



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TÍTULO

*Estudio de la Concentración Micelar Crítica de tensoactivos etoxilados
mediante la técnica de Resonancia Magnética Nuclear: Experimentos DOSY.*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA

Brenda María Guadalupe Acaxtenco Alatorre



México, Ciudad de México, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: M. EN C. FRANCISCO ROJO CALLEJAS

VOCAL: DRA. NURIA ESTURAU ESCOFET

SECRETARIO: M. EN C. XOCHQUETZAL GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

1er. SUPLENTE: LUIS ALEJANDRO DÍAZ FLORES

2° SUPLENTE: CLAUDIA INÉS RIVERA CÁRDENAS

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO UNIVERSITARIO DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR, INSTITUTO DE
QUÍMICA, UNAM.**

Brenda María Guadalupe
Acaxtenco Alatorre

Dra. Nuria Esturau Escofet

M. en C. Martha Elena
García Aguilera

Sustentante

Asesor

Supervisor técnico

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por abrirme las puertas de la superación académica.

Al proyecto FIT número 259604 por la beca para la terminación de mis estudios de licenciatura.

Al Instituto de Química de la UNAM por brindarme la beca para la realización de este trabajo y por brindarme los medios necesarios para desarrollarlo.

Al LURMN por brindarme las herramientas necesarias para llevar a cabo y concluir mi proceso de titulación.

A la Facultad de Química que me brindo todos los servicios y recursos para el aprendizaje en el estudio en la carrera de Química.

A los miembros del H. Jurado por sus valiosas observaciones y comentarios de este trabajo.

-Sólo porque algo no sea lo que era previsto, no quiere decir que sea inútil el esfuerzo.-

Thomas Alva Edison

-"Todo pasa por algo..."-

Anónimo

Dedicatoria

Tabla de contenido

Agradecimientos	3
Dedicatoria	5
Tabla de contenido.....	7
Lista de abreviaturas	10
1. Introducción	11
1.1. Estructura de la tesis	12
2. Objetivos	14
2.1. Objetivo general	14
2.2. Objetivos particulares.....	14
3. Marco Teórico	15
3.1. Tensoactivos y Concentración Micelar Crítica	15
3.2. Difusión molecular	20
3.3. Resonancia Magnética Nuclear	21
3.3.1. Conceptos básicos	21
3.3.2. Procesos de relajación T_1 y T_2	25
3.3.2.1. Procesos de relajación y tiempos de correlación	28
3.4. Difusión molecular y su determinación por RMN	29
3.4.1. Secuencia de pulsos eco de espín	30
3.4.2. Secuencias avanzadas para medir la difusión molecular	30
3.4.3. Representación DOSY	33
4. Metodología	35
4.1. Reactivos	35
4.2. Instrumentación	35
4.3. Preparación de disoluciones.....	36

4.4.	Adquisición y procesamiento de experimentos de RMN	36
4.4.1.	Experimentos de ^1H	36
4.4.2.	Experimentos para medir la difusión molecular	36
4.4.3.	Experimentos para medir T_1 y T_2	39
5.	Resultados y discusión.....	41
5.1.	Dodecil Sulfato de Sodio.....	41
5.1.1.	Caracterización por ^1H -RMN y DOSY.....	41
5.1.2.	Determinación de la CMC	43
5.1.2.1.	Estudio mediante cambios en el coeficiente de difusión	43
5.1.2.2.	Estudio mediante cambios en el desplazamiento químico	45
5.1.2.3.	Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_1	48
5.1.2.4.	Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_2	51
5.1.3.	Comparación con valores reportados en la literatura.....	54
5.2.	Tensoactivos ALE10	54
5.2.1.	Caracterización por ^1H y DOSY	54
5.2.2.	Determinación de la CMC	55
5.2.2.1.	Coficiente de difusión en función de la concentración	56
5.2.2.2.	Estudio mediante cambios en el desplazamiento químico	58
5.2.2.3.	Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_1	58
5.2.2.4.	Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_2	61
5.3.	Tensoactivo ALE30.....	61
5.3.1.	Caracterización por ^1H y DOSY	61
5.3.2.	Determinación de la CMC	62
5.3.2.1.	Coficiente de difusión en función de la concentración	63
5.3.2.2.	Estudio mediante cambios en el desplazamiento químico	64
5.3.2.1.	Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_1	64

5.3.2.1. Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_2	68
5.4. Comparación de los valores obtenidos de CMC	68
6. Conclusiones.....	69

Lista de abreviaturas

τ	Intervalo de tiempo
ALE10	Alcohol láurico etoxilado con 10 moles
ALE30	Alcohol láurico etoxilado con 30 moles
B₀	Campo magnético
BPPLD	Eco de espín estimulado utilizando pulsos bipolares y tiempo longitudinal para desvanecer las corrientes <i>eddy</i> (<i>Longitudinal eddy delay experiment using bipolar gradient</i>)
CMC	Concentración micelar crítica
cpmg	Carr-Purcell-Meiboom-Gill
D	Coefficiente de difusión
SDS	Dodecil Sulfato de Sodio (<i>Sodium dodecyl sulfate</i>)
DBPPLD	Doble eco de espín estimulado utilizando pulsos bipolares y tiempo longitudinal para desvanecer las corrientes <i>eddy</i> (<i>Double longitudinal eddy delay experiment using bipolar gradient</i>)
DOSY	Espectroscopia de difusión ordenada (<i>Diffusion-ordered spectroscopy</i>)
<i>rf</i>	Radiofrecuencia
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
SE	Secuencia de pulsos eco de espín (<i>Spin Eco</i>)
T₁	Tiempo de relajación longitudinal (espín-red)
T₂	Tiempo de relajación transversal (espín-espín)

