

Nicolás Moreno Loro

**Modificación química de silicio macro- y nanoporoso
mediante silanización de la superficie**

**Trabajo Final de Grado
dirigido por el Dr. Lluís F. Marsal**

Grado en Ingeniería Biomédica



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Tarragona

2022

Agradecimientos

Gracias al Dr. Lluís F. Marsal por hacerse cargo de este último paso en la obtención del grado y por abrirme las puertas al mundo de los nanomateriales.

Eterno agradecimiento a mi supervisora Pilar Formentín por todas sus horas de dedicación, ayuda y consejos a lo largo de todos estos meses de trabajo.

Una parte de los agradecimientos de este proyecto también va para los compañeros del laboratorio que me han ayudado y que me han guiado en el proceso.

Y finalmente, pero no menos importante, a todos mis seres queridos y amigos por haber estado siempre cerca durante el camino.

Resumen

Junto con inventos en el área de la salud como la telemedicina, la radioterapia o los equipos de imagenología, los biomateriales han sido uno de los grandes avances de los últimos años en el sector.

En este campo ha sido de gran importancia la labor de ingenieros biomédicos por su colaboración en el desarrollo de nuevas tecnologías y procesos para la creación y el perfeccionamiento de técnicas de obtención de novedosos y revolucionarios biomateriales que intentan formar parte de nuestro día a día.

En este trabajo profundizaremos en el estudio de la obtención de silicio macro- y nanoporoso. Analizaremos como influyen los parámetros de fabricación en la morfología y topografía del silicio poroso.

Tras su fabricación, las muestras fueron funcionalizadas para lograr el anclaje de la proteína a la superficie y analizadas en diferentes equipos ópticos y de espectrofotometría.

Índice

1	Introducción	1
1.1	Materiales porosos.....	1
1.2	Biomateriales y nanotecnología	3
1.3	El silicio	3
2	Objetivos	4
3	Materiales y métodos.....	4
3.1	Fabricación	5
3.2	Caracterización.....	9
3.2.1	Ángulo de contacto.....	9
3.2.2	ESEM.....	11
3.2.3	FESEM	12
3.2.4	Espectro ultravioleta	13
3.2.5	Espectro infrarrojo.....	14
3.3	Modificación química de la superficie del silicio poroso	15
3.3.1	Oxidación.....	15
3.3.2	Silanización	16
3.3.3	Adición de proteína.....	20
4	Resultados.....	21
4.1	Fabricación	21
4.1.1	Silicio macroporoso.....	22
4.1.2	Silicio nanoporoso	31
4.2	Funcionalización	37
4.2.1	Ángulo de contacto.....	38
4.2.2	Espectro ultravioleta	39
4.2.3	Espectro infrarrojo.....	41
5	Conclusión	46
6	Bibliografía.....	47

1. Introducción

1.1. Materiales porosos

Los materiales porosos son aquellos que tienen una geometría estructural que origina cavidades entre los átomos que los forman, convirtiendo materiales lisos o planos en materiales porosos y consiguiendo nuevas propiedades además de mayor ligereza y superficie. Otras propiedades que ofrecen son la rigidez estructural y la baja densidad, factores que los hace de gran utilidad para la fabricación y el diseño de numerosos tipos de objetos.

Están presentes en nuestra vida diaria y ocupan un rol importante en muchos aspectos de nuestro alrededor como pueden ser la absorción de sonido y vibraciones, gestión energética o filtrado de sustancias. Los materiales porosos metálicos y cerámicos tienen gran importancia en aplicaciones industriales ya sea en el ámbito de la química, de la ingeniería mecánica, de la medicina, de la biotecnología o en el diseño de dispositivos electrónicos.

Dependiendo del tamaño pueden ser catalogados en tres categorías, las cuáles son: si la porosidad del material es menor a los 2 nm, son considerados como microporosos; si ésta se encuentra entre los 2 y los 50 nm, se engloban como mesoporosos; y si el tamaño es superior, entran en la categoría de macroporosos. Existen también materiales con una jerarquía de tamaños, donde coexisten en una misma superficie diferentes diámetros para la separación de compuestos con diferentes densidades o viscosidades. [1]

Estos pueden ser clasificados, dependiendo de la relación entre el número de poros y la superficie total, como materiales de baja, media o alta porosidad. Otra característica es que puede haber dos tipos de poros, los abiertos y los cerrados. Los primeros son los que atraviesan el material de costado a costado y que suelen ser utilizados como filtros; los segundos son pensados para contener sustancias. [2]

Las formas de los poros, su diámetro, la separación entre ellos y su profundidad también juegan un papel importante en la finalidad y la aplicación del material. Dotar a los poros de una característica concreta puede ayudar al material a desarrollar de manera más eficiente la función deseada. También la distribución de los poros aporta propiedades únicas a los materiales, ya que, si éstos están ordenados, pueden tener, por ejemplo, mayor capacidad para captar o separar determinadas moléculas. [3]

No hay una sola configuración en las características de un material poroso que funcione con todas las posibles aplicaciones. El escalado de los poros debe ser el factor principal para cada finalidad y nunca se deben perder ni las propiedades mecánicas ni la procesabilidad. Deben satisfacer criterios funcionales como durabilidad, entre otros. Esto supone una inversión en el diseño de la estructura para la comprensión de las propiedades que aporta, hecho que no resulta sencillo debido al minúsculo tamaño de los poros.

Existen diferentes tipos de materiales utilizados para diseñar y fabricar estructuras porosas. Se conocen compuestos:

- Metálicos: utilizados para reducir la densidad del metal y dotarlo de mayor versatilidad, como ejemplo en la industria naval y en la aeroespacial.
- Cerámicos: diseñados como aislantes térmicos en construcción, cuentan con una estructura porosa que reduce las propiedades mecánicas pero aporta una menor conducción del calor.
- Orgánicos: engloban sustancias como el carbono activado para la fabricación de filtros, o los peptoides que son compuestos con una gran capacidad biomimética.
- Poliméricos: compuestos formados a partir de monómeros que cuentan con una estructura porosa intrínseca de manera cristalina o amorfa. Son materiales derivados del petróleo, dominando los plásticos sintéticos.

Cuentan con una gran importancia también los biopolímeros, de los cuáles existen de dos tipos: los naturales y los sintéticos. Los naturales son formados por biomoléculas y organismos vivos y algunos ejemplos son las proteínas (como el colágeno), los polisacáridos o algunos poliésteres. Los sintéticos varían dependiendo de su forma de fabricación, diferenciándose o por adición o por condensación. [4]

En el 1940 empezó con las zeolitas la fabricación extensiva de materiales porosos para su uso comercial. Las zeolitas son minerales cristalinos microporosos con base aluminosilicatada. Existen poco más de dos cientos tipos diferentes, de los cuales cuarenta son naturales (aparecen en zonas geológicas con características concretas) y el resto son sintéticos. Entre sus usos, predominan la absorción de metales pesados (factor que las hace muy importante en la minería), el refinado del petróleo o el control de agentes contaminantes. [5]

Los materiales porosos fueron utilizados por primera vez durante la Primera Guerra Mundial, empleados por Harrison y Zielinsky. Estos utilizaron sólidos porosos amorfos, como el carbono activado para limpiar el aire que se utilizaba en respiradores [6]

El hecho de existir una gran variedad de tipos de materiales porosos implica que existan numerosas aplicaciones para muchos ámbitos diferentes. Una de las principales es la fabricación de filtros, tanto para la absorción de gases, como es el caso de la captación de residuos nocivos para la atmosfera como el CO₂ en grandes industrias, como para la separación de partículas en líquidos. En el campo de la biotecnología se utilizan estos materiales para la catálisis de reacciones con encimas contenidas en los poros.

En el campo de la biomedicina han supuesto un gran avance científico por muchos aspectos. La capacidad de fabricar moldes que sirvan como cuna para el crecimiento *in vitro* de células habilita a la fabricación de tejidos para prótesis y otras membranas. También en el campo de los fármacos se utilizan para la encapsulación de sustancias para su posterior despliegue en el interior de los pacientes.

En el campo de la electrónica también ha habido una gran inversión en el estudio de estos materiales debido a sus propiedades dieléctricas y a la capacidad de almacenar energía en su interior. [7]

1.2. Biomateriales y nanotecnología

Los biomateriales son de gran interés para los científicos debido a su capacidad de interactuar con átomos, iones y otras moléculas. Esta ventaja se ve acentuada si les caracteriza el ser poroso, ya que cuenta con una mayor superficie útil con la que trabajar y generar uniones.

Una gran cantidad de las aplicaciones de los biomateriales, y más concretamente de los biopolímeros se localizan en el ámbito médico. Algunas son los sistemas de suministro de medicamentos, implantes de tejidos y de material óseo, entre otros.

Las características que deben tener estos materiales son la biocompatibilidad para que no sean rechazadas por el individuo, que se degraden y no generen residuos tóxicos y que sean eficientes a la hora de proliferar con las células y el entorno.

En los últimos años los estudios en nanotecnología también han supuesto un avance considerable en la forma de diseñar nuevos objetos y rediseñar los ya existentes. Aunque el costo inicial para el estudio de estas aplicaciones es mayor debido a, por ejemplo, las dimensiones tan reducidas de los materiales y productos que se obtienen, muchas empresas están decidiendo invertir en esta tecnología revolucionaria.

El mercado global de la nanociencia ha sufrido una revalorización notoria debido al potencial de sus productos, posicionándose como uno de los focos para infinidad de campos de estudio. En 2015, este mercado contaba con un valor de 14.7 mil millones de dólares y se esperaba un aumento del 375% al alcanzar el 2022, esperando que su valor llegará a los 55 mil millones de dólares. En 2019 se registró un total de 64 mil millones de dólares de valor de mercado, superando con creces las expectativas y hecho que refleja el gran interés de las empresas y del mundo de la investigación. [8]

1.3. El silicio

Dentro de la gran cantidad de materiales utilizados para productos basados en las funcionalidades de las superficies porosas, hay dos que han sido muy estudiados y son el silicio y la alumina.

En este trabajo se han estudiado y se ha trabajado con las propiedades del silicio poroso. El silicio es un elemento de la tabla periódica del tipo metaloide, con el número atómico 14 y símbolo Si. Es el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre, después del oxígeno. En su forma natural, está formado por una estructura cristalina de color azul grisáceo y apariencia brillante metalizada.

Aunque resulta relativamente inerte, reacciona con ácidos que contengan halógenos y álcalis diluidos. Es un material duro, poco soluble, transmisor de la mayoría de las longitudes de onda del espectro infrarrojo y semiconductor de la electricidad.

Debido a las propiedades únicas del silicio poroso, es muy utilizado en una gran cantidad de aplicaciones del ámbito biomédico como los biosensores o el diseño de aparatos fotónicos. Este material posee grandes ventajas para los campos de la electrónica, la química y la medicina gracias a su estructura y al potencial de configuraciones posibles que existen en él, teniendo un abanico de posibilidades que cambian significativamente

su comportamiento. Otras características que lo hacen ser interesante es el bajo coste y la sencillez de su proceso de fabricación. [9]

En el 1956, el material fue descubierto por Arthur Uhlir Jr mientras realizaba sobre obleas de silicón experimentos de electropulido con electrolito de HF. Detectó que bajo unas condiciones adecuadas de corriente y una concentración determinada de la solución, se creaba una superficie porosa en vez de deshacerse en capas uniforme.

Más tarde, en las décadas del 1980 y del 1990, el número de publicaciones creció y desde entonces no ha dejado de aumentar debido a sus cualidades luminiscentes, conductoras, ópticas y mecánicas, posicionándolo como uno de los materiales más prometedores del sector. [10]

2. Objetivos

Durante este trabajo reproduciremos y analizaremos diferentes métodos para la fabricación del silicio poroso. La escala en la que se encuentren los poros, dependiendo de su tamaño, determina si el tipo de silicio fabricado es macroporoso o nanoporoso.

Para la correcta reproducibilidad de las muestras, es necesario el control de los diferentes parámetros que afectan a la anodización. Estudiaremos como afectan estos a las características finales de los diferentes tipos de silicio poroso. Para la caracterización de los resultados y con el fin de definir geometrías y magnitudes, se requiere utilizar equipos de microscopía, como el ESEM o el FESEM, equipos ópticos y diferentes espectrofotómetros para obtener valores de las medidas de los poros y espectros de luz ultravioleta e infrarroja.

El siguiente paso a la fabricación de los diferentes tipos de silicio poroso es la preparación química de la superficie para el anclaje de proteínas. La funcionalización consiste en la adición de grupos funcionales característicos que favorecen la unión de proteínas estructurales que servirían en un futuro como sustrato para la proliferación celular.

3. Materiales y métodos

El proceso de fabricación del silicio varía dependiendo de las características que se quieran obtener en él (porosidad, profundidad del poro, diámetro, etcétera). En este proyecto hemos utilizado parámetros, equipos y materiales específicos para adaptarlo a los objetivos y se han caracterizado las muestras para seguir un correcto desarrollo.

A pesar de que existen casi 20 métodos de anodización diferentes para conseguir silicio poroso, en este apartado hablaremos de los utilizados en el laboratorio para la realización de este trabajo.

3.1. Fabricación

Para la fabricación del silicio poroso (SiP) se utiliza una celda de teflón estanca donde se vierte la disolución, la cual cierra el circuito eléctrico con el cual se ataca a la placa de silicio. Existen diferentes tipos de este material pero el utilizado es el "p".

En la figura 1 se muestra un esquema de la celda electroquímica usada para este proceso. Ésta está formada por un agitador, conectado a un motor rotatorio que actúa a través a un hilo de platino que hace la función de cátodo. Una junta hace estanco el recipiente y evita que se pierda el líquido de la disolución. Como el teflón cubre todo el fondo del vaso excepto un pequeño círculo de 1.54 cm², es ahí donde actúa el potencial y donde se centra el ataque del ácido sobre la placa de silicio.

Como se ha explicado en el punto 2.3, el silicio es un metaloide conductor el cuál actúa como ánodo, y que está conectado a una placa de cobre que cierra el circuito por el cual circula la corriente.

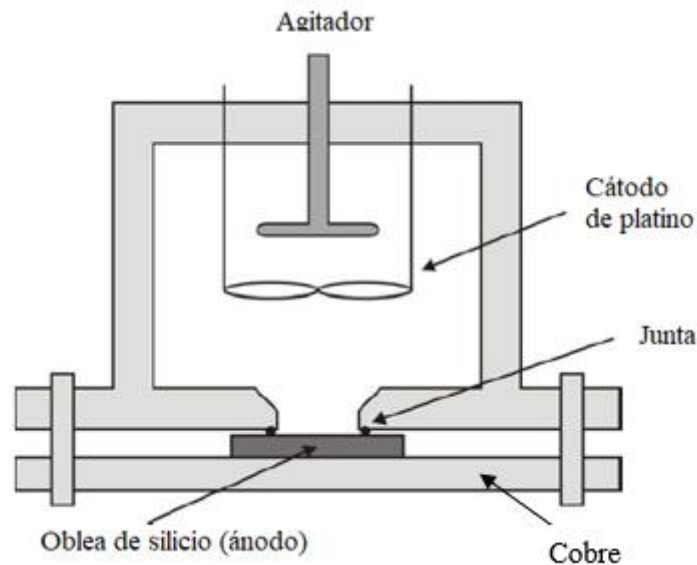


Figura 1. Esquema de la celda de anodización de silicio con sus partes detalladas

En la figura 2 vemos todas las partes que contribuyen en el proceso de fabricación. El punto 1 es el ordenador donde se definen los parámetros correspondientes. El punto 2 muestra la celda electroquímica donde se ataca al silicio. Se observan cuatro cables: el positivo y el negativo que hacen girar el agitador; otro de tipo banana que actúa como base y va conectado a la placa de cobre; y otro cocodrilo que va conectado al filamento de platino y que actúa como polo positivo. El punto 3 hace referencia a la fuente de alimentación, la cual se configura a través del ordenador y que muestra el voltaje y la corriente que está actuando sobre la placa de silicio.

