



UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN POLÍMEROS Y
MATERIALES**

PROPIEDADES FÍSICAS DE MEMBRANAS FLUIDAS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIA DE MATERIALES

Por:

RAMÓN ALFONSO IÑIGUEZ PALOMARES

Hermosillo, Sonora

Enero del 2012

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

Dedicatorias

A Ramón Felipe, Alejandro y Marcos quienes iluminan mi vida con su brillante curiosidad científica.

A Ericka por su invaluable y siempre constante apoyo a lo largo de todo el desarrollo de este trabajo... y de los otros.

A Enrique y Gloria por su solidaridad sin límite.

A mis sobrinos Liz, Andrea, Alejandra, Daniel y Agustín.

A mis padres Ramón y Magda Irma, quienes sembraron en mí el gusto por el conocimiento.

A mis hermanas Claudia y Magda, quien aún en la distancia están presentes.

A mis hermanos políticos Cristina, Roberto, Jorge y Agustín, con quienes siempre puedo contar.

A mis tías por su apoyo incondicional.

A mis abuelos, que siempre me acompañan, aún en su ausencia.

A todos mis maestros quienes influyeron para convertirme en ser lo que fueron.

A mis compañeros de la Preparatoria en Ciencia y Arte Paulo Freire.

A todos mis estudiantes.

...y sobre todo

A TODOS LOS NIÑOS Y NIÑAS DE LA GUARDERÍA ABC...

¡NO DEBIERON MORIR!

Agradecimientos

La realización de este trabajo no hubiese sido posible sin el apoyo de las siguientes personas, instituciones y proyectos a quienes deseo externar mi agradecimiento.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el otorgamiento de la beca doctoral y la beca mixta durante la estancia académica en la Universidad de California en Santa Barbara.

A la Red de Nanociencias y Nanotecnología de Conacyt por el otorgamiento de una extensión de beca doctoral.

Al Dr. Youli Li del Material Research Laboratory de la Universidad de California en Santa Barbara por su apoyo al fungir como investigador receptor en la estancia académica en dicho centro de investigación.

A la Dra. Judith Tánori Córdova por su apoyo en el otorgamiento de una extensión de beca doctoral a través del proyecto de investigación “Fabricación de nanomateriales en medios confinados: microemulsiones y espumas” financiado por Conacyt (registro 105236), así como por su participación activa efectuando estudios de TEM del sistema abordado en el presente trabajo.

A la Dra. Dominique Langevin y a ECOS (Francia) por su apoyo en la realización de la estancia académica en los Laboratorios de Física de Sólidos de la Universidad de París Sur durante septiembre-octubre de 2010, en el marco del proyecto binacional titulado “Estudio de la coalescencia de emulsiones y espumas mediante técnicas microfluídicas”, proyecto financiado por ANUIES y ECOS (clave M09 – P02).

Al Dr. Heriberto Acuña Campa del Departamento de Física de la Universidad de Sonora por su apoyo desinteresado en la parte concerniente al estudio del sistema de membranas por la técnica de DLS.

A la Dra. Rosa Elena Navarro Gautrín por su apoyo constante en la realización de los experimentos de RMN así como en la discusión de resultados de los mismos.

Al Dr. Ricardo López Esparza del Departamento de Física de la Universidad de Sonora por fungir como investigador receptor durante mi primera estancia académica en el Laboratorio de Biofísica del mismo Departamento, así como por sus sugerencias y observaciones oportunas durante el desarrollo del presente trabajo.

Al Dr. Adolfo García Fontes por su apoyo en la automatización del conductímetro CDM210.

Al Dr. Eduardo Larios Rodríguez y la Dra. Lorena Armenta Villegas por el apoyo brindado en la parte experimental correspondiente a los experimentos de Microscopía electrónica de transmisión y de RMN respectivamente.

Al Dr. Amir Maldonado Arce por sugerirme el tema de tesis y adentrarme al fascinante mundo de la materia “suave”.

Los experimentos de Microscopía Electrónica de Transmisión de la primera etapa del trabajo fueron realizados en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Sonora.

El presente trabajo se realizó en el contexto del proyecto “Difusión en Membranas Fluidas Heterogéneas”, financiado por Conacyt (registro 128192).

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABLAS	xii
OBJETIVOS.....	xiii
RESUMEN	xiv
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES	5
2.1 Generalidades sobre surfactantes.....	5
2.2 Fases características de tensoactivos	10
2.3 El Parámetro de Empaquetamiento Crítico.....	12
2.4 Estructura de la fase lamelar	20
2.5 Ley de Dilución Clásica para fase Lamelar	21
2.6 Fase Esponja L ₃	23
2.7 Interacciones presentes en sistemas de fases lamelares liotrópicas	27
2.7.1 Interacción de van der Waals	27
2.7.3 Interacción electrostática.....	29
2.7.4 Interacción de Helfrich.....	31
2.7.5 Interacciones entre membranas mediadas por polímeros.....	31
CAPÍTULO 3: MÉTODOS Y TÉCNICAS EXPERIMENTALES	40
3.1 Moléculas estudiadas	40
3.2 Materiales y Reactivos.....	42
3.3 Preparación de muestras	43
3.4 Determinación de la composición para las fases Lamelar y Esponja del sistema de surfactante aniónico SDS.....	45
3.4.1 Fase Lamelar L _α	46
3.4.2 Fase Esponja L ₃	49
3.5 Fracción de Volumen de Membrana Φ.....	51
3.6 Conductividad Eléctrica.....	52

3.7 Microscopía Electrónica de Criofractura (FFEM).....	55
3.9 Dispersión Dinámica de Luz (DLS)	62
3.10 Resonancia Magnética Nuclear (NMR).....	65
CAPÍTULO 4: RESULTADOS	69
4.1 Efecto del PEG sobre las fases lamelares y esponja del sistema estudiado a temperatura ambiente.....	69
4.1.1 Fases lamelares con PEG20K a temperatura ambiente.....	69
4.1.2 Fases Esponja con PEG20K a Temperatura ambiente	72
4.2 Conductividad eléctrica en función de la concentración de polímero	73
4.3 Transiciones $L_3 \rightarrow L\alpha$ (esponja-lamelar) estudiadas por conductividad eléctrica	75
4.4 Experimentos de Criofractura	78
4.4.1 Fase Esponja L3 a bajas fracciones de volumen de membrana	78
4.4.2 Fase vesicular a bajas fracciones de volumen de membrana	79
4.5 Resultados con otros Sistemas.....	81
4.5.1 CTAB-Hexanol-Agua+NaCl-PEG20K.....	81
4.5.2 DMPC-Hexanol-Agua-PEG20K.....	87
4.6 Efecto de la temperatura sobre el diagrama de una fase lamelar del sistema con SDS...92	
4.7 Efecto de la temperatura sobre el diagrama de una fase esponja del sistema con SDS..95	
4.8 Conductividad Eléctrica en función de la temperatura fase L_3	102
4.9 Caracterización de las membranas por experimentos de SAXS.....	106
4.10 Propiedades Mecánicas de Membranas de la fase L_3 diluida del sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl-PEG empleando la Técnica de Dispersión Dinámica de Luz (DLS).	117
4.10.1 Resultados del estudio de DLS.....	118
4.11 Estudio por Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	126
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES.....	132
BIBLIOGRAFÍA	135
PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TRABAJO DE TESIS	144

LISTA DE FIGURAS

Fig. 2.1: Representación de una molécula de surfactante con su región polar y no polar	5
Fig. 2.2: Estructura del surfactante AOT (izquierda) y de un surfactante tipo Gemini compuesto por cuatro grupos iónicos y cuatro colas hidrofóbicas	8
Fig. 2.3: En A se muestra la estructura típica de un fosfolípido(Dimyristoyl Fosfatidil Colina, DMPC)	9
Fig. 2.4: Evolución de la tensión superficial en la interfase aire-agua en función de la concentración de surfactante para una solución micelar acuosa	10
Fig. 2.5: Efecto de incorporar NaCl sobre la cmc y el número de agregación promedio en micellas de SDS [22]	11
Fig. 2.6: Determinación del área optima de cabeza a_0 a partir de la minimización de la energía libre de interacción entre moléculas del surfactante	13
Fig. 2.7: Diagrama de fases para un sistema binario surfactante/agua	19
Fig. 2.8: Representación de un arreglo de membranas lamelares rígidas	20
Fig. 2.9: Esquema simplificado de dos membranas en fase lamelar separadas por agua	21
Fig. 2.10: Diagrama de fase ternario	24
Fig. 2.11: Representación de la fase esponja señalando sus distancias características	25
Fig. 2.12: Muestra de fase esponja vista por la técnica de microscopía de Criofractura [44]	26
Fig. 2.13: Diagrama de los 4 regímenes de confinamiento de una solución de un polímero hidrosoluble y no adsorbente en una fase lamelar	33
Fig. 2.14: Diagrama de Fase para el sistema SDS-Hexanol-Agua	45
Fig. 3.2: Muestras a simple vista	46
Fig. 3.3: Diagrama de fase parcial del sistema SDS-Hexanol-Solución Salina	47
Fig. 3.4.a: Birrefringencia inducida por agitación con magneto de una fase esponja L_3	50
Fig. 3.4.b: Relajación de la birrefringencia inducida en la muestra de fase esponja L_3	50
Fig. 3.5 Montaje experimental para el estudio de las transiciones $L_3 \leftrightarrow L_\alpha$ por agitación	54

Fig. 3.6: En A se muestra la fractura practicada a la muestra. En B se ilustran tres posibles trayectorias de la fractura de un objeto esférico congelado en la muestra (vesículas o células)	56
Fig. 3.7: Esquema general de un montaje para dispersión de rayos X a bajos ángulos	57
Fig. 3.8: Interacción de radiación incidente dentro del volumen de dispersión	58
Fig. 3.9: Espectros de SAXS para fases lamelares de un sistema del fosfolípido DMPC	60
Fig. 3.10: Equipo de SAXS intermedio del laboratorio de Investigación de materiales de la UCSB	61
Fig. 3.11: Evolución temporal de la luz dispersada expresada en Fotones por segundo	63
Fig. 3.12: Función de correlación de campo para un sistema de dispersión coloidal	64
Fig. 3.13: Protón girando y precesando en presencia de un campo magnético constante \vec{B} .	65
Fig. 3.14: Acoplamiento entre un campo fijo \vec{B} y un campo oscilante \vec{B}_{osc} perpendicular a \vec{B} .	66
Fig. 4.1: Fases Lamelares con PEG20K a simple vista a temperatura ambiente.	70
Fig. 4.2a: Fases Lamelares con PEG20K a temperatura ambiente entre polarizadores cruzados.	71
Fig. 4.2b: Micrografías entre polarizadores cruzados de muestra $0L\alpha$ (izquierda) y $10L\alpha$ a temperatura ambiente con objetivo de 40X.	71
Fig. 4.3: Fases esponja con PEG20K a temperatura ambiente a simple vista (arriba) y entre polarizadores cruzados (abajo).	72
Fig. 4.4: Conductividad eléctrica normalizada de los sistemas L_α (cuadrados) y L_3 (círculos) a Temperatura ambiente ($T=24^\circ\text{C}$).	74
Fig. 4.5: Conductividad eléctrica bajo agitación con magneto a distintas velocidades para 3 muestras de fase esponja con distintas concentraciones de PEG.	75
Fig. 4.6: Relajación temporal de la transición $L_\alpha \rightarrow L_3$ para muestras con 0,1 y 7g/L de PEG	77
Fig. 4.7: Criofractura de muestra $0L3$ vista por TEM. Foto (Cortesía Dra. Judith Tánori).	79

- Fig. 4.8:** Criofractura de muestra 9La vista por TEM. La fracción del volumen de membrana es de $\Phi \sim 0.024$. 80
- Fig.4.9:** Diagrama de fase del sistema CTAB-Hexanol-Solución salina (NaCl .34M) a $T=21^\circ\text{C}$ 81
- Fig. 4.10:** Muestras obtenidas de las formulaciones de tabla 4.1. Arriba a simple vista y abajo entre polarizadores cruzados. 82
- Fig. 4.11:** Ubicación de las muestras obtenidas en el diagrama de fase de referencia para el sistema basado en el CTAB. 83
- Fig. 4.12:** Muestras I-CTAB con distintas concentraciones de PEG20K indicadas en la parte superior de los tubos (en g/L). Las fotos a la derecha son entre polarizadores cruzados. 85
- Fig. 4.13:** Micrografía de luz polarizada. Muestra I-CTAB sin PEG. 85
- Fig. 4.14:** Micrografías de luz polarizada. Muestra I-CTAB 5PEG (a la izquierda) y muestra I-CTAB 20PEG (zona lechosa) a la derecha. 86
- Fig. 4.15:** Diagrama ternario del sistema DMPC-Hexanol-Agua+NaCl. 87
- Fig. 4.16:** Muestras vistas a simple vista (arriba) y entre polarizadores cruzados a temperatura ambiente. 88
- Fig. 4.17:** Fase lamelar del sistema DMPC sin PEG (muestra 3DMPC). 89
- Fig. 4.18:** Fotografías de criofractura en MET de muestra 3DMPC. Fase lamelar del sistema DMPC. 89
- Fig. 4.19:** Fotografías de muestras de la composición 3DMPC a distintas concentraciones de PEG20K indicada en la parte superior de los tubos y expresada en g/L. 90
- Fig. 4.20:** Microfotografía con luz polarizada de Muestra 3DMPC-PEG20K (20g/L) a temperatura ambiente. 91
- Fig.4.21A:** Fotografías de fase lamelar a simple vista y entre polarizadores cruzados a $T=20^\circ\text{C}$ y $T=5^\circ\text{C}$. 92
- Fig.4.21B:** Fotografías de fase lamelar a simple vista y entre polarizadores cruzados a $T=20^\circ\text{C}$ y $T=5^\circ\text{C}$. 93

Fig. 4.22: Área ocupada por esferulitas respecto al total de muestra al variar contenido del PEG.	93
Fig. 4.23: Diagrama de fases en función de la temperatura y de la concentración del polímero PEG20K . Sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl(170mM)-PEG en fase inicial lamelar (L_{α}) a $T=25^{\circ}\text{C}$ para muestra sin polímero.	94
Fig. 4.24 A-B: Fotografías de fase esponja a simple vista y entre polarizadores cruzados a $T=21^{\circ}\text{C}$ y $T=15^{\circ}\text{C}$.	96
Fig. 4.24 C-D: Fotografías de fase esponja a simple vista y entre polarizadores cruzados a $T=6^{\circ}\text{C}$ y $T=5^{\circ}\text{C}$.	97
Fig. 4.25: Área ocupada por esferulitas respecto al total de muestra al variar contenido del PEG.	98
Fig 4.26: Relación de las áreas ocupadas de las regiones de esferulitas respecto a totales de las muestras. Comparación entre los sistemas lamelar y esponja con SDS.	98
Fig 4.27: Diagrama de fases en función de la temperatura y de la concentración del polímero PEG20K .	100
Fig.4.28: Transiciones de muestra $5L_3$ al descender la temperatura.	101
Fig. 4.29: Evolución de la conductividad eléctrica en función de la temperatura de muestra $0L_3$.	102
Fig. 4.30: Evolución de la conductividad eléctrica en función de la temperatura de muestra $1L_3$.	103
Fig. 4.31: Evolución de la conductividad eléctrica en función de la temperatura de muestra $7L_3$.	104
Fig. 4.32: Comparación de Evolución de la conductividad eléctrica en función de la temperatura de muestras $0L_3$, $1L_3$ y $7L_3$.	105
Fig.4.33: Diagrama parcial del sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl (10g/L).	106
Fig. 4.34: Espectros de SAXS de muestras formuladas según tabla 4.3. No ha sido sustraída la señal del solvente de los espectros.	107
Fig. 4.35: Espectros de SAXS de muestras formuladas según tabla 4.3 restando la contribución del solvente.	109

Fig. 4.36: Patrón de difracción obtenido por SAXS del sistema POPC (1-Palmitoyl-2-oleoylphosphatidilcolina) a 2°C.	110
Fig. 4.37: Vesículas formadas por re-hidratación de muestras 1L _α PEG(20g/L) con agua vistas en microscopio óptico a 40X	112
Fig. 4.38: Vesículas formadas por re-hidratación de muestras 1L _α PEG(20g/L) con agua vistas en microscopio óptico a 40X en contraste de fase	113
Fig. 4.39: Perfiles de los primeros armónicos($G = q_0$) de los espectro de SAXS para muestra con PEG y sin PEG a la misma fracción de volumen de membrana.	114
Fig. 4.40: Perfiles de los primeros armónicos($G = q_0$) de los espectro de SAXS para muestra 1L _α y 2L _α con razones molares $n_{\text{hexanol}}/n_{\text{SDS}}$ expuestas en tabla 4.3	116
Fig.4.41: Birrefringencia inducida por esfuerzo en nuestro sistema	118
Fig. 4.42: Funciones de correlación obtenidas a 90 grados para las muestras en fase esponja.	120
Fig. 4.43: Funciones de Correlación típicas para 3 concentraciones de polímero PEG.	120
Fig. 4.44: Tiempos de relajación a 90 grados para las fases esponja como una función de la concentración del polímero presente en las muestras.	121
Fig. 4.45: Curvas de Gamma vs γ para fases esponja con diferentes contenidos de polímero (0,2,4y 8 g/L de PEG20K).	122
Fig.4.46: Viscosidades para soluciones de PEG20Ken solución salina a distintas Concentraciones de PEG.	123
Fig. 4.47: Comportamiento de k en función del contenido del PEG.	124
Fig. 4.48: Módulo elástico de curvatura como función de la concentración del polímero.	125
Fig. 4.49: Espectros de RMN de protón (^1H) para muestras del sistema lamelar SDS _{deuterado} – hexanol- D ₂ O + NaCl – PEG a temperatura ambiente.	127
Fig. 4.50: Perfiles de las señales de RMN para PEG y Protones A.	128
Fig. 4.51: Área relativa de la señal A integrada del hexanol respecto al área de la señal integrada del PEG	129
Fig. 4.52: Evolución de la señal A al variar la concentración del PEG en la muestra a temperatura de 25°C	130

Fig. 4.53: Desplazamientos químicos de las señales del hexanol al variar la 131 concentración del PEG en las muestras.

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1: Fórmulas semi-desarrolladas de surfactantes representativos de las distintas familias de tensoactivos.	7
Tabla 3.1: Moléculas empleadas en la preparación de las membranas del presente trabajo.	18
Tabla 3.2: Composición % peso para muestras de fase esponja.	41
Tabla 3.3: Núcleos comúnmente usados en Resonancia magnética nuclear	67
Tabla 4.1: Composiciones del sistema CTAB-Hexanol-Sol. Salina NaCl.	82
Tabla 4.2: Commposiciones exploradas para encontrar una fase lamelar del sistema DMPC-Hexanol-Agua+NaCl (10g/L) a temperatura ambiente.	88
Tabla 4.3: Composiciones de las muestras preparadas para realizar experimentos de SAXS.	106
Tabla 4.4: Primeros y segundos armónicos de espectros de SAXS.	108
Tabla 4.5: Distancias intermembranales y espesores de membrana para muestras de tabla 4.3	108
Tabla 4.6: Composición fase lamelar con SDS _{deuterado} .	127

OBJETIVOS

Objetivo General

Caracterizar experimentalmente la influencia de un polímero hidrosoluble (PEG) sobre las propiedades físicas de las membranas fluidas del sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl.

Objetivos Particulares

- 1.- Determinar las condiciones fisicoquímicas necesarias para la obtención de muestras monofásicas lamelares y muestras monofásicas con fase esponja del sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl en la región de bajas concentraciones de membranas.
- 2.- Determinar si es posible obtener vesículas esféricas agregando un polímero neutro (PEG) a la fase lamelar y a la fase esponja de un tensoactivo iónico (SDS) y de otros surfactantes con efecto de apantallamiento de la carga por adición de sal (NaCl) al sistema.
- 3.- Construir los diagramas de fases correspondientes a las fases Lamelar y Esponja diluidos del sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl con incorporación de PEG a distintas concentraciones y en función de la temperatura.
- 4.-Caracterizar las propiedades físicas de membranas del sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl, en función de la concentración del PEG. Las propiedades a estudiar son: espesor de las membranas, distancia media entre ellas, módulo elástico de curvatura media, lamelar-esponja, temperaturas de transición lamelar-vesículas y esponja-vesículas, etc.

RESUMEN

En este trabajo hemos estudiado algunos aspectos físicos del efecto de agregar un polímero hidrosoluble, el polietilenglicol (PEG), a las fases lamelares y esponja de un tensoactivo aniónico, el Dodecilsulfato de sodio (SDS), en una situación experimental donde las interacciones electrostáticas están apantalladas por la presencia de sal (NaCl) en el solvente.

Uno de nuestros objetivos principales estribaba en verificar si el polímero podía inducir la formación de vesículas multilamelares a partir de fases esponja o lamelares del tensoactivo estudiado. Nuestra hipótesis fue que esto era posible, siempre y cuando se apantallaran las interacciones electrostáticas entre las membranas cargadas, agregando sal.

Para ello realizamos un estudio del diagrama de fases del sistema SDS-hexanol-agua-NaCl en ausencia y presencia de PEG. Mediante nuestros experimentos ubicamos las zonas de existencia de las diferentes fases termodinámicas, tanto en función de la concentración de polímero, como de la temperatura. La concentración total de membrana (SDS más hexanol) permaneció constante (3 % en volumen).

Nuestro estudio experimental del diagrama de fases en ausencia y presencia de PEG comprobó nuestra hipótesis: al apantallar las interacciones electrostáticas entre membranas de SDS-hexanol, se observa una transición topológica desde fases lamelares o esponja hacia estructuras vesiculares. Las diferentes estructuras fueron caracterizadas mediante experimentos diversos: observación visual, microscopía óptica de luz polarizada, mediciones de conductividad eléctrica, microscopía electrónica de criofractura, dispersión dinámica de luz y dispersión de rayos X a ángulos bajos. Experimentos adicionales de Resonancia Magnética Nuclear, al menos en una etapa preliminar, indican que el polímero penetra hasta cierto grado a la zona hidrofóbica de la membrana. El análisis de los resultados de Dispersión Dinámica de Luz se realizó en el contexto de la teoría de Zilman – Granek para membranas fluctuantes. Dichos resultados nos permitieron confirmar que el polímero se adsorbe a la membrana. Asimismo, mediante dicha teoría pudimos cuantificar el módulo de elasticidad de curvatura

media de las membranas, en función de la concentración de polímero agregado. Los resultados indican que el polímero vuelve más rígidas a las membranas de tensoactivo.

De manera interesante, nuestro trabajo comprobó que el efecto estudiado (la transformación topológica hacia la estructura vesicular) ocurre probablemente para todos los tensoactivos. En la literatura ya se había observado para el tensoactivo zwitteriónico C14DMAO. En esta tesis se realizó la misma observación para el SDS. Esto nos llevó a estudiar la posible ocurrencia del fenómeno en otras moléculas anfifílicas: el tensoactivo catiónico CTAB y el fosfolípido zwitteriónico DMPC. En ambos casos encontramos el mismo efecto, lo cual nos hace sospechar fuertemente que la transformación topológica ocurre en todo sistema de membranas, en las condiciones experimentales apropiadas.

ABSTRACT

We have studied some physical properties of the lamellar and sponge phases of the anionic surfactant SDS doped with one water-soluble, neutral polymer (PEG). We have screened the electrostatic interactions by adding salt (NaCl) to the solvent.

Our main aim was to verify if the polymer induces a phase transformation towards multilamellar vesicles. For this, we have studied the phase diagram of the SDS-hexanol-water-NaCl system doped with PEG. We have determined the phase boundaries as a function of polymer concentration as well as temperature. The membrane volume fraction was kept constant at 3 %.

Our experiments have confirmed that PEG induces a topological transition between lamellar or sponge membranes, towards a vesicular structure, provided the electrostatic interactions are screened by the addition of salt. The different phases were characterized by visual inspection, polarizing optical microscopy, electrical conductivity measurements, freeze-fracture electron microscopy (FFEM), dynamic light scattering (DLS) and Small-angle X-ray Scattering (SAXS). Additional Nuclear magnetic resonance (NMR) experiments show that the polymer adsorbs to the surfactant membrane. Finally, the Zilman – Granek theory applied to the DLS experiments allowed us to obtain the bending elastic modulus of the membranes. In fact, the polymer increases this modulus and the membrane is rigidified.

Finally, we have observed the same effect (lamellar or sponge to vesicular transformation) in other surfactant systems. In particular, with the cationic surfactant CTAB and the zwitterionic phospholipid DPMC. The observed transformation seems to be a universal feature of the interaction of polymer and amphiphilic membranes.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

Cada célula biológica está delimitada por una membrana externa que controla la interfase entre la célula y el exterior. Todas las células eucariotas contienen un gran número de organelos como el núcleo celular, mitocondrias o cloroplastos, los cuales están delimitados también por membranas. La función básica de las biomembranas es proveer diferentes compartimentos espaciales y actuar como una barrera altamente selectiva para el intercambio de moléculas entre los distintos compartimentos; de esta manera, ellas mantienen los gradientes de concentración entre estos compartimentos. Debido a esto, las membranas biológicas fueron un elemento fundamental en el origen de la vida pues no se puede concebir que una mezcla de moléculas autorreplicantes pueda sobrevivir sin estar encapsulada en una membrana. [1]

En general, las biomembranas poseen la misma estructura universal donde el elemento estructural básico lo constituye una bicapa de lípidos a la cual se ligan las proteínas por sus dominios hidrofóbicos. Los lípidos al igual que las moléculas de surfactantes (como los detergentes) son moléculas anfifílicas, con un extremo hidrofílico (llamada cabeza polar) y colas hidrocarbonadas hidrófobas (no polares) en el otro extremo. Debido a este carácter dual tienden al autoensamblamiento en soluciones acuosas dando lugar a una gran variedad de estructuras morfológicas (mesofases) para una concentración de surfactante mayor a la concentración micelar crítica (cmc), que es el valor de la concentración a partir del cual los surfactantes dejan de incorporarse como monómeros en la solución para empezar a formar estructuras autoensambladas. La fuerza rectora para estos procesos de agregación es la tendencia de la parte hidrofóbica para minimizar su contacto con el agua, a lo cual es llamado “efecto hidrofóbico” y se debe principalmente a la ganancia en la entropía de la estructura del agua al no estar en contacto con la parte hidrofóbica [2]. Una variedad de formas distintas de agregados son observados al ensamblarse las moléculas anfifílicas, desde micelas esféricas o cilíndricas hasta membranas formadas por bicapas. Las estructuras mesoscópicas que formarán las moléculas al autoensamblarse dependerá de la característica de la molécula anfifílica y puede predecirse a groso modo por criterios meramente geométricos a través de el parámetro de empaquetamiento p definido como la razón del volumen hidrofóbico (v)

respecto al producto del area de la cabeza polar (a) y la longitud de la cola hidrofóbica (l). Para $p < 1/3$ se obtendrán estructuras esféricas como las micelas y para $p > 1/2$ se esperan estructuras formadas por bicapas [3].

En su presentación más simple las bicapas forman estructuras planas pudiendo ordenarse en bicapas paralelas y regularmente espaciadas (fase lamelar o L_α). Estas fases forman una estructura cuasi cristalina en una dirección (z) mientras conservan su propiedad para fluir en las otras dos direcciones (en el plano x - y). Sin embargo, también es posible que las bicapas se cierren sobre sí mismas formando objetos conocidos como vesículas, donde la mayoría de las veces son esféricas y de naturaleza dinámica con fluctuaciones pronunciadas en su forma. La deformación de la membrana de bicapa plana a una membrana cerrada se entiende al introducir el concepto de elasticidad de curvatura de la membrana que nos da idea de la resistencia que ofrece la membrana a deformarse más allá de su forma preferida. Helfrich propuso que la energía elástica de la membrana tiene la forma

$$E = \frac{1}{2}k \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} - 2C_0 \right)^2 + \tilde{k} \frac{1}{R_1 R_2} \quad (1.1)$$

donde R_1 y R_2 son los radios principales de curvatura, C_0 es la curvatura espontánea de la membrana, k es el módulo de curvatura elástica de la membrana y controla la extensión de las fluctuaciones térmicas de la membrana y \tilde{k} es el módulo elástico gaussiano que determina la topología de la fase [4]. Para una bicapa simétrica se tiene que $C_0=0$, por lo que las estructuras energéticamente favorables dependerán de los módulos k y \tilde{k} . Así, por cuestiones de minimización de la energía se tiene que si $\tilde{k} > 0$ se favorece la fase L3 (esponja) mientras que para $\tilde{k} < 0$ la fase vesicular es la favorable, por lo que se tiene que si el módulo Gaussiano se vuelve negativo es de esperarse una transición de membranas planas a vesículas.

La gran versatilidad de los surfactantes para formar estructuras estables ha sido altamente explotada comercialmente por la industria farmacéutica para el encapsulado de fármacos en vesículas como lo son por ejemplo los liposomas que contienen moléculas estructuradas como PEG-Lípidos (Fosfatiletanolamina unida por su cabeza polar al PEG, un polímero hidrosoluble) que resisten la adsorción de varios componentes del sistema inmune así como la

interacción con lipoproteínas y enzimas lipolíticas, permitiendo un mayor tiempo de vida en el torrente sanguíneo liberando más eficientemente el fármaco transportado [5]. En la industria de los jabones y detergentes se emplean por su capacidad para encapsular a la grasa mediante sus cabezas polares en contacto con ella; en cosmetología permiten una alta tasa de hidratación y una rápida penetración cutánea. Desde el punto de vista de la investigación básica, las fases Hexagonal y Esponja (L_3) han sido empleadas profusamente en los últimos años en la cristalización de las proteínas de membrana para dilucidar la estructura de éstas [6].

Las fases lamelares y vesiculares de surfactantes han sido de gran utilidad en el estudio de las inclusiones en membranas. La mayoría de los trabajos pioneros fueron desarrollados por la comunidad de biólogos, para quienes era necesario comprender cabalmente la complejidad de las membranas biológicas como las membranas de la célula. En los últimos 30 años se ha desarrollado una descripción más física del fenómeno de las inclusiones de membranas en términos de la energía de curvatura y la disrupción del orden molecular de la membrana, obteniéndose resultados interesantes sobre las interacciones entre membranas inducidas por inclusiones. Si bien, esta aproximación física deja de lado muchos procesos fundamentales que se llevan a cabo en la membrana por interacciones específicas, permite a cambio una descripción de las características universales de los complejos en términos de acoplamientos elásticos entre membranas e inclusiones. Particularmente las inclusiones de polímeros en fases lamelares de membranas de surfactantes son relevantes pues la comprensión del comportamiento físico de estos sistemas es muy útil para el entendimiento de los fenómenos biológicos donde las interacciones proteína-membrana son relevantes. [7]

En este sentido existen varios trabajos donde se reportan los efectos de polímeros sobre fases lamelares de surfactantes, enfocándose la atención principalmente en la interacción de polímeros neutros con surfactantes iónicos [8-11]. Las fases lamelares modificadas por el polímero afectan significativamente las propiedades de la fase abriendo con ello nuevos campos de aplicaciones. Dependiendo en la interacción polímero-bicapa, el polímero puede estar ubicado enteramente en la membrana, enteramente en el solvente o en ambos. Si la interacción atractiva polímero-bicapa es lo suficientemente fuerte, la adsorción del polímero

en la bicapa se vuelve plausible. En estas condiciones, puede asumirse que la rigidez de curvatura de la bicapa presentará cambios característicos dando lugar a cambios en las propiedades elásticas de la fase lamelar en cuestión [12]. Así, se ha demostrado experimentalmente que el polímero Polietilenglicol (PEG) se une a la bicapa formada por el surfactante aniónico Dodecil Sulfato de Sodio (SDS) pudiendo solubilizarse grandes cantidades del polímero (hasta un 50% en peso) sin que ocurra una separación de fase [10,13]; sin embargo, por otra parte, han surgido resultados aparentemente contradictorios pues se ha mostrado que el PEG induce la aparición de una fase vesicular altamente monodispersa cuando es agregado en bajas cantidades a la fase lamelar del surfactante zwitteriónico C_{14} DMAO. Dado que se ha demostrado que el PEG también se une a la bicapa del C_{14} DMAO [14] entonces la principal diferencia entre ambos sistemas de surfactantes radica en las interacciones electrostáticas entre las bicapas del SDS por lo que cabría suponer que logrando apantallar estas interacciones electrostáticas sería posible reproducir los resultados obtenidos para un sistema de surfactante neutro.

La anterior hipótesis es la principal motivación del trabajo de nuestra tesis: determinar si bajo la anterior premisa es posible inducir, por la presencia de un polímero soluble en agua la transformación topológica de fases lamelares o esponjas a fases vesiculares para sistemas de surfactantes cargados mediante el apantallamiento de cargas.

El trabajo lo dividimos en cinco capítulos, donde el primero de ellos corresponde a la introducción y el segundo a la parte de antecedentes, revisando las generalidades de los sistemas autoensamblados de surfactantes y haciendo énfasis en la teoría que describe las interacciones que regulan el equilibrio en los sistemas de membranas fluidas en presencia de polímeros inmersos en el solvente. En el tercer capítulo hacemos una descripción de las técnicas experimentales implementadas en la caracterización de nuestros sistemas. En el capítulo 4 se presentan los resultados obtenidos y la discusión correspondiente. En el último capítulo plasmamos las conclusiones que se desprenden del presente trabajo así como las propuestas que pueden desarrollarse con el objeto de dar continuidad a esta línea de investigación.

CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES

2.1 Generalidades sobre surfactantes

Las moléculas anfifílicas se caracterizan por constituirse típicamente por una región de su estructura química afín al agua (parte hidrofílica) y por otra región que tiende a evitar el contacto con el agua (parte hidrofóbica). La región hidrofílica presenta afinidad por los solventes polares como el agua mientras que la parte hidrofóbica se solubiliza en compuestos de carácter no polar como los hidrocarburos o los aceites. Las moléculas anfifílicas tienden a emigrar hacia la superficie o hacia las interfases (agua-aire, por ejemplo) razón por la cual se les conoce también como Surfactantes (de la contracción del inglés *surface-active-substance*). Al ubicarse en las interfases, las moléculas anfifílicas modifican algunas propiedades de la frontera como la tensión superficial, de aquí que también reciben el nombre de tensoactivos [15].

A la parte hidrofílica de los surfactantes se le denomina comúnmente como “cabeza polar” y a la parte hidrofóbica como “cola hidrofóbica”, manteniéndose ambas partes unidas mediante un enlace covalente, el cual le da estabilidad a la molécula anfifílica. En la figura 2.1 se representa una molécula de surfactante con su cola hidrofóbica en el lado izquierdo y la cabeza polar en el derecho. La línea discontinua separa ambas regiones y está ubicada sobre el enlace covalente de la molécula. Los vértices de la línea en zig-zag de la cola hidrofóbica indican los carbonos presentes en la cadena alifática [16].

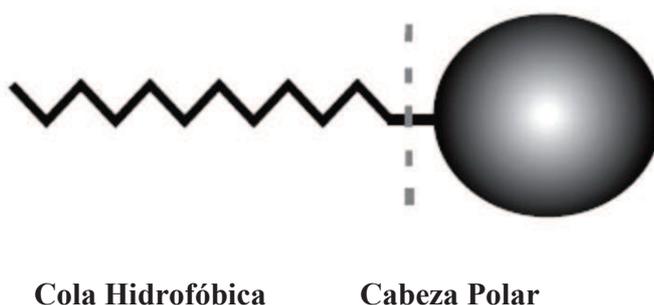


Fig. 2.1: Representación de una molécula de surfactante con su región polar y no-polar. La relación del tamaño de la cola y la cabeza es arbitraria.

De acuerdo a las características de la cabeza polar que los forman, los tensoactivos se clasifican en las siguientes familias:

Tensoactivos Neutros o no-iónicos: La cabeza polar es electrostáticamente neutra y no libera iones al formar soluciones. El ejemplo más común es la familia de tensoactivos del tipo C_iE_j (Polietilenglicol alquil-ether).

Tensoactivos Iónicos: La cabeza polar libera iones al formar soluciones. Si el ion liberado es un catión, entonces el surfactante es aniónico como el Dodecil Sulfato de Sodio (SDS), por el contrario si el ion liberado es un anión el surfactante será catiónico como en el caso del Bromuro de cetil-trimetil-amonio (CTAB).

Tensoactivos Zwitteriónicos: La cabeza polar puede adquirir carga eléctrica dependiendo del pH del solvente en que se encuentre, por ejemplo a pH ácido, cuando existe alta presencia de iones H^+ en la solución, los tensoactivos zwitteriónicos tienden a protonarse quedando cargada su cabeza positivamente. Cuando el pH es alcalino y no hay exceso de iones H^+ , la cabeza polar no modifica su carga y permanece neutra. El ejemplo más conocido es el surfactante Óxido de tetradecil-dimetilamino (C_{14} DMAO). [17]

Tabla 2.1: Fórmulas semi-desarrolladas de surfactantes representativos de las distintas familias de tensoactivos. En la parte izquierda se encierra en rectángulo la región hidrofóbica de los surfactantes. En círculos se encierra el contraión liberado por el surfactante en solución. La región de las fórmulas sin encerrar corresponden a las cabezas polares de los surfactantes.

Fórmula del Surfactante	Nombre Común	Clasificación
$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{i-2} - (\text{O}-\text{CH}_2 - \text{CH}_2)_j - \text{OH}$	$\text{C}_i \text{E}_j$	Neutro
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{11} - \text{S} - \text{O}^- \text{Na}^+ \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	SDS	Aniónico
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{15} - \text{N}^+ - \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \text{Br}^-$	CTAB	Catiónico
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{13} - \text{N} = \text{O} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	C_{14} DMAO	Zwiteriónico

Aunque todos los surfactantes anteriormente señalados en la tabla 2.1 se componen de una sola cola hidrofóbica, existen también surfactantes formados por dos colas hidrofóbicas y una cabeza polar como lo es el AOT (bis(2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio) o bien, surfactantes más sofisticados como los llamados surfactantes gemini, formados por dos o más cabezas polares y varias colas hidrofóbicas como los ilustrados en la figura 2.2 [18,19].

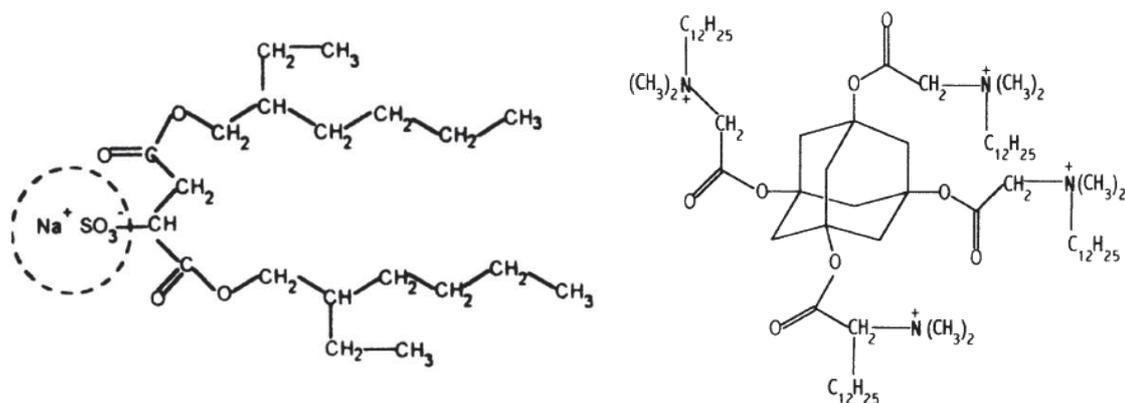


Fig. 2.2: Estructura del surfactante AOT (izquierda) y de un surfactante tipo Gemini compuesto por cuatro grupos iónicos y cuatro colas hidrofóbicas.

Por su relevancia en la biología, específicamente en las funciones celulares, mencionamos a los fosfolípidos, los cuales son moléculas anfífilas cuyo papel es constituir la unidad estructural básica que forma a la pared celular y a las membranas que forman a los distintos organelos presentes al interior de la célula.

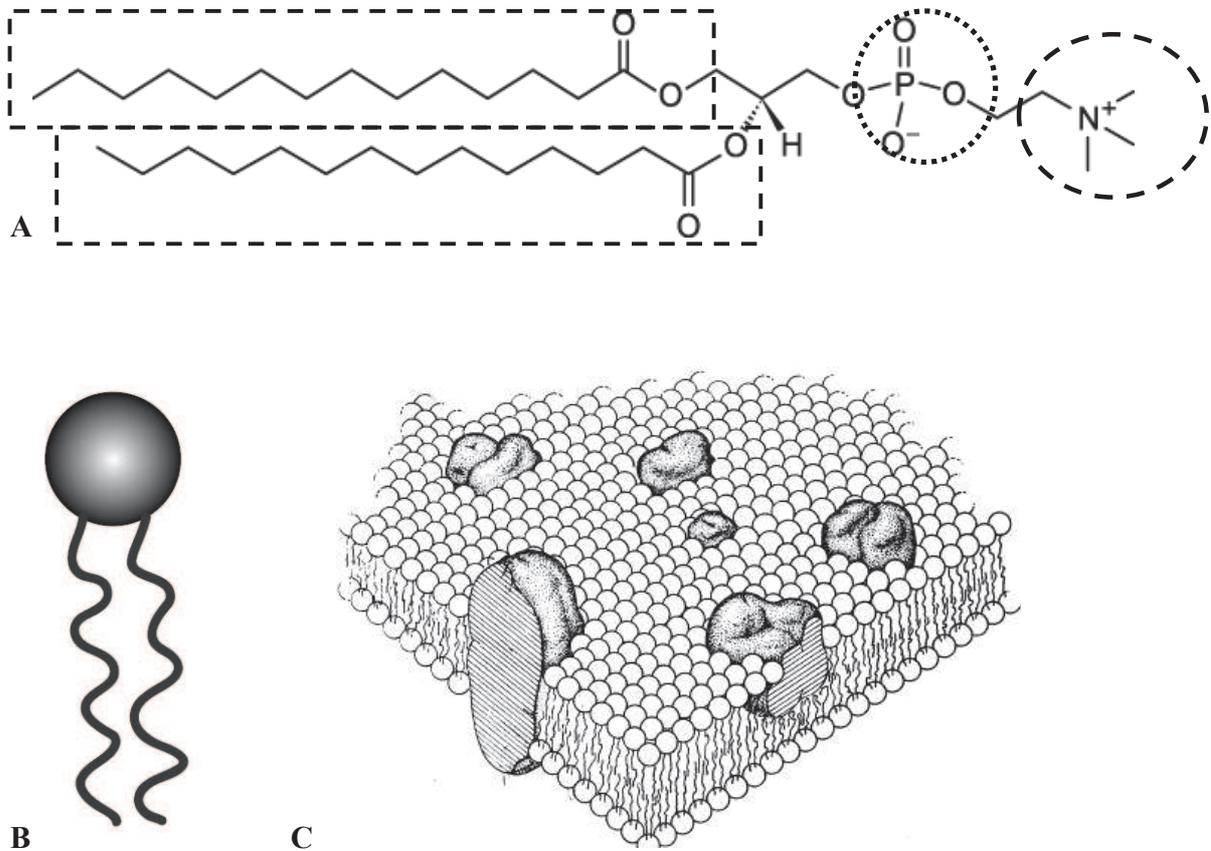


Fig. 2.3: En A se muestra la estructura típica de un fosfolípido (Dimyristoyl Fosfatidil Colina, DMPC). De derecha a izquierda aparece el grupo Colina, Fosfato y los ácidos grasos (colas hidrófobas). En B se muestra la representación esquemática de un fosfolípido. En C se representa el modelo del mosaico fluido para la membrana celular [20]

2.2 Fases características de tensoactivos

La característica anfifílica de los surfactantes le confieren la capacidad de absorberse en la interfase de solventes polares y no polares dando lugar a muchas fases estudiadas ampliamente. Dependiendo de la temperatura, la concentración y de su geometría, las moléculas de tensoactivos se asocian minimizando la energía de interfase y maximizando la entropía. En soluciones acuosas, los tensoactivos disminuyen la tensión superficial de la interfase agua-aire. Al aumentar su concentración en el agua, las moléculas de tensoactivo se acumulan en la interfase hasta que la tensión superficial alcanza su valor mínimo (figura 2.4). A partir de esta concentración, definida como concentración micelar crítica (cmc), los tensoactivos se organizan en micelas directas [21].

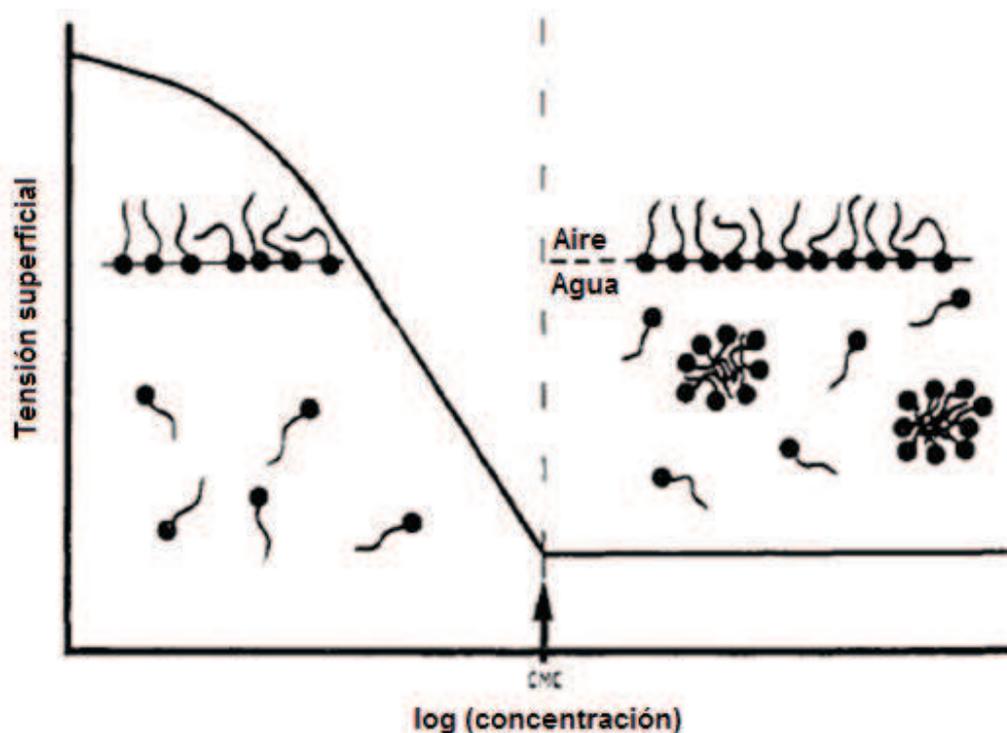


Fig. 2.4: Evolución de la tensión superficial en la interfase aire-agua en función de la concentración de surfactante para una solución micelar acuosa.

La adición de sal a una solución de surfactante del tipo iónico produce un apantallamiento en las interacciones de las cabezas cargadas de las moléculas de surfactantes que forman las micelas generando un ambiente más propicio para el autoensamblaje de las mismas, lo cual se traduce en un decremento de la cmc y en un aumento en el número de agregación promedio de moléculas de surfactantes en micelas, como se muestra en la figura 2.5 para el caso del SDS en solución salina de NaCl [22].

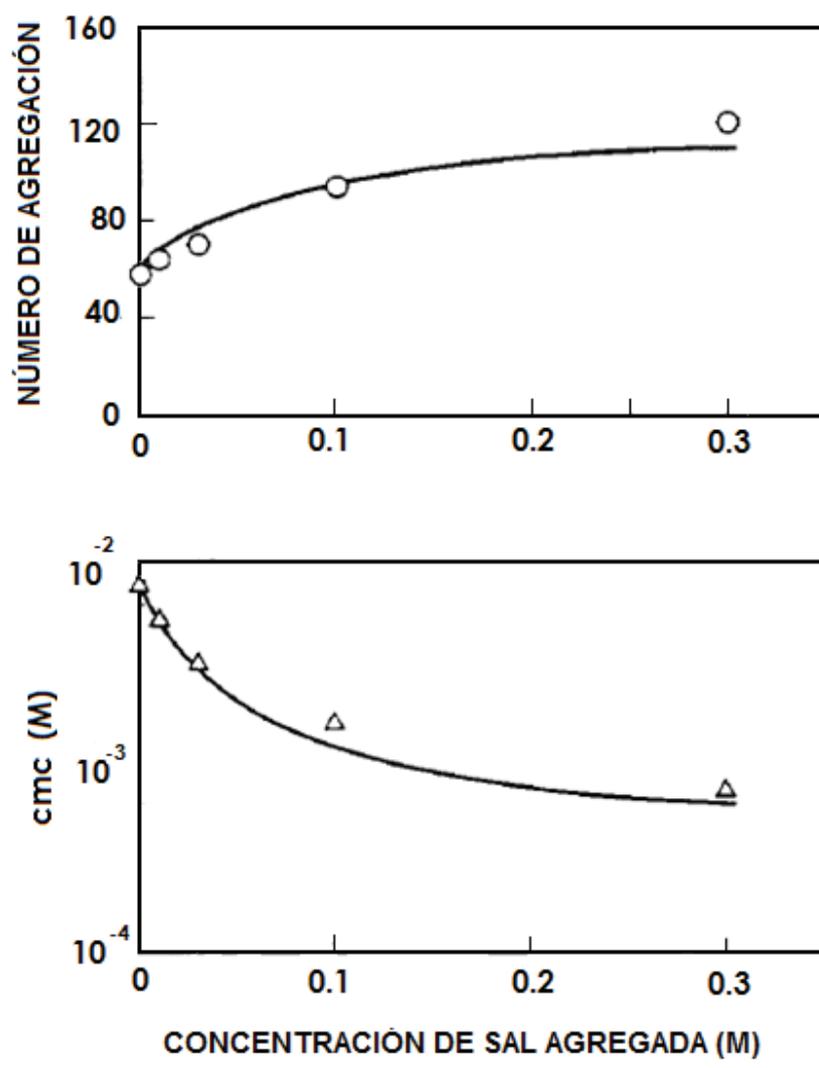


Fig. 2.5: Efecto de incorporar NaCl sobre la cmc y el número de agregación promedio en micelas de SDS [22].