1. Introducción

Los agentes de tensión superficial, llamados tensoactivos o surfactantes (anglicismo, tomado de la palabra “*surfactant*”, que a su vez es un término que proviene de “*surface active agent*”, agente activo de superficie) son ampliamente usados en diversos sectores de la industria, como jabonera, farmacéutica, alimentaria, cosmética, textil, de pigmentos y pinturas. Los tensoactivos son compuestos químicos que tienen un grupo hidrofílico (afín al agua) y otro hidrofóbico (no afín al agua) que le confieren propiedades que influyen en la superficie de contacto entre dos fases (p.ej. dos líquidos inmiscibles entre sí). La presencia de un tensoactivo en solución implica la existencia de interacciones con el disolvente, atractivas para uno de los grupos y repulsivas para el otro, lo que se traduce en la formación espontánea de agregados de tamaño coloidal, que se forman espontáneamente y se denominan micelas. En medio acuoso, las moléculas se orientan de modo tal que el grupo hidrofóbico tenga el menor contacto posible con el agua, mientras que los grupos polares quedan en contacto directo con ella. Este fenómeno de micelización es un proceso reversible y de naturaleza principalmente entrópica. Una de las propiedades fisicoquímicas más importantes que caracteriza a los sistemas micelares es su concentración micelar crítica (CMC), que corresponde a la concentración mínima de tensoactivo a la cual comienza la asociación de moléculas para formar micelas.

El proceso de micelización es el resultado de un balance entre fuerzas repulsivas y atractivas, cuyo inicio trae consigo cambios significativos en el valor de algunas propiedades macroscópicas del sistema, entre las que se pueden mencionar: tensión superficial, conductividad, densidad, presión osmótica, dispersión de la luz y auto-difusión. Existen diversas técnicas de análisis para estimar la CMC de los tensoactivos en las que se estudia el comportamiento de alguna de las propiedades antes mencionadas en función de la concentración de tensoactivo, y cuando se observa un cambio en el comportamiento de dicha propiedad es posible la determinación de la CMC.

En este trabajo, se estudia la auto-difusión (movimiento traslacional de las moléculas en ausencia de cualquier fuerza externa) de las moléculas del tensoactivo en solución, cuyo movimiento traslacional disminuye significativamente en el momento de la formación de la micela, ya que el radio hidrodinámico aumenta y por ende baja el movimiento de auto-difusión.

La auto-difusión se determinó midiendo el valor del coeficiente de difusión, **D**, por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) empleando experimentos DOSY (conocidos así por sus siglas en inglés *Diffusion Ordered Spectroscopy*). Dicha técnica permite medir la difusión de las moléculas en disolución gracias al uso de gradientes de campo magnético en los equipos de RMN. Al ser una técnica de análisis relativamente novedosa, en la primera parte de este trabajo se detalla cómo se realiza la determinación, incluyendo la calibración de los gradientes de campo magnético y las condiciones de adquisición y procesamiento de los datos experimentales. Posteriormente se determinó el valor de CMC de un tensoactivo ampliamente estudiado, el dodecil sulfato de sodio (conocido como SDS por sus siglas en inglés: *sodium dodecyl sulfate*, o DSS por sus siglas en español: dodecil sulfato de sodio), cuyo valor se correlacionó con los datos reportados en la literatura. Finalmente se estudiaron dos tensoactivos no iónicos comerciales cuyo valor de CMC no está reportado en la literatura, el alcohol láurico etoxilado con 10 moles de óxido de etileno (ALE10) y el alcohol láurico etoxilado con 30 moles de óxido de etileno (ALE30). Paralelamente, se realizará la determinación de la CMC mediante el análisis del cambio en los valores de desplazamientos químicos y de tiempos de relajación.

1.1. Estructura de la tesis

La presente tesis está estructurada en 6 capítulos. En los Capítulos 1 y 2 se da la introducción y se plantean los objetivos del proyecto de investigación que se centra en el estudio de la determinación de la CMC de tensoactivos por DOSY.

En el Capítulo 3, Marco teórico, se describe cada una de las herramientas y conceptos requeridos para realizar la determinación de la CMC de diferentes tensoactivos etoxilados utilizando RMN como técnica de análisis. Primero se mencionan algunos conceptos básicos de RMN y posteriormente se da una explicación acerca de los parámetros de desplazamiento químico, tiempos de relajación (T_1 y T_2) y de cómo la RMN permite medir la difusión traslacional de las moléculas en solución.

En el Capítulo 4, Metodología, se hace una descripción de los tensoactivos estudiados y de los experimentos de RMN empleados en un equipo de 500 MHz. Particularmente se detallan las condiciones de adquisición y procesamiento de los espectros DOSY.

Posteriormente en el Capítulo 5, Resultados y discusión, se presentan, analizan y discuten los resultados obtenidos. En la primera sección se describen los resultados de RMN para la

determinación del valor de CMC de un tensoactivo cuyo valor se encuentra reportado en la literatura, el SDS. Mientras que en la segunda parte, se emplean las mismas metodologías para obtener el valor de CMC de dos tensoactivos no iónicos comerciales, ALE10 y ALE30.

