_0^2) o el CO₂ (-2.987 ea_0^2). Su signo positivo nos indica que frente a un gradiente de campo eléctrico dado, para

el H₂ y el N₂ (o CO₂), por ejemplo, la orientación será muy diferente. Las moléculas de N₂ y CO₂, que tienen momento cuadrupolar negativo, se orientarán con el eje mayor del elipsoide según la dirección del gradiente de campo, mientras que el H₂ lo hará en disposición transversal, formando un complejo adsorbido en forma de "T". Este hecho puede tener implicaciones en los procesos de transporte y adsorción del hidrógeno en enrejados porosos (se discute más abajo).

3) Una interacción dispersiva, cuya naturaleza está en la fluctuación resonante de la distribución de carga electrónica entre la molécula de hidrógeno y la superficie, o entre moléculas huéspedes vecinas. Esta interacción tiene dos términos, uno atractivo que depende de r^{-6} y uno repulsivo (debido al solapamiento de las nubes electrónicas) que lo hace según r^{-12} . Por consiguiente, es de esperar que esta interacción se manifieste sólo para distancias H₂-superficie del orden del diámetro de esta molécula y para una disposición huésped-hospedero que favorezca el máximo acercamiento entre sus nubes de carga. Esta interacción se vería favorecida para cavidades pequeñas, del orden de dos veces el diámetro cinético de la molécula de hidrógeno, o algo menor, digamos para cavidades de unos 0.6 nm de diámetro. Como ya se ha mencionado, en carbones nanoporosos, los cuales están formados por láminas de grafeno donde la interacción H₂-superficie es sólo de tipo dispersiva, los calores de adsorción para H₂ no exceden los -7 kJ/mol [4]. Esta es la situación también para muchos enrejados metal-orgánicos libres de centros de cargas en la superficie de las nanocavidades [5,9,10].

Las tres interacciones arriba mencionadas tienen una fuerte dependencia de $1/r$ (r^{-3} , r^{-4} y r^{-6}), y se verán favorecidas cuando la molécula de hidrógeno está confinada en pequeños volúmenes, cuyas dimensiones no excedan tres veces su diámetro. En tales casos las interacciones H₂-superficie y la H₂-H₂ podrían resultar relativamente fuertes. Tales pequeños volúmenes corresponden a nanocavidades de aproximadamente 1 nm.

El hidrógeno molecular existe en dos formas, *orto* hidrógeno y *para* hidrógeno. El estado *orto* es aquel en el cual los dos protones de los núcleos tienen sus espines paralelos, conformando un estado *triplete* ($l = 1$), mientras que en el *para* los protones tienen sus espines antiparalelos para dar lugar a un estado *singlete* ($l = 0$). A temperatura y presión normales el 75 % del hidrógeno se encuentra en configuración *orto* y el 25 % restante en estado *para*. Esta proporción entre *orto* y *para* no es estable, y depende de la temperatura y la historia térmica de la molécula. A muy bajas temperaturas la forma más estable es la *para* y el proceso de conversión de *orto* a *para* es exotérmico. La configuración *orto* corresponde a un estado excitado de esta molécula. La energía liberada durante la transición de *orto* a *para* resulta suficiente para contribuir al proceso de evaporación durante la licuefacción del H₂ ($\sim 1 \text{ kJ/mol}$). Por consiguiente, esta sería una propiedad importante a considerar durante el almacenamiento del hidrógeno en su estado líquido, no así

durante los procesos de adsorción física o, al menos, su contribución es significativamente menor que la del resto de las interacciones arriba discutidas.

Las dos interacciones del tipo electrostáticas deben manifestarse a la vez, con diferente intensidad, en dependencia de la naturaleza y propiedades de los centros de cargas presentes. Para iones Mg^{2+} , los cuales dado su pequeño radio iónico y su carácter divalente deben resultar altamente polarizantes, situados en los canales de una zeolita (Na, Mg)-Y, se han reportado calores de adsorción medidos para el H_2 de -18 kJ/mol [29,34], y de -10 kJ/mol, según cálculos computacionales [6]. Para iones K^+ , Rb^+ y Cs^+ situados en las cavidades de hexacianometalatos de cinc, $Zn_3A_2[Fe(CN)_6]_2$ donde A = K, Rb, Cs (Figura 1), los valores experimentales para ΔH^0 resultan -8.3, -6.8 y -6.4 kJ/mol, respectivamente [21,22]. Comparado con el Mg^{2+} , el K^+ es un catión mucho menos polarizante, 0.433 versus 2.704 en unidades de Ze/r^2 . [34]. Cuando se comparan los valores obtenidos para ΔH^0 en la serie homóloga con K^+ , Rb^+ y Cs^+ , con sus poderes polarizantes respectivos, 0.433, 0.363 y 0.305 [35], se observa una correlación prácticamente lineal. Esto hace suponer que en esos materiales el potencial de adsorción para la molécula de hidrógeno está determinado por la interacción electrostática.

La interacción de polarización de la molécula de hidrógeno con un centro de carga puede ser evaluada, de forma sencilla y directa, mediante espectroscopia IR [29,34]. La vibración $\nu(H-H)$, que en la molécula de H_2 libre se observaría en 4163 cm^{-1} , en presencia de un centro de carga se desplaza hacia valores menores de frecuencia, como consecuencia de un debilitamiento del enlace H-H. Para la serie Li-ZSM-5, Na-ZSM-5, K-ZSM-5 esta vibración se detecta a 4092, 4101 y 4112 cm^{-1} [29], respectivamente. Para iones Mg^{2+} , también en zeolitas, esta vibración se observa en 4056 cm^{-1} , para un desplazamiento de -107 cm^{-1} [29]. Para las dos configuraciones de la molécula de hidrógeno (*orto* y *para*) la diferencia en la frecuencia de vibración $\nu(H-H)$ no excede los 6 cm^{-1} y por consiguiente, resulta muy inferior al desplazamiento debido a la interacción de polarización.

La interacción del H_2 con un centro de carga altamente polarizante o un gradiente de campo eléctrico intenso en cavidades y canales estrechos podría, incluso, limitar significativamente la difusión del hidrógeno hacia los espacios libres en el interior de enrejados porosos. En tal caso las curvas de adsorción manifestarían pronunciados efectos cinéticos. Para la misma serie de hexacianometalatos de cinc pero con Na^+ en los canales ($Zn_3Na_2[Fe(CN)_6]_2$), se observa que aun con tiempos de equilibrio que conducen a una semana de medición, los efectos cinéticos son muy pronunciados, incluso para temperaturas cercanas a la ambiente donde el incremento en energía cinética para el H_2 favorecería el proceso de difusión en canales estrechos (Figura 2). El poder polarizante del Na^+ (0.743) es mayor que el del K^+ (0.433). Tales efectos no se observaron, por ejemplo, para la adsorción de CO_2 en la misma serie, aun en presencia de

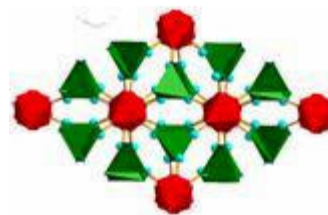
Na^+ cerca de las ventanas de acceso a las cavidades (Figura 1) [20]. Esto podría estar relacionado con la forma en que entraría el CO_2 a través de las ventanas, respecto al H_2 , dada la diferencia de signo para su momento cuadrupolar.

Tabla II
Propiedades de la molécula de H_2 que resultan relevantes para su adsorción física.

Parámetro y Unidades	Valor
Temperatura crítica, T_c (K) ^a	32.97
Presión crítica (bar) ^a	12.96
Densidad crítica (kg/m^3) ^a	30.09
Temperatura de licuefacción, a 1 bar (K) ^a	20.35
Punto de fusión a 1 bar (K) ^a	13.95
Densidad a 1 bar y 293 K (kg/m^3) ^a	0.085
Densidad a 1 bar y 20 K (kg/m^3) ^a	1.312
Polarizabilidad, α (10^{-24} cm^3) ^a	0.8023
Momento cuadrupolar, Q (ea_0^2) ^b	0.4926*
Diámetro cinético (nm) ^a	0.29
Radio de van der Waals (nm) ^a	0.24
Entalpía de licuefacción (kJ/mol) ^a	0.9
Entalpía de sublimación, (kJ/mol) ^a	1.028
Calor específico (J/kg.K) ^a	$1.4304 \cdot 10^4$
Coeficiente de exp. térmica (K^{-1}) ^a	0.00366
Distancia H-H (nm) ^c	0.074

Tomado de: ^a Ref. [30]; ^b Ref. [36]; ^c Ref. [32]; * Para N_2 y CO_2 , moléculas sondas comúnmente usadas en estudios de adsorción en materiales porosos, los valores de Q son de signo contrario, -1.052 y -2.987 ea_0^2 , respectivamente.

Figura 1: Enrejado poroso para hexacianometalatos de cinc tipo zeolitas. Los metales intercambiables se encuentran cerca de las ventanas de acceso a las cavidades.



Un comportamiento análogo hemos observado para la adsorción de H_2 en canales estrechos en ausencia de iones intercambiables pero con centros metálicos superficiales con esfera de coordinación incompleta. Este es el caso de los nitroprusiatos de Mn y Cd, ($M[Fe(CN)_5NO]$), $M = Mn, Cd$). El enrejado poroso de estos materiales está formado por canales de forma irregular de unos 0.7 nm de altura como promedio (Figura 3). En presencia de aire húmedo, el espacio libre entorno a cada metal (Mn, Cd) está ocupado por 3 moléculas de agua por metal, una coordinada y dos estabilizadas por interacciones tipo puente de hidrógeno con la primera. Las tres moléculas de agua se pueden remover a través de un calentamiento ligero ($< 350\text{ K}$), liberando el espacio que ocupan. Las curvas de adsorción de H_2 en el

enrejado anhidro de estos materiales muestran pronunciados efectos cinéticos (Figura 4) [19]. La interacción del H_2 con la superficie es lo suficientemente fuerte como para limitar su difusión hacia el interior del microcristal y ocupar todo el espacio libre en este. En canales tan estrechos estarían contribuyendo los tres tipos de interacciones arriba discutidos, y posiblemente también cierta interacción específica de coordinación H_2 -metal. Para el CO_2 se observa un comportamiento totalmente diferente. El espacio libre en el enrejado se satura rápidamente con moléculas de CO_2 [19]. Los calores medios de adsorción en este caso resultan superiores a los -15 kJ/mol. A esta marcada diferencia en comportamiento para H_2 y CO_2 , podría estar contribuyendo también la diferencia en propiedades físicas para estas dos moléculas, en particular, el signo de Q y, además, la posibilidad de una interacción de coordinación del H_2 con los centros metálicos.

Las características de las interacciones H_2 -superficie arriba discutidas, y los calores de adsorción que se obtienen, sugieren que el desarrollo de un material para almacenamiento de hidrógeno molecular que satisfaga los requerimientos de la tecnología a través de interacciones puramente físicas, constituye un reto inmenso. Esto sólo considerando el valor del calor de adsorción requerido para lograr que la molécula de H_2 permanezca en las cavidades como especie adsorbida hasta una temperatura cercana a la ambiente, que sería lo más recomendable desde el punto de vista tecnológico. Cuando observamos los valores reportados para la densidad gravimétrica de H_2 almacenado, se concluye que para ningún material se ha alcanzado la meta del 9 % en peso, excepto en algunos MOFs a altas presiones [36], > 100 bar, más allá de lo que se supone pueda admitir la tecnología.

Los estudios reportados acerca del almacenamiento de hidrógeno en materiales porosos revelan que los volúmenes adsorbidos a relativamente bajas presiones están determinados por las energías de adsorción involucradas, esto es, por la fortaleza huésped-hospedero. A relativamente elevadas presiones, > 100 bar, el área superficial disponible en el sólido y el tamaño de las cavidades son los parámetros que determinan la cantidad de moléculas almacenadas y no la energía sólido- H_2 .

Lo hasta aquí discutido sugiere que el diseño de materiales porosos apropiados para el almacenamiento de H_2 no puede estar basado, únicamente, en optimizar las interacciones físicas H_2 -superficie; hay que aprovechar interacciones específicas hidrógeno-superficie que involucren mayores energías de adsorción. Este pudiera ser el caso de la interacción de coordinación del H_2 con centros metálicos, cuya discusión se aborda en el siguiente epígrafe.

4 Interacciones H_2 - H_2

Bajo condiciones de confinamiento en nanocavidades y en estados condensados, sólido, líquido e incluso para especies adsorbidas cuando la distancia entre los sitios

de adsorción es del orden del doble del radio de van der Waals de la molécula de H_2 (0.24 nm), además de las interacciones tipo van der Waals ya mencionadas, pueden estar presentes otras interacciones intermoleculares (H_2 - H_2).

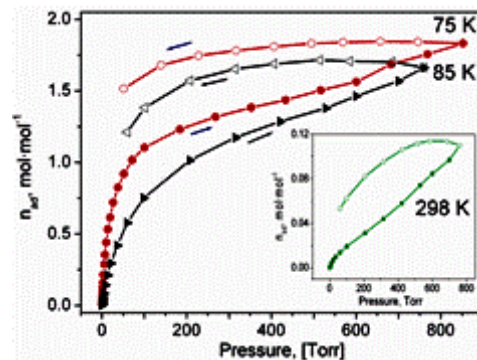


Figura 2: Curvas de adsorción de H_2 en $Zn_3Na_2[Fe(CN)_6]_2$ a tres temperaturas diferentes [21]. El pronunciado efecto cinético que se observa se atribuye a una fuerte interacción de la molécula de hidrógeno con los iones Na^+ situados cerca de las ventanas de acceso a las cavidades.

Figura 3: Enrejado poroso de los nitroprusiatos de Mn y Cd formado por canales estrechos (~ 0.7 nm por el lado mayor) con centros metálicos superficiales ($M^{II} = Mn, Cd$) con esfera de coordinación insaturada.

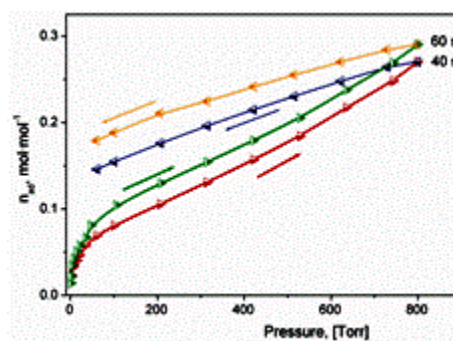
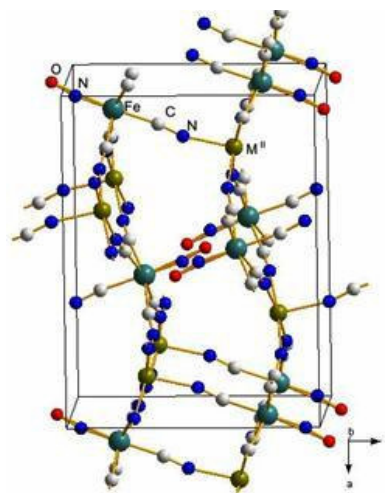


Figura 4: Curvas de adsorción de H_2 en $Mn[Fe(CN)_5NO]$ para tiempos de equilibrio diferentes [19]. El pronunciado efecto cinético que se observa se atribuye a una relativamente fuerte interacción de la molécula de hidrógeno con la superficie de los canales.

Estas últimas incluyen a interacciones electrostáticas,

en particular, de polarización y entre sus momentos cuadrupolares permanentes (Q), ambas de carácter atractivo, y la interacción de intercambio que resulta del solapamiento entre las nubes electrónicas de moléculas vecinas. Esta última de carácter repulsivo. Este tipo de interacciones ha sido ampliamente estudiado mediante cálculos computacionales para las diferentes configuraciones posibles entre dos moléculas de H_2 [37].

La Figura 5 ilustra las 4 configuraciones que han sido consideradas. La configuración de menor energía, (más estable), es aquella en la cual las dos moléculas se disponen de forma transversal (X) maximizando la interacción entre sus momentos cuadrupolares y, al mismo tiempo, minimizando el solapamiento y con ello la interacción repulsiva. De las interacciones atractivas, la cuadrupolar aporta más del 90 % de la energía de interacción [38]. El mínimo para la energía potencial para la configuración más estable corresponde a una distancia, entre el centro de las dos moléculas, de unos 0.34 nm y por debajo de 0.31 nm la interacción resulta repulsiva. En consecuencia, la separación entre dos sitios de adsorción vecinos no puede ser inferior a los 0.31 nm y la configuración adoptada entre moléculas adsorbidas vecinas debe ser tal que la energía para la interacción cuadrupolar sea máxima.

5 Coordinación del H_2 a centros metálicos

Como se ha mencionado antes, la molécula de hidrógeno tiene la capacidad de formar un enlace de coordinación con centros metálicos. El H_2 se coordina de forma lateral para donar carga desde su enlace σ al metal. Esto supone que en el metal esté disponible un orbital de energía suficientemente baja para recibir densidad electrónica desde la molécula de hidrógeno. Esta es una interacción de coordinación relativamente débil pero que se ve favorecida si el metal posee orbitales d, en particular, t_{2g} , en una disposición apropiada para retro-donar densidad de carga electrónica al orbital σ^* del H_2 (Figura 5). Este proceso de donación metal $\rightarrow H_2$ es más favorable para metales con orbitales d muy extensos (difusos), en particular, aquellos con carga nuclear pequeña (Sc, Ti, V) o de la tercera serie (5d: W, Os, Ir, Pt), puesto que en ellos se facilita la superposición de sus orbitales d con el orbital σ^* de la molécula de hidrógeno. Esta interacción se ve aún más favorecida para estados de valencia bajos en esos metales, esto es, donde los orbitales d tengan una alta población de electrones, una fracción de la cual podría ser donada. Esto supone que el orbital σ^* , si bien es anti-enlazante respecto al orbital σ del H_2 , no tiene por qué serlo respecto a un orbital d de un metal de transición. Efectivamente, este puede ser el caso para muchos metales de transición. Los compuestos de coordinación del H_2 a metales de transición se vienen estudiando desde hace más de 20 años y se conocen cientos de ellos [32]. No debe resultar sorprendente que el primer compuesto de coordinación del H_2 en ser estudiado involucre a un

metal de transición de la tercera serie, $[W(CO)_3(PiPr_3)(H_2)]$ [33]. En estos compuestos de coordinación, la molécula de hidrógeno se comporta como donador y como aceptor de electrones a la vez, del mismo modo que lo hace la molécula de CO.

Figura 5. Orientación relativa para dos moléculas de hidrógeno. La configuración más estable es aquella en la cual los centros de las moléculas son mutuamente perpendiculares (extrema derecha, inferior) donde se hace máxima la interacción cuadrupolar (atractiva) y se minimiza la repulsiva debida al solapamiento de las nubes electrónicas.

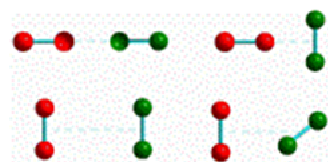
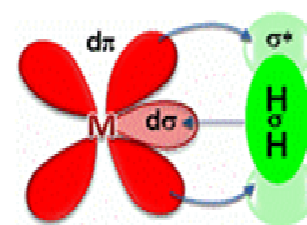


Figura 6. Interacción de coordinación lateral del H_2 a un centro metálico. El H_2 dona densidad electrónica a un orbital d_{σ} (e_g) del metal y al mismo tiempo, el metal retro-dona carga al orbital σ^* del H_2 a través de un orbital d_{π} (t_{2g}).



La energía de la interacción de coordinación del H_2 a un metal dependerá de la naturaleza del metal, de su estado de valencia y configuración electrónica, pero también de los restantes grupos presentes en su esfera de coordinación. Aquellos grupos que contribuyan a incrementar la densidad de carga sobre el metal podrían favorecer la donación metal $\rightarrow H_2$ y con ello proporcionar una mayor estabilidad al complejo metal- H_2 . La fortaleza de esa interacción se estudia, normalmente, midiendo la energía de disociación del complejo [36], y en estudios de adsorción determinando los calores isostéricos involucrados [11,14-22]. De forma indirecta, las distancias metal- H_2 y H-H determinadas a partir de datos de difracción de neutrones [13], y datos espectroscópicos (IR y 1H RMN) [32], también nos proporcionan información sobre la fortaleza de la interacción H_2 -metal. Dado que la donación metal $\rightarrow H_2$ se realiza a un orbital anti-enlazante (σ^*), a mayor densidad electrónica donada mayor será la densidad electrónica sobre este orbital (σ^*) y ello da lugar a un debilitamiento del enlace H-H, y a un incremento en la distancia H-H.

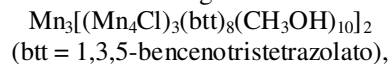
Para la molécula de hidrógeno libre la distancia H-H es de 0.74 Å (Tabla 2). A medida que la interacción M- H_2 es más fuerte, el enlace H-H se debilita y la distancia H-H puede crecer hasta aproximadamente 1.6 Å [33], mas del doble de su valor original, sin que ocurra la disociación de la molécula. Por encima de este límite la donación de carga del metal al orbital $\sigma^*(H_2)$ provoca la ruptura de la molécula de hidrógeno para formar 2 iones H^+ y entregar dos electrones ($2e^-$). Esto es lo que sucede, por ejemplo, en las celdas de combustible, donde se emplean electrodos de Pt para facilitar la disociación del H_2 .

Por debajo de ese límite para la distancia H-H, la frecuencia de vibración $\nu(\text{H-H})$ constituye un indicador directo de la fortaleza de la interacción H_2 -metal. Asimismo, también lo es la constante de acoplamiento $J(\text{H-H})$, que se puede determinar en un experimento de RMN ^1H , o la barrera rotacional del H_2 según el eje M-H_2 , cuyo valor se puede estimar mediante dispersión inelástica de neutrones [33].

Los valores reportados para las energías de disociación de complejos H_2 -metal varían desde unos 7 hasta 80 kJ/mol [33,36], correspondientes a interacciones que pueden catalogarse desde débiles hasta fuertes. De modo que el valor ideal para el calor de adsorción de H_2 , de -20 kJ/mol, podría lograrse a través de una interacción de coordinación, no disociativa, con centros metálicos superficiales, la cual preservaría la identidad de la molécula y, por consiguiente, la reversibilidad del proceso.

La interacción del H_2 con centros metálicos superficiales en materiales porosos ha sido estudiada para MOFs [36,39-45], zeolitas [46-50], sílices [8], y cianometalatos [11,14,18,19], entre otros. En MOFs prácticamente todos los estudios reportados corresponden a enrejados que contienen Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , y Zn^{2+} con esferas de coordinación insaturadas y cuyos valores de ΔH_{ads}^0 , en kJ/mol, varían entre -4.5 a -7.0 en Cu, -6.8 a -10.4 en Ni, -8.3 a -13.5 en Zn, y -10.1 para Mn [36]. En estos enrejados el metal está generalmente unido a grupos carboxilatos, que no se caracterizan por tener una gran capacidad donante al metal y, por consiguiente, estos ligandos no favorecen un notable incremento en la densidad electrónica sobre el centro metálico.

Esa particularidad del grupo carboxilato podría explicar la relativamente baja capacidad de retro-donación $\text{M} \rightarrow \sigma^*(\text{H}_2)$ en los MOFs, que es, en definitiva, la interacción que estabiliza la coordinación H_2 -metal y, por consiguiente, los bajos valores de ΔH_{ads}^0 que se obtienen en esta familia de materiales porosos. Aun cuando en MOFs con centros metálicos superficiales no se han logrado los valores deseados para ΔH_{ads}^0 , el efecto de una posible interacción específica H_2 -metal resulta evidente cuando se comparan los valores máximos de H_2 adsorbido, a relativamente altas presiones en materiales de esta familia que poseen centros metálicos superficiales, con aquellos que se obtienen en enrejados porosos análogos pero donde la superficie de las nanocavidades está libre de metales disponibles para la coordinación del H_2 . Por ejemplo, la adsorción de hidrógeno en



con sólo la mitad de la superficie específica reportada para el MOF-5 (3800 m²/g), bajo las mismas condiciones, es un 50 % superior a la del MOF-5, que no contiene centros metálicos superficiales [36]. Tal comportamiento se ha atribuido a la presencia de átomos de Mn con esfera de coordinación insaturada en la superficie de las cavidades, a diferencia del MOF-5 donde toda la interacción posible H_2 -superficie es de tipo van der Waals.

En zeolitas, la interacción H_2 -metal mejor estudiada es aquella donde, en el interior de los canales, se encuentran átomos de Cu^+ [45-50]. Para Cu-ZSM-5 con H_2 adsorbido se ha reportado la vibración $\nu(\text{H-H})$ en 3070 y 3125 cm⁻¹, correspondientes a dos sitios de adsorción para el H_2 sobre átomos de Cu^+ [46,49]. El desplazamiento en frecuencia aquí es mucho mayor, -1093 y -1038 cm⁻¹, que el observado para Mg^{2+} (-107 cm⁻¹). El poder polarizante reportado para Cu^+ es mucho menor (0.857) que el arriba mencionado para Mg^{2+} (2.704), de modo que el desplazamiento en frecuencia observado para la vibración $\nu(\text{H-H})$ en la interacción Cu- H_2 no puede ser explicado como resultado de un efecto de polarización. En este caso, resulta evidente que está ocurriendo una retro-donación de carga del Cu^+ al orbital $\sigma^*(\text{H}_2)$, de forma tal que el enlace $\sigma(\text{H-H})$ se ve significativamente debilitado. Una disminución de la frecuencia $\nu(\text{H-H})$ nos está indicando que ha disminuido el valor de la constante de fuerza para el movimiento vibracional entre los dos átomos de hidrógeno. Los calores de adsorción reportados para la interacción Cu^+ - H_2 varían desde -73 a -39 kJ/mol [49]. En cambio, no existen evidencias de que el Cu^{2+} , en zeolitas, participe en una interacción de coordinación con el H_2 [49]. Esto pone de manifiesto la importancia de una elevada densidad electrónica sobre el metal, que favorezca la interacción de retro-donación para estabilizar el enlace de coordinación metal- H_2 .

Las sílices porosas son otra familia de materiales con superficie extendida donde se han situado iones de metales de transición con una esfera de coordinación abierta para estudiar su interacción con moléculas de hidrógeno. Así, para iones de Ti^{3+} se han reportado calores de adsorción de -22 kJ/mol [8], que se encuentra en el rango ideal arriba mencionado para ΔH_{ads}^0 . Sin embargo, la densidad gravimétrica de H_2 que se logra resulta inferior al 6 % en peso (meta para el 2010).

Los cianometalatos del tipo azules de Prusia y los nitroprusiatos son familias de materiales porosos cuya preparación es relativamente simple, y su estructura cristalina es conocida, y tienen la totalidad de los metales situados en la superficie de las nanocavidades, enlazados al terminal N del grupo CN [51-54]. Sus cavidades tienen unos 0.85 nm de diámetro, con 6 centros metálicos con esfera de coordinación incompleta sobre la superficie (Figura 6). Idealmente, en ese diámetro de cavidad sería posible almacenar al menos 7 moléculas de H_2 , seis de ellas a través de una interacción directa H_2 -metal y una en el centro de la cavidad, estabilizada por interacciones electrostáticas y de tipo H_2 - H_2 . Ello explica que estos materiales resultan modelos ideales para estudiar la interacción H_2 -metal en superficie y esto explica el relativamente elevado número de estudios recientes sobre almacenamiento de H_2 que en ellos han sido reportados [11-22]. El ligando CN tiene la capacidad de donar electrones al metal situado sobre la superficie de las cavidades, lo cual constituye un hecho favorable a la interacción de coordinación metal- H_2 . Sin embargo, aun cuando los calores de adsorción, ΔH_{ads}^0 , reportados muestran

una definida dependencia del metal situado en la superficie de las cavidades, estos resultan inferiores a 10 kJ/mol en todos los casos [11,18]. Las mayores evidencias de coordinación M-H₂ se han observado para Cu y Ni [18,55], que son los metales con mayor densidad de electrones en los orbitales t_{2g} y, por consiguiente, donde es más favorable la interacción de retro-donación M→H₂.

Desde el punto de vista teórico, la mayoría de los reportes se han orientado al estudio computacional de la formación de complejos de coordinación con H₂ para iones de metales como Sc y Ti [30,56-58], en algunos casos, supuestamente, decorando la superficie de materiales en base a carbono, en particular nanotubos con centros metálicos superficiales. Para esos materiales se ha predicho la adsorción de hasta 8 % en peso de H₂ y calores de adsorción superiores a los -20 kJ/mol. [30]. Sin embargo, los estudios experimentales no han logrado reproducir las predicciones teóricas.

Los complejos de coordinación laterales con un centro metálico no constituyen una exclusividad del H₂. Las olefinas (compuestos que presentan al menos un doble enlace carbono-carbono, C=C) forman complejos de este tipo, llamados *complejos de Dewar* [33]. En este caso, el enlace se forma por donación lateral de densidad electrónica desde un orbital 2pπ lleno de la olefina a un orbital d(σ) vacío del metal. Un mecanismo análogo se ha reportado para la formación de complejos entre la molécula de nitrógeno e iones Ag⁺ en las cavidades de zeolitas, para poder explicar su mayor selectividad por el N₂ respecto al O₂ [59]. La estructura de los orbitales externos del N₂ es: (σ_{2s})²(σ_{2s}^{*})²(σ_{2p})²(π_{2py})²(π_{2pz})²(π_{2py}^{*})⁰(π_{2pz}^{*})⁰. El N₂ dona electrones desde su orbital 2pπ lleno al orbital 5s vacío del átomo de Ag⁺, lo cual es menos favorable para el O₂ donde el orbital π disponible para la interacción lateral sólo está parcialmente lleno, (σ_{2s})²(σ_{2s}^{*})²(σ_{2p})²(π_{2py})²(π_{2pz})²(π_{2py}^{*})¹(π_{2pz}^{*})¹. Los complejos H₂-metal se diferencian de esos complejos laterales con participación de un orbital π del ligando (complejos de Dewar), en que para el caso del H₂ la donación lateral ocurre desde el orbital σ. Estos complejos se conocen como *complejos de Kubas* [33], y como ya se ha indicado, su existencia se ha reportado para prácticamente todos los metales de transición.

6 Estado del H₂ adsorbido

Como se ha discutido arriba, los calores de adsorción derivados de una interacción tipo dispersiva (van der Waals) se encuentran por debajo de los -7 kJ/mol. Este valor límite es unas 8 veces el calor de licuefacción para el hidrógeno (0.9 kJ/mol) (Tabla 2). Por consiguiente, es de esperar que la interacción H₂-superficie sea más fuerte que la H₂-H₂ correspondiente al estado líquido. Cuando están presentes, además, las interacciones electrostáticas, el estado de la molécula de hidrógeno se diferenciará más aun del esperado para el estado líquido. La entalpía de sublimación del hidrógeno es de 1.028 kJ/mol (Tabla 2). Este valor es inferior a cualquier calor de ad-

sorción reportado para la adsorción del hidrógeno, incluso en presencia de únicamente la interacción dispersiva. Ello hace suponer que la interacción H₂-superficie para el estado adsorbido resulte mucho más fuerte que la correspondiente al estado sólido para el H₂ y, por consiguiente, que la molécula adsorbida se encuentra relativamente ligada al sólido. Existen otras evidencias experimentales al respecto. El espectro IR del H₂ resulta muy sensible a la interacción con la superficie, en particular cuando está presente una interacción de polarización o de coordinación, donde se observan bandas de absorción ν(H-H) relativamente estrechas e intensas [29]. La misma espectroscopia IR proporciona evidencias de que, aun cuando esas interacciones (polarización y coordinación) dan lugar a una adsorción relativamente localizada para la molécula de hidrógeno, esta puede ejecutar oscilaciones alrededor del sitio de adsorción y saltos entre sitios vecinos [60]. Las oscilaciones en los sitios de adsorción dan lugar a débiles bandas satélites alrededor de la banda principal ν(H-H). Debido al signo positivo para el momento cuadrupolar de la molécula de hidrógeno, esta forma un complejo adsorbido en forma de “T”, lo cual posibilita el movimiento rotacional del *orto* hidrógeno como especie adsorbida, lo que efectivamente se observa en los espectros IR [60].

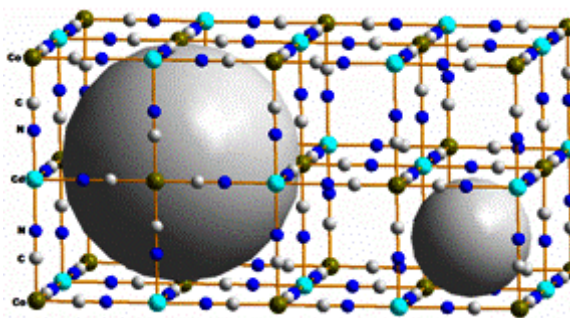


Figura 7. Enrejado poroso en análogos del azul de Prusia formado por cavidades de unos 0.85 nm de diámetro comunicadas por espacios intersticiales de unos 0.45 nm. Sobre la superficie de cada cavidad se encuentran 6 centros metálicos con esfera de coordinación incompleta disponibles, para una interacción de coordinación con la molécula de hidrógeno.

En estudios recientes acerca de la adsorción de H₂ en hexacianometalatos y nitroprusiats porosos hemos observado que los mejores ajustes de los datos experimentales corresponden al modelo de isoterma osmótica [18-22], donde el parámetro osmótico (g) nos proporciona, directamente del ajuste, una medida de la fortaleza para interacción huésped-hospedero. Para g = 1 el modelo osmótico se reduce al de Langmuir (ec. (1)), el cual supone adsorción localizada y libre de interacciones laterales. Sin excepción, siempre hemos encontrado un valor de g > 1, lo cual sugiere una interacción adsorbente-adsorbato relativamente fuerte, sin que se pueda descartar la presencia una interacción lateral H₂-H₂ entre moléculas adsorbidas en sitios vecinos. Como es de esperar, entre el valor de g y el calor de adsorción, determinado

según la ecuación de Clausius-Clapeyron, se ha observado una correlación positiva; a mayor valor de g mayor es el calor de adsorción $\Delta H_{\text{ads}}^{\circ}$ involucrado.

Todas estas evidencias experimentales sugieren que el estado de la molécula de hidrógeno como especie adsorbida podría considerarse como condensado, con interacciones más fuertes que las correspondiente a su estado líquido, e incluso que en el estado sólido. A diferencia de otros muchos adsorbatos, una vez que la molécula de H_2 ocupa los sitios de adsorción que le son favorables sobre la superficie, su interacción con otras moléculas de H_2 (interacciones adsorbato-adsorbato) no resulta suficientemente fuerte como para favorecer un incremento en el número de moléculas adsorbidas. Por ejemplo, para los análogos del azul de Prusia, en promedio se adsorben 6 H_2 por cavidad [55] lo cual corresponde a una molécula por cada centro metálico con esfera de coordinación incompleta.

El hecho de que el hidrógeno se adsorba en los sitios energéticamente más favorables y que ello no dé lugar a la estabilización posterior de otras moléculas de este adsorbato es una consecuencia de su naturaleza y de su carácter de gas supercrítico. Una vez ocupados los sitios de adsorción favorables, de acuerdo a las interacciones arriba discutidas, un incremento ulterior del número de moléculas adsorbidas requiere de un incremento significativo de la presión o de un elevado confinamiento. Ello favorecería la interacción cuadrupolar entre moléculas de H_2 vecinas. A partir de estas consideraciones, un material ideal para el almacenamiento de H_2 sería aquel formado por láminas separadas 2 veces su diámetro cinético (Tabla 2), esto es, 0.58 nm, para formar 2 monocapas adyacentes de moléculas de H_2 adsorbidas. Esta hipótesis está soportada con resultados reportados para carbones de estructura laminar [61]. De modo que un material para almacenamiento de H_2 podría ser aquel formado por láminas de grafeno separadas 0.58 nm, sin embargo, en tal material el calor de adsorción permanecería por debajo de los -7 kJ/mol, muy distante de los -20 kJ/mol necesarios para satisfacer los requerimientos de la tecnología. Con esto se ilustra que el desarrollo de materiales porosos para almacenamiento de hidrógeno molecular requiere tanto de la optimización de la superficie disponible como de su potencial de adsorción.

7 Conclusiones

Encontrar materiales apropiados para el almacenamiento de H_2 en una matriz porosa ligera, que satisfaga los requerimientos de la tecnología, constituye uno de los mayores retos actuales para la Ciencia de los Materiales. El diseño de materiales para este fin pasa por comprender, al mayor nivel de detalles posibles, la naturaleza de las interacciones H_2 -superficie y la contribución de cada una de ellas a la estabilidad del H_2 como especie adsorbida. Tal nivel de comprensión permitiría optimizar esas interacciones para lograr calores de adsorción entre -20 y -30 kJ/mol. Al mismo tiempo hay que lograr valores eleva-

dos para la superficie específica. De acuerdo a la contribución de cada una de las interacciones consideradas, sólo la interacción de coordinación del H_2 a centros metálicos es capaz de satisfacer el requerimiento de elevados calores de adsorción. Este es otro parámetro a optimizar; hay que encontrar combinaciones de centros metálicos y ligandos para los cuales la interacción H_2 -metal alcance la fortaleza requerida. La incorporación de metales de transición a un material dado da lugar a un incremento de su densidad, lo que va en detrimento del % en peso de H_2 almacenado. Estos son dos parámetros críticos que habrá que compatibilizar. Cuando se comparan los calores de adsorción que se han reportado para H_2 en los diversos materiales que han sido estudiados con los calores de licuefacción y de fusión del hidrógeno, resulta evidente que las interacciones H_2 -superficie son mucho más fuertes que las H_2 - H_2 en estado sólido y, por supuesto, también que las correspondientes al estado líquido. Durante el proceso de adsorción la molécula de hidrógeno ocupa todos los sitios que le son favorables, sin embargo, ello no contribuye a generar interacciones adsorbato-adsorbato lo suficientemente fuertes como para dar lugar a un incremento en el número de moléculas adsorbidas. El H_2 tiende a ser adsorbido formando una monocapa molecular. Esta es una consecuencia de las propiedades de este adsorbato.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos SEP-CONACyT 2007-61541 e ICyTDF PIFUTP08. El autor agradece a los Drs. C. Rodríguez, L. Reguera, J. Rodríguez, L. Núñez, y G. Rodríguez-Gattorno, la lectura crítica del manuscrito original.

Referencias

1. S. Dunn, "Hydrogen futures: toward a sustainable energy system", *Int. J. Hydrogen Energy*, 27, 235-264 (2002).
2. S. B. Idso, "CO₂-induced global warming: a skeptic's view of potential climate change", *Clim. Res.*, 10, 69-82 (1998).
3. P. V. Kamat, "Meeting the Clean Energy Demand: Nanostructure Architectures for Solar Energy Conversion", *J. Phys. Chem. C*, 111, 2834-2860 (2007).
4. S. K. Bhatia, A. L. Myers, "Optimum Conditions for Adsorptive Storage", *Langmuir* 22, 1688-1700 (2006)
5. K. M. Thomas, "Hydrogen Adsorption in Porous Materials", *Cat. Today* 120, 389-398 (2007)
6. F. J. Torres, B. Civalieri, A. Terentyev, P. Ugliengo, C. Pisani, "Theoretical Study of Molecular Hydrogen Adsorption in Mg-Exchanged Chabazite", *J. Phys. Chem. C*, 111, 1871-1873 (2007)
7. C. O. Areal, G. T. Palomino, M. R. L. Carayol, "Variable temperature FT-IR studies on hydrogen adsorption on the zeolite (Mg,Na)-Y", *Appl. Surf. Sci.* 253, 5701-5704 (2007)
8. A. Hamaed, M. Trudeau, D. M. Antonelli "H₂ Storage Materials (22 kJ/mol) Using Organometallic Ti Fragments as σ -H₂ Binding Sites", *J. Am. Chem. Soc.* 130, 6992-6999 (2008)

9. N. L. Rosi, J. Eckert, M. Eddaoudi, D. T. Vodak, J. Kim, M. O'Keeffe, O. M. Yaghi, "Hydrogen Storage in microporous metal-organic frameworks", *Science*, 300, 1127- 1129 (2003).
10. D. Sun, S. Ma, Y. Ke, D. J. Collins, H.-C. Zhou, "An Interweaving MOF with High Hydrogen Uptake", *J. Am. Chem. Soc.* 128, 3896- 3897 (2006).
11. S. S. Kaye, J. R. Long, "Hydrogen Storage in the Dehydrated Prussian Blue Analogues $M_3[Co(CN)_6]_2$ (M = Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn)" *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 6506- 6507 (2005)
13. K. W. Chapman, P. D. Southon, C. L. Weeks, C. J. Kepert, "Reversible hydrogen gas uptake in nanoporous Prussian Blue Analogues", *Chem. Commun.*, 3322-3324 (2005)
14. M. R. Hartman, V. K. Peterson, Y. Liu, S. S. Kaye, J. R. Long, "Neutron Diffraction and Neutron Vibrational Spectroscopy Studies of Hydrogen Adsorption in the Prussian Blue Analogue $Cu_3[Co(CN)_6]_2$ ", *Chem. Mater.* 18, 3221- 3224 (2006)
15. J. T. Culp, C. Matranga, M. Smith, E. W. Bittner, B. Bockrath, "Hydrogen Storage Properties of Metal Nitroprussides $M[Fe(CN)_5NO]$, (M = Co, Ni)", *J. Phys. Chem. B.* 110, 8325- 8328 (2006)
16. S. S. Kaye, J. R. Long, "The role of vacancies in the hydrogen storage properties of Prussian blue analogues", *Catal. Today* 120, 311-316 (2007)
17. S. Natesakhawat, J. T. Culp, C. Matranga, B. Bockrath, "Adsorption Properties of Hydrogen and Carbon Dioxide in Prussian Blue Analogues $M_3[Co(CN)_6]_2$, M = Co, Zn", *J. Phys. Chem. C* 111, 1055- 1060 (2007)
18. L. Reguera, C. P. Krap, J. Balmaseda, E. Reguera, "Hydrogen storage in copper Prussian blue analogues: Evidence of H_2 coordination to the copper atom", *J. Phys. Chem. C* 112, 15893-15899 (2008)
19. L. Reguera, C. P. Krap, J. Balmaseda, E. Reguera, "Hydrogen Storage in Porous Transition Metal Nitroprussides", *J. Phys. Chem. C* 112, 10490-10501 (2008)
20. M. Ávila, L. Reguera, J. Rodríguez-Hernández, J. Balmaseda, E. Reguera, "Porous framework of $T_2[Fe(CN)_6]$ with T = Co, Ni, Cu and Zn, and H_2 storage", *J. Solid State Chem.* 181, 2899 -2907 (2008)
21. L. Reguera, J. Balmaseda, L. F. del Castillo, E. Reguera, "Hydrogen Storage in Porous Cyanometallates: Role of the Exchangeable Alkali Metal", *J. Phys. Chem. C* 112, 5589- 5597 (2008).
22. L. Reguera, C. P. Krap, J. Balmaseda, M. Ávila, E. Reguera, "Hydrogen storage in zeolite-like cyanometallates. Role of the building block", *J. Phys. Chem. C* 112, 17443-17449 (2008)
23. A. A. Lemus, J. Rodríguez-Hernández, L. F. del Castillo, M. Basterrechea, E. Reguera, "Unique coordination of pyrazine in $T[Ni(CN)_4]_2pyz$ with T = Mn, Zn, Cd", *J. Solid State Chem.* 182, 757-766 (2009)
24. T. A. Strobel, Y. Kim, G. S. Andrews, J. R. Ferrell III, C. A. Koh, A. M. Herring, E. D. Sloan, "Chemical-Clathrate Hybrid Hydrogen Storage: Storage in Both Guest and Host", *J. Am. Chem. Soc.* 130, 14975-14977 (2008)
25. V. V. Struzhkin, B. Militzer, W. L. Mao, H. Mao, R. J. Hemley, "Hydrogen Storage in Molecular Clathrates", *Chem. Rev.* 107, 4133-4151 (2007)
26. Report of the Basic Energy Science Workshop on Hydrogen Production, Storage and Use, May 13-15, 2003. Office of Science, U. S. Department of Energy.
27. Z. Xiong, C. K. Yong, G. Wu, P. Chen, W. Shaw, A. Karkamkar, T. Autrey, M. O. Jones, S. R. Johnson, P. P. Edwards, W. I. F. Davis, "High-capacity hydrogen storage in Lithium and Sodium amidoboranes", *Nature Mater.* 7, 138-141 (2008)
28. S.-I Orimo, Y. Nakamori, J. R. Eliseo, A. Zuttel, C. M. Jensen, "Complex Hydrides for Hydrogen Storage", *Chem. Rev.* 107, 4111-4132 (2007)
29. C. Otero Areán, G. Turnes Palomino, M. R. Llop Carayol, "Variable temperature FT-IR Studies on hydrogen adsorption on the zeolite (Mg,Na)-Y", *Appl. Surf. Sci.* 253, 5701-5704 (2007)
30. Y. Zhao, Y.-K. Kim, A. C. Dillon, M. J. Heben, S. B. Zhang, "Hydrogen Storage in Novel Organometallic Buckyballs", *Phys. Rev. Lett.* 94,155504-1-4 (2005)
31. D. R. Lide (Ed.) *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 84th Edition, 2003-2004, CRC Press, FL, USA
32. R. C. Lochan, M. Head-Gordon, "Computational studies of molecular hydrogen binding affinities: The role of dispersion forces, electrostatics, and orbital interactions", *Phys. Chem. Chem. Phys.* 8, 1357-1370 (2006)
33. G. J. Kubas, "Fundamentals of H_2 Binding and Reactivity on Transition Metals Underlying Hydrogenase Function and H_2 Production and Storage", 107, 4152-4205 (2007)
34. G. Turnes Palomino, M. R. Llop Carayol, C. Otero Areán, "Hydrogen adsorption on magnesium-exchanged zeolites", *J. Mater. Chem.* 16, 2884-2885 (2006)
35. Y. Zhang, "Electronegativities of elements in valence states and their applications. 2. A scale for strengths of Lewis acids", *Inorg. Chem.* 21, 3889-3893 (1982)
36. M. Dinca, J. R. Long, "Hydrogen Storage in Microporous Metal-Organic Frameworks with Exposed Metal Sites", *Angw. Chem., Int. Ed.* 47, 6766-6779 (2008)
37. K. Patkowski, W. Cencek, P. Jankowski, K. Szalewicz, J. B. Mehl, G. Garberoglio, A. H. Harvey, "Potential energy surface for interactions between two hydrogen molecules", *J. Chem. Phys.* 129, 094304 (2008)
38. J. C. Raich, A. B. Anderson, W. England, "Thye anisotropic interactions between hydrogen molecules". *J. Chem. Phys.* 64, 5088-5094 (1976)
39. B. Chen, M. Eddaoudi, T. M. Reineke, J. W. Kampf, M. O'Keeffe, O. M. Yaghi, " $Cu_2(ATC)-6H_2O$: Design of Open Metal Sites in Porous Metal-Organic Crystals (ATC: 1,3,5,7-Adamantane Tetracarboxylate)" *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 11559-11560 (2000).
40. P. M. Forster, J. Eckert, J.-S. Chang, S.-E Park, G. Férey, A. K. Cheetham, "Hydrogen Adsorption in Nanoporous Nickel (II) Phosphates", *J. Am. Chem. Soc.* 125, 1309-1312 (2003).
41. K. Schlichte, T. Kratzke, S. Kaskel, "Improved synthesis, thermal stability and catalytic properties of the metal-organic framework compound $Cu_3(BTC)_2$ ", *Micropor. Mesopor. Mater.* 73, 81-88 (2004).
42. J. L. C. Rowsell, O. M. Yaghi, "Strategies for hydrogen storage in metal-organic frameworks", *Angew. Chem. Int. Ed.*, 44, 4670- (2005).
43. B. Chen, N. W. Ockwig, A. R. Millward, D. S. Contreras, O. M. Yaghi, "High H_2 adsorption in a microporous metal-organic framework with open metal sites", *Angew. Chem. Int. Ed.* 44, 4745- (2005).
44. M. Dinca, A. Dailly, Y. Liu, C. M. Brown, D. A. Neumann, J. R. Long, "Hydrogen Storage in a Microporous Metal-Organic Framework with Exposed Mn^{2+} Coordination Sites", *J. Am. Chem. Soc.*, 128, 16876-16883 (2006).
45. Y. Liu, H. Kabbour, C. M. Brown, D. A. Neumann, C. C. Ahn, "Increasing the Density of Adsorbed Hydrogen with Coordinatively Unsaturated Metal Centers in Metal-Organic Frameworks", *Langmuir*, 24, 4772-4777 (2008).

46. X. Solans-Monfort, V. Branchadell, M. Sodupe, C. Zicovich-Wilson, E. Gribov, G. Spoto, C. Busco, P. Ugliengo, "Can Cu⁺-Exchanged Zeolites Store Molecular Hydrogen? An Ab initio Periodic Study Compared Low-Temperature FTIR", *J. Phys. Chem.*, 108, 8278-8286 (2004).
47. A. I. Serykh, V. B. Kazansky, "Unusually strong adsorption of molecular hydrogen on Cu⁺ sites in copper-modified ZSM-5", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 6, 5250-5255 (2004)
48. P. A. Georgiev, A. Albinati, J. Eckert, "Room temperature isosteric heat of dihydrogen adsorption on Cu(I) cations in zeolite ZSM-5", *Chem. Phys. Lett.*, 449, 182-185 (2007)
49. P. A. Georgiev, A. Albinati, B. L. Mojet, J. Ollivier, J., Eckert, "Observation of Exceptionally Strong Binding of Molecular Hydrogen in a Porous Material: Formation of an η^2 -H₂ Complex in a Cu-Exchanged ZSM-5 Zeolite", *J. Am. Chem. Soc.*, 129, 8086-8087 (2007)
50. V. B. Kasansky, E. A. Pidko, "A new insight in the unusual adsorption properties of Cu⁺ cations in Cu-ZSM-5 zeolite", *Cat. Today* 110, 281-293 (2005)
51. J. Balmaseda, E. Reguera, A. Gomez, J. Roque, C. Vazquez, M. Autie, "On the Microporous Nature of Transition Metal Nitroprussides", *J. Phys. Chem. B* 107, 11360-11369 (2003)
52. J. Balmaseda, E. Reguera, J. Rodriguez-Hernández, L. Reguera, M. Autie, "Behavior of Transition Metals Ferricyanides as Microporous Materials", *Micropor. Mesopor. Mater.*, 96, 222-236 (2006).
53. J. Roque, E. Reguera, J. Balmaseda, J. Rodríguez-Hernández, L. Reguera and L.F. del Castillo, "Porous Hexacyanocobaltates(III): Role of the Metal on the Framework Properties", *Micropor. Mesopor. Mater.*, 103, 57-71 (2007)
54. E. Lima, J. Balmaseda, E. Reguera, "¹²⁹Xe NMR Spectroscopy Study of Porous Cyanometallates", *Langmuir*, 23, 5752-5756 (2007)
55. C. P. Krap, J. Balmaseda, B. Zamora, L. F. del Castillo, E. Reguera, "On a specific interaction of H₂ with the found at the cavity surface of Prussian blue analogues", *Micropor. Mesopor. Mater.* 2009, Submitted
56. L. Gagliardi, P. Pykkö, "How many hydrogen atom can be bound to a metal?. Predicted MH₁₂ species", *J. Am. Chem. Soc.* 126, 15014-15015 (2004)
57. J. Niu, B. K. Rao, P. Jena, "Binding of Hydrogen Molecules by a Transition-Metal Ions", *Phys. Rev. Letters* 68, 2277-2280 (1992)
58. T. Yildirim, S. Ciraci, "Titanium-Decorated Carbon Nanotubes as a Potential-High Capacity Hydrogen Storage Medium", *Phys. Rev. Lett.* 94, 175501-175504 (2005)
59. R. T. Yang, Y. D. Chen, J. D. Peck, N. Chen, "Zeolites Containing Mixed Cations for Air Separation by Weak Chemisorption-Assisted Adsorption", *Ind. Eng. Chem. Res.* 35, 3093-3099 (1996)
60. V. B. Kazansky, "DRIFT spectra of adsorbed dihydrogen as a molecular probe for alkaline metal ions in faujasites", *J. Mol. Catal. A. Chem.* 141, 83-94 (1999)
61. M. A. de la Casa-Lillo, F. Lamari-Darkrim, D. Cazorla-Amorós, A. Linares-Solana, "Hydrogen Storage in Activated Carbons and Activated Carbon Fibers", *J. Phys. Chem. B* 109, 10930-10934 (2002).

Construction of sea anemone cytolyisin-based immunotoxins for selective killing of cancer cells

M. Tejuca[†], V. Pérez-Barzaga, F. Pazos, C. Álvarez and M.E. Lanio

Centro de Estudios de Proteínas, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba;
tejuca@fbio.uh.cu

[†]autor para la correspondencia

Received 23/4/2009. Approved in final version 21/06/2009

Sumario. Las inmunotoxinas (ITs) son proteínas quiméricas constituidas por una toxina y un componente guía que dirige su acción hacia un tipo de célula que se desea eliminar. Las toxinas más utilizadas en la construcción de las ITs afectan la síntesis proteica de la célula blanco. Sin embargo, la citotoxicidad de los inmunoconjugados construidos a partir de esta clase de toxina depende de la internalización de la entidad tóxica hacia el citosol, a lo que se suma que la mayoría de estas ITs son transportadas hacia los lisosomas donde son degradadas. En este sentido las ITs que utilizan como componente tóxico las citolisinas de anémonas de mar (actinoporinas), constituyen una alternativa con ventajas potenciales, pues su mecanismo de acción es a través de la formación de poros en la membrana. Sin embargo, la actividad inespecífica asociada a la toxina ha sido un factor común en todas las construcciones obtenidas hasta el momento con actinoporinas. Una posibilidad de superar esta limitación es la construcción de ITs inactivas con un mecanismo de activación que responda a un estímulo biológico. En particular las citolisinas pueden activarse por la acción de proteinasas asociadas a tumores. En este trabajo se discuten los avances en el diseño de ITs basadas en actinoporinas activables por metaloproteasas de matriz (MMP) así como las perspectivas de su uso como parte de *cocktails* quimioterapéuticos. Se discuten además las ventajas potenciales de emplear solamente la región aminoterminal de las actinoporinas en la construcción de ITs.

Abstract. Sea anemone cytolyisins based Immunotoxins (ITs) constitute an attractive alternative for construction of IT for selective killing cancer cells. In fact the pore-forming cytolyisins from sea anemones, actinoporins, are one of the most potent groups of pore-forming proteins in nature. The requirement of internalization and translocation to the cytosol and the degradation of most of the IT routed to the lysosomes after internalization would be some of the critical factors determining the cytotoxicity of the classical ITs that would be overcome in such constructions. The results obtained using as toxic moiety actinoporins have supported the feasibility of directing these cytolyisins to the surface of either cancer cells or even the parasite *Giardia duodenalis*. However the main problem of the IT constructed in such fashion is the lack of the specificity associated with the toxin moiety, a common problem of most membrane-acting ITs. An approach designed to overcome this limitation is the production of ITs using PFTs activated by tumour-associated proteases. Currently, the construction of an MMP-activated IT based on an actinoporin is in development. The alternative of using actinoporin based ITs as components of chemotherapeutic cocktails and the future prospects of employing only the N-terminal region of actinoporins for construction of IT are discussed.

Keywords: Nanotechnology biomedical applications, 87.85.Qr, 87.85.Rs, 81.16.-c

1 Introduction

Immunotoxins (ITs) are chimeric molecules in which a

cell binding ligand, such as a monoclonal antibody (mAb) or a growth factor are coupled to a killer toxin in order to address its activity towards a specific undesired cell. The target can be tumour cells, virally infected

cells, subsets of normal cells or parasite cells. In fact the use of ITs in cancer therapy, graft-vs-host disease, autoimmune diseases, and AIDS has been ongoing for the past three decades. Most of the ITs currently in use or under investigation contain a toxic component, which acts intracellularly to inactivate protein synthesis. Once in the cytosol, a single molecule is capable of killing a cell, making ITs some of the most potent known killing agents. Among the most active clinically are those targeted to tumours, specifically those directed against haematological tumours. Obstacles to successful treatment of solid tumours include poor penetration into tumour masses, toxicity and the immune response to the toxin component. Exploring other classes of toxin to create new ITs is underway to improve the treatment of cancer. Relatively few membrane-acting toxins have been investigated for their use in immunoconjugates, in spite of some inherent advantages to their use.

Pore-forming cytolytins from sea anemones, actinoporins, are one of the most potent groups of pore-forming toxins (PFTs), and they constitute an attractive target for exploitation in the construction of IT. In this review we summarize the main results obtained in the use of sea anemone PFTs in the construction of ITs. We also discuss the biochemical and crystallographic studies that have provided new information on the structure and function of toxins essential to improve the design and construction of such hybrid molecules. In particular, recent elucidation of their crystal structures, advances in the knowledge of the structure and function relationship as well as cloning and expression of these molecules have significantly contributed to the recent progress in IT design.

2 Biochemistry of immunotoxins

2.1 Targeting moiety. The targeting agents currently used to construct ITs are mAbs, growth factors and cytokines but the first ones are the most frequently used. In the case of tumour cells, mAbs that recognize differentiation antigens (Ags) on normal cells are often used because unique tumour associated Ags have not been identified for most human tumours. Since tumour cells often express higher levels of these differentiation Ags, the tumour cells may be preferentially killed. Monoclonal antibodies have been used in their natural, fragmented, chemically modified, or recombinant forms¹. Basic antibody structure and the location of functional domains are provided in figure 1. The first generation ITs were constructed via chemical linkage (usually a disulfide bond) between toxins and mAbs. In the second generation appeared ITs constructs made with Fab fragments of antibodies (figure 1). The Fab constructs were smaller and potentially enabled greater tumour penetration and a more uniform final product. Third-generation ITs and related growth factor and cytokine fusion proteins are made by recombinant DNA techniques and as a group are called recombinant toxins; those containing Fv por-

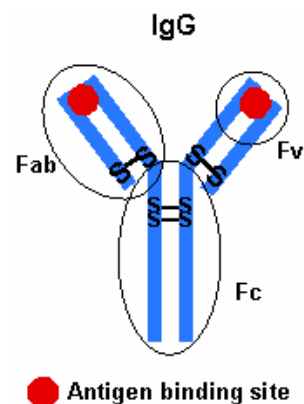
tions of antibodies (figure 1) are called recombinant ITs. The two chains of Fv are held together either by a flexible peptide linker (single-chain ITs or by a novel disulfide bond). Recombinant ITs are homogeneous and relatively inexpensive to produce.

2.2 Toxin Moiety

2.2.1 Classical Immunotoxins inhibit protein synthesis. Many protein toxins have been used to make ITs and excellent reviews are available¹⁻³. Nearly all protein toxins work by enzymatically inhibiting protein synthesis. The most common toxic moieties used in ITs are derived from either bacteria [e.g. *Pseudomonas* exotoxin (PE) or diphtheria toxin (DT)], or plants (e.g. ricin or abrin). Both types of toxin kill cells by inhibiting protein synthesis, PE and DT inactivate elongation factor 2 (EF-2) and ricin and abrin inactivate the EF-2 binding site on the 28S ribosomal subunit.

These toxin moieties require internalization and translocation to the cytosol to achieve the cytotoxic effect. Once internalized, most of the IT is routed to the lysosomes, where the toxin is degraded^{2,4} and this is one of the critical factors determining the cytotoxicity of the classical ITs. However, encouraging clinical trials have been carried out both in haematological malignancies, where the ITs can rapidly reach the tumour cells, as well as in solid tumours, where tumour entry is limited. An important fact is that, Denileukin diftitox, an IT containing human interleukin-2 and truncated DT, has been approved by the US Food and Drug Administration for treatment of cutaneous T-cell lymphoma^{5,6} representing the first IT approved for use in humans.

Figure 1. Antibody structure. IgG molecules are divided into functional domains. The main divisions are Fc and Fab. The Fc interacts with cellular Fc receptors and complement; the Fab fragment contains the Ag binding site. The Fab fragment is further divided into the Fv fragment, the smallest fragment that retains Ag binding via contacts with both the heavy and light chains. The two chains of the Fab fragment are held together.



2.2.2 Membrane-acting immunotoxins. The use of a killing mechanism that does not need internalization could be one of the advantages of using membrane-acting toxins as IT toxic components. Despite their potential, relatively few membrane-acting toxins have been investigated for use in immunoconjugates. In some instances, however, membrane-damaging toxins of different origins have been used to build such chimeras. For example, cytolytins from sea anemones⁷⁻¹², from the snake *Naja naja siamensis*¹³ and melittin, the cytolytic

peptide from bee venom¹⁴ as well as toxins derived from plants (*Pyricularia thionin*¹⁵) or from bacteria (*Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin¹⁶ and *Clostridium perfringens*¹⁷) have been reported in the literature.

By selectively increasing target cell permeability, immunoconjugates based on membrane-acting toxins could theoretically bypass the major limitation of traditional ITs, namely their requirement of internalization and translocation to the cytosol. In addition, this type of immunoconjugate could strengthen the effects of conventional ITs, other chemotherapeutic agents and common anti-cancer drugs by facilitating their access into the cytosol. By disturbing the plasma membrane, they might reverse the effects of multi-drug resistance. If applied to treat solid tumours, inner cells could be exposed to chemotherapy following lysis of cells located nearer the vasculature¹⁸.

