



*Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*

*Instituto de Física y Matemáticas*

# Reología de compresión oscilatoria en membranas DPPC/POPC

Tesis

que para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias en el área de Física**

presenta

**José Luis Méndez Montes de Oca**

Morelia, Michoacán. Febrero del 2014

Director de tesis:  
Doctor en ciencias en el área de física Gabriel Espinosa Pérez

Instituto de Física y Matemáticas,  
UMSNH.

## Agradecimientos

*A mi esposa, por que a tu lado todos los caminos son caminos con corazón.  
A mi madre y hermana, por apoyarme incondicionalmente.  
Este logro es de ustedes.*

*A mi futuro hijo(a), por la fortaleza que me infunde tu vida.*

*A todos los maestros que han contribuído a mi formación, por su gran dedicación y don de enseñanza.*

*A mi asesor, por haberme mostrado una nueva forma de entender a la naturaleza.*

*A mis compañeros, por todas las horas de grata discusión sobre la física y sobre la vida. Sin ustedes esto no sería posible.*

# Índice general

<b>Contenido</b>	<b>I</b>
<b>Introducción</b>	<b>5</b>
0.1. Motivación por la monocapa mixta DPPC-POPC . . . . .	5
0.1.1. Interés fisiológico por el DPPC y POPC . . . . .	5
0.1.2. Interés en el efecto de la insaturación y en la diferencia de tamaño de las cadenas de hidrocarburos . . . . .	7
<b>1. Conceptos Fundamentales</b>	<b>9</b>
1.1. Termodinámica de las superficies . . . . .	9
1.1.1. Conceptos de superficie e interfase . . . . .	9
1.1.2. Tensión superficial . . . . .	10
1.2. Capas superficiales de Langmuir y surfactantes . . . . .	14
1.3. Presión superficial . . . . .	15
1.4. Fases de las monocapas de Langmuir . . . . .	15
1.4.1. Fase Gaseosa . . . . .	18
1.4.2. Transiciones de fases de gas a líquido . . . . .	18
1.5. Fases condensadas . . . . .	18
1.5.1. Líquido expandido $L_1$ . . . . .	19
1.5.2. Líquido condensado $L_2$ . . . . .	19
1.5.3. Líquido condensado $L'_2$ . . . . .	19
1.5.4. Líquido sólido $LS$ . . . . .	20
1.5.5. Estado sólido $S$ . . . . .	20

1.5.6.	Cristal sólido $CS$ . . . . .	20
1.5.7.	Punto de colapso . . . . .	20
1.6.	Fluidos complejos y su dinámica . . . . .	20
1.6.1.	Tensor gradiente de deformación . . . . .	21
1.6.2.	Tensor de esfuerzo . . . . .	22
1.6.3.	Tensor gradiente de velocidades . . . . .	23
1.6.4.	Relaciones termodinámicas de la deformación . . . . .	24
1.6.5.	Esfuerzo de cizallamiento y viscosidad de cizallamiento. Líquidos puramente viscosos . . . . .	24
1.6.6.	Viscoelasticidad: Fluídos complejos . . . . .	26
<b>2.</b>	<b>Materiales y métodos</b>	<b>29</b>
2.1.	Lípidos: surfactantes biológicos . . . . .	29
2.1.1.	Constitución química del DPPC y POPC. . . . .	29
2.2.	Balanza de Langmuir . . . . .	34
2.3.	Medición de la presión mediante la placa de Wilhelmy . . . . .	34
2.4.	Isotermas de compresión . . . . .	35
2.5.	Módulo de compresión uniaxial . . . . .	36
2.6.	Reología de compresión oscilatoria . . . . .	38
<b>3.</b>	<b>Resultados</b>	<b>41</b>
3.1.	Isotermas de compresión . . . . .	41
3.2.	Reología de compresión . . . . .	47
<b>4.</b>	<b>Discusión</b>	<b>53</b>
4.1.	Antecedentes e hipótesis de formación de dominios . . . . .	53
4.2.	Área de exceso y energía de mezclamiento . . . . .	55
4.3.	Interacción macroscópica . . . . .	58
<b>5.</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>61</b>
5.1.	Perspectivas a futuro . . . . .	62



# Lista de símbolos

símblo	cantidad
$V$	Volumen
$u$	Energía
$S$	Entropía
$T$	Temperatura
$P$	Presión
$A$	Área superficial
$n_i$	Número de moles
$\mu^i$	Potencial químico
$\chi_i$	Fracción de concentración
$W$	Trabajo mecánico
$G$	Energía libre de Gibbs
$F$	Energía libre de Helmholtz
$G^\sigma$	Energía libre de Gibbs superficial
$F^\sigma$	Energía libre de Helmholtz superficial
$n_i^\sigma$	Número de moles superficial
$\gamma$	Tensión superficial
$\gamma_0$	Tensión superficial de la subfase pura
$\Pi$	Presión superficial
$L_1$	Fase líquido expandido
$L_2$	Fase líquido condensado (smectic I)
$L'_2$	Fase líquido condensado (smectic F y H)
$LS$	Fase líquido sólido
$S$	Fase de estado sólido
$CS$	Fase de sólido cristalino
$E$	Módulo total de compresión
$K$	Módulo de compresión isotrópico
$\eta$	Módulo de cizallamiento
$w$	Frecuencia angular
$\phi_u$	Desfase de estiramiento
$\phi_\Pi$	Desfase de esfuerzo
$u_0$	Amplitud de la deformación
$\sigma_0$	Amplitud del esfuerzo

$\sigma(t)$	Esfuerzo
$u(t)$	Deformación
$E^*$	Módulo viscoelástico complejo
$E'$	Módulo de elasticidad
$E''$	Módulo de viscosidad
$E_0$	Módulo de compresión uniaxial
$E_{0max}$	Valor máximo del módulo de compresión uniaxial

# Abstract

In this thesis we studied the surface properties of lipid mixture DPPC/POPC, motivated by the biological interest that this mixtures represent, given its importance as a main component in lung surfactants. In this work, we utilized the experimental technique of Langmuir monolayers as a model of phospholipid membranes at the air/water interface. We performed oscillatory compression cycles to obtain the dilatational rheology from the model membranes, and also to obtain information on the mechanical response of membranes under dilatational strain. The most important result, was the unexpected negative elastic modulus. These results were interpreted assuming a cooperative interaction between DPPC and POPC molecules that favors the formation of domains, and due to the irreversibility of compression cycles applied to the model membrane.

**Keywords:** model lung membranes, compress rheology, negative elasticity.

# Resumen

En el presente trabajo de tesis, se estudiaron las propiedades superficiales de la mezcla de lípidos DPPC/POPC siguiendo el interés biológico que esta mezcla presenta, dada su importancia como el principal componente del surfactante pulmonar. En este trabajo, se utiliza como modelo de membrana fosfolípida en la interfase aire/agua la técnica experimental de la balanza de Langmuir para investigar las propiedades superficiales de la membrana. Realizamos ciclos de compresión oscilatoria para obtener la reología dilatacional de las membranas modelo, y también para obtener información sobre la respuesta mecánica de las membranas después de una deformación dilatacional.

La característica más importante obtenida en estas mediciones, fue que los módulos de elasticidad tomaran valores negativos. Estos resultados fueron interpretados asumiendo una interacción cooperativa entre las moléculas de DPPC y POPC que propicia la formación de dominios.

**Palabras clave:** membranas pulmonares modelo, reología de compresión, elasticidad negativa.

# Introducción

En el presente capítulo se presentan las distintas motivaciones por las que se eligió estudiar la mezcla particular constituida por los fosfolípidos dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y 1-palmitoil,2-oleil fosfatidilcolina (POPC), tanto desde los puntos de vista fisiológico y médico, como desde el punto de vista de la ciencia básica. Finalmente se discute brevemente sobre la diferencia estructural entre ambos lípidos.

## 0.1. Motivación por la monocapa mixta DPPC-POPC

### 0.1.1. Interés fisiológico por el DPPC y POPC

Cientos de lípidos pueden ser encontrados en cantidades diferentes en los sistemas biológicos, como en los organelos celulares, en las membranas celulares y en el tejido adiposo. Una función importante desempeñada por los lípidos es la de surfactante pulmonar, en donde una capa lípida se encarga de definir la interfase aire/agua dentro de los pulmones permitiendo la respiración. Existen dos etapas de interés en la función del surfactante pulmonar:

***i*) La conversión de las bicapas vesiculares en una capa interfásial resistente al colapso.**

Dentro de los pulmones, existen unas células especializadas (pneumocitos tipo II) en sintetizar moléculas lípidas y proteínas que posteriormente secretan en forma de cuerpos lamelares (multicapas); formando una mezcla conformada por, aproximadamente:

- 80 % fosfolípidos, de los cuales 30-40 % es DPPC.

- 5-10% compuestos que contienen colesterol.
- 5-10% proteínas surfactantes.

Esta mezcla es adsorbida (mediante un proceso aún desconocido) por la interfase aire/agua en los alveolos. Las cantidades de la mezcla que secretan los pneumocitos es bien conocida, pues se ha obtenido directamente mediante lavados broncoalveolares (ver [9] y referencias dentro). Sin embargo, poco se conoce sobre la interfase aire/agua, lo más aceptado es que está conformada por un surfactante rico en DPPC, puesto que éste es el único capaz de resistir las altas presiones superficiales (46 mN/m a temperaturas fisiológicas) que experimenta el surfactante pulmonar durante la exhalación sin llegar al punto de colapso [9]. Esta propiedad la adquiere gracias a que, por ser un fosfolípido saturado, su temperatura de fusión es alta (41 °C), por lo que a temperatura fisiológica presenta una fase tipo gel. Mas aún, la resistencia al colapso implica estructuras con la rigidez de una capa en estado sólido. Se sabe ampliamente que el DPPC presenta estructuras muy ordenadas en estas condiciones y que resiste altas presiones antes del colapso [3, 11]. Otra propiedad única del DPPC de interés fisiológico, es la de reducir la tensión superficial a valores cercanos a cero [2]. Esto tiene interés fisiológico puesto que una tensión superficial baja en los alveolos implica que el surfactante es estable [9].

## ***ii)* La redistribución del surfactante**

Durante la inhalación, el surfactante pulmonar necesita redistribuirse en la monocapa, implicando deformaciones y flujo del tipo de cizallamiento, para lo cual, debería ayudarse de otras fosfatidilcolinas insaturadas (como el POPC) y otros lípidos surfactantes que disminuyan la temperatura de transición de la mezcla ayudando a que sea más fluida [2]. De ahí el interés por estudiar las mezclas del DPPC con otros fosfolípidos, ácidos grasos y lípidos neutrales. Lo más deseable es que se llegue a conocer la función de cada uno de los otros componentes lípidos en el surfactante, por lo que es importante estudiar las distintas mezclas. Tal como se comenta en [20], trabajos recientes apuntan al hecho de que las capas lípidas presentan viscosidad, propiedad que puede contribuir a su gran estabilidad. Por esta razón es de gran importancia conocer también las propiedades dinámicas de estas mezclas de lípidos en la interfase aire/agua.

## **Interés médico**

Un objetivo adicional al de entender el mecanismo molecular asociado a la función del surfactante, es el de definir los requerimientos mínimos en la composición

de un surfactante terapéutico efectivo. Una de las mayores causas de mortalidad en recién nacidos, es la del síndrome de dificultad respiratoria infantil (IRDS por sus siglas en inglés), que es debida a que los pulmones de los bebés prematuros todavía no producen la cantidad necesaria de surfactante, puesto que dicho sistema culmina su desarrollo en las últimas semanas de gestación. También se presentan casos de dificultad respiratoria aguda (ARDS por sus siglas en inglés) causada entre otras cosas, por un mal funcionamiento del surfactante pulmonar, el cual produce la filtración de componentes sanguíneos a las vías respiratorias, para finalizar en una insuficiencia respiratoria grave. Aunque ya existen surfactantes exógenos para tratar el IRDS y forman incluso parte de la rutina en la práctica terapéutica, no se tienen surfactantes efectivos para tratar el ARDS (ver [19] y referencias dentro), lo cual nos invita a tener una comprensión más amplia del surfactante pulmonar, tanto de sus propiedades químicas, como de sus propiedades mecánicas y termodinámicas.

### 0.1.2. Interés en el efecto de la insaturación y en la diferencia de tamaño de las cadenas de hidrocarburos

Es clara la importancia biológica del DPPC y sus mezclas con otros fosfolípidos, sin embargo, es necesario justificar las razones por las que se eligió la mezcla particular DPPC-POPC. El POPC es un fosfolípido estructuralmente muy similar al DPPC, salvo porque contiene una cadena insaturada (con un enlace doble entre carbonos, como se verá en el capítulo de materiales y métodos) en uno de los ácidos grasos que lo componen. Esta característica de insaturación disminuye su punto de fusión, de manera que en esta mezcla especial, coexisten la fase en gel del DPPC y la fase líquida del POPC, aparentemente formando dominios. La reología de esta mezcla no se ha reportado en la literatura y es poco lo que se conoce sobre el efecto de la insaturación en las mezclas de lípidos. Es también importante enfatizar una diferencia importante más: el largo de las cadenas de carbono no es el mismo; los ácidos grasos que contiene el DPPC (ácidos palmíticos) tienen cadenas de 16 carbonos, mientras que el POPC contiene una cadena de ácido palmítico y una de ácido oleico, la cual consta de 18 carbonos. Esta diferencia en el largo de las cadenas también es un factor a tomar en cuenta en el comportamiento de la monocapa.

## 0.1. MOTIVACIÓN POR LA MONOCAPA MIXTA DPPC-POPC

---

# Capítulo 1

## Conceptos Fundamentales

### 1.1. Termodinámica de las superficies

#### 1.1.1. Conceptos de superficie e interfase

En la física de superficies, se atiende a las propiedades debidas a la formación de la zona intermedia entre dos estados de agregación de una misma sustancia, o bien, entre dos sustancias con diferentes propiedades moleculares; estén o no en el mismo estado de agregación. Dicha zona intermedia es lo que se conoce como interfase, el cual es un concepto más bien matemático, que ayuda a entender el sistema desde el punto de vista macroscópico. Lo que a simple vista puede parecer una superficie delgada, con un perfil de equilibrio bien definido, a nivel molecular es una región con gran agitación. Un líquido coexistiendo en el equilibrio con su fase gaseosa tendrá en la interfase 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. Habrá también moléculas moviéndose hacia capas profundas del líquido y otras que suben a la “superficie”. Así, la densidad promedio de partículas del sistema (o la concentración si es una mezcla), varía de manera continua al pasar de una fase a otra o de un medio a otro. Debido a esta falta de fronteras definidas en la región interfásica, se hace necesario inventar una división matemática de la superficie. La definición termodinámica de la superficie es la siguiente: se asignan las cantidades termodinámicas extensivas a cada fase asumiendo que estas no cambien salvo en la región superficial. Los valores del sistema como un todo no serán iguales a la suma de las cantidades de cada fase; la diferencia entre estas y los valores totales serán consideradas como cantidades termodinámicas propias de la región superficial. Es decir, si definimos  $V$ ,  $u$ ,  $S$  y  $n$  como volumen, energía, entropía y número de moles,

respectivamente, tenemos:

$$V = V^\alpha + V^\beta. \quad (1.1)$$

$$u = u^\alpha + u^\beta + u^\sigma. \quad (1.2)$$

$$S = S^\alpha + S^\beta + S^\sigma. \quad (1.3)$$

$$n_i = n_i^\alpha + n_i^\beta + n_i^\sigma. \quad (1.4)$$

Donde los superíndices  $\alpha$  y  $\beta$  se refieren a las dos fases en contacto inmiscible y las cantidades con superíndice  $\sigma$  son referidas a la interfase [1].