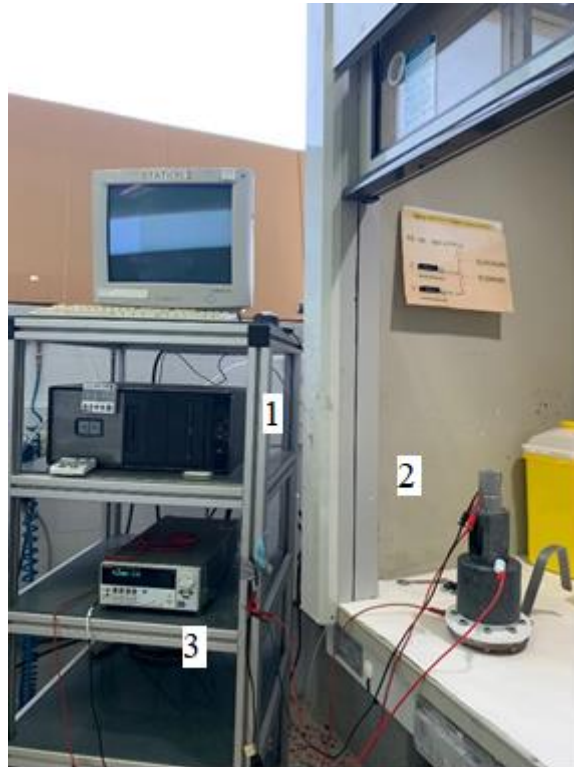


Figura 2. Set de fabricación del silicio poroso, compuesto por ordenador, celda de anodización y fuente de alimentación.

El circuito eléctrico del método de anodización tiene ambos extremos en la fuente de alimentación. El polo positivo va conectado a través de un cable con cabeza de cocodrilo al filamento de platino y se transfiere la corriente a través de la disolución de HF. El propio ácido y la oblea de silicio ejercen de resistencia, suponiendo ínfima la que ofrecen los cables. Para hacer mejor contacto entre el silicio y el cobre, se coloca papel de plata bajo la oblea. La base se conecta a través de un cable banana a la tierra de la fuente y así queda cerrado el circuito.



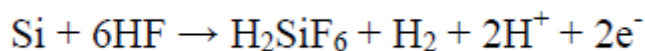
Figura 3. Material utilizado para la anodización. Placa de cobre, recipiente para el ácido y el agitador con el filamento de platino. [11, 12, 13]

En la figura 3 podemos observar todo lo que compone el proceso de fabricación. Los pasos a seguir serían:

1. Partimos la oblea de silicio con un tamaño aproximado de 2x2 cm para que se ajuste correctamente a la mueca que hay bajo el teflón
2. Sumergimos durante 2 min el trozo de silicio en una disolución al 5% de HF 40%. Este paso sirve para retirar el óxido que se formade manera natural en las obleas por estar en contacto con el oxígeno de la atmosfera.
3. El siguiente paso es tener el trozo de silicio 3 min en agua destilada para enjuagarlo y que no queden restos de HF del anterior paso.
4. Secamos la muestra y la colocamos tapando con la parte brillante de la oblea el agujero de la base del teflón, sobre la junta.
5. Vertemos el ácido en el interior del recipiente de teflón y colocamos el agitador
6. Conectamos todos los cables en su lugar correspondiente y configuramos los valores en el ordenador.
7. Controlamos a través del multímetro el voltaje que circula a través del circuito y una vez finalizado el programa, desmontamos todo en orden inverso al explicado.
8. Retiramos la muestra y la sumergimos durante 2 min en etanol para quitar el ácido que pueda tener.
9. Finalmente, la secamos y guardamos la muestra

Este proceso es idéntico para la fabricación de todos los tipos de silicio con los que hemos trabajado. En los siguientes puntos explicaremos los diferentes electrolitos utilizados y las resistividades de las obleas, dependiendo si el objetivo era conseguir poros en la escala macrométrica o en la nanométrica.

Para la formación de los poros se han observado diferentes mecanismos químicos, pero se ha comprobado que la efectividad de la reacción, fórmula de la cual es mostrada a continuación, es la mejor para la anodización del silicio:



Como podemos observar, el producto final de la reacción con HF es H_2SiF_6 , lo que indica que solo 2 de los 4 electrones disponibles del silicio participan en la transferencia de carga mientras que los otros 2 forman burbujas de hidrógeno, las cuales se observan durante la anodización.

La reacción ataca a la superficie de la oblea de silicio y forma poros, los cuáles va vaciando hasta que la anodización termina. En la figura 4 observamos como el electrolito ataca al silicio y crea pequeños cráteres en la superficie de manera desordenada. Conforme avanza el tiempo y se sigue aplicando una corriente, el ácido se focaliza en los poros más marcados sin atacar a las paredes.

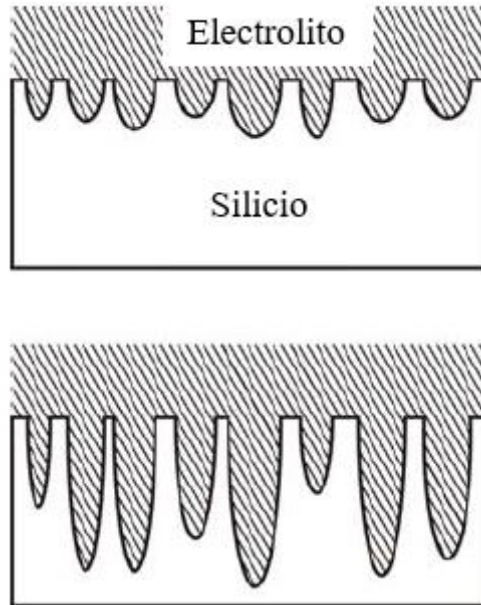


Figura 4. Proceso de anodización del silicio

La preparación electroquímica del silicio para su fabricación ha sido estudiada por muchos autores [14]. En este proceso los parámetros más importantes a tener en cuenta son: el tipo de silicio y su resistividad, calculada en $\text{ohmios}\cdot\text{cm}$; la composición del electrolito; la densidad de corriente, la cual se mide en mA/cm^2 y se puede simbolizar con la letra J ; y el tiempo de anodización, que puede variar de segundos a horas.

La profundidad de los poros y el tiempo de anodización es directamente proporcional, cuanto más tiempo, más longitud. Si el propósito fuera crear poros abiertos de cara a cara de la oblea de silicio, sería necesaria una anodización de horas. Estos resultados son los que se buscan para la fabricación de biosensores.

Otro factor importante a tener en cuenta durante la anodización es el control de la corriente que circula por el equipo. El uso de una fuente ayuda a la reproducibilidad de muestras y al seguimiento de una correcta anodización. Este parámetro también es directamente proporcional a la profundidad de los poros y una mayor densidad de corriente ataca en mayor proporción a la oblea de silicio.

El electrolito utilizado para la fabricación del SiP está compuesto por una disolución compuesta por ácido fluorhídrico (HF) y un surfactante. El utilizado en este trabajo ha sido la dimetilformamida (DMF) y sirve para proteger las paredes de los poros y mantener la dirección de estos durante la anodización.

El ácido fluorhídrico es un ácido formado al mezclar:



Es un compuesto químico altamente corrosivo y peligroso que debe ser tratado con mucha precaución en el laboratorio. De apariencia transparente e incoloro, con un olor penetrante, es utilizado para atacar compuestos orgánicos, vidrio, esmaltes y metales, entre otros. Y en nuestro caso silicio, que es un metaloide el cual por su estructura cristalina también se ve afectado por este ácido.

Usamos un recipiente de teflón ya que sabemos que es un material al cual el HF no ataca y de esta manera tenemos la seguridad de que todo el efecto del ácido actuará sobre la placa de silicio. El agitador al ser de platino también resulta inerte al poder del HF y por ello se usa.

Para la obtención de silicio macroporosos se usaron en diferentes concentraciones de las disoluciones, las cuales se muestran en la tabla 1, dependiendo de las características y propiedades deseadas. Para el caso del silicio nanoporoso, se sustituyó la DMF por etanol y en algunos casos se añadió glicerol dependiendo de la porosidad a obtener.

Tabla 1. Electrolito usado en la fabricación de silicio macro- y nanoporoso.

Macroporoso	
HF : DMF 1 : 10	HF : DMF 1 : 3
Nanoporoso	
HF : Etanol : Glicerol 3 : 7 : 1	HF : Etanol 3 : 1

3.2. Caracterización

Las muestras de silicio poroso obtenidas durante este trabajo fueron analizadas mediante diferentes técnicas de caracterización.

3.2.1. Ángulo de contacto

Para calcular la hidrofobicidad o hidrofiliidad de la muestra, hemos utilizado un tensiómetro óptico, el cual permite medir de forma simple y precisa, la capacidad de un líquido para mojar la superficie de un sólido. Esta técnica nos permite calcular el ángulo de contacto estático, los ángulos dinámicos de la gota, la energía libre de la superficie de la muestra, la tensión superficial, entre otros.

Para realizar todas las pruebas y reducir los errores de medición se lanzan sobre la misma muestra varias gotas en diferentes partes de la superficie y así poder obtener una media. La cantidad de líquido depositado desde la jeringuilla será siempre de 10 μL para obtener resultados más críticos.

En la figura 5 vemos de forma esquemática como el programa calcula el ángulo de contacto en función de los grados que forman las gotas con el sólido que las mantiene. Si en este cálculo obtenemos un ángulo de entre 0 y 90°, podemos hablar de que es una superficie hidrofílica y que por lo tanto puede quedarse mojada; si el ángulo varía entre los 90 y los 180° la superficie es hidrófoba y el material repelerá los líquidos.

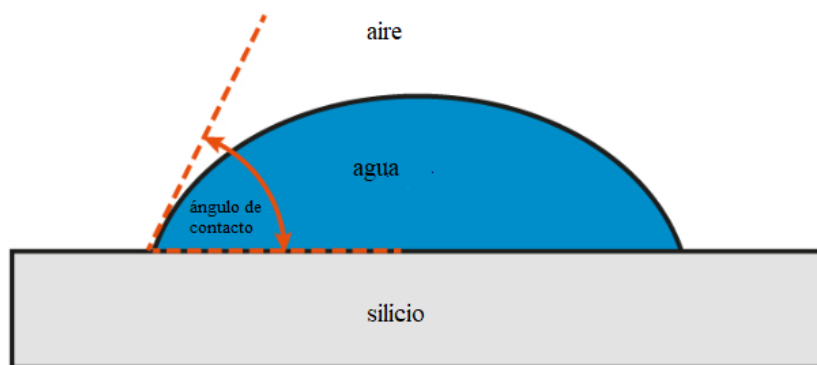


Figura 5. Esquema del momento de formación del ángulo de contacto para calcular la hidrofobicidad de la superficie

En la figura 6 podemos observar las diferentes partes del detector de ángulos. Equivale al número 1 la cámara, que contiene las diferentes lentes a través de las cuáles se graba la gota; el número 2 es la jeringuilla desde la que se deja caer la cantidad deseada de agua; el 3 es la plataforma móvil sobre la que se colocan las muestras a analizar, es ajustable en altura e inclinación para lograr que el objeto siempre se encuentre en una posición plana; el 4 es la luz de referencia, contrapuesta a la cámara, para poder observar la gota.

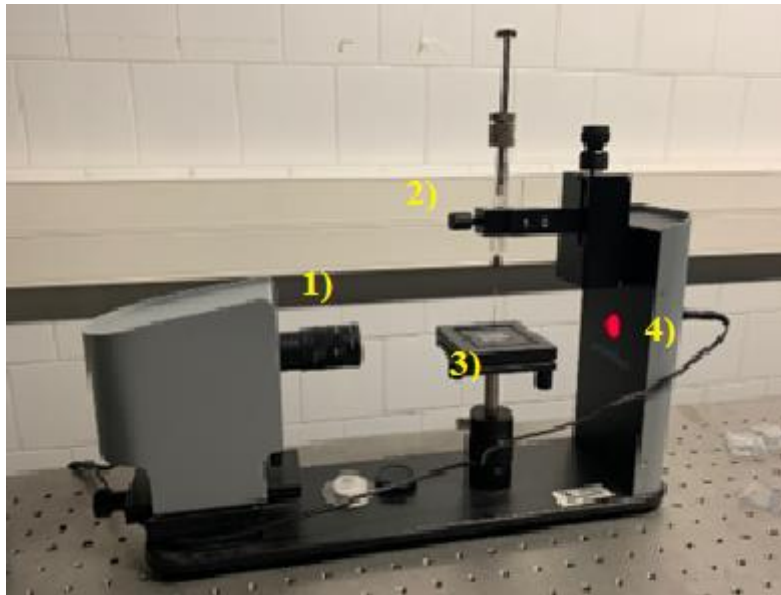


Figura 6. Tensiómetro óptico para el cálculo del ángulo de contacto.

3.2.2. ESEM

El microscopio electrónico de barrido ambiental (del inglés *Environmental Scanning Electron Microscope*) o ESEM, es un equipo de microscopia que utiliza un haz de electrones en una atmósfera de vacío y que capta los datos utilizando unos detectores de electrones tras rebotar en las muestras.

El microscopio permite enfocar en diferentes alturas gracias a su amplia profundidad de campo y se caracteriza por su gran resolución (3 nm). Gracias a la interacción electrón-materia, este sistema de microscopia es capaz de obtener diferentes resultados como imagen topográfica o imagen de contraste por número atómico, por ejemplo.

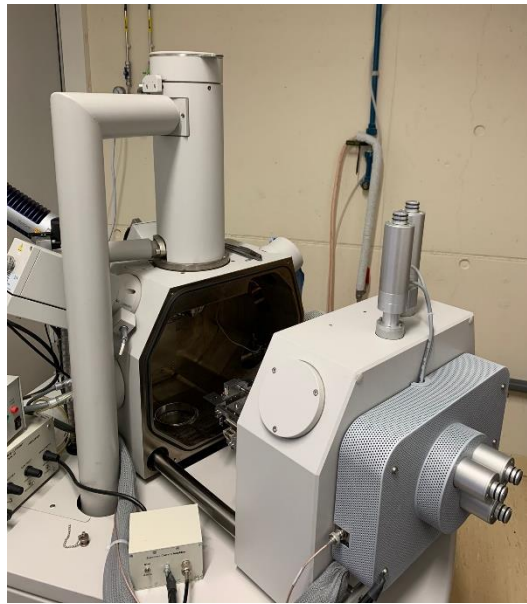


Figura 7. Equipo de microscopia ESEM

3.2.3. FESEM

El microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM) funciona de la misma manera que el SEM pero con una mayor resolución y con un rango de energía mucho mayor.

Su funcionamiento consiste en barrer la superficie con un haz de electrones mientras que en los monitores se visualiza la información recolectada por los detectores que se estén utilizando. También incorpora un haz focalizado de iones de galio que permiten la obtención de imágenes de alta resolución, además de inyectoros de gases que permiten el decapado de muestras para su posterior análisis. Este microscopio alterna haces de electrones de alta y baja energía, desde 0.02 a 5 keV, de forma muy focalizada, lo que nos aporta una mejor imagen de objetos con dimensiones nanométricas, tanto de materiales magnéticos como aislantes.

El equipo Scios 2 de FEI Company cuenta con una columna de electrones, con lentes electrostáticas, que contiene 3 detectores: un BSD (para imagen de contraste por materiales), un SE (para imagen de alta resolución) y uno para imágenes de detalles de superficie.



Figura 8. Equipo de microscopia FESEM

3.2.4. Espectro ultravioleta

Para calcular el espectro de longitudes de onda en el que las muestras se encontraban hemos utilizado un espectrofotómetro de ultravioleta visible de la marca Perkin Elmer. Este equipo funciona emitiendo rayos electromagnéticos de varias longitudes de onda, comprendidas entre el espectro ultravioleta y el visible de la luz.

Dependiendo del material de la muestra y de las sustancias adheridas a su superficie, se absorben determinadas longitudes de onda. El resto, se transmiten y son captadas por detectores especializados que generan un espectro de absorción característico.

Las sustancias y materiales absorben luz dependiendo de si en ellos hay una excitación electrónica de sus partículas, sino ésta se refleja y transmite. Es importante en este tipo de aparatos, para obtener resultados veraces, calibrar correctamente el sistema en el rango de longitudes de onda deseadas.

