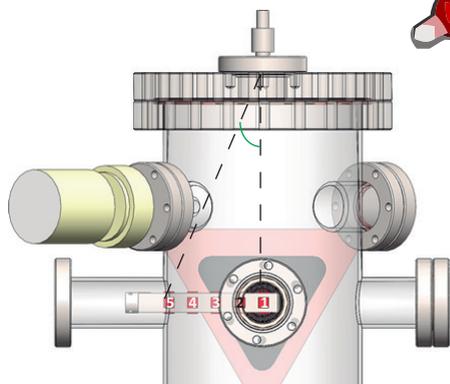


Líquidos en vacío

ALI (Atomic Layer Injection)

Jesús Manuel Sobrado Vallecillo



MINISTERIO DE DEFENSA



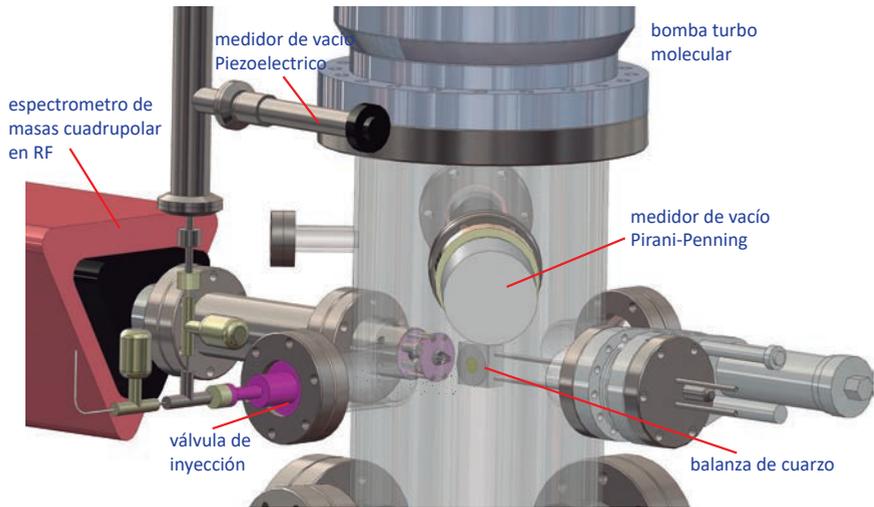
Jesús Manuel Sobrado Vallecillo es doctor en Ciencias Físicas por la Universidad Autónoma de Madrid. Inicia su carrera profesional en el año 2000 en INDRA Sistemas SA. En el 2003 entra en el Centro de Astrobiología (CAB), centro de investigación mixto que depende del INTA (Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial) y del CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas). Pertenecer a la escala de Científicos Superiores de la Defensa. Desde el 2009 y hasta el 2015 es el coordinador del laboratorio de simulación de ambientes planetarios y microscopía.

Su área de especialización profesional se enmarca dentro de la ciencia y tecnología del vacío, la simulación espacial y la instrumentación. Los proyectos en los que participa son de gran desarrollo tecnológico asociado a objetivos científicos relevantes. Es el diseñador principal de la cámara de simulación marciana conocida como MARTE que constituye el simulador más completo actualmente para emular la atmósfera del planeta rojo. Con esta cámara se han probado algunos de los modelos de ingeniería de la estación meteorológica REMS (Rover Environmental Monitoring Station) de la misión MSL (Mars Science Laboratory) de la NASA (National Aeronautics Space Administration) a bordo del rover «Curiosity». La cámara MARTE continúa siendo un referente tecnológico como sistema de pruebas en los proyectos de instrumentación que se desarrollan en el CAB como MEDA (Mars Environmental Dynamics Analyzer) o SOLID (Signs Of Live Detector).

Actualmente forma parte del equipo de diseño y desarrollo del sistema de vacío «StarDust» dentro del proyecto NANOCOSMOS (Gas and dust from the Stars to the Laboratory: Exploring the Nanocosmos; ERC Synergy-Grant), que permitirá estudiar en el laboratorio la formación de polvo estelar, simulando la evolución de una gigante roja.