### 1.1.2. Tensión superficial

Abordemos el tema primeramente desde un punto de vista molecular. Como ejemplo de explicación, consideraremos la interfase aire/líquido, la cual es la que concierne a este trabajo. Dentro de un líquido, las moléculas tienen cierta atracción entre ellas<sup>1</sup>. La forma de esta atracción depende de las propiedades de la sustancia. En el agua, las fuerzas de los enlaces hidrógeno tienden a configurar redes hasta cierto punto bien definidas, de manera que la fuerza neta en cada molécula (inmersa en el volumen del líquido) es nula, puesto que experimentan fuerzas atractivas hacia todas sus moléculas vecinas, es decir, hacia todas direcciones (ver figura 1.1). Las moléculas que se encuentran en la superficie del líquido experimentan un desequilibrio de fuerzas debido a que no son atraídas hacia todas direcciones, sino que tienen mayor atracción hacia la región líquida que hacia la región gaseosa, en la cual, las moléculas están muy separadas unas de otras y su interacción con ellas es más débil. Por esta razón, la fuerza neta atractiva estará dirigida preferentemente hacia la región líquida. Por lo tanto, la interfase aire/agua tenderá a minimizar su área y consecuentemente se contraerá.

Macroscópicamente, lo que se observa es una fuerza que tiende a contraer la superficie. Considerando que esta fuerza sea uniforme en una región de la superficie, es conveniente definir una *densidad de fuerza por unidad de longitud*  $\gamma$ . Esta densidad de fuerza es lo que se conoce como tensión superficial. El concepto macroscópico se comprende mejor mediante el siguiente ejemplo cotidiano: consideremos una película de jabón estirada sobre un marco delgado con un lado móvil (figura 1.2).

---

<sup>1</sup>Aquí la palabra *atracción* se refiere a las interacciones del tipo de potencial a pares  $w(r)$ , que son principalmente de naturaleza electrodinámica (interacción carga-carga, carga-dipolo, dipolo-dipolo) y cuántica (enlaces covalentes). En el caso del agua, juegan un papel importante los efectos entrópicos. Todas estas interacciones se discuten ampliamente en la referencia [10]

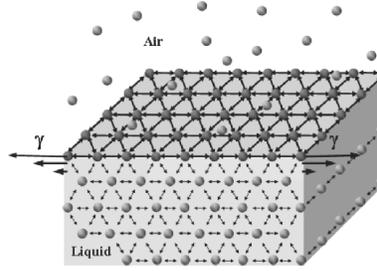


Figura 1.1: Tensión superficial en la interfase aire/agua. Figura adaptada de referencia [8]

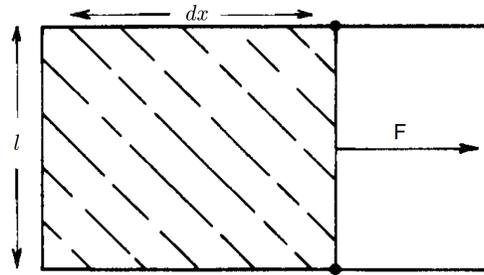


Figura 1.2: Una película de jabón estirada a través de un marco delgado con un lado móvil. Figura adaptada de referencia [1]

Experimentalmente se observa que una fuerza actúa en el lado móvil en dirección opuesta a la flecha del diagrama. Si  $\gamma$  es la fuerza por unidad de longitud, entonces la fuerza que actúa en el móvil es  $F = \gamma l$  y el trabajo hecho para extender el lado móvil una distancia  $dx$  en dirección de la flecha del diagrama es:

$$\begin{aligned} dW &= \gamma l dx \\ &= \gamma dA. \end{aligned} \tag{1.5}$$

Con  $dA = l dx$  el cambio en el área. De esta manera, una segunda formulación de la tensión superficial consiste en tratarla como una energía por unidad de área. Notemos que conceptualmente esta es una energía mecánica. Las unidades usuales de  $\gamma$  son  $\frac{J}{m^2}$  o bien  $N/m$  [1, 8]. Existe otra forma de derivar la tensión superficial dentro del contexto termodinámico. Esta conexión se hace posible mediante el concepto de energía libre del sistema. Para entender esto, pensemos en otro sistema hipotético, consistente en un líquido que llene por completo un recipiente. Consideremos que este recipiente tiene una tapa deslizante y el material es tal, que la tensión interfasial entre el líquido y la tapa es cero (figura 1.3).

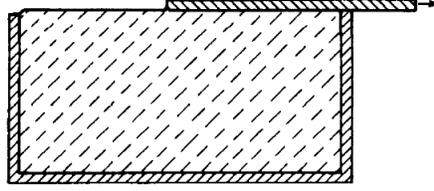


Figura 1.3: Creación ideal de una superficie. Figura adaptada de referencia [1]

Si la tapa se desliza de manera que descubra una cantidad de superficie  $dA$  de forma cuasiestática, el trabajo requerido para hacerlo será  $dW = \gamma dA$ . El cual es un trabajo reversible. Estableceremos las siguientes hipótesis: el proceso se realiza a temperatura y presión constante y el número de moles de las sustancias que componen el líquido no cambia. Ahora bien, recordemos que por definición, la energía libre de Gibbs ( $G$ ) es:

$$G = u + PV - TS, \quad (1.6)$$

con  $u$  la energía total del sistema y con  $P$ ,  $V$ ,  $T$  y  $S$ ; presión, volumen, temperatura y entropía. Luego, la diferencial  $dG$  es:

$$dG = du + VdP + PdV - SdT - TdS, \quad (1.7)$$

y la energía total del sistema es, de manera general; con  $\mu^i$  y  $n_i$  el potencial químico y el número de moles, respectivamente de la  $i$ -ésima sustancia en el sistema:

$$du = TdS - PdV + \sum \mu^i dn_i + dW_{util}, \quad (1.8)$$

donde  $TdS$  es el cambio de calor debido a la naturaleza reversible de nuestro proceso y  $dW_{util}$  es una cantidad de trabajo no expansivo ni químico [6] ( $dW_{util}$  es pues el trabajo que hicimos sobre el sistema para crear la superficie). Sustituyendo  $du$  en  $dG$ , tenemos:

$$dG = \sum \mu^i dn_i + dW_{util} + VdP - SdT. \quad (1.9)$$

Puesto que el proceso se ha efectuado a temperatura y presión constantes, y el número de moles se mantiene también constante, tenemos que

$$dG = dW_{util}. \quad (1.10)$$

Es decir, que el trabajo requerido para crear la superficie resulta ser igual en magnitud a la energía libre de Gibbs [6]. Así, nos es posible escribir:

$$dG = \gamma dA. \quad (1.11)$$

De esta manera podemos definir la tensión superficial como una energía libre de la superficie:

$$\gamma = \left( \frac{\partial G}{\partial A} \right)_{T,P} = G^\sigma. \quad (1.12)$$

Donde  $\sigma$  denota el carácter superficial del potencial de Gibbs ( $G^\sigma$ ), acorde con nuestra notación previa. De forma similar, partiendo de la definición de la energía libre de Helmholtz [6]

$$F = u - TS. \quad (1.13)$$

Tenemos

$$\begin{aligned} dF &= du - SdT - TdS \\ &= dW_{util} - SdT - PdV + \sum \mu^i dn_i. \end{aligned} \quad (1.14)$$

Finalmente:

$$\gamma = \left( \frac{\partial F}{\partial A} \right)_{T,V} = F^\sigma. \quad (1.15)$$

De forma análoga, el cambio en la energía libre de Helmholtz es igual (la igualdad se cumple sólo cuando los procesos son reversibles) en magnitud al trabajo hecho sobre el sistema durante una transformación bajo las siguientes condiciones: que la transformación se realice a T constante, siendo T la temperatura del ambiente y que el sistema intercambie calor sólo con el ambiente [6]. Bajo estas dos condiciones, tenemos que

$$W = \Delta F^\sigma = \gamma A, \quad (1.16)$$

donde  $\sigma$  denota el carácter superficial. Como  $F$  es una función potencial, podemos simplemente escribir:

$$F^\sigma = \gamma A. \quad (1.17)$$

Finalmente:

$$\gamma = \frac{F^\sigma}{A} \quad (1.18)$$

Nótese que, dadas las hipótesis hechas para encontrar esta ecuación, sólo es válida cuando un líquido puro está en equilibrio con su vapor saturado en la interfase plana. Las dos formulaciones de la tensión superficial ya discutidas (en términos de trabajo mecánico y de los potenciales termodinámicos) son útiles tanto conceptualmente como experimentalmente.

La tensión superficial es responsable de efectos interesantes y cotidianos como la formación de meniscos en tubos estrechos, la formación de gotas por líquidos en aire o en otros líquidos, la formación de películas delgadas, la forma ondulatoria de los filamentos del agua al caer en una llave. Un efecto similar de esto último pero que se puede apreciar de forma estática, es la forma ondulada de los hilos de telarañas [1, 10].

## 1.2. Capas superficiales de Langmuir y surfactantes

Una capa de Langmuir consiste de materiales adsorbidos en la interfase, ya sea líquido-líquido o líquido-gas; que son *activos superficialmente*, es decir, materiales que tienen la propiedad de cambiar la tensión superficial del sistema. Por esta razón reciben el nombre de surfactantes o tensoactivos. Los surfactantes son moléculas anfifílicas, esto es; tienen una parte hidrofílica y una parte hidrofóbica. Los grupos hidrofílicos experimentan una atracción hacia medios polares (como el agua) y las fuerzas que actúan sobre ellos son predominantemente tipo Coulomb ( $1/r^2$ ), ejemplos de estos son los ácidos carboxílicos, sulfatos, aminas y alcoholes. Los grupos hidrofóbicos son mucho menos solubles en agua (si no es que del todo insolubles) y las fuerzas que actúan sobre ellos son predominantemente del tipo van der Waals ( $1/r^{12}$  y  $1/r^6$ ), ejemplos de ellos son los alcanos, grasas y lípidos. Debido a esta característica tan especial en la estructura de las moléculas anfifílicas, estas pueden ser atrapadas en la interfase aire/agua.

Cuando los surfactantes, disueltos en un solvente volátil orgánico<sup>2</sup>, son depositados en la superficie de un líquido polar, el solvente se evaporará dejando a los lípidos orientados en la interfase líquido/gas: los grupos hidrofílicos estarán inmersos en el agua y los tallos hidrofóbicos apuntarán hacia el aire. La formación de una monocapa (capa de una sola molécula de espesor) sólo será posible si existe el balance necesario entre las partes hidrofílica e hidrofóbica. Si el grupo hidrofóbico es demasiado corto (si no es suficientemente hidrofóbico), las moléculas pueden formar películas delgadas en multicapas en la superficie o incluso pueden evaporarse [8]. La película producida mediante este método es conocida como capa de Langmuir<sup>3</sup>. La balanza de Langmuir consiste en colocar unas barreras deslizables sobre la superficie del agua que comprimen el área en donde se encuentran las moléculas surfactantes, haciendo que la monocapa sea más compacta y las moléculas se ordenen en alguna configuración cristalina.

El interés científico por el estudio de las capas monomoleculares se remonta al año 1774, cuando Benjamin Franklin reportaba [7] ante la Royal Society su descubrimiento sobre la observación de que la amplitud del oleaje en un estanque disminuye al verter una cucharada de aceite sobre su superficie (lo que el notó fue el efecto de la disminución en la tensión superficial). Posteriormente, Agnes Pockels mostró cómo las películas delgadas podrían ser confinadas por medio de barreras, encontró tam-

---

<sup>2</sup>No todos los surfactantes son solubles en solventes orgánicos, sólo los lípidos y algunos ácidos grasos, los cuales se tratarán más a fondo.

<sup>3</sup>Un método similar pero con anfifilos que son solubles en agua constituye lo que se denomina capa de gibbs. En la cual los anfifilos son adsorbidos por la interfase aire/agua y las moléculas se encuentran “acostadas” en la superficie.

bién que la tensión superficial en las capas de ácidos grasos cambiaba muy poco hasta que fueran confinados a un área correspondiente a  $20\text{\AA}^2$ /molécula. Sus ideas, expresadas en cartas a Lord Rayleigh fueron publicadas [21] en 1891. Irwin Langmuir en 1917 ideó el dispositivo para el estudio de películas monomoleculares desarrollando la técnica usada por Pockels. Confinó la monocapa con una barrera rígida pero ajustable en un lado, y una barrera movable en el otro lado. Para evitar que las moléculas de la monocapa escaparan de la barrera movable, introdujo pequeños chorros de aire. También ideó la forma de medir directamente la presión superficial[1], término que será explicado a detalle en la siguiente sección.

### 1.3. Presión superficial

Como se discutió anteriormente, la interfase libre aire/líquido posee un exceso de energía libre, es de esperar, por tanto, que la formación espontánea<sup>4</sup> de una monocapa al colocar un surfactante anfifílico sobre la superficie líquida, afecte la tensión superficial. La región hidrofílica de las moléculas de la monocapa surfactante hará que estas interactúen entre sí de forma repulsiva y el efecto resultante será la reducción de la tensión superficial. Si el área superficial disponible de la monocapa es reducida (lo cual es posible mediante las barreras móviles de la balanza de Langmuir), la distancia intermolecular decrece y la tensión superficial disminuye, pues la fuerza de repulsión de los grupos hidrofílicos es mayor. Macroscópicamente, se detecta un análogo bidimensional a la presión, debido a la fuerza que las moléculas ejercen sobre las barreras. Este efecto se denomina presión superficial  $\Pi$  y se define como[8]:

$$\Pi = \gamma_0 - \gamma, \quad (1.19)$$

donde  $\gamma_0$  es la tensión superficial del líquido puro y  $\gamma$  es la tensión superficial de la superficie cubierta por la monocapa. Es decir,  $\Pi$  representa la reducción de la tensión superficial del líquido puro por la presencia de la capa interfásial.

### 1.4. Fases de las monocapas de Langmuir

Como se vio previamente, la presión superficial  $\Pi$  es un análogo bidimensional de la presión, parece intuitiva entonces, la necesidad de tener un diagrama de fase

---

<sup>4</sup>Aquí, la palabra *espontánea* tiene el significado usual en el contexto de la física: teórica y experimentalmente, el sistema es estudiado una vez que la monocapa está formada, es decir, cuando las moléculas que la constituyen han sido colocadas de tal manera que llenan uniformemente un área conocida de superficie (puede definirse un área molecular promedio) y el solvente utilizado se ha evaporado.

de estos sistemas bidimensionales. A continuación se presentan las diferentes fases y mesofases de las monocapas de Langmuir. En la Figura 1.4 se muestra un diagrama característico. En la referencia [11] se hace una recopilación de diagramas obtenidos experimentalmente discutiendo las fases y sus transiciones.

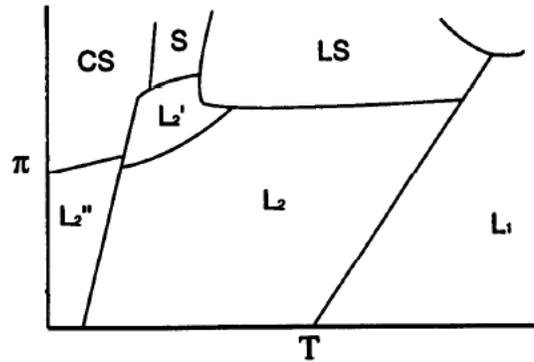


Figura 1.4: Diagrama de fase característico de sistemas monocapa adaptado de [1]. Se muestran las fases líquido expandido ( $L_1$ ), líquido condensado ( $L_2$  y  $L_2'$ ), líquido sólido ( $LS$ ), estado sólido ( $S$ ) y cristal sólido  $CS$

Si bien, los diagramas de fase como el mostrado en la Figura 1.4 son muy ilustrativos y permiten conocer en qué parámetros se encuentran las diferentes fases de las capas de Langmuir, su obtención experimental es un trabajo arduo y no existe aún una ecuación de estado general para estos sistemas. Una ruta más fácil de conocer acerca del estado de una monocapa consiste en el análisis e interpretación de sus isotermas. De esta forma, las isotermas son una de las características más fundamentales de un sistema de monocapa. Con ellas es posible obtener parámetros importantes del sistema como: la presión superficial de colapso, el módulo de compresión, la tensión superficial máxima y las áreas moleculares promedio. Aún así, las isotermas muestran características difíciles de interpretar actualmente, como la naturaleza no horizontal (presión no constante) del plano que exhiben las isotermas de muchas monocapas de lípidos correspondiente a una coexistencia de las fases líquida expandida y líquida condensada. Esto ha sido causa de debate hasta nuestros días [11]. En la Figura 1.5 se muestra dicho comportamiento en el DPPC, reportado en [3] para diferentes temperaturas y con experimentos llevados a cabo mediante compresión y expansión; mostrando la naturaleza reversible del procedimiento.

