

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS

**Confirmación del diagrama de fases
bidimensional de la mezcla
DMPS-DMPC-Colesterol y búsqueda de la
existencia de puntos críticos por medio de
Elipsometria**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MAESTRO EN CIENCIAS (FÍSICA)

PRESENTA

CARLOS FRANCISCO RODRÍGUEZ GÁMEZ

ASESOR: JAIME RUIZ GARCIA

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P.

2018

Agradecimientos

Al termino de este trabajo de tesis de Maestría, agradezco primera y principalmente a mi Familia por su apoyo incondicional durante todo este tiempo, en especial a mi Mamá, Juana Carolina Gámez Castro y mis Tías Ma. del Socorro Gámez Castro y Ma. Elena Gámez Castro, por su amor y apoyo incondicional, de igual manera, darle las gracias a mi asesor, al Doctor Jaime Ruiz García por su guía y apoyo a lo largo de este proyecto.

A mis amigos, en especial a Santiago, Chava .^{el} cosmicoRivera, Alma "Juanita", compañeros del laboratorio, y a todas las demás personas que han estado conmigo y me han apoyado a lo largo de este proceso, gracias por su compañía y por todos los momentos que hemos pasado juntos.

Al L.E.I Emmanuel Vázquez Martínez, por la ayuda brindada en el manejo y seguridad al momento de utilizar los equipos del laboratorio, al L.E.S.D José Limón Castillo por su apoyo en cuestiones logísticas y técnicas de la red del instituto, a la Doctora Mariana Nikolova Arenhovel, por ser una gran fuente de apoyo y guía a lo largo de mis estudios de maestría, a la técnico académico del laboratorio de Altas Energías Ing. Luz del Carmen Nuche Garza, por su apoyo, consejo y amistad a lo largo de estos años.

How could this go so very wrong
That I must depend on darkness
Would anyone follow me further down
Kataonia- Tonight's Music;
Anders Nystrom/Jonas Petter Renske

All alone in space and time
There's nothing here but what here's mine
Something borrowed, something blue
Placebo-Every Me Every You
Brian Molko/Stefan Oldsam/Steve Hewitt/Paul Camipon

Aimer ou avoir aimé, cela suffit:
Ne demandez rien ensuite.
On n'a pas d'autre perle a trouver dans les plis ténébreux de la vie.
Les Miserables-Victor Hugo (1862)

Índice general

I	Introducción	5
1.	Introducción	6
II	Marco Teorico	7
2.	Lípidos	8
2.0.1.	Estructuras Lípidicas.	10
2.0.2.	Técnicas Experimentales para análisis de Lípidos. .	14
3.	Monocapas de Langmuir	17
3.1.	Propiedades y estudio de las Monocapas de Langmuir. . .	18
3.2.	Parámetros que Modifican la estructura de la Isoterma . .	21
3.3.	Balanza de Langmuir.	21
4.	Microscopia de ángulo de Brewster (BAM)	25
5.	Elipsometría	29
6.	Transiciones de fase y Puntos Críticos.	34
III	Procedimientos Experimentales	37
7.	Introducción Procedimientos Experimentales	38

8. Obtención del diagrama de fase.	41
9. Análisis de Elipsometria.	64
IV Conclusiones, discusión y trabajo a futuro.	72
10. Conclusiones y discusión.	73
11. Trabajo a futuro.	74

Parte I

Introducción

Capítulo 1

Introducción

A lo largo del tiempo ha sido de interés la realización de diagramas de fase (siendo probablemente el diagrama de de fase del agua el más famoso de ellos) para mejorar nuestro entendimiento acerca del comportamiento, evolución y propiedades específicas del material del cual se plantea hacer dicho diagrama, de igual manera, se ha interpretado de los mismos diagramas que los puntos máximos que exhiben representan puntos críticos, y por ende puntos de alto interés para su estudio y análisis, sin embargo esta asunción ha carecido de una verdadera comprobación realizada con alguna prueba física de que en verdad se trata de un punto crítico. El objetivo de esta tesis es el de recrear un diagrama de fase para una mezcla lipídica de interés y posteriormente comprobar por medio de una prueba de elipsometría, si los máximos de este diagrama de fase en verdad representan un punto crítico, este trabajo resulta de importancia pues no puede ayudar a mejorar nuestro entendimiento de los cambios estructurales y morfológicos que sufre una membrana lipídica en las cercanías de un posible punto crítico, en especial teniendo en cuenta la posible existencia de balsas lipídicas.

Parte II
Marco Teorico

Capítulo 2

Lípidos

Del Griego: *Lipos*

En Biología, los Lípidos son sustancias de origen biológico, las cuales son solubles en soluciones no polares[1].

Sus principales funciones biológicas incluyen: Almacenamiento

de energía, señalización y como los principales componentes estructurales de las membranas celulares[2][3].

Pueden ser clasificados en diferentes grupos dependiendo de su estructura y características, los principales son[4] [27]:

- **Ceras:**

Compuestos orgánicos hidrófobos, maleables y normalmente sólidos a temperaturas cercanas a la del ambiente, tienen un punto de fusión

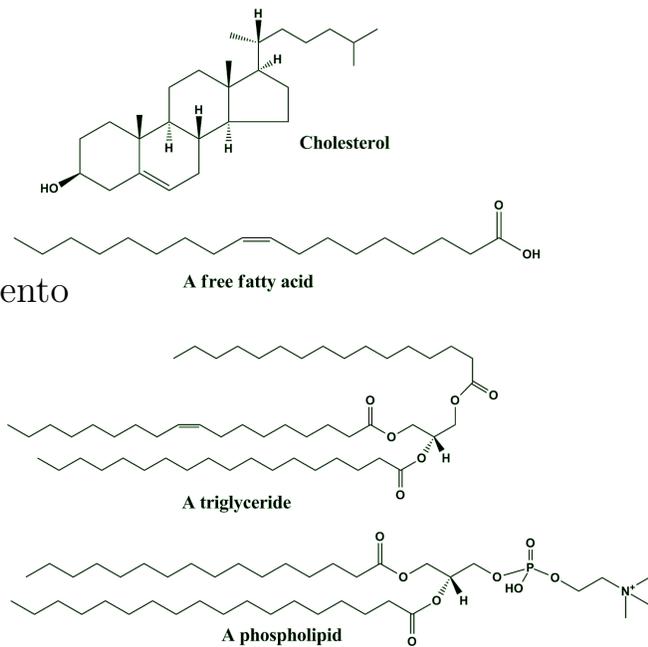


Figura 2.1: Estructuras Lipídicas[5].

normalmente por sobre los 40° C, al fundirse generan un líquido de baja densidad, solubles en solventes no polares orgánicos.

- **Esteroles:**

También conocidos como Alcoholes esteroideos, son un subgrupo de los Esteroides, son producidos de manera natural por Animales, Plantas y Hongos. El esteroide de origen animal más común es el Colesterol, el cuál tiene una importante función en la conformación estructural de las membranas celulares.

- **Vitaminas solubles en grasas:**

Tales como las Vitaminas *A, D, E y K*.

- **Monoglicéridos:**

También conocidos como Monoacilglicérols, y de los cuales existen dos tipos principales:

1. *1-Monoacilglicérols* donde el ácido graso está unido al Alcohol principal.
2. *2-Monoacilglicérols* donde el ácido graso está unido al Alcohol secundario.

Son utilizados normalmente como surfactantes.

- **Diglicéridos:**

También conocidos como Diacilglicérols (DAG) y de los cuales existen dos tipos principales:

1. *1,2-Diacilglicérol*
2. *1,3-Diacilglicérol*

Al igual que los Monoglicéridos, son utilizados normalmente como Surfactantes.

- **Trigliceridos:**

Es un ester derivado de un grupo glicerol y tres ácidos grasos y son los principales constituyentes de la grasa corporal en los animales y plantas. También se encuentran en la sangre, donde ayudan a la transferencia de grasa del tejido adiposo y de glucosa en la sangre. Existen varios tipos de trigliceridos, en los cuales la mayor división depende si las cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos son saturadas o insaturadas.

- **Fosfolipidos:**

Son los principales componentes de las membranas biológicas, dada su naturaleza anfifílica, pueden formar una bicapa lipídica, su estructura se conforma normalmente de una *cabeza* hidrófila que consiste de un grupo fosfato y de dos *colas* hidrófobas formadas por un par de ácidos grasos. Ambas partes están unidas por una molécula de glicerol. Es importante mencionar, que al grupo fosfato se le pueden unir otro tipo de biomoléculas, como por ejemplo la *Colina*.

2.0.1. Estructuras Lipídicas.

Los Lípidos tienden a tener un comportamiento anfifílico, es decir poseen una parte hidrófoba y otra parte hidrófila, lo que les permite formar diferentes estructuras al ser puestas dentro de un medio acuoso, las posibles estructuras que se pueden formar dependen de la concentración y tipo de lípidos depositados, así como de las posibles interacciones que se puedan presentar tanto con el medio como entre los mismos lípidos, entre las estructuras que se pueden formar, destacan por su importancia:

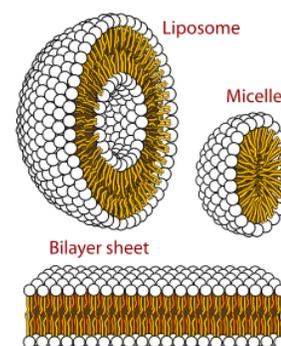


Figura 2.2: Organización Lipídica.[6]

- **Micelas:**

Micela: *Partícula de dimensiones nanocoloidales que se encuentra en equilibrio con las moléculas o iones de la solución de la cual fue formada.*[7][8]

Una micela típica, formada en una solución acuosa, es un agregado en el cual las cabezas polares Hidrófilas se encuentran en contacto con el agua, mientras que al interior de la micela se encuentran secuestradas las colas hidrocarbonadas hidrófobas. A este tipo de micela se le llama micela de fase normal o también micela de aceite-agua, existen también micelas de fase inversa o micela agua-aceite, las cuales tienen los grupos polares al centro y las colas hidrocarbonadas hacia el exterior. Son normalmente de forma esférica, sin embargo, también pueden existir otro tipo de formas, tales como elipsoides y cilindros. La forma y tamaño que presentan, dependen de múltiples factores, tales como la forma geométrica que presentan las moléculas del surfactante, las condiciones de la solución en la que se van a formar, la concentración del surfactante, temperatura, pH y fuerza iónica.[9]

El proceso de formación de las micelas es llamado micelización. Estas solo se pueden formar bajo ciertas condiciones específicas, cuando la concentración del Surfactante se encuentra por arriba de la Concentración Micelar Crítica (CMC) y la temperatura del sistema también se encuentra por arriba de la Temperatura Micelar Crítica o temperatura de Krafft. Se pueden formar espontáneamente debido a un balance entre la Entropía y Entalpía del sistema, si el sistema esta embebido en agua, la repulsión hidrófoba de las colas hidrocarbonadas es la fuerza principal de formación de micelas, esto a pesar de que la formación de moléculas de surfactante no es favorable al sistema[10][11].

- **Liposomas:**

Un Liposoma es una vesícula circular, formada por al menos una bicapa lipídica, y pueden ser utilizados para la administración y transporte de nutrientes y medicamentos. Pueden ser formados por medio

de la disrupción de una membrana biológica, como por sonicación.[13] Están formados principalmente por lípidos, es especial Fosfatidílcolina, sin embargo pueden estar formados por otros lípidos siempre y cuando estos pueden formar parte de una bicapa. En raras ocasiones se forman espontáneamente, normalmente se forman después de que se inyecta suficiente energía a una dispersión de fosfolípidos en un solvente polar para romper los agregados multilamelares en vesículas de bicapa unilamelares[14]. Para la preparación de Liposomas funcionales, se deben de tener en cuenta múltiples factores[15][16]:

- Las caracterisitcas fisicoquímicas de los materiales que serán envueltos en el liposoma, así como los componentes que conformaran el mismo.
- La naturaleza del medio en el cual están y en el cual serán dispersos los liposomas.
- Concentración neta del material que será envuelto, así como su posible toxicidad.
- Tamaño deseado y máximo alcanzable de los Liposomas.
- Procesos adicionales, propios de la aplicación/entrega de los liposomas.

Los principales tipos de Liposomas son la Vesicula Multilamelar (MUV), Vesicula Unilamelar pequeña (SUV) y la Vesicula Unilamelar Grande (LUV). Otro tipo de Liposomas, son los liposomas multivesiculares, en los cuales, una vesícula grande tiene en su interior otras más pequeñas, sin embargo este tipo de formaciones no son adecuadas o "deseables".

■ **Membranas:**

Los lípidos pueden estar organizados en un a estructura de bicapa o monocapa, dado que a lo largo de esta tesis nos enfocaremos en el

estudio y análisis de una monocapa lipídica, este apartado se enfocará principalmente en la bicapa lipídica.

La bicapa lipídica, es una estructura formada por dos monocapas de lípidos. La gran mayoría de las membranas de las células, así como de algunos virus, están formadas por bicapas lipídicas. Aparte de fosfolípidos, las bicapas de las membranas celulares constan de otros componentes, entre los cuales destaca el colesterol (en las células de origen animal) dado que este ayuda a dar estabilidad y fuerza estructural a la membrana, así como a la regulación del funcionamiento de ciertas proteínas transmembranales.

Una de las propiedades más importantes de las bicapas, es su movilidad relativa (fluidez) de los lípidos que la conforman y de como esta cambia con respecto a la temperatura, estos cambios son conocidos como los comportamientos de fase de la bicapa. A una cierta temperatura, la bicapa puede estar ya sea en una fase líquida o en una fase sólida, esta última es conocida como fase *gel*. Todos los lípidos que conforman la bicapa presentan una temperatura característica de fusión, a la cual sufren una transición de su fase *gel* a su fase líquida. Durante esta fase líquida, los lípidos pueden difundirse libremente en el plano de la bicapa por medio de *caminatas aleatorias*[17], sin embargo se encuentra confinado en el mismo, puesto que los procesos de intercambio de lípidos de una monocapa de la membrana al otro, puesto que realizar el cambio, debe cruzar el centro hidrófobo lo cual es un proceso altamente desfavorable energéticamente hablando, en una membrana típica de fosfatidilcolina, el proceso puede durar hasta varias semanas [18]. En caso de que la membrana se encuentre en una fase tipo *gel*, no se presentan ni movimiento de difusión en el plano de la bicapa ni intercambio de lípidos de un lado a otro de la bicapa. En lo que respecta a su estructura, las membranas celulares no están conformadas por un solo componente, puesto que contienen una gran variedad de lípidos, colesterol y proteínas, esta estructura mixta, da origen a la existencia de una separación de fases y de microdominios (*balsas*), los cuales no se encuentran presentes en membranas de un

solo componente[19][20]. Estos dominios pueden tener un tamaño de entre 4 y 700 nm [21][22].

Normalmente las *Balsas Lipídicas* son dominios ricos en colesterol y esfingolípidos, los cuales tienen en la región de sus colas hidrocarbonadas una fase mas ordenada (líquido-ordenado) que las regiones circundantes que no se encuentran dentro de uno de estos dominios, de igual manera, utilizando difracción de rayos X (XDR) han demostrado que las bicapas enriquecidas con esfingomieline y colesterol, las cuales presentan *Balsas Lipídicas*, son un 25 % mas gruesas que las bicapas que no las presentan[23][24][25].

Uno de los objetivos de esta tesis es la observación de estos dominios, en una mezcla especifica de lípidos en una monocapa.

2.0.2. Técnicas Experimentales para análisis de Lípidos.

En el estudio del estado sólido, se ha observado que los compuestos de cadena larga (en este caso las cadenas hidrocarbonadas) presentan más de un tipo de estructura cristalina (polimorfismo) y por ende variaciones en sus puntos de fusión.

Los métodos experimentales más utilizados para observar las características de las diferentes formaciones cristalinas así como sus respectivos puntos de fusión son[27]:

- **Difracción de rayos-X (XRD):**

Estudios con rayos-X, han mostrado que la celda unitaria de los compuestos de cadena larga, es un prisma rectangular, el cual puede presentar algún tipo de inclinación. Se ha encontrado también que las moléculas tienden a inclinarse a un ángulo en el cual se presenta un mayor empaquetamiento, también se ha encontrado que en su punto de mayor estabilidad se presenta también su punto de fusión más alto.

- **Espectroscopia Ultravioleta:**

El estudio de la espectroscopia ultravioleta esta limitado a los compuestos que presentan insaturaciones o que producen compuestos insaturados tras una reacción de Oxidación o Hidrogenación, los cuales producen la aparición de nuevas líneas de absorción en el espectro del compuesto.

- **Espectroscopia Infrarroja:**

La Espectroscopia Infrarroja es utilizada principalmente para el reconocimiento y determinación de la presencia de enlaces tipo *trans* en Lípidos, pues estos enlaces presentan una línea de absorción característica a 981cm^{-1} , la técnica también es utilizada en lipidos *sólidos* para obtener información acerca del polimorfismo que presenta su estructura cristalina, conformación y longitud de las cadenas hidrocarbonadas.

