



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Instituto de Física y Matemáticas

Tesis:

Comportamiento de las Monocapas de DPPC por Efecto de Diferente Grupo Polar

Para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias en el Área de Física

Presenta:

Rubi Hernández Negrete

Asesor:

Dr. Gabriel Espinosa Pérez

Co-asesor:

Dr. Pablo Martínez Torres

Morelia, Michoacán
Febrero de 2018



Agradecimientos

En primer lugar, le agradezco a Dios por la vida, por permitirme llegar hasta donde estoy y por todo lo que me da cada día.

Les agradezco al Instituto de Física y Matemáticas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por aceptarme en el programa de Maestría y a Conacyt por el apoyo de beca.

Les agradezco a mi asesor el Dr. Gabriel Espinosa y co-asesor el Dr. Pablo Martínez por aceptarme en este proyecto de tesis.

Le agradezco al Dr. José Campos por permitirme realizar el trabajo experimental de la tesis en su laboratorio.

Les agradezco a mis colegas de Biofísica: Maricela, Luis y Beto por compartir sus conocimientos para el desarrollo de esta tesis.

Les agradezco a mis profesores del Instituto de Física y Matemáticas por todas sus enseñanzas y paciencia.

Les agradezco a mis compañeros de clase Carlos Isaac y José Felix por haberme apoyado con sus conocimientos durante nuestros estudios.

Les agradezco a mis padres Isidro y María Guadalupe por seguir apoyándome en cada una de mis decisiones.

Les agradezco a mis tíos Margarita Negrete y Arturo Suarez, Teresa Negrete y J. Trinidad Mata por brindarme un lugar en su casa durante mi estancia en Morelia.

Le agradezco a Gustavo Gonzáles por su ayuda técnica y con el uso de los programas usados en esta tesis.

Índice General

Agradecimientos	i
1 Introducción	1
2 Conceptos Fundamentales.....	8
2.1 Tensión Superficial.....	8
2.2 Presión Superficial	11
2.3 Método de la Placa de Wilhelmy.....	12
2.4 Lípidos.....	14
2.5 Fases en monocapas de Langmuir.....	19
_2.5.1. Fase Gas.....	20
_2.5.2. Transición Gas-Líquido	21
_2.5.3. Fases Condensadas	21
_2.5.4. Colapso de la Monocapa	23
2.6 Monocapas Mixtas	24
2.7 Módulo de Compresibilidad	26
3 Materiales y Métodos Experimentales	29
3.1 Estructura de los lípidos DPPC y DPPE	30
3.1 Características de los lípidos DPPC y DPPE	30
3.3 Palangana de Langmuir.....	31
3.4 Formación de Monocapas de Langmuir.....	32
3.5 Isotermas de Compresión	33
4 Resultados y Discusión	34
4.1 Isotermas de superficie	34
4.2 Módulo de Compresibilidad	36
4.3 Regla de Mezclas	38
5 Conclusiones.....	40
5.1 Perspectivas.....	41
Apéndice A	42
Apéndice B	47
Bibliografía	50

Resumen

En el presente trabajo de tesis, se realizó un estudio experimental sobre el comportamiento de monocapas compuestas por el lípido DPPC y sus mezclas con el lípido DPPE a diferentes fracciones molares por medio del método experimental de la balanza de Langmuir. Estos lípidos fueron elegidos por su interés en estudiar los efectos en la compresión y fluidez de la monocapa debido a que tienen diferente grupo polar y son lípidos presentes en las membranas biológicas. Este estudio se llevó a cabo al realizar un análisis de las isothermas de compresión (Presión Superficial vs. Área Molecular), de cuyas mediciones se obtuvieron los módulos de compresibilidad. También, a través de la regla de mezclas se estudió la miscibilidad de las fases de ambos lípidos en coexistencia. Finalmente, de los resultados, obtuvimos las conclusiones que al realizar mezclas con diferentes grupos polares y a diferente fracción molar modifica la forma de la isoterma de la monocapa, cambiando así las fases de la monocapa.

Abstract

In the present thesis, an experimental study of the behavior of lipid monolayers formed of the lipid DPPC and the mixtures with the lipid DPPE at different molar fractions. The experiments were performed with the experimental method of Langmuir trough. These lipids were chosen for the interest to study the effects in the compression and fluidity of the monolayer, because of the difference in their polar group and these lipids are present in the biological membranes. From the measurement and analysis of the compression isotherms (Surface Pressure vs. Molecular Area), we obtained the compressibility module. In addition, the miscibility of the coexistence phases of the mixtures was studied using the mixing rule. Finally, from our results, we obtained the conclusions that mixtures with different polar group and at different molar fractions modifies the shape of the isotherm of the monolayer, thus changing the phases of the monolayer.

Keys: lípidos DPPC/DPPE, monocapas, isothermas, compresibilidad.

Capítulo 1

Introducción

Recordemos brevemente el desarrollo histórico de las monocapas. Empezando con Gaines que, en su monografía, nos recuerda que el efecto calmante del petróleo en un mar agitado fue observado por Plinio el viejo y por Plutarco. Luego Benjamín Franklin [1] en 1774 hizo la observación más cuantitativa observando que una cucharadita de aceite era suficiente para calmar una superficie de medio acre de un estanque. Más tarde, en 1890, Lord Rayleigh [2] señaló que los movimientos erráticos de alcanfor en una superficie de agua se detuvieron extendiendo una cantidad de ácido oleico suficiente para dar una película de 16 \AA^2 de espesor. Esto, por cierto, dio un límite superior al tamaño molecular y por lo tanto al peso molecular de ácido oleico de modo que un valor mínimo del número de Avogadro se podría estimar.

En este tiempo Agnes Pockels [3] demostró como las películas podrían confinarse por medio de barreras, desarrollando un dispositivo (Fig. 1.1) que le permitía medir la tensión superficial de monocapas de sustancias hidrofóbicas (aceites y grasas) y anfipáticas (jabones y detergentes) y el tamaño de las moléculas. Consistía en un recipiente hecho a partir de una sartén de estaño (hojalata) con barreras también de hojalata: una de las barreras era fija y la otra móvil, se usaba para comprimir una capa de jabón, por ejemplo, depositada sobre agua; las moléculas ocupan todo el espacio disponible, y se usa la barrera móvil para comprimir la capa; la presión necesaria, que cambia suavemente, se va registrando y llega un momento en que cambia bruscamente (el punto de Pockels), en ese momento las moléculas están en el máximo de compresión confinados a un área aproximadamente de 20 \AA^2 por molécula; sabiendo la superficie y el número de moléculas de jabón depositadas, sabes el área que ocupa una molécula. El dispositivo incorporaba una balanza con un disco de hojalata de 6 mm: determinando la fuerza necesaria para que el disco atravesase la monocapa se obtiene una medida de la tensión superficial. Con este dispositivo Agnes describió el comportamiento general de la tensión superficial con diferentes concentraciones de aceite y las cantidades de distintos aceites necesarias para constituir una monocapa de superficie conocida.

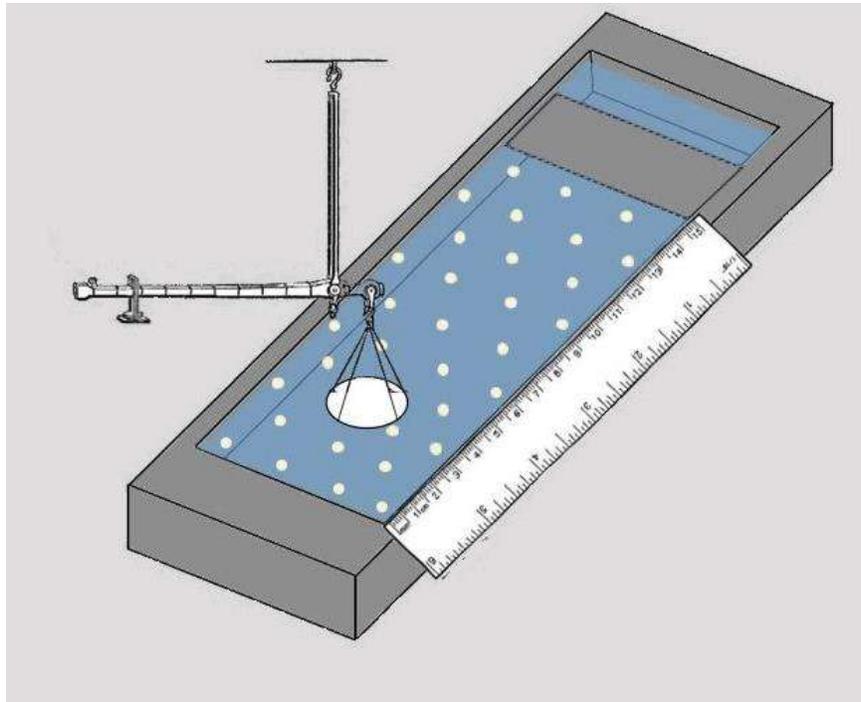


Figura 1.1. Diseño de la primera palangana experimental. Figura adaptada de [3]

En 1899, Rayleigh [2] comentó que una interpretación razonable del punto de Pockels era que en esta área las moléculas del material de la superficie se tocaban unas a otras. La imagen de una película superficial que se estaba desarrollando eran moléculas "flotantes" en la superficie, con poca interacción hasta que entraron en contacto entre sí.

Irving Langmuir [4] en 1917 dio un gran impulso al estudio de las películas monomoleculares mediante el desarrollo de la técnica utilizada por Pockels. Confinó la película con una barrera rígida pero ajustable en un lado y en el otro con una barrera flotante. Se evitó que la película se escapara por los extremos de la barrera flotante mediante pequeños chorros de aire. La fuerza real sobre la barrera se midió directamente para dar la presión de la película. Como había observado la señorita Pockels, él encontró que uno podría barrer una película de la superficie bastante limpia simplemente moviendo la barrera deslizante, manteniéndola siempre en contacto con la superficie. Conforme la barrera es movida a lo largo de la superficie, una superficie de agua pura se formaría detrás de ella. La barrera flotante se conectó a una suspensión de borde de cuchilla por medio de la cual la fuerza sobre la barrera podría ser determinada. Las barreras fueron construidas de papel cubierto con parafina para no ser mojado por el agua. Langmuir en sus experimentos descritos aquí construyó la primera balanza de películas superficiales actualmente conocida como balanza de Langmuir.

Una versión moderna de una balanza de películas superficiales, la observamos en la figura 1.2.

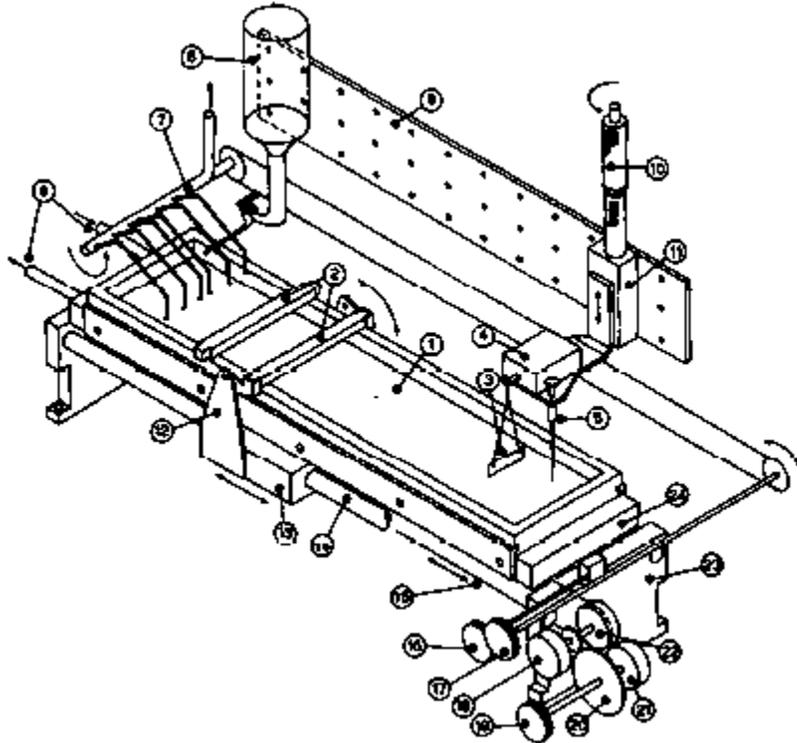


Figura 1.2 Una balanza moderna de la película: (1) canal de teflón; (2) barreras de teflón reforzado; (3) placa de Wilhelmy; (4) transductor de fuerza; (5) puntero para el nivel de agua; (6) depósito para la subfase acuosa; (7) tubos de succión para limpiar la superficie; (8) entrada y salida en la base del canal para agua termostática; (9) rack de accesorios; (10) micrómetro; (11) diapositiva vertical para el montaje de la placa de Wilhelmy; (12) accionamiento de barrera y conjunto de elevación; (13) montaje lineal de movimiento para barreras; (14) ejes para 13; (15) cable para el movimiento de la barrera; (16) perilla de control para mecanismo de elevación de barrera; (17) perilla para subir y bajar los tubos de succión; (18) codificador del eje óptico para la posición de la barrera; (19) perilla para accionamiento de barrera manual; (20) conjunto de embrague y engranaje para accionamiento barrera motorizada; (21) motor de accionamiento de barrera; (22) tambor acanalado para el cable de la impulsión de la barrera; (23) placa de soporte; (24) base del canal. Figura adaptada de [5] .

Langmuir [4] también dio énfasis necesario a la importancia de emplear sustancias en lugar de los diversos aceites naturales utilizados anteriormente. Así encontró que el área de limitación (en el punto de Pockels) era la misma para el ácido palmítico, el ácido esteárico, y el ácido cerótico, es decir, 21 \AA^2 por molécula. Esta observación de que la longitud de la cadena de hidrocarburos podría variar de 16 a 26 átomos de carbono sin afectar el área de limitación sólo podría significar que en este punto las moléculas estaban orientadas verticalmente. Desde el punto de vista del peso molecular y densidad del ácido palmítico, se calcula un volumen molecular de 495 \AA^3 ; una molécula que ocupa sólo 21 \AA^2 en la superficie podría ser entonces de aproximadamente 4.5 \AA en el lado, pero debe ser cerca de 23 \AA de largo. De esta manera se empieza a obtener información sobre la forma y la orientación, así como el tamaño de las moléculas. La evidencia

anterior sobre la orientación en la interfase aclara que el extremo polar está dirigido hacia el agua y las colas de hidrocarburos hacia el aire.

El tema de las monocapas se convirtió en uno de los estudios científicos de interés en el cual las monocapas nos sirven para modelar las membranas celulares, para eso veamos ahora el desarrollo de los modelos de membranas celulares.

Pfeffer [6] fue el primero en estudiar la presión osmótica dentro de las células y formuló la idea de que el protoplasma de las células está rodeado por una capa delgada, que él llamó la membrana plasmática. De hecho, Pfeffer propuso que esta membrana no sólo cubre la superficie exterior de las células, sino también separa todos los ambientes acuosos de diferente composición entre sí. Por lo tanto, se puede considerar Pfeffer como el padre de la teoría de la membrana.

Overton [7] es una figura muy importante en el desarrollo de una imagen de las membranas celulares. Investigó las propiedades osmóticas de las células y a finales del siglo XIX, noto que la penetración de moléculas a través de las membranas se relaciona con su coeficiente de reparto entre el agua y el petróleo. Los descubrimientos de Overton llevaron a la hipótesis de que las delgadas membranas celulares tienen las propiedades del aceite. Llamó "lipoides" a las capas que rodean las células, las cuales están hechas de lípidos y colesterol.