En la figura 9 vemos el espectrofotómetro y el ordenador en el cual se configuran los parámetros para su uso. La configuración de estudio de las longitudes de onda varía dependiendo de lo que queramos observar y analizar en cada experimento.



Figura 9. Espectrofotómetro de ultravioleta visible de la marca Perkin Elmer.

3.2.5. Espectro infrarrojo

El espectrómetro de infrarrojo de la marca Jasco, modelo FT/IR-6700, se encuentra en las instalaciones del CEICS (*Campus of International Excellence Southern Catalonia*) de la URV. Es un equipo de reflexión – absorción que consiste en la alteración electromagnética de las partículas de las muestras debido a la radiación. El cambio vibracional y rotacional de las moléculas de los compuestos y materiales se grafica para observar que grupos funcionales hay en la superficie. Esto se determina observando en que puntos del espectro se ha detectado una sustancia concreta y por lo tanto habrá un fenómeno de absorbanza, mientras que en el resto la transmitancia será la esperada.

En la figura 10 vemos el espectrómetro infrarrojo con el ordenador que sirve para configurar, determinar parámetros y visualizar la información capturada. El rango de longitudes de onda a calcular, la velocidad en la toma de los datos y el tipo de detección deseada debía ser seleccionado y establecida al principio de cada experimento. El FTIR es un equipo sensible a humedad que debe ser limpiado, con acetona, y calibrado correctamente para obtener resultados críticos.



Figura 10. Espectrómetro de infrarrojo de la marca Jasco, modelo FT/IR-6700.

3.3. Modificación química de la superficie del silicio poroso

La funcionalización es un proceso químico en el cual se introducen grupos funcionales que pueden facilitar la incorporación de otras moléculas.

En este trabajo hemos modificado la superficie del silicio poroso con 3-aminopropiltrietoxisilano (APTES) y glutaraldehído (GTA) para inmovilizar covalentemente proteínas.

3.3.1. Oxidación

El primer paso para la funcionalización de la superficie es la oxidación de las muestras. Como la mayoría de los materiales en contacto con el oxígeno de la atmósfera, el silicio poroso se oxida y debido a esto cambia su composición y sus características.



Figura 11. Horno para oxidar muestras.

Esta reacción la aceleramos utilizando un horno, como el de la figura 11, a 1000 ° C durante 3 horas para así oxidar la muestra uniforme y eficientemente. Este proceso aporta grupos hidroxiles al silicio poroso, es decir, terminales -OH (figura 12). Estos están formados por una unión covalente entre un átomo de oxígeno y uno de hidrógeno. [15]

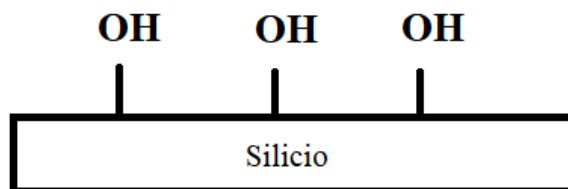


Figura 12. Grupos hidroxiles en la superficie tras la oxidación

3.3.2. Silanización

El 3-aminopropiltrietoxisilano, o APTES, se utiliza para silanizar la superficie de la muestra. Esto significa adherir un alcoxisilano funcional para la posterior incorporación de sustancias orgánicas. (figura 14)



Figura 13. Montaje para la silanización sobre agitador y con atmósfera de nitrógeno.

El procedimiento experimental a seguir se indica a continuación:

1. Colocamos en un soporte las muestras de silicio poroso
2. Colocamos en un soporte, aguantado por una pinza, un tubo de ensayo sobre el agitador magnético e introducimos el soporte con las muestras
3. Introducimos en el fondo del tubo un imán cilíndrico para agitar las soluciones. Sellamos con un tapón el tubo de ensayo y lo conectamos al conducto del nitrógeno. Lo dejamos 10 min para crear una atmósfera de este gas en el interior. Pinchamos en el tapón una aguja para permitir que la presión interior no aumente y el aire del interior pueda ir saliendo.
4. Introducimos 10.5 mL de tolueno 99.85% y 0.55 mL de APTES. Esto corresponde a una concentración del 5%. Dejamos la solución agitándose durante 60 min.
5. Sacamos la solución con una aguja e introducimos tolueno 2 veces para limpiar los excesos.
6. Apagamos el agitador, destapamos y desconectamos el nitrógeno de la boquilla. Destapamos y secamos las muestras con nitrógeno.

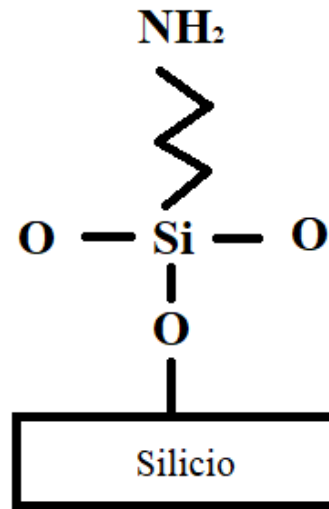


Figura 14. Unión de los silanos a la superficie de la muestra

Para una mejor fijación del APTES a la superficie, colocaremos las muestras sobre una placa Petri de vidrio y las introduciremos en el horno a $120\text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 horas.



Figura 15. Horno utilizado para la fijación del APTES a la superficie

Para evitar que las muestras funcionalizadas se oxiden con el oxígeno del aire, las introducimos en un desecador bajo vacío durante la noche.

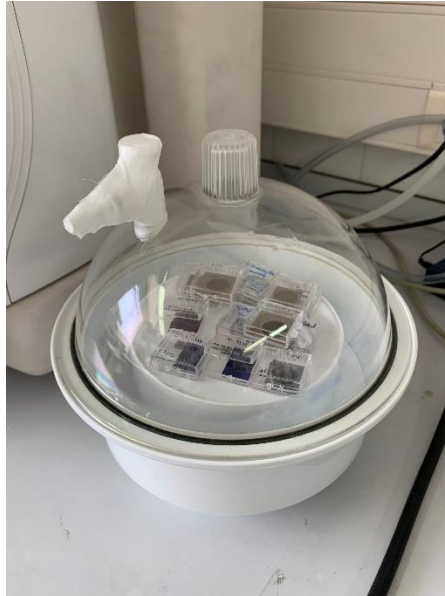


Figura 16. Desecador para lograr el vacío en el interior y mantener las muestras en atmósfera inerte.

Sacamos las muestras del vacío y las colocamos en una placa Petri. Añadimos una disolución de GTA al 2.5% en etanol.

El glutaraldehído es un agente fijador, de la familia de los aldehídos, que no polimeriza y añade grupos carboxílicos a la superficie (figura 18). Este compuesto servirá de unión entre el APTES y la proteína que añadiremos a continuación. [16]



Figura 17. GTA al 2.5% en etanol junto con las muestras de SiP.

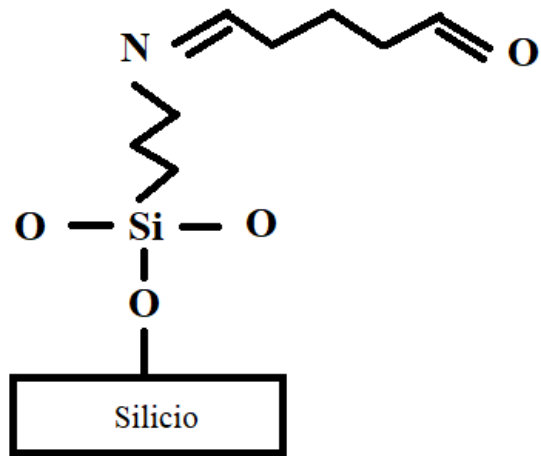


Figura 18. Grupos carboxílicos (C=O) en la superficie del SiP tras el paso de añadir el GTA.

3.3.3. Adición de proteína

En este paso, el paso final de la funcionalización de la superficie, añadiremos una disolución de 0.1% de colágeno tipo I en 0.1M de ácido acético y se deja a 4 °C durante toda la noche. [17]

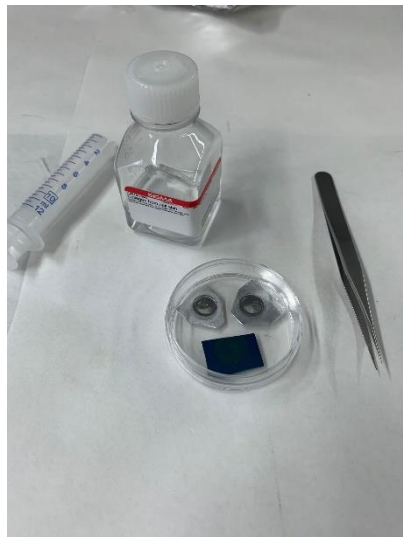


Figura 19. Colágeno y muestras de SiP.

En la figura 19 se muestra la forma de depositar la proteína sobre las muestras. Es necesario recubrirlas en su totalidad.

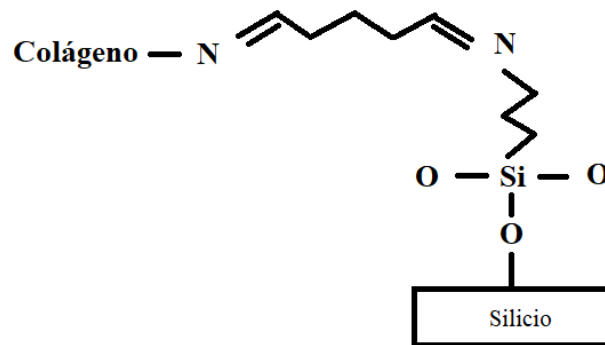


Figura 20. Esquema químico de la unión de la proteína a los grupos carboxílicos.

4. Resultados

En todos los pasos explicados anteriormente, desde la fabricación hasta el uso de la proteína, se han analizado las diferentes muestras para ver los cambios en la superficie. Ya sea el ángulo de contacto, el espectro ultravioleta o el infrarrojo.

Estas pruebas nos servían para saber si las muestras estaban saliendo con las características porosas deseadas o si las sustancias de la funcionalización se estaban adhiriendo correctamente.

4.1. Fabricación

Dependiendo de la resistividad de la oblea, del tiempo de exposición o de la concentración de la disolución de HF y corriente aplicada, obtendremos silicio macro- o nanoporoso.

En la figura 21 observamos el resultado cuando obtenemos SiP después de aplicar el ácido. Vemos los bordes de la muestra de color brillante, su estado original, y el círculo de un color más oscuro debido a los poros formados. En la parte derecha se muestra una de las cajas en las que se almacenaban y numeraban las muestras. En la caja observamos la muestra partida para poder observarla en el ESEM.



Figura 21. A la izquierda muestra muestra de silicio poroso acabada de fabricar. A la derecha muestra muestra cortada para su caracterización en el microscopio y guardada en caja de plástico.

4.1.1. Silicio macroporoso

Los substratos de silicio macroporoso fueron fabricados electroquímicamente mediante anodización a partir de obleas de silicio de resistividad 10-20 $\Omega \cdot \text{cm}$.

Con el fin de obtener muestras con diferente morfología, variamos los parámetros de anodización.

Dos concentraciones diferentes de electrolito fueron usadas, así como diferente densidad de corriente y tiempo de reacción.

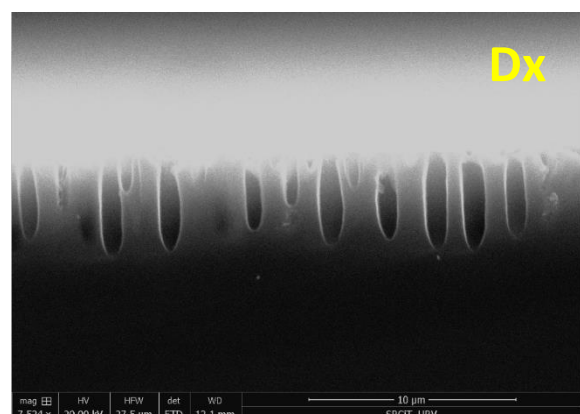
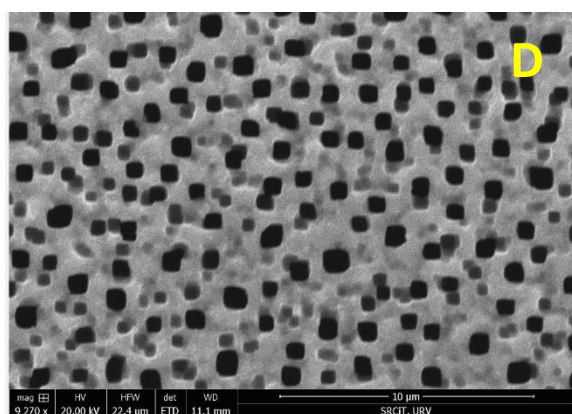
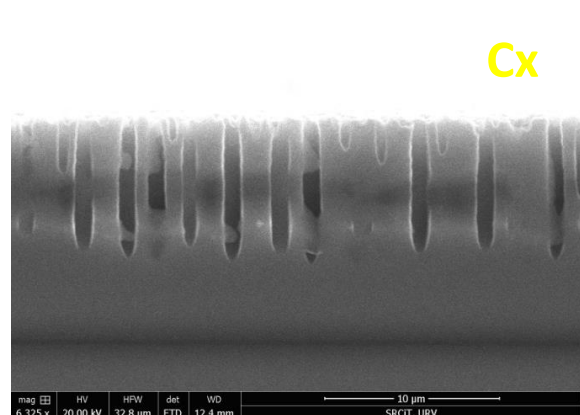
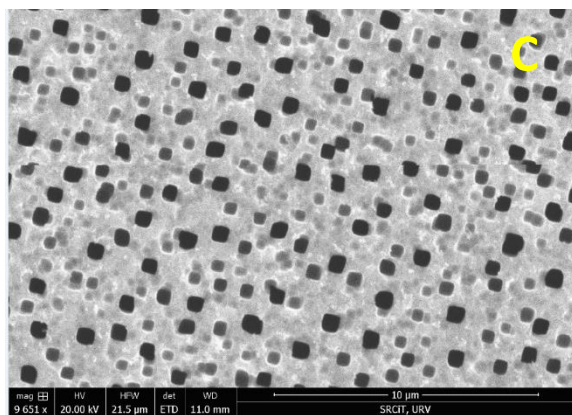
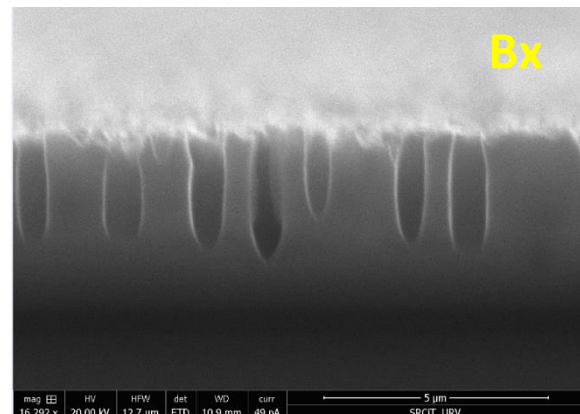
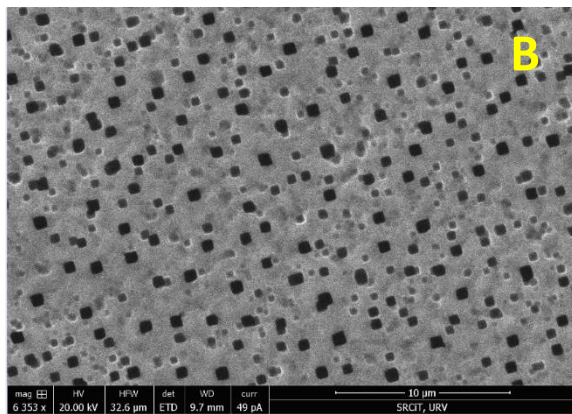
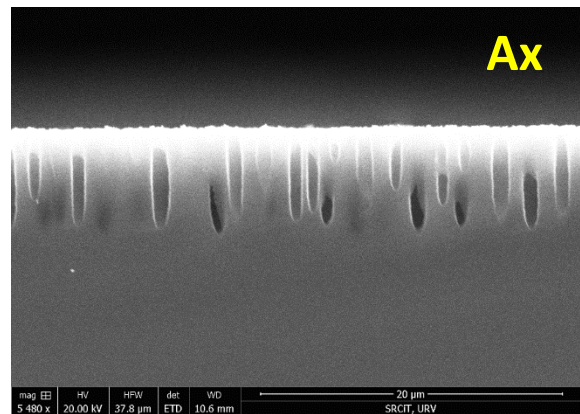
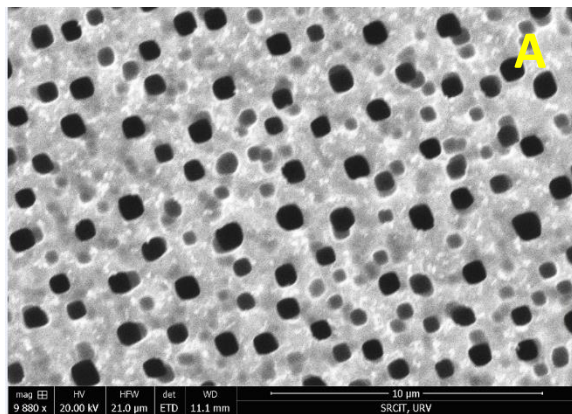
La tabla 2 muestra la nomenclatura y los parámetros para las diferentes muestras de silicio macroporoso obtenidas con una disolución HF: DMF (1:10).