- **Electron Spin Resonance (ESR):**

Esta técnica es utilizada principalmente para el estudio de radicales libres, por lo cual su mayor utilidad en el estudio de los lípidos, proviene de los procesos de autooxidación resultado de la interacción de algunos lípidos con radicales libres. También se utiliza en el estudio de membranas modelo cuando se les añade algún radical libre que tiene un marcaje en un spin.

- **^1H NMR Spectroscopy:**

El estudio por medio de espectroscopia de resonancia magnética nuclear puede ser dividido en dos:

1. *Espectroscopia de baja resolución:*

Utilizada principalmente para establecer la proporción solida presente en una mezcla solido-liquido, lo cual ayuda a determinar el comportamiento de fusión de dicha mezcla, pues el análisis

es realizado a lo largo de un rango de temperaturas, el objetivo es realizar una gráfica de *Contenido sólido de Grasas (SFC) vs Temperatura*.

2. *Espectroscopia de alta resolución:*

Utilizada principalmente para obtener constantes de acoplamiento, corrimientos causados por la presencia de ciertos compuestos, patrones de separación y área, estos resultados dan información acerca de la estructura química de la muestra a analizar.

■ **Espectroscopia ^{13}C NMR:**

Dada la alta resolución de esta técnica, sus resultados son más complejos y difíciles de analizar que los de la espectroscopia ^1H NMR, sin embargo, arrojan una mayor información acerca de la estructura química de la muestra.

Otra técnica muy importante para el estudio de los lípidos, así como de las agrupaciones lipídicas es el de las monocapas de Langmuir, esta técnica no fue incluida en esta sección puesto que resulta de gran relevancia para el desarrollo experimental de esta tesis, por lo que se dedica un apartado especial a su discusión.

Capítulo 3

Monocapas de Langmuir

Las monocapas de Langmuir son películas ultra delgadas de dos dimensiones que tiene un grosor aproximado de una molécula, normalmente se les encuentra en la interfaz aire-agua.

Las moléculas que normalmente forman estas monocapas son anfifílicas, es decir, tienen una parte que presenta un comportamiento Hidrófobo, conformada principalmente por cadenas hidrocarbonadas y otra parte con comportamiento Hidrófilo, conformada por grupos de ácidos carboxílicos, sulfatos, aminas, alcoholes, por mencionar algunos grupos químicos.

Las fuerzas que actúan sobre estas moléculas anfifílicas las podemos diferenciar de acuerdo a la parte que afectan predominantemente. Las fuerzas que se presentan en las regiones hidrófobas son de tipo van der Waals

$\left(\frac{1}{r^{12}} \text{ y } \frac{1}{r^6}\right)$. Mientras que las interacciones que se presentan en el grupo hidrófilo son predominantemente de tipo Coulombiano $\left(\frac{1}{r^2}\right)$. Por lo cual,

al ser depositadas en la interfaz aire-agua, las moléculas anfifílicas tienden a cubrir por completo la superficie disponible esparciéndose y orientándose de manera ordenada, de esta manera la parte hidrófila de la molécula queda en contacto o sumergida en agua, mientras que la parte hidrófoba mantiene una repulsión continua y evita el contacto con el agua.

3.1. Propiedades y estudio de las Monocapas de Langmuir.

Las moléculas de agua que se encuentran en el límite de la interfaz aire-agua manifiestan un exceso de energía libre, dado que no presentan ninguna interacción con alguna otra molécula que se encuentre fuera de la región líquida. Es por ello que al depositar una monocapa sobre la superficie, esta tenderá a disminuir su tensión superficial. Es por ello que se debe prestar especial atención al cuidado y limpieza del equipo utilizado, dado que los resultados pueden verse afectados por la presencia de contaminación por polvo en el agua.

La termodinámica de superficies fue descrita a detalle por Gaines circa 1966 ([28]). Donde la tensión superficial de una interfaz plana, esta dada por:

$$\gamma = \left(\frac{\partial \mathcal{G}}{\partial f} \right)_{\mathcal{T}, \mathcal{P}, \lambda} \quad (3.1)$$

Donde \mathcal{G} es la energía libre de Gibbs del sistema, f es el área de la superficie, \mathcal{T} es la temperatura, \mathcal{P} la presión y λ la composición molecular, estas últimas tres se mantienen constantes. Cuando se depositan las moléculas anfífilas en una baja concentración sobre la superficie del agua, tienden a formar un "gas" en 2 dimensiones, el cual tiene un efecto despreciable sobre la tensión superficial del agua. Sin embargo, si se reduce la superficie accesible para la monocapa, la densidad de moléculas y la presión superficial se incrementan. Tomando en cuenta que a la presión superficial se le considera un análogo bidimensional de la presión hidrostática esta puede ser definida como:

$$\pi = \gamma_0 - \gamma \quad (3.2)$$

Donde γ_0 es la tensión superficial del agua pura y γ es el valor de la tensión superficial en presencia de la monocapa a un área determinada. Por lo cual, al mantener un registro de los cambios de presión con respecto

al área disponible de la monocapa, podemos obtener una isoterma de PvA (Presión vs Área).

Al analizar una isoterma modelo de un ácido graso (Figura 3.1), se puede apreciar que la monocapa se encuentra muy diluida cuando el área por molécula se encuentra en los varios cientos de \AA^2 , en este caso se dice que tenemos una *fase gaseosa en 2 dimensiones*. Cuando el área por molécula decrece y por ende se incrementa la presión superficial, se presenta una *meseta* que denota la coexistencia entre la fase gaseosa antes mencionada y otra fase a la cual se le conoce comúnmente

como *Líquido expandido* (denotado normalmente como LE o L1). Al realizar un análisis de difracción de rayos X en ángulos rasantes a esta nueva fase, se observa que no hay señal detectable, lo cual se le atribuye al hecho de que las cabezas polares del ácido graso (parte Hidrófila) así como las cadenas hidrocarbonadas (parte Hidrófoba) se encuentran traslacionalmente desordenadas. La presencia de esta *meseta* nos indica que estamos tratando con una transición de fase de primer orden, lo cual fue comprobado por medio de microscopia de fluorescencia de luz polarizada [29]. Si se continua comprimiendo la monocapa, se produce un cambio brusco en la pendiente de la isoterma, lo cual indica una transición de fase de *Líquido Expandido* a otra llamada *Líquido Condensado*, la cual tal y como su nombre lo indica, presenta una mayor densidad de ácidos grasos.

Por otro lado, el cambio de entropía por molécula (ΔS) y la entalpía de transición ($\Delta H = Q_P = T\Delta S$) en la coexistencia de dos fases puede ser relacionada con un cambio en el área por medio de la ecuación de Clausius-Clapeyron en dos dimensiones:

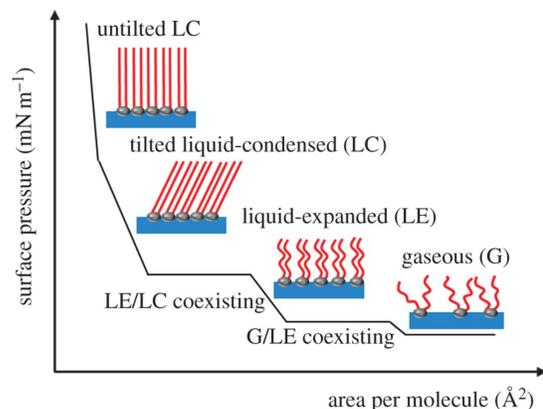


Figura 3.1: Isoterma de un ácido graso[30].

$$\Delta S = \left(\frac{d\Pi_C}{dT} \right) \Delta A. \quad (3.3)$$

Donde Π_C es la presión superficial de transición.

Si se continua disminuyendo el área disponible, y por ende aumentando la densidad de moléculas por área, la monocapa se vuelve menos compresible en esta fase (*Condensada*) que en la fase de *Líquido Expandido*, al continuar con la compresión y al llegar aproximadamente a un área por molécula de entre 20 y 25 Å² se llega a una fase *sólida* la cual tiene un orden de corto alcance traslacional. Al realizar un análisis de Rayos X a ángulos rasantes tanto a la fase *condensada* como a la *sólida*, se obtiene que las cadenas hidrocarbonadas (parte Hidrófoba del ácido graso) se encuentran organizadas de manera paralela entre ellas, sin embargo, pueden presentar un tipo de inclinación o estar completamente perpendiculares a la superficie del agua. Experimentos de rayos X realizados a bajas temperaturas, han mostrado que existen fases bidimensionales con un grado de orden traslacional de cuasi largo alcance.

Una de las características que diferencian a las diferentes zonas que se presentan a lo largo de la isoterma es el tipo de fase del cual están compuestas: las fases *Gaseosa* y *Líquido expandido* son fluidos bidimensionales, mientras que las fases *Líquido Expandido* y *Sólida* son mesofases, por lo cual no son fases únicas, si no que dependen de las condiciones de presión y temperatura y pueden presentarse de diferentes maneras, es por ello que los términos *LC* y *S* solo son utilizados para denotar que se trata de una fase condensada sin referirse a alguna en particular.

3.2. Parámetros que Modifican la estructura de la Isotherma

La obtención de una isoterma es el método más sencillo para recolectar información sobre el estado termodinámico que presenta una monocapa, a través de ellas, podemos identificar la temperatura y el área a la cual ocurren transiciones de fase, las cuales indican cambios termodinámicos de la monocapa. La forma que presentan, depende principalmente de la temperatura, puesto que a diferentes temperaturas, se pueden presentar distintas transiciones de fase. Hay estudios en los que se propone que la longitud de la cadena hidrocarbonada también modifica la forma que presenta la isoterma[31].

Un parametro importante que puede causar modificaciones importantes a la forma de la isoterma, es la velocidad de compresión de las barreras de la balanza de Langmuir, puesto que entre mayor sea esta, el sistema se aleja del equilibrio termodinámico. Por ello es importante comprimir a velocidades bajas ($< 40 \text{ cm}^2/\text{min}$).

3.3. Balanza de Langmuir.

La técnica más utilizada para la caracterización de películas delgadas en una interfaz aire-agua es la técnica de Langmuir-Blodgett. Esta fue desarrollada por Agnes Pockels y posteriormente perfeccionada por Irving Langmuir y se aplica en el aparato conocido como Balanza de Langmuir. La Balanza de Langmuir esta constituida por un contenedor poco profundo hecho de un material altamente inerte (normalmente teflón) para evitar la acumulación de impurezas así como reacciones no deseadas, tambien cuenta con un sistema de barreras del mismo material y dimensiones (a lo ancho) del contenedor, las cuales pueden ser o no móviles, estas barreras se ubican a una altura de tal manera que solo alcancen a tocar el contenido superficial de la balanza en la interfaz aire-subfase y por lo cual ayudan a controlar y

monitorear el área disponible para la monocapa depositada en la interfaz aire-subfase de la balanza, estas barreras son controladas por medio de un software externo (NIMA Technology LTD, Coventry, England). La balanza también cuenta con un sensor, el cual monitorea en tiempo real los cambios que sufre la presión superficial de la subfase conforme se comprimen las barreras que posee la balanza, para lo cual se utiliza una Placa de Wilhelmy, la cual consiste en una superficie rectangular que se mantiene en contacto constante con el la interfaz aire-subfase, y puede ser de una variedad de materiales como:

- *Papel filtro*
- *Papel de cromatografía*
- *Vidrio*
- *Cuarzo*
- *Mica*
- *Placa de Platino*

Se ha comprobado que el material del cual este hecho la placa, no afecta en el resultado del experimento que se quiere realizar, el unico factor determinante en el resultado proviene del hecho de que la placa debe estar completamente humedecida por la subfase con la cual se encuentra en contacto[32], en el caso del equipo presente en el laboratorio se utiliza papel filtro. La placa a su vez esta unida a un tensiómetro por un tubo delgado de metal, el cual mide la fuerza debida al humedecimiento de la placa y con ello se calcula la tensión superficial de la subfase con ayuda de la *ecuación de Wilhelmy*:

$$\gamma = \frac{F}{l \cos \theta} \quad (3.4)$$

Dónde l es el perímetro de la placa humedecida $2w + 2d$ con w el ancho de la placa y d el espesor de la misma, θ es el ángulo de contacto entre la placa y la subfase. Estos datos son procesados a través del mismo software que controla las barreras de la balanza y arroja el valor de la presión superficial de la subfase, con lo cual se genera la isoterma de la monocapa mencionada con anterioridad.

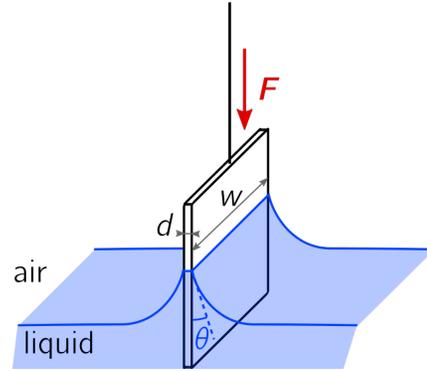


Figura 3.2: Esquema de interacción Placa de Wilhelmy[33]

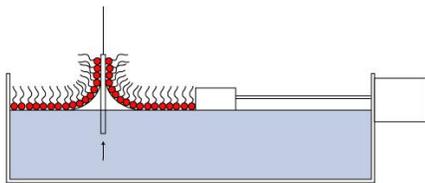


Figura 3.3: Esquema de una transferencia *Langmuir-Blodgett* [34].

la monocapa se adhieren a este, manteniendo el orden molecular que presentaban al estar sobre la subfase. Este proceso debe realizarse preferentemente manteniendo una presión constante durante todo el proceso, puesto que si se presentan variaciones amplias en la misma, la morfología de la monocapa puede cambiar, por lo cual los resultados que se obtengan del análisis del sustrato pueden ser inválidos; a esta técnica de transferencia de la monocapa de Langmuir a un sustrato sólido se le llama técnica de *Langmuir-Blodgett*.

Aparte de las barreras y del sensor de presión, el equipo del laboratorio, cuenta con un mecanismo de *Dipper*, el cual nos permite introducir lenta y ortogonalmente un sustrato en la subfase, lo cual, al retirar el sustrato (se tiene que realizar de una manera muy lenta y cuidadosa), las moléculas que conforman

Existen otras técnicas para la transferencia de monocapas de Langmuir a sustratos sólidos, por ejemplo la técnica *Langmuir-Schaefer*, sin embargo para la realización de los procedimientos experimentales de esta tesis solo fue necesaria la utilización de la técnica *Langmuir-Blodgett*. La transferencia a un sustrato sólido es de gran ayuda pues permite el análisis de las monocapas de Langmuir por medio de otras técnicas experimentales, entre las cuales destacan: Microscopia de fuerza atómica (AFM), Elipsometría, Microscopia de Ángulo de Brewster (BAM). Estas últimas también pueden ser utilizadas directamente sobre la interfaz aire-subfase, en lugar de sobre un sustrato sólido, siendo la microscopia de Ángulo de Brewster una excelente técnica complementaria para el estudio de las monocapas in situ. Mientras que la Elipsometría a pesar de ser otra buena técnica complementaria, dependiendo de las necesidades particulares de la medición a realizar se pueden presentar una serie de problemas con la misma.

Capítulo 4

Microscopia de ángulo de Brewster (BAM)

La microscopia de ángulo de Brewster, tal y como su nombre lo indica, se basa en la utilización del ángulo de Brewster (o ángulo de polarización) para el estudio de materiales que se encuentran en la interfaz entre distintos medios. El ángulo de Brewster, debe su nombre al físico Escocés Sir David Brewster[35][36], y es el ángulo de incidencia en el cual la luz que presenta un cierto tipo de polarización, se transmite a través de un medio dieléctrico transparente sin presentar reflexión, en caso de que la luz incidente sea no polarizada, si habrá reflexión pero el haz reflejado presentara polarización. El ángulo de Brewster se encuentra definido por la expresión:

$$\tan \theta_B = \frac{n_1}{n_2}. \quad (4.1)$$

Donde θ_B es el angulo de Brewster, n_1 y n_2 son los indices de refracción del medio 1 y 2 respectivamente. Esta formula puede ser obtenida a través de la ley de Snell:

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2 \quad (4.2)$$

Donde de igual manera n_1 y n_2 son los índices de refracción de los medios 1 y 2, mientras que los ángulos θ_1 y θ_2 son los ángulos de incidencia y de refracción respectivamente. Una de las características del ángulo de Brewster es el hecho de que el haz reflejado forma un ángulo de 90° con el haz refractado, por lo cual podemos reescribir la ley de Snell como:

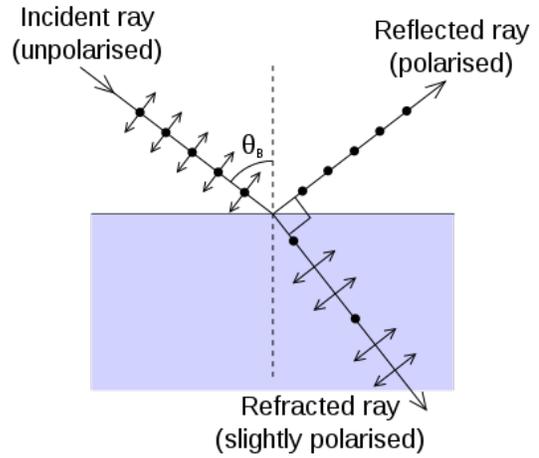


Figura 4.1: Polarización de la luz en el ángulo de Brewster[37].