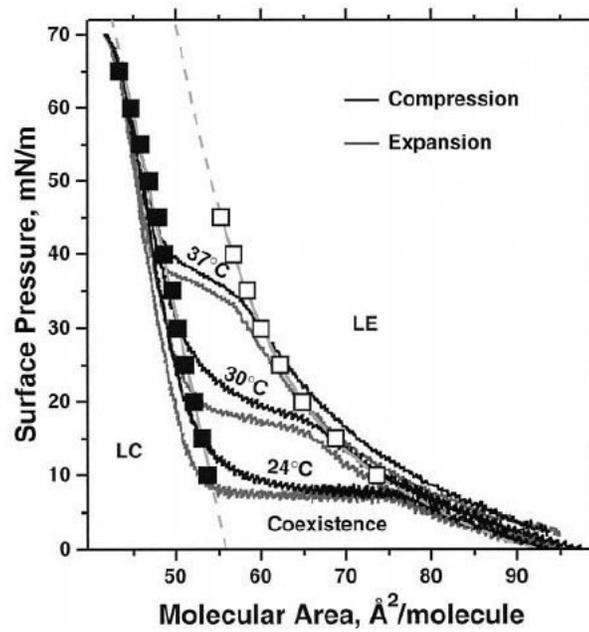


Figura 1.5: Isotermas características del DPPC. Líneas negras indican compresión y grises expansión. Se observa la región del estado líquido expandido (LE) en áreas mayores a  $70 \text{\AA}^2/\text{molécula}$  y la región del estado líquido condensado (LC) en áreas menores a  $55 \text{\AA}^2/\text{molécula}$ . Adaptado de [3].

### 1.4.1. Fase Gaseosa

A bajas densidades y presiones superficiales, el área disponible por molécula es mayor que la sección transversal de la monocapa y se obedecen las ecuaciones de estado bidimensionales, por ejemplo, el análogo bidimensional de la ecuación de estado del gas ideal:

$$\Pi a = KT. \quad (1.20)$$

Con  $a$  el área molecular promedio y  $K$  la constante de Boltzmann [1].

### 1.4.2. Transiciones de fases de gas a líquido

Bajo una mayor compresión, este gas bidimensional puede condensar en una fase líquida expandida  $L_1$  mediante una transición de fase que según la evidencia experimental, es de primer orden (existe un calor latente de vaporización y coexistencia de fases a presión constante en las isothermas, esta coexistencia fue observada por primera vez en 1984 usando microscopía de fluorescencia utilizando DPPC [24]).

## 1.5. Fases condensadas

Durante la transición de gas a líquido, las capas de Langmuir presentan varias fases intermedias entre el estado líquido y el estado cristalino, conocidas en la teoría de cristales líquidos como *mesofases*. Sin entrar en mucho detalle, será útil saber un poco sobre su clasificación general, la cual se basa en los siguientes aspectos [23]:

- Orden Traslacional.
- Orden de orientación de las moléculas (cuando todas apuntan a una sola dirección, ésta se conoce como *director*.)
- Correlación entre capas (esto sólo en el caso tridimensional).
- Existencia de quiralidad.
- Tipo de estructura cristalina.

En el caso de las monocapas, se presentan mesofases del tipo *esméticas* [1, 11], las cuales se caracterizan por tener orden, tanto orientacional como traslacional. Por ejemplo, en la fase *smectic A*, el director es perpendicular al plano; en la fase *smectic B*, el director también es perpendicular al plano pero las moléculas se organizan en una red de hexágonos; etc. Bajo esta clasificación, están las fases *esméticas*

*hexáticas*; como son las *smectic B*, *smectic F*, *smectic I*; las cuales forman todas redes de hexágonos y se diferencian en sus orientaciones y en el rango de las correlaciones [23].

### 1.5.1. Líquido expandido $L_1$

En esta fase las moléculas forman un arreglo bidimensional e isotrópico. Recibe su nombre debido a que el área molecular promedio es mucho mayor que en los líquidos tridimensionales, en los cuales la fase líquida es de alrededor del 10% menos densa que su correspondiente fase sólida, mientras que una monocapa puede tener áreas moleculares del doble de las de su estado sólido. No existe aún una ecuación de estado para describir esta fase, pero se ha modelado con ecuaciones tipo Van der Waals modificadas y con simulaciones de Monte Carlo [1, 11].

### 1.5.2. Líquido condensado $L_2$

Es considerado como una capa semisólida formada por las cabezas polares hidratadas. Tiene un orden posicional de corto alcance con suficiente sección de área para permitir la rotación libre de las moléculas. Las moléculas se encuentran inclinadas un cierto ángulo respecto a la normal y dicho ángulo varía con la presión. Exhibe un comportamiento aproximadamente lineal en las gráficas  $\Pi - \sigma$  de las isothermas. Se le identifica también como *fase rotatoria* o *smectic I*.

### 1.5.3. Líquido condensado $L'_2$

$L_2^*$

Difiere de la fase  $L_2$  en la dirección de inclinación: Mientras que en la fase  $L_2$  las moléculas se inclinan hacia sus vecinos más cercanos, en esta fase ( $L_2^*$ ) las moléculas experimentan interacción con los siguientes vecinos cercanos. Esta fase recibe el nombre de *smectic F*.

$S^*$

Comprende las regiones de mayor  $\Pi$  y menor  $T$  en el dominio de  $L'_2$ . Está conformada por una red de parejas de diferente orientación llamada *smectic H* o fase de inclinación tipo *herringbone* cuya traducción literal es “espina de pescado”.

#### 1.5.4. Líquido sólido $LS$

En esta fase, las moléculas están orientadas en dirección normal a la superficie y forman un arreglo tipo hexático. Las moléculas pueden rotar de forma axialsimétrica. Esta fase recibe el nombre de *hexática esméctica BH*.

#### 1.5.5. Estado sólido $S$

En esta fase las cadenas hidrofóbicas se orientan normalmente a la superficie en celdas rectangulares, esto hace que cada celda tenga una rotación más restringida que en las fases hexáticas. Recibe también el nombre de *smectic E*. Se considera que la transición de la fase  $L - S$  a  $S$  es de segundo orden (no se observa una región de coexistencia a presión constante).

#### 1.5.6. Cristal sólido $CS$

Existe orden traslacional de largo alcance y las moléculas continúan orientadas verticalmente, formando así un cristal sólido bidimensional bien definido. La fase  $L''_2$  es también un tipo de cristal sólido altamente ordenado [11].

#### 1.5.7. Punto de colapso

Si la capa de Langmuir continúa comprimiéndose, llegará un punto en que las moléculas no puedan compactarse más y la capa colapsará, esto se ve experimentalmente en las isotermas como una repentina disminución en la presión superficial. Sin embargo, no se conoce aún la forma precisa en que ocurre el colapso. Se piensa que las moléculas podrían encimarse, o hundirse por debajo de la superficie líquida.

### 1.6. Fluidos complejos y su dinámica

Cuando se ejercen fuerzas externas sobre un sólido o un elemento de fluido, este reaccionará según las propiedades del material que lo constituye. Para conocer la dinámica del material, es necesario una ecuación que relacione la fuerza aplicada sobre él y la forma en que responde (tal como en la ecuación de Hooke). Dicha ecuación recibe el nombre de ecuación constitutiva. En las siguientes subsecciones se presentan los elementos básicos para construir este tipo de ecuaciones.

### 1.6.1. Tensor gradiente de deformación

El tipo de respuesta que un material presentará a un esfuerzo aplicado sobre él, dependerá de la razón entre el *tiempo de relajación del sistema* (el cual es un parámetro estadístico que tiene su origen en el tiempo promedio de duración de los enlaces intermoleculares) y el tiempo durante el cual se le aplica el esfuerzo [10]. Por esta razón, nos interesa conocer la “historia” de la deformación del material. Consideremos un punto en el material que en algún tiempo de referencia anterior a la deformación ( $t$ ) ocupó la posición  $\vec{r}(x_1, x_2, x_3)$ , y que en el tiempo posterior a la deformación ( $t'$ ) reside en la posición  $\vec{r}'(x'_1, x'_2, x'_3)$ . El desplazamiento de este punto debido a la deformación está dado por  $\vec{r}' - \vec{r}$ . Así, definimos al vector desplazamiento ( $\vec{u}$ ) como:

$$u_i = x'_i - x_i. \quad (1.21)$$

Cuando el cuerpo es deformado, las distancias entre sus puntos cambian. Consideremos dos puntos cercanos, si el radio vector que los une ante de la deformación es  $dx_i$ , el radio vector que los une en el cuerpo deformado es:

$$dx'_i = dx_i + du_i, \quad (1.22)$$

mientras que la distancia entre los puntos antes de la deformación es:  $dl = \sqrt{dx_1^2 + dx_2^2 + dx_3^2}$  y luego de la deformación  $dl' = \sqrt{dx_1'^2 + dx_2'^2 + dx_3'^2}$ , de manera que, omitiendo la sumatoria,  $dl'^2 = (dl + du_i)^2$  o más explícitamente  $dl'^2 = dl^2 + 2dl du_i + du_i^2$ . Luego, como las coordenadas del punto desplazado  $x'_i$  son función de las coordenadas del punto antes del desplazamiento  $x_i$ , entonces  $u_i = u_i(x_i) = \frac{\partial u_i}{\partial x_k} dx_k$ . Por lo que podemos escribir:

$$dl'^2 = dl^2 + 2 \frac{\partial u_i}{\partial x_k} dx_i dx_k + \frac{\partial u_i}{\partial x_k} \frac{\partial u_i}{\partial x_l} dx_k dx_l, \quad (1.23)$$

que se puede reescribir como:

$$dl'^2 = dl^2 + \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_k} + \frac{\partial u_i}{\partial x_i} + \frac{\partial u_l}{\partial x_k} \frac{\partial u_l}{\partial x_i} \right) dx_k dx_i, \quad (1.24)$$

o bien:

$$dl'^2 = dl^2 + 2u_{ik} dx_k dx_i \quad (1.25)$$

donde definimos al *tensor de deformación* como el tensor simétrico [13]:

$$u_{ik} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_k} + \frac{\partial u_i}{\partial x_i} + \frac{\partial u_l}{\partial x_k} \frac{\partial u_l}{\partial x_i} \right). \quad (1.26)$$

### Algunas definiciones acerca de la deformación

Si la deformación es pequeña, cuando las fuerzas externas que causaban la deformación dejan de actuar sobre el cuerpo, este regresa a su estado original sin deformar. Tal deformación se conoce como *elástica*.

Cuando la deformación es grande, el remover las fuerzas externas no resulta en la desaparición total de la deformación, de tal manera que el estado del cuerpo no es aquel que existió antes de que las fuerzas fueran aplicadas. Este fenómeno se conoce como *comportamiento plástico*.

La traza  $u_{ii}$  es el cambio de volúmen en la deformación [13]. El que su suma es cero, significa que el volúmen del cuerpo no ha cambiado por la deformación, sólo ha sido alterada su forma. Tal deformación se conoce como *cizallamiento puro*.

Cuando la deformación causa un cambio en el volumen del cuerpo sin cambiar su forma, cada elemento en el volúmen preserva también su forma. El tensor que caracteriza este tipo de deformación es del tipo  $u_{ik} = (\text{constante})\delta_{ik}$ . Donde  $\delta_{ik}$  es la delta de Kronecker. Tal deformación se conoce como *compresión hidrostática*.

#### 1.6.2. Tensor de esfuerzo

En un cuerpo sin deformar, el arreglo de moléculas corresponde a un estado de equilibrio térmico. Cuando ocurre una deformación, dicho arreglo molecular cambia y el cuerpo deja su estado original de equilibrio y surgen fuerzas que tienden a regresar al cuerpo al equilibrio. Estas fuerzas se conocen como *esfuerzos internos* y son debidos a las fuerzas intermoleculares de corto alcance. Así, la fuerza total en alguna porción del cuerpo es el resultado de la suma de todas las fuerzas en todos los elementos de volumen en esa porción del cuerpo, es decir,:

$$\int \vec{F} dv, \quad (1.27)$$

donde  $\vec{F}$  = fuerza por unidad de volúmen. Esta integral sobre volumen se puede expresar como una integral sobre la superficie que contiene al volumen si  $\vec{F}$  es la divergencia de un tensor de segundo orden, es decir, si

$$F_i = \frac{\partial \sigma_{ik}}{\partial x_k}. \quad (1.28)$$

Así,

$$\int \vec{F} dv = \int \frac{\partial \sigma_{ik}}{\partial x_k} dv = \int \sigma_{ik} df_k. \quad (1.29)$$

donde  $d\vec{f}$  está dirigido en la dirección normal hacia afuera de la superficie cerrada, por convención.  $\sigma_{ik}$  es el *tensor de esfuerzo* y describe la fuerza por unidad de área que se ejerce sobre un elemento de material. Consideremos el cubo unitario de la figura 1.6.

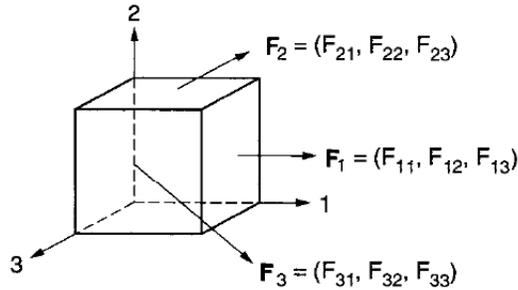


Figura 1.6: Elemento de material, cúbico unitario. Adaptado de [14]

El tensor de esfuerzo total tendrá la forma:

$$\underline{\underline{\sigma}} = \begin{pmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{pmatrix}. \quad (1.30)$$

Donde  $\underline{\underline{\sigma}}$  es el tensor de esfuerzo y la tilde inferior denota su carácter tensorial. Así, el  $i$ -ésimo renglón de  $\underline{\underline{\sigma}}$  es la fuerza por unidad de área que el material externo al cubo unitario ejerce sobre la superficie perpendicular al  $i$ -ésimo eje coordenado [14]. El ejemplo más simple del esfuerzo que un elemento de material “siente”, es el producido por la presión que ejerce sobre él el material mismo (presión hidrostática), en este caso:

$$\sigma = -p\delta_{ik}. \quad (1.31)$$

Donde  $\delta_{ik}$  es la delta de Kronecker y se ha usado la convención de que el esfuerzo es negativo si la presión es positiva.

### 1.6.3. Tensor gradiente de velocidades

Otro factor importante a conocer en un material, son las componentes de la velocidad en un punto dado y cómo cambian estas componentes respecto las

diferentes direcciones. Es decir, nos interesa conocer el gradiente de la velocidad. Dado un punto  $\vec{x} = (x_1, x_2, x_3)$  en el fluido, sus velocidades serán, en general,  $\vec{v}(\vec{x}) = (v_1(\vec{x}), v_2(\vec{x}), v_3(\vec{x}))$  y su gradiente será la diada  $\vec{\nabla}\vec{v}$ . Así, definimos el *tensor gradiente de velocidades* como:

$$\vec{\nabla}\vec{v} = \begin{pmatrix} \frac{\partial v_1}{\partial x_1} & \frac{\partial v_2}{\partial x_1} & \frac{\partial v_3}{\partial x_1} \\ \frac{\partial v_1}{\partial x_2} & \frac{\partial v_2}{\partial x_2} & \frac{\partial v_3}{\partial x_2} \\ \frac{\partial v_1}{\partial x_3} & \frac{\partial v_2}{\partial x_3} & \frac{\partial v_3}{\partial x_3} \end{pmatrix}. \quad (1.32)$$

Este tensor describe lo pronunciado de la variación de la velocidad en el fluido conforme nos movemos de un punto a otro en diferentes direcciones en un instante de tiempo específico [14].