Gorter y Grendel [8] (1925) experimentalmente investigaron el área superficial de lípidos. Para este propósito extrajeron los lípidos de glóbulos rojos humanos, caninos, lepóridos, bóvidos y cávidos en acetona. Los lípidos se extendieron en una superficie de agua y el área se midió usando una balanza de Langmuir. A partir de los mismos extractos sanguíneos se midió el área superficial de los glóbulos rojos a partir de micrografías. Encontraron que la superficie de las monocapas (películas de espesor de una molécula) estaban dentro del error de exactamente dos veces el tamaño de las células. Concluyeron que las membranas celulares están hechas de dos capas moleculares delgadas opuestas, y propusieron que esta doble capa estuviera construida de modo que dos lípidos formen una bicapa con los grupos polares apuntando hacia la fase acuosa que los rodea. La Fig 1.3 es una imagen de la bicapa lipídica que conocemos hasta hoy.

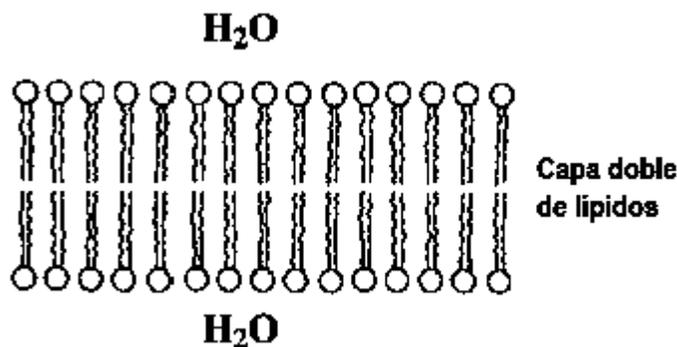


Figura 1.3 La membrana celular de acuerdo a Gorter y Grendel (1925). Figura adaptada de [8].

El primer modelo molecular para la estructura de la biomembrana que incluye proteínas fue el modelo de Danielli y Davson [9] (1935). Tomaron en cuenta que las capas que rodeaban a las células tenían un contenido significativo de proteínas adsorbidas a las capas. Se sabe que los fosfolípidos tienen una naturaleza anfifílica. Además, las proteínas investigadas eran en su mayoría solubles en agua, sin embargo, a menudo adsorbidas a las membranas. Por lo tanto, Jim Danielli y Hugh Davson propusieron un modelo de la membrana celular que consiste en una bicapa lipídica, con la cual una capa de proteína está estrechamente asociada (Fig. 1.4, izquierda).

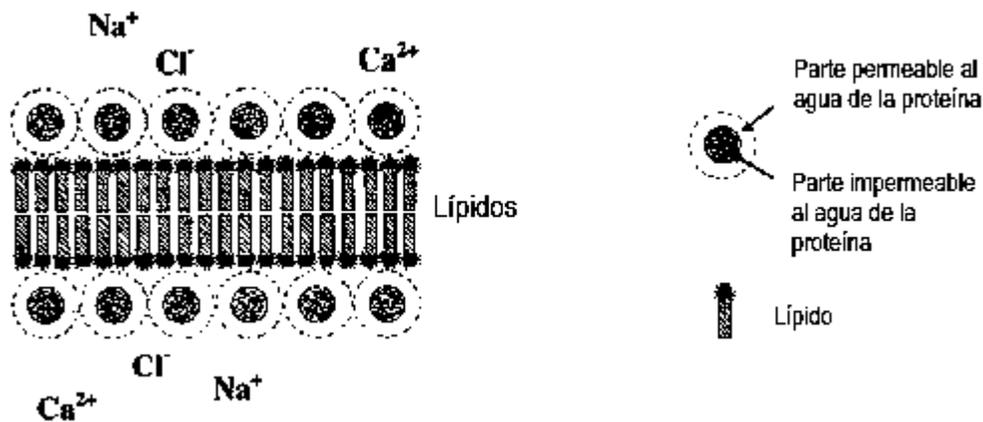


Figura 1.4 Danielli y Davson propusieron un modelo incluyendo proteínas. Figura adaptada de [9].

Singer y Nicolson [10] concluyeron que las proteínas también pueden atravesar la membrana. Esto llevó al famoso modelo de Singer-Nicolson (1972) también conocido como el "modelo de mosaico fluido". Este modelo puede resumirse como sigue: las membranas se construyen de lípidos y proteínas. Las proteínas forman principalmente dos clases. Las proteínas periféricas son aquellas proteínas que están únicamente sueltas en la superficie de la membrana y se pueden separar fácilmente de la membrana por tratamiento suave (por ejemplo, citocromo c en mitocondrias o espectrina en eritrocitos). Las proteínas integrales, en contraste, no pueden separarse fácilmente de los lípidos. Forman la mayor parte de las proteínas de la membrana. La estructura (matriz) es la doble capa lipídica (bicapa). Las proteínas pueden ser adsorbidas a la superficie de la membrana o a través de la membrana (Fig. 1.5). El término "modelo de mosaico fluido" usado por Singer y Nicolson probablemente se origina de Danielli y Davson (1935) aunque su trabajo no fue citado.

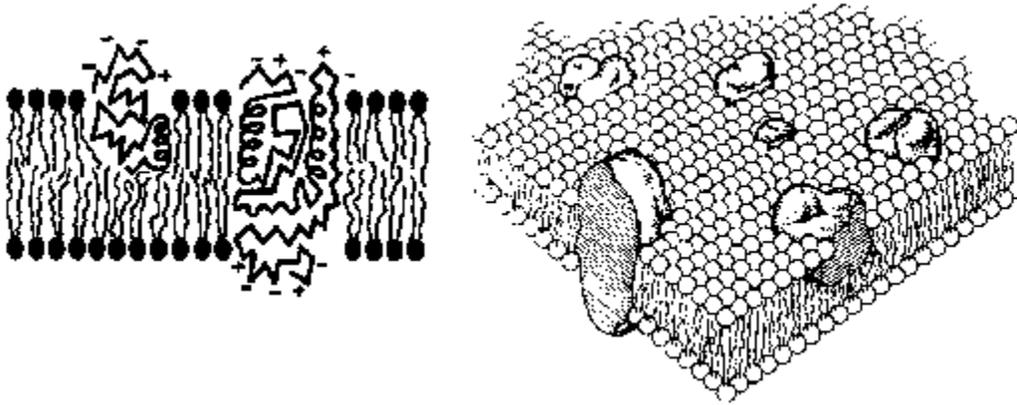


Figura 1.5 El modelo del mosaico fluido de Singer y Nicolson (1972). Figura adaptada de [10].

En 1984, Mouritsen y Bloom propusieron el modelo del colchón [11] (Fig. 1.6) que sugiere que las proteínas y los lípidos muestran interacciones con un contenido de energía libre positivo debido a variaciones en la longitud hidrofoba de las moléculas. El espesor típico de una bicapa lipídica es aproximadamente 5 nm. Si el núcleo hidrofóbico de una proteína de membrana es más largo o más corto que esta longitud, entonces algunos segmentos de proteínas o segmentos lipídicos hidrofobos están expuestos al agua. Entonces, la membrana lipídica tiene que ser deformada para compensar las interacciones hidrofóbicas desfavorables. Este efecto se denomina "la compatibilidad hidrofoba", que da lugar a tensiones interfaciales entre lípidos y proteínas. Estas tensiones pueden resultar en la acumulación de ciertas especies lipídicas alrededor de las proteínas, y en la atracción mutua de las proteínas debido a las fuerzas capilares, dando lugar a la agregación y agrupación de proteínas [12].

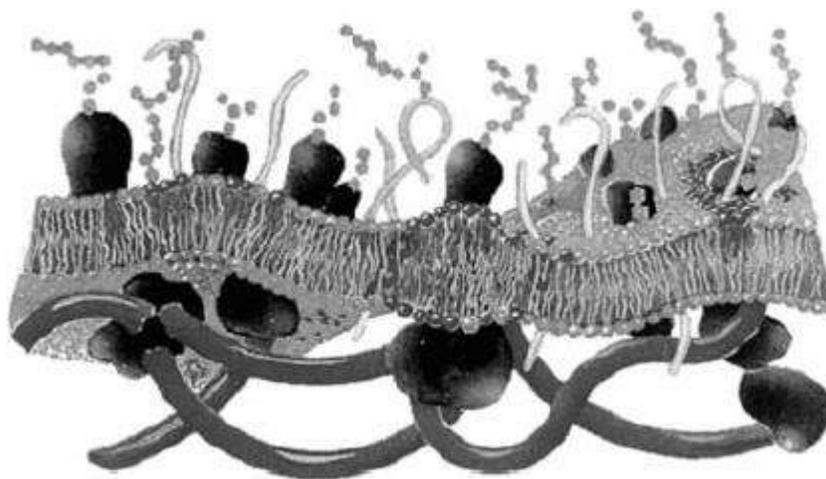


Figura 1.6 El modelo del colchón propuesto por Mouritsen y Bloom (1984). Figura adaptada de [11].

En el capítulo 2 se describirá de manera resumida los elementos básicos para el estudio del comportamiento de las monocapas. En primer lugar, se introduce el concepto de tensión superficial, presión superficial, el método de la placa de Wilhelmy, utilizado para medir la presión superficial, se dará una breve explicación de lípidos y su clasificación. Se continúa con la explicación de los estados de las monocapas mixtas. Finalizando este capítulo con la descripción del módulo de compresibilidad.

En el capítulo 3 se muestra la estructura de los lípidos DPPC y DPPE, se describirán las similitudes y diferencias entre ellos, principalmente en el grupo polar. Después se detallarán las partes de la palangana de Langmuir, dispositivo usado para el desarrollo experimental de esta tesis. Luego se detallará el protocolo para formar las llamadas monocapas de Langmuir. Para concluir este capítulo, se mostrarán las características de las isotermas de compresión, las cuales nos permiten conocer las fases de las monocapas de Langmuir a una temperatura constante.

El capítulo 4 es dedicado a describir los resultados experimentales y su discusión. Finalmente, en el capítulo 5 se presentan las conclusiones obtenidas a partir de lo observado experimentalmente.

Capítulo 2

Conceptos Fundamentales

2.1 Tensión Superficial

El concepto de tensión superficial es muy antiguo. Según se sabe, Leonardo da Vinci ya había observado y registrado el ascenso espontáneo de líquidos en capilares humedecidos, como agujeros estrechos y tapones. De este fenómeno adquirió su nombre: *capillus* (lat.) = pelo: los agujeros deben ser tan estrechos como un pelo. Hoy en día el término de fenómeno capilar se utiliza más ampliamente para indicar que no sólo se trata del ascenso capilar, que implica interfaces curvas, sino también todos los fenómenos determinados por la tendencia de las interfaces a adoptar un área mínima, tales como las formas de gota, las formas de burbujas, puentes líquidos y mojados, etc. [13].

Un importante desarrollo histórico fue la percepción de que la tensión superficial es una propiedad superficial y no una propiedad del volumen. Newton ya había diferenciado entre fuerzas cohesivas y adhesivas. Se llevó a cabo un experimento discriminativo por Hawksbee. Él investigó el ascenso de líquidos en capilares y entre platos de vidrio y encontró que el grosor del vidrio no importaba. Así que el fenómeno de humectación se estableció como un fenómeno superficial, aunque la profundidad de las interacciones responsables de las tensiones sigue siendo un problema hoy en día [13].

Respecto a los términos interfaz y superficie, "Interfaz" es el término general; la palabra superficie está restringida a la frontera de las fases en la que una de ellas es una fase gaseosa, o para indicar específicamente la parte más alejada de una fase condensada (la superficie de unas gotas aceite en una emulsión de aceite en agua) [13]. El símbolo de tensión interfacial y tensión superficial suelen ser σ y γ , respectivamente. En la presente tesis usamos el símbolo γ para tensión superficial.

Para la medición de las tensiones superficiales no se necesitan modelos moleculares. Es suficiente saber que la tensión superficial es una medida debida a que todas las áreas tiendan a minimizarse. Esta acción contráctil puede ser interpretada mecánicamente o termodinámicamente.

Mecánicamente, la tensión superficial es la fuerza de contracción por unidad de longitud, actuando en la interfaz y paralela a ella. Las dimensiones son [fuerza / longitud], y nuestra unidad habitual es mN/m. Las tensiones superficiales son medibles mecánicamente como las fuerzas necesarias para expandir a una

interfase por una cantidad infinitesimal. Para las interfaces isotrópicas esta fuerza es la misma en cada dirección.

Un ejemplo que sirve para ilustrar el concepto de tensión superficiales el siguiente. Consideremos, una película de jabón estirada sobre una estructura rectangular de alambre [5]. Uno de los extremos es móvil (figura 2.1). Experimentalmente, si se elimina la fuerza F del diagrama, se observa que el lado no fijo se mueve en sentido contrario a la flecha F , por lo tanto, una fuerza restauradora está actuando sobre el elemento móvil en la dirección opuesta a la de la flecha en el diagrama. Si el valor de la fuerza por unidad de longitud se denota por γ , entonces el trabajo realizado al extender el elemento móvil una distancia dx es:

$$dW = Fdx = \frac{F}{l} ldx = \gamma dA \quad (2.1)$$

donde $dA = ldx$ es el cambio de área [5].

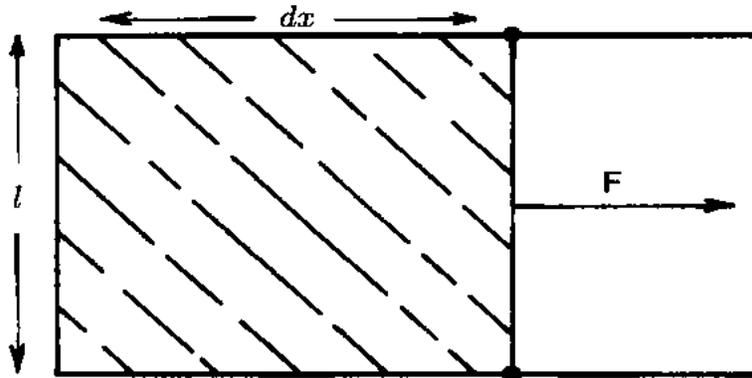


Figura 2.1 Una película de jabón estirada a través de un marco de alambre con un lado móvil [5].

Termodinámicamente, la tensión superficial se interpreta como el aumento de la energía de Gibbs (G) del sistema cuando el área de la superficie bajo consideraciones se incrementa reversiblemente por una cantidad infinitesimal dA a temperatura (T), volumen (V), y composición constante (n) [13]. Podemos expresar la tensión superficial como:

$$\gamma = \left(\frac{\partial G}{\partial A} \right)_{T,V,n} \quad (2.2)$$

donde n es una abreviatura para el conjunto de cantidades n_1, n_2, \dots , que definen la composición del sistema. Las dimensiones de γ son [energía / área] que equivalen a las dimensiones de [fuerza / longitud]; la expresamos en mJ/m^2 . Como G es en principio medible, también lo es γ .

Utilizando la convención de Gibbs [5] usamos el superíndice σ para definir las cantidades superficiales,

$$G^\sigma = E^\sigma - TS^\sigma, \quad (2.3)$$

donde E es la energía y S la entropía, así que

$$dG^\sigma = dE^\sigma - TdS^\sigma - S^\sigma dT. \quad (2.4)$$

Para pequeños cambios en la energía dE^σ de un sistema tenemos que:

$$dE^\sigma = TdS^\sigma + \sum \mu_i dn_i^\sigma + \gamma dA, \quad (2.5)$$

donde μ_i son potenciales químicos. Así sustituyendo (2.5) en (2.4) se tiene que:

$$dG^\sigma = -S^\sigma dT + \sum \mu_i dn_i^\sigma + \gamma dA \quad (2.6)$$

Alternativamente, para todo el sistema (es decir, incluyendo las fases volumen),

$$dG = -SdT - PdV + \sum \mu_i dn_i + \gamma dA. \quad (2.7)$$

Así

$$\gamma = \left(\frac{\partial G^\sigma}{\partial A} \right)_{T, n_i^\sigma} \quad (2.8)$$

o

$$\gamma = \left(\frac{\partial G}{\partial A} \right)_{T, V, n_i} \quad (2.9)$$

Con esta expresión recuperamos la tensión superficial en términos de la energía de Gibbs.