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin(90 - \theta_2). \quad (4.3)$$

Utilizamos:

$$\sin(90 - a) = \cos(a) \quad (4.4)$$

Con lo que obtenemos:

$$n_1 \sin \theta_B = n_2 \cos \theta_B \quad (4.5)$$

Donde θ_B es el ángulo de Brewster, a partir de esta expresión es fácil obtener la definición del ángulo de Brewster como:

$$\theta_B = \arctan \frac{n_1}{n_2} \quad (4.6)$$

Es importante mencionar que dado que el índice de refracción de un material presenta variaciones con respecto a la longitud de onda, el ángulo de Brewster también presenta variaciones con longitudes de onda diferentes.

Como se menciono anteriormente, la principal característica del ángulo de Brewster, consiste en que se presenta un cambio de polarización del haz reflejado con respecto al haz incidente, o la inexistencia de la reflexión en caso de que el haz incidente presente una polarización lineal. La polarización es una propiedad intrínseca de las ondas electromagnéticas, existen 3 tipos de polarización, los cuales están definidos por el movimiento transversal del campo eléctrico de una onda electromagnética:

- **Polarización Lineal:** Ocurre cuando el campo eléctrico sigue una oscilación periódica constante, y solo se tiene una componente de polarización. Las ondas que conforman la radiación electromagnética deben tener la misma amplitud y fase.
- **Polarización Circular:** Ocurre cuando se suman dos ondas con la misma amplitud, pero con una diferencia en su fase de $\frac{\pi}{2}$, lo cual origina una rotación periódica constante en el campo eléctrico.
- **Polarización Elíptica:** Ocurre cuando se suman dos ondas que poseen amplitudes y fases diferentes entre si, lo cual provoca una forma elipsoidal en la rotación del campo eléctrico.

Existen muchas otras características y propiedades de la polarización de las ondas electromagnéticas, pero serán discutidas más a fondo en el capítulo dedicado a la técnica de elipsometría.

La microscopia de ángulo de Brewster puede realizarse sobre diferentes tipos de interfaces, lo cual genera la posibilidad de analizar distintos medios y la interacción entre ellos, de las cuales destacan:

- *Películas delgadas de líquido sobre un sustrato sólido.*

- *Películas delgadas solidas sobre otro sustrato sólido.*
- *Interfases gas-líquido.*
- *Inferfases líquido-líquido.*

Si se deposita un material en la superficie de una de las interfaces, de tal manera que se forme una monocapa, al estar enfocado el microscopio en el ángulo de brewster de la interfaz, se presentara una reflexión del haz, puesto que este nuevo material depositado normalmente tendrá un índice de refracción diferente que el sustrato sobre el cual esta depositado, esta reflexión puede ser utilizada para realizar un análisis sore la morfología de la monocapa en cuestión.

Existen diferentes tipos de microscopios de ángulo de Brewster, sus composiciones y diseños varían de acuerdo al tipo de medición y análisis que se quiere realizar con ellos, sin embargo, podemos hablar de ciertos componentes generales que se presentan a lo largo de los distintos modelos disponibles, tales como el uso de 2 goniómetros, sobres los cuales están montados los componentes de los cuales se forma el microscopio, estos componentes normalmente son un láser de frecuencia fija (o variable dependiendo del modelo), un polarizador, el cual solo deja pasar la componente p del campo eléctrico, compensador, el cual permite variar el ángulo de incidencia de la polarización, un analizador, el cual varia la intensidad del haz reflejado, y un detector, el cual puede variar dependiendo del tipo de análisis que se quiera realizar, en el caso del equipo utilizado para el desarrollo del trabajo aquí presentado, se puede realizar mediciones tanto de elipsometría de Imagen, como elipsometría de anulación.

Capítulo 5

Elipsometría

El movimiento de la luz en un medio, está relacionado al movimiento de las cargas eléctricas (electrones) de los núcleos atómicos, lo cual constituye las corrientes eléctricas macroscópicas, sin embargo, se pueden ignorar los efectos de la magnetización inducida dado que las fluctuaciones en los momentos magnéticos de los electrones y núcleos atómicos es muy lenta a comparación de las oscilaciones ópticas. Es por ello que la mejor forma de describir el movimiento y propagación de la luz en un medio, es a través de la magnitud de su vector de campo eléctrico \vec{E} . La existencia de ciertas *direcciones preferenciales* durante el paso de la luz por un medio, o más bien sobre la dirección de propagación del campo eléctrico de la luz y su interacción con la materia es la razón por la cual es importante estudiar y comprender el fenómeno de *polarización*.

La polarización de la luz fue observada y analizada por primera vez por el físico Francés Étienne-Louis Malus en 1808. La dependencia espacio-temporal del campo eléctrico $\vec{E}(\vec{r}, t)$, en un medio uniforme e isotropico de permitividad ϵ , es descrito por la ecuación de onda:[38, 39, 40, 41, 42]

$$\left[\nabla^2 - \frac{\epsilon(\omega)}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \right] \vec{E}(\vec{r}, t) = 0. \quad (5.1)$$

Donde ω es la frecuencia angular y c es la velocidad de la luz en el

vacío, una solución adecuada para esta ecuación, es una onda plana que se propaga sobre el eje z en un sistema coordenado ortogonal:

$$\vec{E}(z, t) = \text{Re} \left\{ \begin{bmatrix} E_x \\ E_y \end{bmatrix} e^{i(k_z z - \omega t)} \right\}. \quad (5.2)$$

En esa ecuación, E_x y E_y son las amplitudes del campo eléctrico \vec{E} a lo largo de los ejes x y y respectivamente, es importante mencionar que para satisfacer la ecuación 5.1, el termino no cero del vector de propagación k_z de la ecuación 5.2, tiene como valores permitidos los dados por la ecuación de dispersión.

$$k_z = \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon} = \frac{\omega}{c} N. \quad (5.3)$$

Donde $N = n + ik = \sqrt{\epsilon}$ es el índice de refracción complejo del medio. La forma más común de polarización de una onda de luz como la descrita por la ecuación 5.2, es la *elíptica*, lo cual nos permite reescribir la ecuación 5.2 en su parte de dependencia temporal, es decir en el plano $z = 0$ como:[43]

$$\vec{E}(t) = \begin{bmatrix} E_x(t) \\ E_y(t) \end{bmatrix} = \text{Re} \left\{ \begin{bmatrix} X e^{i\delta} \\ Y \end{bmatrix} e^{i\omega(t-t_0)} \right\}. \quad (5.4)$$

Para este caso, en el tiempo $t = t_0$, la componente y esta en su máximo, mientras que el máximo de la componente x es tras un intervalo de tiempo $\frac{\Delta}{\omega}$, es decir en un tiempo $t = t_0 + \frac{\Delta}{\omega}$, donde Δ es la fase relativa entre las vibraciones a lo largo de las direcciones x y y . Para polarizaciones con valores de Δ positivos, la precesión se presenta en sentido de las manecillas del reloj y es llamada polarización derecha, mientras que para valores negativos, la precesión es en contra horario, y es llamada polarización izquierda, los valores de Δ normalmente se encuentran limitados entre 0 y π o entre

$-\pi$ y π dependiendo de la nomenclatura utilizada[44].

Aparte del cambio en la fase Δ , la polarización elíptica esta determinada por las amplitudes X y Y , o mejor dicho, por el coeficiente o la amplitud relativa $\frac{X}{Y}$, puesto que solo este cociente resulta relevante para los análisis elipsometricos. Esta amplitud relativa puede ser expresada con ayuda del ángulo ψ , el cual aparece en la figura 5.1, y esta determinado por la expresión:

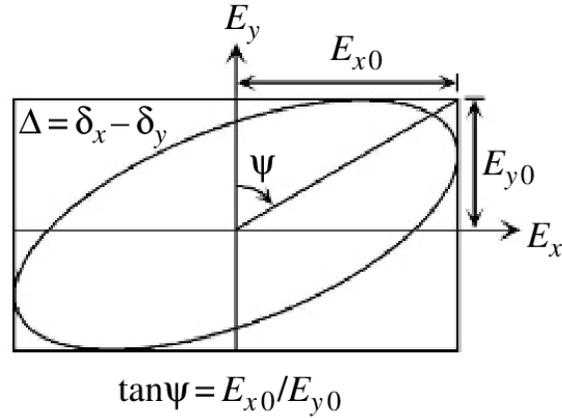


Figura 5.1: Polarización Elíptica de la luz[45].

$$\tan \psi = \frac{X}{Y} \quad (5.5)$$

Y toma valores que varían de 0 a $\frac{\pi}{2}$.

De igual manera, la polarización elíptica descrita por la ecuación 5.4 puede ser descrita por medio del *Vector de Jones*:

$$\begin{bmatrix} \sin \psi e^{i\Delta} \\ \cos \psi \end{bmatrix} \quad (5.6)$$

El cual esta determinado por los ángulos reales ψ y Δ . Con ayuda de estos mismos ángulos, podemos describir ciertos casos especiales de la polarización elíptica que surgen en valores particulares de los mismos:

- **Polarización Lineal:**

Ocurre cuando $\Delta = 0$ o π , siendo cada uno de los casos ortogonal

entre si mismos, son producidos por *polarizadores lineales*.

■ **Polarización Circular:**

Ocurre para la combinación de valores $\psi = \frac{\pi}{4}$ y $\Delta = \frac{\pi}{2}$ o $-\frac{\pi}{2}$, en cuyo caso es llamado luz circularmente polarizada derecha o izquierda respectivamente, dependiendo del valor que tome Δ , en este caso las componentes x y y son de la misma magnitud y tiene una diferencia de fase de $\frac{\pi}{2}$, al igual que la polarización lineal, son ortogonales entre si, este estado de polarización puede ser producido por un *polarizador lineal* seguido de un *retardador*.

Ahora que se ha dado un breve resumen del comportamiento y características de la polarización, se puede iniciar el tratamiento del tema de elipsometría. La elipsometría, es una técnica que se basa en la manipulación y análisis de la polarización tras ser re-

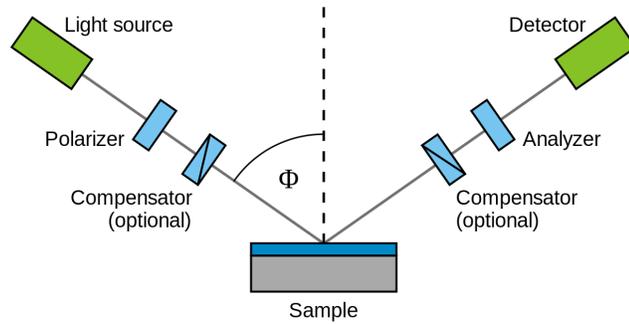


Figura 5.2: Configuración básica de un Elipsómetro[46].

fectada por una superficie que se quiere estudiar. La configuración básica de un Elipsómetro es la llamada configuración PCSA, la cual consiste en:

- Fuente de luz.
- Polarizador (P).
- Retardador/Compensador (C).
- Muestra (S).
- Polarizador Lineal/Analizador (A).

- Detector.

En el brazo que se encuentran la fuente de luz, polarizador y compensador, se prepara un estado conocido de polarización, el cual es enviado hacia la muestra a un ángulo φ , el brazo donde se localizan el analizador y detector es utilizado para medir los cambios en la polarización inducidos por la muestra. Esto nos permite obtener el llamado coeficiente de reflectancia complejo o coeficiente de elipticidad ρ :

$$\rho = \frac{r_p}{r_s} = \tan \psi e^{i\Delta} \quad (5.7)$$

La configuración PCSA de un elipsómetro, puede ser utilizada para determinar de una manera sencilla los ángulos elipsométricos, el proceso consiste en variar los valores del Polarizador, Compensador, de tal manera que la luz polarizada al ser reflejada por la muestra, tenga polarización lineal, para posteriormente ajustar el valor del Analizador de tal manera que se elimine la señal que llega al detector. Este análisis puede ser simplificado aun más si se deja un valor fijo para el Compensador $C = \frac{\pi}{4}$, lo cual limita el trabajo a la determinación de los valores adecuados para P_1 y A_1 , los cuales se relacionan con los ángulos elipsométricos de la siguiente manera[43]:

$$\psi = A_1, \quad \Delta = 2P_1 + \frac{\pi}{2} \quad (5.8)$$

A esta técnica se le conoce como Elipsometría de Anulación (Null Ellipsometry), y nos permite obtener resultados de alta precisión[47], sin embargo la obtención de las mediciones resulta un tanto lenta, aun así dada la alta precisión que se puede obtener de las mediciones, esta fue la técnica escogida para la realización de los experimentos de elipsometría necesarios.

Capítulo 6

Transiciones de fase y Puntos Críticos.

Fase: una región del espacio o sistema termodinámico, a lo largo del cual prácticamente todas sus propiedades físicas pueden ser consideradas uniformes[48][49], estas propiedades pueden ser:

- Densidad.
- Índice de refracción.
- Composición química.
- Grado de Magnetización.
- Presión.

El termino fase también es utilizado comúnmente para describir las condiciones de equilibrio que describen a un sistema dentro de un diagrama de fase, otro de los usos más comunes del termino, es para describir distintos estados de la materia (e.j: Agua líquida, hielo, vapor).

Si a un sistema se le deja entrar en equilibrio, por lo general se mostrara una única y uniforme fase, sin embargo si se varían las condiciones del sistema, tales como presión, temperatura etc., el sistema puede separarse en

una o más fases distintas, y entre las cuales sus propiedades pueden variar, a este tipo de cambios se les llama transiciones de fase, como ejemplo muy claro y cotidiano, podemos dar el cambio de hielo (agua en estado sólido) a líquido a vapor conforme uno varía la temperatura, lo cual nos indica que se pueden acceder a distintas fases o en este caso estados de la materia induciendo variaciones relativamente simples a un sistema, sin embargo este no es el único tipo de transición de fase, existen también transiciones: magnéticas, ferromagnéticas, de superconducción, superfluidez, separaciones de fase por densidad en mezclas de líquidos, entre otras.

Estas variaciones inducidas en la fase por medio de cambios en alguno de los parámetros del sistema pueden ser graficados y analizados por medio de un diagrama de fase (probablemente el más famoso de ellos sea el del agua, apreciable en la figura 6.1), el cual nos permite saber el comportamiento del material, elemento o muestra analizado de acuerdo a la variación realizada sobre sus parámetros básicos, existen varios tipos de

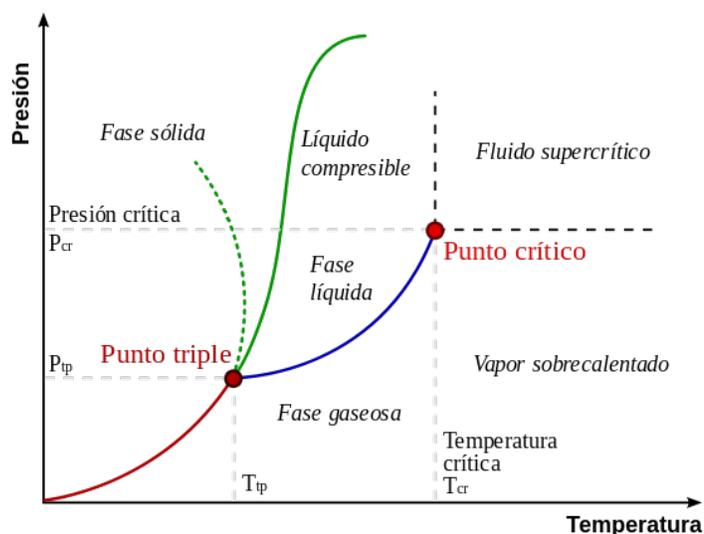


Figura 6.1: Diagrama de fase P-T del agua.

diagramas de fase, ya sea bidimensionales o tridimensionales. Lo importante de los diagramas de fase, es que nos permiten comprender mejor como evoluciona la muestra que se quiere analizar, de igual manera nos ayudan a identificar regiones de coexistencia de fase importantes así como los puntos críticos del material.

Un punto crítico está caracterizado por medio de la Temperatura Crítica (T_c) y la Presión Crítica (p_c) a la cual se localiza, en este punto, que

marca el final de la coexistencia de fases, la separación entre ambas se vuelve totalmente irrelevante, pues son indistinguibles la una de la otra, por lo cual se presentan numerosas fluctuaciones en algunas de las propiedades del sistema, lo cual lleva a rompimiento en la simetría del sistema, así como en divergencias que se presentan en algunas de las propiedades del mismo.[51][52]

En general, el punto crítico puede ser descrito por medio de los llamados exponentes críticos, estos son parámetros definidos que, describen el comportamiento del sistema en las regiones cercanas a los puntos críticos, son expresados normalmente con las letras Griegas α , β y γ una de sus características principales es que no se trata de números enteros, sino fraccionarios, otra importante característica y una de las principales razones por las cuales son utilizados ampliamente, es el hecho de que, sin importar el tipo de transición de la que se trate o la complejidad de la misma, la gran mayoría de ellas pueden ser agrupadas dentro de un grupo, en el cual todas las transiciones comprendidas obedecen un comportamiento dado por una combinación específica de estos exponentes críticos[51]. Los exponentes críticos también obedecen una serie de relaciones muy simples, como por ejemplo:

$$\alpha + 2\beta + \gamma = 2 \tag{6.1}$$

Este tipo de relaciones son llamadas las leyes de escala y son obtenidas de la teoría del grupo de renormalización, cuya función principal es la de brindar una correspondencia a los parámetros que afectan una transición de fase en las cercanías de un punto crítico.