2.2.2.1 Sea anemone cytolytins as components of immunotoxins. The first isolated class of sea anemone cytolytins was collectively called actinoporins¹⁹. They comprise a group of approximately 20 kDa proteins, lacking cysteine residues whose activity depends on the presence of sphingomyelin (SM) in the membrane. They form pores in natural and model lipid membrane of approximately 2 nm in diameter²⁰⁻²². The formation of transmembrane pores disrupts ion gradients, which leads to osmotic swelling and ultimately to cell death. Actinoporins are extremely cytotoxic and lytic to a variety of cells and their vesicular organelles. The cytotoxic activity of actinoporins on different cell types and cell preparations ranges from 10^{-11} to 10^{-7} M²³. Taking into consideration this cytotoxic activity actinoporins have been used for construction of ITs. Previous reviews about the use of sea anemone cytolytins as toxic components of immunotoxins are available^{23,24}. The cytotoxic activity of the actinoporin based ITs, expressed as mean concentration required for 50 % reduction of viability (C50), is shown in table I and ranges from 10^{-10} to 10^{-8} M.

The first attempt to use a membrane-acting toxin for the construction of an immunoconjugate involved a haemolytic fraction from the sea anemone *Stichodactyla* (formerly *Stoichactis*) *helianthus*. Avila *et al.* first linked the toxin to an mAb that recognizes a specific Ag expressed on immature T-lymphocytes (IOR-T6)⁷ and later on the toxin was bonded to an mAb directed against the carcinoembryonic Ag (CEA)⁸. In both cases the cytotoxic activity of the hybrid molecules toward cells expressing the Ag was quasi or totally reversed by the co-addition of an equivalent amount or an excess of the corresponding free antibodies, which saturated the binding sites and prevented the action of the ITs. This result indicated that the hybrid molecule obtained bound the tumour cells through the mAb.

More recently, the same haemolytic fraction was linked to IOR egf/r3, a mAb against the human epidermal growth factor receptor⁹. In this case the cytotoxic activity of the hybrid molecule was also reversed by the co-addition of an excess of free mAb. In addition the

differential toxicity observed for this IT against cells expressing different levels of epidermal growth factor receptor was not shown for the free toxin. These two results indicated that the toxicity of the conjugate was mediated by the mAb.

On the other hand, sticholysin I (StI), one of the two isoforms of the cytolytins isolated from the sea anemone *Stichodactyla helianthus*, was linked to an mAb (IOR C5) recognizing the colon tumour-associated Ag IOR C2¹⁰. The study of the binding capacity of this conjugate to the SW948 colon tumour cell line demonstrated that the hybrid molecule bound the tumour cells preferentially through the mAb rather than by the cytolytin binding region. In agreement the conjugate showed higher specificity of the toxic effect toward the colon tumour cell line than the free cytolytin since the ratio between its cytotoxic and haemolytic activities was approximately seven-fold higher than the ratio found for the free toxin.

EqtII has been conjugated to transferrin (Tfn), a major regulator of cellular growth and a potent mitogen for a variety of tumours. The resulting conjugate showed some specificity of the toxic effect toward tumour cells *in vitro*; however, the hybrid molecule retained unspecific activity due to the fact that Tfn-bound toxin partially retained its original ability to bind to the cell membrane directly¹¹. In this work the cytotoxic activity of the conjugate was inhibited three-fold by the presence of an excess of free ferric Tfn, suggesting that it was, at least in part dependent on the expression of the Tfn receptor. However, the residual unspecific activity of the conjugate was still relatively high.

While ITs are best characterized and promising as anti-cancer tools, other uses have also been explored. Specific targeting of the parasitic protozoan *Giardia lamblia* (syn. *duodenalis*) was achieved using the high affinity biotin-avidin system (figure 2A) to concentrate a biotinylated form of a mutant of EqtII (EqII A179C) on the parasite surface pre-treated with a primary anti-*lamblia* antibody and a secondary Avidin-conjugated antibody²⁵. Such treatment increased specificity of targeting the parasite cells four-fold with respect to those that did not receive the primary mAb, but were otherwise treated in the same way.

A similar approach was carried out by Potrich *et al.*¹² who used the mAb against the Tfn receptor OKT9 and three single cysteine mutants of EqtII (K20C, R126C and A179C) to target the human malignant melanoma cell line A375. The targeting complex enhanced the cytotoxic activity of the mutants to the targeted A375 cells with a two- to three-fold higher specificity factor.

The biotin-avidin method is quite advantageous because it relies on very simple chemistry to create conjugates that can target different cell types. In fact, simply by using a library of primary antibodies, it is possible to selectively target many different individual cell types. Another possibility is to target an individual cell type with cocktails of two or more ITs recognizing different Ags. This alternative can be very useful since it has

been demonstrated in several animal tumour models that the use of a single type of IT fails to provide a complete cure due to the survival and subsequent outgrowth of IT-resistant tumour cells². These cells may lack the target Ag entirely or express it at a level too low for effective IT-mediated killing.

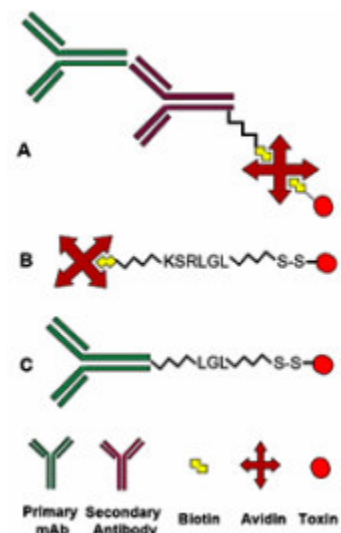
Cloning and expression of actinoporins has been important for the biotechnological applications of these proteins. It has become possible to apply the biotin-avidin conjugation method to produce ITs containing sea anemone cytolytins (figure 2A). Homogeneous and well characterized preparations were obtained when mutants of EqtII were biotinylated with biotin maleimide, a reagent able to react specifically with the single cysteine introduced in the mutants. On the other hand, enhancement of the biotinylated EqtII activity was observed in the presence of the complete targeting complex (primary antibody and a secondary avidin-conjugated antibody. However, the non-specific toxicity of actinoporin based IT remains a difficulty. The main problem of most of the ITs containing membrane active proteins is the poor cellular specificity associated with the capacity of the toxin to bind to almost any cell membrane.

An approach designed to overcome the non-specific toxicity is the construction of inactive PFTs with built-in biological “triggers” that will active the toxin following a biological stimulus. Researches have took advantage of the fact that many tumour tissues and tumour cell lines overexpress certain proteases, particularly cathepsin B²⁶, matrix metalloproteinases (MMPs)²⁷ and urokinases²⁸, in the evaluation of tumour protease-activated engineered PFTs.

Promising results using this approach have already been obtained with engineered *Bacillus anthracis* lethal toxin containing either MMPs or urokinase plasminogen activator cleavage sites.

Such approaches need a comprehensive knowledge of the structure-function relationship of the toxin to be used. The three-dimensional structures of EqtII^{31,32} and sticholysin II³³ have been solved by NMR and X-Ray crystallography. They are single-domain proteins consisting of a two five-stranded β -sandwich fold with a hydrophobic core and a pair of α -helices, each of which is associated with a side of a β -sheet (figure 3A). These proteins are relatively rigid in solution except for the N-terminal region that can be displaced without disrupting the general fold of the molecule. In the multi-step pore formation process the toxin binds the lipid bilayer with the aromatic amino acid cluster located on a broad loop at the bottom of the molecule and on the C-terminal α -helix³⁴⁻³⁶ and also by a phosphorylcholine binding site³³. In the next step the N-terminal segment translocates to the lipid-water interface where it lies flat on the membrane^{33,36,37}. Finally four toxin monomers oligomerize^{20,38} and the transmembrane pore is formed by the insertion of four N-terminal α -helices, one from each monomer, and most probably also by membrane lipids in a so-called toroidal pore arrangement^{39,40} (figure 3B).

Figure 2. Schematic structure of different constructs using recombinant actinoporins. (A) Avidin-biotin based ITs. Single cysteine mutants of EqtII were targeted to the surface of either *Giardia*²⁵ or human malignant melanoma cells¹² using avidin-biotin based ITs. In such constructions unwanted cells are recognized by a targeting block which is composed of a primary mAb specific for an Ag expressed on the surface of the cell, a biotinylated secondary antibody and avidin and after that a biotinylated mutant is applied. Avidin connects the targeting block to the biotinylated toxin and brings it closer to the surface of the cell, where it can act on the lipid membrane. (B) Tumour proteinase-activated pore-forming toxin. The pore forming capacity of EqtII was reversibly blocked by conjugation of avidin to its N-terminal extreme. The mutant EqtII I18C was bound through a disulfide bond to a peptide containing cleavage sites for the tumour-associated proteinases MMPs (LGL) and cathepsin B (KSRL) and biotin at the C-terminal extreme for binding avidin. (C) Tumour proteinase-activated immunotoxin. The binding capacity of an actinoporin mutant would be reversibly blocked by conjugation of a mAb to binding region using peptide containing a cleavage site for tumour-associated MMPs (LGL).a



Actinoporins exhibit two very convenient characteristics for designing tumour proteinase-activated toxin conjugates. The extreme stability towards proteolytic degradation makes them good candidates for this application. The lack of cysteine residues in their primary structure is also advantageous since this reactive amino acid can be introduced at a desired position by site-directed mutagenesis in order to make possible a side-directed conjugation.

In the first trial a tumour proteinase-activated actinoporin was constructed⁴¹. A normally active mutant of EqtII (I18C) containing one single cysteine in the amphiphilic N-terminal α -helix was linked to the protein avidin via a biotinylated peptide including cathepsin and MMP cleavage sites (figure 2B). The conjugate obtained was able to bind all the studied cell types (erythrocytes, fibrosarcoma and breast carcinoma cells).

However, contrary to the null effect observed on erythrocytes (devoid of cathepsins and MMPs enzymes), the conjugate displayed cytotoxic activity on the tumour cell lines where a good correlation between the cell's sensitivity and cathepsin B activity was also found. A strong indication that some MMP activity was also involved in the proteinase-activated actinoporin cytotoxicity was the observation that the human breast adenocarcinoma cell fraction killed by the conjugate treated with the specific MMP inhibitor GM6001 was one-fifth com-

pared to the one without inhibitor.

These results demonstrate the possibility of tumour cell killing by an actinoporin based conjugate specifically activated by tumour proteinases. Other possible applications for such constructs would be the delivery of low molecular weight agents encapsulated in liposomes carrying inactive pores that can be activated at the tumour site by the action of specific proteinases.

However, the tumour proteinase-activated PFT obtained in this work retained its ability to bind to any type of cell. Thus, for construction of an actinoporin-based tumour proteinase-activated IT lacking non-specific activity, the mAb should be coupled through the cleavage peptide to the toxin binding region, thereby preventing the unactivated toxin from binding to the cells. Thus, the conjugates by themselves should be non-cytotoxic to

normal cells, by this means improving their therapeutic index. Design of such a therapeutic agent would take advantage of two separate properties exhibited by cancer cells (expression of tumour-associated Ags and overexpression of proteinases) and would allow a single hybrid molecule to recognize the tumour cell through its ligand moiety and be specifically activated at the tumour site by the tumour-associated proteinases. A schematic representation of a tumour proteinase-activated IT is shown in figure 2C.

In this direction we have obtained a mutant of StI (StI W111C) with a cysteine residue in the cytolysin binding region in order to construct tumour proteinase-activated ITs as those described previously. The construction of such ITs is in development.

Table I
Biological activity of ITs constructed with actinoporins

<div>Table I</div> <div>Biological activity of ITs constructed with actinoporins</div>				
Toxin	Targeting molecule	Receptor	Cells	Cytotoxic Activity, C ₅₀
Hemolytic fraction from <i>Stichodactyla helianthus</i>	IOR-T6 mAb	IOR-T6 (Antigen expressed on immature T-lymphocytes)	CEM (Human T-acute lymphoblastic leukemia cell line)	2 × 10 ⁻⁹ M ^a
	CB-CEA-1 mAb	CEA (Carcinoembriogenic antigen)	MDA-MB-134 (Human breast carcinoma cell line)	8 × 10 ⁻⁹ M ^b
	IOR egf/r3	Human epidermal growth factor receptor	H125 (Human Lung adenocarcinoma cell line)	1 × 10 ⁻⁹ M ^c
StI	Ior C5 mAb	Ior C2 (Antigen expressed on colorectal and ovarian cancer cells)	SW 948 (Human colorectal cancer)	25 × 10 ⁻⁸ M ^d
EqII	Diferric-Transferrin	Transferrin receptor	Raji (Human Burkitt lymphoma cell line)	2 × 10 ⁻⁹ M ^{**}
				1×10 ⁻¹⁰ M ^{***}
IT constructed with recombinant actinoporins				
EqII A179C	Anti- <i>Giardia</i> mAb	Antigen on the surface of <i>Giardia</i> cells	<i>Giardia duodenalis</i>	1.25 × 10 ⁻⁹ M ^{* f}
EqII K20C	OKT9 mAb	Transferrin receptor	A 375 (Human malignant melanoma cell line)	4 × 10 ⁻⁸ M ^g
EqII R126C				1.7 × 10 ⁻⁸ M
EqII A179C				3.5 × 10 ⁻⁹ M

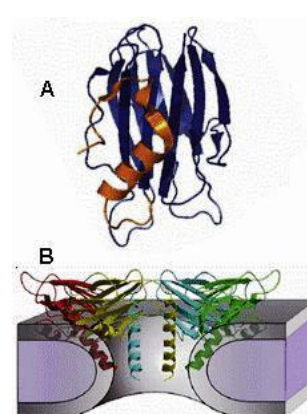
^{a)} Reference [7]; ^{b)} Reference [8]; ^{c)} Reference [9]; ^{d)} Reference [10]; ^{e)} Reference [11]; ^{f)} Reference [25]; ^{g)} Reference [12].

*Value estimated from the original dose-dependence graphic; **Acute toxicity test; ***Long term toxicity test

3 Potential for future development

Although the mechanism of inducing cell death mediated by actinoporin based IT could be the imbalance provoked by the formation of pores in membranes, a promising alternative is the use of such entities as components of chemotherapeutic cocktails. By facilitating drugs to enter into the cytosol, actinoporins might be used to increase the efficacy of conventional anti-cancer agents. In fact it was recently shown that Bc2, an actinoporin isolated from *Bunodosoma caissarum*, and EqII significantly potentiated the cytotoxicity induced by low dose concentrations of the chemotherapeutic agents cytosine arabinoside, doxorubicin, and vincristine⁴². The induction by these drugs of a more effective cytotoxicity when combined with actinoporins could allow the reduction of their therapeutic doses and consequently their undesirable side effects.

Figure 3. Overall Structure of StII. (A) Stereo view ribbon diagram of StII. The N-terminal region is shown in brown. (B) Putative model for the functional pore of StII, in which the N-terminal region of the protomers would adopt a helical conformation. Lipid headgroup regions are shown as gray layers. The walls of the pore would be formed both by lipid molecules and four N-terminal helices. Taken from reference [33].



Toxins that have been used to make classical ITs consist of several domains and typically one of them is a

recognition domain. This has allowed the lack of inherent specificity of these ITs to be overcome by removing the binding domain. This approach did not seem possible for actinoporin based ITs, since actinoporins are 20 kDa compact structures in which at least two regions, the N-terminal and the Trp-rich binding regions, become embedded in the lipid membrane.

Recent studies have demonstrated that the N-terminal region of actinoporins forms a stable helix long enough to span a lipid bilayer when in a membrane environment although the isolated peptides are only weakly active^{43,44}. Thus, while the N-terminal region has the structural features required for the mechanism of pore formation, the lower activity of the isolated N-terminal region shows that the bulk of the protein is essential for efficient pore formation by facilitating initial membrane binding, interaction with SM, or stabilization of the oligomeric pore.

These results suggest that it would be possible to recover, at least in part, the whole toxin pore-forming activity if the N-terminal region were linked to a binding ligand as a growth factor or an Fv fragment. In fact the first artificial native-like pore-forming protein showing selectivity toward malignant cells has been conceived and designed based on the structure of the colicin family of bacteriocins⁴⁵. In the same direction a recombinant IT containing the N-terminal fragment of human perforin, a pore-forming molecule that mediates human cytotoxic T-cell killing, has been engineered and evaluated *in vitro* with promising results⁴⁶.

The relatively small fusion protein, if it recovers the cytotoxic activity, might be specifically toxic to a cell population. Alternatively, the binding ligand could concentrate the N-terminal peptide on the surface of the target cell and a tumour proteinase N-terminal activation mechanism, similar to the one previously described above, could be introduced. In such a construction an increase of the specific N-terminal peptide cytotoxic activity toward the target cell would be expected.

These last approaches have some additional advantages, as they would allow production of recombinant actinoporin based ITs, which is not possible with the whole protein since the binding region, present in the *middle* of the primary structure, must be blocked to reduce the non-specific activity. In addition, recombinant ITs would be homogeneous and relatively inexpensive to produce. The reduction of the possible immunogenicity associated with the full length toxin would also be desirable. However, at present, little is known about the immunogenic properties of actinoporins.

4 Conclusions

Although the first *in vitro* evaluations of ITs containing sea anemone cytotoxins are encouraging, advances in their application have been limited by a lack of knowledge about their 3D structures and structure-function relationships. The results obtained using anthrax lethal toxin targeted to either uPA or MMP-expressing tumour

cells suggest that proteinase-activated anti-tumour toxins have considerable potential for use in cancer therapy. Tumour cell killing by an actinoporin-antibody conjugate that is specifically activated by tumour proteinases would include two levels of specificity: antibody targeting of tumour Ag and activation of the actinoporin by tumour proteases.

Acknowledgements

This work was supported by three grants from International Foundation for Science (IFS) and Organization for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW) to M.T.

References

1. I. Pastan, R. Hassan, D. J. FitzGerald, and R. J. Kreitman, "Immunotoxin treatment of cancer", *Annu.Rev.Med.* 58, 221-237 (2007).
2. G. R. Thrush, L. R. Lark, B. C. Clinchy, and E. S. Vitetta, "Immunotoxins: an update", *Annual Review of Immunology* 14, 49-71 (1996).
3. V. Ghetie and E. S. Vitetta, "Chemical construction of immunotoxins", *Mol.Biotechnol.* 18, 251-268 (2001).
4. R. J. Kreitman, "Immunotoxins in cancer therapy", *Current Opinion in Immunology* 11, 570-578 (1999).
5. E. Olsen, M. Duvic, A. Frankel, Y. Kim, A. Martin, E. Vonderheid, B. Jegasothy, G. Wood, M. Gordon, P. Heald, A. Oseroff, L. Pinter-Brown, G. Bowen, T. Kuzel, D. Fivenson, F. Foss, M. Glode, A. Molina, E. Knobler, S. Stewart, K. Cooper, S. Stevens, F. Craig, J. Reuben, P. Bacha, and J. Nichols, "Pivotal phase III trial of two dose levels of denileukin diftitox for the treatment of cutaneous T-cell lymphoma", *J.Clin.Oncol.* 19, 376-388 (2001).
6. M. Duvic, T. M. Kuzel, E. A. Olsen, A. G. Martin, F. M. Foss, Y. H. Kim, P. W. Heald, P. Bacha, J. Nichols, and A. Liepa, "Quality-of-life improvements in cutaneous T-cell lymphoma patients treated with denileukin diftitox (ONTAK)", *Clin.Lymphoma* 2, 222-228 (2002).
7. A. D. Avila, M. C. de Acosta, and A. Lage, "A new immunotoxin built by linking a hemolytic toxin to a mono-clonal antibody specific for immature T lymphocytes", *International Journal of Cancer* 42, 568-571 (1988).
8. A. D. Avila, M. C. de Acosta, and A. Lage, "A carcinoembryonic antigen-directed immunotoxin built by linking a monoclonal antibody to a hemolytic toxin", *International Journal of Cancer* 43, 926-929 (1989).
9. A. D. Avila, C. F. Calderon, R. M. Perez, C. Pons, C. M. Pereda, and A. R. Ortiz, "Construction of an immunotoxin by linking a monoclonal antibody against the human epidermal growth factor receptor and a hemolytic toxin", *Biol.Res.* 40, 173-183 (2007).
10. M. Tejuca, I. Diaz, R. Figueredo, L. Roque, F. Pazos, D. Martinez, N. Iznaga-Escobar, R. Perez, C. Alvarez, and M. E. Lanio, "Construction of an immunotoxin with the pore forming protein StI and ior C5, a monoclonal antibody against a colon cancer cell line", *Int.Immunopharmacol.* 4, 731-744 (2004).
11. C. Pederzoli, G. Belmonte, M. Dalla Serra, P. Macek, and G. Menestrina, "Biochemical and cytotoxic properties of conjugates of transferrin with equinatoxin II, a cytotoxin from a sea anemone", *Bioconjug Chem* 6, 166-173 (1995).
12. C. Potrich, G. Viero, M. Tejuca, G. Anderluh, P. Macek,

- and G. Menestrina, Construction of new immunotoxins by linking equinatoxin II to monoclonal antibodies via the biotin-avidin interaction. Cytotoxic effects on human tumor cells", *Acta Biologica Slovenica* 43, 47-51 (2000).
13. C. L. Hinman and H. P. Tang, "A membrane-lytic immunoconjugate selective for human tumor T-lymphocytes", *Int.J.Immunopharmacol.* 20, 467-478 (1998).
14. R. D. Dunn, K. M. Weston, T. J. Longhurst, G. G. Lilley, D. E. Rivett, P. J. Hudson, and R. L. Raison, "Antigen binding and cytotoxic properties of a recombinant immunotoxin incorporating the lytic peptide, melittin", *Immunotechnology*, 2, 229-240 (1996).
15. S. E. Gasanov, E. D. Rael, N. E. Gasanov, and L. P. Vernon, "In vitro evaluation of *Pyricularia* thionin-anti-CD5 immunotoxin", *Cancer Immunol.Immunother.* 41, 122-128 (1995).
16. S. A. S. Al yahyaee and D. J. Ellar, "Cell targeting of a pore-forming toxin, CytA delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis*, by conjugating CytA with anti-thy 1 monoclonal antibodies and insulin", *Bioconjug Chem* 7, 451-460 (1996).
17. F. A. Drobniowski, G. J. Watson, E. J. Wawrzynczak, J. E. Alouf, and P. E. Thorpe, "A novel membrane-acting immunotoxin, the immunolysin, with therapeutic potential", *Biochem.Soc.Trans.* 20, 318S (1992).
18. F. A. Drobniowski, "Immunotoxins up to the present day", *Biosci.Rep.* 9, 139-156 (1989).
19. W. R. Kem, "Sea anemone toxin: Structure and action", in *The Biology of Nematocysts*, Edited by D. A. Hessinger, ed. pp. 375-405 (Academic Press, 1988).
20. G. Belmonte, C. Pederzoli, P. Macek, and G. Menestrina, "Pore formation by the sea anemone cytolysin equinatoxin II in red blood cells and model lipid membranes", *J.Membr.Biol.* 131, 11-22 (1993).
21. P. Macek, G. Belmonte, C. Pederzoli, and G. Menestrina, "Mechanism of action of equinatoxin II, a cytolysin from the sea anemone *Actinia equina* L. belonging to the family of actinoporins", *Toxicology* 87, 205-227 (1994).
22. M. Tejuca, S. M. Dalla, C. Potrich, C. Alvarez, and G. Menestrina, "Sizing the pore formed in erythrocytes and lipid vesicles by the toxin sticholysin I from the sea anemone *Stichodactyla helianthus*", *J.Membr.Biol.* 183, 125-135 (2001).
23. G. Anderluh and G. Menestrina, "Pore-forming proteins from sea anemones and the construction of immunotoxins for selective killing of harmful cells", in *Bio-organic compounds: chemistry and biomedical applications*, Edited by M. Fingerhman, ed. pp. 131-148 (Science Publishers, Inc., 2001).
24. M. Tejuca, G. Anderluh, and S. M. Dalla, "Sea anemone cytolysins as toxic components of immunotoxins", *Toxicon* (2009, in press).
25. M. Tejuca, G. Anderluh, P. Macek, R. Marcet, D. Torres, J. Sarracent, C. Alvarez, M. E. Lanio, S. M. Dalla, and G. Menestrina, "Antiparasite activity of sea-anemone cytolysins on *Giardia* duodenalis and specific targeting by anti-*Giardia* antibodies", *Int.J.Parasitol.* 29, 489-498 (1999).
26. J. Mai, D. M. Waisman, and B. F. Sloane, "Cell surface complex of cathepsin B/annexin II tetramer in malignant progression", *Biochim.Biophys.Acta* 1477, 215-230 (2000).
27. M. Egeblad and Z. Werb, "New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression", *Nat.Rev.Cancer* 2, 161-174 (2002).
28. P. A. Andreasen, R. Egelund, and H. H. Petersen, "The plasminogen activation system in tumor growth, invasion, and metastasis", *Cell Mol.Life Sci.* 57, 25-40 (2000).
29. S. Liu, H. Wang, B. M. Currie, A. Molinolo, H. J. Leung, M. Moayeri, J. R. Basile, R. W. Alfano, J. S. Gutkind, A. E. Frankel, T. H. Bugge, and S. H. Leppla, "Matrix metalloproteinase-activated anthrax lethal toxin demonstrates high potency in targeting tumor vasculature", *J.Biol.Chem.* 283, 529-540 (2008).
30. Y. Su, J. Ortiz, S. Liu, T. H. Bugge, R. Singh, S. H. Leppla, and A. E. Frankel, "Systematic urokinase-activated anthrax toxin therapy produces regressions of subcutaneous human non-small cell lung tumor in athymic nude mice", *Cancer Res.* 67, 3329-3336 (2007).
31. A. Athanasiadis, G. Anderluh, P. Macek, and D. Turk, "Crystal structure of the soluble form of equinatoxin II, a pore-forming toxin from the sea anemone *Actinia equina*", *Structure* 9, 341-346 (2001).
32. M. G. Hinds, W. Zhang, G. Anderluh, P. E. Hansen, and R. S. Norton, "Solution structure of the eukaryotic pore-forming cytolysin equinatoxin II: Implications for pore formation", *J.Mol.Biol.* 315, 1219-1229 (2002).
33. J. M. Mancheno, J. Martin-Benito, M. Martinez-Ripoll, J. G. Gavilanes, and J. A. Hermoso, "Crystal and electron microscopy structures of sticholysin II actinoporin reveal insights into the mechanism of membrane pore formation", *Structure* 11, 1319-1328 (2003).
34. G. Anderluh, A. Barlic, Z. Podlesek, P. Macek, J. Pungercar, F. Gubensek, M. Zecchini, M. Dalla Serra, and G. Menestrina, "Cysteine scanning mutagenesis of an eucaryotic pore-forming toxin from sea anemone: topology in lipid membranes", *Eur J Biochem* 263, 128-136 (1999).
35. P. Malovrh, A. Barlic, Z. Podlesek, G. Menestrina, P. Macek, and G. Anderluh, "Structure/function studies of tryptophan mutants of equinatoxin II, a sea anemone pore-forming protein", *Biochem J* 346, 223-232 (2000).
36. Q. Hong, I. Gutierrez-Aguirre, A. Barlic, P. Malovrh, K. Kristan, Z. Podlesek, P. Macek, D. Turk, J. M. Gonzalez-Manas, J. H. Lakey, and G. Anderluh, "Two-step membrane binding by Equinatoxin II, a pore-forming toxin from the sea anemone, involves an exposed aromatic cluster and a flexible helix", *J.Biol.Chem.* 277, 41916-41924 (2002).
37. P. Malovrh, G. Viero, M. Dalla Serra, Z. Podlesek, J. H. Lakey, P. Macek, G. Menestrina, and G. Anderluh, "A novel mechanism of pore-formation: equinatoxin penetration of membrane by a N-terminal amphipathic region", *J.Biol.Chem.* 278, 22678-22685 (2003).
38. M. Tejuca, M. Dalla Serra, M. Ferreras, M. E. Lanio, and G. Menestrina, "Mechanism of membrane permeabilisation by sticholysin I, a cytolysin isolated from the venom of the sea anemone *Stichodactyla helianthus*", *Biochemistry* 35, 14947-14957 (1996).
39. C. Alvarez, M. Dalla Serra, C. Potrich, I. Bernhart, M. Tejuca, D. Martinez, I. F. Pazos, M. E. Lanio, and G. Menestrina, "Effects of lipid composition on membrane permeabilization by Sticholysin I and II, two cytolysins of the sea anemone *Stichodactyla helianthus*", *Biophys.J.* 80, 2761-2774 (2001).
40. G. Anderluh, M. Dalla Serra, G. Viero, G. Guella, P. Macek, and G. Menestrina, "Pore formation by equinatoxin II, an eukaryotic protein toxin, occurs by induction of non-lamellar lipid structures", *J.Biol.Chem.* 278, 45216-45223 (2003).
41. C. Potrich, R. Tomazzoli, M. Dalla Serra, G. Anderluh, P. Malovrh, P. Macek, G. Menestrina, and M. Tejuca, "Cytotoxic activity of a tumor protease-activated pore forming toxin", *Bioconjug Chem* 16, 369-376 (2005).
42. R. C. Soletti, G. P. de Faria, J. Vernal, H. Terenzi, G.

- Anderluh, H. L. Borges, V. Moura-Neto, and N. H. Gabilan, "Potentiation of anticancer-drug cytotoxicity by sea anemone pore-forming proteins in human glioblastoma cells", *Anticancer Drugs* 19, 517-525 (2008).
43. F. Casallanovo, F. J. de Oliveira, F. C. de Souza, U. Ros, Y. Martinez, D. Penton, M. Tejuca, D. Martinez, F. Pazos, T. A. Pertinhez, A. Spisni, E. M. Cilli, M. E. Lanio, C. Alvarez, and S. Schreier, "Model peptides mimic the structure and function of the N-terminus of the pore-forming toxin sticholysin II", *Biopolymers* 84, 169-180 (2006).
44. A. Drechsler, C. Potrich, J. K. Sabo, M. Frisanco, G. Guella, M. Dalla Serra, G. Anderluh, F. Separovic, and R. S. Norton, "Structure and activity of the N-terminal region of the eukaryotic cytolysin equinatoxin II", *Biochemistry* 45, 1818-1828 (2006).
45. H. M. Ellerby, S. Lee, L. M. Ellerby, S. Chen, T. Kiyota, G. del Rio, G. Sugihara, Y. Sun, D. E. Bredesen, W. Arap, and R. Pasqualini, "An artificially designed pore-forming protein with anti-tumor effects", *J.Biol.Chem.* 278, 35311-35316 (2003).
46. L. Wan, L. Zeng, L. Chen, Q. Huang, S. Li, Y. Lu, Y. Li, J. Cheng, and X. Lu, "Expression, purification, and refolding of a novel immunotoxin containing humanized single-chain fragment variable antibody against CTLA4 and the N-terminal fragment of human perforin", *Protein Expr.Purif.* 48, 307-313 (2006).

Las vesículas liposomales: obtención, propiedades y aplicaciones potenciales en la biomedicina

M.E. Lanio^{a†}, M.C. Luzardo^a, R. Laborde^a, O. Sánchez^a, Y. Cruz-Leal^a, F. Pazos^a, M. Tejuca^a, A. Valle^a, M.E. Alonso^a, L.E. Fernández^b, C. Alvarez^a

a) Centro de Estudios de Proteínas, Facultad de Biología, UH; mlanio@fbio.uh.cu

b) Centro de Inmunología Molecular, Ciudad de La Habana

† autor para la correspondencia

Recibido el 9/04/2009. Aprobado en versión final el 20/06/2009.

Sumario. Los liposomas han sido empleados como modelos de membrana y vehículos de una gran diversidad de moléculas, con propósitos bioquímicos, nanobiotecnológicos y biomédicos. Considerando la versatilidad de las propiedades físico-químicas de estas vesículas, ellas resultan atractivas para el diseño de vehículos de proteínas, ADN, drogas, etc. En este trabajo, se resumen las tecnologías liposomales y los procedimientos más frecuentemente empleados para el estudio de las características físico-químicas de estas vesículas, tales como: tamaño, rasgos estructurales, estabilidad química y física, propiedades eléctricas y transiciones de fase. Los liposomas se emplean como inmunoadyuvantes al favorecer la direccionalización de los antígenos a las células del sistema inmunológico. En el presente artículo se describen, además, algunos de los resultados obtenidos por nuestro grupo en el estudio de la función inmunomoduladora de los lípidos liposomales con antígenos como el EGFhr, entre otros.

Abstract. Liposomes have been used as membranes models and carriers of enormous diversity of molecules with biochemical, nanobiotechnological and biomedical purposes. Considering the versatility in physico-chemical properties of these vesicles, they are attractive to design vehicles for proteins, DNA, drugs, etc. In this work, we summarize the liposomal technologies and the procedures most frequently used to study the physico-chemical characteristics of these vesicles, such as size, structural features, physical and chemical stability, electric properties and phase transitions. Liposomes are employed as immunoadjuvants due to their ability to address antigens to cells of the immune system. Additionally, the present paper describes results obtained by our group in the study of the immunomodulating properties of liposomal lipids for antigens such as EGFhr, among others.

Palabras clave. Nanotechnology biomedical applications, 87.85.Qr, 87.85.Rs, 81.16.-c

1 Introducción

Los liposomas fueron descubiertos en 1961 por Alec D. Bangham mientras estudiaba un tipo de biomoléculas (los fosfolípidos, PL) y su relación con la coagulación sanguínea¹. Desde entonces, se han convertido en herramientas versátiles en Biología, Bioquímica y Medicina.

Los liposomas son vesículas preparadas artificialmente, de talla nanométrica (aunque algunas pueden alcanzar tamaños mayores) y forma aproximadamente esférica con una fase acuosa interna rodeada por una o más bicapas lipídicas. Bangham descubrió que los PL en agua forman inmediatamente esferas cuyas paredes se encuentran organizadas en bicapas debido a que cada molécula tiene un

terminal hidrosoluble en tanto el otro es hidrofóbico, es decir se trata de moléculas anfífilas². En numerosos artículos de revisión y capítulos de libros se analiza el empleo de los liposomas en la liberación de fármacos, la terapia génica y como inmunoadyuvantes. El uso de los liposomas como *carriers* de fármacos se ha dirigido a reducir los efectos tóxicos colaterales de las drogas en órganos sensibles, tales como corazón y riñones, y a lograr una direccionalización a tejidos específicos tales como los tumorales. Por otra parte, la inclusión de lípidos catiónicos en la composición liposomal ha potenciado su capacidad para mediar la transfección en la terapia génica. La racionalidad que existe en el empleo de los liposomas en inmunizaciones y en el diseño de vacunas se basa en su capacidad para liberar la molécula antigénica en células específicas del sistema inmunológico y estimular una respuesta inmune³.

Los liposomas están constituidos por moléculas anfífilas derivadas o basadas en la estructura de los lípidos de las membranas biológicas^{4,5,6,7}. Estos lípidos se forman, generalmente, a partir del enlace éster de dos cadenas hidrocarbonadas con la molécula del glicerol (“glicerolípidos”), o también pueden estar constituidos por la unidad hidrofóbica ceramida (“esfingolípidos”). Esta parte hidrofóbica se une a una cabeza polar hidrofílica que puede contener grupo fosfato (“fosfolípidos”) o algunas unidades azúcares (“glicolípidos”). Las cabezas polares de los lípidos biológicamente relevantes pueden ser *zwitteriónicas*: fosfatidil colina (PC), fosfatidil etanolamina (PE), esfingomielina (SM); cargadas negativamente: ácido fosfatídico (PA), fosfatidil glicerol (PG), fosfatidil serina (PS), fosfatidil inositol (PI), cardiolipina (CL) y glicolípidos cargados negativamente o no. Las cadenas *acilas* saturadas con frecuencia varían en longitud entre 10 y 18 carbonos; las de longitud mayor de 18 carbonos son usualmente insaturadas con uno, dos o tres dobles enlaces en configuración *cis*. Los lípidos cargados positivamente son moléculas sintéticas las cuales son diseñadas para propiciar la condensación del ADN e interactuar con las membranas biológicas con carga neta opuesta³.

Los lípidos anfífilos son muy poco solubles en agua como monómeros, con una baja concentración crítica micelar (CCM), oscilando entre 10^{-8} y 10^{-12} M, magnitud que depende de la longitud de las cadenas hidrocarbonadas presentes en sus estructuras. Los anfífilos con una sola cadena hidrocarbonada (lisolípidos, cadenas de ácidos grasos insaturadas, detergentes, etc.) espontáneamente forman agregados en estructuras micelares. Sin embargo, la mayoría de los lípidos derivados de las membranas biológicas tienden a formar bicapas en fase acuosa. Las estructuras lamelares que resultan se sellan en vesículas denominadas liposomas. Atendiendo a las características estructurales, en particular al número de bicapas y al tamaño, los liposomas se pueden clasificar en vesículas multilamelares (del inglés *multilamellar vesicles* MLV, 0.1–10 μm) o unilamelares, estas últimas pueden ser de diámetro pequeño (del inglés *small unilamellar vesicles* SUV, <100 nm), de diámetro grande (del inglés *large unilamellar vesicles* LUV, 100–500

nm) o gigantes (del inglés *giant unilamellar vesicles* GUV, $\geq 1 \mu\text{m}$). Ciertas mezclas lipídicas o lípidos aislados tienden a formar agregados que estructuralmente difieren de la bicapa (morfología de no-bicapa), ejemplo de ellos son las fases hexagonales (H_{II}) o cúbicas (Q)³.

2 Procedimientos más usados en la preparación de liposomas

Las vesículas MLV se obtienen por hidratación, mediante agitación, de una película lipídica previamente formada por evaporación de una solución de los lípidos disueltos en un solvente orgánico, generalmente cloroformo. Esta hidratación debe realizarse por encima de la temperatura de transición de fase de los lípidos. La distribución del tamaño y la lamellaridad de las vesículas MLV es muy heterogénea pero, debido al desarrollo de la tecnología liposomal, se dispone de procedimientos sofisticados que rinden vesículas con un tamaño más homogéneo (Figura 1)^{7,8}.

La sonicación de una suspensión de MLV provoca la ruptura de estas vesículas produciendo SUV con un radio de 30–60 nm, aproximadamente. Los liposomas SUV tienden a experimentar procesos de agregación y fusión debido a la presencia de *defectos* en sus bicapas¹. Extrusiones repetidas de una suspensión de MLV a través de membranas de policarbonato, con poros de tamaño bien definido, producen LUV con un diámetro que puede oscilar entre 80–400 nm, en dependencia de la membrana utilizada en el proceso de extrusión⁷. Otro procedimiento muy rápido para la preparación de liposomas consiste en la disolución de una mezcla lipídica en etanol o éter, la cual es inyectada en una solución tampón apropiada originándose una mezcla heterogénea de SUV, LUV o MLV, en dependencia de la concentración lipídica. El uso de este procedimiento en ocasiones es limitado debido a la baja solubilidad de determinados lípidos en estos solventes⁷. El método de evaporación-inversión de fase (REV, del inglés *reverse phase evaporation method*), basado en la rápida inyección de una solución acuosa en una fase orgánica que contiene los lípidos, rinde vesículas en la suspensión acuosa con 0.1 a 1.0 μm de diámetro y una capacidad de encapsular de hasta un 50%. Los pasos fundamentales de este método son: la sonicación, que resulta en una emulsión “*agua-en-aceite*”, seguida por un secado parcial a un gel semi-sólido que es finalmente, convertido en una suspensión concentrada de vesículas mediante agitación vigorosa⁷.

La encapsulación de biomoléculas lábiles tales como proteínas y ADN en liposomas requiere de métodos reproducibles y que no incluyan etapas drásticas. El procedimiento basado en la deshidratación y rehidratación de vesículas (DRV) desarrollado por Kirby y Gregoriadis⁹ es simple, emplea condiciones suaves y produce vesículas con una elevada eficiencia de encapsulación para una amplia variedad de moléculas. Las vesículas DRV pueden ser producidas a gran escala mezclando una solución acuosa del compuesto a encapsular

sular con una suspensión de LUV o SUV “vacíos”. Las etapas de congelación-secado y rehidratación inducen fusión entre membranas adyacentes y el soluto queda atrapado en las vesículas MLV formadas (0.1 a 2.0 μm de diámetro y hasta un 80% de encapsulación)^{3,7,9}.

En el Laboratorio de Biomembranas (LBM) del Centro de Estudio de Proteínas de la Universidad de La Habana (CEP-UH) se ha venido trabajando con diferentes tipos de liposomas desde hace aproximadamente veinte años. Más recientemente, con el empleo de la tecnología DRV hemos estudiado la influencia de la composición lipídica sobre la eficiencia de encapsulación del Factor de Crecimiento Epidérmico humano recombinante (EGFhr) (Figure 2) y la capacidad de retención de estos liposomas¹⁰. Las vesículas DRV compuestas de dipalmitoil PC (DPPC) y colesterol (Ch) mostraron la mayor eficiencia de encapsulación del EGFhr (35%) en comparación con los liposomas constituidos por otras PC diferentes en longitud y nivel de insaturación de las cadenas hidrocarbonadas, tales como PC de yema de huevo (ePC):Ch, PC de soja (sPC):Ch, distearoil PC (DSPC):Ch o dimiristoil PC (DMPC):Ch, todas las preparaciones en una relación equimolar.

La inclusión de estearilamina (SA), una molécula sintética cargada positivamente, o PG a liposomas de ePC:Ch en un 10% (relación molar con respecto al contenido de fosfolípidos), para garantizar la presencia de cargas positivas o negativas en la superficie liposomal, disminuyó la eficiencia de encapsulación de EGFhr en comparación con las vesículas constituidas por componentes *zwitteriónicos* solamente (Figura 2).

Resultó de interés la no correlación entre la eficiencia de encapsulación y el tamaño de las vesículas determinado por espectroscopía de correlación fotónica (700-1400 nm). Estos resultados sugirieron que para el EGFhr, la naturaleza de la PC era el factor determinante en la eficiencia de encapsulación de ese polipéptido en DRV. La transformación de las vesículas DRV de DPPC:Ch, con EGFhr encapsulado, a LUV mediante ciclos de extrusión a través de membranas con poros de 100 ó 400 nm redujo la eficiencia de encapsulación de 4-6 veces, aun cuando el proceso de extrusión se realizó en presencia del material no encapsulado. La disminución del porcentaje de encapsulación de los LUV para el EGFhr no fue producto de pérdida de proteína durante el desarrollo del procedimiento¹⁰. Estos resultados contradicen lo informado previamente en relación a la factibilidad de la extrusión de DRV, para lograr una homogeneidad y reducir el tamaño de estas vesículas, sin afectar la eficiencia de encapsulación, siempre que se realice este proceso antes de la purificación de los liposomas¹¹.

Otro método recomendado para la encapsulación pasiva o reconstitución de proteínas lábiles y ligandos anclados en la membrana se fundamenta en la solubilización de los lípidos y las proteínas en presencia de un detergente. La dilución o eliminación del detergente por diálisis, filtración en gel o *biobeads* conduce a la formación de los liposomas, aunque es aún difícil de controlar racionalmente el mecanismo de reconstitución de las proteínas en la

membrana¹². En contraste con los procedimientos de encapsulación pasivos, los activos explotan diferencias en el coeficiente de reparto de las moléculas en función del pH y la fuerza iónica¹³.

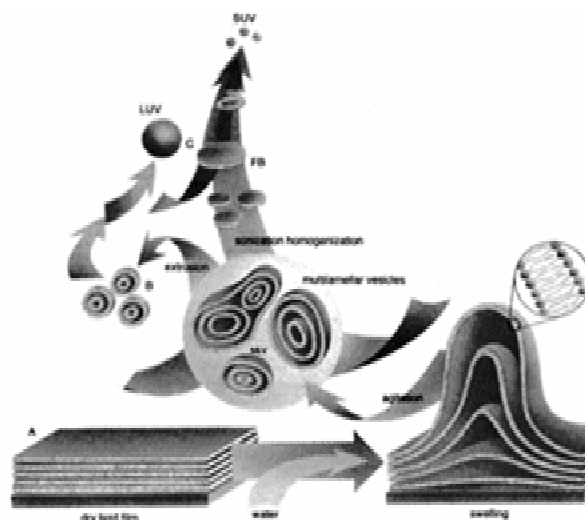


Figura 1. Procedimientos para la obtención de Liposomas (MLV, LUV y SUV). A: Método de dispersión simple para la obtención de MLV, mediante agitación de películas lipídicas hidratadas. B: Método de extrusión de MLV a través de membranas de policarbonato para la obtención de LUV. C: Métodos de sonicación-homogenización de MLV para la preparación de SUV.

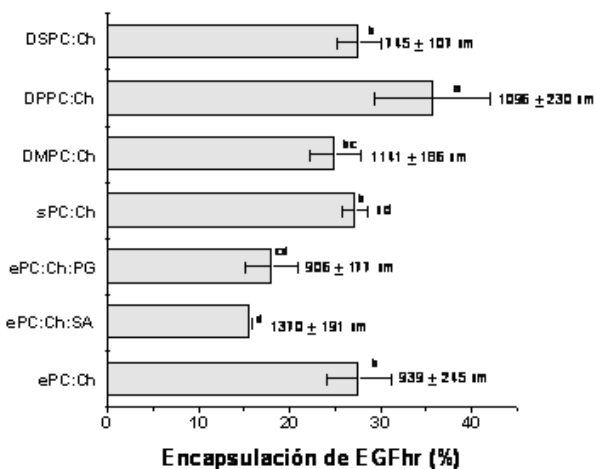


Figura 2. Eficiencia de encapsulación para el EGFhr, de liposomas obtenidos por el método de DRV compuestos de PC de diferentes naturalezas y Ch (relación molar 1:1). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de Rangos Múltiples de Duncan. Las cifras mostradas en cada barra corresponden al tamaño promedio de las partículas (nm) y la desviación estándar, estimado mediante espectroscopía de correlación fotónica¹⁰.

3 Métodos para el estudio de las propiedades físico-químicas de los liposomas

Diversos métodos espectroscópicos han sido empleados en el estudio de agregados lipídicos y en la estimación de sus tamaños¹⁴. La turbidimetría y la dispersión de la luz se basan en el mismo fenómeno físico a pesar de que se requiere instrumentación diferente. La turbidez se mide en espectrofotómetros convencionales determinando la densidad óptica, frecuentemente a 400 nm¹⁵. Aunque con este procedimiento no es posible estimar el tamaño de las partículas, es útil para un chequeo rápido de la reproducibilidad de las preparaciones o para monitorear la solubilización o reconstitución de las vesículas.

Los métodos basados en la dispersión de la luz, en los que la detección de la luz dispersada se realiza en un ángulo de 90° con relación a la luz incidente, son más sensibles. La dispersión de la luz puede ser medida en estado estacionario en un espectrofluorímetro, o de forma dinámica en un instrumento equipado con un láser. Este último método, también conocido como dispersión cuasielástica de la luz o espectroscopía de correlación fotónica, analiza la intensidad de la luz dispersada en milisegundos a través de un análisis de autocorrelación. El movimiento browniano de las partículas induce un ensanchamiento del espectro lo que se relaciona con la forma y tamaño de las partículas¹⁶. La dispersión dinámica de la luz es, por tanto, el método más empleado para estimar el radio hidrodinámico promedio de partículas en suspensión y su índice de polidispersidad y cubre un rango desde unos pocos nanómetros hasta μm ¹⁴.

La homogeneidad y morfología de los liposomas puede también visualizarse mediante microscopía electrónica (ME)¹⁷⁻¹⁹. La ME con tinción negativa brinda una visión directa de la distribución del tamaño de las partículas (asumiendo que no hay artefactos debido al pH, iones y osmolaridad), aunque son difíciles de evaluar la lamellaridad y morfología. En la ME con congelación-fractura se expone la superficie hidrofóbica entre dos monocapas y se logran describir rasgos y detalles que la caracterizan. Estas imágenes permiten distinguir la geometría del empaquetamiento de las fases lamelares y hexagonales, así como también la morfología de las rugosidades. Por otra parte, la criome es un procedimiento muy conveniente para visualizar la geometría tridimensional de las estructuras vesiculares atrapadas dentro una capa fina de hielo, aun cuando el contraste es comparativamente bajo.

La estabilidad física de una formulación liposomal se determina por su comportamiento coloidal y su capacidad para retener las moléculas encapsuladas por largos períodos de tiempo, bajo diferentes condiciones experimentales o de almacenamiento. Idealmente, los liposomas deben mantener su integridad con cambios en la fuerza iónica del medio o por dilución, fenómenos a los cuales normalmente se enfrentan al ser administrados *in vivo*. Desde un punto de vista termodinámico, los liposomas convencionales no se encuentran en estado de equilibrio, sino que representan sistemas cinéticamente “atrapados”. Por esa razón, sus estructuras son

relativamente estables al efecto de la dilución, mientras que los sistemas termodinámicamente reversibles, como las micelas y las microemulsiones, tienden inmediatamente a la agregación o desintegración²⁰.

Considerando la teoría de Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek, un sistema será estable en soluciones electrolíticas simples si la repulsión electrostática entre dos partículas es superior a las atracciones de van der Waals existentes entre ellas. Por consiguiente, trabajar con liposomas eléctricamente cargados, almacenados a baja fuerza iónica, es una alternativa ventajosa y recomendable. Sin embargo, pueden ocurrir procesos de agregación vesicular, tanto a altas concentraciones lipídicas como en presencia de iones multivalentes con elevadas afinidades por las cabezas polares cargadas (ej, PS con Ca^{2+})^{4,21}.

La adición de carga superficial a las vesículas no siempre resulta en una mayor integridad y estabilidad de las formulaciones. Otros factores como la composición lipídica y la naturaleza del compuesto encapsulado pueden influir en las propiedades de los liposomas. En correspondencia con esto, los DRV de las composiciones lipídicas mencionadas en la Figura 2 exhibieron diferentes eficiencias de retención de EGFhr, cuando fueron almacenados en suspensión a 4°C durante un mes. Los liposomas de mayor capacidad de retención fueron los constituidos por DPPC:Ch, con sólo un 15 % de pérdida de su contenido en el tiempo analizado, en comparación con las otras composiciones ensayadas¹⁰. En este estudio, la adición de lípidos cargados no modificó el comportamiento de los liposomas. Interesante resultó el hecho de que las vesículas no experimentaron cambios en el tamaño y la polidispersidad bajo las condiciones ensayadas, lo que era indicativo de que la liberación del EGFhr de DRV no fue el resultado de fenómenos de agregación-fusión de las vesículas. En consecuencia, se sugirió que la desestabilización de los liposomas cargados con EGFhr era debido a una probable interacción de este polipéptido con la bicapa lipídica.

Mediante la espectroscopía de fluorescencia se han desarrollado diferentes estrategias para el estudio de cambios estructurales que involucran a la bicapa lipídica, tales como: la fusión de membranas, la exposición de dominios hidrofóbicos o su desestabilización y la liberación del contenido vesicular³. Múltiples sondas fluorescentes, altamente sensibles, ya sean hidrosolubles o con anclaje lipídico, se encuentran disponibles para monitorear el escape de contenidos acuosos de las vesículas. Un ejemplo de ello es el análisis de la cinética de recuperación de la fluorescencia de un fluoróforo que experimenta supresión de la emisión fluorescente a elevadas concentraciones (*self-quenching*) o inducida por la presencia de otro cromóforo, como son: la carboxifluoresceína (CF) y el par ANTS y DPX, respectivamente^{3,7}. Este procedimiento nos permitió profundizar en la posible contribución del EGFhr a la desestabilización de las membranas liposomales. Un análisis del curso temporal de la liberación de CF de DRV, en presencia de plasma

sanguíneo o tampón fosfato salino (PBS), evidenció una mayor liberación de este fluoróforo de las vesículas que contenían el EGFhr co-encapsulado para ambas condiciones experimentales ensayadas (Figura 3)¹⁰, lo que sugirió una interacción de este polipéptido con los fosfolípidos de las membranas liposomales.

La liberación del EGFhr de las vesículas liposomales se redujo con la adición a las preparaciones de los azúcares sacarosa, trealosa, maltosa y glucosa²². Este efecto protector ha sido atribuido a que los azúcares reemplazan el agua de hidratación de los grupos polares de los fosfolípidos, y se establecen enlaces de hidrógeno entre sus grupos fosfatos y los hidroxilos de los azúcares²³.

La preparación de partículas liposomales sin carga y recubiertas con polímeros hidrofílicos no iónicos, tales como el polietilenglicol (PEG), resulta en vesículas estables que muestran bajos niveles de interacciones no-específicas y de agregación, producto de que las barreras estéricas previenen la proximidad y el contacto³.

Las propiedades eléctricas de la superficie de los liposomas pueden ser evaluadas mediante microelectroforesis. Este procedimiento permite la estimación del potencial ζ y la densidad de carga superficial como parámetros característicos^{21,24}. Aun los liposomas no cargados de PC pura exhiben un potencial ζ en un amplio rango de fuerzas iónicas³. En la mayoría de las soluciones electrolíticas el potencial ζ de PC tiende a ser negativo debido a la presencia de una capa de aniones adsorbida a los dipolos originados en las cabezas polares zwitteriónicas. El potencial ζ es sensible a las transiciones de fase de los lípidos, a la adsorción de anfífilos y proteínas, a la estabilización estérica con PEG no cargado y a las modificaciones de la superficie, de manera general. Por consiguiente, es un parámetro muy útil para monitorear la estabilidad de las vesículas liposomales y para verificar la reproducibilidad de diferentes lotes de una misma preparación.

La estabilidad química de los lípidos durante el almacenamiento es otro aspecto que requiere atención, especialmente lo relacionado con la hidrólisis y, en el caso de las cadenas lipídicas insaturadas, los procesos oxidativos que estas estructuras pueden experimentar⁷. Los liposomas pueden ser almacenados ya bien sea congelados en suspensión o liofilizados, pero es esencial re-evaluar su distribución de tamaño, morfología y cantidad de soluto encapsulado antes de su uso. La adición de crioprotectores, tales como la trealosa, es recomendable para evitar transiciones de fase y fusión de membranas¹³.

Para la caracterización de la identidad de los lípidos, pureza y concentración, la espectrometría de masa MALDI-TOF ofrece ventajas en comparación con los métodos cromatográficos convencionales, como las cromatografías en placa fina, líquida y gaseosa²⁵. La cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC) también se emplea con frecuencia en el análisis químico de las mezclas lipídicas liposomales después de su almacenamiento o simplemente como control de calidad

de las preparaciones.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se emplea para determinar la temperatura de inicio de la fusión de las cadenas lipídicas y otras transiciones de fase⁷, y el área bajo la curva (es decir, la entalpía, H) es representativa de la cooperatividad del proceso. Dado que la temperatura de transición es sensible a la presencia de aditivos en la bicapa, este es un parámetro recomendado para monitorear interacciones droga-lípidos y para detectar impurezas y productos de hidrólisis.

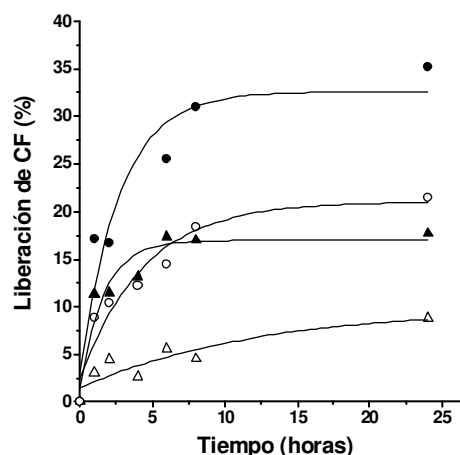


Figura 3. Liberación de CF de liposomas DRV, con y sin EGFhr encapsulado, en presencia de plasma sanguíneo o PBS a 37°C. La CF fue encapsulada en DRV de ePC:Ch en presencia o ausencia de EGFhr. Los liposomas se incubaron con plasma sanguíneo o PBS a una relación de volumen 1:5 (liposoma: plasma/PBS) con el propósito de evaluar la interacción del polipéptido con la bicapa lipídica a partir de la integridad de las vesículas. Se tomaron alícuotas a diferentes intervalos de tiempo durante 24 horas para las medidas de fluorescencia. (●)EGFhr+CF+Plasma, (○)EGFhr+CF+PBS, (▲) CF+Plasma, (△) CF+PBS.

La calorimetría de titulación de alta sensibilidad puede aportar, además, parámetros termodinámicos exactos del reparto de una molécula en la membrana. En nuestro grupo, con el empleo de este procedimiento, se observó una disminución significativa del ΔH de la transición de fase en membranas liposomales de DPPC y DSPC que contenían EGFhr sin afectación de la temperatura de transición¹⁰. Estos resultados reforzaron la idea de una interacción selectiva del EGFhr con los lípidos liposomales, provocando probablemente la separación de los grupos polares en la zona interfacial de la bicapa y una disminución de las interacciones electrostáticas entre los grupos fosforilcolina de las moléculas fosfolipídicas adyacentes. Estos resultados y los presentados en la Figura 3 permitieron explicar las causas de la disminución de la eficiencia de retención de los liposomas que contenían EGFhr bajo las condiciones de almacenamiento ensayadas¹⁰.

Las espectroscopías de resonancia magnética nuclear (RMN) y de resonancia paramagnética electrónica (EPR)

son herramientas potentes para examinar las características estructurales y de movimientos locales en las bicapas lipídicas. Estos métodos brindan información no sólo de la morfología de los lípidos, sino también de los detalles de la arquitectura local³. La señal de RMN-³¹P (estado sólido) permite identificar la presencia de fases lamelares, hexagonales y micelares/cúbicas. El orden y movilidad local de segmentos moleculares individuales pueden ser estudiados con la incorporación selectiva de deuterio para el análisis por RMN-²H o con el marcaje con el radical nitróxido mediante EPR. Las características de los espectros de RMN-²H de las cadenas *acilas* de los lípidos son útiles para distinguir las fases gel y fluida y el estado líquido-ordenado. Por otra parte, el análisis de las cabezas polares lipídicas deuteradas ha mostrado que el alineamiento de sus momentos dipolares refleja con elevada sensibilidad la asociación de moléculas cargadas y de agua con la superficie de la membrana. De manera similar, la penetración y localización de moléculas hidrofóbicas, así como también la conformación, orientación y perturbación local de un péptido anfifílico y una proteína transmembrana pueden describirse en detalles mediante RMN del estado sólido³.

4 Entrega de moléculas a las células mediante liposomas: función como inmunoadyuvantes

Los mecanismos mediante los cuales los liposomas se desintegran y liberan su contenido, una vez que interactúan con la superficie de las células, son aún especulativos. Las moléculas pueden simplemente escapar de los liposomas y atravesar la membrana plasmática por difusión o formación de poros. De manera alternativa, estas vesículas pueden fusionarse con la membrana plasmática o pueden ser tomadas por las células mediante endocitosis o fagocitosis. En estos dos últimos eventos los liposomas pueden experimentar degradación en el entorno relativamente ácido del endosoma o fagosoma, o pudieran fusionarse directamente con la membrana endosomal o lisosomal³.

La ruta del procesamiento intracelular de los liposomas es relevante para el diseño de sistemas de liberación de moléculas a las células tales como: drogas, antígenos, ADN, oligonucleótidos antisentido (*antisense*), etc. *In vitro*, los liposomas convencionales son capaces de liberar proteínas en los compartimentos endosomales-lisosomales. De manera que, para el caso de los antígenos, las vesículas liposomales favorecen el procesamiento de estas moléculas en el interior de las células presentadoras de antígenos profesionales (APC), y la presentación de los péptidos inmunodominantes derivados de ellas, en las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase II (MHC II)²⁶, induciendo una respuesta inmune preferentemente humoral (anticuerpos). Las ventajas fundamentales de los liposomas como inmunoadyuvantes se resumen en: (i) la capacidad de mimetizar patógenos al transportar grandes cantidades de

antígenos a las APC, (ii) la posibilidad de co-encapsular antígenos junto con moléculas inmunoestimuladoras, (iii) la flexibilidad en cuanto a la modificación de sus propiedades físico-químicas con el propósito de una mayor efectividad, y (iv) el hecho de ser biodegradables y no tóxicas²⁷.

Un estudio realizado con preparaciones liposomales DRV que encapsulan el EGFhr conjugado o no a P64k, proteína con función *carrier*, demostraron la eficiencia de estas partículas liposomales para inducir en ratones una respuesta de anticuerpos anti-EGFhr (IgG), cuantitativa y cualitativamente superior, en comparación con el único adyuvante actualmente aceptado para uso en humanos, Al(OH)₃^{28,29}. Además, en los animales que recibieron DRV/EGFhr se observó una mayor sobrevida al ser retados con células del tumor ascítico de Ehrlich, en relación a los animales que recibieron Al(OH)₃/EGFhr, lo que sugiere la funcionalidad de la respuesta humoral inducida por estas partículas³⁰.