2.2 Presión Superficial

La presión superficial es la medida de una presión lateral o bi-dimensional. Por lo tanto, posee las mismas unidades que las de la tensión superficial. Para entender mejor este concepto, supongamos que se tiene un canal dividido por una membrana delgada de caucho en dos compartimentos, uno lleno de solvente y el otro con solución (figura 2.2), se observará una fuerza que actúa sobre un flotador unido al extremo superior de la membrana. En la sección transversal, la membrana de caucho es muy delgada y la porción que se encuentra por debajo de la superficie es altamente flexible que fácilmente se puede doblar, igualando así cualquier diferencia hidrostática entre ambas soluciones. La fuerza observada en el flotador es de origen puramente debida a la tensión superficial que resulta de un desplazamiento en la dirección de la superficie de mayor tensión superficial, dando lugar a una menor energía libre superficial para el sistema. Esta fuerza podría ser medida directamente determinando cuánta fuerza opuesta es aplicada por una palanca unida a un alambre de torsión para evitar que el flotador se mueva [5]. En esta explicación, π surge como una diferencia de dos tensiones superficiales:

$$\pi = \gamma_0 - \gamma \quad (2.10)$$

donde γ_0 es la tensión superficial del líquido puro y γ es la tensión superficial de la interfaz en presencia de las moléculas adsorbidas [5].

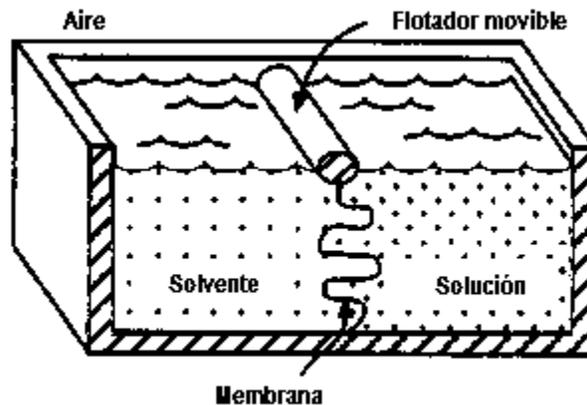


Figura 2.2 Sección transversal de la palangana PLAWM (Pockels-Langmuir-Adam-Wilson-McBain). Figura adaptada de [5].

2.3 Método de la Placa de Wilhelmy

Un método disponible para medir la tensión y presión superficial es el conocido como el método de la placa de Wilhelmy (ver figura 2.3). En este método se realiza una medición determinando la fuerza ejercida sobre una placa (hidrofílica) de modo que esté parcialmente sumergida en la fase líquida. De esta fuerza se calcula entonces la tensión de la superficie gas-líquido (mN/m o dinas/cm) haciendo las correcciones con las adecuadas dimensiones de la placa.

La placa es a menudo muy delgada y hecha de algún material hidrofílico, comúnmente pueden ser fabricadas de: platino, vidrio, cuarzo, mica o papel filtro. Las fuerzas que actúan sobre la placa consisten en la gravedad (g) y la tensión superficial (γ) hacia abajo, y la flotabilidad (debida al desplazamiento del agua) en sentido opuesto (hacia arriba). Para una placa rectangular de dimensiones: longitud (l), anchura (w) y espesor (t), conocemos la densidad del material ρ_p que es sumergida a una profundidad (h) en un líquido de densidad ρ_l . De la suma de fuerzas se obtiene una resultante a partir de la siguiente ecuación [14]:

$$F = \rho_p g l w t + 2\gamma(t + w)\cos\theta - \rho_l g t w h \quad (2.11)$$

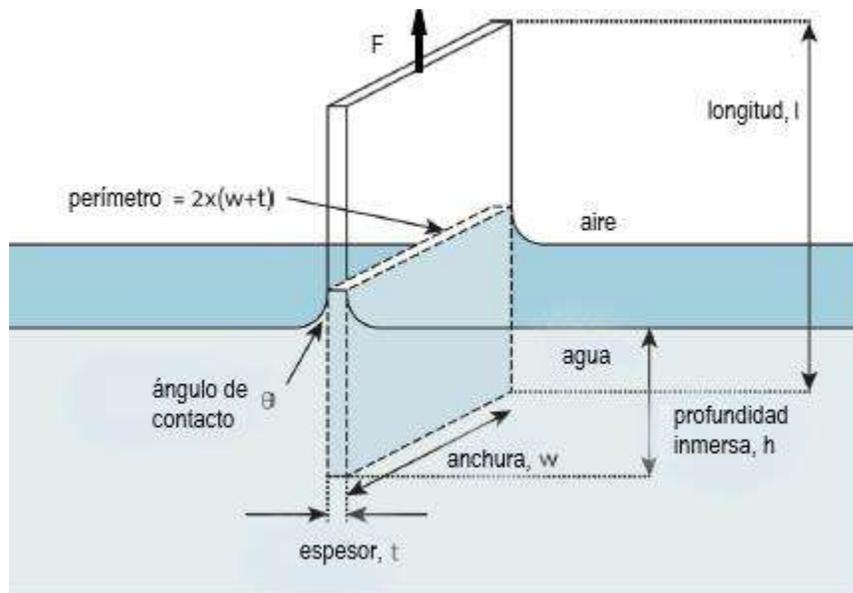


Figura 2.3 Una placa de Wilhelmy parcialmente sumergida en una superficie de agua. Figura adaptada de [15].

El tensiómetro debe ser calibrado antes de poner la placa en contacto con el líquido. Con esta calibración es posible despreciar el primer término (correspondiente al peso de la placa). En los experimentos la placa no es sumergida completamente, solo se mantiene a un mismo nivel del líquido, por lo tanto, también se puede despreciar el término de la flotabilidad de la ecuación 2.11.

Así, la fuerza F medida por el tensiómetro es debida únicamente a la tensión superficial, es decir:

$$F = 2\gamma(t + w)\cos\theta. \quad (2.12)$$

El hecho de utilizar materiales hidrofílicos permiten que el ángulo de contacto (θ) sea cero. Por lo que:

$$F = 2\gamma(t + w), \quad (2.13)$$

de aquí obtenemos la relación para la tensión superficial,

$$\gamma = \frac{F}{2(t+w)}. \quad (2.12)$$

Si la placa es lo suficientemente delgada tal que $t \ll w$, entonces

$$\gamma = \frac{F}{2w}. \quad (2.13)$$

2.4 Lípidos

Las moléculas que estudiamos en este trabajo llamadas lípidos, llevan a cabo múltiples funciones. La proporción más grande de lípidos se encuentra en las células, ya que los lípidos constituyen aproximadamente el 85% de sus membranas que dividen los compartimientos y separan a las células de sus alrededores. Las membranas son más que unas paredes pasivas, estas son muy selectivas ya que facilitan el paso de determinadas sustancias en determinadas direcciones, al tiempo que impiden el paso de otras. Esta permeabilidad selectiva de la membrana permite que las distintas partes de la célula realicen sus operaciones específicas [16].

Los lípidos constituyen un grupo extraordinariamente diverso de moléculas bastante pequeñas que presentan una fuerte tendencia a asociarse mediante fuerzas no covalentes. Generalmente, los lípidos se caracterizan por el tipo de estructura formada por una “cabeza” hidrófila polar, conectada a una “cola” hidrocarbonada hidrófoba apolar. Las moléculas lipídicas en un medio acuoso tienden agruparse formando una asociación no covalente. Al igual que los grupos apolares de las proteínas se asocian mediante un efecto hidrófobo que promueve la entropía, las colas polares de los lípidos también lo hacen. Una segunda fuerza de estabilización es la que procede de la interacción de Van der Waals entre las zonas hidrocarbonadas de las moléculas [16].

Por otro lado, los grupos polares de las moléculas lipídicas tienden a asociarse con el agua. En consecuencia, los lípidos son ejemplos claros del tipo de sustancia anfipática o anfifílica. Esta “esquizofrenia molecular” tiene varias consecuencias posibles, como la formación de monocapas de superficie, bicapas, micelas y vesículas, por los lípidos en contacto con el agua (véase la Figura 2.4) El tipo de estructura exacta que se forma cuando un lípido entra en contacto con el agua depende de la estructura molecular específica de las partes hidrófila e hidrófoba de esa molécula lipídica [16].

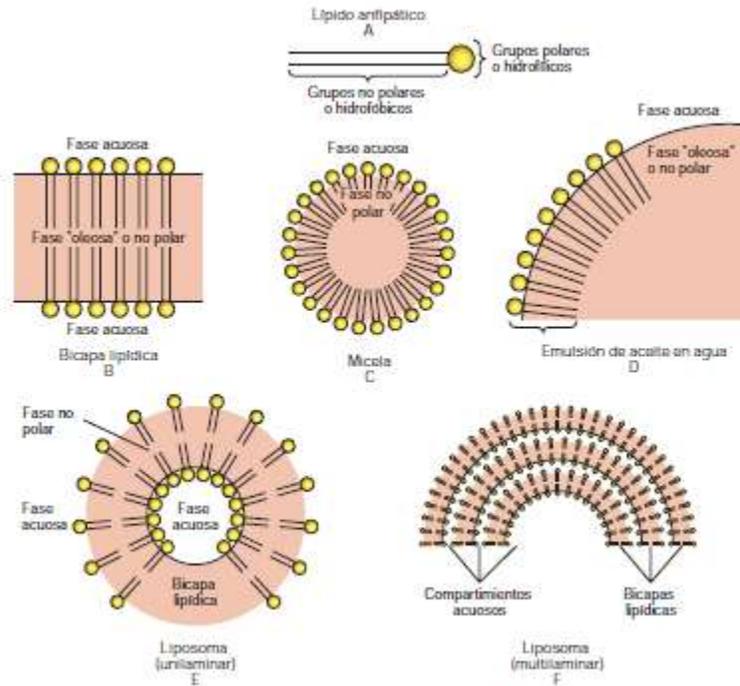


Figura 2.4: Formación de membranas lipídicas, micelas, emulsiones y liposomas a partir de lípidos anfipáticos, por ejemplo, fosfolípidos [17].

En la figura 2.5 se muestran las clases principales de lípidos y sus interrelaciones estructurales. Las moléculas anfipáticas más simples son los ácidos grasos, y tienen la fórmula general $R-COOH$, donde R representa una cadena de hidrocarburo. Los ácidos grasos son componentes de diversos tipos de lípidos más complejos, incluyendo los triglicéridos o triacilgliceroles, los glicerofosfolípidos y los esfingolípidos. Los lípidos que contienen grupos fosfato se llaman fosfolípidos y los que tienen grupos esfingosina y carbohidrato a la vez se llaman glicoesfingolípidos. [17].

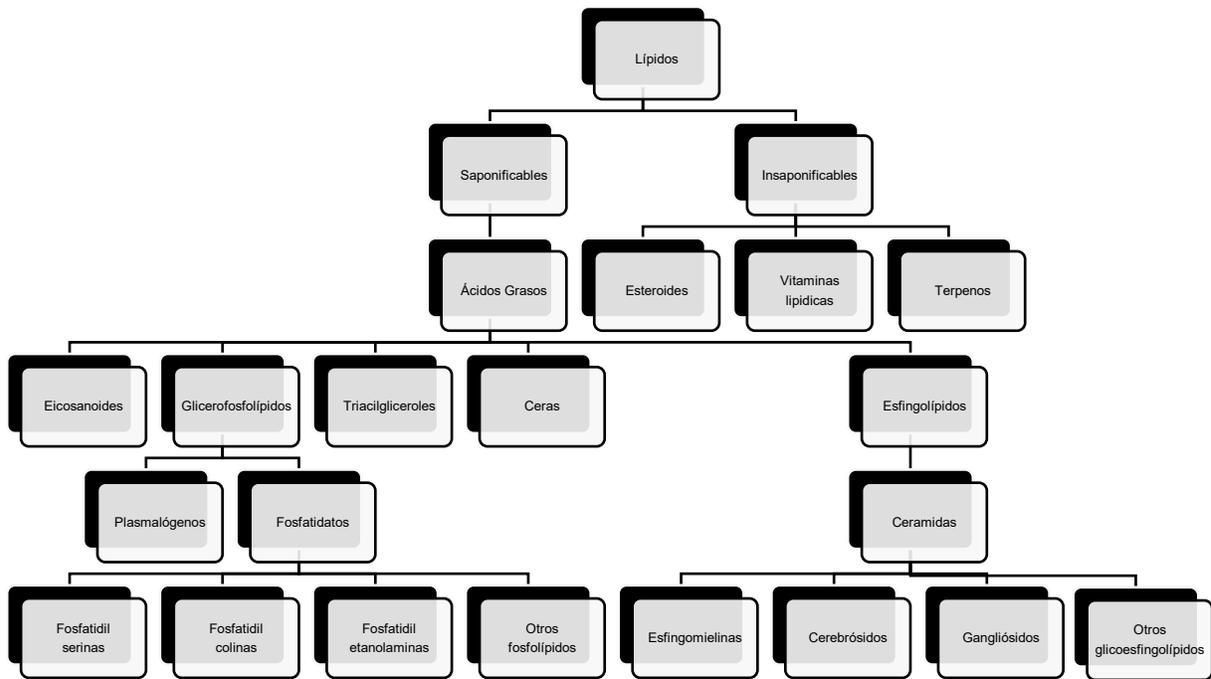


Figura 2.5: Clases principales de lípidos. Figura adaptada de [17].

En general, los lípidos son insolubles en agua porque contienen un predominio de grupos no polares (hidrocarbonos). Sin embargo, los ácidos grasos, los fosfolípidos, los esfingolípidos, las sales biliares y, en menor grado, el colesterol, contienen grupos polares. En consecuencia, parte de la molécula es hidrofóbica, o insoluble en agua, y parte hidrofílica, o soluble en agua. Tales moléculas se describen como anfipáticas (fig. 2.4); se orientan en interfases de aceite: agua con el grupo polar en la fase acuosa y el grupo no polar en la fase oleosa. Una bicapa de ese tipo de lípidos anfipáticos es la estructura básica en membranas biológicas [18].

Cuando hay una concentración crítica de estos lípidos en un medio acuoso, forman micelas, conjunto de moléculas en las que las colas hidrocarbonatadas se agrupan juntas dentro de la estructura y las cabezas de carboxilato están en contacto con el agua [16]. Los liposomas son estructuras en forma esférica cuyo cascarón es una bicapa lipídica que encierra parte de medio acuoso. Las agregaciones de sales biliares en micelas y liposomas, y la formación de micelas mixtas con los productos de la digestión de grasas tienen importancia en la facilitación de la absorción de lípidos en el intestino [18].

Los liposomas tienen un uso clínico potencial, en particular cuando se combinan con anticuerpos específicos en tejidos, o como acarreadores de fármacos en la circulación, y dirigidos hacia órganos específicos; por ejemplo, en la terapia para el cáncer. Además, se usan para transferencia genética hacia

células vasculares, y como acarreadores para el aporte tópico y transdérmico de medicamentos y cosméticos [18]

2.4.1 Ácidos grasos

En varias especies se han identificado más de 100 ácidos grasos distintos. Los ácidos grasos difieren entre sí en la longitud de sus colas de hidrocarburo, la cantidad de dobles enlaces carbono-carbono, las posiciones de los dobles enlaces en las cadenas y la cantidad de ramificaciones. Algunos ácidos grasos comunes en los mamíferos se muestran en la tabla 2.1. Los ácidos grasos son una forma de detergente, porque tienen una larga cola hidrofóbica y una cabeza polar pequeña. Como es de esperar, la concentración de ácido graso libre en las células es muy baja, porque a altas concentraciones de ácidos grasos libres las membranas se podrían romper. La mayor parte de los ácidos grasos se encuentran formando lípidos más complejos. Están unidos a otras moléculas mediante un enlace de éster (grupo de cadenas de átomos unidas a un radical –COO) en el grupo carboxilo terminal (grupo de cadenas de átomos unidas a un radical –COOH) [17].

La cantidad de átomos de carbono en los ácidos grasos más abundantes va de 12 a 20, y casi siempre es un número par, ya que se sintetizan mediante la adición consecutiva de unidades con dos carbonos. En la nomenclatura de IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), al carbono carboxílico se le considera el C-1, al carbono adyacente al carbono carboxílico C-2, y los demás átomos de carbono se numeran en secuencia.