#### 1.6.4. Relaciones termodinámicas de la deformación

Es posible demostrar que los trabajos hechos por los momentos internos por unidad de volumen ( $\delta R$ ) se expresa en términos del cambio en el tensor de deformación como  $\delta R = -\sigma_{ik}\delta u_{ik}$ , lo que permite formular las relaciones termodinámicas fundamentales para cuerpos deformados, para la energía interna  $\epsilon$  como para la energía libre de Helmholtz ( $F$ ):

$$d\epsilon = TdS + \sigma_{ik}du_{ik}. \quad (1.33)$$

$$dF = -SdT + \sigma_{ik}du_{ik}. \quad (1.34)$$

Así, las componentes del tensor de esfuerzo pueden obtenerse diferenciando  $\epsilon$  o  $F$  con respecto a las componentes del tensor de deformación, para T constante o S constante:

$$\sigma_{ik} = \left( \frac{\partial \epsilon}{\partial u_{ik}} \right)_S = \left( \frac{\partial F}{\partial u_{ik}} \right)_T. \quad (1.35)$$

En la práctica es de gran importancia la expresión con T constante, como se verá en el capítulo 2.

#### 1.6.5. Esfuerzo de cizallamiento y viscosidad de cizallamiento. Líquidos puramente viscosos

El *esfuerzo de cizallamiento*  $\sigma$  es la fuerza que un líquido fluyendo ejerce en una superficie, por unidad de área, en dirección paralela al flujo [14]. Se dice que un esfuerzo produce cizallamiento, cuando este provoca que las velocidades de regiones adyacentes en un fluido difieran, esta diferencia de velocidades se denomina *razón de cizallamiento* y la representaremos como  $\dot{\gamma}$ .

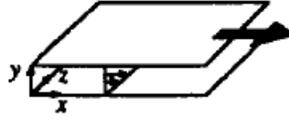


Figura 1.7: Adaptado de [14]

En la figura 1.7 se muestra un ejemplo de cizallamiento simple. El esfuerzo sobre el fluido se hace mediante el movimiento de la placa superior y esto produce una razón de cizallamiento

$$\dot{\gamma} = \frac{v_x}{y}. \quad (1.36)$$

Es importante notar que, dada la definición de la razón de cizallamiento, su forma analítica dependerá de las propiedades geométricas del sistema en particular.

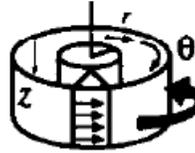


Figura 1.8: Adaptado de [14]

En la geometría de la figura 1.8, la velocidad angular  $w$ , varía en la dirección ortogonal a las placas  $r$ . Así:

$$\dot{\gamma} = \frac{\dot{\theta}}{r}. \quad (1.37)$$

En general tendremos:

$$\dot{\gamma} = \frac{\partial v_i}{\partial x_j}. \quad (1.38)$$

De manera que para estos casos de cizallamiento simple,  $\dot{\gamma}$  será una componente del tensor gradiente de velocidades definido con anterioridad y que tendrá la forma:

$$\vec{\nabla} \vec{v} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ \dot{\gamma} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}, \quad (1.39)$$

mientras que  $\sigma$  será a su vez una componente del tensor de esfuerzo que será del tipo:

$$\underline{\sigma} = \begin{pmatrix} 0 & \sigma_{12} & 0 \\ \sigma_{21} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}. \quad (1.40)$$

Siempre que exista cizallamiento, el material presentará cierta resistencia a ser cizallado. Esta resistencia es lo que se conoce como *viscosidad de cizallamiento*  $\eta$  y establece la proporción entre el esfuerzo y la razón de cizallamiento [14]:

$$\sigma = \eta \dot{\gamma}. \quad (1.41)$$

Este tipo de comportamiento se conoce como *newtoniano*.

### 1.6.6. Viscoelasticidad: Fluídos complejos

La viscosidad es una propiedad característica de los fluidos, mientras que el poseer un módulo de deformación es característico de los cuerpos sólidos. Llamamos *fluido complejo* a aquel material que es susceptible tanto de ser deformado como cizallado, es decir, a un material viscoelástico. Una medición *reológica* consiste en someter al material a algún esfuerzo bajo condiciones controladas para obtener información de qué tanto se comporta como un sólido o un fluido. Un concepto importante que ayuda a diferenciar entre sólidos y líquidos es lo que se denomina “memoria” del material. Un sólido perfecto recordará por completo la deformación que se ha hecho sobre él y volverá a su forma inicial mientras que un líquido perfecto dejará de deformarse instantáneamente cuando se deje de hacer esfuerzo sobre él y nunca recobrará su forma anterior. En este sentido, decimos que un sólido perfecto tiene memoria infinita mientras que un líquido perfecto posee memoria nula. Desde el punto de vista energético, un sólido perfecto almacena toda la energía que se necesitó para deformarlo, mientras que la nula memoria de un líquido perfecto se traduce en una disipación de energía. Un líquido perfecto no regresará a su estado inicial a menos que nuevamente se aplique energía sobre él. Como se dijo al principio de esta sección, un material viscoelástico es intermedio entre líquidos y sólidos, así que una forma de definirlo es que tiene memoria finita, o bien, que tiene módulos tanto de almacenamiento de energía como de pérdida. Se hace necesario entonces, expresar al módulo de elasticidad  $G$  de una forma general que incluya la respuesta viscosa del material. Esto se logra definiendo una  $G(t)$  dependiente del tiempo (más que un requerimiento teórico, es un hecho experimental que el módulo de los materiales depende del tiempo). De esta forma, se observa que [16]:

$$\sigma(t) = G(t)\gamma. \quad (1.42)$$

Es decir, si aplicamos un esfuerzo que varía en el tiempo, obtendremos también una respuesta del material que varía en el tiempo, en un principio, se comportará como sólido, pero a partir de cierto tiempo de esfuerzo aplicado, comenzará a fluir. Dicho tiempo se define como *tiempo de relajación* del material y  $G(t)$  se conoce como módulo de relajación.



# Capítulo 2

## Materiales y métodos

### 2.1. Lípidos: surfactantes biológicos

Los términos cotidianos “grasas” y “aceites” se refieren a un grupo diverso de compuestos químicos llamados lípidos que no son fácilmente solubles en agua. Cuando hablamos de grasas, usualmente nos referimos a materiales compuestos por lípidos que son sólidos a temperatura ambiente, mientras que los aceites son líquidos. Esta distinción nada rigurosa vuelve imprecisos los términos “grasa” y “aceite”, pero constituyen un puente útil entre el concepto químico de lípido y la noción cotidiana. Los lípidos son moléculas anfifílicas cuya región hidrofílica está constituida usualmente por grupos moleculares con carga (aunque también los hay neutros) mientras que su región hidrofóbica está formada por cadenas de hidrocarburos (generalmente cadenas largas). En las siguientes subsecciones se detalla la estructura de los lípidos usados en este trabajo.

#### 2.1.1. Constitución química del DPPC y POPC.

##### Ácidos grasos

Como se mencionó, la región hidrofóbica de los lípidos está formada por dos cadenas de hidrocarburos que pueden contener números diferentes de átomos de carbono en ambas cadenas y los enlaces entre los átomos de carbono pueden ser enlaces simples (saturados, e.g. los alcanos) o enlaces dobles (insaturados, e.g. los alquenos). Una cadena de hidrocarburos puede convertirse en un *ácido graso* uniendo<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>Como es sabido en química, la forma en que un hidrocarburo se convierte en un ácido es mediante una reacción (o una serie de reacciones) de oxidación pero aquí el único fin es tener una

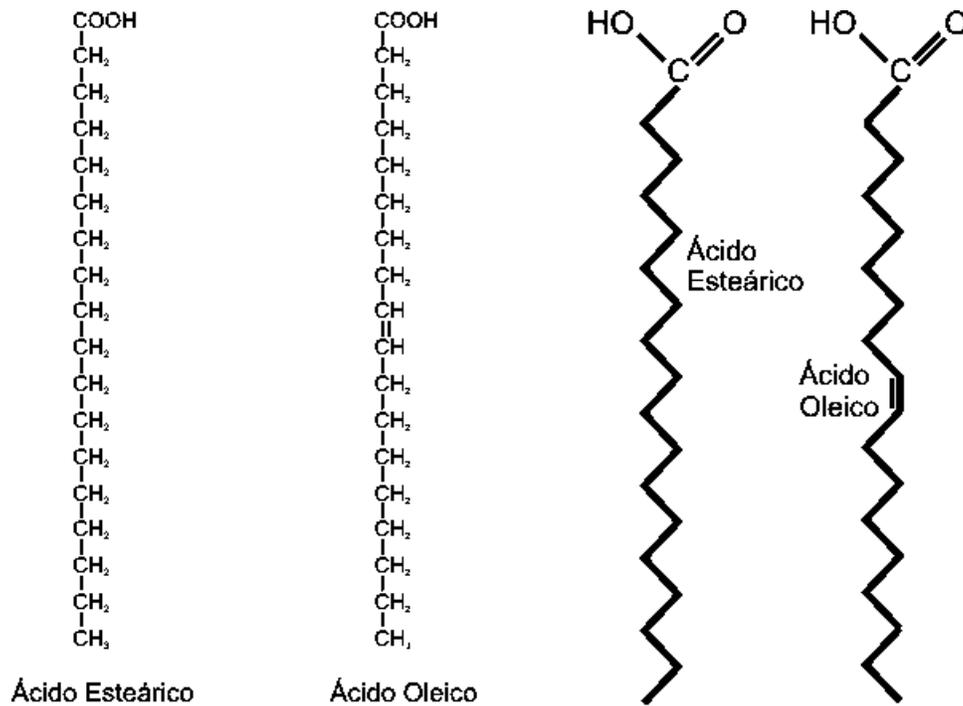


Figura 2.1: Ácidos grasos en dos representaciones comunes.

un grupo carboxilo (-COOH) en uno de sus extremos. En la Figura 2.1 se muestra a manera de ejemplo, la constitución de dos ácidos grasos, saturado e insaturado en dos representaciones comunes.

El grupo carboxilo (COOH) es hidrofílico, por tanto, los ácidos grasos pueden disolverse más fácilmente en agua que los alcanos o alquenos puros. La manera más simple de clasificar a los ácidos grasos es escribir el número de átomos de carbono seguido por el número de enlaces dobles. Es necesario además, especificar el número de carbono en el cual se presentan los enlaces dobles, esto se representa con una  $\Delta$  etiquetando el enlace doble. En la tabla 2.1 se enlistan, bajo esta nomenclatura los ácidos grasos que conforman los lípidos usados en el presente trabajo. También se muestra su fórmula química y su punto de fusión.

Es interesante notar que el punto de fusión del ácido oleico, el cual es del tipo insaturado, es menor que el de los saturados, esta es una característica biológicamente importante de los ácidos grasos que se discutirá más adelante.

comprensión estructural.

Nombre	símblo	Estructura	Punto de Fusión (°C)
Ácido palmítico	16 : 0	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	63.1
Ácido esteárico	18 : 0	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	69.6
Ácido oleico	18 : 1 <sup>Δ9</sup>	$CH_3(CH_2)_7CH = CH(CH_2)_7COOH$	13.4

Tabla 2.1: Ácidos grasos y sus representación. Datos obtenidos de [15].

### Clasificación general

Los ácidos grasos constituyen los bloques fundamentales de construcción de los lípidos denominados *saponificables* cuyo nombre proviene del hecho de que a partir de estas moléculas se pueden producir *jabones* entendiendo por jabón a aquel compuesto cuyas moléculas sean capaces de formar estructuras micelares que permanecen en suspensión al entrar en contacto con el agua [15]. Esto es debido a un efecto conocido como hidratación hidrofóbica: las moléculas de agua presentan una fuerte inclinación a formar enlaces hidrógeno<sup>2</sup> entre sí formando así configuraciones ordenadas. Cuando se introducen moléculas no polares, estas son incapaces de formar enlaces hidrógeno (e.g. alcanos), la configuración más favorable desde el punto de vista energético es la de conservar los enlaces hidrógeno entre las moléculas de agua formando una estructura alrededor de las moléculas de soluto. En el caso de las moléculas anfifílicas como los ácidos grasos las estructuras que se forman son las micelas [10]. El término saponificable proviene del latín *sapo onis facere* (hacer jabón): el método antiguo de la producción de jabón era mediante la hidrolización de una sal sódica (como el ácido oleico). El DPPC y el POPC pertenecen a esta clasificación de lípidos saponificables [10]. Es importante mencionar que también existen lípidos que no están conformados por ácidos grasos y por tanto tienen propiedades químicas y físicas diferentes [15, 17].

El DPPC y POPC son lípidos que se clasifican en el grupo de los fosfoglicéridos por estar conformados por un “esqueleto” del tipo *3-fosfato de glicerilo*, también llamado *gliceril-fosfato* [15]. Con el fin de tener un panorama general en el cual poder ubicar a los fosfoglicéridos entre otros lípidos saponificables, se presenta la siguiente tabla:

<sup>2</sup>El enlace hidrógeno es una interacción eléctrica entre moléculas de carbono y oxígeno, cuando la distancia molecular entre ellas es menor a dos radios de Van der Waals pero mayor a la que hay en un enlace covalente.

Nombre	Esqueleto
Acilglicéridos	Glicerina
Fosfoglicéridos	3-fosfato de glicerilo
Esfingolípidos	Esfingolina
Ceras	Alcoholes no polares de peso molecular elevado

Tabla 2.2: Clasificación de los lípidos saponificables según su estructura molecular.

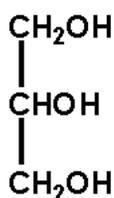


Figura 2.2: Estructura de la glicerina.

### Fosfoglicéridos

En los fosfoglicéridos, uno de los grupos hidroxilo primarios de la glicerina se halla esterificado<sup>3</sup> por el ácido fosfórico (hay que tener cuidado, no por el hecho de que un lípido contenga fósforo implica que sea un fosfoglicérido) mientras que los otros dos se encuentran esterificados por ácidos grasos. La estructura de la glicerina se muestra en la figura 2.2. Mientras que la estructura básica de un fosfoglicérido se muestra en la figura 2.3, donde  $R_1$  y  $R_2$  son ácidos grasos y  $X$  es, en general, un alcohol [15].

<sup>3</sup>La esterificación es el proceso mediante el cual un alcohol se une químicamente (dicho formalmente, se sintetiza) a un ácido carboxílico. En nuestro caso, los grupos alcohol (OH) en la glicerina se unen con los grupos carboxilo del ácido graso y del ácido fosfórico.

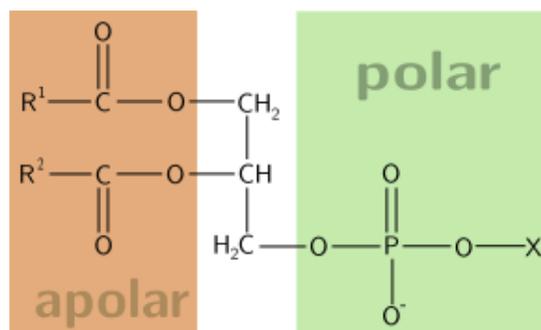


Figura 2.3: Estructura básica de un fosfoglicérido.

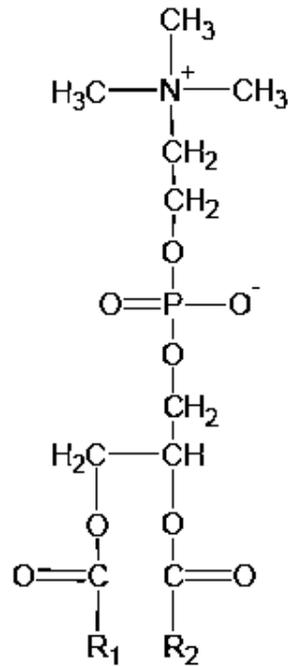


Figura 2.4: Estructura de la fosfatidilcolina.

En el caso del DPPC y POPC, el grupo  $X$  de la figura 2.3 es el aminoalcohol: colina, formando lo que se denomina fosfatidilcolina (PC)(ver figura2.4).