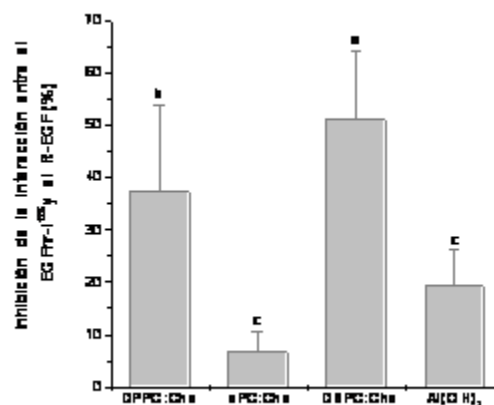


Figura 4. Inhibición de la interacción entre el EGFhr y su receptor por el suero de los animales inmunizados con EGFhr-P64k encapsulado en DRV o adsorbido en Al(OH)₃. La ordenada representa el porcentaje de inhibición de la interacción EGFhr/ R-EGF, derivado de los anticuerpos anti-EGFhr presentes en el suero de los animales inmunizados. Como fuente de receptores se utilizaron membranas de placenta humana. Ratones NMRI se inmunizaron a los 0 y 28 días por vía intramuscular, con 10 µg de EGFhr conjugado a P64k encapsulado en DRV o adsorbido en Al(OH)₃. Para el ensayo se extrajo el suero de los animales (n = 7) a los 90 días (dilución 1:5). Como control y para el cálculo del porcentaje de inhibición se utilizaron sueros de animales no inmunizados y un exceso de EGFhr no radiactivo (control de máximo bloqueo o inhibición de la interacción EGFhr¹²⁵/R-EGF). Letras desiguales indican diferencias significativas, según la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($p < 0.05$)^{10,30}.

En el estudio de la posible función de los lípidos liposomales como inmunomoduladores de la respuesta de anticuerpos anti-EGFhr, se demostró que los DRV constituidos por PC saturadas y Ch fueron más eficientes que los liposomas de PC insaturada y Ch, no sólo en términos de los títulos de anticuerpos, sino también en la capacidad de estos anticuerpos de inhibir la interacción del EGFhr con su receptor (Figura 4)^{10,30}. La importancia del

Ch, lípido de relativa abundancia en el reino animal, para la función inmunoadyuvante de los liposomas fue evidente al observar que la respuesta inmune humoral contra alérgenos del ácaro *Dermatophagoide siboney* resultaba favorecida hacia un patrón de respuesta de tipo no alérgico con preparaciones liposomales de DPPC conteniendo Ch³⁰. Las explicaciones mecanísticas de estos resultados experimentales son aún muy especulativas.

Un reto en el campo de la vacunología es el diseño de sistemas de liberación de antígenos a las APC que induzcan o potencien una respuesta inmune celular mediada por linfocitos T citotóxicos (CTL) específica a antígenos, con relevancia para la prevención y tratamiento de enfermedades inducidas por patógenos intracelulares y células tumorales. Para la inducción de una respuesta CTL se requiere que el antígeno sea procesado y presentado por las APC vía las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase I (MHC I). Esto, en buena medida, condiciona que el antígeno tenga acceso al citosol de las APC. Las vesículas liposomales, al ser endocitadas por las APC, pueden mediar la presentación de antígenos por MHC I, pero no siempre de manera eficiente. Con la intención de hacer más eficiente esta función se han diseñado liposomas sensibles al pH ácido endosomal³¹. Algunas toxinas formadoras de poro de origen bacteriano, encapsuladas en liposomas, han sido también usadas para el diseño de sistemas de liberación de antígenos al citosol celular con el propósito de potenciar la respuesta CTL³².

Nuestro grupo ha purificado y estudiado extensivamente dos isotoxinas proteicas producidas por la anémona marina *Stichodactyla helianthus*, Sticholysinas I y II (St I y St II), las cuales son proteínas que forman poros en las membranas y carecen del aminoácido *cisteína*³³⁻³⁶. Atendiendo a la homología funcional con las toxinas formadoras de poros de origen bacteriano, fue posible presuponer que ellas exhibieran la capacidad de modular la respuesta inmune mediada por CTL. *In vivo*, vesículas liposomales de DPPC y Ch, que co-encapsulaban St y ovoalbúmina (OVA) como antígeno modelo, fueron capaces de potenciar, aún más, la respuesta CTL específica al antígeno en ratones, en comparación con las preparaciones liposomales que sólo contenían el antígeno. St IW111C, una variante mutante de StI en la cual el aminoácido Trp¹¹¹ ha sido reemplazado por el aminoácido Cys, es capaz de formar un dímero reversiblemente inactivo, estabilizado por enlaces disulfuro. Esta Sticholysina mutada indujo también una potente respuesta inmune CTL contra OVA cuando se administró co-encapsulada con el antígeno. De hecho, la preparación Liposoma/St+OVA confirió protección, en un escenario preventivo, a ratones retados con células tumorales que expresan OVA (resultados no publicados). Estas propiedades inmunomoduladoras de Sts, encapsuladas en liposomas, probablemente se asocien con su estructura molecular particular y propiedades membranotrópicas.

Referencias

1. A. Bangham, "A correlation between surface charge and coagulant action of phospholipids. *Nature*, 23, 1197-1198 (1961)
2. A. Bangham, "Membrane models with phospholipids". *Prog Biophys Mol Biol*. 18, 29-95 (1968)
3. A. S. Ulrich, "Biophysical Aspects of Using Liposomes as Delivery Vehicles," *Bioscience Reports*, 22, 129-150 (2002)
4. D. D. Lasic, "Liposomes in Gene Delivery," (CRC Press, Boca Raton, 1997)
5. O. G. Mouritsen and K. Jorgensen, "A new look at lipid-membrane structure in relation to drug research," *Pharm. Res.* 15, 1507-1519 (1998)
6. I. M Hafez. and P. R. Cullis, "Roles of lipid polymorphism in intracellular delivery," *Adv. Drug Deliv. Rev.* 47,139-148 (2001)
7. R. New, "Liposomes—A Practical Approach," edited by B. D. H. D. Rickwood, Vol. 58 (IRL Press at Oxford University Press, 1994)
8. F. Frezard, "Liposomes: from biophysics to the design of peptide vaccines," *Braz. J. Med. Biol. Res.* 32,181-189. (1999)
9. C. Kirby and G. Gregoriadis, "Dehydration-rehydration vesicles: a simple method for high yield drug entrapment in liposomes," *Biotechnology* 2, 979-984 (1984)
10. M. E. Lanio, M. C. Luzardo, C. Alvarez, Y. Martínez, L. Calderón, M. E. Alonso, B. Zadi, G. Gregoriadis, D. Q. Craig, A. Disalvo, "Humoral immune response against epidermal growth factor encapsulated in dehydration rehydration vesicles of different phospholipid composition," *J Liposome Res.* 18, 1-19 (2008)
11. G. Gregoriadis, "Liposomes as immunoadjuvants and vaccine carriers: antigen entrapment". *Immunomethods* 4, 210-216 (1994)
12. M. Ollivon, S. Lesieur, C. Grabielle-Madelmont, M. Paternostre, "Vesicle reconstitution from lipid-detergent mixed micelles". *Biochim. Biophys. Acta.* 1508, 34-50 (2000)
13. E. C. A. Winden, N. J. Zuidam, D. J. A. Crommelin, "Strategies for large scale production and optimized stability of pharmaceutical liposomes developed for parenteral use". In: *Medical Applications of Liposomes*, edited by D. D. Lasic and D. Papahadjopoulos (Elsevier Science, 1998)
14. F. M. Goni. and A. Alonso, "Spectroscopic techniques in the study of membrane solubilization, reconstitution, and permeabilization by detergents". *Biochim. Biophys. Acta.* 1508, 51-68 (2000)
15. N. Smyth Templeton and D. D. Lasic, "New directions in liposome gene delivery", *Mol. Biotechnol.* 11, 175-80 (1999).
16. A. J. Jin, D. Huster, K. Gawrisch, R. Nossal, "Light scattering characterization of extruded lipid vesicles", *Eur. Biophys. J.* 28, 187-199 (1999)
17. H. W. Meyer and W. Richter, "Freeze-fracture studies on lipids and membranes", *Micron.* 32, 615-44 (2001)
18. H. W. Meyer, M. Westermann, M. Stumpf, W. Richter, A. S. Ulrich, C. Hoischen, "Minimal radius of curvature of lipid bilayers in the gel phase state correspond to the dimension of biomembrane structures "caveolae". *J. Struct. Biol.* 124, 77-87 (1998)
19. A. S. Ulrich, W. Tichelaar, G. Förster, O. Zschörnig, S. Weinkauff, H.W. Meyer, "Ultrastructural characterization of peptide-induce membrane fusion and peptide self-assembly in the lipid bilayer", *Biophys. J.* 77, 829-841 (1999)
20. H. Chung, T.W. Kim, M. Kwon, I.C. Kwon, S. Y.

- Jeong, "Oil components modulate physical characteristics and function of the natural oil emulsions as drug or gene delivery system". *J. Control Release* 71, 339-350 (2001)
21. M. N. Jones, "The surface properties of phospholipid liposome systems and their characterisation", *Adv. Colloid Interface Sci.* 54, 93-128 (1995)
 22. M. C. Luzardo, Y. Martínez, L. Calderón, C. Álvarez, M. E. Alonso, E. A. Disalvo, M. E. Lanio, "Características de la encapsulación de EGF, P64k y el conjugado de ambas proteínas en liposomas obtenidos mediante congelación-descongelación". *Biotechn. Apl.* 19, 147-152 (2002)
 23. M. C. Luzardo, F. Amalfá, A. M. Núñez, S. Díaz, A. C. Biondi de López, E. A. Disalvo, "Effect of Trehalose and Sucrose on the Hydration and Dipole Potential of Lipid Bilayers". *Biophys J.* 78, 2452-2458 (2000)
 24. S. P. Radko and A. Chrambach, "Capillary electrophoresis of subcellular-sized particles", *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 722, 1-10 (1999)
 25. B. Hutchins, "Characterization of plasmids and formulations for non-viral gene therapy". *Curr. Opin. Mol. Ther.* 2, 131-135 (2000)
 26. L. Leserman and N. Barois, "Major histocompatibility complex class II molecules, liposomes and antigen presentation". In: *Medical Applications of Liposomes*, edited by D. D. Lasic and D. Papahadjopoulos (Elsevier Sciences, 1998)
 27. L. Leserman "Liposomes as Protein Carriers in Immunology". *Journal of Liposome Research* 14, 175-189 (2004)
 28. Y. Martínez, M. C. Luzardo, L. Calderón, I. F. Pazos, C. Álvarez, M. E. Alonso, M. E. Lanio, "Liposomas: Efecto Potenciador sobre la Respuesta Inmune Anti-hrEGF". *Biotechn. Apl.* 20, 95-101 (2003)
 29. M. C. Luzardo, Y. Martínez, L. Calderón, M. E. Lanio, M. E. Alonso, "Anticuerpos IgG1, IgG2a e IgG2b y respuesta de hipersensibilidad retardada (HR) en ratones NMRI inmunizados con EGFhr conjugado o no a P64k y encapsulado en liposomas". *Revista Biología* 17, 143-148 (2003)
 30. M. C. Luzardo, L. Calderón, Y. Martínez, A. Labrada, E. Facenda, C. M. Álvarez, I. P. Pazos, J. de León, M. E. Alonso, M. E. Lanio, "Lípidos liposomales como inmoadyuvantes del factor de crecimiento epidérmico humano recombinante y de los alérgenos principales del ácaro *Dermatophagoides si-boney*". *Biotechn. Apl.* 23 (4), 330-336 (2006)
 31. M. Rao and C. R. Alving, "Class I presentation of liposomal antigens". In: *Medical Applications of Liposomes* edited by D. D. Lasic and D. Papahadjopoulos (Elsevier Sciences, 1998)
 32. G. Dietrich, J. Hess, I. Gentschev, B. Knapp, S. H. E. Kaufmann, W. Goebel, "From evil to good: a cytolysin in vaccine development". *Trends Microbiol.* 9 (1), 23-28 (2001)
 33. M. E. Lanio, V. Morera, C. Alvarez, M. Tejuca, T. Gomez, F. Pazos, V. Besada, D. Martinez, V. Huerta, G. Padron, M. A. Chavez, "Purification and characterization of two hemolysins from *S. helianthus*". *Toxicon* 39, 187-194 (2001)
 34. D. Martínez, A. M. Campos, F. Pazos, C. Álvarez, M. E. Lanio, F. Casallanovo, S. Schreier, R.K. Salinas, C. Vergara, E. Lissi, "Properties of St I and St II, two isotoxins isolated from *S. helianthus*: a comparison", *Toxicon* 39, 1547-1560 (2001)
 35. M. Tejuca, M. Dalla-Serra, M. Ferreras, M. E. Lanio, G. Menestrina, "The mechanism of membrane permeabilization by Sticholysin I, a cytolysin isolates from the venom of the sea anemone *Stichodactyla helianthus*", *Biochemistry* 35, 14947-14957 (1996)
 36. C. Alvarez Valcarcel, M. Dalla Serra, C. Potrich, I. Bernhart, M. Tejuca, D. Martinez, F. Pazos, M. E. Lanio, G. Menestrina, "Effects of Lipid Composition on Membrane Permeabilization by Sticholysin I and II, Two Cytolysins of the Sea Anemone *Stichodactyla helianthus*". *Biophys J.* 80, 2761-2774 (2001).

Obtención de nanodispositivos a partir del autoensamblaje de mono y multicapas sobre superficies de oro y plata

R. Cao

Facultad de Química, Universidad de La Habana, Cuba.; caov@fq.uh.cu

Recibido el 17/02/2009. Aprobado en versión final el 19/06/09

Sumario. Aquí presentamos una serie de nanodispositivos obtenidos a partir del auto-ensamblaje de mono- y multicapas sobre superficies de oro y plata. Las multicapas moleculares se formaron usando el método capa-a-capas. Las mono- y multicapas sirvieron para modificar electrodos y nanopartículas de oro y plata. Se utilizaron ciclodextrinas pertioladas y alcanotioles, así como compuestos de coordinación. Los nanodispositivos así obtenidos fueron utilizados como sensores y sistemas de reconocimiento molecular de biomoléculas. Los resultados presentados aquí permiten concluir que los procedimientos utilizados para formar mono- y multicapas auto-ensambladas son relativamente sencillos y permiten obtener una amplia variedad de nanodispositivos con diferentes propiedades.

Abstract. Here we present a series of nanodevices based on these self-assembly of mono- and multilayers on gold and silver surfaces. The molecular multilayers were obtained using the layer-by-layer method. The formed mono- and multilayers served to modify electrodes and nanoparticles. Perthiolated cyclodextrins and alkanethiols, and also coordination compounds were used. The obtained nanodevices were employed as sensors and molecular recognition systems of biomolecules. The results presented here permit to conclude that the procedures used to form self-assembled mono- and multilayers are of relative simplicity and permit to obtain a wide variety of nanodevices with different properties.

Palabras clave. Nanofabrication, 81.16.Be, Monolayers, 68.18.-g, 68.47.Pe, Multilayers 68.65.Ac

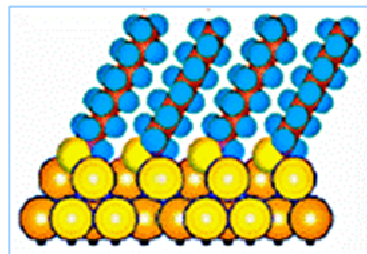
1 Introducción

La Química Supramolecular constituye uno de los pilares más importante de las Nanociencias y, por ende, de la Nanotecnología. Como este nuevo campo de la Química se basa en la interacción entre dos o más moléculas sin formar enlace químico (covalente) es posible construir conglomerados de dimensiones nanométricas de varias moléculas que se asocian entre sí de una forma dinámica, mediante equilibrios. Esta naturaleza dinámica es muy necesaria en Nanotecnología¹.

Si se analiza la literatura a partir de mediados de los años noventa se verá que varios de los principales científicos que inicialmente trabajaron en el campo de la Química

Supramolecular ahora son líderes en las Nanociencias, desarrollando novedosos dispositivos nanométricos.

Figura 1. Representación esquemática alcanotioles autoensamblados sobre superficie de oro. ►



El Prof. Jean-Marie Lehn, Premio Nóbel de Química, definió la Química Supramolecular como *la química de los enlaces intermoleculares, que estudia las estructuras*

y funciones de entidades formadas por dos o más especies químicas².

El reconocimiento molecular es un concepto de la Química Supramolecular que corresponde a la capacidad que tienen las moléculas de reconocerse mutuamente y viene definido por la energía e información involucrada en el enlace (no covalente) y la selección del sustrato por una molécula receptora determinada. La interacción sustrato-receptor debe basarse en la afinidad entre ambos en cuanto a forma, tamaño, conformación, polaridad, polarizabilidad, fuerzas de van der Waals, etc. Esta afinidad sustrato-receptor expresa una información física y/o química a transmitirse entre ambas moléculas y que se revierte en el compuesto supramolecular formado.

Otro concepto muy importante es el auto-ensamblaje. El auto-ensamblaje (en inglés: self-assembly) es el concepto que expresa que un grupo de moléculas que son complementarias, se reconocen molecularmente en un proceso repetitivo. Así, el auto-ensamblaje implica la asociación supramolecular entre varias especies para formar un agregado de mayor tamaño y, generalmente, con una arquitectura más compleja.

El auto-ensamblaje ha sido ampliamente utilizado en la modificación de superficies de electrodos y superficies sólidas planas, así como en la estabilización de nanopartículas. Estas superficies, cuando son metales nobles, como el oro y la plata, se pueden recubrir químicamente con otras sustancias, fundamentalmente derivados sulfurados, tioles, ditiocarbamatos, etc. Como se trata de un fenómeno superficial es posible la formación de una sola monocapa auto-ensamblada, que en inglés se denomina Self-Assembled Monolayer y se representa por las siglas SAM³. La monocapa formada tiene una altura no mayor de varios nanómetros por lo que se considera bidimensional solamente.

En la figura 1 se representa esquemáticamente una SAM de alcanotioles sobre una superficie de oro con una inclinación de unos 30° respecto a la normal a la superficie.

Si bien las monocapas más estudiadas sobre metales nobles están constituidas por alcanotioles también se han estudiado otros compuestos orgánicos que contienen azufre, como ditiocarbamatos, ditiocarboxilatos, xantatos, etc.

Se puede realizar el auto-ensamblaje de multicapas, o sea, de una monocapa sobre otra. Este proceso se realiza capa-a-capas (layer-by-layer), con el que se ha llegado a formar hasta 10 monocapas una sobre otra⁴. La formación de multicapas sobre una superficie permite alcanzar las más variadas arquitecturas moleculares, con la presencia de más de un centro de reconocimiento molecular.

En el presente trabajo haremos una breve revisión del trabajo desarrollado en el Laboratorio de Bioinorgánica (LBI) de la Facultad de Química, Universidad de La Habana sobre la obtención de nanodispositivos a partir del auto-ensamblaje de mono- y multicapas sobre superficies de oro y plata.

2 Nanodispositivos supramoleculares como antecedente

El trabajo del LBI en el campo de las nanociencias comenzó realmente por la obtención de nanodispositivos de naturaleza supramolecular usando diferentes ciclodextrinas (α , β y γ), así como diferentes derivados de las mismas.

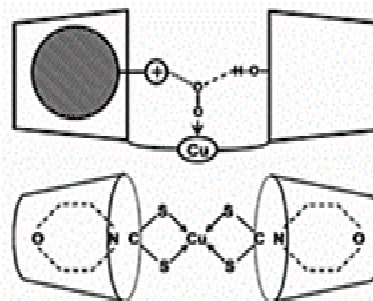


Figura 2. Dos tipos de miméticos de la SOD. El representado en la parte superior corresponde a dos mono-ditiocarbamatos de CD enlazados a Cu(II) y una de esas dos unidades de CD con una sal de amonio incluida en la cavidad. En la parte inferior esta representado un bis(ditiocarbamato)cobre(II) incluido en dos unidades de CD.

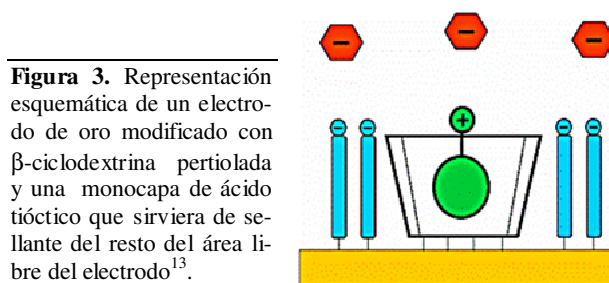


Figura 3. Representación esquemática de un electrodo de oro modificado con β -ciclodextrina pertiolada y una monocapa de ácido tiótico que sirviera de sellante del resto del área libre del electrodo¹³.

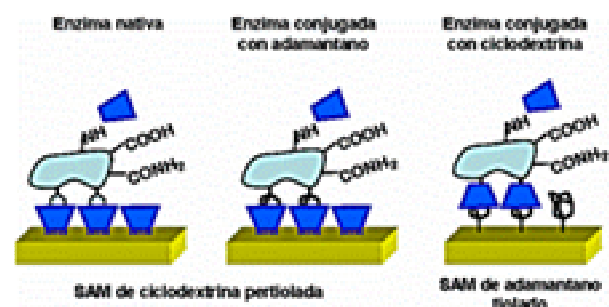


Figura 4. Los tres tipos de biosensores desarrollados basados en la inmovilización supramolecular de enzimas⁵.

Aunque no es el tema central de esta revisión es conveniente hacer una breve exposición sobre la misma. Esta temática se centró fundamentalmente en la obtención de asociaciones supramoleculares que contenían ciclodextrinas (CD) y compuestos metálicos del tipo de los bis(ditiocarbamato)cobre(II) de unos 2-3 nm de largo. Las ciclodextrinas son compuestos cíclicos tridimensionales constituidas por unidades de glucopiranosas unidas entre sí por los átomos de carbono 1 y 4. Las CD comerciales contienen 6 (α), 7 (β) y 8 (γ) de esas unidades.

des de azúcares⁵. Lo singular de este tipo de compuesto químico es que presenta una cavidad central altamente hidrofóbica mientras que en su exterior es muy hidrofílica. Ello posibilita que cualquier compuesto hidrofóbico de dimensión adecuada pueda incluirse en esa cavidad de la CD adoptando propiedades hidrofílicas.

El objetivo del estudio consistía en obtener asociaciones supramoleculares que se comportaran como miméticos de la Cu,Zn- superóxido dismutasa (SOD), enzima que juega una función vital en el control de los procesos biológicos oxidativos. Los principales resultados están representados esquemáticamente en la figura 2⁶⁻¹⁰.

3 Nanodispositivos basados en SAM de derivados de ciclodextrinas

Hace más de diez años en el Laboratorio de Bioinorgánica de la Universidad de La Habana (LBI) se comenzó a trabajar en la formación de mono- y multicapas auto-ensambladas. Inicialmente, el estudio se centró en la formación de SAM sobre electrodos de oro y plata con ciclodextrinas sustituidas químicamente en uno de los dos extremos con grupos tioles o ditiocarbamatos.

Este tipo de electrodo modificado con CD sirvió para diferenciar isómeros posicionales de derivados del nitro-benceno^{11,12}. Para que la cavidad de la CD fuera el único centro de reconocimiento, una vez auto-ensamblada la monocapa de CD el resto del área del electrodo se selló químicamente con una monocapa de ditiocarbamato. Este mismo tipo de electrodo, pero sellado con ácido tióctico fue usado para identificar electroquímicamente dopamina, un importante neurotransmisor. El problema en este tipo de determinación consiste en que la dopamina siempre se encuentra en presencia del ácido ascórbico y ambas sustancias son muy semejantes electroquímicamente (ver figura 3). La cavidad de la β -ciclodextrina (β -CD) solamente reconoce molecularmente a la dopamina. Para aumentar la selectividad la presencia de los grupos carboxilatos deberían repeler los ascorbatos. Así mismo fue como funcionó el electrodo modificado con una total selectividad por la dopamina¹³.

Los electrodos modificados con derivados tiolados de CD sirvieron para inmovilizar enzimas, tanto naturales como modificadas químicamente, para construir diferentes tipos de biosensores. Otro procedimiento utilizado fue el de modificar el electrodo con un derivado tiolado de adamantano, un compuesto bicíclico que se incluye con alta estabilidad en la cavidad de la β -CD. Ambos enfoques se representan en la figura 4. Este trabajo sirvió para desarrollar una amplia variedad de biosensores colaborando con el Centro de Tecnología Enzimática de la Universidad de Matanzas que dirige el Dr. Reynaldo Villalonga^{5,13-18}.

Este procedimiento supramolecular para inmovilizar enzimas resultó totalmente novedoso y ventajoso. Como la enzima se asocia supramolecularmente por varios puntos de su superficie la inmovilización favorece la retención de la conformación, afectándose muy poco la acti-

vidad catalítica⁵.

Un procedimiento análogo se utilizó para inmovilizar enzimas sobre nanopartículas de oro recubiertas con β -CD pertioladas. Los principales resultados se representan esquemáticamente en la figura 5¹⁹⁻²².

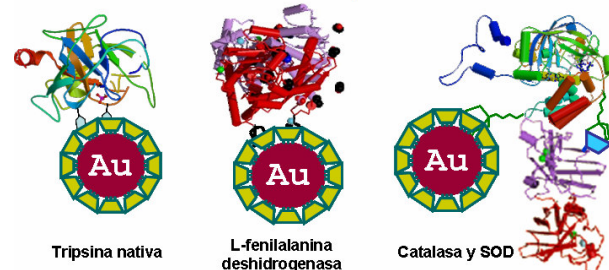


Figura 5. Tres tipos de nanopartículas de oro recubiertas con β -CD pertioladas con enzimas asociadas supramolecularmente¹⁹⁻²².

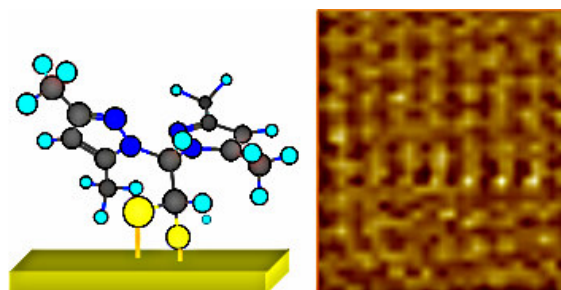


Figura 6. Esquema (izq) de SAM de bis(3,5-dimetilpirazolo-1-il)ditiacetato sobre Au(111) e imagen AFM (der) 1 x 1 nm²⁴.

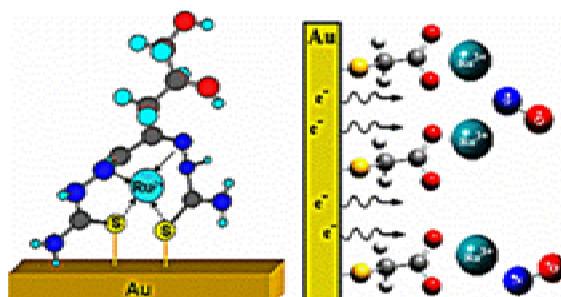


Figura 7. SAM de bis(tiosemicarbazona)rutenio(II) (izq)²⁵ y de mercaptoacetato con Ru(III) coordinado²⁶ como sensores de NO.

De los tres sistemas representados en la figura 5 el más interesante es el de la derecha que contiene inmovilizadas, tanto la catalasa (la superior, en verde) como la Cu,Zn-superóxido dismutasa (inferior en morado y rojo), ambas con importantes funciones antioxidantes, lo que permite clasificar este sistema como un nanodispositivo inteligente o nanorobot, potencialmente a ser usado en el tratamiento del estrés oxidativo.

4 Nanodispositivos basados en la construcción de compuestos metálicos so-

bre superficies metálicas

Cuando se construyen compuestos de coordinación sobre superficies metálicas se obtienen nanodispositivos que pueden utilizarse tanto para el reconocimiento molecular como para coordinar otra especie química. Este proceso constructivo se puede hacer mediante el auto-ensamblaje del compuesto como un todo para formar una monocapa. También se puede construir por paso, mediante el sistema capa-a-capita (layer-by-layer, LbL)²³.

Ambos procedimientos han sido utilizados por nosotros para la construcción de sensores de óxido nítrico, así como para el reconocimiento molecular de diferentes especies de interés biológico.

El óxido nítrico, NO, es una molécula radicalica pequeña que juega funciones biológicas muy importantes, fundamentalmente la de vasodilatador. Los pocos sensores comerciales existentes son extraordinariamente caros y poco duraderos. Ello motivó el desarrollo de este tipo de trabajo.

Se trabajó fundamentalmente en compuestos de coordinación de rutenio, un metal que forma nitrosilos estables. El primer sensor desarrollado se basó en modificar capa-a-capita electrodos de oro y plata con un compuesto de rutenio (III) con bis(3,5-dimetilpirazol-1-il)ditioacetato (bdmpzda) mediante el auto-ensamblaje inicial sobre Au(111) del ligando a través de los átomos de azufre del grupo ditioacetato, tal y como se representa esquemáticamente en la figura 6²⁴. En la figura 6 igualmente se presenta la imagen AFM de esa monocapa con una resolución de 1 x 1 nm. Los puntos más claros corresponden a los átomos del heterociclo orientado verticalmente respecto a la superficie de oro, mientras que los otros menos brillantes son del heterociclo paralelo a la superficie.

Mediante procedimientos semejantes al descrito arriba se construyeron los sensores representados esquemáticamente en la figura 7^{25,26}. También realizamos el auto-ensamblaje de una porfirina de rutenio(II) en posición vertical a la superficie²⁷.

Más recientemente realizamos el estudio de la construcción de un bis(ditiocarbamato)cobre(II) mediante el sistema LbL con la formación de cuatro capas consecutivas²⁸. Las cuatro monocapas están indicadas en la figura 8. Este sistema fue caracterizado electroquímicamente y mediante las espectroscopias XPS y ToF-SIMS. Las dos primeras monocapas también fueron caracterizadas por AFM. Precisamente la imagen AFM de la primera monocapa auto-ensamblada aparece en la parte inferior derecha de la figura 8 donde se observa un alto grado de organización.

La construcción de compuestos de coordinación sobre superficies metálicas también la hemos realizado sobre nanopartículas de oro. El único resultado publicado hasta el presente corresponde el auto-ensamblaje de ferroceno en dos capas (LbL)²⁹. Lo interesante de este tipo de nanopartícula de oro es que manifestó un fuerte efecto de auto-agregación, tal y como se representa esquemática-

mente en la figura 9.

En la parte derecha superior están las imágenes AFM de micropartículas depositadas sobre láminas de mica a partir de solución saturada en acetona, así como nanopartículas depositadas de esa misma solución pero diluida 1:10 (imagen intermedia) y diluida 1:100 (inferior derecha).

Figura 8. SAM de bis(ditiocarbamato)cobre(II) mediante el sistema LbL con la formación de cuatro capas consecutivas indicadas con líneas discontinuas. En la parte inferior derecha está la imagen AFM de la primera monocapa formada²⁸.

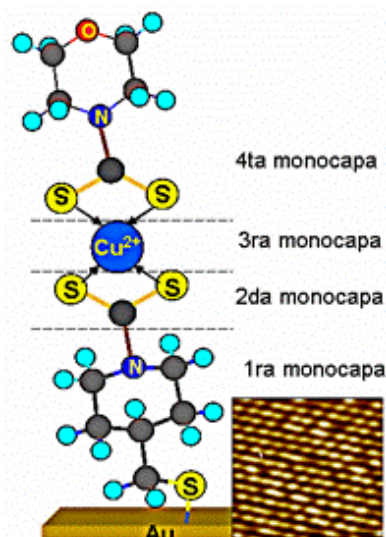
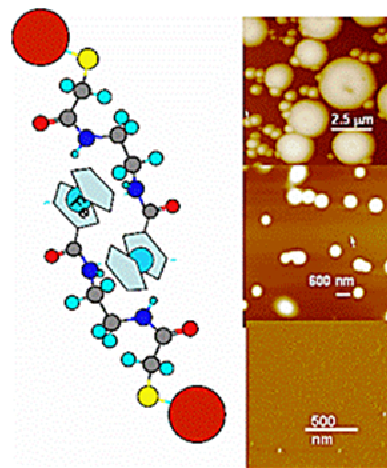


Figura 9. Nanopartículas de oro con grupos ferroceno terminales que manifestaron auto-agregación. La imagen AFM superior derecha corresponde a micropartículas depositadas sobre láminas de mica a partir de solución saturada en acetona (superior), así como nanopartículas depositadas de esa misma solución pero diluida 1:10 (intermedia) y diluida 1:100 (inferior).



En esta última imagen que se pueden observar una pocas nanopartículas de 28 nm de diámetro. Para poder observar esas nanopartículas fue necesario utilizar el modo discontinuo (tapping mode) ya que la punta (tip) estaba literalmente “barriendo” las nanopartículas durante el escaneo. Es por ello que en la parte superior de esta tercera imagen se puede ver unas huellas oscuras dejadas por las nanopartículas en su posición inicial.

5 Conclusiones

A partir de los ejemplos presentados aquí de trabajos propios es posible afirmar que la formación de mono y multicapas auto-ensambladas sobre superficies metálicas

permite obtener una amplia variedad de nanodispositivos mediante procedimientos relativamente simples. Este tipo de sistema puede ser usado hasta en la construcción de *narices artificiales*, o sea, sensores de gases de alta sensibilidad como uno desarrollado recientemente en colaboración con el Instituto Weizmann (Israel) a partir del auto-ensamblaje de fosfonatos sobre GaAs³⁰.

Otra conclusión importante, que resulta muy conveniente enfatizar en este tipo de revisión, es que en Cuba se puede trabajar en nanociencias con un mínimo de recursos pero con muchos deseos y dedicación. Este criterio, que pudiera resultar poco creíble, se basa en el hecho de que el grueso de los resultados expuestos aquí fue realizado en el Laboratorio de Bioinorgánica de la Universidad de La Habana que en este siglo no ha recibido prácticamente recurso alguno.

Agradecimientos

El trabajo presentado aquí requirió del concurso entusiasta y de alta dedicación de mis colaboradores, incluyendo estudiantes desde el mismo primer año. Ante todo debo destacar al Dr. Reynaldo Villalonga (UMCC), quien me ha permitido colaborar fructíferamente con él. Por derecho sobrado aparecen en esta lista los cubanos: Dra. Alicia M. Díaz García, Dr. Alex Fragoso, Dr. Eduardo Almirall, M. C. Roberto Cao Milán, Lic. Iliana Sánchez, Lic. Rudy Martín, Darío González Abradelo, etc. No puedo dejar de agradecer a excelentes colaboradores y amigos extranjeros como Luis Echegoyen (EEUU), Antonio Otero (España), Raymundo Cea (México), Valerian T. D'Souza (EEUU), etc.

Referencias

1. E. V. Anslyn, D. A. Dougherty. "Modern Physical Organic Chemistry" (University Science Books, 2006).
2. J.-M. Lehn, "Supramolecular Chemistry" (VCH-Verlag, 1995).
3. J. C. Love, L. A. Estroff, J. K. Kriebel, R. G. Nuzzo, G. M. Whitesides, "Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology," *Chem. Rev.* 105, 1103-1169 (2005).
4. I. Doron-Mor, H. Cohen, S. R. Cohen, R. Popovitz-Biro, A. Shanzer, A. Vaskevich, I. Rubinstein, "Layer-by-layer assembly of ordinary and composite coordination multilayers," *Langmuir* 20, 10727-10733 (2004).
5. R. Villalonga, R. Cao, A. Fragoso, "Supramolecular chemistry of cyclodextrins in enzyme technology," *Chem. Rev.* 107, 3088-3116 (2007).
6. A. Fragoso, R. Cao, R. Villalonga, "Superoxide dismutase mimetic activity of the metal(II) complexes of a dithiocarbamate derivative of β -cyclodextrin," *J. Carbohydr. Chem.* 14, 1379-1386 (1995).
7. A. Fragoso, R. Cao, R., V. T. D'Souza, "Influence of positively-charged guests on the superoxide dismutase mimetic activity of copper(II) β -cyclodextrin dithiocarbamates," *J. Carbohydr. Chem.* 16, 171-180 (1997).
8. A. Fragoso, R. Cao, A. Díaz, I. Sánchez, L. Sánchez, "Influence of electrostatic interactions and hydrogen bonding in the activity of cyclodextrin-based superoxide dismutase models," *Supramol. Chem.* 13, 619-625 (2001).
9. R. Cao, A. Fragoso, E. Almirall, R. Villalonga: "Supramolecular chemistry of cyclodextrins in Cuba," *Supramol. Chem.* 15, 161 - 170 (2003).
10. R. Martín, A. Fragoso, R. Cao, "Complexation of bis(morpholyldithiocarbamate)-copper(II), a superoxide scavenger, in β -cyclodextrins," *Supramol. Chem.* 15, 171-175 (2003).
11. E. Almirall, A. Fragoso, R. Cao, "Molecular recognition of a self-assembled monolayer of a polydithiocarbamate derivative of β -cyclodextrin on silver," *Electrochem. Commun.* 1, 10-13 (1999).
12. E. Almirall, A. Fragoso, R. Cao, R. Gonzalez-Jonte, "Molecular recognition of aromatic nitrocompounds at cyclodextrin dithiocarbamate modified electrodes," *Supramol. Chem.* 15, 417-423 (2003).
13. A. Fragoso, E. Almirall, R. Cao, L. Echegoyen. "A supramolecular approach to the detection of dopamine in the presence of ascorbate" *Chem. Commun.* 2230-2231 (2004).
14. A. Fragoso, J. Caballero, E. Almirall, R. Villalonga, R. Cao, "Immobilization of adamantane-modified cytochrome c at electrode surface through supramolecular interactions," *Langmuir* 18, 5051-5054 (2002).
15. R. Cao, R. Villalonga, A. Fragoso, "Towards nanomedicine with a supramolecular approach: a review," *IEE Proc.-Nanobiotechnol.* 152, 159-164 (2005).
16. R. Villalonga, M. Matos, R. Cao. "Construction of an amperometric biosensor for xanthine via supramolecular associations" *Electrochem. Commun.* 9, 454-458 (2007).
17. C. Camacho, J. C. Matias, B. Chico, R. Cao, L. Gómez, B. K. Simpson, R. Villalonga, "Amperometric biosensor, for hydrogen peroxide, using supramolecularly immobilized horseradish peroxidase on the β -cyclodextrin-coated gold electrode," *Electroanal.* 19, 2538-2542 (2007).
18. C. Camacho, J. M. Matías, R. Cao, M. Matos, B. Chico, J. Hernández, M. A. Longo, M. A. Sanromán, R. Villalonga. "Hydrogen peroxide biosensor with a supramolecular layer-by-layer design," *Langmuir*, 24, 7654-7657 (2008).
19. R. Villalonga, R. Cao, A. Fragoso, P. D. Ortiz, A. E. Damiao, M. L. Villalonga, "Supramolecular-mediated immobilization of trypsin on cyclodextrin-modified gold nanospheres," *Supramol. Chem.* 17, 387-391 (2005).
20. R. Villalonga, R. Cao, A. Fragoso, A. E. Damiao, P. D. Ortiz, J. Caballero, "Supramolecular assembly of β -cyclodextrin-modified gold nanoparticles and Cu,Zn-superoxide dismutase on catalase," *J. Mol. Cat. B: Enzymatic* 35, 79-85 (2005).
21. R. Villalonga, S. Tachibana, R. Cao, P. D. Ortiz, L. Gomez, Y. Asano, "Supramolecular-mediated immobilization of L-phenylalanine dehydrogenase on β -cyclodextrin-modified gold nanospheres," *J. Exp. Nanosci.* 1, 249-260 (2006).
22. R. Cao, R. Villalonga. "Nanoparticles and Enzymes", in *Nanomaterials: new research developments*, edited by E. I. Pertsov (Nova Sci. Publ. Inc. 2008).
23. R. Cao, Jr., A. M. Díaz, R. Cao, "Coordination compounds built on metal surfaces," *Coord. Chem. Rev.* 253, 1262-1275 (2009).
24. A. Díaz, S. Gutiérrez, M. Ortiz, I. Sánchez, R. Cao, A. Otero, "A ruthenium(II) complex with bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)dithioacetate built layer-by-layer on silver and gold surfaces," *Inorg. Chem. Commun.* 10, 1482-1484 (2007).
25. T. Ngarivhume, A. Díaz, R. Cao, M. Ortiz, I. Sánchez, "Association capacity of ribose bis (thiosemicarbazonato)copper(II) with nitric oxide," *Syn. React. Inorg. Met.-*

Org. Nanomet. Chem. 35, 795-800 (2005).

26. D. González Abradelo, A. M. Díaz, R. Cao, "Electrochemical effects of coordination to Ru(III) anchored on a gold electrode via a self-assembled mercaptoacetate," Inorg. Chem. Commun. 11, 300-302 (2008).

27. R. Martín, R. Cao, A. Esteva, F-P. Montforts, "Interaction of nitric oxide with Ru(II) complexes of deuteroporphyrindimethylester derivatives, J. Porphyr Phthalocya. 13, 35-40 (2009).

28. R. Cao, Jr., A. Díaz, R. Cao, A. Otero, R. Cea, M. C.

Rodríguez-Argüelles, C. Serra, "Building layer-by-layer a bis(dithiocarbamate)copper(II) complex on Au{111} surfaces," J. Am. Chem. Soc. 129, 6927-6930 (2007).

29. D. G. Abradelo, R. Cao, R. Cea, "Self-aggregation of bilayer ferrocenyl termini gold nanoparticles," Inorg. Chem. Commun. 10, 511-513 (2007).

30. E. Capua, R. Cao, C. A. A. Eraso, R. Naaman, "Detection of triacetone triperoxide (TATP) by an electron nose based on non-specific interactions, Sensor Actuat. B-Chem. 140, 122-127 (2009).

Crecimiento controlado a capas atómicas

O. de Melo, E. M. Larramendi

Facultad de Física- IMRE, Universidad de La Habana, Cuba; omelo@fisica.cu

Recibido el 7/04/2009. Aprobado en versión final el 18/06/09.

Sumario. Se resumen las características principales del régimen de crecimiento a capas atómicas. Para alcanzar este régimen, se deben aplicar los reactantes de forma seriada y en condiciones en las que ocurra una saturación de la reacción superficial entre cada reactante y la superficie de crecimiento. En cada reacción la cantidad de material depositado depende de la naturaleza de las reconstrucciones superficiales en el rango de temperatura de interés. Por lo que el espesor del material depositado depende del número de ciclos realizados sin necesidad de tener un control preciso de los flujos de los reactantes ni de los tiempos de exposición. Esto hace esta técnica particularmente interesante en nanotecnología donde el control de la cantidad de material depositado y de las dimensiones es determinante. Además, en este trabajo se presenta una variante del crecimiento controlado a capas atómicas, desarrollada originalmente en los laboratorios de la Facultad de Física y el Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales de la Universidad de La Habana, denominada sublimación isotérmica a corta distancia. Se presentan los aspectos básicos de la misma y se muestran algunas aplicaciones para el crecimiento de capas muy finas y otros tipos de nanoestructuras.

Abstract. The main features of atomic layer epitaxy regime are outlined. In this growth regime the reactants should be supplied periodically under growth conditions that assist the occurrence of a terminated-reaction between each reactant and the growing surface. In each independent reaction or exposure of a reactant the amount of material incorporated on the surface depends on the atomic reconstructions characteristic on the temperature range. So, in this way the layer thickness is determined by the amount of reaction cycles and it is not necessary a good control of the reactant fluxes and exposure times. This makes this technique particularly interesting in nanotechnology where the control of the amount of deposited material and dimensions are crucial. Moreover, in this paper a variant of the atomic layer controlled growth originally designed in the laboratories of the Physics Faculty and the Institute of Science and Technology of Materials of the University of Havana is presented. This technique has been designated as isothermal closed space sublimation. Some characteristics and applications are shown and discussed.

Palabras clave. Coatings deposition methods 81.15.-z, structure of nanocrystals 61.46.Hk, structure of thin films 68.55.-a, fabrication of semiconductors II-VI 81.05.Dz

1 Introducción: principios básicos

Un problema esencial en la preparación de materiales de dimensiones nanométricas es el control de la razón de crecimiento. Es deseable que esta sea lo suficientemente lenta y con la facilidad de que su valor pueda ser bruscamente cambiado con poca inercia y mucha precisión. Dado que para sintetizar cualquier material es necesario suplir los elementos químicos necesarios para su forma-

ción, el modo más natural para imponer una determinada velocidad de crecimiento es lógicamente el control de los flujos y tiempos de exposición a los reactantes. Sin embargo, cuando se desea una razón de crecimiento muy lenta que permita la interrupción del crecimiento con una precisión del nanómetro, este procedimiento suele ser muy costoso, e incluso en ocasiones puede resultar inútil.

Existe una manera diferente de controlar con gran precisión la velocidad de crecimiento y esta consiste en

aprovechar la existencia de ciertas reacciones que son “auto-terminadas”, en estas ocurre la saturación de la reacción en cierto intervalo o “ventana” de temperaturas. Para simplificar, analicemos el ejemplo del crecimiento de una capa de un compuesto binario dado, AB, a partir de fuentes gaseosas. De la manera tradicional, para obtener la capa debemos suministrar los elementos A y B sobre una superficie adecuada simultáneamente: el espesor obtenido dependerá del valor de los flujos y del tiempo durante el cual la superficie ha sido expuesta. Sin embargo, la reacción superficial también puede ocurrir exponiendo la superficie a los elementos A y B en una forma alternada o seriada. Durante la exposición a uno de los elementos, digamos al elemento A, puede suceder: i) que la temperatura sea tan alta que todos los átomos incidiendo sobre la superficie sean re- evaporados; ii) que la temperatura sea tan baja que durante la exposición a A se forme una capa relativamente gruesa de ese elemento; y iii) que la temperatura esté en un rango tal que sólo sea estable un recubrimiento o reconstrucción atómica de este elemento; e.g. la primera capa atómica (monocapa) que presenta un enlace más fuerte y que los átomos incidentes después de esta monocapa se re- evaporen. A lo que ocurre en este último caso es a lo que se le llama reacción auto- terminada. Esta sucede debido al simple hecho de que comúnmente los enlaces A-B en el compuesto son mucho más fuertes que los enlaces A-A o B- B. Este proceso es mostrado en la Figura 1 donde los átomos A son representados por círculos blancos y los B por círculos negros.

Esta es una variante sencilla de un método de obtención de materiales que ha tenido diversos nombres pero que consiste esencialmente en la exposición alternada de precursores sobre la superficie de crecimiento. Una variante un poco más compleja es el uso de moléculas que contengan a los elementos de interés (compuestos precursores del crecimiento). En este caso debe lograrse que los componentes de los precursores que no sean de interés se disocien y sean evaporados. Un ejemplo de este caso es el crecimiento de ZnS a partir de la exposición alternada de la superficie de crecimiento a moléculas de ZnCl₂ (precursor del Zn) y H₂S (precursor del S). En la Figura 2 se presenta un esquema ilustrativo del proceso de crecimiento del ZnS usando esta variante.¹

Esta manera de preparar los materiales tiene la ventaja de que el espesor de la capa puede ser determinado por el número de ciclos, evitándose así la necesidad de un control preciso de los flujos y los tiempos. En la Tabla I se presentan las denominaciones de las variantes más frecuentes de esta técnica. El nombre de Epitaxia a Capas Atómicas fue introducido por T. Suntola² en 1977 con el crecimiento de ZnS, GaP and SnO₂ utilizando Zn, S, Ga, P y plasma de oxígeno como reactantes. Sin embargo, existen referencias anteriores de un grupo de Leningrado³ que tan temprano como en 1967 reportaron el crecimiento de algunos óxidos usando cloruros y vapor de agua como precursores. Ellos denominaron la técnica como (escrita como se escucha y usando el alfabeto latino) “Moleculiarnaie Naslaibanie” nombre que fue tradu-

cido luego al inglés como “molecular layering”. Tal vez en español pudiera llamarse “revestimiento molecular” o algo así. Pudiera tal vez decirse que Suntola fue el precursor de lo que hoy se continúa llamando Epitaxia a Capas Atómicas mientras que la técnica del grupo de Leningrado ha derivado en lo que hoy se conoce como Deposición a Capas Atómicas. En la segunda parte de este trabajo nos referiremos a estas técnicas que son probablemente las más usuales. En la tercera parte del trabajo se presentará una variante del crecimiento controlado por capas atómicas desarrollada originalmente en los laboratorios de la Facultad de Física y el Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales de la Universidad de La Habana y denominada sublimación isotérmica a corta distancia- Epitaxia a Capas Atómicas (SICD- ECA).

Figura 1. Proceso de crecimiento de una capa de un compuesto AB por exposición alternada de la superficie a los elementos. En a) la superficie es expuesta a los átomos del elemento A; en b) después de formarse una monocapa, el resto de los átomos A es re- evaporado; en c) la superficie es expuesta a los átomos B; en d) la superficie se ha cubierto con una monocapa de B y el resto de los átomos B incidentes se re- evapora.

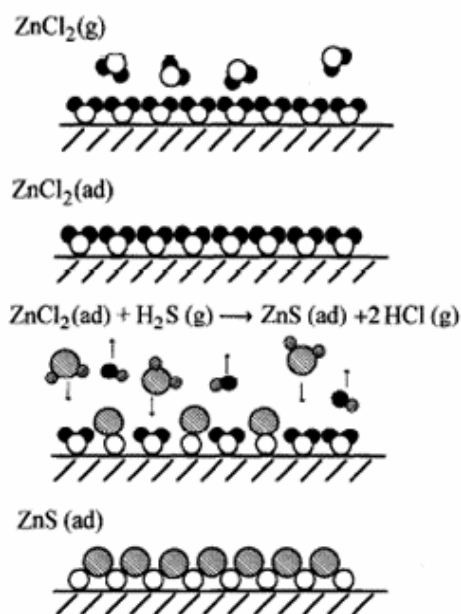
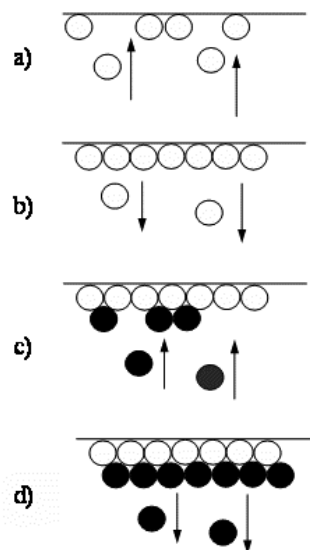


Figura 2. Crecimiento de ZnS usando exposición alternada de ZnCl₂ y H₂S. Como subproducto de esta reacción se obtiene HCl (g).

2 Diferentes procedimientos

Para obtener la condición de deposición controlada a capas atómicas se pueden usar dos tipos de regímenes. El primero es el régimen de flujo molecular que se obtiene en sistemas con ultra- alto vacío ($P \sim 10^{-9}$ - 10^{-11} Torr). Cuando se usan fuentes sólidas para producir los flujos de los elementos, la técnica suele llamarse epitaxia de haces moleculares (EHM) mientras en el caso en que se usen compuestos metalorgánicos como precursores de los metales y fuentes sólidas para los no metales, entonces toma el nombre de epitaxia de haces moleculares con compuestos metalorgánicos (EHMMO). Si también los no metales son obtenidos de fuentes gaseosas, se suele denominar epitaxia de haz químico (EHQ). El segundo tipo de régimen es el de flujo viscoso en el que existe un llamado gas portador a una presión de algunas decenas de Torr. Esta técnica toma el nombre de deposición química de fase vapor (DQV) y puede también usar metalorgánicos como precursores de los elementos metálicos; en tal caso se le da el nombre de deposición química de fase vapor con metalorgánicos (DQVMO). Generalmente la llamada epitaxia a capas atómicas está relacionada con los regímenes del primer tipo mientras que la deposición a capas atómicas con los del segundo. En lo adelante trataremos brevemente de algunas características de las diferentes técnicas; pero el lector interesado en una mayor profundidad en el tema puede consultar algunos trabajos de revisión muy completos y relativamente recientes.^{4,5}

Deposición a capas atómicas (DCA). Esta variante de crecimiento se ha usado fundamentalmente para obtener óxidos, pero también se han obtenido sulfuros, seleniuros y nitruros. Los precursores para el componente no metálico han sido respectivamente H_2O , H_2S , H_2Se y NH_3 . Como precursores para el componente metálico se han empleado una gran variedad de compuestos tanto inorgánicos como metalorgánicos. Entre los inorgánicos se encuentran los elementos puros y los haluros (particularmente los cloruros) y entre los metalorgánicos se incluye una larguísima lista de diferentes tipos de compuestos.

Una característica importante de esta técnica es que en ella se obtiene generalmente una razón de crecimiento inferior a la monocapa por ciclo. Por este motivo es difícil crecer capas más allá de un cierto grosor. Sin embargo, gracias a esa característica y al hecho de que el movimiento de las moléculas gaseosas es aleatorio y no dirigido (como ocurren en el caso de los haces moleculares), esta técnica es muy apropiada para obtener crecimiento conforme de superficies con radio de aspecto muy grande (dentro de poros).

Epitaxia a capas atómicas (ECA). Esta variante requiere de una máquina de epitaxia de haces moleculares. Esta es un equipo muy costoso pero que permite obtener capas delgadas de una altísima pureza y que debido al hecho de mantener un vacío ultra alto, admite realizar mediciones in- situ, de las cuales la más frecuentemente

instalada es la difracción de electrones rasantes de alta energía. Un esquema de la cámara de crecimiento de una máquina de este tipo es mostrado en la figura 3.

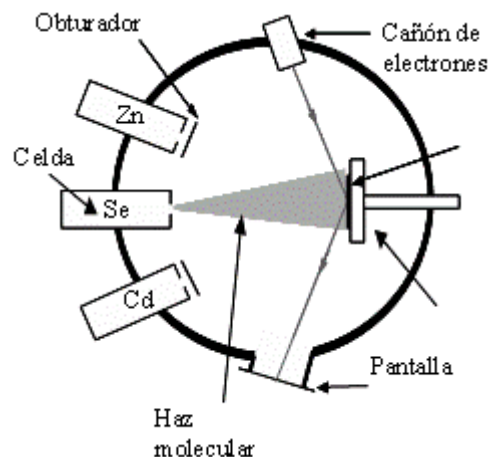


Figura 3. Esquema de la cámara de crecimiento de una máquina de epitaxia de haces moleculares preparada para obtener capas de seleniuros de Cd y de Zn. Por medio de los obturadores se puede alternar el flujo de los haces moleculares sobre el sustrato para obtener el compuesto deseado. De esta manera se pueden obtener estructuras con capas alternadas de CdSe y ZnSe.

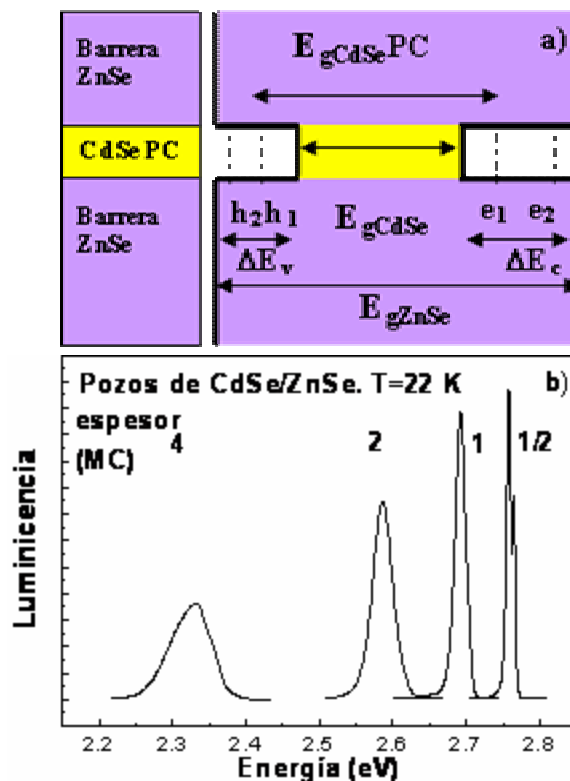


Figura 4. a) Estructura y alineación de las bandas en pozos cuánticos de CdSe con barreras de ZnSe; b) Fotoluminiscencia de estructuras con diferentes espesores. Se puede observar que es posible sintonizar la emisión en un amplio rango de longitudes de onda variando el espesor del pozo.

Con esta técnica se puede obtener un control muy preciso de los espesores y por eso ha sido usada ampliamente para obtener pozos cuánticos. Los pozos cuánticos son capas muy finas de un semiconductor donde los electrones están confinados en distancias del orden o menores de la longitud de onda de de Broglie. Esto es lo que se conoce como confinamiento cuántico y es una de las propiedades más interesantes de los materiales nanométricos. A partir de ella se puede obtener grandes variaciones de las propiedades ópticas y electrónicas en un mismo material en función de las dimensiones.

Un caso interesante es el crecimiento de pozos cuánticos (PC) ultradelgados de CdSe. En este caso el espesor fue variado entre $\frac{1}{2}$ monocapa y 8 monocapas.⁶ Los pozos fueron crecidos entre barreras de ZnSe por EHM-ECA. La estructura y el alineamiento de las bandas son mostrados en la Figura 4a.

Las barreras son necesarias para el confinamiento de los electrones debido al alineamiento de las bandas de conducción y valencia de ambos materiales. En la figura 4a se muestran los respectivos anchos de la banda prohibida (E_g), así como los desacoples de las bandas de valencia y de conducción (ΔE_v y ΔE_c). Debido a esta configuración, las bandas de conducción y de valencia se discretizan en energía en la dirección de confinamiento y los niveles se separan modificándose al ancho de la banda prohibida efectiva del material del pozo cuántico. En particular este ancho energético aumenta cuando disminuye el espesor del pozo. Esto produce una variación en las propiedades ópticas ya que la luz que se absorbe o emite entre estos niveles cambia entonces con el espesor del pozo. En la Figura 4b se observa la fotoluminiscencia de estos pozos excitada por un laser de He-Cd a 325 nm. Se puede observar como la emisión de luz de la heteroestructura se puede variar en un amplio rango de longitudes de onda variando el espesor de los pozos.

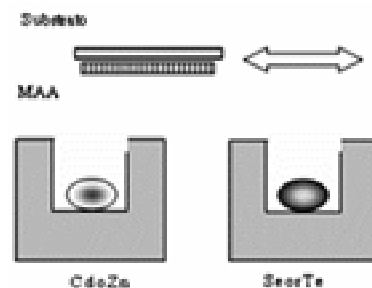
3 Epitaxia a capas atómicas por sublimación isotérmica a corta distancia

Pueden encontrarse detalles de esta técnica en algunos trabajos publicados por los autores en los últimos 10 años (ver por ejemplo ref. 7- 10). En ella se usa una geometría de sublimación a distancia cercana pero, contrariamente a lo habitual en esta técnica, se emplea exposición alternada a fuentes elementales y se evita el gradiente de temperatura entre fuente y sustrato. Esto da la posibilidad de obtener una reacción que termina por sí misma una vez que la superficie queda recubierta de alguno de los elementos. Esto es debido a que al no existir un gradiente de temperatura, con el recubrimiento de la superficie se suprime la fuerza motriz del crecimiento.

La Figura 5 representa un esquema simplificado del proceso de crecimiento. El sustrato donde se realizará el crecimiento del material se mueve alternadamente entre una y otra fuente. La técnica ha sido utilizada para crecer semiconductores II-VI en forma de capas delgadas y también con geometrías diferentes como se expli-

cará a continuación como por ejemplo a través de membranas de alúmina anódica (MAA).

Figura 5. Esquema simplificado del sistema de crecimiento empleado. Todo el sistema se coloca en un ambiente isotérmico dentro de un horno y en un flujo de gas puro. En el caso del crecimiento de capas epitaxiales,



se coloca sólo el sustrato monocristalino sobre las fuentes. En el caso de crecimientos conformados usando membranas de alúmina anódica (MAA) se coloca la membrana entre fuente y sustrato para permitir el paso de los gases a través de la membrana. Esto permite eventualmente la deposición del material a través y dentro de la membrana.

Figura 6. Espesor de las capas de ZnTe en función del número de ciclos. La línea recta representa el crecimiento a 1 MC/ciclo tomando en cuenta el espesor de una monocapa de ZnTe en la dirección [001].

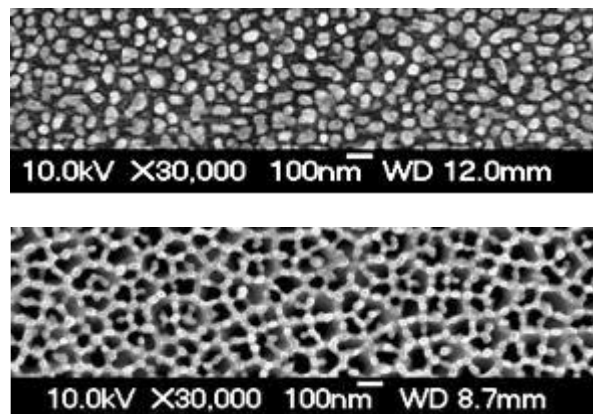
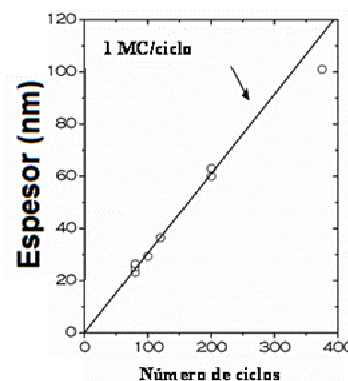


Figura 7. a) Vista de la superficie de la membrana en contacto con el sustrato de GaAs a través de la cual se creció el CdSe. b) Cristales de CdSe crecidos a través de una membrana de alúmina sobre el sustrato de GaAs.