Tabla 2.1 Algunos ácidos grasos comunes [5]

Cantidad De carbonos	Nombre común	Nombre de Ginebra	Fórmula molecular
11	Ácido Undecanoico	Ácido Undecanoico	C ₁₀ H ₂₁ COO
12	Ácido Láurico	Ácido Dodecanoico	C ₁₁ H ₂₃ COO
13	Ácido Tridecílico	Ácido Tridecanoico	C ₁₂ H ₂₅ COO
14	Ácido Mirístico	Ácido Tetradecanoico	C ₁₃ H ₂₇ COO
16	Ácido Palmítico	Ácido Hexadecanoico	C ₁₅ H ₃₁ COO
17	Ácido Margárico	Ácido Heptadecanoico	C ₁₆ H ₃₃ COO
18	Ácido Esteárico	Ácido Octadecanoico	C ₁₇ H ₃₅ COO

18	Ácido Elaídico	Ácido trans-9- Octadecenoico	$C_{18}H_{33}COO$
18	Ácido Oleico	Ácido cis-9- Octadecenoico	$C_{18}H_{33}COO$
19	Ácido Nonadecílico	Ácido Nonadecanoico	$C_{19}H_{37}COO$
20	Ácido Araquídico	Ácido Eicosanoico	$C_{20}H_{39}COO$
22	Ácido Behénico	Ácido	$C_{22}H_{43}COO$
22	Ácido Erúcico	Ácido Cis-13-docosenoico	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_{11}COO$
22	Ácido Brassídico	Ácido Trans-13- Docosenoico	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_{11}COO$
26	Ácido Cerótico	Ácido Hexacosanoico	$C_{26}H_{51}COO$

Los ácidos grasos que no contienen dobles enlaces de carbono se llaman saturados, en tanto que los que tienen al menos un enlace doble de carbono se clasifican como no saturados o insaturados. Los ácidos grasos no saturados que sólo tienen un doble enlace se llaman monoinsaturados y los que tienen dos o más enlaces se denominan poliinsaturados. La configuración de los dobles enlaces en los ácidos grasos no saturados es cis (si las cadenas acilo están en el mismo lado del enlace [18]),. Los dobles enlaces de la mayor parte de los ácidos grasos poliinsaturados están separados por un grupo metileno (grupo de cadenas de átomos unidas a un $-CH_2-$ [19]) y, en consecuencia, no están conjugados. (Conjugados quiere decir que estos enlaces dobles van alternados con un enlace sencillo, p.ej. $C=C-C=C$.)

Las propiedades físicas de los ácidos grasos saturados y no saturados son muy variadas. Típicamente, los ácidos grasos saturados son sólidos cerosos a temperatura ambiente (22 °C), en tanto que los ácidos grasos no saturados son líquidos a esta temperatura. La longitud de la cadena de hidrocarburo en un ácido graso, y su grado de insaturación, influyen sobre el punto de fusión. Para los ácidos grasos saturados: laurato, miristato y palmitato. A medida que aumentan las longitudes de las colas de hidrocarburo, también aumentan los puntos de fusión de los ácidos grasos saturados debido a que aumenta la intensidad de las interacciones de Van der Waals entre las colas vecinas de hidrocarburo, por lo que se requiere más energía para separar las interacciones [17].

2.5 Fases en monocapas de Langmuir

Las características y propiedades de las fases de monocapas de Langmuir es un área de la fisicoquímica ampliamente estudiada. Recientemente para su investigación, se han utilizado técnicas ópticas, microscópicas y de difracción. Estos métodos experimentales han explicado la estructura celular unitaria, el orden de orientación de los enlaces y la inclinación en las fases de la monocapa. Muchas de las fases condensadas se han clasificado como mesofases que tienen un orden correlacional de largo alcance y orden de traslación de corto alcance. Una analogía útil entre mesofases de monocapas y mesofases esmécticas en cristales líquidos a volumen ayuda en su caracterización [20]. Esta analogía se explica a continuación.

Las fases generales de monocapas se ilustran en la isoterma de presión-área en la Fig. 2.7. A medida que la densidad de las moléculas en la superficie aumenta gradualmente, la monocapa a partir de una fase gaseosa muy diluida, puede someterse a una serie de transiciones de fase, de una fase de gas (G) a través de un líquido expandido (LE), en un líquido condensado (LC) y, finalmente, en un estado sólido (S). Estas transiciones no son siempre distinguibles; en algunos sistemas pueden ocurrir más de una fase condensada. Las fases G, L y S son los análogos bidimensionales de las fases a volumen correspondientes. También se pueden observar regiones de dos fases, dependiendo de la naturaleza de las moléculas. Cuando es perfectamente horizontal, la parte LE + G puede interpretarse como una coexistencia de la región G-L. Sin embargo, a veces se observan partes lineales que no son horizontales. Entonces se puede preguntar si estas partes son regiones de coexistencia de dos fases. La pendiente depende del orden de la transición; si es primer orden, la curva debe ser plana. Como ya se dijo, más de una fase L o S pueden ser observadas. El polimorfismo es más rico en comparación con los sistemas 3D hecho que debe estar relacionado con que las fases condensadas 2D no tienen la restricción de emparejar una 2^{da}, 3^{ra}, ... capa [13]. Usualmente se necesitan otras técnicas ópticas u otras para identificar y caracterizar las distintas fases. Describimos brevemente estas fases, sus rasgos característicos y transiciones.

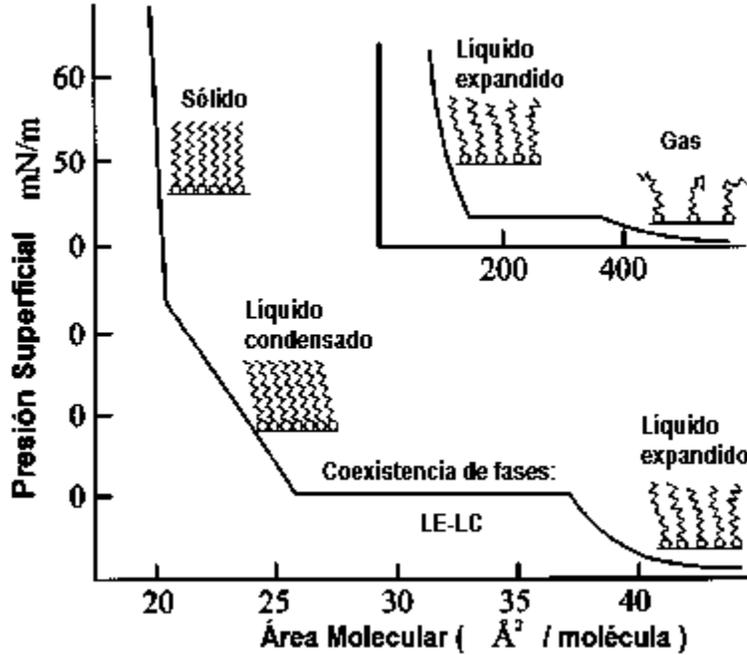


Figura 2.6 Un esquema de isoterma presión-área ilustra los estados generales de las monocapas [21].

2.5.1. Fase Gas

Una película a áreas moleculares mayores y presiones bajas cercanas a cero obedece las ecuaciones de estado (ecuación (2.14)). El área disponible por molécula es grande en comparación con el área transversal.

$$\pi\sigma = kT \text{ o } \pi A = RT \tag{2.14}$$

donde σ denota el área por molécula, A el área por mol, k es la constante de Boltzmann, R es la constante universal de los gases ideales y T la temperatura.

En este modelo, se considera que una película en una fase gas es una solución superficial diluida de surfactante en agua y la ecuación se puede poner en la forma

$$\pi = -\frac{RT}{A_1} \ln f_1^s N_1^s \tag{2.15}$$

donde A_1 es el área molar de las especies disolventes (estrictamente $A_1 = (\partial A / \partial n_1^s)_T$); f_1^s es el coeficiente de actividad del disolvente en la fase superficial (cerca de la unidad, Gaines [22] da valores de 1.01 – 1.02 para películas de ácido

pentadecanoico). Suponemos que el área geométrica es $A = A_1 n_1^s + A_2 n_2^s$, para obtener

$$\pi = \frac{RT}{A_1} \left[\ln \left(1 + \frac{A_1 \Gamma_2}{1 - A_2 \Gamma_2} \right) - \ln f_1^s \right] \quad (2.16)$$

donde Γ_2 son los moles del material de la película por unidad de área; A_1 se conoce a partir del área molecular estimada del agua, 9.7 \AA^2 y A_2 puede ser obtenida experimentalmente permitiendo así el cálculo de f_1^s , o se deja como un parámetro empírico.

El enfoque alternativo es tratar la película como un gas bidimensional no ideal. Se puede usar una ecuación de estado apropiada, tal como [5]:

$$\left(\pi + \frac{a}{A^2} \right) (A - A^0) = RT \quad (2.17)$$

donde a es un término que tiene que ver con la atracción entre partículas y A^0 es el área excluida de A por partícula.

2.5.2. Transición Gas-Líquido

En la compresión, una fase gas puede condensarse a una fase líquido expandido, L_1 a través de una transición de primer orden. Esta transición es difícil de estudiar experimentalmente debido a que las presiones de la película son pequeñas y la necesidad de evitar cualquier impureza. Existe una amplia evidencia de que la transición es primer orden; hay discontinuidades en las gráficas π - A , un calor latente de vaporización asociado con la transición y dos fases coexistentes. Además, las fluctuaciones en el potencial superficial en la región de dos fases indican dos fases de coexistencia. La situación general es una reminiscencia de vapor-líquido y puede ser tratada por la ecuación de Van der Waals bidimensional Ec. (2.17) o modelos mecánicos estadísticos [23].

A temperaturas más bajas, una película gaseosa puede comprimirse indefinidamente hasta una fase líquido condensada sin una discontinuidad discernible en la gráfica π - A [5].

2.5.3. Fases Condensadas

Una familia rica de estados condensados de películas monomoleculares se ha revelado por el análisis óptico y de rayos X de las fases que aparecen solamente como cambios sutiles en la pendiente de la gráfica π - A [5]. El diagrama de fases generalizado presentado por varios grupos contiene las características cualitativas presentadas en la Fig. (2.7). Las fases en este diagrama se han

caracterizado de acuerdo con las fases esmécticas de cristal líquido con planos estratificados con distintos grados de orden orientacional. Describiremos brevemente estas fases.

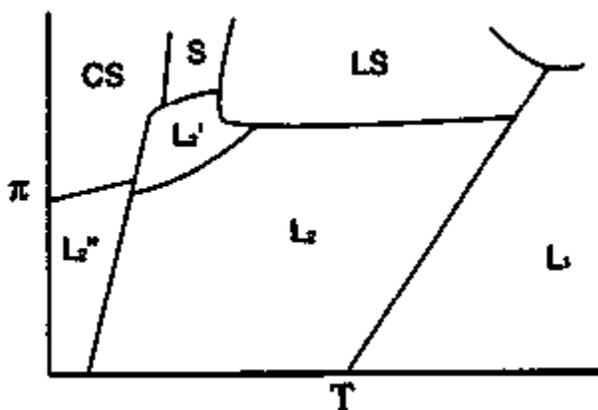


Figura 2.7: Esquema de diagrama fase que ilustra las mesofases condensadas encontradas en las monocapas de ácidos grasos y lípidos [5].

1. L_1 o LE. La fase líquida expandida, L_1 es una disposición isotrópica bidimensional de anfífilos. Esta pertenece a la clase esmética A [24] como la estructura plana de un líquido. Existe un debate continuo sobre la mejor manera de formular una ecuación del estado de la monocapa en una fase líquido expandido. Tales monocapas son fluidas y coherentes, sin embargo, la distancia intermolecular promedio es mucho mayor que para los volúmenes de un líquido. Un volumen típico de una fase líquido es tal vez un 10% menos denso que su estado sólido correspondiente. Sin embargo, una monocapa en una fase líquido expandido puede existir en áreas moleculares dos veces mayores que las áreas en un estado sólido. Como observó Gershfeld [25], varias modificaciones de la ecuación bidimensional de Van der Waals puede tener éxito en el ajuste de datos. Un modelo de solución estadística regular y simulaciones de Monte Carlo basadas en un modelo de enrejado permiten el tratamiento de la transición de primer orden L_1 -G.

2. L_2 o LC. Esta es la fase primaria líquida condensada considerada primero por Adam [26] y Langmuir [27] como una película semisólida con cabezas polares hidratadas. Ahora se identifica como la fase esmética I [24], o rotatoria, que tiene un orden posicional de corto alcance con suficiente área transversal para permitir la rotación libre. Las moléculas son inclinadas respecto a la normal, y el ángulo de inclinación varía con la presión. Las películas generalmente muestran un régimen casi lineal en las gráficas π -A.

3. L_2' o LC'. Esta región se ha dividido en dos subfases, L_2^* y S^* . La fase L_2^* difiere de la fase L_2 en la dirección de inclinación. Las moléculas se inclinan hacia sus vecinos más cercanos en L_2 y hacia los próximos vecinos más cercanos en L_2^*

(una fase esméctica F [24]). La fase S^* comprende la parte de π más alta y T más baja de L_2' . Esta fase es caracterizada por una estructura esméctica H o de espiga inclinada y allí son dos moléculas (de diferente orientación) en la celda unitaria. Otra fase que tienen una dirección de inclinación diferente, L_1' , puede aparecer entre las fases L_2 y L_2' .

4. LS. En la fase LS las moléculas se orientan normales a la superficie en una celda unitaria hexagonal. Se identifica con la fase esméctica hexática BH. Las cadenas pueden girar y tienen simetría axial debido a su falta de inclinación. Cai y Rice desarrollaron un modelo funcional de densidad para la transición de inclinación entre las fases L_2 y LS [28]. Los cálculos con este modelo muestran que las interacciones superficiales en los anfífilos juegan un papel importante en la determinación de la inclinación; sus conclusiones apoyan la falta de inclinación encontrada en los anfífilos fluorados [29].

5. S. Las cadenas en la fase S también están orientadas de forma normal a la superficie, pero la celda unitaria es rectangular posiblemente debido a la rotación restringida. Esta estructura es caracterizada como la fase esméctica E o de espiga.

6. CS. Es la fase verdadera de cristal bidimensional, existe a baja T con las cadenas orientadas verticalmente y alta π en la fase CS. Esta estructura exhibe orden traslacional de largo alcance.

2.5.4. Colapso de la Monocapa

En áreas superficiales más pequeñas ocurre el fenómeno del colapso y la compresibilidad diverge. La aparición del colapso depende en gran medida de factores como la histéresis de la película y la velocidad a la que se comprime. En este tipo de colapso se cree que las capas moleculares se están montando una encima de otra y se están formando capas múltiples desordenadas (figura 2.8); Por lo tanto, se trata de un proceso que es intrínsecamente variable que exhibe períodos de inducción e histéresis [14].

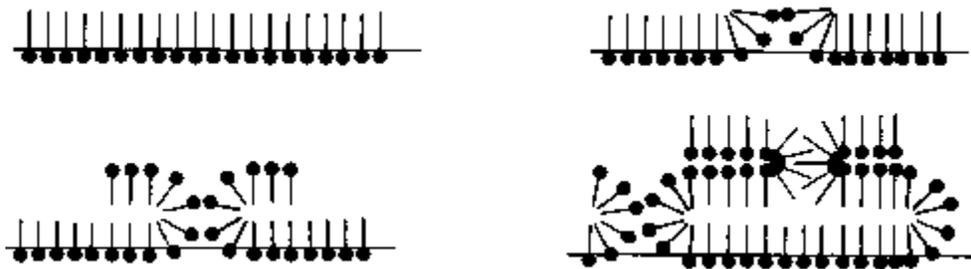


Figura 2.8 Colapso de una monocapa [14].