Tabla 2. Parámetros de fabricación de silicio macroporoso utilizando como electrolito una disolución HF:DMF (1:10).

Nomenclatura	Parámetros
A	$J = 5 \text{ mA /cm}^2$ $t = 15 \text{ min}$
B	$J = 10 \text{ mA /cm}^2$ $t = 5 \text{ min}$
C	$J = 10 \text{ mA /cm}^2$ $t = 8 \text{ min}$
D	$J = 20 \text{ mA /cm}^2$ $t = 5 \text{ min}$
E	$J = 20 \text{ mA /cm}^2$ $t = 8 \text{ min}$

La topografía de las muestras fue analizada por ESEM. En la figura 22 observamos fotos de la superficie (columna izquierda) y fotos de corte (columna derecha) de silicio macroporoso con una solución 1:10. Cada una de las filas es una misma muestra pero vista de dos ángulos diferentes, lo que en inglés se conoce como *top view* y *cross view*.

Vemos también como los poros son cilíndricos y uniformes y se definen más cuanto mayor es el tiempo de anodización. Al aumentar el tiempo, aumenta la longitud del poro manteniendo constante la densidad de corriente (véase muestras B y C, y muestras D y E). Si por el contrario mantenemos tiempo y modificamos densidad de corriente (muestras B y D o muestras C y E) a mayor corriente, mayor longitud de poro. Estos resultados vienen mostrados en la tabla 3.



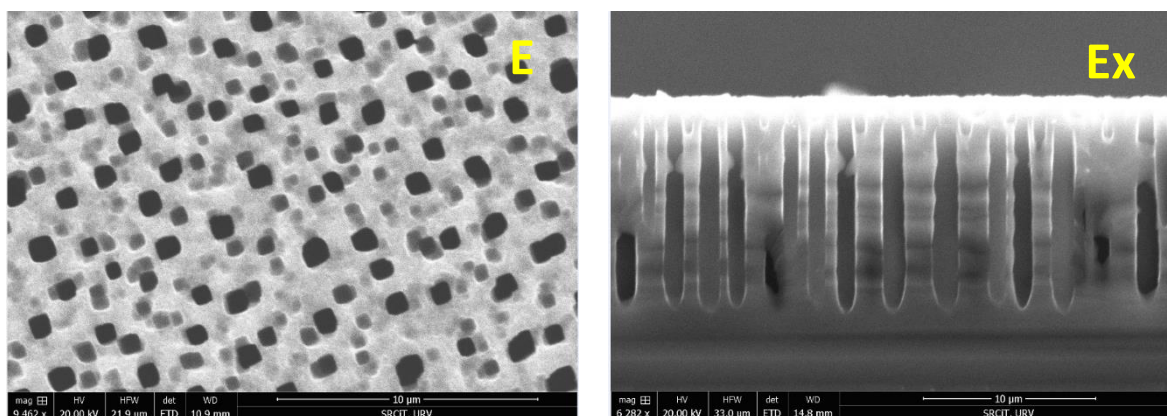


Figura 22. Imágenes de ESEM de las muestras de SiMacroP con disolución HF:DMF (1:10). Las muestras de la primera columna corresponden a la superficie de las 5 muestras fabricadas. Las muestras de la segunda corresponden a su sección o corte. Todas las muestras están emparejadas por filas, es decir, cada fila pertenece a una misma muestra observada desde diferentes ángulos.

Tabla 3. Parámetros geométricos de las muestras fabricadas en una disolución HF:DMF (1:10).

Muestra	Diámetro (nm)	Longitud (μm)
A	800 ± 120	7 ± 0.7
B	650 ± 90	4 ± 0.5
C	800 ± 120	8 ± 0.7
D	750 ± 110	5 ± 0.6
E	800 ± 120	12 ± 0.6

En la tabla 3 podemos observar una variación en el diámetro de poros debido al rango de resistividad de las obleas de silicio, el cuál varía si se produce un cambio de oblea y esto genera diferentes tamaños. Es decir, una oblea con un valor más cercano a los 20 ohmios*cm tendrá un tamaño de poro menor, como es el caso de la muestra B.

En la tabla 4 vemos que los valores del ángulo de contacto y de la porosidad son relativamente parecidos en las muestras A, C, D y E, con una porosidad media del 22% y un ángulo de contacto sobre los 54° , aproximadamente.

En cambio, observamos en la muestra B que la porosidad es menor, lo que puede corresponder a una resistividad mayor en la oblea. Este valor se confirma con el ángulo de contacto ya que al haber menos poros en la superficie ésta es más hidrofóbica.

Tabla 4. Resultados obtenidos de los valores de ángulo de contacto y porosidad de las muestras de SiP obtenidas con una concentración HF:DMF (1:10).

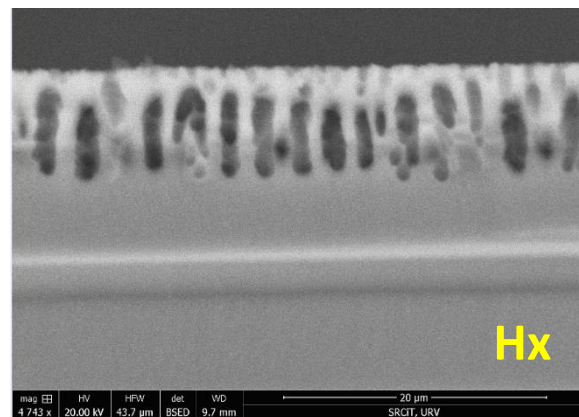
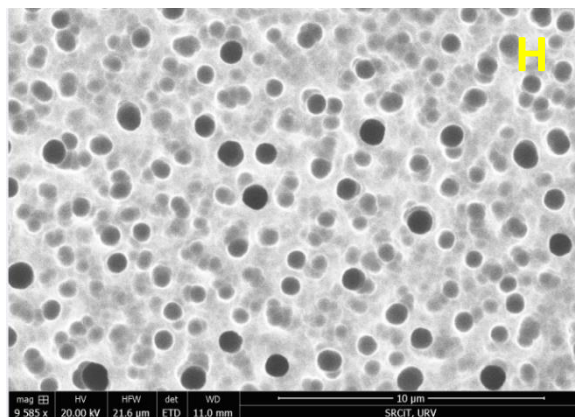
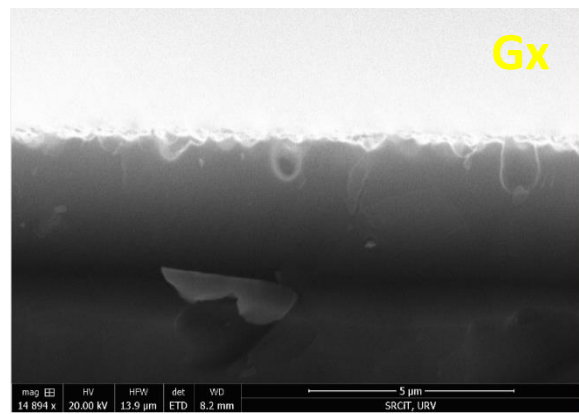
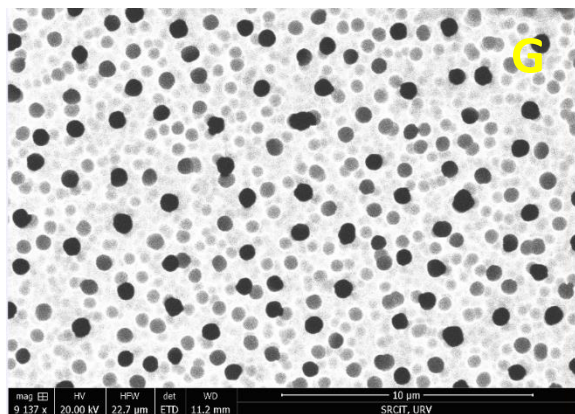
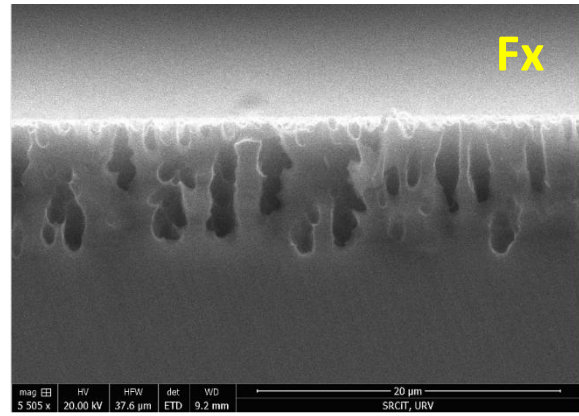
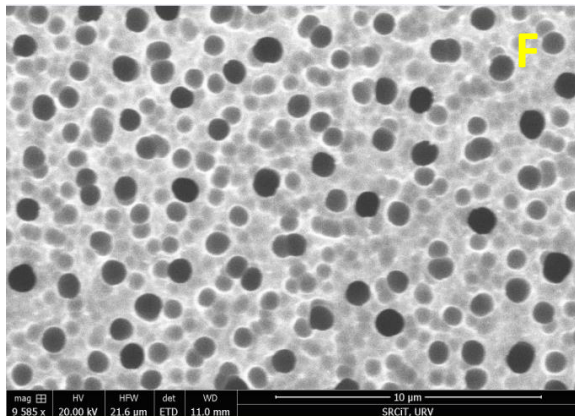
Muestra	Ángulo de contacto (°)	Porosidad (%)
A	57 ± 6	19.5 ± 2
B	65 ± 7	14 ± 1
C	56 ± 6	19 ± 2
D	53 ± 5	24.5 ± 2
E	46 ± 6	25 ± 1

Manteniendo las mismas densidades de corriente y tiempos de anodización indicados anteriormente, cambiamos concentración de electrolito para la fabricación de nuevas muestras de silicio poroso. En este caso se usó una concentración HF: DMF (1:3) (tabla 5).

Tabla 5. Parámetros de fabricación de SiMacroP utilizando como electrolito una disolución HF:DMF (1:3).

Nomenclatura	Parámetros
F	J = 5 mA /cm ² t = 15 min
G	J = 10 mA /cm ² t = 5 min
H	J = 10 mA /cm ² t = 8 min
I	J = 20 mA /cm ² t = 5 min
J	J = 20 mA /cm ² t = 8 min

La figura 23 muestra imágenes de ESEM de las muestras obtenidas. En la columna de la izquierda observamos como la superficie de las muestras fabricadas con la solución HF: DMF (1:3) contienen poros con una forma redondeada que los obtenidos con el electrolito HF: DMF (1:10). Según las imágenes de la parte derecha, estas muestras presentan poros menos cilíndricos, más desiguales y con ramificaciones.



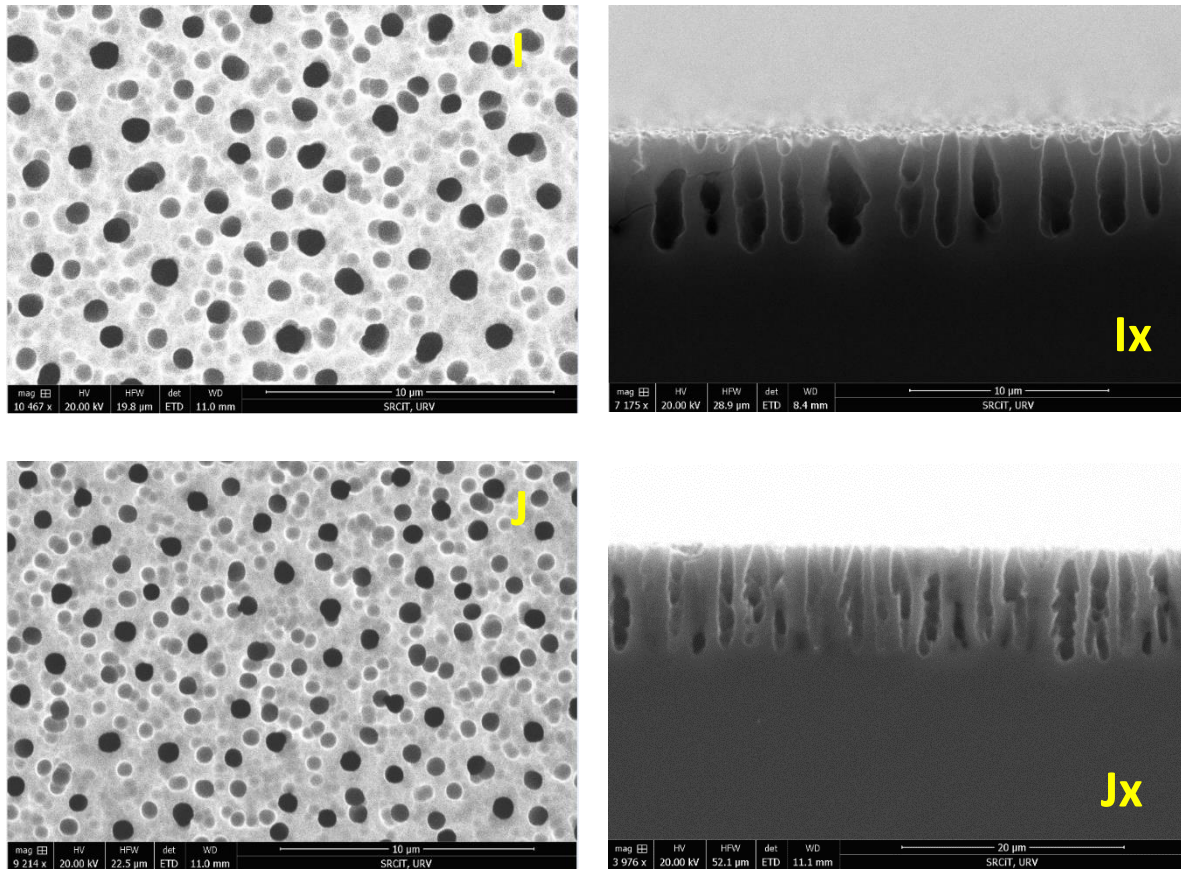


Figura 23. Imágenes de ESEM de las muestras de SiMacroP con disolución HF:DMF (1:3).

En la tabla 6 tenemos expresados los datos de diámetro y profundidad de los poros macrométricos realizados. Excepto en la muestra G, todas tienen unos valores semejantes de diámetro.

Tal y como esperábamos, la profundidad del poro aumenta al aumentar la corriente si comparamos muestras con el mismo tiempo de anodización (G y I, o H y J). Si por el contrario mantenemos fija la corriente y variamos el tiempo, a mayor tiempo mayor profundidad de poro.