Con esta técnica se han crecido capas epitaxiales de varios semiconductores de tipo II-VI tales como CdSe⁷ y ZnTe.⁸ Controlando los tiempos de exposición a las fuentes y los tiempos de purga entre exposiciones se pueden obtener diferentes regímenes. Por ejemplo, utilizando largos tiempos de purga y pequeños tiempos de

exposición a las fuentes, se alcanza un régimen autorregulado a una o dos monocapas por ciclo, mientras para tiempos de purga pequeños y largos tiempos de exposición a las fuentes, se pueden obtener valores mayores de la razón de crecimiento, debido a la adsorción multicapas en cada exposición.

La Figura 6 muestra el caso del crecimiento de ZnTe⁸ sobre sustratos de GaAs, que presentan una razón de crecimiento de aproximadamente 1 MC/ciclo.

Esta técnica ha sido también utilizada para realizar crecimiento conformado a partir de membranas de alúmina anódica¹⁰. Estas membranas tienen poros nanométricos en forma tubular de una cara a la otra. Interponiendo tal membrana entre las fuentes elementales y el sustrato puede obtenerse crecimiento a través y en el interior de la misma. La Figura 7 muestra el crecimiento sobre la superficie de un sustrato de GaAs a través de la membrana.

Tabla I Diferentes denominaciones para el crecimiento controlado a capas atómicas.	
Nombre	Sigla
Atomic layer deposition	ALD
Atomic layer epitaxy	ALE
Electrochemical atomic layer epitaxy	ECALE
Migration enhanced epitaxy	MEE
Molecular deposition	MD
Molecular layer epitaxy	MLE
Molecular layering	ML
Flow rate modulation epitaxy	FRME
Successive ionic layer adsorption and reaction	SILAR

4 Conclusiones

El régimen de crecimiento controlado a capas atómicas es una de las vías efectivas para la obtención de estructuras nanométricas. Para obtenerlo se han utilizado varias técnicas, dos de las más conocidas son la deposición a capas atómicas y las epitaxias de haces moleculares. Los autores revisan algunos de sus trabajos en el tema en el crecimiento de pozos cuánticos de CdSe y en el desarrollo de una técnica original denominada sublimación isotérmica a corta distancia- epitaxia a capas atómicas.

Referencias

1. Lauri Niinistö, Current Opinion in Solid State and Materials Science 3, 147-152 (1998)
2. T. Suntola, J. Antson, U.S. Patent No. 4058430 (15 November 1977)
3. A. M. Shevjakov, G. N. Kuznetsova, and V. B. Aleskovskii, Proceedings of the Second USSR Conference on High-Temperature Chemistry of Oxides, Leningrad, USSR, 26-29 November 1965 Nauka, Leningrad, USSR, 1967, pp.149 (in Russian)
4. R. L. Puurunen, J. Appl. Phys. 97, 121301 (2005)
5. M. A. Herman, Vacuum 42, 61 (1991)
6. C. Vargas- Hernández, O. de Melo, I. Hernández- Calderón, Phys. Stat. Sol. 230, 331 (2002)
7. O. de Melo, E. Sanchez, H. Rodriguez, S. De Roux, F. Rabago Bernal, J. Ruiz- Garcia, Mat. Chem. Phys. 59, 120 (1999)
8. E. Larramendi, E. Purón, L. C. Hernández, M. Sánchez, S. De Roux, O. de Melo, G. Romero- Paredes, R. Peña- Sierra, M. Tamura, J. Crystal Growth 223, 447 (2001)
9. O. de Melo, E. M. Larramendi, Certificado de Autor de Invención No. 23135 (April 2006)
10. O. de Melo, E. M. Larramendi, I. Minguez- Bacho, S. Larramendi, J. L. Baldonado, J. M. Martínez Duart, M. Hernández- Vélez, J. Crystal Growth, 311, 26 (2008).

TeO₂-doped ZnO micro and nanostructures grown by the vapour–solid technique

A. Iribarren^{a,b,†}, P. Fernández^b y J. Piqueras^b

a) Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales, Universidad de La Habana, Zapata y G, Vedado, Ciudad de La Habana 10400, Cuba; agosto@fisica.uh.cu

b) Departamento de Física de Materiales, Facultad de Ciencias Físicas, Universidad Complutense de Madrid, 28040, Madrid, Spain

† Autor para la correspondencia

Received 8/04/2009. Approved in final version 18/06/09

Sumario. Se presenta la obtención de micro y nanoestructuras a partir de polvos de ZnO impurificados con TeO₂ por un proceso vapor–sólido. Se realizaron mediciones topológicas y catodoluminiscentes (CL) de las muestras y estructuras. Se encontró que las estructuras están formadas por una mezcla de dominios de ZnO y ZnTe_xO_{1-x} y que los átomos de Te en los sitios de las vacancias de oxígeno juegan un rol pasivante que puede eliminar los defectos. Las mediciones de CL y el mapeo permitieron describir las características locales de las muestras y de estructuras representativas.

Abstract. An approach for the obtaining of nano and microstructures from TeO₂-doped ZnO powder by vapour-solid process technique is presented. Topological and cathodoluminescence (CL) measurements of the samples and structures were carried out. It was found that the structures are formed by a mixture of ZnO and ZnTe_xO_{1-x} domains, and that in Te atoms in oxygen vacancy sites play a passivating role that can eliminate the defects. The local features of samples and representative structures were study by means of CL measurements and mapping.

Keywords: Cathodoluminescence, 78.60.Hk, fabrication of nanostructures 81.07.-b

1 Introduction

Low dimensional semiconductor structures constitute one of the subjects of increasing interest since they have potential application in several technological fields as for nanoelectronic systems and photovoltaics. Besides their attractive shapes, optical and compositional behaviours along the structures constitute relevant features to be studied.

ZnO is typically unintentionally doped *n* type wide-gap semiconductor due to the lack of stoichiometry resulting mainly from oxygen vacancies. Its band gap energy has been reported to be between 3.2 and 3.37 eV¹⁻³.

Oxygen vacancies (V_O) and structural defects induce that deep levels form into the band gap. As a consequence luminescence spectra show, due to transitions to these and other deep levels, a wide band that ranges from 1.7 to 2.8 eV⁴.

Isovalent impurities in II-VI compounds produce several effects on its physico-chemical characteristics⁵. In the case of Te-doped ZnO the passivation of V_O by Te atoms and changes in the atomic and energy structures due to the bigger size and lower electronegativity of Te are expected. Bigger size of Te atoms in O sites induces compression of the nearest neighbours in a first consideration. But, on the other hand, Te in O sites creates a ZnTe subunit in the ZnO lattice, and both compounds

have different lattice structures. On the other hand, Te has lower vapour pressure than oxygen, which is favourable to keep low the vacancy concentration if it occupies these sites. Lower Te electronegativity leads it acts as an isoelectronic donor, since electrons are less bound than by O atoms and a center $\{V_o^+ + D^- + Te_o^0\}^0$ forms.

Structurally, Te atoms in O sites leads the four Zn atoms nearest to Te site relax outward with relatively high displacements, the second nearest neighbour O atoms must also relax although less than Zn atoms, and third neighbours likely have negligible or none displacements as reported in substituting one S with Te⁶. Like in ZnS, Te isovalent substitution in ZnO would not form deep-level states inside the gap. However, vacancy, anti-site, and interstitial defects would do⁶.

In this work, Te-doped ZnO micro and nanostructures from TeO₂ precursor by the method of sintering of compacted powder under argon flow, which leads to the growth of the structures directly on the sample surface, which acts as source as well as substrate in a vapour-solid (VS) process^{4,7,8}, is presented. Parts of this work were published in *Superlattice and Microstructures* 43 (2008) 600 and *J. Mater. Sci.* 43 (2008) 2844.

2 Experimental

The raw materials were commercially available ZnO powder (99.9% purity from Aldrich) and TeO₂ powder (99.9995% purity from Puratronic). TeO₂ concentration used corresponded to 0.18 at.% (sample M5), 0.92 at.% (sample M6) and 1.89 at.% (sample M7) Te. The mixed powders were milled for 10 h in a Retsch S100 centrifugal agate ball mill. Afterwards, the milled powders were compacted under a 2 T compressive load to form disc-shaped samples of about 7 mm diameter. The samples were then placed on an alumina boat near the gas inlet in a furnace, and sintered at 1270 °C under 2 litres per minute argon flow for 15 hours. The morphology and size of the structures have been investigated by scanning electron microscopy in a Leica 440. CL measurements were carried out at room temperature on the Leica 440 SEM. In order to evaluate the sample quality we use a figure of merit given by the ratio, r_l , between the main near band edge peak, I_{be} , and the defect band, I_{db} , intensities, $r_l = \frac{I_{be}}{I_{db}}$, i. e., the higher ratio the better quality. CL im-

ages were recorded by using a Hamamatsu R928 photomultiplier and CL spectra were obtained with a Hamamatsu PMA-11 CCD camera. X-ray microanalysis was performed using a JEOL JXA-8900 Superprobe by energy dispersive spectroscopy (EDS).

3 Results and discussion

3.1 Pure ZnO. As a reference, a pure ZnO sample (M0) was prepared and thermally treated. Fig. 1a shows well defined polycrystalline morphology of this undoped

sample and Fig. 1b shows the CL spectra. It is formed by several contributions and the defect band is high and relevant.

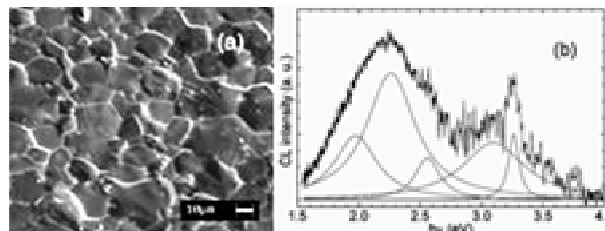


Figure 1. a) Surface morphology and b) CL spectrum of a pure ZnO sample.

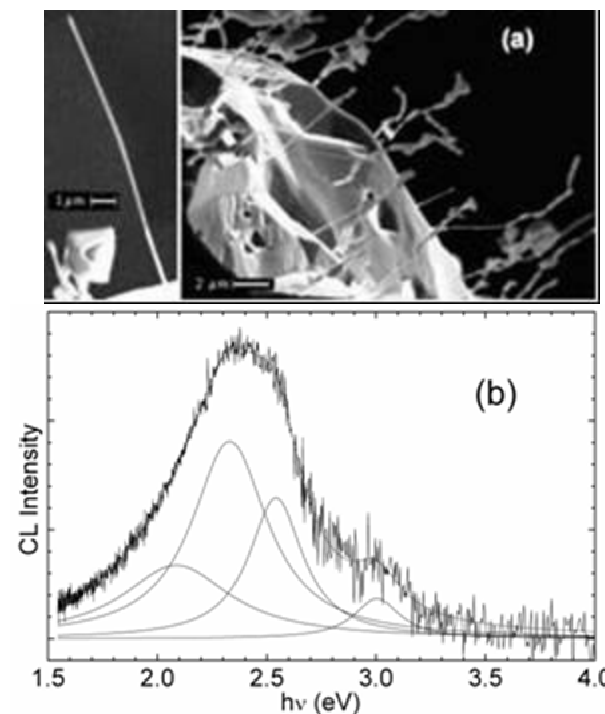


Figure 2. Image of a group of spout-like structures (a) and CL spectrum in the head of one of them (b) in sample M5.

To estimate such contributions the CL spectrum was deconvoluted with Lorentzian fitting. Five main bands at about 1.97, 2.26, 2.56, 3.10, 3.26 eV can be resolved. The band at $h\nu_{max} \approx 1.97$ eV has been associated to Zn vacancies, V_{Zn} ⁹ and the band centred at $h\nu_{max} \approx 2.26$ eV has been proposed as due to either singly ionized O vacancies¹⁰ or interstitial Zn¹¹. A very wide band at $h\nu_{max} \approx 2.56$ eV, which has been observed at nearby values^{12,13} has not a totally clear origin, but has been ascribed to oxygen vacancy¹². The wide peak centred at $h\nu_{max} \approx 3.10$ eV can be related to overlapping of transitions to levels due to dislocations¹³, interstitial Zn¹² and to the grain boundary, which introduces a level at 0.33 eV below the conduction band¹⁴. FWHM's of these component bands are high (≥ 0.24 eV), which identifies a high statistical dispersion of the deep-level energy band distortion. The

ZnO band edge emission is centred at $h\nu_{\max} \approx 3.26$ eV as it has been previously reported at that position^{12,15,16} and it has a typical width of FWHM ≈ 0.10 eV. Thus, the treated pure ZnO samples are very defective with high concentrations of Zn and O vacancies and interstitials, dislocations and grain boundary defects. The quality factor is as low as $r_f \approx 0.7$.

We have to point out that under the processing conditions only one kind of structures, spout-like ones, grows in milled pure ZnO samples, conversely to those found in unmilled ZnO⁴. Such structures are analysed below. Doped samples showed several micro and nanostructured shapes, which grow in the sample surfaces.

3.2 Spout-like nanostructures. Fig. 2a shows elongated spout-like nanostructures in sample M5, which grow mainly in the rim of the sample and they are typical for all the samples, even for pure ZnO samples. They have thin stems of about 100 to 300 nm diameter, which augments toward the tip with rounded polymorph forms, and the aspect ratio reaches values as high as 1:120. CL spectra in the head of these structures are practically constituted by a unique yellow-green defect band, which indicates they are highly defective as observed in Fig. 1b. Lorentzian deconvolution gives the contributions of Zn and O vacancies and interstitial Zn. The structures do not show grain formation, however, given that these nanostructures are also present in undoped ZnO samples, we associate the 3.00 eV peak with surface and dislocation effects¹³.

3.3 TeO₂ doped ZnO samples. All sample surfaces look eroded and with sintered grains forming little conglomerates as can be observed in the background of Fig. 4a. CL spectra of the annealed samples over a relatively wide surface region (Fig. 3), where no structures there were, show a main intense peak in the violet region. On the high energy side a little shoulder remarks, which is a satellite band related with the ZnO emission contribution. By Lorentzian fitting two main peaks were found. A very wide peak was found at about $h\nu \approx 2.9$ eV with FWHM ≈ 0.55 eV and an intense peak at about $h\nu_{\max} \approx 3.13$ eV with FWHM ≈ 0.2 eV. The CL peak energy at $h\nu_{\max} \approx 3.13$ eV is lower than that of pure ZnO shown in Fig. 1b. If the ZnTeO phase forms the fundamental gap decreases from the ZnO gap energy below 3.25 eV according to the $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ composition¹⁷. The peak at $h\nu \approx 2.9$ eV was associated to grain boundaries and dislocations and its very high FWHM is consistent with the highly eroded surface. A careful Lorentzian fitting processing of the main peak allowed deconvoluting the little overlapped peak at the high energy side. This peak is at about $h\nu \approx 3.28$ eV with FWHM ≈ 0.07 eV and is associated to pure ZnO with relatively low disorder. It is noticeable that the typical ZnO green-yellow defect band is not present, which indicates a high quality ratio r_f . The absence of the defect band is related to substitutional Te in the O vacancies and passivation of the defects in the sample under treatment. On the low energy side of the main peak an exponential band tail is also observed,

which is associated to structural disorder, which introduces localized levels and extends the band into the energy band gap¹⁸. The corresponding tail parameters range as $E_0 \approx 160 - 330$ meV, according to measured area, which are high values mainly due to structural disorder. The E_0 values are consistent with the also high FWHM of this CL peak.

XRD measurements showed that the samples have a unique ZnO phase and no TeO₂ phase was detected. Thus, we can infer that the main peak at $h\nu_{\max} \approx 3.13$ eV, shifted to lower energy respect to that of ZnO, is related to the presence of ZnTe subunits, formed from the Te atoms insertion into the V_{O} , in the ZnO matrix, which give a pseudobinary compound $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$. The possibility of interstitial Te was neglected since it would induce an increase of the deep level and would contribute to the defect band⁶, but, conversely, the CL spectra present a clear trend to the defect band reduction with TeO₂ doping.

In order to estimate how many ZnTe subunits intervene in the $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ units we use a linear approximation between ZnO ($E_{\text{gZnO}} = 3.26$ eV) and ZnTe ($E_{\text{gZnTe}} = 2.26$ eV)^{19,20} band gap energies given by the expression

$$E_{\text{g}}(x) = (1 - x)E_{\text{gZnO}} + xE_{\text{gZnTe}} \quad (1)$$

In this case band-band transitions were assumed and the shift of E_{g} respect to peak maximum is $kT/2$, where k is the Boltzman constant and T the measurement temperature.

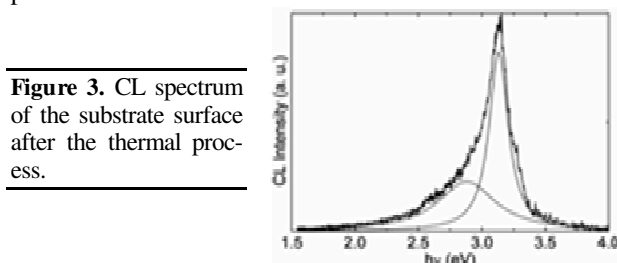


Figure 3. CL spectrum of the substrate surface after the thermal process.

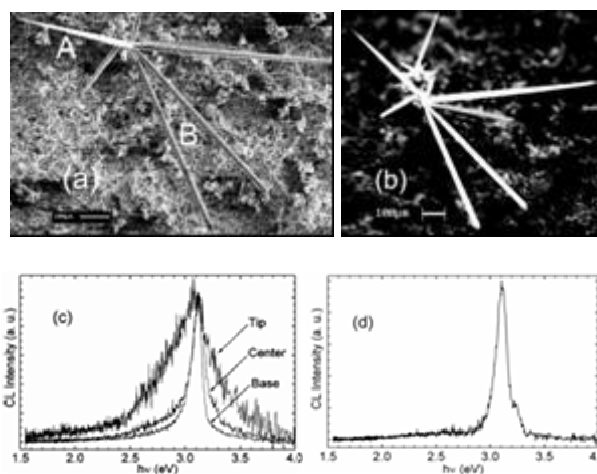


Figure 4. SEM image of a hedgehog-like structure group (a), where the needle-like structure (A) and the pencil-like structures (B) are pointed out, and CL image of this structure group (b) in the sample M5. CL spectra of needle-like (c) and pencil-like (d) structures are also shown.

3.4 Elongated microstructures. Big elongated structures grew on the sample surface. Fig. 4a shows a hedgehog-like structure group. It is formed by needle-like (A) and pencil-like (B) structures. Such structures have an aspect ratio that can reach values of 1:30 in those more developed. Fig. 4b shows CL image, where high emission of this structure group is observed.

In Fig. 4c the normalized CL spectra mapping along the needle-like (A in Fig. 4a) structure of before-mentioned structure group are presented. A main feature of these spectra is that the defect band is either very small or not clearly present, however the spectra widen toward the tip and the emission intensity diminishes.

On the high energy side a shoulder can be observed. It is associated to the contribution of the pure ZnO emission. The CL emission spectra shape (Fig. 4c) show a main peak and a shoulder at the high energy region, which are associated to $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ and ZnO contribution respectively and no defect band is clearly appreciable. The estimation of such contributions was made by deconvoluting with Lorentzian fitting. The $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ peak maximum has a range $h\nu_{\text{max}} \approx 3.10 - 3.13$ eV and the ZnO peak was found at about $h\nu \sim 3.36$ eV. From Eq. 1 it was calculated that $x \approx 0.14 - 0.17$. FWHM's were of about 0.30 eV and 0.49 eV respectively. The high FWHM's demonstrate that the coexisting $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ and ZnO domains are locally structurally disordered, although the absence of the defect band suggests that they are stoichiometrically ordered. Such local domains are constituted by a mixture of $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ with different x , i. e., a mixture of Te coordinations in the ZnO matrix, and ZnO clusters. The CL intensity was found to diminish from base to tip as the structural disorder increases, as can be correlated with the lowering of the signal/noise ratio. Analyses of the low energy side give an exponential behaviour, which corresponds to that of the band tail. The tail parameter E_0 ranges from about 100 meV in the base to 470 meV in the tip, which means that there is high structural disorder, which agrees with the previous FWHM results, and it increases from base to tip.

The structures B of Fig. 4a are partially distorted pencil-like structure, which has lost the hexagonal cross-section as reported in similar ZnO structures⁴. CL spectrum of the pencil-like structure base is displayed in Fig. 4b. The defect band is low. CL spectra along the structure show similar shapes, but the defect band lowers toward the tip. The quality ratio is high, i. e., $r_l \geq 14$. The deconvolution of the main peak using Lorentzian fitting gave that this peak is centred at a mean energy of $h\nu_{\text{max}} \approx 3.11$ eV with average FWHM ≈ 0.121 eV, which correspond to $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ with $x \approx 0.16$ and it overlaps a minor peak at about 3.25 eV with average FWHM ≈ 0.043 eV corresponding to pure ZnO.

In the analysis of the CL peaks it must be taken into account that pure ZnO has low CL emission. On the other hand, $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ has donor conductivity because of the isovalent Te doping and, therefore, it has higher carrier concentration and a higher CL intensity must be ex-

pected. Hence, although the ZnO band intensity is low, indeed, relatively high ZnO concentration can be present in comparison to $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ concentration. These needle-like and pencil-like structures show CL emission higher than that of the background due to the intense violet band associated with them. On the other hand, they are stoichiometrically ordered structures although some structural disorder can be found.

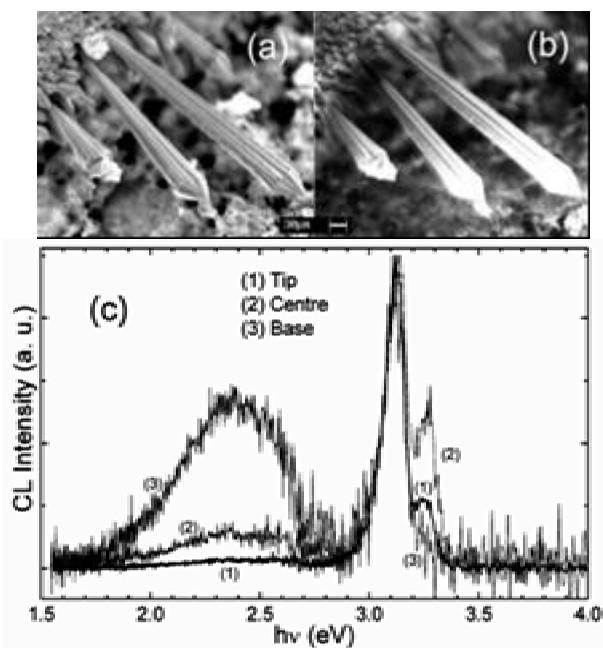


Figure 5. SEM (a) and CL (b) images of mace-like microstructures in sample M5. CL spectra (c) in several points of the biggest one are presented.

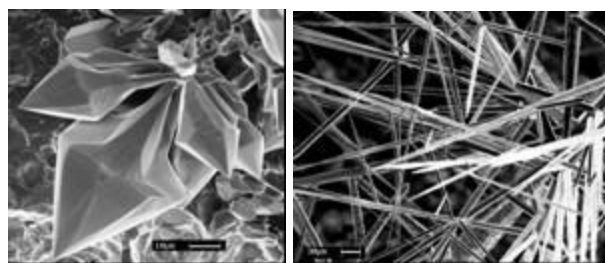


Figure 6 and 7. SEM image of arrow-like structures in sample M5 and hank structure in M6.

Other kind of structures, mace-like ones, is shown in Fig. 5a. CL emission image of the longest structures is shown in Fig. 5b. It is noticeable that the CL emission mainly takes place in the tip and diminishes toward the base. Fig. 5c shows the CL spectra along one of these structures. The quality ratio increases from about $r_l \approx 2$ at the base to about $r_l \approx 32$ in the tip where no defect band practically there is. By deconvoluting the high energy made-up peak it is found that the compound peaks corresponding to $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ and ZnO are at about 3.12 eV and 3.27 eV respectively. However, the FWHM tends to increase from tip to base, which corresponds to

the increase of the disorder. The increase of the defect the increase of the traps into the band gap and the decrease of the radiative emission, which explains that in the tip there is emission and in the base there is not.

The cross-section increasing from base to tip observed in Fig. 5a and the CL characteristics suggest that the structure orders as it grows. The relatively high intensity of the ZnO band in the structure centre suggests that there is high concentration of ZnO domains in comparison to $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$, which diminished toward the tip. EDS measurement along the mace-like structures gives that the Te concentration changes from 0 at.% Te in the base and 0.02 at.% Te in the centre to 0.05 at.% in the tip. This confirms that the Te atomic concentration increases from base to tip. Thus, two favourable factors make the tip more emissive, few defects and low ZnO concentration. The CL spectrum of the little mace-like structure placed on the right of those illuminated ones is similar to that of before-shown mace-like structure base. It presents a high defect band and $r_f \approx 2$, similar to that of mace base, which suggests high defectivity and number of deep levels, which leads to low or no emission as observed in the CL image. It can be observed from comparison of CL spectra and SEM image that this structure has not developed.

Arrow-like structures as those displayed in Fig. 6 can also be observed in the region near the sample outskirts. Their base is a relatively narrow stem, but suddenly a big arrow-like head grows. CL spectra (not shown) display relatively high defective structures with $r_f \approx 4 - 6$ and FWHM $\approx 0.092 - 0.133$ eV in the main peak, which indicates structural and stoichiometrical, disorders of the $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ domains.

4 Conclusions

TeO_2 -doped ZnO-elongated micro and nanostructures have been grown by a vapour-solid process. The nanostructures, which arose in the sample rim, have high aspect ratio, but they seem to be defective due to vacancies. In some cases, like the elongated structures relatively far from the sample rim have low defect bands as observed in their CL spectra. This is due to Te reacts with ZnO, passivate the defects by occupying the O vacancy sites and forms $\text{ZnTe}_x\text{O}_{1-x}$ units. Other microstructures, like those mace-like located in the near sample rim, have a monotonically variation of the CL intensity, due to a distribution gradient of Te along these structures. The adding of TeO_2 to the ZnO powder stimulates the growing of nano and microstructures, however the structural, compositional and optical characteristics change according to the Te concentration and temperature gradient in each sample region.

As the TeO_2 concentration in the powder mixture increases the pure ZnO satellite band tend to decrease, and for 1.89 at.% Te only a little shoulder on the high energy

side of the main peak is noticeable. The increase of the Te concentration favours the formation of a major number of structures, which form a knotty hank as exemplified in Fig. 7.

Acknowledgements

One of the authors (A.I.) would like to thank MEC España and UCM for mobility financing and facilities under SAB2005-0018. This research was partially supported by Project MAT2006-01259 and it is under PNCIT 00613457.

References

1. S. J. Pearton, D. P. Norton, K. Ip, Y.W. Heo, T. Steiner, *Progress in Materials Science* 50, 293 (2005).
2. S. T. Tan, B. J. Chen, X. W. Sun, W. J. Fan, H. S. Kwok, X. H. Zhang and S. J. Chua, *J. Appl. Phys.* 98, 013505 (2005).
3. T. Makino, K. Tamura, C. H. Chia, Y. Segawa, M. Kawasaki and A. Ohtomo, H. Koinuma, *J. Appl. Phys.* 92, 7157 (2002).
4. J. Grym, P. Fernández and J. Piqueras, *Nanotechnology* 16, 931 (2005).
5. R. Baltramiejunas, V. D. Ryzhikov, V. Gavryushin, A. Kazlauskas, G. Raciukaitis, V. I. Silin, D. Juodzbališ, and V. Stepankevicius, *Journal of Luminescence* 52, 71 (1992).
6. H.J. Liu, C.T. Chan, *Physics Letters A* 352, 531 (2006).
7. A. Urbiet, P. Fernández and J. Piqueras, *Appl. Phys. Lett.* 85, 5968 (2004).
8. D. Maestre, A. Cremades and J. Piqueras, *J. Appl. Phys.* 97, 044316 (2005).
9. J. Piqueras and E. Kubalek, *Sol. Stat. Comm.* 54, 745 (1985).
10. K. Vanheusden, W. L. Warren, C. H. Seager, D. R. Talant, J. A. Voigt, B. E. Gnade, *J Appl Phys* 79, 7983 (1996).
11. T. Tatsumi, M. Fujita, N. Kawamoto, M. Sasajima and Y. Horikoshi, *Japanese Journal of Applied Physics* 43, 2602 (2004).
12. H. He, Y. Wang and Y. Zou, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 36, 2972 (2003).
13. R. Radoi, P. Fernández, J. Piqueras, M. S. Wiggins, and J. Solis, *Nanotechnology* 14, 794 (2003).
14. B. J. Jin, S. Im, S. Y. Lee, *Thin Solid Films* 366, 107 (2000).
15. H. L. Porter and J. F. Muth, J. Narayan, J. V. Foreman, and H. O. Everitt, *J. Appl. Phys.* 100, 123102 (2006).
16. Y. Ortega, P. Fernández and J. Piqueras, *Nanotechnology* 18, 115606 (2007).
17. M. R. Özalp, G. Özen, F. Altin, V. Kalem, and M. L. Öveçoglu, *Key Engineering Materials*, 264-268, 1907 (2004).
18. A. Iribarren, R. Castro-Rodríguez, F. Caballero-Briones, and J. L. Peña, *Appl. Phys. Lett.* 74, 2957 (1999).
19. R. Amutha, A. Subbarayan, and R. Sathyamoorthy, *Cryst. Res. Technol.* 41, 1174 (2006).
20. A. E. Rakhshani, *Semicond. Sci. Technol.* 19, 543 (2004).

Actividad peroxidasa en nanopartículas de ferrita de manganeso MnFe_2O_4

V. Figueroa-Espí^a, A. Alvarez-Paneque^a, A. J. Otero-González^b y E. Reguera^a

a) Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales, Universidad de La Habana, Cuba; vivianafe@imre.oc.uh.cu[†]

b) Centro de Estudios de Proteínas, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba

[†] Autor para la correspondencia

Recibido el 9/04/2009. Aprobado en versión final el 19/06/09.

Sumario. Se estudió la actividad peroxidasa intrínseca de nanopartículas (NPs) magnéticas de MnFe_2O_4 (27,5 nm), en presencia de diferentes sustratos de la enzima peroxidasa de rábano picante (HRP). Las nanopartículas de MnFe_2O_4 se obtuvieron mediante el método de microemulsión en micelas inversas en el sistema agua/tolueno. Las muestras fueron caracterizadas por difracción de rayos X y microscopía de electrónica de transmisión. La actividad observada para las nanopartículas de MnFe_2O_4 resultó ser dependiente tanto del pH como de la concentración de H_2O_2 .

Abstract. The intrinsic peroxidase-like activity of MnFe_2O_4 magnetic nanoparticles (27,5 nm), using three different substrates and peroxidase enzyme, was studied. The magnetic MnFe_2O_4 nanoparticles were prepared by the reverse micelle method. The size distribution of these NPs was characterized from X-ray diffraction and transmission electron microscopy data. The observed peroxidase-like activity of MnFe_2O_4 nanoparticles was found to be dependent on the used pH and the H_2O_2 concentration.

Palabras clave. Chemical synthesis nanofabrication 81.16.Be, Electron microscopy in observations of crystal defects, 61.72.Ff, Powder diffraction x-ray, 61.05.cp

1 Introducción

Dentro de los diferentes tipos de nanomateriales, las nanopartículas (NPs) magnéticas presentan una atención especial, debido a sus aplicaciones en Biomedicina como agentes de contraste en Imagenología por Resonancia Magnética (MRI)¹, en técnicas de separación de moléculas² y en la muerte por hipertermia de células tumorales³ así como otras aplicaciones potenciales.⁴

Por lo general se considera que las nanopartículas de óxidos de hierro son química y biológicamente inertes, lo que constituye una de las razones por las que son empleadas en imagenología y técnicas de separación. Por tal motivo se ha hecho necesario recubrirlas con metales catalíticamente activos o conjugarlas con enzimas para

combinar sus propiedades magnéticas con la actividad del metal o la enzima, de manera que se obtengan nanoconjugados bifuncionales.⁵ Recientemente un grupo de investigadores de la universidad de Tokio, demostró que las nanopartículas de Fe_3O_4 presentan actividad peroxidasa intrínseca.⁶

Las enzimas peroxidases catalizan reacciones bisustrato de carácter redox, utilizando un peróxido como oxidante, y un segundo sustrato de característica reductora que es oxidado por el peróxido.⁷ En vegetales es de destacar a la peroxidasa de rábano (horseradish peroxidase, HRP), que es ampliamente usada en técnicas inmunoquímicas e inmunoensayos para el diagnóstico clínico, debido a su facilidad de conjugación con anticuerpos y a su sencillez para detectarla por métodos colorimétricos y fluorimétricos.⁸

La obtención de sistemas que mimetizan la actividad enzimática resulta de gran interés en Bioquímica Clínica, debido al elevado costo de producción y la poca estabilidad de las enzimas.

En esta contribución se reportan los resultados de un estudio orientado a evaluar la actividad peroxidasa de NPs de MnFe_2O_4 sin ningún tratamiento previo de funcionalización.

2 Parte experimental

Las NPs de MnFe_2O_4 a estudiar se obtuvieron empleando el método de microemulsión en micelas inversas en el sistema agua/tolueno, según un procedimiento ya descrito.⁹ Las muestras obtenidas se caracterizaron mediante difracción de rayos X (DRX) y microscopía electrónica de transmisión (MET). Los patrones de DRX se registraron con radiación $\text{CuK}\alpha$ en un equipo D8 Advance (Bruker) con monocromador secundario. Las imágenes de MET se obtuvieron con un microscopio JEOL 4000-EX operado a 400 kV. Sobre rejillas de Cu de 200 mesh recubiertas de una fina capa de grafito se depositó una suspensión de las NPs a estudiar. El mismo equipamiento y condiciones experimentales fueron usados para obtener los patrones de difracción de electrones de determinada área seleccionada.

Para el análisis de la actividad se usaron 3 sustratos diferentes de la enzima:

- diazoaminobenceno (DAB) en buffer 0,05 M Tris-HCl, 0,15 M NaCl, pH 7,5
- o-fenilendiamina (OPD) en buffer de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0,2 mol/L y 0,1 mol/L de ácido cítrico
- 3,3',5,5' tetrametilbencidina (TMB) en NaAc 0,2 M y pH 3,5.

Se usaron 20 μg de NPs, en 500 μL de buffer, con 800 μM de sustrato y la concentración de H_2O_2 fue 530 mM. La reacción se detuvo con H_2SO_4 2 mol/L, y se registró la absorbancia a 492 nm para el OPD y a 452 nm para el TMB. Todos los reactivos empleados son de Sigma, grado analítico.

3 Resultados y discusión

La figura 1 muestra el patrón de DRX característico de las muestras de MnFe_2O_4 cuya actividad peroxidasa fue evaluada. Ese patrón corresponde a la celda unitaria cúbica centrada en las caras (fcc), propia de la estructura de espinela en la cual cristaliza esta ferrita. A partir del semi-ancho de los picos a su semi-altura y empleando la fórmula de Scherrer¹⁰ se pudo estimar que el tamaño de cristalita era de unos 27.5 nm.

En la figura 2 aparece una imagen típica de MET de este sistema de partículas donde se pueden distinguir con claridad sus planos atómicos. La asignación de esas imágenes al material estudiado se realizó con ayuda del patrón de difracción de electrones de área seleccionada, el cual corresponde a la misma fase cúbica identificada por DRX. De acuerdo a las imágenes de TEM las mues-

tras se componen de una distribución de partículas de varios tamaños donde el valor de 27.5 nm, estimado por DRX se encuentra por debajo del valor medio.

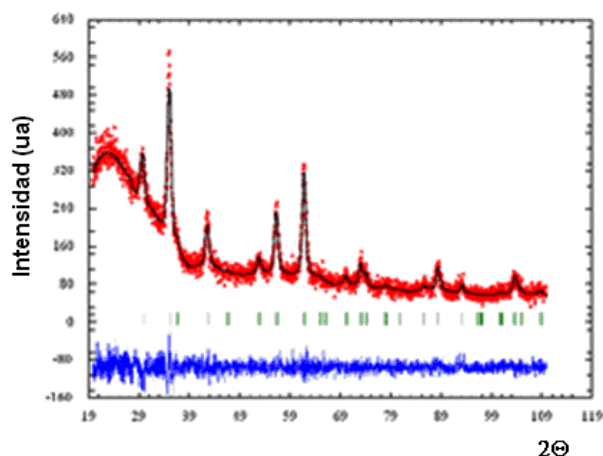
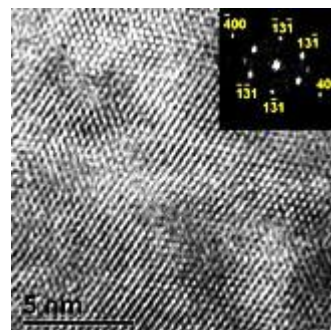


Figura 1. Ajuste final del perfil total de DRX por el método de Le Bail para nanopartículas de MnFe_2O_4 . El tamaño estimado por la fórmula de Scherrer fue de 27,5 nm.

Figura 2. Micrografía de microscopía electrónica de transmisión de nanocristales de MnFe_2O_4 correspondiente a una red cúbica centrada en las caras (fcc). Insertado se muestra la transformada rápida de Fourier (FFT) de la imagen de alta resolución a lo largo del eje de zona [013], el cual corresponde a una red cúbica centrada en las caras (fcc).



Las NPs de MnFe_2O_4 estudiadas presentaron actividad peroxidasa, catalizando la oxidación de los 3 sustratos estudiados. En la figura 3 se muestran los mismos cambios que se producen en la coloración de cada reacción si se empleara la enzima HRP, en dependencia del sustrato oxidado.⁶

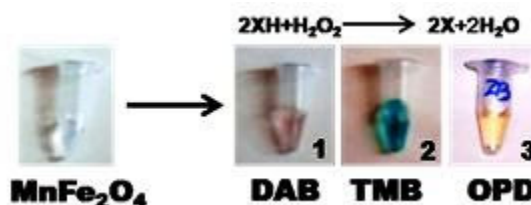


Figura 3. La enzima peroxidasa cataliza la oxidación de un amplio número de sustratos orgánicos e inorgánicos, utilizando el poder oxidante del peróxido de hidrógeno. (1: Reacción con DAB; 2: reacción con TMB; 3: reacción con OPD).

Los resultados obtenidos con las NPs de ferrita de manganeso concuerdan con los reportados para la magnetita.⁶ Casi todas las enzimas peroxidasa son hemo-

proteínas con una porfirina IX férrica como grupo prostético. Sin embargo existen otros tipos de peroxidasa que también contienen en su centros activos selenio (glutación peroxidasa) y manganeso (manganeso peroxidasa).⁷ Igualmente, los sistemas miméticos de las peroxidasa presentan iones Fe^{2+} ó Fe^{3+} en sus centros de reacción, y es bien conocido el reactivo de Fenton, que consiste en una disolución de iones $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ que cataliza la degradación del peróxido de hidrógeno y es ampliamente usado para el tratamiento de aguas residuales.¹¹

La oxidación del TMB catalizada por la enzima y en presencia de H_2O_2 produce una reacción de color azul con un máximo de absorbancia a 652 nm.¹² Al igual que la actividad enzimática, esta reacción es detenida con H_2SO_4 y el producto se torna amarillento con un máximo de absorbancia a 450 nm. En la figura 4 se muestra la actividad peroxidasa de las NPs de MnFe_2O_4 , en el tiempo, sin detener la reacción con ácido sulfúrico y usando el TMB como sustrato. El comportamiento es similar que el de las NPs de Fe_3O_4 del estudio primario, al no ser detenida, la reacción continua ocurriendo, oxidándose el TMB.⁶

En el caso de la enzima HRP, podemos plantear un mecanismo catalítico general que transcurre a través de la formación de un intermediario de la enzima formado por un ion oxiferrilo ($\text{Fe}^{4+}=\text{O}$) y un radical libre porfirínico de tipo π ($\text{P}^{\cdot+}$), donde el Fe^{3+} del grupo hemo es oxidado por el H_2O_2 , (que se reduce a H_2O), tras lo cual la forma oxidada de la enzima se reduce a la forma nativa mediante dos procesos consecutivos de transferencia electrónica con dos moléculas del sustrato reductor.^{13,14} Nuestro sistema (ferrita de manganeso) tiene hierro en forma Fe^{3+} por lo que es de esperar que la actividad de las NPs ocurre mediante la oxidación de los átomos superficiales de esta especie en presencia del H_2O_2 . De tal forma que el sustrato orgánico (TMB, OPD, DAB) cede sus electrones y queda en su forma oxidada, lo que produce un cambio de coloración.

Para estudiar la influencia del pH y de la concentración de H_2O_2 en la actividad de las NPs magnéticas, se usaron como sustratos el TMB y el OPD. Para esto se hicieron mediciones de absorbancia a diferentes pH (entre 1 y 11) y para diferentes valores de concentración de H_2O_2 (entre 0,1 y 2,0 mol/L). En la Fig. 5 se muestran los resultados para el TMB. El valor óptimo de pH para el caso del TMB fue aproximadamente 7.3 (fig. 5a), un resultado diferente al que se obtiene con OPD, donde la mayor actividad peroxidasa se alcanza alrededor de pH 5, para cada concentración de H_2O_2 estudiada.

A medida que se incrementa la concentración de peróxido de hidrógeno, la actividad peroxidasa de las NPs de MnFe_2O_4 aumenta hasta un valor determinado (0,4 mol/L) en el cual la actividad se mantiene relativamente constante. Si se continúa aumentando la concentración de H_2O_2 , la actividad peroxidasa se inhibe (Fig 5b). En el caso del estudio con OPD este valor límite fue mayor, 0,8 mol/L.

Este comportamiento es similar al de la enzima HRP

y al de las NPs de Fe_3O_4 , según lo reportado por Gao y col.,⁶ pero en ambos nanomateriales el valor de concentración de peróxido al cual se alcanza la mayor actividad es superior al que se requiere con la enzima. Esto puede deberse a que en la enzima sólo hay un grupo Fe en contraste con las NPs, donde el número de átomos en la superficie es mayor.

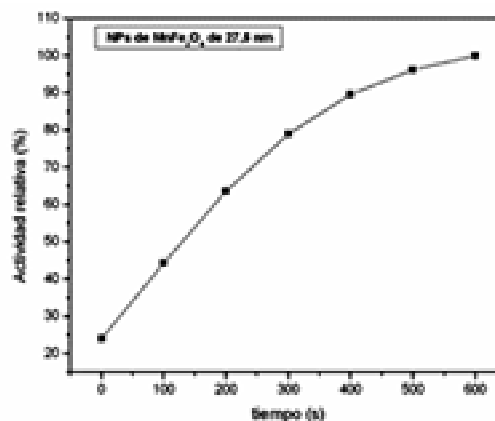


Figura 4. Actividad peroxidasa de las nanopartículas de ferrita de manganeso en el tiempo. El máximo valor de la curva fue tomado como el 100% de actividad.

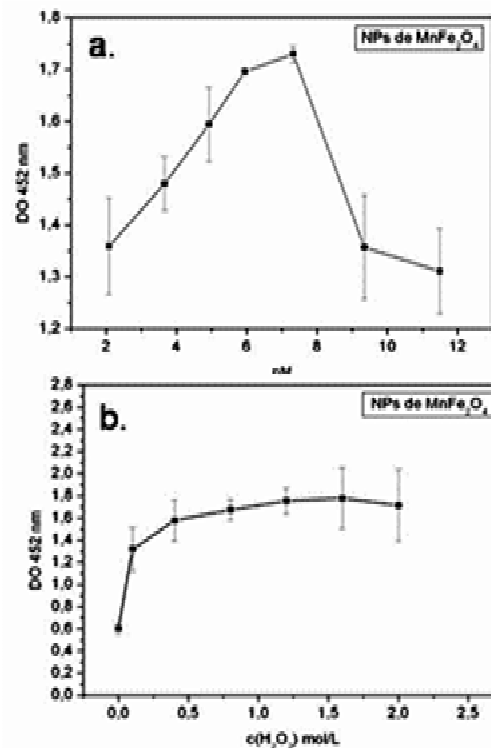


Figura 5. Influencia del pH y la $c(\text{H}_2\text{O}_2)$ en la actividad peroxidasa usando como sustrato el TMB. a. El valor de pH óptimo encontrado para el análisis con TMB fue de 7,3. b. La actividad peroxidasa se incrementa con el aumento de la concentración de H_2O_2 .¹⁵

4 Conclusiones

Las nanopartículas de MnFe_2O_4 muestran actividad peroxidasa intrínseca frente a varios sustratos de la enzima HRP. Esta actividad depende del pH y de la concentración de H_2O_2 . Es recomendable seguir estudiando la actividad peroxidasa de estas NPs magnéticas funcionalizadas y conjugadas con anticuerpos, con el propósito de poder aplicarlas en inmunoensayos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Carlos Rodríguez el interés mostrado por este estudio.

Referencias

1. Brahler, M. et al. Magnetite-loaded carrier erythrocytes as contrast agents for magnetic resonance imaging. *Nano Lett.* 6:2505–2509 (2006)
2. H.Gu, et al. Biofunctional magnetic nanoparticles for protein separation and pathogen detection. *Chem. Commun.*, 941-949, (2006)
3. M. Johannsen et al. Magnetic Fluid Hyperthermia (MFH) reduces prostate cancer growth in the orthotopic dunning R3327 rat model. *The Prostate* 64:283-292, (2005)
4. Q.A. Pankhurst, J. Connolly, J. Dobson. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 36 R167-R181, (2003)
5. J.M. Pérez. Iron oxide nanoparticles. Hidden talent. *Nature Nanotechnology*, 2:535-536, (2007)
6. L. Gao, J. Zhuang, L. Nie, J. Zhang, Y. Zhang, N. Gu, et al. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles; *Nature Nanotechnology*, 2:577-583, (2007)
7. W. Adam, M. Lazarus et al. Biotransformations with peroxidases. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Vol 63. 74-75
8. G.T. Hermanson. *Bioconjugate Techniques*. Pierce Chemical Company. p.630-631
9. A. Alvarez-Paneque, S. Díaz, P. Santiago-Jacinto, E. Reguera, Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas basadas en la MnFe_2O_4 tipo espinela; *Rev. Cub. Física* 25 (2B) 117-122, (2008)
10. A. Guinier, *X-Ray Diffraction*; Dover Publications: Mineola, NY, 1994.
11. Walling, Cheves "Fenton's Reagent Revisited", in *Accts of Chem. Research*, vol. 8, pp. 125-131 (1975).
12. Bos, E.E., et al., *J. Immunoassay* 2, 187 (1981)
13. J.L. Lyon, K.J. Stevenson. Electron transfer of peroxidase assemblies at tailored nanocarbon electrodes. *Electrochimica Acta* 53 6714-6721 (2008)
14. M. A. Castriano, A. Romeo, M. C. Baratto, R. Pogni y L. M. Scolaro. Supramolecular mimetic peroxidase based on hemin and PAMAM dendrimers. *Chem. Commun.*, , 688–690, (2008).

Efecto de tamaño en granos superconductores de $(\text{Bi,Pb})_2\text{Sr}_2\text{Ca}_2\text{Cu}_3\text{O}_{10+y}$

E. Govea-Alcaide^a, L. Pérez-Acosta^b, P. Muné^a, y R. F. Jardim^c

a) Departamento de Física, Universidad de Oriente, Patricio Lumumba s/n, P. O. Box. 90500, Santiago de Cuba, Cuba; malvareza@udg.co.cu†

b) Departamento de Física, Facultad de Mecánica, Universidad de Camagüey, Circunvalación Norte Km 5 1/2 s/n, Camaguey, Cuba

c) Instituto de Física, Universidade de São Paulo, CP 66318, 05315-970, S. Paulo, SP, Brazil

†autor para la correspondencia

Recibido el 27/3/2009. Aprobado en versión final el 20/06/2009.

Sumario. Se presenta un estudio experimental de las propiedades magnéticas de muestras superconductoras del sistema $(\text{Bi,Pb})_2\text{Sr}_2\text{Ca}_2\text{Cu}_{10+y}$ (Bi-2223). Las muestras fueron obtenidas mediante la molienda mecánica de alta energía de los polvos sinterizados, para diferentes tiempos de molienda entre 120 – 240 min. A través de la difracción de rayos – X fue posible verificar que la fase mayoritaria presente en las muestras es la Bi-2223 y que aparece un ensanchamiento de los picos de esta fase con el aumento del tiempo de molienda. Una estimación preliminar, utilizando la fórmula de Scherrer, reveló que, en promedio, el tamaño de los granos se encuentre en el rango entre 31 y 17 nm. El análisis de las curvas de susceptibilidad magnética en función de la temperatura, $\chi(T)$ mostró cambios cualitativos y cuantitativos apreciables entre las muestras con diferente tiempo de molienda. Para temperaturas inferiores a cierto valor, T_{eff} , las curvas presentan un comportamiento de tipo paramagnético ($\chi \sim 1/T$), el cual es interpretado como una manifestación de un efecto de paridad, previsto teóricamente en granos con número impar de electrones.

Abstract. We have present an experimental study on the magnetic properties of $(\text{Bi,Pb})_2\text{Sr}_2\text{Ca}_2\text{Cu}_{10+y}$ (Bi-2223) ceramic samples obtained by using the ball-milling method. After the last heat treatment, the resulting material, were ball-milled from 120 to 240 minutes. The compositions of the obtained samples are very similar as inferred from the X-ray diffraction pattern. It was found that all the indexed reflection is related to the Bi-2223 phase. We have also found an increase in the width of peaks, at half the maximum intensity, with increasing the milling time. By using the Scherrer formula we were able to estimate de mean size of grains in the samples yielding in the range between 31 to 17 nm. The analysis of the magnetic susceptibility as a function of temperature, $\chi(T)$, revealed appreciable qualitative and quantitative changes between experimental curves. For temperature below a certain temperature, T_{eff} , the experimental data show a paramagnetic behavior ($\chi \sim 1/T$), which is interpreted by considering a parity effect associated with the number of electrons within the superconducting grains.

Palabras clave. Bismuth-based high- T_c superconductors 74.72.Hs, superconductivity in disordered solids 74.81.Bd, Magnetic properties of superconductors 74.25.Ha.

1 Introducción

Los estudios referidos al efecto del tamaño de partícula

sobre las propiedades superconductoras es un tema que comenzó a ganar interés a partir del año 1959. P. W. Anderson se cuestionaba en aquel entonces cuál era el ta-

maño de partícula mínimo para que desapareciese la superconductividad.¹ Él sostuvo la opinión que cuando el espaciado medio de los niveles accesibles por los electrones (δ) fuese del orden de la energía de condensación superconductora definida por la teoría BCS (Δ_0) entonces, la superconductividad tenía que desaparecer. El problema de Anderson, desde el punto de vista teórico, resultaba determinar el límite de validez de la teoría BCS.²

La cuestión anterior generó un gran número de trabajos teóricos en los años 70.^{3,4} En particular en la Ref. [4] se presenta un interesante estudio sobre la termodinámica de partículas metálicas pequeñas, encontrándose que, en este tipo de sistemas, los efectos de las fluctuaciones son marcados, o sea, el ancho de la transición se ensancha apreciablemente hasta desaparecer cualquier vestigio de superconductividad.

Gracias al reciente desarrollo de técnicas de nanofabricación; Ralph, Black, y Tinkham (RBT),⁵ en 1995, revivieron el interés en el estudio del problema inicialmente propuesto por Anderson. Sin embargo el enfoque en este trabajo fue eminentemente práctico pues fue fabricado lo que pudiera llamarse un nanotransistor. En el dispositivo RBT fue grabado un orificio de diámetro 10 nm en una membrana aislante de Si_3N_4 . A través del mismo fue posible crear una pequeña juntura en la que dos superficies de aluminio se interconectan mediante una partícula o grano de aluminio de aproximadamente 1 nm de espesor. Las dos superficies de aluminio funcionan en este caso como electrodos a través de los cuales es posible conectar el sistema a una fuente de voltaje y estudiar así la característica corriente – voltaje (I - V) del mismo.

La característica I - V del dispositivo RBT muestra resultados asombrosos: (i) el bloqueo de la corriente o *Coulomb blockade* y (ii) el escalonamiento o *Coulomb staircase*. Se habla de bloqueo cuando no hay paso de corriente a través de la juntura. Resulta que, producto de la baja capacidad eléctrica de la partícula de aluminio, la energía necesaria para introducir o extraer un electrón de en esta es muy alta. De ahí que, en la curva I - V , veremos una región de corriente cero y constante en un intervalo de voltaje cercano a cero. Una vez que el voltaje necesario para vencer la energía de carga de la partícula de aluminio es alcanzado, la corriente comienza a fluir a través de la juntura. Por su parte, los saltos en la curva I - V están asociados al paso de electrones, uno a uno, a través de la partícula de aluminio.

Otro efecto de particular interés en este tipo de dispositivos se observa si la partícula es superconductora.^{5,6} De igual forma el comportamiento de la curva I - V refleja el carácter discreto de los niveles de energía dentro del grano. En presencia de un campo magnético externo, el comportamiento de la característica de voltaje – corriente del dispositivo RBT depende de si el número de electrones en la partícula o grano es par o impar, lo cual se conoce como efecto de paridad.^{5,6}

Llegado el momento, resulta importante definir qué se entiende por partícula o grano pequeño. Al disminuir el tamaño de la partícula, su número de electrones dismi-

nuye de igual forma, lo cual hace que la estructura de bandas del material sea “sustituida” por un conjunto discreto de niveles de energía.⁷ En este ejemplo, el término “partícula pequeña” se refiere a cuando el espaciado medio de los niveles energéticos, δ , es comparable, por ejemplo, con la energía térmica, $k_B T$; o la de Zeeman, $g\mu_B H$.³ específicamente en partículas superconductoras se refiere a la condición $\delta \sim \Delta_0$.⁸

Es importante señalar que en casi todos los trabajos mencionados anteriormente, se realizan análisis teóricos de los posibles efectos de tamaño sobre las propiedades superconductoras en granos metálicos.^{3,4} Un análisis muy interesante, para el caso de granos superconductores puede encontrarse en la Ref. [8]. Di Lorenzo y colaboradores sugieren que, a través de mediciones de susceptibilidad magnética, es posible detectar efectos de paridad en granos superconductores pequeños.

A continuación presentamos un estudio experimental preliminar de las propiedades magnéticas de muestras superconductoras del sistema $\text{Bi}_{1.65}\text{Pb}_{0.35}\text{Sr}_2\text{Ca}_2\text{Cu}_3\text{O}_{10+y}$, obtenidas mediante la molienda mecánica de alta energía. De manera complementaria, fue estudiada la composición de fases de las mismas a través de la difracción de rayos – X. La contribución fundamental del trabajo está en la obtención y caracterización magnética de partículas superconductoras pequeñas. Es necesario aclarar que hemos preferido utilizar el término partícula pequeña (*small particle*) y no el de “nanopartícula”, pues el primero es el término históricamente utilizado en este tipo de estudios.

Tabla I

Algunos parámetros de las muestras estudiadas en este trabajo: t_m es el tiempo de molienda, L_g es el tamaño medio de los granos, T_{eff} es la temperatura donde la curva de susceptibilidad tiene un mínimo, y δ/Δ_0 es la razón entre el espaciado medio de los niveles accesibles por electrones y la energía de condensación superconductora, respectivamente.

Muestra	t_m (min)	L_g (nm)	T_{eff} (K)	δ/Δ_0
EMH150	150	31	25	0.02
EMH164	164	29	35	0.07
EMH179	179	26	45	0.15
EMH210	210	17	92	0.50

2 Procedimiento experimental

Las muestras con composición de partida $\text{Bi}_{1.65}\text{Pb}_{0.35}\text{Sr}_2\text{Ca}_2\text{Cu}_3\text{O}_{10+y}$ fueron preparadas mediante el método cerámico tradicional.⁹ En este caso se pesaron en proporciones adecuadas y se mezclaron óxidos y carbonatos de los siguientes compuestos químicos: Bi_2O_3 , PbO , SrCO_3 , CaCO_3 , CuO ; todos con un 99.99 % de pureza. Luego de mezclar los polvos, estos fueron tratados térmicamente a 750 °C, por 40 horas, en aire. El material resultante se molió en un mortero ágata durante aproximadamente 15 minutos, luego se compactó a una presión uniaxial de 253 MPa, se calcinó a 800 °C durante 40 horas en aire y después, fue molido nuevamente. Este

polvo fue compactado nuevamente a 253 MPa y sinterizado tres veces a 845 °C, durante 40 horas, con pasos intermedios de enfriamiento, molida y compactación uniaxial a 253 MPa.

Finalmente, las pastillas obtenidas fueron nuevamente molidas, primero en un mortero ágata durante 15 minutos y luego, el polvo obtenido se trituró en un molino de alta energía FRITSCH Planetary Ball Mill pulverisette 5. Cada cierto tiempo, t_m , fue extraída una muestra de polvo para su análisis (ver Tabla I).

El análisis de la composición de fase se realizó a través de la difracción de rayos X en muestras en forma de polvo. Las mediciones se llevaron a cabo utilizando un difractómetro Bruker - AXS D8, variando 2θ entre 3 y 80 grados, con un paso angular de 0.05° y un tiempo de exposición de 5 segundos.

Con el objetivo de estudiar el comportamiento magnético de las muestras, en forma de polvo, se realizaron mediciones de magnetización como función de la temperatura, $M(T)$, en un SQUID modelo XL-2000 (Quantum Design). Para este tipo de mediciones, la muestra primeramente se enfrió en ausencia de campo magnético externo (B_a) hasta una temperatura de 5 K. Al alcanzarse ese valor, se aplicó un campo magnético de 50 Oe y a partir de aquí los datos de magnetización fueron tomados durante el calentamiento de la muestra hasta los 300 K (Curva Zero Field Cooled (ZFC)).

3 Resultados y discusión

La figura 1 muestra los patrones de rayos X de las muestras EMH150, EMH164, EMH179 y EMH210, en el intervalo $20 \leq 2\theta \leq 40$ grados. A modo de comparación se incluyó el patrón obtenido para el polvo antes de iniciar la trituración en el molino de alta energía.

Los resultados indican que la composición de fase en todos los casos es muy similar, correspondiendo mayoritariamente a la fase Bi-2223, lo cual puede verificarse a través de los índices de Miller indicados en el panel (a). Todos ellos están referidos a la mencionada fase según lo reportado en la Ref. [9]. Nótese además que, al aumentar el tiempo de molida de los polvos, los picos de los patrones correspondientes a la fase Bi-2223 comienzan a ensancharse. Se encontró que, para tiempos mayores de 210 minutos, las muestras estaban completamente amorfizadas.

Una determinación preliminar del tamaño de los granos, L_g , mediante la fórmula de Scherrer¹⁰ indica que se encuentran en el rango entre 31 nm y 17 nm (ver Tabla I). Es justo reconocer que una estimación más precisa del tamaño o distribución de tamaños de los granos debe hacerse a través de un análisis de microscopía electrónica, los cuales están siendo realizados actualmente.

En la Fig. 2 se exhiben las curvas $\chi(T)/\chi(300 \text{ K})$, normalizadas respecto al valor de susceptibilidad magnética en $T = 300 \text{ K}$, de las muestras EMH150, EMH164, EMH179, y EMH210 en el caso ZFC. Debemos destacar que todas las curvas pasan al estado superconductor para

temperaturas inferiores a $T_{cg} \sim 106 \text{ K}$, la cual es cercana a la temperatura de transición al estado superconductor de la fase Bi-2223 ($\sim 110 \text{ K}$).

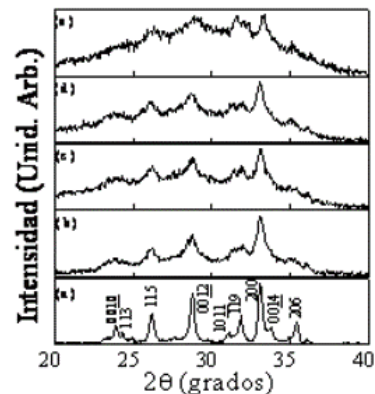


Figura 1. Patrones de rayos X de las muestras EMH150, EMH164, EMH179 y EMH210. Los índices de Miller e las reflexiones asociadas con la fase Bi-2223 se indican en el panel (a).

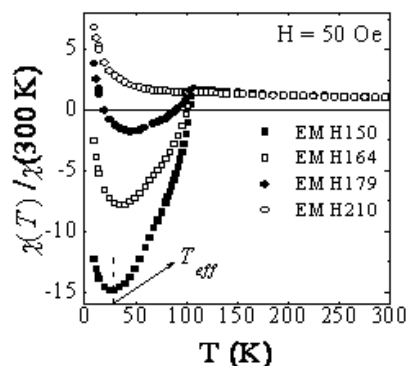


Figura 2. Susceptibilidad magnética normalizada como función de la temperatura para las muestras EMH150, EMH164, EMH179 y EMH210.