2.6 Monocapas Mixtas

El estudio de las películas mixtas ha adquirido un interés considerable. Desde el punto de vista teórico, existen extensiones de los diversos modelos para películas de una sola componente; y desde el lado empírico, uno se acerca a la modelización de membranas biológicas. Siguiendo a Gershfeld [25], clasificamos los sistemas de la siguiente manera:

1. Ambos componentes forman monocapas insolubles.
 - a. El equilibrio entre mezclas condensadas y fases mezcladas de vapor puede ser observado.
 - b. Sólo se observan fases condensadas.
2. Un componente forma una monocapa insoluble, mientras que el otro es soluble. Históricamente, el fenómeno se conoce como penetración.
3. Ambos componentes son solubles.

Las fases condensadas de los sistemas de la categoría 1 pueden presentar un comportamiento de solución esencialmente ideal, un comportamiento no muy ideal o una inmiscibilidad casi completa. En este trabajo solo se realizaron mezclas de esta categoría.

La termodinámica de películas mixtas relativamente ideales puede ser abordada de la siguiente manera. Es conveniente definir el área promedio

$$A_{av} = \chi_1 A_1 + \chi_2 A_2 \quad (2.18)$$

donde A_1 y A_2 son las áreas molares, χ_1 y χ_2 las fracciones molares a una presión superficial π dada para las componentes puras. Un área de exceso es dada por

$$A_{ex} = A - A_{av} \quad (2.19)$$

Si se forma una solución ideal, entonces el área molecular experimental (A) es solo A_{av} (y $A_{ex} = 0$). El mismo resultado se obtiene si las componentes son completamente inmiscibles. Estos sistemas suelen distinguirse a través de la estructura del mosaico, visto en la observación microscópica (ver figura 2.9).

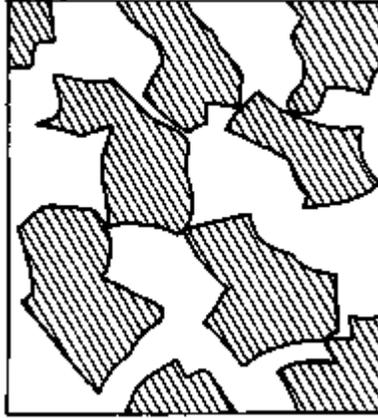


Figura 2.9: Dominios en una monocapa de dos componentes inmiscibles (diagrama) [14].

El proceso de mezcla considera:

$[n_1$ moles de la película (1) en π] + $[n_2$ moles de película (2) en π]
 = (película mixta en π)

Barnes [30] advierte sobre el uso de las unidades apropiadas (área molecular con fracción molar o área por unidad de masa con fracción de masa) al analizar los datos de área.

En el enfoque de fase superficial alternativo, la ec. (2.16) puede ampliarse para películas mixtas, para dar [40]

$$\pi = \frac{RT}{A_1} \left[\ln \left(1 + \frac{A_1(\Gamma_2 + \Gamma_3)}{1 - A_2\Gamma_2 - A_3\Gamma_3} \right) - \ln f_1^s \right] \quad (2.20)$$

2.7 Módulo de Compresibilidad

La energía libre de Helmholtz F de un cuerpo está en función 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} . Consideraremos sólo cuerpos isotrópicos. [31]

Al considerar un cuerpo deformado a alguna temperatura (constante en todo el cuerpo), tomaremos el estado no deformado como el estado del cuerpo en ausencia de fuerzas externas y a la misma temperatura; esta última condición es necesaria debido a la expansión térmica. Entonces para $u_{ik} = 0$, los esfuerzos internos también son cero, es decir, $\sigma_{ik} = 0$.

Cuando

$$\sigma_{ik} = \left(\frac{\partial F}{\partial u_{ik}} \right)_T \quad (2.21)$$

Sigue que no hay un término lineal en la expansión de F en potencias de u_{ik} [31].

Luego, cuando la energía libre es un escalar, cada término en la expansión de F debería ser un escalar también. Dos escalares independientes de segundo grado se pueden formar de los componentes del tensor simétrico u_{ik} : pueden ser tomados como la suma al cuadrado de las componentes diagonales (u_{ik}^2). Expandiendo F en potencias de u_{ik} , por lo tanto, tenemos en cuanto a los términos del segundo orden [31]

$$F = F_0 + \frac{1}{2} \lambda u_{ii}^2 + \mu u_{ik}^2 \quad (2.22)$$

Esta es la expresión general para la energía libre de un cuerpo isotrópico deformado. Las cantidades λ y μ son llamadas coeficientes Lamé.

Recordando que un cambio de área en la deformación es dado por la suma u_{ii} . Si esta suma es cero, entonces el área del cuerpo está sin alterar por la deformación, únicamente su forma es alterada. Tal deformación es llamada cizallamiento puro. El caso opuesto es el que una deformación que causa un cambio en el área del cuerpo, pero no cambios en su forma. Cada elemento de área del cuerpo conserva su forma también. Tal deformación es llamada compresión hidrostática.

Cualquier deformación puede ser representada como la suma de cizallamiento puro y de compresión hidrostática. Para hacerlo, solo necesitamos usar la identidad [31]

$$u_{ik} = \left(u_{ik} - \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll} \right) + \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll} \quad (2.23)$$

El primer término de la derecha es cizallamiento puro, cuando la suma de sus términos diagonales es cero ($\delta_{ll} = 3$). El segundo término es una compresión hidrostática.

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

$$F = \mu \left(u_{ik} - \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll} \right)^2 + \frac{1}{3} E_0 u_{ll}^2 \quad (2.24)$$

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 o módulo de compresibilidad y μ es el módulo de cizallamiento. Diferenciando respecto a u_{ik} , se obtiene:

$$\sigma_{ik} = E_0 u_{ll} \delta_{ik} + 2\mu \left(u_{ik} - \frac{1}{3} \delta_{ik} u_{ll} \right) \quad (2.25)$$

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

$$\sigma_{ii} = 3E_0 u_{ii} \quad (2.26)$$

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

$$u_{ii} = \frac{\sigma_{ii}}{3E_0} \quad (2.27)$$

El interés por la traza del tensor de deformación es que este representa el cambio en el área relativa del cuerpo al ser deformado [17]:

$$u_{ii} = \frac{dA' - dA}{dA} \quad (2.28)$$

donde dA es el área de un elemento infinitesimal del material y dA' el área del mismo elemento del material luego de ser deformado. Así, la ecuación (2.27) nos dice que el cambio de área relativo u_{ii} de cualquier cuerpo isotrópico depende solo de la suma σ_{ii} y se relacionan únicamente por el módulo de compresión hidrostática E_0 . En compresión hidrostática $\sigma_{ik} = -\pi \delta_{ik}$ y (2.27) es simplemente:

$$u_{ii} = -\frac{\pi}{E_0} \quad (2.29)$$

O bien,

$$\frac{1}{E_0} = -\frac{u_{ii}}{\pi} \quad (2.30)$$

Finalmente, si la deformación es pequeña, u_{ii} y π son cantidades pequeñas, podemos escribir la razón u_{ii}/π del área relativa y la presión en la forma diferencial.

$$\frac{1}{E_0} = -\frac{1}{A} \left(\frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_T \quad (2.31)$$

Por lo tanto

$$E_0 = -A \left(\frac{\partial \pi}{\partial A} \right)_T \quad (2.32)$$

Capítulo 3

Materiales y Métodos Experimentales

Los lípidos que se usaron en este trabajo fueron 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina (DPPC) y 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidiletanolamina (DPPE). Los cuales fueron obtenidos de Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL, en presentación en polvo liofilizado. Se preparó una disolución en cloroformo para obtener una solución con una concentración de 1 mg/ml. En la figura 3.1 podemos observar su estructura.

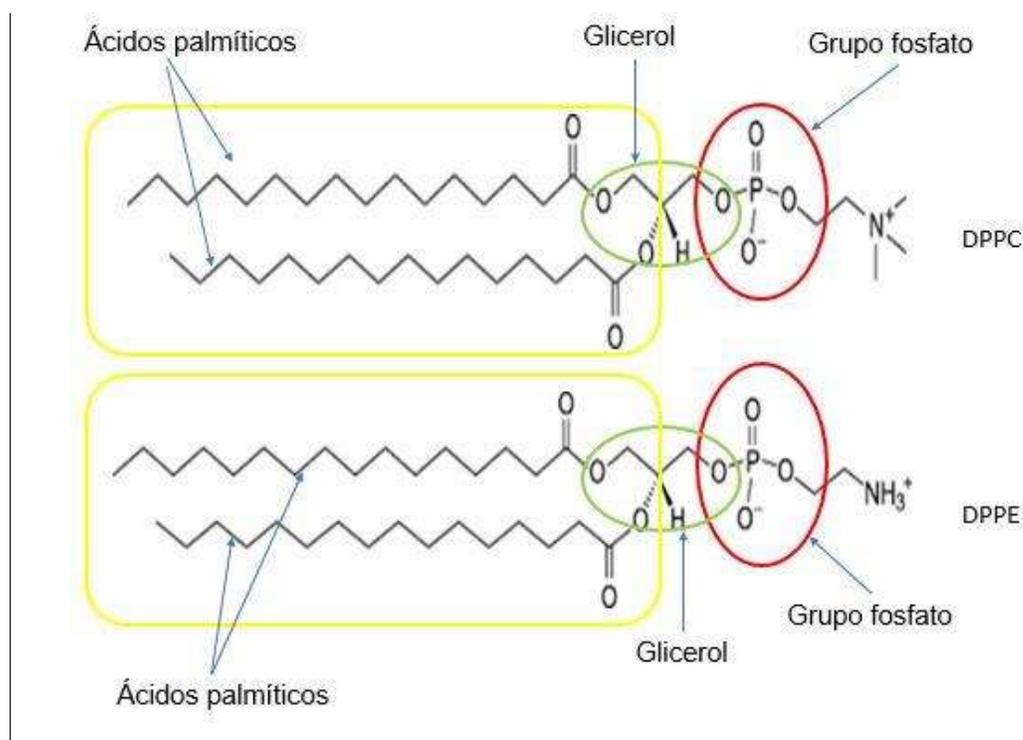


Figura 3.1 Estructura de los lípidos DPPC y DPPE. Figura adaptada de Avanti Polar Lipids.

3.1 Estructura de los lípidos DPPC y DPPE

Como ya se ha mencionado anteriormente, los lípidos están formados por un grupo polar y uno no polar, en ellos podemos ver esas similitudes y diferencias. El grupo no polar está formado de cadenas de carbono en este caso son dos ácidos palmíticos. El ácido palmítico es un ácido graso saturado (enlaces simples), constituido por dieciséis átomos de carbono [17]. Ambos lípidos tienen dos ácidos palmíticos, glicerol y grupo fosfato.

En el grupo polar (o cabeza polar), el DPPC tiene una colina y el DPPE una etanolamina. La colina es una sal cuaternaria de amonio soluble en agua. La etanolamina es un compuesto orgánico que es tanto amina primaria como un alcohol primario. Los glicerofosfolípidos que contienen colina son los fosfolípidos más abundantes de la membrana celular y representan una proporción grande de la reserva de colina del cuerpo. La colina es importante en la transmisión nerviosa, como acetilcolina, y como una reserva de grupos metilo lábiles. La dipalmitoil fosfatidilcolina (lecitina) es un agente tensoactivo muy eficaz y un constituyente fundamental del surfactante que evita la adherencia, debido a tensión superficial de las superficies internas de los pulmones. Su ausencia en los pulmones de infantes con nacimiento prematuro causa síndrome de dificultad respiratoria [18]. Dentro de los principales glicerofosfolípidos de membrana en *Escherichia coli* esta la fosfatidiletanolamina [17].

3.2 Características de los lípidos DPPC y DPPE

En la tabla 3.1 se enlistan las características principales de los lípidos utilizados. Los datos son obtenidos de Avanti Polar Lipids.

Tabla 3.1. Características de los lípidos DPPC y DPPE.

Características	DPPC	DPPE
Fórmula molecular	$C_{40}H_{80}NO_8P$	$C_{37}H_{74}NO_8P$
Composición porcentual	C 65.45%, H 10.98%, N 1.91%, O 17.44%, P 4.22%	C 64.22%, H 10.78%, N 2.02%, O 18.50%, P 4.48%
Pureza	>99%	>99%
Estabilidad	2 años	1 año
Almacenamiento	-20°C	-20°C
Número *CAS	63-89-8	923-61-5
Peso Molecular	734.039	691.959
Masa Exacta	733.562	691.515
Temperatura de	41°C	63°C (Tm), 118°C (Th)

transición		
Sinónimos	1,2-dihexadecanoil-sn-glicero-3-fosfocolina, PC (16:0/16:0)	1,2 - dihexadecanoil - sn - glicero - 3 - fosfoetanolamina, PE (16:0/16:0)

*CAS: Número de registro es una marca registrada de la Sociedad Química Americana

3.3 Palangana de Langmuir

Para realizar los experimentos de isotermas de compresión se utilizó una palangana de Langmuir. La palangana de Langmuir KSV NIMA usada cuenta con diferentes dispositivos conectados a una interfaz electrónica conectada a una PC donde se utilizó un paquete computacional KSV NIMA que controla el funcionamiento del equipo para la medición. Los datos que requiere el paquete computacional son: la masa molecular del lípido, la concentración molar del lípido, el volumen depositado en la subfase del lípido, la subfase en este caso agua para obtener de su catálogo principalmente la tensión superficial del líquido puro, la masa molecular de la subfase. Y el paquete computacional mide la presión superficial y el área molecular graficando con ellos la isoterma. La configuración básica del sistema se presenta en la figura 3.4.

Las partes principales de una balanza de Langmuir consisten en un marco, dos barreras, superficie de la palangana, un sensor de presión superficial, y una unidad de interfaz. El marco es la estructura principal del sistema, incluyendo lugares de fijación para otros dispositivos y un mecanismo motorizado de accionamiento de las barreras. Estas últimas son responsables de comprimir la monocapa lipídica previamente dispersada en la superficie de la subfase. La parte superior de la palangana contiene la subfase y la monocapa. El sensor de presión de superficie, o balanza, mide la presión superficial durante la compresión de la monocapa. Finalmente, la interfaz conecta y transforma las señales análogas de los dispositivos de la palangana de Langmuir en información que puede ser interpretada mediante datos experimentales acorde a las calibraciones realizadas y los datos introducidos [25].



Figura 3.4. Configuración básica de una palangana de Langmuir. 1) Marco, 2) Barreras, 3) Superficie de la palangana, 4) Sensor de presión superficial, 5) Termómetro, 6) Tensiómetro, 7) Conexión a recirculador 8) Unidad de interfaz.

3.4 Formación de Monocapas de Langmuir

Para formar una monocapa insoluble en la interfaz aire-líquido, se empleó una microjeringa Hamilton, para dispersar una solución de los lípidos de manera uniforme sobre el área de toda la interface. Dicha solución se preparó a una concentración de 1 mg/ml de lípido disuelto en un solvente orgánico, volátil insoluble en agua en el caso de todos nuestros experimentos utilizamos cloroformo, obtenido de Sigma-Aldrich. Los experimentos en monocapas de Langmuir se realizaron en una subfase de agua. El agua de alta pureza fue producida por un sistema Milli-Q (resistividad $<18 \text{ M}\Omega\text{cm}$; $\gamma = 72.6 \text{ mN/m}$ a 20°C ; Millipore).

