



---

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE  
HIDALGO

INSTITUTO DE FÍSICA Y MATEMÁTICAS

TESIS

---

**Reología de cizallamiento y compresión en  
monocapas DPPC/POPC**

---

*Para obtener el grado de Maestra en Ciencias en el área de Física*

*Autor:*

Maricela RODRÍGUEZ NIETO

*Asesor:*

Doctor en física

Gabriel Espinosa Pérez

agosto de 2015

Morelia, Mich.



# *Agradecimientos*

En primer lugar deseo expresar mi agradecimiento al director de esta tesis, Dr. Gabriel Espinosa Pérez, por la dedicación y apoyo que ha brindado a este trabajo. Gracias por la confianza ofrecida.

Gracias a los Doctores Joaquín De La Torre Medina y Pablo Martínez Torres por sus oportunas observaciones, que permitieron enriquecer y mejorar este trabajo.

Gracias a todos los profesores del Instituto de Física y Matemáticas por compartir todo su conocimiento, el cual me enriqueció como profesionista.

Gracias a la Universidad Autónoma de Cuajimalpa por facilitarnos sus instalaciones y equipo para la elaboración de este trabajo.

Gracias a mis amigos, que siempre me han prestado un gran apoyo moral y humano, necesarios en los momentos difíciles de este trabajo, en especial a Alberto Sánchez Luviano y a José Luis Méndez, quienes compartieron sus conocimientos sobre este tema de tesis.

Gracias a mi familia, a mis padres y hermanos, quienes me han brindado su apoyo incondicional.

Gracias Alan por motivarme a crecer y por estar en todos los momentos buenos y malos conmigo.

Pero, sobre todo, gracias a mi hija, por su paciencia y comprensión. Por permitirme usar sus horas de juego conmigo para trabajar, pero todo sacrificio tiene su recompensa. Sin su apoyo no hubiera sido posible este trabajo y, por eso, este trabajo es también el suyo.

# Índice general

<b>Agradecimientos</b>	<b>I</b>
<b>Resumen</b>	<b>IV</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Estructura y composición de las membranas biológicas</b>	<b>7</b>
2.1. Estructura de las membranas celulares . . . . .	7
2.2. Composición de las membranas celulares . . . . .	10
2.2.1. Composición de las cabezas polares . . . . .	11
2.2.2. Composición de las cadenas de hidrocarburos . . . . .	11
<b>3. Conceptos fundamentales</b>	<b>16</b>
3.1. Superficie e interfaz . . . . .	16
3.2. Tensión superficial . . . . .	17
3.3. Monocapas de Langmuir . . . . .	20
3.4. Presión superficial . . . . .	21
3.5. Fluidos complejos y su dinámica. . . . .	21
3.5.1. Tensor de deformación . . . . .	21
3.5.2. Tensor de esfuerzo . . . . .	22
3.5.3. Deformación de compresión y cizallamiento . . . . .	24
3.5.4. Sólidos elásticos y fluidos Newtonianos . . . . .	26
3.5.5. Viscoelasticidad: Fluidos complejos . . . . .	27
3.6. Otros tipos de respuestas reológicas . . . . .	30
3.6.1. Comportamiento plástico . . . . .	31
3.6.2. Comportamiento dilatante (shear thickening) . . . . .	31
3.6.3. Comportamiento pseudoplástico (shear thinning) . . . . .	31
3.7. Compresibilidad . . . . .	31
3.8. Correspondencia entre monocapa y bicapa . . . . .	33
<b>4. Técnicas experimentales</b>	<b>36</b>
4.1. Técnica general de obtención de monocapas de Langmuir . . . . .	36
4.2. Medición de la presión mediante el método de la placa de Wilhelmy . . . . .	37
4.3. Isotermas de compresión . . . . .	38

---

4.4. Reología de compresión oscilatoria . . . . .	39
4.5. Reología de cizallamiento . . . . .	41
4.6. Materiales . . . . .	43
<b>5. Resultados</b>	<b>47</b>
5.1. Isotermas de compresión . . . . .	47
5.2. Reología de compresión . . . . .	48
5.3. Reología de cizallamiento . . . . .	50
5.4. Discusión . . . . .	54
5.4.1. Reología de compresión . . . . .	54
5.4.2. Reología de cizallamiento . . . . .	55
<b>6. Conclusiones</b>	<b>57</b>
6.1. Perspectivas . . . . .	58
<b>A. Relaciones de Kramers-Kronig</b>	<b>59</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>62</b>

## *Resumen*

En esta tesis se estudiaron las propiedades reológicas de las monocapas de Langmuir formadas por DPPC/POPC a diferentes razones de concentración, formadas sobre una interfaz agua-aire. Los estudios se realizaron mediante deformaciones de compresión y cizallamiento usando una palangana de Langmuir y un reómetro interfacial de cizallamiento equipado con una aguja magnética respectivamente. En deformación de compresión, las membranas de DPPC/POPC mostraron un comportamiento tipo sólido . En deformación de cizallamiento, las membranas de DPPC se comportaron como un gel viscoelástico y las membranas de POPC como un fluido Newtoniano. Las membranas con DPPC/POPC presentaron diferentes comportamientos, entre ellos, un comportamiento tipo fluido en membranas con el 15 % de POPC y un comportamiento tipo sólido en membranas con el 8 y 10 % de POPC.

**Palabras clave:** Monocapas de Langmuir, reología de compresión, reología de cizallamiento, reómetro de la aguja magnética, membranas de DPPC .

## *Abstract*

In this thesis, were studied the rheological properties of Langmuir monolayers composed of DPPC / POPC at different concentration ratios, formed on a water-air interface. The studies were conducted by compression and shear deformations using a Langmuir trough and a magnetic needle interfacial shear rheometer respectively. In shear compression the DPPC/POPC membranes showed solid-like behavior . In shear rheology, DPPC membranes behave as a viscoelastic gel and POPC membranes as a Newtonian fluid. Membranes with DPPC/POPC presented different behaviors, including a fluid-like behavior in membranes with 15 % of POPC and a solid-like behavior in membranes with 8 and 10 % of POPC.

**Keywords:** Langmuir monolayers, shear rheology, compression rheology, magnetic needle rheometer, DPPC membranes.

# Capítulo 1

## Introducción

Las monocapas son películas con espesor de una molécula, el interés por su estudio comenzó desde siglos atrás cuando los navegantes depositaban aceite en el mar con el fin de calmar las aguas turbulentas y además, proteger sus barcos. El aceite funcionaba como amortiguamiento ondular, o más precisamente, previniendo la formación de las primeras ondulaciones, así el viento no podría tener ningún efecto sobre ellas.

En 1765 Benjamin Franklin decidió imitar este fenómeno al observar que las aguas del mar, después de pasar una flota de barcos donde las cocinas usaban estas aguas para lavar los platos con grasa, eran mucho más pacíficas que aquellas donde los barcos no lo hacían. En un lago, cerca de Clapham Common en Londres, Inglaterra, Franklin dispersó una cucharada de aceite. De sus experimentos, Franklin aprendió que, en las partes tratadas de la superficie, el viento tenía un efecto mucho menor que en las no tratadas; la superficie permanecía como un espejo. Una cucharada de aceite fue suficiente para calmar varios cientos de metros cuadrados [1]. Además notó la rapidez con la que se dispersaba el aceite y su fuerza, la cual era suficiente para provocar que pequeños objetos, que se encontraban flotando como hojas y paja, se retrocedían con la gota de aceite. Sus observaciones fueron reportadas ante la Royal Society [1]. Sin embargo, no fueron notadas sino hasta un siglo después por Lord Rayleigh en 1890. Rayleigh por medio de una serie de experimentos en los que vertía una cantidad conocida de aceite sobre una superficie de agua, pudo cuantificar lo que Franklin había visto. Lo que Franklin no sabía era que el aceite había formado una monocapa sobre la superficie del agua. En sus experimentos Rayleigh fue capaz de determinar el área que ocuparía un volumen conocido de aceite al ser vertido sobre una superficie de agua así como el espesor de la película el cual era de 1.6nm [2].

Posteriormente, Agnes Pockels mostró que el área de las películas de aceite puede ser controlada con barreras. Añadió que la tensión superficial varía con la contaminación del

agua. Su obra fue escrita originalmente como una carta a Lord Rayleigh quien asistió a Pockels para publicar sus resultados en 1891 [3].

El trabajo de Agnes Pockels sentó las bases para Irving Langmuir, que continuó trabajando y confirmó los resultados de Pockels. Langmuir en 1917, usando la idea de Pockels desarrolló un dispositivo para el estudio de estas películas monomoleculares. Confinó la monocapa con una barrera rígida pero ajustable en un lado y una barrera móvil en el otro lado. Para evitar que las moléculas de la monocapa escaparan de la barrera móvil introdujo pequeños chorros de aire. También ideó la forma de medir la presión superficial [4].

Una de las aplicaciones que se le han dado a estas películas monomoleculares es que pueden utilizarse para modelar las membranas biológicas, que es lo que concierne a este trabajo. De hecho, con ayuda del dispositivo inventado por Langmuir [4]; conocido como la *palangana de Langmuir*, se lograron concretar algunas ideas que se tenían sobre la membrana. Primero, en 1877 Pfeffer [5] había formulado la idea de que el citoplasma de las células estaba delimitado por una delgada capa a la que él llamó *membrana plasmática*. Además, propuso que las membranas forman compartimentos dentro del citoplasma separando varios procesos celulares. Más adelante, en 1895 Overton sugirió que las delgadas capas que rodeaban las células estaban formadas de lípidos y colesterol, y que ciertas moléculas pasaban a través de estas membranas [6].

Futuras investigaciones realizadas por Gorter y Grendel en 1925 [7] llevaron a construir una posible forma de la membrana. Para sus experimentos extraían lípidos de glóbulos rojos de personas y animales como perros, conejos, entre otros; estos lípidos eran dispersados sobre la interfase aire-agua de la *palangana de Langmuir*. En sus experimentos medían el área superficial de la capa que formaban los lípidos y observaron que ésta era exactamente la mitad del área de la célula. Ellos concluyeron que las membranas estaban hechas de dos capas monomoleculares opuestas. También expresaron que esta doble capa se formaba por lípidos los cuales se orientaban con las cabezas polares apuntando hacia el medio acuoso formando una bicapa (fig. 1.1). En 1935 Danielli y Davson propusieron el modelo de membrana como una bicapa de lípidos con proteínas adheridas a ambas caras [8].

La integración de los datos químicos, físico-químicos y las diversas técnicas de microscopía llevaron a Singer y Nicolson en 1972 [10] a establecer el modelo de membrana con mayor aceptación, el modelo de *mosaico fluido*. Según este modelo, la estructura de las membranas consta de una bicapa de lípidos en la cual están inmersas diversas proteínas (fig. 1.2), y se comporta como un fluido viscoso. Desde 1972, el modelo de mosaico fluido se ha ido modificando debido a nuevos descubrimientos. En los modelos más recientes se plantea la existencia de microdominios de esfingolípidos los cuales se

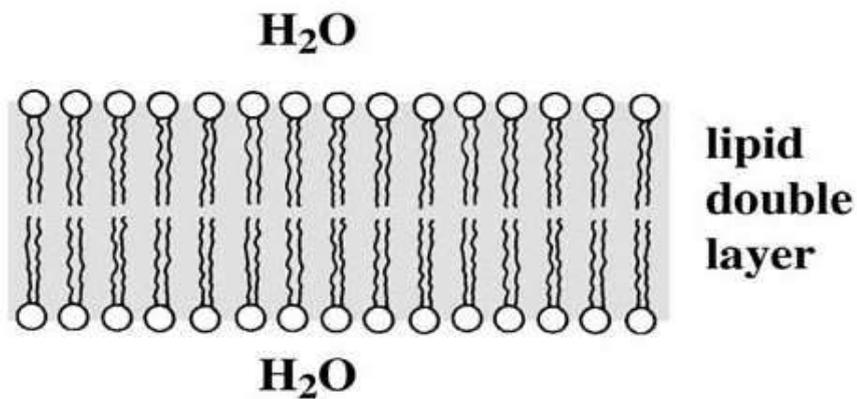


FIGURA 1.1: La membrana celular de acuerdo a Gorter y Grendel (1925). Figura adaptada de [9].

mantienen estrechamente empaquetados y se comportan como unidades o balsas dentro de la monocapa externa de la membrana [11]. Diversos estudios le adjudican un papel importante a las balsas de membrana en la organización espacial y temporal de los distintos elementos involucrados en la apoptosis (destrucción o muerte celular provocada por la misma célula), la infección viral, entre otros [12]. Además, se encuentra el hecho de que la membrana no se comporta sólo como un fluido viscoso, sino que también posee propiedades elásticas [13]. A estos materiales que poseen propiedades viscosas y elásticas se les denomina *fluidos complejos*.

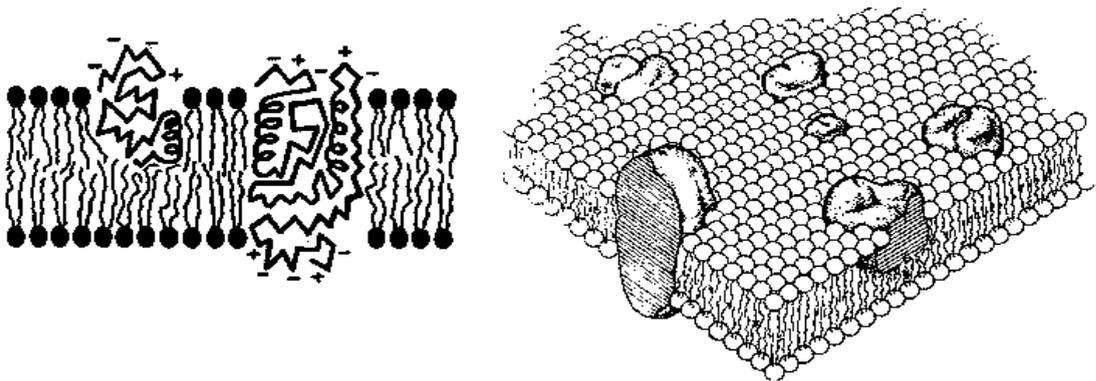


FIGURA 1.2: El "Modelo de mosaico fluido" de Singer y Nicolson (1972). Figura adaptada de [10].

Si bien la membrana está conformada por una bicapa de lípidos, una de las aplicaciones de las monocapas es que permiten modelar experimentalmente el comportamiento de una membrana celular, esto es posible gracias a la teoría desarrollada por Marsh [14]. En su teoría, Marsh demostró que las propiedades de las monocapas y bicapas son equivalentes

bajo ciertas condiciones de presión y temperatura. En el capítulo 3 se mostrará esta teoría.

Existe una gran variedad de lípidos que componen las membranas, su composición varía de célula en célula, de orgánulo en orgánulo, incluso difiere entre las dos capas de una misma membrana. Por tanto, no ha sido posible determinar con certeza los lípidos que conforman la membrana. No obstante, estudios realizados sobre la composición de surfactante (lípidos) muestran que entre las fosfatidolcolinas que se han encontrado el DPPC (dipalmitoilfosfatidilcolina) es el predominante, formando de un 41-70 % de aproximadamente el 80 % de las fosfatidilcolinas [15]. Una de las principales fuentes de estos estudios ha sido el lavado broncoalveolar [15], ya que una función importante desempeñada por estos lípidos es la de surfactante pulmonar, que incrementa la compliancia pulmonar, previene el colapso pulmonar y facilita la movilización de vías respiratorias colapsadas.

En este trabajo nos centramos en estudiar las propiedades reológicas, es decir, el comportamiento que presentan estas membranas ante algún esfuerzo o deformación aplicados sobre monocapas formadas por DPPC y 1-palmitoil, 2-oleil fosfatidilcolina (POPC) a diferentes concentraciones. El interés biológico por estudiar las mezclas de DPPC con otros fosfolípidos se debe que estos son los responsables de disminuir la tensión superficial que existe en la superficie interna de los alvéolos [15]. La superficie de agua que hay en la parte interna de los alvéolos intenta contraerse debido a la tensión superficial. Si únicamente existiera una capa de agua al interior de los alvéolos estos colapsarían. En términos cuantitativos, la tensión superficial del agua es de  $72 \text{ mN/m}$ , mientras que la tensión superficial de los líquidos que tapizan los alvéolos con cantidades normales de surfactante radica entre 5 y  $30 \text{ mN/m}$ . Por ejemplo, si se bloquean los conductos aéreos que salen de los alvéolos pulmonares, la tensión superficial de los alvéolos tiende a colapsarlos. Esto genera una presión positiva en los alvéolos, que intenta expulsar el aire. La magnitud de la presión que se genera de esta forma en un alvéolo se puede calcular a partir de la siguiente fórmula [16]:

$$Presión = 2 \frac{Tensión\ superficial}{Radio\ del\ alvéolo}. \quad (1.1)$$

Un alvéolo de un radio medio de aproximadamente  $100\mu\text{m}$ , tapizado con surfactante normal tendría una presión positiva de aproximadamente  $3\text{mmHg}$ . En cambio si estuvieran tapizados por agua pura la presión sería de  $13.5\text{mmHg}$ , 4.5 veces mayor. He aquí la importancia del surfactante en los pulmones ya que provoca una disminución considerable en el esfuerzo necesario para que los músculos respiratorios expandan los pulmones. Definir los requerimientos mínimos del surfactante en los pulmones es altamente significativo especialmente para lactantes prematuros ya que ellos tienen alvéolos con radios menores de la cuarta parte de los de una persona adulta. Lo que aumenta

significativamente la presión ejercida sobre los alvéolos. Además, normalmente el surfactante no comienza a secretarse hacia los alvéolos hasta el sexto o séptimo mes de gestación, en algunos casos incluso más tarde. Por tanto, muchos infantes prematuros tienen poco o ningún surfactante en los alvéolos cuando nacen, y sus alvéolos tienen una tendencia extrema a colapsarse, a veces hasta seis a ocho veces la de una persona adulta normal. Esto da lugar a la enfermedad denominada síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido. Es mortal si no se trata adecuadamente.

La ciencia que se encarga de estudiar el comportamiento de los fluidos complejos, como lo es la membrana, es la reología. A lo largo de los años se han desarrollado una gran variedad de métodos tanto reológicos como microreológicos para estudiar las propiedades de las monocapas, cabe mencionar que ambos métodos tienen sus ventajas y desventajas. Dentro de los métodos reológicos se encuentran la reología de compresión y reología de cizallamiento, en estos métodos se somete la monocapa a esfuerzos sinusoidales de compresión o cizalla respectivamente. Estos no pueden ser comparados directamente, más bien se complementan uno al otro. En la sección 4 hablaremos sobre ellos. Entre las técnicas microreológicas se encuentran: rastreo de partículas activo y pasivo [17], pinzas ópticas [18], pinzas magnéticas [19], microscopía de fuerza atómica [20], entre otras. Estos métodos son principalmente aceptados por la pequeña cantidad de muestra necesaria para medir sus propiedades mecánicas, lo que lleva a un ahorro significativo en el costo del experimento debido a que las muestras biológicas son muy caras y difíciles de extraer o sintetizar en grandes cantidades. Una de las desventajas de los métodos microreológicos es que para materiales muy rígidos o viscosos sería desafiante observar el poco movimiento de la partícula de prueba.

La técnica utilizada en esta tesis para caracterizar las monocapas fue por medio de “reología interfacial de cizallamiento y de compresión”. La reología interfacial, además de contribuir a la caracterización de las monocapas es una herramienta muy importante para entender la formación, estabilidad y otras propiedades de emulsiones y espumas. Históricamente, uno de los primeros experimentos en reología interfacial data del año 1869 cuando Plateau [21], comparó las oscilaciones de una aguja magnética inmersa en un líquido con una colocada en la superficie del mismo. En un principio creyó que la superficie tenía mayor viscosidad pero después explicó el fenómeno a través de lo que hoy se conoce como el “efecto Marangoni”; el movimiento de la aguja provoca una compresión superficial enfrente de ella y una dilatación atrás.

La presente tesis se organiza de la siguiente manera:

En el capítulo 2 se habla sobre las diferentes estructuras que pueden formar los lípidos, ya que estos además de formar monocapas o bicapas también pueden formar otras estructuras dependiendo de las propiedades de cada lípido y de la concentración que se

tenga. También se describen algunos de los componentes de las membranas celulares prestando especial atención a los lípidos que interesan en esta tesis que son el DPPC y el POPC.

En el capítulo 3 se muestran de manera resumida los elementos básicos para la comprensión del estudio del comportamiento de las monocapas realizado en esta Tesis. En primer lugar, se introduce al concepto de superficie y tensión superficial. Después se presenta la definición de monocapas de Langmuir. Una vez conocidos estos términos se define el concepto de presión superficial. También se muestra la matemática necesaria para describir el comportamiento de los fluidos complejos. Además se expone el concepto de módulo de compresión uniaxial. Por último, se menciona la correspondencia entre los estados de una bicapa y una monocapa, teoría que fue desarrollada por Marsh [14], a través de la cual es posible establecer las condiciones para que haya una equivalencia entre ambas.