En el caso de las muestras EMH150, EMH164 y EMH179, el comportamiento es cualitativamente similar. Para temperaturas inferiores a 106 K, la susceptibilidad disminuye siguiendo un típico comportamiento diamagnético hasta alcanzar un mínimo para $T \approx T_{eff}$. Para valores de temperatura inferiores a T_{eff} , aparece un comportamiento paramagnético en todas las curvas. A diferencia de las curvas pertenecientes a las muestras EMH150 y EMH169, el comportamiento paramagnético de la muestra EMH179 comienza exhibiendo valores positivos y pasa a la zona diamagnética para $T \sim 20 \text{ K}$. La muestra EMH210 presenta un comportamiento paramagnético en todo el rango de temperaturas, no observándose ninguna señal superconductor en la misma.

Los resultados mostrados anteriormente indican que el comportamiento superconductor de los granos que conforman nuestras muestras es muy similar, lo que puede ser atribuido a que éstas poseen la misma composición química, tal y como fuera destacado en el análisis de los patrones de rayos X. De dicha conclusión es posible inferir que la diferencia fundamental entre las muestras estudiadas debe radicar, lógicamente, en cambios en la distribución de tamaños de los granos que las componen con el aumento del tiempo de molida.

De acuerdo a lo descrito en la Ref. [8], el comportamiento de la susceptibilidad magnética en función de la temperatura de un grano superconductor pequeño ($\delta \sim \Delta_0$) está fuertemente influenciado por el número de elec-

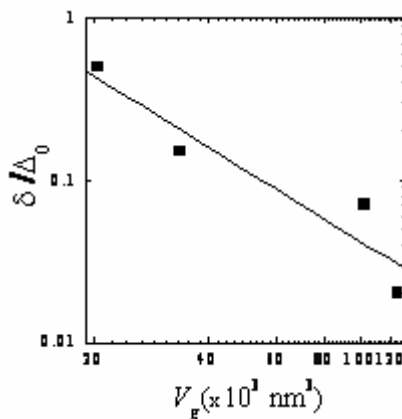
trones, N . En este tipo de muestras formadas por granos aislados tenemos que N es constante, de ahí que se tendrán diferentes comportamientos en los casos que N sea par o impar. Los efectos de paridad se manifiestan para temperaturas inferiores a cierta temperatura, T_{eff} , dada por la relación:^{6,8}

$$T_{eff} \cong \frac{\Delta_0}{k_B \ln(\sqrt{8\pi\Delta_0}/\delta)} \quad (1)$$

donde k_B es la constante de Boltzmann; Δ_0 ($\sim k_B T_c$), es la energía de condensación superconductor; y δ , es el espaciado medio de los niveles accesibles por los electrones. De esta forma, si N es impar, tendremos un electrón sin parear que contribuirá, en presencia de campo magnético de forma paramagnética ($\chi \sim 1/T$).⁸

Lógicamente, en las muestras estudiadas en este trabajo existe una distribución de tamaños de grano. Todo parece indicar que los de mayor tamaño, del orden de las micras, son los responsables de la señal diamagnética observada entre T_c y T_{eff} (ver Fig. 2). Para temperaturas cercanas y menores que T_{eff} , comienzan a manifestarse los efectos de paridad. Granos con número par contribuyen de forma exponencial a la susceptibilidad aunque, de acuerdo a lo observado en la Fig. 2, esta es despreciable al lado del comportamiento paramagnético.⁸

Figura 3. Razón δ/Δ_0 como función del volumen medio de los granos. La línea corresponde a un ajuste lineal.



A partir de los valores de T_{eff} reportados en la Tabla I, es posible estimar la razón δ/Δ_0 , mediante la ecuación (1), y los resultados obtenidos son presentados igualmente en la mencionada tabla. Nótese que en todos los casos $\delta < \Delta_0$. Amerita recalcar que los valores de δ/Δ_0 corresponden a valores medios. En la muestra EMH210 se prevé que δ sea del orden de Δ_0 pues el comportamiento en todo el rango de temperaturas es del tipo paramagnético.⁸ Sin embargo, una determinación adecuada de la distribución de tamaños de granos de las muestras, permitiría estudiar de forma más precisa los aportes de cada rango de tamaños a la susceptibilidad.

Por otro lado, la Fig. 3 muestra el comportamiento de la razón δ/Δ_0 en función del volumen medio de los granos, V_g . Aquí, para simplificar hemos considerado granos esféricos. De lo reportado en las Refs. [4, 6] se tiene que $\delta \sim 1/N(0)V_g$, donde $N(0)$ es la densidad de estados. Por

lo tanto, el resultado mostrado en la Fig. 3, aunque preliminar, indica que el comportamiento cualitativo de la curva es adecuado.

3 Conclusiones

Basándonos en los resultados obtenidos anteriormente puede concluir que: (i) utilizando molinos de alta energía es posible obtener granos superconductores pequeños, (ii) los patrones de rayos - X muestran un ensanchamiento progresivo de las distintas reflexiones con el aumento del tiempo de molienda y (iii) las mediciones de susceptibilidad magnética como función de la temperatura confirman que este tipo de medida resulta adecuada para “detectar” efectos de paridad en granos superconductores de pequeño tamaño. De las mediciones de susceptibilidad magnética es posible determinar el espaciado medio de los niveles accesibles por los electrones, δ . Una determinación más precisa de la distribución del tamaño de los granos permitirá realizar un estudio cuantitativo más preciso de la influencia del tamaño sobre las propiedades superconductoras para este tipo de sistemas.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por las agencias brasileñas Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), bajo el proyecto 05/53241-9, y el Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), bajo el proyecto 473932/2007-5. E.G-A. agradece a la FAPESP por la financiación del proyecto 2008/52955-6 y R.F.J. a la CNPq por la del proyecto 308706/2007-2. Se agradece de forma especial a Michelle Álvarez Amargós por las correcciones realizadas al manuscrito original.

Referencias

1. P.W. Anderson, J. Phys. Chem. Solids 11, 28 (1959).
2. J. Bardeen, L.N. Cooper, J.R. Schrieffer, Phys. Rev. 108, 1175 (1957).
3. R. Denton, B. Muhlschlegel, D.J. Scalapino, Phys. Rev. B 6, 707 (1971).
4. B. Muhlschlegel, D.J. Scalapino, and R. Denton, Phys. Rev. B 6, 1767 (1972).
5. D.C. Ralph, C.T. Black, and M. Tinkham, Phys. Rev. Lett. 76, 688 (1996).
6. M. T. Tuominen, J. M. Hergenrother, T. S. Tighe, M. Tinkham, Phys. Rev. Lett. 69, 1997 (1992).
7. C. P. Poole, F. J. Owens, Introduction to nanotechnology (John Wiley & Sons, New Jersey, 2003).
8. A. Di Lorenzo, R. Fazio, F.W. J. Hekking, G. Falci, A. Mastellone, G. Giaquinta, Phys. Rev. Lett. 84, 550 (2000).
9. P. Muné, E. Govea-Alcaide, R. F. Jardim, Physica C 384, 491 (2003).
10. C. Suryanarayana, Progress in Materials Science 46, 1 (2001).

Caracterización del mineral zeolítico para el desarrollo de materiales nanoestructurados

G. Rodríguez-Fuentes[†] e I. Rodríguez-Iznaga

Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales (IMRE), Universidad de La Habana, Cuba;
gerardo@fisica.uh.cu[†], inocente@fisica.uh.cu

[†]autor para la correspondencia

Recibido el 3/03/2009. Aprobado en versión final el 20/06/2009,

Sumario. El estudio de muestras representativas de dos yacimientos de clinoptilolita natural ha demostrado que la morfología de los cristales, produce una influencia significativa en el proceso de intercambio iónico de la zeolita. Los parámetros cinéticos determinados para el intercambio del amonio a temperatura ambiente y 100°C son diferentes. La energía de activación del proceso de intercambio es 14.1 KJ.mol⁻¹ cuando el amonio fue intercambiado en la muestra representativa del mineral de un pozo de perforación (0 – 30 m), mientras que la energía del mismo proceso es alrededor de 3 KJ.mol⁻¹ para una muestra representativa de la zona de intemperismo (0 – 7 m). Los parámetros cinéticos del intercambio de Ni²⁺ y Co²⁺ varían entre las muestras de dos yacimientos aún cuando ellas hayan sido extraídas de similares perfiles, debido a la morfología de los cristales.

Abstract. The study of representative samples from two natural clinoptilolite deposits has shown that the morphology of the crystal, produces a significant influence on the ion exchange process of the zeolite. The determined kinetic parameters of the ammonium exchange at room temperature and 100° C are different. The activation energy of the exchange process is 14.1 KJ.mol⁻¹ when the ammonium was exchanged in the sample representative of the mineral from a drill hole (0 - 30 meters), while the energy of the same process is about 3 KJ.mol⁻¹ for a sample representative of the weathered horizon (0 - 7 meters). The kinetic parameters of the exchange of Ni²⁺ and Co²⁺ are different for the samples from both deposits even when the samples were extracted from similar section, as a consequence of the crystal morphology.

Palabras clave. Reactions in zeolites 82.33, Absorption spectroscopy in chemical analysis 82.80.Dx, x-ray diffraction and scattering methods 61.05.C-, x-ray powder diffraction 61.05 cp

1 Introducción

La obtención de un nuevo material zeolítico nanoestructurado demanda de una materia prima zeolítica homogénea y que pueda disponerse de ella en cada momento que se necesite elaborar el producto. Quizás la principal dificultad de las zeolitas naturales es obtener una muestra representativa de todo el yacimiento. Los especialistas en zeolitas naturales conocen este *handicap* y han buscado soluciones. Disponer de tal muestra permitiría realizar un

estudio minucioso de caracterización de las propiedades físicas y químicas, que permita el diseño y desarrollo de materiales y productos empleando una materia prima única, con resultados altamente reproducibles y utilidades confiables.

Las zeolitas poseen cavidades que se utilizan como “nanoreactores” para la producción y soporte de nanomateriales pues poseen dimensiones del orden de nanómetros. Estas cavidades están bien definidas, bien ordenadas y conectadas formando canales. El acceso a esas

cavidades se tiene a través de ventanas que permiten el transporte de los reactantes necesarios para obtener las nanopartículas. Las dimensiones de las cavidades zeolíticas limitan el crecimiento de las nanopartículas¹.

Empleando la clinoptilolita natural del yacimiento Tasajeras B. Concepción et al.² han obtenido nanopartículas de plata con propiedades microbicidas para su empleo en el desarrollo de medicamentos. Los autores tuvieron que estudiar detenidamente el informe geológico del yacimiento para encontrar una muestra que reuniera no solo las características de materia prima con la homogeneidad requerida en cuanto a propiedades físico-químicas y composición de fases minerales, sino que también fuera apta para la industria farmacéutica.

En términos geológicos se habla de extraer de la manifestación una muestra tecnológica representativa, con un volumen que puede oscilar entre algunas toneladas y cientos de toneladas, para realizar los estudios de caracterización y posibles usos. En términos mineros se habla de extraer el mineral con una ley o contenido de la fase mineral o metal representativo. Todos los especialistas y en especial los ingenieros metalúrgicos saben que para conformar tal muestra se requiere de una extracción del mineral que represente el yacimiento. Esa masa del mineral se homogeniza de forma exhaustiva previo al procesamiento metalúrgico.

La tarea de obtener una muestra representativa de un yacimiento de zeolita natural es difícil debido a la variabilidad en la composición de fases minerales zeolíticas y no zeolíticas, y la composición elemental en particular de los cationes intercambiables. Las variaciones más pequeñas determinan significativamente las propiedades de la zeolita. Un estudio como el presente con fines de aplicación industrial requiere de reservas del mineral que posibiliten producir una muestra lo más homogénea posible en sus propiedades físicas y químicas.

El reporte del estudio geológico detallado del yacimiento, permite determinar el sector de donde conformar la muestra tecnológica y la forma de hacerlo. Una de las formas es utilizar las muestras del mineral extraídas de un único pozo geológico a diferentes profundidades. La otra manera emplea las muestras de varios pozos próximos tomadas hasta una misma profundidad. Ambas formas deben asegurar una reserva importante del mineral.

E.M. González et al.³ evaluaron los reportes de los estudios geológicos de los yacimientos de zeolitas naturales Castilla, Tasajeras, Las Pulgas y Caimanes de Cuba. Los autores observaron una regularidad: “no existen marcadas diferencias entre las rocas intemperizadas y las mejor conservadas” ... “la mayoría de los yacimientos del país tienen mayor contenido de cationes de calcio con relación al sodio en la zona de intemperismo, pero esto ocurre hasta unos 4 metros de profundidad aproximadamente, a partir de aquí se observa un aumento brusco del contenido de sodio y por consiguiente igual disminución de los contenidos de calcio intercambiable”.

La primera variante es la menos empleada porque limita la vida útil del yacimiento, sin embargo, su empleo garantiza una calidad óptima del mineral pues su extrac-

ción es prácticamente puntual. Usualmente la muestra tecnológica de un yacimiento de zeolitas se conforma utilizando la segunda opción, para dar lugar a un proyecto de explotación minera para extraer el mineral en un sector del yacimiento, de algunas decenas de metros de largo y ancho, y profundidad manteniendo la calidad del mineral.

La calidad o ley de un mineral que contenga zeolitas se expresa por el contenido total de fases zeolíticas o el contenido de una fase. Sin embargo, la presencia de otras fases minerales no zeolíticas, la composición química, los elementos tóxicos, la capacidad de intercambio iónico, las propiedades físico-mecánicas, etc., son también consideradas pero en un segundo lugar. Otras características como la morfología de los cristales no se consideran, aun cuando está bien establecida la relación directa entre la forma y dimensiones de los cristales de una zeolita y sus propiedades de intercambio iónico².

Tabla I
Composición química y de fases minerales de las cuatro muestras extraídas del pozo No.6

Fases minerales [%]	MUESTRA			
	64	65	66	67
CLI	77.4	68.5	76.7	82.0
MOR	11.2	17.1	14.3	18.0
Total zeolita	88.6	85.6	91.0	100.0
Otras fases	C	C, Q	C, Q	C, Q, F
Análisis químico [% en peso]				
SiO ₂	66.19	65.55	64.66	64.026
Al ₂ O ₃	11.70	11.34	11.61	12.14
Fe ₂ O ₃	2.26	1.79	2.11	2.24
FeO	0.25	0.39	0.25	0.57
MgO	0.64	0.49	0.51	0.67
CaO	4.48	3.68	3.14	3.67
Na ₂ O	1.52	3.37	1.98	3.77
K ₂ O	1.31	1.39	1.71	1.30
H ₂ O	11.65	12.00	14.03	11.38
CLI = clinoptilolita MOR = mordenita C = calcita Q = cuarzo F = feldespato				

G. Rodríguez-Fuentes et al.⁴ estudiaron la relación entre la morfología de los cristales de clinoptilolita CLI y heulandita HEU, de al menos 6 yacimientos de zeolitas naturales cubanas, con su composición de cationes naturales. Los autores emplearon la microscopía electrónica de barrido SEM y el microanálisis de energías dispersadas EDS de Rayos X. La presencia natural de un contenido mayor de calcio quedó relacionada con el hábito tabular de estas dos zeolitas, mientras que el hábito de listones aparecía relacionado con un contenido de sodio relativo mayor, quedando el hábito lamelar para un mayor contenido de potasio. Esta relación se había establecido para las zeolitas sintéticas.

Esta relación directa entre morfología de la CLI-HEU y su composición natural de cationes de compensación, debe también manifestarse en su comportamiento durante el intercambio iónico, y determinar la utilidad del mineral en procesos basados en esta propiedad. Durante la

nano-estructuración de la zeolita es necesario disponer de un mismo acceso a las ventanas de los canales por los iones a incorporar, y de ahí a los sitios de intercambio en las cavidades dispuestas en cada celda unitaria, lugar donde se verifica el intercambio y la inserción del nuevo catión de compensación de la estructura.

El presente trabajo expone los resultados de la caracterización de dos muestras tecnológicas del yacimiento Tasajeras, región central de Cuba, preparadas de diferente manera atendiendo a la extracción del mineral. La primera muestra fue preparada con el mineral extraído de un solo pozo de perforación, aquel donde el mineral tenía el mayor contenido en fases zeolíticas. La segunda con el mineral extraído de un perfil horizontal del yacimiento. Además, es incluida una muestra tecnológica del yacimiento de Caimanes, localizado en la provincia Holguín de la región oriental cubana. Se han estudiado las composiciones químicas y de fases minerales, las propiedades de intercambio iónico y la morfología de los cristallitos de clinoptilolita-heulandita. El objetivo final es disponer de una materia prima zeolítica homogénea en todas sus propiedades y que permita su uso en el desarrollo de materiales zeolíticos nano-estructurados.

2 Experimental

La muestra tecnológica CMT-C fue preparada con un contenido en peso de cada una de las muestras 64, 65, 66 y 67 de roca zeolítica, de acuerdo al grado de representatividad de la misma en metros de profundidad del pozo No.6 del estudio geológico detallado del Yacimiento Tasajeras, provincia de Villa Clara, región central de Cuba.

NZ I y NZ II son dos muestras del mineral beneficiado según el procedimiento desarrollado por G. Rodríguez-Fuentes *et al.*⁵, obtenidas de las muestras tecnológicas RM I y RM II respectivamente extraídas en el perfil hasta 7 metros una vez eliminada la cubierta de rocas intemperizadas de los yacimientos Tasajeras y Caimanes respectivamente. Las formas homoiónicas de amonio de CMT-C y NZ se obtuvieron mediante tratamiento hidrotermal con solución de NH_4Cl 1 M, a la temperatura de 100°C renovando la solución cada 24 horas durante 7 días.

Se determinó la composición química y de fases minerales de las muestras mediante Espectrometría de Absorción Atómica y Difracción de Rayos X respectivamente. Las propiedades de intercambio iónico de las muestras se establecieron en estudios cinéticos de intercambio de iones amonio empleando disoluciones de sales solubles de amonio, níquel y cobalto a concentraciones de 0.15 y 3.0 mol/L, a temperatura ambiente (22°C) y ebullición (100°C).

Cortes frescos de rocas del mineral se utilizaron para el estudio por microscopía electrónica de barrido (SEM). Las muestras fueron pegadas a los portamuestras para depositarles una capa de oro previo a la observación en un microscopio electrónico JEOL 100 CX con ASID 4D

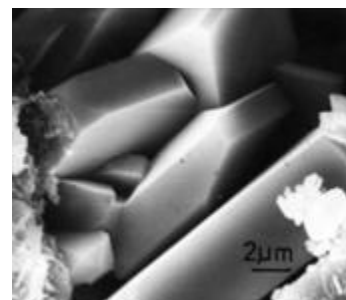
y sistema Link acoplado para estudios de microanálisis por dispersión de rayos X EDS.

3 Resultados y discusión

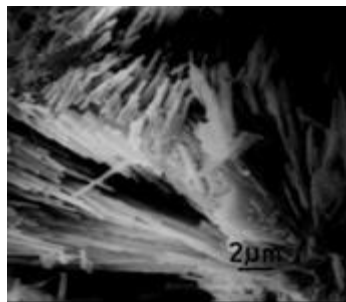
En la Tabla I se presenta la composición química y de fases minerales de las muestras del mineral zeolítico extraídas a diferentes profundidades. De muestra a muestra hay una diferencia significativa en el contenido total de fases zeolíticas. De la misma manera puede observarse la variabilidad en el contenido de hierro, calcio y sodio de una muestra a otra. Tanto el calcio como el sodio son los elementos de mayor grado de intercambio en esta zeolita. Esta inhomogeneidad determina una de las principales dificultades para la utilización del mineral.

El estudio por SEM y EDS por MEDRX demostró que los cristales de CLI presente en las muestras tenían una morfología diferente tabular, listones y lamelar, que se relacionó con la composición catiónica natural.

Figuras 1 y 2. Cristales de clinoptilolita con morfología a) (arr.) tabular que corresponde con alto contenido de calcio y b) (ab.) de listones y alto contenido de sodio. ►

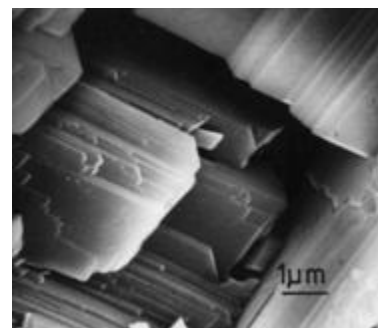


Los cristales con morfología tabular tenían un contenido en calcio elevado (Figura 1), mientras que los cristales con la morfología de listones poseían un contenido relativo de sodio mayor (Figura 2). Por otro lado,



pudo observarse que los cristales con morfología lamelar tenían un contenido relativo de potasio mayor (Figura 3)⁴. Esto también ha sido corroborado por los autores que han logrado obtener por síntesis esta zeolita.

Figura 3. Cristales de clinoptilolita con morfología lamelar y alto contenido de potasio. ►



En la Tabla II se presenta la composición química y de fases minerales de dos muestras de la materia prima

zeolítica extraídas por encima de los 7 metros de profundidad, antes y después del beneficio.

Nótese como el beneficio enriquece el contenido en clinoptilolita fundamentalmente eliminando una parte importante de las fases minerales no zeolíticas: calcita, feldespato, montmorillonita y cuarzo.

El proceso de intercambio ión amonio (NH_4^+) con los cationes naturales presentes en las muestras CMT-C y NZ transcurre de manera muy diferente. Como se puede apreciar a la temperatura de 100°C la velocidad de reacción para la difusión externa se diferencia en dos órdenes de magnitud, siendo superior la muestra CMT-C. Es obvio que la principal causa es la concentración del amonio en las disoluciones de intercambio que era de 3 mol/L para la muestra CMT-C y 0.15 mol/L para la NZ II.

Sin embargo, este efecto no establece ninguna influencia durante el proceso de difusión interna cuando el intercambio está regido por la zeolita, tal y como es el caso de la CLI. Los datos presentados en las Tablas III y IV expresan una diferencia significativa para esta etapa del proceso de intercambio, en los coeficientes de difusión interna efectivo y constante de velocidad para ambas muestras para las dos temperaturas de reacción, y entre ellas mismas. La diferencia está determinada por la interdifusión de los iones en los canales de la clinoptilolita, como expresión última de la sustitución en las posiciones catiónicas de los cationes de compensación por el amonio.

Como hemos discutido anteriormente la población de cationes de compensación es la misma pero su contenido es muy diferente. Mientras que CMT-C está compuesta por muestras de clinoptilolita de diferente contenido en calcio, potasio y sodio, y cristales de morfología variada tabular, listones y lamelar; NZ es una CLI cálcica, con cristales de morfología tabular.

La diferencia en las energías de activación del proceso determinadas de 14.1 KJ/mol para la muestra CMT-C y de 3 KJ/mol para la muestra NZ confirman que el proceso de intercambio iónico del amonio en la CLI transcurre con mayor rapidez en la muestra NZ. La presencia mayoritaria del ión calcio como catión de compensación y la morfología tabular de los cristales han favorecido el proceso. En la CLI presente en la muestra CMT-C la presencia natural de más cationes sodio y potasio además de determinar una morfología de los cristales totalmente diferente, modifican la interdifusión de los cationes. Esto sugiere la necesidad de una homogenización química del mineral antes de cualquier modificación y utilización, ya que la homogenización de la morfología de los cristales solo es posible mediante una extracción selectiva del mineral.

Intercambio iónico de amonio, níquel y cobalto.

La industria cubana del níquel es una de las más grandes del mundo. Dos de las tres plantas en operación utilizan el proceso Caron para el procesamiento del mineral laterítico. Este proceso está basado en la lixiviación del Ni y Co del mineral empleando licores carbonatoamoniacaes concentrados. Las aguas residuales de estas plantas son

licores carbonatoamoniacaes diluidos que contienen amonio, níquel y cobalto en cantidades importantes. Desde 1980 ha sido objeto de nuestros estudios el potencial uso de la clinoptilolita natural de varios yacimientos cubanos^{6,7}. Los resultados nos han permitido alcanzar interesantes conclusiones sobre el intercambio de estos iones en materiales desarrollados a partir de esos minerales^{8,9}.

Tabla II

Composición química y de fases minerales de las materias primas zeolíticas I y II, y las correspondientes muestras de mineral beneficiado I y II

Fases minerales [%]	MUESTRA			
	RM I	RM II	NZ I	NZ II
CLI	53.0	52.0	77.0	85.0
MOR	17.0	15.0	5.0	-
Total	70.0	67.0	82.0	85.0
Otras fases	C,F,M,Q	C,F,M,Q	C,F,M,Q	C,F,M,Q
Análisis químico [% en peso]				
SiO_2	64.27	63.00	66.00	63.20
Al_2O_3	13.72	11.57	10.96	10.13
Fe_2O_3	2.74	1.87	1.80	3.05
FeO	0.81	0.81	0.50	-
MgO	1.22	0.29	0.9	1.13
CaO	4.96	5.78	4.51	3.92
Na_2O	2.21	2.39	0.97	0.93
K_2O	1.19	1.49	1.00	1.42
H_2O	8.88	12.80	13.36	16.22

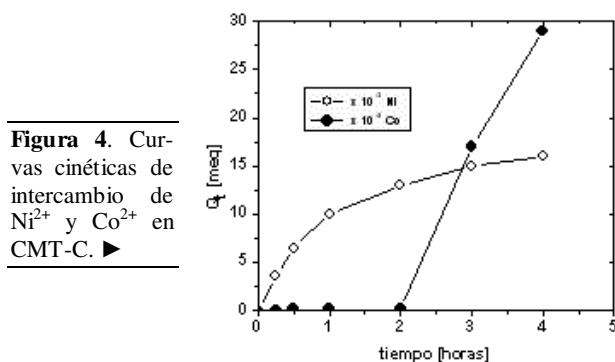


Figura 4. Curvas cinéticas de intercambio de Ni^{2+} y Co^{2+} en CMT-C. ►

Tabla III

Parámetros cinéticos del proceso de difusión externa del amonio en la CLI

Muestra	Conc. NH_4^+ disolución [mol/L]	Temp. reacción $^\circ\text{C}$	Velocidad reacción dQ/dt [meq/seg]	Constante reacción R [seg $^{-1}$]
CMT-C	3.0	25	-	-
CMT-C	3.0	100	2.14×10^{-2}	2.06×10^{-2}
NZ II	0.15	25	-	-
NZ II	0.15	100	2.95×10^{-4}	3.5×10^{-4}

Los parámetros cinéticos determinados para el intercambio de amonio y níquel en la clinoptilolita contenida en la muestra CMT-C del yacimiento Tasajeras muestras

una diferencia significativa determinados para la muestra beneficiada del yacimiento Caimanes (NZ-C) que es similar a la observada para la muestra NZ del yacimiento Tasajeras. En la Tabla V son presentados los parámetros determinados para ambas muestras luego de su homogenización química con amonio. La reacción de intercambio de los iones níquel es más rápida en NZ que en CMT-C. La razón es la diversidad de cationes a intercambiar en CMT-C y a la morfología de los cristales de ambas muestras.

La velocidad de reacción para la difusión externa del cobalto también aumenta solo en un orden de magnitud. Este aumento de la velocidad de reacción no solo se observa para el proceso de difusión externa, se observa también para la difusión interna, si bien la constante de velocidad de reacción aumenta de las muestras CMT-C y $\text{NH}_4\text{-CMT-C}$ a $\text{NH}_4\text{-NZ-C}$, el coeficiente de difusión interna de los cationes se mantiene prácticamente constante. Por otra parte, entre ambos cationes se observa una diferencia significativa en las velocidades de reacción para la difusión externa.

La extracción de los iones níquel y cobalto de los licres carbonatoamoniales resultó efectiva, pero una extracción selectiva de ellos también fue observada en las tres muestras. En la Figura 4 se presentan las curvas cinéticas en las que se observa una mayor selectividad para el cobalto que para el níquel. Esta selectividad permite la separación cromatográfica de ambos cationes.

Nuevamente la morfología de los cristales establece una influencia marcada en el proceso de difusión externa entre las muestras CMT-C y las NZ. Barrer¹⁰ demostró teóricamente esa marcada influencia al evaluar las ecuaciones de Fick para diferentes modelos de cristales, obteniendo los mejores resultados de ajuste para cristales con morfología esférica. Si observamos detenidamente las morfologías de los cristales de clinoptilolita, la morfología lamelar responde más a un modelo bidimensional de cristales lo que establece una preferencia en un plano para el intercambio de los cationes, mientras que la morfología de listones se acerca más a una geometría lineal. Ambas establecen direcciones preferenciales al intercambio. Sin embargo, la morfología tabular es una geometría tridimensional y se acerca más a una esfera, lo que no establece preferencia a la aproximación de los iones a las ventanas de los canales de la zeolita. Estos resultados confirman experimentalmente lo propuesto por Barrer¹⁰ en su modelo teórico, y que fuera discutido por Chelishchev¹¹ al trabajar con muestras de zeolitas naturales con variada morfología y no encontrar una correlación.

De manera que para obtener un material zeolítico nano-estructurado empleando una heulandita-clinoptilolita natural debe seleccionarse el mineral que contiene solo una morfología de la zeolita, preferiblemente tabular.

4 Conclusiones

Una muestra conformada con el mineral extraído a dife-

rentes profundidades posee variabilidad en la composición química, la morfología de los cristales y las características de la toba. La homogenización solo puede realizarse químicamente para estabilizar la composición de los cationes intercambiables.

La muestra conformada con el mineral extraído hasta una profundidad determinada, solo presenta variabilidad en la composición de fases minerales que puede compensarse con una separación en lecho fluidizado. La composición química es poco variable y la morfología de los cristales es la misma. Esta muestra resulta la más cercana a la óptima para el diseño y desarrollo de un material zeolítico nano-estructurado.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al IMRE y la Universidad de La Habana por el apoyo recibido en la realización de estos estudios.

Tabla IV
Parámetros cinéticos de los procesos de difusión interna del amonio en la CLI

Muestra	Conc. NH_4^+ disol. [mol/L]	Temp [°C]	Coef. Difusión Interna Efectivo D [cm ² /seg]	Constante Velocidad Reacc. B [seg ⁻¹]	Energ. Act. [KJ/mol]
CMT-C	3.0	25	7.17×10^{-12}	1.76×10^{-7}	14.1
CMT-C	3.0	100	1.15×10^{-10}	7.10×10^{-7}	
NZ II	0.15	25	1.91×10^{-8}	1.7×10^{-4}	3.0
NZ II	0.15	100	2.42×10^{-8}	2.13×10^{-4}	

Tabla V
Parámetros cinéticos determinados para el intercambio de Ni^{2+} y Co^{2+} de licres carbonatoamoniales

Muestra	Difusión Externa		Difusión Interna	
	Vel. reacc dQ/dt [meq/s]	Constante Reacción R [seg ⁻¹]	Coef. Difusión Interna D [cm ² /seg]	Constante Reacción B [seg ⁻¹]
CMT-C				
Co^{2+}	2.83×10^{-6}	0.0266	4.94×10^{-12}	1.22×10^{-7}
Ni^{2+}	3.53×10^{-8}	1.77×10^{-3}	2.50×10^{-12}	6.17×10^{-8}
$\text{NH}_4\text{-CMT-C}$				
Co^{2+}	1.13×10^{-5}	0.0849	4.55×10^{-12}	1.12×10^{-7}
Ni^{2+}	4.13×10^{-8}	1.85×10^{-3}	2.09×10^{-12}	5.17×10^{-8}
$\text{NH}_4\text{-NZ-C}$				
Co^{2+}	0.59×10^{-4}	0.07×10^{-4}	2.4×10^{-12}	0.24×10^{-5}
Ni^{2+}	0.40×10^{-5}	0.26×10^{-4}	17.9×10^{-12}	1.68×10^{-5}

Referencias

1. R.W. Kelsall, I.W. Hamley and M. Geoghegan, Nano-scale Science and Technology, John Wiley & Sons, Ltd. 49-50, (2005)
2. B. Concepción-Rosabal, G. Rodríguez-Fuentes, N. Bog-

danchikova, P. Bosch, M. Avalos, V.H. Lara. *Microporous and Mesoporous Materials* 86 249–255, (2005)

3. E.M. González. L.A. Reyes, F. Cruz, R. Pupo, D. Méndez, *Memorias 3ra Conf. Int. Zeolitas Naturales Parte 1.*, G. Rodríguez-Fuentes y J.A. González editores, Publicaciones Palacio de Convenciones, Cuba, 49-52, (1991).

4. G. Rodríguez-Fuentes, C. Lariot, R. Roque. *Cuban Natural Zeolites: Morphological Studies by Electron Microscopy*, *Zeolites, Stu. Surf. Sci. Cat. Vol 24*, Ed. H. Drzaj, S. Hocevar and S. Pejovnik, Elsevier Sci. Pub., B.V. Amsterdam, 375, (1985)

5. G. Rodríguez-Fuentes, M.A. Barrios, A. Iraizoz, I. Perdomo, B. Cedré. *Zeolites*, Vol.19, 441-448, (1997)

6. G. Rodríguez-Fuentes, tesis doctor en Ciencias Físicas,

CNIC, (1987)

7. I. Rodríguez-Iznaga, tesis doctor en Ciencias Químicas, IMRE, (2002)

8. I. Rodríguez-Iznaga, G. Rodríguez-Fuentes and A. Benítez-Aguilar, *Microporous and Mesoporous Materials* 41 129-136, (2000)

9. G. Rodríguez-Fuentes, A. Rivera Denis, M. A. Barrios, A. Alvarez, A. Iraizoz Colarte, *Microporous and Mesoporous Materials* 94 200–207, (2006)

10. R.M. Barrer. Zeolite RHO. Cation Exchange equilibria and kinetics, *J. Chem. Soc. Faraday I*, 76, 1038 (1980)

11. C. Chelishchev. Intercambio iónico de zeolitas naturales con alto contenido de silicio, *Nauka*, (1988)

Propiedades universales en el espectro de energías de puntos cuánticos semiconductores

Alexander Odriazola^a, Alain Delgado^{b†}, Augusto González^a

a) Instituto Cibernética, Matemática y Física, Ciudad de La Habana

b) Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear, Ciudad de la Habana, gran@icmf.inf.cu

Recibido el 6/04/2009. Aprobado en versión final el 18/06/09

Sumario. En un punto cuántico bidimensional con N electrones en la banda de conducción, confinados lateralmente por un potencial parabólico, la teoría de Thomas-Fermi predice que la energía del estado básico satisface la relación: $E_{gs}/(\hbar\omega) \approx N^{3/2}f_{gs}(N^{1/4}\beta)$, donde la constante de acoplamiento, β , es la razón entre las energías características de Coulomb y de oscilador ($\hbar\omega$) y f_{gs} es una función universal. Cálculos extensivos mediante el método de Interacción de Configuraciones son llevados a cabo para obtener las energías y funciones de ondas multielectrónicas del estado base y las excitaciones intrabandas e interbandas (excitónicas y biexcitónicas) en puntos cuánticos con decenas de electrones. Verificamos en los sistemas estudiados la predicción del método de Thomas-Fermi para las energías del estado base. Adicionalmente, mostramos que el número de niveles de energía en los espectros de excitaciones intrabandas e interbandas sigue una dependencia exponencial simple con la energía de excitación, cuyo exponente, $1/\Theta$, satisface también una ley de escala *à la* Thomas-Fermi, $\Theta/(\hbar\omega) \approx N^{-\gamma}g(N^{1/4}\beta)$. Del análisis de los espectros calculados y basándonos en argumentos físicos formulamos expresiones para las funciones universales f_{gs} y g . La estructura de la biblioteca numérica Libqdot, es presentada y descrita en términos de los módulos Fortran 90 que la componen.

Abstract. In a two-dimensional parabolic quantum dot charged with N electrons, Thomas-Fermi theory states that the ground-state energy satisfies the following non-trivial relation: $E_{gs}/(\hbar\omega) \approx N^{3/2}f_{gs}(N^{1/4}\beta)$, where the coupling constant, β , is the ratio between Coulomb and oscillator ($\hbar\omega$) characteristic energies, and f_{gs} is a universal function. We perform extensive Configuration Interaction calculations in order to verify that the exact energies of relatively large quantum dots approximately satisfy the above relation. In addition, we show that the number of energy levels for intraband and interband (excitonic and biexcitonic) excitations of the dot follows a simple exponential dependence on the excitation energy, whose exponent, $1/\Theta$, satisfies also an approximate scaling relation *à la* Thomas-Fermi, $\Theta/(\hbar\omega) \approx N^{-\gamma}g(N^{1/4}\beta)$. We provide an analytic expression for f_{gs} , based on two-point Padé approximants, and two-parameter fits for the g functions. The structure of the numerical library Libqdot, as well as the role of each Fortran 90 module is explained.

Palabras clave. puntos cuánticos 73.21.La, excitaciones electrónicas 73.20.Mf, teoría y modelación 73.43.Cd

1 Introducción

En la década del 80 el progreso alcanzado en las tecnologías de crecimiento de materiales y en el estudio de la física de las heteroestructuras semiconductoras bidimensionales y sus aplicaciones prácticas, motivó en gran parte de la comunidad científica el estudio de sistemas con una dimensionalidad aun más reducida: alambres cuánticos (*quantum wires*) y puntos cuánticos (*quantum dots*). A diferencia de los pozos cuánticos, donde los portadores están confinados en la dirección de crecimiento y pueden moverse libremente en un plano, los electrones en un alambre cuántico están confinados en dos direcciones espaciales y su movimiento libre es sólo posible a lo largo del eje del alambre¹. Los puntos cuánticos son, en efecto, “átomos artificiales” donde las partículas cargadas están confinadas en las tres direcciones espaciales y por tanto, están caracterizados por un espectro de energía completamente discreto².

Existen diversos métodos para la fabricación de estas nanoestructuras semiconductoras. Uno de los primeros, el método de ataque químico, permite obtener arreglos de puntos cuánticos a partir de una heteroestructura semiconductor que contiene un gas electrónico bidimensional mediante la combinación de técnicas litográficas de alta resolución y posteriormente, un ataque químico llevado a cabo con el uso de soluciones especiales. Mediante este procedimiento se obtienen muestras altamente homogéneas de puntos con simetría cilíndrica y dimensiones radiales entre 100 y 400 nm.³ Otro método consiste en la creación de electrodos microscópicos los cuales son depositados sobre la superficie de un pozo cuántico mediante técnicas litográficas. La aplicación de voltajes adecuados a estos electrodos produce un campo eléctrico espacialmente modulado que localiza los electrones dentro de un área sumamente pequeña⁴. Es posible también crear puntos cuánticos en la forma de microcristales semiconductores inmersos en matrices dieléctricas de vidrio⁵. Durante los últimos años se ha demostrado que un método ventajoso para la obtención de arreglos ordenados de átomos artificiales, es aquel que utiliza el fenómeno de la auto-organización o auto-ensamblaje sobre una superficie cristalina. Cuando la constante de la red del sustrato y el material cristalizado difieren considerablemente, solos las primeras monocapas cristalizan de forma epitaxial. Cuando cierto espesor crítico es excedido, la aparición de tensiones significativas en la capa conduce a un rompimiento de la estructura ordenada y a la creación espontánea de islotes distribuidos aleatoriamente con formas y tamaños similares. Esta transición de fase es conocida como transición de Stranski-Krastanow⁶. Los puntos cuánticos auto-ensamblados son nanoestructuras considerablemente pequeñas. Sus dimensiones típicas están en el orden de 20 nm en la dirección lateral y entre 2 y 5 nm en la dirección de crecimiento⁷.

Los procedimientos actuales implementados para la síntesis de estos “átomos artificiales” brindan la posibili-

dad de controlar sus dimensiones, su geometría, la estructura de sus niveles de energía así como el número de partículas confinadas en su interior. En ese sentido estas nanoestructuras constituyen mini-laboratorios que permiten la evaluación de métodos y formalismos de la Mecánica Cuántica. Por otra parte, sus posibles aplicaciones tecnológicas, han despertado un gran interés. Es conocido que los láseres diseñados sobre la base de puntos cuánticos muestran características superiores en comparación con los láseres que basan su funcionamiento en las propiedades ópticas de los pozos cuánticos^{8,9,10}. En las investigaciones en el área de la denominada computación cuántica estos sistemas físicos han sido estudiados con el objetivo de diseñar la unidad elemental de memoria (*qbit*) de un computador cuántico¹¹.

Numerosos esfuerzos, tanto teóricos como experimentales, se han hecho para la caracterización del espectro de excitación de sistemas multielectrónicos en puntos cuánticos. Esto último constituye una información necesaria para las investigaciones básicas y la concepción de nuevas aplicaciones basadas en estas nanoestructuras. Existen distintas técnicas ópticas para investigar las excitaciones electrónicas en puntos cuánticos. Entre las más usadas podemos mencionar la fotoluminiscencia (PL)³, experimentos de absorción intrabanda¹², interbanda¹³, absorción de dos fotones¹⁴, la espectroscopia Raman¹⁵, entre otras. Por otra parte, la modelación teórica de estas propiedades ópticas implica necesariamente conocer tanto las energías como las funciones de ondas asociadas a los estados multielectrónicos involucrados en el cálculo de las amplitudes de transición asociadas a los procesos ópticos mencionados.

En el presente trabajo llevamos a cabo cálculos extensivos mediante el Método de Interacción de Configuraciones (CI) para puntos cuánticos cargados con decenas de electrones ($20 \leq N \leq 90$). A partir de los resultados obtenidos mostramos que la energía del estado base escala como función de una variable definida en términos del número de electrones N confinados en el punto y la constante de acoplamiento coulombiano β . Además, demostramos que relaciones de escala similares son válidas para el número de estados excitados en los espectros de excitaciones intrabandas e interbandas. En este sentido proponemos parametrizaciones universales para la densidad de niveles de energía de estas nanoestructuras.

2 Escalamiento de la energía del estado base

En lo adelante consideraremos un punto cuántico cuasi-bidimensional en forma de disco con radio R , espesor L y poblado con N electrones en la banda de conducción. El confinamiento de los portadores en el plano del punto estará dado por un potencial parabólico con energía característica $\hbar\omega$. El Hamiltoniano multielectrónico en unidades de oscilador está dado por la siguiente ecua-

ción,

$$\frac{H}{\hbar\omega} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \{p_i^2 + r_i^2\} + \beta \sum_{i < j} \frac{1}{r_{ij}}, \quad (1)$$

donde $\beta = e^2/(\epsilon \ell \hbar\omega)$ es la relación entre la energía característica de Coulomb y la energía característica del punto, $\ell = \sqrt{\hbar/(m_e \omega)}$ es la longitud característica de oscilador, ϵ la constante dieléctrica del medio y m_e la masa efectiva del electrón en la banda de conducción.

Es posible demostrar en los marcos de la aproximación de Tomas-Fermi¹⁶ que la energía del estado base puede escribirse como:

$$\frac{E_{gs}}{(\hbar\omega)} = N^{3/2} f_{gs}(N^{1/4} \beta). \quad (2)$$

Nótese que en la Ec. (2) la energía del estado base depende de un solo parámetro, $z = N^{1/4} \beta$, el cual combina la constante de acoplamiento y el número de electrones. González y colaboradores propusieron en la Ref. [17] una expresión analítica para f_{gs} usando el Método de los Aproximantes de Padé en el límite de N grande,

$$\frac{E_{gs}}{\hbar\omega N^{3/2}} \approx \frac{2}{3} + \frac{0.698z + 1.5z^{4/3} + 2.175z^{5/3}}{1 + 2.149z^{1/3} + 1.5z^{2/3} + 2.175z}, \quad (3)$$

mostrando que el escalamiento predicho por la teoría de Thomas-Fermi es bastante general y compatible con los efectos cuánticos reales. Básicamente, la Ec. (3) interpola entre los casos límites $\beta \rightarrow 0$ (teoría de perturbaciones) y $\beta \rightarrow \infty$ (cristal de Wigner). Con el objetivo de verificar la relación universal (3) realizamos cálculos extensivos mediante el Método de Interacción de Configuraciones (CI) para puntos cuánticos cargados.

El punto de partida es la solución del problema de Hartree-Fock (HF) para los N electrones en la banda de conducción. La función de onda de un estado dado la escribimos como:

$$|f\rangle = \alpha^f |HF\rangle + \sum_{\sigma,\mu} X_{\sigma\mu}^f e_{\sigma}^{\dagger} e_{\mu} |HF\rangle + \sum_{\sigma,\rho,\mu,\lambda} Z_{\sigma\rho\mu\lambda}^f e_{\sigma}^{\dagger} e_{\rho}^{\dagger} e_{\mu} e_{\lambda} |HF\rangle. \quad (4)$$

En la ecuación anterior $\sigma < \rho$ son estados de HF por encima del nivel de Fermi y $\mu < \lambda$ son estados por debajo del nivel de Fermi. Por tanto, el primer término en la Ec. (4) representa el determinante de Slater solución del problema de HF, el segundo término corresponde a las configuraciones $1p1h$ en las cuales un electrón es aniquilado por debajo del nivel de Fermi y creado por encima del mismo y el segundo da cuenta de todas las configuraciones $2p2h$ conformes con los operadores $e_{\sigma}^{\dagger} e_{\rho}^{\dagger} e_{\mu} e_{\lambda}$.

Una representación esquemática de las diferentes contribuciones a la función de onda (4) es ilustrada en la Fig. 1. En el subespacio de Hilbert con los mismos nú-

meros cuánticos que el estado de HF, las energías E_f y los coeficientes α^f , X^f y Z^f son encontrados resolviendo el problemas de autovalores,

$$\begin{pmatrix} E_{HF} & 0 & D \\ 0 & A & B \\ D^{\dagger} & B^{\dagger} & C \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \alpha^f \\ X^f \\ Z^f \end{pmatrix} = E_f \begin{pmatrix} \alpha^f \\ X^f \\ Z^f \end{pmatrix}, \quad (5)$$

donde $E_{HF} = \langle HF | H | HF \rangle$ es la energía de Hartree-Fock, $A_{\sigma'\mu',\sigma\mu} = \langle HF | e_{\mu'}^{\dagger} e_{\sigma'} e_{\mu} e_{\sigma} | HF \rangle$ es la matriz de Tamm-Dankoff, $D_{HF,\sigma\rho\mu\lambda} = \langle HF | e_{\sigma}^{\dagger} e_{\rho}^{\dagger} e_{\mu} e_{\lambda} | HF \rangle$, $B_{\sigma'\mu',\sigma\rho\mu\lambda} = \langle HF | e_{\mu'}^{\dagger} e_{\sigma'} e_{\rho}^{\dagger} e_{\mu} e_{\lambda} | HF \rangle$ y la matriz $C_{\sigma'\rho'\mu'\lambda',\sigma\rho\mu\lambda} = \langle HF | e_{\lambda'}^{\dagger} e_{\mu'}^{\dagger} e_{\rho'}^{\dagger} e_{\sigma'} e_{\rho}^{\dagger} e_{\mu} e_{\lambda} | HF \rangle$. D^{\dagger} y B^{\dagger} son respectivamente las matrices transpuestas de D y B . Los elementos matriciales explícitos pueden encontrarse en el apéndice A de la Ref. [18]. En sectores con números cuánticos diferentes con respecto al estado de HF la primera fila y columna de la matriz (5) deben ser excluidas.

Nosotros calculamos la energía del estado básico para puntos con $N = 20, 30, 42, 56, 72$ y 90 y energías características de confinamiento $\hbar\omega = 6, 12$ y 18 meV.

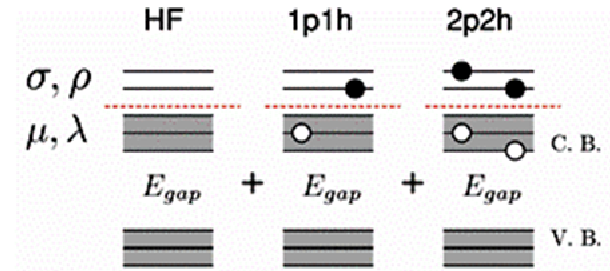


Figura 1. Diferentes contribuciones a la función de onda $|f\rangle$ en el método de Interacción de Configuraciones.

Los puntos calculados corresponden a sistemas de capas cerradas con números cuánticos de momentum angular y espín $L = S = 0$. Un corte energético de $3\hbar\omega$ en la energía de excitación asociada a las configuraciones usadas para construir la función de onda definida en la Ec. (4), es usado para controlar las dimensiones de la matriz Hamiltoniana. El error estimado para la energía del estado base es inferior al 0.2 %. Por otra parte, en nuestros cálculos estudiamos puntos de GaAs crecidos entre barreras simétricas de GaAlAs y consideramos la masa efectiva de los electrones $m_e = 0.067m_0$ y la constante dieléctrica $\epsilon = 12.8$. Llevamos a cabo cálculos para puntos tridimensionales en los cuales el confinamiento en la dirección de crecimiento (z) es modelado con un potencial de paredes duras con un ancho $L = 25$ nm.

La constante $E_z = \hbar^2 \pi^2 / (2m_e L_z^2)$ fue removida de la

energía del estado base.

Los cálculos obtenidos son mostrados en la Figura 2 (puntos) y comparados con los valores estimados por el método de los Aproximantes de Padé (línea). El escalamiento de la energía del estado base es evidente y la máxima desviación respecto a los valores estimados por la Ec. (3) es inferior al 10 %. Nótese que para los parámetros usados en nuestros cálculos, la variable escalada $N^{1/4}\beta$ toma valores alrededor de 1, o sea, en el intervalo de transición de acoplamiento débil a fuerte¹⁷. Con el objetivo de verificar el escalamiento en todo el intervalo usamos dos casos adicionales de control: uno de ellos en régimen de acoplamiento fuerte ($N=42$, $\hbar\omega=2$ meV) y el otro en régimen de acoplamiento débil ($N=20$, $\hbar\omega=50$ meV), ajustándose ambos de forma excelente a la línea definida por los Padé.

3 Excitaciones intrabandas

En esta sección concentraremos nuestra discusión en las excitaciones intrabandas. Por simplicidad, consideraremos los estados excitados de puntos cuánticos de capa cerrada. El análisis estará restringido a los sectores del espectro con los mismos números cuánticos que el estado fundamental, $L=0$, $S=0$ y por tal razón de los cálculos realizados para la energía del estado base obtenemos también los estados excitados. Sin embargo, debemos enfatizar que la metodología descrita en la Sección 2 es aplicable al cálculo de excitaciones electrónicas en cualquier sector del momentum angular y el espín.

Un conjunto de los resultados obtenidos es mostrado en la Fig. 3(a) para 42 electrones en el punto con $\hbar\omega=6$ meV. Primero, nótese que el gap de excitación, el cual sería $2\hbar\omega$ en el límite de electrones no interactuantes $\beta \rightarrow 0$, es renormalizado por la interacción de Coulomb a un valor cercano a 6 meV, o sea, $1\hbar\omega$. En el límite opuesto, $\beta \rightarrow \infty$, el espectro de excitación es el correspondiente al de una molécula grande de Wigner cuyas frecuencias de pequeñas oscilaciones son independientes de β .¹⁷ El valor mínimo de estas frecuencias, la cual determina el gap del sistema, tiende a cero en el límite de N grande conforme a las relaciones de dispersión de los fonones acústicos de la red de Wigner. Basándonos en estos argumentos físicos podemos proponer la siguiente fórmula de interpolación con el objetivo de ajustar la data numérica para el gap al primer estado excitado,

$$\frac{\Delta E_1}{\hbar\omega} = \frac{2 + a_1\beta}{1 + b_1N^\gamma\beta}. \quad (6)$$

El mejor ajuste es obtenido para $\gamma=1/4$. Los resultados se muestran en la figura 3(b) como función de $z = N^{1/4}\beta$.

De la ecuación (6) se puede observar que la magnitud ΔE_1 no escala estrictamente en términos de la variable z .

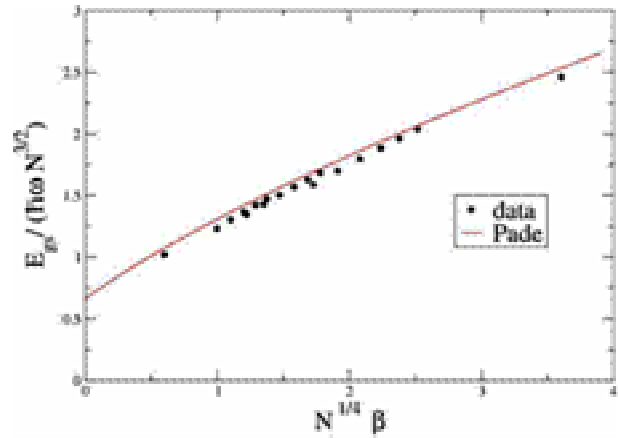


Figura 2. Escalamiento de la energía del estado base en puntos cuánticos de tamaño medio.

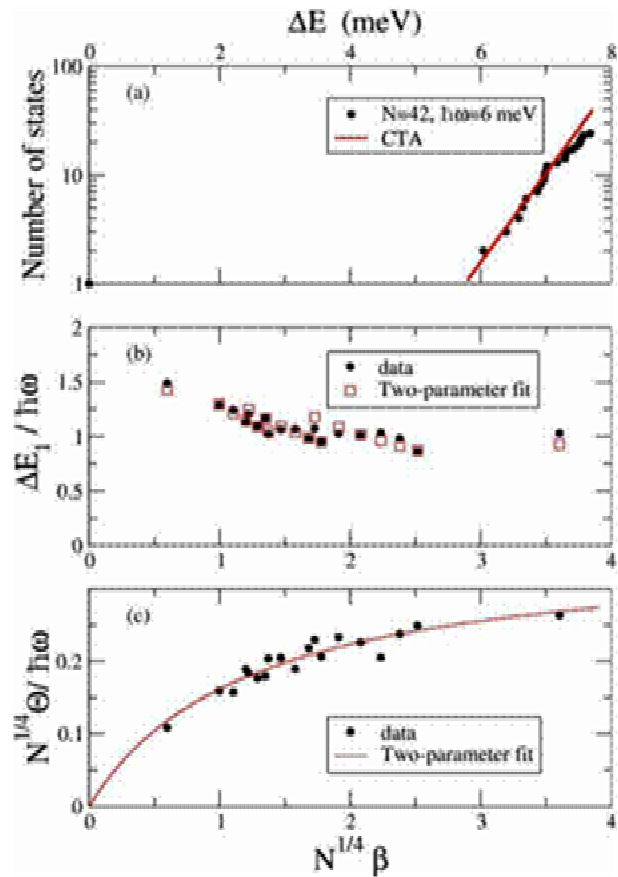


Figura 3. (a) Número de estados excitados en un punto cuántico con 42 electrones como función de la energía de excitación. El confinamiento lateral es $\hbar\omega=6$ meV. (b) Gap al primer estado excitado como función de la variable escalada $z = N^{1/4}\beta$. (c) Parámetro de temperatura, Θ , en variables escaladas. Los ajustes en (b) y (c) corresponden a las ecuaciones (6) y (8).

Sin embargo, la Fig. 3(b) muestra un comportamiento universal para el gap al primer estado excitado del punto para los casos calculados (acoplamiento intermedio). Pa-

ra los parámetros a_1 y b_1 tomamos los valores $a_1 = 3.659$ y $b_1 = 1.878$. El resultado del ajuste es excelente con una desviación máxima inferior al 10 %, similar a lo obtenido para la energía del estado básico. Nótese también, que $N^{1/4} \Delta E_1 / (\hbar\omega)$ toma un valor universal, a_1/b_1 , en el límite de acoplamiento fuerte, $\beta \rightarrow \infty$. Expresiones similares a la Ec. (6) para el gap al primer estado excitado deben ser válidas en otros sectores del momentum angular y el espín y también para las energías de los estados colectivos (excitaciones de densidad de carga y espín).

Un segundo punto a destacar en la Fig. 3(a) es el crecimiento exponencial del número de estados para energías de excitación mayores que 6 meV. Esta dependencia exponencial simple con la energía de excitación es conocida en la Física Nuclear como Aproximación de Temperatura Constante (CTA) (Ref. 19);

$$N_{\text{estados}} = N_0 \exp\left(\frac{\Delta E}{\Theta}\right). \quad (7)$$

Este comportamiento en el número de estados excitados parece ser una propiedad del espectro de excitaciones de sistemas cuánticos. Se ha verificado, por ejemplo, en el espectro energético de puntos cuánticos pequeños bajo la influencia de campos magnéticos fuertes.²⁰

Para extraer el parámetro de temperatura, Θ , en la Ec. (7), ajustamos la data numérica correspondiente a los primeros 25 estados excitados correspondientes a los puntos cuánticos calculados. Tomando como referencia energética al primer estado excitado en cada espectro procesado, los próximos 24 estados se encuentran a unos pocos (1-4) meV por encima del primer estado excitado.

Con el objetivo de deducir las propiedades universales de Θ recordemos los regímenes asintóticos de $\beta \rightarrow 0$ y $\beta \rightarrow \infty$. En el límite $\beta \rightarrow \infty$ suponemos un comportamiento similar al de ΔE_1 , o sea, $N^{1/4} \Theta / (\hbar\omega)$ debe tender a un valor universal. Por otra parte, en el límite $\beta \rightarrow 0$ las energías de excitación (respecto al primer estado excitado) son proporcionales con β ; por tanto, podemos escribir una fórmula de interpolación simple para el parámetro de temperatura;

$$\frac{N^{1/4} \Theta}{\hbar\omega} = \frac{a_2 z}{b_2 + z}, \quad (8)$$

donde $a_2 = 0.360$ y $b_2 = 1.226$. El ajuste, como se puede apreciar en la Fig. 3(c) es muy bueno. Nótese además, que los casos de control calculados para la comprobación de las parametrizaciones propuestas se posicionan prácticamente sobre la curva definida por la Ec. (8).

4 Excitaciones interbandas: estados excitónicos

En esta sección investigaremos las excitaciones interbandas excitónicas de puntos cuánticos cargados. Una excitación interbanda, en general, tiene lugar cuando un electrón en la banda de valencia transita a un estado de la banda de conducción de la estructura semiconductor. La vacancia electrónica originada en la banda de valencia es tratada en términos de una nueva cuasipartícula, el hueco, y los estados ligados de un par electrón-hueco en un material semiconductor son denominados estados excitónicos. En nuestro caso, investigaremos las excitaciones interbandas de un punto cuántico cargado con N electrones en la banda de conducción. En este contexto, entenderemos los estados “excitónicos” del punto como estados multielectrónicos de la nanoestructura con $N+1$ electrones en la banda de conducción y 1 hueco en la banda de valencia. El cálculo de las energías y funciones de ondas de estos estados lo haremos, al igual que en la sección anterior mediante el método de interacción de configuraciones. Calcularemos las excitaciones interbandas excitónicas para puntos cuánticos con $N = 20, 30$ y 42 y $\hbar\omega = 6, 12$ y 18 meV. Los dos casos de control en los regímenes de acoplamiento coulombiano fuerte y débil también serán incluidos.

El punto de partida es la solución de HF para los N electrones en la banda de conducción del punto. La función de onda del sistema con $N+1$ electrones en la banda de conducción y 1 hueco en la banda de valencia la escribimos como,

$$|X\rangle = \left(\sum_{\sigma, \tau} V_{\sigma\tau}^x e_{\sigma}^{\dagger} h_{\tau}^{\dagger} + \sum_{\sigma, \rho, \tau, \mu} W_{\sigma\rho\tau\mu}^x e_{\sigma}^{\dagger} e_{\rho}^{\dagger} h_{\tau}^{\dagger} e_{\mu} \right) |HF\rangle. \quad (9)$$

Los índices σ y ρ denotan estados electrónicos de HF por encima del nivel de Fermi en la banda de conducción. En la segunda suma de la Ec. (9) es restringida según la condición $\sigma > \rho$ para evitar la repetición de configuraciones. El índice μ corre por los estados electrónicos de HF por debajo del nivel de Fermi y τ se refiere a los estados de HF de huecos en la banda de valencia. Dichos estados, son obtenidos a partir de diagonalizar el Hamiltoniano 4×4 de Kohn-Luttinger incluyendo en la diagonal un término que da cuenta del potencial electrostático generado por los N electrones en la banda de conducción^{21, 22}.

La base de funciones (Ec. (9)) que usaremos para diagonalizar el Hamiltoniano está conformada por configuraciones que definen excitaciones sobre el estado base de HF para N electrones. El primer término, el cual representa el conjunto de excitaciones más simples, crea un electrón adicional en la banda de conducción (CB) y un hueco en la banda de valencia (VB) y es usualmente denominado en el lenguaje de la Física Nuclear como aproximación partícula-partícula Tamm-Dankoff (pp-TDA).²³ Dado que el hueco en la banda de valencia es tratado como una cuasi-partícula con su propia relación de dispersión, los estados excitónicos son estados con dos “partículas” adicionales por encima de la solución de HF. Por otra parte, el segundo término de la Ec. (9) in-

cluye, además del par electrón-hueco adicional, configuraciones electrónicas $1p1h$ en la banda de conducción. A estas configuraciones nos referiremos como configuraciones $ppph$. Una representación esquemática de las contribuciones pp -TDA y $ppph$ a la función de onda de los estados excitónicos es ilustrada en la Fig. 4.