Como parte final de este trabajo, en el Capítulo 6, se presentan las conclusiones obtenidas del desarrollo de este proyecto.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Realizar la determinación de la CMC de tensoactivos etoxilados comerciales utilizando la técnica analítica de RMN, midiendo el cambio en el valor del coeficiente de difusión, **D**, en el desplazamiento químico y en los tiempos de relajación T_1 y T_2 .

2.2. Objetivos particulares

- ✓ Implementar la metodología para la determinación de **D** por RMN.
- ✓ Estimar la CMC del SDS mediante el cambio en el valor de **D**, desplazamientos químicos y tiempos de relajación a diferentes concentraciones.
- ✓ Comparar la CMC obtenida experimentalmente para el SDS con los datos reportados en la literatura.
- ✓ Determinar la CMC de dos tensoactivos no iónicos comerciales, ALE10 y ALE30, con las metodologías previamente implementadas.

3. Marco Teórico

En este capítulo se plantean las generalidades de los tensoactivos, como son: sus características químicas, usos, aplicaciones y se da una breve explicación sobre algunas técnicas de análisis para determinar su CMC. También se introducen los conceptos básicos de RMN necesarios para comprender este tipo de espectroscopía y en particular para entender como la difusión molecular es estudiada utilizando la RMN.

3.1. Tensoactivos y Concentración Micelar Crítica

Los tensoactivos son sustancias químicas de suma importancia e interés industrial debido a que son ampliamente utilizados en la fabricación de detergentes y pinturas, entre otros productos químicos. En los últimos años su aplicación se ha extendido aprovechando su mecanismo de acción al aportar un efecto solubilizante, dispersante y/o emulsificante.

Los tensoactivos aniónicos representan el 55% del total de los tensoactivos producidos anualmente. Entre los más comunes se encuentra el SDS, el cual se utilizó en el presente proyecto para implementar la metodología y determinar su CMC utilizando la técnica de RMN.

Técnicamente, los tensoactivos son moléculas que tienen un carácter anfílico, es decir, que poseen una doble afinidad: polar-no polar. La parte polar posee afinidad por los disolventes polares, en particular por el agua, y se denomina comúnmente la parte hidrófila o hidrofílica. Por el contrario, el grupo apolar se llama parte hidrófoba o hidrofóbica, o bien lipofílica (del griego *phobos* "miedo" y *lipos* "grasa"). De acuerdo con el carácter del extremo hidrófilo las moléculas tensoactivas se clasifican en aniónicas, catiónicas, no iónicas o anfóteras, esta clasificación está determinada por la carga parcial que adquieren al ser disociadas en agua o en el medio de disolución.

El mecanismo de acción de un tensoactivo inicia con la agrupación de varias moléculas del mismo tensoactivo en la capa formada en la interfase del medio (generalmente simulando una esfera cuya afinidad química interna y externa depende directamente del medio donde se encuentra). Este fenómeno de agregación, llamado micelización, es un proceso espontáneo que ocurre

principalmente a través de interacciones no covalentes (fuerzas de van der Waals, puentes de hidrógeno, fuerzas electrostáticas, etc.) y ocurre a partir de una concentración mínima, la CMC.^{1,2}

En la Figura 1 se representa la formación de micelas típicas en agua. En dicha figura, las moléculas del tensoactivo se muestran como modelos de círculos (●) y colas delgadas (~). Los extremos negros circulares representan los grupos hidrofílicos y las colas delgadas representan las cadenas hidrofóbicas. En la Figura 1a las moléculas del tensoactivo se muestran en su forma libre, es decir, aún no existe la concentración suficiente para inducir la micelización. Todas las moléculas de tensoactivo se mueven en el medio hasta que se presente el ambiente idóneo para que se comiencen a formar las micelas y logren estabilizarse químicamente, es decir, hasta que se llegue a la CMC. En la Figura 1b se representan las moléculas de tensoactivo formando micelas esféricas, se muestra el interior de la sección transversal de las micelas, en ella se puede ver que los extremos negros circulares, al ser afines al medio polar, quedan en el exterior de la micela, mientras que la parte hidrofóbica (colas delgadas), al no ser compatible con el medio, queda al centro de la micela, evitando así un gasto de energía para poder estar en un medio donde no le es fácil interactuar químicamente.