En el capítulo 4 se detalla el proceso de formación de monocapas, y se menciona uno de los métodos más precisos para medir la presión superficial de las monocapas, el método de “la placa de Wilhelmy”. Se explica la técnica de *isotermas de compresión*, estas isotermas son un indicador importante para determinar, entre otras cosas, el estado de la monocapa.

## Capítulo 2

# Estructura y composición de las membranas biológicas

Las membranas celulares son cruciales para la vida celular. La membrana plasmática envuelve a la célula, delimitándola y manteniendo el equilibrio entre el interior y el exterior de las células. Dentro de la célula eucariota, las membranas del retículo endoplasmático, del aparato de Golgi, de las mitocondrias y de otros orgánulos delimitados por membrana regulan el equilibrio entre el contenido de cada uno de estos y el citosol [22]. Las bicapas de lípidos juegan un papel esencial como la matriz de las membranas biológicas [23]. Los *lípidos* son moléculas anfifílicas, es decir, poseen una cabeza polar o hidrofílica y largas cadenas de hidrocarburos apolares o hidrofóbicas. Esta propiedad anfifílica de las moléculas es de suma importancia en la estructuración de las membranas. En este capítulo se presentan los principales lípidos que conforman las biomembranas así como su estructura y organización en medios acuosos.

### 2.1. Estructura de las membranas celulares

A pesar de que tienen diferentes funciones, todas las membranas celulares comparten una estructura básica común: un conjunto de moléculas lipídicas que se disponen formando una bicapa en la cual se encuentran inmersas diversas proteínas. La bicapa lipídica además de constituir la estructura básica de las membranas actúa como una barrera relativamente impermeable al paso de la mayoría de moléculas hidrosolubles [22].

El carácter anfifílico de los lípidos hace que estos sean poco solubles en medios polares, tales como el agua. La baja solubilidad de los lípidos se debe a que su estructura química es fundamentalmente hidrocarbonada, con gran cantidad de enlaces C-H y C-C

(figura 2.1). La naturaleza de estos enlaces es 100 % covalente<sup>1</sup> y su momento dipolar es mínimo. El agua, al ser una molécula muy polar, con gran facilidad para formar enlaces de hidrógeno<sup>2</sup>, no es capaz de interactuar con estas moléculas [24]. En presencia de moléculas hidrofóbicas, el agua adopta en torno a ellas una estructura muy ordenada que maximiza las interacciones entre las propias moléculas de agua, forzando a la molécula no polar al interior de una estructura en forma de jaula, que también reduce la movilidad de la misma. Todo ello supone una configuración de baja entropía, que resulta energéticamente desfavorable. Esta disminución de entropía es mínima si las moléculas hidrofóbicas se agregan entre sí, e interactúan mediante fuerzas de corto alcance, como las fuerzas de Van der Waals. A la inmiscibilidad de sustancias inertes con agua, y la naturaleza principalmente entrópica de esta incompatibilidad, se conoce como el efecto hidrofóbico [24]. Los agregados que forman los lípidos en los medios acuosos dependen de la concentración y estructura (número de cadenas, tamaño de la cabeza polar y de la cola hidrofóbica) de los mismos. A continuación mencionamos algunos de ellos.

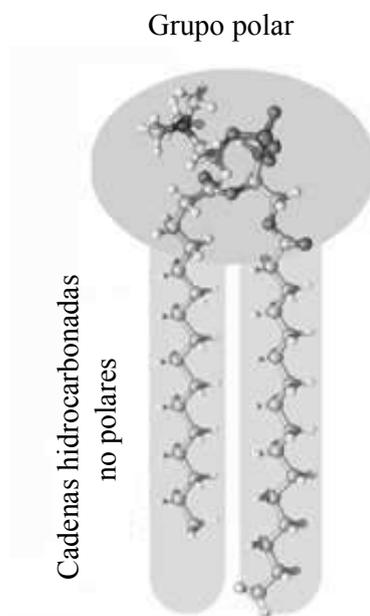


FIGURA 2.1: Estructura fundamental de una molécula anfifílica. Figura tomada de referencia [9]

*Monocapas de lípidos.* A muy bajas concentraciones las moléculas anfifílicas se sitúan preferentemente en la capa superficial, debido a sus cadenas hidrofóbicas. Este proceso continúa al ir aumentando la concentración, hasta que la interfaz se satura por completo debido a la formación de una monocapa (fig. 2.2).

<sup>1</sup>El enlace covalente es en el que uno o más pares de electrones son compartidos por dos átomos

<sup>2</sup>El enlace hidrógeno es la fuerza atractiva entre un átomo electronegativo (O, N, F y Cl) y un átomo de hidrógeno unido covalentemente a otro átomo electronegativo.

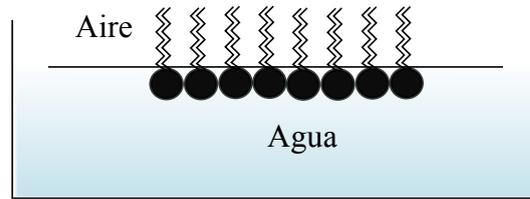
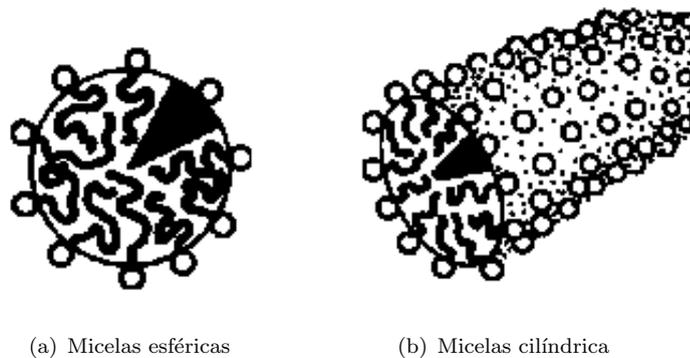


FIGURA 2.2: Monocapa de lípidos.

*Micelas.* Después de saturar la interfaz, en el umbral conocido como *concentración micelar crítica* (CMC), comienzan a formarse agregados al interior del fluido. Estos agregados presentan diferentes formas dependiendo de las características de los lípidos. Las moléculas de surfactante comienzan a agruparse al interior de la disolución de manera que las cabezas hidrofílicas permanecen en contacto con el agua y las colas hidrofóbicas quedan recluidas en el interior de dicho agregado. Los lípidos que poseen una sola cadena hidrocarbonada y grandes áreas en sus grupos polares, cuya geometría es la de un cono forman “micelas esféricas” (ver fig. 2.3(a)). Mientras que los lípidos con forma de un cono truncado, que contienen solo una cadena de hidrocarburos y con el área de sus cabezas polares pequeña, se forman “micelas cilíndricas” (ver fig. 2.3(b)) [24].



(a) Micelas esféricas

(b) Micelas cilíndrica

FIGURA 2.3: Estructuras micelares que pueden adoptar los lípidos en un medio acuoso después de rebasar la CMC. a) Micelas esféricas. b) Micelas cilíndricas. Figura tomada de referencia [24]

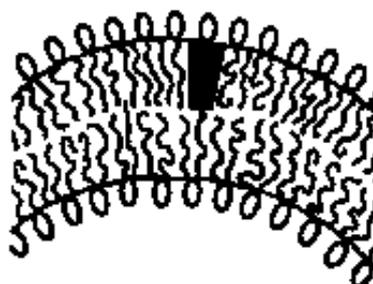
*Bicapas planas.* La formación de bicapas se da cuando las moléculas anfifílicas contienen dos colas hidrofóbicas y además tienen la forma de un cilindro, esto ocurre cuando el volumen de sus cadenas hidrofóbicas es aproximadamente el área de la cabeza polar multiplicada por la longitud máxima que pueden alcanzar las colas (ver fig. 2.4).

*Vesículas.* Para que los lípidos puedan crear estructuras en forma de vesículas estos deben tener dos colas hidrofóbicas y grandes áreas en sus cabezas polares. La forma de estos lípidos es la de un cono truncado (ver fig. 2.5).



---

FIGURA 2.4: Bicapa plana que forman los lípidos que contienen dos colas hidrofóbicas y tienen la forma de un cilindro. Figura tomada de referencia [24]



---

FIGURA 2.5: Vesícula o bicapa flexible. Esta estructura se forma cuando los lípidos poseen dos cadenas hidrofóbicas y grandes áreas en sus cabezas. Figura tomada de referencia [24]

## 2.2. Composición de las membranas celulares

La composición de los lípidos en las membranas celulares es diferente en células de diferentes tipos, en orgánulos de la misma célula e incluso en las dos hojas de la misma membrana.

Las moléculas lipídicas constituyen aproximadamente el 50 % de la masa de la mayoría de las membranas de las células animales, el resto es en gran parte proteínas [22]. La mayoría de los lípidos que conforman las membranas poseen una cabeza hidrofílica y dos cadenas de hidrocarburos, pero la composición de las cabezas y las cadenas puede variar significativamente. Estas diferencias influyen considerablemente en el comportamiento de las variables termodinámicas intensivas tales como la temperatura, la presión, el pH o la concentración de solventes.

Los lípidos fundamentales de las membranas son los fosfolípidos y el colesterol, pero los primeros suelen ser las moléculas lipídicas más abundantes. El fosfolípido predominante es la fosfatidilcolina (PC). Le siguen, en este orden, la fosfatidiletanolamina (PE), la fosfatidilserina (PS), la esfingomielina y el fosfatidilinositol (PI) [25].

### 2.2.1. Composición de las cabezas polares

Los fosfolípidos se dividen en dos clases, los glicerofosfolípidos y los esfingofosfolípidos. Los primeros tienen dos ácidos grasos unidos en la primera y segunda posición de una molécula de glicerol, ya que el tercer grupo hidroxilo se halla esterificado con un fosfato unido a su vez con un segundo alcohol, que puede ser, la etanolamina, la serina, la colina o el inositol (fig.2.6). Con ellos se obtienen los fosfolípidos llamados fosfadiletanolamina (PE), fosfatidilserina (PS), fosfatidilcolina (PC) y fosfatidilinositol (PI) (fig. 2.7).

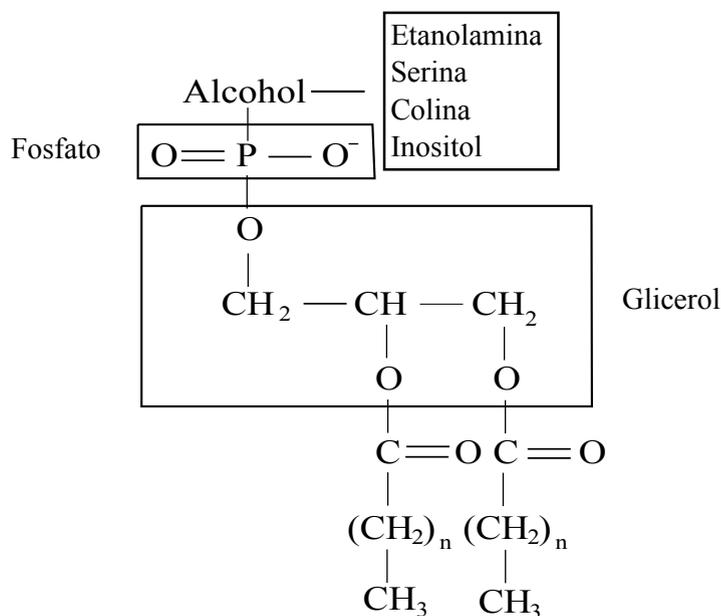


FIGURA 2.6: Estructura química general de los glicerofosfolípidos. Figura tomada de referencia [22]

El esfingofosfolípido existente en las células es la esfingomielina. Ésta se genera por la combinación de la fosforilcolina (un fosfato unido a la colina) con la ceramida (fig. 2.8).

Otro lípido encontrado en las membranas celulares es el colesterol. Debido a su naturaleza anfífilica, se dispone entre los fosfolípidos, con su cabeza polar orientada hacia el medio acuoso. Esta molécula conforma arriba del 20 % del peso de las membranas de eritrocitos y otras membranas plasmáticas.

### 2.2.2. Composición de las cadenas de hidrocarbónos

Al igual que las cabezas polares, la composición de las cadenas de hidrocarbónos de las membranas también es muy diversa. En la fig. 2.9, se presentan las cadenas más abundantes en las membranas. La forma de representar estas cadenas se muestra en la

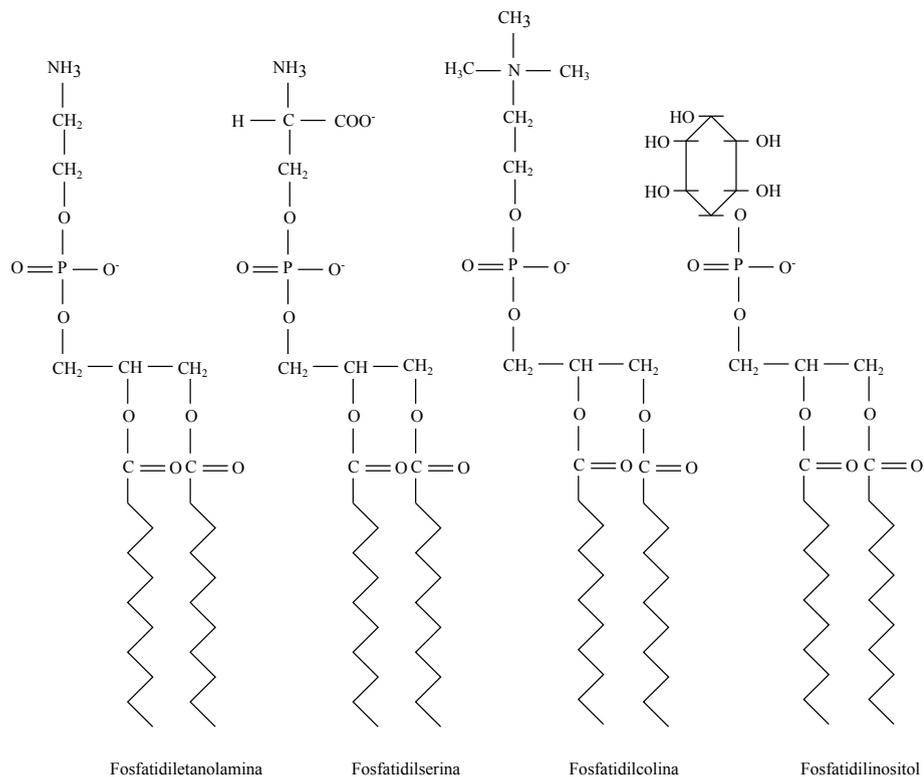


FIGURA 2.7: Representación de los glicerofosfolípidos PE, PS, PC y PI. Figura tomada de referencia [25]

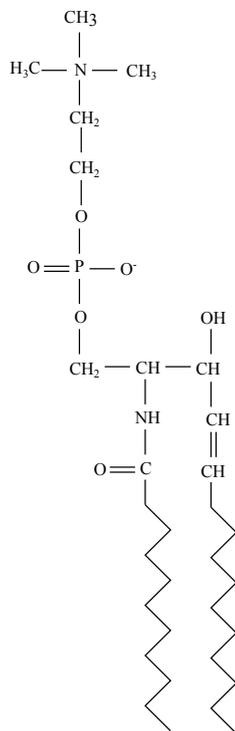


FIGURA 2.8: Representación del esfingofosfolípido esfingomielinina. Figura tomada de referencia [25].

tabla 2.1. Por ejemplo, una cadena denotada con 14:1, señala una cadena con 14 carbonos y un enlace doble, mientras que 14:0 se refiere a una cadena sin enlaces dobles. Los lípidos que contienen enlaces dobles se denominan insaturados y los lípidos sin enlaces dobles se llaman saturados.

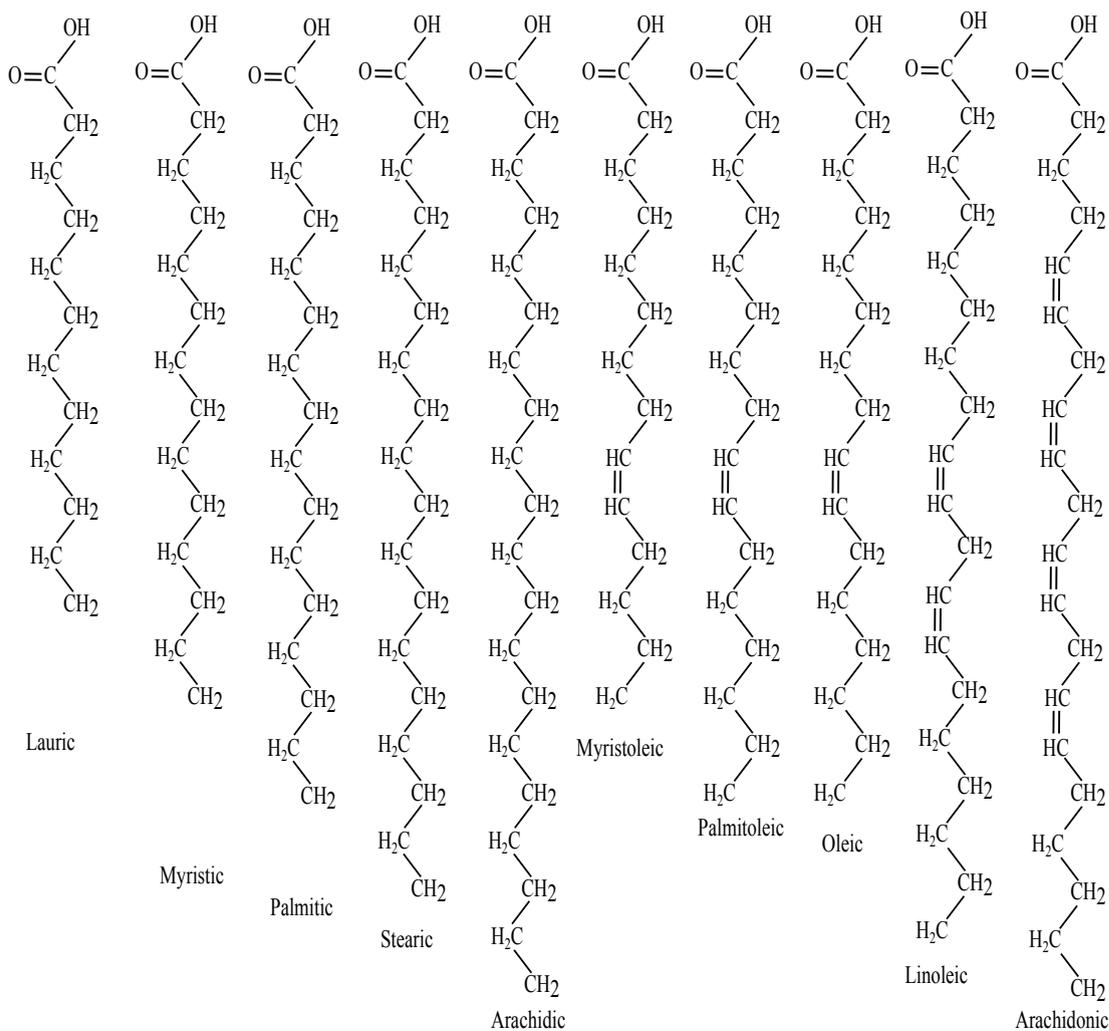


FIGURA 2.9: Ácidos grasos más comunes en las membranas celulares. Figura tomada de referencia [9]

En este trabajo, se estudian las monocapas formadas por DPPC y POPC. Éstos son lípidos que se clasifican dentro de los glicerofosfolípidos. El DPPC posee dos ácidos palmíticos en el primer y segundo grupo hidroxilo mientras que el tercer grupo hidroxilo se encuentra esterificado a un fosfato el cual está unido a una colina, es por esto que se le da el nombre de dipalmitoilfosfatidilcolina. El POPC contiene un ácido palmítico y un ácido oleico en el primer y segundo grupo hidroxilo respectivamente, en cuanto al tercer grupo hidroxilo, al igual que el DPPC está esterificado a un fosfato unido a su vez al alcohol denominado colina, he aquí que su nombre sea 1-palmitoil, 2-oleoil

TABLA 2.1: Nombres de los ácidos grasos más comunes en las membranas celulares.

Nombre	Long. de cadena: Núm. de enlaces dobles	Posición de las insaturaciones
Lauric	12:0	
Myristic	14:0	
Myristoleic	14:1	
Palmitic	16:0	
Palmitoleic	16:1	9-cis
Stearic	18:0	
Oleic	18:1	9-cis
Linoleic	18:3	6-cis, 9-cis, 12-cis
Arachidic	20:0	
Aracidonic	20:4	5-cis, 8-cis, 11-cis, 14-cis

fosfatidilcolina. En la figura 2.10 se muestra la estructura de estos dos glicerofosfolípidos.