En este trabajo de tesis los sistemas de surfactante son formados en soluciones salinas a concentración constante de 170mM de NaCl, de tal forma que la cmc para el SDS disminuye desde un valor de 8.4mM a un valor aproximado de 1mM, según se observa en la figura 2.5. Otro factor a considerar sobre el valor de la cmc de surfactantes iónicos es la incorporación de moléculas cosurfactantes en el sistema como puede ser la adición de alcoholes. La presencia de estas moléculas favorecen un descenso de la cmc que puede explicarse en términos de la disminución de la energía libre de una micela debido principalmente a una menor densidad de carga superficial por la presencia de las moléculas del cosurfactante en la micela, lo que disminuye la energía repulsiva entre cabezas [23].

2.3 El Parámetro de Empaquetamiento Crítico

Israelachvili, Mitchell y Ninham propusieron un modelo geométrico para determinar la estructura de los agregados obtenidos por moléculas anfifílicas disueltas en solventes considerando parámetros propios de las moléculas de surfactantes [24]. Ellos proponen un parámetro denominado parámetro de empaquetamiento el cual simplemente es la relación entre el volumen ocupado por la cadena alifática del surfactante (v) respecto al volumen obtenido por el producto del área óptima de la cabeza polar (a_0) y de la longitud de la cadena hidrocarbonada totalmente extendida (l):

$$P_{emp} = \frac{v}{a_0 l} \quad (2.1)$$

Aquí, el área óptima de la cabeza del surfactante (a_0), se refiere al valor del área contigua a la cabeza del surfactante que minimiza la energía de interacción entre las moléculas de surfactante, como se ilustra en la figura 2.6

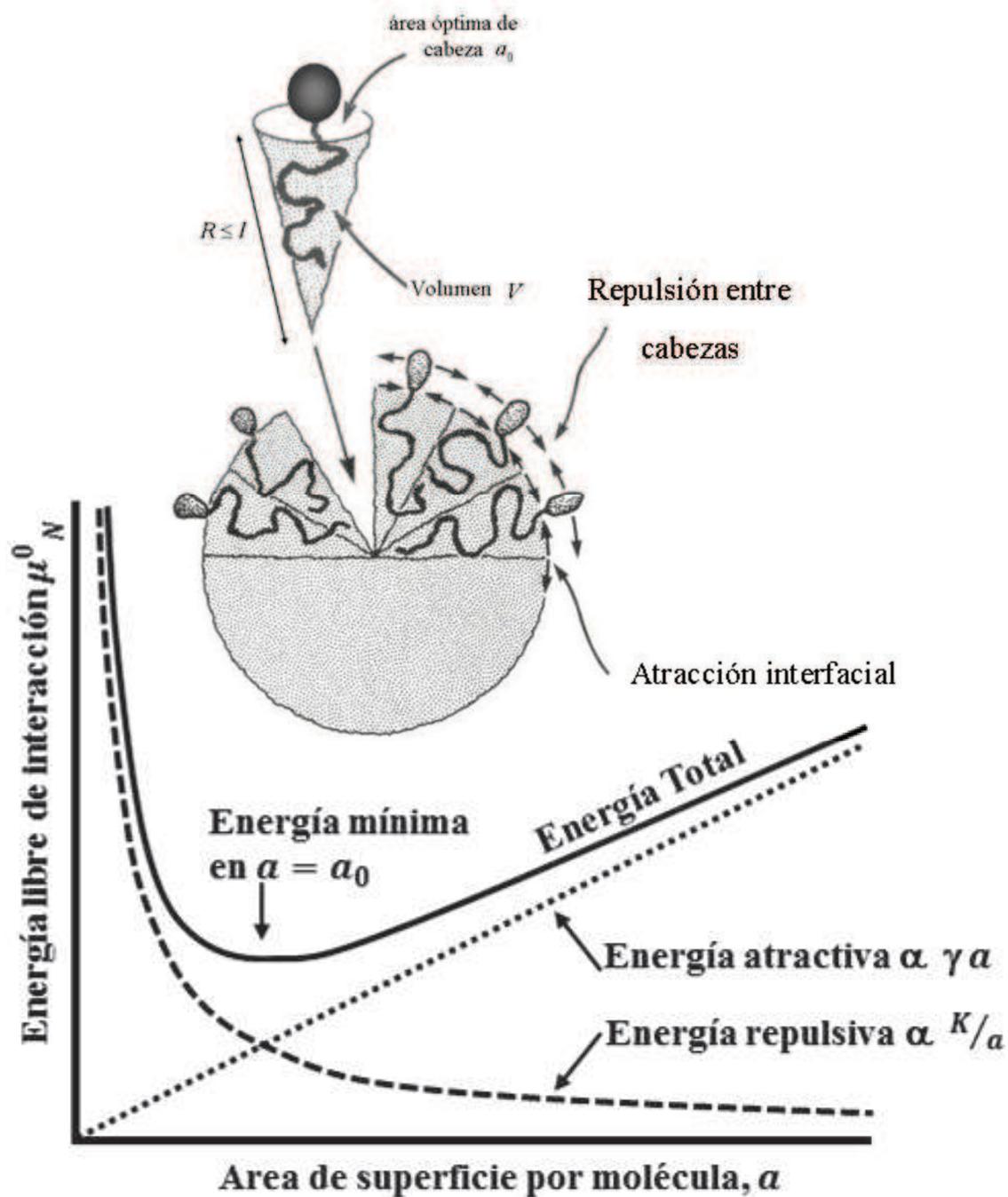


Fig. 2.6: Determinación del área óptima de cabeza a_0 a partir de la minimización de la energía libre de interacción entre moléculas del surfactante. Se representan las interacciones dominantes en la contribución a la energía libre total y los parámetros geométricos que definen al parámetro de empaquetamiento [24].

El volumen molecular de la cola hidrofóbica del surfactante conteniendo n_c átomos de carbono puede calcularse a partir de las contribuciones al volumen de los $n_c - 1$ grupos metilenos ($-CH_2-$) y el grupo metil terminal ($-CH_3$):

$$v = v_{(CH_3)} + (n_c - 1)v_{(-CH_2-)} \quad (2.2)$$

Sobre el intervalo de temperaturas de 273-373K, los volúmenes moleculares de los grupos metilenos y metil cambian de forma lineal por lo que sus volúmenes pueden determinarse como

$$v_{(CH_3)} = 54.6 + 0.124(T - 298) \overset{\circ}{\text{A}}^3 \quad (2.3)$$

y

$$v_{(-CH_2-)} = 26.9 + 0.0146(T - 298) \overset{\circ}{\text{A}}^3 \quad (2.4)$$

con T en Kelvins. La longitud de la cadena extendida del surfactante, a 298K, puede calcularse de acuerdo a Tanford [25] como

$$l = 1.50 + 1.265n_c \overset{\circ}{\text{A}} \quad (2.5)$$

Es posible calcular el valor del área por cabeza polar para el SDS a partir de la figura 2.5 donde se tiene que el número promedio de agregación para las micelas de SDS formadas en solución acuosa sin sal es de aproximadamente 60 moléculas de SDS por micela ; considerando que el área de la micela está dada como $4\pi l^2 = na_0$, con n como el número promedio de agregación igual a 60 y la longitud de la cadena l calculada para $n_c=12$ según (2.5), obtenemos que $a_0 \approx 60 \overset{\circ}{\text{A}}^2$, muy próximo al valor propuesto por Brackman [26]. Así, conociendo los parámetros anteriormente señalados (l, a_0 y v) se puede predecir la estructura que adoptará el sistema surfactante-solvente al empaquetarse.

A continuación, estableceremos para geometrías básicas cuales son los valores que debe tener el parámetro de empaquetamiento crítico en cada una de ellas.

A) Configuración micelar

Una micela de radio R no puede exceder la longitud de la cadena completamente estirada, esto es, $R \leq l$ así, para micelas de radio R y esféricas, que contienen N moléculas de surfactante, el volumen total del núcleo hidrofóbico es

$$V = \frac{4}{3}\pi R^3 = Nv \quad (2.6)$$

Y el área total de la micela esférica es

$$A = 4\pi R^2 = Na \quad (2.7)$$

Igualando las ecuaciones (2.6 y 2.7) obtenemos

$$a = \frac{3v}{R} \quad (2.8)$$

Y considerando que $R \leq l$ entonces

$$\frac{v}{al} \leq \frac{1}{3} \quad (2.9)$$

B) Configuración de membranas planas

En el caso de membranas planas el espesor de una monocapa está dado como l y para una membrana con espesor de bicapa δ también se cumple que $l = \frac{\delta}{2}$, así, l es la mitad del grosor de la membrana. Si la bicapa tiene una extensión L y hay N moléculas anfifílicas entre ambas capas, entonces, el volumen total está dado por

$$V = \delta L^2 = Nv \quad (2.10)$$

Y el área de una monocapa se obtiene como

$$A = L^2 = \frac{Na}{2} \quad (2.11)$$

Lo que implica

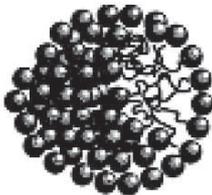
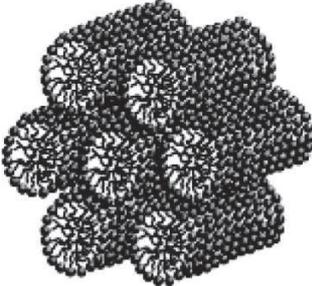
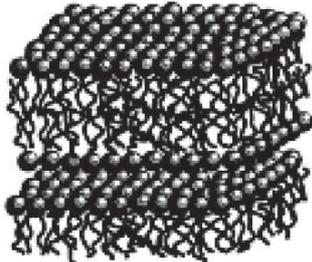
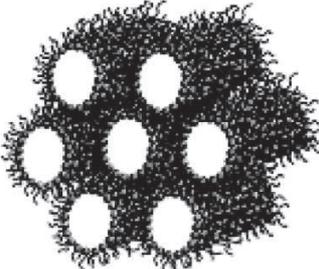
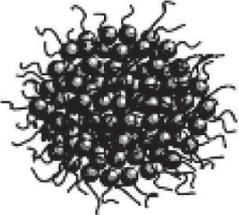
$$\delta = \frac{2v}{a} = 2l \quad (2.12)$$

Por lo que el parámetro de empaquetamiento es

$$\frac{v}{al} = 1 \quad (2.13)$$

Es posible obtener bajo las mismas consideraciones un desarrollo análogo para predecir los valores que debe cumplir el parámetro de empaquetamiento para otras estructuras como la micelar cilíndrica, la vesicular y las micelas inversas. En la tabla 2.1 se describen las posibles estructuras autoensambladas de moléculas anfifílicas según el valor del parámetro de empaquetamiento crítico [24]. Existen algunos factores que pueden modificar sustancialmente los valores de los parámetros de empaquetamiento como por ejemplo, la adición de moléculas que actúan como cosurfactantes como en el caso de alcoholes de cadena larga, la presencia de surfactantes con insaturaciones las cuales provocan una reducción de la longitud de la cadena hidrofóbica [17], o la adición de moléculas cargadas a sistemas de surfactantes iónicos [27].

Tabla 2.2: Estructuras autoensambladas de moléculas anfifílicas según los valores correspondientes del parámetro de empaquetamiento crítico.

Parámetro de Empaquetamiento		Fase
$v/al < 1/3$ 		Micelar Esférica
$1/3 < v/al < 1/2$ 		Micelar Cilíndrica
$v/al \approx 1$ 		Lamelar
$v/al > 1$ 		Micelar Cilíndrica Inversa
		Micelar Esférica Inversa

En la figura 2.7 se presenta el comportamiento de las fases de un sistema binario surfactante/agua asumiendo como punto de partida moléculas de surfactante donde la cabeza polar y cadena alifática son de tamaños similares. Si leemos el diagrama de fases a partir de la derecha, en la zona de alta dilución, las micelas pasan de la forma esférica a la forma cilíndrica a medida que la concentración aumenta (moviéndonos hacia la izquierda). El sistema posteriormente evoluciona a la fase hexagonal constituida por cilindros largos de tensoactivo alineados y separados por el agua que solvata a las cabezas polares expuestas de los surfactantes. Al ir incrementando la concentración de surfactante, el sistema se organiza formando membranas de bicapas paralelas entre sí y de extensión infinita colocadas una sobre otra y separadas por regiones de agua dando lugar a la fase lamelar, cuyas características se describen más adelante. Cuando el contenido relativo del agua en el sistema ha disminuido sustancialmente se forman estructuras que encapsulan al agua, primero formando fases hexagonales invertidas y a más bajo contenido de agua, constituyendo fase micelares inversas

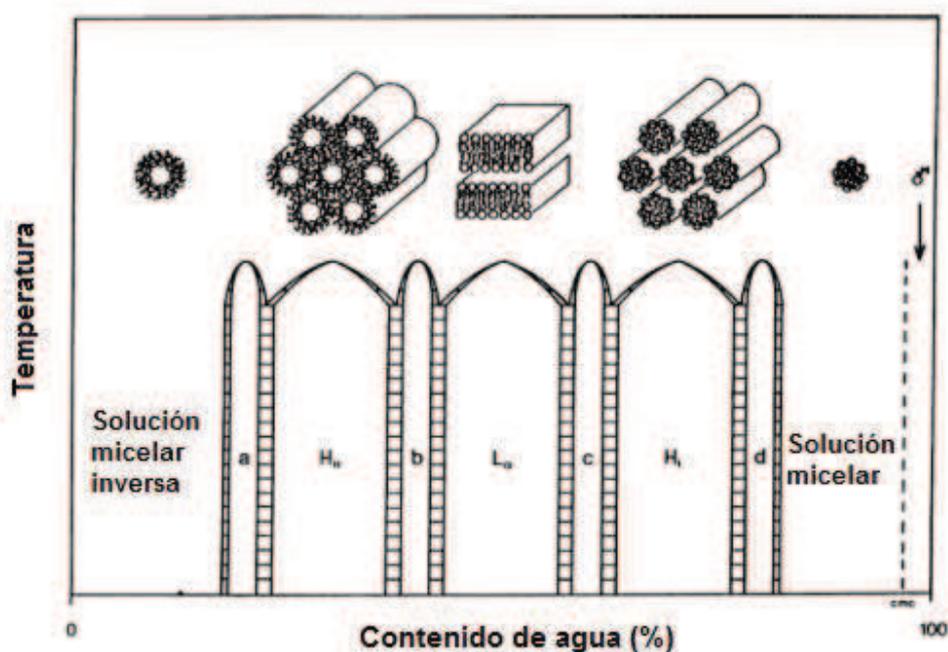


Fig. 2.7: Diagrama de fases para un sistema binario surfactante/agua. Las transiciones de fases se originan al variar el contenido relativo de agua, el cual disminuye hacia la izquierda [28].

2.4 Estructura de la fase lamelar

En un sistema binario, la fase lamelar esta formada por bicapas de surfactante separadas por una región de solvente. Localmente, las bicapas de surfactante son de extensión infinita, son paralelas y están periódicamente espaciadas en dirección perpendicular a su plano promedio. El sistema se considera como un ensemble de bicapas en solución espaciadas de tal manera que maximicen su volumen.

El periodo de la fase lamelar o distancia de Bragg denotado como d_B es la suma del espesor de la bicapa δ y la distancia correspondiente al solvente es d , como se denota en la figura 2.8.

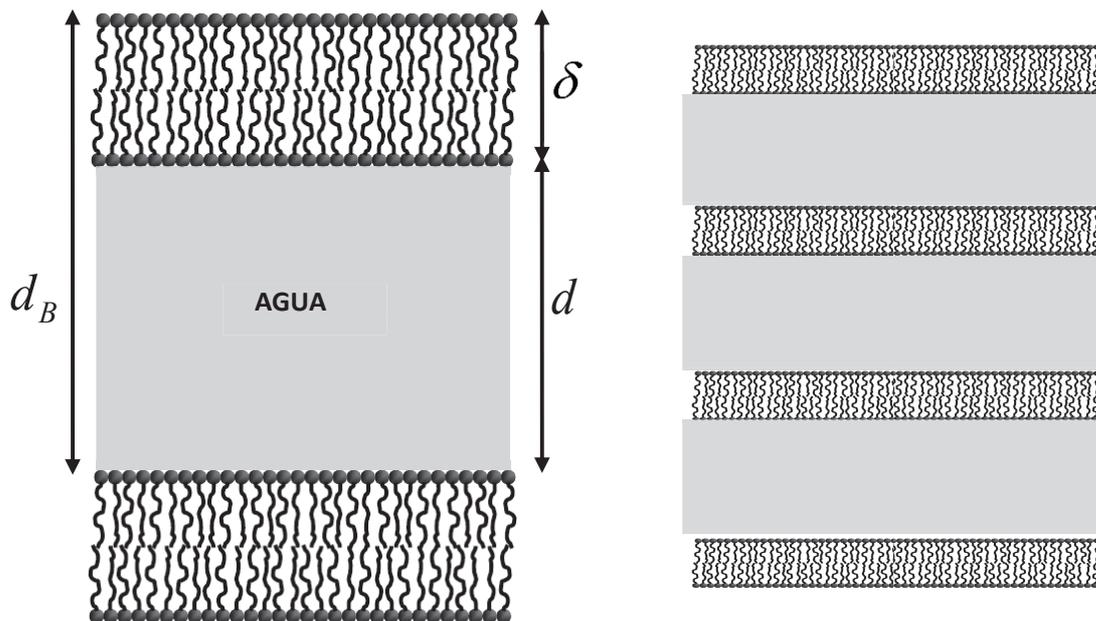


Fig. 2.8: Representación de un arreglo de membranas lamelares rígidas. En el lado izquierdo se representan los parámetros característicos de una fase lamelar. En el lado derecho un representación extendida de un arreglo periódico lamelar liotrópica.

2.5 Ley de Dilución Clásica para fase Lamelar

La ley de dilución nos relaciona la distancia de Bragg d_B con la fracción de volumen de membrana Φ . Para deducir dicha ley para una fase lamelar se parte de las consideraciones más idealizadas, esto es, suponer que las membranas que integran la bicapa son rígidas y perfectamente planas. El espesor de la membrana formada por bicapas se denota como δ y la periodicidad de los arreglos de membrana por d_B como se ilustra en la figura 2.9.

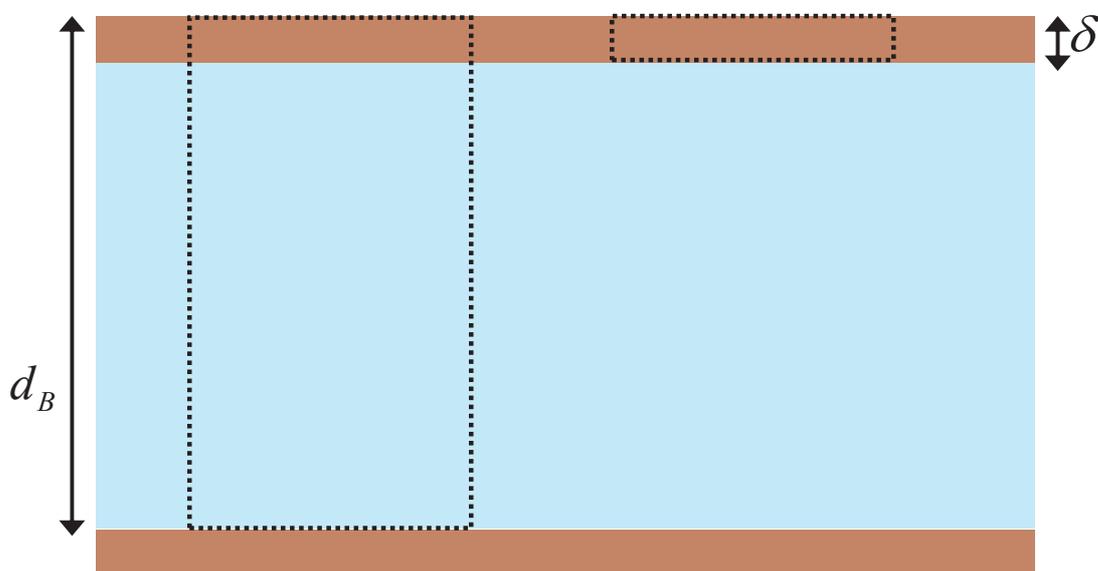


Fig. 2.9: Esquema simplificado de dos membranas en fase lamelar separadas por agua. Los rectángulos discontinuos representan a los cilindros de alturas d_B y δ y áreas de bases iguales A_b .

Ahora tomamos un cilindro con área de la base A_b y altura d_B , es decir, que incluya tanto a la bicapa como al solvente que media entre las membranas. De la definición de la fracción de volumen de membrana en la muestra:

$$\Phi_m = \frac{V_m}{V_T} \quad (2.14)$$

donde V_m es el volumen total de la membrana y V_T el volumen total de la muestra. De nuestra construcción en la fig. 2.9 tomamos ahora un cilindro con área de la base también de A_b y espesor δ . Así, los cilindros demarcados en la figura 2.9 representan a los volúmenes de la muestra y de la membrana, por lo que podemos definir a la fracción de volumen de membrana como:

$$\Phi = \frac{A_b \delta}{A_b d_B} \quad (2.15)$$

y

$$\Phi = \frac{\delta}{d_B} \quad (2.16)$$

la cual es conocida como la ley de dilución clásica [29].

Es decir, conociendo los volúmenes de los constituyentes que integran a las membranas del sistema respecto al total de la muestra (lo cual controlamos al formular las composiciones de las muestras) y midiendo experimentalmente d_B , podemos estimar el espesor de la bicapa. En la práctica, se determina experimentalmente la distancia de Bragg empleando generalmente la técnica de SAXS a través de la relación

$$d_B = \frac{2\pi}{q_{max}} \quad (2.17)$$

donde q_{max} corresponde al vector de onda del pico más intenso en el espectro de dispersión.

Para el caso de sistemas de membranas fluctuantes, altamente flexibles y estabilizadas por repulsiones estéricas, Helfrich propuso una corrección logarítmica a la ley de dilución clásica que toma en cuenta el área que dichas ondulaciones de membrana consume [29,30]:

$$\Phi = \frac{\delta}{d_B} \left\{ 1 + \frac{k_B T}{4\pi k} \ln \left[(d_B - \delta) \sqrt{\frac{32k}{3\pi k_B T a_0}} \right] \right\} \quad (2.18)$$

donde δ , d_B y a_0 se han definido anteriormente y k es la constante elástica de la membrana.

2.6 Fase Esponja L3

Fontell fue el primero en identificar la existencia de una fase isotrópica líquida de comportamiento anómalo y hasta entonces no identificada para el sistema AOT (surfactante aniónico)-Agua-NaCl [31]. Dicha fase, presente en varios sistemas anfílicos [32-35] se caracteriza por carecer de orden estructural aún a grandes distancias, por existir a grandes diluciones de membrana en sistemas de surfactantes y presentar birrefringencia transitoria bajo la acción de esfuerzos de corte [36]. La fase en cuestión es conocida como fase esponja o L_3 , formada por una membrana de bicapa que da lugar a estructuras interconectadas como una esponja fluida infinita separando al solvente en dos regiones. Un rasgo distintivo es el carácter limitado o estrecho de la región monofásica L_3 en los diagramas de fase de los sistemas de surfactantes.

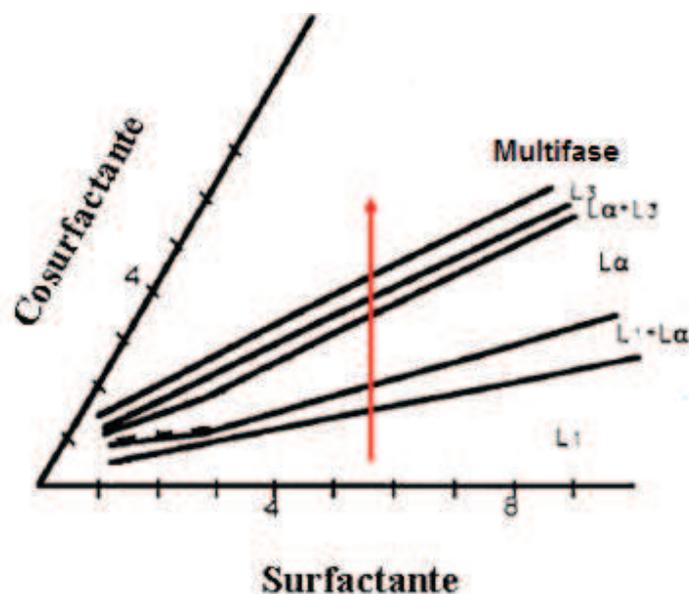


Fig. 2.10: Diagrama de fase ternario. El tercer componente es agua. El cosurfactante puede ser un alcohol de cadena corta (2-6 carbonos). Se destaca la estrechez de la zona de formación de la fase L_3 . La línea roja indica la dirección hacia donde crece la razón cosurfactante/surfactante.

En presencia de cosurfactantes es posible transitar de la fase lamelar L_α a la fase L_3 aumentando la razón molar cosurfactante/surfactante como se ilustra en la figura 2.10.

En la fase esponja, al igual que en la fase lamelar, existen dos longitudes características. La primera de ellas, asociada a una escala local, es el espesor de la bicapa δ . La segunda es una distancia estructural atribuible a la distancia promedio entre las bicapas o bien al tamaño del poro en la estructura esponja [35].

En la fase esponja, el análisis del comportamiento de los valores que toma q_{max} como función de la fracción de volumen de la membrana (Φ) lleva a un resultado cualitativamente similar al obtenido para la fase lamelar. Así, la ley de dilución para la fase esponja la podemos escribir como:

$$q_{max} = \alpha \frac{2\pi}{\delta} \Phi \quad (2.19)$$

donde α es una constante con valor teórico predicho de $\alpha \approx 1.5$ y valores experimentales de $\alpha = 1.4 - 1.6$ [37].

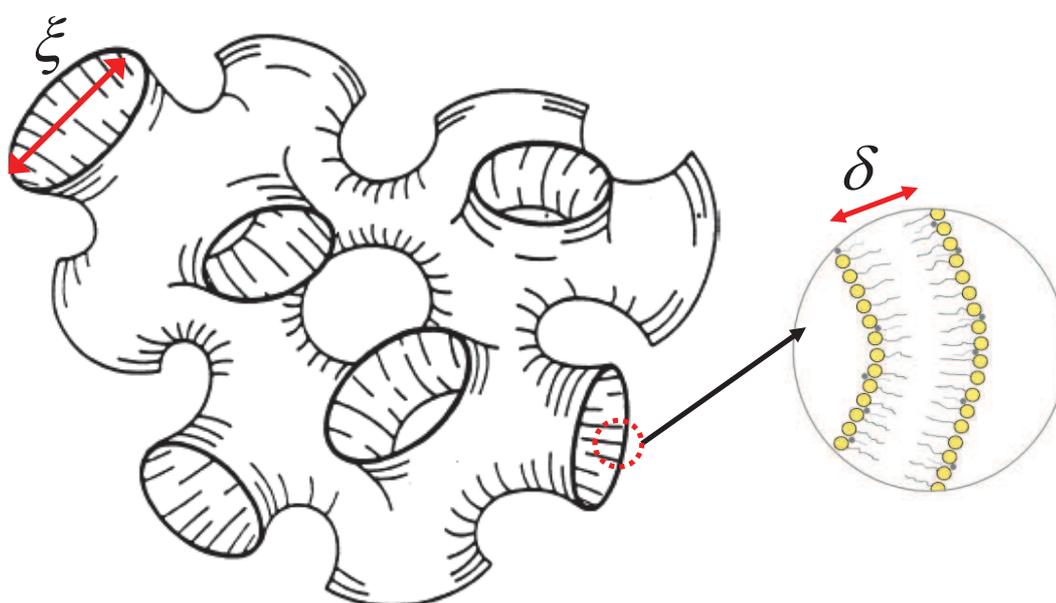


Fig. 2.11: Representación de la fase esponja señalando sus distancias características. La figura a la derecha muestra la estructura de la bicapa que forma a la membrana, la cual contiene moléculas de surfactante y cosurfactante [38].

La fase esponja se ha empleado como modelo estructural para el estudio de membranas biológicas como las que forman al retículo endoplásmico y el aparato de Golgi [39,40], como vehículo para el transporte de drogas y fármacos [41], ha sido empleada como molde o reactor para la síntesis de nanopartículas [42] y presenta un futuro promisorio como “maquinaria” para la cristalización de proteínas de membrana [43].

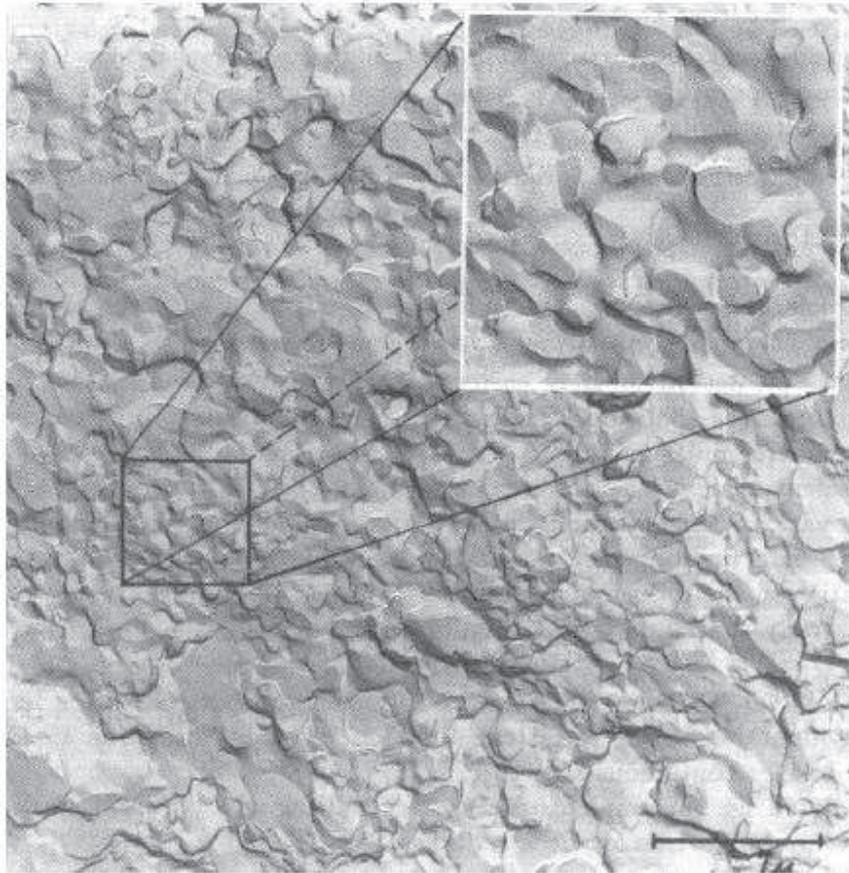


Fig. 2.12: Muestra de fase esponja vista por la técnica de microscopía de Criofractura [44]

2.7 Interacciones presentes en sistemas de fases lamelares liotrópicas

Las fuerzas de interacción presentes entre dos membranas paralelas separadas por una capa de agua, tal como sucede en la fase lamelar liotrópica, implican interacciones tanto atractivas como repulsivas. Así, para membranas formadas por bicapas de surfactantes neutros, el potencial dominante de interacción entre las membranas fluidas es el potencial repulsivo de Helfrich [45]. Si las distancias están debajo de 20 \AA entonces la interacción repulsiva dominante será el potencial de Hidratación. Para membranas cargadas aparece el Potencial Electrostático, el cual es de carácter repulsivo y se impone generalmente al resto de las interacciones presentes [46]; respecto a dicho potencial existen dos casos límite de interés: cuando no existe sal agregada en el solvente y para grandes concentraciones de sal disuelta en el solvente. Otro potencial a considerar es la interacción de Van der Waals entre membranas, la cual es de carácter atractivo; sin embargo este potencial suele ser despreciado en su contribución para el caso de fases lamelares diluidas donde las membranas no están confinadas [47]. Si consideramos un sistema de membranas planas de espesor δ , las cuales se encuentran separadas por el solvente en una distancia d (la distancia de repetición para el arreglo de membranas es $d_B = d + \delta$) la energía potencial total de interacción en la ausencia de ondulaciones de la membrana está definida como

$$V_{Tot} = V_{vdW} + V_{elec} + V_{hyd} \quad (2.20)$$

A continuación abordaremos cada una de ellas.

2.7.1 Interacción de van der Waals

La interacción de van der Waals entre membranas es del tipo dipolo-dipolo, esto depende de la polarizabilidad de las moléculas presentes. Para distancias intermembranales del orden del espesor de la bicapa, es decir $d \approx \delta$, la energía potencial de van der Waals es:

$$V_{VDW} = \frac{-A_H}{12\pi} \left(\frac{1}{d^2} + \frac{1}{(d+2\delta)^2} - \frac{2}{(d+\delta)^2} \right) \quad (2.21)$$

Esta interacción es atractiva y varía como $1/d^2$ para pequeños valores de distancias de separación de membranas d y con un comportamiento como $1/d^4$ para largas d . Cuando $d > 1000\text{\AA}$, las fuerzas de Van der Waals son mas débiles variando como $1/d^5$. A_H es la constante de Hamaker y tiene un valor del orden de $k_B T$.

2.7.2 Interacción de hidratación

Dos superficies separadas por una película de agua del espesor de unas pocas moléculas están sujetas a una repulsión llamada hidratación que viene de los costos energéticos debido a la distorsión de la estructura del agua y la orientación de las moléculas, cerca de la bicapa.

Esta repulsión es modelada por una fuerza por unidad de superficie o presión (Π en Nm^{-2})

$$\Pi = \Pi_0 e^{-d/\lambda_H} = -\frac{\partial V_{hyd}}{\partial d} \quad (2.22)$$

donde d es el espesor del agua que separa las bicapas y λ_H es una distancia característica de decaimiento que tiene valor entre 2\AA y 3\AA . Así la energía potencial por unidad de superficie es:

$$V_{hyd} = H_0 e^{-\frac{d}{\lambda_H}} \quad (2.23)$$

donde $H_0 = \Pi_0 \lambda_H$ y H_0 es una constante con valor aproximado de $4k_B T$ a temperatura ambiente. Esta interacción domina para distancias menores a 10\AA y resulta despreciable para $d > 30\text{\AA}$.

2.7.3 Interacción electrostática

La contribución del potencial electrostático puede calcularse a partir de la ecuación Poisson-Boltzmann. Si $\varphi(x)$ es el potencial, $\rho(x)$ es una densidad de carga y x una distancia respecto al plano cargado, la ecuación de Poisson- Boltzmann unidimensional queda

$$\frac{d^2 \varphi}{dx^2} = \frac{-4\pi\rho(x)}{\varepsilon} \quad (2.24)$$

Dos casos límites permiten obtener soluciones relativamente simples de $\varphi(x)$. En un límite el sistema consiste de dos planos cargados uniformemente (por ejemplo en el caso del surfactante SDS serían negativamente) separados por los contraiones (positivos en nuestro caso) en agua. La presión electrostática ejercida en una membrana, de acuerdo a Lipowski y Leibler [48] es

$$P_{elec} = kT \frac{2\alpha q}{\Sigma d \tan(q)} \quad (2.25)$$

Donde

$$q \tan(q) = \frac{\pi e^2 \alpha}{\varepsilon \Sigma kT} d \equiv L_e \frac{\alpha}{\Sigma} d \quad (2.26)$$

aquí, L_e tiene unidades de longitud (con $L_e = 22\text{\AA}$ para la constante dieléctrica del agua $\varepsilon = 80$ y a temperatura ambiente $k_B T$), el parámetro α es la constante de disociación ($\alpha = 1$ si toda la carga está disociada) y Σ es el área de superficie por cabeza polar. Esta ecuación puede ser simplificada en la aproximación de altas densidades de carga y grandes distancias y queda

$$V_{elec} \approx \frac{\pi^2 kT}{2L_e} \frac{1}{d^2} \left[1 + \frac{\Sigma}{\alpha d L_e} \right]^{-2} \quad (2.27)$$

La energía por unidad de superficie es entonces dada por

$$V_{elec} = -\frac{1}{2S} \int_v P \delta v = -\frac{1}{2} \int_{\infty}^d P \delta d \quad (2.28)$$

donde S es área de un segmento y $\delta v = S \delta d$

$$V_{elec} = -\frac{1}{2} \int_{\infty}^d P \delta(d) = \frac{\pi^2 kT}{L_e 4d} \left[1 - \frac{\Sigma}{\alpha L_e d} + \left(\frac{\Sigma}{\alpha L_e d} \right)^2 + \dots \right] \quad (2.29)$$

Obtenemos así que el término dominante de la fuerza varía entonces como $1/d$.

Para el caso de nuestro interés donde incorporamos grandes concentraciones de iones y contraiones en solución al agregar la solución salina (NaCl + agua), la energía por unidad de superficie decae exponencialmente con la distancia de la forma

$$V_{elec} = E_0 e^{-d/\lambda_D} \quad (2.30)$$

donde $E_0 \propto \frac{\sigma^2}{c}$, siendo σ la densidad superficial de carga y c la concentración de sal en $moles/L$. Por su parte λ_D es la longitud de Debye, la cual nos marca el límite o distancia de influencia apreciable del potencial electrostático. En el caso de iones monovalentes, como el cloruro de sodio (NaCl), la longitud de Debye puede calcularse como

$$\lambda_D = \frac{0.3045}{\sqrt{C}} nm \quad (2.31)$$

donde C representa a la concentración de la sal expresada en mol/L .

Para una concentración de sal de 10g/L, es decir, (0.1712mol/L), la longitud de Debye es de 7.35 \AA , por lo que la aportación electrostática a las interacciones totales entre las membranas será sólo de muy corto alcance para este caso.

2.7.4 Interacción de Helfrich

Para el caso de membranas formadas por surfactante iónicos pero inmersas en solventes con altas concentraciones de sal (desde $100mM$), se dice que las interacciones electrostáticas intermembranales están apantalladas hasta una distancia definida por la longitud de Debye [49]; así, la estabilidad de la fase está mediada por el potencial de interacción entre membranas de Helfrich, el cual está definido como:

$$V_{Helf} = \frac{3\pi^2 (k_B T)^2}{128k} \frac{1}{d^2} \quad (2.32)$$

en donde d es el espesor de la capa del solvente que separa a las membranas y k es el módulo de curvatura de una sola bicapa.

2.7.5 Interacciones entre membranas mediadas por polímeros

El estudio de sistemas de fases lamelares en presencia de moléculas poliméricas ha despertado el interés durante las dos últimas décadas debido a las diferentes propiedades y comportamientos que pueden obtenerse modificando las interacciones intermembranales y las interacciones surfactante-polímero. Dependiendo de esta última interacción, el polímero puede localizarse por completo en la membrana [50], tanto en la membrana como en el solvente [51], adsorbido sobre la superficie de la bicapa [52] o localizada enteramente en el solvente [53]. A este último caso, Nallet le llamó “fase lamelar de solvente dopado” y corresponde al caso donde la molécula huésped no se incorpora dentro de la bicapa ni se adsorbe sobre la

membrana, manteniéndose en el solvente localizado entre las bicapas contiguas [54]. En general, existen cuatro diferentes regímenes de confinamiento para un Polímero no adsorbente a una fase lamelar, ilustrados en la figura 1.13. A continuación presentamos para cada uno de los distintos regímenes los cálculos correspondientes a las contribuciones por efecto del Polímero sobre el módulo de compresión de la membrana \bar{B} el cual está directamente relacionado al potencial Efectivo de interacción bicapa-bicapa definido en términos generales como

$$\bar{B} = d_B \frac{\partial^2 V}{\partial d^2} \quad (2.33)$$

donde definiremos a la distancia d_B como la distancia de periodicidad esméctica y a la distancia d como la distancia intermembranal o espesor del solvente.

2.7.5.1 Regímenes de Confinamiento de Polímeros no adsorbentes en fases lamelares

La primera consideración a establecer es que el polímero huésped es soluble en agua y no adsorbente, lo cual implica que no existe una interacción preferencial entre el polímero y las bicapas y que el polímero no penetra a través de las membranas. Se asume también que el polímero es monodisperso con grado de polimerización N y longitud de monómero a . El radio de Flory de las cadenas poliméricas es $R_F = aN^{3/5}$ y la fracción de volumen de traslape

del polímero es $\Phi^* = \frac{Na^3}{R_F^3}$.

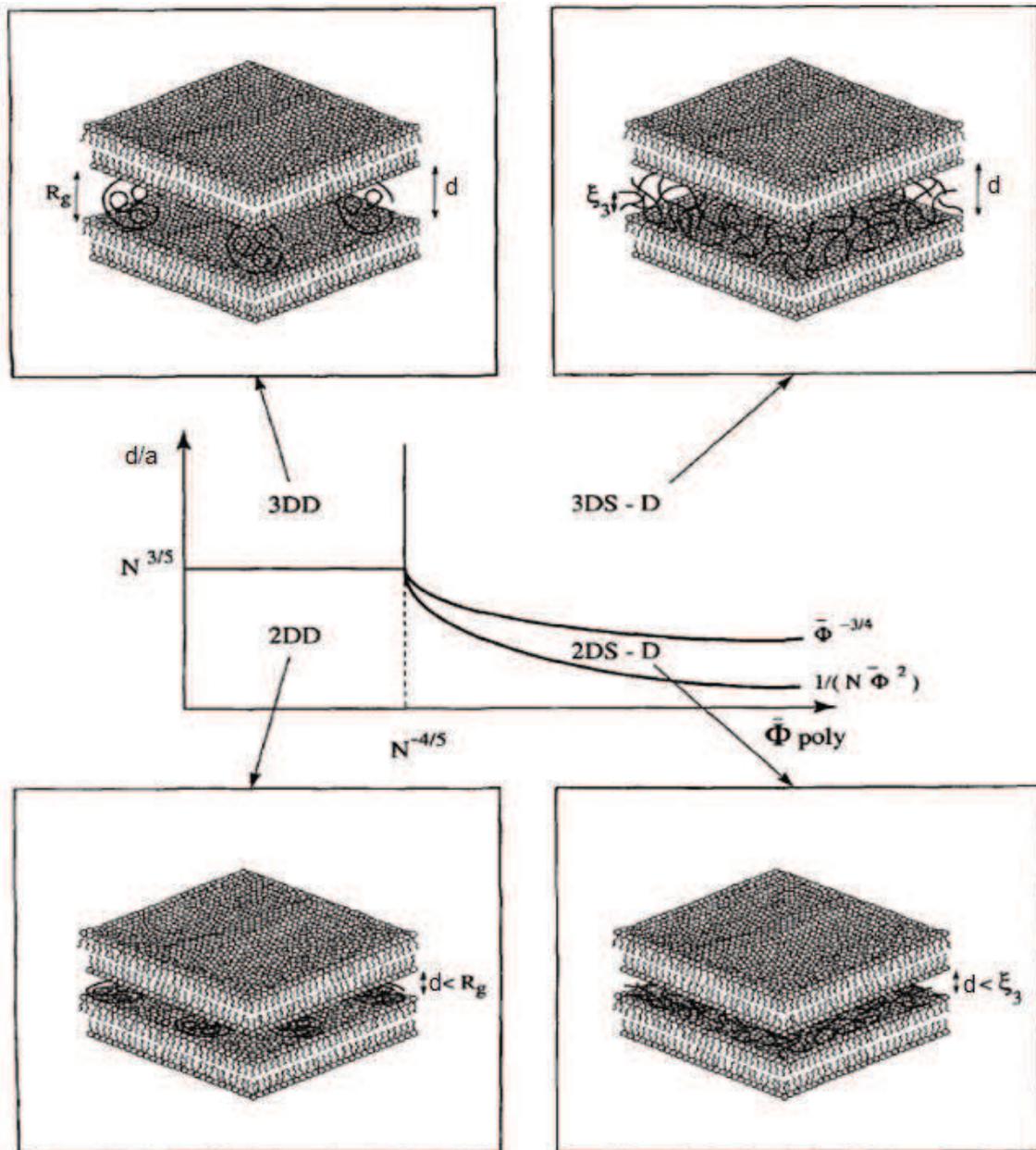


Fig. 2.13: Diagrama de los 4 regímenes de confinamiento de una solución de un polímero hidrosoluble y no adsorbente en una fase lamelar. En el eje x, $\bar{\Phi}$ es la fracción de volumen del polímero en el solvente. El eje y representa al espesor de la capa de agua entre bicapas adyacentes de surfactantes, normalizada respecto a la longitud del monómero del polímero d/a . [55]

- a) Para $d > R_F$ y $\bar{\Phi} < \Phi^*$ el solvente es una solución tridimensional diluida de cadenas de polímero (régimen 3DD). Las cadenas no se traslapan y mantienen su conformación promedio de ovillo esférico.
- b) Para $d > a\bar{\Phi}^{-3/4}$ y $\bar{\Phi} > \Phi^*$ el solvente es una solución tridimensional semidiluida de cadenas de polímero (régimen 3DSD). Las cadenas se traslapan pero no se mantienen comprimidas.
- c) Para $a/\left(N\bar{\Phi}^2\right) < d < a\bar{\Phi}^{-3/4}$ y $\bar{\Phi} > \Phi^*$. Este régimen es llamado régimen bidimensional semidiluido (régimen 2DSD). En el las cadenas se traslapan y son constreñidas en su movimiento por las fronteras, es decir por las bicapas.
- d) Para $d < R_F$ y $\bar{\Phi} < \Phi^*$ o con $d < a/\left(N\bar{\Phi}^2\right)$ y $\bar{\Phi} > \Phi^*$. El solvente es una solución bidimensional diluida de cadenas de polímero (régimen 2DD) donde las cadenas no se traslapan pero están “apretadas”.

De la definición del módulo de compresión de la capa de un solvente dopado de fase lamelar obtenemos la contribución del polímero al módulo \bar{B} en cada uno de los regímenes de confinamiento del polímero en el solvente mencionados anteriormente:

Régimen 3DD:

$$\bar{B}_\mu^{pol} \cong -4 \frac{k_B T N^{1/5} d_B \bar{\Phi}}{a d^3} \quad (2.34)$$

Régimen 3DSD:

$$\bar{B}_\mu^{pol} \cong -\frac{16 \rho^2 k_B T d_B}{5 \beta a} \bar{\Phi}^{3/4} \quad (2.35)$$

Régimen 2DSD:

$$\bar{B}_\mu^{pol} \cong -\frac{25 \delta^2 k_B T d_B}{54 a^4} \left(\frac{a}{d} \right)^{16/3} \bar{\Phi}^{-1} \quad (2.36)$$

Régimen D2D:

$$\bar{B}_\mu^{pol} \cong -\frac{25 \alpha^2 k_B T}{9} N \bar{\Phi} \left(\frac{a}{d} \right)^{1/3} \frac{d_B}{d^4} \quad (2.37)$$

Los parámetros β y ρ son calculados por Brooks y Cates con valores de 1.97 y 0.985 respectivamente. De igual manera los mismos autores proponen que $\delta \cong 2.22$ [56]. Para el parámetro α existe discrepancia pues mientras Brooks y Cates sostienen que $\alpha = 0.1$, otros autores le asignan el valor de la unidad.

Como se observa en las ecuaciones anteriores se tiene que la contribución del polímero al módulo de compresibilidad \bar{B} es en todos los casos negativa, lo que significa que las interacciones mediadas por el polímero son de carácter atractivo por lo que las distancias intermembranales tenderían a colapsarse si solamente este potencial estuviese presente en el sistema de membranas desestabilizando el orden esméctico del mismo. Sin embargo, en ausencia de sal y para sistemas de membranas altamente cargados esta interacción desestabilizadora no puede competir con las interacciones electrostáticas las cuales estabilizan el sistema. Este hecho explica porque algunos autores reportan que son capaces de incorporar grandes cantidades de polímero soluble en agua como el PVP (polivinilpirrolidona) y el PEG (polietilenglicol) en sistemas de fases lamelares de surfactantes cargados sin que se presenten separaciones de fase [57,52] y de igual forma, también explica porque al apantallar las interacciones electrostáticas agregando sal al sistema se obtienen separaciones de fase del tipo lamelar/lamelar [46].

2.7.5.2 El Potencial Efectivo en un sistema de Membranas de fase lamelar: El módulo de compresión esméctico

Para el caso de sistemas relativamente diluidos es posible despreciar algunas interacciones como son las interacciones de Van der Waals y las interacciones de hidratación de tal forma que las contribuciones de mayor aportación al potencial de interacción entre bicapas de surfactante corresponden a dos que son estabilizantes y repulsivas y a otra desestabilizante atractiva: el potencial electrostático $V_{elec}(d)$, el potencial de interacción de Helfrich $V_{Helf}(d)$ y el potencial de interacción de polímero $V_{pol}(d, \bar{\Phi})$, respectivamente. Asumiendo que estos tres potenciales de interacción no están acoplados, podemos escribir el potencial de interacción intermembranal total como:

$$V = V_{elec} + V_{Helf} + V_{pol} \quad (2.38)$$

Por lo que el módulo de compresión esméctico total también puede escribirse como la suma de las correspondientes contribuciones a los potenciales señalados, esto es,

$$\bar{B} = \bar{B}_{elec} + \bar{B}_{Helf} + \bar{B}_{\mu}^{pol} \quad (2.39)$$

Donde el módulo de compresión esméctico, en su contribución electrostática \bar{B}_{elec} tiene dos casos a considerar:

CASO I: Membranas cargadas sin apantallamiento (\bar{B}_{elec} para una concentración nula de sal en el solvente $[\text{NaCl}]=0$):

$$\bar{B}_{elec} = d_B \left(\frac{\partial^2 V_{elec}}{\partial d^2} \right) \quad (2.40)$$

$$\bar{B}_{elec} = \frac{\pi k_B T}{2l_B} \frac{d_B}{d^3} (1 - 3\tau + 6\tau^2 + \dots) \quad (2.41)$$

donde $\tau = \frac{\Sigma}{dl_B}$, $l_B = \frac{e^2}{4\pi\epsilon k_B T} \approx 7.2 \text{ \AA}$ es la longitud de Bjerrum en agua y a temperatura ambiente (la longitud de Bjerrum corresponde a la distancia para la cual la energía electrostática clásica y la energía de agitación térmica son iguales). Σ es el área superficial por cabeza cargada de la membrana .