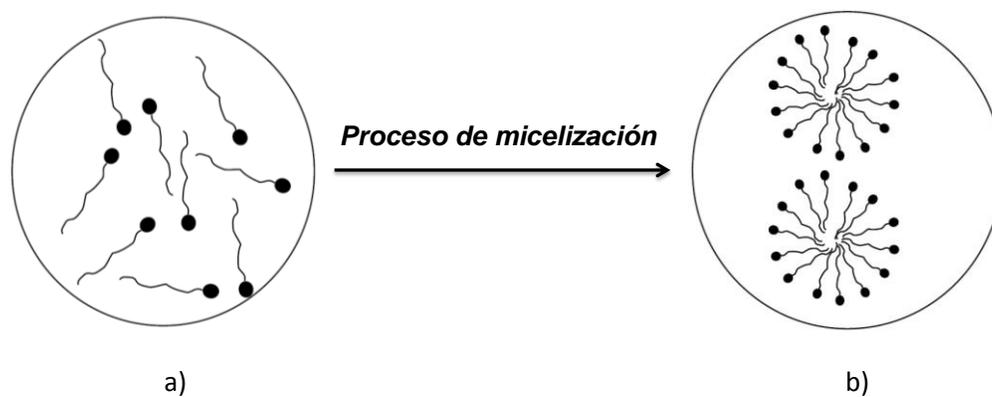


Figura 1. Esquema general de formación de una micela. Las moléculas del tensoactivo se muestran como modelos de círculos (●) y colas delgadas (~). Los extremos negros circulares representan los grupos hidrofílicos y las colas delgadas representan las cadenas hidrofóbicas. a) Tensoactivo libre, aún no alcanza la mínima concentración para formar micelas. b) Se alcanza la mínima concentración de tensoactivo para formar las micelas (la parte no compatible con el medio queda en el centro de la micela).

¹ Rosen, M. and Kunjappu, J., Surfactants and interfacial phenomena. 1st ed. Hoboken, N.J. J. Wiley & sons. (2012).

² Krimm, S. *Journal of Polymer Science: Polymer Letters.*, 18(10), pp.687-687, (1980).

La importancia de determinar el valor de CMC radica en que este valor aporta información crucial para la aplicación de los tensoactivos. Al representar un valor estimado sobre la concentración a la cual forman micelas, permite un aprovechamiento más efectivo ya que así sólo se usa la cantidad necesaria para conseguir el efecto deseado, y con ello el uso excesivo e innecesario de tensoactivos queda controlado, beneficiando los costos y tiempos de producción, así como al medio ambiente.

Experimentalmente, el valor de CMC se determina por diversos métodos en los que se miden ciertas propiedades físicas en función de la concentración del tensoactivo,^{3,4} algunas de estas propiedades son:

- **Tensión superficial:** Es la cantidad de energía necesaria en la superficie de un líquido que permite soportar una fuerza externa y es causada por la atracción entre moléculas semejantes. Las moléculas que están justo debajo de la superficie sienten fuerzas hacia los lados, horizontalmente, y hacia abajo; el resultado es que las moléculas que se encuentran en la superficie son atraídas hacia el interior de éste. Para algunos efectos, esta película de moléculas superficiales se comporta en forma similar a una membrana elástica tirante. La fuerza resultante que actúa en un plano tangente a la superficie, por unidad de longitud, se denomina tensión superficial y tiene la dimensión de fuerza por unidad de longitud o de energía por unidad de área. Los tensoactivos, debido a su doble afinidad: polar-no polar, son capaces de reducir la tensión superficial de un líquido en concentraciones por debajo de la necesaria para saturar la totalidad de la interfase del disolvente. Por encima de la CMC, las moléculas del tensoactivo que ya no pueden acceder a la interfase se dirigen hacia al interior del líquido formando micelas.⁵
- **Dispersión de la luz:** El tensoactivo al estar de forma libre en el medio, permite difundir la luz homogéneamente en el sistema. En cuanto la micelización comienza, la obstrucción que hay en el medio produce un cambio en la dispersión de luz.⁶

³ W. Al-Soufi., *Journal of Colloid and Interface Science* 370, 102–110, (2012).

⁴ Elizalde, F., Gracia, J., Costas, M., *Journal of Physics and Chemistry*, 92 (12) 3565-3568, (1988).

⁵ Castellan, Gilbert W., *Fisicoquímica*, Ed. Pearson, tema 18, Fenómenos superficiales. pág. 433. (1987).

⁶ Tan, C., Huang, Z. and Huang, X., *Analytical Biochemistry*, 401(1).págs.144-147, (2010).

- **Índice de refracción:** El índice de refracción determina la reducción de la velocidad de la luz al propagarse por un medio homogéneo y se ve modificado debido al cambio en la concentración del medio. El cambio de pendiente en una curva donde se analiza el índice de refracción en función de la concentración, permite obtener el valor experimental de CMC.^{7,8}
- **Presión osmótica:** Para determinar la CMC mediante la presión osmótica, se hacen aproximaciones donde se relaciona el valor de CMC con el valor de coeficientes de actividad de presión osmótica en función de la concentración. Generalmente se desarrollan técnicas especiales para medir el flujo de paso de un medio a otro a través de una membrana semipermeable o con flujo controlado.^{9,10}
- **Conductimetría:** En esta técnica, el cambio de valores de conductividad eléctrica a diferentes concentraciones en una disolución de tensoactivo permite estudiar el valor de CMC. La conductimetría cobra importancia en tensoactivos cuya disociación es completa y cuyos productos son iones, de tal manera que estas cargas provocan la conductividad.¹¹
- **Electroforesis capilar:** Es una variante del método de conductimetría. Generalmente es utilizada como técnica para separar diferentes moléculas presentes en una disolución de acuerdo con la relación masa/carga de las mismas. La separación se lleva a cabo en un tubo hueco de diámetro muy pequeño (menos de 50 μm de diámetro), de ahí que reciba el nombre de capilar. Se estudia el cambio de conductividad eléctrica en función de la concentración.¹²
- **Solubilización:** Se monitorea la solubilidad de cualquier sistema no homogéneo al adicionar cierta concentración de tensoactivo y a partir de la formación de las micelas (valor de CMC) se estudia la solubilidad del sistema no homogéneo. Las moléculas químicas no compatibles con el medio se sitúan al centro de las micelas, por lo que hay una marcada transición de solubilidad del soluto insoluble antes y después de la formación

⁷ Isobe, H., Singh, C., Katsumata, H., Suzuki, *Applied Surface Science*, 244(1-4), pp.199-202. (2005).