El hecho de que el ácido oleico contenga un enlace doble, además de tener mayor número de carbonos, conduce a que este tenga un punto de fusión diferente al del ácido palmítico. Esta diferencia entre estos ácidos grasos conlleva a que el DPPC y POPC difieran en la temperatura crítica de transición de fase de líquido a gel, siendo de  $-2^{\circ}\text{C}$  para el POPC y  $40^{\circ}\text{C}$  para el DPPC a una presión de  $30\text{mN/m}$ .

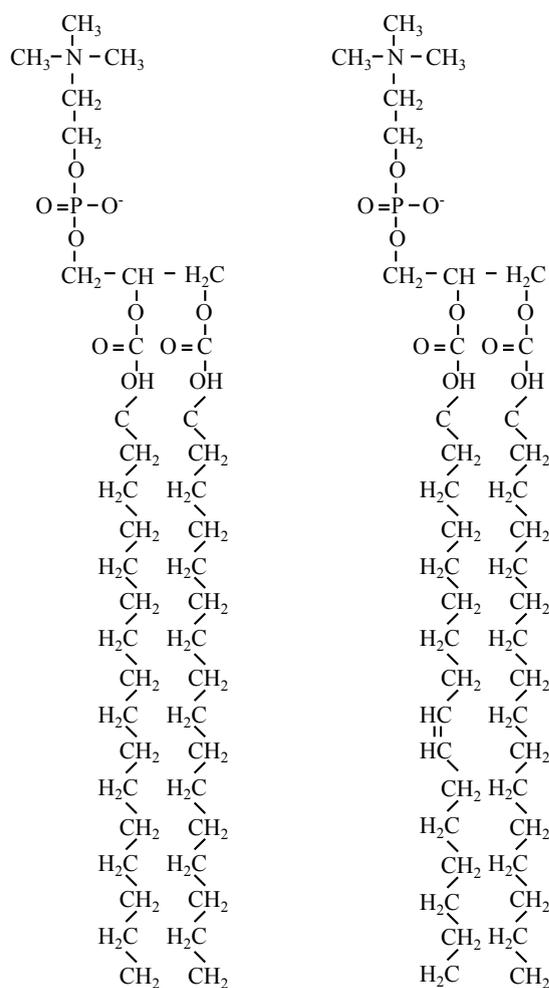


FIGURA 2.10: a) Representación del DPPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina) que posee dos ácidos palmíticos en su primer y segundo grupo hidroxilo. b) Representación del POPC (1-palmitoil,2-oleoil fosfatidilcolina) que contiene un ácido palmítico y un ácido oleico en el primer y segundo grupo hidroxilo respectivamente.

## Capítulo 3

# Conceptos fundamentales

La reología es la ciencia de la deformación y flujo de la materia. Estudia las respuestas de los materiales ante esfuerzos o deformaciones. Existe una gran diversidad de técnicas experimentales que permiten obtener sus parámetros reológicos, algunos involucran las propiedades de bulto del sistema, otros en cambio, se llevan a cabo en la interfaz o superficie del mismo. Este último es el que nos interesa, por tanto, para lograr un buen entendimiento es importante conocer algunos conceptos básicos sobre la teoría que conlleva a la reología, los cuales se presentan en este capítulo.

### 3.1. Superficie e interfaz

Una sustancia en fase condensada (sólida o líquida) en equilibrio con su vapor, o bien dos sustancias con diferentes propiedades moleculares ya sea que estén o no en el mismo estado de agregación, se refiere como un sistema de dos fases. La descripción de este tipo de sistemas heterogéneos deberá incluir las propiedades físicas del seno de cada fase así como los efectos de la frontera entre fases o *interfaz*. La interfaz se define como la estrecha región a través de la cual las propiedades varían de forma continua desde una fase a otra [26]. Por ejemplo, un líquido coexistiendo en el equilibrio con su fase gaseosa tendrá en la interfaz un intercambio balanceado de moléculas de la fase líquida a la fase gaseosa con aquellas que condensen de la fase gaseosa a la fase líquida. La interfaz se podría considerar de espesor casi nulo ( $\approx 10^{-7}nm$ ), aunque esta aproximación llevaría a ambigüedades en las propiedades del sistema total. Como esta región no tiene fronteras bien definidas, es conveniente inventar una superficie divisora matemática para desarrollar el formalismo de la Termodinámica de interfaces. Dicho de este modo, una superficie es un concepto matemático mientras que una interfaz real es una región tridimensional no uniforme entre dos fases. La superficie divisora se define como aquella

superficie geométrica de espesor nulo (o volumen nulo) que guarda la misma forma que la interfaz y que se encuentra situada entre las fases. Como explicamos previamente las propiedades termodinámicas del sistema total serán diferentes a la suma de las dos fases de bulto por un exceso o deficiencia correspondiente a la región superficial. Por tanto, designando  $V$ ,  $E$ ,  $S$  y  $n_i$  como el volumen, la energía, la entropía y el número de moles, respectivamente, se tendrán las siguientes relaciones [26]:

$$V = V^\alpha + V^\beta \quad (3.1)$$

$$E = E^\alpha + E^\beta + E^\sigma \quad (3.2)$$

$$S = S^\alpha + S^\beta + S^\sigma \quad (3.3)$$

$$n_i = n_i^\alpha + n_i^\beta + n_i^\sigma, \quad (3.4)$$

donde  $\alpha$  y  $\beta$  se refieren a las dos fases de bulto y  $\sigma$  indica la superficie.

### 3.2. Tensión superficial

Imaginemos una molécula contenida en el interior de un líquido, suficientemente alejada de la superficie de tal manera que se encuentre completamente rodeada por moléculas del mismo tipo. Todas las moléculas ejercerán una fuerza de atracción sobre la molécula en cuestión y, como consecuencia de la homogeneidad isótropa del líquido, la distribución de fuerzas también será isótropa y su resultante nula. Ahora supongamos que la molécula está situada cerca de la superficie; en este caso, debido a que la densidad del gas es menor, habrá más moléculas atrayéndola hacia el interior del líquido que hacia fuera del mismo. La distribución anisótropa de fuerzas de atracción intermoleculares sobre estas moléculas próximas a la superficie resulta en una fuerza neta sobre las mismas, dirigida hacia el interior del líquido. La intensidad de la fuerza dependerá de la proximidad de dicha molécula con la superficie, ésta será más intensa, mientras más cerca este de la superficie (fig. 3.1).

Debido a esto, para llevar una molécula desde el interior de un líquido hasta la superficie libre, será necesario realizar un trabajo sobre la fuerza resultante que actúa sobre la molécula al aproximarse a dicha superficie. Por consiguiente, las moléculas situadas en la superficie libre del líquido poseen mayor energía potencial que las que se encuentran situadas al interior del líquido. La energía potencial de todas las moléculas que conforman la superficie libre, recibe el nombre de “energía superficial”.

En situación de equilibrio, macroscópicamente hablando, la energía superficial tiende a tomar un valor mínimo, de modo que la superficie libre del líquido tenderá a contraerse para ocupar la menor extensión posible. El trabajo reversible, a presión y volumen

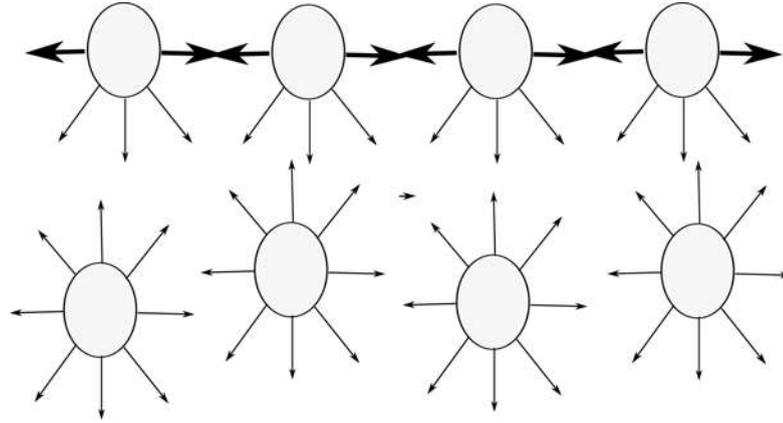


FIGURA 3.1: Esquema que representa la tensión superficial.

constante, necesario para aumentar la superficie libre del líquido es proporcional al área final cuya constante de proporcionalidad se denomina “tensión superficial” y se denota por  $\gamma$ . Es decir:

$$dW = \gamma dA, \tag{3.5}$$

con  $dA$  el cambio en el área de la superficie. En dimensiones,  $[\gamma] = EL^{-2} = FL^{-1}$ . Las unidades usuales son  $[mJm^{-2}]$ . El concepto de tensión superficial se comprende mejor si consideramos el experimento en el cual un marco rectangular con un lado movable es sumergido en agua con jabón (ver fig. 3.2). El trabajo que debe realizarse para mover ese lado una distancia  $dx$  es  $dW = \gamma dA = \gamma l dx$ . De esta manera, la tensión superficial  $\gamma$  se define como el trabajo necesario para aumentar la superficie en una unidad de área. En términos de fuerza,  $\gamma$  se puede ver como la fuerza ejercida por unidad de longitud del lado movable que se ejerce en dirección normal a ese lado, en el plano de la superficie libre y hacia el líquido. Es por esto que  $\gamma$  también puede expresarse en  $[mNm^{-1}]$  (fuerza por unidad de longitud).

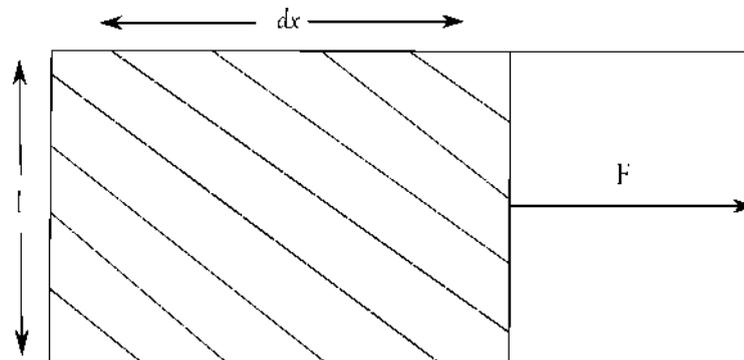


FIGURA 3.2: Película de jabón sobre un marco rectangular. Un fuerza por unidad de longitud  $\gamma$  es ejercida por el lado movable. Figura adaptada de referencia [26]

La tensión superficial contribuye al trabajo en termodinámica, aumentando la energía interna  $U$  o la energía libre  $F$  [27]:

$$\gamma = \left( \frac{\partial U}{\partial A} \right)_{S,V,n_i} = \left( \frac{\partial F}{\partial A} \right)_{T,V,n_i}. \quad (3.6)$$

La formulación termodinámica se deriva a partir de la ecuación diferencial de la energía para una superficie [28]:

$$dU^\sigma = TdS^\sigma + \sum \mu^i dN_i^\sigma + \gamma dA, \quad (3.7)$$

$\sigma$  indica el valor de dicha cantidad sobre la superficie. La ecuación anterior se escribe por analogía con el caso tridimensional donde

$$dU = TdS + \sum \mu^i dN_i - PdV, \quad (3.8)$$

ya que  $dW = -PdV$  representa el trabajo mecánico necesario para variar el volumen de la fase mientras que  $dW = \gamma dA$  representa el trabajo mecánico necesario para cambiar el área de la superficie.

De la ecuación 3.7 se deduce que:

$$\gamma = \left( \frac{\partial U^\sigma}{\partial A} \right)_{S^\sigma, N_i^\sigma}. \quad (3.9)$$

Similarmente se obtiene la tensión superficial en términos de la energía libre de Helmholtz, partiendo de su definición [29]:

$$F = U - TS, \quad (3.10)$$

cuyo diferencial es

$$dF = dU - TdS - SdT. \quad (3.11)$$

Sustituyendo la ecuación 3.7 en el análogo bidimensional de la ecuación anterior se obtiene que:

$$dF^\sigma = TdS^\sigma + \sum \mu^i dN_i^\sigma + \gamma dA - TdS^\sigma - S^\sigma dT = \sum \mu^i dN_i^\sigma + \gamma dA - S^\sigma dT, \quad (3.12)$$

lo que permite definir la tensión superficial como una energía libre de superficie

$$\gamma = \left( \frac{\partial F^\sigma}{\partial A} \right)_{T^\sigma, N_i^\sigma}. \quad (3.13)$$

En la tabla 3.1 se muestran algunos valores de la tensión superficial para algunos líquidos [28].

TABLA 3.1: Tensión superficial de algunos líquidos a 20°C

Líquido	Tensión superficial $mJm^{-2}$
Agua	72.75
Benceno	28.85
Acetona	23.70
Alcohol etílico	22.75
Alcohol metílico	22.61
n-hexano	18.43
Eter etílico	17.01

Hasta ahora solo se ha hablado de un líquido en contacto con su vapor, que corresponde a una interfaz líquido-aire. Sin embargo, este argumento también es válido cuando se superponen dos líquidos inmiscibles uno en otro, en este caso, se crea una superficie de separación llamada interfaz líquido-líquido.

### 3.3. Monocapas de Langmuir

Las *monocapas de Langmuir* están formadas por moléculas de carácter anfifílico, es decir, poseen una cabeza polar o hidrofílica y cadenas de hidrocarburos no polares o hidrofóbicas. La parte hidrofílica experimenta una atracción hacia medios polares (como el agua) y la fuerza que actúa sobre esta es predominantemente de tipo Coulomb ( $1/r^2$ ). Ejemplos de estos son los ácidos carboxílicos, sulfatos, aminas y alcoholes. La parte hidrofóbica es difícilmente soluble en agua (si no es que del todo insoluble); por tanto, estas monocapas también son llamadas *monocapas insolubles*. Las fuerzas que actúan sobre el grupo hidrofóbico son en su mayoría del tipo van der Waals ( $1/r^{12}$  y  $1/r^6$ ). Ejemplos de ellos son los alcanos, grasas y lípidos. La propiedad anfifílica de estas moléculas permite que se queden en la interfaz provocando un cambio en la tensión superficial del sistema, pues actúan como surfactantes. En la subsección 4.1 se explicará la técnica general para la obtención de una monocapa.

### 3.4. Presión superficial

En una interfaz líquido-fluido hay un exceso de energía libre, tal como se discutió en la sección 3.2. Al depositar moléculas anfífilas sobre una interfaz líquido-aire, estas se quedan sobre la superficie, formando una monocapa. La parte hidrofílica de estas moléculas comenzará a interactuar con las moléculas del líquido. Esta interacción provocará una disminución en la fuerza que atrae a las moléculas del líquido situadas en la superficie hacia el interior y por ende una disminución en la tensión superficial. Esta reducción en la tensión superficial que experimenta la superficie del líquido debido a la presencia de la monocapa se define como *presión superficial* ( $\pi$ ) y se representa mediante:

$$\pi = \gamma_0 - \gamma, \quad (3.14)$$

donde  $\gamma_0$  denota la tensión superficial de líquido puro y  $\gamma$  la tensión superficial del líquido en presencia de la monocapa.

Cabe mencionar que si la cantidad de moléculas depositadas sobre la superficie es muy poca, el cambio en la tensión superficial será mínimo. En este caso se dice que la monocapa se encuentra en un estado gaseoso. Con el aumento de la concentración de moléculas aumentará la presión superficial. Así mismo, la monocapa experimentará diferentes fases, las cuales discutiremos en la subsección 4.3.

### 3.5. Fluidos complejos y su dinámica.

De acuerdo con el modelo de mosaico fluido, la membrana se comporta como un fluido Newtoniano bidimensional. Es decir, es puramente viscosa. Sin embargo, recientemente se mostró que las monocapas de lípidos también poseen propiedades elásticas [13]. Estos materiales que tienen propiedades viscosas y elásticas son llamados fluidos complejos. En esta sección se presentarán los elementos básicos para la formulación de las ecuaciones que permitan conocer la dinámica de los mismos.

#### 3.5.1. Tensor de deformación

Bajo la acción de fuerzas aplicadas, los cuerpos sólidos presentan deformaciones, es decir, cambian su forma y volumen. Para describir matemáticamente la deformación de un cuerpo necesitamos conocer la posición de cada punto antes y después de la deformación. Estas posiciones las representaremos con el vector  $\vec{r}$ , el cual depende de las coordenadas

$x, y, z$ . Cuando el cuerpo es deformado cada punto se desplaza a otra posición. Consideremos algún punto en particular cuya posición antes de la deformación sea  $\vec{r}(x_1, x_2, x_3)$  y después de la deformación tenga un valor  $\vec{r}'(x'_1, x'_2, x'_3)$ . El desplazamiento en este punto debido a la deformación está dado por  $\vec{r}' - \vec{r}$ , el cual denotaremos por  $\vec{u}$ :

$$u_i = x'_i - x_i. \quad (3.15)$$

El vector  $\vec{u}$  se denomina vector de desplazamiento. Al deformar el cuerpo, las distancias entre sus puntos cambian. Consideremos dos puntos muy cercanos, si el vector que los une antes de la deformación es  $dx_i$ , entonces el vector que une los mismos dos puntos en el cuerpo deformado es  $dx'_i = dx_i + du_i$ . La distancia entre estos es  $dl = \sqrt{dx_1^2 + dx_2^2 + dx_3^2}$  antes de la deformación y  $dl' = \sqrt{dx_1'^2 + dx_2'^2 + dx_3'^2}$  después de la deformación. Usando la notación de suma de Einstein, estas distancias se representan como  $dl^2 = dx_i^2$  y  $dl'^2 = (dx_i + du_i)^2$ . O explícitamente  $dl'^2 = dx_i^2 + 2dx_i du_i + du_i^2$ . Luego, las coordenadas  $x'_i$  del punto desplazado son función de las coordenadas del punto antes del desplazamiento  $x_i$ , es decir,  $u_i = u_i(x_i)$ . Por tanto,  $du_i = \frac{\partial u_i}{\partial x_k} dx_k$ . Por lo que podemos escribir:

$$dl'^2 = dx_i^2 + 2 \frac{\partial u_i}{\partial x_k} dx_k dx_i + \frac{\partial u_i}{\partial x_k} \frac{\partial u_i}{\partial x_l} dx_k dx_l, \quad (3.16)$$

que se puede reescribir como

$$dl'^2 = dl^2 + \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_k} + \frac{\partial u_i}{\partial x_i} + \frac{\partial u_l}{\partial x_k} \frac{\partial u_l}{\partial x_i} \right) dx_k dx_i, \quad (3.17)$$

o bien

$$dl'^2 = dl^2 + 2u_{ik} dx_i dx_k, \quad (3.18)$$

donde  $u_{ik}$  es el *tensor de deformación* y se define como[30]

$$u_{ik} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_k} + \frac{\partial u_i}{\partial x_i} + \frac{\partial u_l}{\partial x_k} \frac{\partial u_l}{\partial x_i} \right). \quad (3.19)$$

Este tensor es simétrico y expresa el cambio de longitud en un elemento cuando el cuerpo es deformado. Para cambios infinitesimales se puede despreciar el último término de la ecuación 3.19, así

$$u_{ik} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_k} + \frac{\partial u_i}{\partial x_i} \right). \quad (3.20)$$

### 3.5.2. Tensor de esfuerzo

En un cuerpo que no está deformado, el arreglo de las moléculas corresponde a un estado de equilibrio térmico. Cuando ocurre una deformación, este arreglo cambia y el cuerpo deja su estado original de equilibrio. Por lo tanto, surgen fuerzas que tienden a

devolver el cuerpo al equilibrio. Estas fuerzas se denominan *esfuerzos internos*. Si no hay deformación, no hay esfuerzos internos. Estos esfuerzos se deben a fuerzas moleculares, es decir, las fuerzas de interacción entre las moléculas; las cuales son de corto alcance.

Consideremos la fuerza total en alguna porción del cuerpo. Esta fuerza es igual a la suma de todas las fuerzas sobre los elementos de volumen en esa porción y se escribe como  $\int \vec{F} dV$ , donde  $\vec{F}$  es la fuerza por unidad de volumen y  $\vec{F} dV$  es la fuerza sobre el elemento de volumen  $dV$ .