Tabla 6. Parámetros geométricos de las muestras fabricadas en una disolución HF:DMF (1:3)

Muestra	Diámetro (nm)	Longitud (μm)
F	900 \pm 120	8.5 \pm 0.2
G	700 \pm 80	3.5 \pm 0.4
H	850 \pm 110	6 \pm 1
I	850 \pm 110	5 \pm 0.8
J	800 \pm 90	7.5 \pm 1.2

Al igual que en las muestras anteriores, las obtenidas con el electrolito HF:DMF (1: 3) también fueron analizadas mediante cálculos de porosidad y de ángulo de contacto.

Los resultados que aparecen en la tabla 7 de porosidad tienen una media del 20%, la cual es menor que en comparación con las muestras realizadas con la disolución HF:DMF a concentración 1:10. El ángulo de contacto también tiene un valor global menor debido a que el diámetro de los poros es mayor y la superficie es más hidrofílica.

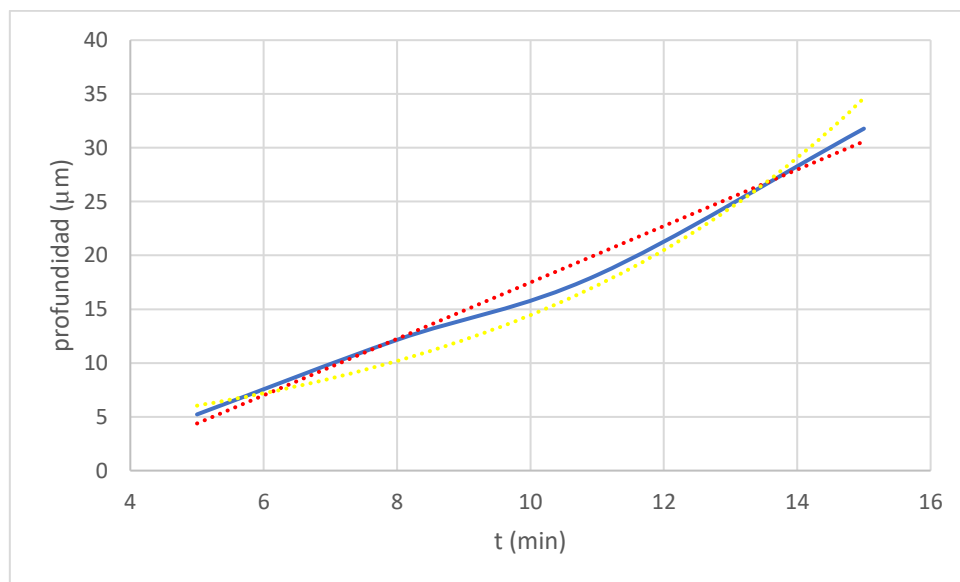
Tabla 7. Resultados obtenidos de los valores de ángulo de contacto y porosidad de las muestras de SIP obtenidas con una disolución HF:DMF (1:3).

Muestra	Ángulo de contacto ($^{\circ}$)	Porosidad (%)
F	41 \pm 5	22 \pm 2
G	42 \pm 5	18 \pm 1
H	48 \pm 6	22 \pm 2
I	51 \pm 6	18 \pm 1
J	53 \pm 6	19 \pm 1

Para corroborar que la resistividad sí influye en la morfología del silicio macroporoso, decidimos hacer una calibración de muestras manteniendo la misma oblea, electrolito y densidad de corriente. Siendo el tiempo de anodización el único parámetro a variar.

También se analizó si la velocidad de crecimiento del poro es proporcional al tiempo de anodización.

En la gráfica 1 observamos que la línea azul muestra los resultados de profundidad de los poros obtenidos en función del tiempo de reacción con una disolución de HF:DMF 1:10 y una densidad de corriente 20mA/cm². Las líneas de puntos roja y amarilla muestran la tendencia lineal y exponencial, respectivamente. Observamos que usando los mismos parámetros y tan solo dejando actuar más minutos al ácido, hay una proporcionalidad en los resultados.



Gráfica 1. Prueba de calibración para la relación entre el tiempo de anodización de las muestras y la profundidad de los poros. Anodización realizada con oblea de resistividad 10 – 20 ohmios*cm, densidad de corriente 20 mA/cm² y disolución HF:DMF (1:10).

4.1.2. Silicio nanoporoso

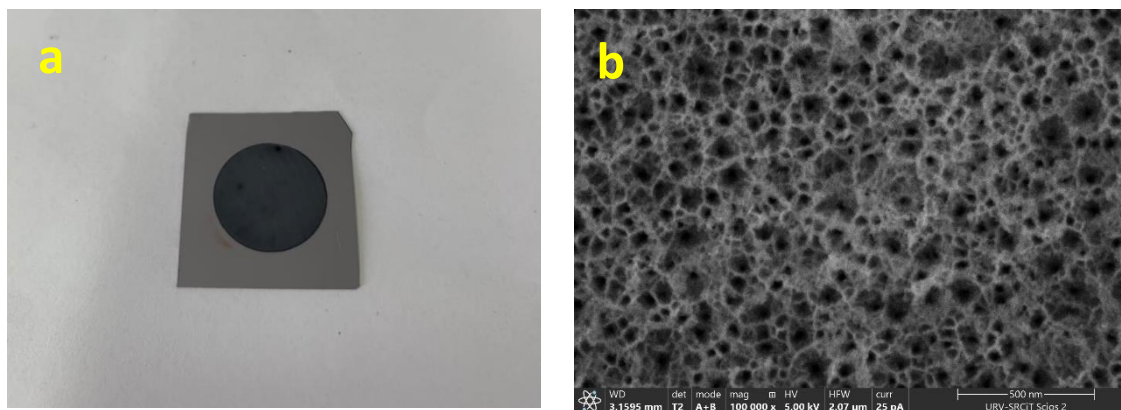
Los substratos de silicio nanoporoso fueron obtenidos electroquímicamente mediante anodización a partir de obleas de silicio de baja resistividad. Las muestras fueron fabricadas a partir de 3 resistividades diferentes.

a) Silicio nanoporoso a partir de obleas de silicio con resistividad 0.1 – 0.2 ohmios*cm

Con las obleas de silicio de resistividad de 0.1 – 0.2 ohmios*cm (Sit-Mat) hemos logrado fabricar silicio nanoporoso en una escala micrométrica. La disolución utilizada en este caso fue una mezcla de HF (48%):Etanol:Glicerol (3:7:1) con una densidad de corriente de 60 mA /cm² durante 60 segundos.

Los resultados obtenidos se indican en la figura 24, en las imágenes tomadas por el microscopio FESEM. En las imágenes (b), (c) y (d) apreciamos una superficie porosa no uniforme con cráteres más marcados y con un diámetro de poro de alrededor de los 30 ± 3 nm. En la imagen (e) observamos el corte en el que pudimos calcular una profundidad de poros de 2 ± 0.1 μm.

A través del programa ImageJ, hemos hecho los cálculos de porosidad de la superficie, siendo esta del 31 ± 4%. El valor del ángulo de contacto resultado de la muestra obtenida fue de 37 ± 5°.



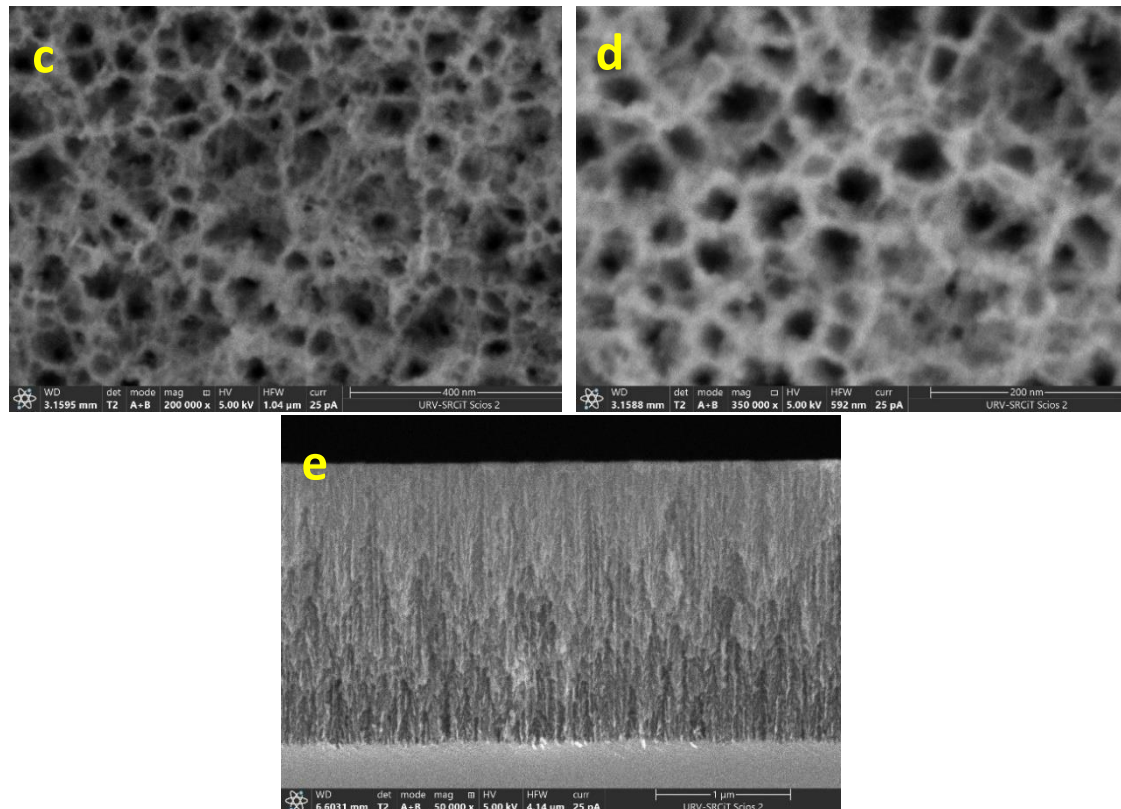


Figura 24. Imágenes de muestras realizadas con oblea de silicio de resistividad entre 0.1 y 0.2 ohmios*cm: (a) muestra de SiP a simple vista, (b) superficie ampliada en magnitud de x100.000, (c) superficie ampliada en magnitud de x200.000, (d) superficie ampliada en magnitud de x350.000, (e) corte de la muestra para visualizar la profundidad de los poros.

b) Silicio nanoporoso a partir de obleas de silicio con resistividad 0.002 – 0.004 ohmios*cm

A partir de obleas de silicio de resistividad de 0.002 – 0.004 ohmios*cm (Siltronix) obtuvimos silicio nanoporoso. La disolución utilizada fue una mezcla de HF (48%):Etanol:Glicerol (3:7:1) con una densidad de corriente de 60 mA /cm² durante 60 segundos

La figura 25 muestra las imágenes de FESEM de la superficie y el corte de las muestras obtenidas.

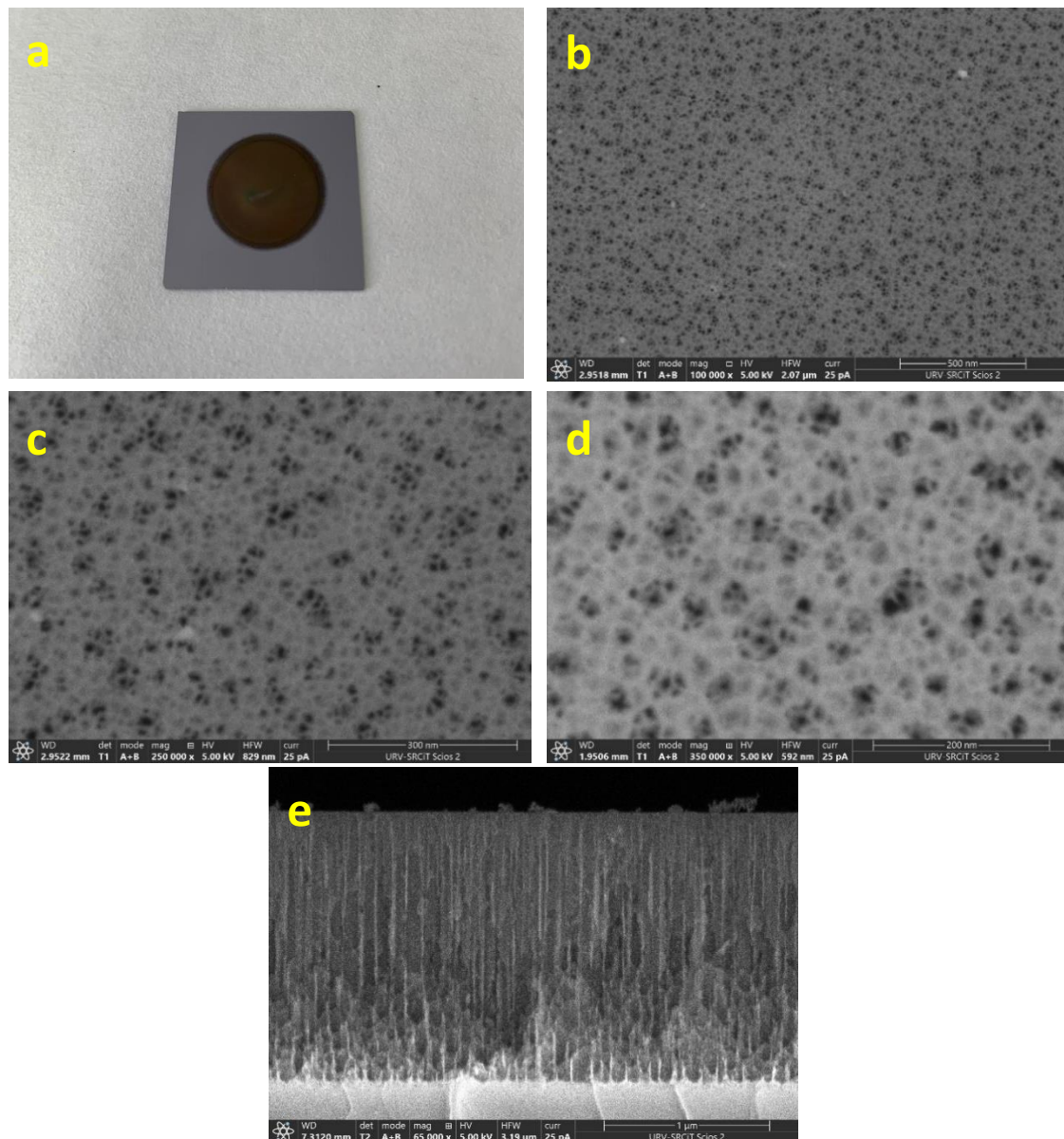


Figura 25. Imágenes de muestras realizadas con oblea de silicio de resistividad entre 0.002 y 0.004 ohmios*cm: (a) muestra de SiP a simple vista, (b) superficie ampliada en magnitud de x100.000, (c) superficie ampliada en magnitud de x250.000, (d) superficie ampliada en magnitud de x350.000, (e) corte de la muestra para visualizar la profundidad de los poros.

En esta ocasión hemos obtenido poros de un diámetro medio de 11 ± 2 nm, también situados de manera no uniforme, como vemos en las imágenes (b), (c) y (d); y una profundidad de poro de 1.6 ± 0.1 μ m.