⁸ Reija, Otero, B., Estudio estructural y dinámico de sistemas organizados mediante sondas fluorescentes, Univ Santiago de Compostela, 1995.

⁹ Amos, D., M, Lynn, S. & Radke, C. *The Journal of Physical Chemistry B*, 102(15), pp.2739-2753, (1998).

¹⁰ Floriano, M., Caponetti, E. & Panagiotopoulos, A. *Langmuir*, 15(9), pp.3143-3151,(1999).

¹¹ Marcolongo, J. & Mirenda, M. *Journal of Chemical Education*, 88(5), pp.629-633, (2011).

¹² Lin, C. *Journal of Chromatography A*, 1037(1-2), pp.467-478, (2004).

de las micelas. Al lograr la solubilidad esperada, se considera el valor de concentración de tensoactivo como su valor de CMC.¹³

- **Auto-difusión:** A lo largo del tiempo, el movimiento de una molécula sigue un camino aleatorio que resulta en una propiedad conocida como coeficiente de auto-difusión, D . Este es un movimiento provocado por el movimiento Browniano de las moléculas y se debe solamente a su energía cinética y ocurre en ausencia de cualquier fuerza externa. Esta propiedad está directamente relacionada con el tamaño molecular y en consecuencia con el valor de CMC.

En la Figura 2 se esquematiza el comportamiento de algunas propiedades macroscópicas (diferentes técnicas de análisis) al variar la concentración de tensoactivo. Al analizar el comportamiento general de estas, se observa un claro quiebre a partir del cual es posible la determinación directa de la CMC. En todos los casos, el punto de intersección entre las tendencias observadas antes y después de la zona de quiebre corresponde a la CMC.

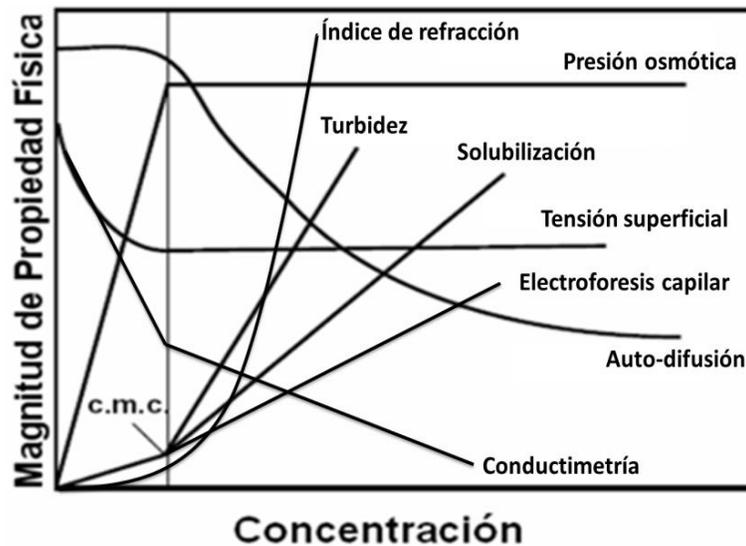


Figura 2. Esquema general del comportamiento de diferentes propiedades físicas en función de la concentración del tensoactivo para la determinación de la CMC.

¹³ Maitra, A., Deb, N., & Bagchi, S. *Journal of Molecular Liquids*. 139(1-3), 104-109, (2008).

3.2. Difusión molecular

El término de difusión hace referencia a la auto-difusión traslacional, una forma de difusión debida al movimiento browniano de las moléculas o partículas en solución que ocurre en ausencia de cualquier fuerza externa y que se debe únicamente a la energía cinética. Al moverse las moléculas o partículas colisionan entre sí y cambian la dirección del movimiento. A lo largo del tiempo el movimiento de una molécula sigue un camino aleatorio que resulta en un valor que representa la facilidad con la que se mueve, este valor es conocido como coeficiente de difusión traslacional, **D**.

Considerando la relación existente entre la energía cinética de una molécula y la fricción, el valor de **D** se puede obtener a partir de la ecuación de Stokes-Einstein (Ecuación 1).

$$D = \frac{k_B T}{f} = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$$

Ecuación 1. Ecuación de Stokes Einstein para determinar el coeficiente de difusión de una molécula.

Donde k_B es la constante de Boltzman ($1.38066 \times 10^{-23} \text{ kg m}^2 \text{ K}^{-1} \text{ s}^{-2}$), T la temperatura (en K), η la viscosidad de la solución (en $\text{N s m}^{-2} = \text{kg s}^{-1} \text{ m}^{-1}$), f es el coeficiente de fricción que en este caso está definido por $f = 6\pi\eta r$ y r que representa el radio de la partícula. Las unidades de **D** son m^2/s . Esta ecuación fue originalmente desarrollada para partículas esféricas coloidales, donde se define bien el movimiento browniano. Sin embargo, también es una aproximación para pequeñas partículas no esféricas. El uso de la ecuación de *Stokes-Einstein* para predecir la difusión puede ser mejorada reemplazando el radio de la molécula, r , por su radio efectivo, r_{eff} , también llamado radio hidrodinámico, r_h . El valor de r_h se puede utilizar para compensar factores como las formas de moléculas no esféricas y sus esferas de solvatación.