Cada una de las tres componentes  $\int F_i dV$  puede transformarse en una integral sobre la superficie. Como sabemos de análisis vectorial, la integral de un escalar sobre un volumen arbitrario se transforma en una integral de superficie si el escalar es la divergencia de un vector (teorema de la divergencia). En nuestro caso, tenemos la integral de un vector y no de un escalar. Por tanto, el vector  $\vec{F}$  debe ser la divergencia de un tensor de orden dos, es decir,

$$F_i = \frac{\partial \sigma_{ik}}{\partial x_k}, \quad (3.21)$$

así,

$$\int \vec{F} dV = \int \frac{\partial \sigma_{ik}}{\partial x_k} dV = \oint \sigma_{ik} df_k. \quad (3.22)$$

El tensor  $\sigma_{ik}$  se denomina *tensor de esfuerzo* y describe la fuerza por unidad de área que se ejerce sobre un elemento de material.  $\sigma_{ik} df_k$  es la  $i$ -ésima componente de la fuerza sobre el elemento de superficie  $df_k$ . Por convención,  $df_k$  es positivo si está dirigido en la dirección normal hacia fuera de la superficie cerrada.

Explícitamente, el tensor de esfuerzo tiene la forma:

$$\sigma = \begin{pmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{pmatrix}.$$

Para ayudar a visualizar este tensor  $\sigma_{ik}$  consideremos el elemento de material de la figura 3.3. La coordenada  $i$ -ésima corresponde al esfuerzo aplicado sobre la unidad de superficie cuyo vector normal es el eje  $i$ -ésimo. Mientras que la coordenada  $k$ -ésima indica la dirección en que se aplica el esfuerzo. Por ejemplo, nombrando los ejes (1, 2, 3) como  $(x, y, z)$ , entonces  $\sigma_{13} = \sigma_{xz}$  es la componente del esfuerzo aplicado sobre una unidad de superficie que se encuentra en el plano  $yz$  (su normal es el eje  $x$ ) y este esfuerzo está dirigido en la dirección  $z$  (ver figura 3.4).

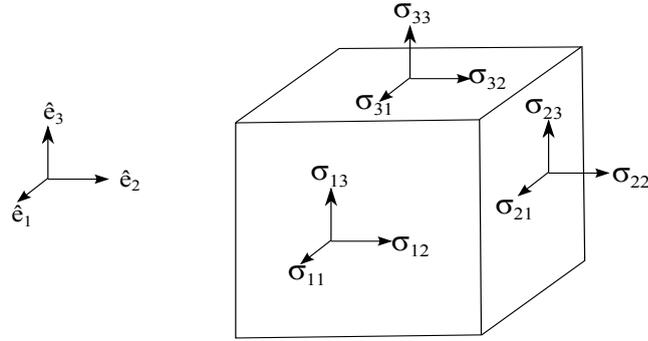


FIGURA 3.3: Componentes del esfuerzo actuando sobre cada uno de sus planos.

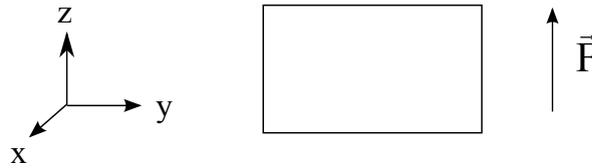


FIGURA 3.4: Esfuerzo aplicado sobre la unidad de superficie cuya normal es el eje  $x$ . El esfuerzo se aplica en la dirección  $z$ .

### 3.5.3. Deformación de compresión y cizallamiento

A continuación se describen algunos tipos de deformaciones, así como el cambio que sufre el tensor de deformación con éstas.

#### *Deformación de compresión*

En una deformación de compresión (o extensión) el esfuerzo aplicado es perpendicular a la superficie del material, provocando un cambio en el volumen y/o forma del material. Por ejemplo, considere un bloque de dimensiones  $\delta x_1$ ,  $\delta x_2$  y  $\delta x_3$  y un punto  $P$  al interior del bloque de coordenadas  $x_1$ ,  $x_2$  y  $x_3$ . Suponga que cada punto del bloque se mueve en proporción a la dimensión exterior (ver fig. 3.5). Sean  $\delta x'_1$ ,  $\delta x'_2$  y  $\delta x'_3$  las nuevas dimensiones del bloque, las nuevas coordenadas del punto  $P$  ( $x'_1$ ,  $x'_2$  y  $x'_3$ ) serán:

$$x'_1 = \frac{\delta x'_1}{\delta x_1} x_1 = \alpha_1 x_1, \tag{3.23}$$

$$x'_2 = \frac{\delta x'_2}{\delta x_2} x_2 = \alpha_2 x_2, \tag{3.24}$$

$$x'_3 = \frac{\delta x'_3}{\delta x_3} x_3 = \alpha_3 x_3, \tag{3.25}$$

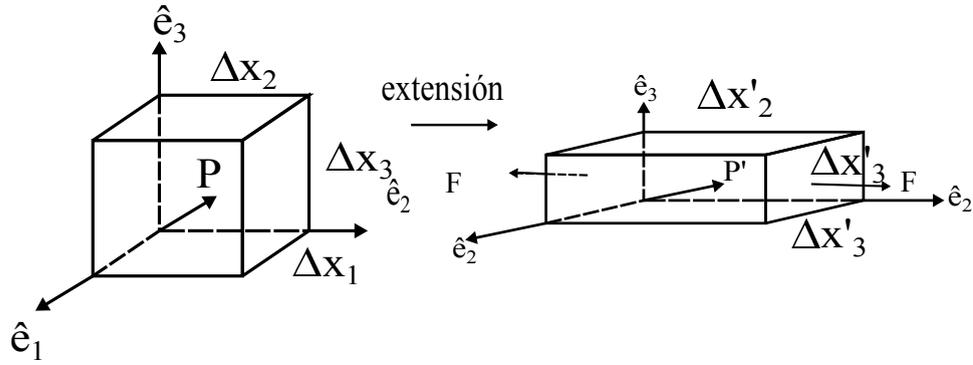


FIGURA 3.5: Bloque sometido a una deformación de extensión. Figura adaptada de referencia [31]

Haciendo  $u_{ij} = \partial x'_i / \partial x_j$  el tensor de deformación  $u_{ik}$  (ec. 3.20) se escribe como

$$\mathbf{u}_{ik} = \begin{pmatrix} \alpha_1 & 0 & 0 \\ 0 & \alpha_2 & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_3 \end{pmatrix}.$$

Por tanto, en una deformación de extensión la traza del tensor de deformación es igual al cambio fraccional en el área (dos dimensiones) o volumen (tres dimensiones) [31].

Cuando el esfuerzo (de extensión) aplicado altera únicamente su volumen, sin cambiar su forma, se dice que es una *deformación de extensión hidrostática*. El tensor que caracteriza este tipo de deformación es de la forma  $u_{ik} = (\text{constante})\delta_{ik}$ , donde  $\delta_{ik}$  es la delta de Kronecker.

*Deformación de cizallamiento simple*

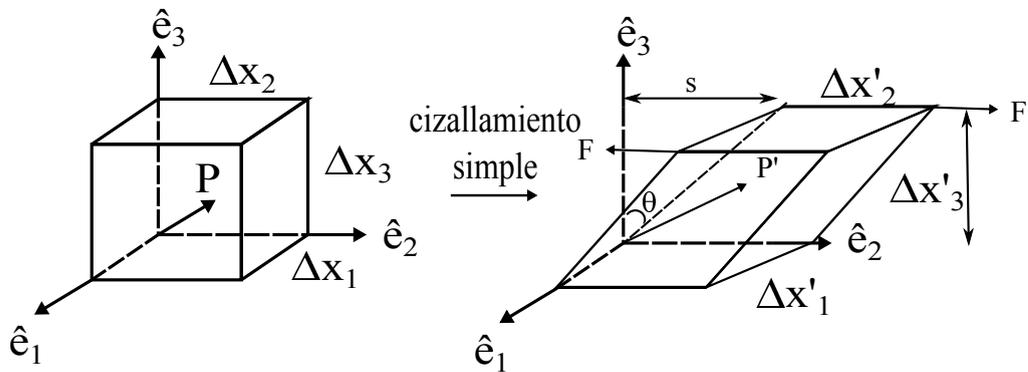


FIGURA 3.6: Bloque sometido a una deformación de cizallamiento simple. Figura adaptada de referencia [31]

En una deformación de cizallamiento simple el esfuerzo aplicado es paralelo a la superficie del material, provocando que los ejes del material sufran una rotación y que las

velocidades de regiones adyacentes del fluido sean diferentes. A esta diferencia de velocidades dentro del fluido se denomina razón de cizallamiento. Por ejemplo, analicemos el bloque anterior para el caso donde hay cizallamiento simple (ver fig. 3.6). Como se puede observar en la figura, los planos del material se deslizan uno sobre otro en dirección  $\hat{e}_2$ . Las coordenadas  $x_1$  y  $x_3$  permanecen constantes, mientras la coordenada  $x_2$  se desplaza una cantidad proporcional a  $s/\Delta x_3 = \theta$ . Por ello, el desplazamiento está dado por

$$x'_1 = x_1 \quad (3.26)$$

$$x'_2 = x_2 + \frac{s}{\Delta x_3} x_3 = x_2 + \gamma x_3 \quad (3.27)$$

$$x'_3 = x_3, \quad (3.28)$$

en este caso,  $\gamma$  representa una deformación de cizallamiento, no se confunda con la tensión superficial. Así, la ecuación 3.20 se convierte en

$$\mathbf{u}_{\mathbf{ik}} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & \gamma \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}.$$

#### *Deformación de cizallamiento puro*

En una deformación de cizallamiento puro el volumen del material no cambia, solo se altera su forma. Además, esta deformación es coaxial, es decir, los ejes del material permanecen fijos. Cuando hay cizallamiento puro la traza de la matriz de deformación ( $u_{ii}$ ) es cero.

### 3.5.4. Sólidos elásticos y fluidos Newtonianos

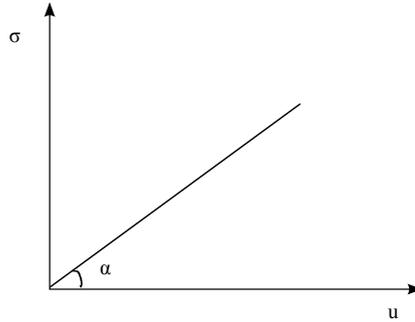
#### *Sólidos elásticos*

Cuando se aplica una fuerza a un material sólido y la curva resultante del esfuerzo contra la deformación es una línea recta a través del origen (ver fig. 3.7), el material obedece la ley de Hooke. La relación puede escribirse como

$$\sigma = Eu(t), \quad (3.29)$$

donde  $E$  es el módulo elástico. Los materiales que obedecen esta relación se denominan Hookeanos. Estos no fluyen y son linealmente elásticos. El estrés permanece constante hasta que la deformación se remueve y regresan a su forma original.

#### *Fluidos Newtonianos*




---

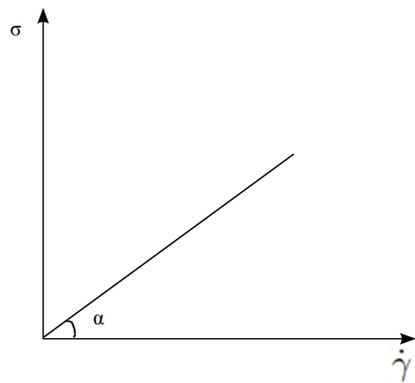
 FIGURA 3.7: Esfuerzo ( $\sigma$ ) vs deformación ( $u$ ) en un sólido Hookeano.

Los fluidos Newtonianos, presentan una relación lineal entre el esfuerzo y la razón de deformación, cuya línea recta intersecta el origen (figura 3.8). Es decir

$$\sigma = \eta \dot{\gamma}, \quad (3.30)$$

donde  $\eta$  representa la viscosidad del fluido y  $\dot{\gamma}$  se define como la razón de cambio de la deformación y se denomina razón de cizallamiento. Ésta depende de la geometría del sistema. Para un flujo laminar entre placas paralelas de longitud  $L$  y separadas por una altura  $h$  (ver figura 3.9) esta razón está dada por:

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \frac{d}{dt} \left( \frac{\delta L}{h} \right) = \frac{\dot{\gamma}}{h} \quad (3.31)$$




---

 FIGURA 3.8: Esfuerzo ( $\sigma$ ) vs razón de deformación ( $\dot{\gamma}$ ) en un fluido Newtoniano.

### 3.5.5. Viscoelasticidad: Fluidos complejos

Una característica importante que distingue a los fluidos Newtonianos de los sólidos elásticos es que estos últimos regresan a su forma original después de ser deformados

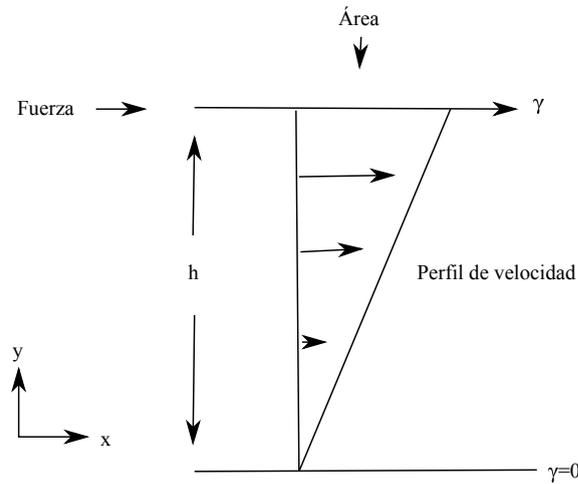


FIGURA 3.9: Esquema que muestra el perfil de velocidad de un fluido colocado entre dos placas paralelas. Figura adaptada de [32]

mientras que los líquidos ya no recobrarán su estado inicial. Dicho de otra manera, un sólido almacena toda la energía que se empleó para deformarlo, en cambio, un líquido disipa toda la energía que se le aplicó. Sin embargo, existen materiales que no son ni idealmente viscosos (fluidos Newtonianos) ni idealmente elásticos (sólidos Hookeanos); más bien, estos reaccionan ante un esfuerzo o deformación en parte con una respuesta viscosa y en parte con una respuesta elástica (ver fig. 3.10). Los materiales que poseen propiedades tanto de líquidos como de sólidos son llamados *fluidos complejos*.

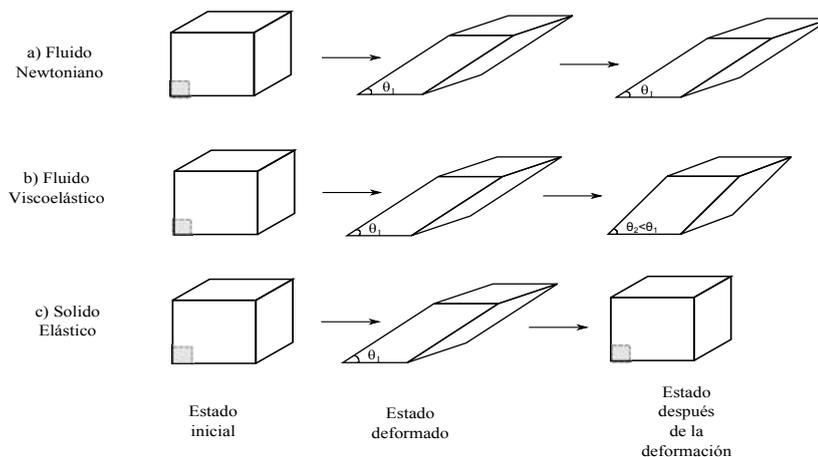


FIGURA 3.10: Representación gráfica del comportamiento de un: a) Fluido Newtoniano, b) Fluido viscoelástico y c) Sólido Hookeano, bajo la acción de un esfuerzo aplicado.

Existen fluidos complejos que son intermedios entre sólidos y líquidos; en el sentido de que mantienen su forma por un tiempo y eventualmente fluyen. Son “sólidos” por un corto tiempo y “líquidos” por largos periodos de tiempo; por lo tanto, se dice que son materiales *viscoelásticos* [33]. El tiempo característico que tardan estos materiales

en pasar de “sólido” a “líquido” varía de fracciones de segundo a días, o incluso años, dependiendo del fluido.

Un sistema viscoelástico se dice que es lineal cuando la razón de esfuerzo-deformación depende únicamente del tiempo y no de la magnitud de la deformación 3.30 [34]. Por tanto, para la caracterización reológica de un material viscoelástico en su régimen lineal, es suficiente con medir el esfuerzo o deformación como función del tiempo. Para establecer la relación entre esfuerzo y deformación se hace necesario definir un módulo dependiente del tiempo  $G(t)$ , el cual contiene información sobre la elasticidad y viscosidad del sistema. Esta relación se escribe como [31]:

$$\sigma(t) = |G^*(t)|\gamma, \quad (3.32)$$

donde  $\gamma$  es la deformación del sistema.  $G^*(t)$  se denomina módulo viscoelástico, ya que en él está contenida la información tanto viscosa como elástica del material. Este módulo se representa mediante

$$G^*(t) = G'(t) + iG''(t), \quad (3.33)$$

$G'(t)$  se denomina módulo de almacenamiento y se interpreta como la elasticidad del sistema, mientras que  $G''$  se relaciona con la viscosidad y se le llama módulo de pérdidas, ( $G'' = \eta/\omega$ ). La razón  $G''/G'$  se denomina tangente de pérdida, es grande ( $\gg 1$ ) para materiales que son tipo-líquido (liquid-like), y muy pequeña ( $\ll 1$ ) para materiales que son tipo-sólido (solid-like). Para el fluido tipo-líquido la viscosidad alcanza instantáneamente un valor estacionario después del inicio del cizallamiento, mientras que para un fluido tipo-sólido, el esfuerzo crece linealmente con la deformación hasta llegar a una deformación de cizallamiento crítica, arriba de la cual el material presenta fluencia, a este límite se le conoce como límite de fluencia (yield stress). En la figura 3.11 se muestra un ejemplo de  $G'$  y  $G''$  como función de la frecuencia para un fluido “tipo-sólido” y un “tipo-líquido”. Cabe mencionar que  $G'$  y  $G''$  son dependientes una de la otra (ver apéndice A).

Cuando se aplica un esfuerzo o deformación de compresión al sistema, el módulo viscoelástico se denota con la letra  $E$ , es decir

$$E^* = E' + iE'' \quad (3.34)$$

y se denomina *módulo viscoelástico de compresión*. Cuando la deformación o esfuerzo es de cizallamiento se representa con la letra  $G$  y se denomina *módulo viscoelástico de cizallamiento*. En la sección 4 explicaremos diferentes técnicas experimentales para obtener estos módulos.

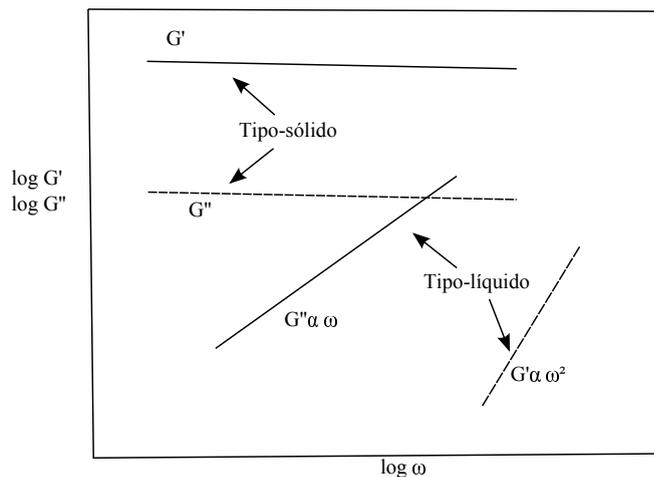


FIGURA 3.11: Esquema que muestra la dependencia de la frecuencia del módulo de almacenamiento  $G'$  y de pérdida  $G''$  para un material tipo-sólido y un tipo-líquido. Figura adaptada de referencia [33].

### 3.6. Otros tipos de respuestas reológicas

Además de los comportamientos mencionados anteriormente, existen otro tipo de respuestas reológicas de los materiales. Entre estos destacan el comportamiento plástico, el pseudoplástico y el dilatante. En la figura 3.12 se muestran las curvas de razón de cizalla contra esfuerzo para estos tipos de comportamiento y a continuación se describen brevemente.

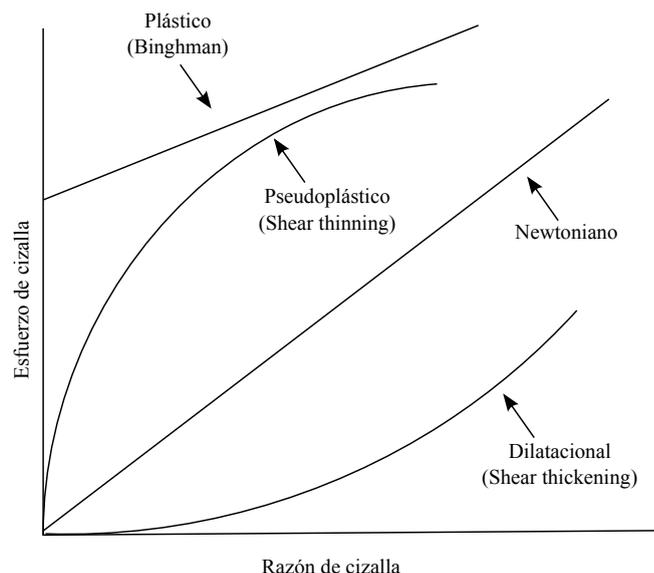


FIGURA 3.12: Curvas de esfuerzo contra razón de deformación de materiales plásticos, pseudoplásticos y dilatacionales comparada con la curva que representa a un fluido Newtoniano.