Su compromiso de desarrollo tecnológico tiene un componente transdisciplinar con el resto de áreas científicas del CAB, especialmente en el área de evolución molecular. Del fruto de este trabajo se diseñó un sistema de inyección de líquidos en vacío, permitiendo la coexistencia de estos dos mundos aparentemente opuestos. El resultado es un acuerdo de cesión de tecnología entre el CSIC, el INTA y la empresa Bihurcrystal SL, con el objetivo de desarrollar un producto comercial para la implantación de esta tecnología en laboratorios y empresas de biotecnología.

Continúa su investigación con un marcado enfoque tecnológico en la recreación de entornos extremos asociados al estudio de habitabilidad en distintos objetos planetarios de interés astrobiológico, como son los casquetes polares de Marte y la posible coexistencia de agua líquida en vacío que favorezca la emergencia de la vida en este planeta. (currículum en la URL: www.txus.es).



Líquidos en vacío

ALI (Atomic Layer Injection)

Jesús Manuel Sobrado Vallecillo

Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial «Esteban Terradas»

CATÁLOGO GENERAL DE PUBLICACIONES OFICIALES
<https://publicacionesoficiales.boe.es>



Los derechos de esta obra están amparados por la Ley de Propiedad Intelectual. No podrá ser reproducida por medio alguno, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático, sin permiso previo de los titulares del © Copyright.

© Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial «Esteban Terradas» (INTA)

Edita:



NIPO:

Impreso: 078-17-001-2

En línea: 078-17-002-8

ISBN: 978-84-938932-7-9

Depósito Legal: M-13549-2017

Diseño y Arte: Vicente Aparisi - Din Impresores

Tirada: 50 ejemplares

Fecha de edición: mayo 2017



No nos atrevemos a muchas cosas porque son difíciles,
pero son difíciles porque no nos atrevemos a hacerlas

Lucio Anneo Séneca

*good engineering takes time, passion, creativity and requires a rich,
fertile, inspiring and interlaced environment*

El diseño en ingeniería es el uso de principios científicos, información técnica e imaginación en la definición de una estructura mecánica, máquina o sistema que ejecute funciones específicas con el máximo de economía y eficiencia.

Rafael Cañadas Martínez

*A Marta,
Jesús y Carla*

Índice

Prólogo	11
Presentación y agradecimientos	13
Capítulo 1. Resumen	15
1.1 Hipótesis y organización del libro	16
Capítulo 2. Introducción	19
2.1 Inyección de capas atómicas y moleculares	19
2.2 El Laboratorio de Simulación de Ambientes Planetarios (LSAP)	21
Capítulo 3. Vacío, instrumentación y técnicas experimentales	27
3.1 Introducción al vacío	27
3.2 Instrumentación	31
3.2.1 Válvula de inyección	31
3.2.2 Espectrómetro de masas cuadrupolar en radio frecuencia	33
3.2.3 Portamuestras.....	35
3.2.4 Medidores de vacío	39
3.2.5 Bombas de vacío	42
3.2.6 Microbalanza de cuarzo	47
3.3 Técnicas experimentales	49
3.3.1 Espectroscopia de Rayos X (XPS)	49
3.3.2 Microscopia de efecto túnel (STM)	52
3.3.3. Desorción programada en temperatura (TPD)	53
3.3.4. Microscopia electrónica de barrido (SEM)	56

Capítulo 4. Sistemas experimentales.....	59
4.1 IE3C	59
4.1.1 Determinación de la velocidad de bombeo.....	64
4.1.2 Horneo de la cámara IE3C	67
4.2 SMS	69
4.2.1 Cámara INTRO.....	72
Capítulo 5. Inyección de disoluciones líquidas. Biomoléculas	81
5.1 Inyección de líquidos desde un entorno de UHV	81
5.1.1 Descripción del sistema experimental	82
5.1.2 Proceso típico de inyección en vacío.....	85
5.1.3 ¿Gota o espray?	93
5.2 Evaporación de disolución salina en UHV	120
5.2.1 Estructura de la sal	122
5.2.2 Evaporación de la sal	122
5.3 Deposición de ATP sobre superficies metálicas en UHV	124
5.3.1 Protocolo experimental	125
5.3.2 El sustrato: preparación de la superficie	128
5.3.3 El ATP	130
5.3.4 Deposición de ATP sobre cobre (110)	131
5.4 Conclusiones	146
Capítulo 6. Futuro de ALI	149
Capítulo 7. Anexos	151
7.1. Instrumentación virtual con LabView®	151
7.1.1. Instrumentación en IE3C y SMS.....	151
7.2. Diseño CAD en 3D	152
7.3. ALI-1000 por Bihurcrystal SL.....	155
7.4. Tabla de Acrónimos	158
Capítulo 8. Bibliografía	161