3.5 Isotermas de Compresión

Las isotermas de compresión son gráficas de la presión superficial π contra área molecular A . Para formar las monocapas se depositó la solución de lípido en cloroformo sobre la subfase de agua y se esperó un tiempo de 50 min para garantizar que todo el disolvente se evaporara. La presión superficial se midió con el método de la placa de Wilhelmy descrito en el capítulo 2. En la superficie se mide la presión en el centro del área utilizando un rodillo (placa de Wilhelmy), con un perímetro de 3.140 mm, conectado a la balanza que es un sensor de fuerzas (PS4, NIMA). La temperatura en la subfase se mantuvo constante a 20 ± 1.0 °C. Se controla mediante la recirculación del agua desde un termostato (Polyscience) a través de un circuito de fluido situado en la parte inferior y medido por un termopar Pt-100. Las configuraciones experimentales fueron colocadas en una caja de plexiglás transparente para evitar flujos de aire indeseables y/o deposición de polvo en la superficie durante los experimentos. La palangana de Langmuir (KSV NIMA) equipada con dos barreras simétricamente móviles. Tiene un área disponible de 24300 mm², con una anchura de 75mm y largo 324 mm. En este método, una proporción de 20 μ l de solución lipídica se dispersó sobre la superficie libre de la subfase contenida en la palangana de Langmuir. Después de la evaporación de cloroformo, la monocapa se encuentra en equilibrio en el estado diluido, y con lo cual se procede a realizar el experimento. Las isotermas fueron medidas con una razón de compresión constante de 5 mm/min.

Capítulo 4

Resultados y Discusión

4.1 Isotermas de superficie

Isotermas de monocapas lipídicas formadas por DPPC puro y mezclas a diferentes fracciones molares de DPPE ($X_{DPPE} = n_2 / (n_1 + n_2)$, donde n_1 es el número de moles de DPPC y n_2 es el número de moles de DPPE) a $T = 20 \pm 1.0$ °C depositadas sobre una superficie de agua (subfase) son mostradas en la Figura 4.1.

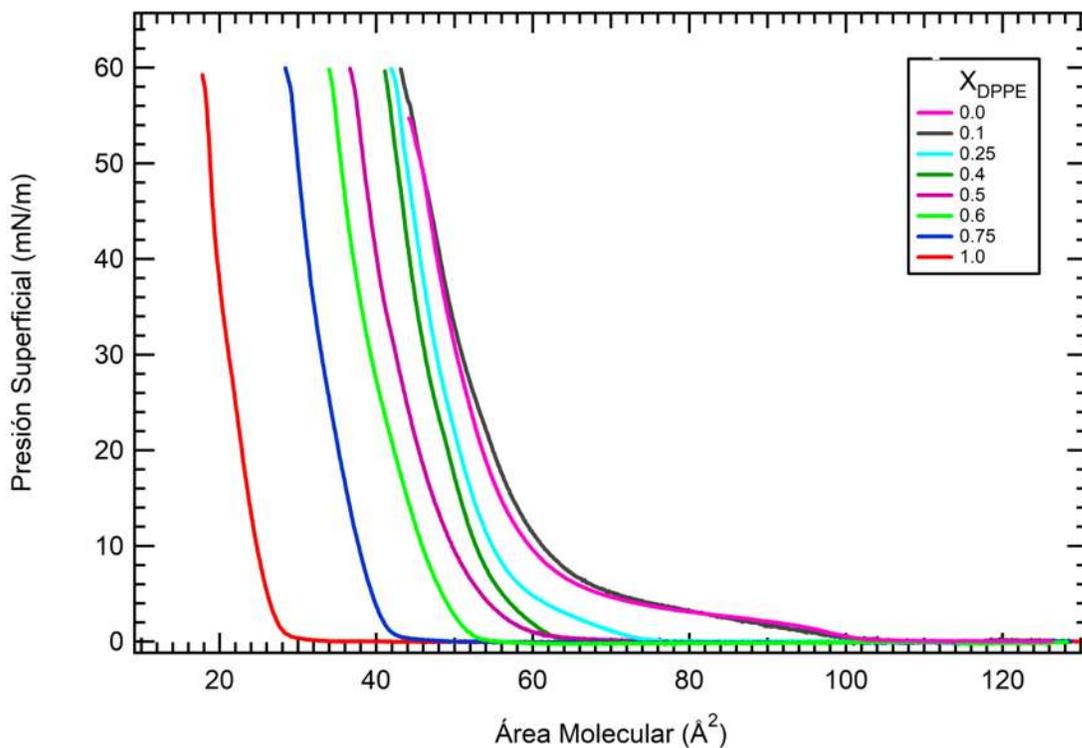


Figura 4.1: Isotermas de compresión (Presión Superficial-Área Molecular) de monocapas de las mezclas DPPC/DPPE.

En la monocapa formada únicamente por DPPC, se observa que a bajas compresiones corresponden áreas mayores, se eleva a un área de $100 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$, donde las presiones son cercanas a cero, estas bajas presiones indican que la monocapa se encuentra en un estado gaseoso. Al incrementar la compresión de la monocapa, en la región entre $90\text{-}100 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$ se aprecia un incremento lineal en la presión superficial, el cual correspondería al comportamiento característico de un estado líquido expandido (LE), este incremento llega a un punto donde se observa un cambio de pendiente, observado como una región en donde la presión superficial se comporta de manera casi constante en el intervalo de áreas por molécula entre $60\text{-}90 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$ ($\Pi = 4\text{-}8 \text{ mN/m}$). Este intervalo indica una región de coexistencia de fases líquido condensado y líquido expandido, correspondiente a una transición de fase de primer orden. A mayores compresiones la presión superficial de la monocapa se eleva gradualmente hasta alcanzar la máxima presión lateral alcanzada por la monocapa $\sim 63 \text{ mN / m}$ en $\sim 40 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$, a mayores compresiones (menores áreas por moléculas) la monocapa colapsa.

Las isotermas de compresión a $X_{\text{DPPE}} = 0.1, 0.25$ y 0.4 se observó que en la región de coexistencia la presión cambia su comportamiento de ser una presión casi constante a un crecimiento lineal al aumentar la compresión, sugiriendo un comportamiento dominante de la fase LE. En las tres isotermas esa región corresponde a los intervalos en el área por molécula de: $65\text{-}100 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$, $60\text{-}75 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$ y $52\text{-}65 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$. La transición en la fase LC se observa en áreas menores de $65 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$, $60 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$ y $52 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$ (a una presión de $\sim 6 \text{ mN/m}$). Estos resultados nos muestran que la monocapa ya no pasa por una coexistencia de fases LE-LC, y que la región de la fase líquido expandido va desapareciendo, lo cual nos indica que ocurre un dominio en el comportamiento en los lípidos de DPPE cuyo, empaquetamiento de las moléculas es mayor dada la estructura compacta de su cabeza polar (fosfatidiletanolamina).

En las isotermas de compresión a $X_{\text{DPPE}} = 0.5, 0.6$ y 0.75 , no muestran una región de coexistencia de fases, observamos la fase gas entre las áreas de $50 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$ y $130 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$, y a menores áreas de $40\text{-}55 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$ el comportamiento de la isoterma es característico al de la fase sólida mostrada por el DPPE. A mayores compresiones, se observa el colapso de la monocapa ($30\text{-}35 \text{ \AA}^2/\text{moléc.}$ y $\Pi \sim 58\text{-}60$). Estos resultados sugieren una mayor densidad de empaquetamiento de las moléculas en la monocapa de la mezcla DPPC/DPPE con fracciones molares de $0.5, 0.6$ y 0.75 .

La isoterma de compresión formada por DPPE puro. Esta monocapa presentan la fase gas a grandes áreas por molécula. De acuerdo con H. Zhu et al. [32] los lípidos de DPPE exhiben una fase LE en un pequeño intervalo, seguida por una fase ordenada conocida como líquido condensado con inclinación (LC'), no existe una coexistencia de fases LE-LC, sin embargo, presenta una transición de fases LC' a una fase ordenada sólida (S) entre 27 y 40 mN/m , y a mayores compresiones la monocapa sufre un colapso.

La monocapa de la mezcla a $X_{DPPE} = 0.1$ tuvo la presión superficial más alta (> 8 mN/m) en el inicio de la formación de fase condensada (~ 8 mN/m) y pendientes inferiores a las de la mezcla con concentraciones molares de 0.25 y 0.4. Estos resultados indican un empaquetamiento menos eficiente (o con mayor fluidez) efecto de mezcla DPPC/DPPE a una fracción molar de 0.1, seguido de 0.25 y 0.4. Y observamos que la monocapa de DPPC presenta mayor resistencia a la compresión antes del colapso.

4.2 Módulo de Compresibilidad

A partir de los resultados obtenidos en las isothermas, obtuvimos el módulo de compresibilidad E_0 de cada una utilizando la ec. (2.33) introducida en la sección 2.7. La dependencia del módulo de compresibilidad con la presión superficial se muestra en la figura 4.2 y el módulo de compresibilidad con el área molecular en la figura 4.3. El módulo de compresibilidad refleja la capacidad de cada monocapa para ser comprimida en la interfase, en el máximo de E_0 obtenemos el valor máximo de presión lateral que la monocapa puede soportar, valores mayores de presión ocasionan el colapso de la monocapa. El máximo valor de E_0 también nos indica el punto de menor compresibilidad de la monocapa.

Para la monocapa de DPPC puro, el valor máximo de E_0 es de 259 mN / m; para la mezcla con fracción molar de 0.25 de DPPE el valor del máximo de E_0 es de 312 mN / m; para la mezcla con fracción molar de 0.4 de DPPE, E_0 tiene su máximo valor de 302 mN/m dado para la mezcla de concentración de 0.4. Los valores máximos de E_0 de cada monocapa aumentan a partir de la concentración 0.25 y después tienden a disminuir hasta la fracción molar de 1, siendo aún el valor más alto que para el de la monocapa de DPPC puro. Dicho aumento indica un efecto de menor fluidez/elasticidad de las monocapas de las mezclas porque cuanto mayor es el valor máximo para el módulo de compresibilidad, menor es la fluidez / elasticidad de la monocapa [33]. La mezcla con una concentración de 0.1 (~ 215 mN/m) exhibió el efecto de fluidez más significativo, seguido el DPPC puro. En general, la mezcla de los lípidos cambió la forma de las isothermas de presión superficial-área molecular y aumento los valores del módulo de compresibilidad, lo que refleja una modificación de propiedades termodinámicas de la monocapa DPPC. Tales modificaciones pueden ser inducidas por un cambio en el área molecular de la molécula de DPPC ocupada en la monocapa, es decir, un cambio en el empaquetamiento molecular, y consecuentemente, un cambio en la fluidez de la monocapa [33].

Para aclarar el término fluidez usado anteriormente y debido a que se ha tratado con procesos cuasiestáticos, la palabra fluidez es usada para describir el libre movimiento de las moléculas al ser comprimidas.

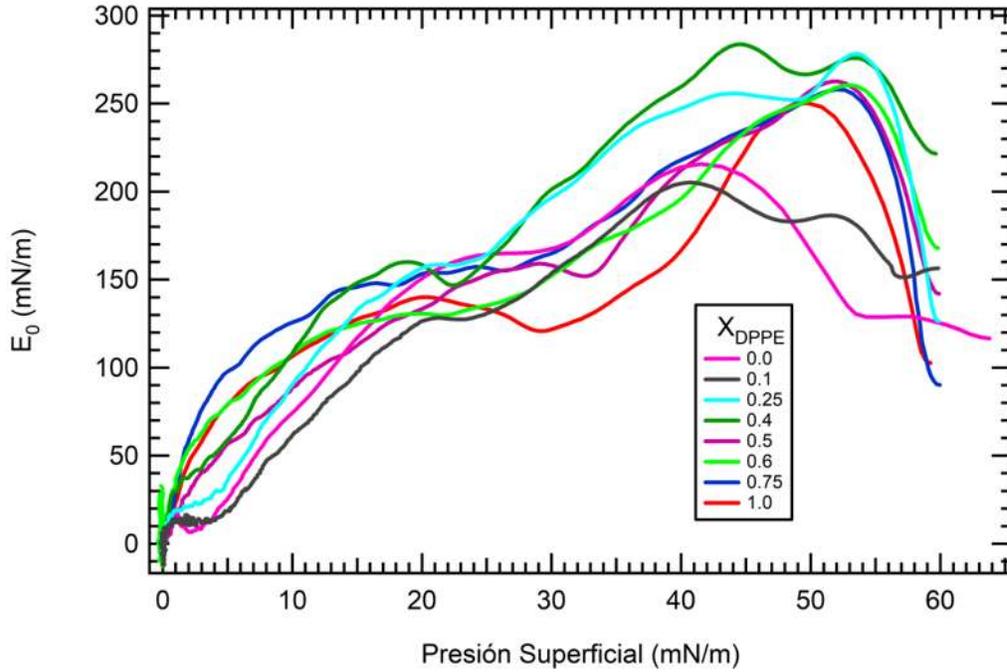


Figura 4.2: Gráfica del Módulo de Compresión vs Presión Superficial de las monocapas de las mezclas DPPC: DPPE.

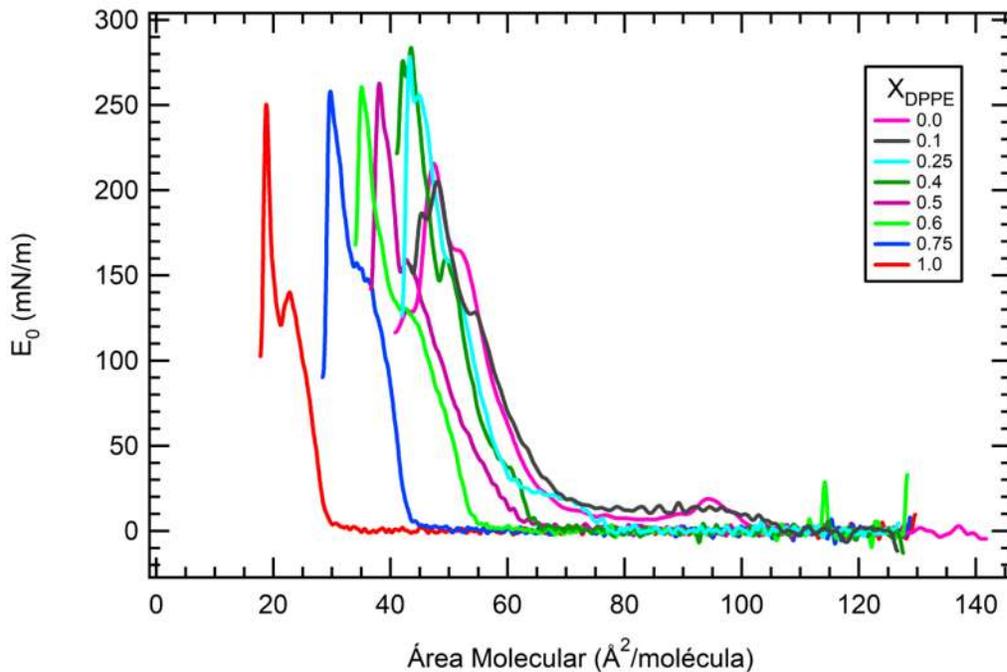


Figura 4.3: Gráfica del Módulo de Compresión vs Área Molecular de las monocapas de las mezclas DPPC: DPPE

4.3 Regla de Mezclas

Se realizó un análisis detallado de las isothermas presión superficial-área molecular desde el punto de vista de la regla de mezclas (ec. 2.19) (Goodrich [34], 1957, Gaines [22], 1966), para una película mixta ideal que implica dos componentes sin interacción.

Las gráficas de área molecular en función de la fracción molar en una subfase de agua se muestran en la figura 4.4. Para el análisis de miscibilidad de ambos lípidos, se tomaron los valores del área molecular correspondientes a las presiones de 0.05, 0.1, 1.2, 5, 10 y 20 mN/m, es decir, no se tomó en cuenta en el análisis la región de coexistencia de fases.

En la figura 4.4 a) y b) se observa que el área por molécula obtenida experimentalmente de las monocapas mixtas son inferiores en comparación con la teoría para sistemas ideales, excepto para la mezcla de $X_{DPPE} = 0.1$ que para una presión de 0.05 mN/M tuvo un comportamiento casi ideal y para una presión de 0.1 fue un poco superior a la del sistema ideal. El hecho que se presenten desviaciones negativas prominentes a partir de la línea ideal, indica un mayor empaquetamiento estrecho de las moléculas [35].