### 3.6.1. Comportamiento plástico

Un material plástico es aquel que muestra poca o ninguna deformación hasta un cierto esfuerzo [31]. Cuando los sólidos o los líquidos muy viscosos son sometidos a esfuerzos muy grandes, pero no lo suficiente como para causar fractura, pueden presentar este tipo de comportamiento. Este proceso se conoce como “límite de fluencia” (yield) o “deformación plástica” [33]. Suspensiones concentradas de partículas sólidas en líquidos newtonianos muestran a menudo un límite de fluencia seguida por un flujo casi newtoniano [31]. Estos materiales se llaman viscoplásticos o plásticos de Bingham gracias a E. C. Bingham, quien describió la pintura de esta manera en 1916. Pinturas de casas y alimentos como la margarina, mayonesa y salsa de tomate son buenos ejemplos de materiales viscoplásticos.

### 3.6.2. Comportamiento dilatante (shear thickening)

Lo presentan aquellos fluidos que ven aumentada su viscosidad al incrementar la velocidad de cizalla aplicada, causado por reorganizaciones en su microestructura. Los fluidos que siguen este comportamiento son poco numerosos, podríamos citar suspensiones de almidón en agua, y ciertas suspensiones de PVC.

### 3.6.3. Comportamiento pseudoplástico (shear thinning)

Los materiales que presentan una reducción en su viscosidad al aumentar la velocidad de deformación son referidos como pseudoplásticos. La pseudoplasticidad es un fenómeno no lineal que es especialmente marcada en masas fundidas de polímero y en soluciones de polímero concentradas [31].

## 3.7. Compresibilidad

Un parámetro importante, necesario para el estudio de las monocapas, es la *compresibilidad*. Esta mide la resistencia de una monocapa a la compresión y se obtiene a partir de la derivada numérica de las isothermas de presión-área (ver sección 4.3), cuya expresión derivaremos a continuación.

Para obtener esta expresión representemos la deformación como la suma de cizallamiento puro y compresión hidrostática:

$$u_{ik} = \left( u_{ik} - \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll} \right) + \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll}. \quad (3.35)$$

El primer término se refiere a cizallamiento puro y el segundo a compresión hidrostática. De la misma forma se puede expresar la energía libre como [30]:

$$F = \mu \left( u_{ik} - \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll} \right)^2 + \frac{1}{2} K u_{ll}^2, \quad (3.36)$$

las cantidades  $K$  y  $\mu$  se denominan compresibilidad y módulo de cizallamiento respectivamente.

Ahora, deseamos encontrar una expresión similar para el tensor de esfuerzos  $\sigma_{ik}$ , esto se logra mediante la siguiente relación [30]

$$\sigma_{ik} = \frac{\partial F}{\partial u_{ik}}. \quad (3.37)$$

Por tanto, diferenciando la ecuación 3.36 con respecto a  $u_{ik}$  se tiene que

$$\sigma_{ik} = K u_{ll} \delta_{ik} + 2\mu \left( u_{ik} - \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll} \right). \quad (3.38)$$

Para una deformación de compresión el segundo término de la ecuación 3.38 es cero, es decir,

$$\sigma_{ik} = K u_{ll} \delta_{ik}. \quad (3.39)$$

Ahora bien, para el caso 2-dimensional, en compresión se tiene que

$$\sigma_{ik} = -\pi \delta_{ik}, \quad (3.40)$$

donde  $\pi$  es la presión superficial. Combinando 3.39 y 3.40 obtenemos

$$\frac{1}{K} = -\frac{u_{ll}}{\pi}. \quad (3.41)$$

Recordemos que  $u_{ll}$  es la traza del tensor de deformación y representa el cambio en el área relativa del cuerpo al ser deformado

$$u_{ii} = \frac{dA' - dA}{dA}, \quad (3.42)$$

donde  $dA$  es el área de un elemento infinitesimal del material y  $dA'$  el área del mismo elemento del material luego de ser deformado. Por tanto, si la deformación  $u_{ll}$  es pequeña la presión superficial  $\pi$  también será pequeña y podemos escribir 3.41 en forma diferencial

$$\frac{1}{K} = -\frac{1}{A} \left( \frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_T. \quad (3.43)$$

es decir, la compresibilidad  $K$  se define como el cambio de la presión superficial en la monocapa producido por un cambio infinitesimal en el área.

### 3.8. Correspondencia entre monocapa y bicapa

Nuestro interés por las monocapas de lípidos es porque permiten estudiar las propiedades de las membranas celulares. En el capítulo 2 se mencionó que estas membranas están compuestas por lípidos que se ordenan formando una estructura bidimensional, es decir, una bicapa de lípidos. Sin embargo, Marsh demostró que las propiedades de las monocapas y bicapas son equivalentes bajo ciertas condiciones. A continuación se describe el procedimiento que siguió el propio Marsh para investigar la equivalencia entre una monocapa y una bicapa [14].

Los estados correspondientes entre monocapas y bicapas pueden investigarse considerando las componentes de sus energías libres, junto con la condición de equilibrio en cada caso. Una bicapa se encuentra en su estado de equilibrio en ausencia de esfuerzos externos. En cambio, una monocapa únicamente alcanza este estado bajo la acción de una presión superficial aplicada externamente. Por tanto, la presión superficial apropiada es crucial para determinar los estados de monocapas de fosfolípidos que corresponden a los de las bicapas.

Primero consideremos la energía libre de una bicapa  $F_b$ , esta puede expresarse en términos de sus componentes:

$$F_b = n_b \phi_b(a_b) = n_b [\phi_{phob}(a_b) + \phi_{hyd}(a_b) + \phi_{int}(a_b) + \phi_{m-m}(a_b)]. \quad (3.44)$$

Donde  $a_b$  es el área por molécula en la bicapa,  $n_b$  es el número de moléculas de lípidos en la bicapa, la cual tiene un área de  $A_b = n_b a_b$ . Las componentes de la energía libre son las que resultan de la exposición de las cadenas hidrocarbonadas al agua en la superficie de la bicapa ( $\phi_{phob}$ ), la hidratación de los grupos polares ( $\phi_{hyd}$ ), las interacciones entre las moléculas de lípidos junto con las interacciones intramoleculares ( $\phi_{int}$ ) y las interacciones entre las cadenas de ambas monocapas de la bicapa ( $\phi_{m-m}$ ).

El área por molécula necesaria para que la bicapa esté libre de tensión queda determinada por el mínimo de la energía libre:

$$\left( \frac{\partial F_b}{\partial a_b} \right)_{n_b} = n_b [\phi'_{phob}(a_b^0) + \phi'_{hyd}(a_b^0) + \phi'_{int}(a_b^0) + \phi'_{m-m}(a_b^0)] = 0, \quad (3.45)$$

donde la tilde indica la derivada con respecto al área por molécula.  $\phi'_{phob}$  puede considerarse como una densidad superficial de energía libre, es decir,  $\phi'_{phob} = \gamma_{phob}$ , la cual es

positiva. Por otro lado,  $\phi'_{hyd}$  y  $\phi'_{int}$  pueden expresarse como:  $\pi_i(a_b) = -\phi'_i(a_b)$ . Así, la ecuación 3.45 se reescribe como

$$\gamma_{phob} = \pi_{int}(a_b^0)\pi_{hyd}(a_b^0) - \phi'_{m-m}(a_b^0). \quad (3.46)$$

Esta es la ecuación de equilibrio de la bicapa libre de tensión.

Para una monocapa, la energía libre  $F_m$ , en una interfaz aire-agua o aceite-agua puede expresarse de manera similar a la de una bicapa:

$$F_m = n_m\phi_m(a_m) = n_m[\phi_{hyd}(a_m) + \phi_{int}(a_m) + \phi_{m-u}(a_m)], \quad (3.47)$$

donde  $a_m$  es el área por molécula en la monocapa y  $n_m$  es el número de moléculas en la misma. Por tanto, la monocapa tiene un área  $A_m = n_m a_m$ .  $\phi_{m-u}$  representa la energía libre que resulta de la interacción de las cadenas de los lípidos con la fase superior ya sea aire o aceite. El término hidrofóbico se omite porque, a diferencia de la bicapa, las cadenas pueden escapar de la fase acuosa.

Como mencionamos antes, una monocapa se encuentra en equilibrio solo cuando se le aplica una presión superficial externa, de otro modo puede expandirse indefinidamente. Por tanto, de la ecuación 3.47 la presión superficial de la monocapa está dada por

$$\pi_m(a_m) = \pi_{int}(a_m) + \pi_{hyd}(a_m) - \phi'_{m-u}(a_m). \quad (3.48)$$

Esta ecuación representa la condición de equilibrio de la monocapa.

Las ecuaciones 3.46 y 3.47 nos dan información sobre las condiciones bajo las cuales una monocapa puede o no estar en un estado correspondiente al de la bicapa. Primero, se requiere que el área de la monocapa sea la misma que la de la bicapa, es decir,  $a_m = a_b^0$ . Además, debido a la semejanza que hay en los términos  $\pi_{hyd}$  y  $\pi_{int}$  de las monocapas y bicapas podemos usar

$$\pi_{int}(a_b^0) + \pi_{hyd}(a_b^0) = \gamma_{phob} + \phi'_{m-m}(a_b^0) \quad (3.49)$$

de la ecuación 3.46 y sustituirlo en la ecuación 3.48, así se tiene que

$$\pi_m(a_b^0) = \gamma_{phob} + [\phi'_{m-m}(a_b^0) - \phi'_{m-u}(a_b^0)]. \quad (3.50)$$

Tanto  $\phi'_{m-m}$  como  $\phi'_{m-u}$  son relativamente pequeños, ya que estos términos se deben a interacciones de van der Waals. Por tanto, el análisis anterior sugiere que las monocapas y bicapas están en estados correspondientes cuando la presión superficial de la monocapa

---

es numéricamente igual a la densidad de energía libre hidrofóbica de la bicapa. Esto ocurre cuando la monocapa se encuentra en su estado de máxima compresibilidad [14].

## Capítulo 4

# Técnicas experimentales

Existen diversos métodos para caracterizar las monocapas, así como una gran cantidad de dispositivos para implementarlos. Estos métodos pueden ser tanto reológicos como microreológicos. El primer paso para implementarlos es la elaboración de la monocapa, cabe mencionar que se debe de tener estricta limpieza en su elaboración, ya que la tensión interfacial es muy susceptible a la suciedad. Así mismo, para caracterizarla es necesario obtener su presión superficial en función del área por molécula. Es por esto que en este capítulo se incluyen en primer lugar el procedimiento para obtener una monocapa y la técnica para medir la presión superficial de la misma. En este trabajo se estudiaron las monocapas de DPPC/POPC mediante las técnicas de reología de compresión y cizallamiento interfacial. En este capítulo se realiza una descripción de estas técnicas. Por último se presentan los materiales usados, en este apartado se describe el reómetro interfacial de aguja imantada y la palangana de Langmuir que fueron los dispositivos utilizados para llevar a cabo los experimentos.

### 4.1. Técnica general de obtención de monocapas de Langmuir

Para formar una monocapa insoluble sobre una interfaz líquido-aire debemos tener en cuenta las propiedades del anfifilo. Primero, la cadena hidrocarbonada de la sustancia debe de ser lo suficientemente larga con el fin de que pueda formar una monocapa insoluble (característica que define a las monocapas de Langmuir). Se dice que ésta debe contener más de 12 carbonos en la cadena ( $(CH_2)_n$ ,  $n > 12$ ) [24]. Si las cadenas son más cortas; aunque sean insolubles en agua, el anfifilo tiende a formar micelas. Por otro lado, si la longitud de una cadena es demasiado larga el anfifilo tiende a cristalizar en la superficie del agua y consecuentemente no forma una monocapa. Segundo, el anfifilo

tiene que ser soluble en algunos solventes orgánicos que sean volátiles e insolubles en agua.

El primer paso para fabricar una monocapa de Langmuir es preparar una disolución de concentración conocida de la molécula en estudio. Esta se prepara disolviendo el surfactante en un solvente orgánico, volátil e insoluble en agua. Además se requiere que el solvente sea inerte, esto es, que no reaccione ni con el anfifilo ni con la subfase. Los más comunes son el cloroformo y el hexano. A su vez, el agua sobre la que se forma la monocapa debe de ser lo más pura posible.

Una vez preparada la disolución se realizan deposiciones de un volumen perfectamente conocido de la misma sobre la superficie del líquido con ayuda de una microjeringa (ver fig. 4.1). Las deposiciones se realizan gota a gota lo más cerca posible de la superficie para asegurar que éstas permanezcan sobre ella.

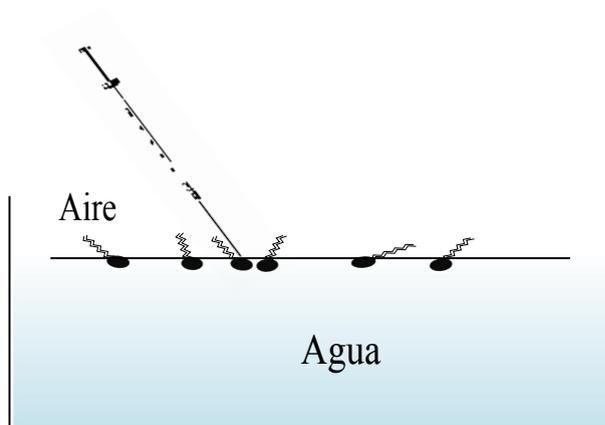


FIGURA 4.1: Técnica general para la formación de una monocapa de Langmuir.

Ya depositada la disolución se debe esperar a que el disolvente se evapore. Este proceso tarda entre 10 y 15 minutos. Transcurrido dicho tiempo los lípidos quedarán orientados en la interfaz líquido-aire. Los grupos hidrofílicos estarán inmersos en el agua y las colas hidrofóbicas apuntarán hacia el aire, formando así una monocapa.

## 4.2. Medición de la presión mediante el método de la placa de Wilhelmy

Existen diversos métodos para medir la presión superficial, sin embargo, uno de los más precisos es el método de la placa (Wilhelmy 1863), el cual describiremos a continuación.

Este método utiliza un material (papel o platino) de geometría rectangular o circular perfectamente conocida suspendida verticalmente a una balanza. La placa se lleva al contacto con el fluido, donde la tensión superficial se manifiesta así misma formando un menisco alrededor del material. Las fuerzas que actúan jalando la placa hacia abajo son la gravedad y la presión superficial, mientras que la fuerza de flotación empuja la placa hacia arriba. Si se utiliza por ejemplo una placa con longitud  $l$ , ancho  $w$  y grosor  $t$  y se encuentra inmersa en el agua a una profundidad  $h$ , llamando  $\rho_P$  y  $\rho_L$  a las densidades de la placa y del agua respectivamente, la fuerza neta dirigida hacia abajo es

$$F = \rho_P l w t g - \rho_L h w t g + 2(g + t)\gamma \cos \theta \quad (4.1)$$

donde  $\gamma$  es la tensión superficial,  $\theta$  es el ángulo de contacto entre el líquido y la placa y  $g$  la aceleración debida a la gravedad. Si calibramos el tensiómetro antes de poner la placa en contacto con el fluido, podemos prescindir de los primeros dos términos. Así, la fuerza  $F$  medida por el tensiómetro se deberá únicamente a la tensión superficial, es decir

$$F = 2(g + t)\gamma \cos \theta. \quad (4.2)$$

De esta manera la tensión superficial será

$$\gamma = \frac{F}{2(g + t) \cos \theta}. \quad (4.3)$$

Si se utiliza una placa de papel de celulosa pura, se asegura que la placa este completamente mojada y así el ángulo de contacto entre la placa y el líquido pueda considerarse como cero. Cada lectura hecha por el tensiómetro se determina con un  $\pm 10\mu/m$  de error. En nuestros experimentos utilizamos una barra de platino de 3.252 mm de perímetro.

### 4.3. Isotermas de compresión

Una *isoterma* de presión superficial-área es una gráfica de la presión superficial en función del área de la superficie del agua disponible para cada molécula. Esta isoterma es el indicador más importante de las propiedades de las monocapas de un material anfifílico ya que nos proporciona el área por molécula, el estado de la monocapa y la presión de colapso. La isoterma se mide a temperatura constante comprimiendo continuamente la película a velocidad constante mientras se monitorea la presión superficial. Estas curvas son comparables con las isotermas de presión-volumen de un gas.

Estas isotermas muestran regiones bien diferenciadas que corresponden a las distintas fases ordenadas de las moléculas en la monocapa. En la figura 4.2 se muestra un esquema de isoterma  $\pi - A$ . Las regiones observadas son llamadas fases las cuales van cambiando

al ir comprimiendo la monocapa. En un experimento típico, la cantidad de surfactante depositado sobre la superficie del líquido es muy baja de modo que las interacciones entre las moléculas del líquido y las cabezas polares del anfifilo es muy poca, bajo esta condición se dice que las moléculas se encuentran en estado gaseoso ( $G$ ) y al ser comprimidas pueden alcanzar una fase de transición a estado de líquido expandido ( $L_1$ ). Al seguir la compresión, la fase  $L_1$  tiene una transición a estado líquido-condensado ( $L_2$ ), y a mayores densidades la monocapa finalmente alcanza el estado sólido ( $S$ ). Si la monocapa se comprime después de alcanzar el estado  $S$ , ésta colapsará en estructuras tridimensionales. El colapso es generalmente visto como una rápida disminución en la presión superficial. Hay algunos otros puntos críticos en una isoterma  $\pi - A$ , como las presiones superficiales a las que se presenta coexistencia de dos fases como por ejemplo en la región de coexistencia del líquido expandido y líquido condensado.

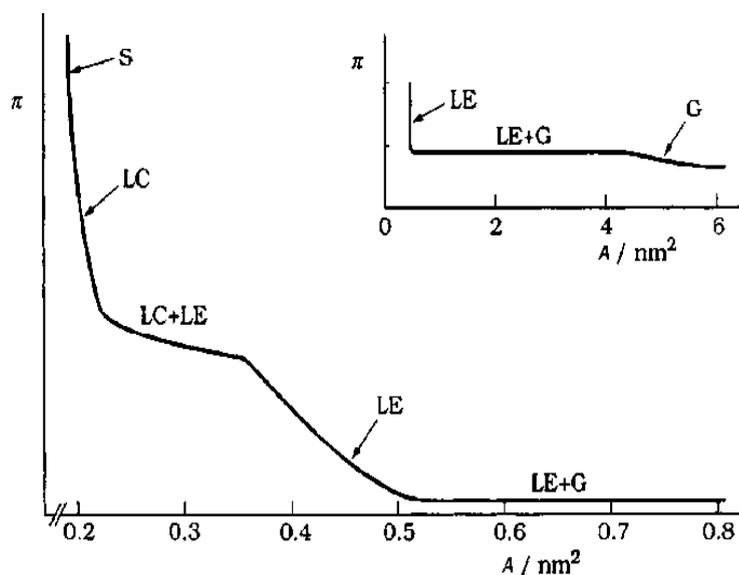


FIGURA 4.2: Ejemplo de una isoterma de presión-área. Figura adaptada de [34].

#### 4.4. Reología de compresión oscilatoria

Existe una gran variedad de técnicas dentro de la reología interfacial para estudiar los parámetros reológicos ya sea mediante compresión o cizallamiento. Todas estas técnicas difieren en sensibilidad, rango de medición y aplicabilidad a diferentes sistemas.

Uno de los métodos para estudiar las propiedades viscoelásticas de las monocapas de Langmuir es mediante compresión oscilatoria. La técnica más común para realizar estas compresiones es con ayuda de la palangana de Langmuir.