Prólogo

El agua, una simple combinación de dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno, es ciertamente la molécula de la vida pues es el medio donde suceden la mayor parte de las reacciones químicas y biológicas. En un entorno líquido, se separan las sales en sus constituyentes, un anticuerpo reconoce a una proteína, o un ácido nucleico se acopla a su complementario. Además, su importancia no se limita al mundo nanométrico; todos sabemos que los océanos regulan el clima de la Tierra y que nuestro bienestar depende de la lluvia.

Por otra parte, durante la última década se han desarrollado una gran variedad de técnicas experimentales para caracterizar, con elevada precisión, procesos en la nanoescala. La mayor parte de ellas funcionan dentro de equipos de vacío. La tecnología de vacío ha llegado a su madurez ofreciendo al tecnólogo o investigador nuevos tipos de bombas que presentan una elevada capacidad para generar vacío y cuya utilización es sencilla.

El problema aparece cuando se quieren combinar líquidos y vacío, ya que son dos conceptos incompatibles por naturaleza. Los líquidos se caracterizan por una elevada presión de vapor, es decir presentan una gran tendencia a que las partículas que lo forman se volatilicen. Por otra parte, al hacer vacío, con el sistema de bombeo se elimina ese vapor generado por el líquido. Al introducir, por tanto, un líquido en vacío, las bombas, trabajando al límite de sus capacidades, succionan las moléculas del líquido hasta que éste desaparece completamente.

Si se puede identificar con una palabra la ciencia para el siglo XXI esa es la interdisciplinaridad. Solo cuando varias disciplinas científicas convergen se producen avances sustanciales en el conocimiento, que pueden dar lugar a la emergencia de una nueva tecnología. El objeto de esta obra, extraída de la tesis doctoral del Dr. Sobrado, es precisamente ese: presentar un instrumento capaz de acercar estos dos mundos tan dispares al permitir introducir en vacío sustancias disueltas en líquidos para su estudio por avanzadas técnicas de superficies.

A primera vista puede parecer imposible, pero existe un truco: formar pequeñísimas gotas de líquido (que contienen disuelta la sustancia que vamos a estudiar). Estas gotas lograrán viajar dentro del sistema de vacío durante un cierto periodo de tiempo antes de desvanecerse. Durante ese tiempo podremos caracterizarlas y, además, cuando se evaporen dejarán dentro del sistema el material que transportaban en disolución.

Esta obra presenta un desarrollo de ingeniería de vacío (construcción, diseño, fabricación y pruebas) que permite introducir moléculas, «encapsuladas» por un disolvente, dentro de un equipo de vacío para su posterior estudio. Así, el trabajo que tienes entre tus manos es el fruto de una idea simple aplicada a uno de los problemas más antiguos de la ingeniería de vacío y muestra, por tanto, un camino nuevo para explorar nuevas ideas que puedan surgir en biología o química.

José Ángel Martín Gago

Profesor de investigación en el Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid,
ICMM-CSIC grupo ESISNA (www.icmm.csic.es/esisna)

Presidente de la asociación española de vacío y sus aplicaciones (ASEVA: www.aseva.es)

Presentación y Agradecimientos

Estimado lector, el libro que tienes entre manos es el resultado de dos años de trabajo realizado en el Laboratorio de Simulación de Ambientes Planetarios y Microscopia del Centro de Astrobiología (CAB), que es un centro de investigación mixto entre el CSIC y el INTA. En este libro presento la mitad de mi tesis doctoral «*Diseño e implementación de instrumentación científica basada en tecnología de vacío*». La otra mitad de la tesis doctoral está también focalizada en la ciencia e ingeniería del vacío, pero con un enfoque en la simulación espacial, concretamente en la simulación del planeta Marte, trabajo que se publicó en octubre de 2016 con el título de «*Marte en la Tierra*».