En la figura 4.4 c) correspondiente a una presión superficial de 1.2 mN/m se observan las desviaciones negativas de la regla de mezclas para los valores de $X_{DPPE} = 0.25$ y 0.4 , positiva para $X_{DPPE} = 0.1$ y para $X_{DPPE} = 0.5, 0.6$ y 0.75 mostraron un comportamiento casi ideal. La presencia de ambas desviaciones positivas y negativas en una mezcla indican que las orientaciones mutuas de las moléculas en la interfaz cambian significativamente con la fracción molar de DPPE [35].

En la figura 4.4 d), e) y f) se observan que todas las desviaciones fueron positivas, es decir, se obtuvieron áreas mayores de lo que se esperaba con respecto de la regla de mezclas, lo que indica comportamientos de monocapas más expandidas con respecto a las monocapas ideales [35].

Una desviación de la curva observada desde la relación de idealidad significa fuertes interacciones entre los componentes de la mezcla ([36], [37]). Las desviaciones positivas de los puntos de datos del comportamiento ideal en las monocapas, muestran la interacción repulsiva predominante entre las componentes en las monocapas. Lo que puede causar el fenómeno de separación de fases en las mezclas de monocapas [37]. Y desviaciones negativas en el área molecular experimental con respecto al área ideal para mezclas muestran interacciones atractivas [38].

Debido a las desviaciones positivas y negativas del área molecular las mezclas nos mostraron una miscibilidad parcial.

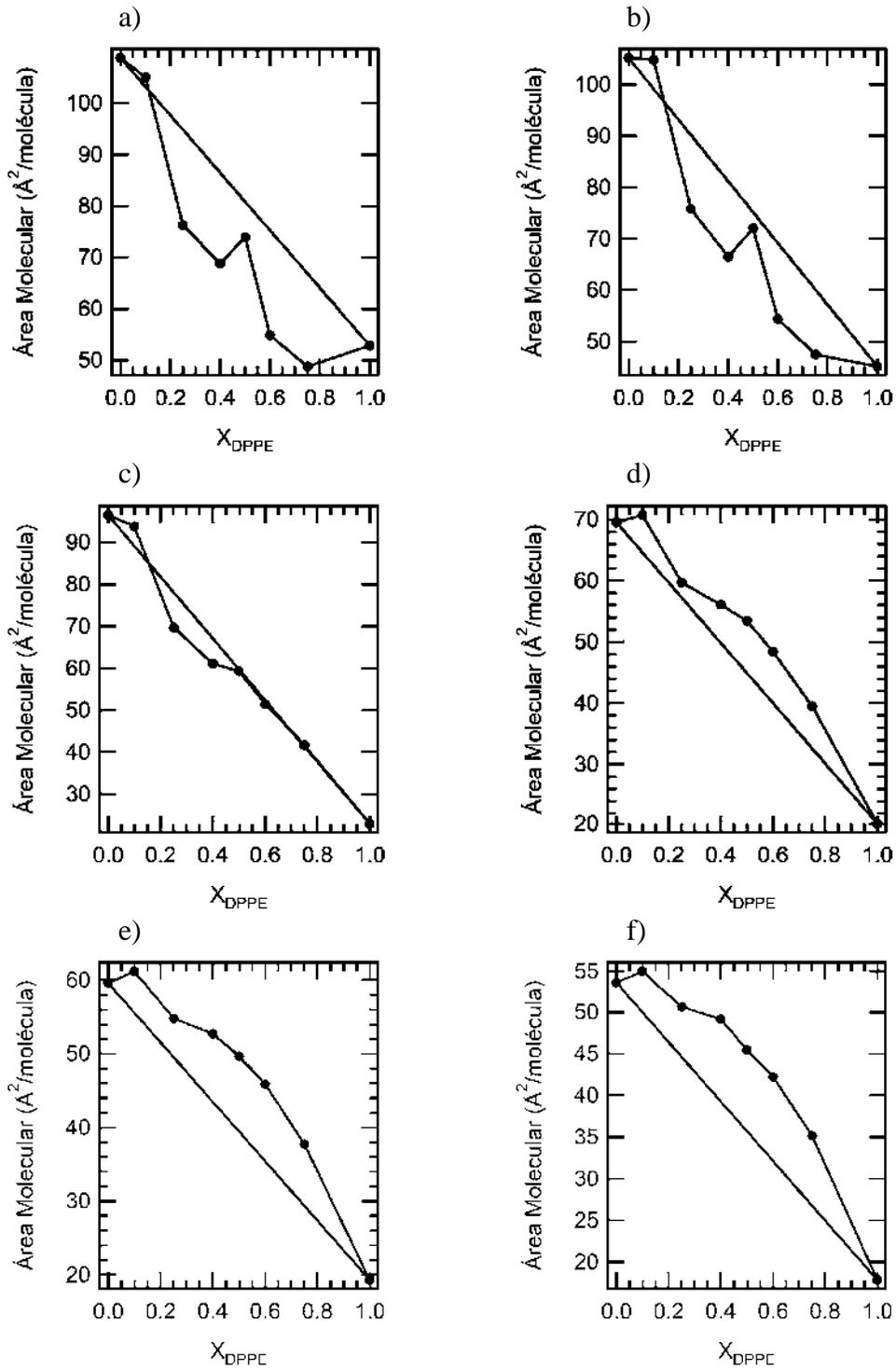


Figura 4.3: Área Molecular vs X_{DPPE} para películas mixtas a presiones de: a) 0.05 mN/m, b) 0.1 mN/m, c) 1.2 mN/m, d) 5mN/m, e) 10mN/m y f) 20mN/m a $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

Capítulo 5

Conclusiones

El presente estudio se llevó a cabo un análisis de las isotermas de mezclas de lípidos de DPPC: DPPE, en diferentes fracciones molares. De estas mediciones se obtuvo el módulo de compresión y se estudió el comportamiento de la miscibilidad de ambos lípidos a partir de la regla de mezclas.

De las isotermas de las monocapas podemos observar que con respecto a las monocapas formadas únicamente por DPPC que presentan las fases: gas, líquido expandido, líquido condensado y la coexistencia de fases líquido expandido y líquido condensado; y por otra parte, las monocapas compuestas únicamente por DPPE que presentan las fases LE en un pequeño intervalo, seguida por una fase ordenada conocida como líquido condensado con inclinación (LC'), no existe una coexistencia de fases LE-LC, sin embargo, presenta una transición de fases LC' a una fase ordenada sólida.

A partir de las mezclas de DPPC con DPPE, al incrementar X_{DPPE} , se observó un cambio transicional en la forma de las isotermas y, por lo tanto, en las fases de las mezclas. Se observó que la coexistencia de fases LE-LC gradualmente desaparece, hasta eliminarla completamente. Al no contar con métodos ópticos para visualizar las fases formadas por las monocapas mixtas, es imposible por solo el comportamiento de las isotermas, discernir la fase en la que se encuentre la monocapa mixta a una X_{DPPE} o a una presión determinada.

De los resultados obtenidos para el módulo de compresibilidad los máximos valores fueron observados por las mezclas con X_{DPPE} de 0.25 y 0.4 a un área molecular aproximada de $\sim 45 \text{ \AA}^2$ a valores medidos para el módulo de compresión de 312 y 302 mN/m respectivamente. Con el aumento de X_{DPPE} se observa una disminución del módulo de compresibilidad, sin embargo, se midieron valores mayores que los medidos para la monocapa de DPPC puro, lo cual nos indica mayor resistencia de la monocapa a ser comprimida para las mezclas.

Los datos obtenidos por la regla de mezclas nos muestran que para bajas presiones (entre 0.05 y 0.1 mN/m) en casi todas las concentraciones hechas para las mezclas, a excepción de $X_{DPPE} = 0.1$ el área por molécula obtenida experimentalmente es menor que la predicha por la regla para una mezcla ideal. Esto indica un mayor empaquetamiento de las moléculas de lípidos en las monocapas.

Los resultados para mayores presiones (5, 10 y 20 mN/m) después de la transición de fases, nos arrojaron áreas mayores a las de las esperadas de acuerdo a la teoría para mezclas ideales, lo que nos indica mayor esparcimiento de las moléculas en la monocapa.

5.1 Perspectivas

Entre las primeras cosas por hacer es volver a realizar todas las isotermas de las concentraciones de las mezclas de DPPC/DPPE para verificar los datos obtenidos hasta ahora. A través de la experiencia dada durante este trabajo aplicar los nuevos conocimientos adquiridos realizando un procedimiento mucho más cauteloso que el anterior para corregir las áreas y presiones movidas en las isotermas. También llevar a cabo las isotermas de las mezclas de DPPC/POPC que no se alcanzaron a realizar en este trabajo.

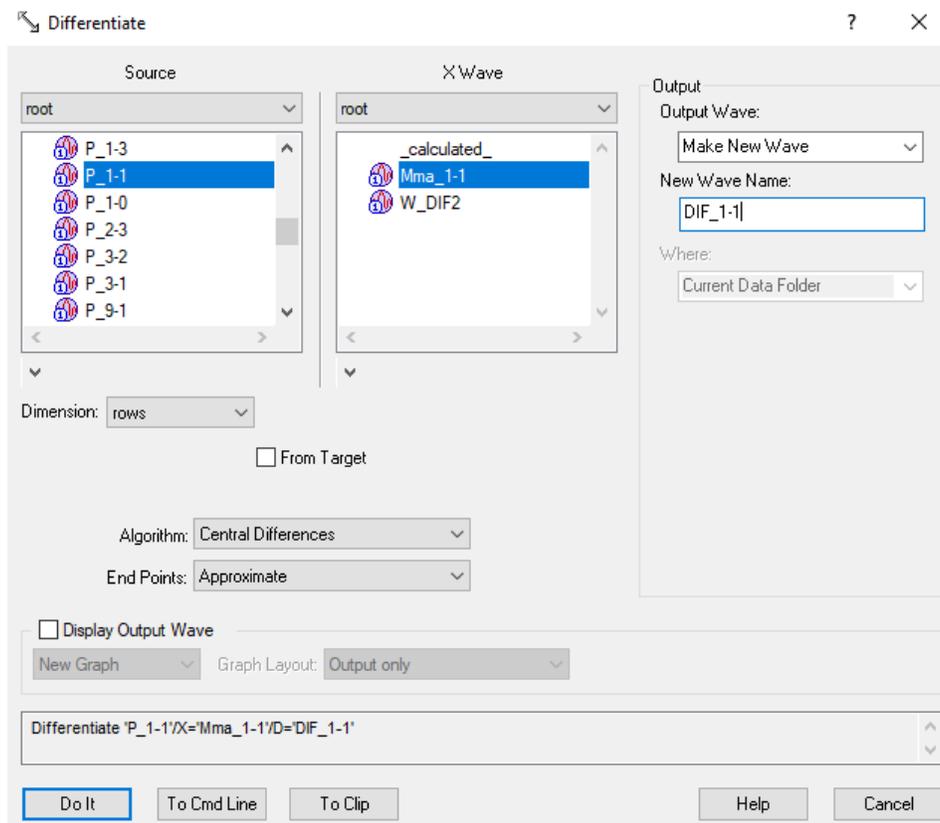
Otra de las cosas por hacer es llevar a cabo un análisis más detallado de estas mezclas DPPC/DPPE y DPPC/POPC estudiando sus propiedades viscoelásticas a través de métodos reológicos, principalmente reología de compresión oscilatoria y reología de cizallamiento. Haciendo uso de los equipos Palangana de Langmuir y el Réometro Interfacial de Cizallamiento.

Otra actividad que complementaria este trabajo es obtener imágenes de BAM (Brewster Angle Microscopy) que muestren el tipo fases en las diferentes mezclas.

Apéndice A

Diferenciación de las curvas Isotermas de compresión

Para la realización de la diferenciación de las curvas se usó el programa IgorPro6.05. Primero nos vamos a la barra de herramienta donde dice Analysis / Differentiate y nos aparece una ventana:



La operación Diferenciar calcula la derivada numérica de una curva.

El menú Algorithm te ofrece tres opciones:

Central Differences. El valor del punto N es $(w [N + 1] - w [N-1]) / 2 * dX$.

Forward Differences. El valor del punto N es $(w [N + 1] - w [N]) / dX$.

Backward Differences. El valor del punto N es $(w [N] - w [N-1]) / dX$.

El menú End Points le ofrece dos opciones:

Approximate. Los puntos aproximados que no siguen la definición de algoritmo son aproximados. Por ejemplo, cuando se eligen las Diferencias Centrales, el primer punto es aproximado por una diferencia directa y el último punto es aproximado por una diferencia hacia atrás.

Delete. Los puntos que no siguen la definición de algoritmo se eliminan.

De estas opciones se usaron para la tesis: central difference y approximate.

Las opciones de banderas son:

/ D = destWave Especifica el nombre de la onda para contener los datos diferenciados. Crea destWave si aún no existe o lo sobrescribe si existe. Esta bandera debe seguir el nombre de la onda fuente.

/ DIM = d Especifica la dimensión de onda para diferenciar.
d = -1: trata toda la onda como 1D (predeterminado).
Para d = 0, 1, ..., funciona a lo largo de filas, columnas, etc.

/ EP = e Controla el manejo del punto final.
e = 0: Reemplaza puntos indefinidos con una aproximación (por defecto).
e = 1: borra los puntos.

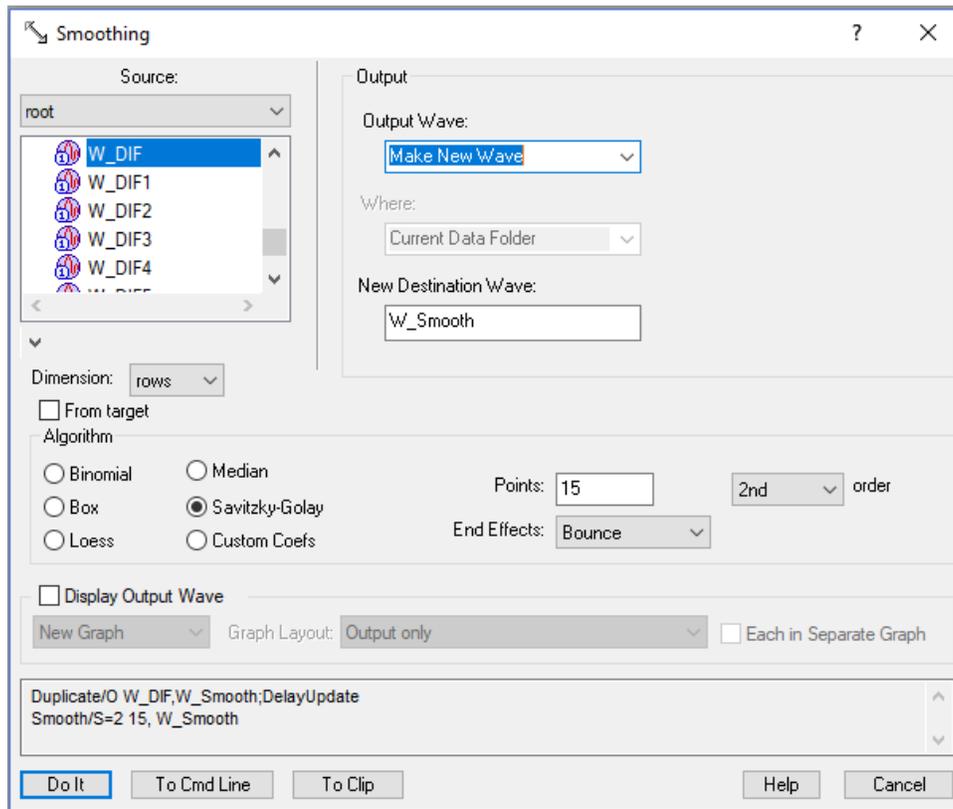
/ METH = m Establece el método de diferenciación.
m = 0: diferencia central (por defecto).
m = 1: diferencia hacia adelante.
m = 2: diferencia hacia atrás.

/ P Fuerza la escala de puntos.

/ X = xWave Especifica el nombre de la onda X correspondiente. Esta bandera debe seguir el nombre de la onda fuente.