En cuanto a los grupos de ácidos grasos  $R_1$  y  $R_2$ ; en el caso del DPPC, ambos son ácidos palmíticos y en el POPC,  $R_1$  es un ácido palmítico y  $R_2$  es un ácido oleico es por ello que reciben sus respectivos nombres dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y 1-palmitoil,2-oleil fosfatidilcolina (POPC). Puesto que el ácido oleico y el ácido palmítico tienen puntos de fusión diferentes, la diferencia estructural que dan los ácidos grasos en el DPPC y POPC conduce también a que difieran en su temperatura crítica de cambio de fase de líquido a gel, siendo de  $-2\text{ }^\circ\text{C}$  para el POPC y de  $41\text{ }^\circ\text{C}$  para el DPPC (a presión de  $30\text{mN/m}$ ). Es importante mencionar la forma en que los fosfoglicéridos se comportan con respecto al pH del medio en el que se encuentran, a saber, a pH 7, todos los fosfoglicéridos poseen una carga negativa en el grupo fosfato y en particular, la fosfatidilcolina posee, a pH 7, una carga positiva en el grupo de la colina; por tanto, a este pH, la fosfatidilcolina es un ion híbrido bipolar sin carga eléctrica neta [15].

## 2.2. Balanza de Langmuir

Como se mencionó en la sección 1.2, Irwing Langmuir ideó un dispositivo que permitía comprimir una monocapa en la interfase aire/agua; notó que es posible limitar el área disponible de la monocapa simplemente deslizando unas barreras por la superficie y que conforme las barreras se mueven, una nueva superficie de agua limpia se crea detrás de ellas. La temperatura se mantiene controlada mediante un sistema recirculador. En la figura 2.5 se muestra una versión moderna de la balanza de Langmuir.



Figura 2.5: Balanza de Langmuir.

## 2.3. Medición de la presión mediante la placa de Wilhelmy

Este método de medición de la presión superficial consiste en sumergir parcialmente una placa delgada (en la práctica se usa papel cromatográfico) en la superficie acuosa. Una vez sumergida se formará un menisco y la placa será atraída hacia la subfase debido a la tensión superficial. Las fuerzas que actúan jalando la placa hacia abajo son la gravedad y la presión superficial, mientras que la flotabilidad debida al agua desplazada empuja la placa hacia arriba. Si la placa tiene 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:

fuerza = peso - flotabilidad + fuerza debida a la tensión superficial

$$F = (\rho_P l w t)g - (\rho_L h w t)g + 2(w + t)(\gamma)\cos\phi, \quad (2.1)$$

donde  $\gamma$  es la tensión superficial,  $\phi$  el ángulo de contacto entre el líquido y la placa y  $g$  la aceleración debida a la gravedad. Podemos prescindir del primer término de la ecuación 2.1 por motivos de calibración, puesto que inicialmente se establece que la presión superficial es cero (la medición de la presión no debería depender del peso de la placa). Lo mismo ocurre con el segundo término, considerando que la placa se encuentre sumergida siempre al mismo nivel, independientemente de que cambie el valor de la tensión superficial. Entonces también podremos prescindir de él mediante calibración. De esta forma:

$$F = 2(w + t)(\gamma)\cos\phi, \quad (2.2)$$

Finalmente, el hacer la placa con papel cromatográfico asegura un ángulo de contacto de  $0^\circ$  y por tanto:

$$F = 2(w + t)(\gamma), \quad (2.3)$$

De esta forma, para esta geometría la tensión superficial se mide como:

$$\gamma = \frac{F}{2(w + t)}. \quad (2.4)$$

Es decir,

$$\gamma = \frac{F}{\text{diámetro}}. \quad (2.5)$$

## 2.4. Isotermas de compresión

En los experimentos realizados en esta tesis se utilizó una balanza de Langmuir (Nima, UK) equipada con dos barreras con movimiento simétrico. Los lípidos utilizados (con pureza de 99.9% sin purificación posterior) fueron obtenidos de Avanti Polar Lipids, cuya presentación comercial es en forma de polvo. Justo antes de ser utilizados fueron disueltos en cloroformo a una concentración de 1 mg/mL. Estas soluciones madre fueron guardadas bajo refrigeración a  $-20^\circ\text{C}$ . Se realizaron deposiciones de  $100\mu\text{L}$  de solución lipídica sobre una subfase de agua. El agua ultrapura fue producida por un sistema abastecedor Mili-Q, presentó una resistividad de  $18.2\text{ M}\Omega$  y la temperatura se mantuvo a  $20^\circ\text{C}$  por ser esta la temperatura fisiológica.

El control de la temperatura se mantuvo mediante un sistema recirculador de agua a partir de un baño termostático por medio de un circuito de flujo colocado al fondo de la balanza. Las deposiciones se realizaron gota a gota con una microjeringa Hamilton. Después de evaporado el cloroformo (45 minutos luego de hacer la deposición) se realizó la compresión de la monocapa a una razón constante de  $12.9 \text{ cm}^2/\text{min}$ . En esta velocidad la razón de estiramiento es suficientemente lenta para asegurar compresión cuasiestática y condiciones cercanas al equilibrio. Las compresiones se llevaron a cabo desde un área máxima de  $800 \text{ cm}^2$  hasta un área mínima de  $200 \text{ cm}^2$ . La medición de la presión fue realizada mediante una placa Wilhelmy paralela a las barreras acoplada a un sensor de fuerza (NIMA). Antes de cada deposición, se realizó una isoterma de calibración, para asegurar que la superficie de agua pura no tuviera agentes surfactantes contaminantes, estableciendo una tolerancia de hasta  $0.3 \text{ mN/m}$ . Este valor está aún dentro del error típico de estos experimentos ( $1 \text{ mN/m}$ ).

## 2.5. Módulo de compresión uniaxial

Como se vio en el capítulo anterior, la teoría de la elasticidad nos permite expresar la energía libre de Helmholtz ( $F$ ), en términos del tensor de deformación  $u_{ik}$ . Partiendo del hecho de que la deformación usualmente es pequeña en comparación con el tamaño del cuerpo, es válida la expansión de  $F$  en potencias de  $u_{ik}$ . También, la misma teoría nos dice que es posible encontrar las componentes del tensor de esfuerzo a partir de la derivada funcional:

$$\sigma_{ik} = \left( \frac{\partial F}{\partial u_{ik}} \right)_T. \quad (2.6)$$

Por tanto, debe existir un término no lineal en la expansión de  $F$  en potencias de  $u_{ik}$  [13]. Una forma de obtener esta expansión es escribiendo el tensor de deformación de forma separada para el caso de cizallamiento puro y de compresión hidrostática:

$$u_{ik} = \left( u_{ik} - \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll} \right) + \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll}. \quad (2.7)$$

A partir de los cuadrados de las sumas de la expresión anterior se pueden obtener dos coeficientes de segundo orden independientes. Así:

$$F = \mu \left( u_{ik} - \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll} \right)^2 + \frac{1}{2} E_0 u_{ll}^2. \quad (2.8)$$

Donde  $E_0$  es el *módulo de compresión hidrostática*, como la deformación aplicada a las membranas en este trabajo fue del tipo uniaxial, nos referiremos a él como

módulo de compresión uniaxial y  $\mu$  es el módulo de cizallamiento. Diferenciando respecto a  $u_{ik}$ , se obtiene:

$$\sigma_{ik} = E_0 u_{ll} \delta_{ik} + 2\mu \left( u_{ik} - \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll} \right). \quad (2.9)$$

Es posible obtener una expresión general de  $u_{ik}$  en términos de  $\sigma_{ik}$ , sin embargo, por ahora nos interesa sólo la traza del tensor, y como en el segundo término de la expresión anterior se anulan los coeficientes de la diagonal, nos queda:

$$\sigma_{ii} = 3E_0 u_{ii}. \quad (2.10)$$

O bien, en la forma usual de una ecuación constitutiva (tensor de deformación en términos de tensor de esfuerzo):

$$u_{ii} = \frac{\sigma_{ii}}{3E_0} \quad (2.11)$$

El interés por la traza del tensor de deformación es que este representa el cambio en el volumen relativo del cuerpo al ser deformado [13]:

$$u_{ii} = \frac{dV' - dV}{dV}, \quad (2.12)$$

donde  $dV$  es el volumen de un elemento infesimal del material y  $dV'$  el volumen del mismo elemento del material luego de ser deformado. Así, la ecuación 2.11 nos dice que el cambio del volumen relativo  $u_{ii}$  de cualquier cuerpo isotrópico depende sólo de la suma  $\sigma_{ii}$  y se relacionan únicamente por el módulo de compresión hidrostática  $E_0$ . En compresión hidrostática  $\sigma_{ik} = -P\delta_{ik}$  y 2.11 es simplemente:

$$u_{ii} = -\frac{P}{E_0}, \quad (2.13)$$

o bien,

$$\frac{1}{E_0} = -\frac{u_{ii}}{P}. \quad (2.14)$$

finalmente, si la deformación es pequeña,  $u_{ii}$  y  $P$  son cantidades pequeñas, podemos escribir la razón  $u_{ii}/P$  del volumen relativo y la presión en la forma diferencial.

$$\frac{1}{E_0} = -\frac{1}{V} \left( \frac{\partial V}{\partial P} \right)_T. \quad (2.15)$$

Utilizaremos su análogo bidimensional:

$$E_0 = -A \left( \frac{\partial \Pi}{\partial A} \right)_T. \quad (2.16)$$

## 2.6. Reología de compresión oscilatoria

Un método dinámico de medición reológica en monocapas es el de someter al material a compresiones sinusoidales con las barreras de la balanza de Langmuir. Tales deformaciones uniaxiales producen estiramiento uniaxial, por lo tanto, la respuesta a la compresión contiene componentes de compresión isotrópica y de cizallamiento. Cuando la placa de Wilhelmy es paralela a las barreras, el módulo total de compresión ( $E$ ) es igual a la suma de los módulos de compresión isotrópico ( $k$ ) y de cizallamiento ( $\eta$ ):

$$E = k + \eta. \quad (2.17)$$

En estos experimentos, la monocapa fue comprimida desde un estado diluido hasta un cierto estado empaquetado de interés  $(\Pi_0, A_0)$ , después de lo cual, la monocapa fue sometida a compresiones de deformación sinusoidal. De esta forma, el área promedio disponible por molécula varía como:

$$A(t) = A_0 + A_0 u_0 \text{sen}(\omega t + \phi_u), \quad (2.18)$$

donde  $u_0$  es la amplitud de deformación y  $\phi_u$  toma en cuenta una posible fase inicial. De igual forma, se monitorea la presión superficial dependiente del tiempo como:

$$\pi(t) = \Pi_0 + \sigma_0 \text{sen}(\omega t + \phi_\pi), \quad (2.19)$$

donde  $\Pi_0$  es la presión promedio del estado sin esforzar,  $\sigma_0$  es la amplitud del esfuerzo y  $\phi_\pi$  es un factor de fase. En el régimen lineal, el esfuerzo definido como  $\sigma(t) = \Pi(t) - \Pi_0$ , es proporcional a la deformación  $u$ :

$$\sigma(t) = E^* u(t), \quad (2.20)$$

donde  $E^* = E' + iE''$  es el módulo viscoelástico complejo. Para entender el significado de estos módulos y la forma en que se calculan, describamos a la deformación y al esfuerzo de la monocapa en términos de variable compleja mediante la fórmula de Euler:

$$\sigma(t) = \sigma_0 e^{i\omega t} e^{i\phi_\pi} = E^* u_0 e^{i\omega t} e^{i\phi_u}, \quad (2.21)$$

$$E^* = \frac{\sigma_0}{u_0} e^{i(\phi_u - \phi_\pi)}. \quad (2.22)$$

Definiendo a la diferencia de fases como  $\phi = \phi_u - \phi_\pi$ :

$$E^* = \frac{\sigma_0}{u_0} (\cos\phi + i\text{sen}\phi). \quad (2.23)$$

De esta manera queda definido el módulo de elasticidad o almacenamiento  $E'$  como:

$$E' = \frac{\sigma_0}{u_0} \cos\phi, \quad (2.24)$$

y el módulo de pérdidas por viscosidad  $E''$ :

$$E'' = \frac{\sigma_0}{u_0} \text{sen}\phi. \quad (2.25)$$

En general,  $E'$  y  $E''$  dependen de la frecuencia, pero en los experimentos realizados en esta tesis, se procuró mantener una frecuencia constante.



# Capítulo 3

## Resultados

### 3.1. Isotermas de compresión

La figura 3.1 muestra las isotermas de presión-área ( $\Pi - a$ ) de la mezcla DPPC-POPC a diferente razón de concentración (DPPC:POPC) medidas a la temperatura fisiológica de 20 °C. Las isotermas presentan comportamientos diferentes conforme aumenta la concentración de POPC. En áreas moleculares mayores a  $95 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ , las presiones son cercanas a cero, compatible con un estado del tipo gaseoso. Luego de la compresión uniaxial, en la región entre  $80 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$  y  $90 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ , se aprecia un incremento en la presión, el cual es mayor conforme aumenta la concentración de POPC en la mezcla. Conforme el área promedio por molécula es reducida, la presión aumenta linealmente (comportamiento característico del estado líquido expandido) hasta presentar una región pseudo-plana en la zona comprendida entre  $60$  y  $70 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$  para el DPPC puro. Esta región es característica de la región de coexistencia de los estados líquido condensado-líquido expandido y de una transición de fase de primer orden. Esta región de coexistencia es menor y se presenta en zonas de mayor área molecular ante la presencia de POPC en la mezcla, incluso a bajas concentraciones. A altas concentraciones de POPC (2:8, 1:9 y 0:1), la región de coexistencia desaparece, lo que nos indica que no hay transición de fase del estado gaseoso a líquido condensado. En áreas moleculares bajas (alrededor de  $60 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ ), la presión superficial crece rápidamente hasta alcanzar el punto de colapso, en alrededor de  $55 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$  para las mezclas con mayor concentración de POPC (2:8, 1:9 y 0:1) y alrededor de  $50 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$  para las demás mezclas, excepto para el DPPC puro, que presenta mayor resistencia a la compresión antes del colapso.

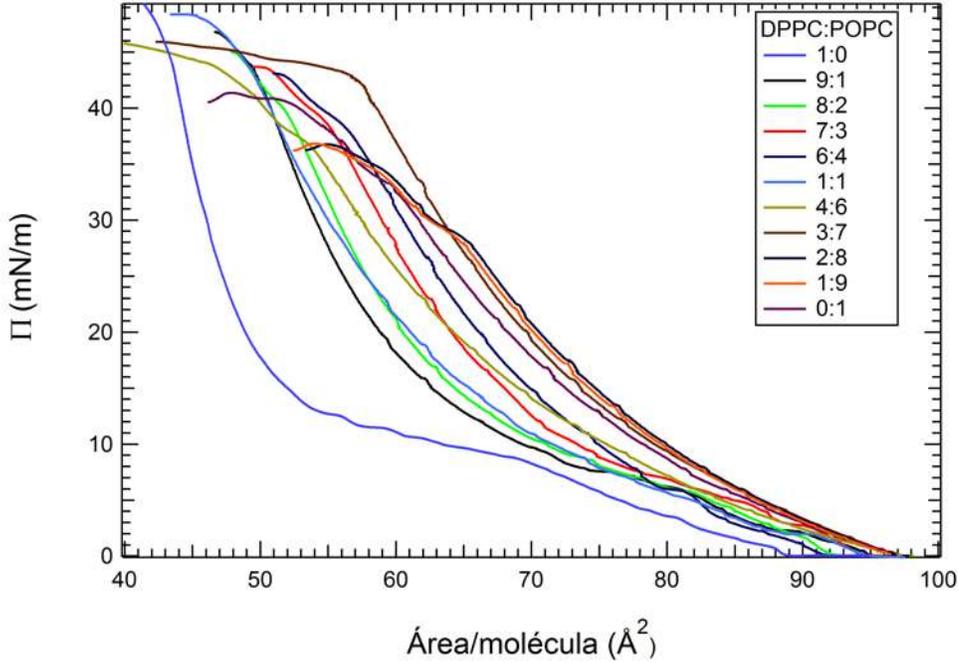


Figura 3.1: Isotermas ( $\Pi$ - $A$ ) de compresión de monocapas de la mezcla DPPC-POPC a diferente razón de concentración, medidas en compresión uniaxial a razón de  $12.9\text{cm}^2/\text{min}$ .