Hemos decidido dividir la tesis en dos libros para su publicación. Esta parte tiene un objetivo más científico ya que trata de resolver el problema de coexistencia entre los líquidos y el vacío. Estos dos mundos tan antagónicos están muy relacionados con la posibilidad de formar películas finas o capas delgadas de biomoléculas sobre superficies limpias en entornos controlados, como sucede en el interior de un sistema de ultra alto vacío. Desde un punto de vista espacial, la coexistencia de líquidos (agua) en la superficie de planetas con atmósferas de baja presión y baja temperatura crea expectativas sobre sitios donde es posible que bacterias puedan desarrollarse en periodos de emergencia. Esta posibilidad de recrear en el laboratorio zonas de interés astrobiológico como son las regiones polares del planeta Marte, es la segunda motivación para desarrollar el sistema de inyección de líquidos.

La motivación de este trabajo no solo fue la de aportar contenido científico a la tesis doctoral, también fue un desafío tecnológico. Este desafío ha hecho posible que el INTA junto con el CSIC hayan firmado un contrato de transferencia de tecnología con la empresa Bihurcrystal SL para desarrollar comercialmente el sistema de inyección de líquidos en sistemas de alto y ultra alto vacío.

El resultado es un texto que reúne los principales conceptos, teoría y experimentos que han servido para caracterizar con garantías de éxito el novedoso sistema y método de formación de capas finas de biomoléculas partiendo desde una disolución líquida.

Agradezco en primer lugar a José Ángel Martín Gago, director de la tesis doctoral y responsable científico del Laboratorio de Simulación por abrirme las puertas para poder desarrollarme profesionalmente en el área en la que se encuentra enmarcado este trabajo, que es la ciencia e ingeniería de vacío. Debo de agradecerle a él con gran afecto, el fruto de este trabajo por su dedicación, dirección y en momentos clave su pasión por la ciencia. También a los miembros del tribunal de tesis, Celia Rogero, Pablo Fajardo, Gustavo Ceballos, Daniel Granados y Leonardo Soriano por sus comentarios, críticas y reflexiones durante la defensa de la tesis.

El modo en que nos decidimos a investigar de manera activa creando nuestros propios instrumentos y bancos de pruebas, nos permitió diseñar y construir la cámara de vacío IE3C destinada a probar nuevos dispositivos instrumentales antes de instalarlos en equipos de investigación de ultra alto vacío

(UHV) como es el caso de la máquina SMS del CAB. Es en este momento cuando nos planteamos la necesidad de contar con un sistema altamente controlado de deposición de capas finas en UHV a partir de disoluciones líquidas que ayuden a resolver cuestiones fundamentales de organización de moléculas básicas relacionadas con el origen de la vida. El componente fundamental o principal, fue la adquisición de una válvula de pulsos que modificamos para que fuera compatible con nuestros sistemas de ultra alto vacío. Con esta primera válvula empezamos a recorrer el largo camino que hay en la creación de una nueva técnica experimental. El estudio y comprensión de la física de los distintos procesos que ocurren en vacío, así como de la tecnología necesaria para poder desarrollarla fue lo que nos llevó la mayor parte del tiempo. Posteriormente fuimos mejorando la funcionalidad del sistema de inyección gracias al proyecto REMS y al proyecto SOLID, que nos permitió adquirir nuevas válvulas hasta que conseguimos dejar la técnica experimental lista y acabada para poder implementarla en un sistema de vacío dedicado a la caracterización de superficies como sucede en la máquina SMS del CAB.

La construcción de la máquina IE3C, la adaptación de la válvula a una brida de vacío, así como los portamuestras, se realizó en el taller del ICMM-CSIC gracias a la habilidad soldando con TIG de José Flores y de Miguel Cañas. Cuando nos decidimos a caracterizar la válvula inyectamos disoluciones de sal común y de nanopartículas de oro proporcionadas por Elena Casero de la UAM y caracterizadas con la ayuda de Miguel Moreno del CAB. También las caracterizamos mediante SEM en el servicio de microscopía electrónica del ICMM-CSIC. Finalmente decidimos realizar una demostración de nuestra inyección con ATP proporcionado por Carlos Briones, que nos indicó el camino al escoger una macromolécula fundamental en el principal proceso energético que sucede en el interior de una célula. Finalmente la caracterizamos por STM con la ayuda de Rogger Palacios.

Quiero agradecer a mis compañeros del departamento de instrumentación del CAB y al grupo *esísna* (ICMM-CSIC) que han dejado su tiempo y su esfuerzo en el laboratorio. Gracias a ellos, a sus preguntas y a sus necesidades en el día a día, he ido adquiriendo cada vez más conocimientos en el laboratorio.