Debido a las peculiaridades de la interacción de Coulomb, el Hamiltoniano de Kohn-Luttinger y el potencial central de confinamiento las excitaciones interbandas están caracterizadas por dos números cuánticos, F y S_z . Esto significa que los estados uniparticulares que entran en la primera y segunda sumas de la Ec. (9) deben satisfacer respectivamente la primera y segunda filas de las siguientes igualdades:

$$\begin{aligned} F &= l_\sigma + l_\tau - m_j \\ &= l_\sigma + l_\rho - l_\mu + l_\tau - m_j, \end{aligned} \quad (10)$$

$$\begin{aligned} S_z &= S_\sigma \\ &= S_\sigma + S_\rho - S_\mu. \end{aligned} \quad (11)$$

En las ecuaciones anteriores l denota el número cuántico de momentum angular (orbital), m_j se refiere al momentum angular (banda) del hueco y S al número cuántico del espín electrónico. Todas estas magnitudes corresponden a la proyección a lo largo del eje z . Los coeficientes V^x , W^x y las energías de excitación referidas al estado de HF son obtenidos tras resolver el siguiente problema de autovalores,

$$\begin{pmatrix} A & C \\ C^\dagger & B \end{pmatrix} \begin{pmatrix} V \\ W \end{pmatrix} = \Delta E_x \begin{pmatrix} V \\ W \end{pmatrix}. \quad (12)$$

En la Ec. (12) A es la matriz pp de Tamm-Dankoff²¹. Las expresiones explícitas de los elementos matriciales de las matrices C y B se encuentran en la Ref. [24].

En la Fig. 5 mostramos el espectro de excitaciones interbandas para un punto con 42 electrones y $\hbar\omega=12$ meV. Los estados representados en dicha figura corresponden al juego de números cuánticos $F=-3/2$, $S_z=1/2$. En la medida que se incrementa la energía observamos primero un par de estados seguido por un grupo de cuatro estados y posteriormente un cuasi-continuo de excitaciones. Esta secuencia puede ser entendida en términos del espectro no interactuante de electrones y huecos, representado en la parte izquierda de la citada figura. 42 electrones en el punto ocupan seis capas de estados de oscilador y un par electrón-hueco debe ser añadido para dar lugar a una excitación interbanda. El electrón debe ser añadido en la capa séptima. Los posibles valores para el momentum angular son $l_e = -6, -4, \dots, 6$. Por otra parte, el hueco puede ser colocado en el primer estado de oscilador con $l_h = 0$. Dado que estamos refiriéndonos al valor a estados con $F=-3/2$, sólo tenemos dos posibilidades:

$$l_e = 0, m_j = 3/2 \text{ y } l_e = -2, m_j = -1/2.$$

O sea, un excitón de hueco pesado y un excitón de

hueco ligero los cuales debido al ancho del pozo asumido (25 nm) están muy cercanos en energía (1.5 meV). Los próximos cuatro estados constituyen excitaciones del hueco, en otras palabras, el hueco ocupando estados de oscilador de la segunda capa. Nosotros tomamos la frecuencia de confinamiento del hueco de tal forma que la longitudes características para electrones y huecos es la misma, significando que ambos portadores están confinados en la misma región espacial.

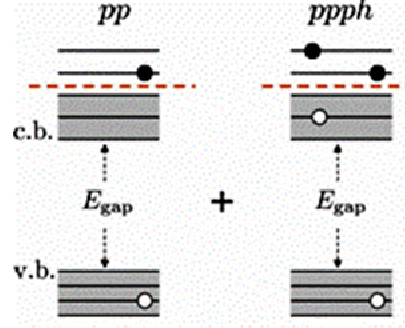


Figura 4. Representación esquemática de las contribuciones pp -TDA y $ppph$ a la función de onda de los estados excitónicos.

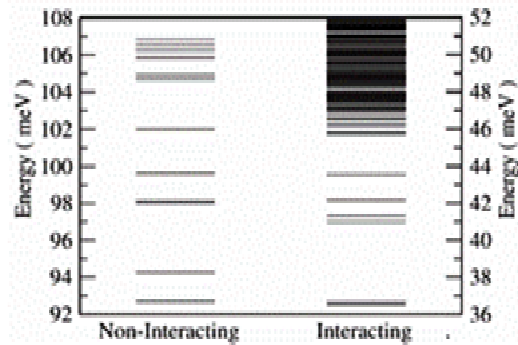


Figura 5. Excitaciones interbandas de bajas energías en un punto cuántico con 42 electrones y $\hbar\omega=12$ meV. Estados con $F=-3/2$, $S_z=1/2$ son representados.

Para huecos pesados, por ejemplo, esto significa que $\omega_{hh} = m_e \omega / m_{hh}$. Como resultado, las energías de excitación para huecos son pequeñas, alrededor de 5 meV. Posteriormente, encontramos un grupo numeroso de estados que aparecen como resultado de una excitación electrónica de $1\hbar\omega$ o una excitación de hueco de $2\hbar\omega$. Siguiendo el cuadro no interactuante descrito anteriormente podemos decir que los dos primeros estados en la Fig. 5 corresponden a un excitón de hueco pesado y un excitón de hueco ligero, los próximos cuatro estados son básicamente excitaciones de hueco a la segunda capa de oscilador y el cuasi-continuo podemos relacionarlo a excitaciones de electrones a la octava capa y excitaciones de hueco a la tercera capa. Los efectos de la interacción de Coulomb son claros en la Fig. 5: los estados del sistema interactuante son empujados a una región de menores energías, los gaps energéticos se reducen significati-

vamente y un cuasi-continuo de estados aparece a partir de una energía de excitación por debajo de $\hbar\omega=12$ meV.

En la Fig. 6(a) mostramos una figura análoga a la Fig. 3(a) para el caso de las excitaciones interbandas excitónicas de un punto con 42 electrones y $\hbar\omega=18$ meV. Las energías de excitación en el eje x están referenciadas al primer estado excitado. Los 40 estados de menor energía siguen dos ajustes del tipo del tipo CTA, el primero en la región de $\Delta E < 12$ meV y el segundo en el intervalo $12 < \Delta E < 16$ meV. La discontinuidad en la pendiente aparenta ser una característica general²⁰ relacionada a los mecanismos de formación de los estados.

En este caso, usamos los 10 estados de menor energía con el objetivo de encontrar el parámetro de temperatura en los puntos estudiados y una ley como la descrita por la Ec. (8) para ajustar los cálculos numéricos. Los parámetros encontrados fueron $a_3 = 1.373$ y $b_3 = 0.559$. Un aspecto interesante es que el ajuste propuesto muestra una excelente concordancia con los datos graficados según se muestra en la Fig. 6(b) evidenciando que el *background* electrónico determina las propiedades globales del espectro de excitación excitónico. A diferencia de las excitaciones intrabandas, uno espera que los parámetros a_3 y b_3 dependan débilmente del material semiconductor del punto (GaAs en este caso) a través de los parámetros del Hamiltoniano de Kohn-Luttinger involucrado en el cálculo de los estados excitónicos. Deberá ser investigado en el futuro en que medida se manifiesta dicha dependencia.

5 Excitaciones interbandas: estados biexcitónicos

En esta sección nos referiremos a las excitaciones interbandas biexcitónicas de los puntos estudiados. Para ello calcularemos las energías y las funciones de ondas correspondientes a un punto cuántico con $N+2$ electrones en la banda de conducción y dos huecos en la banda de valencia. La función de onda de un estado biexcitónico dado la escribimos como sigue:

$$|XX\rangle = \sum_{\sigma, \rho, \tau, \eta} C_{\sigma\rho\tau\eta}^{XX} e_{\sigma}^{\dagger} e_{\rho}^{\dagger} h_{\tau}^{\dagger} h_{\eta}^{\dagger} |HF\rangle. \quad (13)$$

Los índices $\sigma < \rho$ corren por los estados de HF electrónicos por encima del nivel de Fermi y $\tau < \eta$ corresponden a los estados de HF de huecos en la banda de valencia. Una representación esquemática de las configuraciones generadas según la Ec. (13) aparece en la Fig. 7.

Los coeficientes C^{XX} y las energías de excitación se calculan resolviendo el siguiente problema de autovalores,

$$MC^{XX} = E_{XX} C^{XX}. \quad (14)$$

Los elementos matriciales de la matriz M se calculan como,

$$\langle HF | h_{\eta} h_{\tau} e_{\rho} e_{\sigma} (H + T_h + V_{hh} + V_{eh}) | HF \rangle. \quad (15)$$

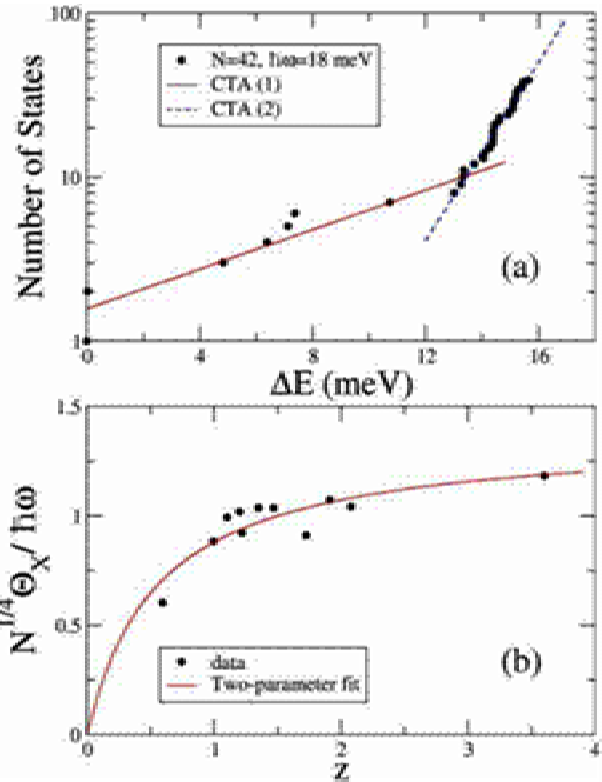


Figura 6. (a) Excitaciones interbandas (excitónicas) en un punto cuántico con 42 electrones. En el eje x la referencia de energía es el primer estado excitado. (b) Escalamiento del parámetro de temperatura.

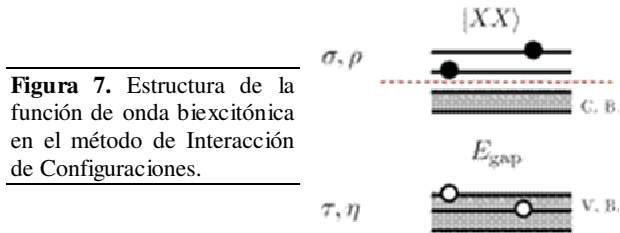


Figura 7. Estructura de la función de onda biexcitónica en el método de Interacción de Configuraciones.

En la Ec. (15) H es el Hamiltoniano definido en la Ec. (1), T_h es el operador de una partícula asociado al movimiento de los huecos en la banda de valencia y V_{hh} y V_{eh} dan cuenta de la interacción de Coulomb hueco-hueco y electrón-hueco respectivamente.

Con una energía de corte en la energía de excitación de $2\hbar\omega$ las dimensiones de las matrices Hamiltonianas diagonalizadas son del orden de 3000. En la Fig. 8(a) mostramos el espectro de excitaciones biexcitónicas de un punto con 42 electrones y $\hbar\omega=6$ meV. Los números cuánticos de los estados mostrados en dicha figura son $F=0$ y $S=0$. Nótese que con un solo ajuste del tipo CTA podemos describir los primeros 35 estados. Estos primeros estados son utilizados para la determinación del parámetro de temperatura. El escalamiento de Θ_{XX} es mostrado en la parte inferior de la Fig. 8. Nótese que a

diferencia de las excitaciones excitónicas y las excitaciones intrabandas, en este caso la potencia de N es $1/2$ en lugar de $1/4$ lo cual se evidencia en una reducción notable de la desviación de los puntos respecto al ajuste propuesto. Por tanto, ajustamos los datos calculados mediante la expresión,

$$\frac{N^{1/2}\Theta_{XX}}{\hbar\omega} = \frac{a_4 z}{b_4 + z}, \quad (16)$$

donde $a_4 = 3.230$ y $b_4 = 5.503$. De la figura se ve que el ajuste es muy bueno.

6 Biblioteca numérica Libqdot

Finalmente, en esta sección describimos de forma general la estructura de la biblioteca numérica Libqdot desarrollada en nuestro grupo y que agrupa un total de diez módulos escritos en Fortran 90. Todos los cálculos mostrados en las secciones anteriores fueron realizados empleando ésta biblioteca. Una representación esquemática en orden de la estructura de Libqdot es mostrada en la Fig. 9. Las flechas verdes (sólidas) marcan diferentes etapas de desarrollo. Inicialmente se desarrollaron cinco objetos, como se aprecia en el esquema. El módulo *portability.f90* garantiza la misma precisión numérica para todos los cálculos independientemente de la arquitectura de los recursos computacionales empleados. O sea, el compilador escogerá la representación más eficiente (tipo de las variables) de todas las variables usadas en los módulos y el programa vinculado a la biblioteca garantizando la portabilidad numérica de nuestra herramienta. *locations.f90* es un módulo que contiene las variables de cadena con las rutas del directorio de trabajo y para acceder los elementos matriciales de la interacción de Coulomb involucrados en todos nuestros cálculos. Además, el nombre del directorio de trabajo es construido en este objeto en términos del número de electrones en el punto, el potencial de confinamiento lateral y el material semiconductor de la nanoestructura (e.g. *N_020_hw0_12.6_GaAs*). Esto último evita, máxime si se hacen cálculos extensivos la sobre escritura de los resultados y elimina las posibilidades de errores del tipo entrada-salida. La definición de los números cuánticos de los estados de oscilador para electrones y huecos y la asignación de todas las constantes asociadas a la estructura de bandas del material semiconductor así como los principales parámetros del punto se realizan en los módulos *levels.f90* y *qdot_model.f90* respectivamente. Todas las funciones y subrutinas necesarias para la lectura y el cálculo de los elementos matriciales de Coulomb han sido encapsulados en el módulo *coulomb.f90*. Con el objetivo de reducir los tiempos de cálculo de las energías y funciones de ondas multielectrónicas del punto, calculamos todos los elementos matriciales de Coulomb en 20 capas de oscilador (~ 12000000) y los almacenamos en un fichero (*coulomb.dat* ~ 447 MB). Al inicio de cada cálculo los elementos matriciales son cargados en

memoria RAM (~ 120 MB) lo cual permite resolver las ecuaciones integro-diferenciales no lineales de Hartree-Fock para decenas de electrones en pocos minutos, o calcular las energías y funciones de ondas del punto mediante el método de Interacción de Configuraciones en pocas horas.

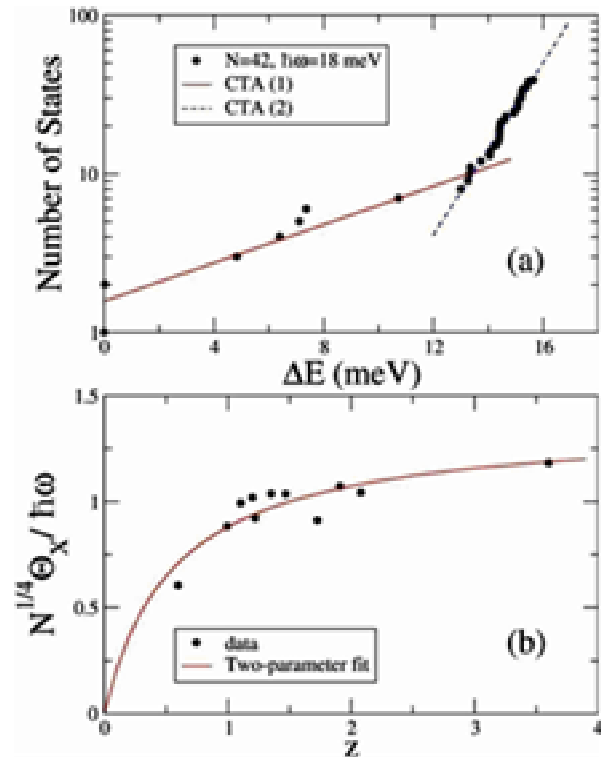


Figura 8. (a) Excitaciones interbandas (biexcitónicas) para un punto con 42 electrones y $\hbar\omega = 6$ meV. (b) Escalamiento del parámetro de temperatura para los estados biexcitónicos.

En una segunda etapa tres nuevos subprogramas fueron implementados. En el módulo *hartree_rock.f90* las subrutinas encapsuladas permiten: a) resolver las ecuaciones de HF para N electrones en la banda de conducción del punto cuántico; b) resolver las ecuaciones de HF para N_e electrones y N_h huecos en un punto cuántico; c) calcular los estados de hueco en la banda de valencia según el formalismo de Kohn-Luttinger; d) cálculo de las propiedades del estado base en la aproximación de HF tales como la energía, el momentum angular total, la proyección de espín total y la densidad electrónica en el punto. Las energías y funciones de ondas de excitaciones intrabandas en la Aproximación de Fase Aleatoria (RPA) pueden ser calculadas con la ayuda del módulo *rpa.f90*. Una subrutina para el cálculo de las amplitudes de transición multipolares ha sido encapsulada en ese objeto también. Esto permite identificar en los espectros calculados, las excitaciones colectivas de carga (CDE) y de espín (SDE). En el módulo *pp_tda.f90* hemos implementado el cálculo de los estados de un punto cuántico, en la aproximación de Tamm-Dankoff, con $N+1$ electrones en

la banda de conducción y 1 hueco en la banda de valencia.

En la última etapa de desarrollo de la biblioteca se han incluido dos módulos más, *beyond_rpa.f90* y *optical.f90*. El primero contiene las subrutinas para el cálculo de las excitaciones intrabandas e interbandas (excitónicas y biexcitónicas) de puntos cuánticos de tamaño medio mediante el método de Interacción de Configuraciones, descrito a lo largo de este artículo. Por otra parte, *optical.f90*, actualmente en desarrollo, permitirá el cálculo de las amplitudes de transición de diferentes procesos ópticos investigados en puntos cuánticos como la fotoluminiscencia, la absorción intra e interbandas, la dispersión Raman, la absorción de dos fotones, etc. Para resolver los problemas de autovalores y autovectores la biblioteca invoca subrutinas de las bibliotecas LAPACK y BLAS. Para la construcción de Libqdot es necesario compilar todos los módulos con un compilador de Fortran 90. Este procedimiento ha sido probado con los siguientes compiladores: *Portland Group Compiler pgf90*, *Compaq Digital Fortran 6.6*, *Intel ifort 11.0.69*. Los mejores rendimientos de la biblioteca se han obtenido con el compilador ifort y usando las bibliotecas MKL (Math Kernel Libraries) de Intel.

7 Conclusiones

Hemos implementado el método de Interacción de Configuraciones para llevar a cabo cálculos extensivos en puntos cuánticos de tamaño medio. Del análisis de los resultados numéricos obtenidos hemos encontrado relaciones universales para la energía del estado básico y para la densidad de niveles en los espectros de excitación intrabandas e interbandas (excitónico y biexcitónico). Los coeficientes de la parte derecha de las ecuaciones (3), (6) y (8) son independientes de las constantes del material semiconductor del punto cuántico. Por otra parte, pensamos que los coeficientes a_3 , b_3 , a_4 y b_4 son específicos para el GaAs pero independiente de N y $\hbar\omega$.

La biblioteca numérica Libqdot, la cual encapsula un conjunto de módulos Fortran 90 fue implementada. Esto es de gran utilidad dado que la implementación de cálculos diferentes o adicionales para puntos cuánticos puede ser llevada a cabo fácilmente. Además, el diseño de la misma permite su ampliación, enriquecimiento y el uso de la misma por otros usuarios.

El trabajo puede ser extendido en muchas direcciones. Se podría parametrizar de una manera universal la energía de correlación electrónica, las energías de enlace excitónica y biexcitónica, los gaps de excitación en diferentes sectores del momento angular y el espín, la energía de los modos colectivos (plasmónicos). Por otra parte, las aproximaciones implementadas, las cuales están por encima de la RPA, brindan las energías y funciones de ondas para el estudio de diversas propiedades ópticas como la fotoluminiscencia, la absorción intra- e interbandas, la dispersión Raman, la absorción de dos fo-

tones. Otra perspectiva es investigar la dinámica de las excitaciones electrónicas en estas nanoestructuras.

Agradecimientos

Parte de este trabajo se llevó a cabo usando los recursos computacionales del Centro Internacional de Física Teórica Abdus Salam (ICTP) de Trieste. Los autores agradecen también al apoyo obtenido a través de la Red Caribeña de Mecánica Cuántica, Partículas y Campos (ICTP) y al Programa Nacional de Ciencias Básicas del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente de Cuba.

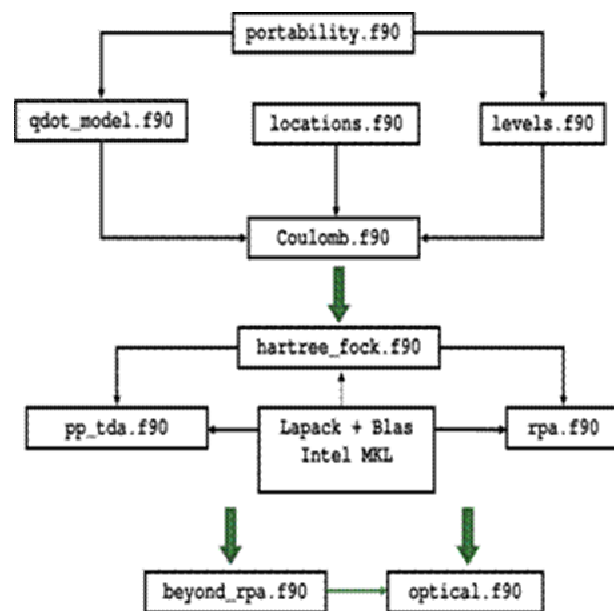


Figura 9. Estructura de la biblioteca numérica Libqdot.

Referencias

1. M.P. Petroff, C.A. Gossard, A.R. Logan, W. Wiegmann, "Toward quantum well wire: Fabrication and optical properties", *Appl. Phys. Lett.* 41, 635 (1982).
2. C.R. Ashoori, "Electrons in artificial atoms", *Nature* 379, 413 (1996).
3. Sokratis Kalliakos, César Pascual García, Vittorio Pellegrini, Marian Zamfirescu, Lucia Cavigli, Massimo Gurioli, Anna Vinattieri, Aron Pinczuk, "Photoluminescence of individual doped GaAs/AlGaAs nanofabricated quantum dots", *Appl. Phys. Lett.* 90, 181902 (2007).
4. W.G. van der Wiel, S. De Franceschi, J.M. Elzerman, T. Fujisawa, S. Tarucha, L.P. Kouwenhoven, "Electron transport through double quantum dots" *Rev. Mod. Phys.* 75, 1 (2003).
5. I.A. Ekimov, L.A. Efros, A.A. Onushchenko, "Quantum size effect in semiconductor microcrystals", *Sol. Stat. Comm.* 56, 921 (1985).
6. N.I. Stranski, L. Von Krastanow, *Akad. Wiss. Let. Mainz Math. Natur K1* 11b 146, 797 (1939).
7. Y. Masumoto, T. Takagahara, "Semiconductor Quantum Dots", (Springer, Berlin, 2002).
8. Y. Arakawa and H. Sakaki, "Multidimensional quantum well laser and temperature dependence of its threshold current", *Appl. Phys. Lett.* 40, 939 (1982).

9. S. Fafard, K. Hinzer, S. Raymond, M. Dion, J. McCaffrey, Y. Feng, and S. Charbonneau, "Red-Emitting Semiconductor Quantum Dot Lasers", *Science* 274, 1350 (1996).
10. D. Bimberg, M. Grundmann, N. N. Ledentsov, M. H. Mao, Ch. Ribbat, R. Sellin, V. M. Ustinov, A. E. Zhukov, Zh. I. Alferov, and J. A. Lott, "Novel Infrared Quantum Dot Lasers: Theory and Reality", *Phys. Stat. Sol. (b)* 224, 787 (2001).
11. J.-I. Cirac and P. Zoller, "Quantum Computations with Cold Trapped Ions", *Phys. Rev. Lett.* 74, 4091 (1995).
12. A. Delgado, L. Lavin, R. Capote and A. Gonzalez, "Far-infrared giant dipole resonances in neutral quantum dots", *Physica E* 8 342 (2000).
13. G. Allan and C. Delerue, "Confinement effects in PbSe quantum wells and nanocrystals", *Phys. Rev. B* 70, 245321 (2004).
14. L. A. Padilha, J. Fu, D. J. Hagan, E. W. Van Stryland, C. L. Cesar, L. C. Barbosa, C. H. Cruz, D. Buso, and A. Martucci, "Frequency degenerate and nondegenerate two-photon absorption spectra of semiconductor quantum dots", *Phys. Rev. B* 75, 075325 (2007).
15. C. Schüller, K. Keller, G. Biese, E. Ulrichs, L. Rolf, C. Steinebach, D. Heitmann, and K. Eberl, "Quasiatomic Fine Structure and Selection Rules in Quantum Dots", *Phys. Rev. Lett.* 80, 2673 (1998).
16. E. H. Lieb, J. P. Solovej, and J. Yngvason, "Ground states of large quantum dots in magnetic fields", *Phys. Rev. B* 51, 10646 (1995).
17. A. Gonzalez, B. Partoens, and F. M. Peeters, "Padé approximants for the ground-state energy of closed-shell quantum dots", *Phys. Rev. B* 56, 15740 (1997).
18. A. Odriazola, A. Delgado, and A. González, "Universality in the energy spectrum of medium-sized quantum dots", *Phys. Rev. B* 78, 205320 (2008).
19. T. Ericson, "Compound-nucleus decay via the emission of heavy nuclei", *Adv. Phys.* 9, 425 (1960).
20. A. Gonzalez and R. Capote, "Discontinuities in the level density of small quantum dots under strong magnetic fields", *Phys. Rev. B* 66, 113311 (2002).
21. A. Delgado, A. Gonzalez, and D. J. Lockwood, "Semi-quantitative theory of electronic Raman scattering from medium-size quantum dots", *Phys. Rev. B* 69, 155314 (2004).
22. A. Delgado, "Dispersión inelástica de luz por excitaciones electrónicas en átomos artificiales", Ph.D. thesis, Inst. of Cybernetics, Mathematics and Physics, La Habana, 2006.
23. P. Ring and P. Schuck, "*The Nuclear Many-Body Problem*", (Springer-Verlag, New York, 1980).
24. A. Odriazola, A. Delgado, and A. Gonzalez, "Theory of excitonic states in medium-sized quantum dots", *Phys. Rev. B* 78, 035329 (2008).

Estudio microestructural por microscopía electrónica de transmisión de materiales magnéticos nanocrystalinos

E. Estévez Rams^{a,b}, A. Pentón Madrigal^{b,a}, J. Fidler^c

a) Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales, Universidad de la Habana, Cuba; estevez@imre.oc.uh.cu[†]

b) Facultad de Física, Universidad de la Habana; arbelio@fisica.uh.cu

c) Universidad Técnica de Viena, Wiener Haupstrasse 8-10, Viena, Austria

[†]autor para la correspondencia

Recibido el 20/04/2009. Aprobado en versión final el 20/06/09.

Sumario. El trabajo presenta el estudio microestructural sistemático de dos clases de materiales magnéticos: 1) Materiales magnéticamente duros con microestructura submicrónica 2) Sistemas nanoparticulados con respuesta magnética super suave o superparamagnética. El punto común es el estudio, por microscopía electrónica de transmisión (TEM), de materiales magnéticos que muestran la ocurrencia de una microestructura nanométrica. Esta microestructura es determinante en el comportamiento magnético. La aparición de la microestructura nanométrica es que propiedades intrínsecas para materiales volumétricos dejan de serlo cuando el tamaño de grano disminuye hasta el orden de los nanómetros. Los sistemas estudiados incluyen materiales magnéticamente duros de HDDR-NdFeB, nanopartículas de hexaferrita de Barrio bajo distintas condiciones de síntesis, sistema superparamagnético Co-Cu.

Abstract. A systematic microstructural study of two type of magnetic materials is presented: 1) Hard magnetic materials with a submicronic microstructure and 2) nanosized particle systems with a supersoft ferromagnetic or a superparamagnetic response. The common point is the study, by transmission electron microscopy (TEM), of magnetic materials showing the occurrence of a nanometric microstructure. The microstructure is essential in determining the magnetic behavior where intrinsic properties cease to be so when the grain size decreases to a few nanometres. The studied systems include the hard magnets HDDR-NdFeB system, the nanoparticle system of Ba-M hexaferrite under different synthesis conditions, the superparamagnetic Co-Cu system.

Palabras clave. Estructura de materiales nanoestructurados 61.46.-w, Anisotropía magnetocristalina 75.30.Gw, propiedades magnéticas 75.75.+a.

1 Introducción

En los últimos años materiales magnéticos nanocrystalinos han demostrado comportamientos interesantes que resultan atractivos no sólo desde el punto de vista fundamental sino además aplicado [1-5]. El comportamiento magnético depende de la combinación de propiedades intrínsecas y microestructurales de tal modo que un mis-

mo material magnético con diferente microestructura puede exhibir diferentes propiedades magnéticas.

Cuando se habla de propiedad intrínseca nos referimos a aquella propiedad que depende de las especies atómicas y la estructura cristalina del sólido.

Desde el punto de vista intrínseco, para un material ferromagnético, la energía magneto-cristalina es esencial para determinar un comportamiento suave (baja coercitividad) o duro (alta coercitividad) de la curva de

histéresis. La energía magnetocristalina puede definirse como el trabajo necesario para hacer rotar la magnetización de una dirección de fácil magnetización a una de difícil magnetización. Ella, es resultado del acoplamiento de los espines de los átomos de un grano por interacción de intercambio que a su vez se acoplan con el campo de la red cristalina.

La energía magneto- cristalina aunque esencial para obtener un alto campo coercitivo no es suficiente. La coercitividad depende de manera dramática de la microestructura del material.

El presente trabajo expone de manera sucinta la relación entre coercitividad y microestructura para un conjunto de materiales ferromagnéticos. Se presenta el estudio microestructural sistemático de dos clases de materiales magnéticos: 1) Materiales magnéticamente duros con microestructura submicrónica 2) Sistemas nanoparticulados con respuesta magnética supersuave o superparamagnética. Se observará que la aparición de la microestructura nanométrica determina que propiedades intrínsecas para materiales volumétricos dejan de serlo cuando el tamaño de grano disminuye hasta el orden de los nanómetros. Los sistemas estudiados incluyen materiales magnéticamente duros de HDDR-NdFeB, nanopartículas de hexaferrita de Bario bajo distintas condiciones de síntesis, sistema superparamagnético Co-Cu.

2 Detalles experimentales

Todos los materiales fueron estudiados por microscopía electrónica de transmisión (TEM) utilizando un JEOL 200CX STEM con unidad analítica detector Si-EDS de alto ángulo de levantamiento y detector de Ge-EDS de bajo ángulo de levantamiento.

Para su observación todas las muestras sólidas fueron pulidas y rebajas hasta aproximadamente 25 micras, luego se le produjo una superficie hendida de cerca de 10 micras para finalmente lograr transparencia electrónica con devastación iónica utilizando Ar a 4kV en un Gatan Ion Mill.

La hexaferritas de Ba-M fueron observadas tal y como fueron obtenidas luego de ser depositadas en una película de carbono.

La obtención de las muestras ha sido reportada en publicaciones anteriores, un resumen muy sucinto se da a continuación.

HDDR-NdFeB [6]: Piezas de Nd₁₆Fe₇₆B₈ fueron tratadas en un horno con atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente. Luego de la absorción de hidrógeno las muestras fueron calentadas hasta 1058 K para lograr la desproporcionación manteniéndose en esta condición por dos horas, posteriormente se evacuó la cámara resultando en la recombinación de los hidruros en las fases originales y la desorción del hidrógeno luego de una hora de tratamiento. Los polvos así obtenidos fueron compactados y vueltos a calentar a 1013 K por varios segundos antes de someterlos a una presión de $2.4 \cdot 10^8$ Pa.

Hexaferrita Ba-M[7-8]: Polvos fueron obtenidos por el método sol-gel utilizando el ethylenglycol como agente coordinador y una proporción de Fe:Ba de 12. El gel calentado a 130 °C fue molido en un molino de bolas para luego ser tratadas en un horno tubular con flujo de oxígeno a aproximadamente 250 °C.

CoCu [9-10]: Cintas de Co₉₀Cu₁₀ fueron obtenidas por enfriamiento ultrarrápido en una rueda a 35 m/s en atmósfera de Ar. La velocidad de enfriamiento se calcula en $5 \cdot 10^5$ K/s. Las muestras fueron tratadas isócronamente a 873 K.

3 HDDR Nd-Fe-B de microestructura submicrónica

En la composición de los imanes permanentes sinterizados basados en Nd-Fe-B, la composición que da lugar a un material de alta coercitividad suele tener Nd en exceso respecto a la composición estequiométrica. La razón de esta composición rica en Nd es microestructural, el Nd forma una fase paramagnética que, siendo líquida a la temperatura de sinterización, logra bañar a los granos magnéticamente duros de Nd₂Fe₁₄B con lo que los desacopla paramagnéticamente. Es este desacople el responsable de alta coercitividad resultante. Sin embargo otras vías de obtención aprovechan la realización de una microestructura nanométrica que acerca los granos a su tamaño monodominio, tal es el caso de los imanes de Nd-Fe-B obtenidos por enfriamiento ultrarrápido. En este caso la microestructura diferente permite usar una composición mucho más cercana a la estequiométrica. El método de hidrogenación-decrepitación-desabsorción-recombinación (HDDR) [11, 12] logra, mediante transformaciones de fases complejas, una microestructura donde el tamaño de grano se halla en el orden de los ~100 nm. Este tamaño de grano es idóneo para evitar la formación de dominios magnéticos revertidos que disminuyan el campo coercitivo. Cuando la estequiometría de los compuestos se acerca al Nd₂Fe₁₄B se observa que bajo ciertas condiciones algunos granos explotan su crecimiento y se obtienen paralelepípedos muy bien definidos con tamaño de varias micras [12]. La explicación de este comportamiento no está completamente clara.

Se realizaron estudios por microscopía electrónica de transmisión (TEM) de estos materiales buscando cuales eran los mecanismos microestructurales que provocaban el crecimiento anómalo de granos. La microestructura de estos materiales presenta una matriz de granos de Nd₂Fe₁₄B (fase F) en estrecho contacto y con tamaños en el orden de ~100 nm. En ciertas regiones entre las triples juntas de los granos F se observan bolsones de fase rica en Nd. En los primeros momentos de crecimiento anómalo la frontera de grano del Nd₂Fe₁₄B está en contacto estrecho con sus vecinos (Figura 1), y muestra la curvatura de frontera de grano típica de crecimiento isotrópico dirigido por tensión superficial.

Cuando el grano rebasa cierto tamaño, las bolsas de Nd que fue encontrando por el camino fueron arrastradas

frente a la frontera de grano. Esta fase rica en Nd es líquida a la temperatura de sinterización. La ocurrencia de una interfaz de crecimiento líquido-sólida muy reactiva, cambia por completo la naturaleza del transporte de masa y la frontera de grano comienza un crecimiento libre anisotrópico, la geometría de la interfase de crecimiento comienza a ser plana (Figura 2). Los granos pequeños que quedan rodeados de la fase líquida comienzan a “disolverse” en la misma.

Los granos de $\text{Nd}_2\text{Fe}_{14}\text{B}$ presentan una alta perfección cristalina, la anisotropía magneto-cristalina de cada uno de ellos ha de esperarse que sea la del cristal perfecto de $\text{Nd}_2\text{Fe}_{14}\text{B}$. El mecanismo de degradación de la coercitividad es totalmente microestructural. Rebasado cierto tamaño de grano, dominios revertidos son nucleados dentro de los granos y de ahí crecen y logran tomar todo el grano. La Figura 1 muestra tales dominios en la frontera de los granos.

4 Hexaferrita nanocristalina de Ba-M

Las hexaferritas de Ba y Sr han sido estudiadas por más de cinco décadas. A mediados de los años ochenta se diseñaron los métodos de obtención por vía húmeda entre los cuales los más usados han sido los de coprecipitación y sol-gel [13, 14]. Estos métodos han permitido obtener hexaferritas con tamaños nanométricos de grano que abrieron la posibilidad potencial de utilizar estos materiales como medios de almacenamiento ultradenso de información [15]. La idea es aprovechar el tamaño nanométrico del grano por un lado y la anisotropía uniaxial de la hexaferrita por el otro.

Se realizó un estudio microestructural detallado del proceso sol-gel de obtención. Los estudios microestructurales permitieron identificar dos momentos críticos en el proceso de síntesis. Cuando se obtiene el precursor de la hexaferrita antes del tratamiento térmico inicial, la homogeneidad de la mezcla aún no ha alcanzado el acercamiento atómico entre los componentes. El proceso de calcinación de los productos orgánicos produce carbono que reacciona con el Ba y el O formando carbonatos que luego son difíciles de descomponer. Esto resulta en la necesidad de elevar drásticamente la temperatura de síntesis a fin de descomponer los carbonatos y formar la hexaferrita. Se propusieron dos modificaciones: (1) al precursor intermedio se le sometió a una molienda intermedia para lograr una mejor homogenización el producto reaccionante y (2) el tratamiento térmico se realizó en flujo de oxígeno que barrera los gases de carbono y evitara la formación de los carbonatos. Como resultado de las modificaciones se logró reducir la temperatura de síntesis hasta 250 °C.

La anisotropía magnetocristalina de la hexaferrita BaM es menor que el del NdFeB . Todas las partículas obtenidas tienen tamaños de grano por debajo del volumen monodominio. La disminución ulterior del tamaño de grano por debajo de cierto valor crítico resulta en la disminución de la coercitividad. Para entender esto es

necesario entender que la hexaferrita de Ba tiene una marcada geometría de placas hexagonales con una gran área efectiva. Al disminuir el tamaño de las partículas la fracción volumétrica de los átomos en la frontera de grano se hace mayor en comparación con los átomos en el interior de la partícula. En la hexaferrita, el acoplamiento magnético entre los átomos se da de manera indirecta a través de la llamada interacción de superintercambio.

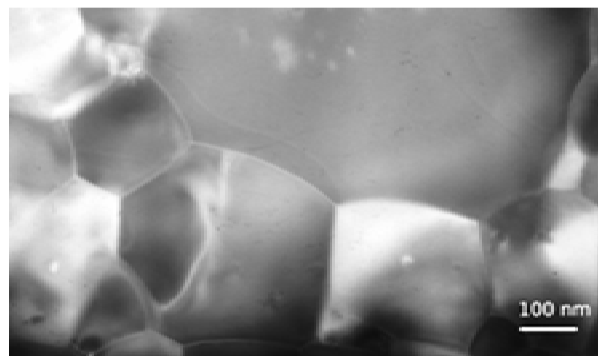


Figura 1. Primeros estadios de crecimiento anómalo de grano. En el grano al centro que comienza a crecer anómalamente, se observa en sus bordes el contraste de la pared de dominio por efecto de Lorentz.

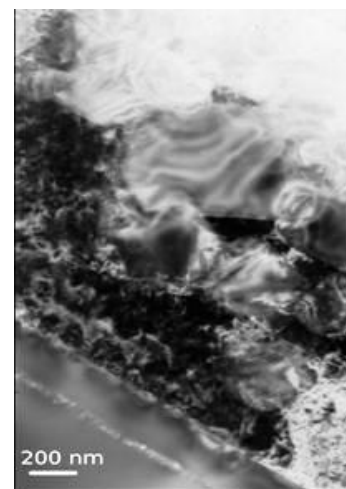


Figura 2. Segunda etapa de crecimiento anómalo de grano. Obsérvese en la esquina inferior izquierda la frontera recta de la fase 2:14:1 y frente a ella la fase rica en Nd donde granos más pequeños de F están en proceso de disolución.

Estos átomos superficiales tienen un entorno más suelto que sus vecinos en el interior y están sujetos a la agitación térmica que tiende a desalinear los espines de los átomos. La ocurrencia de menor acoplamiento junto al carácter más suelto de los átomos superficiales resulta en un volumen del grano con comportamiento superparamagnético que no aporta nada a la anisotropía del material. Este comportamiento superparamagnético se comprobó por espectroscopía Mossbauer. Con la disminución del tamaño de grano a la decenas de nanómetros, la propiedad intrínseca de la anisotropía magnetocristalina comienza a afectarse por el cambio microestructural. Este cambio de carácter entre la relación microestructura- propiedades intrínsecas va acompañado del colapso del modelo de cristal infinito para estos materiales. Sin embargo nunca se logró obtener, ni para los tamaños de

partículas más pequeños, un régimen completamente superparamagnético. En este caso la anisotropía magnetocrisalina y su acoplamiento a la red es aun muy alta para destruir el ferromagnetismo del sistema.

5 Sistema superparamagnético Co-Cu

Es conocido que el Co es muy poco soluble en Cu, cuando ambos metales se mezclan a altas temperaturas y luego se someten a enfriamiento ultrarrápido, el resultado es una microestructura donde precipitados nanométricos de Co se forman en la matriz de Cu. Estas partículas de Co tienen comportamiento superparamagnético. Lo interesante del sistema es que su conductividad eléctrica es fuertemente dependiente del campo magnético aplicado, y una pequeña variación del mismo provoca variaciones en la resistencia eléctrica de varios órdenes de magnitud. Este fenómeno se conoce como magnetoresistencia gigante o GMR [16, 17]. La razón de la ocurrencia de GMR se sabe que viene dado por el efecto microestructural del Co, sin embargo los detalles del mismo aún están por aclararse completamente.

Al abordar el sistema $\text{Cu}_{90}\text{Co}_{10}$ para muestras tratadas isocrónicamente se observó la ocurrencia de una descomposición espinodal. El grado de descomposición espinodal parece estar correlacionado con las propiedades de transporte medidas. Se estudió detalladamente por TEM la microestructura de una variedad de muestras y se cuantificó la longitud de onda de la descomposición. La descomposición se caracteriza por franjas largas ricas en Co. Las franjas tienen una periodicidad de 40 nm. La periodicidad de las franjas no cambia apreciablemente con el tratamiento térmico. Este sorprendente resultado abre una nueva explicación en la influencia de la microestructura en el GMR. Las franjas con distintas composiciones de Co han de tener diferente comportamiento magnético con una distribución inhomogénea de momentos magnéticos. La aparición de la descomposición espinodal como la característica relevante de la microestructura induce a pensar que la explicación del GMR observado es resultado de esta modulación composicional.

Este último material muestra, desde el punto de vista magnético, el comportamiento que hubiésemos esperado del análisis de la hexaferrita de Ba. Aquí la energía magnetocrisalina del Co es ligeramente superior a la del Fe. Pero en esta microestructura se ha logrado desacoplar los granos de Co en una matriz paramagnética. El resultado de este desacople es que en los volúmenes de Co, los átomos logran alinearse entre si de manera ferromagnética sin embargo, todos los átomos son “superficiales” y la energía térmica es mayor que la que les fija una dirección en el espacio.

La energía magnetocrisalina se anula y esto provoca que todos los átomos de una partícula de Co, roten colectivamente de manera aleatoria debido a la agitación térmica: estamos en régimen superparamagnético.

6 Discusión

Los materiales estudiados, todos intrínsecamente ferromagnéticos, deben verse en una secuencia desde el más coercitivo, HDDR-NdFeB, hasta el Co-Cu que muestra comportamiento superparamagnético. Esta secuencia presenta dos características importantes. En la medida que nos movemos desde el HDDR-NdFeB hasta el Co-Cu, la energía de anisotropía magnetocrisalina de los sistemas van disminuyendo y, en la misma secuencia, la microestructura se va caracterizando por una escala cada vez más pequeña.

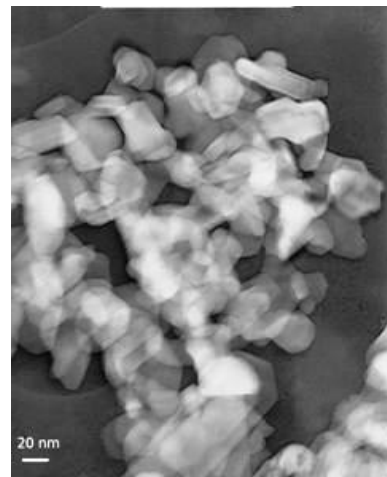


Figura 3. Hexaferrita de Ba obtenida por el método modificado sol-gel.

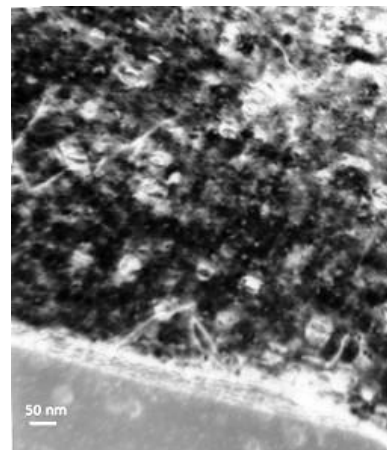


Figura 4. Precipitados nanométricos de Co en la matriz de Cu

En el material con mayor tamaño de grano (HDDR-NdFeB), la anisotropía magnetocrisalina es muy alta, la microestructura realiza esta característica con unos granos monodominios que garantizan una alta coercitividad. Sin embargo cuando el tamaño de grano aumenta de manera anómala, la coercitividad se degrada como resultado de la aparición de dominios dentro de un grano. La aparición de dominios señala la aparición de un mecanismo de reversión de la magnetización basado en nucleación y crecimiento de volúmenes con magnetización revertida. Importante es que en este caso la degradación de la coercitividad es un mecanismo microestructural que no ha afectado la propiedad intrínseca de cada grano.

Cada uno de ellos por separado tiene una alta energía magnetocristalina. En la hexaferrita de Ba-M la energía magnetocristalina es aún alta para el material volumétrico, sin embargo, el tamaño de partícula provoca que para cada partícula aislada la coercitividad ha disminuido como resultado de la aparición de una capa magnéticamente muerta en la superficie. La alta anisotropía aún determina que no sea dominante el comportamiento superparamagnético. Si comparamos esto con el sistema Co-Cu veremos que la distinción entre propiedades intrínsecas y microestructurales ha dejado de ser completamente claro. En estos sistemas, por su tamaño extremadamente pequeño, los átomos, intrínsecamente ferromagnéticos ya no logran sobreponerse colectivamente a la agitación térmica. Como cada grano precipitado tiene una orientación aleatoria que cambia con el tiempo el comportamiento es superparamagnético.

7 Conclusiones

El trabajo que se presenta a consideración es un estudio sistemático de la influencia de la microestructura en las propiedades magnéticas de los materiales nanométricos. En particular como resultado del trabajo, se puede entender el cambio de relación microestructura-propiedades intrínsecas a medida que la escala de los fenómenos y la microestructura disminuye. Este estudio es una contribución a este tema esencial para la comprensión de los fenómenos nanométricos y que están en el foco de interés actual de la ciencia de los materiales y la Física del estado sólido.

Agradecimientos

Se le agradece a M. Baibich por proveer muestras y aclaraciones respecto al sistema Co-Cu. R. Martínez y E. Reguera son reconocidos por la síntesis química del

BaM. La TUW es reconocida por apoyo financiero.

Referencias

1. M. McHenry, *Acta Materialia* 48, 223-238 (2000).
2. P. Marin and A. Hernando, *J. Magn. Magn. Mat.* 215-216, 729-734 (2000).
3. J. Arcas, A. Hernando, J. M. Barandiaran, C. Prados, M. Vazquez, P. Marin, A. Neuweiler, *Phy. Rev. B* 58, 5193-5196 (1998).
4. C. Suryanarayana, *Int. Mat. Rev.* 40, 41-64 (1995)
5. J. Fidler, S. Sasaki and E. Estevez-Rams, *Materials Research Society Symposium Proceedings: Advanced Hard and Soft Magnetic Materials* 577, 291-303 (1999).
6. E. Estevez, J. Fidler, C. Short and I. Harris, *Journal of Physics D: Applied Physics* 29, 951-956 (1996).
7. R. Martinez Garcia, E. Estevez Rams, E. Reguera Ruiz, R. Martinez Sanchez, *Acta Microscopica* 8, 62-70 (1999).
8. E. Estevez-Rams, R. Martinez Garcia, E. Reguera, H. Montiel Sanchez, H. Y. Madeira, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 33, 2708-2715 (2000).
9. M. G. M. Miranda, E. Estevez-Rams, G. Martinez, M. N. Baibich, *Phys. Rev. B*, 68, 14434-1442 (2003).
10. M. G. M. Miranda, E. Estevez-Rams, G. Martinez, M. N. Baibich, *Physica B*, 320, 139-142 (2002).
11. J. McGuiness, X. J. Zahng, X. J. Yin and I. R. Harris, *J. Less. Common Met.* 158, 359-365 (1990)
12. X. J. Zahng, P. J. McGuiness, I. R. Harris, *J. Appl. Phys.* 69, 5838-5840 (1991)
13. J. C. Bernier, *Mater. Sci. Eng. A* 109, 233 (1989)
14. M. Matsumoto, A. Morisako, T. Haeiwa, K. Naruse, T. Karasawa, *IEEE Transl. J. Mag. Japan* 6, 648 (1991).
15. C. Surig, K. A. Hempel, D. Bonnenberg, *IEEE Trans. Magn.* 130, 4092 (1994).
16. A. E. Berkowitz, J. R. Mitchell, M. J. Carey, A. P. Young, S. Zahng, F. E. Spada, F.T. Parker, A. Hutten, and G. Thomas, *Phys. Rev. Lett.* 68, 3745 (1992)
17. J. Wecker, R. von Helmolt, L. Schultz and K. Samwer, *Appl. Phys. Lett.* 62, 1985 (1993).

Micro y nano-biotecnologías en la detección y caracterización de inhibidores de proteasas de interés biomédico

R. García-Fernández, E. Salas, A. del Monte, M. Alonso del Rivero, Y. Guerra, M. A. Chávez[†].

Centro de Estudios de Proteínas (CEP). Facultad de Biología. Universidad de La Habana. Calle 25 No. 455, Vedado, CP 10400, Ciudad de La Habana, Cuba; mchavez@infomed.sld.cu

[†]autor para la correspondencia

Recibido el 9/04/2009. Aprobado en versión final el 20/06/2009.

Sumario. Los inhibidores de proteasas constituyen herramientas importantes en la biomedicina, la biotecnología y el diagnóstico. Varias metodologías micro- y nanobiotecnológicas, basadas en la inmovilización de biomoléculas en superficies sólidas, han permitido la identificación de inhibidores de proteasas en extractos naturales, y su posterior caracterización. Se destacan la atenuación de la intensidad de la señal de espectrometría de masas y la resonancia superficial de plasmones. Su empleo, combinado con métodos tradicionales como la difracción de rayos-X y la dispersión dinámica de la luz, también permite conocer detalles de los complejos proteasa-inhibidor a escala nanométrica.

Abstract. Protease inhibitors have a great importance in biomedicine, diagnostic and biotechnology. Some micro- and nanotechnologies, such as intensity fading mass spectrometry and plasmon surface resonance, have allowed identification and further characterization of natural protease inhibitors. Their combination with dynamic light scattering and X-ray crystallography, allows obtaining nanometric details of protease-inhibitor complexes.

Palabras clave. Nanotechnology biomedical applications, 87.85.Qr, 87.85.Rs, 81.16.-c

1 Introducción

La nanobiotecnología, disciplina en la frontera entre la nanotecnología y la biotecnología, permite estudiar nanoestructuras funcionales inherentes a los seres vivos, por ejemplo las proteínas. Su empleo en la identificación, cuantificación y caracterización de la función y el plegamiento de las proteínas, ha posibilitado avances en el diagnóstico y la terapéutica de múltiples enfermedades^{1,2}. Por otra parte, el desarrollo de la Genómica y la Proteómica, también ha contribuido al desarrollo de la nanobiotecnología, debido a la posibilidad de identificar nuevas proteínas diana presentes en pequeñas cantidades en mezclas complejas de tejidos y fluidos biológicos³.

Entre las dianas terapéuticas más atractivas, se encuentran las proteasas, que catalizan la ruptura de los enlaces peptídicos, actividad necesaria en todo el ciclo de vida de un organismo vivo^{4,6}. Sus contrapartes moleculares, los inhibidores de proteasas (IP), constituyen reguladores endógenos de la actividad proteolítica. Esta actividad ha motivado su uso en la biotecnología y en el diagnóstico o terapéutica de enfermedades tan diversas como el cáncer y el Alzheimer, enfermedades inmunológicas, inflamatorias, cardiovasculares y respiratorias e infecciones parasitarias, fúngicas y virales, como la malaria, el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), las Hepatitis, entre otras⁶.

Entre las metodologías micro- y nanobiotecnológicas utilizadas para el estudio de IP, se destacan las que se

basan en la inmovilización de biomoléculas en superficies sólidas. Ejemplos de estas metodologías son la resonancia superficial de plasmones (BIAcore)⁹ y la atenuación de la intensidad de la señal de espectrometría de masas (IF MALDI-TOF MS)^{10,11}, útiles para caracterizar las propiedades funcionales de los IP y las proteasas. También se han desarrollado nuevos métodos más eficientes de nano-cristalización de proteínas, para dilucidar su estructura tridimensional (3D), que permiten obtener cristales a partir de volúmenes pequeños de muestras en el orden de las decenas de nanolitros. Estas nuevas metodologías pueden complementarse con métodos tradicionales como la difracción de rayos-X (DRX)¹² y la dispersión dinámica de la luz (DLS), técnica que permite determinar el radio hidrodinámico (Rh) de nanopartículas de diferente naturaleza en un intervalo de 1-1000 nm¹³. Por su parte, la DRX permite caracterizar la función y el plegamiento o estructura 3D de las proteínas y de complejos macromoleculares, como es el caso de los complejos proteasas:IP^{12,14}.

En el presente artículo se describe el empleo de BIAcore e IF MALDI-TOF MS, en la identificación y caracterización de IP de importancia terapéutica y diagnóstica, a partir de su fuente natural. También se describe el uso de DLS y DRX como herramientas complementarias para la caracterización de estas nanopartículas y sus complejos con proteasas dianas.

2 Micro y nanobiotecnologías para la identificación y caracterización de IP

Inmovilización de biomoléculas en superficies sólidas. La inmovilización es el término tradicional empleado para describir la metodología de fijación o atrapamiento de una biomolécula en una superficie sólida y generalmente insoluble. También puede definirse como la localización de las biomoléculas en una fase, con retención de su actividad funcional, y la posibilidad de ser utilizada de manera continua y repetitiva¹⁵. Esta metodología es útil en procesos industriales y biotecnológicos de bioconversión así como en la Biomedicina^{15,16}. En los últimos años se ha logrado reducir la escala operacional de estas metodologías hasta 5-10 micrómetros y se han diseñado nuevos prototipos de biomoléculas inmovilizadas en partículas nanométricas. Por otra parte, la utilización de estas micro- o nanoestructuras con fines terapéuticos, permite disminuir la antigenicidad de los fármacos y mejorar su distribución o direccionalización en el organismo².

El tipo de micro- o nanopartícula, el método de obtención y el grado de inmovilización (GI) se seleccionan de acuerdo al ligando, el analito, la fortaleza de su interacción y la posterior aplicación de la partícula¹⁶. En general, se recomiendan valores de la constante de equilibrio de disociación (K_D) de las moléculas interactuantes entre 10^{-4} - 10^{-8} M, para lograr su uso continuo y repetitivo. En el caso de los IP endógenos, con valores de constante de inhibición (K_i) $\leq 10^{-8}$ M, el GI debe ser bajo,

(2-7 pg/ ng de superficie) para disminuir los impedimentos estéricos y las interacciones inespecíficas^{15,16}.

El diseño de matrices de afinidad con este tipo de micro- o nanopartículas, también permite la captura selectiva de biomoléculas, lo que aumenta la resolución y el rendimiento de la purificación y ahorra tiempo y recursos. Esto es especialmente importante en IP y otras proteínas con potencialidades terapéuticas, las que requieren de un alto grado de homogeneidad¹⁷.

Para optimizar la inmovilización de proteasas e IP, nuestro Laboratorio ha desarrollado una estrategia de diseño racional que permite calcular la densidad de grupos reactivos que pueden interactuar con la proteína en la superficie sólida, minimizar los impedimentos estéricos y estimar la cantidad máxima teórica de proteína por unidad de superficie. Esta predicción *in silico* permite predecir las características más importantes de la partícula y ahorra recursos y tiempo de experimentación¹⁸. Esta estrategia, ejemplo de convergencia de las micro- y nanotecnologías, la biotecnología y la informática, ha permitido inmovilizar por primera vez, varias proteasas dianas. La posterior identificación y purificación de IP frente a estas enzimas, pudiera contribuir al diagnóstico o terapéutica de enfermedades, entre las que se encuentra, la malaria^{17,19,20}.

Aplicaciones de la inmovilización en la identificación y caracterización de IP

Métodos proteómicos. La atenuación de la intensidad de la señal de espectrometría de masas con el método de ionización asistida por matriz y analizador de tiempo de vuelo (IF MALDI-TOF MS: del inglés “intensity fading”, “matrix-assisted laser desorption ionization”, “time of flight”, “mass spectrometry”) posibilita detectar la formación de complejos entre moléculas, particularmente proteínas, mediante la utilización de la espectrometría de masas como transductor^{10,11}.

El método fue desarrollado para identificar IP a partir de mezclas naturales complejas mediante su capacidad de interacción con las proteasas que inhibe¹⁰. La formación del complejo se detecta mediante la atenuación o apagamiento de la intensidad iónica molecular de una proteína, después de adicionar su contraparte molecular, cuando se compara con un espectro de masas control de la muestra inicial¹⁰. Una variante desarrollada posteriormente, incluye una etapa de afinidad con la proteasa inmovilizada en micropartículas poliméricas¹¹. El inhibidor retenido en la micropartícula puede ser eluido selectivamente y analizado mediante espectrometría de masas^{11,21}. De esta forma, la reaparición o el aumento de la intensidad de la señal en el espectro de la fracción eluida, corrobora la presencia de una molécula capaz de interactuar con la proteasa inmovilizada y descarta la posibilidad de interacciones inespecíficas (Figura 1).

Esta metodología ha permitido identificar IP en extractos heterogéneos de invertebrados marinos. Por ejemplo, la interacción del extracto del anélido marino *Sabellastarte magnifica* con carboxipeptidasa A (CPA), produjo la disminución de una señal correspondiente a

20 kDa (Fig. 1). La posterior elución de los componentes retenidos, sugirió la presencia en el extracto de un in-

hibidor de CPA con una masa molecular de 20 kDa, que fue posteriormente purificado y caracterizado²¹.

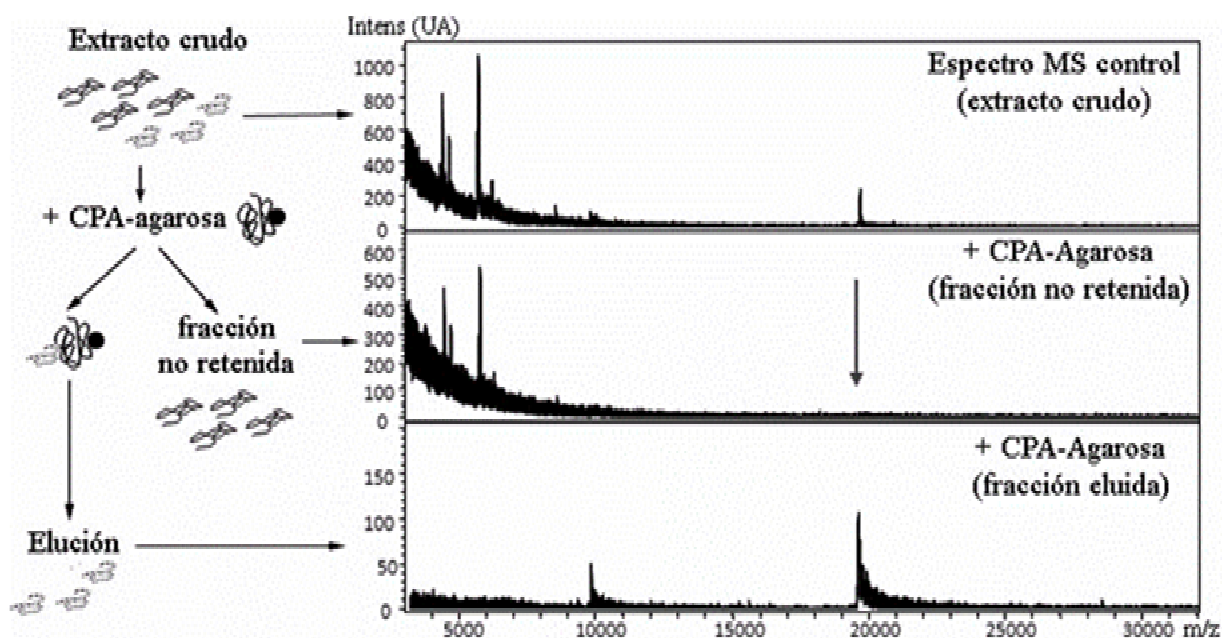


Figura 1. Izquierda: estrategia general de identificación de IP a partir de mezclas complejas mediante IF MALDI-TOF MS. El círculo negro representa la partícula de agarosa donde se inmoviliza la enzima. Derecha: Identificación de actividad inhibidora de CPA en el extracto de *S. magnifica*. La interacción con la enzima (pH 5 y temperatura ambiente) provoca la desaparición de la señal iónica con m/z ~20 kDa presente en el extracto crudo (ver flecha), que reaparece al eluir con 0.1% TFA, pH 1.