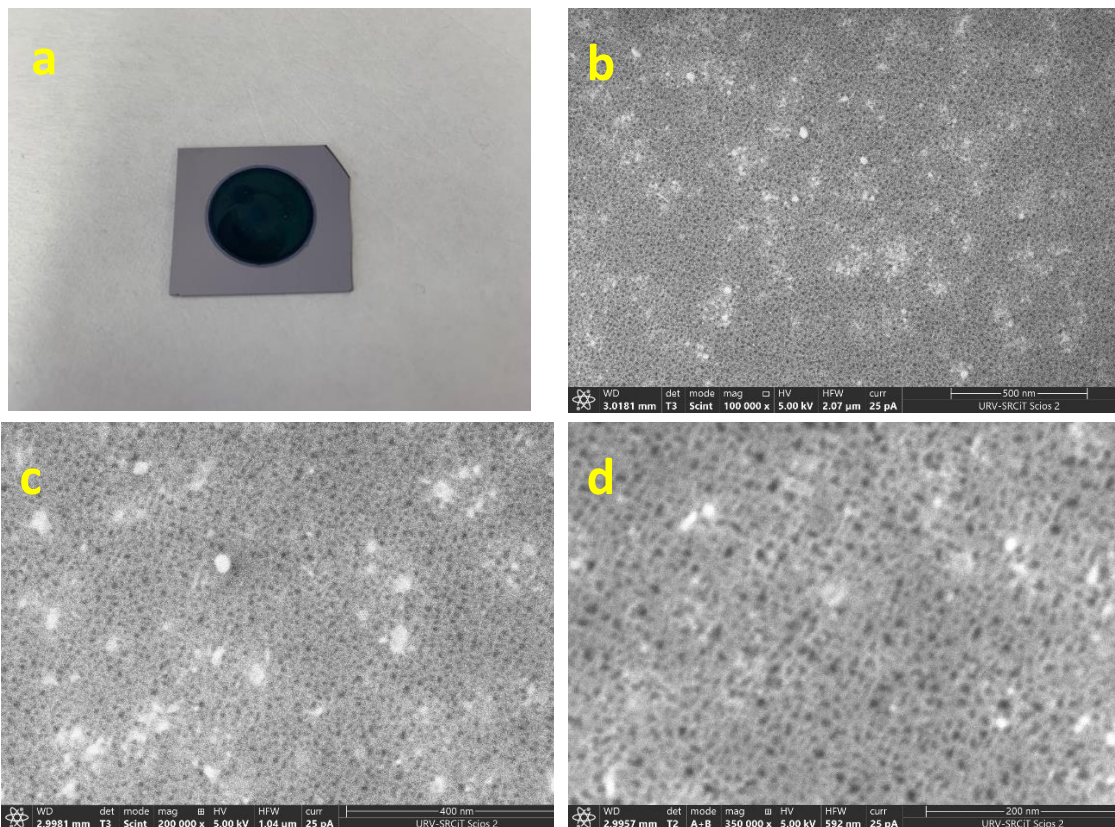
En esta ocasión la porosidad calculada ha sido del $27 \pm 3\%$ y el valor del ángulo de contacto calculado con el tensiómetro óptico ha resultado de $42 \pm 6^\circ$.

c) Silicio nanoporoso a partir de obleas de silicio con resistividad < 0.001 ohmios*cm

Siguiendo con la fabricación de silicio nanoporosos, se fabricaron muestras a partir de obleas de resistividad menor a 0.001 ohmios*cm (Siltronix). Los parámetros en esta ocasión fueron: densidad de corriente 100 mA / cm² y tiempo de anodización 120 segundos en una disolución de HF: Etanol (3:1).

La morfología de las muestras fue analizada con el FESEM (figura 26). El valor del diámetro de los poros ha sido de 7 ± 0.8 nm de media y la profundidad de estos ha resultado ser de 5.5 ± 0.2 μm.

La porosidad en este tipo de muestras ha sido del 27 ± 3 % de la superficie y el valor del ángulo de contacto $35 \pm 5^\circ$.



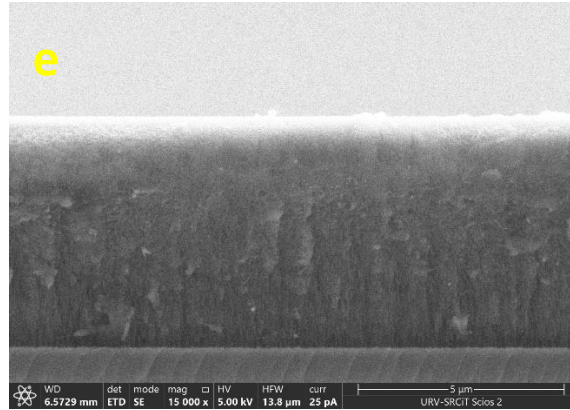


Figura 26. Imágenes de muestras realizadas con oblea de silicio de resistividad menor a 0.001 ohmios*cm: (a) muestra de SiP a simple vista, (b) superficie ampliada en magnitud de x100.000, (c) superficie ampliada en magnitud de x200.000, (d) superficie ampliada en magnitud de x350.000, (e) corte de la muestra para visualizar la profundidad de los poros.

Siguiendo con las obleas de baja resistividad, se realizaron un par de experimentos para corroborar ciertas hipótesis. Dichos resultados se indican a continuación con las figuras 27 y 28.

La figura 27 muestra dos imágenes de corte de dos muestras de silicio nanoporoso obtenidas a partir de una oblea de silicio de una resistividad menor a 0.001 ohmios*cm.

La imagen (a) es el resultado de dos anodizaciones consecutivas de 2 min con una densidad de corriente de 100 mA/cm². La imagen (b) es el corte de una muestra obtenida con una densidad de corriente de 100 mA/cm² también, pero con una sola anodización de 4 minutos.

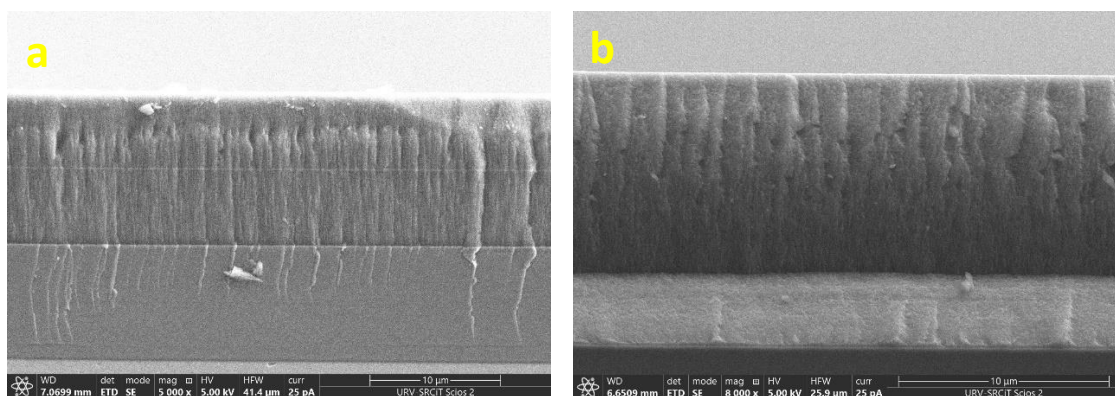


Figura 27. Fotos de corte de experimentos con oblea de silicio con resistividad menor a 0.001 ohmios*cm: (a) dos anodizaciones de 2 minutos con $J = 100 \text{ mA /cm}^2$ y (b) anodización de 4 minutos con $J = 100 \text{ mA /cm}^2$.

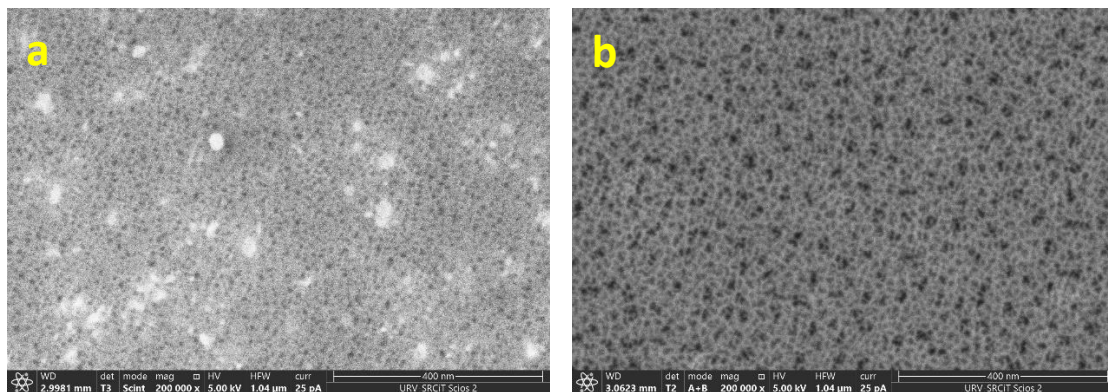
Se aprecia la misma profundidad en las dos muestras (entorno a los 11 μm), pero en la imagen (a) se observa una línea blanca horizontal en la mitad de la longitud de la parte porosa la cual es debida a cada una de las dos anodizaciones realizadas en ella. De esta forma se puede concluir que una anodización de X tiempo equivale a dos anodizaciones de la mitad de tiempo, ya que no afecta el óxido de silicio a la superficie y el proceso no se ve afectado.

La figura 28 muestra las imágenes de una muestra de silicio nanoporoso a partir de una oblea de resistividad menor a 0.001 $\text{ohmios}\cdot\text{cm}$, pero en esta ocasión se han realizado dos anodizaciones sobre la misma muestra variando los parámetros de fabricación.

La anodización del silicio con densidades de corriente bajas crea una capa en la superficie que difumina las imágenes de los poros. Esta capa en otras aplicaciones del silicio puede afectar en la resistencia total de la muestra. Se han realizado estas pruebas para apreciar cómo afecta a las características de los poros y para poderle apreciarlo en las imágenes. [18, 19]

La primera muestra tenía una primera anodización de 30 segundos y la segunda con la inicial de 45 segundos. Ambas tenían una J común de 229.5 mA/cm^2 para conseguir una anodización más potente que retirara más eficientemente el silicio de la superficie. En la imagen (b) se observa una superficie con poros más definidos en comparación a la (a), realizadas ambas con la misma oblea, que corresponde a la que ha sufrido una doble anodización.

La segunda anodización se realizó con los parámetros de 1 min y $J = 60 \text{ mA}/\text{cm}^2$ en ambas muestras. Se observa en (d) y (e) dos franjas definidas. En las franjas superiores de (d) y (e) hay una profundidad de $3 \pm 0.1 \mu\text{m}$ y $4.5 \pm 0.1 \mu\text{m}$, respectivamente, y se observa la proporción de 0.1 $\mu\text{m}/\text{s}$ mientras que la muestra de (c), realizada con los mismos parámetros que la segunda anodización, tiene una profundidad de $5.7 \pm 0.1 \mu\text{m}$, prácticamente idéntica a las franjas inferiores de (d) y (e).



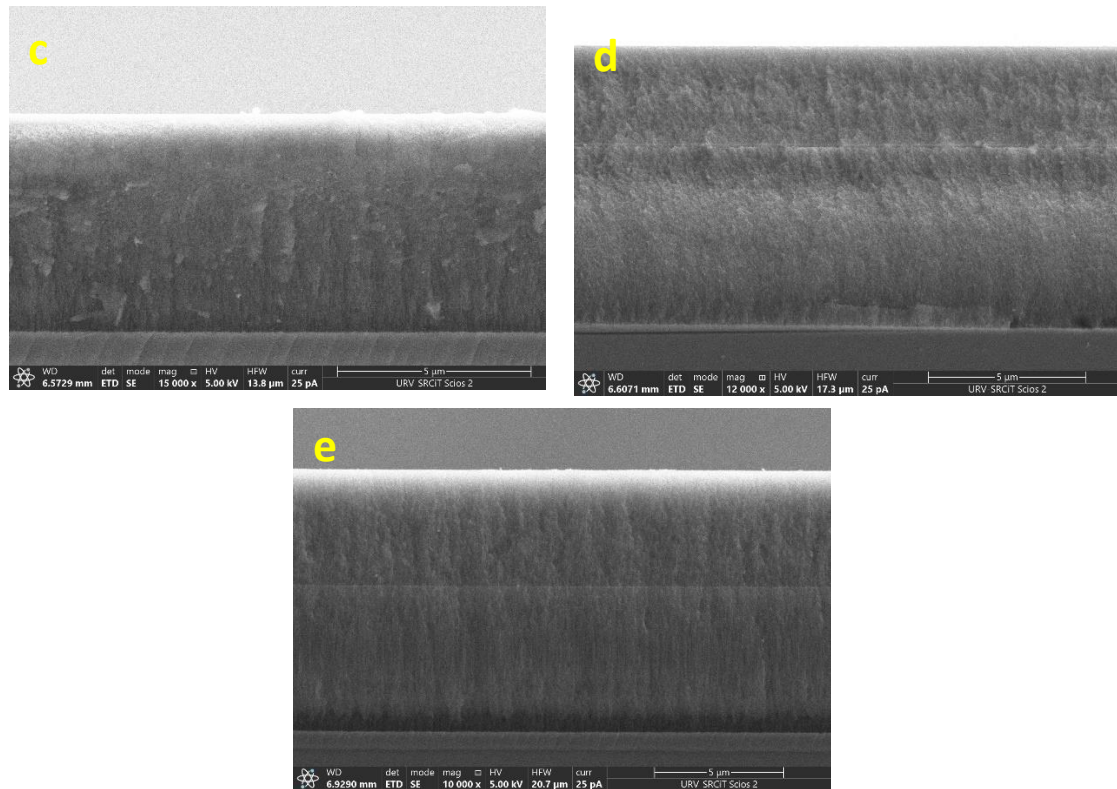


Figura 28. Imágenes de muestras realizadas con oblea de silicio de resistividad menor a 0.001 ohmios*cm: (a) superficie ampliada x200.000 de muestra con anodización simple, (b) superficie ampliada x200.000 de muestra con anodización doble, (c) corte de la muestra con anodización simple, (d) corte de la muestra con anodización doble de 30 segundos, (e) corte de la muestra con anodización doble de 45 segundos

Con este experimento se aprecia que la anodización con mayor corriente forma poros más definidos, pero no afecta a la profundidad de estos. Este resultado presenta unas mejores características para la fabricación.

4.2. Funcionalización

Las muestras de SiNanoP fueron funcionalizadas con APTES, Glutaraldehído (GTA) y colágeno y posteriormente analizadas mediante las diferentes técnicas de caracterización explicadas en el punto 4.2.

El primer paso para modificar la superficie fue oxidar las muestras para la correcta posterior adición de sustancias. En la figura 29 se aprecia el cambio de color de las muestras después de la oxidación en el horno.

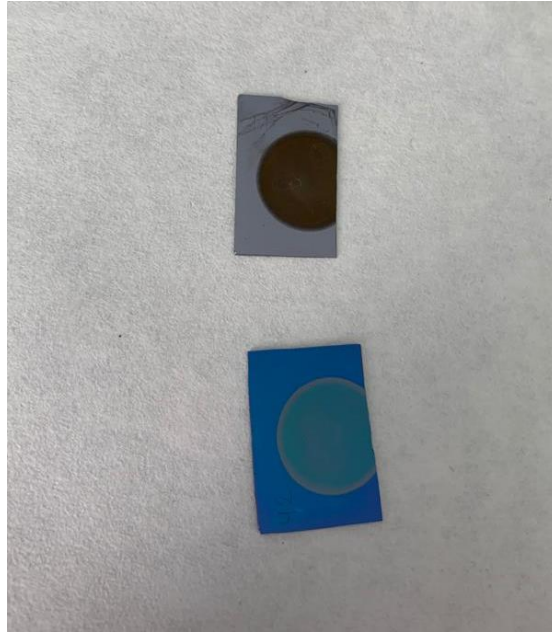
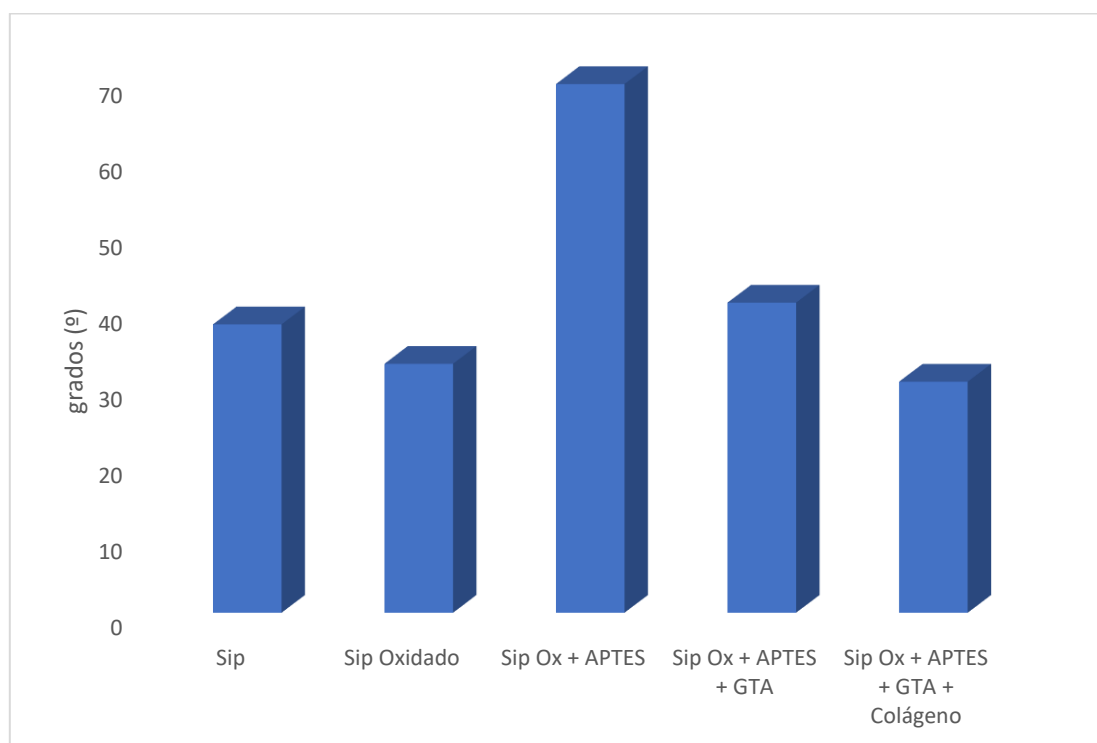


Figura 29. Muestra no oxidada (gris) y oxidada (azul) de silicio nanoporoso

4.2.1. Ángulo de contacto

La gráfica 2 muestra los valores del ángulo de contacto obtenidos después de cada paso de la funcionalización. Observamos que después de la oxidación, el valor del ángulo de contacto disminuye, lo que hace que la muestra sea más hidrofílica. Al añadir el APTES cambia cualitativamente y la superficie adopta un comportamiento más hidrofóbico. Tal y como está descrito en trabajos anteriores [20], la adición de GTA y posterior adición de la proteína, afecta al ángulo de contacto disminuyendo notablemente su valor.