A Enrique Gómez por el interés demostrado en la publicación de la tesis doctoral en un formato adecuado dentro del contexto de innovación tecnológica que se desarrolla en el INTA.

Por último y con mucho cariño a Marta, que ha hecho todo lo posible para que pudiera dedicar tiempo a terminar este trabajo.

Gracias.

Capítulo 1.

Resumen

Hoy en día es prácticamente imposible adentrarse en cualquier área de conocimiento sin que la tecnología o los desarrollos técnicos tengan un peso importante sobre nuevas líneas de investigación científica. El vacío forma parte imprescindible de la mayoría de técnicas analíticas que existen actualmente en ciencia de materiales [1]. Este conocimiento es fundamental para entender, por ejemplo, cómo interactúan dos cuerpos o sustancias cuando entran en contacto. La importancia de este fenómeno es vital para comprender procesos como la catálisis, la organización y autoorganización molecular, así como otros procesos que se ponen de manifiesto en el área que se conoce como nanociencia y nanotecnología.

En este contexto se ha desarrollado un nuevo método de inyección en vacío que permite estudiar moléculas en disoluciones líquidas. Muy importante para disoluciones de interés biológico, ya que este tipo de moléculas o macromoléculas pierden su estructura en el caso de que se sequen o calienten. Por este motivo tampoco pueden evaporarse directamente en vacío. Este sistema intenta resolver de manera sencilla, la imposibilidad de introducir muestras líquidas en un ambiente de ultra alto vacío (UHV), en el que la propia presión de vapor del disolvente hace imposible que la presión descienda. Actualmente este proceso se realiza dejando secar una gota en el aire y por tanto se mezcla el soluto con impurezas de la atmósfera. De este empeño por avanzar tecnológicamente en cómo se pueden inyectar disoluciones líquidas en UHV, como puede ser el trifosfato de adenosina (ATP), elemento principal en el intercambio energético dentro de la célula, se ha desarrollado un dispositivo partiendo de una válvula, que mediante pulsos inyecta capas atómicas que podemos controlar. Este método lo hemos llamado inyección de capas atómicas o ALI (*Atomic Layer Injection*) [2].

A partir de aquí entran en juego distintas técnicas experimentales de física de superficies, que en los últimos años se han consolidado y han permitido estudiar el comportamiento de moléculas individuales sobre distintos sustratos. Técnicas como la microscopía de efecto túnel (STM), la espectrometría de Rayos-X (XPS) y la desorción programada en el tiempo (TPD).

Todo este proceso se realiza en dos cámaras de vacío, diseñadas y construidas íntegramente en el Centro de Astrobiología [3]. En la primera, conocida como SMS [4], se desarrolla el grueso de los experimentos en su fase avanzada, ya que posee las técnicas analíticas para ello (XPS, STM, TPD). La segunda cámara de vacío, IE3C, fue concebida como cámara experimental de pruebas para nuevos desarrollos tecnológicos en esta área de conocimiento. En esta cámara se han desarrollado los protocolos y los procedimientos, sirviendo de pruebas antes de su integración definitiva en SMS. En IE3C es donde se ha realizado todo el trabajo tecnológico, como integración de hardware en cuanto a la válvula de inyección atómica, el espectrómetro de masas, la balanza de cuarzo, el medidor y las bombas de vacío, así como el software necesario para la captura de datos.

1.1 Hipótesis y organización del libro

La principal hipótesis de trabajo es abrir una nueva línea de investigación en superficies para la deposición de un soluto (moléculas orgánicas, inorgánicas, nanopartículas, etc.) desde la disolución que lo contiene en un ambiente de UHV. Determinar qué condiciones son más favorables para que las moléculas puedan reaccionar con la superficie del sustrato en un ambiente lo más limpio posible, y discriminar a través del tamaño de las partículas o moléculas su concentración, solubilidad, presión de vapor y tiempo de inyección, cuáles son las más adecuadas para efectuar esta técnica.