Parte III

**Procedimientos
Experimentales**

Capítulo 7

Introducción Procedimientos Experimentales

El trabajo experimental de esta tesis, puede ser dividido en 2 partes; la primera de ellas es la obtención del diagrama de fase para la mezcla de lípidos DMPS:DMPC:Colesterol, para posteriormente realizar un análisis de Elipsometria en los puntos de interés del mismo para intentar comprobar la existencia de un punto crítico. Resulta importante mencionar que se busca obtener una recreación del diagrama de fase para la misma mezcla obtenido por Radhakrishnan, A., and H. M. McConnell. (1999. *Biophys. J.*)[53], el diagrama de fase fue obtenido con ayuda de la balanza de Langmuir y con el microscopio de ángulo de Brewster, mientras que el análisis de elipsometria solo requirió el uso del microscopio de ángulo de Brewster/Elipsometro.

Los lípidos utilizados para este trabajo, como se menciona el inicio de este capítulo son:

- DMPC (1,2-ditetradecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)
- DMPS (1,2-ditetradecanoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine)

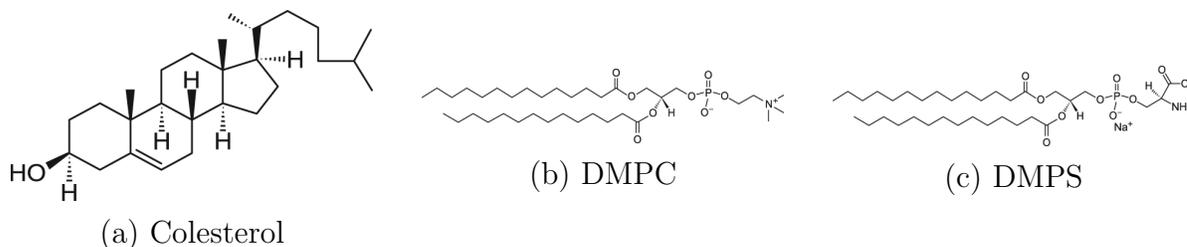


Figura 7.1: Lípidos Utilizados.

- Colesterol (cholest-5-en-3 β -ol)

Todos los lípidos utilizados durante el proceso experimental son de alta pureza y fueron adquiridos en Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL. USA. y fueron utilizados sin que les fuera aplicado algún tratamiento extra de purificación.

Como trabajo previo a la realización del diagrama de fase, se realizaron las mezclas de lípidos necesarias para la obtención del mismo. Se realizaron un total de 23 mezclas, en todas ellas se mantuvo constante la proporción 2:1 de DMPS-DMPC mientras que se cambiaba la concentración de colesterol. En las muestras que se realizaron inicialmente, se varió la concentración de Colesterol en 10 % iniciando en 10 % y terminando en 70 %, posteriormente fueron realizadas mezclas para concentraciones intermedias de Colesterol y finalmente cuando se tuvo casi completado el diagrama de fase, se realizó un último lote de mezclas para los puntos cercanos a los máximos encontrados en el diagrama, es importante mencionar que todas las mezclas fueron realizadas para tener una concentración de $1 \frac{mg}{ml}$.

Como se mencionó anteriormente en la sección destinada a las monocapas de Langmuir, la obtención de una buena isoterma depende en buena medida de una adecuada limpieza de la balanza de Langmuir así como de la correcta adsorción de la muestra en la interfaz. Para asegurar una adecuada limpieza de la balanza, antes del inicio de cada experimento fue limpiada con cloroformo para obtener una buena remoción de cualquier residuo orgánico que se pudiera tener en la superficie de la misma. Para la correcta adsorción de la muestra se utiliza una micro jeringa y se deposita gota a gota la cantidad de muestra deseada sobre la interfaz, debe uno ase-

gurarse que la gota respectiva fue correctamente adsorbida por la superficie del agua y no se precipito hacia el fondo de la balanza, esto se logra no dejando caer la gota desde la jeringa, si no permitiendo que la misma tensión superficial del agua tome la gota y la disperse a lo largo de la superficie. Dado que las soluciones se encuentran suspendidas en cloroformo, después de ser depositadas en la balanza de Langmuir se requiere de esperar cerca de una hora para que el cloroformo se disuelva completamente en el agua y de esta forma evitar que sea observable en las imágenes obtenidas por el microscopio de angulo de Brewster.

Tras el tiempo de espera para la disolución del cloroformo, se puede proceder a la realización de los experimentos necesarios para la obtención del diagrama de fase y posteriormente para las pruebas de elipsometria.

Capítulo 8

Obtención del diagrama de fase.

Para reproducir el diagrama de fase de la mezcla lipídica de interés obtenido inicialmente por Radhakrishnan, A., and H. M. McConnell. (1999. *Biophys. J.*)[53] se utilizan, como fue mencionado anteriormente, la balanza de Langmuir y el microscopio de ángulo de Brewster. Para obtener cada uno de los puntos que conforman el diagrama de fase se depositaron $40\mu l$ de la mezcla sobre la balanza, tras esperar el tiempo necesario para la disolución del cloroformo se procedió a la obtención de la isoterma característica de la misma, la isoterma, tal y como se menciona en el capítulo correspondiente debe ser realizada con una baja velocidad de compresión de las barreras que conforman la balanza de Langmuir. Para nuestro caso esta velocidad fue de $20\frac{cm^2}{min}$, el proceso debe ser realizado a bajas velocidades para que el proceso sea cuasi estático y reversible, es importante mencionar que todos los experimentos fueron realizados a una temperatura de $23^{\circ}C$.

El diagrama de fase obtenido y publicado por Radhakrishnan, A., and H. M. McConnell. puede ser apreciado en la figura 8.1, como se puede apreciar, el eje x representa diferentes concentraciones de colesterol utilizadas en las distintas mezclas, mientras que el en el eje y se encuentran la presión,

cada punto del diagrama, corresponde a la presión a la cual desaparece la fase gaseosa para esa mezcla en específico, los autores del artículo nombraron como fase α y fase β al área bajo las curvas que se observan en el diagrama, siendo la fase α la que se encuentra bajo la curva azul mientras que la fase β es la que se encuentra bajo la curva anaranjada, de acuerdo a los mismos autores, esta distinción de fase solo la realizaron por motivos prácticos y para poder diferenciar adecuadamente ambas curvas.

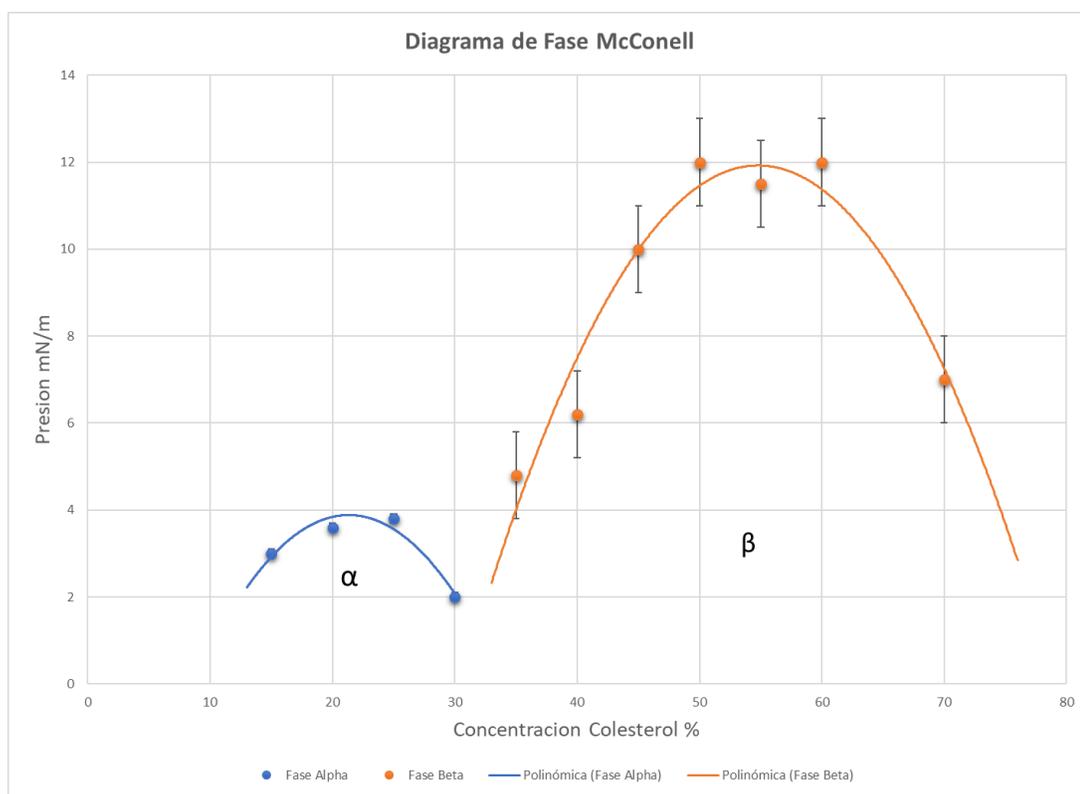


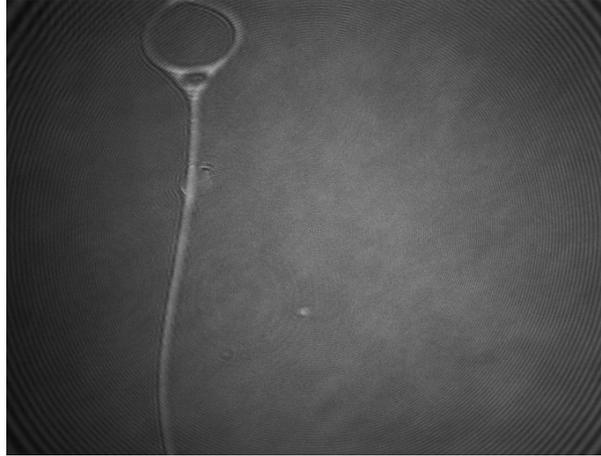
Figura 8.1: Diagrama de Fase para la Mezcla obtenido por Radhakrishnan, A., and H. M. McConnell. (1999. Biophys. J.).

El objetivo de obtener las isotermas características es el de tener un registro de la presión a la cual desaparecía la fase gaseosa de la muestra. En total se realizó un promedio de 3 isotermas para cada concentración de las muestras, la primera de ellas una isoterma durante la compresión de la

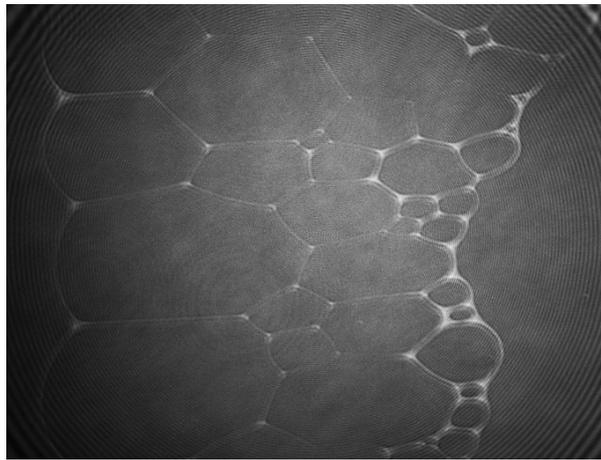
mezcla, una durante la expansión de las barreras (realizado también a bajas velocidades), y otra isoterma realizada a velocidades un poco más altas ($40 \frac{cm^2}{min}$ [siendo esta velocidad también lo suficientemente baja para que el proceso siga siendo cuasiestático y reversible]), en algunos casos especiales fue posible realizar una cuarta isoterma realizada por pasos, pues se reducía el área disponible de la balanza una cantidad fija y se dejaba que la mezcla se relajara por cierto tiempo antes de que se volviera a realizar la compresión, en estos casos se reducía el área disponible en 1 o $2cm^2$ y se dejaba relajar la muestra por 5 minutos antes de la siguiente compresión, esta última isoterma no pudo ser obtenida para todas las muestras puesto que dada la cantidad de tiempo que se tenía que esperar entre compresiones, en múltiples ocasiones se comenzaban a notar más y más partículas de polvo que se precipitaban a la balanza, ocasionando fluctuaciones en la medición de la presión superficial, así como una gran afectación al momento de intentar tomar imágenes con el microscopio de ángulo de Brewster.

En conjunto con la obtención de isothermas para cada una de las mezclas, se utilizó el microscopio de ángulo de Brewster para la adquisición de imágenes de la interfaz aire-agua, el objetivo de esto es apreciar visualmente la desaparición de la mencionada fase gaseosa, así como los cambios morfológicos que sufre la monocapa de Langmuir al cerrarse de las barreras de la balanza.

A continuación se presentan una serie de imágenes obtenidas gracias al microscopio de ángulo de Brewster, las cuales fueron seleccionadas de acuerdo a la claridad de la imagen así como por la representatividad de las estructuras de la monocapa que se observan en ellas, todas ellas son de la mezcla con 25 % de Colesterol, sin embargo a lo largo de casi todas las mezclas se pueden apreciar cambios morfológicos similares durante el proceso de cerrado de las barreras. Cada imagen tiene indicada la mezcla a la que pertenece y la presión registrada al momento de ser tomada.



(a) 25 % Colesterol $\approx 0.0\text{mN}$



(b) 25 % Colesterol $\approx 0.0\text{mN}$

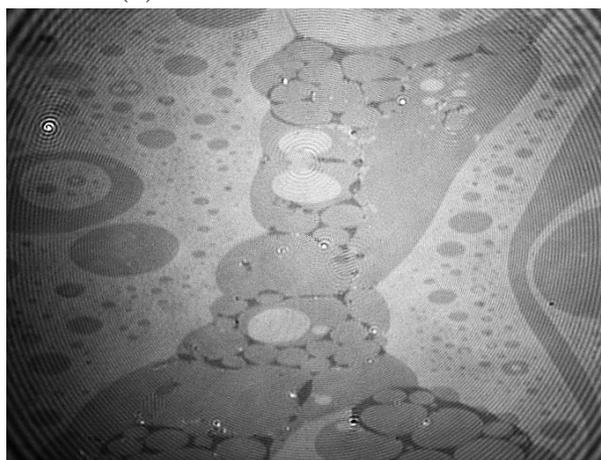
Figura 8.2: Primeras estructuras formadas por la monocapa. De arriba hacia abajo cada imagen es tomada a un área disponible menor de la monocapa. La Fase gaseosa es reconocible por presentar un color mucho más oscuro que la fase condensada.

Como se puede apreciar en las imágenes anteriores, la fase gaseosa es fácilmente identificable como una zona muy oscura, mientras que la fase de aglomeración lipídica presenta en contraste un color mas claro y brillante. Resulta importante apreciar de igual manera, la forma en la cual la fase condensada comienza a aglomerarse conforme se cierran las barreras, en

este caso la presión se mantiene constante dado que el área disponible de la monocapa aún es muy grande y a pesar de que se comienza a apreciar una mayor aglomeración de dominios propios de la fase condensada, esta no es lo suficientemente grande como para alterar la presión, puesto que la mezcla se encuentra en una coexistencia de fases.



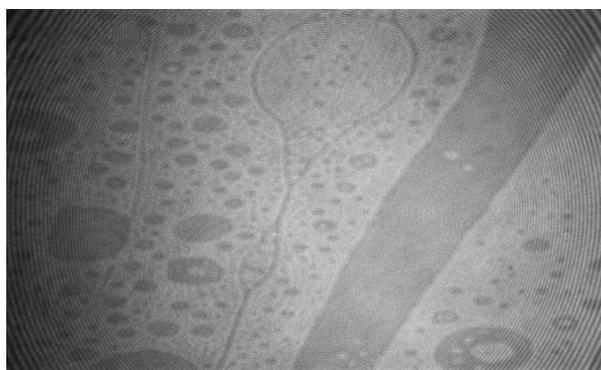
(a) 25 % Colesterol $\approx 0.0\text{mN}$



(b) 25 % Colesterol $\approx 1.2\text{mN}$

Conforme continua el proceso de cerrado de las barreras de la balanza y con ello aumenta la aglomeración lipídica dada la disminución en el área disponible para la monocapa, se puede observar con facilidad una disminu-

ción de la fase gaseosa apreciable. Una vez que comienza a subir la presión, es de suma importancia tener mucho cuidado y monitorear adecuadamente los subsecuentes cambios morfológicos que sufre la monocapa para poder registrar con precisión la presión a la cual desaparece por completo la fase gaseosa en el sistema así como la posible presencia de alguna otra estructura de interés.