CASO II: Membranas cargadas con apantallamiento (\bar{B}_{elec} para una concentración dada de sal en el solvente $[\text{NaCl}] \neq 0$):

$$\bar{B}_{elec} = \frac{4k_B T d_B}{\pi \lambda_D^3 l_B} \gamma^2 e^{-\frac{d}{\lambda_D}} \quad (2.42)$$

donde

$$\gamma = \tanh \left[\frac{1}{2} \arcsin h \left(2\pi \frac{l_B \lambda_D}{\Sigma} \right) \right] \quad (2.43)$$

y $\lambda_D = \frac{0.3045}{\sqrt{C}} nm$, es la longitud de onda de Debye, con C , la concentración de la sal en el solvente expresada en moles/L. Freyssingas et al.[50] sugieren que el valor de la longitud de Bjeerum se ve afectado por la presencia del polímero en el sistema, por lo que, considerando que el valor de ε decrece linealmente con la concentración del PEG en el intervalo de 0 a 20g/L de PEG en el solvente, proponen un ajuste a la expresión de la contribución del potencial electrostático en función de la concentración del polímero como

$$\bar{B}_{elec} \rightarrow \bar{B}_{elec}(c_p) \approx \bar{B}_{elec}(0) [1 - 0.0009625c_p] Pa \quad (2.44)$$

donde c_p es la concentración del polímero en el solvente, expresada en g/L.

Cabe mencionarse que este ajuste corresponde a un sistema libre de sal, por lo que en nuestro caso debemos proponer una expresión análoga a esta pero que también considere el efecto de la concentración de sal agregada al sistema sobre la longitud de Bjeerum y por lo tanto también sobre \bar{B}_{elec} .

La contribución del potencial de Helfrich al módulo de compresión esméctico se obtiene a partir de la expresión

$$\bar{B}_{Helf} = d_B \left(\frac{\partial^2 V_{Helf}}{\partial d} \right) \quad (2.45)$$

de donde obtenemos

$$\bar{B}_{Helf} = \frac{9\pi^2 (k_B T)^2 d_B}{64kd^4} \quad (2.46)$$

Por último, la aportación del potencial atractivo del polímero al módulo de compresión esméctico corresponde a cualquiera de las cuatro situaciones de confinamiento del polímero entre las membranas revisadas anteriormente, las cuales quedan definidas por la concentración polimérica en el solvente y de las longitudes características de las fases lamelares en cuestión. Sin embargo, para nuestro sistema de fases diluidas de membranas ($\Phi < 0.03$) y en presencia de apantallamiento completo de cargas del surfactante por efecto de la sal agregada ($[NaCl] = 170mM$), tenemos que las interacciones electrostáticas desaparecerán, por lo que nuestro potencial efectivo será definido solamente por las contribuciones del potencial estérico de Helfrich debido a las fluctuaciones de la membrana (el cual es repulsivo) y al potencial atractivo generado por la incorporación del polímero

$$\bar{B}_{Tot} = \bar{B}_{Helf} + \bar{B}_{\mu}^{Pol} \quad (2.47)$$

CAPÍTULO 3: MÉTODOS Y TÉCNICAS EXPERIMENTALES

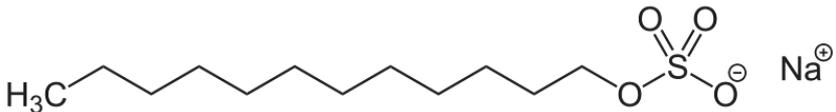
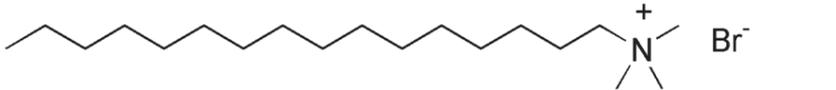
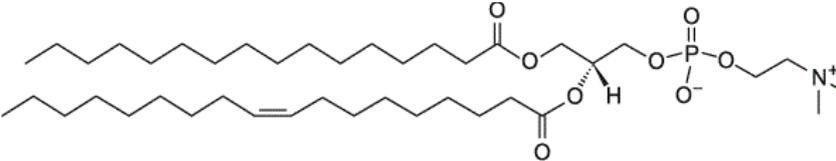
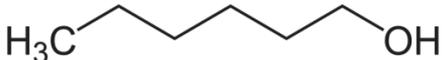
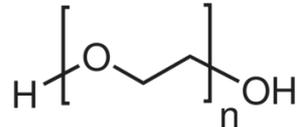
3.1 Moléculas estudiadas

Para la primera parte del trabajo se requiere sintetizar fases de membranas fluidas (lamelares y esponja) constituidas principalmente de algún surfactante iónico, un co-surfactante que permitiese trabajar a grandes diluciones de membrana, una sal de preferencia monovalente (al igual que el surfactante) y un polímero neutro soluble en agua. Las moléculas elegidas para tal propósito fueron Dodecil Sulfato de Sodio como surfactante iónico, Hexanol como cosurfactante, Cloruro de Sodio como sal monovalente y PolietilenGlicol de un peso molecular de 20,000 (PEG 20K) como polímero neutro e hidrosoluble.

El Dodecil Sulfato de Sodio (SDS, por su nombre en inglés) es una molécula anfifílica que en uno de sus extremos, la parte hidrofílica, posee un átomo de sodio asociado al grupo sulfato; este sodio es liberado en solución acuosa quedando cargada la molécula negativamente, del tal forma que el SDS en solución es un surfactante aniónico. El papel de la sal de Cloruro de sodio es el de apantallar las interacciones electrostáticas presentes entre las cabezas polares del SDS en solución tratando de recrear las condiciones análogas a un sistema de membrana formado por un surfactante neutro. Recordemos que nuestro primer objetivo del trabajo doctoral es verificar si es posible inducir una transformación topológica al agregar un polímero neutro a un sistema de membranas formadas por surfactantes iónicos bajo apantallamiento electrostático por adición de sal. Así, buscando la generalización de dicho efecto, también se aborda el caso de un surfactante catiónico y para ello emplearemos el Bromuro de hexadecil-trimetilamonio (CTAB por su nombre en inglés). Este surfactante libera en solución un ión Bromo que originalmente estaba unido al grupo amonio presente en la cabeza polar de la molécula anfifílica, la cual queda con carga neta positiva para apantallarse posteriormente por la sal disuelta en el solvente.

Por último, para tener el esquema completo se estudia el efecto del PEG 20K sobre la estabilidad topológica de una fase lamelar formada por una molécula anfifílica neutra (zwitteriónica) como lo es el fosfolípido Dimiristoyl Fosfatidilcolina (DMPC).

Tabla 3.1: Moléculas empleadas en la preparación de las membranas del presente trabajo. Se etiquetan por su nombre común y se anexan los pesos moleculares correspondientes para los cálculos estequiométricos posteriores.

Fórmula	Nombre	Peso Molecular
	SDS	288.38
	CTAB	364.45
	DMPC	770.123
	Hexanol	102.17
	PEG	20 000

3.2 Materiales y Reactivos

Los reactivos químicos empleados fueron adquiridos de las compañías Sigma-Aldrich, Fluka y Avanti Polar. Estos reactivos fueron usados tal como se recibieron sin someterles a tratamiento previo a su empleo. El listado de los reactivos se detalla a continuación:

- Dodecil Sulfato de Sodio (SDS), pureza mayor al 99.9%, marca Sigma-Aldrich.
- Bromuro de hexadecil-trimetilamonio (CTAB), pureza de 99%, marca Fluka.
- Dimiristoyl Fosfatidilcolina (DMPC), extraída de yema de huevo, pureza del 99%, marca Avanti Polar.
- Alcohol hexílico (1-hexanol), grado reactivo, marca Sigma-Aldrich.
- Polietilenglicol 20K (PEG20K), dispersión entre 16K y 24K, marca Aldrich.
- Glicerol, pureza al 99.9%, marca Sigma-Aldrich.
- Cloruro de Sodio (NaCl), pureza 99.5%, marca Sigma-Aldrich.
- Cloruro de Potasio (KCl), pureza del 99%, marca Sigma.-Aldrich.

Como solvente mayoritario se utilizó agua ultrapura con resistividad de 18.2 MOhm/cm, obtenida de un equipo millipore.

En los experimentos de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se emplearon los siguientes reactivos deuterados :

- Dodecil Sulfato de Sodio deuterado (D25 98%), marca Cambridge Isotope Laboratories, Inc.
- Óxido de Deuterio (99.9% de átomos deuterados), marca Aldrich.

3.3 Preparación de muestras

Las condiciones de viscosidad que los sistemas de estudio presentan nos definen dos procedimientos distintos para la elaboración de las muestras, el primero asociado a muestras altamente diluidas en contenido de membrana (bajas fracciones de volumen de membrana) que presentan viscosidades del orden a los del agua, por lo que es posible su preparación empleando agitación con imán. Por otra parte, las muestras correspondientes a fracciones de volumen de membrana mayores o iguales al 10% fueron preparadas agitando con vortex.

En general el procedimiento es el mismo para ambos casos variando solamente el proceso de mezclado de los componentes. Cabe señalarse que la concentración de sal en la solución polimérica salina se mantuvo a una concentración fija de 10g/L de NaCl (170mM), variando sólo en los casos donde interesaba monitorear los efectos de la concentración de sal sobre la estabilidad del sistema.

En el caso del Polietilenglicol (PEG), se empleó con peso molecular de 20,000 o 20K, variando la concentración del mismo en las soluciones salinas poliméricas desde 0g/L hasta 10g/L (0mM a 0.5mM PEG20K) para la mayor parte del estudio y en algunos casos llegando a 20g/L, 40g/L y 60g/L.

A continuación se describe el protocolo seguido en la elaboración de las muestras:

I.- Preparar solución salina polimérica:

- 1) Pesar PEG y pesar NaCl. Agregar a matraz aforado de 100ml.
- 2) Introducir 50ml de agua ultrapura obtenida de equipo millipore a matraz y dejar disolver por 1 hr. en reposo.
- 3) Una vez disueltos los componentes agitar suave y manualmente para homogenizar la solución. Aforar con agua ultrapura.
- 4) Agitar por 1 hr. con magneto a 100% de la potencia proporcionada por la placa agitadora.

II.- Preparación de las muestras a bajas concentraciones de membranas

- 1) Pesar polvo de surfactantes o fosfolípidos y agregar a frasco de cultivo de 100ml con tapón de seguridad.
- 2) Agregar masa correspondiente de solución salina polimérica en turno. Dejar disolver en reposo por espacio de 1 hr.
- 3) Agregar la masa de hexanol apropiada y de inmediato introducir cuidadosamente magneto y agitar en placa de agitación magnética a 80% de potencia evitando la producción de espuma en la muestra.
- 4) Verificar, empleando polarizadores cruzados entre el frasco y con fuente de iluminación colocada en la parte posterior si se ha alcanzado la formación de la fase deseada. La fase lamelar (L_{α}) será birrefringente al detener la agitación y la fase esponja (L_3) presentará birrefringencia transitoria que desaparece de forma rápida al detener la agitación. La formación de las fases se alcanza aproximadamente a los 3 minutos después de iniciada la agitación.
- 5) Continuar agitando en las mismas condiciones por lapso de 1 hora.

IIIo.- Preparación de las muestras a altas concentraciones de membranas

- 1) Introducir el polvo del surfactante o fosfolípido en tubo de cultivo de 16 x 125mm con tapón de rosca.
- 2) Agregar la masa correspondiente a la solución salina polimérica y dejar disolviendo durante una hora en reposo.
- 3) Agregar la masa de hexanol requerido e inmediatamente agitar en vortex por espacio de 5 minutos a máxima potencia.
- 4) Verificar, colocando la muestra entre polarizadores cruzados, si se ha logrado obtener la fase deseada.
- 5) Continuar agitando por 5 minutos más en el vortex a máxima potencia.

3.4 Determinación de la composición para las fases Lamelar y Esponja del sistema de surfactante aniónico SDS.

La elección inicial del sistema a trabajar fue SDS-Hexanol-Agua. Se tomó como punto de partida la razón de masas $\frac{m_{Hexanol}}{m_{C_{14}DMAO}} = 0.85$ [11], la cual corresponde a la razón molar

$$\frac{n_{Hexanol}}{n_{SDS}} = 2.1417; \text{ esta se mantuvo constante variando las fracciones de membranas del 5\%}$$

al 30%. Las formulaciones trabajadas se representan en el diagrama de fases de la figura 3.1

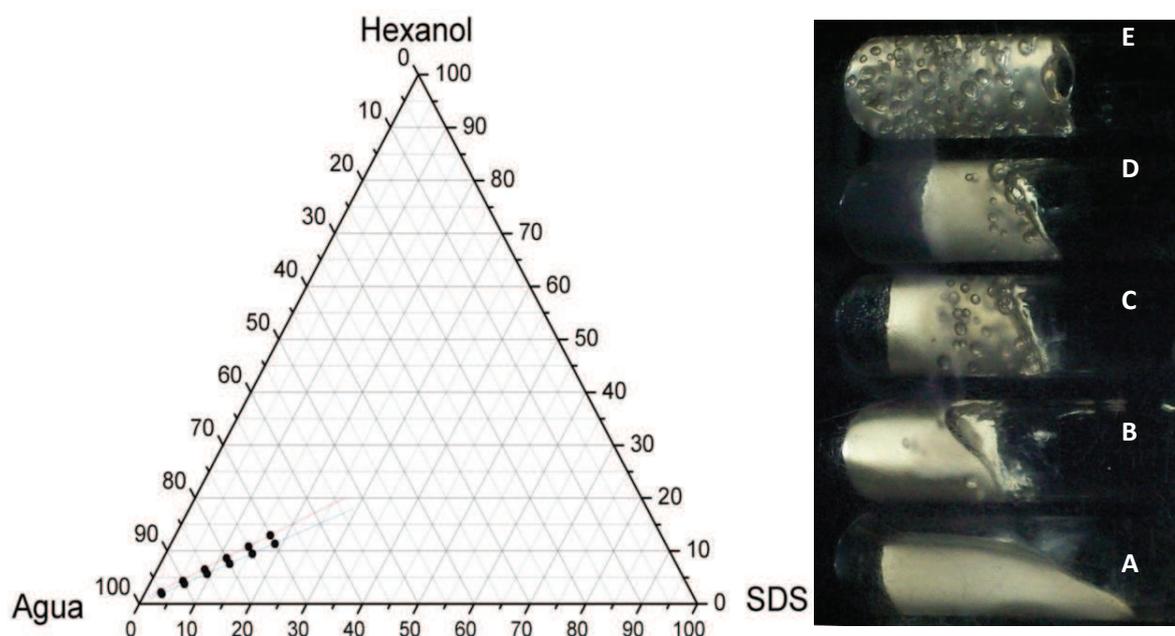


Fig. 3.1: Diagrama de Fase para el sistema SDS-Hexanol-Agua manteniendo la relación molar $n_{hexanol}/n_{SDS} = 2.1417$. A la derecha se ilustra la evolución de la viscosidad en función de la fracción de volumen de membrana. La muestra A es la más diluida.

La muestra A de la figura 3.1 corresponde a la fracción de membrana menor mientras que la muestra E corresponde a la mayor. De esta corrida se obtuvieron muestras con separaciones de fase y con una alta viscosidad como se muestra en la sucesión de fotos de figura 3.1, razón

por lo que se abandonó este sistema y se buscó obtener muestras en la zona diluida de membranas basándonos en alguna referencia existente que incluyese un diagrama de fases donde se incorporase al surfactante SDS en bajas concentraciones. Así, se incursionó en el estudio del diagrama de fases del sistema SDS-Hexanol-Solución Salina de NaCl (10g/L) tal como lo proponen Bellocq et al. [58] con el objetivo de obtener muestras de fases lamelares L_α y muestras de fases esponja L_3 , ambas monofásicas.

3.4.1 Fase Lamelar L_α

Se preparó una solución salina (10g/L) para formar el sistema SDS-Hexanol-salmuera(10g/L de NaCl). Para la fase L_α se fijó la $m_{SDS}=0.5227g$ y $m_{Sol.}=48.4771g$ variando la masa del Hexanol en 0.95g, 1.00g y 1.05g. Los resultados se muestran en la figuras 3.2 .

A=0.95g Hexanol

B=1.00g Hexanol

C=1.05g Hexanol

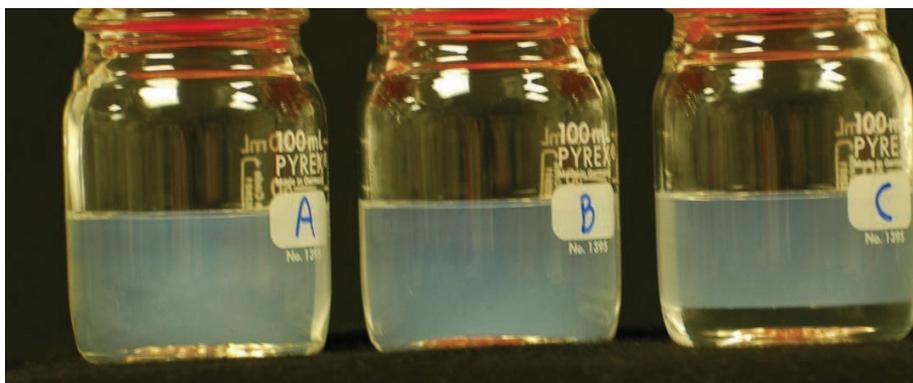


Fig. 3. 2: *Muestras a simple vista.*

En la figura 3.3 se muestra el diagrama de fases propuesto en la referencia 58. Las fotografías asociadas a los tres puntos superiores corresponden a las muestras A, B y C de la figura 3.2 pero ahora son tomadas entre polarizadores cruzados, detectándose birrefringencia característica de la fase lamelar en las muestras A y B, pero solamente la muestra de la izquierda (muestra A) es monofásica. La muestra B presenta además una región isotrópica

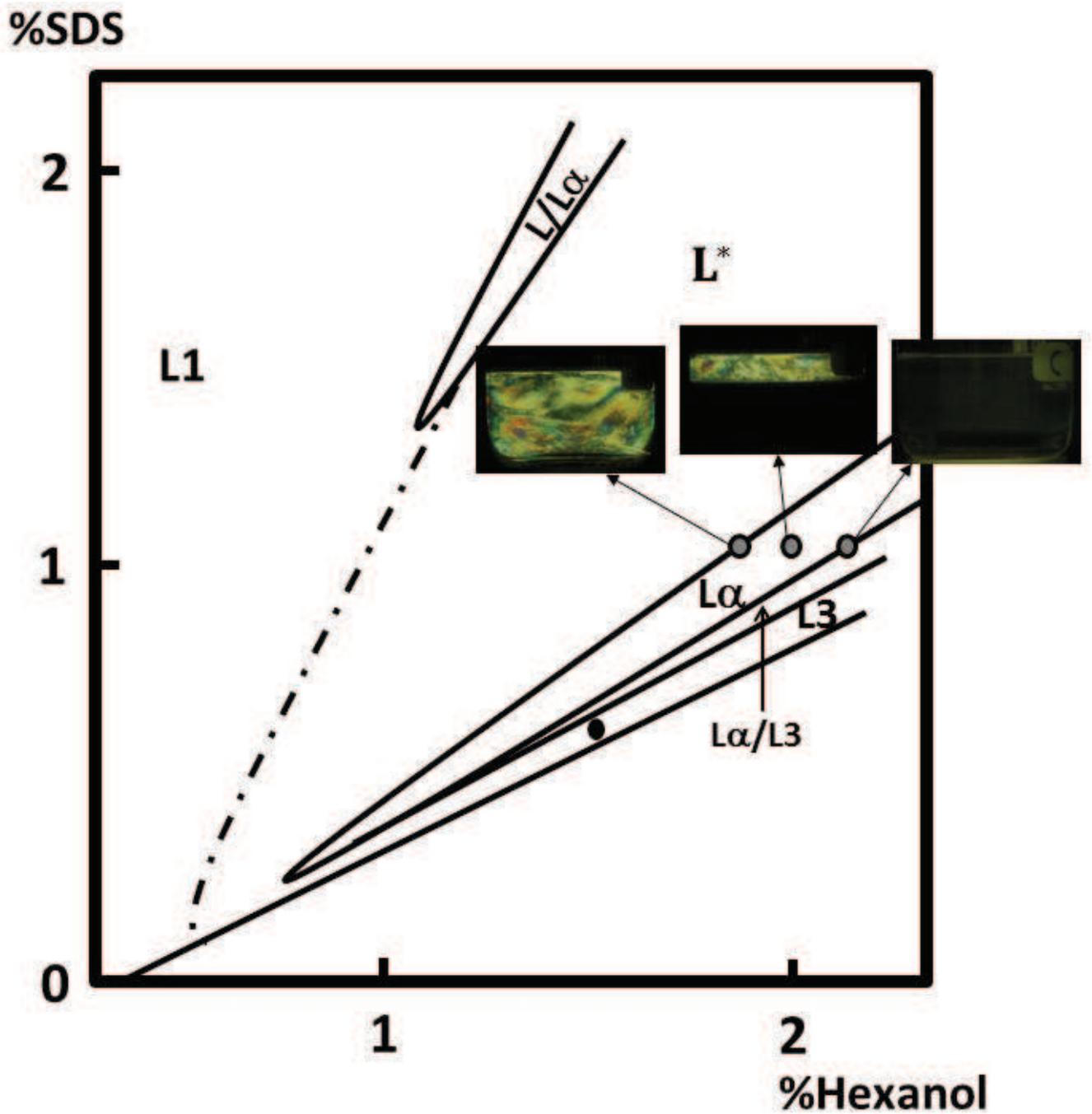


Fig. 3.3: Diagrama de fase parcial del sistema SDS-Hexanol-Solución Salina [NaCl]= .170M con Glicerol, según referencia 58.

más abundante que su región lamelar mientras que C posee dos regiones isotrópicas bien definidas.

De las imágenes de luz polarizada y por la secuencia de la ubicación de las formulaciones de A, B y C en el diagrama de fase de la figura I.3 se desprende que la muestra A corresponde a la región L_α , la muestra B a la región bifásica L_α/L_3 y C corresponde a una región que incluye a la fase L_3 y otra fase isotrópica (dicha región no se discute en el diagrama pero estaría a la derecha de la región L_3); sin embargo las ubicación exacta de las muestras no coinciden con las regiones a quienes están asociadas, de hecho parecieran estar desplazadas en su conjunto hacia la izquierda. Dicho desfaseamiento se explica al considerar que en el diagrama de Bellocq et al (ref. 3) sustituyen 20% del solvente (Salmuera 10g/L NaCl) con Glicerol mientras que nuestras formulaciones se realizan manteniendo íntegro al solvente.

Con lo anterior se desprende que la composición de la muestra A es la elegida para preparar la línea de muestras de Fase Lamelar (L_α) que serán dopadas con el polímero. La composición de las muestras lamelares en porcentaje en peso es la siguiente:

Tabla 3.1 : Composición %peso para muestras de fase lamelar.

Masa SDS	1.0466%
Masa Hexanol	1.9020%
Masa Sol. Salina+PEG20K	97.0514%

FASE L_α

Así, se prepararon 11 muestras con estos porcentajes, donde la concentración de sal se mantuvo constante (10g/L) y la concentración de PEG20K presente en las soluciones variaba desde 0g/L hasta 10g/L.

3.4.2 Fase Esponja L_3

Para la fase esponja L_3 se determinó la composición óptima en $m_{SDS} = 0.33g$, $m_{Sol.} = 48.92g$ y $m_{Hexanol} = 0.725g$. En la tabla 3.2 se muestra la relación de porcentajes en masas empleados para la formulación de las muestras de fase esponja (L_3).

Tabla 3.2: Composición % peso para muestras de fase esponja

Masa SDS	0.6603%
Masa Hexanol	1.4508%
Masa Sol. Salina+PEG20K	97.8889%

FASE L_3

Las muestras de fase esponja no son birrefringentes entre polarizadores; sin embargo, cuando son sometidas a un esfuerzo mecánico pueden generarse transiciones de fase como del tipo L_3 a L_α lo cual puede verificarse mediante el efecto conocido como birrefringencia inducida por esfuerzo sobre una fase esponja. Este fenómeno se detectó al colocar un agitador magnético dentro de la muestra de fase esponja y correlacionar el esfuerzo mecánico producido por el agitador sobre la muestra al incrementar la velocidad y la intensidad de la birrefringencia inducida como se muestra en la sucesión de fotografías de la figura 3. 4.

En la sucesión de fotos de la figura 3.4.a se observa como la muestra L_3 , inicialmente isotrópica y sin birrefringencia al estar en reposo, presenta birrefringencia al agitarla y la intensidad de esta incrementa proporcionalmente con la velocidad de agitación. El menisco formado en la parte superior central de la muestra es una medida de dicha velocidad. Las fotos se tomaron con exposición de 0.5s por lo que no hay compensación de luz que intervenga en la intensidad colectada. La cámara empleada es una Nikon D5000 con objetivo de 50mm montado en tripoide.

En la figura 3.4.b la sucesión de fotos corresponde al “apagado” de la birrefringencia después de que se cancela la agitación con el magneto. La primera foto corresponde al

momento justo donde se detiene el agitador. Las fotos fueron tomadas en las mismas condiciones que en el caso anterior. El tiempo entre fotos es de 0.5s.

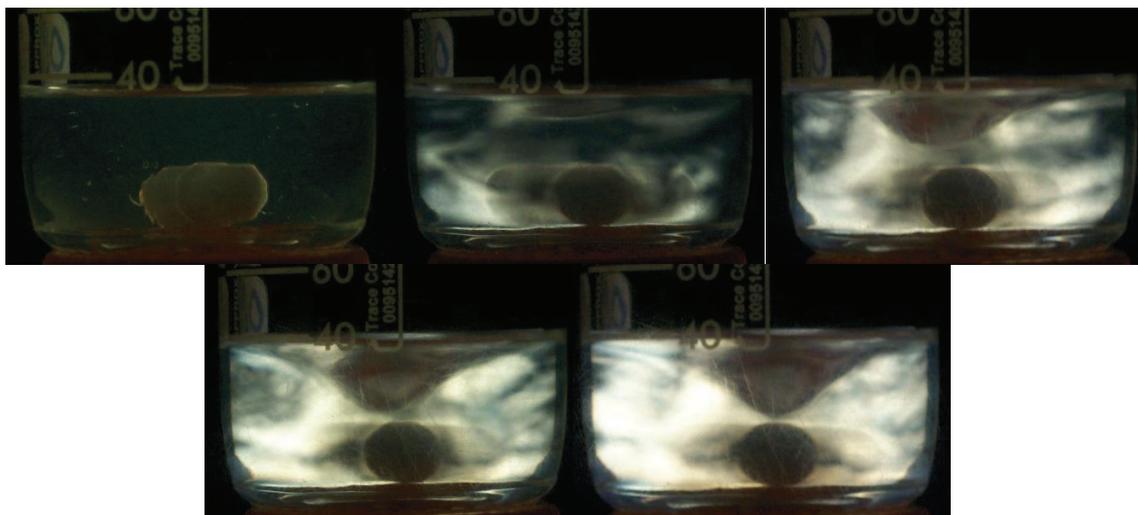


Fig. 3.4.a: Birrefringencia inducida por agitación con magneto de una fase esponja L_3 con la composición señalada en tabla I.2. Muestra sin polímero. Transición $L_3 \rightarrow L_\alpha$.

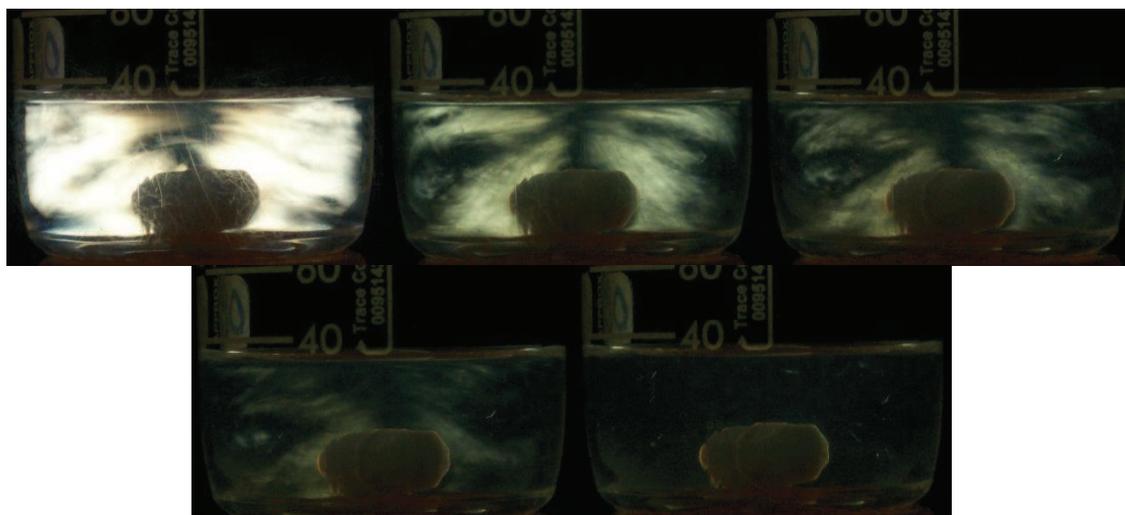


Fig. 3.4.b: Relajación de la birrefringencia inducida en la muestra de fase esponja L_3 después de cancelar la agitación con magneto. Transición $L_\alpha \rightarrow L_3$.

3.5 Fracción de Volumen de Membrana Φ

Se define como la razón que existe entre el volumen que ocupa la membrana respecto al volumen total de la muestra. Si la membrana está formada por la totalidad de moléculas de surfactante y cosurfactante agregados entonces se cumple que

$$\Phi = \frac{V_{membrana}}{V_{total}} = \frac{V_{SDS} + V_{hexanol}}{V_{SDS} + V_{hexanol} + V_{sol Polímero}} \quad (3.1)$$

Puesto que la preparación de muestras parte de las mediciones de masas debemos de escribir la fracción de volumen de membrana en términos de masas y densidades de los constituyentes

$$\Phi = \frac{m_{SDS}/\rho_{SDS} + m_{hexanol}/\rho_{hexanol}}{m_{SDS}/\rho_{SDS} + m_{hexanol}/\rho_{hexanol} + m_{sol Polímero}/\rho_{sol Polímero}} \quad (3.2)$$

Las densidades empleadas para los cálculos son $\rho_{SDS} = 1.03 \frac{g}{cm^3}$ y $\rho_{hexanol} = 0.8136 \frac{g}{cm^3}$.

La densidad de las soluciones poliméricas se midieron experimentalmente a temperatura ambiente, obteniéndose un ajuste lineal de la densidad en función de la concentración del PEG y a concentración de sal constante de 170mM NaCl. La ecuación del ajuste lineal es

$$\rho_{sol Polímero} = 1.0019 + (2.318 \times 10^{-4})C \quad (3.3)$$

donde C es la concentración del polímero en g/L.

Haciendo uso de la información de la tabla 3.1 y 3.2 y con los datos antes expuestos, los valores para las fracciones de volumen de membranas son $\Phi_{L_\alpha} = 0.033$ y $\Phi_{L_3} = 0.024$ para las fases Lamelar y Esponja, respectivamente. Cabe mencionarse que estos valores se siguen conservando aún para concentraciones de PEG20K de 20g/L.

3.6 Conductividad Eléctrica

La medición de la conductividad eléctrica en sistemas de surfactantes-cosurfactantes es de amplio uso como técnica complementaria en la identificación de las fases presentes en dichos sistemas así como en la caracterización topológica de las mismas [11]. Por ejemplo, para las fases bicontinuas como las fases L_3 (esponja) la movilidad de los iones en solución será más alta que para fases de topología cerrada como las vesiculares que encierran dentro de las estructuras parte de los iones disponibles para el acarreo de carga, de tal forma que las fases esponja presentan altos valores de conductividad eléctrica a diferencia de las fases de vesículas. En el caso particular de la fase esponja, los experimentos de conductividad eléctrica nos dan información sobre la estructura de la bicapa de la fase dado que la movilidad de los iones en el solvente están influenciados por la topología local de la bicapa en esta fase. Un parámetro que nos da idea sobre la condición de la bicapa es el factor de obstrucción definido como

$$f = \frac{\sigma}{\sigma_0(1 - \Phi)} \quad (3.4)$$

donde σ es la conductividad de la fase L_3 , σ_0 es la conductividad del solvente y Φ es la fracción de volumen de membrana en la muestra. Para fases esponja extremadamente diluidas ($\Phi \rightarrow 0$), el valor teórico de f tiende a 0.6 [59] por lo que valores grandes alejados del valor ideal para la fase esponja son interpretados como evidencia de la presencia de poros en la membrana de fase esponja [60].

En nuestro trabajo se utilizó el medidor de conductividad eléctrica Meter Lab CDM210 con electrodo CDC749 para pequeños volúmenes, de placas paralelas y 4mm de diámetro, de la compañía Radiometer Analytical. La resolución del equipo es de $0.01 \frac{\mu S}{cm}$ y el instrumento se calibró empleando una solución 0.1M de KCl con constante de celda de $0.642 cm^{-1}$ a temperatura de $24^\circ C$. Para la primera parte del trabajo todas las mediciones se hicieron a temperatura constante ($24^\circ C \pm 0.1$) controlando la temperatura con baño térmico externo de

re-circulación. Para las mediciones de conductividad térmica a Temperatura constante se prepararon muestras de 50ml. Inmediatamente después de la obtención de las muestras se tomaron 10ml de ellas que se depositaron en tubos de cultivo 16 x 125mm con tapón de rosca, se sellaron con parafilm y se depositaron en el baño térmico a 24°C permitiéndose estabilizar al menos una semana antes de tomar las lecturas de conductividad.

Para el caso de las mediciones de la conductividad eléctrica en función de la temperatura, el conductímetro se conectó a una interfase en puerto paralelo de una pc siendo controlado por un pequeño programa diseñado por el Dr. Adolfo García Fontes con el software Lab View 7.1. El tiempo de colección automatizada de datos establecido fue de 0.5s entre cada lectura y el conductímetro se calibró como anteriormente se describió.

Para las mediciones de conductividad eléctrica en función de la temperatura y bajo esfuerzo deformante bajo agitación, se prepararon 50 ml de muestras en frascos de cultivo de vidrio pyrex de 100ml con tapón de rosca de seguridad. Se le practicó un orificio de 8mm de diámetro al tapón de seguridad del frasco para introducir en el un pequeño tubo de PolyPropylene que sirvió para fijar e inmovilizar la punta del electrodo en una misma posición. El tubo en el tapón del frasco, el frasco mismo y el electrodo en el tubo fueron todos sellados empleando parafilm para evitar evaporaciones de la muestra al exterior. Las muestras se dejaron dos semana a temperatura ambiente para lograr su equilibrio.

Para el estudio en función de la temperatura posteriormente se colocó el frasco con la muestra dentro del líquido refrigerante en el baño térmico y se procedió con el experimento. A cada temperatura se dejó equilibrar el sistema a estudiar por espacio de 48 horas antes de tomar la lectura. El intervalo de temperaturas a estudiar la conductividad eléctrica va de 30°C a los 5°C.

En el estudio de la conductividad eléctrica en función del esfuerzo inducido al sistema por agitación con magneto, los experimentos se efectuaron a temperatura ambiente ($T = 23 \pm 1^\circ\text{C}$) colocando las muestras en placa con agitación y registrando las lecturas de la conductividad a distintas velocidades de agitación con el propósito de verificar la transición de fase esponja a lamelar por efecto de la deformación constante y la transición inversa al cesar la misma.

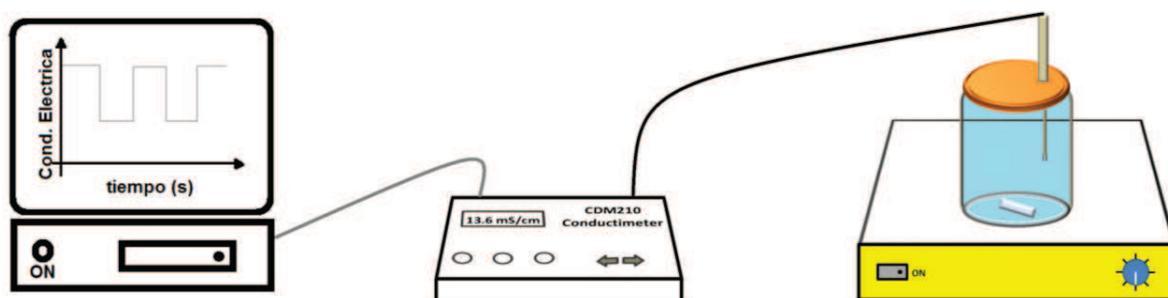


Fig. 3.5: Montaje experimental para el estudio de las transiciones $L_3 \leftrightarrow L_\alpha$ por agitación con magneto y mediante la evaluación de la conductividad eléctrica del sistema.

3.7 Microscopía Electrónica de Criofractura (FFEM)

La microscopía electrónica de criofractura provee una forma de visualizar la estructura o morfología de membranas como las formadas por los surfactantes e incluso las membranas celulares y el interior de la misma célula. En esta técnica las muestras son congeladas empleando nitrógeno líquido (-196 °C) en la presencia de un agente crioprotector (por ejemplo glicerol) para prevenir la distorsión ocasionada por la formación de cristales de hielo. Posteriormente la muestra congelada es fracturada empleando una navaja como se muestra en la figura 3.6. Cuando en la preparación de la muestra no se ha empleado agente crioprotector, un paso fundamental previo a la obtención de la réplica es el procedimiento del “etching”, el cual consiste en remover el hielo de la superficie del espécimen fracturado por sublimación al vacío [61]. Esto se logra calentando el contenedor de la muestra con un pequeño calefactor que posee el equipo de criofractura elevando la temperatura a -120°C. Si colocamos la navaja de corte en la parte superior de la muestra fracturada, se generará un gradiente de temperatura ascendente que permite la emigración del vapor de agua hacia el reservorio frío (navaja) limpiando la superficie de la fractura del hielo que puede ocultar detalles de la región donde se obtendrá la réplica metálica. La cara expuesta de la fractura resultante es recubierta con una película metálica de platino depositada por evaporación a un ángulo de 45° y después se deposita una película de carbón evaporada desde arriba de la muestra. La réplica montada aún en su soporte se coloca en un solvente fuerte para remover cualquier porción de muestra y quedarnos solamente con la película formada que nos dará información sobre la muestra al haber registrado el relieve de la parte fracturada y expuesta. Por último, la réplica, que debe estar flotando en el solvente al haberse disuelto la muestra, es atrapada en una rejilla de cobre previamente cubierta con carbono. La rejilla con la réplica se coloca en una cámara al vacío al menos por 24hrs. para eliminar todo residuo de líquidos previo a su estudio en el microscopio de transmisión (TEM). Las réplicas obtenidas por criofractura fueron preparadas en un equipo JEOL de Criofractura modelo JFD 9010 y posteriormente observadas en un microscopio electrónico de transmisión JEOL modelo 2010T. Ambos equipos se encuentran en el Departamento de Física de la Universidad de Sonora.

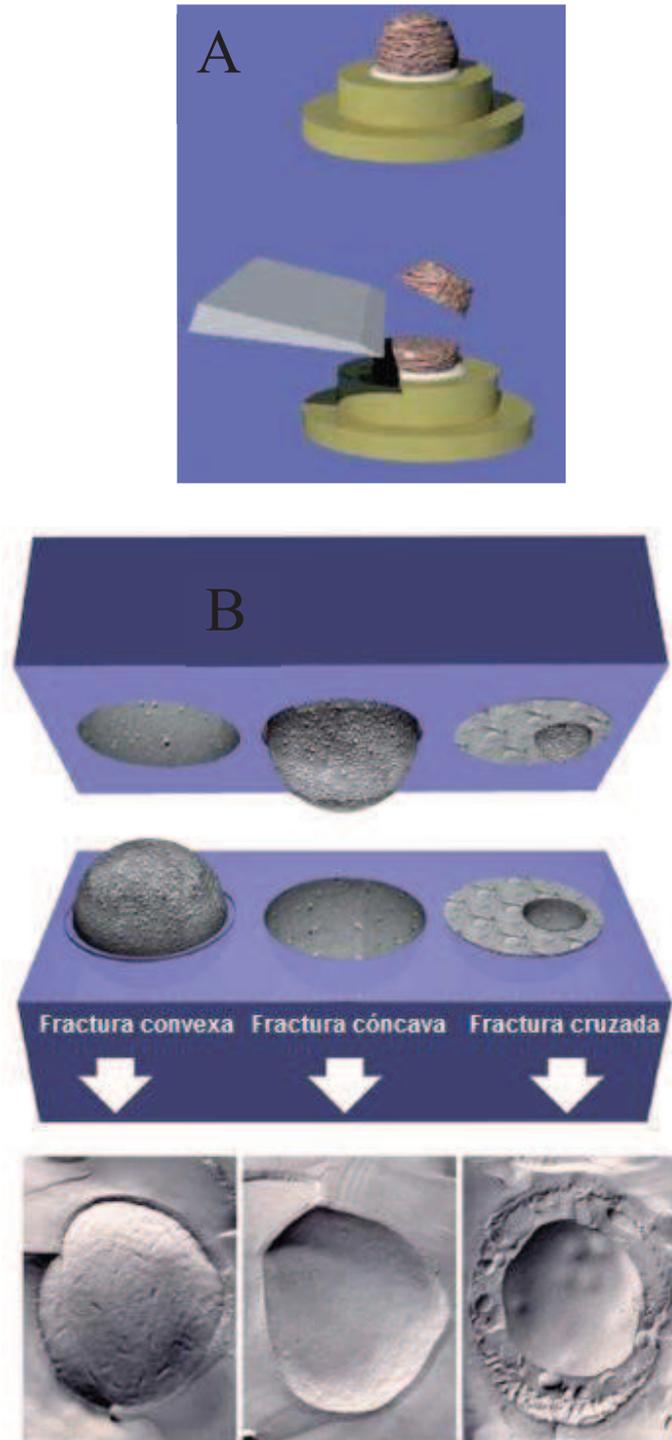


Fig. 3.6: En A se muestra la fractura practicada a la muestra. En B se ilustran tres posibles trayectorias de la fractura de un objeto esférico congelado en la muestra (vesículas o células).

3.8 Dispersión de Rayos X para ángulos pequeños (SAXS)

Las técnicas de dispersión de radiación como lo son SAXS y Dispersión de luz se basan en el mismo principio físico. El campo eléctrico de la radiación que incide sobre la muestra induce oscilaciones electrónicas en los átomos que la componen. Las cargas aceleradas generan ondas secundarias que tienen la misma frecuencia pero fases distintas debido a las diferencias en las longitudes de las trayectorias recorridas. Estas ondas secundarias pueden interferirse, de tal forma que cuando la radiación emitida (o dispersada) es analizada en un punto alejado del volumen de dispersión dicha interferencia da lugar a la aparición de máximos y mínimos en la intensidad de la radiación detectada como se ilustra en la figura 3.7.

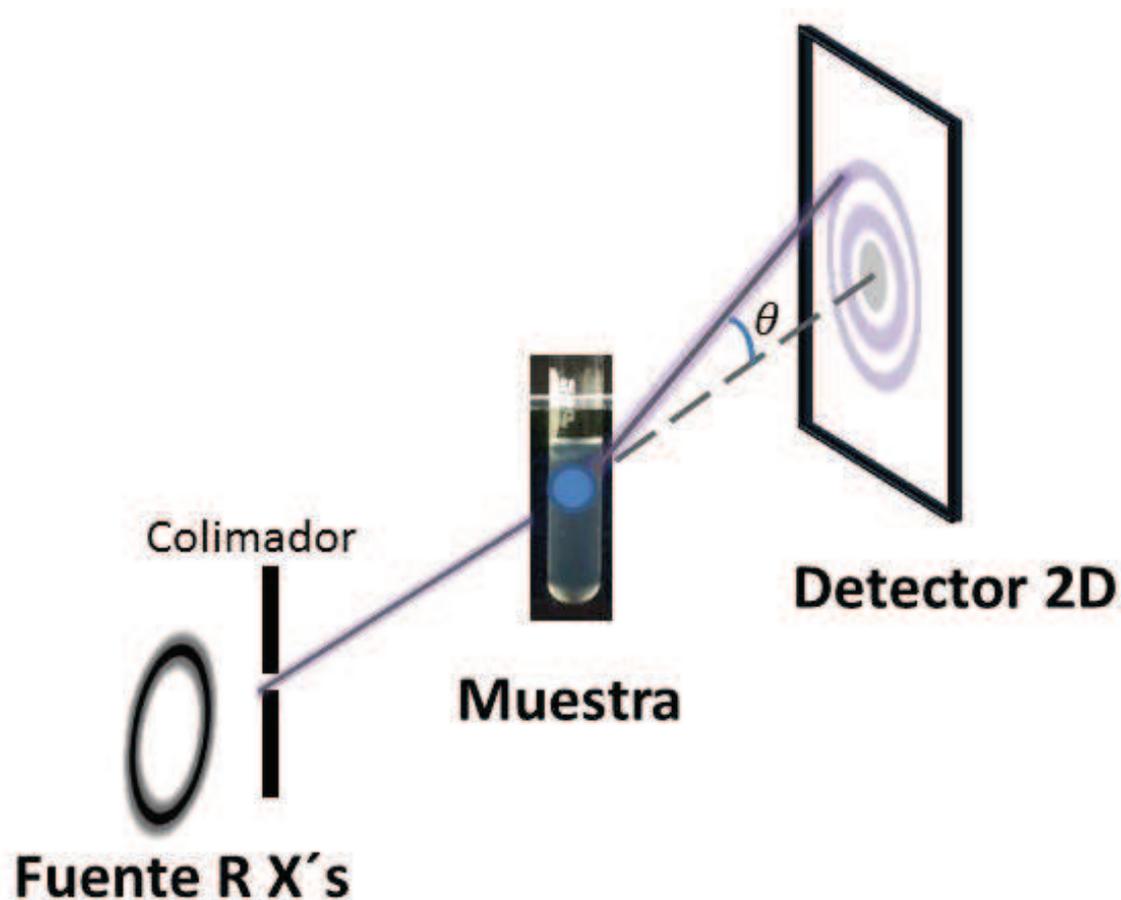


Fig. 3.7: Esquema general de un montaje para dispersión de rayos X's a bajos ángulos. La región señalada en la muestra ilustra representa al volumen de dispersión.

Podemos determinar la condición necesaria para la interferencia constructiva considerando una porción del volumen de dispersión de donde se toman dos electrones con posiciones arbitrarias interactuando con la radiación incidente como se ilustra en la figura 3.8

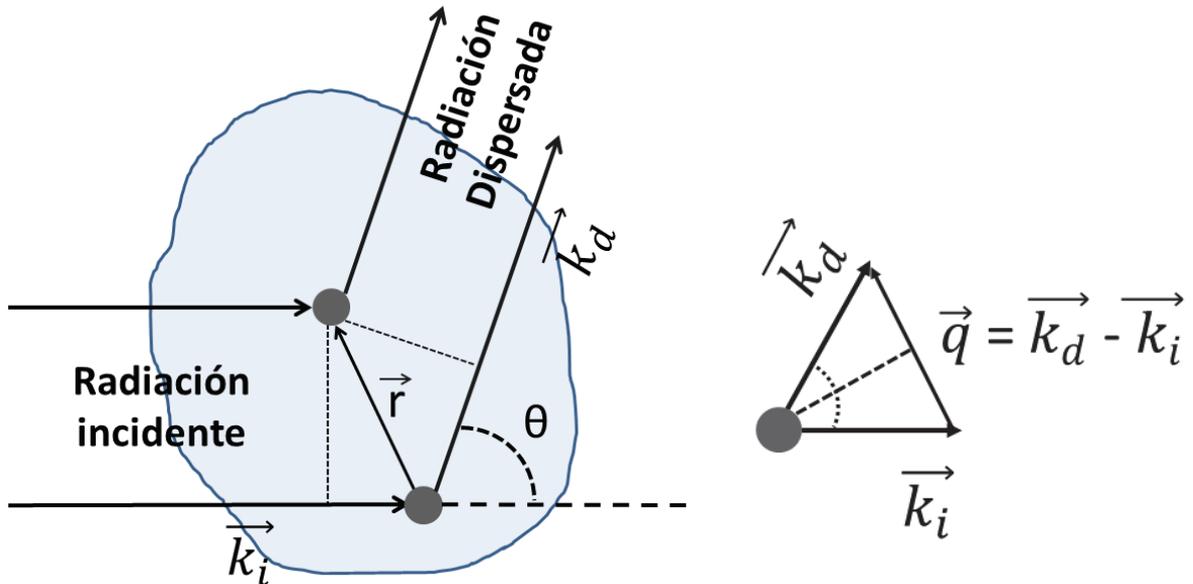


Fig. 3.8: Interacción de radiación incidente dentro del volumen de dispersión. A la derecha, definición del vector de onda \vec{q} .