Esta metodología también permite caracterizar el espectro de actividades inhibitorias de IP previamente purificados. Por ejemplo, el estudio mediante IF MALDI TOF, del inhibidor recombinante ShPI-1, indicó que éste mantiene las principales características funcionales del inhibidor natural, obtenido de la anémona de mar *Stichodactyla helianthus*. La molécula natural interactúa con proteasas de tipo serino (tripsina) y aspártico (pepsina) y constituye el primer IP descrito activo frente a proteasas de tres clases mecánicas diferentes, propiedad que le confiere ventajas para su uso biotecnológico y diagnóstico^{22,23}.

Por otra parte, se ha demostrado que la intensidad relativa de la señal iónica del IP, en función de las concentraciones de la enzima diana, responde a un comportamiento cinético típico de estas moléculas. Este resultado posibilita clasificar *a priori* los IP en base a su fortaleza de interacción, a escala semicuantitativa. Por lo tanto, la metodología IF MALDI-TOF MS complementa los ensayos cinéticos tradicionales y confirma la presencia de IP capaces de interactuar con sus proteasas diana. El conocimiento de las masas moleculares de los IP detectados, facilita su purificación y caracterización. Es posible, además, realizar la detección en un intervalo amplio de masas moleculares y no existe límite de masa para la molécula diana. Otras ventajas están relacionadas con su rapidez y sensibilidad (detección de muestra en el intervalo sub-micromolar) y la posibilidad de su integración a un

formato de alto flujo.

Métodos de interacción en tiempo real. El estudio de las interacciones moleculares –asistido por tecnología basada en el fenómeno físico de Resonancia de Plasmones de Superficie– se realiza en un *sensor chip*, cuya superficie combina una alta capacidad de unión, reproducibilidad en las medidas y resistencia química⁹. A pesar de que existen *bioships* de diversos formatos, el más empleado es el Biacore (Biacore AB), en el que una molécula (ligando) se inmoviliza en una superficie de oro, recubierta por cadenas de carboximetildextrano. Posteriormente, su contraparte molecular (analito) se inyecta a flujo continuo sobre la superficie derivatizada. Como resultado de la interacción, ocurre un aumento de la densidad de masa en la superficie, lo que genera un cambio del índice de refracción en la vecindad del *bio-chip*. Este fenómeno es transducido en tiempo real por el sistema óptico acoplado al sensor, que genera un perfil continuo de la unión (sensograma). En la fase inicial del experimento, la forma del sensograma refleja la producción simultánea de los procesos de asociación-disociación. En la fase final (cuando circula solución libre de analito) el sensograma representa solo el proceso de disociación (Fig. 2 arriba). Para eliminar los efectos inespecíficos, el analito se inyecta en paralelo a través de una superficie control virgen (o derivatizada con otro ligando) y el sensograma control es sustraído del sensograma original^{9,24}.

Cuando se aplica al estudio de sistemas proteasa (ligando)-inhibidor (analito), esta herramienta puede suministrar dos tipos de información. Primeramente, el análisis de la forma del sensograma puede demostrar la presencia de (uno o más) compuestos capaces de interactuar específicamente con la proteasa inmovilizada²⁵. Además, si se conoce la relación estequiométrica del complejo y la cantidad de enzima activa inmovilizada en el biochip, es posible estimar la masa molecular del inhibidor y su concentración²⁴. En segundo lugar, es posible seguir el curso temporal de los procesos de asociación/disociación y obtener información cinética de estos fenómenos. Para esto es necesario obtener sensogramas sucesivos, mediante la inyección de soluciones con concentraciones crecientes del inhibidor (Fig. 3 abajo). Este procedimiento permite calcular las constantes cinéticas de asociación (k_{as}) y disociación (k_{dis}), así como la constante de equilibrio de disociación del complejo proteasa-inhibidor (K_i), mediante el ajuste de los datos obtenidos a modelos matemáticos²⁵. De esta forma, es posible seleccionar los IP más prometedores atendiendo a diferentes parámetros cinéticos. Además de la K_i , que refleja la fortaleza de la inhibición, resulta muy informativo el valor de k_{dis} , que es proporcional a la estabilidad temporal del complejo enzima-inhibidor y por tanto, podría ser indicativo de efectos más prolongados *in vivo*²⁵.

La tecnología BIAcore se ha empleado en la selección y caracterización de IP sintéticos contra la proteasa aspartica del VIH²⁵ y las proteasas ácidas secretadas por *Candida albicans*²⁶. También, en la búsqueda y caracterización funcional de IP a partir de fuentes naturales, frente a enzimas dianas de diversas clases mecanísticas. Por ejemplo, se ha realizado la búsqueda de inhibidores de tripsina (proteasa de tipo serino) y carboxipeptidasa B (de tipo metalo) en varias especies vegetales²⁷. También se utilizó en el tamizaje primario en invertebrados marinos, de inhibidores de papaína, una proteasa de tipo cisteíno de origen vegetal (<http://www.bioveg.bioplantas.cu> pág111). A partir de ese tamizaje se identificó un IP de unión fuerte en la gorgonia *P. homomalla*, que se encuentra actualmente en estudio (Fig. 3B).

Para la identificación exitosa de IP en fuentes naturales, es necesario el procesamiento de un gran número de muestras en corto tiempo, con métodos que ofrezcan una alta confiabilidad y reproducibilidad de los resultados. En tal sentido, se ha desarrollado una estrategia que combina: (i) ensayos enzimáticos de alta productividad (número de muestras/operario/día) para el tamizaje primario y (ii) la re-evaluación de los extractos positivos mediante BIAcore. Con este objetivo, se han utilizado ensayos enzimáticos heterogéneos para la identificación a gran escala, de inhibidores de la proteasa del VIH²⁸ y de Plasmepsina 2 (PlmII)²⁹, proteasa de tipo aspártico de *P. falciparum*, agente causal de la malaria. El re-análisis de los extractos más prometedores mediante BIAcore, permitió la posterior purificación y caracterización de un inhibidor de PlmII en el extracto de *P. homomalla*¹⁹.

Entre las ventajas de la tecnología BIAcore se encuentran: la baja frecuencia de aparición de falsos posi-

vos, su alta sensibilidad y que no requiere el marcaje de sus componentes. Entre sus limitaciones se halla la dificultad para estudiar analitos de muy bajo peso molecular y los sistemas de asociación muy rápida ($k_{as} > 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) y/o disociación muy lenta ($k_{dis} < 10^{-5} \text{ s}^{-1}$)⁹.

Por último, se han desarrollado sensores basados en SPR, completamente automatizados y de alta productividad, mediante su acoplamiento con técnicas analíticas de alto flujo como MALDI-TOF MS³⁰. Esta metodología posee un enorme potencial para el estudio de interacciones en proteomas completos, empleando micro-arreglos complejos de proteínas y técnicas de análisis de imágenes²⁴, lo que abre nuevos horizontes a esta potente herramienta en la era post-genómica.

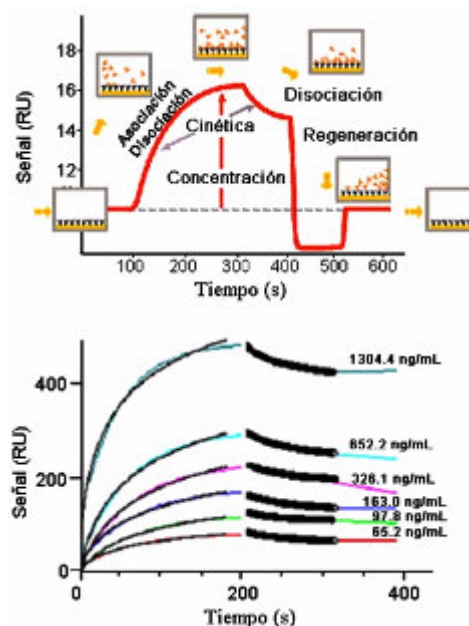


Figura 2. Arriba: Sensograma tipo de un experimento de interacción analito-ligando por el método BIAcore. Se muestra la forma típica de la curva en las distintas etapas del experimento. Abajo: Familia de sensogramas resultantes de la interacción entre la Papaína, inmovilizada en el bioship y concentraciones de proteína crecientes del extracto de la gorgonia *P. homomalla*. Líneas oscuras: sensogramas teóricos del ajuste del modelo de Langmuir a los datos experimentales (estequiometría 1:1).

3 Metodologías complementarias para el estudio de nanopartículas: aplicaciones a la caracterización de complejos proteasa:inhibidor

Dispersión dinámica de la luz. La técnica DLS (del inglés "Dynamic light scattering"), conocida también como espectroscopía de correlación de fotones (PCS), ha demostrado ser eficaz en el estudio de nanopartículas de diferente naturaleza¹³. Los aspectos experimentales y teóricos de esta metodología han sido ampliamente documentados, por lo que no se abordarán en este artículo^{13,31}. Este método, detecta las fluctuaciones de la dis-

persión de la luz láser debidas al movimiento Browniano de las partículas, y que dependen del tamaño de estas moléculas. Las variaciones en el tiempo de este proceso físico, se describen a través de la función de autocorrelación (D), a partir de la cual puede calcularse el radio hidrodinámico (Rh) de las partículas en solución^{13,31}.

La metodología DLS fue propuesta inicialmente para estudiar el proceso de nucleación de cristales de proteína en solución, lo que permitió distinguir entre precipitados amorfos y cristalinos en soluciones supersaturadas. En los últimos años DLS se ha aplicado a otros sistemas con el objetivo de conocer el grado de polidispersión (Fig. 3) de las muestras y se considera un método analítico de predicción y monitoreo del proceso de cristalización^{14,31}. También ha cobrado gran interés el estudio del estado de agregación y el cálculo de Rh de proteínas utilizadas en nanopartículas con aplicaciones en la nanomedicina, ya que estos parámetros pueden influir en la efectiva liberación y la actividad de la proteína.

En el caso de los IP, el proceso de autoagregación en solución del inhibidor de tripsina de páncreas bovino (BPTI o aprotinina) ha sido uno de los fenómenos más estudiados³², lo que resulta imprescindible debido a sus aplicaciones biomédicas. Este inhibidor se ha utilizado para mejorar la respuesta terapéutica a la administración por vial oral de biomoléculas peptídicas³³ (Tabla 1).

Otra aplicación de esta metodología ha sido el monitoreo del valor Rh de una nanopartícula proteica debido a su interacción con otras proteínas, lo que permite demostrar la presencia de complejos macromoleculares. También ha permitido investigar características de complejos macromoleculares, por ejemplo la relación estequiométrica y la estabilidad de complejos proteasa-sustrato y proteasa-inhibidor, respectivamente^{14,34}. La comparación del Rh de muestras monodispersas del inhibidor recombinante ShPI-1 en forma libre y en complejo con tripsina bovina, corroboró la formación del complejo ShPI-1-tripsina. Asimismo, se evidenció la estabilidad del complejo debido a la permanencia de la señal de DLS de la nanopartícula en solución por más de 12 días¹⁴.

Cristalografía/Difracción de Rayos-X. Esta metodología permite dilucidar la relación estructura-función de las proteínas mediante la determinación de su estructura 3D. A su vez, este conocimiento ha permitido abordar el diseño racional de nuevos inhibidores y estrategias de mutagénesis sitio específico de IP naturales. Por ejemplo, la mayoría de los inhibidores sintéticos de la proteasa del VIH, utilizados en la actualidad en la terapia antirretroviral, se diseñaron teniendo en cuenta la estructura 3D de esta enzima y de inhibidores de la renina y otras proteasas de tipo aspártico³⁵.

La determinación de la estructura 3D de proteínas involucra el empleo de la radiación de rayos-X, con longitudes de onda similares a las dimensiones de este tipo de biomoléculas (0.1nm-1nm). Sin embargo, debido a que la difracción que produce una molécula individual es muy débil, se requiere obtener un cristal con moléculas

de proteína ordenadas regularmente en forma de una red tridimensional¹².

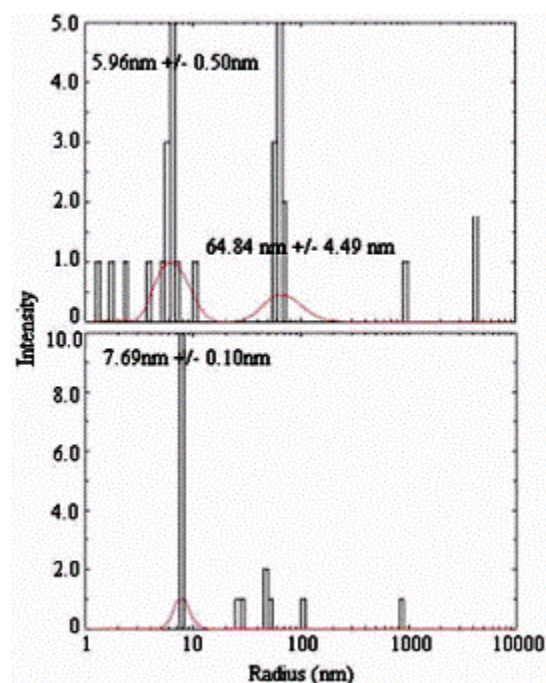


Figura 3. Medición mediante DLS, del grado de polidispersión y el radio hidrodinámico de dos muestras del inhibidor recombinante ShPI-1A. Arriba: Histograma de una muestra polidispersa. Abajo: muestra monodispersa con un solo tipo de partícula en solución y un valor Rh= 7.69 ± 0.10 nm.

Tabla I		
Ejemplos del uso de IP en nanopartículas con aplicaciones en la nanomedicina		
Inhibidor	Actividad inhibidora	Aplicación en la nanomedicina
BPTI	Proteasas de tipo serino	Vesículas multilamelares que encapsulan medicamentos peptídicos. Inhibición <i>in vitro</i> de tripsina y ↑ concentración en sangre de drogas (administración oral) ³³ .
rSLPI	Leucoproteasa 1	Encapsulamiento en liposomas. ↑ estabilidad de rSLPI frente a catepsina L. Terapéutica de enfermedades pulmonares ³⁹ .
IP péptido miméticos	Proteasa VIH	Encapsulación en liposomas y direccionalización a células infectadas ⁴⁰ .
Ritonavir	Proteasa VIH	Reducción de la carga viral por direccionalización en nanopartículas, hacia el sistema nervioso central ⁴¹ .
Cistatina	Proteasas de tipo cisteíno	Encapsulación en nanopartículas, direccionalización a células tumorales de mama. Inactivación de catepsina B del tumor y reducción de metástasis ⁴² .

↑: Aumento, rSLPI: inhibidor recombinante de la leucoproteasa 1, referencias: 33, 39-42.

La nanocristalización de proteínas, con el empleo de sistemas automatizados, ha permitido disminuir los volúmenes de la muestra a cristalizar, hasta 20-100 nL, en experimentos de difusión al vapor (<http://www.bfsc.leidenuniv.nl/research/nano.html>).

También se ha descrito la posibilidad de crecer cristales en volúmenes de gota de hasta 1 nL³⁶, lo que permite ensayar un mayor número de condiciones de cristalización con igual cantidad de muestra. El empleo de este tipo de sistema permitió determinar la estructura 3D del complejo rShPI-1A-tripsina bovina, utilizando volúmenes de solución de proteína de 20 nL¹⁴.

Por otra parte, el desarrollo y la optimización de los sistemas de colecta de datos de DRX en la actualidad, está permitiendo el uso de cristales de proteínas con dimensiones nanométricas³⁷. La colecta de datos con el empleo de *Sinchrotrones* de tercera generación, usualmente requiere cristales de, al menos 20 µm, debido al daño que provoca la radiación. Las dimensiones del cristal también dependen del tamaño de la celda unitaria, lo que es particularmente crítico en el caso de proteínas con masas moleculares elevadas. Por ejemplo, para la determinación de la estructura 3D de la proteína de membrana fotosistema I, se utilizaron cristales mayores de 500 µm³⁷. Estas limitaciones, sumado a las dificultades de la producción de cristales, han motivado el interés en la llamada "*powder protein crystallography*"³⁸, utilizada fundamentalmente para proteínas de membrana³⁹. Esta metodología se basa en la determinación de la estructura 3D mediante la colecta de cientos de conjuntos de datos parciales, a partir de muchos cristales con dimensiones nanométricas^{37,38}. Por lo tanto, la cantidad de proteína utilizada actualmente en experimentos de DRX es mucho mayor que la necesaria para producir cristales, lo que demuestra las potencialidades futuras de optimización de los métodos de cristalización de proteínas.

La nanocristalización de proteínas, favorecerá la determinación de la estructura 3D de proteínas minoritarias a partir de genomas completos. Por lo tanto, pudiera complementar los resultados de identificación y caracterización de IP con aplicaciones potenciales en la biomedicina.

4 Consideraciones finales

Uno de los grandes retos de la nanobiotecnología es el desarrollo de "nanoterapias" dirigidas específicamente a los tejidos y órganos enfermos, sin dañar a las células sanas. Entre las biomoléculas utilizadas con este objetivo se encuentran también los IP, lo que abre un camino potencial a la obtención de sistemas de liberación y protección de este tipo de biomoléculas (Tabla 1). De esta manera, las herramientas y técnicas en la micro- y la nanoescala han sido empleadas no sólo para la identificación y estudio molecular de los IP, sino también en su manipulación para el desarrollo de nanopartículas con aplicaciones en la nanomedicina. Esto pudiera producir grandes avances diagnósticos y terapéuticos, lo que a su

vez, demuestra la importancia de estas tecnologías para la identificación y caracterización de nuevos IP.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al Dr. Tirso Pons, del Laboratorio de Biología Computacional y diseño de proteínas del CEP, por su ayuda durante la preparación y revisión del manuscrito.

Referencias

1. P. D. Gupta, D. Manasi, A. R. Vasavada, "Protein nanotechnology—a powerful futuristic diagnostic technique", *Indian J. Clin. Biochem.*, 20(2), 48-53 (2005).
2. M. R. Choi, K. J. Stanton-Maxey, J. K. Stanley, "A cellular Trojan horse for delivery of therapeutic nanoparticles into tumors", *Nano Lett.*, 7, 3759–65 (2007).
3. G. MacBeath, S. L. Schreiber, "Printing proteomics as microarrays for high throughput function determination". *Science*, 289, 1760-1763 (2000).
4. L. Hedstrom, "Serine proteases Mechanism and specificity", *Chem. Rev.*, 102, 4501- 4523 (2002).
5. H. Neuhof, C. Hoffmann, W. Seeger, N. Suttorp, H. Fritz, "Proteases as mediators of pulmonary vascular permeability", *Prog. Clin. Biol. Res.*, 308, 305-314 (1989).
6. G. Abbenante, D. P. Fairlie, "Protease inhibitors in the Clinic". *Med. Chem.*, 1, 71-104 (2005).
9. P. Torrer, M. Ceccarini, P. Macioce, T. C. Petrucci, "Biomolecular interactions by Surface Plasmon Resonance technology". *Ann Ist Super Sanità*, 1, 437-441 (2005).
10. J. Villanueva, O. Yanes, E. Querol, L. Serrano, F. X. Aviles, "Identification of Protein Ligands in Complex Biological Samples Using Intensity-Fading MALDI-TOF Mass Spectrometry", *Anal. Chem.*, 75, 3385-3395 (2003).
11. O. Yanes, J. Villanueva, E. Querol, F. X. Avilés, "Detection of non-covalent protein interactions by 'Intensity fading' MALDI-TOF MS: applications to proteases and protease inhibitors". *Nature Protoc.* 2, 119-130 (2007).
12. J. Drenth, "Principles of Protein X-Ray Crystallography", en *Springer Advanced Texts in Chemistry* 3rd ed., XVI, 332 p. 159, ISBN: 978-0-387-33334-22007 (2007).
13. F. R. Hallet, "Particle size analysis by dynamic light scattering". *Food Res. Intern.*, 27, 195-198 (1994).
14. R. García, L. Redecke, T. Pons, M. Perbandt, D. Gil, M. Manzur, Y. González, M. A. Chávez, C. Betzel, "Crystal structures of the recombinant Kunitz type inhibitor-1 from the sea anemone *S. helianthus* and its complex with bovine trypsin: dynamic light scattering and intensity fading studies". *J. Mol. Biol.* (en preparación).
15. J. M. Guisán, "Methods in Biotechnology: Immobilization of Enzymes and Cells", 2nd Edition, Humana Press Inc., Totowa, NJ, p.15-30 (2008).
16. G. T. Hermanson, A. K. Mallia, P.K. Smith, "Immobilized Affinity Ligand Techniques", Academic Press (Ed), New York, 454 p. (1992).
17. A. R. Ramírez, Y. Guerra, A. Otero, B. García, C. Berry, J. Mendiola, A. Hernández-Zarnui, M. A. Chávez, "Generation of an affinity matrix useful in the purification of inhibitors of Plasmeprin II, an antimalarial drug target", *Biotech. Appl. Biochem.*, 52(2), 149-152 (2009).
18. A. del Monte, Y. Fernández-Marrero, H. Gómez, M. Chappé, A. Alexander, J. González, R. Romero, E. Salas, I. Pascual, M. A. Chávez, G. Sandoval, H. Nolasco, J. Díaz, "Rational Design of Immobilized Derivatives for Affinity

Chromatography and Enzymatic Bioconversion", III International Conference on Enzyme Technology, P.2 (2007).

19. Y. Guerra, "Expresión en *E. coli* de PlmII y PlmIV y purificación y caracterización de un inhibidor a partir del extracto de *P. homomalla*", Tesis de Maestría. Facultad de Biología. Universidad de La Habana (2009).

20. Y. González, T. Pons, J. Gil, V. Besada, M. Alonso del Rivero, M. S. Araujo, M. A. Chávez, "Characterization and comparative 3D modeling of CmPI-II, a novel 'non-classical' Kazal-type inhibitor from the marine snail *Cenchritis muricata* (Mollusca) Biol. Chem., 388, 1183-1194 (2007).

21. M. Alonso del Rivero, "Purificación y caracterización de un nuevo inhibidor bifuncional de metalocarboxipeptidasa A y proteasas de tipo serino, a partir del anélido *S. magnifica*", Tesis de Doctorado. Facultad de Biología. Universidad de La Habana (2007).

22. J. Delfin, V. Morera, Y. González, J. Díaz, M. Márquez, N. Larionova, A. Saroyán, G. Padrón, M. A. Chávez, "Purification and characterization of proteinase inhibitors from the sea anemone *S. helianthus*", Toxicon 34(11/12), 1367-1376 (1996).

23. M. Mansur, "Sistema de obtención de insulina humana a partir de *Pichia pastoris*", Tesis de Doctorado. Facultad de Biología. Universidad de La Habana (2007).

24. J. S. Yuk, K. Ha, "Proteomic applications of surface plasmon resonance biosensors: analysis of protein arrays". Exp. Mol. Medicine, 37, 1-10 (2005).

25. P. Markgren, M.T. Lindgren, K. Gertow, R. Karlsson, U. H. Danielson, "Determination of Interaction Kinetic Constants for HIV-1 Protease Inhibitors Using Optical Biosensor Technology", Anal. Biochem., 291, 207-218 (2001).

26. D. Backman, M. Monod, U. H. Danielson, "Biosensor-Based Screening and Characterization of HIV-1 Inhibitor Interactions with Sap 1, Sap 2, and Sap 3 from *Candida albicans*", J. Biomol. Screening, 11(2), 165-175 (2006).

27. J. Borch, P. Roespstorff, "Screening for Enzyme Inhibitors by Surface Plasmon Resonance Combined with Mass Spectrometry", Anal. Chem., 76, 5243-5248 (2004).

28. O. A. Gutiérrez, E. Salas, Y. Hernandez, E. A. Lissi, G. Castrillo, O. Reyes, H. Garay, A. Aguilar, B. Garcia, A. Otero, M. A. Chavez, C. Duarte, "An immunoenzymatic solid-phase assay for quantitative determination of HIV-1 protease activity", Anal. Biochem., 307, 18-24 (2002).

29. E. Salas, A. Ramírez, A. Otero, R. Vázquez, O. Reyes, J. Mendiola, C. A. Duarte, A. Otero, O. A. Gutiérrez, M. A. Chávez, "A heterogeneous enzymatic assay for quantification of Plasmepsin II activity and the evaluation of its inhibitors", J. Pharm. Biomed. Anal., 34, 833-40 (2004).

30. D. Nedelkov, R.W. Nelson, "Surface plasmon resonance mass spectrometry: recent progress and outlooks". TRENDS in Biotechnology, 21(7), 301-305 (2003).

31. W. Wilson, "Monitoring Crystallization Experiments Using Dynamic Light Scattering: Assaying and Monitoring Protein Crystallization in Solution", Methods: A Companion to Methods Enzymol., 1(1), 110-117 (1990).

32. M. Gottschalk, K. Venu, B. Halle, "Protein Self-Association in Solution: The Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor Decamer", Biophys. J., 84, 3941-3958 (2003).

33. M. Werle, H. Takeuchi, "Chitosan-aprotinin coated liposomes for oral peptide delivery: Development, characterisation and *in vivo* eval", Int. J. Pharm., 370, 26-32 (2009).

34. K. C. Pandey, S. X. Wang, P. S. Sijwali, A. L. Lau, J. H. McKerrow, P. J. Rosenthal, "The *Plasmodium falciparum* cysteine protease falcipain-2 captures its substrate, hemoglobin, via a unique motif", PNAS 102 (26), 9138-9143 (2005).

35. T. L. Blundell, R. Lapatto, A. F. Wilderspin, A. M. Hemmings, P. M. Hobart, D. E. Danley, P. J. Whittle, "The 3-D structure of HIV-1 proteinase and the design of antiviral agents for the treatment of AIDS", Trends Biochem Sci., 15(11), 425-430 (1990).

36. M. E. Uil, E. Maxim, E. R. Bodestaff, F. J. Hoedemaeker, J. Abrahams, "Protein nano-crystallogenesis", Enz. Microbial Technol., 30(3), 262-265 (2002).

37. D. Shapiro, H. Chapman, D. DePonte, R. Doak, P. Fromme, G. Hembree, M. Hunter, S. Marcheni, K. Schmidt, J. Spence, D. Starodub, U. Weierstall, "X-ray Powder diffraction from a continuous microjet of submicrometer protein crystals", J. Synchrotron Radiat. 15(6), 593-9 (2008).

38. I. Margiolaki, J. P. Wright, "Powder crystallography on macromolecules", Acta Crystallogr. A. 64(1), 169-180 (2008).

39. A. M. Gibbons, N. G. McElvaney, C. C. Taggart, S. A. Cryan, "Delivery of rSLPI in a liposomal carrier for inhalation provides protection against cathepsin L degradation", J. Microencapsul., 9, 1-10 (2008).

40. N. Düzgüneş, E. Pretzer, S. Simões, V. Slepishkin, K. Konopka, D. Flasher, M. C. de Lima, "Liposome-mediated delivery of antiviral agents to human immunodeficiency virus-infected cells", Mol. Membr. Biol. 16(1), 111-8 (1999).

41. K. S. Rao, M. K. Reddy, J. L. Horning, V. Labhasetwar, "TAT-conjugated nanoparticles for the CNS delivery of anti-HIV drugs", Biomaterials, 33, 4429-38 (2008).

42. N. Obermajer, P. Kocbek, U. Repnik, A. Kuznik, M. Cegnar, J. Krist, J. Kos, "Immunonanoparticles: an effective tool to impair harmful proteolysis in invasive breast tumor cells", FEBS J., 274(17), 4416-27 (2007).

Dependencia térmica de la corriente umbral en láseres semiconductores a pozo cuántico

M. Sánchez[†], N. Suárez Rojas, J. A. Martín^a y Elis Mon

Facultad de Física, Universidad de La Habana, Cuba; maruchy@fisica.cu[†]

^{a)} Facultad de Informática, Universidad de Ciego de Ávila “Máximo Gómez Báez”, Carretera a Morón, Km 9, Ciego de Ávila, Cuba.

[†]autor para la correspondencia

Recibido el 1/02/2009. Aprobado en versión final el 08/07/2009.

Sumario. Se presenta un estudio de la dependencia térmica de la corriente umbral en láseres de diferentes materiales haciendo énfasis los láseres en base a GaInNAs. En este caso se utilizó un modelo que incluye, la recombinación radiativa, la monomolecular y la Auger. El coeficiente de recombinación monomolecular (A_m) se tomó independiente de la temperatura, mientras que para el coeficiente radiativo (B_r) se utilizó una dependencia tipo $B_r \propto T^{-1}$ y para el coeficiente Auger (C_A) una variación exponencial. Estos coeficientes se utilizaron como parámetros de ajuste en la simulación. Los resultados muestran que la recombinación monomolecular es el mecanismo dominante en estos dispositivos y que la recombinación Auger debe tenerse en cuenta en todos los casos aunque con diferente peso según la estructura.

Abstract. Results on the temperature dependence of the threshold current density for semiconductor lasers based in different materials are presented, emphasizing in GaInNAs devices. In this case the model considers, the radiative, monomolecular and Auger recombination components. The monomolecular recombination coefficient (A_m) was taken independent of temperature; while the radiative coefficient (B_r) was taken as $B_r \approx T^{-1}$ and for Auger coefficient (C_A) an exponential dependence was considered. These coefficients were used as adjustable parameters in the simulation. Results shown that while the monomolecular recombination is the main mechanism responsible for the increment of the threshold current with temperature the Auger component should be considered in all cases although with different weight related with the structure.

Palabras clave. Láseres semiconductores, 42.55.Px, Dispositivos a pozo cuántico, 85.35.Be, Dispositivos optoelectrónicos, 85.60.q

1 Introducción

En los últimos años la nanotecnología ha tenido un gran progreso en diferentes áreas, pero, el avance mas significativo se ha alcanzado en el área de los semiconductores. Las nanoestructuras semiconductoras han revolucionado la electrónica, la fotónica y la optoelectrónica, y es en esta última donde los beneficios de las estructuras de baja dimensión se han introducido ya en unos pocos dispositivos prácticos, destacándose entre ellos los láseres semiconductores.

Los láseres semiconductores (LDs) forman parte de nuestra vida cotidiana y se utilizan en aplicaciones tan variadas como, sistemas de comunicación óptica por fibra, almacenamiento de información, impresoras, fuente de bombeo para otros láseres, etc.

Uno de los aportes más significativos al desarrollo de estos dispositivos fue la introducción de las heterojunturas por Zh. I. Alferov¹ (premio Nóbel en Física, 2000), lo que hizo posible la obtención de dispositivos con bajos valores de densidad de corriente umbral (J_{th}) que operan en régimen continuo a temperatura ambiente. En par-

ricular fue crucial el desarrollo de la estructura SCH (*Separate Confinement Heterostructure*), donde los portadores son confinados por las barreras situadas a ambos lados de la zona activa; en tanto, la luz es confinada por las capas “*cladding*”, que hacen función de guía de ondas debido a su menor índice de refracción.

Otra contribución importante al perfeccionamiento de los láseres semiconductores fue el desarrollo, en los años 70, de técnicas de crecimiento como la Epitaxia de Haces Moleculares (MBE) y la Deposición Química de Compuestos Metal Orgánicos (MOCVD), con las que comenzaron a desarrollarse los láseres a pozo cuántico (QW) que se introdujeron en la década del 80. La principal ventaja de utilizar como zona activa una capa de espesor cuántico es que la densidad de estados es bidimensional (2D) en lugar de tridimensional (3D) como en una capa volumétrica. Al ser el volumen activo más pequeño, hay una menor cantidad de estados a llenar para lograr la inversión de población requerida para obtener ganancia. Con la introducción de los láseres a QW se logró una importante reducción de la J_{th} . Hoy en día todos los láseres comerciales utilizan alguna variante de estructura SCH con uno o más QW en la zona activa.

En todas las aplicaciones prácticas los dispositivos se calientan, lo que provoca el incremento de la densidad de corriente umbral, que sigue la relación empírica:

$$J_{th} = J_0 \exp\left(\frac{T}{T_0}\right) \quad (1)$$

donde T_0 es la llamada temperatura característica. En la práctica se desea que los dispositivos tengan altos valores de T_0 . Por ejemplo, en láseres de AlGaAs se alcanzan habitualmente valores por encima de 150 K mientras que en los de GaInPAs los valores de este parámetro son pequeños, alrededor de los 60 K.

En la práctica se observan frecuentemente desviaciones de esta ley exponencial dada por (1) y en las curvas de J_{th} en función de la temperatura aparecen puntos de cambio de pendiente llamados “kinks”. Por esta razón, es usual reportar para un mismo dispositivo varios valores de T_0 definidos en diferentes intervalos de temperatura.

La dependencia térmica de J_{th} está determinada por los diferentes mecanismos de recombinación y pérdida presentes en el dispositivo. Del total de portadores inyectados en la zona activa de una estructura una parte se recombina radiativamente y otra de manera no radiativa por diferentes mecanismos. Los portadores también pueden escapar hacia las capas *cladding* (fuga vertical). Todos los portadores que no participan en la emisión estimulada deben ser compensados por la densidad de corriente umbral, así esta estará dada por la suma de las componentes asociadas a los mecanismos presentes en una estructura determinada.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos por los autores sobre el estudio de la dependencia térmica de J_{th} en láseres de diferentes materiales semiconductores, haciendo énfasis en los láseres en base a GaInNAs que se encuentran aún a nivel de laboratorio.

2 Láseres de $Al_xGa_{1-x}As$

Los láseres en base a $Al_xGa_{1-x}As$ que emiten en el rango de longitudes de onda del rojo al infrarrojo tienen aplicación en impresoras, lectores de CD, equipos de diagnóstico en la medicina, así como en fuentes de bombeo de láseres de estado sólido como el de Nd:YAG y han sido los más estudiados entre todos los láseres semiconductores.

En [2] reportamos un valor de T_0 de 307 K para un láser a QW de $Al_xGa_{1-x}As$ con largo de cavidad de 167 μm . En esta estructura la dependencia térmica de la corriente umbral fue simulada considerando, además de la componente radiativa ($J_{radiativa}$), la recombinación no radiativa de Auger (J_{Auger}) y la fuga de electrones (J_{fuga}) que no son confinados por las barreras y escapan hacia las capas *cladding*.

La componente radiativa de la corriente umbral se puede calcular por la siguiente expresión³

$$J_{rad}(T) = qL_z B_r(T) [n_{th}(T)]^2 \quad (2)$$

donde L_z es el ancho del pozo que forma la zona activa, B_r el coeficiente de recombinación radiativa y n_{th} la densidad de portadores umbral.

La contribución a la corriente de umbral debido a la recombinación no radiativa de Auger se calcula por la siguiente expresión³:

$$J_{Auger}(T) = qL_z C_a(T) [n_{th}(T)]^3 \quad (3)$$

En este caso debe tenerse en cuenta que en un semiconductor pueden tener lugar una gran variedad de procesos Auger, dependiendo de la naturaleza de las posibles transiciones y la concentración de portadores³ por lo que en general su contribución se tiene en cuenta a través de un coeficiente C_a que representa un promedio de estos procesos.

La corriente de fuga de electrones es un mecanismo gobernado por la diferencia de energía (*band-offset*) entre las bandas de conducción de los materiales que forman la zona activa y las capas *cladding*. Para calcular esta componente utilizamos la siguiente expresión aproximada:

$$J_{fuga}^e = \frac{qD_e n^e}{L_e \tanh\left(\frac{S}{L_e}\right)} \quad (4)$$

donde D_e y L_e son el coeficiente y la longitud de difusión de los electrones respectivamente, S es la distancia de la zona activa al contacto y n^e es la concentración de electrones no confinados por la barrera de potencial. Los detalles del cálculo se pueden encontrar en [4].

Teniendo en cuenta estas componentes la densidad de corriente umbral total viene dada por:

$$J_{th}(T) = J_{rad}(T) + J_{Auger}(T) + J_{fuga}^e(T) \quad (5)$$

En la figura 1 se muestra el resultado de la simulación para un dispositivo con un largo cavidad de 476 μm y se observa como la componente radiativa predomina hasta

la temperatura ambiente, mientras que a altas temperaturas la corriente asociada a la fuga de electrones supera al resto de las componentes.

También se puede observar como el cruce de la componente de fuga con la componente radiativa es responsable de la aparición de un *kink* alrededor de los 320 K.

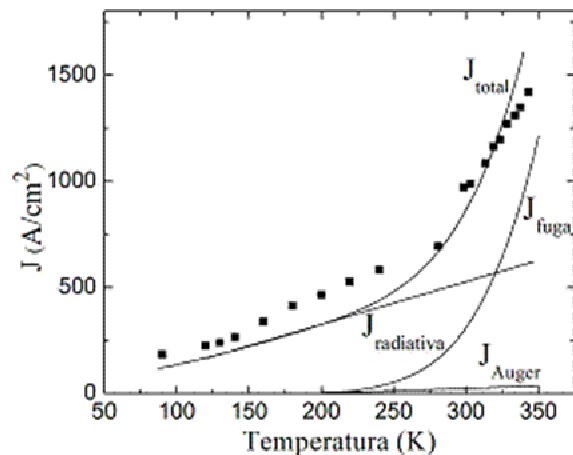


Figura 1. Densidad de corriente umbral simulada junto a sus componentes en función de la temperatura para un dispositivo con zona activa de $\text{Al}_{0.14}\text{Ga}_{0.86}\text{As}^2$.

2.1 Láseres “azules”

La obtención de láseres semiconductores que emiten en longitudes de onda corta (violeta-azul) significó un gran paso de avance tecnológico para la impresión y el almacenamiento de información, entre otras aplicaciones. Entre los semiconductores con posibilidad de emisión en esta región, en la década del 90, se cifraron grandes esperanzas en el CdZnSe . Sin embargo, a pesar del gran número de trabajos teóricos y experimentales desarrollados, estos láseres no alcanzaron los tiempos de vida de 10^4 a 10^5 horas que se requiere para su explotación práctica.

En el CdZnSe la recombinación Auger es despreciable, pues la probabilidad de ocurrencia de este proceso en materiales con energía de la banda prohibida ancha es muy pequeña. Sin embargo, la fuga de portadores, en particular la de huecos, tiene un gran peso siendo responsable del rápido incremento de la densidad de corriente umbral con la temperatura⁵. Esto se debe a la pequeña diferencia entre la energías de la banda prohibida del material de la zona activa y las capas *cladding* en estas estructuras.

Uno de los principales problemas de los láseres en base a CdZnSe es la dificultad para obtener un buen contacto tipo p. Los altos valores de voltaje de más de 10 V que caen en este contacto, provocan un aumento de temperatura adicional durante la operación láser⁶, lo que dificulta la operación en régimen continuo, en particular a altas temperaturas.

En la práctica, la emisión en el ultravioleta y el azul en base a semiconductores se logró a fines de la década del 90 en láseres en base a InGaN . Uno de los problemas fundamentales para crecer estos dispositivos es la falta de un sustrato adecuado, el desacople reticular entre el GaN y el zafiro o el SiC que son los dos sustratos más utilizados, es tan grande, que provoca la generación de una densidad de dislocaciones muy alta, que llegan desde el sustrato hasta la región activa del dispositivo. Estas dislocaciones se comportan como centros de recombinación no radiativa conspirando contra la emisión láser en el material. A pesar de esto, en 1996 Nakamura⁷ reporta el primer láser en base a InGaN que operaba en régimen continuo, emitiendo en la longitud de onda de 417 nm y en enero de 1999 se introdujo en el mercado el primer láser semiconductor emitiendo en el azul.

La posibilidad de obtener emisión eficiente en el InGaN , a pesar de la gran densidad de defectos, está relacionada con la dimensionalidad. El uso de aleaciones en la zona activa de un dispositivo, y en concreto en pozos cuánticos, puede crear no uniformidades debido a fluctuaciones tanto del ancho del pozo como de la composición. En esto juega un papel importante la presencia de tensiones. En el caso del InGaN estos efectos son muy pronunciados y se forman regiones ricas en In que constituyen estados de energía localizados, estos actúan como puntos cuánticos que evitan que los portadores sean atrapados por centros de recombinación no radiativos originados por las dislocaciones⁸.

En [9] reportamos un estudio de la dependencia térmica de la J_{th} para una estructura con zona activa de $\text{In}_{0.13}\text{Ga}_{0.87}\text{N}$ de 5 nm de espesor rodeada de dos barreras de GaN y estas a su vez por capas *cladding* de $\text{Al}_{0.1}\text{Ga}_{0.9}\text{N}$. En el modelo consideramos la componente de difusión de la corriente de fuga de electrones hacia las capas *cladding* (J_{fuga}^e) por ser pequeña la diferencia de energía entre las respectivas bandas del material de la zona activa y el de la capa *cladding*. De esta forma la J_{th} queda:

$$J_{th}(T) = J_{rad}(T) + J_{fuga}^e(T) \quad (6)$$

En estos láseres encontramos que corriente de fuga de electrones representaba más de la mitad de la corriente umbral total, confirmando que es el principal mecanismo de pérdidas en estos láseres. En este material la densidad de corriente de fuga asociada de huecos es significativamente menor que la de electrones debido a la alta masa efectiva de los huecos, su baja movilidad, y el mayor *band-offset* entre las bandas de valencia por lo que su aporte se puede despreciar.

Por otra parte, a pesar de los grandes éxitos alcanzados en la fabricación de láseres basados en este material, las estructuras tienen problemas con el control y estabilidad de los modos transversales al plano de la juntura y los patrones de campo lejano revelan la presencia de modos de orden superior¹⁰, lo que es un inconveniente en algunas aplicaciones, por lo que las estructuras en base a InGaN son todavía objeto de procesos de optimización¹¹.

2.1 Láseres de GaInNAs

En la actualidad, en los sistemas de comunicación óptica por fibra se utilizan láseres de GaInPAs que emiten en longitudes de onda de 1.3 y 1.5 μm donde las fibras tienen mínimos de absorción. Sin embargo, estos dispositivos tienen valores de T_0 relativamente bajos, del orden de 60 K, por lo que es necesario acoplarles unidades de enfriamiento que encarecen los sistemas.

En 1996 Kondow¹² encontró que añadiendo pequeñas cantidades de nitrógeno en capas de InGaAs en sustitución al arsénico (As) se produce una fuerte reducción la energía de la banda prohibida extendiéndose la longitud de onda de emisión de 1.1 μm al rango de 1.3 a 1.5 μm .

El GaInNAs además se puede crecer pseudomórficamente sobre GaAs lo que resulta muy ventajoso. Otra de las ventajas que ofrece este material al ser crecido sobre GaAs es que la heteroestructura de GaInNAs/GaAs presenta una mayor discontinuidad en la banda de conducción (*band-offset*) que una de GaInPAs/InP, lo que disminuye la posibilidad de fuga de portadores y contribuye a mejorar la estabilidad térmica de los dispositivos.

Por todo esto, en los últimos años se ha desplegado un gran esfuerzo en la investigación sobre este material y se han obtenido a nivel de laboratorio resultados prometedores. Varios grupos han reportado valores de temperatura característica por encima de 150 K^{13,14}, aunque estos se han obtenido en rangos de temperaturas relativamente pequeños.

En la literatura, además existen, discrepancias sobre los mecanismos de recombinación no radiativos predominantes en estos láseres. Si bien es aceptado que el mecanismo predominante es la recombinación monomolecular a través de defectos^{15,16,17}, hay divergencia sobre la presencia o no de corriente de fuga vertical¹⁶ y lateral¹⁷ y la magnitud de la recombinación no radiativa Auger¹⁶.

En [18] simulamos la dependencia térmica de la densidad de corriente umbral en varias estructuras en base a GaInNAs reportadas en la literatura muy similares a la original propuesta por Kondow. En todos los casos consideramos solamente las componentes, radiativa, monomolecular y Auger de la corriente umbral, obteniendo un buen ajuste de los valores experimentales reportados.

La inclusión de la recombinación por defectos o monomolecular en estos láseres se debe la gran cantidad de defectos que produce la introducción de nitrógeno en la zona activa de estos dispositivos¹⁹. En general, estos defectos se forman, en muchos casos, durante el proceso de crecimiento. Para determinar la componente monomolecular de la densidad de corriente umbral se utiliza la siguiente expresión:²

$$J_{mono}(T) = qdA_m n_{th}(T) \quad (7)$$

donde A_m es el coeficiente de recombinación monomolecular. En este trabajo consideramos este coeficiente independiente de la temperatura, teniendo en cuenta que la variación de temperatura, en particular su aumento, no

induce nuevos defectos en el dispositivo. Sin embargo, la densidad de corriente monomolecular varía débilmente con la temperatura a través de la concentración de portadores umbral. En GaInNAs se ha reportado¹⁹ que el coeficiente de recombinación monomolecular es del orden de 10^8 - 10^9 s^{-1} .

En la figura 2 se muestra un esquema de una de las estructuras estudiadas¹⁶. Esta consta de un solo pozo de $\text{Ga}_{0.6}\text{In}_{0.4}\text{N}_{0.005}\text{As}_{0.995}$ en la zona activa. Este autor midió la densidad de corriente umbral en el rango de temperaturas de 283-383 K para un dispositivo con longitud de la cavidad de 2000 μm y simuló su dependencia térmica considerando la presencia de la recombinación radiativa, la monomolecular y la fuga vertical de huecos, despreciando la recombinación Auger.



Figura 2. Esquema de la estructura reportada por Tansu¹⁶

Nosotros simulamos la data J_{th} vs T reportada por este autor considerando la recombinación monomolecular, la radiativa y Auger. Así la J_{th} total queda:

$$J_{th}(T) = J_{mono}(T) + J_{rad}(T) + J_{auger}(T) \quad (8)$$

La componente de recombinación radiativa se calculó a través de la expresión (2) y la dependencia con la temperatura del coeficiente $B_r(T)$ se consideró según el inverso de T , aunque en el caso de los láseres de GaInNAs algunos autores han utilizado una variación exponencial¹⁵.

La dependencia con la temperatura del coeficiente de recombinación Auger C_a se tomó según^{19,20}:

$$C_a(T) \propto \exp\left[\frac{-\Delta E_a}{k_B T}\right] \quad (9)$$

donde k_B es la constante de Boltzman y ΔE_a la energía de activación de los procesos Auger, que según reportes en la literatura es del orden de 60 meV en este material²⁰.

La concentración de portadores umbral se calculó a partir de la relación:

$$n_{th} = \frac{\tau_t J_{thexp}}{eL_z} \quad (8)$$

donde J_{thexp} es la densidad de corriente umbral medida experimentalmente y τ_t el tiempo de recombinación total

que en este caso consideramos variable con la temperatura.

En la tabla I se resumen los coeficientes utilizados en el ajuste junto a sus valores a temperatura ambiente y los resultados de la simulación se muestran en la figura 3.

Tabla I Coeficientes utilizados para ajustar el LD reportado por Tansu ¹⁶			
	$A_m (s^{-1})$	$B_r (cm^3 s^{-1})$	$C_a (cm^6 s^{-1})$
	$3.3 \cdot 10^8$	$1.2 \cdot 10^{-8} T^{-1}$	$1.1 \cdot 10^{-28} e^{-60/kT}$
300 K	$3.3 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^{-10}$	$1.1 \cdot 10^{-29}$

Como puede observarse, con los mecanismos propuestos se logra un buen ajuste de los resultados experimentales. El mecanismo de recombinación predominante en la mayor parte del rango de temperaturas es la componente monomolecular, lo que coincide con lo reportado en la literatura, mientras que la J_{rad} se mantiene casi constante con valores pequeños en todo el rango de temperaturas.

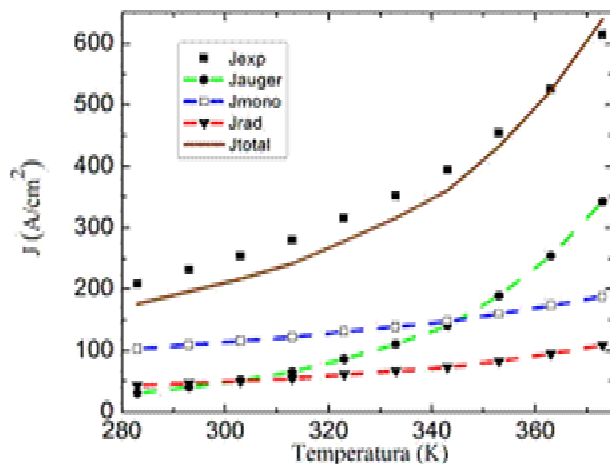


Figura 3. Simulación de la corriente umbral, para el LD de Tansu $Ga_{0.6}In_{0.4}N_{0.005}As_{0.995}$ ¹⁶

Por otra parte se observa que la componente J_{auger} es muy pequeña, del orden de la radiativa, para temperaturas menores que la ambiente haciéndose dominante a altas temperaturas, por lo que su contribución no puede despreciarse como propone Tansu en [16], quien en su lugar incluye la fuga de huecos, la que según nuestros cálculos preliminares es despreciable en concordancia con lo reportado en la literatura por otros autores.

Es importante destacar que el único reporte que hemos encontrado de una medición experimental de los mecanismos de recombinación presentes en estructuras de GaInNAs es la reportada por Fehse¹⁵, quien observó la presencia de la recombinación no radiativa de Auger en su estructura. Como la recombinación Auger es un mecanismo relacionado con el material de la zona activa

consideramos que debe estar presente en todas las estructuras de GaInNAs, aunque en diferente medida en dependencia del valor de la concentración de portadores umbral.

Recientemente, Larsson¹⁷ en una estructura muy similar a la de Tansu pero con 2 pozos de $Ga_{0.62}In_{0.38}N_{0.007}As_{0.993}$ en la zona activa y con un contacto de franja de $3.4 \mu m$, calculó, además de las componentes monomolecular, radiativa y Auger, la contribución de la fuga lateral de portadores. Esta componente está asociada a los portadores que una vez inyectados a través del contacto de franja difunden a ambos lados de la zona activa. Larsson reporta en sus dispositivos valores de esta componente del orden de la recombinación monomolecular, pero incluso, añadiendo este mecanismo su simulación no logra reproducir los datos experimentales. Para el cálculo de la densidad de corriente Auger Larsson toma el coeficiente $C_a(T)$ según una línea recta a partir de ajustar los datos reportados por Fehse¹⁵.

3 Conclusiones

Se resumen los resultados obtenidos por los autores sobre el estudio de la dependencia térmica de la densidad de corriente umbral en estructuras en base a diferentes materiales semiconductores.

Por su novedad se hace hincapié en los resultados obtenidos en láseres de GaInNAs. En este caso, fue posible ajustar los datos experimentales reportados en [16] considerando la recombinación monomolecular, radiativa y Auger, tomando como parámetros de ajuste los coeficientes característicos de estos tres mecanismos. En la simulación el coeficiente de recombinación monomolecular A_m se consideró independiente de la temperatura, el coeficiente radiativo B_r según el inverso de T y el Auger C_a como una exponencial, siendo esto más simple que lo realizado por otros autores.

Los resultados de la simulación mostraron que el mecanismo de recombinación predominante en láseres de GaInNAs es la componente monomolecular, coincidiendo con lo reportado en la literatura. También encontramos, en contraposición con lo reportado por otros autores, que la recombinación Auger debe considerarse en todos los casos aunque con diferente peso según la estructura.

Referencias

1. Zh. I. Alferov, V. M. Andreev, V. I. Korolkov, E. L. Portnoi, D. N. Tretyakov, "Injection properties of n-AlxGa1-xAs-p-GaAs heterojunctions", Sov. Phys. Semicond. 2, 843 (1969).
2. M. Sánchez, P. Díaz, G. Torres, J. C. González, "Influence of the cavity length and emission wavelength on the characteristic temperature in AlGaAs lasers". J. Appl. Phys 77, 4259 (1995).
3. G. P. Agrawal and N. K. Dutta, Semiconductor Lasers, 2nd Edition. Van Nostrand Reinhold, New York (1993)
4. M. Sánchez, J. C. González, P. Díaz R. Peña-Sierra and

- A. Escobosa, "About Kinks in AlGaAs lasers light-current characteristic". *Modern Phys. Lett. B.* 15, 688 (2001)
5. J. C. González, M. Sánchez, P. Díaz, O. de Melo, "Theoretical study of the temperature dependence of threshold current in ZnSe based blue-green laser diodes". *Physica Scripta.* 56, 465 (1997).
6. I. Camps, J. C. González and M. Sánchez, "Calculation of the thermal resistance and temperature distribution in blue-green semiconductor lasers". *Semicond. Sci. Technol.* 12, 1574-1578 (1997).
7. S. Nakamura, M. Senoh, S. Nagahama, N. Iwasa, T. Yamada, T. Matsushita, H. Kiyoku and Y. Sugimoto, "In-GaN-Based Multi-Quantum-Well-Structure Laser Diodes". *Jpn. J. Appl. Phys* 35 Part. 2(1B), L74 (1996).
8. Y. Narukawa, Y. Kawakami, M. Funato, S. Fujita and S. Nakamura, *Appl. Phys. Lett.* 70,981 (1997).
9. Elis Mon and M. Sánchez, "Stimulated emission and leakage current in $\text{In}_x\text{Ga}_{1-x}\text{N}$ lasers". *Phys. Stat. Sol. (c).* 2, No. 10, 3686-3689 (2005)
10. Juan A. Martín and M. Sánchez, "Comparison between a graded and step-index optical cavity in InGaN MQW laser diodes". *Semicond. Sci. Technol.* 20, 290-295 (2005).
11. Juan A. Martín, F. García, B. J. García and M. Sánchez, "Optical-field profiles in $\text{In}_x\text{Ga}_{1-x}\text{N}$ MQW laser structures". *Superlattices and Microstructures* 43, 575-581 (2008).
12. M. Kondow, K. Uomi, A. Niwa, T. Kitatani, S. Watahiki and Y. Yazawa, *J. Appl. Phys.*, 35, 1273 (1996).
13. M. Hopkinson, C.Y. Jin, H.Y. Liu, P. Navaretti and R. Airey, "1.34 μm GaInNAs quantum well lasers with low room-temperature threshold current density". *Elect. Lett.* Vol. 42, (2006).
14. S.M. Wang, P. Modh Y.Q. Wei, M. Sadeghi and A. Larsson "High performance 1.28 μm GaInNAs double quantum well lasers". *Elect. Lett.* Vol. 41, (2005).
15. R. Fehse, S. Tomic, A. R. Adams, S. Sweeney, E. P. O'Reilly, A. Andreev, and H. Riechert, *IEEE J. Select. Topics Quantum Electron.*, vol. 8, No. 4 (2002).
16. N. Tansu, Luke. J. Mawst, *J. Appl. Phys.* 97,054502 (2005).
17. G. Adolfsson, S. Wang, M. Sadeghi, J. Bengtsson, A. Larsson, J. J. Lim, V. Vilokinen and P. Melanen. *J. Quantum Electron.* 44, No. 7 (2008).
18. Noslen Suárez Rojas. Dependencia térmica de la corriente umbral en láseres de GaInNAs. Tesis en opción al título de Licenciado en Física desarrollada en la Facultad de Física de la Universidad de la Habana, (2009).
19. M. Heinini, *Dilute Nitride Semiconductors*, Elsevier, (2005).
20. J. C. L. Yong, Judy M. Rorison, and Ian H. White, *IEEE J. Quantum Electronics.*, vol. 28, No. 12 (2002).

Puntos cuánticos en microcavidades ópticas

H. Vinck-Posada^a, B.A. Rodríguez^a y A. González^{b,†}

a) Instituto de Física, Universidad de Antioquia, A.A 1226, Medellín, Colombia.

b) Instituto de Matemática, Cibernética y Física, ICIMAF, Ciudad de La Habana. agonzale@icmf.inf.cu†

†autor para la correspondencia

Recibido el 1/02/2009. Aprobado en versión final el 15/07/2009

Sumario. El estudio teórico y experimental de los polaritones, propuestos por Hopfield [1] en 1958, ha venido incrementándose en las dos últimas décadas, debido a los avances en las técnicas de crecimiento y control de las heteroestructuras semiconductoras. Este desarrollo experimental ha permitido fabricar microcavidades e insertar en ellas medios activos tales como puntos, hilos o pozos cuánticos, lo cual ha posibilitado el estudio de la interacción fuerte entre excitaciones de la materia (excitones) y la luz, evidenciando así la existencia de los cuasibosones conocidos como polaritones – excitónicos. Estas cuasipartículas se perfilan como posibles candidatos a la condensación de Bose – Einstein en sistemas del estado sólido y proveen de un mecanismo para la construcción de láseres de bajo umbral sin inversión de población. En este trabajo, se muestran resultados teóricos obtenidos por los autores en el tratamiento de estos sistemas y se realiza una rápida revisión de los aportes más importantes en el área, relacionados con nuestro trabajo.

Abstract. The experimental and theoretical study of polaritons, proposed by Hopfield [1] in 1958, dramatically increased over the past two decades due to advances in the techniques of growth and control of semiconductor heterostructures. This development made it possible to fabricate microcavities with embedded active media such as quantum dots, or quantum wells, and the study of the strong interaction regime between semiconductor excitations (excitons) and light, demonstrating in this way the existence of quasi-bosons known as exciton-polaritons. These quasi-particles emerge as potential candidates for Bose - Einstein condensation in solid state systems and provide a way of constructing very low-threshold lasers without population inversion. In this paper, we show theoretical results obtained by the authors in the treatment of these systems and a short review of the most relevant contributions in the area, related to our work.

Palabras clave. Propiedades ópticas excitones puntos cuánticos 78.67.Hc, interacción radiación materia 42.50.-p, condensación de Bose – Einstein 03.75.Nt

1 Introducción

En el presente artículo se reseña un conjunto de investigaciones teóricas realizadas por los autores en el período de 2006 a 2008²⁻⁶ y complementadas con algunos trabajos fundamentales que han servido como base para este desarrollo. En las mismas se consideran puntos cuánticos semiconductores insertados en microcavidades ópticas, los cuales están siendo abordados muy intensamente tanto desde el punto de vista teórico como experimental. Entre otras aplicaciones estos dispositivos pueden ser utilizados como fuentes que emiten fotones uno a uno, la

producción de pares de fotones entrelazados, permiten el estudio de la condensación de Bose – Einstein de polaritones excitónicos, la construcción de láseres con muy bajo valor de umbral de excitación y sin inversión de población, etc.

Desde 1995 cuando se produjo el primer condensado de Bose – Einstein (BEC) atómico, los esfuerzos por obtener condensados bosónicos en sistemas del estado sólido han sido permanentes. Por ejemplo, durante los últimos 30 años diferentes grupos han manifestado haber obtenido la condensación de excitones en materiales semiconductores en bloque (3D)⁷. Recientemente, desde la

observación experimental de polaritones en microcavidades realizada en 1992 por Weisbuch, la posibilidad de buscar la señal de un BEC en sistemas que acoplan heteroestructuras como pozos o puntos cuánticos embebidos en microcavidades ópticas ha adquirido relevancia. Adicionalmente, en los últimos dos años los avances en la preparación y control de los estados cuánticos de un sistema polaritónico han tenido un desarrollo significativo.

El polaritón excitónico es una cuasi-partícula bosónica de tiempo de vida media corto, típicamente alrededor de los picosegundos 10^{-12} s, formada por el acoplamiento fuerte entre un excitón y un fotón. Debido a su baja masa efectiva (cuatro órdenes de magnitud inferior al excitón y ocho órdenes de magnitud inferior al átomo de hidrógeno), el polaritón se convierte en un buen candidato para la búsqueda del BEC aún a temperatura ambiente. Sin embargo, debe notarse que las temperaturas típicas experimentales son del orden de unos cuantos grados Kelvin. Es interesante observar que este sistema de partículas es aproximadamente 2-dimensional, debido al confinamiento que impone la heteroestructura, por lo cual la condensación se puede presentar de dos formas diferentes: para un sistema infinito es necesaria la presencia de interacción entre polaritones –en este caso se desarrolla una transición de Kosterlitz-Thouless, la cual también permite una fase condensada–, o en un sistema finito es suficiente que exista un potencial de confinamiento externo para que se ocupe macroscópicamente el estado base.

En el trabajo se muestran resultados teóricos obtenidos por los autores en el tratamiento de estos sistemas junto con una rápida revisión de los aportes tanto teóricos como experimentales más importantes en el área. Los resultados experimentales que se discuten, han motivado los estudios teóricos que se desarrollan en las secciones siguientes. Básicamente se quiere mostrar cuatro resultados teóricos:

- El espectro de energías y las funciones de onda calculados a partir de la diagonalización exacta del Hamiltoniano de interacción.
- La evolución temporal de un sistema microcavidad - punto cuántico que relaja emitiendo fotones a través de los espejos de la microcavidad.
- El estudio del régimen de láser de polaritones como función del bombeo externo.
- El cálculo de la temperatura crítica para la condensación de Bose – Einstein en presencia de un campo magnético.