El método consiste en formar una monocapa insoluble (como se describe en la subsección 4.1) sobre la palangana de Langmuir. Con ayuda de las barreras que posee se comprime la monocapa hasta obtener un estado empaquetado de interés  $(\pi_0, A_0)$ . Enseguida, la monocapa se somete a compresiones sinusoidales variando el área disponible por molécula como

$$A(t) = A_0 + A_0 u_0 \sin(\omega t + \phi_u), \quad (4.4)$$

donde  $\omega$  es la frecuencia de excitación,  $u_0$  es la amplitud de deformación ( $u_0 = (A_{max} - A_0)/A_0$ ,  $A_{max}$  es la amplitud máxima), y  $\phi_u$  toma en cuenta una posible fase inicial. La presión superficial se monitorea simultáneamente como función del tiempo, esta varía como

$$\pi(t) = \pi(t) - \pi_0 = \sigma_0 \sin(\omega t + \phi_\pi). \quad (4.5)$$

$\pi_0$  es la presión promedio del estado inicial,  $\sigma_0$  es la amplitud del esfuerzo y  $\phi_\pi$  es un factor de fase tomado en cuenta por el retraso en la respuesta debido a la viscosidad. En el régimen lineal, el esfuerzo  $\sigma$  es proporcional a la deformación  $u$ :

$$\sigma(t) = E^* u(t), \quad (4.6)$$

siendo  $E^* = E' + iE''$  el módulo de compresión. La parte real, también llamada módulo de almacenamiento, coincide con la elasticidad interfacial, mientras que la parte imaginaria, o módulo de pérdidas, es proporcional a la viscosidad.  $\sigma(t)$  es el esfuerzo que está definido como

$$\sigma(t) = \pi(t) - \pi_0 = \sigma_0 \sin(\omega t + \phi_\pi). \quad (4.7)$$

Para calcular el módulo de almacenamiento  $E'$  y el módulo de pérdidas  $E''$  escribimos el esfuerzo  $\sigma$  y la deformación  $u$  en su forma compleja mediante la fórmula de Euler:

$$\sigma(t) = \sigma_0 e^{i\omega t} e^{i\phi_\pi} = E^* u_0 e^{i\omega t} e^{i\phi_u}, \quad (4.8)$$

de la ecuación 4.8 se tiene que

$$E^* = (\sigma_0/u_0) e^{i\phi} = (\sigma_0/u_0)(\cos \phi + i \sin \phi) \quad (4.9)$$

donde  $\phi = \phi_\pi - \phi_u$ . Por tanto,

$$E' = (\sigma_0/u_0) \cos \phi \quad (4.10)$$

y

$$E'' = (\sigma_0/u_0) \sin \phi \quad (4.11)$$

## 4.5. Reología de cizallamiento

Los métodos reológicos de cizallamiento involucran una cizalla inducida en la monocapa sin cambiar el área. Algunas técnicas miden el perfil de velocidad superficial (técnicas indirectas), estos métodos utilizan partículas visibles sobre la base en la cual las características interfaciales de cizallamiento pueden determinarse. Entre estas se encuentra el viscosímetro superficial de canal profundo, que consiste en dos cilindros concéntricos estacionarios y un plato giratorio que contiene la muestra de prueba (ver fig. 4.3(a)). La cámara se pone a girar a una velocidad angular ( $\omega_0$ ). Enseguida se mide el movimiento de la superficie entre los cilindros con ayuda de partículas de Teflón colocadas sobre la interfaz. Dentro de estas técnicas también está el viscosímetro de canal superficial, este método mide la razón de flujo de la capa que pasa a través de un canal estrecho debido a una diferencia de presión (ver fig. 4.3(b)).

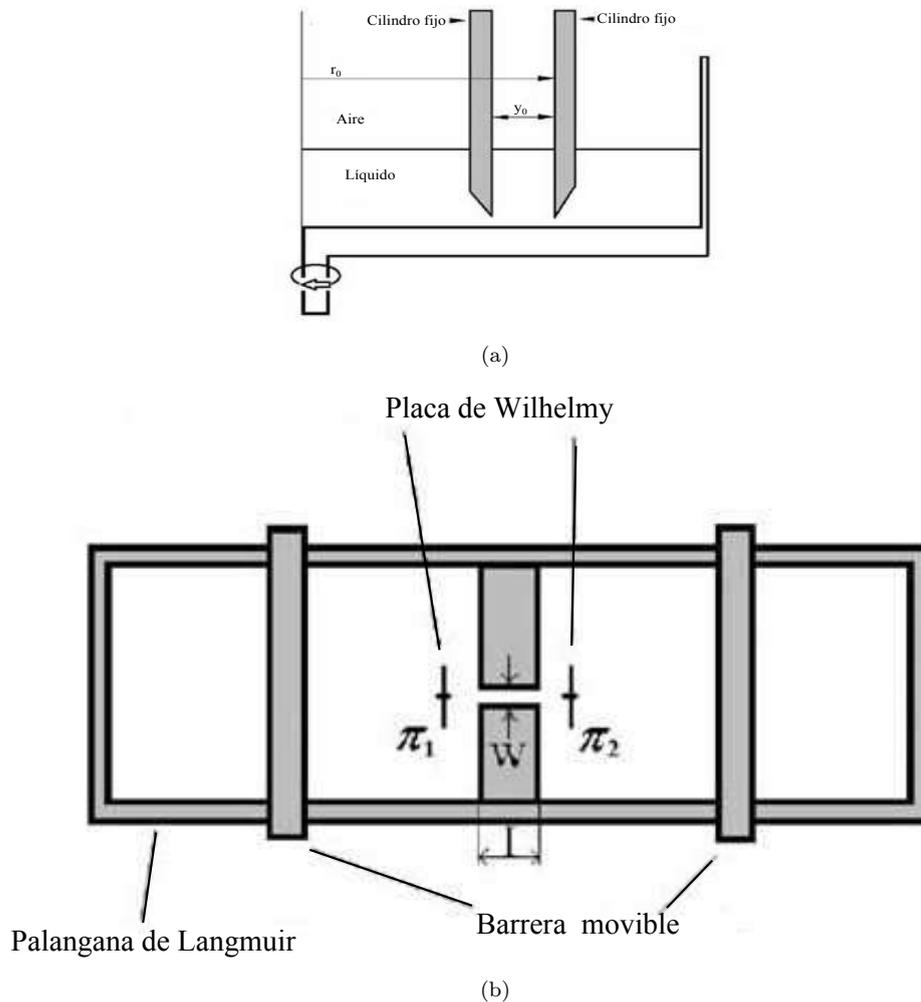


FIGURA 4.3: a) Esquema de un viscosímetro de canal superficial profundo. b) Esquema de un viscosímetro de canal superficial. Figura tomada de referencia [35]

Otro tipo de técnicas son las directas, las cuales miden el esfuerzo de cizallamiento de la interfaz conforme es deformada debido al contacto con un cuerpo externo. Los reómetros más usados de este tipo son como los del “péndulo de torsión”. Estos poseen un cuerpo de contacto que puede girar u oscilar y está conectado a un motor que detecta la torca y el desplazamiento mientras la muestra se encuentra en un plato estacionario (ver fig. 4.4).

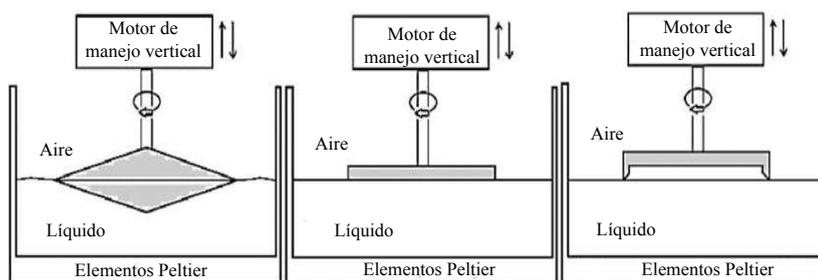


FIGURA 4.4: Esquemas de diferentes sistemas de medición de cizallamiento interfacial. De derecha a izquierda: sistema bicono, sistema placa-placa y técnica del péndulo de torsión de cuchilla filosa. Figura tomada de referencia [35]

En las técnicas directas también se incluye el “Reómetro de aguja magnética” (fig. 4.5). Este es uno de los instrumentos más sensibles para medir los parámetros reológicos interfaciales [35]. La principal característica de este reómetro es la pequeña aguja magnética que flota en la interfaz y se mueve bajo un campo magnético externo. Una gran ventaja de este reómetro sobre los de péndulo de torsión es que puede combinarse con una palangana de Langmuir, lo que permite controlar el estado termodinámico de la monocapa.

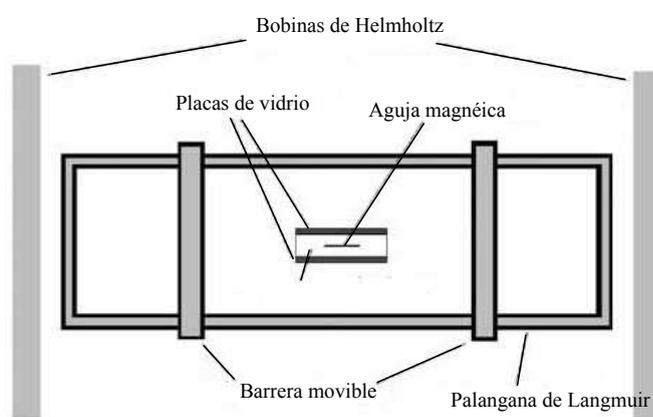


FIGURA 4.5: Representación esquemática de un reómetro de aguja magnética. Figura tomada de referencia [35]

En los experimentos, donde hay una deformación de cizallamiento, se mide el esfuerzo ( $\sigma$ ), la deformación ( $\gamma$ ) y la diferencia de fase ( $\phi$ ) entre las oscilaciones del esfuerzo y la deformación. Si se aplican deformaciones sinusoidales, con una frecuencia de oscilación  $\omega$ , la expresión matemática de  $\gamma$  será:

$$\gamma = \gamma_0 \sin \omega t, \quad (4.12)$$

mientras que  $\sigma$  estará dada por

$$\sigma = \sigma_0 \sin(\omega t + \phi) \quad (4.13)$$

donde  $\gamma_0$  y  $\sigma_0$  indican la amplitud de deformación y esfuerzo respectivamente. Para una muestra que se encuentra entre dos placas paralelas separadas por una distancia  $h$ , cuya placa inferior se mantiene fija y la placa superior oscila como  $L \sin(\omega t)$  la amplitud de deformación está dada por  $\gamma_0 = L/h$ . Siguiendo el análisis de la sección 4.4, se tiene que en el régimen lineal  $G'$  y  $G''$  están dados por [31]

$$G' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cos \phi \quad (4.14)$$

y

$$G'' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \sin \phi \quad (4.15)$$

## 4.6. Materiales

### *Lípidos*

Se utilizaron dos tipos de lípidos, el DPPC (dipalmitoil-fosfatidilcolina) y el POPC (1-palmitoil-2-oleoil fosfatidilcolina) ambos con una pureza del 99.9%. Fueron obtenidos de Avanti Polar Lipids, cuya presentación comercial es en forma de polvo.

### *Disolvente*

El disolvente usado fue cloroformo obtenido de Sigma Aldrich.

### *Agua*

Para la subfase acuosa se usó agua ultrapura obtenida de un sistema abastecedor Rios 8 combinado con un simplicity, ambos de Millipore. Este sistema nos proporciona agua con una resistividad de  $18.2 \Omega m$ .

### *Palangana de Langmuir*

Para realizar los experimentos de compresión oscilatoria se utilizó una palangana de Langmuir (ver fig. 4.6). La palangana que contiene la subfase está hecha de PTFE (politetrafluoroetileno), mejor conocido como teflón, para evitar cualquier fuga de la subfase sobre los bordes. Además posee dos barreras hechas de teflón que permiten comprimir la monocapa. La temperatura de la subfase se controla mediante un recirculador. La presión superficial se mide con el método del tensiómetro. La mínima amplitud de deformación accesible es del 3%. El error en la presión superficial es de  $\pm 1$  mN/m

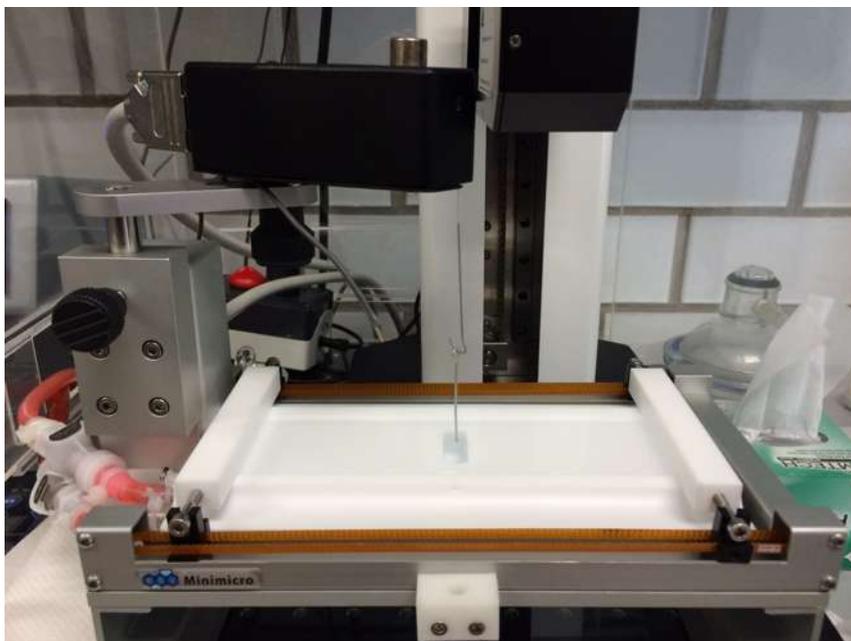


FIGURA 4.6: Palangana de Langmuir KSV NIMA.

*Reómetro interfacial de cizallamiento (ISR) KSV NIMA.*

En este trabajo se utilizó la técnica de la aguja magnética. El reómetro que se usó fue el *reómetro interfacial de cizallamiento*, ISR por sus siglas en inglés, KSV NIMA que se muestra en la figura 4.7.

El principio de funcionamiento del ISR es una sonda imantada que se mueve en la interfaz aire-agua utilizando el campo magnético creado por un par de bobinas de Helmholtz. El movimiento de la sonda se registra ópticamente desde la parte superior. El módulo complejo se calcula a partir del cambio de fase de la deformación y la señal (ver fig. 4.8).

Las bobinas de Helmholtz son idénticas y están separadas una de otra una distancia igual al radio de las mismas creando así un campo magnético uniforme en el área de medición. Esto permite que la sonda imantada se mueva en la zona de medición mediante el control del campo magnético.

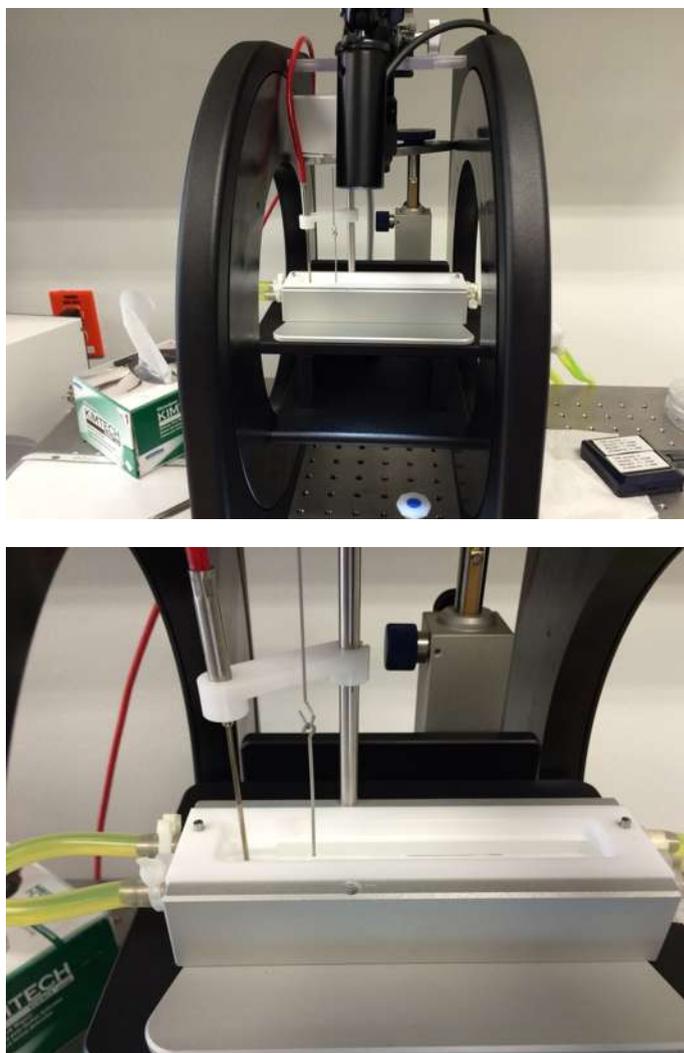


FIGURA 4.7: Reómetro interfacial de cizallamiento (ISR) KSV NIMA.



FIGURA 4.8: Curvas del esfuerzo y la deformación de cizallamiento durante un experimento típico.

Las sondas de medición están diseñadas para flotar fácilmente en la interfaz de líquido debido a su peso ligero y su recubrimiento repelente al agua. El metal dentro de la sonda es magnetizado.

En un barrido de amplitud, el límite inferior accesible es del 0.1 % y el límite superior es del 10 %. En un barrido de frecuencia el límite inferior accesible es de 0.05 Hz y el límite superior es de 2 Hz.

## Capítulo 5

# Resultados

### 5.1. Isotermas de compresión

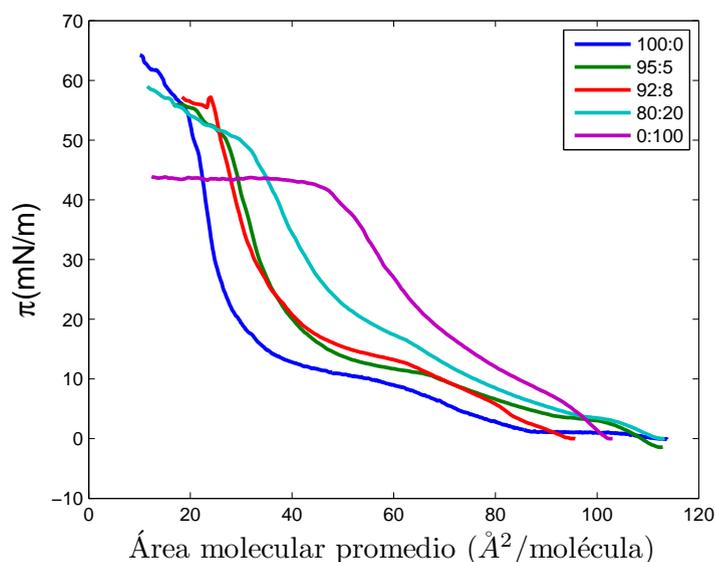


FIGURA 5.1: Gráfica de la presión superficial contra el área para monocapas de DPPC/POPC a una razón de 100:0, 95:5, 92:8, 80:20 y 0:100.

En la figura 5.1 se muestran las isotermas de presión superficial-área para las monocapas de DPPC/POPC a diferentes razones de concentración, medidas a una temperatura de 25°C. El DPPC presenta una fase gas en un área molecular promedio mayor a 90  $\text{\AA}^2/\text{molécula}$ . Para áreas moleculares comprendidas entre los 90 y 60  $\text{\AA}^2/\text{molécula}$  su presión aumenta de manera lineal, mostrando un comportamiento característico del estado líquido expandido. A partir de los 60  $\text{\AA}^2/\text{molécula}$  hasta los 40  $\text{\AA}^2/\text{molécula}$ , la presión es casi-constante, lo que indica que hay una coexistencia de los estados líquido-expandido y líquido-condensado, así como una transición de fase de primer orden. Para

áreas menores que los  $40 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$  la presión superficial crece rápidamente hasta llegar a su punto de colapso alrededor de los  $60 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ . Un comportamiento similar al del DPPC lo presentan las membranas que contienen el 5 % y el 8 % de POPC. Poseen un estado líquido expandido entre los  $90$  y  $70 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ , una coexistencia de fases líquido-expandido y líquido-condensado entre los  $70$  y  $50 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$  y una fase condensada para áreas moleculares menores que lo  $50 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ . El POPC sin otro lípido presente en la interfaz y la mezcla que contiene el 20 % de POPC no presentan la región de coexistencia entre los estados líquido expandido y líquido condensado. El colapso se da alrededor de los  $50 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$  para la mezcla con el 8 % de POPC y  $40 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$  para el POPC.

## 5.2. Reología de compresión

Se hicieron mediciones reológicas de compresión oscilatoria para monocapas de DPPC/POPC a diferentes razones de concentración. Las oscilaciones de deformación fueron sinusoidales con una frecuencia de deformación de  $0.3 \text{ rad/s}$ , en la figura 5.2 se muestra como ejemplo una gráfica de la deformación realizada y la presión medida como función del tiempo. Las mediciones se realizaron en la fase condensada de la monocapa. Las amplitudes exploradas fueron del 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 % y 8 %.

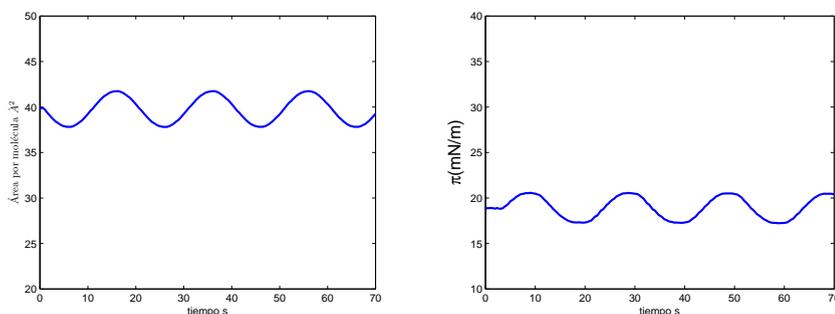


FIGURA 5.2: (a) Deformaciones y (b) esfuerzos experimentales registrados en compresión oscilatoria.