La diferencia de fases entre la onda incidente interactuando con el electrón superior y la onda que incide sobre el electrón inferior está definida por el exceso de longitud recorrido por la onda inferior de la fig. 3.8. Como se observa, se cumple que esta longitud excedente es la suma de las proyecciones del vector \vec{r} sobre el vector de onda incidente (\vec{k}_i) y sobre el vector de onda dispersado (\vec{k}_d):

$$\Delta\varphi = -\vec{k}_i \cdot \vec{r} + \vec{k}_d \cdot \vec{r} = (\vec{k}_d - \vec{k}_i) \cdot \vec{r} = \vec{q} \cdot \vec{r} \quad (3.5)$$

Se ha definido al nuevo vector de onda \vec{q} como la diferencia de los vectores de onda dispersado e incidente. El vector \vec{q} nos facilita la representación de la señal colectada de la dispersión, de hecho las gráficas de los espectros de SAXS y DLS (dispersión de luz) se

representan en función del vector de onda \vec{q} en vez del ángulo de dispersión θ . La expresión para la magnitud del vector \vec{q} se obtiene a partir de la figura 3.8 en la parte derecha:

$$q = 2 |\vec{k}_i| \sin \frac{\theta}{2} \quad (3.6)$$

donde el vector de onda incidente \vec{k}_i tiene magnitud $|\vec{k}_i| = \frac{2\pi}{\lambda}$, por lo que el vector de onda q está definido como

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad (3.7)$$

Cabe señalarse que la técnica de SAXS es una poderosa herramienta para el estudio de sistemas autoensamblados formados por moléculas anfifílicas en solución. Las complejas morfologías adoptadas por estos sistemas con dimensiones en el intervalo de 1-100nm son ideales para ser estudiadas por esta técnica [62].

Las fases de surfactantes pueden exhibir múltiples picos en los espectros de SAXS debido a estructuras periódicas que tienen orden a mediano y largo alcance. Por la técnica de SAXS es posible obtener información de la morfología de estos microdominios a partir del análisis de las posiciones relativas de los picos de Bragg en los espectros, los cuales pueden exhibir relaciones espaciales específicas dependiendo de la forma de la estructura del microdominio. Por ejemplo, para una fase lamelar, las razones del vector de onda del pico máximo respecto a las ubicaciones de q de los siguientes picos deben ser 1, 2,3,..etc. En un arreglo hexagonal de micelas cilíndricas dichas razones deben ser 1, $\sqrt{3}$, $\sqrt{4}$, $\sqrt{7}$, $\sqrt{9}$,...etc. Para esferas en un arreglo cúbico centrado en las caras deberán cumplir los valores de 1, $\sqrt{2}$, $\sqrt{3}$, $\sqrt{4}$, $\sqrt{5}$, ...etc.[63,64]. En la figura 3.9 se muestra un ejemplo de un conjunto de espectros de SAXS característicos de las fases lamelares donde se revela claramente la relación de enteros consecutivos que guardan las posiciones relativas de los picos. Los espectros corresponden a muestras del sistema DMPC-Pentanol-Agua influenciadas por la adición de un polímero PEG modificado con un fosfolípido unido a un extremo del polímero [65].

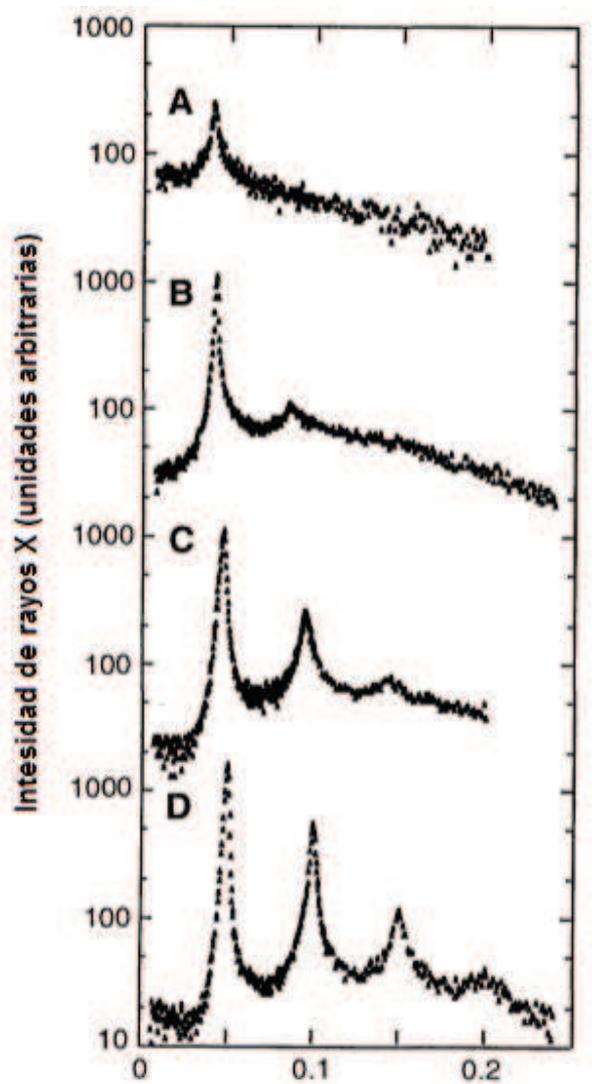


Fig. 3.9: Espectros de SAXS para fases lamelares de un sistema del fosfolípido DMPC. A y B son fases L_{α} fluidas mientras que C y D corresponden a fases L_{α} en el régimen de gel [65].

Los experimentos de SAXS efectuados en el presente trabajo de tesis se realizaron en los laboratorios del MRL (Material Research Laboratory) de la Universidad de California en Santa Bárbara. La descripción esquemática del equipo empleado para las obtenciones de los espectros de SAXS se muestra en la figura 3.10.

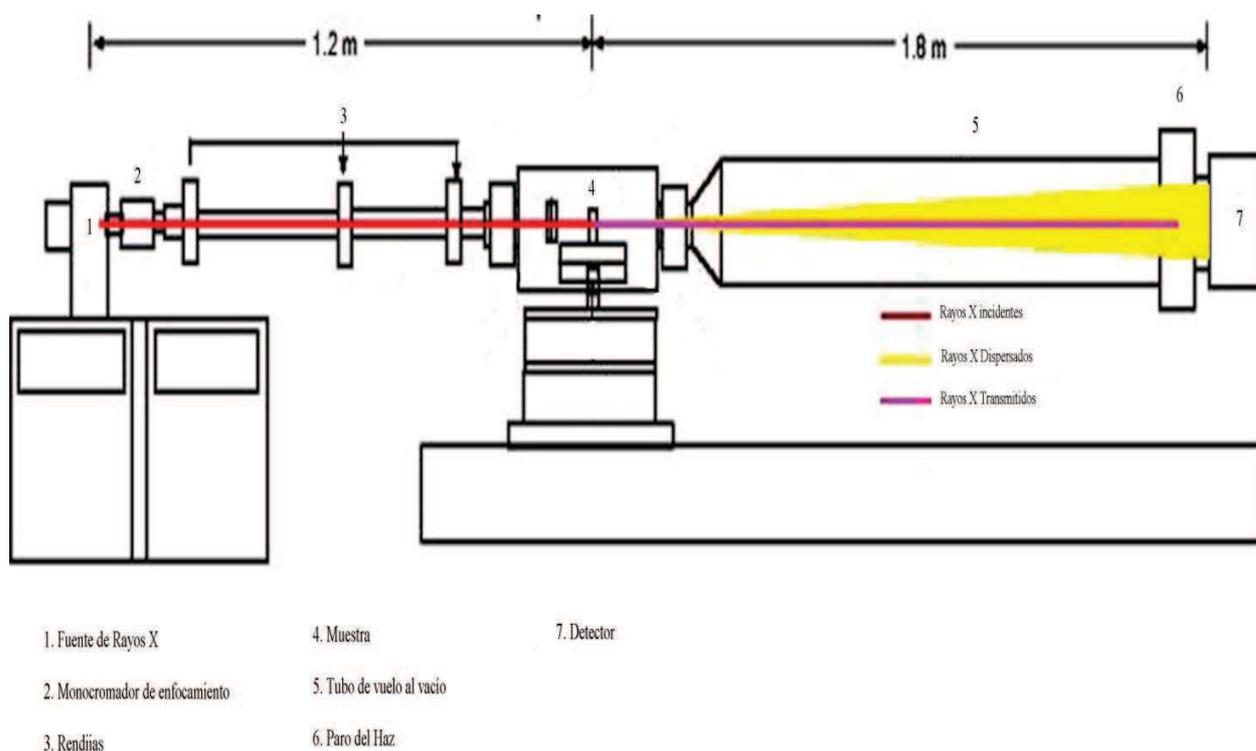


Fig. 3.10: Equipo de SAXS intermedio del laboratorio de Investigación de materiales de la UCSB

La fuente del equipo es de la marca Rigaku modelo UltraX18, con longitud de onda de 1.54 Å.; monocromador marca XENOCs modelo FOX2D de óptica multicapas; detector marca Bruker HI-STAR. El tamaño del haz en la muestra es de 0.8mm x 0.8mm y el flujo de fotones en la posición de la muestra es $3 \times 10^7 \frac{\text{fotones}}{\text{seg}}$. El intervalo de q 's del equipo está entre

$0.0075 - 0.12 (\text{Å}^{-1})$. Para la colecta de datos se trabaja con el software BRUKER SAXS y SPEC, ajustando los datos colectados mediante el software llamado Fit2D.

3.9 Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

En la técnica de dispersión de luz un haz de luz láser es enfocado en la muestra que se encuentra depositada dentro de un contenedor cilíndrico de cuarzo. Las partículas o estructuras presentes dentro del volumen de dispersión dispersan la luz incidente en todas direcciones y los fotones dispersados son colectados por un tubo fotomultiplicador que nos permite obtener la evolución temporal de la Intensidad de la luz dispersada (expresada como cuentas o fotones por segundo) obteniéndose un espectro como el presentado en la figura 3.11. Las mediciones de dispersión dinámica de luz conlleva al análisis de la función de autocorrelación de la luz dispersada la cual se obtiene mediante un correlador digital acoplado al dispersor. Esta función de autocorrelación de intensidad normalizada para un tiempo τ se define como:

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t+\tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} \quad (3.8)$$

donde $I(t)$ e $I(t+\tau)$ son las intensidades de la luz dispersada a los tiempos t y $t+\tau$ y los paréntesis representa a los promedios temporales [66].

La función de autocorrelación de intensidades suele expresarse en términos de la función de autocorrelación de campo eléctrico $g^1(\tau)$ a través de la relación de Siegert [67]

$$g^2(\tau) = B + \beta [g^1(\tau)]^2 \quad (3.9)$$

con $B = 1$ y β es un factor definido por el arreglo experimental y en donde

$$g^{(1)}(\tau) = \frac{\langle E(t)E(t+\tau) \rangle}{\langle E(t) \rangle^2} \quad (3.10)$$

$E(t)$ y $E(t+\tau)$ son los campos eléctricos dispersados en los tiempos t y $t+\tau$.

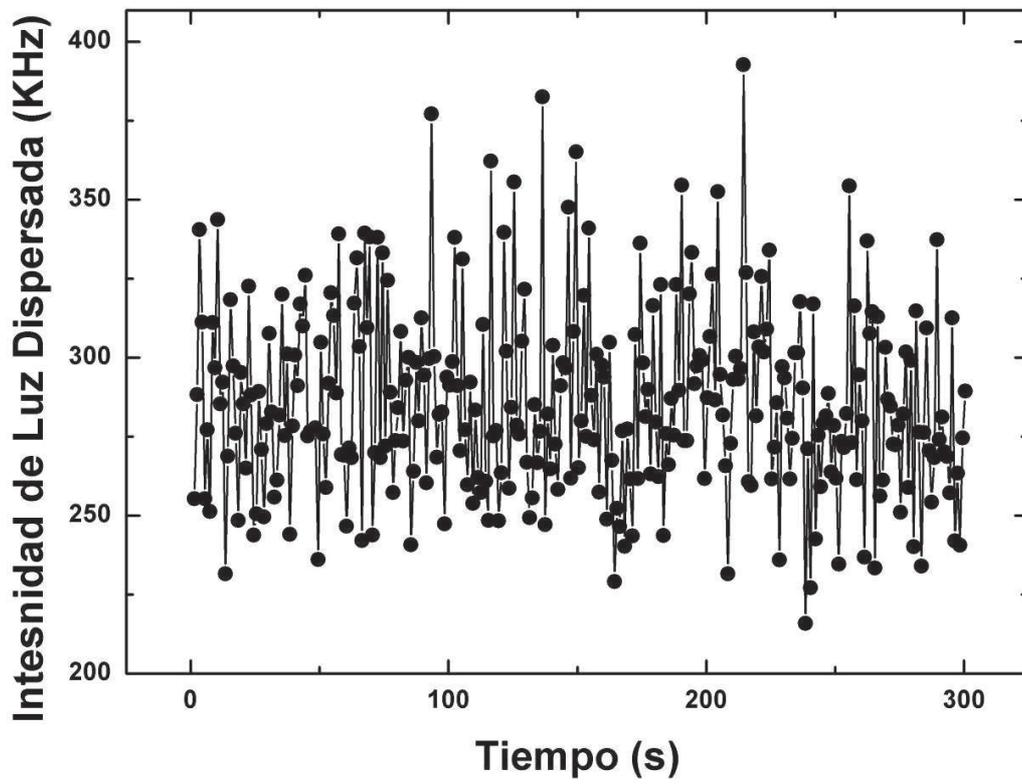


Fig. 3.11: Evolución temporal de la luz dispersada expresada en Fotones por segundo (Hz)

La figura 3.12 representa una curva típica de una función de correlación de campo eléctrico definida mediante la relación de Siegert como $g^{(2)} - 1$.

Para sistemas monodispersos, como partículas coloidales en solvente la función de correlación (o de autocorrelación) cae monoexponencialmente como $g^{(1)}(\tau) = e^{-\Gamma\tau}$, con $\Gamma = Dq^2$ donde D es el coeficiente de difusión de las partículas relacionado con el radio hidrodinámico mediante la relación de Stokes- Einstein $\left(R_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta D} \right)$ donde k_B es la constante de Boltzman y η es la viscosidad del medio o del solvente.

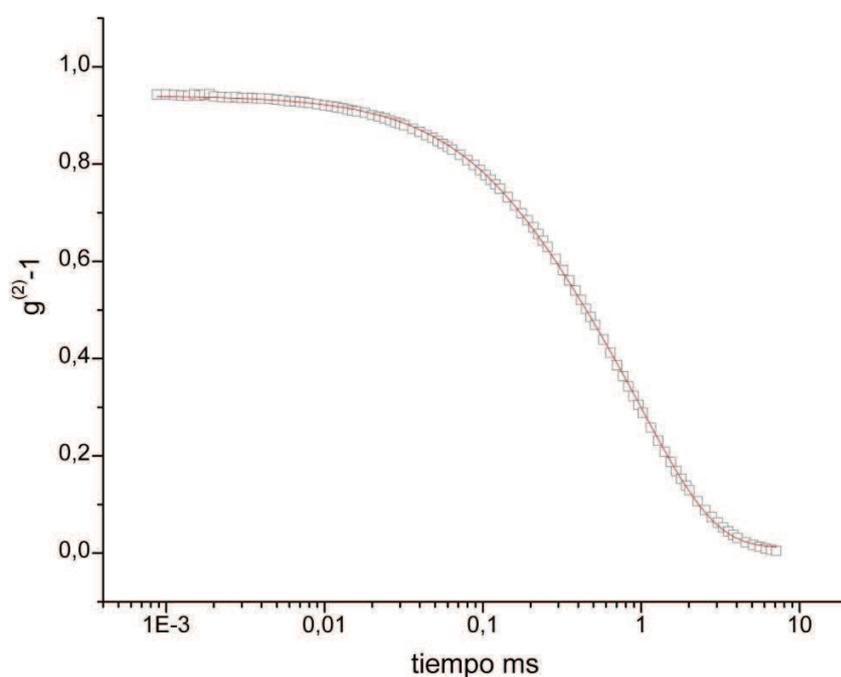


Fig. 3.12: Función de correlación de campo para un sistema de dispersión coloidal. Los datos (cuadros) son ajustados por una función monoexponencial decreciente (línea roja).

Sin embargo, para el tipo de sistemas de fases diluidas de surfactantes (como es nuestro caso) retomaremos un modelo que propone una función similar a un decaimiento monoexponencial pero con un parámetro de estrechez asociado.

Las mediciones de DLS se efectuaron en el Laboratorio de Investigación en Materiales (MRL) de la Universidad de California en Santa Bárbara. El equipo empleado fue un Dispensador de Luz láser marca Brookhaven, modelo BI200SM con láser He-Ne de 633nm y diodo fotodetector de avalancha con goniómetro para barrido angular entre 8° y 155° . La señal procesada por el correlador es tratada por el software ISDA (Irregularly Spaced Data Analysis) el cual permite como opción el ajuste de la curva de la función de correlación experimental mediante distintos modelos teóricos.

3.10 Resonancia Magnética Nuclear (NMR)

La técnica de resonancia magnética nuclear (NMR) nos proporciona información sobre las diferentes clases de átomos de hidrógeno en una molécula al darnos información relacionada con el entorno químico que rodean a los átomos de hidrógeno, el número de hidrógenos en cada clase diferente de medio y la estructura de los grupos adyacentes a cada átomo de hidrógeno [78].

Clasicamente se sabe que un protón girando posee un momento magnético asociado, de tal forma que en presencia de un campo magnético fijo se genera una torca dada por $\vec{\tau} = \vec{\mu} \times \vec{B}$ que tiende a alinear al eje de rotación del protón con el campo magnético provocando un movimiento de precesión en torno al campo magnético \vec{B} como se ilustra en la figura 3.13. La frecuencia de precesión está dada por

$$\gamma_{precesión} = \frac{\mu B}{2\pi L_p} \quad (3.11)$$

Donde L_p es el momento cinético del protón ($L_p = 0.53 \times 10^{-34} J \cdot s$), μ es el momento magnético del protón ($\mu = 1.4 \times 10^{-26} A \cdot m^2$) y B el campo magnético fijo. Por ejemplo, para un campo magnético de $B=1T$ tendremos una frecuencia de precesión de $\gamma_{precesión} = 4.2 \times 10^7 Hz$. Si algún agente externo actúa sobre el sistema con la misma frecuencia que la frecuencia de precesión del protón entonces se logra la condición de resonancia [79].

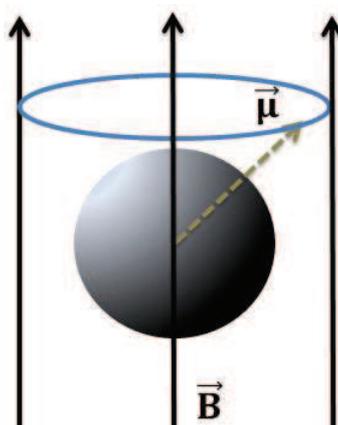


Fig. 3.13: Protón girando y precesando en presencia de un campo magnético constante \vec{B} .

Como influencia externa en el caso del protón que precesa en torno al campo magnético B , se puede usar un campo magnético alternante ($\vec{B}_{oscilante}$) en dirección perpendicular al campo magnético estacionario como se ilustra en la figura 3.14.

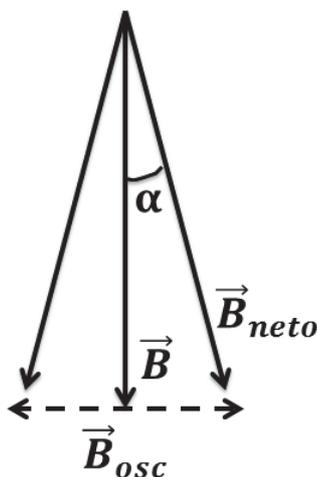


Fig. 3.14: Acoplamiento entre un campo fijo \vec{B} y un campo oscilante \vec{B}_{osc} perpendicular a \vec{B} .

La combinación de ambos campos produce un campo neto con un movimiento de vaivén entre los valores delimitados por el valor del ángulo α . Si se escoge la frecuencia del campo oscilante igual a la frecuencia de precesión del protón entonces este puede absorber energía invirtiendo en 180° su orientación respecto al campo magnético.

Desde la perspectiva de la mecánica cuántica, un núcleo atómico tendrá un número de espín I que depende del número de nucleones que posee. Para muchos núcleos sus vectores dipolares magnéticos se cancelan por lo que el espín es cero. Para otro tipo de núcleos sus vectores dipolares magnéticos no se cancelan completamente por lo que sus números de espín son distintos de cero [80].

Tabla 3.3: Núcleos comúnmente usados en Resonancia magnética nuclear

Isótopo	Espín	Razón giromagnética (10^7 rad/sec·T)
1H	$\frac{1}{2}$	26.7522
2H	1	4.1066
^{13}C	$\frac{1}{2}$	6.7283

Si estos núcleos con un momento dipolar magnético neto se colocan dentro de un campo magnético fijo, sus ejes dipolares se orientarán en ciertas orientaciones cuantizadas cuyo número se define por la relación $2I+1$; así, para los protones por ejemplo se tendrán 2 posibles orientaciones que corresponden a los números cuánticos de espín $m_s = +1/2$ o $m_s = -1/2$

La energía potencial de un dipolo magnético $\vec{\mu}$ en un campo magnético externo \vec{B} está dado como

$$E = -\vec{\mu} \cdot \vec{B} \quad (3.12)$$

La componente del dipolo magnético en la dirección del campo μ_z está dada por

$$\mu_z = \gamma h m_s \quad (3.13)$$

donde γ es una constante empírica llamada razón giromagnética la cual difiere entre cada núcleo como se observa en la tabla 3.3. Para $I=1/2$ como en el caso del protón, el dipolo magnético orientado con el campo ($m_s = +1/2$) tiene la energía mas baja ($E = -m_z B$), mientras que el dipolo magnético orientado contra el campo ($m_s = -1/2$) tiene la energía $E = +m_z B$, de tal forma que la diferencia de energía entre los dos niveles es

$$\Delta E = 2m_z B = \gamma h B \quad (3.14)$$

De la expresión de Planck para la energía tenemos que la frecuencia asociada a esta transición entre estados de energía viene dada por

$$f = \frac{\gamma B}{2\pi} \quad (3.15)$$

Donde f es la frecuencia dada en Hz. Precisamente la técnica de Resonancia magnética nuclear involucra la observación de las transiciones entre tales niveles energéticos asociados a núcleos con momentos dipolares magnéticos inmersos en campos magnéticos estacionarios.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS

4.1 Efecto del PEG sobre las fases lamelares y esponja del sistema estudiado a temperatura ambiente

En esta parte del trabajo se estudia el efecto del PEG20K sobre la fase Lamelar $L\alpha$ y sobre la fase esponja L_3 de un sistema de membranas basado en el surfactante aniónico SDS a temperatura ambiente. Interesa monitorear la evolución de estas fases en función del contenido del Polímero. Para ello se prepara una serie de muestras de cada fase (lamelar y esponja) donde el contenido de polímero varía gradualmente hasta obtener una transformación de la topología de la fase inicial. Las muestras de fase lamelar se obtienen a partir de la formulación de la tabla 3.1 y para la fase esponja corresponde la tabla 3.2. La razón molar hexanol/SDS es de 5.1 para la fase lamelar y 6.2 para la fase esponja. En este mismo contexto, se estudió también el efecto del mismo polímero sobre la fase lamelar de un sistema de surfactante catiónico (CTAB) y una fase lamelar basada en el fosfolípido zwitteriónico DMPC. El estudio de los tres sistemas en su conjunto nos permite tener un panorama general del efecto que un polímero hidrosoluble y neutro ejerce sobre la topología de fases de moléculas anfífilas electrostáticamente neutralizadas. Las técnicas empleadas para este objetivo son la inspección visual a simple vista y entre polarizadores cruzados, la microscopía de luz polarizada, la microscopía electrónica de criofractura y la medición de la conductividad eléctrica. Se presentan resultados obtenidos a temperatura ambiente y en función de la temperatura.

4.1.1 Fases lamelares con PEG20K a temperatura ambiente

Definida la composición de la fase lamelar según tabla 3.1 se prepararon las muestras variando solamente la concentración del Polímero PEG con peso molecular de 20 000g/mol (20K) desde 0g/L hasta 10g/L. Experimentalmente se obtuvo por inspección a simple vista que sin polímero presente en la muestra se forma una fase de aspecto azul-blanco

semitransparente y poco dispersora de luz, con inhomogeneidades distribuidas irregularmente. El aspecto de la fase se conserva hasta antes de una concentración de 9g/L de PEG20K, donde se tienen ahora tres fases. La fase superior es de aspecto blanquecino intenso (dispersa fuertemente la luz) y no presenta inhomogeneidades. La fase de en medio posee el mismo aspecto que las fases a bajas concentraciones de polímero y la fase inferior es totalmente transparente. A la concentración de 10g/L de PEG, la muestra posee dos fases, donde la fase superior tiene el mismo aspecto de la zona blanquecina de $9L_{\alpha}$ y la parte inferior es transparente. Ambas fases en $10L_{\alpha}$ aparecen en iguales volúmenes aproximadamente como se muestra en la figura 4.1. La inspección entre polarizadores cruzados de las muestras (fig. 4.2) indican que de 0g/L a 8g/L las muestras presentan zonas de filamentos luminosos debido a la birrefringencia de la muestra lo cual nos señala la presencia de una fase lamelar que se extiende a lo largo de estos dominios macroscópicos formando los patrones regulares observados en la totalidad del volumen de estas muestras. A las concentraciones de 9g/L y 10 g/L las muestra presenta birrefringencia solo en las fases superiores mientras que las otras fases tienen carácter isotrópico. La birrefringencia que guarda la parte superior de las muestras no presenta zonas filamentosas brillantes sino una birrefringencia de aspecto homogéneo donde la luz transmitida es menos intensa que en los casos anteriores pero distribuida uniformemente en la región.

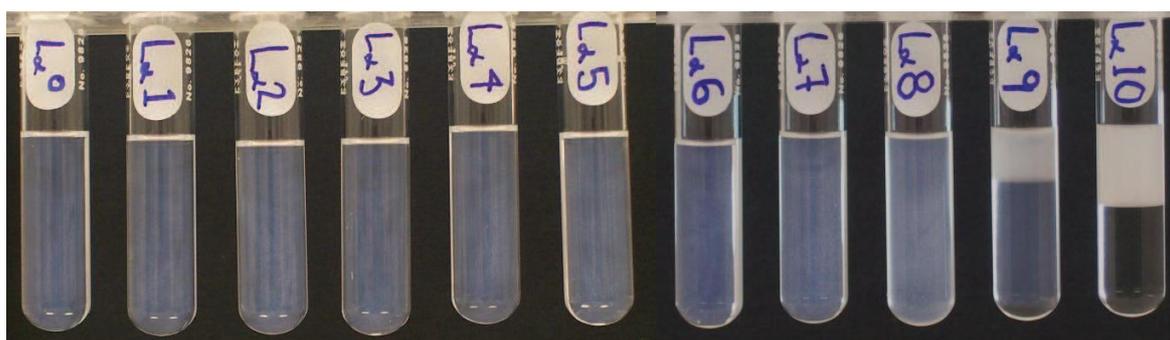


Fig. 4.1: Fases Lamelares con PEG20K a simple vista a temperatura ambiente. El número indica la concentración del polímero en g/L.

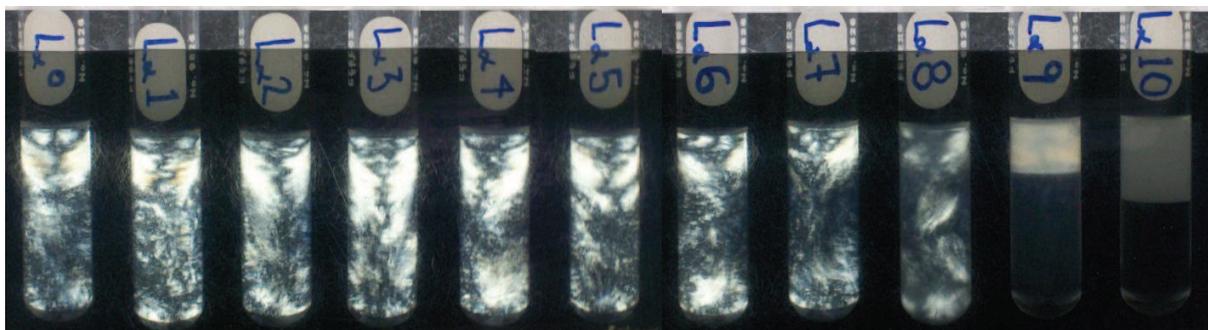


Fig. 4.2a: Fases Lamelares con PEG20K a temperatura ambiente entre polarizadores cruzados.

En la figura 4.2b se muestran dos fotografías del sistema $L\alpha$ por microscopía de luz polarizada. La foto de la izquierda corresponde a la muestra sin PEG20K (muestra $0L\alpha$) y en ella se observan las franjas luminosas características de los defectos conocidos como estrías aceitosas, propios de las fases lamelares. La fotografía de la derecha presenta un aspecto muy distinto a la primera foto y corresponde a la zona superior de la muestra $10L\alpha$ (zona blanca). Los patrones obtenidos son conocidos como cruces de malta y denotan la presencia de vesículas multilamelares.

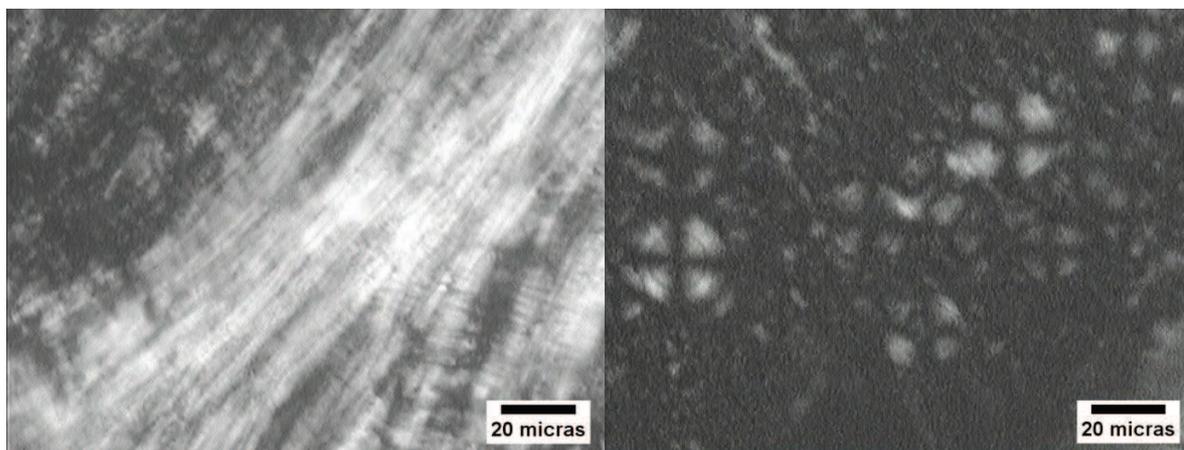


Fig. 4.2b: Micrografías entre polarizadores cruzados de muestra $0L\alpha$ (izquierda) y $10L\alpha$ a temperatura ambiente con objetivo de 40X.

4.1.2 Fases Esponja con PEG20K a Temperatura ambiente

Para la elaboración de muestras de la fase esponja se siguió la formulación de la tabla 3.2, variando la concentración del PEG20K de 0g/L a 10g/L. Para asegurar la obtención de la fase esponja en cada muestra se verificó la birrefringencia transitoria bajo esfuerzo deformante (fig.3.1).



Fig. 4.3: Fases esponja con PEG20K a temperatura ambiente a simple vista (arriba) y entre polarizadores cruzados (abajo).

En la figura 4.3 se observa que las muestras que van de 0g/L a 9g/L están formadas por una sola fase semitransparente de color azul-blanco (muy parecido al caso de las muestras anteriores) y que dispersa muy poca luz. A diferencia de las muestras lamelares en la fig. 4.1, el aspecto de estas muestras de fase esponja a simple vista es muy homogéneo en su textura. Vistas entre polarizadores cruzados se observa que de 0g/L a 9g/L las muestras no presentan

zonas birrefringentes pero si agitamos un poco aparece momentáneamente la birrefringencia. La muestra 10g/L se compone de dos fases. La superior es una fase blanca uniforme a simple vista y birrefringente entre polarizadores. La parte inferior es totalmente transparente y representa el volumen mayoritario de la muestra (~75% del total).

4.2 Conductividad eléctrica en función de la concentración de polímero

Con la finalidad de tener una caracterización más completa de las fases en estudio se llevaron a cabo mediciones de la conductividad eléctrica a temperatura ambiente, esperando 10 minutos después de introducir el electrodo del conductímetro en la muestra para alcanzar el equilibrio térmico; en este punto se empezó a medir la conductividad durante 15 minutos registrando cada 30s el valor correspondiente. Los valores promedios del comportamiento temporal de la conductividad son los empleados para construir la gráfica de conductividad eléctrica en función de la concentración del PEG20K mostrada en figura 4.4. Como se observa de la gráfica, los valores de la conductividad eléctrica relativa (al solvente) de la fase esponja ($\Phi \sim 0.024$) permanecen prácticamente inalterados al incrementar el contenido del PEG20K en la fase con un valor cercano a $\sigma_{L_3}/\sigma_0 \sim 0.61$. Dicho valor coincide con el valor esperado del factor de estructura para una fase esponja. Para el caso de la conductividad eléctrica relativa de la fase lamelar se obtiene un comportamiento irregular al variar la concentración del PEG20K fluctuando alrededor de un valor de $\sigma_{L_\alpha}/\sigma_0 \sim 0.1$. Este valor tan pequeño comparado con el de la fase esponja se debe a que para la fase L_α no existe conectividad entre las membranas a larga escala dado a que las lamelas están orientadas al azar en el bulto (fig. 4.2). A la fase blanca apreciable en la parte superior de las muestras con alto contenido de PEG (fig. 4.1 y 4.3) se le denomina fase vesicular, para la cual los valores de la conductividad eléctrica relativa son $\sigma_{vesic}/\sigma_0 \sim 0.05$, casi la mitad de los obtenidos para la fase lamelar, lo cual se entiende si consideramos que en esta fase buena parte del solvente (el cual incluye a los iones en solución) se encuentra atrapado dentro de estructuras cerradas

(suponemos en este punto son vesículas) que forman a la fase. Por último, la conductividad relativa de la fase isotrópica transparente que coexiste con la fase vesicular es igual a la conductividad del solvente.

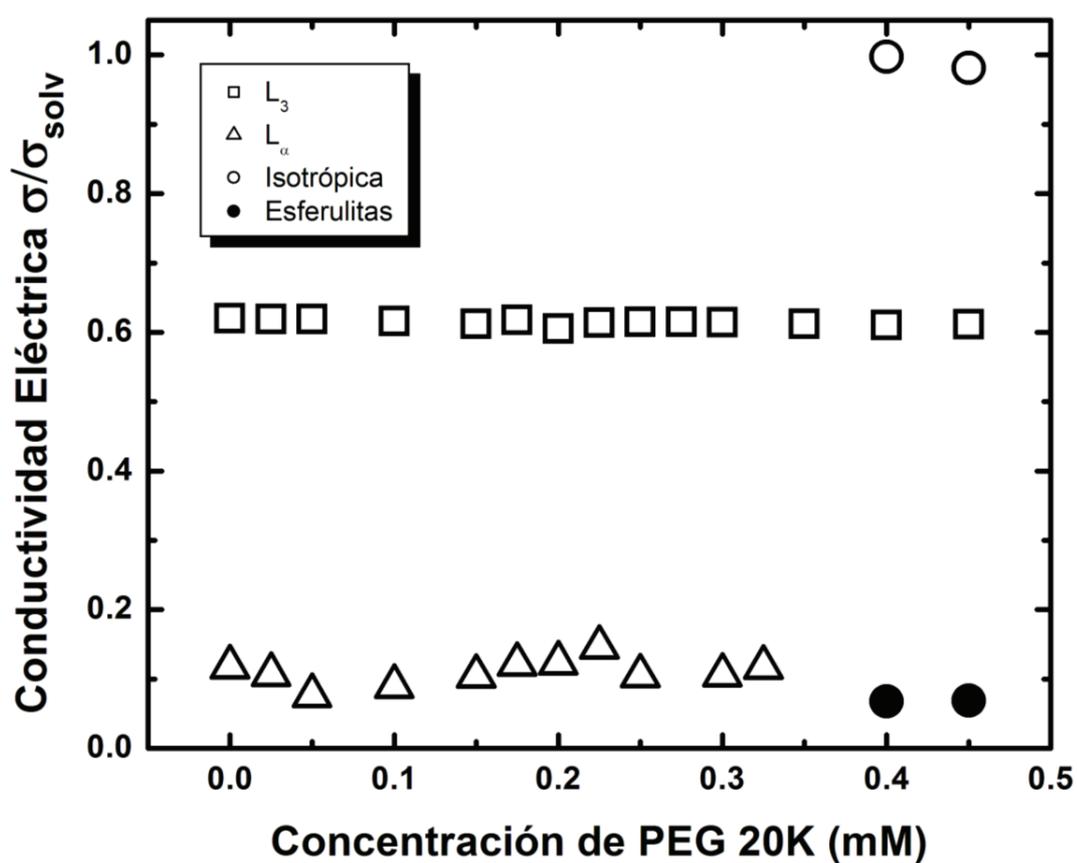


Fig. 4.4: Conductividad eléctrica normalizada de los sistemas L_α (cuadrados) y L_3 (círculos) a temperatura ambiente ($T=24^\circ\text{C}$).

4.3 Transiciones $L_3 \rightarrow L_\alpha$ (esponja-lamelar) estudiadas por conductividad eléctrica

Los resultados de los experimentos de mediciones de conductividad eléctrica bajo agitación con imán para muestras de fase esponja son mostrados en la figura 4.5

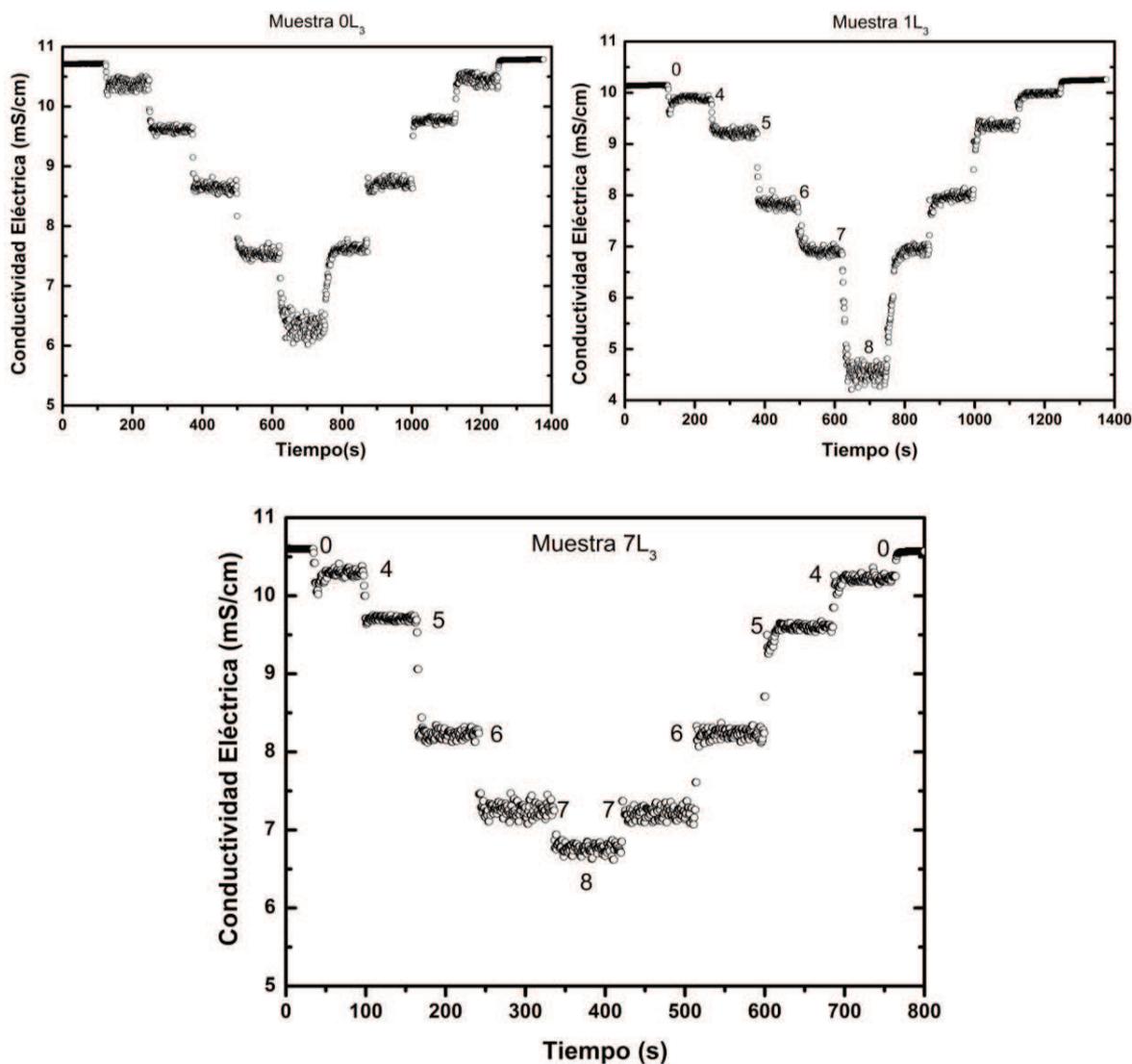


Fig. 4.5: Conductividad eléctrica bajo agitación con magneto a distintas velocidades para 3 muestras de fase esponja con distintas concentraciones de PEG. Mediciones a T ambiente.

En las gráficas de la figura 4.5 los números interiores nos indican intensidades de agitación por lo que la región que va de la izquierda hacia el centro de las gráficas (de 0 hasta 8 en

intensidades de agitación) en cada gráfica nos ilustra que el valor de la conductividad eléctrica decae proporcionalmente a la intensidad de agitación, la cual está directamente relacionada con el esfuerzo de corte al que es sometido la muestra. Al ir disminuyendo progresivamente las intensidades de agitación desde un valor de 8 hasta 0 (de la zona media hacia la derecha en las gráficas) los valores de la conductividad eléctrica van incrementando de nuevo recuperando en cada paso el valor que correspondía anteriormente, es decir, no hay pérdidas en las intensidades de la conductividad eléctrica por este proceso de agitación.

El comportamiento de la conductividad eléctrica durante la agitación de la fase esponja nos indica que la estructura de membranas interconectadas que favorece la conducción de los iones en solución a través de ella se pierde gradualmente a medida que la agitación ordena localmente las membranas en un ordenamiento tipo lamelar lo que se traduce en una disminución en la conductividad eléctrica, es decir, en la primera mitad de las gráficas estamos monitoreando la transición $L_3 \rightarrow L_\alpha$. Posteriormente se tiene que al cesar gradualmente la agitación las membranas recuperan su interconectividad por lo que los valores de la conductividad eléctrica retoman los valores que anteriormente poseían a esas intensidades de agitación. En la segunda mitad de las gráficas estamos observando la transición inversa $L_\alpha \rightarrow L_3$ sin que existan modificaciones topológicas en el sistema original aún cuando la concentración del polímero presente en la muestra vaya incrementándose.

En la figura 4.6 se muestra la respuesta de la conductividad eléctrica al relajarse la fase lamelar después de apagar la agitación con magneto. El proceso se repite 4 veces seguidas para cada muestra observándose que la respuesta de la conductividad no cambia en las repeticiones dentro de cada composición.

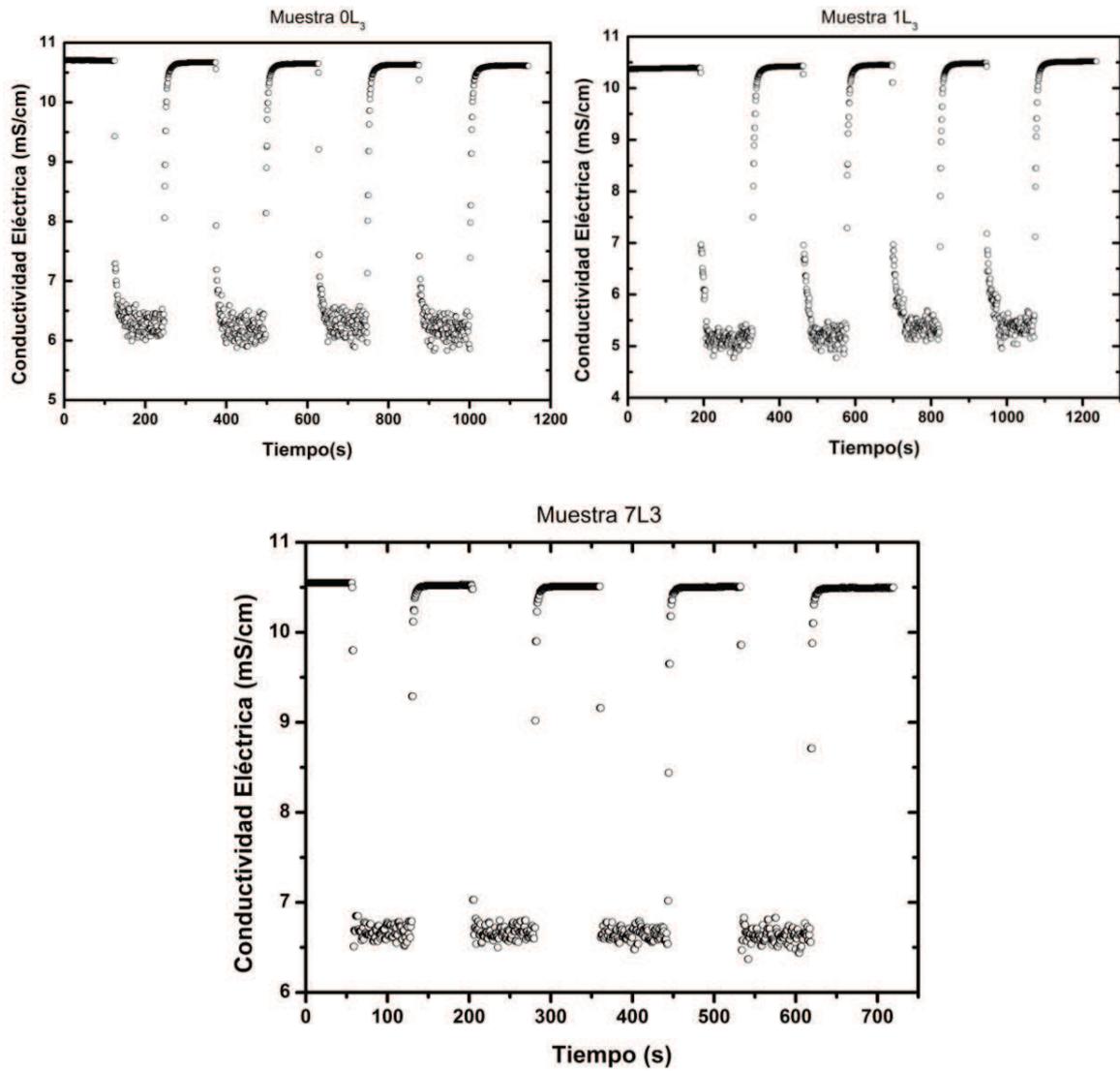


Fig. 4.6: Relación temporal de la transición $L_{\alpha} \rightarrow L_3$ para muestras con 0,1 y 7g/L de PEG

4.4 Experimentos de Criofractura

La técnica de microscopía electrónica de transmisión de réplicas de muestras obtenidas por criofractura nos permite visualizar a escala nanométrica la morfología que guardan las fases de surfactantes en estudio. En el caso particular de este trabajo se buscó monitorear cómo una fase inicial de membrana, ya sea lamelar o esponja, modifica gradualmente su topología a medida que aumentamos la concentración del PEG en las muestras; sin embargo, la obtención de réplicas de muestras a bajas fracciones de volumen de membrana del sistema basado en el surfactante SDS fue difícil, lográndose obtener réplicas libres de “artefactos” solamente para la fase esponja sin polímero y la fase lamelar con alto contenido de polímero. No se logró obtener réplicas que evidenciaran claramente la existencia de membranas plano paralelas fluctuantes que eran de esperarse para la fase L_α sin PEG. Experimentos similares se llevaron a cabo en laboratorios de la Universidad de Santa Bárbara arrojando los mismos resultados para este sistema por lo que suponemos que la dificultad de obtener registros de las membranas a bajas concentraciones de surfactante es una característica propia del sistema. Cabe mencionar que también se prepararon réplicas de muestras donde se sustituyó 20% de solvente por glicerol como agente crioprotector obteniéndose los mismos resultados que sin la sustitución por glicerol.

4.4.1 Fase Esponja L3 a bajas fracciones de volumen de membrana

En la fig. 4.7 se presenta una fotografía de la réplica correspondiente a la muestra de fase esponja sin PEG ($0L_3$), en ella se observa claramente el corte transversal de la membrana exponiendo los “poros” de la fase esponja con geometría irregular. El ancho de estos poros son mayores a 200nm de acuerdo a la escala. Se distinguen dos regiones de forma clara: la región externa (correspondiente a la membrana) con una consistencia rugosa y la región interna del poro que es lisa (solvente).