El valor de **D** representa la facilidad con que cada soluto en particular se mueve en un disolvente determinado y describe la distancia que una molécula se mueve en un medio específico durante un intervalo de tiempo dado. Depende básicamente de tres factores: i) tamaño y forma del soluto, ii) temperatura, y iii) viscosidad del disolvente. El aumento del tamaño del soluto o de la viscosidad del disolvente dificulta la difusión, mientras que el aumento de la temperatura la acelera. A igual masa molecular, los solutos esféricos difunden con más facilidad en el agua que los solutos alargados, principalmente debido a aspectos de superficies de contacto. Para un mismo

disolvente, a mayor masa molecular, el valor de D disminuye y para un mismo compuesto el valor de D disminuye al aumentar la viscosidad del medio.

3.3. Resonancia Magnética Nuclear

La RMN es un método relativamente moderno (en comparación a otras espectroscopías) pues los primeros experimentos se realizaron en 1945, en la Universidad de Stanford, por Felix Bloch; y en 1946, en la Universidad de Harvard, por Edward Purcell. Ambos científicos recibieron el Premio Nobel de Física, en 1952, por descubrir la RMN. Desde entonces, la RMN es uno de los métodos instrumentales fundamentales usados de forma rutinaria en la identificación y análisis de compuestos químicos, como son: materias primas, intermediarios de reacción, aditivos y productos finales. Permite el estudio de procesos dinámicos con resolución atómica en varias escalas de tiempo y recientemente, gracias a los gradientes de campo magnético, permite determinar el movimiento molecular.

3.3.1. Conceptos básicos

La RMN se basa en la absorción de energía de radiación electromagnética en la región de radiofrecuencias (**rf**) por parte de ciertos tipos de núcleos atómicos con momento magnético de espín nuclear no nulo ($\mu \neq 0$), es decir núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones (o de ambos impar). Dicha absorción ocurre a frecuencias únicas que dependen del tipo de núcleo y del ambiente químico en el que se encuentra y se manifiesta en presencia de un campo magnético (B_0) intenso y constante. Este tipo de núcleos son magnéticamente activos, es decir, poseen momento angular de espín y momento magnético, lo que hace que se comporten como si fueran pequeños imanes. En ausencia de B_0 , los espines nucleares se orientan al azar y son equivalentes en energía (Figura 3a). Sin embargo, cuando una muestra que contiene núcleos magnéticamente activos se coloca en un B_0 , se orientan en la misma dirección del campo, en un estado de mínima energía denominado estado de espín α , mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta a la de B_0 , en un estado de mayor energía denominado estado de espín β (Figura 3b). Al estar alineados con B_0 describen un movimiento de precesión a una frecuencia proporcional a dicho campo, llamada frecuencia de Larmor.

En los equipos de RMN que se usan actualmente, el B_0 se mantiene constante mientras el breve pulso de **rf**, perpendicular al B_0 externo, excita simultáneamente a todos los núcleos y provoca que haya un estado de saturación o inversión de los espines (Figura 3c). El pulso que se aplica tiene la

misma frecuencia a la que precesan los núcleos, por ello el término de resonancia magnética nuclear. La señal en espectroscopía por RMN es el resultado de la diferencia entre la energía absorbida por los espines que realizan una transición del estado α al β , y la energía emitida por los espines que simultáneamente realizan una transición del estado de β al α como respuesta a ser irradiados por el pulso de rf . La señal es entonces proporcional a la diferencia de población entre los dos estados. A temperatura ambiente, el número de espines α supera levemente al número de espines β de acuerdo a la distribución de Boltzmann (Ecuación 2), y por ello la baja sensibilidad de la técnica.

$$\frac{N_{\beta}}{N_{\alpha}} = e^{-\frac{\Delta E}{\kappa T}}$$

Ecuación 2. Distribución de Boltzmann.

Una vez que se deja de aplicar la rf , los espines nucleares comienzan a regresar a su estado energético basal, es decir, comienza el proceso de relajación (Figura 3d). La energía suministrada por la rf es la misma que liberan los espines al relajarse y ésta se detecta como la intensidad de señal respecto al tiempo, y posteriormente, mediante la transformada de Fourier, se convierten dichos datos en una gráfica de intensidad de señal en función de la frecuencia. Dicha gráfica se conoce como “espectro de RMN”.