El módulo de compresión uniaxial  $E_0$  fue obtenido de la derivada numérica de las isotermas de  $\Pi$ - $A$ :

$$E_0 = -A \left( \frac{\partial \Pi}{\partial A} \right)_T \quad (3.1)$$

En las figuras 3.2,3.3,3.4 y 3.5 se muestran los valores de los módulos de compresión de las diferentes mezclas graficados con respecto al área molecular promedio y a la presión superficial a diferentes concentraciones de DPPC:POPC. Los módulos fueron calculados a partir de las isotermas de compresión de la figura 3.1 usando la ecuación 3.1. Los módulos muestran diferentes características para las distintas mezclas. Para el DPPC puro (figuras 3.2a y 3.2b), notamos que en el régimen diluido (arriba de  $55 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ ), la monocapa es altamente compresible ( $E_0 < 50\text{mN/m}$ ). Se aprecia un mínimo local en la región comprendida entre  $55$  y  $65 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ , característica de la transición de fase. En áreas menores a los  $55 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ , el módulo crece rápidamente respecto a la disminución del área superficial hasta alcanzar su valor máximo ( $E_{0max}=261.5 \text{ mN/m}$ ). El parámetro del módulo máximo ( $E_{0max}$ ) es equivalente a la mínima compresibilidad que la monocapa puede alcanzar. Un módulo de compresibilidad alto permite que la membrana tenga una tensión superficial mínima, con mínimo cambio de área, lo cual es deseado para una mejor función respiratoria.

Los valores del módulo máximo de compresibilidad son usados para caracterizar a las monocapas lípidas como líquidas expandidas (12.5-50 mN/m), líquido condensado (100-250 mN/m) y sólido condensado (1000-2000 mN/m) [2]. Luego de alcanzar su valor máximo, el módulo de compresión decrece, señalando el comienzo del colapso de la monocapa. En la presencia de POPC a bajas concentraciones (figuras 3.2c, 3.2d, 3.2e, 3.2f, 3.3a y 3.3b), el mínimo local que da cuenta de la transición de fase aparece menos marcado que en el DPPC puro y abarca áreas moleculares mayores; mientras que el módulo máximo de compresión alcanza valores de entre 168 y 140 mN/m, lo que nos da información de que la monocapa alcanza una fase de líquido condensado, aunque con menos empaquetamiento que en el DPPC puro y que se sigue presentando una transición de fase de primer orden. Cuando la concentración del POPC es del 40 % o mayor (figuras 3.3c, 3.3d, 3.3e, 3.3f, 3.4a, 3.4b, 3.4c, 3.4d, 3.4e, 3.4f, 3.5a y 3.5b), ya no se presenta la transición de fase a primer orden y los módulos máximos de compresión disminuyen, pero siempre son mayores a 100mN/m. La monocapa pasa de un estado líquido expandido a líquido condensado sin que haya coexistencia.

### 3.1 Isotermas de compresión

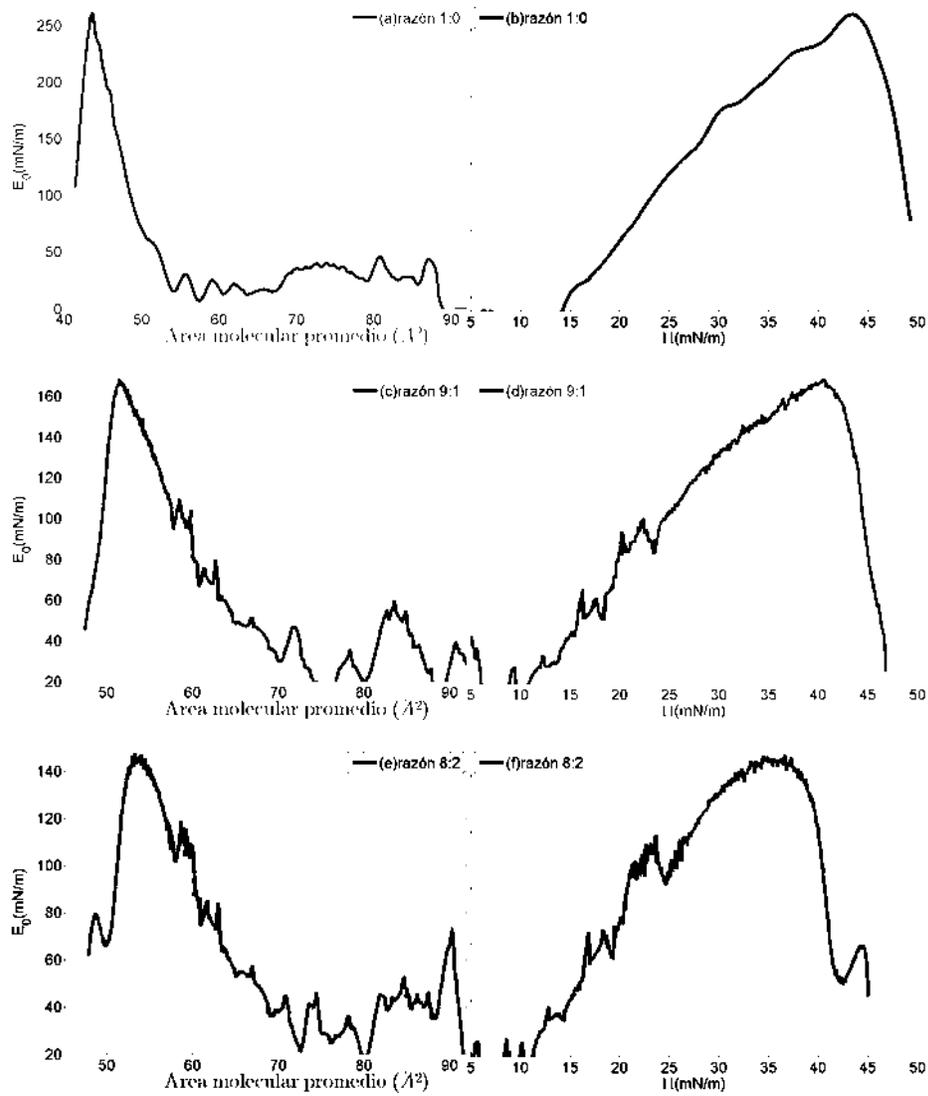


Figura 3.2: Módulos de compresión uniaxial en el equilibrio de la mezcla DPPC:POPC

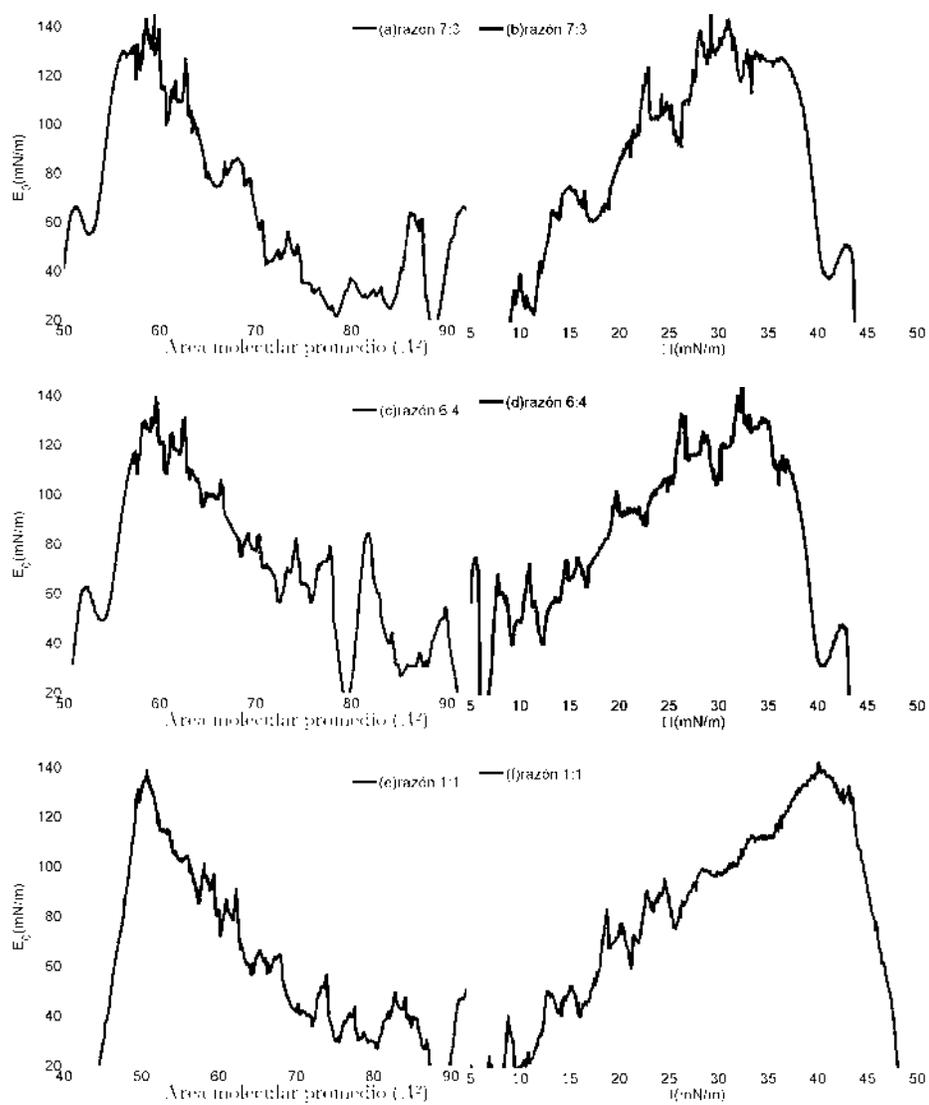


Figura 3.3: Módulos de compresión uniaxial en el equilibrio de la mezcla DPPC:POPC

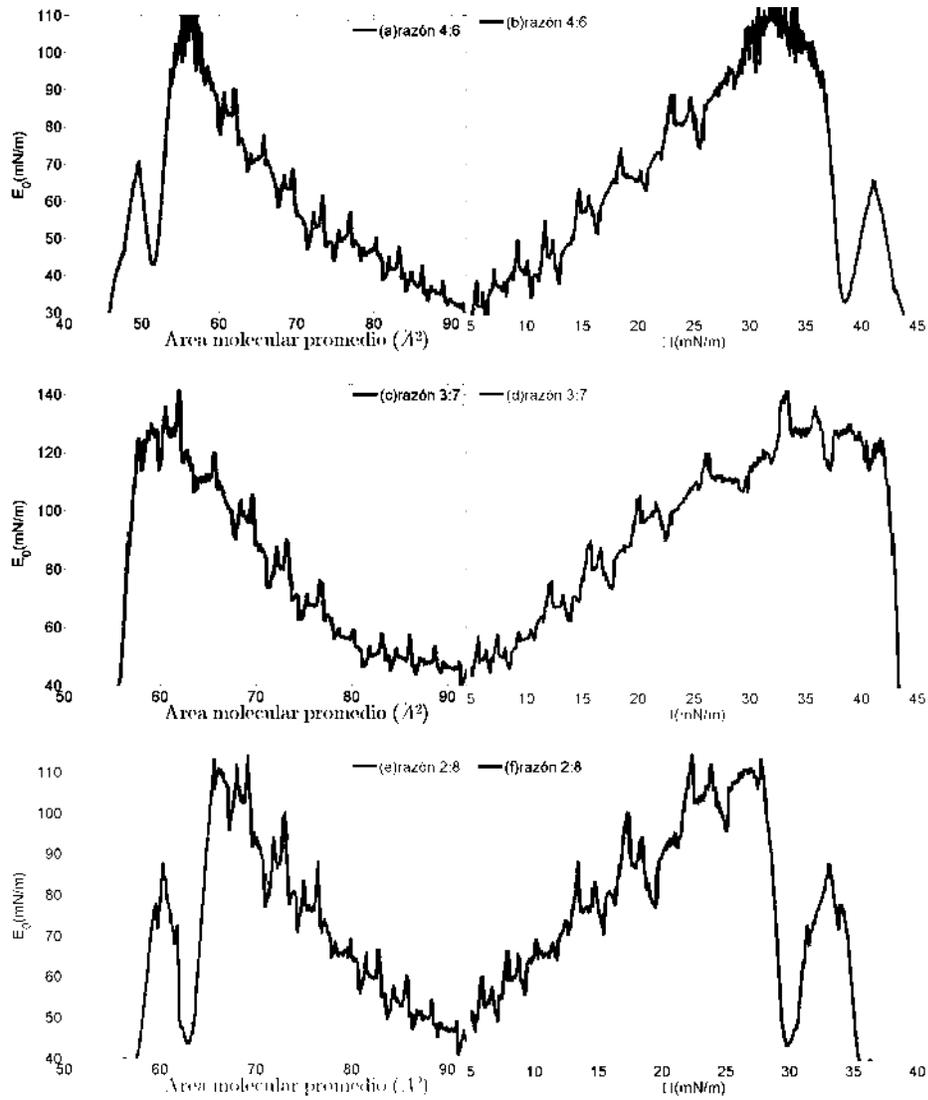


Figura 3.4: Módulos de compresión uniaxial en el equilibrio de la mezcla DPPC:POPC

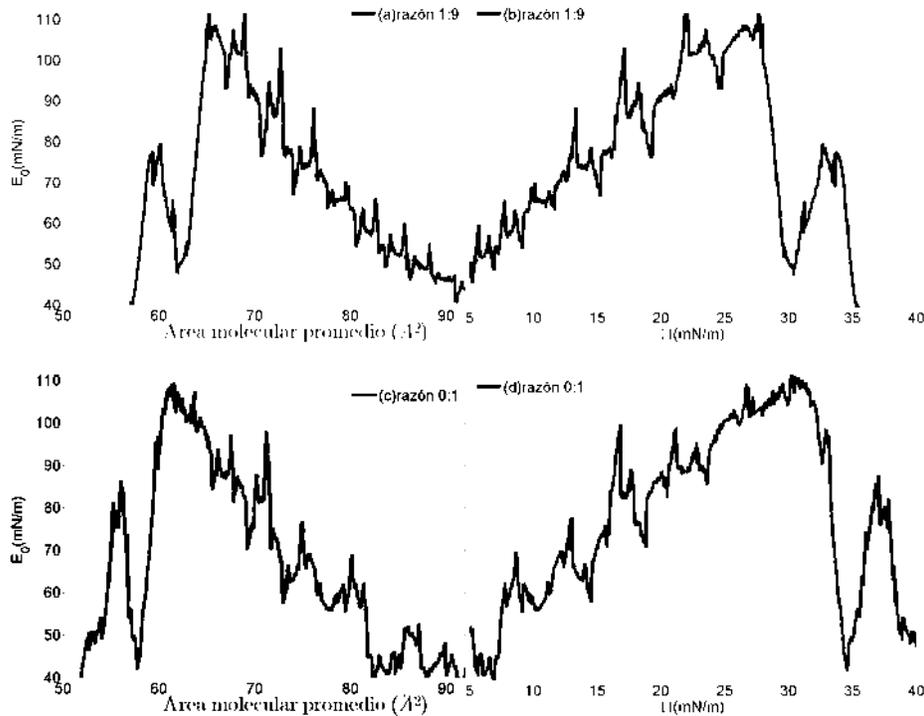


Figura 3.5: Módulos de compresión uniaxial en el equilibrio de la mezcla DPPC:POPC

En la figura 3.6, se muestran los módulos de compresión máxima comparados con el porcentaje de concentración de POPC en DPPC. Aunque con algunas variaciones, se aprecia una disminución en el módulo al aumentar la concentración de de POPC. Lo que esta tendencia nos dice, es que la monocapa es más compresible conforme aumenta la concentración de POPC.