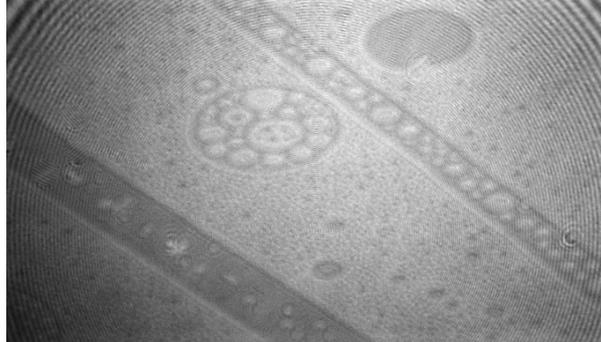


(a) 25 % Colesterol $\approx 2.0\text{mN}$

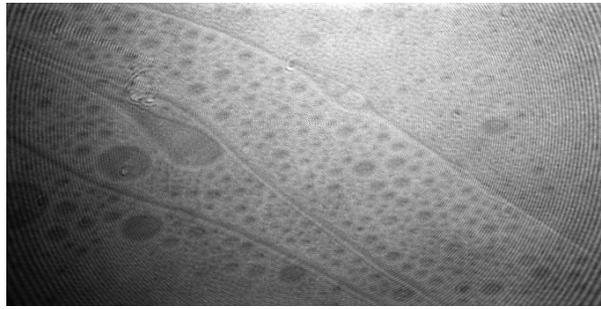


(b) 25 % Colesterol $\approx 3.0\text{mN}$

Al seguir disminuyendo el área disponible para la monocapa y por ende aumentando la presión, se puede observar de manera muy clara que la fase gaseosa presente en la monocapa ha disminuido considerablemente, hasta el punto en el que se observa casi en su totalidad una fase condensada uniforme.



(a) 25 % Colesterol $\approx 3.0\text{mN}$



(b) 25 % Colesterol $\approx 3.0\text{mN}$

De acuerdo a los resultados publicados con anterioridad[53], se menciona la existencia de ciertos patrones morfológicos particulares que se presentan en las cercanías de un punto crítico (figura 8.6), estas formaciones pudieron ser apreciadas y fotografiadas por medio del microscopio de ángulo de Brewster, la observación de estas estructuras resulta de vital importancia para los experimentos realizados (observables en las imágenes de la figura 8.9), puesto que nos indica que nuestros resultados se encuentran cercanos a los que fueron publicados, y nos ayuda a determinar el posible punto crítico de la mezcla, el cual será analizado posteriormente

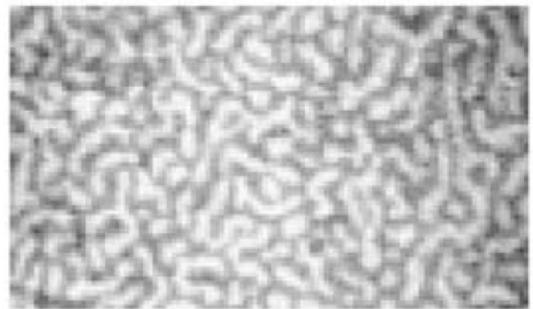
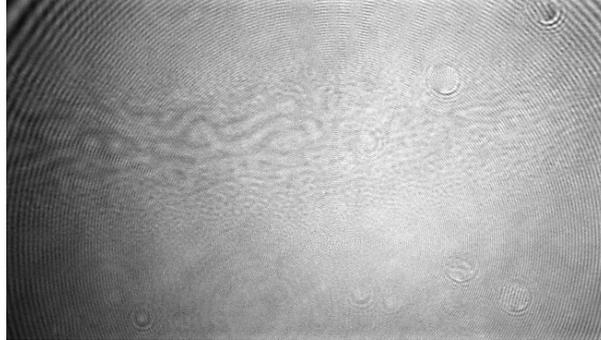


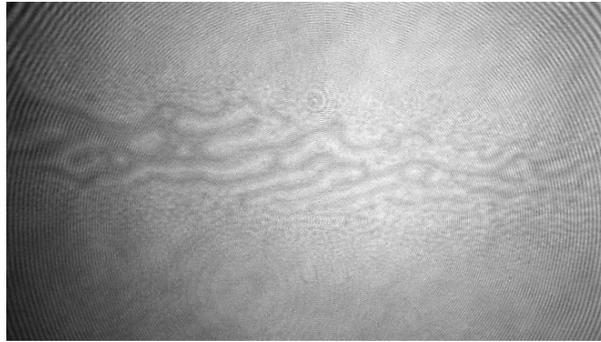
Figura 8.6: Estructuras formadas a 3.8 mN/m para la mezcla y publicadas por Radhakrishnan, A., and H. M. McConnell. (1999. *Biophys. J.*)[53]

por medio del análisis de elipsometría.

En las siguientes imágenes se pueden apreciar las estructuras características a las cercanías de un punto crítico a las cuales hace referencia el artículo publicado. Es importante mencionar que a diferencia de la imagen presentada en el artículo, estas estructuras elongadas no se observan en toda la monocapa, si no en ciertas regiones específicas, la diferencia puede radicar en el hecho de que la resolución del microscopio utilizado por los autores del artículo es mayor que la resolución que se tiene con el microscopio de ángulo de Brewster del laboratorio, puesto que la imagen del artículo representa una zona de aproximadamente $100 \times 150 \mu m$ mientras que la imagen obtenida con nuestro equipo es de aproximadamente $600 \times 500 \mu m$.

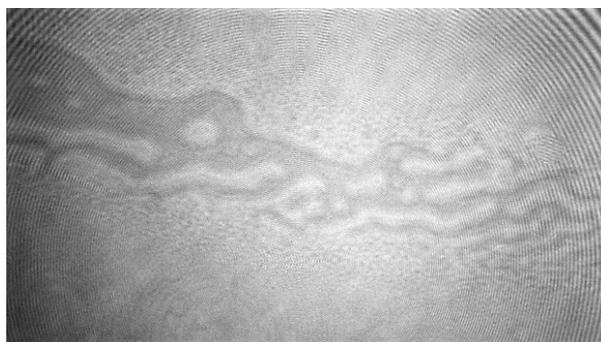


(a) 25 % Colesterol $\approx 3.5\text{mN}$

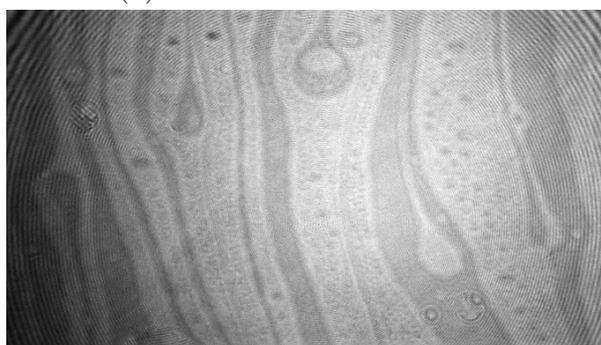


(b) 25 % Colesterol $\approx 3.5\text{mN}$

Figura 8.7: Estructuras formadas por la monocapa al continuar el proceso de cerrado de las barreras y aumentar la presión. La fase gaseosa disminuye considerablemente.

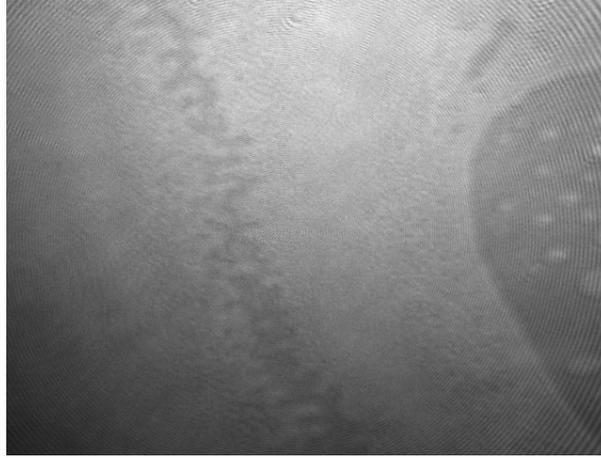


(a) 25 % Colesterol $\approx 3.5\text{mN}$

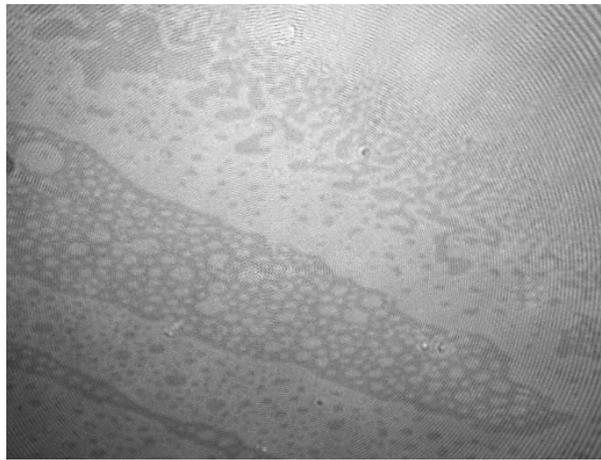


(b) 25 % Colesterol $\approx 3.5\text{mN}$

Figura 8.8: Estructuras formadas por la monocapa al continuar el proceso de cerrado de las barreras y aumentar la presión. La fase gaseosa disminuye considerablemente.

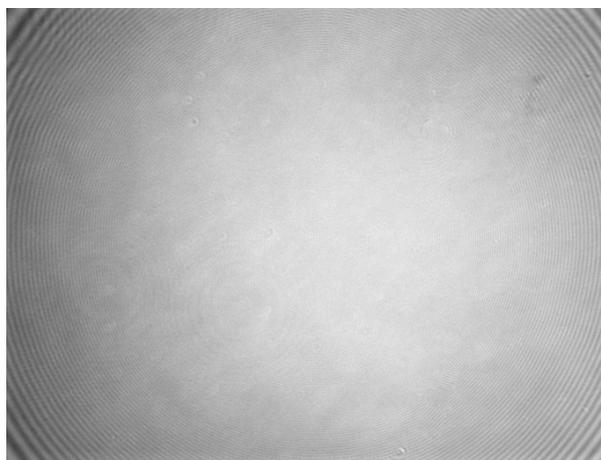


(a) 25 % Colesterol $\approx 3.9\text{mN}$

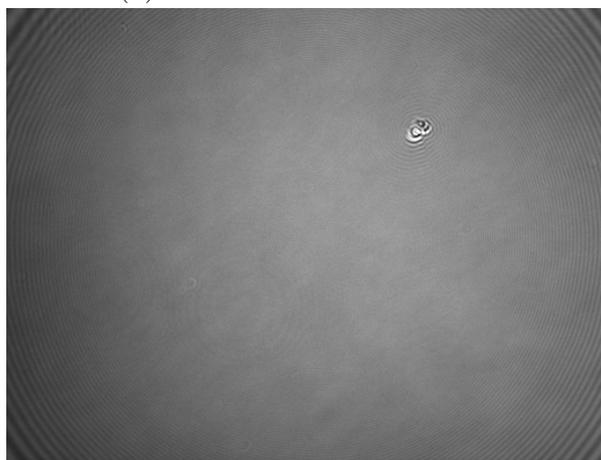


(b) 25 % Colesterol $\approx 3.9\text{mN}$

Figura 8.9: Estructuras elongadas características de la cercanía de un punto crítico, similares a las reportadas en el artículo de Radhakrishnan, A., and H. M. McConnell. (1999. Biophys. J.).



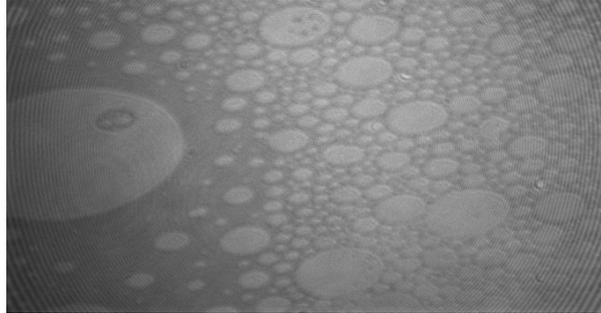
(a) 25 % Colesterol $\approx 4.0\text{mN}$



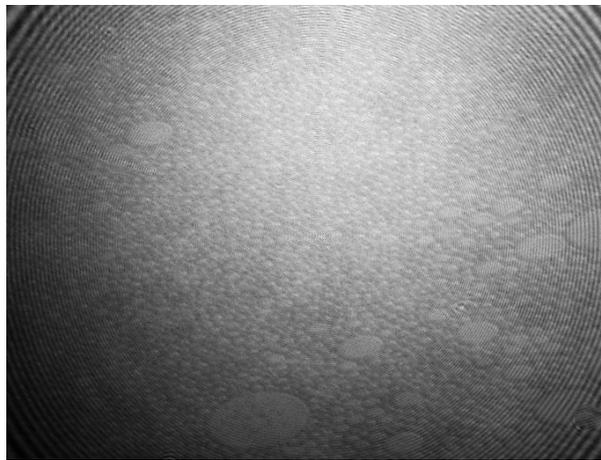
(b) 25 % Colesterol $\approx 4.0\text{mN}$

Figura 8.10: Imágenes de la monocapa en el punto crítico de la mezcla $4,0\frac{mN}{m}$.

Las imágenes de la figura 8.10 fueron tomadas en el punto crítico de la mezcla, y como se puede apreciar con facilidad, la fase gaseosa ha desaparecido por completo y solo se observa una monocapa lipídica uniforme.



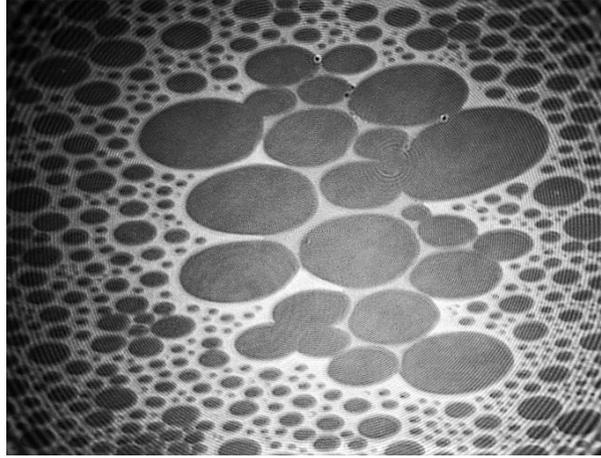
(a) 25 % Colesterol $\approx 4.2\text{mN}$



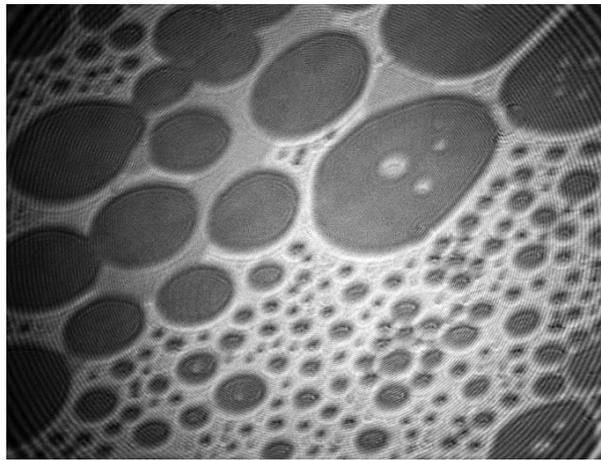
(b) 25 % Colesterol $\approx 4.4\text{mN}$

Figura 8.11: Imágenes tomadas a presiones superiores a las del punto crítico reportado ($4,0\frac{\text{mN}}{\text{m}}$), se observa la presencia de una fase *extra* (apreciable con un tono más oscuro que la fase condensada, pero sin ser tan oscura como la fase gaseosa) no reportada originalmente en el artículo de Radhakrishnan, A., and H. M. McConnell. (1999. Biophys. J.).

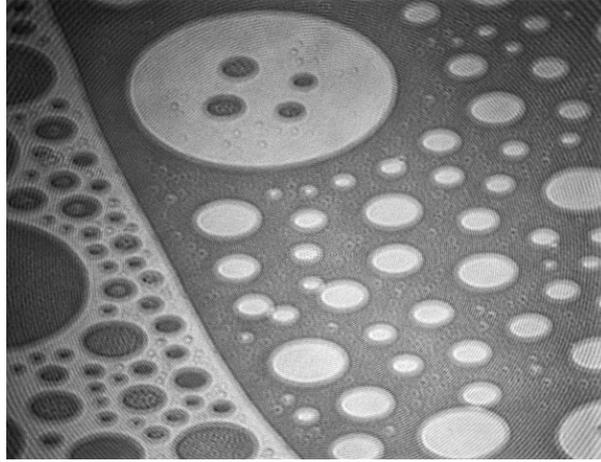
Todas las imágenes presentadas anteriormente, corresponden a la mezcla que tiene una concentración de 25 % de Colesterol, las imágenes que se presentaran a continuación corresponden a las obtenidas para la muestra con una concentración de 55 % de Colesterol.