Suavizado para las curvas

Nuevamente nos vamos a la barra de herramienta donde dice Analysis / Smoothing y nos aparece la ventana:



El menú Algorithm ofrece seis opciones para el suavizado; Binomial, Box, Loess, Median, Savitzky-Golay y Custom Coefs y de ellos se usó el Savitzky-Golay. El Savitzky-Golay es un filtro más nítido que el Binomial, pero creará un zumbido en los bordes filosos. El suavizado Savitzky-Golay utiliza un conjunto diferente de coeficientes precalculados. Es un tipo de suavizado de polinomios de mínimos cuadrados. La cantidad de suavizado se controla mediante dos parámetros: el orden polinómico y el número de puntos utilizados para calcular cada valor de salida suavizado. El suavizado de "segundo orden" produce picos más redondeados que "cuarto orden". Este algoritmo fue propuesto por primera vez por A. Savitzky y M.J.E. Golay en 1964. Los coeficientes fueron subsiguientemente corregidos por otros en 1972 y 1978; Igor usa los coeficientes corregidos.

El valor máximo de Puntos es 32767; el mínimo es 5 (2 ° orden) o 7 (4 ° orden). Tenga en cuenta que los coeficientes de segundo y tercer orden son los

mismos, por lo que solo enumeramos la opción de segundo orden. De manera similar, los coeficientes de 4º y 5º orden son idénticos.

End Effects. Los primeros cuatro algoritmos de suavizado calculan el valor de salida para un punto dado utilizando los vecinos del punto. Cada algoritmo combina un número igual de puntos vecinos antes y después del punto que se suaviza. Al comienzo o al final de una onda, algunos puntos no tendrán vecinos suficientes, por lo que debe implementarse un método para fabricar valores vecinos.

Usted elige cómo Igor fabrica esos valores con el menú emergente Efecto final en el cuadro de diálogo Suavizado. En las descripciones que siguen, i es un pequeño entero positivo, y $wave [n]$ es el último valor en la onda que se suavizará.

El método Bounce utiliza la onda $[i]$ en lugar de los valores de la onda faltante $[-i]$ y la onda $[n-i]$ en lugar de los valores de la onda faltante $[n + i]$. Esto funciona mejor si se supone que los datos son simétricos sobre el inicio y el final de la onda. Si no especifica el método de efecto final, se usa Bounce.

El método Wrap usa la onda $[n-i]$ en lugar de los valores de onda faltante $[-i]$ y viceversa. Esto funciona mejor si se supone que la onda se repite infinitamente.

El método cero usa 0 para cualquier valor faltante. Esto funciona mejor si la ola comienza y termina con cero.

El método Repeat usa la onda $[0]$ en lugar de los valores de la onda faltante $[-i]$ y la onda $[n]$ en lugar de los valores de la onda faltante $[n + i]$. Esto funciona mejor para los datos que representan un solo evento. En caso de duda, use Repetir.

El método de suavizado que se usó para el presente trabajo fue: Savitzky-Golay y Bounce con 15 puntos debido a la adaptación de este a nuestros resultados gráficos.

Las opciones de banderas son:

/ B [= b] Invoca el algoritmo de suavizado del vagón de caja. Si se proporciona, b especifica el número de pasadas (repeticiones) que se utilizarán al suavizar los datos con el factor de suavizado num (ancho de la casilla). El número de pases puede ser cualquier valor entre 1 y 32767.

/ DIM = d Especifica la dimensión de onda para suavizar.

$d = -1$: trata toda la onda como 1D (predeterminado).

Para $d = 0, 1, \dots$, funciona a lo largo de filas, columnas, etc.

/ E = endEffect Determina cómo manejar los extremos de la onda ("w" en estas descripciones) al fabricar los valores vecinos que faltan.

endEffect = 0: método Bounce (predeterminado). Utiliza w [i] en lugar de la falta de w [-i] y w [n-i] en lugar de la w [n + i] que falta.

endEffect = 1: método de ajuste. Utiliza w [n-i] en lugar de la falta w [-i] y viceversa.

endEffect = 2: método cero. Utiliza 0 para cualquier valor faltante.

endEffect = 3: método de relleno. Utiliza w [0] en lugar de la falta de w [-i] y w [n] en lugar de la falta de w [n + i].

/ EVEN [= evenAllowed]

Especifica el incremento de suavizado para el suavizado del vagón de caja (/ B). Los valores son:

0: aumenta los valores pares de num hasta el siguiente valor impar. Valor predeterminado cuando / EVEN se omite.

1: Utiliza incluso valores de num para suavizar el vagón a pesar del cambio de media muestra que introduce en la salida suavizada (antes de la versión 6, se evitó este cambio). Igual que / EVEN solo.

/ F [= f] Selecciona el método de suavizado binomial de vagón o multipaso:

f = 0: Método lento pero preciso (predeterminado).

f = 1: método rápido. Igual que / F solo ..

/ M = threshold Invoca el suavizado de la mediana de ejecución y especifica un umbral numérico absoluto utilizado para reemplazar opcionalmente "valores atípicos". Los puntos que difieren de la mediana central por una cantidad que excede el umbral se reemplazan, ya sea con el valor de reemplazo especificado por / R, o de lo contrario con el valor mediano. Los valores de umbral especiales son:

0: Reemplaza todos los valores con valores de mediana de ejecución o el valor de reemplazo.

NaN: Reemplace solo valores de entrada de NaN con valores de mediana de ejecución o el valor de reemplazo.

El factor de suavizado num es la cantidad de puntos en la ventana de suavizado utilizada para calcular cada mediana.

/ R = reemplazo

Especifica el valor que reemplaza los valores de entrada que superan la mediana central por umbral (requiere / M). el umbral puede ser cualquier valor (incluido NaN o +/- Inf si waveName es un punto flotante).

/ S = sgOrder Invoca el algoritmo de suavizado Savitzky-Golay y especifica el orden de suavizado. sgOrder debe ser 2 o 4.

Apéndice B

Cálculos para la obtención del volumen, masa molecular y concentraciones de los lípidos para las mezclas

Recordemos que la fracción molar es expresada de la siguiente manera:

$$\chi = \frac{n_{sol}}{n_{dis}} \quad (B_1)$$

donde χ es la fracción molar, n_{sol} y n_{dis} son el número de moles del solvente y de la solución, respectivamente. El número de moles es expresado como:

$$n = \frac{m}{MW} \quad (B_2)$$

donde m es la masa y MW el peso molecular. La masa también es expresada:

$$m = CV \quad (B_3)$$

donde C es la concentración y V el volumen. Usaré los subíndices 1 y 2 para denotar los lípidos DPPC y DPPE, respectivamente.

De (B₁), (B₂) y (B₃) tenemos que:

$$\chi_2 = \frac{n_2}{n_1 + n_2} = \frac{m_2/MW_2}{m_1/MW_1 + m_2/MW_2} \quad (B_4)$$

$$\chi_2 = \frac{\frac{C_2 V_2}{MW_2}}{\frac{C_1 V_1}{MW_1} + \frac{C_2 V_2}{MW_2}} = \frac{\frac{C_2 V_2}{MW_2}}{\frac{C_1 V_1 + C_2 (1 - V_1)}{MW_1} + \frac{C_2 V_2}{MW_2}} \quad (B_5)$$

$$\chi_2 = \frac{C_2 V_2 MW_1}{(C_2 MW_1 - C_1 MW_2) V_2 + C_1 MW_2} \quad (\text{B6})$$

$$(C_2 MW_1 \chi_2 - C_1 MW_2 \chi_2) V_2 + C_1 MW_2 \chi_2 = C_2 V_2 MW_1 \quad (\text{B7})$$

$$C_1 MW_2 \chi_2 = [C_2 MW_1 + C_1 MW_2 \chi_2 - C_2 MW_1 \chi_2] V_2 \quad (\text{B8})$$

Por lo tanto

$$V_2 = \frac{C_1 MW_2 \chi_2}{C_2 MW_1 + C_1 MW_2 \chi_2 - C_2 MW_1 \chi_2} \quad (\text{B9})$$

Así que para $MW_1 = 734$, $MW_2 = 692$, $C_1 = 1.01 \text{ mg/ml}$ y $C_2 = 1.1 \text{ mg/ml}$, obtuvimos los volúmenes de las siguientes concentraciones:

Tabla A₁. Volúmenes de las mezclas correspondientes a las concentraciones χ_2 dadas.

χ_2	$V_1 = 1 - V_2$ (ml)	V_2 (ml)
0.1	0.898	0.102
0.25	0.755	0.245
0.4	0.594	0.406
0.5	0.493	0.507
0.6	0.394	0.606
0.75	0.245	0.755
0.9	0.098	0.902

Para obtener el peso molecular de la mezcla y la concentración de la mezcla usamos las siguientes expresiones:

$$MW_{1/2} = \chi_1 MW_1 + \chi_2 MW_2 \quad (B_{10})$$

$$C_{1/2} = \chi_1 C_1 + \chi_2 C_2 \quad (B_{11})$$

Así que los pesos moleculares y las concentraciones de la mezcla son:

Tabla A_2 . Pesos Moleculares y Concentraciones de las mezclas.

$\chi_1 (1-\chi_2)$	χ_2	$MW_{1/2}$	$C_{1/2}$
0.9	0.1	729.8	1.091
0.75	0.25	723.5	1.08
0.6	0.4	717.2	1.064
0.5	0.5	713	1.055
0.4	0.6	708.8	1.046
0.25	0.75	702.5	1.033
0.1	0.9	696.2	1.019

Bibliografía

- [1] B. Franklin, «Of the stilling of waves by means of oil,» *Philosophical Transactions of the Royal Society*, vol. 64, pp. 455-460, 1774.
- [2] L. Rayleigh, «On the Superficial Viscosity of Water,» *Royal Society of London*, vol. 48, nº 292-295, pp. 127-140, 1890.
- [3] A. Pockels, «Surface tension,» *Natura*, vol. 43, pp. 437-439, 1891.
- [4] I. Langmuir, «The constitution and fundamental properties of solids and liquids. II. Liquids.,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 38, nº 11, pp. 1848-1906, 1916.
- [5] A. W. Adamson, *Physical Chemistry of Surface*, John Wiley & Sons, Inc, 1977.
- [6] W. Pfeffer, *Osmotische Untersuchungen: Studien zur Zellmechanik*, Wilhelm Engelmann, 1877.
- [7] E. Overton, «Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Panzen und Tierzelle,» *Vierteljahresschrift Naturforsch. Ges. Zürich*, pp. 189-209, 1895.
- [8] E. Gorter y F. Grendel, «On bimolecular layers of lipid on the chromocytes of the blood,» *J. Exp. Med*, vol. 41, pp. 439-443, 1925.
- [9] J. F. Danielli y H. Davson, «A contribution to the theory of permeability of thin films,» *J. Cell Comp. Physiol*, vol. 5, pp. 495-508, 1935.
- [10] S. J. Singer y G. L. Nicolson, «The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes.,» *Science*, vol. 175, nº 4023, pp. 720-731, 1972.
- [11] O. J. Mouritsen y M. Bloom, «Mattress Model of Lipid-protein Interactions in Membranes,» *Biophysical Journal*, vol. 46, pp. 141-153, 1984.
- [12] T. Heimburg, *Thermal Biophysics of Membranes*, WILEY-VCH, 2007.
- [13] J. Lyklema, *Fundamentals of interface and colloid science*, Academic Press, 2000.
- [14] G. Roberts, *Langmuir-Blodgett Films*, Springer Science + Business Media, LLC, 1990.
- [15] K. N. / B. S. Oy, «Software Manual: Langmuir and Langmuir-Blodgett devices,» 2013.
- [16] C. K. Matthews, K. E. Van Holde y K. G. Ahern, *Bioquímica*, Pearson Addison Wesley, 2002.
- [17] H. R. Horton, L. A. Moran, K. G. Scrimgeour, M. D. Perry y J. D. Rawn, *Principios de Bioquímica*, Pearson Educación, 2008.

- [18] R. K. Murray, D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, V. W. Rodwell y P. A. Weil, Harper Bioquímica Ilustrada, Mc Gram Hill, 2010.
- [19] R. W. McGuilvery, Conceptos Bioquímicos, Editorial Reverté, 1977.
- [20] J. C. Tracy y P. W. Palmberg, *J. Chem. Phys.*, vol. 51, p. 4852, 1969.
- [21] V. M. Kaganer, H. Möhwald y P. Dutta, «Structure and phase transitions in Langmuir monolayers,» *Rev. Mod. Phys.*, vol. 71, p. 779, 1999.
- [22] G. L. Gaines, Jr., Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces, New York: Interscience, 1966.
- [23] T. Fransen, O. Van der Meer y P. Mars, *J. Phys. Chem*, vol. 80, p. 2103, 1976.
- [24] J. W. Goodby, R. J. Mandle, E. J. Davis, T. Zhong y S. J. Cowling, «What makes a liquid crystal? The effect of free volume on soft matter,» *Liquid Crystals*, vol. 42, nº 5-6, pp. 593-622, 2015.
- [25] C. T. Campbell, B. E. Koel y K. A. Daube, *J. Vac. Sci. Tech.*, vol. A5, p. 810, 1987.
- [26] W. E. Garner, F. S. Stone y P. F. Tiley, *Proc Roy. Soc*, 1962.
- [27] M. Sano, T. Maruo, H. Yamatera, M. Suzuki y Y. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 109, p. 52, 1987.
- [28] E. K. Rideal, *Proc. Cambridge Phil. Soc.*, vol. 35, p. 130, 1938.
- [29] D. D. Eley, *Phil. Trans. Roy. Soc (London)*, vol. A318, p. 117, 1986.
- [30] G. T. Barnes, *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 144, p. 299, 1991.
- [31] L. D. Landau y E. M. Lifshitz, Theory of elasticity, Pergamon press, 1986.
- [32] H. Zhu, R. Sun, C. Hao y P. Zhang, «A Langmuir and AFM study on interfacial behavior of binary monolayer of hexadecanol/DPPE at the air-water interface,» *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 201, pp. 11-20, 2016.
- [33] S. W. Nowotarska, K. J. Nowotarski, M. Krzysztof y C. Situ, «Effect of Structure on the Interactions between Five Natural Antimicrobial Compounds and Phospholipids of Bacterial Cell Membrane on Model Monolayers,» *Molecules*, vol. 19, pp. 7497-7515, 2014.
- [34] F. C. Goodrich, Molecular interaction in mixed monolayers. In: Proceedings of the International Congress Surface Activity, London: Butterworths, 1957.
- [35] B. Korchowiec, M. Paluch, Y. Corvis y E. Rogalska, «A Langmuir film approach to elucidating interactions in lipid membranes: 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine/cholesterol/metal cation systems,» *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 144, pp. 127-136, 2006.

- [36] T. P. Rigoletto, M. D. Zaniquelli, M. A. Santana y L. G. Torre, *Colloids Surf.*, vol. B 83, p. 260, 2011.
- [37] C. Hao, R. Sun y J. Zhang, «Mixed monolayers of DOPC and palmitic acid at the liquid–air,» *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 112, pp. 441-445, 2013.
- [38] T. d. P. Rigoletto, M. E. Darbello Zaniquelli, M. E. Andrade Santanaa, y L. Gaziola de la Torre, «Surface miscibility of EPC/DOTAP/DOPE in binary and ternary mixed monolayers,» *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. B83, pp. 260-269, 2011.
- [39] A. T. Hubbard, «Heterogen,» *Chem. Rev.*, vol. 1, p. 3, 1994.
- [40] P. C. Stair, «The concept of Lewis acids and bases applied to surfaces,» *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 104, nº 15, p. 4044, 1982.
- [41] E. K. Rideal, *Proc Cambridge Phil. Soc*, vol. 35, p. 130, 1938.
- [42] D. D. Eley y S. H. Russell, *Proc Roy. Soc. (London)*, vol. A341, p. 31, 1974.
- [43] P. H. Emmett, *Catalysis*, Reinhold, 1954.
- [44] D. Marsh, «Lateral pressure in membranes,» *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1286, nº 3, pp. 183-223, 1996.