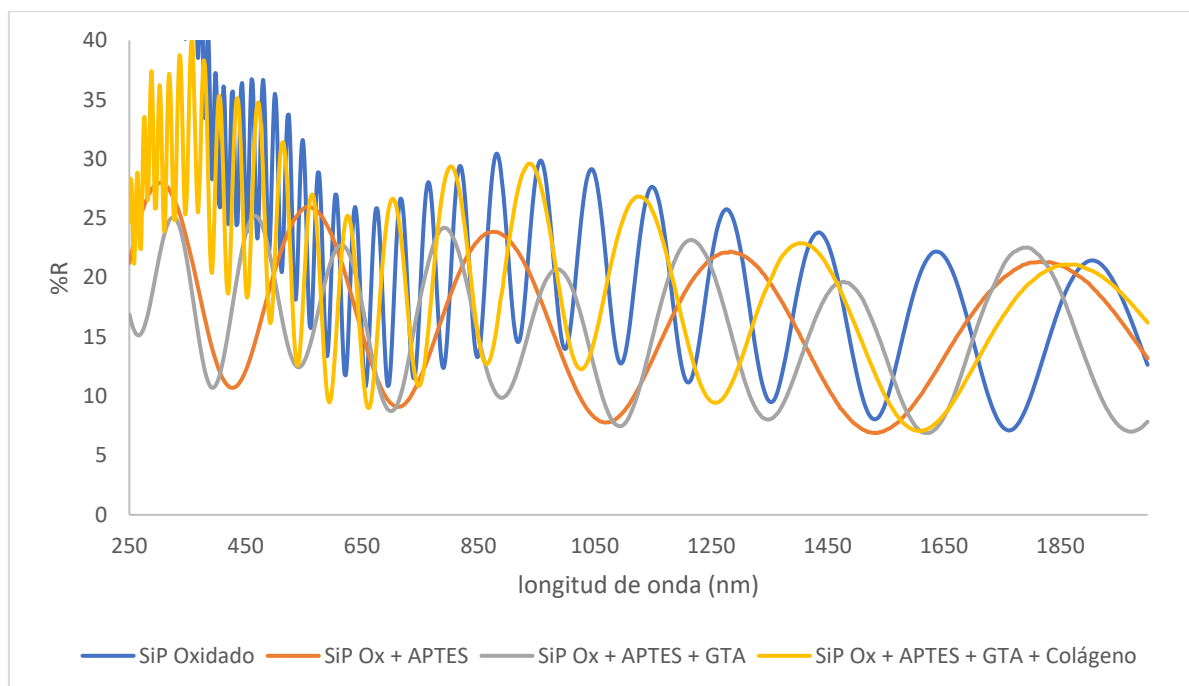


Gráfica 2. Diagrama de barras de los ángulos de contacto obtenidos en cada uno de los pasos de la funcionalización.

4.2.2. Espectro ultravioleta

Las muestras funcionalizadas han sido caracterizadas con el espectrofotómetro de ultravioleta visible de la marca Perkin Elmer para medir que longitudes de onda reflejaba la muestra de SiNanoP y obtener su espectro en función de la reflectividad.

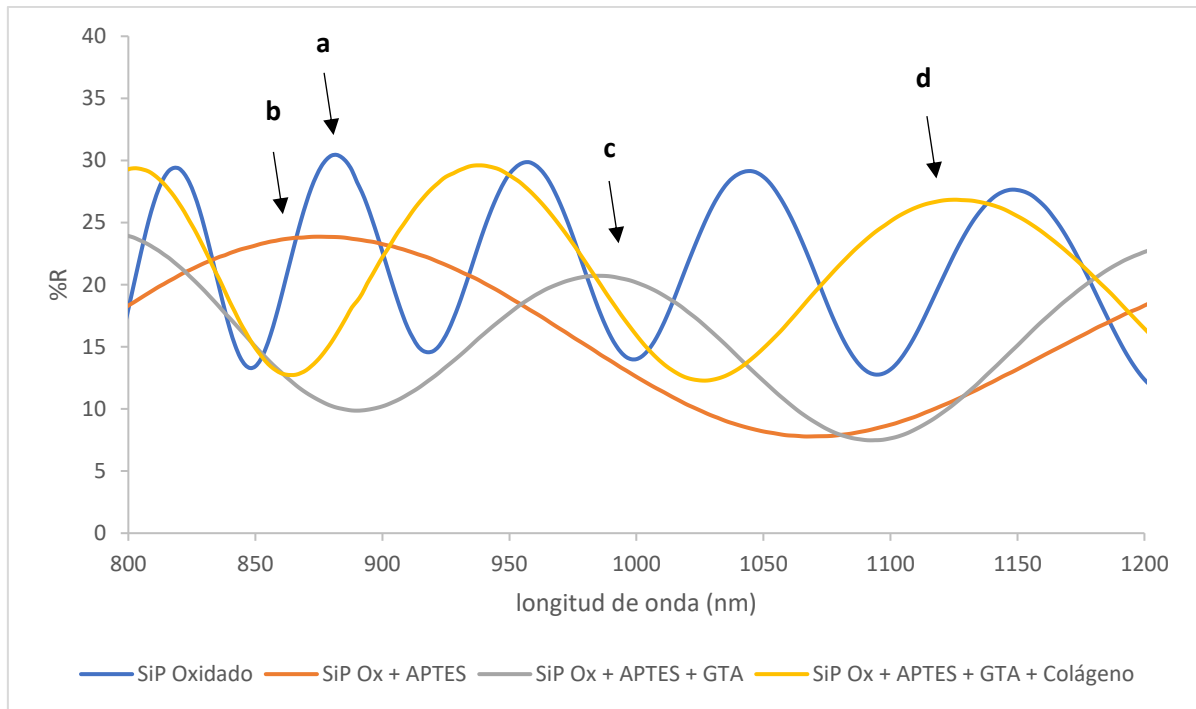
En la gráfica 3 se observa el espectro completo, desde los 250 hasta los 2000 nm, de las muestras en los 4 pasos de la funcionalización y podemos analizar los efectos del anclaje de las sustancias a la superficie.



Gráfica 3. Espectro ultravioleta completo para las muestras de SiNanoP funcionalizadas.

En la gráfica 4 nos centramos en cuatro puntos marcado con flechas y nombrados con las cuatro letras a, b, c y d. Como hemos visto en la gráfica 2 de los valores del ángulo de contacto, aumenta con la adición del APTES y va disminuyendo en los siguientes pasos. Este hecho se refleja también en el comportamiento de la muestra en el espectro ultravioleta.

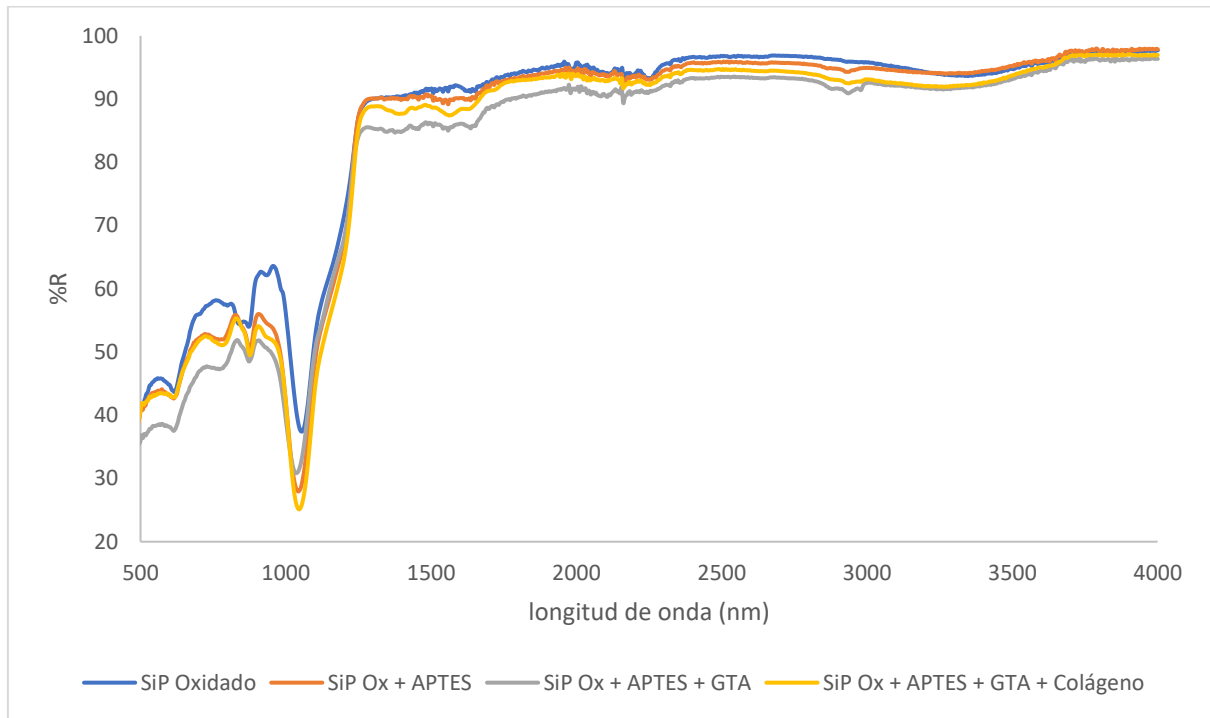
El punto (a) corresponde a la muestra oxidada y observamos que el punto (b) está ubicado en un valor menor de longitud de onda, 884 y 874 nm respectivamente, esto se debe a que al aplicar el APTES en la superficie, la hidrofobicidad de la muestra aumenta. Los siguientes puntos se sitúan hacia la derecha, con unas longitudes de onda mayores, 990 nm en (c) y 1130 nm en (d), debido a que a medida que avanza la funcionalización de la superficie y se añaden más sustancias el valor del ángulo de contacto disminuye para un mejor anclaje de la proteína. [21, 22]



Gráfica 4. Espectro UV-Visible-NIR para analizar el desplazamiento de las ondas en cada paso de la funcionalización

4.2.3. Espectro infrarrojo

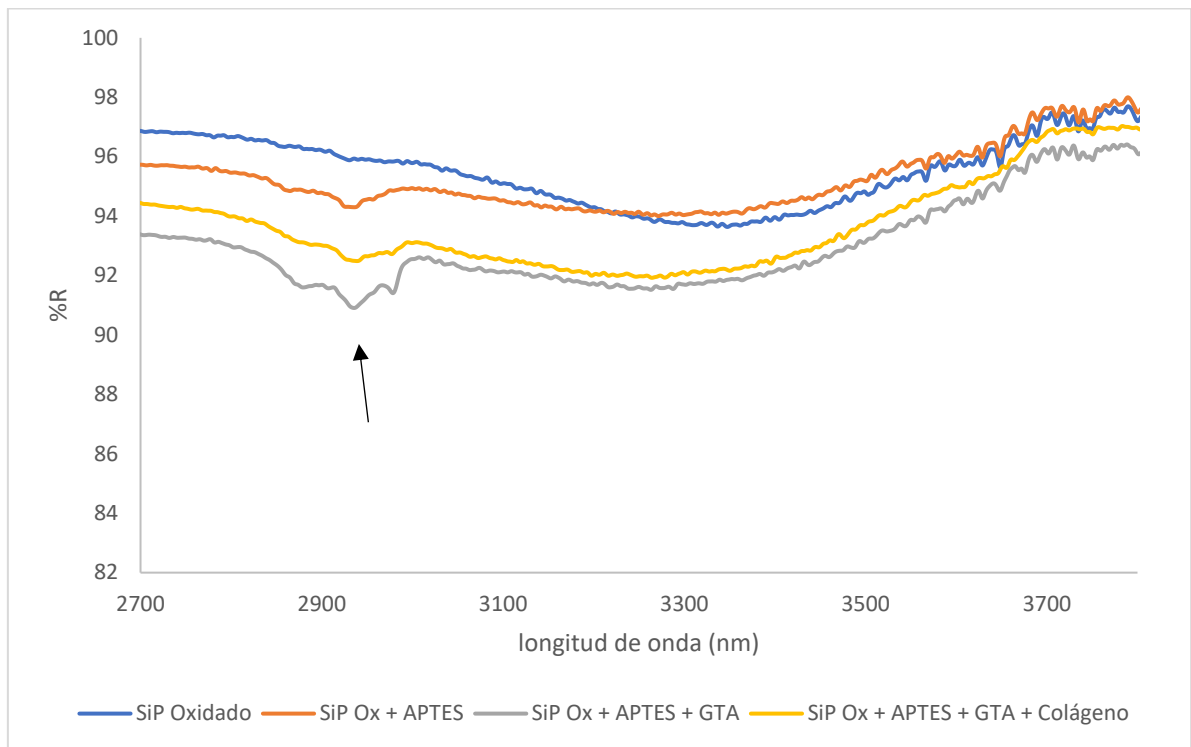
En este punto vamos a visualizar los resultados del espectro de infrarrojo obtenidos en el FT/IR-6700 de la marca Jasco que se encuentra en las instalaciones del CEICS de la URV. Las gráficas son en función del porcentaje de reflexión (%R) y la longitud de onda, en nanómetros (nm).



Gráfica 5. Espectro infrarrojo completo del análisis de las muestras tras cada paso de la funcionalización

En la gráfica 5 observamos el espectro IR de las muestras de SiP en cada una de las fases del proceso de funcionalización. Podemos reconocer comportamientos diferentes en cada una de las líneas dependiendo del paso ejecutado y esto, nos ayuda a confirmar si la superficie ha sido correctamente modificada y es posible avanzar al siguiente.