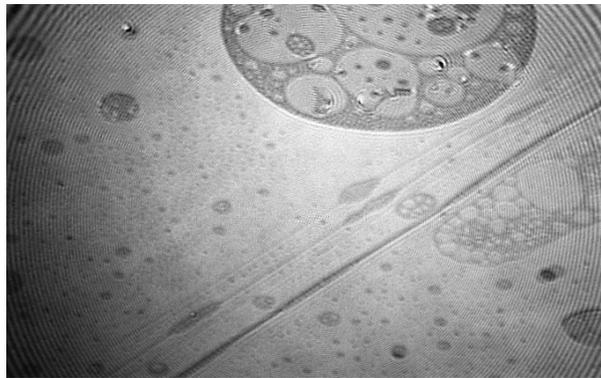
(a) 55 % Colesterol $\approx 0,0mN$



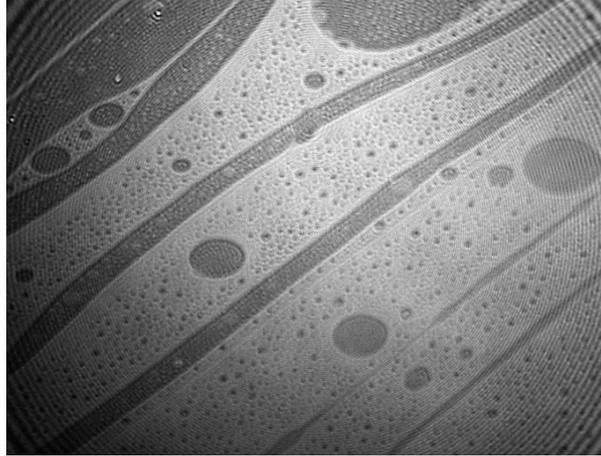
(b) 55 % Colesterol $\approx 0,0mN$



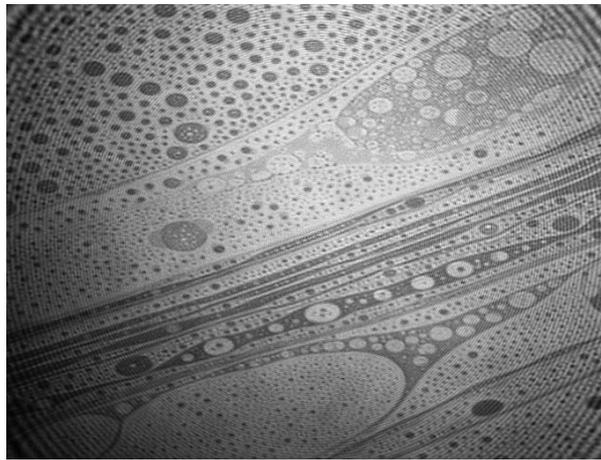
(a) 55 % Colesterol $\approx 0,0mN$



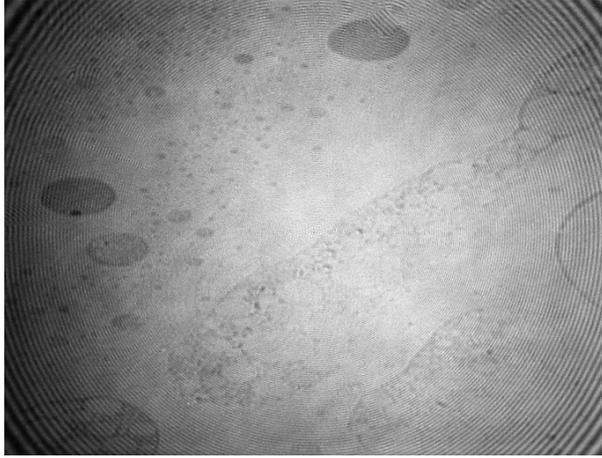
(b) 55 % Colesterol $\approx 9,5mN$



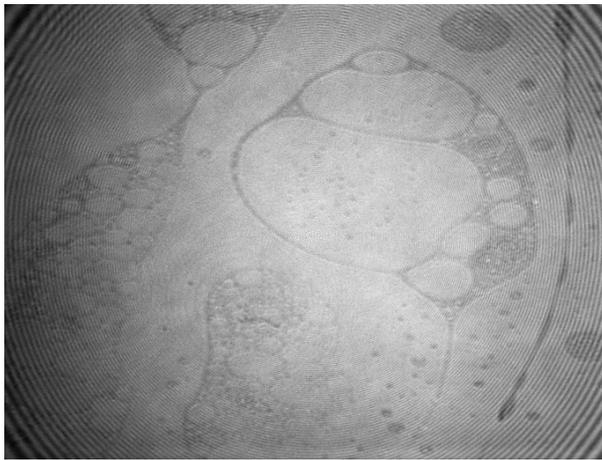
(a) 55 % Colesterol $\approx 10,5mN$



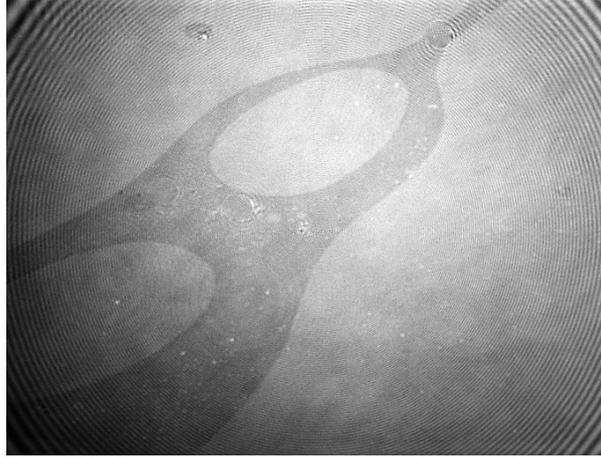
(b) 55 % Colesterol $\approx 10,5mN$



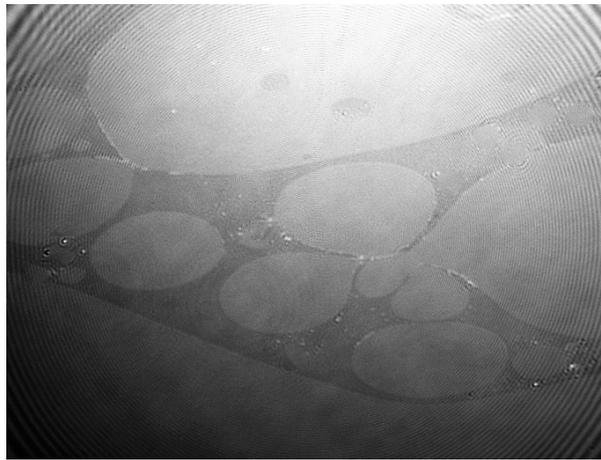
(a) 55 % Colesterol $\approx 11,0mN$



(b) 55 % Colesterol $\approx 11,0mN$



(a) 55 % Colesterol $\approx 11,5mN$



(b) 55 % Colesterol $\approx 11,6mN$

Figura 8.16: Imagen 8.16a tomada en el punto crítico de la mezcla, mientras que la imagen 8.16b fue tomada a una presión ligeramente superior a la del punto crítico.

Como se puede apreciar fácilmente, las mezclas de las cuales se presentan imágenes, muestran una evolución morfológica similar a lo largo de todo el proceso de compresión de las barreras de balanza de Langmuir, por cuestiones de espacio y para evitar caer en repetitividad, solo se presentaron imágenes seleccionadas de las mezclas de interés.

Una vez que se obtuvieron todas las isotermas y se documentó adecuadamente la presión a la cual desaparece la fase gaseosa, se procedió a la realización del diagrama de fase, nuestro diagrama de fase fue elaborado de igual manera que el publicado, en el eje x se encuentra la concentración de colesterol mientras que en el eje y la presión, y cada punto representa la presión a la cual desaparece la fase gaseosa para esa mezcla en particular, el diagrama de fase que obtuvimos fue posteriormente comparado con el diagrama obtenido en por Radhakrishnan, A., and H. M. McConnell. (1999. *Biophys. J.*) por medio de una comparación directa entre ambos, como se muestra en la figura 8.18.

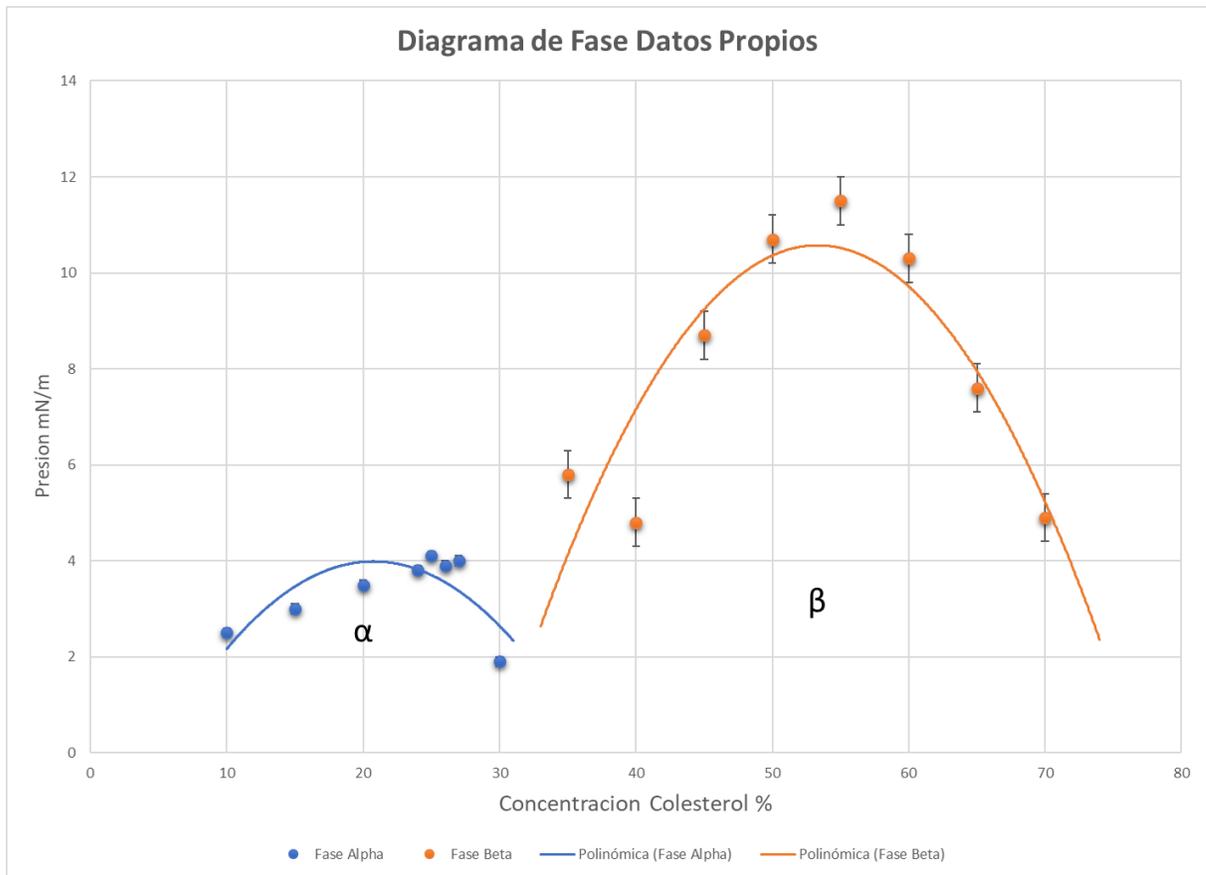


Figura 8.17: Diagrama de fase obtenido en el laboratorio. El área bajo los puntos azules representa la fase α mientras que el área bajo los puntos naranja representa la fase β .

Una de las diferencias entre el experimento realizado por Radhakrishnan, A., and H. M. McConnell. (1999. Biophys. J.)[53] es el uso de un marcador fluorescente[Texas red dimyristoylphosphatidyl-ethanolamine(TR-DMPE)] para las muestras, así como el hecho de que las imágenes publicadas fueron obtenidas por medio del uso de un microscopio óptico de fluorescencia mientras que para nuestras mezclas y gracias a las propiedades antes mencionadas del microscopio de ángulo de Brewster no se utilizó el marcador fluorescente. Esto es importante mencionar, puesto que en las imágenes publicadas los autores comentan que solo se aprecia la presencia de dos

fases distinguibles (una fase oscura y otra mas clara y brillante), mientras que en las imágenes obtenidas con el microscopio de ángulo de Brewster, en múltiples imágenes se puede observar que existe al menos una *fase* aparte de las observadas por los autores del artículo, esta *nueva fase* es, al igual que las dos fases reportadas muy fácil de diferenciar, puesto que tiene un tono intermedio al color oscuro que presenta la fase gaseosa y mas oscuro que la fase condensada clara y brillante (como se puede observar en las figuras 8.3a, 8.11 y 8.16b). Lo que resulta de suma importancia es el hecho de que esta aparente nueva fase se mantiene apreciable incluso en presiones superiores donde desaparece de la fase gaseosa. Al momento de la escritura de esta tesis creemos que esta diferencia entre los resultados reportados en el artículo y este nuevo fenómeno observado, se puede deber a la presencia del marcador fluorescente, puesto que este pudo *apantallar* el detector, por lo cual esta nueva *fase* más tenue no resultara visible y por ende no fuera reportada. Dadas las formas circulares bien definidas que se presentan por presiones superiores a la desaparición de la fase gaseosa nos indican que lo que se observa es en verdad una nueva fase no reportada en el artículo original para ninguna de las mezclas reportadas, puesto que los dominios circulares observados significa que existe una línea de tensión claramente definida entre los dominios y el resto de la muestra, lo cual indica que se trata de una nueva fase, esta teoría puede ser comprobada con la realización de un experimento de difracción de rayos-X en ángulos rasantes sobre la muestra, sin embargo no se cuenta de momento con el equipo necesario para realizar la prueba.

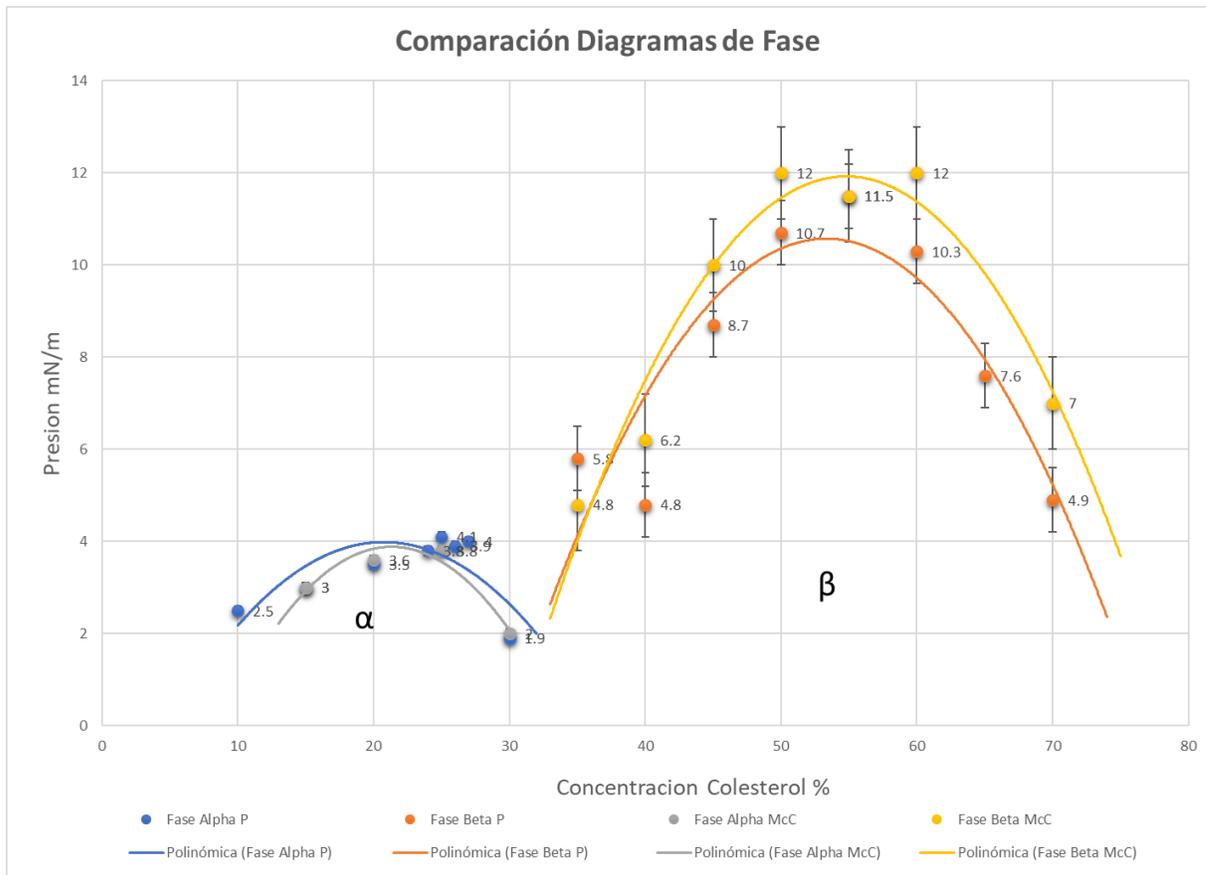
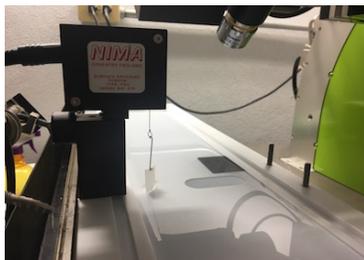


Figura 8.18: Comparación directa de los diagramas de fase obtenidos por Radhakrishnan, A., and H. M. McConnell. y este trabajo. El diagrama del artículo se es de color gris y amarillo, para las fases α y β respectivamente, mientras que el de este trabajo es de color azul y anaranjado.