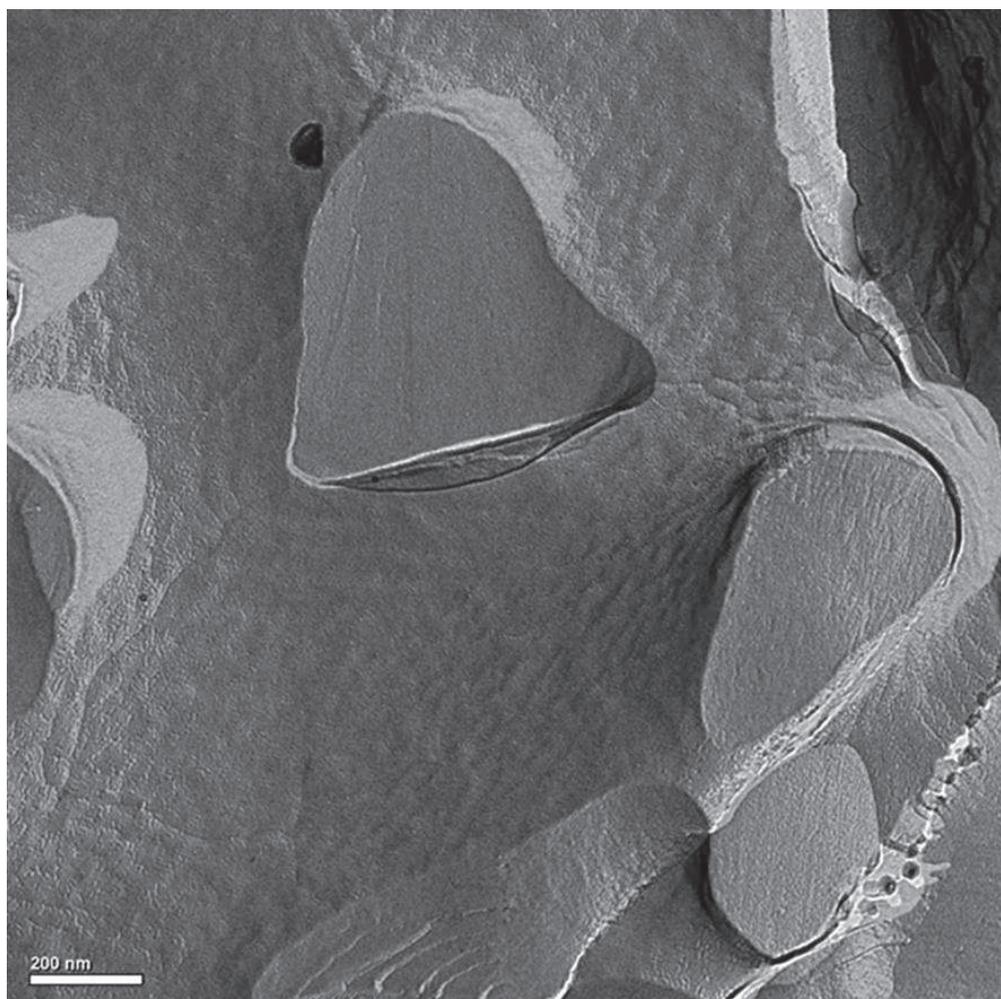


Fig. 4.7: Crio fractura de muestra de fase L_3 sin PEG vista por TEM. Foto (Cortesía Dra. Judith Tánori).

4.4.2 Fase vesicular a bajas fracciones de volumen de membrana

La figura 4.8 corresponde a la réplica de la muestra de fase lamelar con una concentración de PEG de 9g/L. La muestra fue tomada de la parte superior del tubo donde se encontraba la fase de aspecto lechoso (vesicular) descrita en el apartado 4.1.1. En la figura 4.8 podemos apreciar agregados esféricos polidispersos con tamaños aproximados a los 200nm. Estas estructuras no

las hemos detectado en las fases esponja y lamelar sin polímero por lo que suponemos que el PEG agregado al sistema es el responsable de la transformación topológica lamelar a vesículas. De la misma figura también se tiene que las vesículas están formadas por capas de membranas por lo que sostenemos que las vesículas son multilamelares como se deducía de la figura 4.3

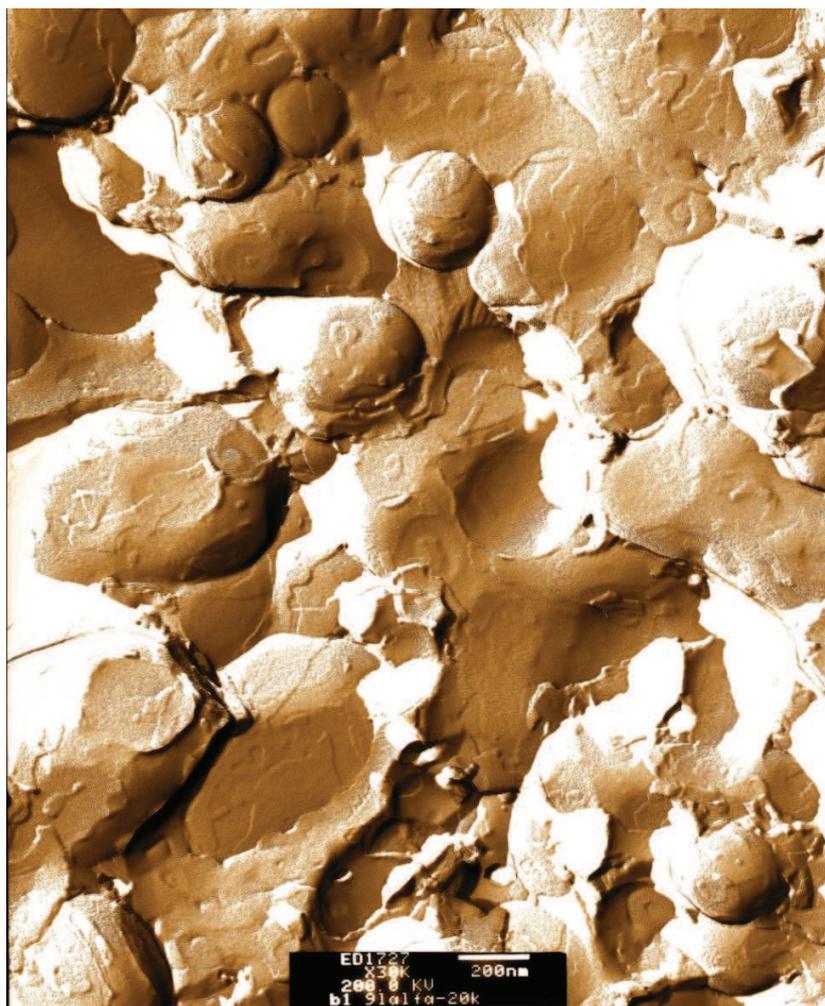


Fig. 4.8: Criofractura de muestra de fase L_α con PEG a 9g/L vista por TEM. La fracción del volumen de membrana es de $\Phi \sim 0.024$.

4.5 Resultados con otros Sistemas

4.5.1 CTAB-Hexanol-Agua+NaCl-PEG20K

Al igual que en el caso del sistema con SDS, en este apartado se busca establecer la factibilidad de la transformación topológica Lamelar \rightarrow Vesicular por efecto del PEG20K sobre el sistema de surfactante catiónico CTAB-Hexanol-Agua+NaCl (340mM)-PEG20K. En este apartado del trabajo se emplearán las técnicas de inspección visual entre polarizadores cruzados y microscopía de luz polarizada implementadas a temperatura ambiente.

Para obtener una composición que nos permita preparar muestras monofásicas lamelares elaboramos una serie de formulaciones apoyados en el diagrama de fases reportado por O. Abillon y E. Perez, el cual se ilustra en la figura 4.9 [68].

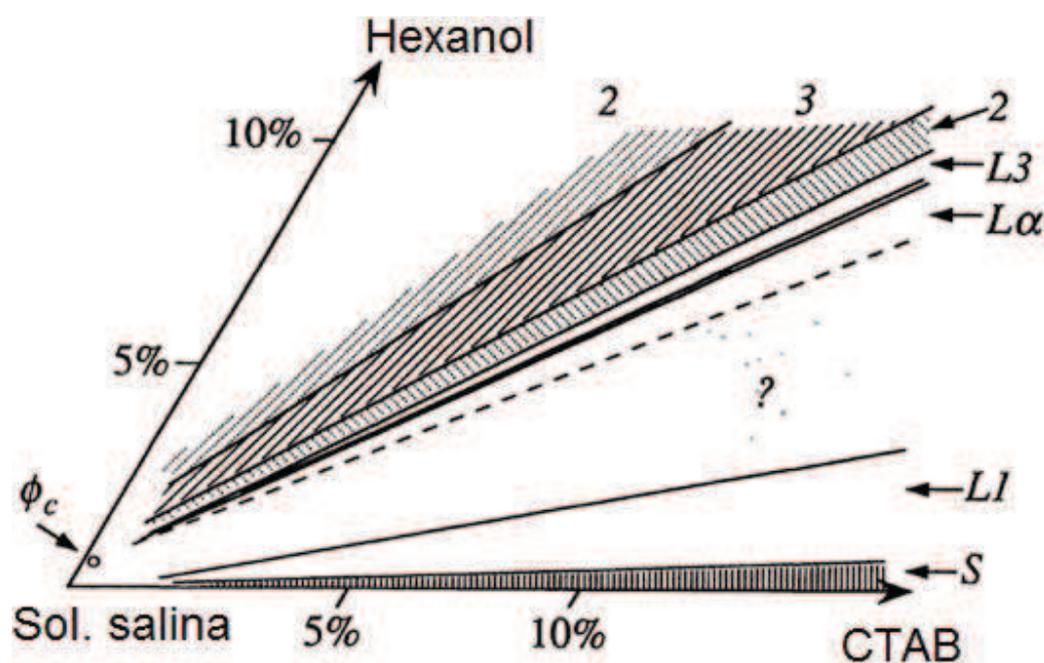


Fig. 4.9: Diagrama de fase del sistema CTAB-Hexanol-Solución salina (NaCl 0.34M) a $T=21^{\circ}\text{C}$ según referencia 68. <S>: fase sólida de CTAB; <L1>: fase micelar; <?>: fase no equilibrada después de 1 mes; <L α >: fase lamelar; <L $_3$ >: fase esponja; <2>: dominio bifásico; <3>: dominio trifásico.

Las formulaciones exploradas para determinar la composición lamelar se presentan en la tabla 4.1. La composición se expresa en % Peso

Tabla 4.1: Composiciones del sistema CTAB-Hexanol-Sol. Salina NaCl

Muestra	%CTAB	%Hexanol	%Sol. Salina (10g/L)
I CTAB	5	4	91
II CTAB	5	5	90
III CTAB	5	4.5	90.5
IV CTAB	4	4	92
V CTAB	4.4	4	91.6
VI CTAB	4.7	4	91.3

Las características de las fases obtenidas en las muestras de la tabla 4.1 se analizaron por inspección a simple vista y mediante luz polarizada. Los resultados se muestran en la fig 4.10.

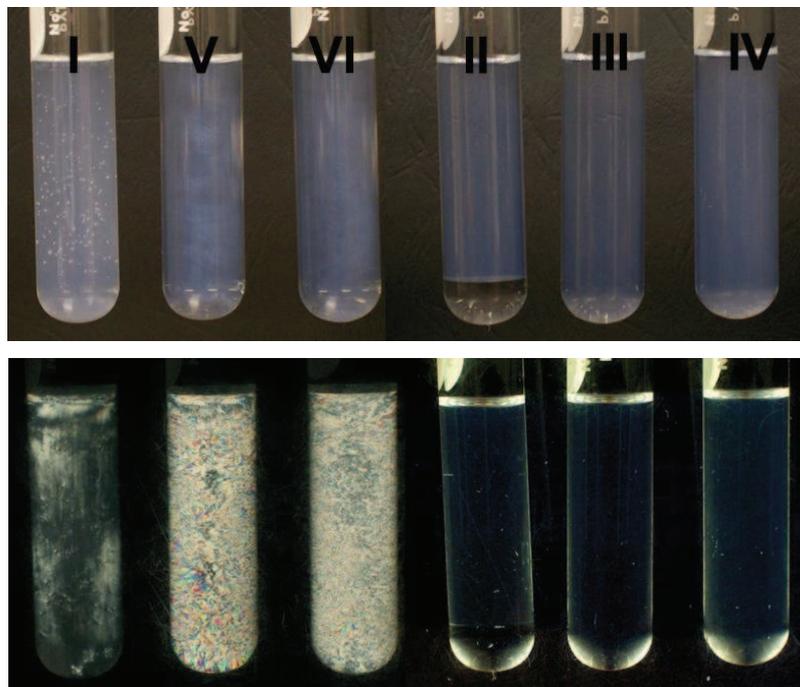


Fig. 4.10: Muestras obtenidas de las formulaciones de tabla 4.1. Arriba a simple vista y abajo entre polarizadores cruzados. En la parte superior se etiquetan las muestras.

En la figura 4.11 se ubican las muestras obtenidas vistas entre polarizadores cruzados en el diagrama de fases de referencia.

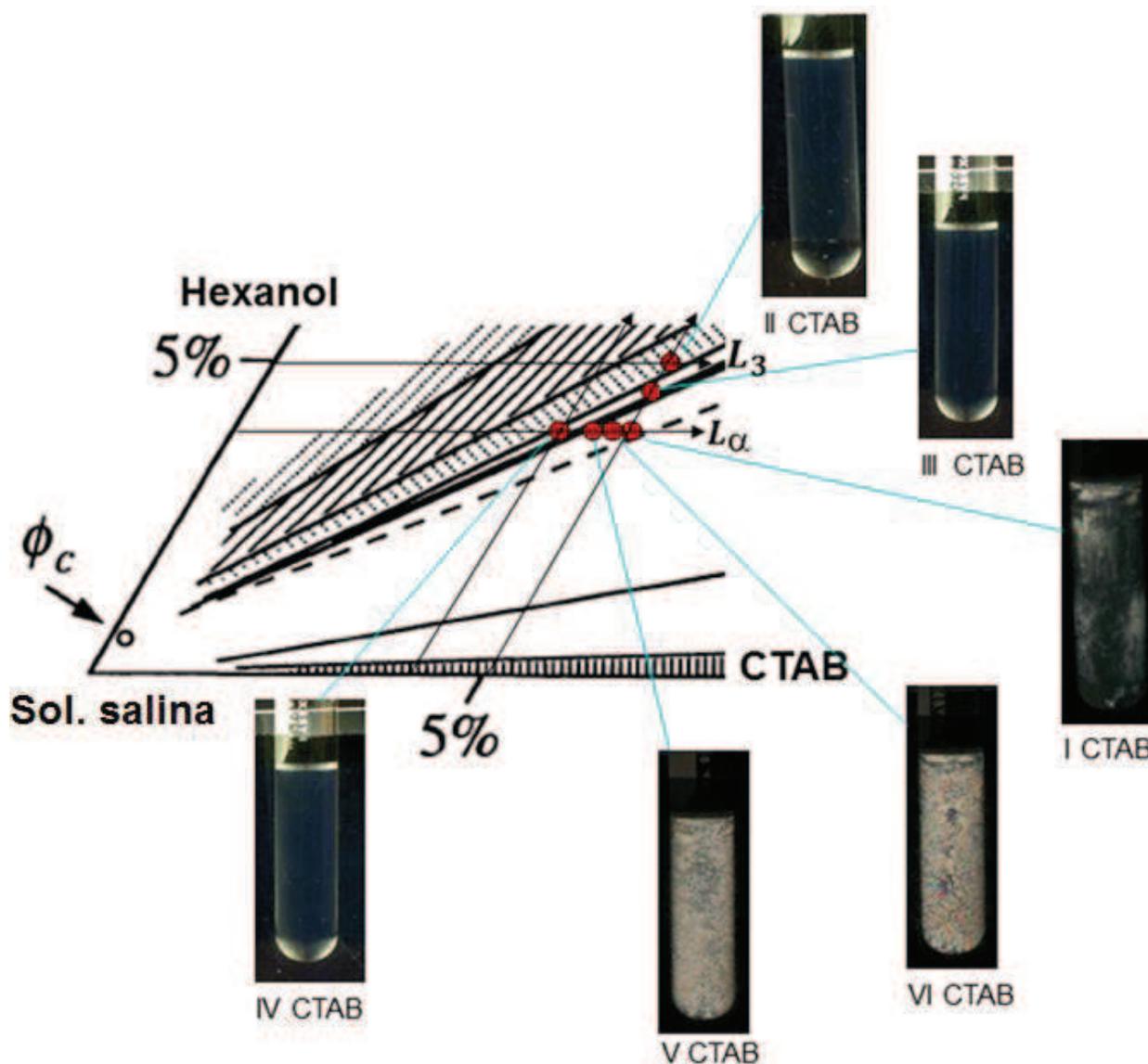


Fig. 4.11: Ubicación de las muestras obtenidas en el diagrama de fase de referencia para el sistema basado en el CTAB.

Las muestras I CTAB, V CTAB y VI CTAB corresponden a fases lamelares, identificadas por su marcada birrefringencia. Las muestras III CTAB y IV CTAB son de aspecto isotrópico

entre polarizadores cruzados mostrando birrefringencia al agitarlas suavemente por lo que corresponden a fases esponja . La muestra III CTAB es bifásica, con una fase ligeramente dispersora de luz en la parte superior y la otra fase totalmente transparente. Ambas fases son isotrópica pero la de arriba muestra birrefringencia al agitarse. Puede observarse de la figura 4.11 la exacta correspondencia entre las fases obtenidas a partir de las formulaciones propuestas y su ubicación en el diagrama de fases de referencia, a pesar de lo estrecho de las zonas Lamelar y Esponja. Cabe señalarse que la concentración de sal (NaCl) agregada a las soluciones poliméricas es de 10g/L (170mM) , representando la mitad de la cantidad de sal empleada en la referencia del diagrama de fases para el sistema CTAB . Sin embargo, aún a la concentración de sal de 170mM se tiene un apantallamiento completo de las cargas eléctricas provenientes del CTAB para todas las concentraciones de tabla 4.1.

De las formulaciones propuestas se eligió a la I CTAB para preparar al conjunto de muestras de fase Lamelar con distintas concentraciones de PEG20K pues el aspecto de su birrefringencia es similar al mostrado por las fases lamelares del sistema SDS.

El comportamiento del sistema I-CTAB en función de la concentración del PEG20K se muestra en la fig. 4.12. Se observa que a 5g/L del polímero la fase Lamelar que inicialmente se tenía sin PEG se transforma en una fase altamente dispersiva de aspecto lechoso, homogéneo y birrefringente que ocupa la totalidad del volumen del tubo contrayendo su volumen a medida que el contenido de PEG20K se incrementa. Esta fase blanquecina guarda el mismo aspecto que la obtenida para el caso del sistema con SDS donde se asoció dicha fase a la presencia de vesículas multilamelares en el sistema.

Para conocer acerca de la microestructura de las fases obtenidas se efectuó un análisis de las muestras por microscopía de luz polarizada empleando capilares planos rectangulares de vidrio de 0.4mm de espesor. El microscopio empleado es un microscopio invertido Olympus modelo IX71.

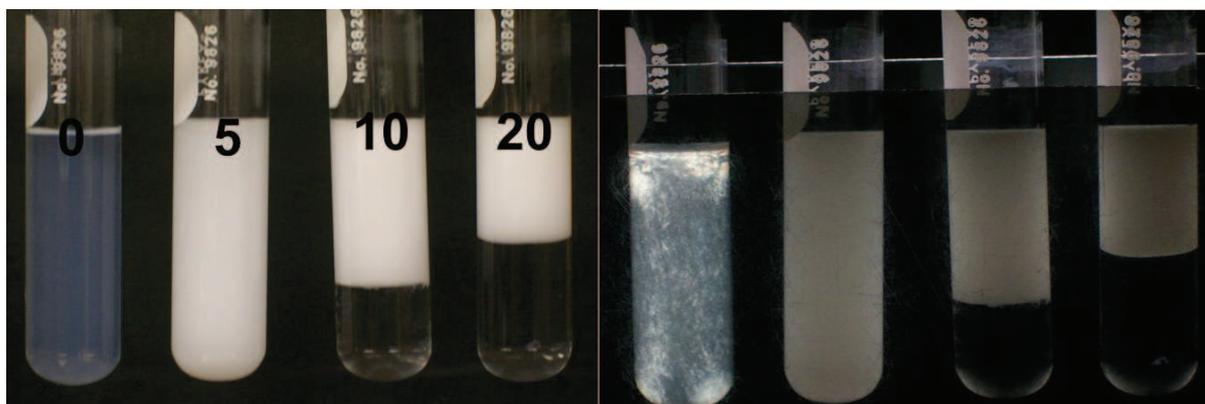


Fig. 4.12: Muestras I-CTAB con distintas concentraciones de PEG20K indicadas en la parte superior de los tubos (en g/L). Las fotos a la derecha son entre polarizadores cruzados.

Los resultados indican que la muestra I-CTAB sin polímero presenta birrefringencia con una textura típica de los defectos conocidos como estrías aceitosas (fig. 4.13), propios de las fases lamelares liotrópicas [69]. Por otro lado, las microfotografías correspondientes a la zona blanquecina-lechosa de las muestras I-CTAB con 5 y 20 g/L de PEG (fig. 4.14) muestran patrones denominados cruces de malta, los cuales son defectos de las fases lamelares conocido

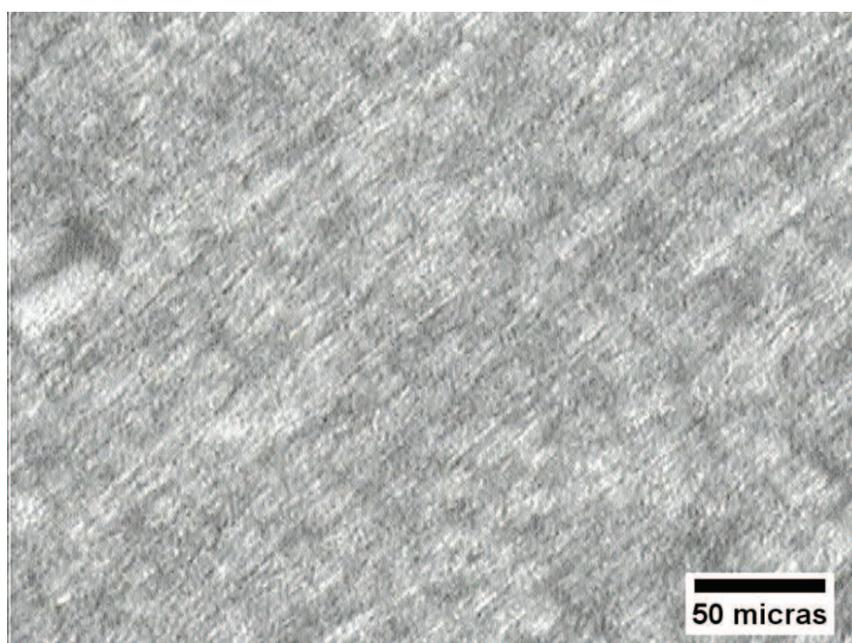


Fig. 4.13: Micrografía de luz polarizada. Muestra I-CTAB sin PEG.

como dominios focales de 2ª especie [70]. Estos defectos son conocidos también como esferulitas o vesículas multilamelares por tratarse de vesículas en cuyos interiores alojan a otras vesículas en forma progresiva separadas entre sí por el solvente.

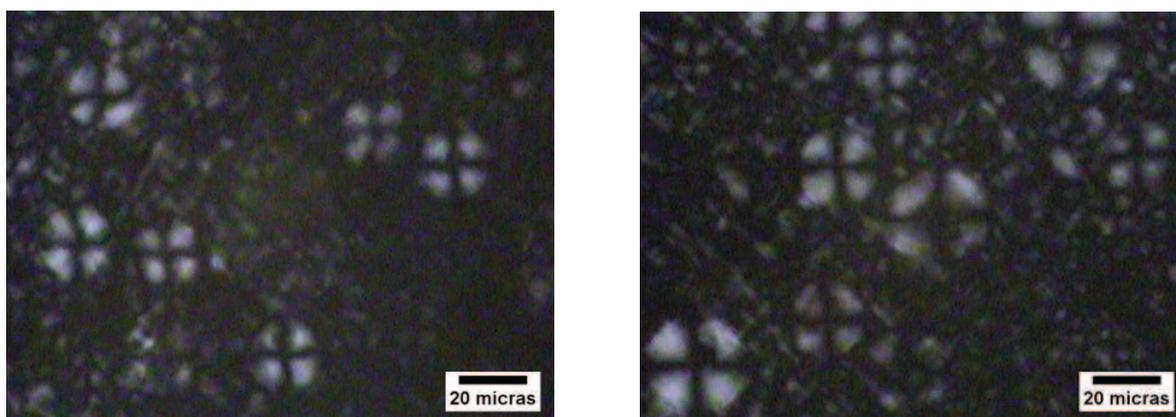


Fig. 4.14: Micrografías de luz polarizada. Muestra I-CTAB 5PEG (a la izquierda) y muestra I-CTAB 20PEG (zona lechosa) a la derecha. El número indica la concentración de PEG en g/L.

Los anteriores resultados obtenidos nos indican de forma cualitativa que al agregar un polímero neutro e hidrosoluble como el PEG20K a una fase lamelar del sistema de surfactante catiónico CTAB-Hexanol-Agua+NaCl (10g/L) con su carga electrostática apantallada, la topología inicial del sistema cambia (por arriba de una concentración crítica del PEG) a una topología cerrada (vesículas).

4.5.2 DMPC-Hexanol-Agua-PEG20K

En esta parte del trabajo monitoreamos el efecto de la concentración del PEG20K sobre la topología de una fase L_α formada por una molécula zwitteriónica (DMPC), para ello hacemos uso de la inspección visual mediante luz polarizada, de la microscopía de luz polarizada y experimentos de microscopía electrónica de criofractura (FFEM).

El diagrama de fases del cual se parte para la obtención de una fase L_α en el sistema DMPC-Hexanol-Agua es tomado de la referencia 71. En esta referencia los autores trabajan con pentanol como cosurfactante en vez de hexanol. En La Fig. 4.15 se ubican las formulaciones exploradas para encontrar la fase L_α de nuestro interés. A modo de referencia se incluye la región de formación lamelar correspondiente según la referencia 71, considerando la sustitución del hexanol por pentanol.

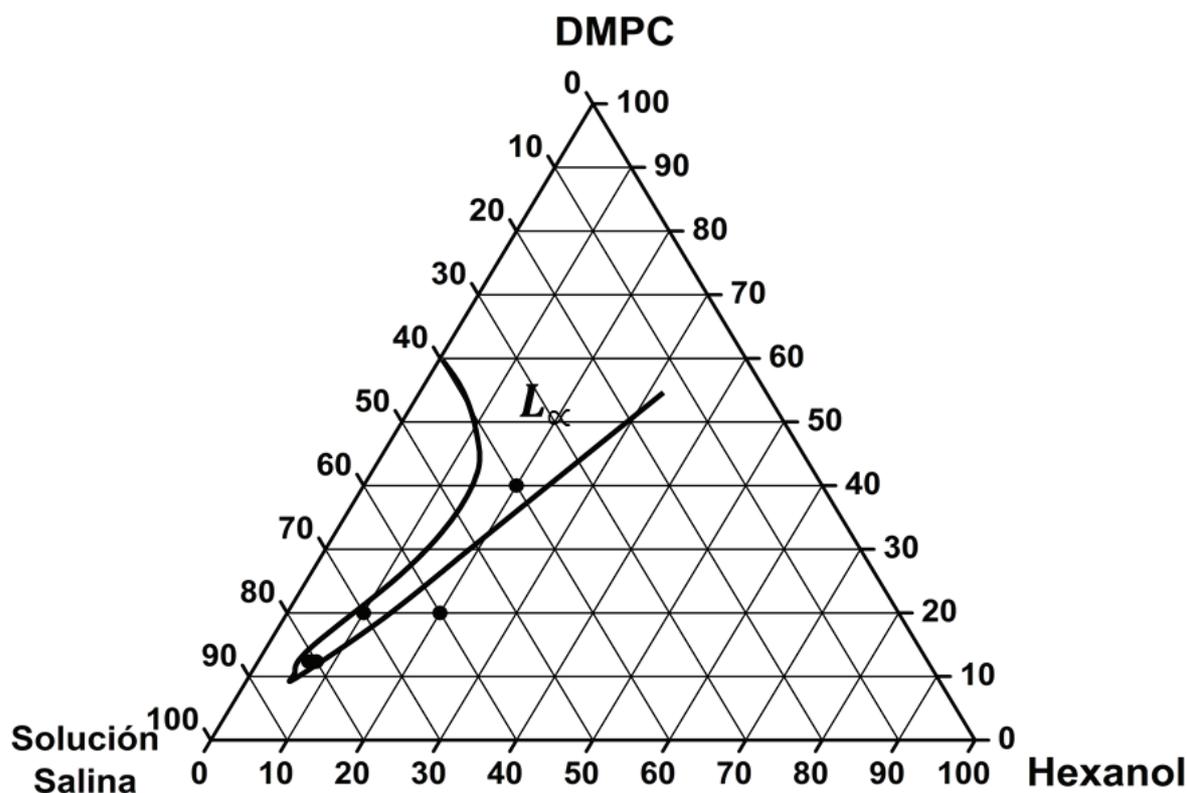


Fig. 4.15: Diagrama ternario del sistema DMPC-Hexanol-Agua+NaCl. Los puntos son las composiciones elaboradas. La línea es la zona de formación L_α según referencia 71.

Tabla 4.2: Composiciones exploradas para encontrar una fase lamelar del sistema DMPC-Hexanol-Agua+NaCl (10g/L) a temperatura ambiente.

<i>Muestra</i>	<i>%DMPC</i>	<i>%Hexanol</i>	<i>%Brine</i>
<i>1DMPC</i>	<i>12.35</i>	<i>7.65</i>	<i>80</i>
<i>2DMPC</i>	<i>12.35</i>	<i>6.65</i>	<i>81</i>
<i>3DMPC</i>	<i>40</i>	<i>20</i>	<i>40</i>
<i>4DMPC</i>	<i>20</i>	<i>10</i>	<i>70</i>
<i>5DMPC</i>	<i>20</i>	<i>20</i>	<i>60</i>

Las muestras a simple vista y entre polarizadores cruzados son presentadas en la figura 4.16. En esta figura se observa que la muestra que cumple con la condición de ser monofásica y lamelar es la de 3DMPC (etiquetada como 3 en la foto y resaltada en gris en la tabla 4.2). Dicha muestra de carácter transparente a simple vista presenta una birrefringencia muy intensa como se observa en la parte central inferior de la figura 4.16.

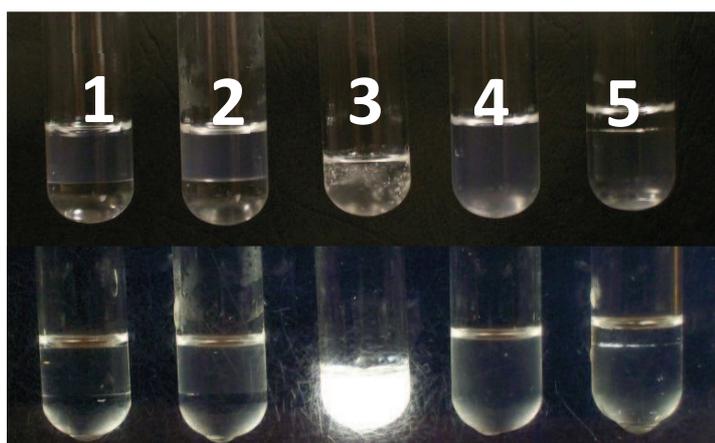


Fig. 4.16: Muestras tal como aparecen a simple vista (arriba) y entre polarizadores cruzados a temperatura ambiente. Los números son las composiciones según la tabla 4.2.

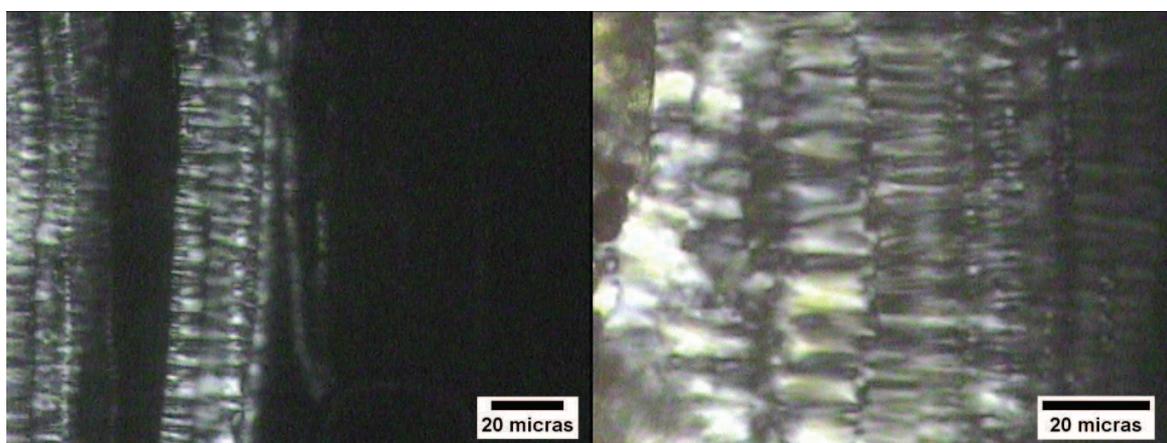


Fig. 4.17: Fase lamelar del sistema DMPC sin PEG (muestra 3DMPC). La foto de la derecha es un detalle de una región con defectos de estrías aceitosas de la foto izquierda.

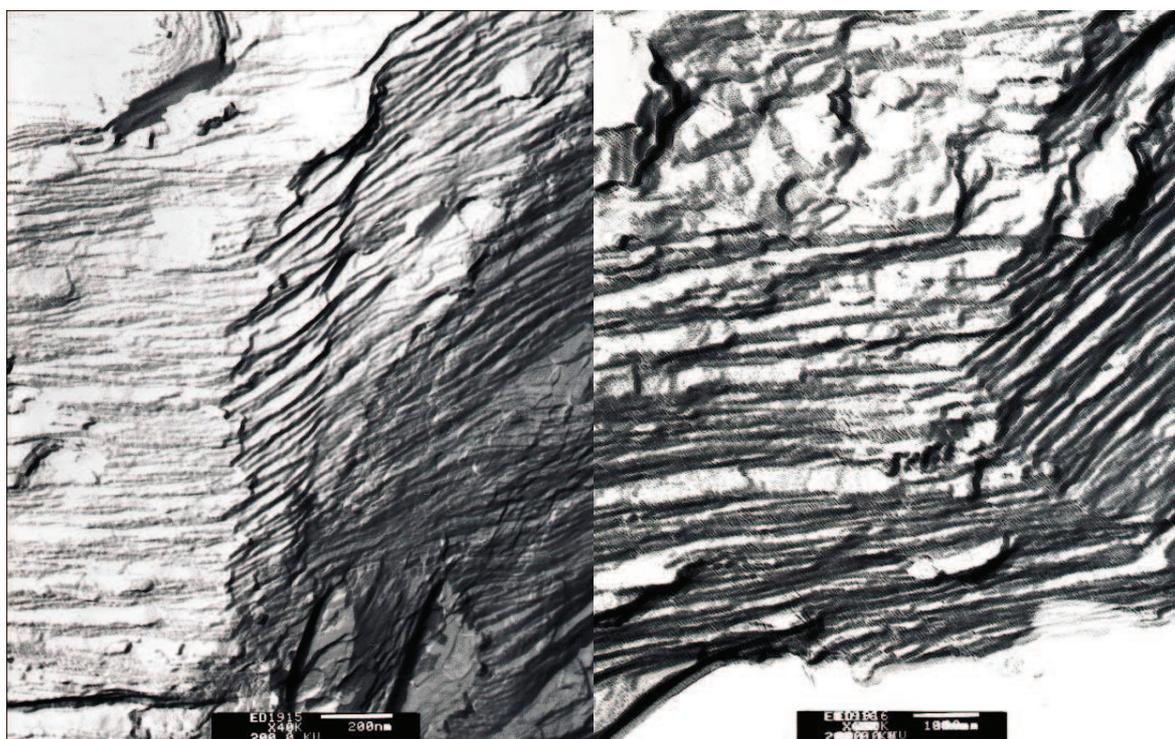


Fig. 4.18: Fotografías de criofractura en MET de muestra 3DMPC. Fase lamelar del sistema DMPC.

La figura 4.17 corresponde a una microfotografía de la muestra 3DMPC empleando luz polarizada. En la foto se observan los patrones birrefringentes de estrías aceitosas; defectos característicos de las fases lamelares. En la figura 4.18 se expone fotografías de dos réplicas obtenidas por la técnica de criofractura de la muestra 3DMPC vistas en el microscopio electrónico de transmisión . Se observa en ellas un apilamiento de membranas bien definidas ordenadas en fase de membranas plano paralelas sin fluctuaciones (fase lamelar). Los anteriores resultados indican inequívocamente que la muestra 3DMPC, en ausencia de polímero, es una fase lamelar.

A continuación se prepararon muestras con la composición de 3DMPC incorporando PEG20K a distintas concentraciones. En la fig. 4.19 se muestran las características de las muestras obtenidas, analizadas a simple vista y entre polarizadores cruzados. Nótese como la muestra sin PEG, de aspecto transparente a simple vista y birrefringente entre polarizadores, se transforma por efecto del polímero en una fase de aspecto blanquecino que dispersa fuertemente la luz y presenta birrefringencia entre polarizadores. Esta nueva fase parece coincidir con las obtenidas en los sistemas de SDS y CTAB por influencia del PEG20K .

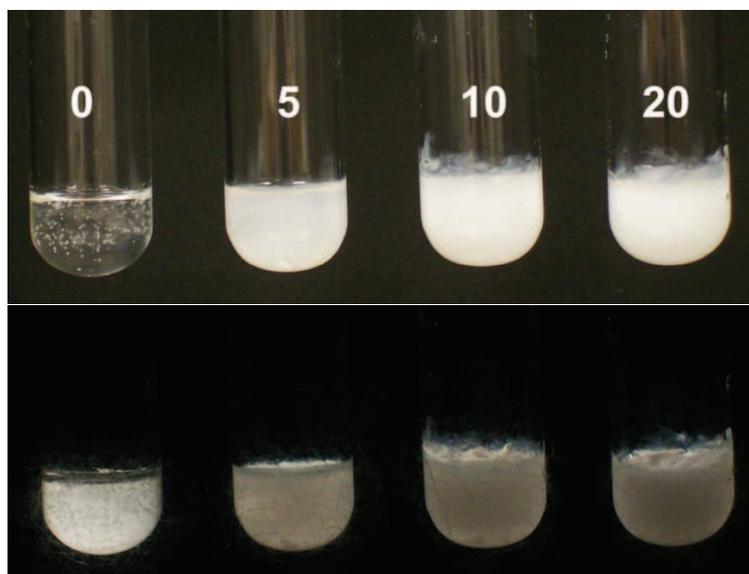


Fig. 4.19: Fotografías de muestras de la composición 3DMPC a distintas concentraciones de PEG20K indicada en la parte superior de los tubos y expresada en g/L. La foto superior es a simple vista y la inferior entre polarizadores cruzados

La figura 4.20 corresponde a una muestra de la zona lechosa de la composición 3DMPC con 20g/L de PEG20K vista por microscopía de luz polarizada a Temperatura ambiente y con objetivo de 20X. Es de resaltar la fotografía por la presencia exclusiva de defectos del tipo cruces de malta propios de las vesículas multilamelares o esferulitas y libre de defectos de estrías aceitosas.

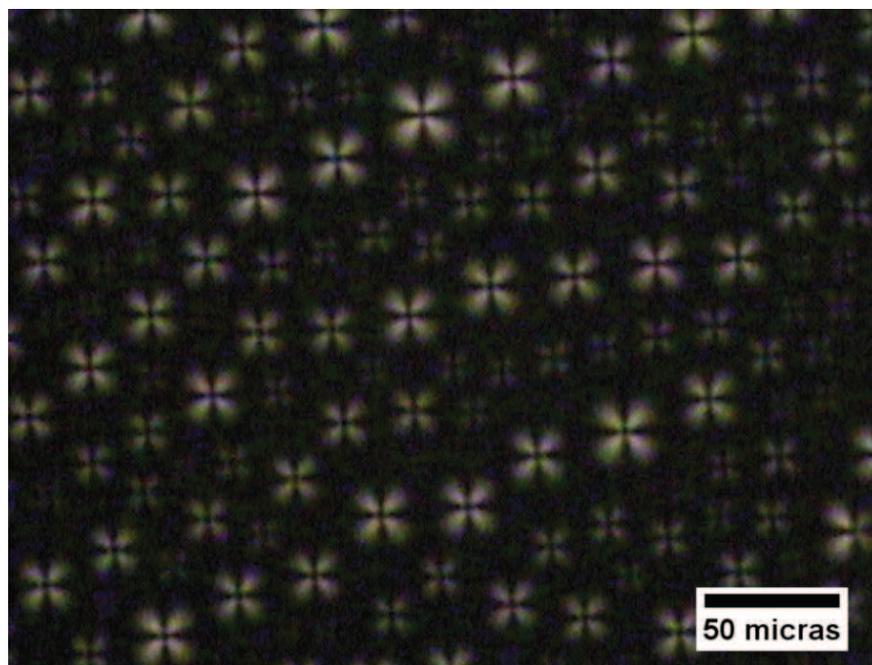


Fig. 4.20: Microfotografía con luz polarizada de Muestra 3DMPC-PEG20K (20g/L) a temperatura ambiente.

4.6 Efecto de la temperatura sobre el diagrama de una fase lamelar del sistema con SDS

En las figura 4.21A y 4.21B se muestra el comportamiento de las fases para muestras del sistema L_{α} basado en el surfactante SDS a distintas concentraciones del polímero PEG20K para $T=20^{\circ}\text{C}$ y $T=5^{\circ}\text{C}$. Las imágenes que indican la temperatura corresponden a muestras vistas entre polarizadores cruzados. A $T=20^{\circ}\text{C}$ se detecta la evolución del sistema que transita de un sistema monofásico a lamelar L_{α} (de 0g/L hasta 6g/L de PEG) hasta un sistema bifásico caracterizado por la presencia de vesículas multilamelares o esferulitas en la parte superior (de 8g/L hasta 10g/L), transitando antes por una zona bifásica lamelar-isotrópica a 7g/L de PEG. Para $T=5^{\circ}\text{C}$ se tienen dos comportamientos bien definidos a partir de una concentración crítica. Para concentraciones que van de 0g/L a 4g/L las muestras son monofásicas lamelares y a concentraciones mayores son bifásicas esferulíticas. Es de resaltar el comportamiento monótono de la contracción de la fase de esferulitas (zona blanca superior) a medida que se incrementa la concentración del PEG20K. La figura 4.22 nos muestra la variación del área ocupada por la fase de esferulitas respecto al área total como función de la concentración del PEG a $T = 5^{\circ}\text{C}$. Para el intervalo de concentraciones que van de 5g/L hasta 8g/L se tiene un

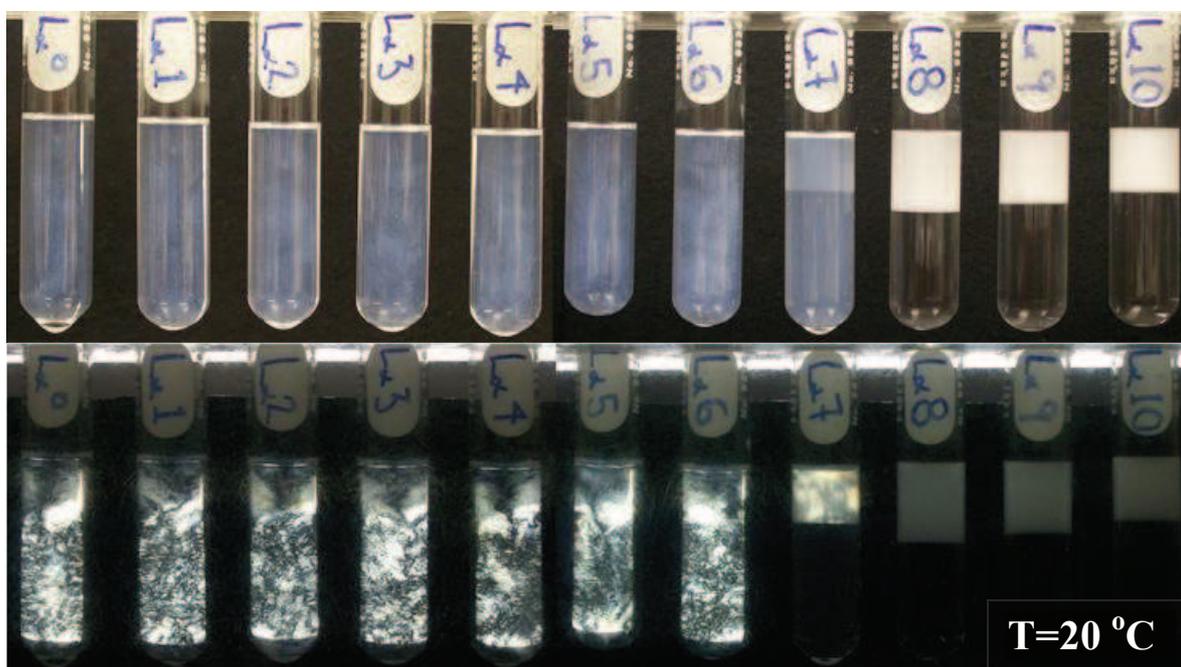


Fig. 4.21A: Fotografías de fase lamelar a simple vista y entre polarizadores cruzados a $T=20^{\circ}\text{C}$.

comportamiento monoexponencial decreciente mientras que de 8g/L a 10g/L la tendencia es mas lineal.

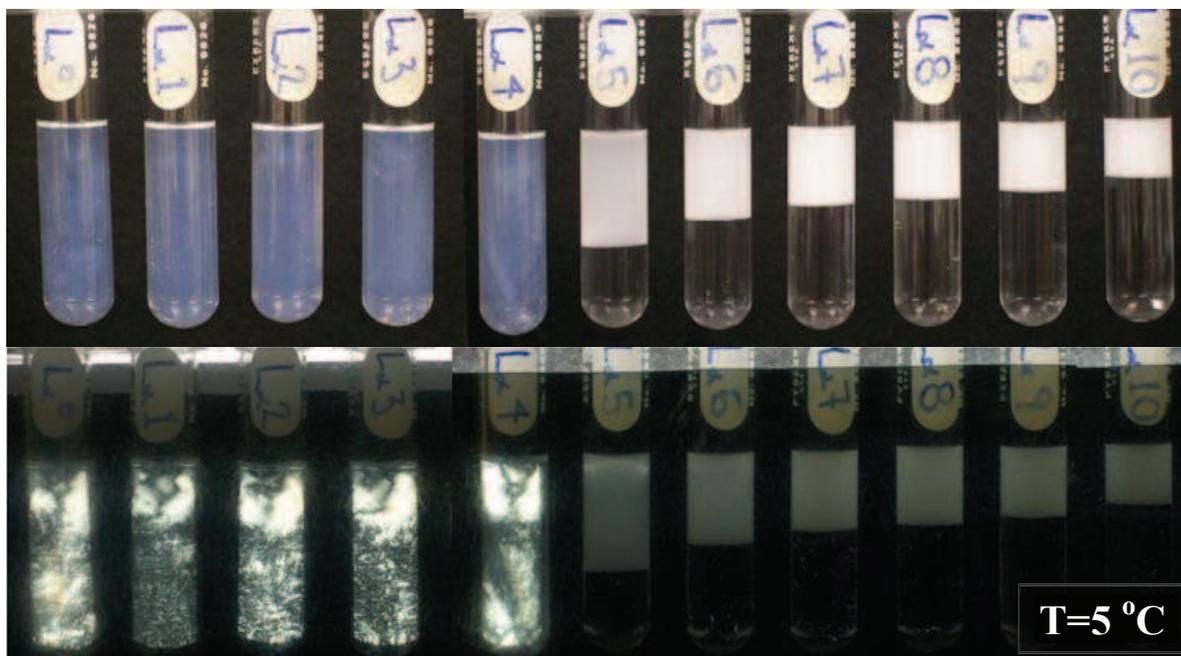


Fig. 4.21B: Fotografías de fase lamelar a simple vista y entre polarizadores cruzados a $T=5^{\circ}\text{C}$.

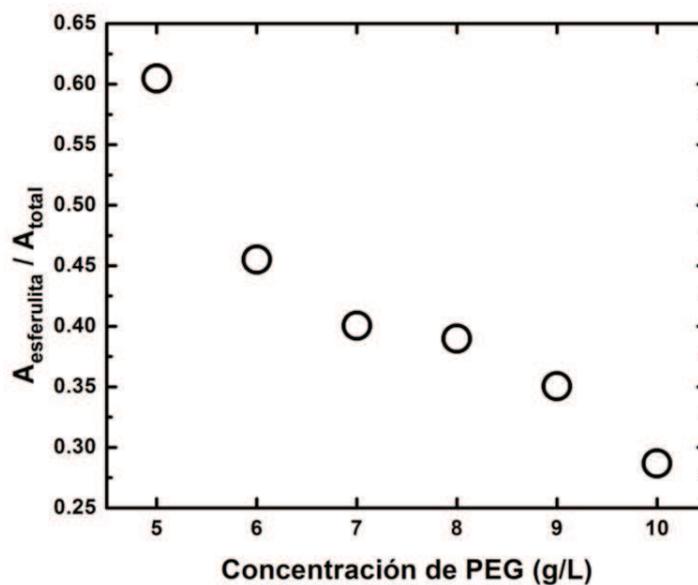


Fig. 4.22: Área ocupada por esferulitas respecto al total de muestra al variar contenido del PEG. Datos obtenidos de la fig. 4.21B a $T=5^{\circ}\text{C}$ para el sistema L_{α} – SDS.