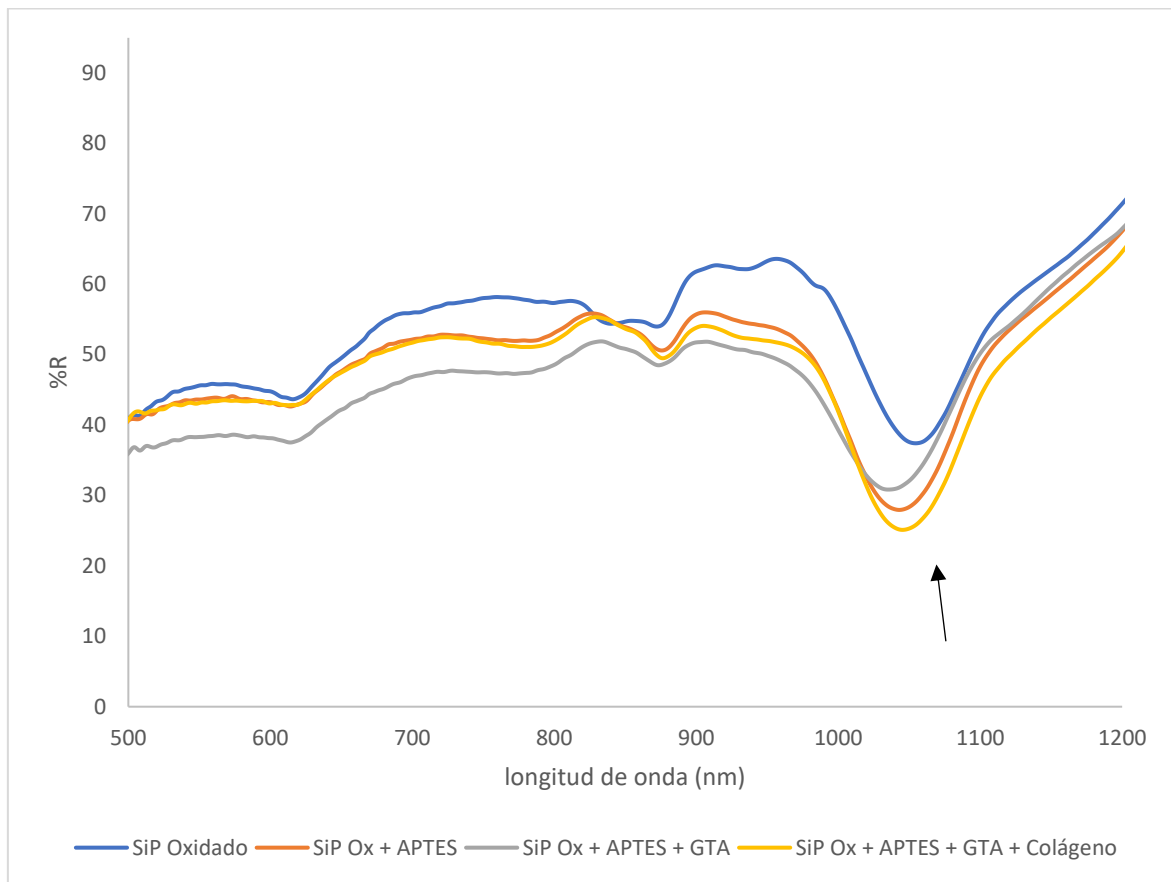
A continuación, vamos a ver en detalle las oscilaciones que aparecen en el espectro.



Gráfica 6. Sección del espectro IR para analizar curva de hidroxiles y APTES

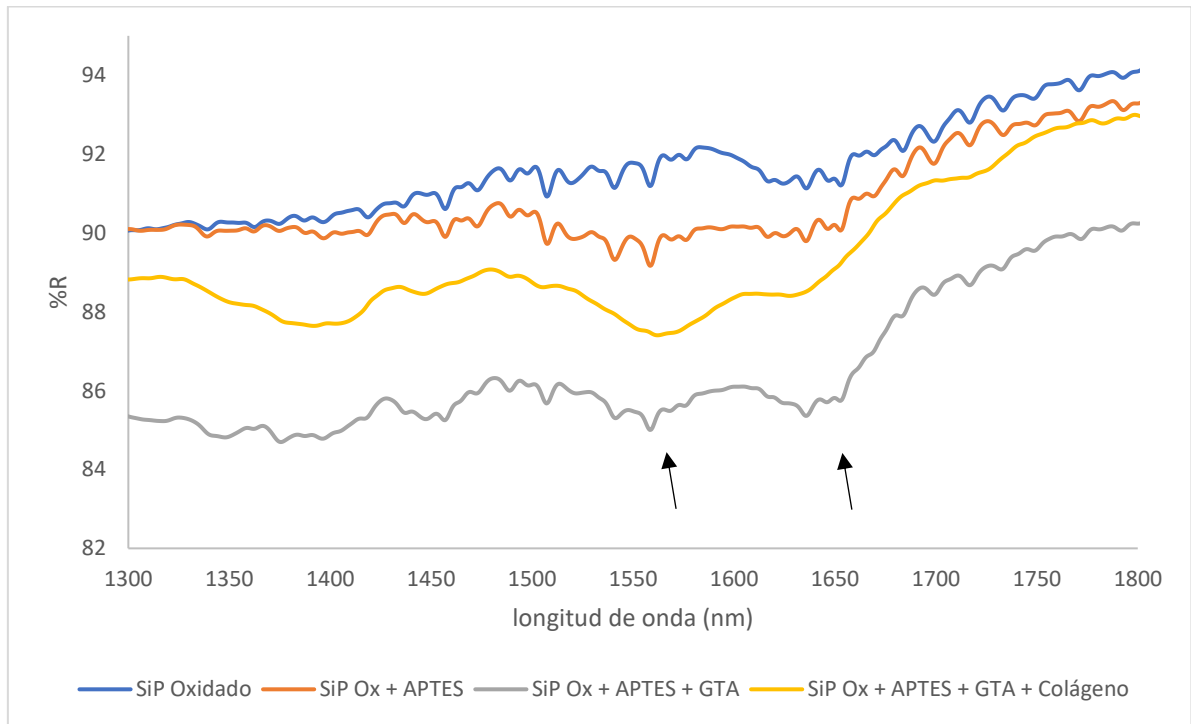
En la gráfica 6 podemos apreciar entre las longitudes de onda de 3100 y 3500 nm que aparece una curva causada por los grupos -OH (hidroxiles) que aparecen tras el proceso de oxidación de la muestra.

También se observan alrededor de los 3000 nm que aparece un ligero pico, marcado con una flecha, en la línea roja que simboliza la correcta silanización de la muestra. Este pico es más notorio en el siguiente paso representado por la línea gris, la adición del GTA.



Gráfica 7. Sección del espectro IR para visualizar en detalle los picos característicos de APTES

Observamos desplazamiento de la banda característica después de la adición en cada paso. Indicado con la flecha el desplazamiento, la línea azul perteneciente al SiP oxidado tiene el pico de la curva en los 1050 nm, mientras que, en todos los siguientes pasos de la funcionalización, el pico se ha movido a los 1040 nm.



Gráfica 8. Sección del espectro IR para analizar los picos que genera el GTA

En la gráfica 8 es posible reconocer entre los 1450 y los 1650 nm varios picos característicos del GTA indicados con flechas. Estos picos representan los picos de los grupos carboxílicos de la superficie, C=O. También se observa como al anclarse la proteína, el espectro se suaviza. [23, 24, 25]

5. Conclusión

Este trabajo de fin de grado ha servido para aprender las propiedades y las características de los materiales porosos, concretamente del silicio. Se ha estudiado la fabricación de sustratos para su posterior uso en una gran variedad de aplicaciones.

Hemos aprendido alguno de los procesos de fabricación de silicio poroso en tamaño macrométrico y nanométrico, y como afectan los parámetros de anodización a la anodización para obtener diferentes geometrías y características dependiendo de la aplicación final del sustrato.

Para el silicio macroporoso (SiMacroP) hemos utilizado una oblea de resistividad entre 10 – 20 ohmios*cm y dos electrolitos diferentes compuestos por HF:DMF en concentraciones 1:10 y 1:3. Hemos variado densidades de corriente y tiempo para observar los diferentes efectos de la anodización y hemos analizado los resultados mediante equipos de microscopia.

Para la fabricación de silicio nanoporoso (SiNanoP) se han utilizado tres obleas diferentes con resistividades de entre 0.1 – 0.2, 0.002 – 0.004 y otra con una resistividad siempre menor a 0.001 ohmios*cm. Los electrolitos utilizados estaban compuestos por HF y etanol, y en algunos fue utilizado también glicerol. También se han realizado muestras con dos anodizaciones para observar su comportamiento y como hace variar esto la geometría de los poros.

Diferentes técnicas de caracterización se han utilizado para poder visualizar, debido a su pequeña escala, las muestras. Los microscopios ESEM y FESEM, fueron empleados para visualizar la superficie y la profundidad de los poros del silicio macro- y nanoporoso, respectivamente.

Tras la fabricación, la superficie de cada una de las muestras ha sido tratada químicamente para lograr un anclaje de la proteína colágeno. Los pasos a seguir fueron: oxidación, silanización con APTES y adición de GTA, añadiendo de esta manera grupos funcionales a las muestras para completar la funcionalización.

Para el cálculo de la hidrofobicidad de las superficies fue requerido el uso de un tensiómetro óptico para calcular el ángulo de contacto de las muestras, desde la fabricación hasta el anclaje de la proteína en la funcionalización. Para completar el análisis de las muestras se estudió como afectaban los grupos funcionales adheridos durante la funcionalización a la espectrofotometría de ultravioleta y de infrarrojo.

Con la preparación de las muestras con el colágeno y con la confirmación del correcto anclaje de este compuesto a la superficie, la continuación del estudio sería usar los sustratos de silicio poroso fabricados para el crecimiento y la proliferación de diferentes tipos de células para crear biomateriales y tejidos. También existen diferentes proteínas estructurales que podrían utilizarse en lugar del colágeno para ver su comportamiento y eficiencia.

6. Bibliografía

- [1] Hiran Mayookh Lal, Arya Uthaman, and Sabu Thomas, “Fundamentals of Porous Materials”, *Advanced Functional Porous Materials 2022*, pp. 1 – 15, DOI: 10.1007/978-3-030-85397-6_1
- [2] K. Ishizaki, S. Komarneni, y M. Nanko, “Porous Materials: Process technology and applications”, Springer Science & Business Media, 2013.
- [3] Mark E. Davis, “Ordered porous materials for emerging applications”, *NATURE*, Vol. 417, 2002, doi:10.1038/nature00785
- [4] Udeni Gunathilake T.M. Sampath, Yern Chee Ching, Cheng Hock Chuah, Johari J. Sabariah and Pai-Chen Lin, “Fabrication of Porous Materials from Natural/Synthetic Biopolymers and Their Composites”, *Materials* 2016, 9, 991; doi:10.3390/ma9120991
- [5] Anna G. Slater and Andrew I. Cooper, “Function-led design of new porous materials”, *Science* 348, (2015), DOI: 10.1126/science.aaa8075
- [6] Thomas D. Bennett, François-Xavier Coudert, Stuart L. James and Andrew I. Cooper, “The changing state of porous materials”, *Nature Materials*, 2021, doi: 10.1038/s41563-021-00957
- [7] Mossamat Jesmin Sultana, Fazle Rabbi Shakil Ahmed, “Porous Biomaterials: Classification, Fabrication and Its Applications in Advanced Medical Science”, *American Journal of Nanoscience*. Vol. 4, No. 2, 2018, pp. 16-20, doi: 10.11648/j.aj.n.20180402.11
- [8] Jakub T. Domagalski, Elisabet Xifre-Perez and Lluís F. Marsal, “Recent Advances in Nanoporous Anodic Alumina: Principles, Engineering, and Applications”, *MDPI, Nanomaterials* 2021, 11, 430, doi: 10.3390/nano1102430
- [9] Chirayath A. Betty, “Porous Silicon: A Resourceful Material for Nanotechnology”, *Recent Patents on Nanotechnology* 2008, 2, 128-136
- [10] Degree Thesis by Pere Oller Matas, “Nanosensors for therapeutic drug monitoring”, *URV*, 2021
- [11] Pilar Formentín, Úrsula Catalán, María Alba, Sara Fernández-Castillejo, Rosa Solà, Josep Pallarès, Lluís F. Marsal, “Effects of SiO₂ micropillar arrays on endothelial cells’ morphology”, *EISEVIER, New Biotechnology* 33 (2016) 781 – 789
- [12] Pilar Formentín¹, María Alba, Úrsula Catalán, Sara Fernández-Castillejo, Josep Pallarès, Rosa Solà and Lluís F Marsal, “Effects of macro- versus nanoporous silicon substrates on human aortic endothelial cell behavior”, *Nanoscale Research Letters* 2014, 9:421, doi:10.1186/1556-276X-9-421
- [13] P. Formentín, Ú. Catalán, L. Pol, S. Fernández-Castillejo, R. Solà and L. F. Marsal, “Collagen and fibronectin surface modification of nanoporous anodic alumina and macroporous silicon for endothelial cell cultures”, *Journal of Biological Engineering* (2018) 12:21, doi: 10.1186/s13036-018-0111
- [14] Doctoral Thesis by Raquel Palacios Higuera, “Fabrication and Characterization of Polymer Micro- and Nanostructures by Template-based Method”, *URV*, 2010

- [15] Sara Fernández-Castillejo, Pilar Formentín, Úrsula Catalán, Josep Pallarès, Lluís F. Marsal and Rosa Solà, “Silicon microgrooves for contact guidance of human aortic endothelial cells”, *Beilstein J. Nanotechnol*, 2017, 8, 675–681, doi:10.3762/bjnano.8.72
- [16] Naga Siva Kumar Gunda, Minashree Singh, Lana Norman, Kamalijt Kaur, Sushanta K Mitra, “Optimization and characterization of biomolecule immobilization on silicon substrates using (3-aminopropyl)triethoxysilane (APTES) and glutaraldehyde linker”, *ELSEVIER, Applied Surface Science* 305 (2014) 522 – 530, doi: 10.1016/j.apsusc.2014.03.130
- [17] Pilar Formentín, Úrsula Catalán, Sara Fernández-Castillejo, Maria Alba, Malgorzata Baranowska, Rosa Solà, Josep Pallarès and Lluís F Marsal, “Human aortic endothelial cell morphology influenced by topography of porous silicon substrates”, *Journal of Biomaterials Applications*, 2015, Vol. 30(4) 398–408
- [18] Dennis R. Turner, “Electropolishing Silicon in Hydrofluoric Acid Solutions”, *Journal of the Electrochemical Society*, 1958, Vol. 105, No. 7
- [19] X. G. Zhang, S. D. Collins, and R. L. Smith, “Porous Silicon Formation and Electropolishing of Silicon by Anodic Polarization in HF Solution”, *J. Electrochem. Soc.*, Vol. 136, No. 5, 1989
- [20] Karyn L Jarvis, Timothy J Barnes, Clive A Prestidge, “Surface chemistry of porous silicon and implications for drug encapsulation and delivery applications”, *ELSEVIER, Advances in Colloid and Interface Science* 175 (2012) 25 – 38, doi: 10.1016/j.cis.2012.03.006
- [21] M. Hiraoui, M. Guendouz, N. Lorrain, A. Moadhen, L. Haji, M. Oueslati, “Spectroscopy studies of functionalized oxidized porous silicon Surface for biosensing applications”, *ELSEVIER, Materials Chemistry and Physics* 128 (2011) 151 – 156, doi: 10.1016/j.matchemphys.2011.02.052
- [22] Nelson Naveas, Jacobo Hernandez-Montelongo, Ruth Pulido, Vicente Torres-Costa, Raúl Villanueva-Guerrero, Josefa Predestinación García Ruiz, Miguel Manso-Silván, “Fabrication and characterization of a chemically oxidized-nanostructured porous silicon based biosensor implementing orienting protein A”, *ELSEVIER, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 115 (2014) 310 – 316, doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.11.026
- [23] N. Majoul, S. Aouida, B. Bessaïs, “Progresso of porous silicon APTES-functionalization by FTIR investigations”, *ELSEVIER, Applied Surface Science* 331 (2015) 388 – 391, doi: 10.1016/j.apsusc.2015.01.107
- [24] Doctoral Thesis by Marina Bujaldón Velasco, “Novel carbonized mesoporous silicon biosensor for electrochemical pathogen detection”, URV, 2021
- [25] Pinkie Jacob Eravuchira, Malgorzata Baranowska, Chris Eckstein, Francesc Díaz, Eduard Llobet, Lluís F Marsal, Josep Ferré-Borrull, “Immunosensing by luminiscence reduction in Surface-modified microstructured SU-8”, *ELSEVIER, Applied Surface Science* 392 (2017) 883 – 888, doi: 10.1016/j.apsusc.2016.09.111