Para realizar esta técnica hemos tenido que realizar modificaciones a los equipos de vacío existentes. Se ha adaptado la cámara de introducción de muestras (cámara INTRO), para que con una presión base de 10^{-9} mbar sea la adecuada para realizar las inyecciones, y de este modo no influir en la presión base de la cámara analítica de 10^{-10} mbar. Por tanto, la hipótesis principal es la siguiente:

- Crear un sistema mecánico en el que seamos capaces de alojar una disolución e inyectarla a través de una válvula de pulsos, y que, por inyección en el momento de apertura de la misma, se produzca una evaporación del disolvente en la superficie de la muestra y deje interaccionando con la superficie parte del soluto. Para conseguir esto, hemos utilizado un gas de arrastre que nos ayude a favorecer la inyección en el momento de apertura de la válvula con una presión base de 10^{-9} mbar.

La estructura del libro es la siguiente:

En el **capítulo 2** se introduce el trabajo en el contexto de instrumentación de vacío. Se habla de los avances tecnológicos que suponen la deposición de moléculas intactas desde temperatura ambiente en un entorno acuoso. Por último, se describe el Laboratorio de Simulación del CAB como el lugar donde se ha desarrollado la técnica.

Las propiedades del vacío y los conceptos fundamentales del mismo, así como alguna instrumentación utilizada y toda la desarrollada a partir de componentes comerciales se presentan en el **capítulo 3**. También se presentan las técnicas experimentales utilizadas para la caracterización de la inyección y de las superficies.

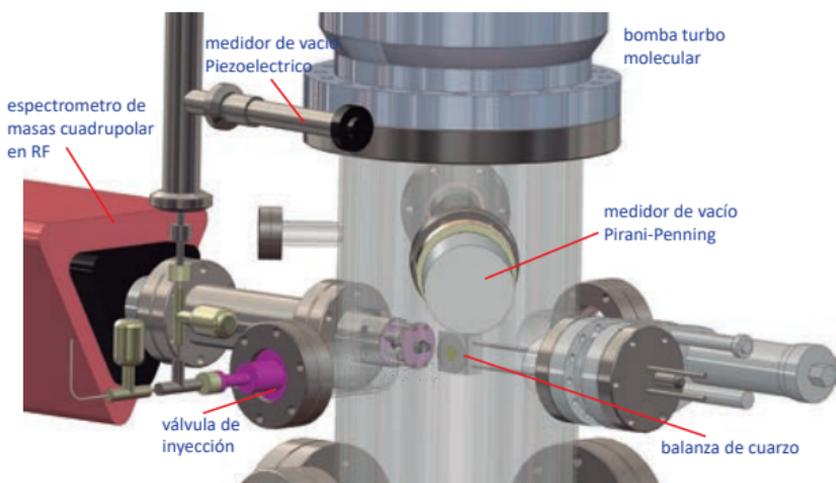
En el **capítulo 4** se muestran los sistemas experimentales diseñados, construidos y utilizados. La máquina o sistema de vacío IE3C, que es la cámara utilizada como equipo de pruebas para nuevos desarrollos instrumentales en régimen de UHV del Laboratorio de Simulación de Ambientes Planetarios del CAB. La máquina SMS, que es la que aloja todas las técnicas experimentales de análisis, y en la que se adapta la cámara de introducción de muestras para realizar la inyección de moléculas.

El grueso de la técnica en lo concerniente al diseño del sistema de inyección en régimen de UHV se muestra en el **capítulo 5**. Se detalla el proceso físico de la inyección en vacío, la formación de microgotas, su evaporación y comportamiento en la superficie de la muestra. Se describe la preparación de la muestra, en nuestro caso cobre monocristalino (110), así como el proceso de puesta a punto de la VDA (Válvula de Disposición Atómica), o LIV (*Liquid Injection Valve*) utilización y limpieza. Se presentan las moléculas a estudio, así como los resultados y las prácticas utilizadas con distintas moléculas que han permitido optimizar la técnica, comenzando por la sal común o cloruro sódico, nanopartículas de oro y terminando con el ATP.

El **capítulo 6** está dedicado al futuro de la investigación en la inyección líquida, así como a las mejoras que se podrían desarrollar en ambos sistemas experimentales.