### 3.2. Reología de compresión

Se realizaron mediciones reológicas mediante el método de compresión oscilatoria en monocapas de DPPC:POPC a razón de concentración de 9:1. Se eligió esta mezcla en particular, con alta concentración de DPPC por su importancia biológica dada la riqueza en DPPC del surfactante pulmonar. Las mediciones fueron hechas bajo las mismas condiciones de temperatura y pureza del agua que se mencionó para las isotermas. La respuesta dinámica de una compresión uniaxial de amplitud variable, fue medida en experimentos oscilatorios en frecuencia constante ( $\omega = 2\pi/\tau =$

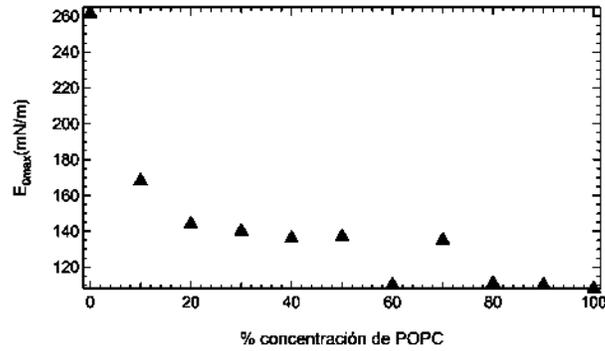


Figura 3.6: Valores máximos del módulo de compresión en el equilibrio medidos en mezclas con diferente concentración de POPC en DPPC

$0.020 \text{ s}^{-1}$ ; período  $\tau = 53.97\text{s}$ ). Las amplitudes exploradas fueron de 1% a 5% del área de equilibrio inicial. Ante estas deformaciones, la respuesta de la presión puede ser ajustada acertadamente con una única sinusoidal de frecuencia  $\omega$  idéntica a la frecuencia de excitación. Las mediciones reológicas fueron realizadas en las regiones donde la monocapa fuera homogénea y sólida, puesto que las deformaciones grandes de compresión alrededor de presiones muy bajas ( $\Pi < 1\text{mN/m}$ ; gas en equilibrio) o muy altas ( $\pi > 40\text{mN/m}$ ; colapso de la monocapa) conducen a cambios morfológicos de la monocapa en una misma oscilación. En la figura 3.7 se muestran, a manera de ejemplo, las oscilaciones de menor y mayor amplitud en el área, así como la respuesta de cambio de presión de la monocapa. En la figura 3.8 se muestra la comparación entre el esfuerzo ( $\sigma$ ) y el estiramiento ( $u$ ) de la monocapa, medidos alrededor de diferentes presiones y a la misma frecuencia ( $0.019\text{Hz}$ ; período  $\tau = 53.97\text{s}$ ). Un régimen newtoniano (lineal) es observado a bajas presiones (de 5 a 17 mN/m). En altas presiones superficiales (25 y 27 mN/m), arriba de una deformación crítica  $u_c = 0.37$ , las curvas de esfuerzo-estiramiento se desvían ligeramente del régimen lineal con un comportamiento del tipo  $\sigma < \sigma_{lin} = Eu$ . Esto resulta en un módulo efectivo más pequeño, sugiriendo un comportamiento plástico (un material plástico es aquel que presenta poca o nula deformación a partir de ciertos niveles de esfuerzo).

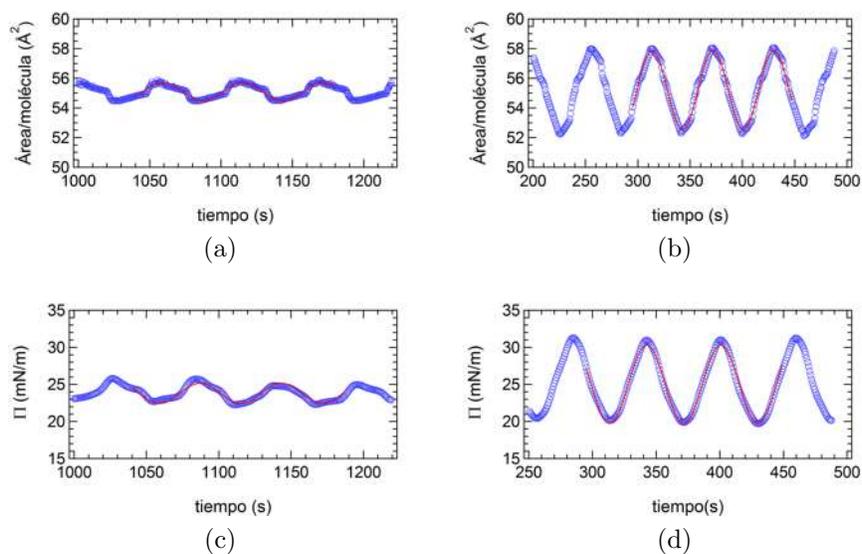


Figura 3.7: Deformaciones y esfuerzos experimentales registrados en compresión oscilatoria a frecuencia constante ( $0.019\text{Hz}$ , período  $\tau = 53.97\text{s}$ ) de la mezcla DPPC:POPC a razón de concentración 9:1 alrededor de  $27\text{mN/m}$  en pequeñas oscilaciones (panel izquierdo) y en las oscilaciones de mayor amplitud realizadas (panel derecho).

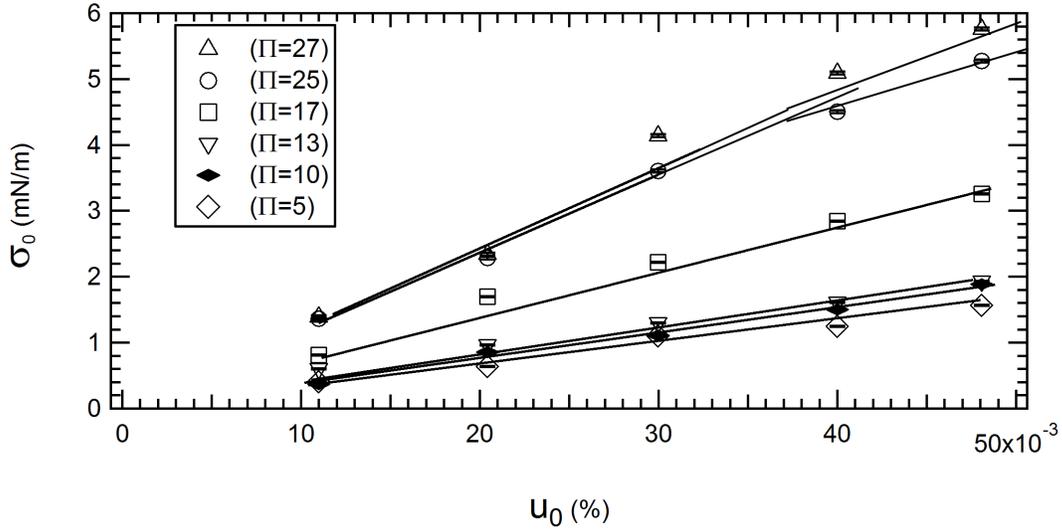
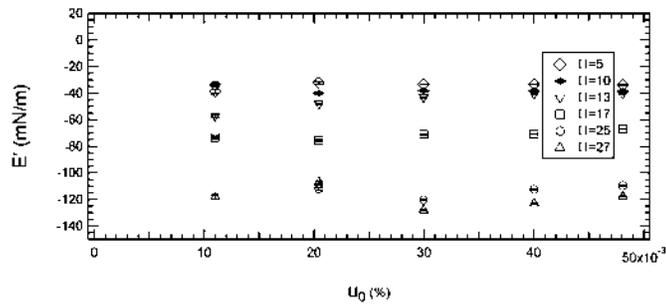
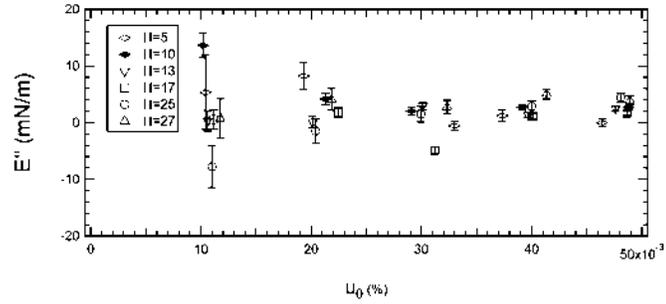


Figura 3.8: comparación entre el esfuerzo ( $\sigma$ ) y el estiramiento ( $u$ ) de la mezcla DPPC:POPC 9:1 medidos alrededor de diferentes presiones y a la misma frecuencia (0.019Hz; período  $\tau = 53.97$ s).

Como se mencionó en el capítulo 2, los experimentos de compresión oscilatoria permiten calcular los módulos de viscosidad y elasticidad que caracterizan a la monocapa estudiada mediante las ecuaciones 2.24 y 2.25. La figura 3.9a y 3.9b muestra respectivamente los módulos de elasticidad y viscosidad medidos a diferentes presiones. Se observa que el módulo de viscosidad  $E''$  toma valores cercanos a cero, pero no nulos, sin presentar ninguna dependencia de la presión alrededor de la cual se hicieron las oscilaciones. El orden de los valores encontrados para el módulo de viscosidad concuerdan con lo reportado recientemente por G. Espinoza [5] para el módulo de viscosidad de cizallamiento en el DPPC y POPC, aunque en el presente trabajo obtuvimos el módulo de viscosidad dilatacional. En cuanto al módulo de elasticidad ( $E'$ ), la característica más notable que se aprecia es el hecho de que tome valores negativos. Presenta además una clara dependencia de la presión, siendo que, a mayor presión, el módulo toma valores más negativos. Dada la dependencia que parece presentar el módulo elástico, es ilustrativo presentarla en una nueva gráfica, en la figura 3.10 se muestra el valor promediado de los módulos de elasticidad en cada valor de la presión; resultando en una tendencia no lineal.



(a)



(b)

Figura 3.9: Módulos de elasticidad y viscosidad medidos a diferentes presiones: 3.9a) módulos de elasticidad (el error propagado es pequeño para poder observarse en la gráfica). 3.9b) módulos de viscosidad.

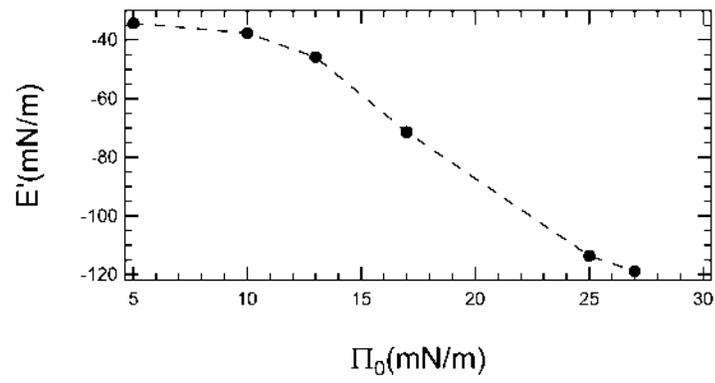


Figura 3.10: Valor promediado de los módulos de elasticidad respecto a la presión.

# Capítulo 4

## Discusión

A partir de los datos obtenidos sobre monocapa de Langmuir de la mezcla DPPC:POPC, la característica más importante por explicar es la existencia de módulos de elasticidad negativos, pues es un comportamiento que no es común encontrar en las monocapas de Langmuir y el significado físico de la medición de elasticidad negativa no es fácil de interpretar. A primera vista puede incluso parecer un resultado erróneo, pero en base a lo que se conoce en la literatura sobre la mezcla DPPC:POPC, parece que la elasticidad negativa da información sobre las propiedades estructurales de la monocapa y es un comportamiento digno de ser considerado y estudiado con cuidado. Existen otros grupos en los que han encontrado elasticidades negativas, pero debido que el tratamiento de datos fue utilizando un software comercial, se consideró como error del artefacto y se descartó la posibilidad de las elasticidades negativas [12]. El tener conocimiento de esto y haberlo medido en esta ocasión, fue la principal motivación para darle crédito al fenómeno.

### 4.1. Antecedentes e hipótesis de formación de dominios

En la cita [18] se reporta la existencia de un módulo de compresión negativo medido en una monocapa de Langmuir constituida por la mezcla de DPPC con S-(2,4-dinitrophenyl)glutathione di-2-propyl ester (una droga usada para combatir la tripanosomiasis africana o enfermedad del sueño). Este efecto negativo en el módulo de compresión es atribuido a los enlaces intermoleculares que conducen a la formación de dominios. En ese sistema, la interacción entre la droga y las moléculas del DPPC es repulsiva, causando que el empaquetamiento de la monocapa de DPPC se vea afectado ante la presencia de la droga, incluso en cantidades pequeñas. Esta

información motiva a pensar que si bien, no debería existir algún efecto de repulsión entre el DPPC y el POPC (pues sus cabezas polares son iguales), no debería descartarse la formación de dominios entre uno y otro lípido como una posible causa de la elasticidad negativa. Es poco lo que se conoce sobre la mezcla DPPC:POPC, sin embargo, se sabe que la diferencia en sus temperaturas de transición de fase de líquido a gel ( $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  para el POPC y de  $41\text{ }^{\circ}\text{C}$  para el DPPC a presión de  $30\text{mN/m}$ ) conduce a la separación de las fases en las membranas de lípidos, pues al mezclarse coexisten a una misma temperatura y se encuentran en diferentes fases. El diagrama de fase de este sistema se reportó por vez primera en la referencia [4] y es mostrado en la figura 4.1.

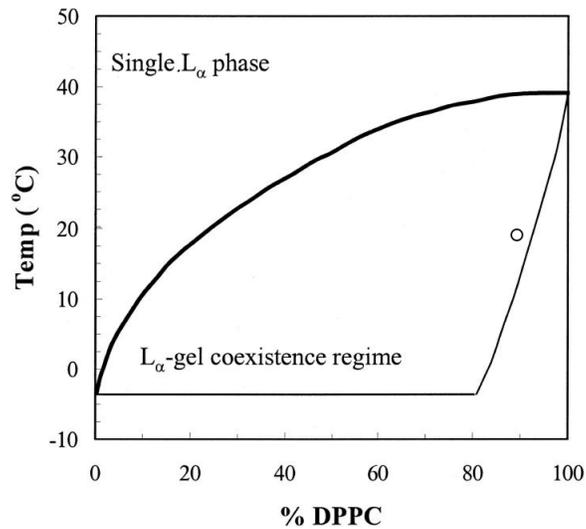


Figura 4.1: Regiones de las fases líquida cristalina ( $L_{\alpha}$ ) y  $L_{\alpha}$ -gel del diagrama de fases del sistema DPPC:POPC. EL círculo indica la el punto en que se realizaron los experimentos de esta tesis. Figura adaptada de [4].

Como se ve en la figura, a altas temperaturas, el sistema tiene una única fase líquida cristalina. A temperaturas intermedias, existe una amplia región de coexistencia de las fases líquida y gel<sup>1</sup>, mientras que a bajas temperaturas el sistema exhibe inmiscibilidad entre geles de los dos lípidos. En la referencia [22] se estudia la reología de liposomas (estructura en que las moléculas surfactantes se autoensamblan configurando cuerpos esféricos formados por una bicapa, en este caso, lipídica) de la mezcla DPPC:POPC a diferentes temperaturas (los liposomas se forman a la presión

<sup>1</sup>la fase líquido cristalino (LC) es referida por algunos autores como fase gel.

específica de 30 mN/m) y son reportados varios parámetros mecánicos de los liposomas, entre ellos, el módulo de elasticidad dilatacional; sin embargo, descartan como válidos sus resultados en la región de coexistencia. Citando textualmente: “Nuestros intentos por caracterizar las membranas en coexistencia de fase con estas mediciones (refiriéndose a su método de obtención de elasticidad) fallaron para proporcionar resultados consistentes y con significado y no son reportados aquí”. Atribuyen este comportamiento precisamente a la formación de dominios y puede ser posible que los resultados a los que se refieren sean elasticidades negativas. Por todo lo anterior, parece acertado pensar que la elasticidad negativa puede no ser un efecto de error de los aparatos de medición. Podría incluso ser un parámetro característico de la formación de dominios en las mezclas de fosfolípidos. En la figura 4.1 se representa con un círculo, la región dentro del diagrama de fases en la que fueron realizados los experimentos de esta tesis.

## 4.2. Área de exceso y energía de mezclamiento

A fin de tener una mejor visualización del efecto del POPC en la monocapa de DPPC se realizó la comparación de las áreas por molécula, teórica y experimental de cada combinación de la monocapa mixta DPPC:POPC. Para obtener las áreas teóricas, se utilizó la siguiente expresión:

$$A_{\text{teórica}} = \chi_1 A_1 + \chi_2 A_2 \quad (4.1)$$

Donde  $\chi_1$  y  $\chi_2$  son las fracciones de concentración de los componentes 1 y 2 respectivamente (en este caso DPPC puro y POPC puro).  $A_1$  y  $A_2$  son las áreas moleculares promedio de cada componente puro, inferidas de sus isotermas correspondientes. El área teórica fue comparada con el área experimental de las isotermas que las mezclas alcanzaron en la presión particular de 10mN/m. Los resultados de este análisis se muestran en la figura 4.2. Aunque con algunas variaciones, hay una clara tendencia del área experimental a tomar valores mayores a los esperados teóricamente, lo que nos da información de que la membrana no tiene un mezclado ideal.