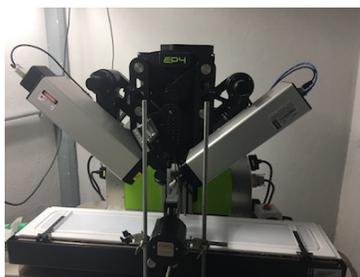
Como se puede apreciar en la figura comparativa entre el diagrama de fase obtenido en el laboratorio (puntos azules y anaranjados) y el diagrama de fase publicado en el artículo de referencia (puntos grises y amarillos), se tiene una buena recreación por parte de los datos obtenidos, la diferencia observable en lo que corresponde a la fase β como le llamaron los autores del artículo y es el área bajo las curvas amarilla y anaranjada puede deberse al hecho de que la balanza de Langmuir utilizada por los autores del artículo era muy pequeña ($9 \times 2,5 \text{ cm}$), lo cual puede ocasionar que el

menisco que genera el agua no fuera completamente plano en la zona en la cual se localiza la placa de Wilhelmy por lo que se pueden generar lecturas no tan correctas, mientras que la balanza que se encuentra en el laboratorio es lo suficientemente grande ($70 \times 10 \text{ cm}$) lo cual permite que el menisco formado sea completamente plano en toda la región de interés.

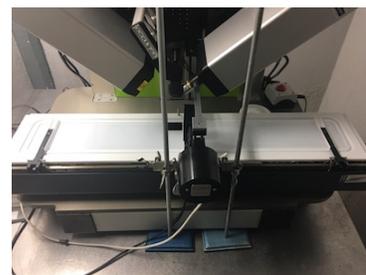
A continuación se presentan imágenes del equipo de laboratorio utilizado.



(a) Sensor de presión y placa de Wilhelmy.



(b) Vista lateral del Microscopio de Ángulo de Brewster y la Balanza de Langmuir.



(c) BAM, Balanza de Langmuir y sistema Dipper para transferencia.

Figura 8.19: Equipo de Laboratorio utilizado durante los experimentos.

Capítulo 9

Análisis de Elipsometria.

Una vez que se termino y comprobó el diagrama de fase con el ya publicado anteriormente, se procedió a realizar el análisis de elipsometria de los puntos de interés, los cuales son los máximos del diagrama de fase obtenido en el laboratorio, y que corresponden a una concentración de 25 % y 55 % de Colesterol así como una presión de $4,0 \frac{mN}{m}$ y $11,5 \frac{mN}{m}$ respectivamente, y que a su vez concuerdan con los máximos del diagrama de fase publicado anteriormente, como se puede apreciar en la figura 8.18. Para la realización del análisis de elipsometría, se utilizo nuevamente la balanza de Langmuir y el microscopio de angulo de Brewster, sin embargo este ultimo fue utilizado en su configuración de Elipsómetro mas que para la obtención de imagenes.

Inicialmente se pensaba realizar el análisis de Elipsometría directamente en la interfaz aire-agua, sin embargo al intentar realizar las primeras mediciones se encontró con la dificultad de que el análisis requiere ser realizado en los puntos de interés tanto en concentración como en presión y las presiones a las cuales se necesita hacer la medición ($4,0 \frac{mN}{m}$ y $11,5 \frac{mN}{m}$) resultan muy bajas para mantener una monocapa de Langmuir estable y cuasi estática, esto también se ve afectado por la temperatura a la cual se requiere el trabajo, y fue por esta serie de dificultades que se procedió a realizar el análisis sobre un sustrato sólido.

El sustrato solido utilizado, fue un porta objetos de microscopio óptico marca Corning, para la transferencia de la monocapa en la interfaz aire-agua hacia el porta muestras se hizo uso de la técnica de transferencia Langmuir-Blodgett, la cual, como se menciona anteriormente en la tesis, mantiene el patrón de organización que tenia la muestra mientras se encontraba en la interfaz [[56]][[57]], en nuestro caso, y para evitar que se presentaran efectos no deseados en el experimento causados por la interacción monocapa-sustrato solido, se decidió que en lugar de realizar una única transferencia al sustrato, es decir tener solo una monocapa, se harían 3 transferencias, es decir se estaría analizando una tricapa lipídica.

Para la realización del análisis de elipsometria, se opto por realizar un barrido de presión de la mezclas de interés, es decir realizar transferencias de la monocapa a distintas presiones de la misma mezcla, las presiones que se analizaron fueron:

25 % Colesterol	55,0 % Colesterol
$3,0 \frac{mN}{m}$	$10,5 \frac{mN}{m}$
$3,5 \frac{mN}{m}$	$11,0 \frac{mN}{m}$
$3,8 \frac{mN}{m}$	$11,3 \frac{mN}{m}$
$4,0 \frac{mN}{m}$	$11,5 \frac{mN}{m}$
$4,3 \frac{mN}{m}$	$11,8 \frac{mN}{m}$
$4,5 \frac{mN}{m}$	$12,0 \frac{mN}{m}$
$5,0 \frac{mN}{m}$	$12,3 \frac{mN}{m}$
	$12,5 \frac{mN}{m}$

Una vez realizada la transferencia de la monocapa al sustrato sólido se procedió a realizar el análisis de elipsometria. Para este se utilizo la técnica de Null Ellipsometry discutida anteriormente en la tesis. La utilización del microscopio de ángulo de Brewster como Elipsómetro nos ayuda a obtener los valores de los ángulos elipsométricos ψ y Δ de los cuales se discutió también anteriormente en la tesis.

El objetivo de hacer esto es el de obtener el coeficiente de elipticidad ρ para cada una de las presiones de las que se tomaron muestra, esto con el fin de graficar el comportamiento del coeficiente y comprobar si en verdad se trata de un punto critico, esto con base en trabajos publicados anteriormente[54],[55], dado que en las cercanías de un punto critico, el coeficiente de elipsometria presenta una divergencia. El coeficiente de elipticidad ρ lo obtenemos utilizando los valores de los ángulos elipsometricos ψ y Δ que obtuvimos de la elipsometria de anulación y utilizando la formula:

$$\rho = \tan \psi e^{i\Delta} \quad (9.1)$$

El cálculo del coeficiente ρ de acuerdo a Barbara Heidel and Gerhard H. Findenegg (The Journal of Physical Chemistry 1984)[54] debe ser realizado en las cercanías del ángulo de Brewster del sustrato sobre el cual se esta realizando la muestra, en nuestro caso esto corresponde al ángulo de Brewster del porta muestras Corning que utilizamos para el análisis, y cuyo angulo de Brewster se encuentra aproximadamente en $57,0^\circ$, por lo que nuestro análisis fue realizado en dos ángulos diferentes, $56,0^\circ$ y $56,5^\circ$, para cada una de las presiones se tomaron en total 9 mediciones diferentes de los ángulos elipsometricos, mismos que posteriormente fueron promediados para su consecutiva colocación en la gráfica correspondiente.

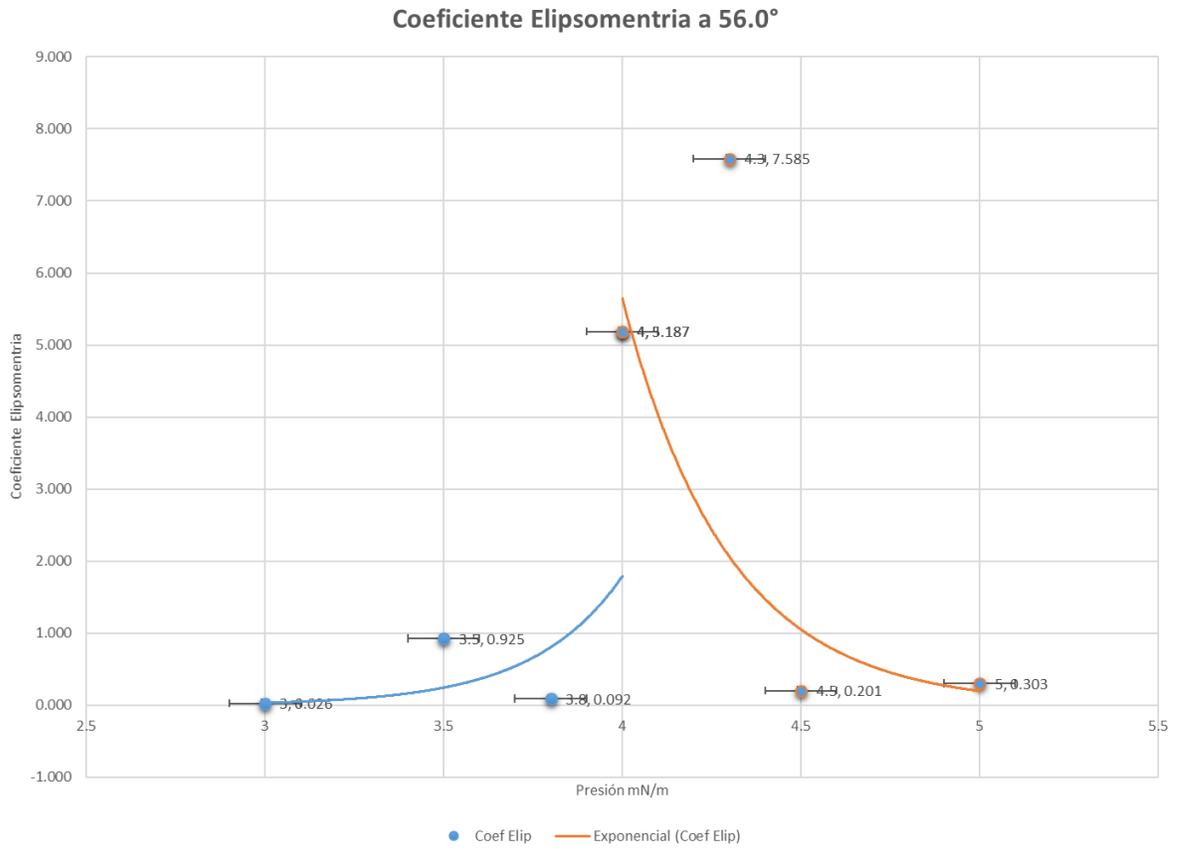


Figura 9.1: Coeficiente de Elipsometria muestra 25 % Colesterol a 56,0°.

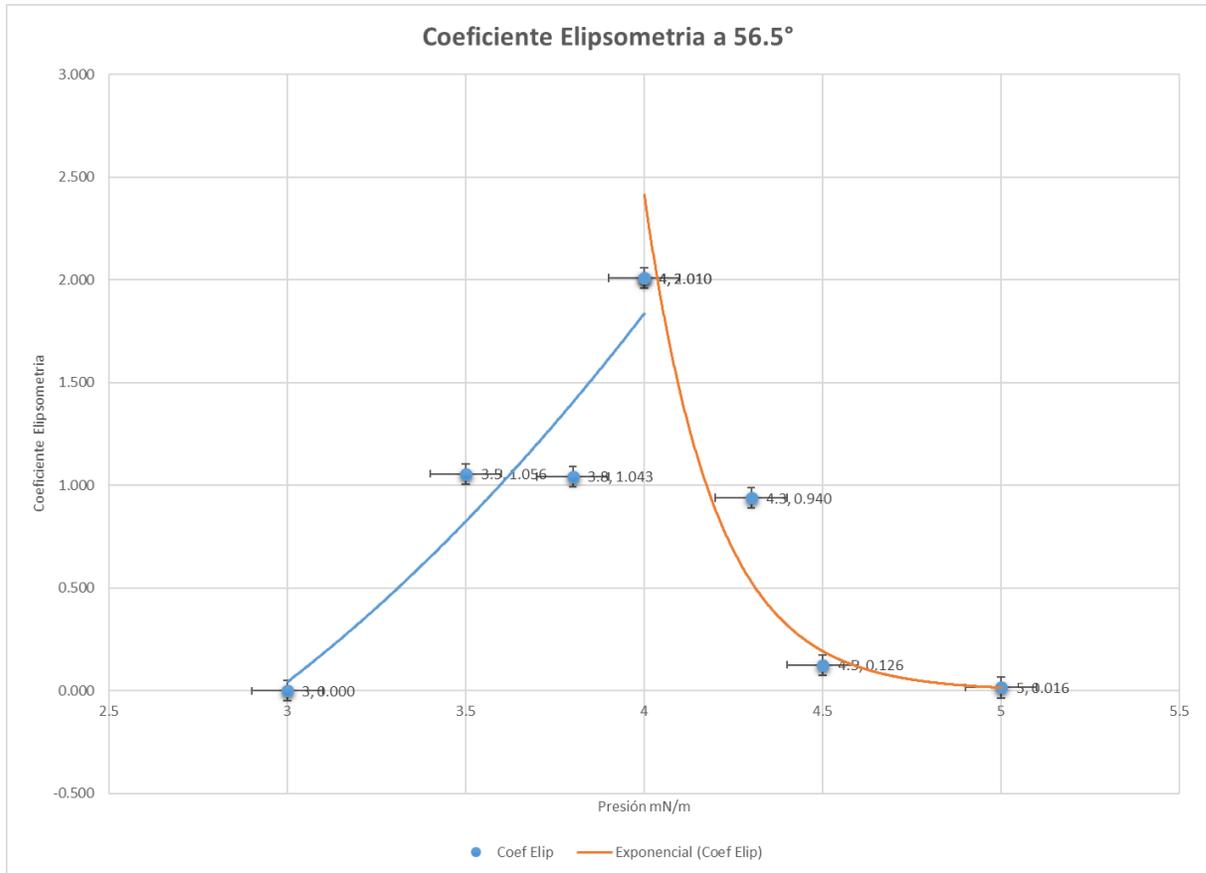


Figura 9.2: Coeficiente de Elipsometría muestra 25 % Colesterol a 56,6°.

En las gráficas anteriores (figuras 9.1 y 9.2) se puede observar el coeficiente de elipsometría obtenido las muestras con una concentración de 25 % de colesterol, como se puede apreciar claramente en ellas, efectivamente se presenta una divergencia del coeficiente de elipsometría, puesto que son gráficas del coeficiente de elipsometría ρ en función de la presión a la cual fue tomada la muestra, las líneas mostradas en las gráficas representan únicamente la tendencia de los datos y no un modelo.

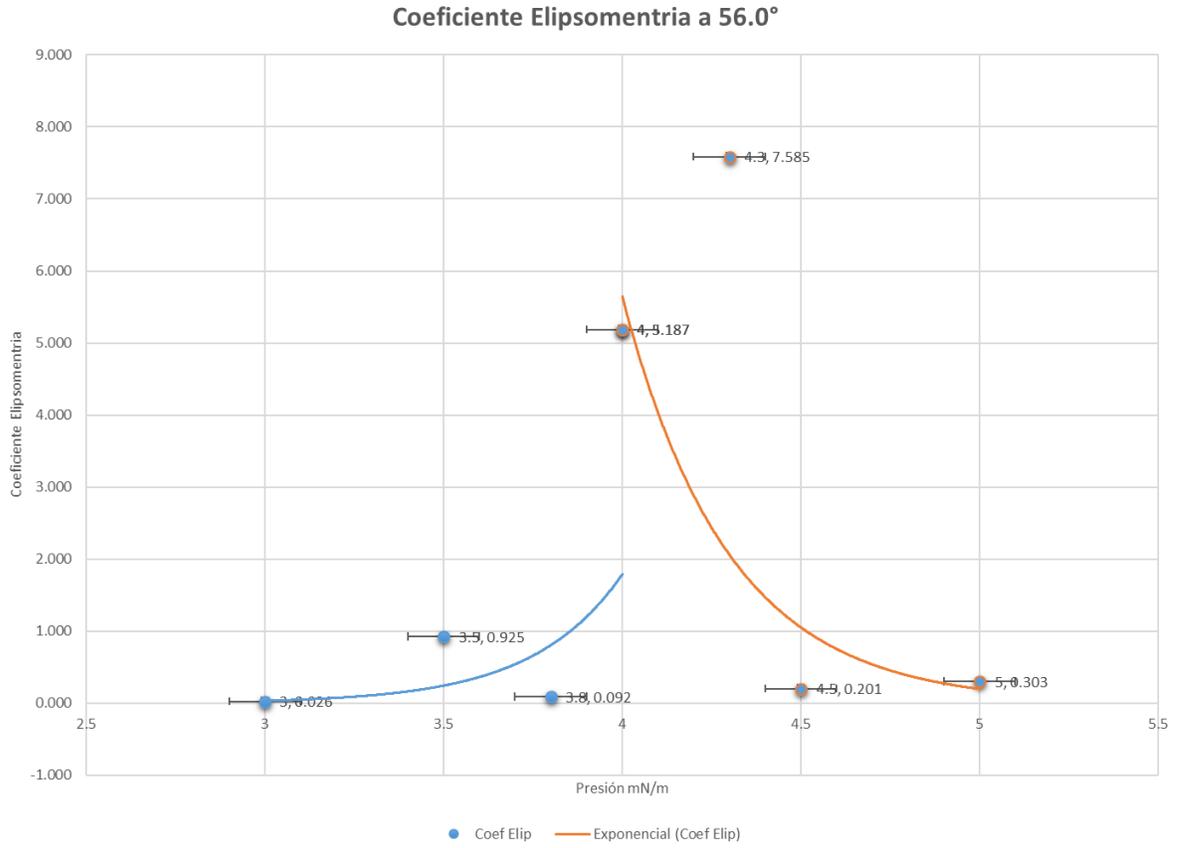


Figura 9.3: Coeficiente de Elipsometria muestra 55 % Colesterol a 56,0°.