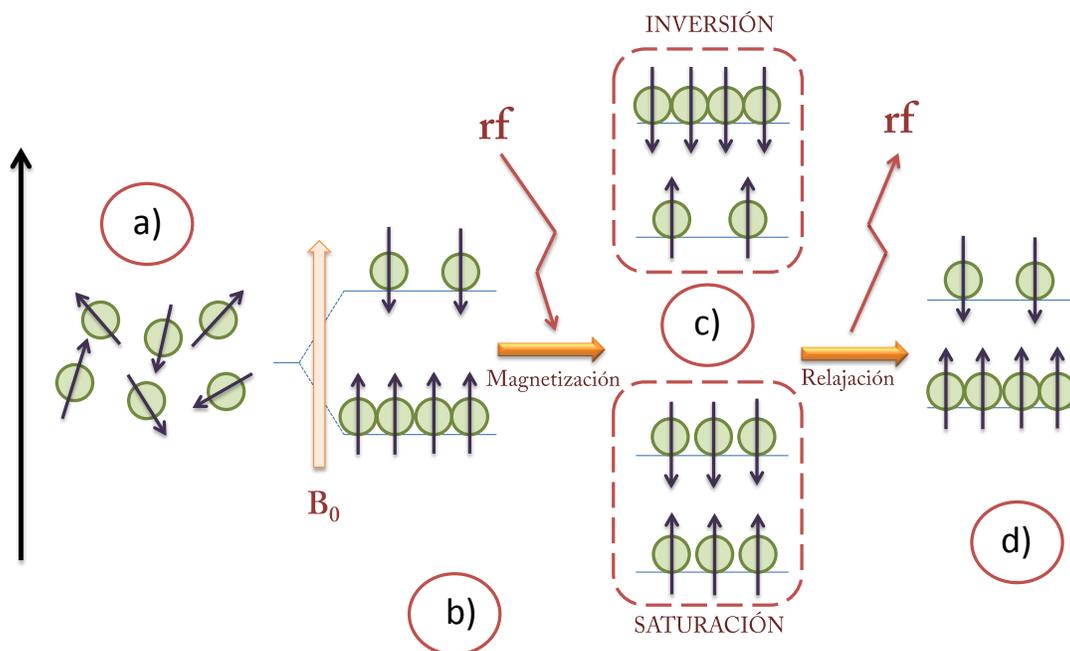


Figura 3. Esquema del comportamiento de los espines nucleares en la técnica de RMN.

En la Figura 4 se muestra un esquema de las partes fundamentales de un espectrómetro de RMN:

- **Imán:** Genera el campo magnético B_0 . La intensidad, homogeneidad y estabilidad de B_0 determina la sensibilidad y resolución que pueden conseguirse en el espectro RMN. Hoy en día los imanes que se utilizan son imanes superconductores. En un imán superconductor el B_0 se produce con una bobina hecha de material superconductor (por ej. aleación niobio-titanio) sumergida en helio líquido (temperatura próxima al cero absoluto, -273.15 °C ó 0 K), para que su resistencia sea próxima a cero.
- **Consola:** Aquí se encuentra el generador de **rf**, que contiene el transmisor y los amplificadores que generan los pulsos de excitación a las frecuencias de los núcleos que van a ser observados. Todas las **rf** usadas en un espectrómetro provienen de un oscilador único por razones de estabilidad. La frecuencia exacta de los pulsos pueden regularse en pasos de menos de 1 Hz a través de una banda de muchos MHz de anchura. A la salida del transmisor hay un atenuador programable que permite variar la magnitud de la potencia de salida. El transmisor funciona continuamente, pero el paso de radiofrecuencia a la bobina está controlado por un programa de pulsos que se dirige desde la computadora.
- **Sonda:** Contiene una o más bobinas para generar las **rf**. Un amplificador (generador de frecuencias) genera un pulso de corriente alterna con la frecuencia adecuada que llega hasta la bobina de la sonda y produce un campo magnético oscilante ($\neq B_0$) en las proximidades de la muestra. Las sondas modernas también contienen “bobinas de gradiente” para generar variaciones controladas del campo magnético. El campo magnético producido por esta bobina de gradiente se suma al B_0 principal (estático y permanente), y el resultado es un campo magnético diferente en cada punto de la muestra. Normalmente, la variación del campo siempre es lineal a lo largo de un **eje** preestablecido. Hoy en día, las casas comerciales ofrecen sistemas con 3 bobinas de gradiente, que se pueden aplicar simultáneamente en tres direcciones (**x, y, z**). En la presente tesis sólo se utilizaron gradientes en la dirección del **eje z**, en donde el campo magnético generado por el gradiente es paralelo al B_0 principal (G_z).
- **Estación de trabajo:** Computadora que controla el sistema y a la que se transfiere continuamente la información para su procesado y almacenamiento.

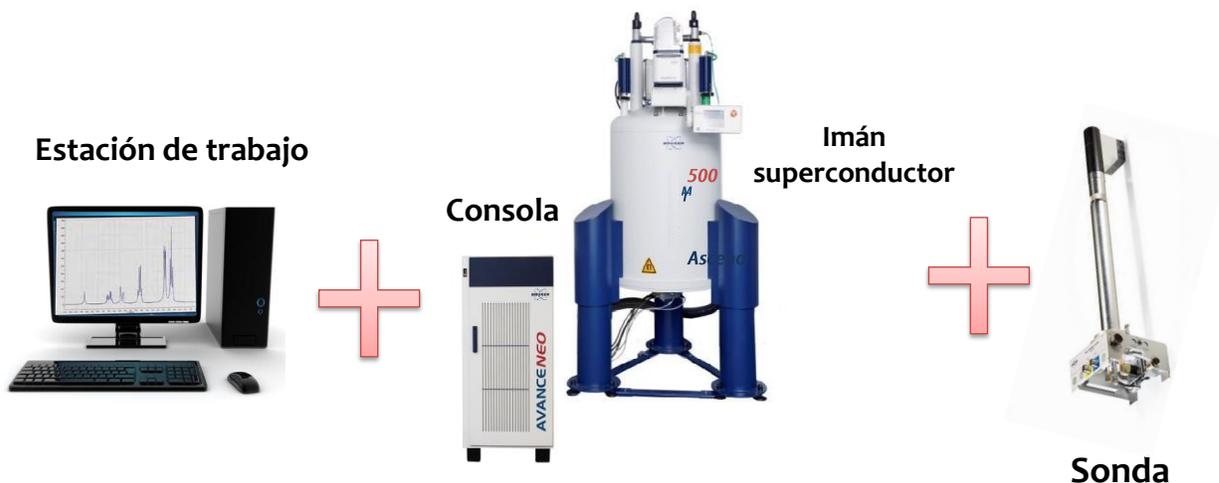


Figura 4. Partes fundamentales del espectrómetro de RMN.