En la figura 5.3 se muestra la dependencia del esfuerzo y la deformación de las diferentes monocapas. Para el DPPC y las mezclas con POPC, el comportamiento del esfuerzo es lineal en todo el intervalo accesible de deformaciones, indicando que el ajuste lineal es correcto.

En la figura 5.4 se muestran las gráficas de los módulos de almacenamiento y pérdida en deformación de compresión oscilatoria, obtenidos según la teoría del capítulo 4. Tanto el comportamiento del DPPC como el del POPC bajo una deformación de compresión

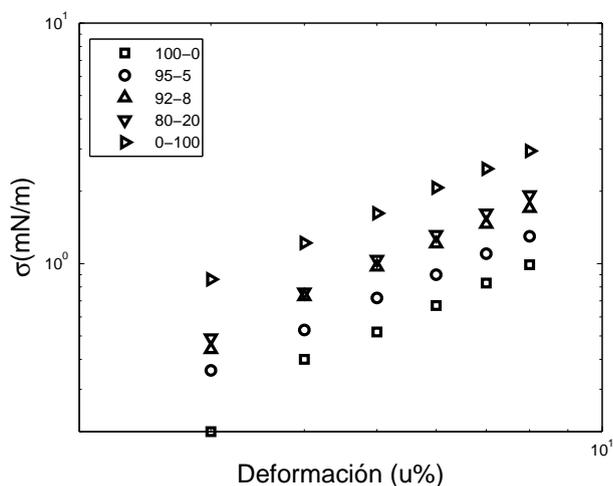


FIGURA 5.3: Gráfica del esfuerzo como función de la deformación para monocapas de DPPC/POPC a razones de concentración de 100:0, 95:5, 92:8, 80:20 y 0:100. La deformación fue realizada con una frecuencia de oscilación de 0.3 rad/s.

es el de tipo sólido, ya que  $E' > E''$  a una frecuencia de 0.3 rad/s. La magnitud de los módulos de compresión del POPC son mayores que los del DPPC, sugiriendo que una monocapa de POPC tiene un comportamiento más rígido que el DPPC, al igual que en las isothermas de la figura 5.1 se puede observar que a menores áreas por molécula el POPC muestra mayores presiones superficiales. En deformaciones de compresión el efecto que el POPC aporta a las membranas de DPPC es un incremento en su rigidez o una mayor resistencia a ser comprimida.

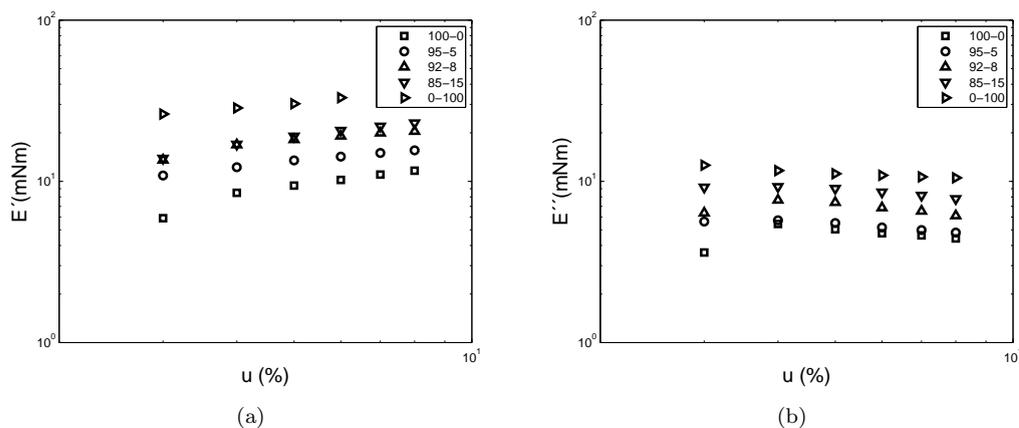


FIGURA 5.4: Módulos de almacenamiento y pérdida como función de la deformación para monocapas de DPPC/POPC a razones de concentración de 100:0, 95:5, 92:8, 80:20 y 0:100. La deformación fue realizada con una frecuencia de oscilación de 0.3 rad/s.

### 5.3. Reología de cizallamiento

En cada medición de los experimentos reológicos se formó una monocapa de DPPC/-POPC sobre una superficie de agua limpia, se esperó a que la presión llegara a un punto de equilibrio, ( $\approx 40\text{mN/m}$ ). Enseguida se colocó la prueba magnetizada de 42.91 mm de longitud, 0.4 mm de radio y 17.70 mg de peso. En primer lugar se realizó un barrido de amplitud a una frecuencia constante de 6 rad/s para determinar la región donde el sistema es lineal. Los experimentos se hicieron a una temperatura constante de 25°C. Después de realizar el barrido de amplitud se llevó a cabo un barrido de frecuencia en la región lineal sobre una monocapa nueva.

Las mediciones reológicas fueron hechas sobre mezclas de DPPC con POPC a diferentes razones de concentración. Los porcentajes de POPC en las mezclas fueron del 0 %, 5 %, 8 %, 10 %, 15 %, 20 % y 100 %.

En la figura 5.5, se muestra la gráfica del esfuerzo como función de la deformación para las diferentes muestras de membranas. La dependencia es lineal para todas las mezclas, esto indica que la deformación no afecta la estructura de la monocapa y el análisis lineal es correcto, además no se observa existencia de puntos de fluencia para estas amplitudes de deformación. Sin embargo, esto no indica que no existan estos puntos a mayores razones de deformación a las estudiadas con este equipo. La deformación aplicada fue del 0.1 % al 10 % para el DPPC y del 0.1 % al 14 % para las demás mezclas.

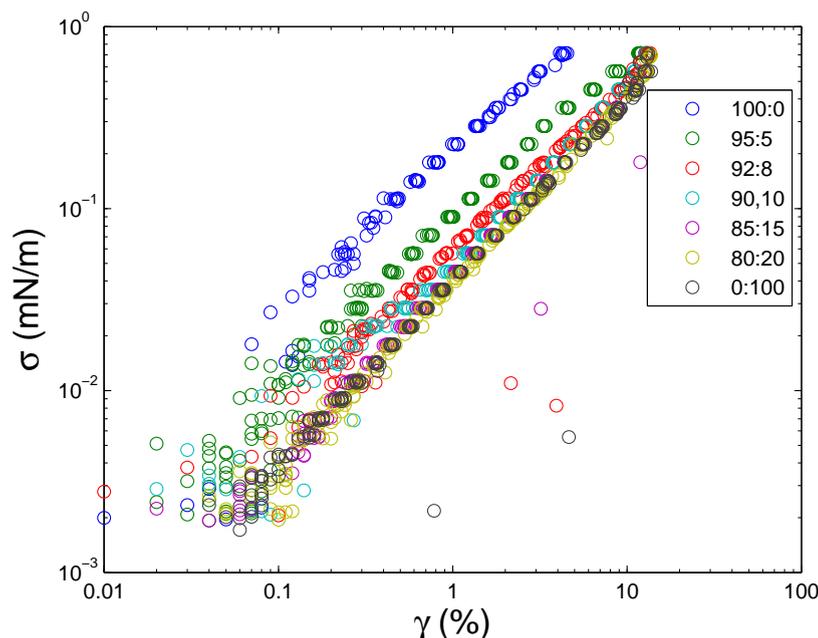


FIGURA 5.5: Gráfica de Esfuerzo contra deformación a una frecuencia de 6 rad/s en mezclas de DPPC/POPC a una razón de 100:0, 95:5, 92:8, 90:10, 80:20 y 0:100.

En la figura 5.6 se muestran los módulos de almacenamiento y pérdida como función de la frecuencia obtenidos en este trabajo para las diversas monocapas de DPPC/POPC, así como el ajuste realizado para  $G''$ . En la membrana de DPPC, el módulo de pérdidas es mayor que el módulo de almacenamiento ( $G'' \approx 3G'$ ), lo que concuerda con el comportamiento de un gel viscoelástico. De acuerdo con el ajuste, la dependencia del módulo de pérdidas de cizallamiento del DPPC con la frecuencia es aproximadamente de  $\omega^{0.7}$ ; es decir,  $G'' \sim \omega^{0.7}$ . En la monocapa que contiene un 5% de POPC, se puede observar que el comportamiento es similar al del DPPC, donde  $G'' > G'$ , pero en este caso,  $G'' \approx 1.5G'$  (para frecuencias pequeñas). Con respecto a la dependencia de  $G''$  con la frecuencia, el ajuste realizado para el módulo de pérdidas indica que  $G'' \sim \omega^{0.5}$ . Una dependencia aún más débil que la encontrada para el DPPC. Sin embargo, el hecho de que  $G'' > G'$  sugiere que el comportamiento de un gel viscoelástico todavía se conserva. En la membrana que contiene el 8% de POPC se encontró que el módulo de almacenamiento es mayor que el módulo de pérdidas ( $G' > G''$ ) para un rango de frecuencias que va desde los 0.3 rad/s a los 1.2 rad/s, mostrando una inversión en el comportamiento de los módulos de cizallamiento. Esto indica que en frecuencias de deformación pequeñas la monocapa se comporta como un sólido. A frecuencias mayores que 1.2 rad/s se invierte el comportamiento,  $G'' > G'$ , comportamiento típico de un gel viscoelástico. Sin embargo, cuando la frecuencia de deformación es mayor que 2.5 rad/s, el módulo de almacenamiento es cero. En este punto, la monocapa pasa de ser viscoelástica a ser puramente viscosa sugiriendo un comportamiento fluido. El ajuste realizado para el módulo de pérdidas muestra que  $G'' \sim \omega^{0.7}$ . Un comportamiento similar al de la monocapa que contiene 8% de POPC se tiene para la monocapa con el 10% de POPC, es decir,  $G' > G''$ ; aunque aquí se presenta esta tendencia para frecuencias menores que 0.5 rad/s. En frecuencias mayores a 0.8 rad/s el módulo de almacenamiento es cero, comportándose la monocapa igualmente como un fluido. La dependencia del módulo de pérdidas con la frecuencia muestra que  $G'' \sim \omega^{0.9}$ . En la membrana que tiene el 15% de POPC, el módulo de almacenamiento se presenta únicamente en las frecuencias que se encuentran en el límite inferior de la resolución experimental del ISR, por tanto, el comportamiento elástico que se presenta en esta monocapa podría considerarse como ruido. Además, considerando que el ajuste realizado para determinar la dependencia del módulo de pérdidas con la frecuencia señala que  $G'' \sim \omega^{0.96}$ , se sugiere que la transición de fase de gel viscoelástico a fluido de las monocapas de DPPC/POPC ocurre cuando se tiene un 15% de POPC en la monocapa. La membrana que tiene el 20% de POPC tiene un comportamiento similar a la que contiene el 15%. Esta monocapa en particular presentó mucho ruido en los datos experimentales. En la monocapa de POPC el módulo elástico es cero, comportamiento característico de un fluido y la dependencia del módulo de pérdidas con la frecuencia es de  $G'' \sim \omega^1$ . Lo cual demuestra el comportamiento de un fluido Newtoniano para el POPC.

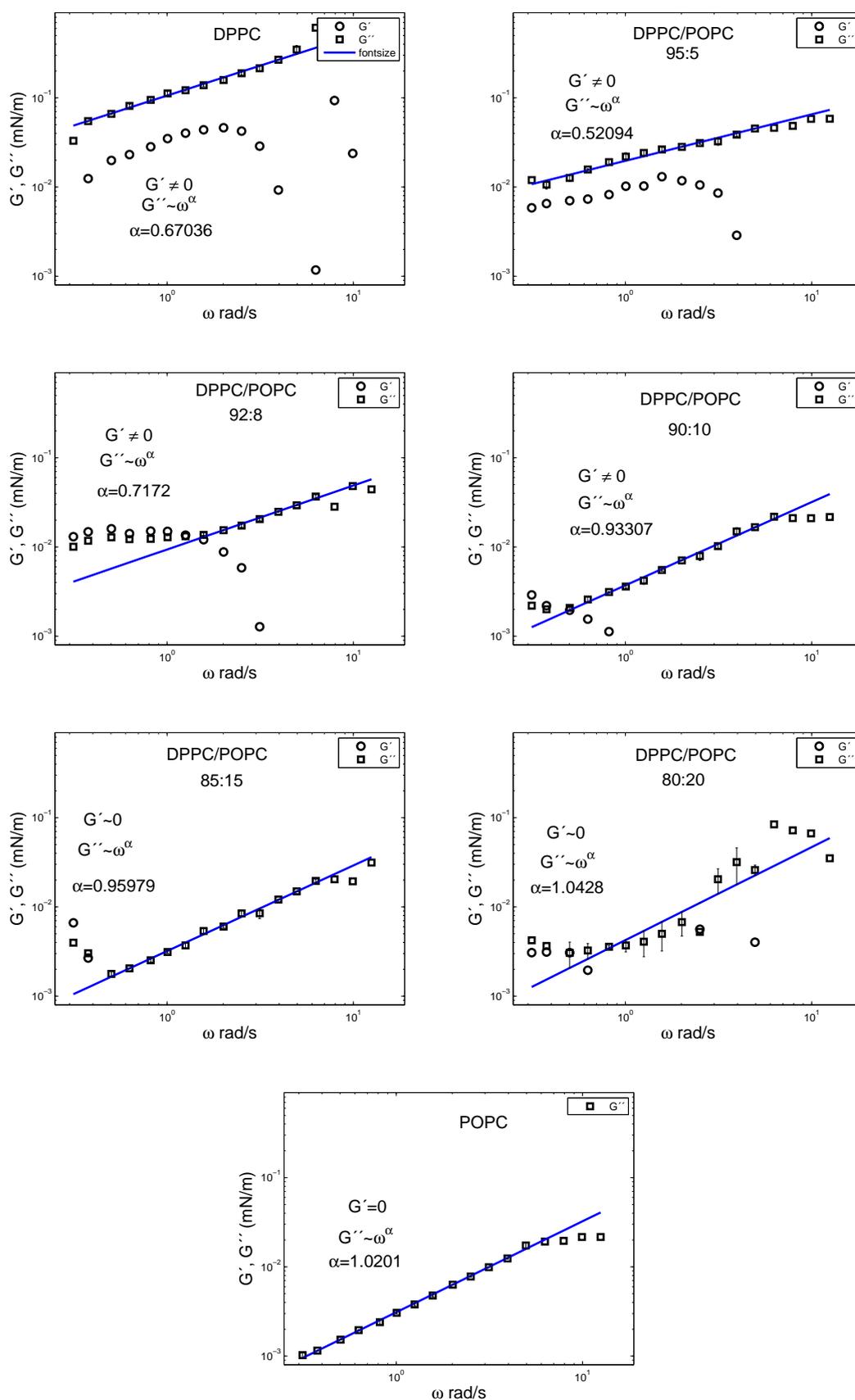


FIGURA 5.6: Módulos de almacenamiento y pérdidas como función de la frecuencia de las muestras DPPC/POPC en deformación de cizallamiento a una amplitud de deformación del 3%. La línea azul representa el ajuste realizado para el módulo de pérdidas.

Por otra parte, analizando el coeficiente de fluidez  $F$ ; con  $F = \omega/G''$ , como función del periodo de oscilación  $\tau = 2\pi/\omega$ , se tiene que el DPPC tiene menor fluidez que el POPC. No obstante, el efecto del POPC sobre las mezclas se nota considerablemente en un aumento en la fluidez (fig. 5.7). Esta fluidez es grande para las monocapas con 5 y 10% de POPC, comparada con la del DPPC, pero disminuye con el tiempo. Para las membranas con 15 y 20% de POPC la fluidez es casi constante en el tiempo y del mismo orden que la del POPC ( $\approx 50s/mg$ ).

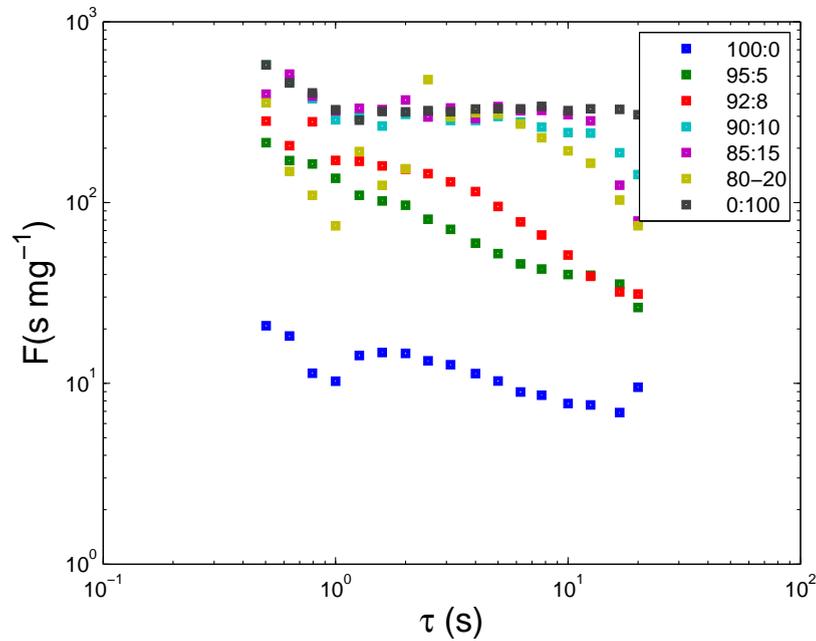


FIGURA 5.7: Coeficiente de fluidez experimental ( $F = \omega/G''$ ) en una deformación de cizallamiento, con una amplitud de deformación del 3%.

En la gráfica 5.8 se muestra la viscosidad dinámica  $\eta$  como función de la frecuencia. En la membrana de DPPC hay una disminución en la viscosidad en todo el rango de frecuencias, comportamiento que se conoce como shear thinning. El mismo comportamiento lo presentan las membranas que tienen el 8 y 5% de POPC. En las membranas con 10, 15 y 20% de POPC se presenta una viscosidad constante entre 1.2 y 6.2 rad/s, mostrando el comportamiento de un fluido Newtoniano en esta región. En la monocapa de POPC la viscosidad se mantiene constante en frecuencias menores que 6.2 rad/s. Para frecuencias mayores a esta, la viscosidad disminuye presentando un comportamiento del tipo shear thinning.

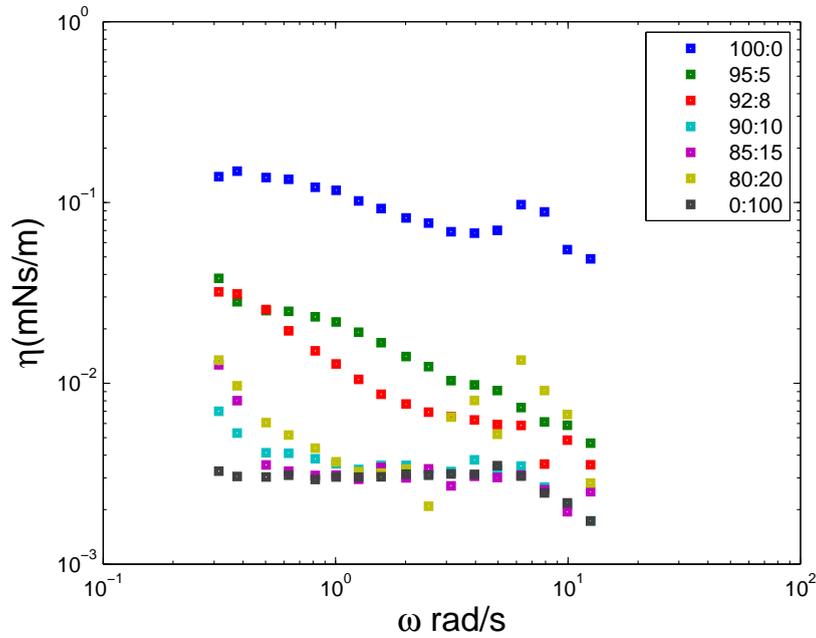


FIGURA 5.8: Viscosidad dinámica como función de la frecuencia de monocapas de DPPC/POPC.

## 5.4. Discusión

Una de las fosfatidilcolinas más estudiadas, debido a la relevancia biológica que esta presenta, ha sido el DPPC. En esta tesis se caracterizaron las monocapas de este lípido con el POPC.