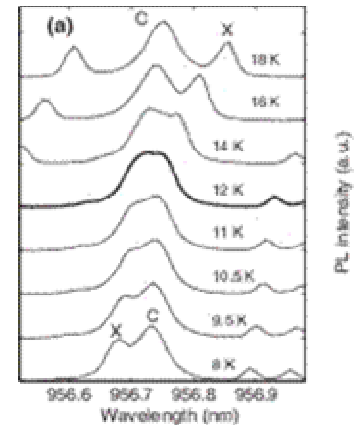
Estos trabajos fueron publicados en las referencias [2-5]. Muchos de ellos son parte esencial de la tesis de Doctor en Física de Herbert Vinck Posada (defendida en el 2007) [6].

2 Resultados teórico-experimentales previos

Desde el punto de vista teórico, para abordar el problema de polaritones excitónicos en microcavidades se-

miconductoras y sus propiedades físicas, múltiples grupos han hecho aportes significativos en varias direcciones, tales como: estudios sobre la dinámica y efectos de entrelazamiento cuántico e indistinguibilidad⁸⁻¹¹, estudios sobre regímenes de respuesta no lineal^{12,13}, caracterización del condensado de polaritones y las distintas transiciones de fase del sistema¹⁴⁻¹⁹ y estudios de la emisión de luz del sistema condensado^{20,21}, entre otros.

Figura 1. Dependencia de la fotoluminiscencia con la temperatura para un pilar de 1.2 micrómetros. El valor de la temperatura donde se alcanza la resonancia está entre 10.5 y 12 K. Claramente se observa un comportamiento de anticruce (anticrossing) entre los picos polaritónicos, señal inequívoca del acoplamiento fuerte. Tomado de la referencia [29].



El mejoramiento en las técnicas de crecimiento de heteroestructuras²²⁻²⁴ del estado sólido en los últimos años ha sido un factor de vital importancia en la búsqueda de condensados de Bose – Einstein polaritónicos, esto debido al hecho de que para alcanzar el régimen de acoplamiento fuerte (régimen donde los estados vestidos, es decir, estados de polaritón, describen correctamente las relaciones de dispersión –ver figura 1–) el confinamiento de la luz provisto por las microcavidades semiconductoras debe ser el mayor posible con el fin de lograr el mayor acople de la radiación y la materia. El acoplamiento fuerte en sistemas de microcavidad-pozos cuánticos ha sido reportado en el caso de micropilares²⁵, microdiscos²⁶, cristales fotónicos²⁷, entre otros y para el caso de sistemas de microcavidad – punto cuántico ha sido reportado recientemente y con especial atención para micropilares^{28,29} debido al hecho experimental de la dificultad de lograr un acople óptimo entre la radiación y el punto cuántico autoensamblado que se forma en el proceso de crecimiento de la heteroestructura sin control de la posición específica. El rastro de la presencia del acoplamiento fuerte en la evolución dinámica de las poblaciones está determinado por la presencia de oscilaciones de Rabi en las mismas, para esto son necesarios experimentos en el dominio del tiempo. Alternativamente, la presencia de este régimen se caracteriza por el efecto de anticruce de los picos de luminiscencia en experimentos en el dominio de las frecuencias. Por otro lado, la condensación de polaritones busca la acumulación de estos en el estado base del sistema, es decir, en el mínimo de la rama polaritónica más baja.

Debe resaltarse el trabajo experimental del grupo de Stanford publicado en año 2006³⁰, donde por primera vez se reporta la acumulación de polaritones en el estado base en microcavidades de *GaAs/GaAlAs*, mediante el

control del tiempo de termalización de estos con la red cristalina usando un parámetro de asintonía (detuning) positivo; todo esto con un bombeo proporcionado por un láser externo que crea pares electrón-hueco en la rama polaritónica más baja, es decir bombeo casi resonante. Este trabajo ha sido complementado por este grupo con el estudio experimental de la transición del régimen de acoplamiento débil al fuerte (formación del polaritón) en sistemas de micropilares-punto cuántico y también el estudio de las funciones de correlación cuánticas (primer y segundo orden) para sistemas de estructuras planas como las del primer experimento mencionado acá. Paralelamente a este trabajo, también fue reportada la acumulación de polaritones en el estado base³¹ en microcavidades basadas en *CdTe* pero ahora el mecanismo de bombeo produce excitones energéticamente más arriba (≈ 100 meV) de la rama polaritónica superior. Este bombeo no resonante pretende que el sistema alcance el estado condensado a partir de procesos de relajación y que de esta forma no haya correlación con la coherencia del láser de bombeo externo.

Una pregunta que subyace y que es tema actual de investigación se refiere a la identificación y caracterización completa del estado condensado. La detección de lo que ocurre en el sistema se hace solamente a través de la luz colectada por la parte superior de la heteroestructura y por esto no es concluyente la información que se obtiene a través de la coherencia de este haz. Por lo tanto, se deben elaborar criterios sobre la condensación adicionales. Trabajos más recientes como los producidos por el grupo de J. Bloch²⁵, muestran que efectivamente el sistema puede alcanzar coherencia sin necesidad de pasar por la inversión de población.

A esto se le conoce como láser de polaritones, en este régimen se emite luz coherente pero el mecanismo de láser es distinto al convencional. El bombeo que se aplica al sistema no es suficiente para alcanzar el régimen de acoplamiento débil y por tanto la coherencia que se obtiene proviene del sistema polaritónico en acoplamiento fuerte y sin inversión de población. En función del bombeo externo obtienen indicadores claros de este estado del sistema tales como corrimiento de la intensidad integrada de la rama polaritónica más baja en función de la potencia de bombeo –ver figura 3a–, corrimiento hacia el azul de la energía del pico de emisión –fig. 3b– y un ensanchamiento de línea de emisión con pequeñas disminuciones en las zonas de láser –fig. 3c–.

Al igual que el planteamiento anterior, cabe entonces analizar mecanismos de control que permitan la aparición del estado condensado a partir de la manipulación de parámetros asociados a interacciones externas al sistema, por ejemplo, en el caso de excitones, Lozovik³² ha demostrado que los efectos de un campo magnético en la dirección de crecimiento del punto cuántico, refuerza los efectos del confinamiento de los portadores de carga y la solución exacta de este sistema a campos magnéticos altos es el estado condensado.

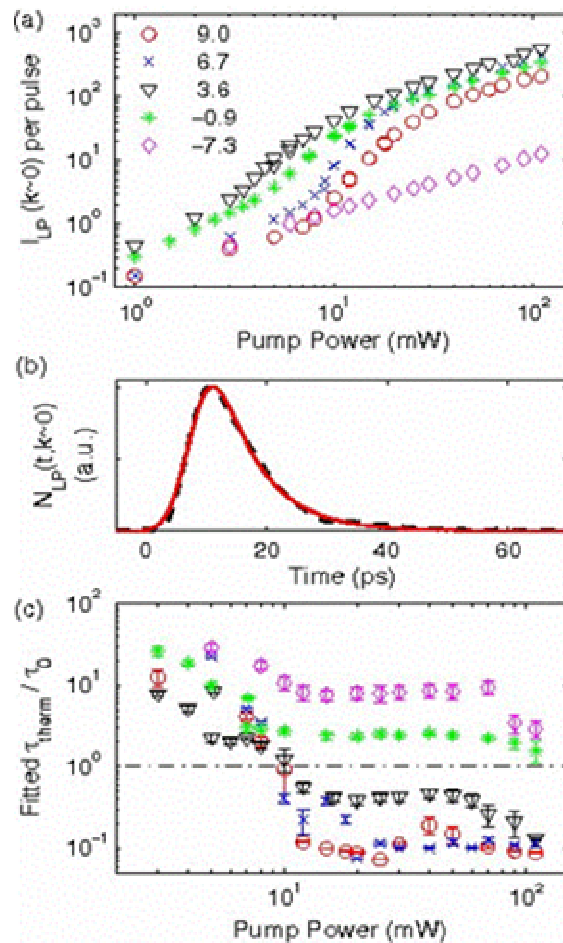


Figura 2. Tomada de la referencia [30]. (a) Corrimiento de la intensidad de emisión de los polaritones de estado base $k \approx 0$ en función de la potencia de bombeo para varias asintonías (detunings), (b) Ocupación dinámica del estado base polaritónico y (c) Control del tiempo de vida del polaritón con respecto al tiempo de termalización de la red cristalina en función del bombeo y de la asintonía (detuning).

A su vez, recientemente ha expuesto la idea de analizar un sistema de polaritones - excitónicos a través del parámetro de campo magnético en una estructura de cavidad - pozos cuánticos, éste análisis teórico ha permitido proponer este mecanismo para el control de la formación del polaritón³³.

3 Punto cuántico multiexcitónico en una microcavidad óptica

Como se mencionó antes, microcavidades ópticas semiconductoras en forma de pilares han sido objeto de intensos estudios en fecha reciente³⁴. Los fotones son confinados en dimensiones típicamente iguales a media o una longitud de onda (cientos de nanómetros). En el interior de la cavidad se crecen puntos cuánticos cuyas excitaciones (excitones) son casi resonantes con uno de los modos fotónicos confinados.

En el artículo [2] se estudia un punto cuántico que puede soportar excitaciones múltiples (multiexcitónico)

en interacción con el modo más bajo de una microcavidad. El Hamiltoniano de interacción en segunda cuantización se escribe:

$$H = \sum_{ij} (T_{ij}^e e_i^\dagger e_j + T_{ij}^h h_i^\dagger h_j) + \frac{\beta}{2} \sum_{ijkl} \langle ij || kl \rangle e_i^\dagger e_j^\dagger e_l e_k - \frac{\beta}{2} \sum_{ijkl} \langle \bar{i} \bar{j} || \bar{k} \bar{l} \rangle h_i^\dagger h_j^\dagger h_k h_l - \beta \sum_{ijkl} \langle \bar{i} \bar{j} || k \bar{l} \rangle e_i^\dagger h_j^\dagger h_l e_k + (E_{gap} + \hbar\omega) a^\dagger a + g \sum_i \{ a^\dagger h_i^\dagger e_i + a h_i^\dagger e_i^\dagger \}. \quad (1)$$

Donde T representa el operador de una partícula (energía cinética más el confinamiento del punto), β es la intensidad de la interacción de Coulomb, $E_{gap} + \hbar\omega$ es la energía de los fotones confinados, es decir que $\hbar\omega$ es la asintonía entre la energía de los fotones y la brecha de energía efectiva del dispositivo, finalmente g es la constante de interacción fotón - pares electrón y hueco, en la aproximación dipolar. El término de interacción se escribe en la denominada aproximación de onda rotante³⁵, ampliamente usada en física atómica y óptica cuántica. Se utilizó una base de osciladores 2D para representar las funciones de electrones y huecos en el punto.

A pesar de su complejidad, el Hamiltoniano (1) conserva el número de polaritones, que definimos:

$$\hat{N}_{pol} = \hat{N}_{ph} + \hat{N}_{pairs}, \quad (2)$$

donde $\hat{N}_{ph} = a^\dagger a$ y $\hat{N}_{pairs} = \sum_i (h_i^\dagger h_i + e_i^\dagger e_i) / 2$ son los operadores número de fotones y pares electrón-hueco respectivamente. Lo anterior posibilita un esquema de diagonalización numérica del hamiltoniano usando sectores con número de polaritones constante, procedimiento que se realizó a partir de una base de funciones Slater de muchas partículas para electrones y huecos y un estado de Fock para los fotones $|S_e\rangle |S_h\rangle |N_{ph}\rangle$. En la construcción de los estados multi-particulares, tanto de electrón como de hueco, se usó un conjunto finito de estados de una partícula con un corte en energía de 30 meV. Como resultado obtenemos las autoenergías y funciones de onda del sistema acoplado modo fotónico - excitaciones del punto. Un ejemplo de estos resultados se muestra en la Fig. 4, donde se grafica la distribución de probabilidades en el espacio de Fock, es decir el módulo cuadrado de los coeficientes de expansión en la base $|S_e, S_h, N_{ph}\rangle$, en función de N_{pairs} , el número de pares de electrones y huecos en (S_e, S_h) , para el estado base del sistema en los casos: (a) $N_{pol} = 10$, $g = 1 \text{ meV}$ y (b) $N_{pol} = 1000$, $g = 0.1 \text{ meV}$. En todos los cálculos, se asumen condiciones de resonancia $\hbar\omega = 25 \text{ meV}$.

De la figura, puede observarse que los estados no tienen componentes mayoritarias con número de fotones (o de pares) fijos. Además, el efecto de aumentar g es similar al de aumentar el número de polaritones (escala aproximadamente de acuerdo con $\sqrt{N_{pol} g}$).

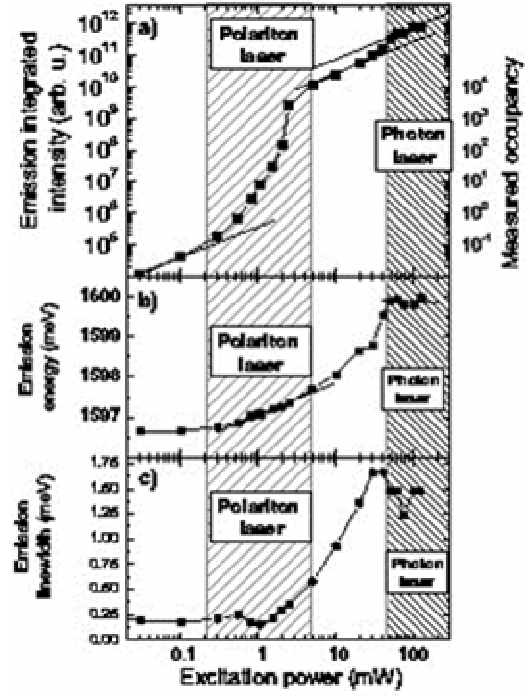


Figura 3. Tomada de la referencia [25]. (a) Corrimiento de la intensidad integrada de la rama polaritónica más baja en función de la potencia de bombeo, (b) Corrimiento hacia el azul de la energía del pico de emisión y (c) Ancho de la línea de emisión.

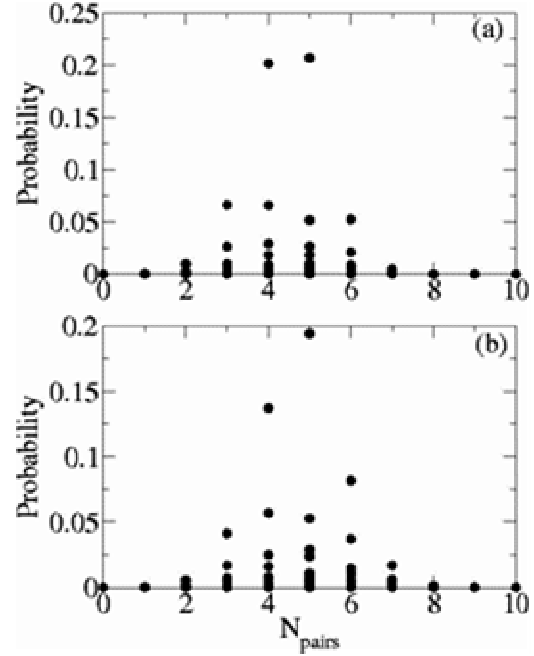


Figura 4. Distribuciones de probabilidades en el espacio de Fock para las funciones de onda del estado base en los casos: (a) $N_{pol} = 10$, $g = 1 \text{ meV}$ y (b) $N_{pol} = 1000$, $g = 0.1 \text{ meV}$. La asintonía se fija en $\hbar\omega = 25 \text{ meV}$.

En la Fig. 5 mostramos la posición e intensidad del máximo de luminiscencia como función del número de polaritones. Esta última magnitud se relaciona con la po-

tencia del láser que excita la microcavidad. La posición de la línea de luminiscencia se calcula a partir de las energías de los estados base de los sistemas con N_{pol} y $N_{pol} - 1$. La intensidad, por otra parte, se estima de

$$I \sim | \langle N_{pol} - 1 | a | N_{pol} \rangle |^2. \quad (3)$$

El corrimiento de apenas 1 meV cuando N_{pol} varía en varios órdenes y la saturación de I son efectos que se han observado en el experimento³⁰.

4 La emisión de fotones como fuente de coherencia cuántica

La condensación de Bose - Einstein de polaritones tropieza con el inconveniente del pequeño tiempo de vida de estas excitaciones. La población de fotones en una microcavidad decae a la mitad en unos pocos *ps* debido a las pérdidas a través de los espejos de la misma. En ese tiempo los mecanismos de relación (por ejemplo fonones) deben actuar para conducir al sistema a su estado base (condensado). Existen reportes de que el condensado de polaritones ha sido observado^{30,31} y simultáneamente serias dudas³⁶ de que los fonones sean capaces de producir las tasas de relajación necesarias (el denominado cuello de botella de los fonones).

En el trabajo [3] se muestra que la emisión de fotones a través de las paredes de la microcavidad es una fuente de coherencia. Es decir, el sistema remanente tiene una ocupación más alta del estado base. La descripción de las pérdidas a través de los espejos se hace a partir de una ecuación maestra para la matriz densidad del sistema³⁷:

$$\begin{aligned} \frac{d\rho_{fi}}{dt} = & \frac{i}{\hbar} (E_i - E_f) \rho_{fi} + \kappa \sum_{j,k} \langle \psi_f | a | \psi_j \rangle \rho_{jk} \langle \psi_k | a^\dagger | \psi_i \rangle \\ & - \frac{\kappa}{2} \sum_{j,k} \langle \psi_f | a^\dagger | \psi_j \rangle \langle \psi_j | a | \psi_k \rangle \rho_{ki} \\ & - \frac{\kappa}{2} \sum_{j,k} \rho_{fi} \langle \psi_j | a^\dagger | \psi_k \rangle \langle \psi_k | a | \psi_i \rangle. \end{aligned} \quad (4)$$

Aquí ρ_{ij} son los elementos de matriz del operador densidad, donde ρ_{ii} da la ocupación del estado i mientras que ρ_{ij} define la coherencia entre los estados i y j . Las autoenergías E_i y funciones de onda ψ_i son calculadas numéricamente según el procedimiento descrito en la sección anterior. Con las funciones de onda se obtienen las amplitudes de transición $\langle \psi_j | a | \psi_k \rangle$. El parámetro $\kappa = 0.1 ps^{-1}$ mide la tasa de emisión de fotones a través de los espejos de la microcavidad.

Hicimos una simulación de la evolución temporal dada por la ecuación (4) para un sistema donde el número de polaritones en el instante inicial es igual a 10. En la Fig. 6 se muestra el número de polaritones y la ocupación total del estado base como función del tiempo.

La ocupación total del estado base se definió sumando las ocupaciones del estado mas bajo en cada sector con un número de polaritones fijo:

$$\rho_{gs}^{(total)} = \sum_{N_{pol}=1}^{10} \rho_{1,1}^{(N_{pol})}. \quad (5)$$

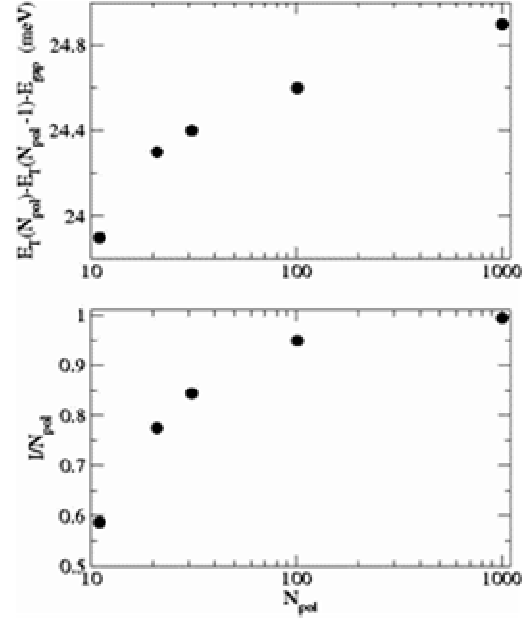


Figura 5. Panel superior: Posición energética de la línea de emisión como función del número de polaritones. Panel inferior: Intensidad relativa I/N_{pol} como función de N_{pol} . $\hbar\omega = 25 meV$, $g = 1 meV$.

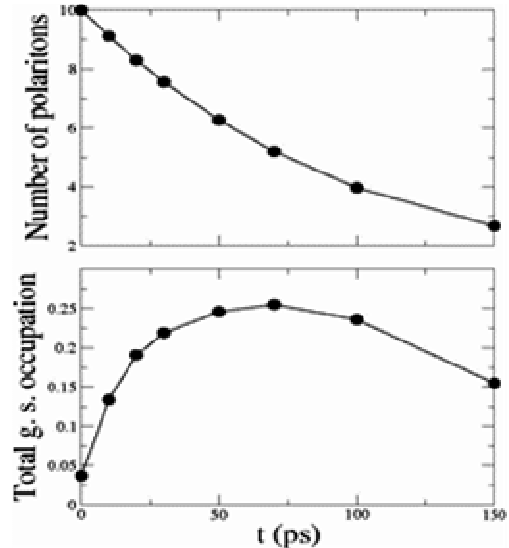


Figura 6. Número medio de polaritones (panel superior), y la probabilidad total de ocupación del estado base, definida en la Ec. (5), como funciones del tiempo. Las constantes utilizadas fueron $\hbar\omega = 25 meV$, $\beta = 2 meV$.

Los parámetros utilizados en la simulación fueron $\hbar\omega = 25 meV$, $\beta = 2 meV$. Obsérvese que la ocupación

del estado base se incrementa hasta casi el 25 % en la etapa inicial de la evolución cuando la asintonía es positiva. En caso de asintonía negativa el fenómeno no se observa en concordancia con el reporte experimental³⁰.

5 Láser de polaritones

Derivado del modelo anterior, se ha estudiado en el trabajo [5] el régimen de láser de polaritones en este sistema en la condición de acoplamiento fuerte. Para éste propósito el modelo debe incluir un bombeo externo de polaritones, lo cual se logra incluyendo en la ecuación (4) un término de bombeo homogéneo de la forma,

$$\frac{P}{2} \sum_{I,J} (2\sigma_{IJ}^\dagger \rho \sigma_{IJ} - \sigma_{IJ} \sigma_{IJ}^\dagger \rho - \rho \sigma_{IJ} \sigma_{IJ}^\dagger), \quad (6)$$

donde los estados I y J son estados de multi-partícula, caracterizados por el número de polaritones y los operadores $\sigma_{IJ} (\sigma_{IJ}^\dagger)$ son operadores escalera entre estos estados $\sigma_{IJ} |I\rangle = |J\rangle$. Resuelta la dinámica del sistema y usando el teorema de regresión cuántico para este problema es posible obtener la función espectral de fotoluminiscencia, la cual toma la siguiente forma compacta,

$$S(\omega) = \frac{1}{\pi} \sum_{I,J} \frac{|\langle I | a | J \rangle|^2 \rho_{JJ}^{(\infty)} \Gamma_{IJ}}{\Gamma_{IJ}^2 + (\omega_{IJ} - \omega)^2}. \quad (7)$$

Note que, debido a la presencia en la anterior expresión del elemento de matriz del operador aniquilación de fotones entre estados polaritónicos, I y J son estados, relacionados por $N_{pol}(I) = N_{pol}(J) - 1$. La posición de las resonancias ω_{IJ} está expresada en términos de las energías multiparticulares, como: $\omega_{IJ} = (E_J - E_I) / \hbar$, mientras los anchos están dados por:

$$\Gamma_{IJ} = \frac{\kappa}{2} \sum_K \left\{ |\langle K | a | I \rangle|^2 + |\langle K | a | J \rangle|^2 \right\} + \frac{P}{2} \{ N_{up}(I) - N_{up}(J) \}, \quad (8)$$

en donde $N_{up}(I)$ contabiliza el número de estados con número de polaritones $N_{pol} + 1$.

Un hallazgo importante, que permite obtener la expresión simplificada (7) para el cálculo de la función espectral, es el carácter cuasi-diagonal del operador densidad para el estado estacionario del sistema. Los términos no diagonales son tres órdenes de magnitud inferiores a las ocupaciones, y es por esta razón que las coherencias no son tenidas en cuenta en el cálculo³⁸. De la ecuación maestra se obtiene que, en el límite estacionario las ocupaciones satisfacen

$$0 = \kappa \sum_J |\langle J | a | I \rangle|^2 \rho_{JJ} - \kappa \rho_{II} \sum_J |\langle J | a | I \rangle|^2 + P \sum_{N_{pol}(J)=N_{pol}(I)-1} \rho_{JJ} - P \rho_{II} N_{up}(I).$$

Este sistema de ecuaciones se soluciona junto con la restricción impuesta por la condición de normalización del operador densidad. Se usaron bases con un trunca-

miento relativamente alto en el número de polaritones (600) y el número de estados que entran en la solución es de 11998: el vacío, 17 estados con 1 polaritón y 20 estados por cada otro sector de número de polaritones constante.

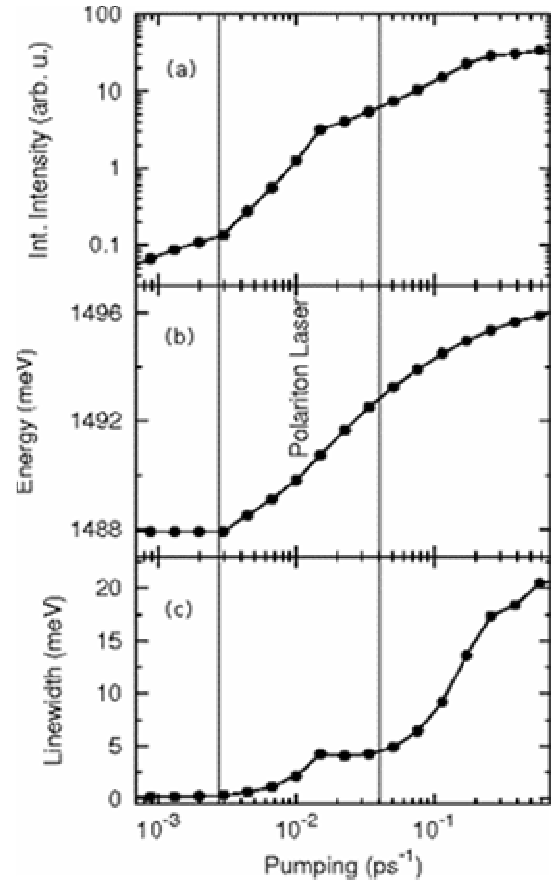


Figura 7. (a) Corrimiento de la intensidad integrada de la rama polaritónica más baja en función de la potencia de bombeo, (b) Corrimiento hacia el azul de la energía del pico de emisión y (c) Ancho de la línea de emisión.

Los resultados obtenidos para la intensidad integrada, la posición y el ancho de la línea principal de la fotoluminiscencia, ver figura 7, muestran cualitativamente completa concordancia con los resultados experimentales que caracterizan al láser de polaritones.

6 Condensación de Bose-Einstein de polaritones en un campo magnético

En el trabajo [4] se estudiaron sistemas de polaritones un poco mas grandes (hasta 40 polaritones) con el objetivo de hacer estimados de la temperatura crítica para la condensación de Bose - Einstein en presencia de un campo magnético. Sistemas de este tamaño no pueden abordarse a partir de la diagonalización numérica exacta del Hamiltoniano y se precisan métodos aproximados. En el presente caso se utilizó una aproximación tipo BCS para los

electrones y los huecos, mientras que los fotones se describieron por un estado coherente¹⁹.

Como se mencionó antes, el interés de incluir un campo magnético en el sistema se debe a que el condensado de excitones es la solución exacta en el límite de campos muy altos. Por eso uno espera que el campo favorezca la condensación. Los detalles del algoritmo de cómputo pueden hallarse en [4]. La temperatura crítica se determina como aquella en que el número de fotones en el estado coherente va a cero (al igual que el apareamiento entre los electrones y los huecos).

En la Fig. 8 se muestra la temperatura crítica como función del campo magnético. La temperatura crítica escala como $N_{pol}^{1/2}$, lo cual corresponde a un cuadro de bosones casi libres en dos dimensiones (los polaritones). Además de un cambio en la pendiente a pequeños valores del campo (lo cual puede deberse a que nuestra base de funciones no es buena en esa región) se observa un incremento de T_c en un factor de 3 cuando el campo aumenta de 3 a 20 Teslas, resultando en temperaturas por encima de los 2.5 meV (mas de 35 K). Esto debería ser fácilmente verificable en el experimento.

7 Conclusiones

En el trabajo se han mostrado y discutidos algunos de los resultados que los autores han obtenido en el estudio de sistemas electrones y huecos confinados en puntos cuánticos y en fuerte interacción con un modo confinado de la luz. Los trabajos reseñados conforman un cuerpo teórico en el marco de la teoría cuántica de sistemas finitos para el sistema físico en cuestión.

Entre las ventajas de nuestra formulación está el hecho de que puede tener en cuenta, a partir de primeros principios y de manera exacta, las diferentes interacciones en el sistema, entre las cuales el efecto de la interacción de Coulomb tiene mayor importancia. Esta interacción es usualmente ignorada por la mayoría de los grupos o a lo sumo tenida en cuenta de manera efectiva. Otra característica importante de la teoría desarrollada es que da cuenta de manera exacta, al nivel de las aproximaciones usadas para escribir el hamiltoniano (1), de la estructura interna del sistema excitónico. Algunos trabajos como los de las referencias [9-11] usan una aproximación de dos niveles para describir el excitón (Jaynes-Cummings).

Por supuesto que nuestros métodos tienen limitaciones entre las cuales destacamos la dificultad de simular sistemas con un gran número de excitones y/o polaritones o equivalentemente incluir en los cálculos estados uniparticulares de mayor energía debido al crecimiento exponencial del espacio de Fock del sistema. Sin embargo a pesar de las limitaciones el buen acuerdo cualitativo con los experimentos nos provee de un marco teórico para entender la física de estos complejos sistemas.

Agradecimientos

La Ref. [3] del presente artículo corresponde a un trabajo conjunto con A. Cabo y P.S.S. Guimaraes. El trabajo [5] fue llevada a cabo por C. Vera, H. Vinck y A. González. El trabajo [38] fue realizado por C.A. Vera, A. Cabo y A. González, y constituye junto con el trabajo [5] la base de la tesis de maestría de Carlos Andrés Vera.

Los autores agradecen a Hugo Pérez Rojas y el resto de los compañeros del Departamento de Física Teórica del ICIMAF por las numerosas discusiones científicas. Los autores también agradecen al profesor Paulo Sergio Guimaraes por sus valiosas discusiones y a los estudiantes de la línea de sistemas finitos del Grupo de Física Atómica, por sus aportes, en especial a Carlos A. Vera.

Este trabajo recibió apoyo financiero del Programa Nacional de Ciencias Básicas (Cuba), COLCIENCIAS, el Fondo de Investigaciones de la Universidad de Antioquia (CODI) y la Red Caribeña de Mecánica Cuántica, Partículas y Campos (ICTP).

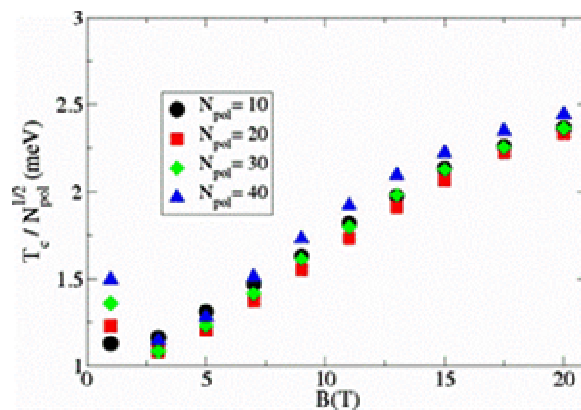


Figura 8. Temperatura crítica vs. campo magnético para sistemas con diferente número de polaritones.

Referencias

1. J.J. Hopfield, "Theory of the contribution of excitons to the complex dielectric crystals", Phys. Rev. 112, 1955 (1958).
2. H. Vinck, B.A. Rodríguez and A. González, "Multiexcitonic Quantum Dot in an Optical Microcavity", Physica E 35, 99 (2006).
3. H. Vinck, B.A. Rodríguez, P.S.S. Guimaraes, A. Cabo and A. González, "Photon Emission as a Source of Coherent Behaviour of Polaritons", Phys. Rev. Lett. 98, 167405 (2007).
4. H. Vinck, B.A. Rodríguez and Augusto González, "Micropillar Resonator in a Magnetic Field: Zero and Finite Temperature Cases", Superlattices and Microstructures 43, 500 (2007).
5. C.A. Vera, H. Vinck and A. González, "Theory of the Polariton Laser", (arXiv: 0807.1137).
6. Herbert Vinck-Posada, "Estudio de polaritones en sistemas de microcavidad - punto cuántico", tesis de Dr. en Física, Universidad de Antioquia (2007), 120 pags.
7. D.W. Snoke, "Spontaneous Bose Coherence of Excitons and Polaritons", Science 298, 1368 (2002).

8. K.V. Kavokin, I.A. Shelykh, A.V. Kavokin, G. Malpuech and P. Bigenwald, "Quantum theory of spin dynamics of exciton-polaritons in microcavities", *Phys. Rev. Lett.* 92, 017401 (2004).
9. J.I. Perea, D. Porras and C. Tejedor, "Dynamics of the excitations of a quantum dot in a microcavity", *Phys. Rev. B* 70, 115304 (2004).
10. F. Troiani, J.I. Perea and C. Tejedor, "Analysis of the photon indistinguishability in incoherently excited quantum dots", *Phys. Rev. B* 74, 235310 (2006).
11. E. del Valle, F.P. Laussy, F. Troiani and C. Tejedor, "Entanglement and lasing with two quantum dots in a microcavity", *Phys. Rev. B* 76, 235317 (2007).
12. A. I. Tartakovskii, D.N. Krizhanovskii, G. Malpuech, M. Emam-Ismaïl, A.V. Chernenko, A.V. Kavokin, V.D. Kulakovskii, M.S. Skolnick and J.S. Roberts, "Giant enhancement of polariton relaxation in semiconductor microcavities by polariton-free carrier interaction: Experimental evidence and theory" *Phys. Rev. B* 67, 165302 (2003).
13. A.I. Tartakovskii, D.N. Krizhanovskii, D.A. Kurysh, V.D. Kulakovskii, M.S. Skolnick and J.S. Roberts, "Polariton parametric scattering processes in semiconductor microcavities observed in continuous wave experiments", *Phys. Rev. B* 65, 081308R (2003).
14. D. Sarchi and V. Savona, "Long-Range order in the Bose – Einstein condensation of polaritons", *Phys. Rev. B* 75, 115326 (2006).
15. V. Savona and D. Sarchi, "Bose-Einstein condensation of microcavity polaritons", *Physica Status Solidi (b)* 242, 2290 (2005).
16. M.H. Szymanska, J. Keeling and P.B. Littlewood, "Mean field theory and fluctuation spectrum of a pumped decaying Bose-Fermi system across the quantum condensation transition", *Phys. Rev. B* 75, 195331 (2007).
17. M.H. Szymanska, J. Keeling and P.B. Littlewood, "Nonequilibrium quantum condensation in an incoherently pumped dissipative system", *Phys. Rev. Lett.* 96, 066405 (2006).
18. J. Keeling, P.R. Eastham, M.H. Szymanska and P.B. Littlewood, "BCS-BEC crossover in a system of microcavity polaritons", *Phys. Rev. B* 72, 115320 (2005).
19. P.R. Eastham and P.B. Littlewood, "Bose – Einstein condensation of cavity polaritons beyond the linear regime: the thermal equilibrium of a model microcavity", *Phys. Rev. B* 64, 235101 (2001).
20. F.P. Laussy, I.A. Shelykh, G. Malpuech and A.V. Kavokin, "Effects of Bose-Einstein condensation of exciton polaritons on the polarization of emitted light", *Phys. Rev. B* 73, 035315 (2006).
21. D. Porras and C. Tejedor, "Linewidth of a polariton laser: Theoretical analysis of self interaction effects", *Phys. Rev. B* 67, 161310 (2003).
22. S. Reitzenstein, C. Hofmann, A. Gorbunov, M. Straub, S.H. Kwon, C. Schneider, A. Löffler, S. Höfling, M. Kamp and A. Forchel, "AlAs/GaAs Micropillar Cavities with Quality Factors Exceeding 150.000", *Appl. Phys. Lett.* 90, 251109 (2007).
23. D.M. Whittaker, P.S.S. Guimaraes, D. Sanvitto, H. Vinck, S. Lam, A. Daraei, J.A. Timpson, A.M. Fox, M.S. Skolnick, Y.-L.D. Ho, J.G. Rarity, M. Hopkinson and A. Tahroui, "High Q Modes in Elliptical Microcavity Pillars", *Appl. Phys. Lett.* 90, 161105 (2007).
24. A. Daraei, A. Tahraoui, D. Sanvitto, J.A. Timpson, P.W. Fry, M. Hopkinson, P.S.S. Guimaraes, H. Vinck, D.M. Whittaker, M.S. Skolnick and A.M. Fox, "Control of Polarized Single Quantum Dot Emission in High-Quality-Factor Microcavity Pillars", *Appl. Phys. Lett.* 88, 051113 (2006).
25. D. Bajoni, P. Senellart, E. Wertz, I. Sagnes, A. Miard, A. Lemaître and J. Bloch, "Polariton Laser Using Single Micropillar GaAs-GaAlAs Semiconductor Cavities" *Phys. Rev. Lett.* 100, 047401 (2008).
26. E. Peter, P. Senellart, D. Martrou, A. Lemaître, J. Hours, J.M. Gérard, and J. Bloch, "Exciton-Photon Strong-Coupling Regime for a Single Quantum Dot Embedded in a Microcavity", *Phys. Rev. Lett.* 95, 067401 (2005).
27. T. Yoshie, A. Scherer, J. Hendrickson, G. Khitrova, H.M. Gibbs, G. Rupper, C. Ell, O.B. Shchekin and D.G. Deppe, "Vacuum Rabi Splitting with a Single Quantum Dot in a Photonic Crystal Nanocavity", *Nature* 432, 200 (2004).
28. J.P. Reithmaier, G. Sek, A. Löffler, C. Hoffmann, S. Kuhn, S. Reitzenstein, L.V. Keldysh, V.D. Kulakovskii, T.L. Reinecke and A. Forchel, "Strong Coupling in a Single Quantum Dot-Semiconductor Microcavity System", *Nature* 432, 197 (2004).
29. D. Press, S. Götzinger, S. Reitzenstein, C. Hoffman, A. Löffler, M. Kamp, A. Forchel and Y. Yamamoto, "Photon Antibunching from a Single Quantum-Dot-Microcavity System in the Strong Coupling Regime", *Phys. Rev. Lett.* 98, 117402 (2007).
30. H. Deng, D. Press, S. Götzinger, G.S. Solomon, R. Hey, K.H. Ploog, and Y. Yamamoto, "Quantum Degenerate Exciton-Polaritons in Thermal Equilibrium", *Phys. Rev. Lett.* 97, 146402 (2006).
31. J. Kasprzak, M. Richard, S. Kundermann, A. Baas, P. Jeanbrun, J.M. Keeling, F.M. Marchetti, M.H. Szymanska, R. Andre, J.L. Staehli, V. Savona, P.B. Littlewood, B. Deveaud and L.S. Dang, "Bose-Einstein Condensation of Exciton Polaritons", *Nature* 443, 409 (2006).
32. I. V. Lerner and Yu. E. Lozovik, "Quasi-two-dimensional electron-hole system in a strong magnetic field as an almost ideal exciton gas", *Zh. Éksp. Teor. Fiz.* 80, 1488 (1981) *Sov. Phys. JETP* 53, 763(1981)..
33. N. E. Kaputkina, Yu. E. Lozovik and M. Willander, "Influence of the magnetic field on formation and spectrum of the exciton-polariton in a microcavity", *Physica B* 378 - 380, 1049 (2006).
34. K. Vahala, "Optical microcavities", *Nature* 424, 839 (2003).
35. A. Yariv, *Optical Electronics*, Saunders College, San Francisco, 1991.
36. F. Tassone, *et al.*, "Bottleneck effects in the relaxation and photoluminescence of microcavity polaritons", *Phys. Rev. B* 56, 7554 (1997); A.I. Tartakovskii, *et al.*, "Relaxation bottleneck and its suppression in semiconductor microcavities", *Phys. Rev. B* 62, R2283 (2000); F. Tassone and Y. Yamamoto, "Exciton-exciton scattering dynamics in a semiconductor microcavity and stimulated scattering into polaritons", *Phys. Rev. B* 59 10830 (1999); T.D. Doan, H.T. Cao, D. Thoai, and H. Haug, "Condensation kinetics of microcavity polaritons with scattering by phonons and polaritons", *Phys. Rev. B* 72, 085301 (2005).
37. M. O. Scully and S. Subair, *Quantum Optics*, Cambridge University Press, Cambridge, 2001.
38. C.A. Vera, A. Cabo and A. Gonzalez, "The stationary density matrix of a pumped polariton system", *Aceptado para publicación en Physical Review Letters* (arXiv: 0805.4151).

Potencialidades de la magnetometría vibracional en el estudio de nano inclusiones magnéticas

S. Díaz-Castañón[†] y J.C. Faloh-Gandarilla

Lab. Magnetismo, Facultad de Física-IMRE, Universidad de La Habana, Cuba; magnete@fisica.uh.cu

[†]autor para la correspondencia

Recibido el 15/07/2008. Aprobado en versión final el 5/02/09

Sumario. La determinación con precisión de la contribución ferromagnética de las nano inclusiones presentes en un material que sean 10^{-4} - 10^{-5} veces menores vs. el total, es un problema muy importante en el desarrollo de Nuevos Materiales asociados a la Nanotecnología. Las potencialidades de la Magnetometría Vibracional (VSM) en la identificación y cuantificación de nano inclusiones magnéticas se discuten para cuatro casos diferentes: a) láminas delgadas de hexaferrita de Pb-M crecidas sobre zafiro, b) polvos de magnetita dispersos en una matriz polimérica, c) nanotubos de carbono con hierro en su interior dispersos en una matriz de silicio ($\text{Fe/CN}_x/\text{SiO}_2$) y d) nanopartículas de ferrita de manganeso (MnZnO_4). En todos los casos el uso de esta técnica permitió la correcta cuantificación de la parte magnética, la identificación de direcciones preferenciales de crecimiento para la lámina así como la correlación de propiedades estructurales con las condiciones de síntesis a través del comportamiento del campo coercitivo.

Abstract. The accurate determination of the ferromagnetic contribution in a composite in which the ratio of ferromagnetic part vs. total of composite is 10^{-4} - 10^{-5} is a problem of great importance in relation to the development of new materials for the Nanotechnology. The potential of VSM in the identification and quantification of nanomagnetic inclusions is illustrated and discussed in four different cases: Pb-M hexaferrites thin films, nanopowders of magnetite in a polymeric matrix and carbon nanotubes with iron inside in a silica matrix ($\text{Fe/CN}_x/\text{SiO}_2$) and nanopowders of manganese ferrite. In all cases the determination of the existence of preferential orientation, the correct quantification of the magnetic part and the dependence of the coercive field with the synthesis conditions were revealed using this technique.

Palabras clave. Nanopartículas magnéticas, 75.50.T Propiedades magnéticas de nanoestructuras, 75.75.+a.

1 Introducción

La Magnetometría Vibracional ha sido la técnica por excelencia para la caracterización de materiales ferromagnéticos en los últimos 50 años, empleándose con éxito en el estudio de muestras en forma de polvos, bulbos y láminas delgadas.¹ Sin embargo, el devenir de los estudios asociados a la Nanociencia y a la Nanotecnología ha planteado nuevos retos a esta técnica debido principalmente a las limitaciones en la sensibilidad de detección del momento magnético de estos equipos (por lo

general 10^{-5} emu). Debe tenerse en cuenta que asociadas a estas nuevas áreas de investigación es frecuente afrontar el problema de estudiar un material en el que la parte ferromagnética es 10^{-4} - 10^{-5} veces menor que el total del compuesto.^{2, 3} En tal sentido la Magnetometría Vibracional ha demostrado ser una herramienta muy útil en la determinación de las propiedades magnéticas tanto del compuesto (como un todo), como en la cuantificación de las partes magnéticas y su interrelación con la morfología del compuesto. Con anterioridad nuestro grupo se ha enfrentado con éxito al estudio de nanopartículas y láminas delgadas a través de un procedimiento desarro-

llado al efecto.^{4,6} Este procedimiento exige conocer con exactitud el comportamiento magnético de las diferentes partes envueltas en la medición (substratos, matrices poliméricas, portamuestras, soluciones líquidas, etc.), lo que permite por diferencia obtener la parte ferromagnética de la parte “nano” bajo estudio. En este trabajo ilustramos el procedimiento utilizado a través de cuatro casos diferentes: a) láminas delgadas de hexaferrita de Pb-M crecidas sobre zafiro ($\text{PbFe}_{12}\text{O}_{19}/\text{Al}_2\text{O}_3$), b) polvos de magnetita dispersos en una matriz polimérica, c) nanotubos de carbono dispersos en una matriz de silicio con hierro en el interior de los nanotubos ($\text{Fe}/\text{CN}_x/\text{SiO}_2$) y d) nanopartículas de ferrita de manganeso (MnZnO_4). En todos los casos el uso de esta técnica permitió la correcta cuantificación de la parte magnética, así como la correlación de propiedades estructurales con las condiciones de síntesis a través del comportamiento del campo coercitivo.

2 Parte experimental

Las muestras que utilizamos para ilustrar las bondades de este procedimiento se pueden agrupar en 4 tipos, láminas $\text{PbFe}_{12}\text{O}_{19}/\text{Al}_2\text{O}_3$, polvos de magnetita dispersos en una matriz polimérica, látex magnético, nanotubos de carbono inmersos en silicio ($\text{Fe}/\text{CN}_x/\text{SiO}_2$) y nanopartículas de MnZnO_4 . En todos los casos las muestras bajo estudio han sido chequeadas desde el punto de vista micro-estructural, mostrando los parámetros adecuados. No es objetivo de este trabajo la discusión de las condiciones en que se efectuaron las síntesis, no obstante mayores detalles pueden encontrarse en las Ref. [6-9]. Las mediciones magnéticas se realizaron a temperatura ambiente utilizando el Magnetómetro Vibracional OXFORD 3001 ($H_{\text{max}} = 16.0$ kOe) que posee el IMRE en la Universidad de La Habana. Téngase en cuenta que debido al bajo momento magnético de las muestras bajo estudio, el lazo de histéresis inherente a la parte ferromagnética de las mismas solo se obtiene luego del restado de las contribuciones que apantallan este aporte (substratos, portamuestras, etc.), como se observa en la Figura 1.

3 Discusión de resultados

Sin dudas un aspecto de notable interés en el estudio de láminas delgadas ferromagnéticas es la determinación de la existencia de una orientación preferencial. De manera general para responder a esta interrogante se realizan estudios micro-estructurales que comprenden análisis por Difracción de Rayos X u observaciones de microscopía electrónica en cualquiera de sus variantes (TEM, SEM, STEM, AFM). Esto puede ser un proceso largo si tomamos en cuenta la preparación de la muestra para cada tipo de análisis y su carácter destructivo. Sin embargo, la medición magnética a las láminas en las direcciones paralela y perpendicular permite de manera rápida respon-

der a esta interrogante, como puede verse en la Figura 2 para el caso de una lámina delgada de $\text{PbFe}_{12}\text{O}_{19}$ depositada sobre zafiro (0001) a $700^\circ\text{C}/\text{aire}$.⁷

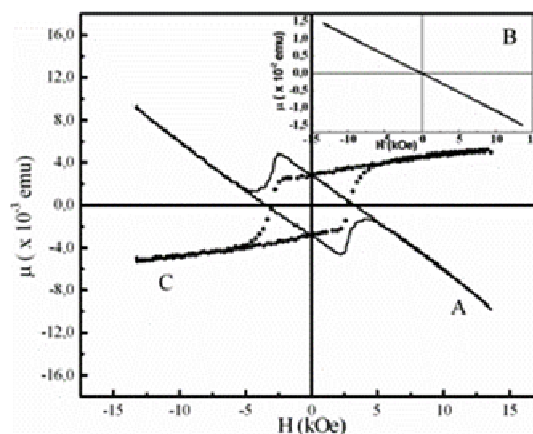


Figura 1. Lazo de histéresis para una lámina $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}/\text{SiO}_2$ obtenida por sol-gel: A) registro directo del magnetómetro; B) registro substrato+portamuestras; C) señal real de la lámina.

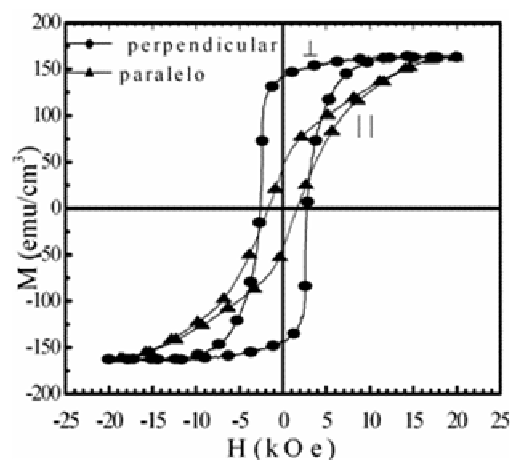


Figura 2. Lazos de histéresis para una lámina Pb-M sobre zafiro (0001) en las direcciones paralela y perpendicular.

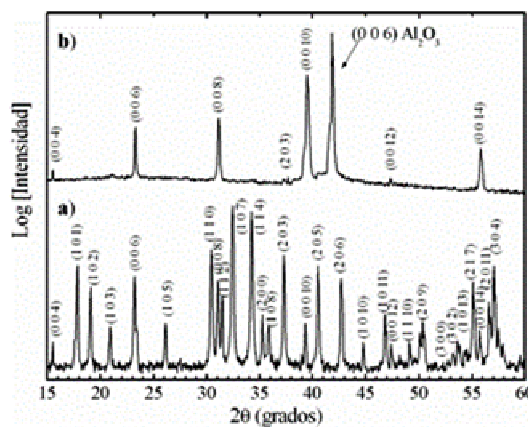


Figura 3. Difractogramas de: a) $\text{PbFe}_{12}\text{O}_{19}$ cerámico usado como blanco; b) lámina obtenida de $\text{PbFe}_{12}\text{O}_{19}/\text{Al}_2\text{O}_3$.

El elevado coeficiente de orientación magnética que se obtiene en la dirección perpendicular al plano de la lámina ($M_r/M_s = 0.88$), es congruente con los estudios posteriores realizados mediante Difracción de Rayos X, como puede apreciarse en la Figura 3.

Nótese como en dicho patrón de difracción aparecen prácticamente solo los planos (0001) confirmando la orientación en dicha dirección. No obstante, la presencia (muy disminuida) del pico (2 0 3) evidencia que esta orientación no es total. Esto último se corresponde con la medición magnética en la dirección paralela al plano de la lámina donde el coeficiente de orientación, M_r/M_s es bajo (~ 0.2). Por otra parte, el elevado campo coercitivo obtenido para la dirección perpendicular se corresponde con la distribución homogénea de nanopartículas (< 100 nm), ya reportadas en la ref. [7].

La rápida identificación de materiales magnéticos inmersos en diferentes medios es otra de las ventajas de esta técnica que hemos aprovechado. El análisis de materiales tan disímiles como Látex magnético o matrices poliméricas que contienen partículas magnéticas son ejemplos muy ilustrativos. La Figura 4 muestra el resultado de la medición magnetométrica para estos dos casos. De por sí la existencia del lazo de histéresis constituye una evidencia de la presencia del material ferromagnético en estos compuestos. La ausencia de coercitividad se corresponde con un comportamiento superparamagnético asociado a la existencia de nanopartículas de magnetita (10-20 nm, para ambos casos), lo que fue corroborado también por observaciones posteriores de microscopía.⁶

En este tipo de análisis, además de tener la evidencia de la presencia del material magnético dentro del sistema es muy útil determinar “cuanto” tenemos. Esta información es posible recabarla también del lazo de histéresis si conocemos el valor correspondiente de la magnetización de saturación del elemento magnético que se está incorporando, y la relacionamos con la magnetización de saturación del sistema como un todo. Este sería el caso más común al estudiar nanotubos de carbono en los que se han crecido metales de transición en el interior de los tubos.^{10, 11} La figura 5 nos muestra los lazos de histéresis correspondientes a 3 muestras de nanotubos de carbono (CNx) dispersas en una matriz de silicio, pero con diferentes concentraciones de inclusiones de hierro dentro de los nanotubos. Para estas muestras obtenidas por vía química se conocía la cantidad de hierro presente de antemano en las soluciones, pero no cuanto realmente se había incorporado. Como era de esperar obtuvimos 3 lazos de histéresis, que en su esencia se diferenciaban claramente por los valores de magnetización de saturación. En dicha figura hemos añadido la imagen obtenida por microscopía de barrido de un nanotubo, donde se aprecia partículas de hierro crecidas en su interior y agrupado en la punta, detalle característico ya señalado en la ref. [8].

Lógicamente los valores de magnetización de saturación se corresponden con la proporción de hierro utiliza-

do en los componentes de partida. Es por ello que teniendo en cuenta los valores magnetización específica de saturación a temperatura ambiente reportados para el hierro (217 emu/g), puede estimarse la cantidad presente en cada muestra.

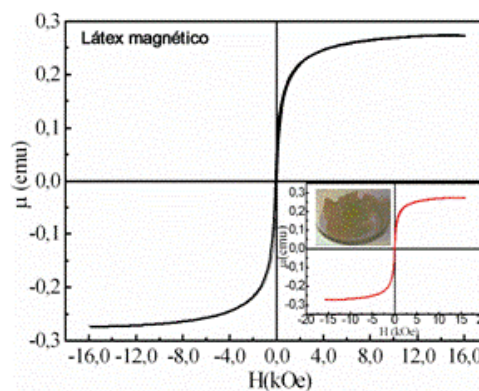


Figura 4. Lazo de histéresis de Látex magnético. Además el lazo correspondiente a nanopartículas de magnetita dispersas en una matriz polimérica y foto del polímero.

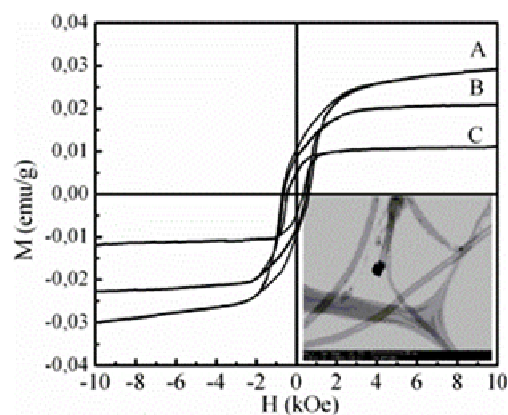


Figura 5. Lazos de histéresis correspondientes a nanotubos de carbono dispersos en una matriz de silicio con diversas concentraciones de hierro en los nanotubos. Cantidad de nanotubos por muestra: A= 50 mg, B= 10 mg, C= 5 mg.

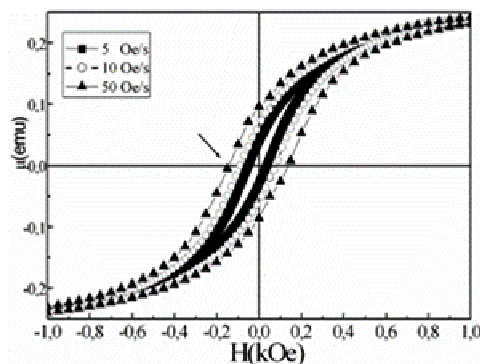


Figura 6. Lazos de histéresis en nanopartículas de $MnFe_2O_4$ realizados con velocidades diferentes de variación del campo magnético.

La Tabla I refleja precisamente, la cantidad de hierro estimada para cada una de las muestras de nanotubos bajo estudio a partir de las mediciones magnetométricas.

Por último quisiéramos resaltar la importancia de escoger de manera adecuada los parámetros de la medición. En particular la medición de sistemas con campos coercitivos bajos (≤ 100 Oe) es muy sensible a la velocidad que se escoja para variar el campo magnético durante la medición. Ilustremos estas particularidades con las mediciones realizadas a una misma muestra de nanopartículas de ferrita de manganeso (MnFe_2O_4) utilizando diferentes velocidades de variación del campo magnético (5 Oe/s, 10 Oe/s y 50 Oe/s, respectivamente). Estas mediciones pueden apreciarse en la Figura 6 donde se ha ampliado el gráfico alrededor de la región de campo cero. Nótese la diferencia en cuanto a coercitividad entre estos tres lazos.

Es por ello que las mediciones a muestras con campos coercitivos bajos deben realizarse a la menor velocidad posible de variación del campo (al menos en la región alrededor de campo cero). Es lícito resaltar que en las mediciones presentadas con anterioridad de látex magnético y nanopartículas de magnetita se tuvo en cuenta dicha particularidad.

<p>Tabla I Cantidades de hierro para las diferentes muestras de acuerdo a los valores de magnetización de saturación obtenidos a partir del lazo de histéresis.</p>		
Muestra	Cantidad de hierro en las soluciones de partida (mg)	Hierro en los nanotubos (μg)
A	50	5.4
B	10	1.7
C	5	0.9

3 Conclusiones

Hemos puesto de manifiesto las bondades de este tipo de caracterización para el estudio de nanomateriales. De manera particular merece destacarse la rapidez en cuanto a la identificación y cuantificación de inclusiones magnéticas dispersas en diferentes medios (polímeros, fluidos y sistemas compuestos). El empleo de esta técnica permite evidenciar aspectos micro-estructurales tan importantes como la existencia o no de alguna orientación magnética preferencial lo que constituye un complemento importante a mediciones que se realizan por otras técnicas. Por otra parte, puede tenerse idea del rango en que se encuentra el tamaño de las partículas de acuerdo a la correlación existente entre este parámetro y el campo coercitivo.

Agradecimientos

Deseamos agradecer el apoyo recibido del Programa TRIL del Centro Internacional de Física “Abdus Salam”, así como de los siguientes proyectos: TWAS Research Grant RG/PHYS/LA 04-57; Proyecto Bilateral Cuba-México J110.352/2005 y al proyecto B-23 del Programa Nacional de Investigación de Nuevos Materiales del CITMA.

Referencias

1. S. Foner, “Versatile and sensitive Vibrating-Sample Magnetometer,” *Rev. Sci. Instrum.* 30 548-557 (1959).
2. R. Skomski. “Nanomagnetic scaling,” *J. Magn. Magn. Mater.* 272-276P2 1476-1481 (2004).
3. E. Muñoz-Sandoval, F. López-Urias, A. Díaz-Ortiz, M. Terrones, M. Reyes-Reyes, J. L. Morán-López. “Magnetic and transport properties of Fe nanowires encapsulated in carbon nanotubes,” *J. Magn. Mater.* 272-276P3 E1255-E1257 (2004).
4. J. C. Faloh-Gandarilla, S. Díaz-Castañón, F. Leccabue, B. E. Watts. “Magnetic properties of polycrystalline Sr- and Pb-M hexaferrites thin films grown by pulsed laser deposition on Si/SiO₂ substrates,” *J. Alloys Compounds* 369 195-197. (2004)
5. S. Díaz-Castañón, J. C. Faloh-Gandarilla, F. Leccabue, G. Albanese. “The optimum synthesis of high coercivity Pb-M hexaferrite powders using modifications to the traditional ceramic route,” *J. Magn. Magn. Mater.* 272-276P3 2221-2223 (2004).
6. H. Peniche Agüero, C. Peniche Covas, A. de la Campa, S. Díaz-Castañón. “Preparación y caracterización de microesferas de poliestireno,” *Rev. Iberoamericana de Polímeros* 3 15-32 (2002).
7. S. Díaz-Castañón, F. Leccabue, B. E. Watts, R. Yapp, A. Asenjo, M. Vázquez. “Oriented $\text{PbFe}_{12}\text{O}_{19}$ thin films prepared by Pulsed Laser deposition on Sapphire Substrates,” *Mater. Lett.* 47 356-361 (2001).
8. E. Muñoz-Sandoval, V. Agarwal, J. Escorcia-García, D. Ramírez-González, M. Martínez-Mondragon, E. Cruz-Silva, D. Meneses-Rodríguez, J. A. Rodríguez-Manzo, H. Terrones, M. Terrones. “Growth of architectures with aligned nanotubes using controlled micro-patterning of Si substrates and electrochemical methods,” *Small* 3(7) 1157-1163 (2007).
9. A. Alvarez-Paneque, S. Díaz, P. Santiago-Jacinto, y E. Reguera. “Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas basadas en la MnFe_2O_4 tipo espinela,” *Rev. Cubana de Física XXV No.2B* 117-122 (2008).
10. C. N. R. Rao, R. Sen, B. C. Satishkummar, A. Govindaraj. “Large aligned-nanotube bundles from ferrocene pyrolysis,” *Chem. Commun.* 15 1525-1526 (1998).
11. N. Grobert, W. K. Hsu, Y. Q. Zhu, J. P. Hare, H. W. Kroto, D. R. M. Walton, M. Terrones, H. Terrones, P. Redlich, M. Rühle, R. Escudero, F. Morales. “Enhanced magnetic coercivities in Fe nanowires,” *Appl. Phys. Lett.* 75 3363-3365 (1999).