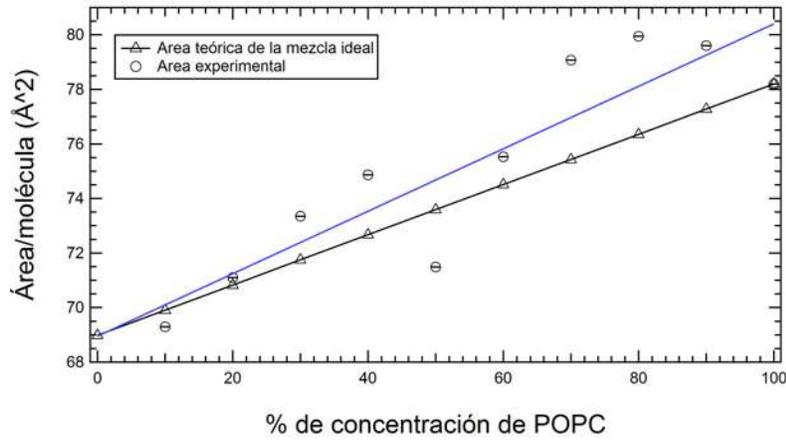


Figura 4.2: Comparación entre el área teórica de la mezcla y el área experimental medida a la presión de 10mN/m. La línea azul es el ajuste de los datos experimentales por mínimos cuadrados

Por otra parte, un parámetro que da información sobre que tan ideal o que tan alejado de lo ideal es una mezcla, es el exceso de energía libre que se genera (si la mezcla no es ideal) al hacer la mezcla en la superficie. En este caso se prefirió usar el modelo de energía libre propuesto por Gerfshfeld. Esta formulación calcula la energía libre de Helmholtz de compresión; la cual se expresa en la siguiente integral:

$$\Delta F(A) = \int_{A_f}^{A_i} \Pi(A) dA. \quad (4.2)$$

Donde  $A_f$  y  $A_i$  son las áreas moleculares sobre las cuales la membrana es comprimida a partir de un estado infinitamente diluido. Esta integral solo puede resolverse numéricamente. En este contexto, la energía libre de mezclado de Helmholtz  $\Delta F_{xs}(A)$  está definida de forma tal, que da información de la diferencia entre la energía de mezclado experimental y la energía de mezclado ideal, a saber:

$$\Delta F_{xs}(A) = \Delta F_{xs}(A)_{12} - (\chi_1 \Delta F(A)_1 + \chi_2 \Delta F(A)_2). \quad (4.3)$$

Donde nuevamente  $\chi_1$  y  $\chi_2$  son las fracciones de concentración de los componentes 1 y 2 respectivamente y el término  $\Delta F_{xs}(A)_{12}$  representa la energía de helmholtz experimental de una mezcla en particular. Explícitamente:

$$\Delta F_{xs}(A) = \int_{A_f}^{A_i} \Pi_{12}(A) dA - \left( \chi_1 \int_{A_f}^{A_i} \Pi_1(A) dA + \chi_2 \int_{A_f}^{A_i} \Pi_2(A) dA \right). \quad (4.4)$$

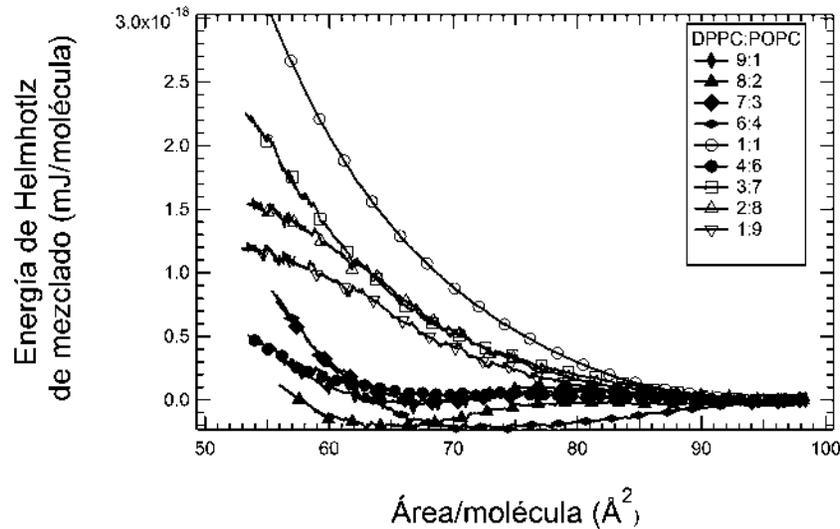


Figura 4.3: Energía libre de Helmholtz de mezclado medida en la mezcla DPPC:POPC a diferentes proporciones de concentración.

Las energías de mezclado  $\Delta F_{xs}(A)$  calculadas para distintas razones de concentración de la mezcla DPPC:POPC se presentan en la figura 4.3. De la figura 4.3, es evidente que los valores calculados de la energía de mezclado  $\Delta F_{xs}(A)$  son en general, positivos y crecen conforme aumenta la presión. Esto significa que entre más empaquetado es el estado de la membrana, la mezcla es menos ideal. Se necesita ejercer más energía sobre el sistema para mantener a los lípidos mezclados. Una característica importante es el mínimo que se presenta en las curvas que corresponden a las mezclas con bajas concentraciones de POPC, y que da cuenta de la transición de fase, la cual desaparece en las curvas que corresponden a altas concentraciones de POPC. Las curvas en las que este mínimo es menor que cero, indican que el mezclado es bueno. En áreas moleculares grandes la energía de mezclado es cero, pues la monocapa está en un estado diluido y se comporta como un gas ideal, esto concuerda con el hecho de que toda mezcla de gases ideales es una mezcla ideal. Es importante notar que si la mezcla fuera por completo ideal, el valor de la energía de mezclado sería nulo en todas las áreas moleculares.

Otro resultado importante relativo a la formación de dominios, es la presencia de una histéresis no reversible. La figura 4.4 muestra dicho comportamiento; las presiones superficiales (25mN/m), donde es claro que luego de la primera compresión, la monocapa ya no regresa por los mismos puntos. Luego de la primera compresión, los ciclos son prácticamente idénticos. Esto nos indica que posiblemente los dominios se

forman durante la primera compresión y luego se quedan ya formados, confiriendo el carácter no reversible del proceso. Este hecho es de gran importancia biológica, puesto que ayuda a comprender el funcionamiento del surfactante pulmonar. En el modelo más aceptado se cree que el surfactante originalmente está constituido por diferentes fosfolípidos, proteínas surfactantes y esteroides y que luego de los primeros ciclos de respiración, la mayoría de moléculas distintas al DPPC se van a la subfase y se queda una membrana rica en DPPC. Pero una hipótesis alternativa podría ser que luego de las primeras respiraciones, se formen dominios en el surfactante. Esto podría dotarlo de una alta compresibilidad, al mismo tiempo que le confiere buenas propiedades dinámicas para redistribuirse (baja viscosidad, elasticidades negativas o pequeñas).

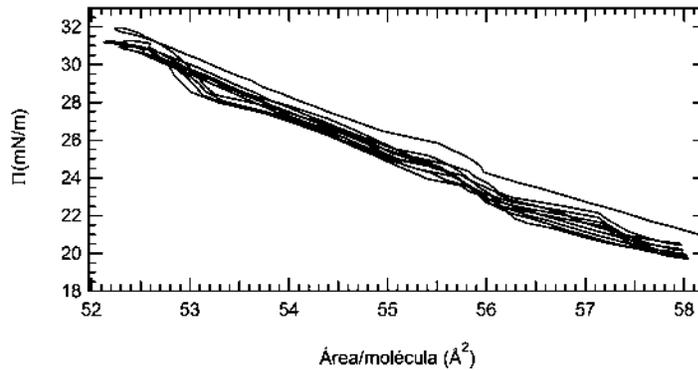


Figura 4.4: Ciclos de compresión expansión en DPPC:POPC 9:1 alrededor de  $\Pi=25\text{mN/m}$ . Es claramente visible la presencia de histeresis irreversible

### 4.3. Interacción macroscópica

Ante las evidencias mostradas sobre la formación de dominios y el mezclado no ideal de la monocapa, es presumible que la conexión entre este fenómeno y el hecho de obtener elasticidades negativas pueda deberse a la presencia de una interacción de superficie entre dominios. Este tipo de interacciones son efecto de las interacciones intermoleculares en un sistema con un gran número de moléculas y es sabido que la cinética de las interacciones macromoleculares es muy diferente a la que está presente entre moléculas pequeñas [10]. En este caso es importante el hecho de que los lípidos usados tienen distinto punto de transición líquido-gel, así que lo que se está observando es una separación de fases. El mecanismo por el que ocurre dicha separación es debido a que las moléculas de un mismo tipo de lípido usualmente

tienen una interacción atractiva mayor entre ellas que hacia el otro tipo de lípido. Esta característica es de gran importancia biológica pues permite la actividad de las enzimas y el transporte de nutrientes en la membrana [17].



# Capítulo 5

## Conclusiones

En el presente trabajo se estudiaron los parámetros mecánicos en el equilibrio que caracterizan a la mezcla de DPPC:POPC, como son, el módulo de elasticidad y el valor máximo del módulo de elasticidad. También se estudiaron los módulos dinámicos de elasticidad y viscosidad mediante el método reológico de compresión oscilatoria uniaxial en la mezcla DPPC:POPC a razón de concentración 9:1, cuya principal característica fue la presencia de elasticidad negativa como respuesta a la deformación. Esto fue atribuido a los enlaces intermoleculares que conducen a la formación de dominios. Lo cual es denotado por una ligera histéresis no reversible durante las oscilaciones y por la presencia de exceso de área y exceso de energía libre al mezclar los lípidos.

Los resultados reportados aquí son importantes desde el punto de vista de la ciencia básica de surfactantes y desde el punto de vista biológico:

- Es la primera vez que se considera a la elasticidad negativa como un resultado y se da una posible explicación, en base a la separación de fases, fenómeno que propicia la formación de dominios que, como propiedad emergente podrían causar inercia entre ellos al comprimir la monocapa.
- Los parámetros medidos podrían contribuir a tener una mejor comprensión del comportamiento del surfactante pulmonar; muy en particular, del efecto de los fosfolípidos insaturados y de cadenas carbonadas mayores a las del DPPC que coexisten con él a temperatura fisiológica. Conocer los parámetros reológicos del sistema permite entender el comportamiento macroscópico del mismo (estabilidad, resistencia al colapso, redistribución luego de la compresión). En este trabajo, la membrana estudiada fungió como un modelo experimental, de sólo dos tipos de fosfolípidos y bajo condiciones controladas; esto nos ha

permitido conocer el efecto del POPC en su calidad de fosfolípido insaturado en el DPPC, siendo este el lípido que se presenta en mayor cantidad en el surfactante pulmonar.

- Es sabido que muchos sistemas de membranas biológicas (como las membranas celulares) presentan formación de dominios en vivo, por lo que es importante conocer el efecto de la formación de estos en la dinámica de las membranas. Se ha observado que el conjunto completo de fosfolípidos segregados por los pneumocitos tipo 2 que conforman el surfactante pulmonar forman dominios, incluso desde bajas presiones laterales (desde 18mN/m) [20]. Esta formación de dominios ha sido atribuida a la separación de fases entre los diferentes fosfolípidos, pero ha sido poco estudiado desde el punto de vista reológico.

## 5.1. Perspectivas a futuro

Las suposiciones hechas en este trabajo como posible explicación de los resultados, deben ser verificadas por experimentos y trabajos tericos posteriores, entre los cuales, podría figurar:

- Caracterizar los módulos dinámicos de la mezcla DPPC:POPC a diferentes razones de concentración por el método de reología de compresión y por otros métodos reológicos. Un buen método a utilizar es la micro-reología, pues daría información estructural de la membrana.
- Obtener imágenes de BAM (Brewster Angle Microscopy) que muestren la forma de los dominios en las diferentes mezclas y a diferentes presiones.
- Una buena forma de comprobar la hipótesis de que la elasticidad negativa es debida a la formación de los dominios podría ser la realización de simulaciones numéricas.
- Al igual que con las simulaciones, es posible que realizando un estudio mecánico-estadístico de la mezcla con insaturación se obtenga información sobre el fenómeno.

# Bibliografía

- [1] Arthur W. Adamson and Alice P. Gast. *Physical chemistry of surfaces*. John Wiley and Sons, Inc., Canada, 6a. ed. edition, 1997.
- [2] G. Chimote and R. Banerjee. Effect of mycolic acid on surface activity of binary surfactant lipid monolayers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 328(2):288–298, 2008.
- [3] Jonathan M. Crane, Günther Putz, and Stephen B. Hall. Persistence of Phase Coexistence in Disaturated Phosphatidylcholine Monolayers at High Surface Pressures. *Biophysical Journal*, 77(6):3134–3143, 1999.
- [4] William Curatolo, Barry Sears, and Leo J. Neuringer. A calorimetry and deuterium {NMR} study of mixed model membranes of 1-palmitoyl-2-oleylphosphatidylcholine and saturated phosphatidylcholines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 817(2):261 – 270, 1985.
- [5] 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*, 2011.
- [6] Enrico Fermi. *Thermodynamics*. Dover Publications, Inc., New York, 1937.
- [7] B. Franklin. Of the stilling of waves by means of oil. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 64:445, 1774.
- [8] Agnes P. Girard-Egrot and Loic J. Blum. *Nanobiotechnology of Biomimetic Membranes*. Springer, New York, 2007.
- [9] Jon Goerke. Pulmonary surfactant: functions and molecular composition. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1408(2–3):79–89, 1998.
- [10] Jacob N. Israelachvili. *Intermolecular and surface forces*. Academic Press (Elsevier), Oxford, U.K., 3a. ed. edition, 2011.

- 
- [11] Vladimir M. Kaganer, Helmuth Möhwald, and Pulak Dutta. Structure and phase transitions in Langmuir monolayers. *Rev. Mod. Phys.*, 71:779–819, Apr 1999.
- [12] Grupo de trabajo de Dominique Langevin. Discusión privada con D.Langevin.
- [13] Landau and Lifshitz. *Theory of Elasticity*. Butterworth Heinemann, Oxford, England, 3a edition, 1986.
- [14] Ronald G. Larson. *The structure and rheology of complex fluids*. Oxford University Press., Oxford, New York., 1999.
- [15] Albert L. Lehinger. *Bioquímica*. Ediciones Omega, Barcelona, 2a edición edición, 1982.
- [16] Christopher W. Macosko. *Rheology principles, measurements and applications*. Wiley-VHC, Inc., Canada., 1994.
- [17] Ole G. Mouritsen. *Life as a matter of fat*. Springer, Berlin, 2005.
- [18] Cau P. Pascholati, Esteban Parra Lopera, Felipe J. Pavinatto, Luciano Caseli, Thatyane M. Nobre, Maria E.D. Zaniquelli, Tapani Viitala, Claudius D’Silva, and Osvaldo N. Oliveira Jr. The interaction of an antiparasitic peptide active against african sleeping sickness with cell membrane models. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74(2):504 – 510, 2009.
- [19] Jesús Pérez-Gil. Structure of pulmonary surfactant membranes and films: The role of proteins and lipid–protein interactions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1778(7–8):1676–1695, 2008.
- [20] Barbora Piknova, Vincent Schram, and StephenB Hall. Pulmonary surfactant: phase behavior and function. *Current Opinion in Structural Biology*, 12(4):487–494, 2002.
- [21] A. Pockels. Surface tension. *Nature*, 43, 1891.
- [22] Shoemaker Scott D. and Kyle Vanderlick T. Material Studies of Lipid Vesicles in the L and L-Gel Coexistence Regimes. *Biophys J*, 84(2):998–1009, feb 2003.
- [23] Xin Jiu Wang and Quifeng Zhou. *Liquid crystalline polimers*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd, Singapore, 2004.
- [24] Weis Robert M. and McConnell Harden M. Two-dimensional chiral crystals of phospholipid. *Nature*, 310(5972):4749, jul 1984. 10.1038/310047a0.