### 5.4.1. Reología de compresión

En reología de compresión se encontró que el módulo de almacenamiento es mayor que el módulo de pérdidas,  $E' > E''$ , tanto en las monocapas de DPPC como en las de POPC, mostrando un comportamiento tipo sólido en ambas membranas. El carácter sólido del DPPC concuerda con los resultados obtenidos en [36]. La magnitud de los módulos del POPC es mayor que los del DPPC. Desde el punto de vista de energías, la monocapa de POPC almacena más energía que la monocapa de DPPC, lo que se ve reflejado en una mayor rigidez en la membrana de POPC (comparada con la del DPPC) cuando esta se somete a una deformación de compresión.

### 5.4.2. Reología de cizallamiento

Estudios recientes en monocapas de DPPC (en reología de cizallamiento utilizando un reómetro equipado con un bicono) mostraron que bajo condiciones fisiológicas ( $\text{pH}=0.7$ ,  $\pi = 30\text{mN/m}$ ,  $T \approx 37^\circ\text{C} < T_m$ ; donde  $T_m$  es el punto de fusión del DPPC), se comportan como un gel viscoelástico [37]. En ese mismo estudio se hicieron mediciones reológicas para el POPC reportándolo como un fluido Newtoniano al no presentar módulo de almacenamiento y tener una dependencia con la frecuencia de  $\omega^1$ . El resultado que se obtuvo en esta tesis para el DPPC fue que bajo reología de cizallamiento, este se comporta como un gel viscoelástico  $G'' > G'$  y la dependencia del módulo de pérdidas con la frecuencia es de  $G'' \approx \omega^{0.7}$ . Con respecto al POPC, la dependencia que presentó con la frecuencia fue de  $\omega^1$ , es decir, se comporta como un fluido Newtoniano, resultados que concuerdan con el trabajo realizado en [37]. La tendencia que presentan los módulos de cizallamiento es igual a la presentada en el trabajo mencionado anteriormente, sin embargo, hay discrepancia en los datos ya que difieren en un orden de magnitud. Así como hay discrepancias entre el método del bicono y el método de la aguja se han presentado discrepancias con otros métodos, sobre todo con los microreológicos donde se tiene una discrepancia de hasta tres ordenes de magnitud menor [38]. Una característica que no logró observarse en este trabajo fue la existencia del punto de fluencia que presenta la monocapa de DPPC (resultado obtenido en [37]), debido a que el reómetro de la aguja no permite medir amplitudes de deformación mayores al 10%. En la figura 5.9 se muestra la gráfica de esfuerzo contra deformación que se obtuvo en esta tesis y la obtenida en [37].

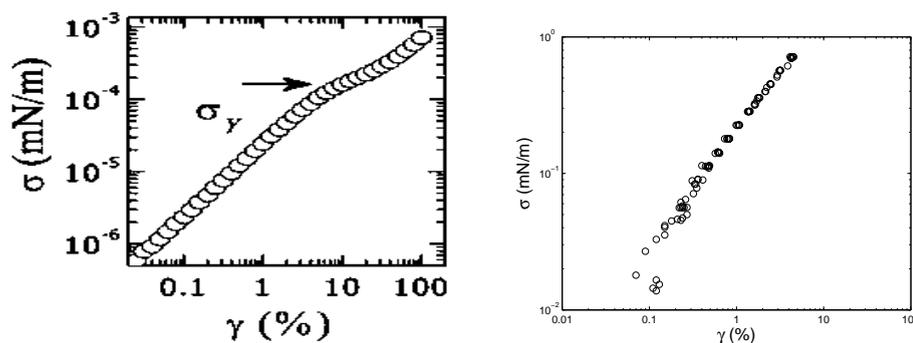


FIGURA 5.9: Esfuerzo frente a la deformación en la monocapa de DPPC. (a) Resultados obtenidos en esta tesis. (b) Gráfica tomada de referencia [37].

Debido a las propiedades viscoelásticas del DPPC y el carácter Newtoniano del POPC, uno esperaría que en algún momento dado ocurra un cambio en el comportamiento de las mezclas. Es decir, que las monocapas pasen de ser viscoelásticas a ser puramente viscosas. Sin embargo, un resultado interesante en los experimentos realizados es el hecho de que

el sistema presenta una transición de gel viscoelástico a sólido cuando el porcentaje de POPC es del 8(%) y persiste hasta una concentración del 10% de POPC. Un resultado que no se esperaba debido a las propiedades que el DPPC y el POPC muestran en deformación de cizallamiento. Este hecho se podría atribuir a que esta mezcla favorece la formación de dominios. Como mencionamos anteriormente, el DPPC ha sido una de las fosfatidilcolinas más estudiadas y hay trabajos que demuestran la formación de dominios en este lípido [39]. En la cita mencionada se hicieron estudios de microreología activa, con un microbotón como prueba. La prueba fue movida con un campo magnético oscilatorio,  $\vec{B}e^{i\omega t}$ , aplicado de tal manera que produce una rotación oscilatoria sobre la prueba que se encuentra suspendida en la interfaz. A su vez, realizaron visualizaciones simultáneas del comportamiento de la monocapa. En este método microreológico de cizallamiento, el resultado experimental fue que para frecuencias menores a 6.2 rad/s el módulo de almacenamiento es mayor que el módulo de pérdidas ( $G' > G''$ ), mostrando un comportamiento del tipo sólido. En el mismo artículo, se atribuye el comportamiento tipo sólido a la formación de dominios. Esto nos lleva a pensar que el DPPC mezclado con un porcentaje entre el 8 y 10% de POPC favorece la formación de dominios.

La transición de fase de gel viscoelástico a material viscoso podría sugerirse a partir de la proporción con el 15% de POPC debido a que los valores medidos de  $G'$  se encuentran en el límite inferior de la resolución experimental del ISR.

## Capítulo 6

# Conclusiones

En este trabajo se estudiaron las propiedades viscoelásticas de las monocapas de DPPC/POPC bajo reología de compresión oscilatoria y reología de cizallamiento.

Cuando se aplica una deformación de compresión a las monocapas de DPPC/POPC estas se comportan como materiales tipo sólidos, ( $E' > E''$ ). El POPC presenta mayor rigidez que el DPPC, comportamiento que se observa tanto en la magnitud de los módulos ( $E'_{POPC} > E'_{DPPC}$ ) como en las isothermas, donde se ve que el POPC presenta presiones grandes (comparadas con las del DPPC) en áreas por molécula mayores.

En reología de cizallamiento hay una clara discrepancia en los resultados obtenidos con los métodos macroreológicos de la aguja y del reómetro de bicono. Pero la tendencia que presentan es la misma. Aún no se ha encontrado una explicación para estas discrepancias, pero hay trabajos que discuten el origen de estas diferencias [40].

Existe una inversión en el comportamiento de la monocapa DPPC/POPC de gel viscoelástico a sólido, en deformación de cizallamiento, cuando la concentración de POPC en la membrana es del 8%, en frecuencias pequeñas. Esta fase se preserva cuando se tiene un 10 % de POPC en la monocapa.

Se sugiere que la transición de fase de gel viscoelástico a fluido Newtoniano ocurre cuando el porcentaje de POPC en la membrana es del 15%.

Los resultados obtenidos en reología de compresión y cizallamiento en las membranas de DPPC/POPC sugieren que no hay correlación entre estas deformaciones. En compresión las monocapas presentaron un comportamiento del tipo sólido, mientras que en cizallamiento hay transiciones de fase de gel viscoelástico a fluido viscoso y de gel viscoelástico a sólido.

## 6.1. Perspectivas

Con el fin de obtener un panorama más completo sobre los resultados obtenidos en este trabajo para las monocapas de DPPC/POPC sería interesante:

Visualizar las monocapas DPPC/POPC mientras son cizalladas con el método del reómetro de la aguja, sobre todo las monocapas con el 8 y 10% de POPC que es cuando el sistema sufre una transición de fase de gel viscoelástico a sólido viscoelástico, esto con el fin de observar el comportamiento de los dominios en estas monocapas y así poder dar una explicación para este comportamiento. Esto se podría llevar a cabo mediante microscopía del ángulo de Brewster (BAM), por mencionar un ejemplo.

Realizar la caracterización de las monocapas con algún otro método; el del bicono, por ejemplo. Para tener acceso a un rango de amplitudes y frecuencias mayor.

Caracterizar las membranas bajo reología de compresión oscilatoria a diferentes frecuencias, con el propósito de descartar alguna relación entre deformación de compresión y cizallamiento.

## Apéndice A

# Relaciones de Kramers-Kronig

Bajo la acción de un estímulo externo un sistema responde en su propia forma característica. La relación de la respuesta con el estímulo está dada por una función de respuesta. Un ejemplo de una función de respuesta es la función de Green. Describe el aumento en la velocidad de un electrón causado por un campo eléctrico. En general, la respuesta inducida a un estímulo externo se puede escribir como [41]:

$$X(\vec{r}, t) = \int_{-\infty}^{\infty} G(\vec{r}, \vec{r}', t, t') f(\vec{r}', t') dr' dt' \quad (\text{A.1})$$

Para un sistema lineal, la ecuación A.1 describe la respuesta  $X(\vec{r}, t)$  del sistema en una posición  $\vec{r}$  y tiempo  $t$  a un estímulo  $f(\vec{r}', t')$  actuando en todo momento  $t'$  y todo lugar  $r'$ . La función  $G(\vec{r}, \vec{r}', t, t')$  se llama función de respuesta.

Suponiendo que lo que pasa en un lugar en particular, depende únicamente del campo existente en ese lugar y además que el flujo de tiempo es uniforme, entonces

$$G(\vec{r}, \vec{r}', t, t') = \delta(\vec{r} - \vec{r}') G(t - t') \quad (\text{A.2})$$

y la ecuación A.1 se convierte en

$$X(t) = \int_{-\infty}^{\infty} \delta(\vec{r} - \vec{r}') G(t - t') f(\vec{r}', t') dr' dt' = \int_{-\infty}^{\infty} G(t - t') f(t') dt'. \quad (\text{A.3})$$

Si el sistema es causal, es decir, no puede haber respuesta antes de que haya un estímulo, se debe cumplir que

$$G(t - t') = 0, \quad (\text{A.4})$$

para  $t < t'$ .

En el caso de integrales dependientes del tiempo, tal como la ecuación A.1, es conveniente hacer una transformada de Fourier para reducir la expresión a un conjunto de componentes monocromáticas con una dependencia en el tiempo de  $\exp(-i\omega t)$ . Las transformadas de Fourier se pueden escribir como

$$f(\omega) = \int f(t) \exp(i\omega t) dt, \quad (\text{A.5})$$

$$X(\omega) = \int X(t) \exp(i\omega t) dt, \quad (\text{A.6})$$

$$G(\omega) = \int G(t - t') \exp[i\omega(t - t')] dt. \quad (\text{A.7})$$

Sustituyendo la ecuación A.3 en la ecuación A.6

$$\begin{aligned} X(\omega) &= \int \left[ \int_{-\infty}^{\infty} G(t - t') f(t') dt' \right] \exp i\omega t dt \\ &= \int f(t') dt' \int G(t - t') \exp(i\omega t) dt \\ &= \int f(t') \exp(i\omega t') dt' \int G(t - t') \exp(i\omega(t - t')) dt. \end{aligned} \quad (\text{A.8})$$

Ahora, si se sustituye la ecuación A.5 en la ecuación A.8 se obtiene que

$$X(\omega) = G(\omega) f(\omega), \quad (\text{A.9})$$

por tanto, en términos de transformadas de Fourier, un estímulo  $f(\omega)$  solo se multiplica por algún número  $G(\omega)$  para obtener la respuesta  $X(\omega)$ .

Hay algunas propiedades fundamentales y muy importantes de la función de respuesta. Estas incluyen relaciones entre la parte real y la parte imaginaria de esta función que tienen aplicabilidad directa al análisis de datos experimentales. Las cuales presentaremos en este apéndice.

La teoría para derivar estas relaciones se basa en un número mínimo de suposiciones sobre las características de un sistema de relajación, tales hipótesis son muy generales y están respaldadas por la experiencia. Las cuales se enumeran a continuación [42]:

1. Se debe cumplir el principio de superposición de Boltzmann, lo que significa que la respuesta total de un sistema a todos los componentes de un histórico de excitación es lineal y, por tanto, independiente y aditivo.
2. Un estímulo real da lugar a una respuesta real. A partir de estos dos supuestos, se deduce que
  - a) La parte real y la parte imaginaria de una función del sistema son una función par e impar de la frecuencia, respectivamente.

3. Se debe cumplir el principio de causalidad, es decir, la respuesta sigue la causa. De aquí se deduce que.

- a) La función del sistema es analítica en la mitad inferior del plano de frecuencia compleja y puede tener singularidades solamente en la mitad superior.
- b) La función del sistema converge a un valor constante diferente de cero cuando la frecuencia en el semiplano inferior tiende a infinito.
- c) La función no tiene singularidades en el eje de frecuencia real.

Suponga que  $\omega$  es un número complejo,  $\hat{\omega} = \omega_1 + i\omega_2$ , así la ecuación A.7 se convierte en

$$G(\hat{\omega}) = \int G(t - t') \exp[i\omega_1(t - t')] \exp[-\omega_2(t - t')] dt. \quad (\text{A.10})$$

El factor  $\exp[i\omega_1(t - t')]$  está acotado en todas las frecuencias;  $\exp[-\omega_2(t - t')]$  está acotado en el semi-plano superior para  $t - t' > 0$  y en el semi-plano inferior únicamente para  $t - t' < 0$ . Por lo tanto, el requisito de causalidad,  $G(t - t') = 0$  para  $t - t' < 0$ , requiere que la integral A.10 se evalúe en el semi-plano superior. Ahora sea  $\omega$  en el eje real. Por el teorema de Cauchy se tiene que

$$G(\omega) = \frac{1}{i\pi} P \int_{-\infty}^{\infty} \frac{G(\omega') d\omega'}{\omega' - \omega}, \quad (\text{A.11})$$

donde  $P$  representa el valor principal, este resultado se obtiene suponiendo que se cumplen las condiciones enumeradas anteriormente. Si escribimos  $G(\omega)$  en su parte real y su parte imaginaria se tienen que

$$Re(G(\omega)) = \frac{1}{\pi} P \int_{-\infty}^{\infty} \frac{ImG(\omega') d\omega'}{\omega' - \omega}, \quad (\text{A.12})$$

$$Im(G(\omega)) = -\frac{1}{\pi} P \int_{-\infty}^{\infty} \frac{ReG(\omega') d\omega'}{\omega' - \omega}. \quad (\text{A.13})$$

Se observa que las partes real e imaginaria de  $G(\omega)$  no son independientes; que están conectadas por medio de fórmulas denominadas relaciones de dispersión de Kramers-Kronig.

# Bibliografía

- [1] Benjamin Franklin. Of the stilling of waves by means of oil. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 64:445–460, 1774.
- [2] Lord Rayleigh. On the Superficial Viscosity of Water. *Royal Society of London*, 48 (292-295):127–140, 1890.
- [3] Agnes Pockels. Surface tension. *Natura*, 43:437–439, 1891.
- [4] Irving Langmuir. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. II. Liquids. *Journal of the American Chemical Society*, 38(11):1848–1906, 1916.
- [5] W. Pfeffer. Osmotische Untersuchungen: Studien zur Zellmechanik. *W. Engelmann*, 1877.
- [6] E. Overton. Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen und Tierzelle. *Vierteljahresschrift Naturforsch. Ges. Zürich*, pages 189–209, 1895.
- [7] E. Gorter and F. Grendel. On bimolecular layers of lipid on the chromocytes of the blood. *J. Exp. Med.*, 41:439–443, 1925.
- [8] J. F. Danielli, H. Davson. A contribution to the theory of permeability of thin films. *J. Cell Comp. Physiol.*, 5:495–508, 1935.
- [9] Thomas Heimburg. Thermal Biophysics of Membranes. *WILEY-VCH*, 2007.
- [10] S. J. Singer and Garth L. Nicolson. The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes. *Science*, 175(4023):720–731, 1972.
- [11] Kai Simons, Gerrit Van Meer. Lipid sorting in epithelial cells. *Biochemistry*, 27 (17):6197–6202, 1988.
- [12] Simons K, Ikonen E. Functional rafts in cell membranes. *Nature*, 387(6633):569–572, 1997.
- [13] G. Espinosa, I. L. Montero, F. Monroy, D. Langevin. Shear rheology of lipid monolayers and insights on membrane fluidity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(15), 2011.

- [14] Derek Marsh. Lateral pressure in membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1286 (3):183–223, 1996.
- [15] Jon Goerke. Pulmonary surfactant: functions and molecular composition. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1408(2):79–89, 1998.
- [16] Guyton y Hall. Compendio de Fisiología médica. *Elsevier*, 12a edición, 2012.
- [17] Mason T G, Ganesan K, Van Zanten J H, Wirtz D y Kuo S C. Particle tracking microrheology of complex fluids. *Phys. Rev. Lett*, 79(17):3282–3285, 1997.
- [18] Starrs L, Bartlett P. Colloidal dynamics in polymer solutions: optical two-point microrheology measurements. *Faraday Discussions*, 123(123):323–334, 2003.
- [19] Strick T R et al. Stretching of macromolecules and proteins. *Rep. Prog. Phys*, 66 (1):598–602, 2003.
- [20] Mahaffy R E, Shih C K, MacKintosh F C y Kas J. Scanning probe based frequency dependent microrheology of polymer gels and biological cells. *Phys. Rev. Lett*, 85 (4):880–883, 2000.
- [21] J. A. F. Plateau. Experimental and theoretical researches into the figures of equilibrium of a liquid mass without weight. *Philosophical Magazine*, 38(257):445–455, 1869.
- [22] Bruce Alberts, et al. Biología molecular de la célula. *Omega*, 5 edición, 2010.
- [23] Gerrit van Meer, Dennis R. Voelker, y Gerald W. Feigenson. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nature reviews molecular cell biology*, 9(2): 112–124, 2008.
- [24] Jacob N. Israelachvili. Intermolecular and surface forces. *Academic Press*, 3a edición, 2011.
- [25] Eduardo de Robertis, José Hib. Fundamentos de Biología celular y molecular. *El Ateneo*, 2004.
- [26] Arthur W. Adamson, Alice P. Gast. Physical chemistry of surfaces. *John Wiley and Sons, Inc., Canada*, 6a. edición, 1997.
- [27] M. Daoud, C.E. Williams. Soft Matter Physics. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany*, 1a. edición, 1997.
- [28] Gilbert W. Castellan. Physical Chemistry. *Addison Wesley, Inc., Massachusetts*, 3a. edición, 1983.

- [29] Enrico Fermi. Thermodynamics. *Dover Publications, Inc., New York*, 1937.
- [30] L. D. Landau, E. M. Lifshitz. Theory of elasticity. *Pergamon press*, 3a. edición. Vol 7, 1986.
- [31] Cristopher W. Macosko. Rheology principles, measurements and applications. *Wiley-VHC, Inc., Canada*, 1994.
- [32] James F. Steffe. Rheological methods in food process engineering. *Freeman press*, 2a. edición., 1986.
- [33] Ronald G. Larson. The structure and rheology of complex fluids. *Oxford University Press*, 1999.
- [34] J. Lyklema. Fundamentals of interface and colloid science. *Academic press*, Vol 3, 2000.
- [35] Jan Pelipenko, et al. Interfacial rheology: An overview of measuring techniques and its role in dispersions and electrospinning. *Acta pharmaceutica*, 62(2):123–140, 2012.
- [36] Loópez-Montero, Iván and Catapano, Elisa R and Espinosa, Gabriel and Arriaga, Laura R and Langevin, Dominique and Monroy, Francisco. Shear and compression rheology of langmuir monolayers of natural ceramides: solid character and plasticity. *Langmuir*, 29(22):6634–6644, 2013.
- [37] Gabriel Espinosa, Iván López-Montero, Francisco Monroy, and Dominique Langevin. Shear rheology of lipid monolayers and insights on membrane fluidity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(15):6008–6013, 2011.
- [38] Armando Maestro, Laura J Bonales, Hernan Ritacco, Thomas M Fischer, Ramón G Rubio, and Francisco Ortega. Surface rheology: macro-and microrheology of poly (tert-butyl acrylate) monolayers. *Soft Matter*, 7(17):7761–7771, 2011.
- [39] SQ Choi, S Steltenkamp, JA Zasadzinski, and TM Squires. Active microrheology and simultaneous visualization of sheared phospholipid monolayers. *Nature communications*, 2:312, 2011.
- [40] Roie Shlomovitz, Arthur A Evans, Thomas Boatwright, Michael Dennin, and Alex J Levine. Measurement of monolayer viscosity using noncontact microrheology. *Physical review letters*, 110(13):137802, 2013.
- [41] Frederick. Wooten. Optical properties of solids. *Academic Press, INC*, 2013.

- 
- [42] H. C. Booij, G. P. J. M. Thoone. Generalization of Kramers-Kronig transforms and some approximations of relations between viscoelastic quantities. *Rheologica Acta*, 21(1):15–24, 1982.