Los resultados condensados del comportamiento de las fases del sistema lamelar L_α - SDS a distintas concentraciones del polímero PEG20K para el intervalo de temperaturas de $T=25^\circ\text{C}$ a $T=5^\circ\text{C}$, se muestran en el diagrama de fases de la figura 4.23. En ella se observan dos grandes zonas, la de muestras monofásicas lamelares, etiquetada como L_α y las muestras bifásicas que presentan fase de vesículas multilamelares, las cuales etiquetamos como L_α^* .

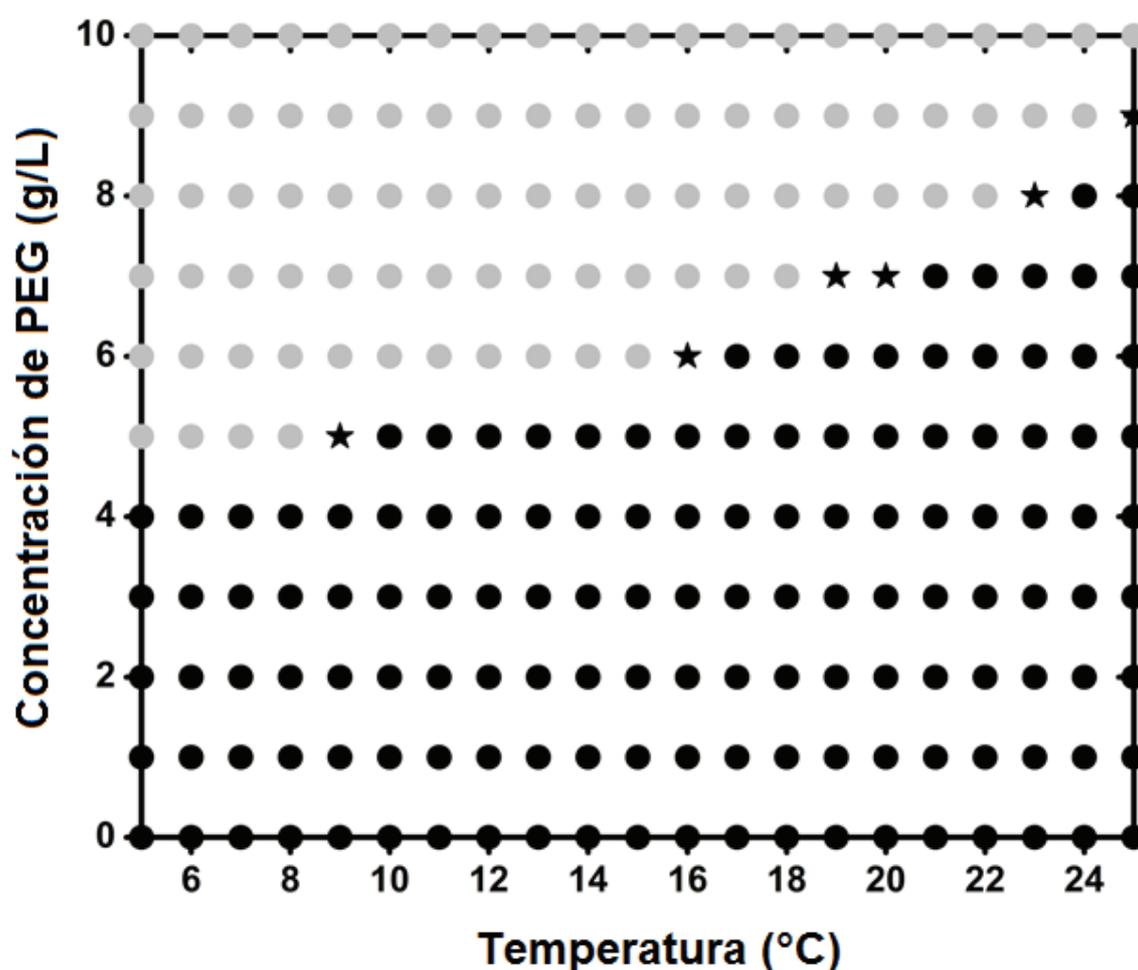


Fig. 4.23: Diagrama de fases en función de la temperatura y de la concentración del polímero PEG20K. Sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl(170mM)-PEG en fase inicial lamelar (L_α) a $T=25^\circ\text{C}$ para muestra sin polímero. Los círculos grises corresponden a muestras bifásicas vesícula-solvente (L_α^*); las estrellas corresponden a muestras bifásicas lamelar-fase isotrópica y los círculos negros son muestras monofásicas lamelares (L_α). Para referencia ver figura 4.21A para $T=20^\circ\text{C}$.

Del diagrama de fases tenemos que en algunos casos es posible detectar la formación intermedia entre las fases L_α y L_α^* . Esta fase transitoria marcada como estrellas es de carácter bifásico con parte lamelar y parte isotrópica no transparente como se ilustra con la muestra $7L_\alpha$ de la figura 4.21A. Esta fase es el preámbulo a la fase vesicular L_α^* y su presencia es muy estrecha en el intervalo de temperaturas pues desaparece al variar un grado Celcius antes o después de la temperatura de su formación, excepto para el caso de la muestra $7L_\alpha$ donde existe para un intervalo de 2°C . Del diagrama también se desprende que a mayor concentración de polímero la transición $L_\alpha \rightarrow L_\alpha^*$ se efectúa a temperaturas más bajas, llamando la atención la temperatura de transición de la muestra $5L_\alpha$ que se da a los 10°C , marcando una brecha de temperatura de 6°C respecto a la transición de la muestra $6L_\alpha$, mientras que las otras brechas de temperatura entre transiciones son de 2°C y 1°C .

4.7 Efecto de la temperatura sobre el diagrama de una fase esponja del sistema con SDS

En las figuras 4.24A-B y 4.24C-D se muestra el comportamiento de las fases para muestras del sistema L_3 -SDS a distintas concentraciones del polímero PEG20K para $T=21^\circ\text{C}$, $T=15^\circ\text{C}$, $T=6^\circ\text{C}$ y $T=5^\circ\text{C}$. Las imágenes que indican la temperatura corresponden a muestras vistas entre polarizadores cruzados excepto a $T=5^\circ\text{C}$. En general se observa el mismo comportamiento que en la fase lamelar pues la aparición de la fase de vesículas (zona blanca superior) se genera al descender la temperatura evolucionando de la muestra más concentrada a la más diluida donde frena la aparición de esta fase (a $T=5^\circ\text{C}$). Como referencia para el diagrama de fase se tiene que a $T=15^\circ\text{C}$ todas las muestras son bifásicas excepto la $1L_3$.

La figura 4.25 nos muestra la variación del área ocupada por la fase de esferulitas respecto al área total como función de la concentración del PEG a $T = 5^\circ\text{C}$ para las muestras del sistema L_3 -SDS. El comportamiento es el mismo que se tenía para la fase lamelar identificándose dos regiones, uno exponencial decreciente y el otro lineal para la región de altos contenidos del polímero. En la figura 4.26 a modo de comparación se adjuntan los resultados de las figuras

4.22 y 4.25. El ajuste lineal para la región de alto contenido de PEG (10g/L a 7 g/L) da una pendiente con el mismo valor para ambos sistemas.

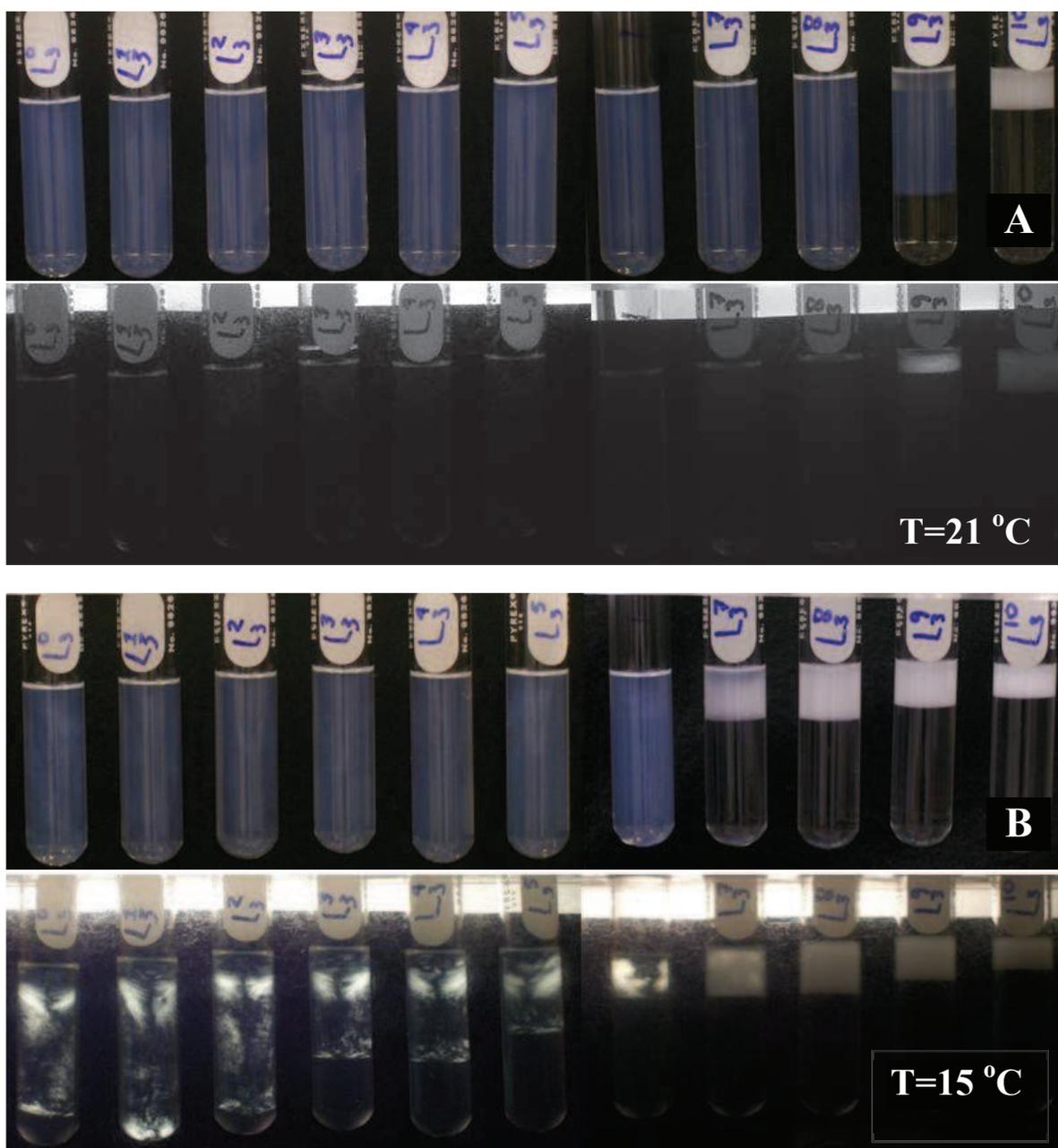


Fig. 4.24 A-B: Fotografías de fase esponja a simple vista y entre polarizadores cruzados a $T=21^{\circ}\text{C}$ y $T=15^{\circ}\text{C}$.

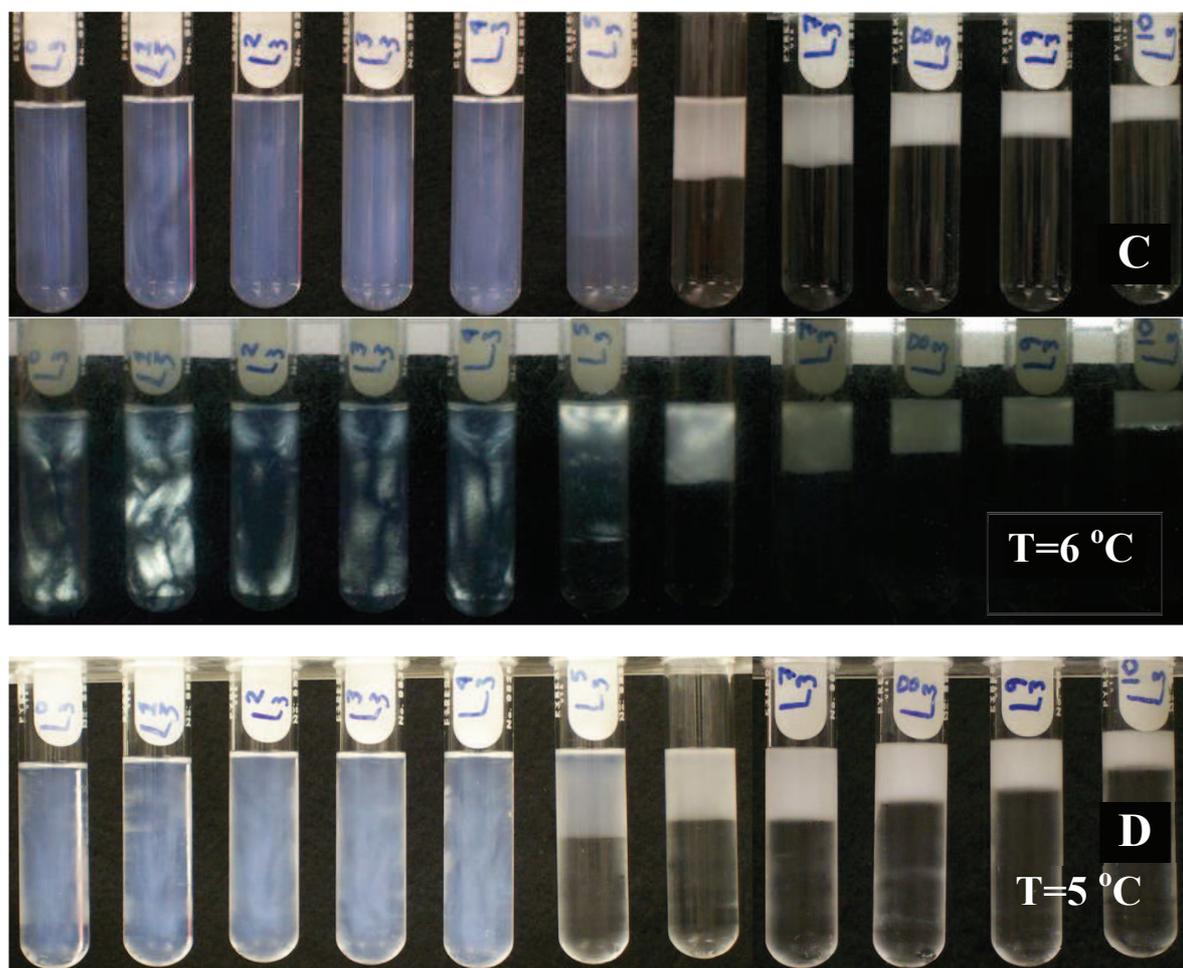


Fig. 4.24 C-D: Fotografías de fase esponja a simple vista y entre polarizadores cruzados a $T=6^{\circ}\text{C}$ y $T=5^{\circ}\text{C}$.

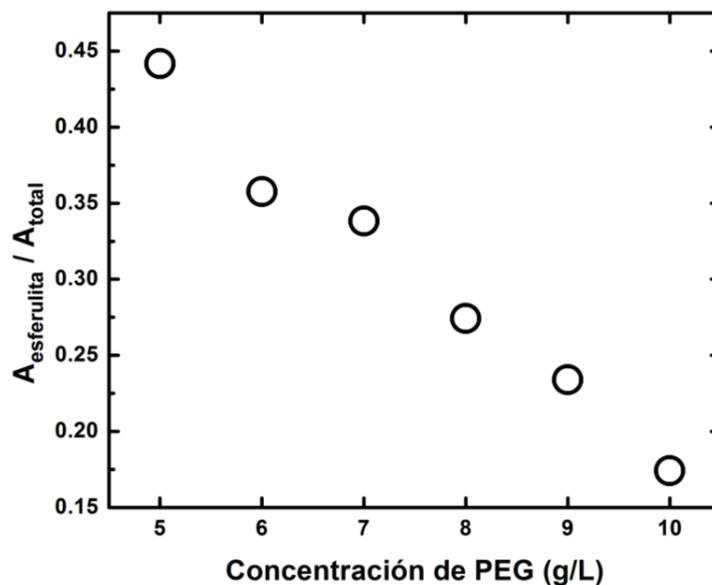


Fig. 4.25: Área ocupada por esferulitas respecto al total de muestra al variar contenido del PEG. Datos obtenidos de la figura 4.24D a $T=5^{\circ}\text{C}$ para el sistema $L_3 - \text{SDS}$.

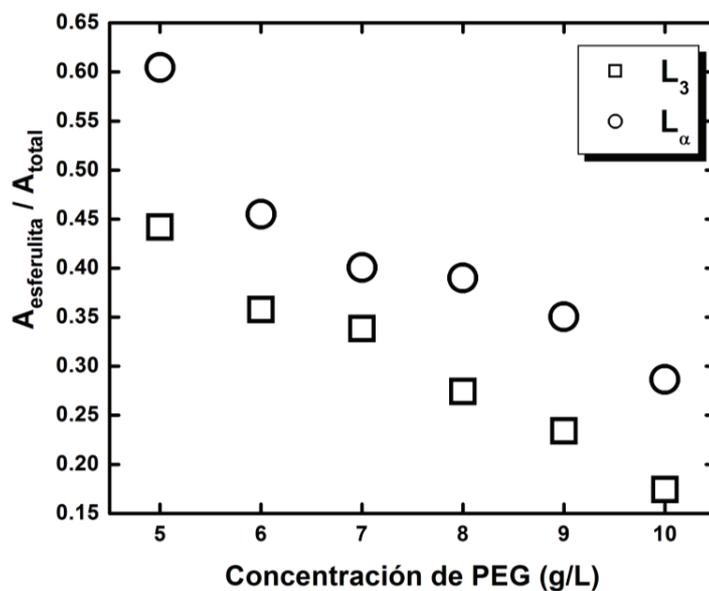


Fig. 4.26: Relación de las áreas ocupadas de las regiones de esferulitas respecto a totales de las muestras. Comparación entre los sistemas lamelar y esponja con SDS.

En la figura 4.27 se muestra el diagrama de fases para el sistema L_3 – SDS a distintas concentraciones de PEG y en función de la temperatura. En él se condensan los resultados obtenidos para la evolución del sistema en el intervalo de temperaturas comprendido entre 25°C y 5°C . De entrada se observa un diagrama más complejo que en el caso del sistema L_α . Al menos se distinguen cuatro regiones bien definidas. La región de la fase esponja L_3 ubicada a la derecha del diagrama y representada por triángulos; la región lamelar L_α que se representa por círculos negros en la región media inferior izquierda; la zona de formación de esferulitas L_α^* ubicada en la parte media superior denotada por círculos grises y la zona de coexistencia $L_\alpha - L_3$ que está en la zona central y se representa por cuadrados. Los puntos representados por estrellas corresponden a la coexistencias de 3 fases : lamelar (L_α)-esponja(L_3)-solvente (isotrópica transparente). Del diagrama se desprende que la transición de fase esponja a esferulitas, esto es $L_3 \rightarrow L_\alpha^*$, solo es posible para una concentración igual o mayor a 5g/L de PEG dentro del intervalo de temperatura estudiado. Debajo de esta concentración el sistema evoluciona a una fase Lamelar (L_α) al descender la temperatura. Entre los 10g/L y 7g/L de polímero la transición de la fase esponja a la de esferulitas ocurre en una brecha de temperatura muy estrecha (1 o 2 grados Celcius) transitando en todos los casos por la coexistencia de las 3 fases anteriormente señaladas. A la concentración de 6g/L la misma transición está separada por una brecha de 6°C mientras que a 5g/L es de 12°C

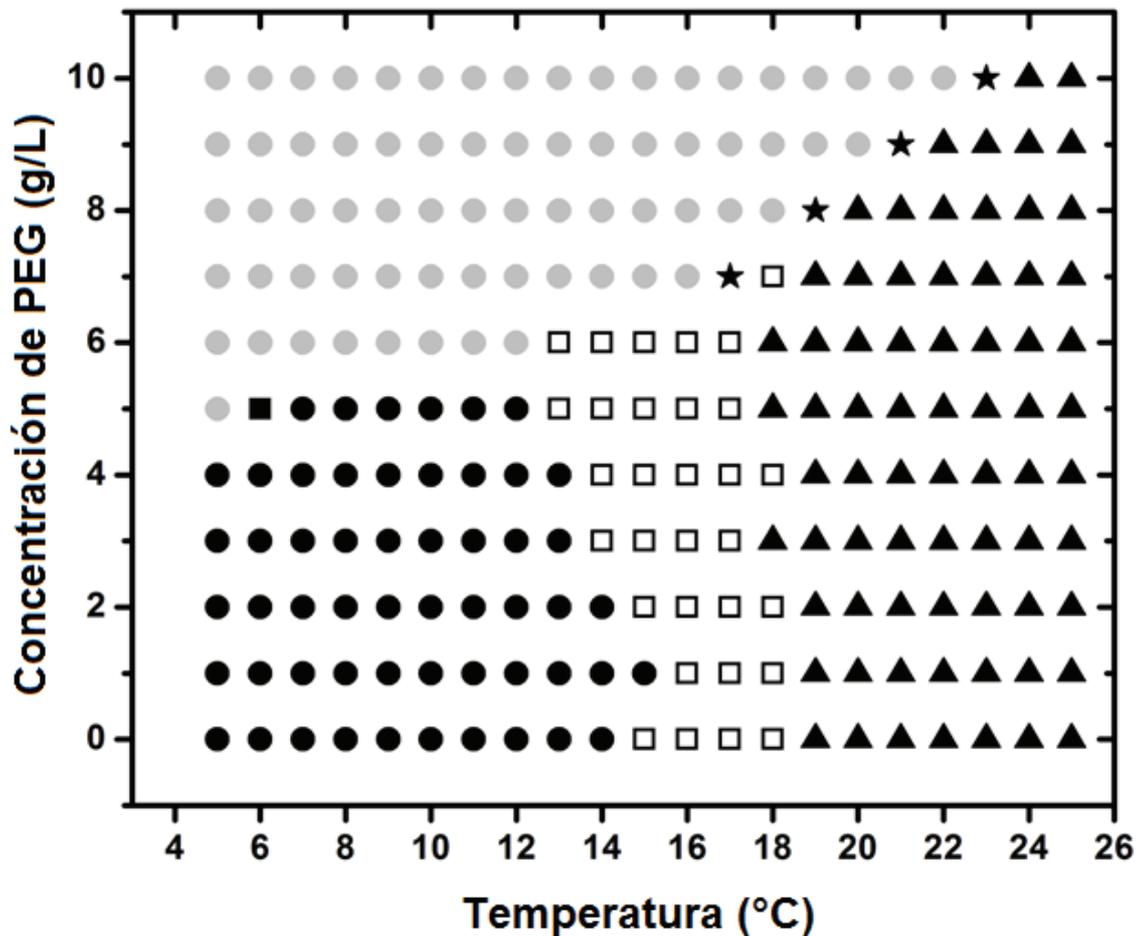


Fig. 4.27: Diagrama de fases en función de la temperatura y de la concentración del polímero PEG20K. Sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl(170mM)-PEG en fase inicial esponja (L_3) a $T=25^\circ\text{C}$ para todas las concentraciones de polímero. Los círculos grises corresponden a muestras bifásicas vesículas-solvente (L_α^*); las estrellas corresponden a muestras trifásicas lamelar-esponja-solvente; los círculos negros son muestras monofásicas lamelares (L_α); los cuadrados sin rellenar son muestras bifásicas lamelar-esponja y los triángulos denotan fases monofásicas de esponja. El cuadrado negro es una muestra bifásica lamelar - fase isotrópica desconocida. Para referencia ver fig 4.24A-B para $T=21^\circ\text{C}$.

Es interesante analizar el caso particular de la muestra $5L_3$ ya que la transición $L_3 \rightarrow L_\alpha^*$ transcurre por etapas intermedias análogas a las que corresponden a la fase lamelar en su transición $L_\alpha \rightarrow L_\alpha^*$. En la fig 4.28 se ilustra como la fase esponja existente a los 21°C se transforma en una región bifásica lamelar-esponja a los 15°C . A los 10°C la fase esponja ha desaparecido completamente para formar una fase monofásica lamelar. A partir de aquí el sistema evoluciona tal como lo hace el sistema L_α : cambia a una muestra con coexistencia de dos fases, una lamelar y la otra isotrópica no transparente (6°C). Posteriormente el sistema evoluciona dando lugar a una muestra con la coexistencia de la fase de esferulitas y la fase rica en solvente a los 5°C .

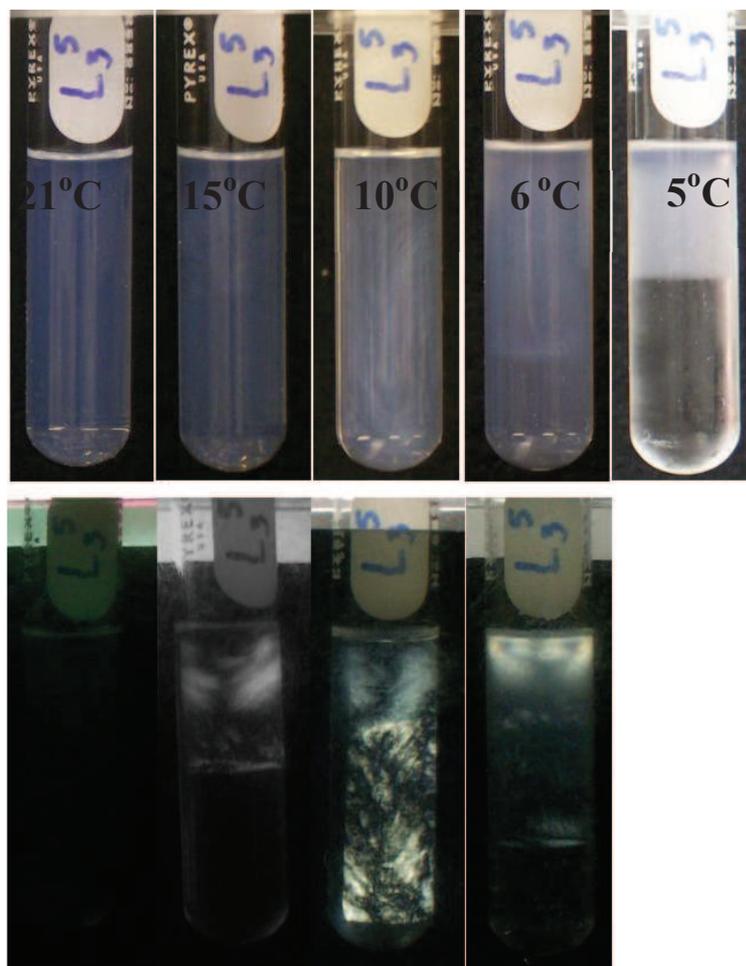


Fig. 4.28: Transiciones de muestra $5L_3$ al descender la temperatura:



4.8 Conductividad Eléctrica en función de la temperatura fase L_3

El comportamiento de la conductividad eléctrica en función de la temperatura es estudiado para 3 muestras del sistema de fase esponja a distintas concentraciones de polímero: 0, 1 y 7 g/L. El intervalo de temperaturas estudiado es 30°C-5°C. En la figura 4.29 observamos que la conductividad eléctrica decae en forma lineal en el intervalo de 30°C-20°C para posteriormente descender rápidamente estabilizándose a partir de los 10°C. La recta roja marca la región para la zona esponja mientras que la recta verde está asociada a la región donde el sistema se ha vuelto lamelar. La zona intermedia delimitada por las dos flechas marca la región donde coexisten las fases lamelar y esponja en las muestras. Las flechas son ubicadas a partir de la información obtenida del diagrama de fases del sistema esponja de la figura 4.27

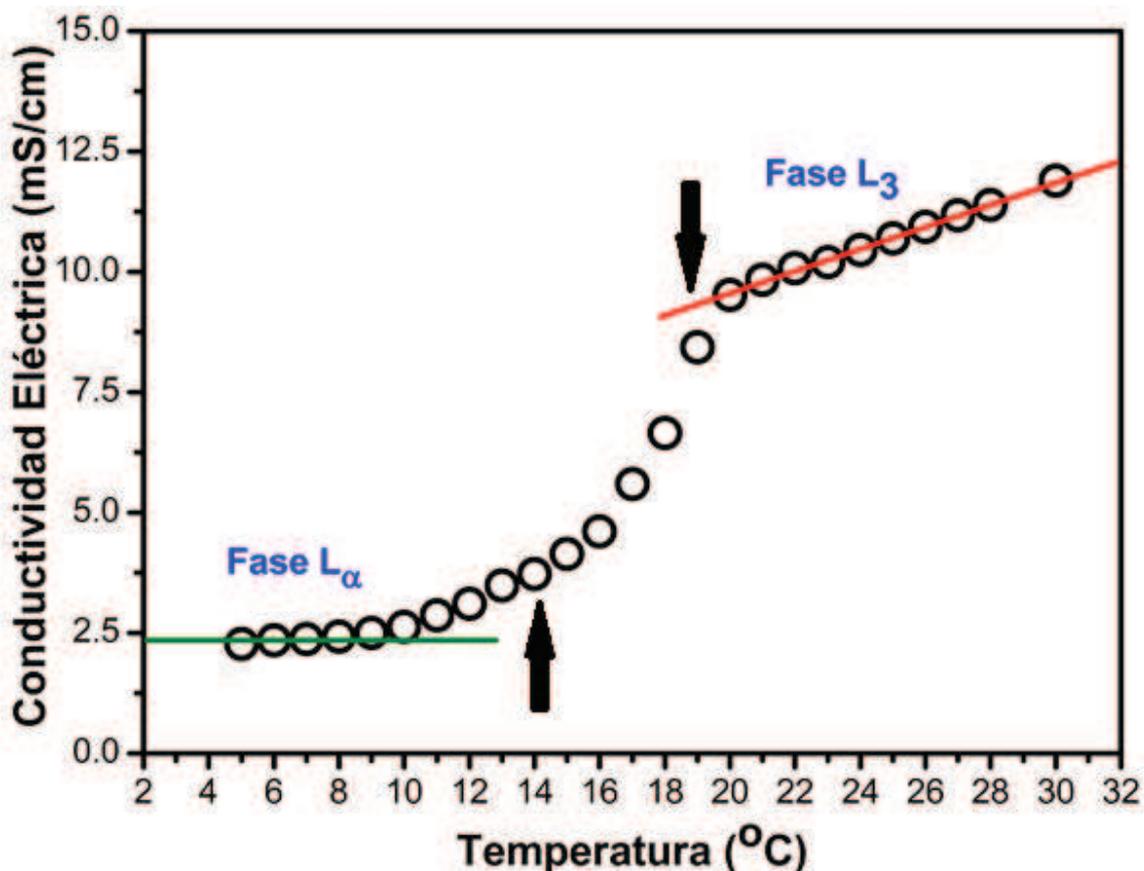


Fig. 4.29: Evolución de la conductividad eléctrica en función de la temperatura de la muestra de fase esponja sin polímero ($0L_3$).

En la figura 4.30 se muestra el comportamiento de la conductividad eléctrica en función de la temperatura para la muestra de fase esponja con una concentración de PEG de 1g/L ($1L_3$). El comportamiento está marcado por un descenso lineal de la conductividad al ir bajando la temperatura en el intervalo comprendido entre 30°C-20°C para descender más rápidamente por debajo de los 20°C y estabilizándose a partir de los 12°C. Las flechas marcan la región de coexistencia de la fase lamelar y esponja en la muestra en ese intervalo de temperatura y las líneas de colores son solamente referencias visuales para ubicar la región donde existen regiones monofásicas (esponja para la línea roja y lamelar para la verde).

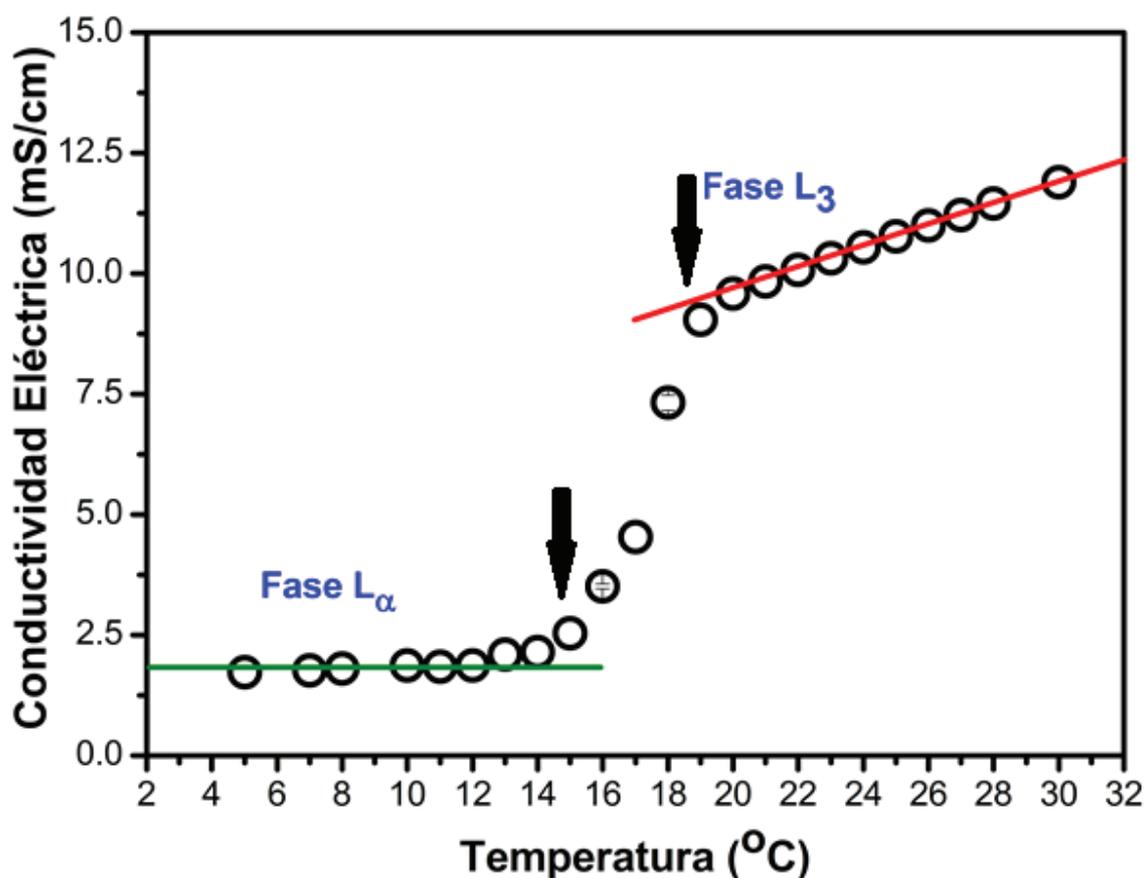


Fig. 4.30: Evolución de la conductividad eléctrica en función de la temperatura de la muestra de la fase esponja con una concentración de PEG de 1g/L ($1L_3$).

La figura 4.31 corresponde a la muestra de fase esponja con una concentración de PEG de 7g/L. El comportamiento general de la tendencia de la conductividad eléctrica en función de la temperatura es la misma que en las otras dos muestras : una región recta para posteriormente caer de forma rápida estabilizándose en los valores de temperaturas mas bajas; sin embargo aquí resalta el hecho de que la región de coexistencia de las fases lamelar y esponja de acuerdo al diagrama de fases para el sistema de fase esponja de la figura 4.27 es una región muy estrecha (denotada aquí por la región comprendida entre las flechas) que no parece corresponder del todo con los resultados que arroja la gráfica de conductividad pues es de esperarse que al menos la región donde se comporta de forma recta la gráfica se extendiera un poco más cerca de la flecha ubicada alrededor de los 19°C.

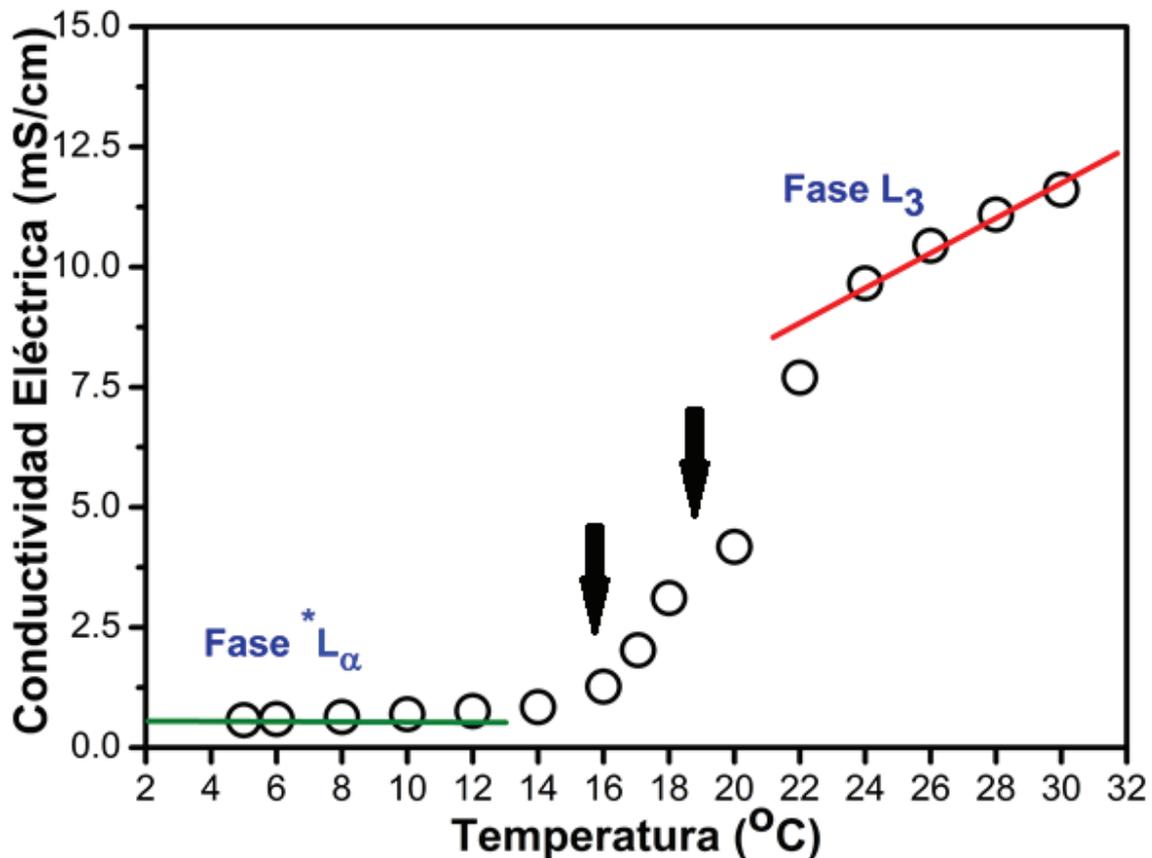


Fig. 4.31: Evolución de la conductividad eléctrica en función de la temperatura de muestra 7L₃.

A modo de comparación en la figura 4.32 se presentan juntas las 3 gráficas de las conductividades eléctricas en función de la temperatura para las muestras de fase esponja con las siguientes concentraciones de PEG: 0g/L, 1g/L y 7g/L. Es de resaltar de la gráfica el descenso de la conductividad eléctrica para la muestra con 7g/L pues se da mucho antes que en las otras dos muestras. Además los valores límites a los cuales se estabilizan los valores de la conductividad en la región de bajas temperaturas varía inversamente con la concentración del PEG en la muestra, lo cual es de esperarse pues el polímero presenta un obstáculo para la movilidad de los iones desplazándose a través del solvente en las muestras por lo que a mayor presencia de moléculas de PEG esta movilidad debe ser menor.

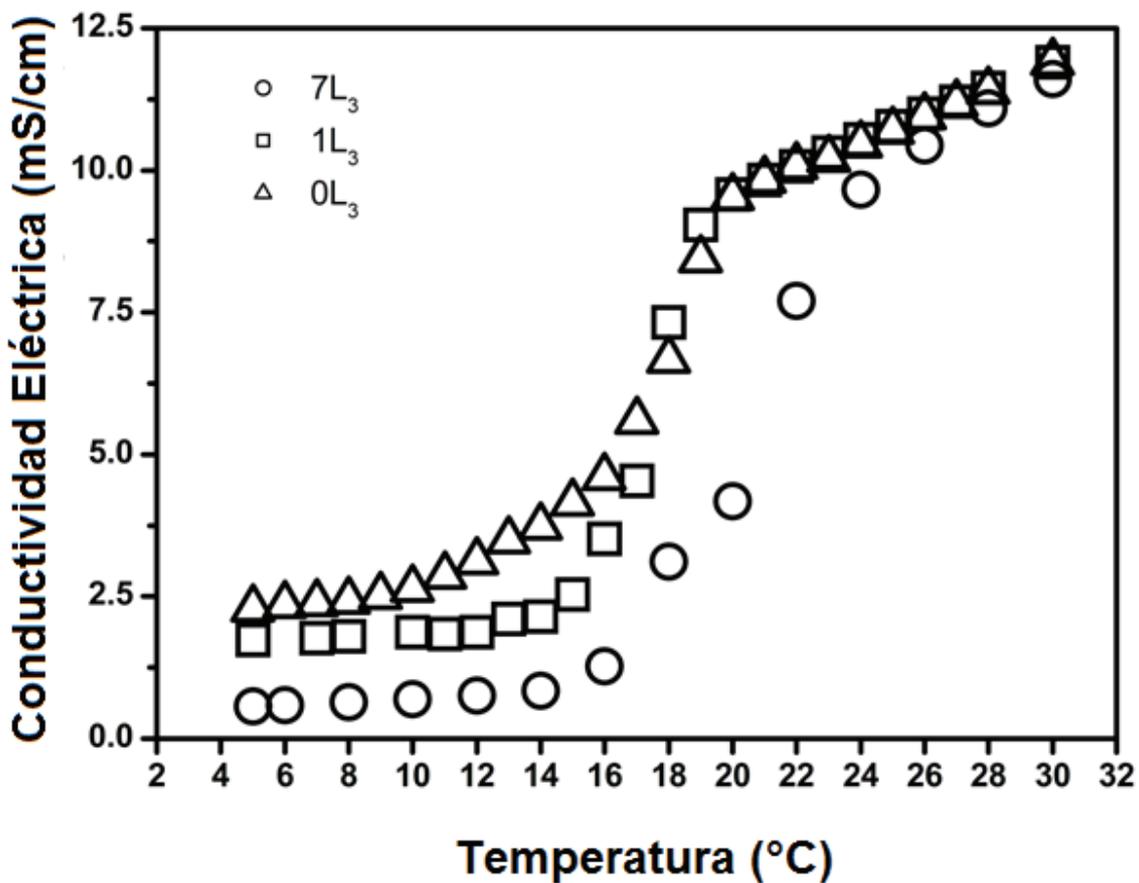


Fig. 4.32: Comparación de Evolución de la conductividad eléctrica en función de la temperatura de muestras 0L₃, 1L₃ y 7L₃.

4.9 Caracterización de las membranas por experimentos de SAXS

Para lograr obtener los espectros de dispersión de rayos X a ángulos bajos en el equipo de SAXS intermedio fue necesario preparar muestras a fracciones de volumen de membrana más altos que los empleados para las fases diluidas ($\Phi \sim 0.03$). Las composiciones que trabajamos se presentan en la tabla 4.3. En el caso de la muestra con polímero ($1L_\alpha$ PEG) para los cálculos se emplea la densidad de la solución salina en presencia del PEG a 20g/L, de ahí que varía ligeramente respecto al valor de la muestra sin polímero ($1L_\alpha$). En la figura 4.33 se presenta una región del diagrama de fases del sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl (10g/L) donde se ilustra la ubicación de las composiciones de la tabla 4.3 respecto a las muestras de fases diluidas de membranas.

Tabla 4.3: Composiciones de las muestras preparadas para realizar experimentos de SAXS.

Muestra	% SDS	%Hexanol	%Solvente (Agua+NaCl)	Fracción de volumen de membrana Φ	Razón molar $\frac{n_{Hexanol}}{n_{SDS}}$
$1L_\alpha$	9.8058	11.7617	78.4352	0.2344	3.38
$2L_\alpha$	13.5458	9.5688	76.8854	0.2450	2
$1L_\alpha$ PEG (20g/L)	9.8058	11.7617	78.4352	0.2352	3.38

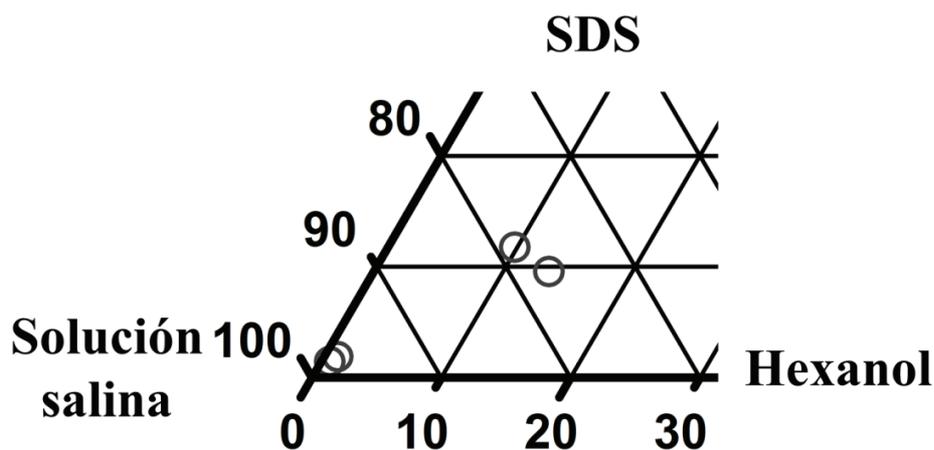


Fig. 4.33: Diagrama parcial del sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl (10g/L).

La fig. 4.34 muestra los espectros de SAXS para muestras de tabla 4.3, incluyendo el espectro del solvente (solución salina 10g/L NaCl). Todos los espectros son tomados a temperatura ambiente y aún no se ha sustraído la señal del solvente. El eje vertical de todas las gráficas de SAXS aparece normalizado respecto a las intensidades en el primer armónico de la difracción, denotadas como $I(G)$, donde $G = q_0$ es el vector de onda correspondiente al primer armónico. Las líneas que unen los puntos son guías visuales y no corresponden a ningún ajuste.

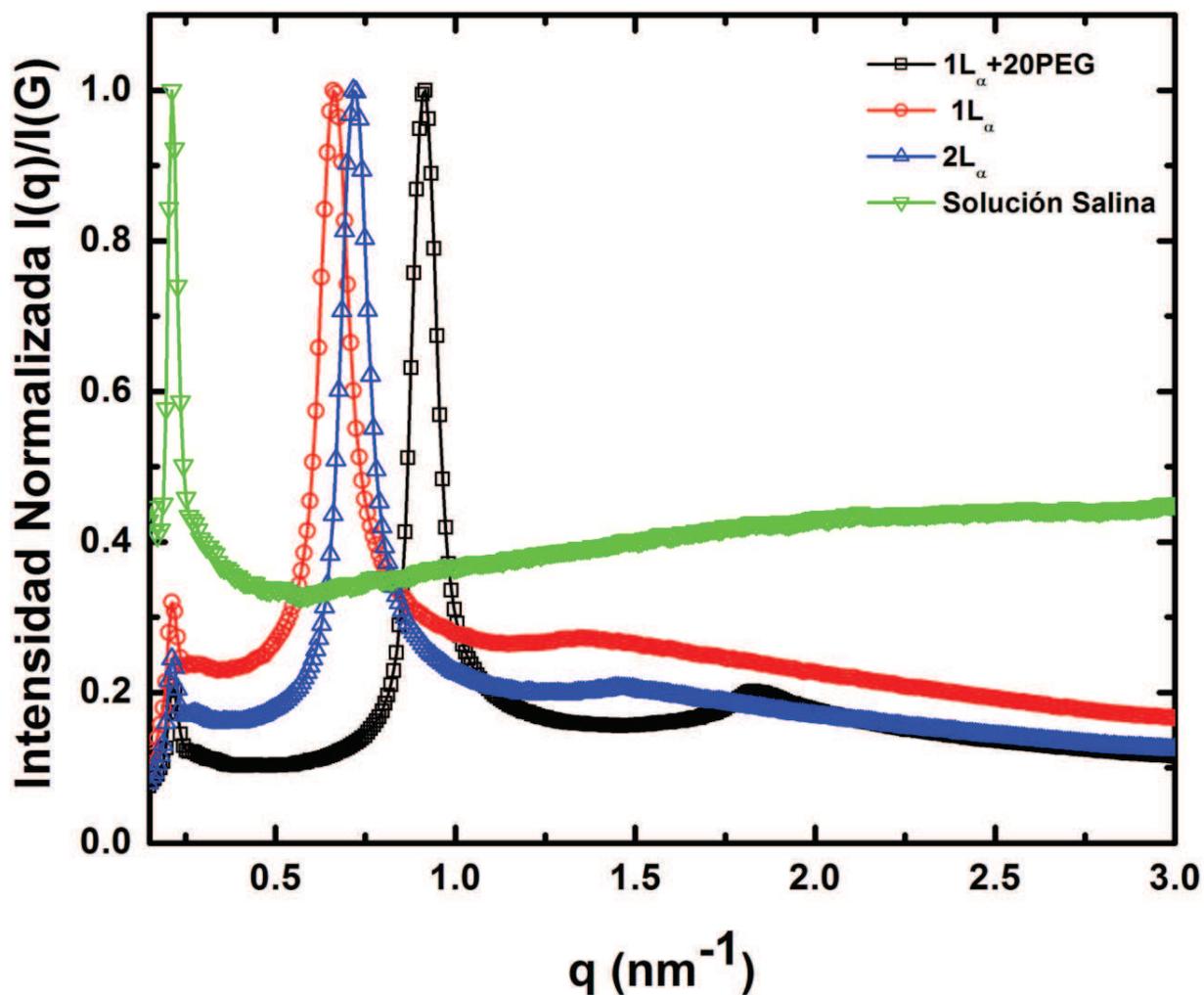


Fig. 4.34: Espectros de SAXS de muestras formuladas según tabla 4.3. No ha sido sustraída la señal del solvente de los espectros.