En el **capítulo 7** se encuentran anexos importantes como es el diseño y desarrollo de instrumentación virtual (instrumentación no real, implementada mediante software a través de un GUI (*Graphical User Interface*)) utilizada para la optimización de los datos experimentales, así como para su explotación. También se detalla el proceso de diseño mecánico mediante software CAD de 3D, que ha permitido optimizar toda la geometría de los experimentos a la hora de calcular distancias y ángulos óptimos. Por último, en este capítulo, se muestra el desarrollo comercial creado por Bihurcrystal SL, a partir del acuerdo de transferencia de tecnología entre el INTA y el CSIC.

En el **capítulo 8** se recoge la bibliografía utilizada.



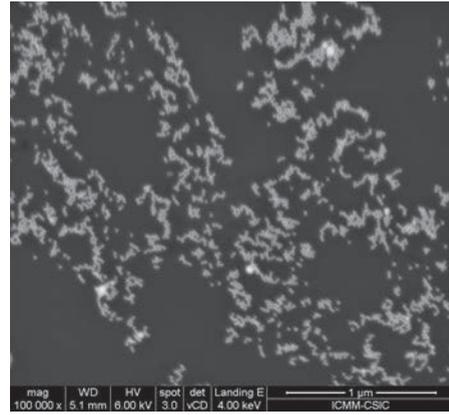
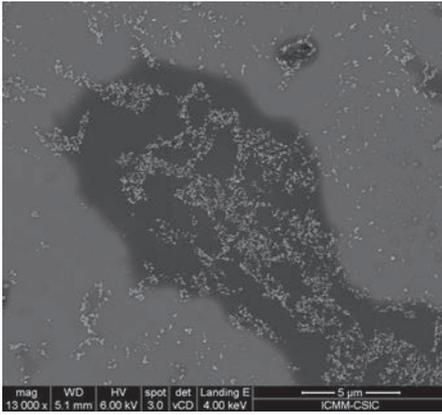
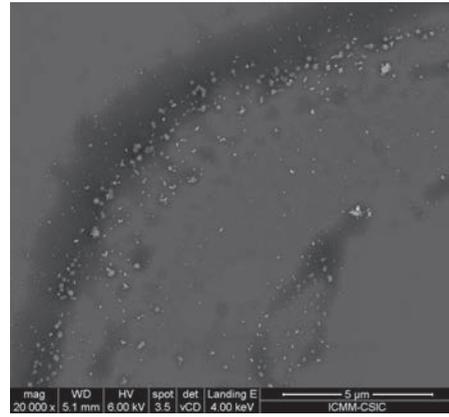
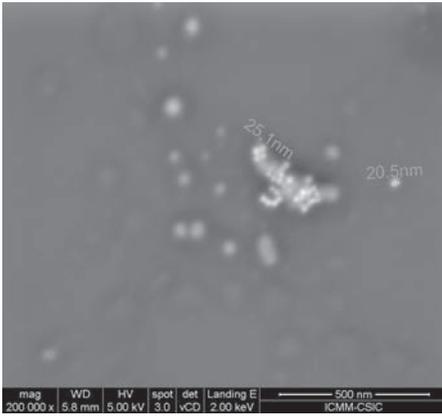
Si se puede identificar con una palabra la ciencia para el siglo XXI esa es la interdisciplinaridad. Solo cuando varias disciplinas científicas convergen se producen avances sustanciales en el conocimiento, que pueden dar lugar a la emergencia de una nueva tecnología. El objeto de esta obra, extraída de la tesis doctoral del Dr. Sobrado, es precisamente ese: presentar un instrumento capaz de acercar estos dos mundos tan dispares al permitir introducir en vacío sustancias disueltas en líquidos para su estudio por avanzadas técnicas de superficies.



INSTITUTO NACIONAL DE
TÉCNICA AEROESPACIAL



CAB
ASOCIADO AL NASA ASTROBIOLOGY PARTNER



Esta obra presenta un desarrollo de ingeniería de vacío (construcción, diseño, fabricación y pruebas) que permite introducir moléculas, «encapsuladas» por un disolvente, dentro de un equipo de vacío para su posterior estudio. Así, el trabajo que tienes

entre tus manos es el fruto de una idea simple aplicada a uno de los problemas más antiguos de la ingeniería de vacío y muestra, por tanto, un camino nuevo para explorar nuevas ideas que puedan surgir en biología o química.

ISBN 978-8-493893-27-9



9 788493 893279



CENTRO DE ASTROBIOLOGÍA
ASOCIADO AL NASA ASTROBIOLOGY INSTITUTE