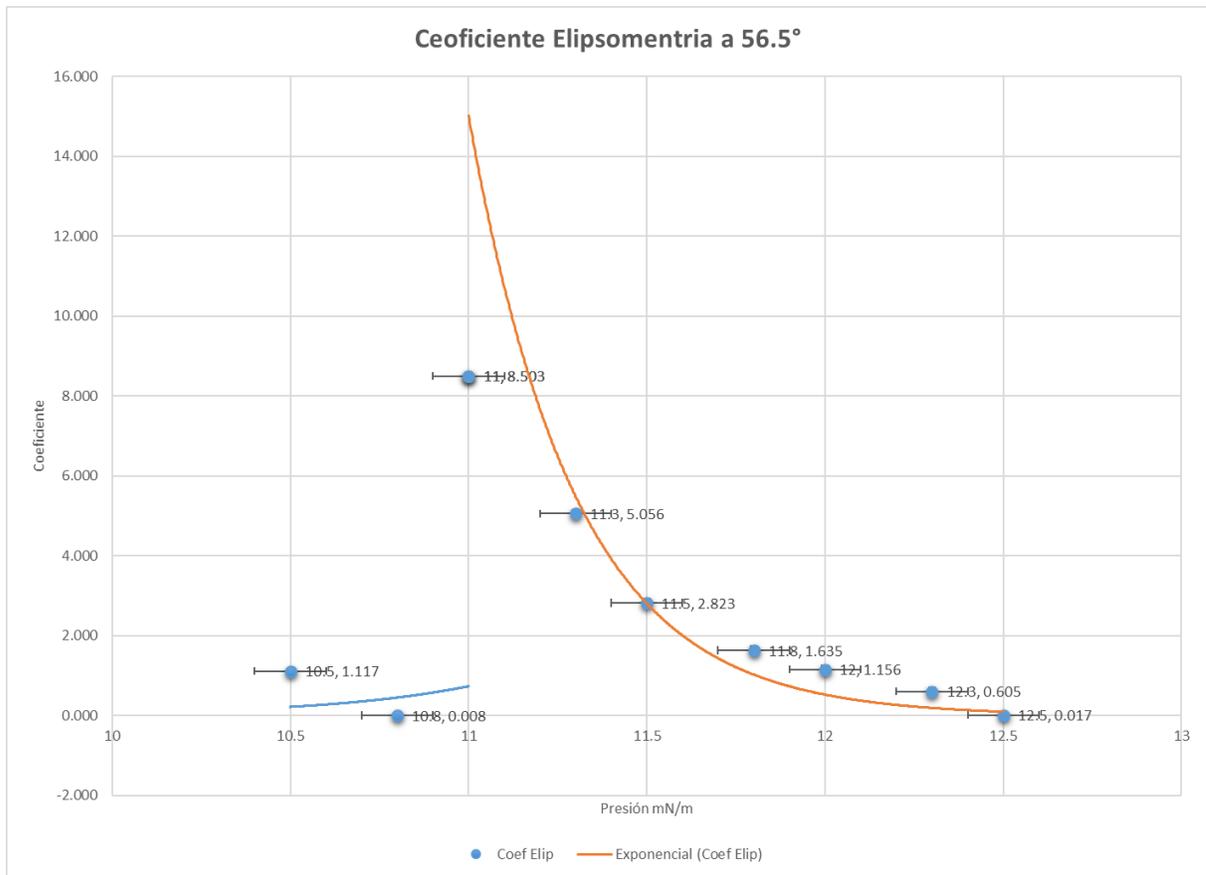


Figura 9.4: Coeficiente de Elipsometría muestra 55 % Colesterol a 56,5°.

En las gráficas anteriores (figuras 9.3 y 9.4) se puede observar el coeficiente de elipsometría obtenido para las muestras con una concentración de 55 % de colesterol, como se puede apreciar, efectivamente se presenta una divergencia del coeficiente de elipsometría, al igual que las presentadas para la mezcla de 25 % de colesterol, estas son gráficas del coeficiente de elipsometría ρ en función de la presión a la cual fue tomada la muestra, nuevamente las líneas mostradas en las gráficas representan únicamente la tendencia de los datos y no un modelo.

Como parte del trabajo se planeaba la realización de un modelo matemático que describiera el comportamiento de nuestra mezcla en las cer-

canías de alguno de los puntos críticos, para esto se inicio tomando como base el calculo mostrado por Barbara Heidel and Gerhard H. Findenegg (The Journal of Physical Chemistry 1984)[54], sin embargo casi de inmediato surgieron algunos inconvenientes para la realización de nuestro modelos tomando en cuenta el publicado, algunos de los principales fueron el hecho de que para su modelo solo se tiene en cuenta una mezcla de dos componentes (heptano y nitrobenzeno) mientras que en nuestro caso se esta trabajando con una mezcla de tres componentes (DMPS, DMPC, Colesterol), de igual manera el hecho de que su modelo esta basado en experimentos donde se mantuvo una composición constante de la mezcla y lo que se fue variando fue la temperatura, y finalmente y creo que el inconveniente más importante al momento de intentar realizar nuestro modelo es el hecho de que los autores del articulo encontraron literatura con ciertos datos necesarios para un correcto desarrollo de su modelo, entre ellos la constante dielectrica (ϵ) así como los exponentes críticos (β y ν) que se ajustan al comportamiento de su muestra, mientras que en nuestro caso particular no se encontró en la literatura un dato exacto para estos parámetros, lo cual dificulta en gran manera nuestros intentos de realización de un modelo adecuado.

Parte IV

Conclusiones, discusión y trabajo a futuro.

Capítulo 10

Conclusiones y discusión.

Como se planteo al inicio del trabajo de esta maestría, se realizo con éxito la comprobación del diagrama de fase para la mezcla lipídica de interés, así como la posterior comprobación de la existencia de los puntos críticos por medio de la técnica de elipsometría, es importante destacar el hecho de que los autores del articulo original solo mencionan que se trata de dos puntos críticos diferentes para cada una de las mezclas donde se encuentra el máximo de las curvas del diagrama de fase, sin embargo nunca dan una razón o explicación física para esta aseveración fuera del hecho de que se trata de un máximo en un diagrama de fase, si bien se logro una adecuada recreación del diagrama de fase, la aparición de la *nueva* fase no reportada en el articulo original, así como el hecho de que esta se mantuviera presente aún en presiones superiores a la de desaparición de la fase gaseosa, nos lleva a pensar que la divergencia que presenta el coeficiente de elipsometria no es provocado por la presencia de un punto crítico, si no debido a que como se ha demostrado en trabajos recientes, las fluctuaciones debidas a una transición de fase de un sistema en 2 dimensiones son muy fuertes, incluso más que las observadas en sistemas tridimensionales, y estas fluctuaciones pudieron provocar las divergencias observadas en el coeficiente a pesar de no tratarse de un punto critico.

Capítulo 11

Trabajo a futuro.

Como se menciona en algunos puntos del desarrollo experimental de esta tesis, existen ciertas comprobaciones o pruebas que nos hubiera gustado realizar pero que no fue posible hacerlo dada la falta de material, equipo, tiempo y los conocimientos necesarios para realizarlos, entre este trabajo *pendiente* cabe destacar:

- Comprobación de la naturaleza de la nueva fase encontrada en algunas muestras y que no fue reportada en el artículo original.
- Realización de otro análisis de elipsometría para comprobar los resultados obtenidos con variación de presión, pero ahora variando la concentración de colesterol manteniendo una presión fija.
- Realización de un modelo matemático adecuado para el comportamiento de nuestra mezcla en las cercanías de un punto crítico.
- Complementar el estudio estructural y morfológico de la monocapa por medio de un análisis de Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).

Bibliografía

- [1] McNaught, A. D.; Wilkinson, A., eds. (1997). *lipids*. Compendium of Chemical Terminology (the "Gold Book") (2nd ed.). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- [2] Fahy E, Subramaniam S, Murphy RC, Nishijima M, Raetz CR, Shimizu T, Spener F, van Meer G, Wakelam MJ, Dennis EA (April 2009). *Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids*. Journal of Lipid Research. 50 Suppl (S1): S9–14.
- [3] Subramaniam S, Fahy E, Gupta S, Sud M, Byrnes RW, Cotter D, Dinsarapu AR, Maurya MR (October 2011). *Bioinformatics and systems biology of the lipidome*. Chemical Reviews. **111 (10): 6452–90**.
- [4] Leray, C. *Introduction to Lipidomics*. Boca Raton: CRC Press. (2012).
- [5] By Lmaps at the English Wikipedia, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4304232>
- [6] LadyofHats *Phospholipids aqueous solution structures, Public Domain*, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=26151256>
- [7] MacNaught, Alan D.; Wilkinson, Andrew R. (eds.). *Compendium of Chemical Terminology: IUPAC Recommendations (2nd ed.)*. Oxford: Blackwell Science.
- [8] Slomkowski, Stanislaw; Alemán, José V.; Gilbert, Robert G.; Hess, Michael; Horie, Kazuyuki; Jones, Richard G.; Kubisa, Przemyslaw; Mei-

sel, Ingrid; Mormann, Werner; Penczek, Stanisław; Stepto, Robert F. T. (2011). *Terminology of polymers and polymerization processes in dispersed systems (IUPAC Recommendations 2011)*. Pure and Applied Chemistry. **83** (12): 2229–2259

- [9] I.W.Hamley. *Introduction to Soft Matter*. (John Wiley, 2007)
- [10] Butt, Graf, Kappl. *Physics and Chemistry of Interfaces*. Weinheim: Wiley-VCH. pp. 269–277. (2006)
- [11] Esumi, Kunio, and Minoru Ueno. *Structure-performance Relationships in Surfactants*. 2nd ed. Vol. 122. New York: Marcel Dekker, 2003.
- [12] Torchilin, V. *Multifunctional nanocarriers*. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 58 (14): 1532–55. (2006).
- [13] Stryer S. *Biochemistry*, Reverte. (1981)
- [14] Barenholz, Y; G, Cevc. *Physical chemistry of biological surfaces*, Chapter 7: Structure and properties of membranes. New York: Marcel Dekker. (2000).
- [15] Gomezzens, A; Fernandezromero, J. *Analytical methods for the control of liposomal delivery systems*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 25 (2): 167–178. (2006).
- [16] Mozafari, MR; Johnson, C; Hatziantoniou, S; Demetzos, C. *Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology*. *Journal of liposome research*. 18 (4): 309–27. (2008).
- [17] H. C. Berg, *Random Walks in Biology*. Extended Paperback Ed. ed. 1993, Princeton, NJ: Princeton University Press.
- [18] R. Homan and H. J. Pownall. *Transbilayer diffusion of phospholipids: dependence on headgroup structure and acyl chain length*. *Biochimica et Biophysica Acta* 938. (1988) **155 -166**.

- [19] Brown DA, London E. *Functions of lipid rafts in biological membranes*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. **14**:111–36. 1998.
- [20] Gkantiragas I, Brugger B, Stuken E, Kaloyanova D, Li X-Y, et al. *Sphingomyelin-enriched microdomains at the Golgi complex*. Mol. Biol. Cell **12**:1819–33. 2001.
- [21] Anderson RG, Jacobson K. *A role for lipid shells in targeting proteins to caveolae, rafts, and other lipid domains*. Science **296**:1821–25. 2002.
- [22] Edidin M. *The state of lipid rafts: from model membranes to cells*. Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. **32**:257–83. 2003.
- [23] Brown DA, London E. *Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts*. J. Biol. Chem. **275**:17221–24. 2000.
- [24] Brown RE. *Sphingolipid organization in biomembranes: what physical studies of model membranes reveal*. J. Cell Sci. **111**:1–9. 1998.
- [25] Gandhavadi M, Allende D, Vidal A, Simon SA, McIntosh TJ. *Structure, composition, and peptide binding properties of detergent soluble bilayers and detergent resistant rafts*. Biophys. J. **82**:1469–82. 2002.
- [26] Lasic, D. D. *The mechanism of vesicle formation*. Biochemical Journal, 256(1), 1–11. (1988).
- [27] Gunstone, F. D. *Fatty acid and lipid chemistry*. London: Blackie Academic & Professional. (1996).
- [28] G. L. Gaines, Jr. *Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces* Wiley Intersciences, **193**, (1966).
- [29] Losche, M. , Sackman, E. Möhwald H. *A Fluorescence Microscopic Study Concerning the Phase Diagram of Phospholipids*. Berichte der Bunsengesellschaft für Phys. Chemie **87**, 848-852 (1983)

- [30] Anne-Christin Schöne. Toralf Roch. Burkhard Schulz. Andreas Lendlein. *Evaluating polymeric biomaterial–environment interfaces by Langmuir monolayer techniques* J. R. Soc. Interface (2017) 14
- [31] Huo, Q. et al. *A Langmuir monolayer with a nontraditional molecular Architecture*. J. Am. Chem. Soc **122**, 7890-7897 (2000).
- [32] Butt, Hans-Jürgen; Graf, Karlheinz; Kappl, Michael. *Physics and chemistry of interfaces (2., rev. and enl. ed.)*. Weinheim: Wiley-VCH-Verl. **16**. (2006).
- [33] By Vincent Émyde - Own work, CC0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=36905472>
- [34] Dbroesch at English Wikipedia [CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>) or GFDL (<http://www.gnu.org/copyleft/fdl.html>)], from Wikimedia Commons
- [35] David Brewster *On the laws which regulate the polarisation of light by reflection from transparent bodies*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, **105: 125-159**. (1815)
- [36] Lakhtakia, Akhlesh . *Would Brewster recognize today’s Brewster angle?*. Optics News. OSA. **15 (6): 14–18** .June (1989)
- [37] By Pajs - Own work, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2519325>
- [38] M. Born and E. Wolf, *Principles of Optics, 6th ed.* Cambridge University Press, (1980), **ch. I and II**.
- [39] C. Brosseau, *Fundamentals of Polarized Light: A Statistical Optics Approach* Wiley, New York, (1998).
- [40] R. A. Chipman, *Polarimetry, in Handbook of Optics II*, ed. H.B. Crawford and B. Carson. McGraw–Hill, New York, (1995), ch. 22.

- [41] B. E. A. Saleh and M. C. Teich. *Fundamentals of Photonics*. Wiley Interscience, New York. (1991).
- [42] J. D. Jackson. *Classical Electrodynamics* Wiley. New York. (1975).
- [43] Harland G. Tompkins; Eugene A. Irene *Handbook of ellipsometry*. William Andrew. Springer-Verlag. New York. (2005)
- [44] R. T. Holm, *Convention Confusions, in Handbook of Optical Constants of Solids II*, ed. E. D. Palik. Academic Press. New York. (1991).
- [45] Scientific Figure on ResearchGate. *Developments in THz Range Ellipsometry* - Available from: https://www.researchgate.net/Representation-of-the-elliptical-polarization-by-the-PS-coordinate-system_fig1_236737503
- [46] By Buntgarn, at the English Wikipedia project, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=3332636>
- [47] R. M. A. Azzam and N. M. Bashara. *Ellipsometry and Polarized Light* North-Holland. Amsterdam. (1977).
- [48] Modell, Michael; Robert C. Reid (1974). *Thermodynamics and Its Applications*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
- [49] Clement John Adkins. *Equilibrium Thermodynamics*. Cambridge University Press. (1983)
- [50] No author info on original file Phase-diag.svg; Translation by khesus99 - Translation from File:Phase-diag.svg, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5662834>
- [51] P.Pfeuty. G.Toulouse *Introduction to the Renormalization Group and to Critical Phenomena*. John Wiley & Sons.
- [52] J.Zinn-Justin. *Transitions de phase et groupe de renormaliation*. EDP Sciences. (2005).

- [53] Harden M. McConnell. Arun Radhakrishnan. *Condensed complexes of cholesterol and phospholipids*, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. 1610. 2. (2003). 159-173,
- [54] Barbara Heidel and Gerhard H. Findenegg. *Ellipsometric study of the surface of a binary liquid mixture near a critical solution point*. The Journal of Physical Chemistry 1984 88 (26), 6575-6579. DOI: 10.1021/j150670a020
- [55] A.I. RUSANOV. *Recent Investigations on the Thickness of Surface Layers*, Editor(s): J.F. DANIELLI, M.D. ROSENBERG, D.A. CADENHEAD. **Progress in Surface and Membrane Science**, Elsevier V.4, 1971, 57-114,
- [56] Blodgett, K. B. (1935). *Films built by depositing successive monomolecular layers on a solid surface* . Journal of the American Chemical Society, 57(6), 1007-1022.
- [57] Schwartz D.K. *Langmuir-Blodgett film structure* Elsevier:Surface Science Reports, (1997), 27 (7-8)