En la figura 4.35 se presentan los espectros de SAXS una vez sustraída la contribución del solvente. De las gráfica podemos establecer, que los tres espectros presentan primeros y segundos armónicos ubicados en $G = q_0$ y $G = 2q_0$ respectivamente, lo cual indica que todos los espectros corresponden a fases lamelares. La ubicación de los armónicos se presentan en la tabla 4.4

Tabla 4.4: Primeros y segundos armónicos de espectros de SAXS.

Muestra	$q_{max}(nm^{-1})$	$q_{secundario}(nm^{-1})$
$1L_\alpha$	0.66	1.34
$2L_\alpha$	0.72	1.45
$1L_\alpha$ PEG(20g/L)	0.90	1.83

Conociendo la ubicación del primer armónico y empleando la relación de Bragg $d_B = \frac{2\pi}{q_{max}}$, es posible conocer la distancia intermembranal de las fases lamelares estudiadas y posteriormente, empleando la ley de dilución clásica ($\delta = \Phi d_B$), calcular el espesor de membrana. Los resultados con los parámetros característicos de las fases lamelares que aquí se estudian son presentados en la tabla 4.5.

Tabla 4.5: Distancias intermembranales y espesores de membrana para muestras de tabla 4.3. El valor encerrado entre paréntesis en la columna de espesor de bicapa se obtiene a partir de la relación de Bragg y con la ley de dilución clásica. El valor en negritas es el promedio de las otras dos muestras.

Muestra	$q_{max}(nm^{-1})$	$d_B(\text{Å})$	$\delta(\text{Å})$
$1L_\alpha$	0.66	94.3	22.1
$2L_\alpha$	0.72	87.3	21.5
$1L_\alpha$ PEG(20g/L)	0.90	69.8	(16.41) 21.8

Para el caso de la muestra con PEG sobresale la desviación del valor para el espesor de membrana respecto a las otras muestras. Dicho valor aparece encerrado entre paréntesis en la columna para espesor de bicapa. Considerando que la membrana es formada por el surfactante y alcohol y dando por sentado que la membrana es incompresible [72] podemos estimar un promedio para la muestra con polímero (valor en negritas) para calcular su fracción de volumen de membrana mediante la ley de dilución. Así, la fracción de volumen de membrana es $\Phi_{1L\alpha-PEG} = 0.3123$ considerablemente mayor al valor de $\Phi_{1L\alpha} = 0.2352$ que se tiene para la fase sin polímero. Este incremento se debe a una reducción del agua disponible entre membranas de la fase lamelar, ante lo cual se tienen dos posibles explicaciones.

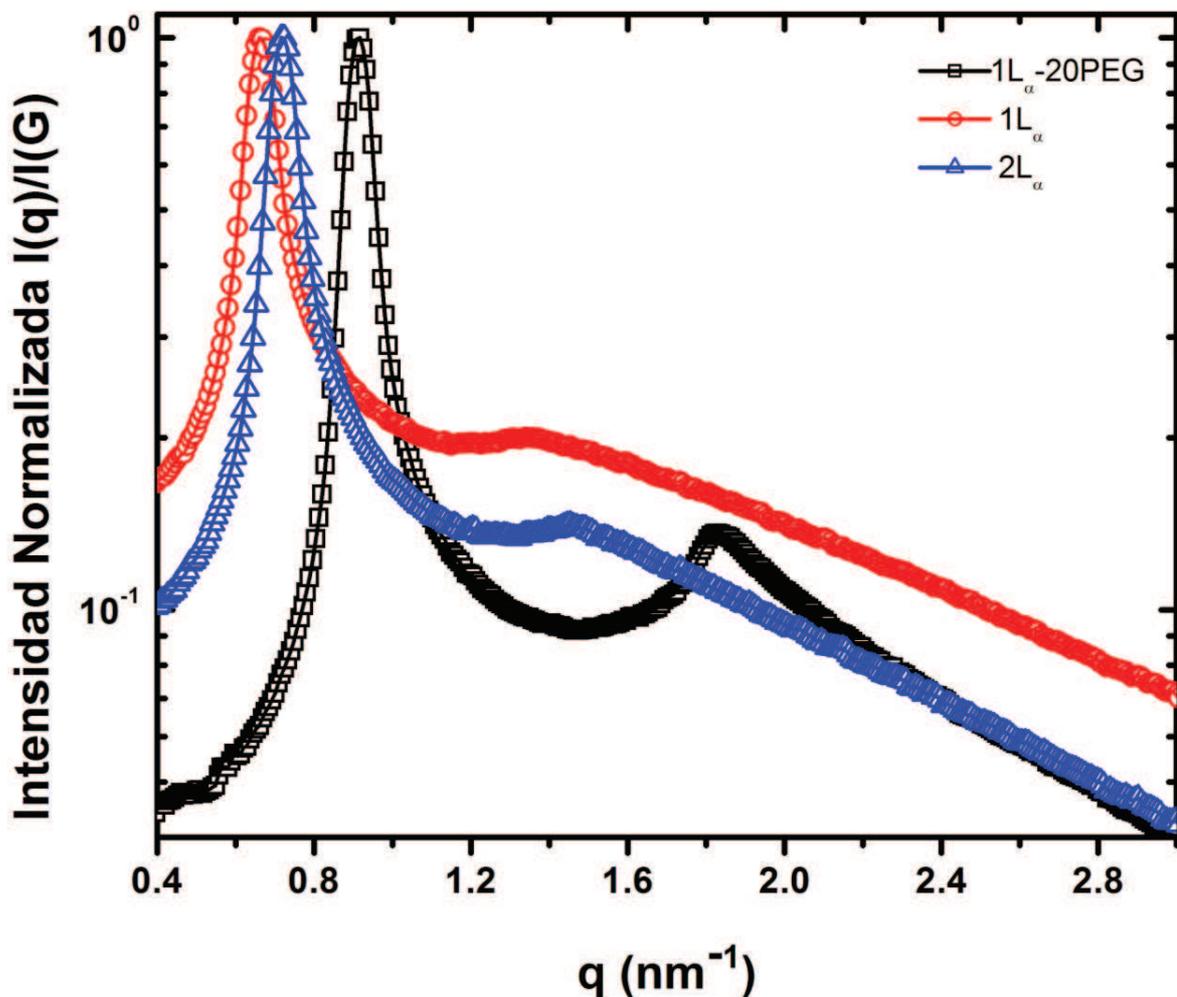


Fig. 4.35: Espectros de SAXS de muestras formuladas según tabla 4.3 restando la contribución del solvente.

La primera consiste en suponer un efecto de presión osmótica ejercida por el polímero en solución la cual tiende a deshidratar a la fase lamelar reduciendo con ello las distancias intermembranales. De hecho, en la caracterización de membranas en fases lamelares de fosfolípidos se requieren de un alto número de órdenes de difracción para lograr derivar información estructural del sistema a partir del ajuste de los espectros de SAXS.

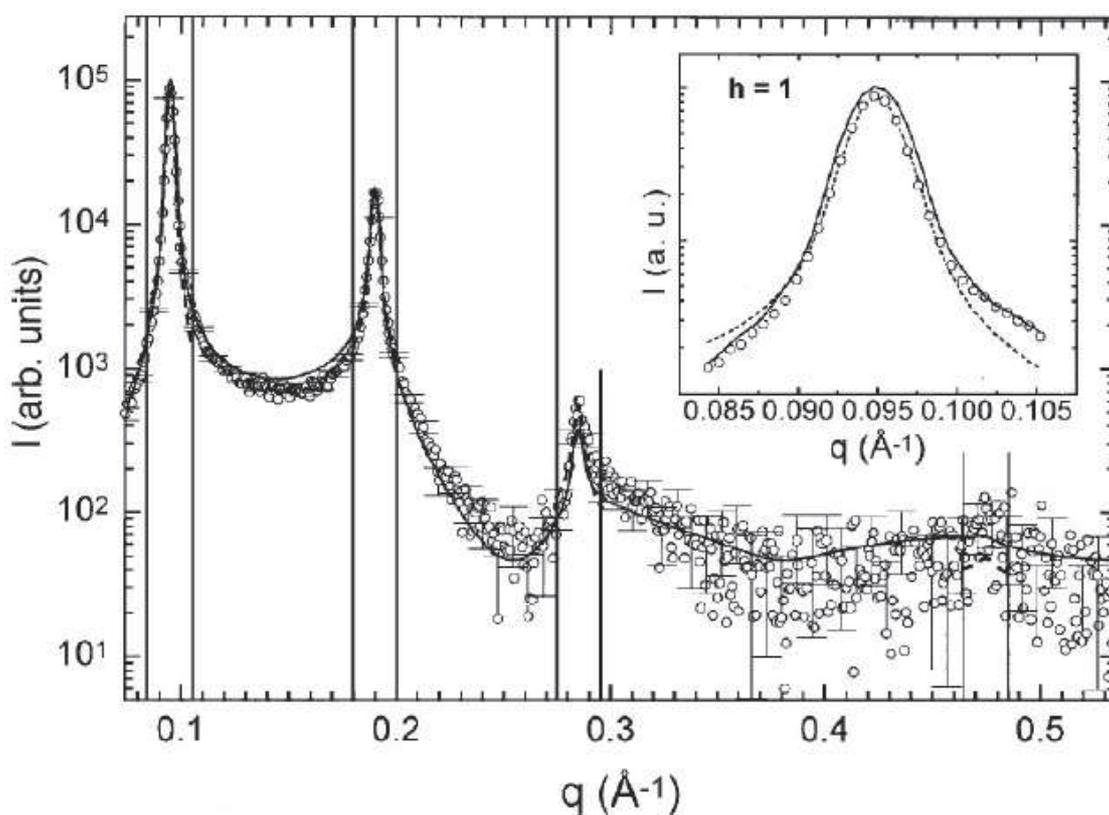


Fig. 4.36: Patrón de difracción obtenido por SAXS del sistema POPC (1-Palmitoyl-2-oleoylphosphatidilcolina) a 2°C. La figura en el recuadro es un acercamiento al pico de Bragg de 1er orden. [73].

Por ejemplo, para el caso del sistema PE (FosfatidilEtanolamina) en agua formando la fase Lamelar se tiene la presencia de cuatro picos de Bragg en toda la zona de formación L_{α} mientras que altos contenidos de agua en la región lamelar del sistema PC (FosfatidilColina)

genera la disminución gradual del número de picos de difracción observados siendo difícil la obtención de información de la estructura. Para sortear este problema, una de las alternativas es la incubación de liposomas multilamelares en soluciones acuosas conteniendo distintas concentraciones de polímeros neutros como dextrano o polivinilpirrolidona (PVP). Con este procedimiento, el sistema es parcialmente deshidratado y como consecuencia el número de órdenes de difracción observados incrementa. Los parámetros estructurales para la bicapa completamente hidratada son obtenidos por la extrapolación de las áreas por lípido, derivadas de los sistemas parcialmente deshidratados a la hidratación completa. [73].

La otra opción plausible para explicar el incremento de la fracción de volumen consiste en considerar la formación de estructuras cerradas como vesículas y/o vesículas multilamelares (esferulitas) por efecto del polímero dentro de la fase lamelar. Ello implicaría una reducción del solvente disponible entre las bicapas, incrementando la fracción de volumen de membrana y disminuyendo la distancia intermembranal. En las figuras 4.37 se muestra un conjunto de fotografías tomadas en el microscopio óptico invertido con el objetivo de 40X de la muestra $1L_{\alpha}$ PEG(20g/L) re-hidratada con agua ultrapura del equipo Millipore. En las fotos se observa un proceso de hinchado de las vesículas con distribución de tamaños heterogénea. Las fotos son tomadas 5 minutos después de agregar el agua a la muestra que había secado en el porta-objetos. El crecimiento de las vesículas se debe a la presión osmótica que trata de equilibrar la concentración de solutos al interior de las vesículas rica en contenido de PEG (20g/L) y NaCl (10g/L) introduciendo agua pura para tal efecto. Estas imágenes aportan pruebas a la hipótesis de que estructuras cerradas están ocupando volumen del solvente que antes se encontraba disponible entre las bicapas de la fase lamelar motivo por el cual aparece “contraída” la fase lamelar en presencia del PEG. La Fig. 4.38 representa la misma muestra de fig. 4.37 vista ahora en contraste de fase a 40X. Es de llamar la atención la gran variedad de tamaños de vesículas.

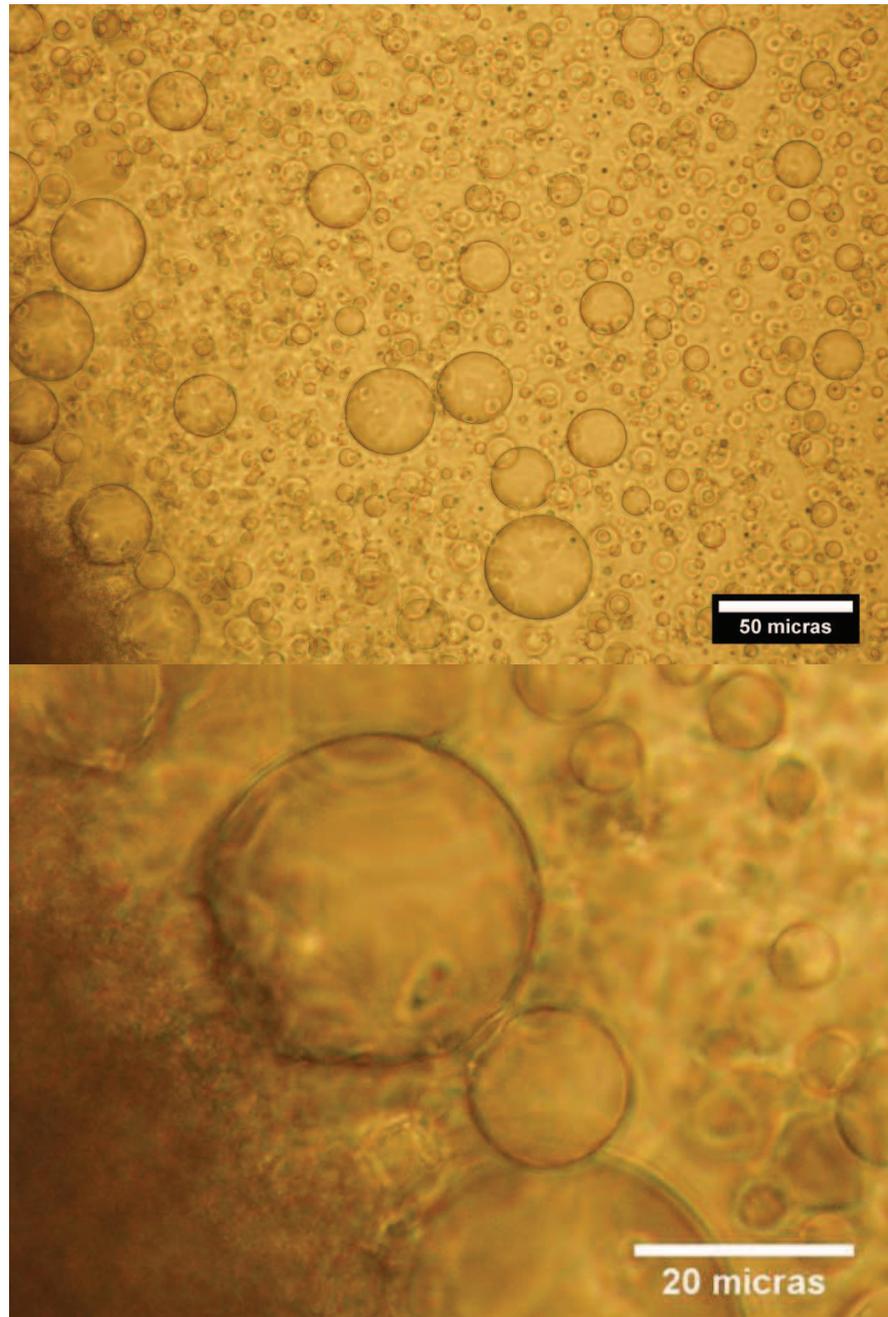


Fig. 4.37: Vesículas formadas por re-hidratación de muestras $1L_{\alpha}$ PEG (20g/L) con agua vistas en microscopio óptico a 40X. En la parte inferior se muestra un detalle de la fotografía de arriba donde se observa la fusión de dos vesículas.

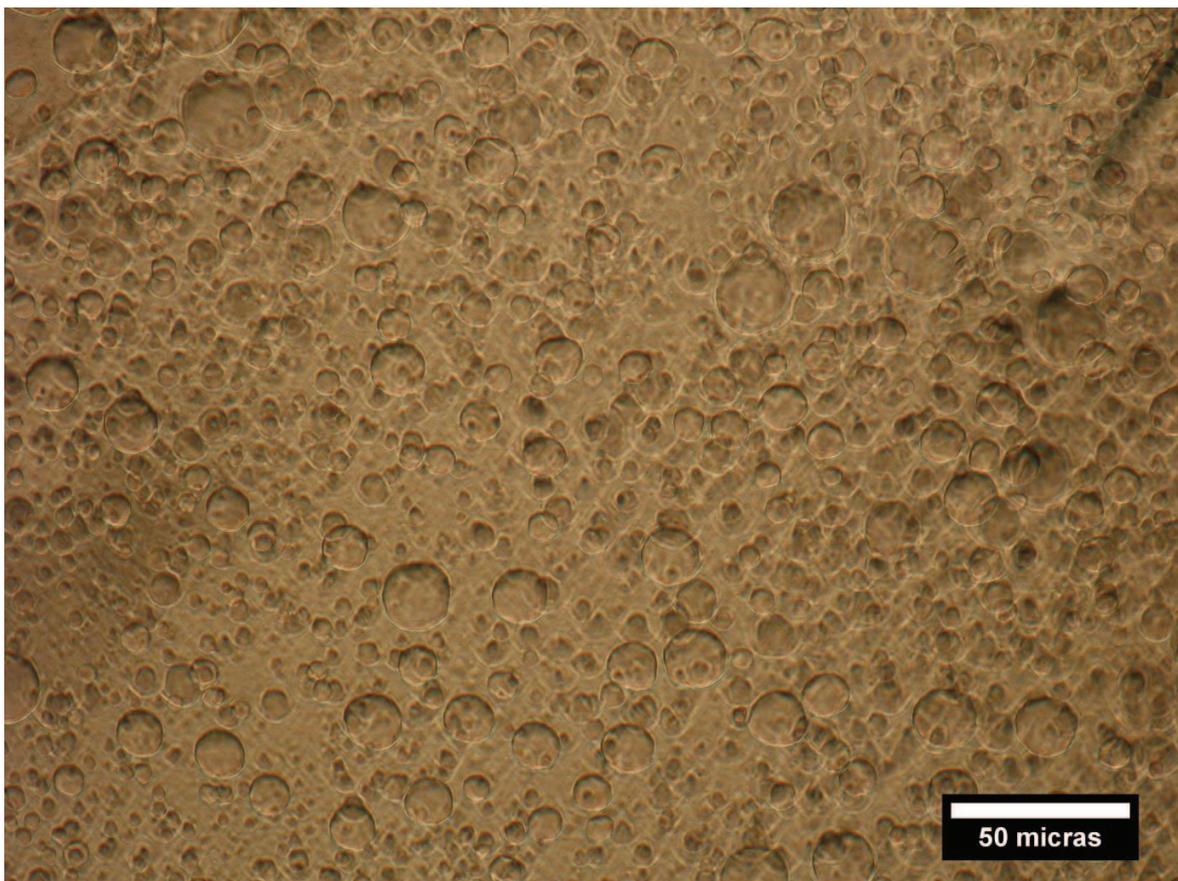


Fig. 4.38: Vesículas formadas por re-hidratación de muestras $1L_{\alpha}$ PEG (20g/L) con agua vistas en microscopio óptico a 40X en contraste de fase.

En la figura 4.39 se presentan en escala logarítmica la señal de los primeros armónicos para la composición de $1L_\alpha$ sin PEG y con PEG(20g/L). Ahora se observa claramente que la presencia del PEG estrecha la señal de SAXS e incrementa el valor de la razón de las intensidades del pico a la cola en el primer armónico. El parámetro de Caille η , obtenido del ajuste de los espectros de SAXS, es una medida directa de esta razón de intensidades [72]

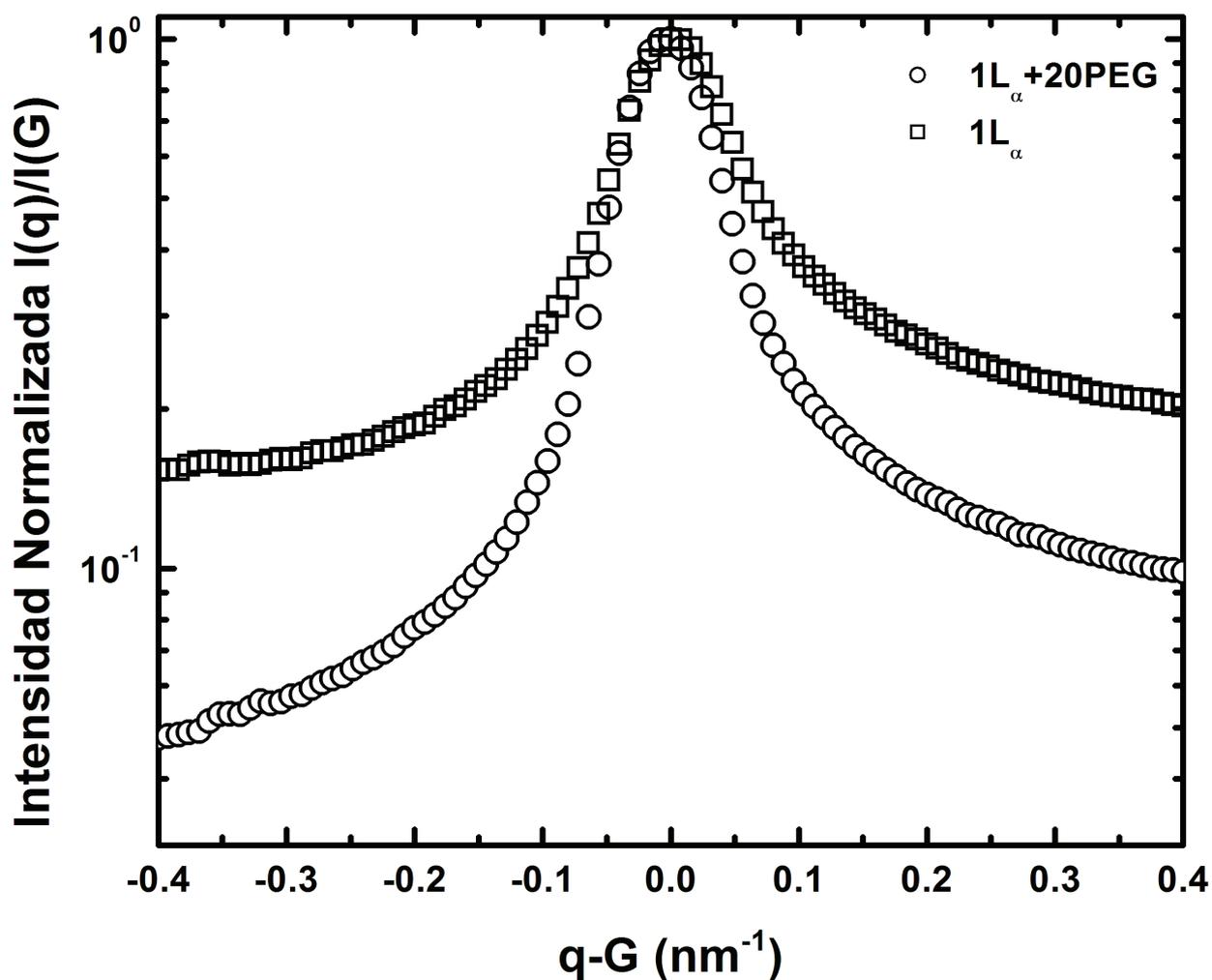


Fig. 4.39: Perfiles de los primeros armónicos ($G = q_0$) de los espectro de SAXS para muestra con PEG y sin PEG a la misma fracción de volumen de membrana.

En el contexto de la teoría de Caillé, la intensidad dispersada $I(q)$ en la vecindad del pico de Bragg ($q > q_B$) es relacionada con el módulo elástico de compresibilidad \bar{B} y la constante

elástica de curvatura media K . El modelo de Caillé predice un comportamiento asintótico de $I(q)$ de la forma

$$I(q) \sim (q - q_B)^{-(1-\eta)} \quad (4.1)$$

Así, valores más grandes de η implican un decaimiento más suave para $q > q_B$. De la gráfica 4.39 se tiene que el parámetro de Caillé es mayor para la muestra sin PEG. El parámetro de Caillé se define por la expresión

$$\eta = \frac{q_B^2 kT}{8\pi\sqrt{K\bar{B}}} \quad (4.2)$$

Donde se tiene que

$$K\bar{B} \sim \frac{1}{\eta} \quad (4.3)$$

Algunos autores han obtenido que la adsorción de polímeros sobre sistemas de membranas de surfactantes modifican los valores del módulo elástico de curvatura de la membrana provocando una disminución del mismo para adsorciones débiles o fuertes [74,75]. En este contexto, tenemos que a partir de la disminución del parámetro de Caillé por efecto del PEG en la fase lamelar se cumple

$$K_{PEG}\bar{B}_{PEG} > K\bar{B} \quad (4.4)$$

Por lo que necesariamente se tiene que el módulo elástico de compresibilidad de la membrana aumenta, lo cual implica según la ecuación 2.33 que el potencial de interacción entre membranas también incrementa.

En contraparte, el hecho de que el espectro de SAXS para la muestra con polímero muestre un segundo armónico muy bien definido a diferencia de la muestra sin PEG (fig 4.39), nos indica que las fluctuaciones térmicas de la membrana han sido atenuadas por efecto del polímero permitiendo una mejor resolución en los órdenes de difracción. Dicho efecto lo podemos plantear como una rigidificación de la membrana por presencia del polímero, es decir, el valor de la constante de curvatura media (k) incrementa con la presencia del PEG, lo cual está en abierta contradicción con lo planteado por Brooks et al. [74].

En la fig. 4.40 se presenta en escala logarítmica la señal de los primeros armónicos para la composición de $1L_\alpha$ y $2L_\alpha$ con el objeto de comparar el efecto del alcohol sobre las

propiedades mecánicas de la membrana. Considerando las densidades del hexanol como $\rho_{hexanol} = 0.8136 \text{ g/cm}^3$ y del SDS como $\rho_{SDS} = 1.03 \text{ g/cm}^3$ encontramos las razones molares entre el hexanol y el SDS. Los valores se muestran en la tabla 4.3 siendo el mas alto para el caso de la muestra $1L_\alpha$. Se observa en la figura que la señal correspondiente a la muestra $2L_\alpha$ es más estrecha lo cual indica una rigidez mayor en la membrana para esta razón

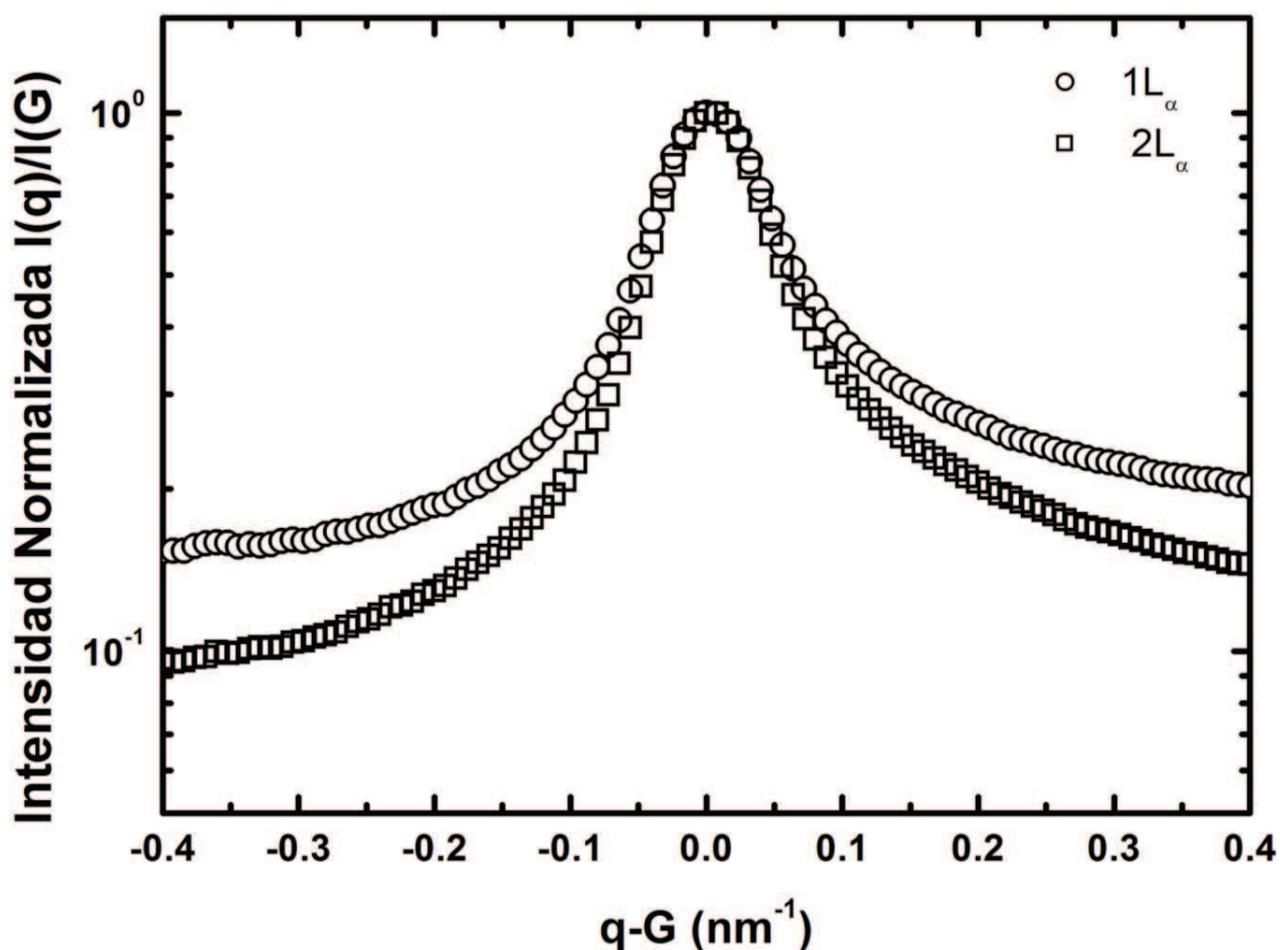


Fig. 4.40: Perfiles de los primeros armónicos ($G = q_0$) de los espectro de SAXS para muestra $1L_\alpha$ y $2L_\alpha$ con razones molares $n_{hexanol}/n_{SDS}$ expuestas en tabla 4.3

molar, lo cual coincide con el hecho de que las moléculas de cosurfactantes, en este caso el hexanol, tienden a flexibilizar las membranas de surfactantes.

4.10 Propiedades Mecánicas de Membranas de la fase L_3 diluida del sistema SDS-Hexanol-Agua+NaCl-PEG empleando la Técnica de Dispersión Dinámica de Luz (DLS).

En este apartado se reporta el estudio sistemático del efecto de incrementar las concentraciones de PEG en las propiedades mecánicas de las fases esponja del sistema SDS-hexanol-agua+sal, utilizando para ello la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS). Particularmente estamos interesados en monitorear el comportamiento de la constante elástica de curvatura media (κ) de las membranas de muestras de fase esponja a medida que incrementamos gradualmente la concentración del polímero en las muestras.

Los experimentos de la Dispersión Dinámica de luz se efectuaron en las instalaciones del Material Research Laboratory of University of Santa Barbara en un equipo Dispensor de luz láser Brookhaven, con detector de fotodiodo de avalancha y correlacionador de señal de la misma compañía Brookhaven. El láser empleado es de 25mW trabajando en longitud de onda de 633nm. Las funciones de correlación fueron colectadas a 8 valores de ángulos igualmente espaciados entre 40 y 120 grados. Este intervalo es equivalente a los números de onda que van de $9.61 \times 10^6 m^{-1}$ a $2.29 \times 10^7 m^{-1}$. Las corridas experimentales se efectuaron a temperatura ambiente ($T=24^{\circ}C$) y las funciones de correlación obtenidas de los experimentos fueron ajustadas empleando la teoría de Zilman-Granek para fases diluidas de membranas [75,76] que establece que el factor de estructura dinámico (relacionado con la función de correlación) puede escribirse como una función exponencial estrecha dada por la expresión

$$S(q,t) \approx S(q) \exp \left[- (\Gamma_q t)^\alpha \right] \quad (4.5)$$

De los ajustes a las funciones de correlación se obtuvieron los parámetros Γ_q (recíproco del tiempo característico de relajación) y α , conocido como coeficiente de estrechez. Se graficó Γ_q como función de q^3 y de las pendientes de los ajustes lineales a estas gráficas se pudo obtener el módulo elástico de las membranas preparadas empleando la ecuación

$$\Gamma_q = 0.025\gamma_k \left(\frac{k_B T}{\kappa} \right)^{1/2} \frac{k_B T}{\eta} q^3 \quad (4.6)$$

4.10.1 Resultados del estudio de DLS

Las muestras preparadas bajo las condiciones señaladas poseen las características macroscópicas de una fase esponja: tienen baja viscosidad y son isotrópicas vistas entre polarizadores cruzados, sin embargo, al agitarlas aparece una birrefringencia inducida por flujo indicando que las membranas se alinean localmente, perdiéndose el efecto al cesar la agitación (figura 4.41)

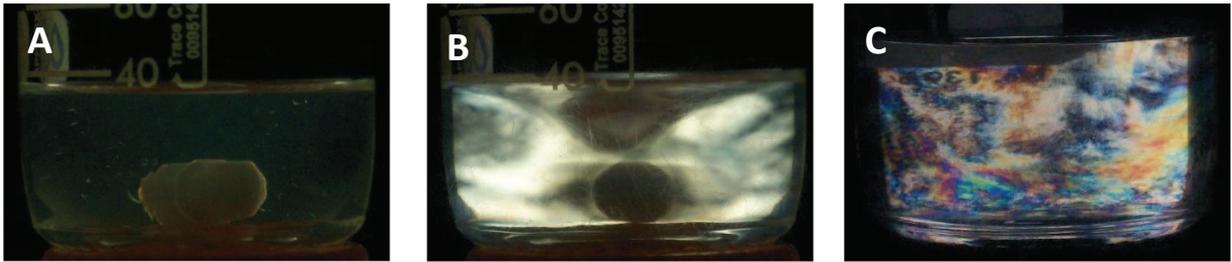
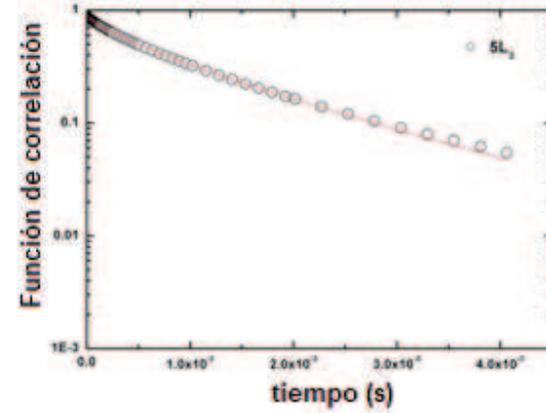
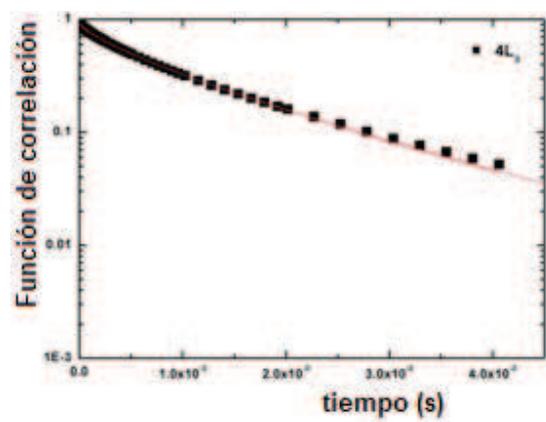
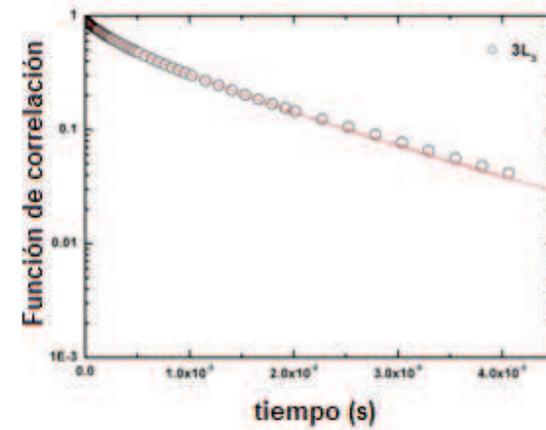
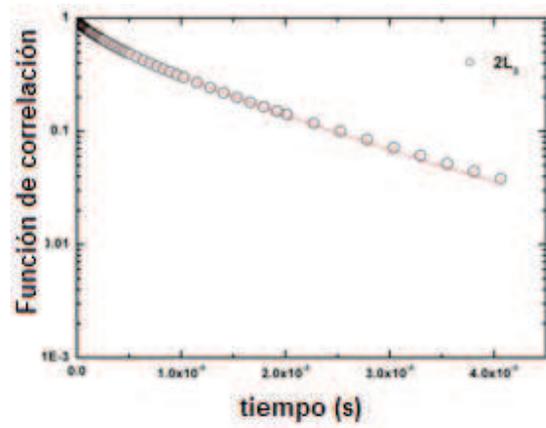
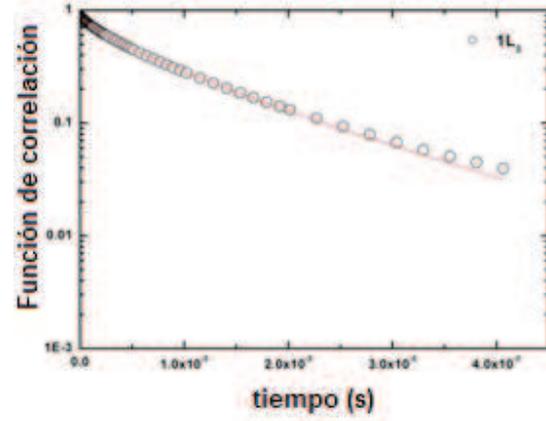
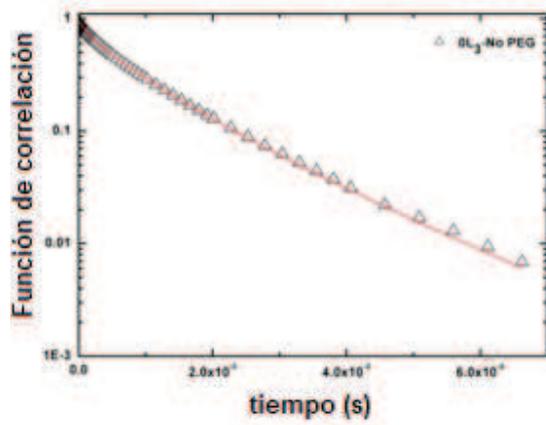


Fig. 4.41: Birrefringencia inducida por esfuerzo en nuestro sistema. En A, la fase esponja es isotrópica en reposo. Cuando una deformación por esfuerzo es aplicada (agitador magnético), las bicapas se alinean localmente y la fase se vuelve birrefringente, como en B. Para efectos de comparación, en C mostramos una fase lamelar en reposo. Todas las muestras son observadas entre polarizadores cruzados.

Las corridas experimentales arrojan como resultado del análisis de la señal de luz laser dispersada por la muestra, las curvas correspondientes a las funciones de correlación normalizadas como se muestra en la figura 4.42.



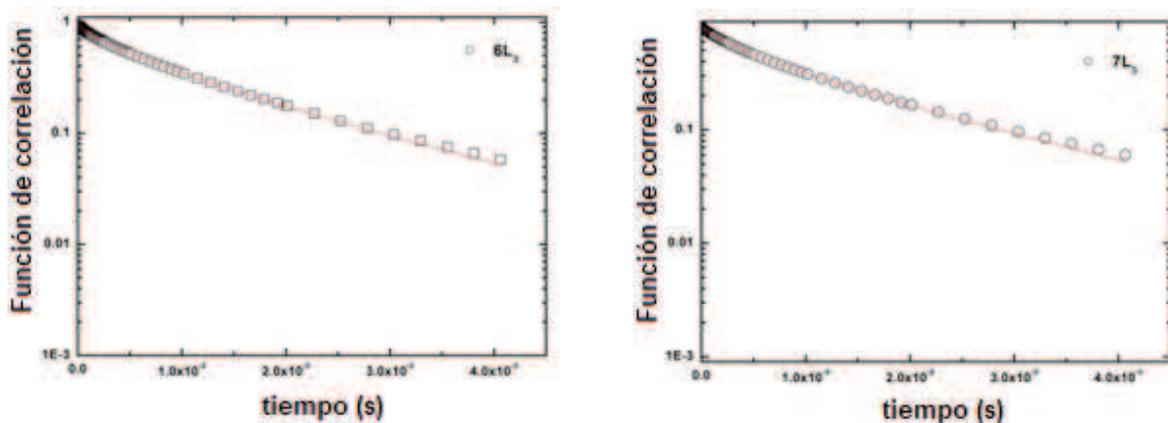


Fig. 4.42: Funciones de correlación obtenidas a 90 grados para las muestras en fase esponja. Las líneas continuas corresponden al ajuste de los datos experimentales empleando la ecuación de la función exponencial estrecha (ecuación 4.5).

Para fines de comparación en la figura 4.43 se colocan en la misma gráfica 3 de las curvas de las funciones de correlación obtenidas a 90 grados a distintas concentraciones de PEG.

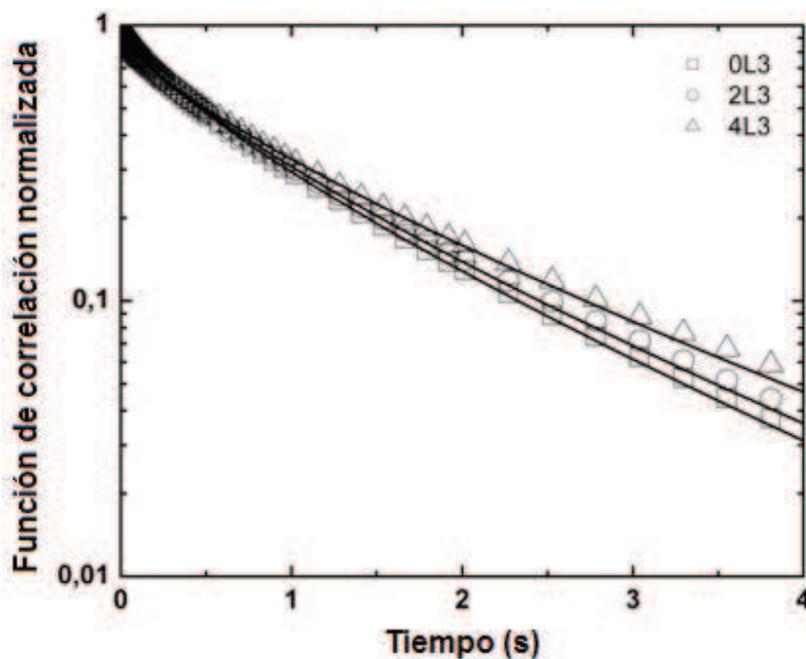


Fig. 4.43: Funciones de Correlación típicas para 3 concentraciones de polímero PEG. Las curvas son tomadas para un ángulo de 90 grados y los datos experimentales ajustados mediante la teoría de Granek-Zilman.

Se han obtenido resultados similares para el resto de los ángulos bajo estudio en las distintas concentraciones de polímero abordadas. De los ajustes a los datos experimentales se obtuvo que el parámetro de estrechez exponencial que aparece en el modelo de Granek-Zilman (Ec.4.5), el cual es definido como α , tiene valores para todas nuestras muestras en el intervalo entre 0.6-0.7, ligeramente más alto que el valor teórico predicho por el modelo (2/3) pero en completo acuerdo con resultados experimentales previos [75,76].

De igual forma, de los mismos ajustes a las funciones de correlación hemos obtenido los tiempos característicos de relajación τ , el cual es el recíproco del parámetro Γ que aparece en la ecuación 4.6. Nuestros resultados muestran que para un ángulo dado este tiempo incrementa cuando la concentración del polímero incrementa. En la figura 4.44 mostramos el comportamiento para 90 grados.

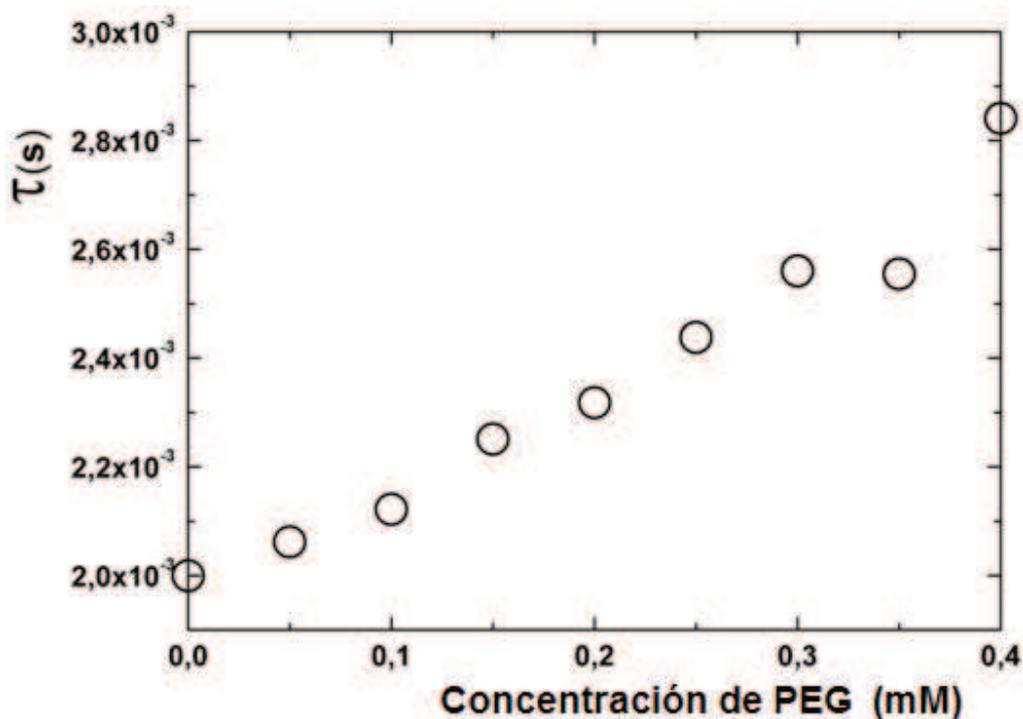


Fig. 4.44: Tiempos de relajación a 90 grados para las fases esponja como una función de la concentración del polímero presente en las muestras.

En el contexto de la teoría de Zilman-Graneck, el inverso del tiempo de relajación, también llamado frecuencia de relajación, disminuye conforme aumenta la concentración del polímero. Este comportamiento es observado para todos los ángulos de estudio y concentraciones de polímero, como se muestra en la figura 4.45.

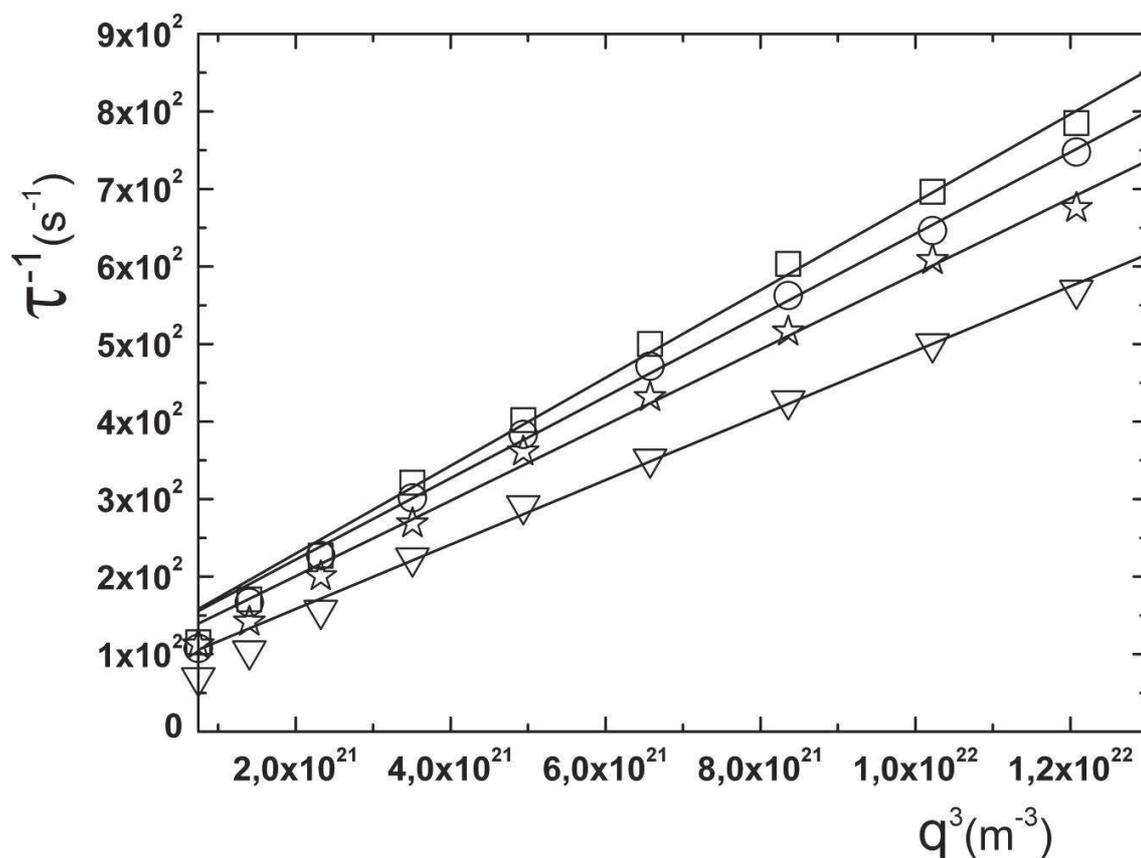


Fig. 4.45: Curvas de Gamma vs q^3 para fases esponja con diferentes contenidos de polímero (0, 2, 4 y 8 g/L de PEG20K). Los cuadrados corresponden a la muestra sin PEG y los triángulos a la muestra con mayor concentración de PEG. Las líneas representan ajustes por ecuaciones lineales.

En la figura 4.45 se observa que existe un comportamiento sistemático en las pendientes de las curvas observadas: a mayor concentración de polímero en la muestra es menor la pendiente de la curva Gamma vs q^3 . Esto es de esperarse si el polímero hace más lenta la dinámica de la membrana. El ajuste de las curvas se ha efectuado para todas las concentraciones de polímero.

También se observa en la figura 4.45 que los primero dos puntos, correspondientes a los ángulos a 40 y 50 grados se desvían ligeramente del comportamiento lineal esperado, razón por la cual no se tomaron en cuenta para el ajuste.

De las curvas ajustadas en la figura 4.45 y mediante la ecuación 4.6 podemos obtener el módulo elástico de curvatura para nuestras membranas. Para el cálculo hemos usado una viscosidad constante, que es la correspondiente a la solución salina preparada (a $T=24^{\circ}\text{C}$). Cabe indicarse que se midieron experimentalmente las viscosidades de soluciones poliméricas en el intervalo de interés, obteniéndose un ajuste lineal que permitió inferir las viscosidades intermedias como se muestra en la figura 4.46. Con estos valores se procedió a calcular la constante elástica de curvatura mediante el ajuste del modelo de Zilman Granek.

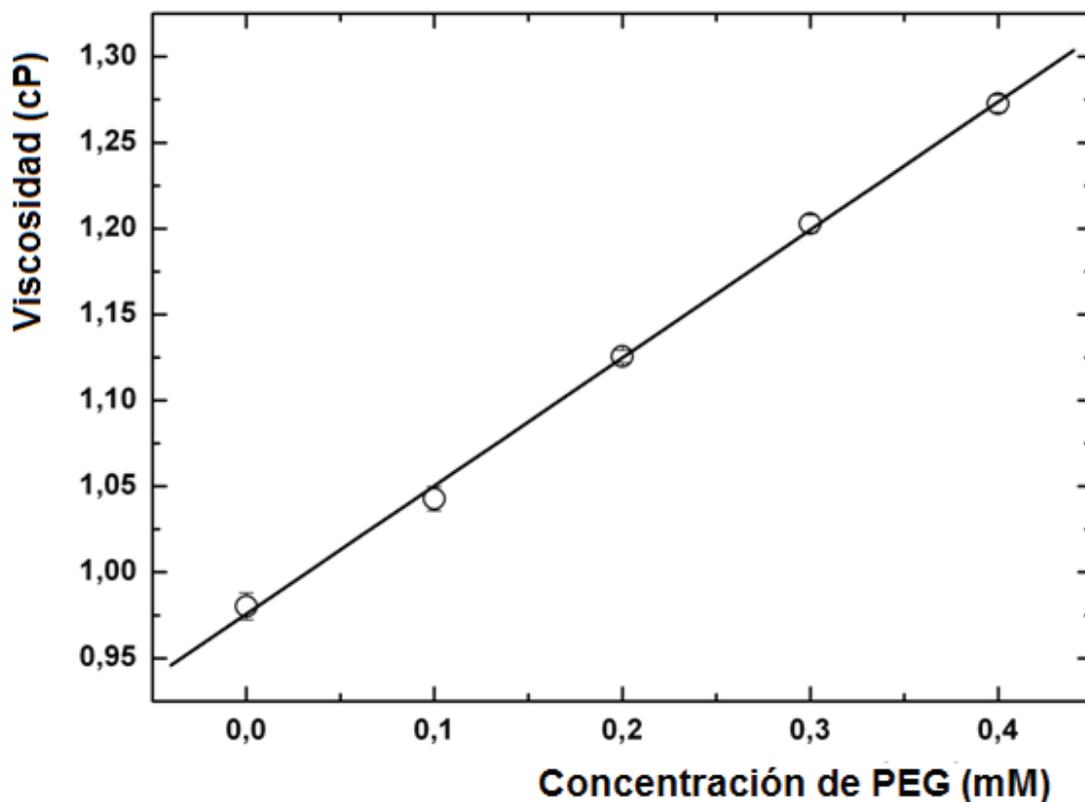


Fig. 4.46: Viscosidades para soluciones de PEG20K en solución salina a distintas Concentraciones de PEG.

A continuación se compararon los comportamientos de las tendencias de la constante elástica k en función de la concentración del polímero cuando se consideraba solamente la viscosidad de la solución salina (NaCl 10g/L) con el caso en que se considera como solvente a las soluciones salinas conteniendo el polímero. Los resultados comparativos se muestran en la gráfica 4.47.

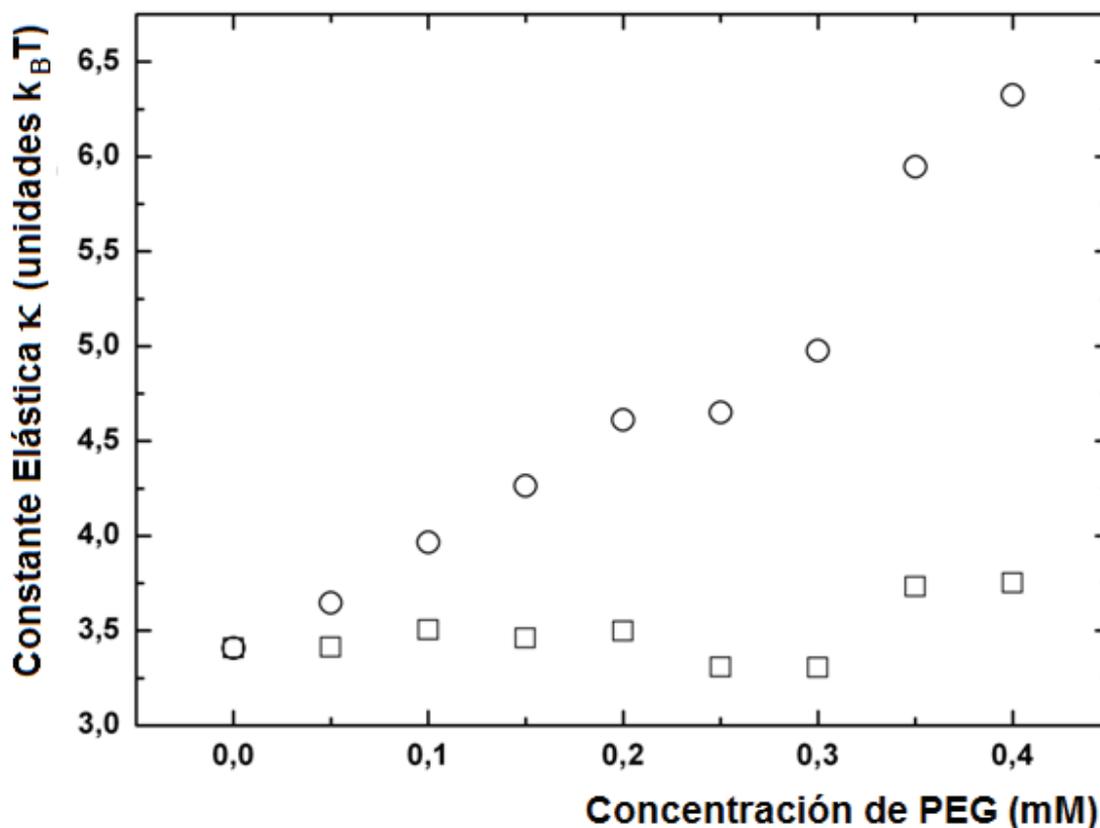


Fig. 4.47: Comportamiento de κ en función del contenido del PEG. Los cuadrados corresponden a los valores de κ calculados considerando la viscosidad de la solución salina. Los círculos corresponden a los cálculos de κ considerando la viscosidad de la solución polimérica

Se decidió tomar como válida la consideración de que el polímero se adhiere a la membrana de surfactante-cosurfactante de tal forma que no se considera presente como parte del solvente.

Finalmente, los valores del módulo de curvatura media, κ , obtenidos como función de la concentración del polímero son mostrados en la figura 4.48. Se presentan también los valores que se obtendrían si el ajuste de las curvas de la figura 4.45 se efectuara con todos los puntos.

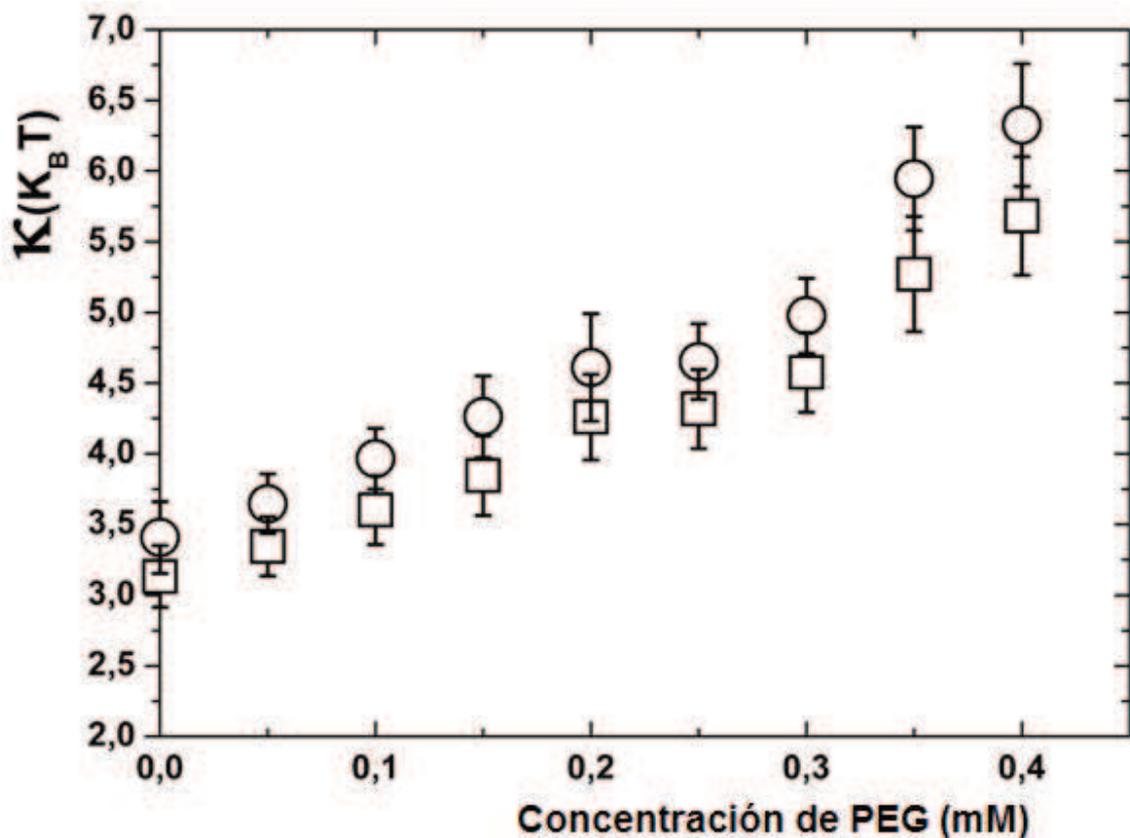


Fig. 4.48: Módulo elástico de curvatura como función de la concentración del polímero. Los círculos corresponden al ajuste sin los ángulos a 40 y 50 grados y los cuadrados corresponden al ajuste con todos los ángulos.

De la figura 4.48 vemos que el polímero incrementa la rigidez de las membranas (aumenta κ) reduciendo sus fluctuaciones térmicas. Esta es la razón de la disminución en la dinámica de las funciones de correlación y tiempos de relajación en las figuras 4.43 y 4.44.

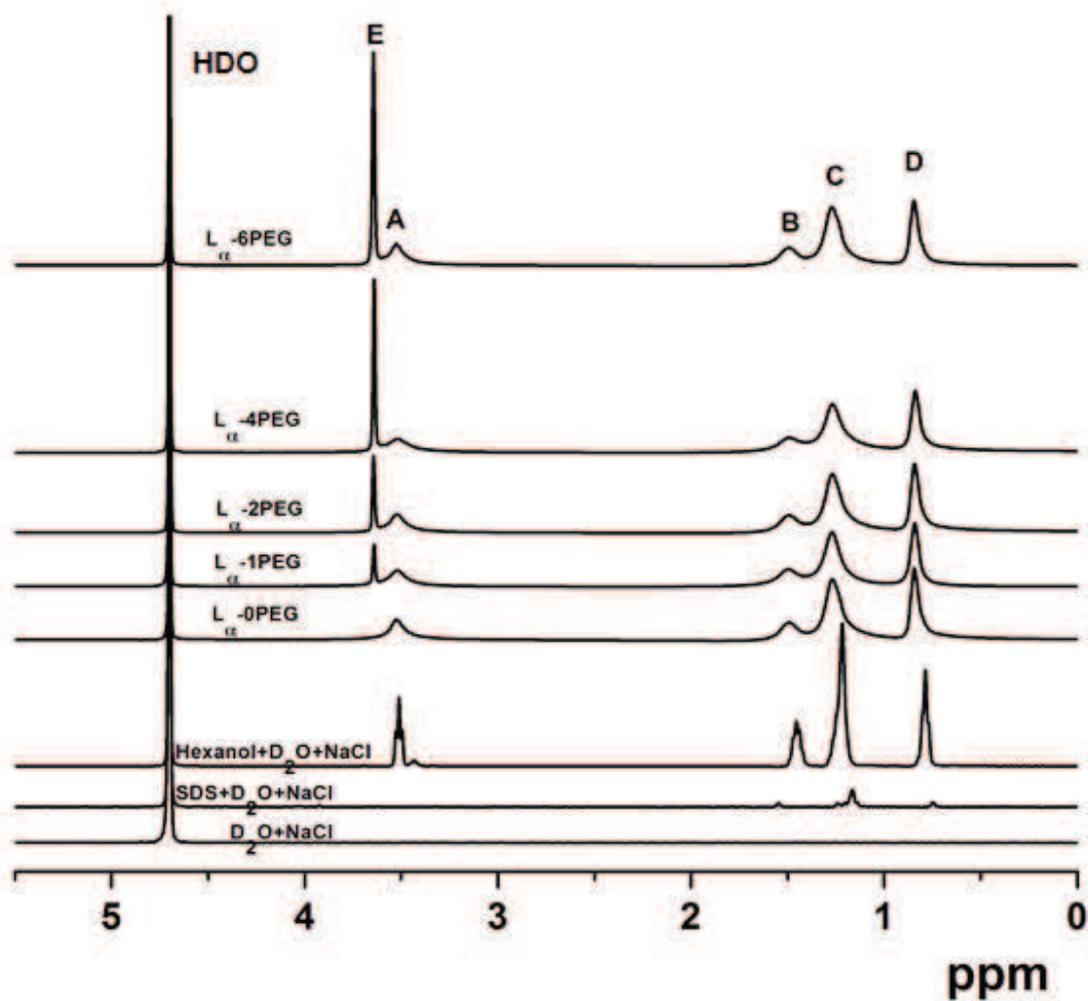


Fig. 4.49: Espectros de RMN de protón (^1H) de las muestras del sistema lamelar SDS_{deuterado} – hexanol- D₂O + NaCl – PEG a temperatura ambiente. Se incluyen las señales de los componentes por separado en agua deuterada.

En la Figura 4.50 se muestra una porción de los espectros de RMN correspondiente a las señales del PEG y de los protones del metileno más próximos al grupo OH (señal A). Los números sobre las curvas indican la concentración del PEG en g/L.

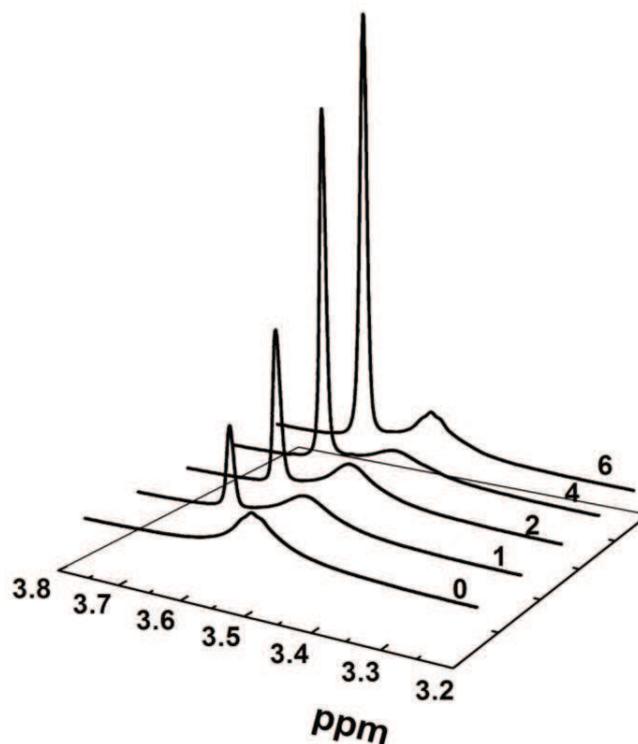


Fig. 4.50: Perfiles de las señales de RMN para PEG y protones A

Se calcularon las áreas relativas de la señal A respecto a la señal del PEG. Los resultados se muestran en Figura 4.51. En la gráfica se observa una tendencia lineal hasta la concentración de 4g/L. Posteriormente el valor de la razón del área disminuye a menor razón. Una posible explicación para ello es suponer que para una concentración de 6g/L de PEG se da una expulsión parcial del PEG que se encontraba entre las membranas de tal forma que se inicia el proceso de separación de fase con la fase de membranas en la parte superior y una región más rica en solvente abajo. Como consecuencia al coleccionar la muestra para RMN de la parte central del vial (región rica en membrana) la presencia de PEG será proporcionalmente menor en

comparación con las muestras de concentraciones menores donde la distribución del polímero si es homogénea en toda la membrana.

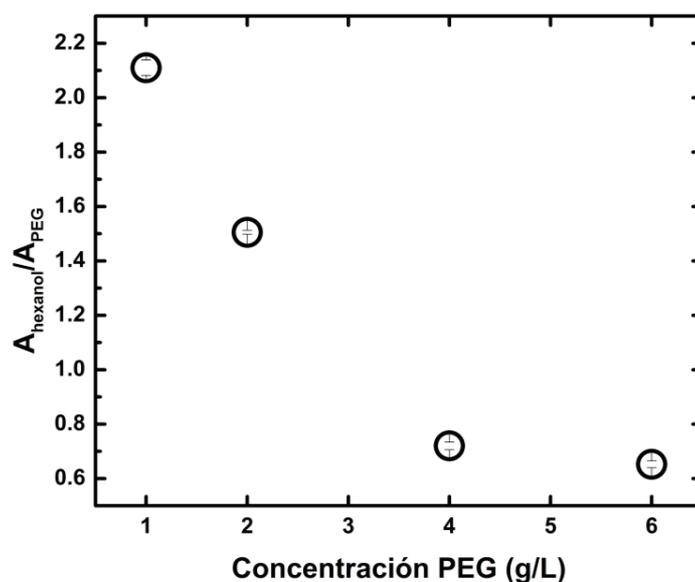


Fig. 4.51: Área relativa de la señal A integrada del hexanol respecto al área de la señal integrada del PEG.

En la Figura 4.52 se muestra una ampliación de las señales correspondientes a los protones A para las distintas concentraciones de PEG. Como se observa la señal sin polímero corresponde claramente a un triplete, el cual se pierde inmediatamente después de incorporar el PEG, sin embargo a las concentración de 6g/L la señal del triplete de los protones A se recupera como antes de la incorporación del PEG, por lo que se supone que a esta concentración la influencia del PEG es menor al entorno de los átomos de hidrógeno del Hexanol más próximos al grupo OH, el cual está expuesto al solvente polar donde se aloja el PEG. Una posible explicación de ello es que las interacciones entre moléculas de PEG son más dominantes a estas concentraciones que las interacciones del mismo polímero con la membrana.

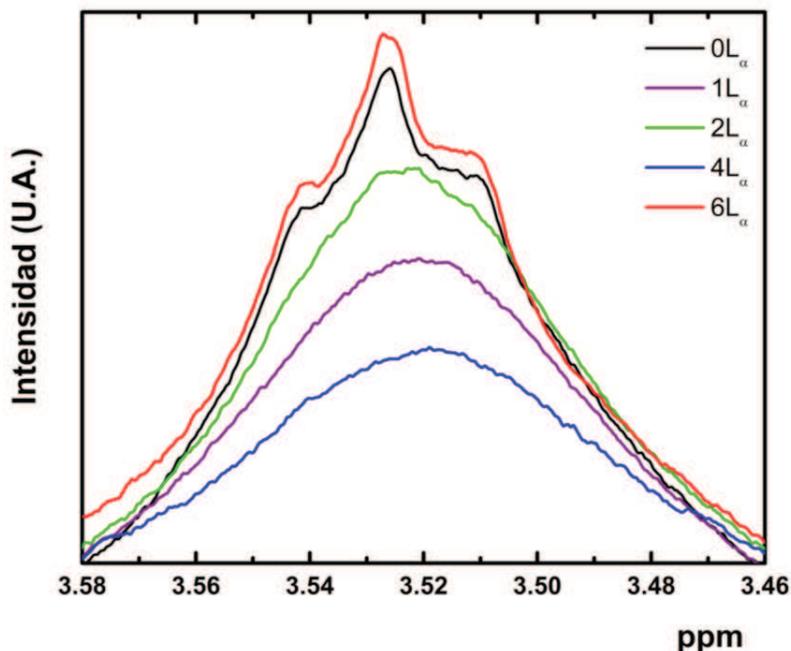


Fig. 4.52: Evolución de la señal A al variar la concentración del PEG en la muestra a temperatura de 25°C.

En la Figura 4.53 se muestran los desplazamientos químicos de las señales correspondientes a los protones del hexanol y del PEG. De la gráfica se deduce que todas las señales se mantienen casi constantes, sin mostrar ningún corrimiento hacia alguna de las señales, lo cual indica que no es posible detectar alguna interacción preferencial del polímero hacia alguno de los átomos de hidrógeno del hexanol. Nuestra hipótesis planteaba que una interacción fuerte entre el PEG y la membrana como puede ser la inserción de la cadena o la adsorción intensa del PEG sobre la membrana debería traducirse en algún desplazamiento químico más marcado para los protones donde se da específicamente la interacción con el polímero. Los resultados obtenidos hasta aquí no son concluyentes pues aunque es posible observar un efecto del PEG sobre los protones más próximos a la cabeza polar del Hexanol (fig. 4.52) no se puede establecer que este efecto sea más dominante en ese sitio del hexanol que en el resto de los protones ya que se tiene el mismo desplazamiento químico para todas las señales, es decir, no se puede establecer claramente si el PEG se encuentra adsorbido sobre la membrana, insertado dentro de la bicapa o solamente en el solvente sin interacción con la

membrana. Una propuesta para dilucidar este punto sería llevar a cabo una serie de experimentos con hexanol deuterado donde ahora se “borraran” las señales de los protones del hexanol para monitorear como se comportan las señales de los protones del SDS sin deuterar al variar la concentración del PEG.

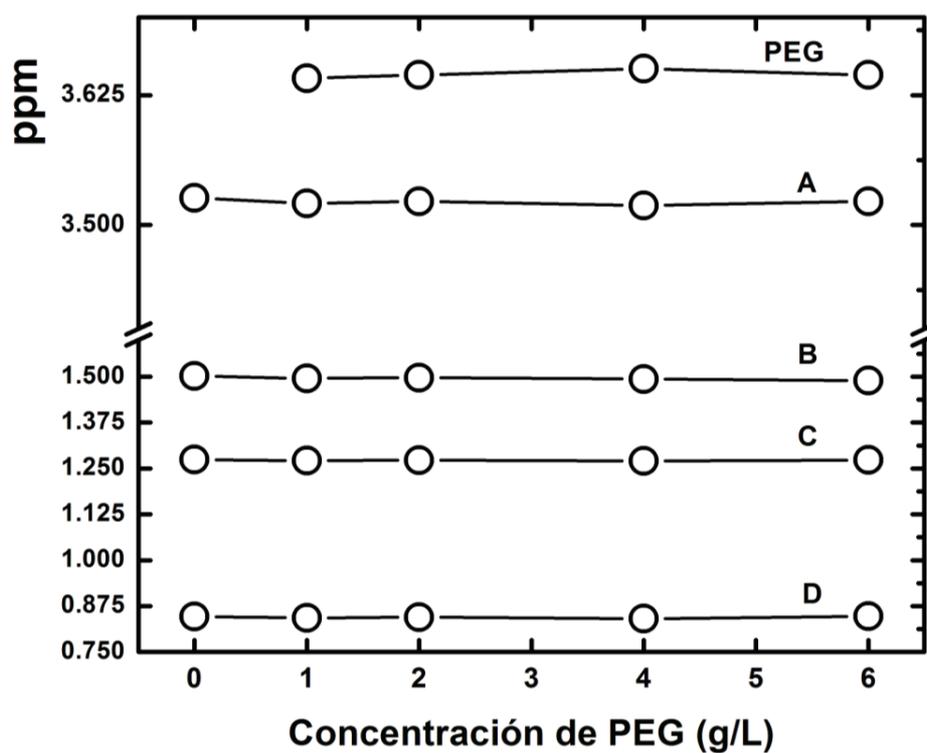


Fig. 4.53: Desplazamientos químicos de las señales del hexanol al variar la concentración del PEG en las muestras.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

En este trabajo estudiamos aspectos físicos del efecto de agregar un polímero hidrosoluble, el polietilenglicol o PEG, a las fases lamelares y esponja de un tensoactivo aniónico, el Dodecilsulfato de sodio o SDS, en una situación experimental donde las interacciones electrostáticas están apantalladas por la adición de sal (NaCl).

El proyecto surgió de dos resultados experimentales previos. Por una parte, de la observación de una transición topológica desde fases lamelares (o esponja) hacia estructuras vesiculares cuando se agregó PEG a las membranas formadas con un tensoactivo zwitteriónico (C₁₄DMAO) en un pH donde se comporta como un tensoactivo neutro. Este resultado contrasta notoriamente con otro, donde se encontró que se podían solubilizar altas cantidades de PEG en las fases lamelares y esponja del SDS, sin que hubiera transformación topológica. En ambos casos, las membranas (fase lamelar o esponja) se obtienen al agregar un cotensoactivo: hexanol.

Nuestro objetivo principal era entender el porqué de esta diferencia. Nuestra hipótesis fue que este comportamiento diferente en el SDS se debe a las interacciones electrostáticas debido a la naturaleza iónica de este tensoactivo. Por tal razón decidimos minimizar el efecto de tales fuerzas, agregando sal al sistema, lo cual tiene como efecto apantallar las interacciones electrostáticas (hacer que su alcance disminuya).

Para comprobar o descartar esta hipótesis realizamos un estudio del diagrama de fases del sistema SDS-hexanol-agua-NaCl en ausencia y presencia de PEG, basados en un trabajo de la literatura del sistema estudiado sin polímero. Nuestros experimentos permitieron ubicar las zonas de existencia de las diferentes fases termodinámicas, tanto en función de la concentración de polímero, como de la temperatura. En dicho estudio la concentración total de membrana (SDS más hexanol) permaneció constante (del orden de 3 % en volumen).

Nuestro estudio del diagrama de fases en ausencia y presencia de PEG comprobó nuestra hipótesis: al apantallar las interacciones electrostáticas entre membranas de SDS-hexanol, se observa una transición topológica desde fases lamelares o esponja hacia

estructuras vesiculares. Las diferentes estructuras fueron caracterizadas mediante experimentos diversos: observación visual, microscopía óptica de luz polarizada, mediciones de conductividad eléctrica, microscopía electrónica de criofractura, dispersión dinámica de luz y dispersión de rayos X a ángulos bajos.

Nuestras observaciones nos condujeron naturalmente a otros aspectos por estudiar en este sistema. Por ejemplo, nos propusimos entender tanto en términos de modelos teóricos, como en términos de mecanismos fisicoquímicos la razón de esta transformación inducida por el polímero.

Para ello realizamos experimentos tratando de encontrar la ubicación de la molécula de PEG en las membranas de SDS-hexanol. El fuerte efecto sobre la topología de las membranas, nos hizo pensar que el PEG se adsorbe o penetra las membranas, provocando cambios en sus propiedades físicas, llevando a la transformación topológica. Para dilucidar esta cuestión realizamos experimentos de Resonancia Magnética Nuclear, los cuales, al menos en una etapa preliminar, parecen indicar que el polímero penetra hasta cierto grado a la zona hidrofóbica de la membrana o al menos se adsorbe fuertemente sobre la membrana. Sin embargo, dicha parte del estudio no fue concluyente, dada la complejidad en la composición de las muestras y en los espectros obtenidos.

En este mismo contexto realizamos experimentos de Dispersión dinámica de luz, los cuales nos ofrecieron dos resultados importantes. Por una parte, nos dieron evidencia confirmatoria de que el polímero se adsorbe a la membrana, puesto que pudimos explicar nuestros resultados con un modelo teórico que parte de este supuesto. Y por otra parte, nos permitieron determinar que el polímero cambia el módulo de elasticidad de curvatura media de las membranas, parámetro que pudimos cuantificar en función de la concentración de polímero agregado. De hecho, nuestros experimentos indican que el polímero vuelve más rígidas a las membranas de tensoactivo. Estos resultados son importantes puesto que la transformación topológica lamelar – vesículas (o esponja – vesículas) puede entenderse, al menos cualitativamente, suponiendo que el polímero modifica el módulo de elasticidad Gaussiana de las membranas. Aunque no podemos medir experimentalmente esta variable, el

hecho de que el otro módulo elástico, el de curvatura media, cambie cuando se agrega el polímero, es un indicativo del efecto del PEG sobre las membranas: modificar su elasticidad, y por lo tanto provocar cambios en la rigidez y en la topología.

De manera interesante, nuestro trabajo comprobó que el efecto estudiado (la transformación topológica hacia la estructura vesicular) ocurre probablemente para todos los tensoactivos. En la literatura ya se había observado para el tensoactivo zwitteriónico C14DMAO. En esta tesis se realizó la misma observación para el SDS. Esto nos llevó a estudiar la posible ocurrencia del fenómeno en otras moléculas anfífilas: el tensoactivo catiónico CTAB y el fosfolípido zwitteriónico DMPC. En ambos casos encontramos el mismo efecto, lo cual nos hace sospechar fuertemente que la transformación topológica ocurre en todo sistema de membranas, en las condiciones experimentales apropiadas.

El trabajo ha dejado nuevas interrogantes abiertas y se vislumbran perspectivas interesantes. Por ejemplo, consideramos necesario continuar con los experimentos de RMN para tratar de ubicar al polímero en cuanto a su sitio de adsorción (o penetración) en las membranas de SDS-hexanol. De igual forma, sería interesante continuar con la caracterización de las fases estudiadas en muestras con mayor concentración de membrana, e incluso idear métodos experimentales para medir el módulo de elasticidad Gaussiana. Además, consideramos que pudiera ser relevante, en cuanto a posibles aplicaciones, determinar si el efecto observado es universal para cualquier molécula anfífila, pues se podría pensar en un método novedoso de encapsulamiento en vesículas. Finalmente, sería deseable modelar desde el punto de vista teórico, o mediante simulaciones con computadora, el sistema estudiado para entender en términos de modelos, los mecanismos físicos que producen la transformación observada.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.-R. Lipowsky Generic Interactions of Flexible Membranes, Handbook of Biological Physics, Vol. 1 (Edited by R. Lipowsky and E. Sackmann), Elsevier Science (1995) 521-602.
- 2.-M. Gradzielski, Vesicles and vesicles gels –structure and dynamics of formation, Journal of Physics Condensed Matter, **15** (2003), R655-697.
- 3.-Jacob Israelachvili, Intermolecular and Surface Forces, Ed. Académic Press,1992.
- 4.-W. Helfrich, Elastic Properties of Lipid Bilayers—Theory and Possible Experiments, Z. Naturf, **c28** (1973), 693.
- 5.-Derek Marsh, Rosa Bartucci and Luigi Sportelli : Lipid membranes with grafted polymers : physico chemical aspect, Biochemica et Biophysica Acta, **1615** (2003), 33-59.
- 6.-Pia Wadsten, Annemarie B. Wöhri, Arjan Snijder, Gergely Katona, Alastair T. Gardiner, Richard J. Cogdell, Richard Neutze and Sven Engström, Lipidic Sponge Phase Crystallization of Membrane Proteins, J. Mol. Biol., **364** (2006), 44–53
- 7.-M. Goulian, Inclusions in membranes, Current Opinion in Colloid & Interface Science, **1** (1996), 358-361.
- 8.-G. Buglet, C. Ligoure, A.M. Bellocq, E. Dufoure and G. Mosser. Bending moduli of a nonadsorbing-polymer containing lyotropic lamellar phase: An experimental study, Physical Review E, **57** (1997), 834-842.
- 9.-M. Singh, R. Ober, M. Kleman , Polymer in a lyotropic lamellar system: an experimental study, J. Phys. Chem. **97** (1993), 11108-11114.

- 10.-M-F Ficheux, A-M Bellocq, F. Nallet, Experimental Study of a Lyotropic Lamellar Phase Swollen with Polymer Solutions, *J. Phys. II France*, **5** (1995), 823-834 .
- 11.-A. Maldonado, Ricardo López-Esparza, Raymond Ober, Thaddée Gulik-Krzywicki, Wladimir Urbach, Claudine E. Williams, Effect of a neutral water-soluble polymer on the lamellar phase of a zwitterionic surfactant system, *J. Colloid Int. Sci.* , **296** (2006), 365-369.
- 12.-Thomas Hellweg, Annie Brulet, Alain Lapp, Daniela Robertson and Joachim Kötz, Temperature and polymer induced structural changes in SDS/decanol based multilamellar vesicles, *Phys. Chem.. Chem. Phys*, **4** (2002), 2612-2616.
- 13.-Heidi E. Warriner, Stefan H.J. Idziak, Nelle L. Slack, Patrick Davidson and Cyrus R. Safinya, Lamellar Biogels: Fluid-Membrane-Based Hydrogels Containing Polymer Lipids, *Science*, **271** (1996), 869-972.
- 14.-R. López-Esparza, M.-A. Guedeau-Boudeville, Y. Gambin, C. Rodríguez-Beas, A. Maldonado and W. Urbach., Interaction between poly(ethylene glycol) and two surfactants investigated by diffusion coefficient measurements, *J. Colloid Int. Sci*, **300** (2006), 105-110.
- 15.-Jean Louis Salgaer y Alvaro Fernández , Fenómenos Interfaciales : Generalidades sobre Surfactantes, primera edición, Ed. Universidad de los Andes, Venezuela (2004) 3-6.
- 16.-Mónica Laura Galaz Montoya, Efecto del Dimetil Sulfóxido (DMSO) en la Fase Lamelar del tensoactiv óxido de tetradecildimetilamina (C14DMAO), Tesis de Maestría en Polímeros y Materiales, Universidad de Sonora, 2006.
- 17.-César Rodríguez Beas, Efecto de la Adición del Polietilenglicol sobre las fases micelar y Lamelar de dos tensoactivos (C14DMAO y C12E5), Tesis de Maestría en Polimeros y Materiales, Universidad de Sonora, 2005.

- 18.-S.K. Hait and S.P. Moulik, Gemini surfactants : A distinct class of self-assembling molecules, *Current Science*, **82** (2002), 1101-1111.
- 19.-K. Holmberg, B Jönsson, B. Kronberg and B. Lindman, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, Second Edition, Ed. John Wiley and Sons Ltd. (2003).
- 20.-S.J. Singer and Garath L. Nicolson, The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes, *Science*, **175** (1972), 720 - 731.
- 21.-Yves Chevalier and Thomas Zemb, The structure of micelles and microemulsions, *Rep. Prog. Phys.*, **53** (1990), 279-371.
- 22.-R. Nagarajan and E. Ruckenstein, Theory of Surfactant Self-Assembly : A Predictive Molecular Thermodynamic Approach, *Langmuir*, **7** (1991), 2934-2969.
- 23.-Keishiro Shirahama and Tadashi Kashiwabara, The CMC-decreasing effects of some added alcohols on the aqueous SDS Solutions, *Journal of Colloid and Interface Science*, **36** (1971), 65-70.
- 24.-Jacob N. Israelachvili , *Intermolecular and Surface Forces*, Third Edition, Academic Press, New York (2010) 710.
- 25.-Tanford, C. *The hydrophobic effect*, Second Edition, Ed. Wiley, New York (1980) 246.
- 26.-Brackman, Josephine Charlotte, *The interaction between water soluble polymers and surfactante aggregates*, Dr Thesis, Netherlands , 1990, 164.
- 27.-Nina Bechthold, Brigitte Tiersch, Joachim Kotz and Stig E. Friberg, Structure Formation in Polymer-Modified Liquid Crystals, *Journal of Colloid and Interface Science*, **215** (1999), 106–11.
- 28.-J.M. Seddon, 1990, Structure of the inverted hexagonal (HII) phase, and non-lamellar transitions of lipids, *Biochim. Biophys. Acta* **1031** (1990), 1–69.
- 29.-Luciano Martínez Balbuena, *Elasticidad de las membranas biológicas*, Tesis de Licenciatura en Física, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Junio de 2008.

- 30.-Virginie Ponsinet and Pascale Fabre, Flexibility of the membranes in doped swollen Lamellar Phase, *J. Phys. Chem*, **100** (1996), 5035-5038.
- 31.-Krister Fontell, *Colloidal Dispersions and Micellar Behavior*, edited by K.L. Mittal, ACS Symposium Series, **9** (1975), 270-277.
- 32.-Johan Engblom and S.T. Hyde, On the Swelling of Bicontinuous Lyotropic Mesophases, *J. Phys. II France*, **5** (1995), 171-190.
- 33.-S.A. Safran, *Statistical Thermodynamics of Surfaces, Interfaces and Membranes*, Addison-Wesley, Reading Editors, Massachusetts, 1994, 270.
- 34.-A.-M. Bellocq, *Flexible Surfactant Films: Phase Behavior, Structure and Applications* Ed.Dekker, New York, 1996.
- 35.-R. Gomati, N. Bouguerra and A. Gharbi, Stability and swelling behaviour of a concentrated sponge phase, *Physica B*, **299** (2001), 101-107.
- 36.-T.D. Le, U. Olsson, H. Wennerström and P. Schurtenberger, Thermodynamics of a non-ionic sponge phase, *Physical review E*, **60** (1999), 4300-4309.
- 37.-A. Maldonado, W. Urbach, R. Ober and D. Langevin, Swelling behavior and local topology of an sponge phase, *Phys. Rev. E*, **54** (1996), 1774-1778.
- 38.-R. Strey, J. Winkler and L. Magid, Small-angle neutron scattering from diffuse interfaces, 1. Mono- and bilayers in the water-octane-C12E5 system, *J. Phys. Chem.* **95** (1991), 7502–7507.
- 39.-G. Lindblom and L. Rilfors, Cubic phases and isotropic structures formed by membrane lipids — possible biological relevance, *Biochim. Biophys. Acta*, **988** (1989), 221-256.
- 40.-S.A.Safran, Statistical thermodynamics of soft surfaces, *Surface Science*, **500** (2002), 127-146.

- 41.-K. Alfons and S. Engstrom, Drug compatibility with the sponge phases formed in monoolein, water, and propylene glycol or poly(ethylene glycol), *J. Pharm. Sci.*, **87** (1998), 1527-1530.
- 42.-S.T. Hyde, Swelling and structure. Analysis of the topology and geometry of lamellar and sponge lyotropic mesophases, *Langmuir*, **13** (1997), 842-851.
- 43.- P. Falus, M.A. Brthwick, S. Narayanan, A.R.Sandy and S.G.J. Mochrie, Crossover from stretched to compresses exponential relaxations in a polymer-based sponge phase, *Phys. Rev. Letter*, **97** (2006), 066102.
- 44.-U.S.Schwarz and G. Gompper, Bicontinuous Surfaces in Self-Assembling systems, in "Spatial Statistics and Statistical Physics", edited by K.R. Mecke and D. Stoyan, Ed. Springer, Lecture Notes in Physics, Berlín (2002) 107-151.
- 45.-W. Helfrich, Steric interaction of fluid membranes in multilayer system, *Naturforsch. A*, **33** (1978), 305.
- 46.- L. Porcar, C. Ligoure and J. Marignan, Layer Compression Modulus of Electrostatically Stabilized Lyotropic Lamellar Phase Revisted, *J. Phys. II France*, **7** (1997), 493-501.
- 47.-Leibler, Stanislas and Lipowsky, Reinhard, Extreme Swelling of Lamellar Phases, *Phys. Rev. Lett.*, **58** (1987), 1796.
- 48.- Liebler S. and Lipowski R. Complete unbinding and quasi-long-range order in lamellar phases, *Phys. Rev. B*, **35** (1997), 7004-7009.
- 49.- F. Castro Román, G. Porte and C. Ligoure, Renormalization of Helfrich's Interactions between Fluid Membranes in a Lyotropic Lamellar Phase by Addition of Amphiphilic Copolymers, *Phys. Rev. Lett.* **82** (1999), 109-112.
- 50.- E.Freyssingéas, D. Antelmi, P. Kékicheff, P. Richetti and A. M. Bellocq, Softening of the interactions between surfactante bilayers in a lamellar phase due to the presence of a polymer, *Eur. Phys. J. B*, **9** (1999), 123-136.

- 51.-I. Illiopoulus, U. Olsson, Polyelectrolyte association to micelles and bilayers, *J. Phys. Chem*, **98** (1994), 1500-1505.
- 52.- M.F. Ficheux, A. M. Bellocq, F. Nallet, Experimental study of a lyotropic lamellar phase swollen with polymer solutions, *J. Phys. II France* **5**, **823** (1995), 823-834.
- 53.- C. Ligoure, G. Bouglet, G. Porte, Polymer induced phase separation in lyotropic smectics, *Phys. Rev. Lett.* **71** (1993), 3600.
- 54.- Nallete F., Roux D., Quilliet C. Fabre P. and Milner S. T., Elasticity and hydrodynamics properties of “doped solvent” diluted lamellar phases, *J. Phys. II France* **4** (1994), 1477.
- 55.- C. Ligoure, G. Bouglet, G. Porte and O. Diat, Smectic Compressibility of Polymer-Containing Lyotropic Lamellar Phases: An experimental Tool to study the thermodynamics of Polymer Confinement, *J. Phys. II France* **7** (1997), 473-491.
- 56.- J.T. Brooks and M. E. Cates, The role of added polymer in dilute lamellar surfactant phases, *J. Chem. Phys.* **99** (1993), 7.
- 57.- G. Buglet, C. Ligoure, A.M. Bellocq, E. Dufoure and G. Mosser. Bending moduli of a nonadsorbing-polymer containing lyotropic lamellar phase: An experimental study *Physical Review E*, **57** (1997), 834-842.
- 58.- I. Alibert, C. Coulon, A. M. Bellocq and T. Gulik-Krzywicki, Dielectric study of the dilute part of a SDS/brine/alcohol system: A new sequence of phases?, *Europhys. Lett.* **39** (1997), 563.
- 59.- G. Porte, J. Marignan, P. Bassereau, R. May, Shape transformations of the aggregates in dilute surfactant solutions: A small angle neutron scattering study, *J. Phys. France*, **49** (1988), 511.
- 60.- A. Maldonado , R. Ober , T. Gulik-Krzywicki , W. Urbach and D. Langevin, The sponge phase of a mixed surfactant system, *Journal of Colloid and Interface Science*, **308** (2007), 485–490.

- 61.- Nicholas J. Severs, Freeze-fracture electron microscopy, *Nature Protocols*, , **2** (2007), 547-577.
- 62.- Li Li, Structural Analysis of Cylindrical Particles by Small Angle X-ray Scattering, Tesis Doctoral, Universidad de Bayreuth, 2005.
- 63.- Benjamin Chu and Benjamin S. Hsiao, Small-Angle X-ray Scattering of Polymers, *Chem. Rev.* **101** (2001), 1727-1761.
- 64.- Giuseppe Bataglia and Anthony J. Ryan, The evolution of vesicles from lamellar gel, *Nature Materials*, **4** (2005), 869-876 .
- 65.- Heidi E. Warriner, Stefan H. Idziak, Nelle L. Slack, Patrick Davidson and Cyrus Safinya, Lamellar Biogels : Fluid Membrane-Based Hydrogels Containing Polymer Lipids, *Science*, **271** (1996), 969-973.
- 66.- José Manuel Nápoles Duarte, Dispersión dinámica de luz en suspensiones coloidales, Tesis de Lic. en Física, Universidad de Sonora, Enero 2004.
- 67.- Pecora, R., *Dynamic Light Scattering, Applications of photon correlation spectroscopy*, Plenum Press NY ,1985 .
- 68.- O. Abillon and E. Perez, Swollen lamellar phases between two solid walls: undulation forces and generation of defects, *J. Phys. France*, **51** (1990), 2543-2556.
- 69.-. Boltenhagen, M. Kleman and D. Laventrovich, Oily streaks and focal conic domains in L, lyotropic liquid crystals, *J. Phys. II France* **1** (1991), 1233-1252.
- 70.- P. Boltenhagen, M. Kleman and D. Laventrovich, Freeze-fracture observations in the L_{∞} phase of a swollen surfactant in the vicinity of the L_1 , and the L_3 , phase transitions, *J. Phys. France* **4** (1994), 1439-1448.

- 71.- S.L. Keller, H.E. Warriener, C.R. Safinya and J. Zasadzinski , Direct observation of a defect-mediated viscoelastic transition in a hydrogel of lipid membranes and polymer lipids, *Phys. Rev. Lett.* , **78** (1997), 4781-4784.
- 72.- D. Roux and C.R. Safinya, A synchrotron X-ray study of competing undulation and electrostatic interlayer interactions in fluid multimembrane lyotropic phases, *J. Phys. France*, **49** (1998), 307-318.
- 73.- Georg Pabst, Michael Rappolt, Heinz Amenitsch and Peter Laggner, Structural information from multilamellar liposomes at full hydration : Full q-range fitting with high quality x-ray data, *Phys. Rev. E*, **62** (2000), 400-409.
- 74.- J.T. Brooks, C.M. Marques and M.E. Cates, The effect of adsorbed polymer on the elastic moduli of surfactant bilayers, *Europhys. Lett.*, **14** (1991), 713.
- 75.- M. Maguey and A.M. Bellocq, Effect of adsorbed and anchored polymers on membrane flexibility: a light scattering study of sponge phases, *Langmuir*, **17** (2001), 6740.
- 76.- L. Porcar, W. Hamilton, B. Butler, Warr, G.G., Scaling of shear-induced transformations in membrane phases, *Phys. Rev. Lett.* **89** (2002), 168301.
- 77.- H.Z. Yuan, L. Luo, L. Zhang, S. Zhao, S.Z. Mao, J.Y. Yu, L. F. Shen and Y.R. Du, Aggregation of sodium dodecyl sulfate in poly(ethylene glycol) aqueous solution studied by ^1H NMR spectroscopy, **280** (2002), 479-484.
- 78.- Lorena Armenta Villegas, Síntesis y caracterización de polímeros dipropargiloxinaftalatos con grupos colgantes tipo azo como cromóforos, Tesis de maestría en Polímeros y Materiales, Universidad de Sonora, Diciembre de 2005.

79.- Robert Resnick, David Halliday and Kenneth S. Krane, Física Volumen 2, Grupo Editorial Patria, Quinta Edición, Novena re-impresión, México (2011) 1089.

80.- Kensal E. van Holde, W. Curtis Johnson and P. Shing Ho, Principles of Physical Biochemistry, Ed. Prentice Hall, New Jersey (1998) 484-493.

PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TRABAJO DE TESIS

Ramón Iñiguez-Palomares and Amir Maldonado, Topology change by screening the electrostatic interaction in a polymer-surfactant system, *Colloid and Polymer Science*, **287** (2009), 1475-1479.

Ramón Iñiguez-Palomares, Heriberto Acuña-Campa and Amir Maldonado, Effect of polymer on the elasticity of surfactant membranes: a light scattering study, *Physical Review E*, **84** (2011), 011604.