Para conseguir la información deseada en RMN se aplican secuencias de pulsos, que consisten en una serie de pulsos de **rf** separados por intervalos de tiempo aplicados de una manera secuencial, ordenada y predefinida, que provocan una modificación específica sobre el sistema de espines y que luego se pueden relacionar con algún parámetro molecular a partir del análisis del espectro resultante. Los elementos de una secuencia de pulsos son:

- Intervalos de tiempo: Son espacios de tiempo donde no se aplican pulsos y en los que la magnetización se ve afectada por efectos de relajación, constantes de acoplamiento, desplazamientos químicos y/o interacciones dipolares, etc.
- Pulsos de **rf**: Son los pulsos que se aplican a una frecuencia específica para cada núcleo, con una duración y potencia determinada. Provocan rotaciones respecto a un **eje** determinado (**x**, **y**, **z**) normalmente de 90° o 180°.
- Periodo de adquisición: Es el tiempo donde el equipo capta la energía emitida por los núcleos en forma de una FID (por sus siglas en inglés *Free Induction Decay*). Esta FID es una señal oscilante que contiene las señales del espectro y decae hasta hacerse cero.
- Gradientes de campo magnético: Un gradiente es un intervalo de tiempo corto (del orden de milisegundos) donde el campo magnético estático **B₀** se hace espacialmente no homogéneo en una dirección específica.

Usualmente para describir una secuencia de pulsos se utiliza una representación como la mostrada en la Figura 5, la cual está constituida por uno o varios canales a la frecuencia del núcleo

que se quiere estudiar ($X = {}^1\text{H}$, ${}^{13}\text{C}$, etc.), los intervalos de tiempo que están indicados con la letra τ , los pulsos de **rf** que son los rectángulos negros (usualmente pulsos de 90° y de 180°) y el tiempo de adquisición de la FID representado por la línea en zigzag. En el canal de G_z los pulsos de gradientes están indicados con rectángulos grises.

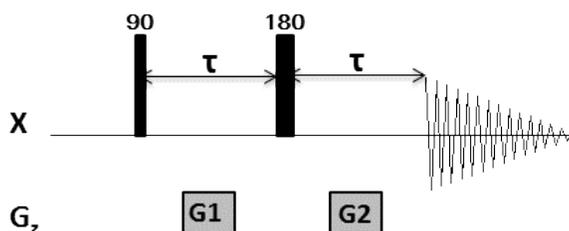


Figura 5. Esquema general de una secuencia de pulsos.

3.3.2. Procesos de relajación T_1 y T_2

En RMN la condición de equilibrio se caracteriza por un estado de polarización con una magnetización de magnitud M_0 (magnetización al equilibrio) alineada a lo largo del B_0 en dirección al eje **z**. Una vez que se introduce energía adicional en el sistema mediante pulsos de **rf**, esta magnetización se desvía del equilibrio y se provoca una disminución de la magnetización M_0 y la aparición de la magnetización transversal en el **plano xy**. Al tiempo requerido por el sistema para volver al equilibrio térmico y disipar el exceso de energía después de apagar el pulso de **rf** se le conoce como “tiempo de relajación”.

Existen dos tiempos de relajación:

♣ Relajación espín-red o relajación longitudinal o T_1

La relajación longitudinal, también llamada tiempo de relajación espín-red o tiempo de relajación T_1 , está asociada con la transferencia de energía entre un sistema de espines y su entorno químico, comúnmente organizado como una red de espines.

Para medir esta constante de tiempo en experimentos de RMN se usa la secuencia “recuperación de la inversión”, la cual consiste en aplicar un pulso de 180° y otro de 90° separados por un tiempo τ (Figura 6). El primer pulso de 180° invierte la magnetización y los niveles poblacionales de los espines (es decir que la magnetización pasa al eje **-z**), posteriormente se deja que la magnetización se recupere durante el tiempo τ (en el que se produce la relajación longitudinal), y

finalmente se aplica un pulso de 90° para enviar la magnetización al **plano xy** donde es detectada. El experimento se repite con una serie de diferentes tiempos τ y según el intervalo τ que se utilice se observan señales cuya intensidad varía en función del tiempo de relajación T_1 . La intensidad de las señales de los espectros se ajusta a una curva de crecimiento exponencial de primer orden, obteniendo T_1 como parámetro del ajuste (Ecuación 3). En la Figura 6 también se muestra la gráfica de la curva asintótica exponencial de T_1 , donde se observa que con un valor pequeño de τ la magnetización del vector resultante es similar a que se hubiera aplicado un pulso de 270° , por lo que los valores de intensidad de señal resultan negativos. Conforme el valor de τ incrementa, la intensidad de la señal poco a poco se hace positiva y crece de manera exponencial hasta llegar a un punto (aproximadamente 5 veces T_1) donde el sistema ha recuperado más del 99% de su magnetización al equilibrio.

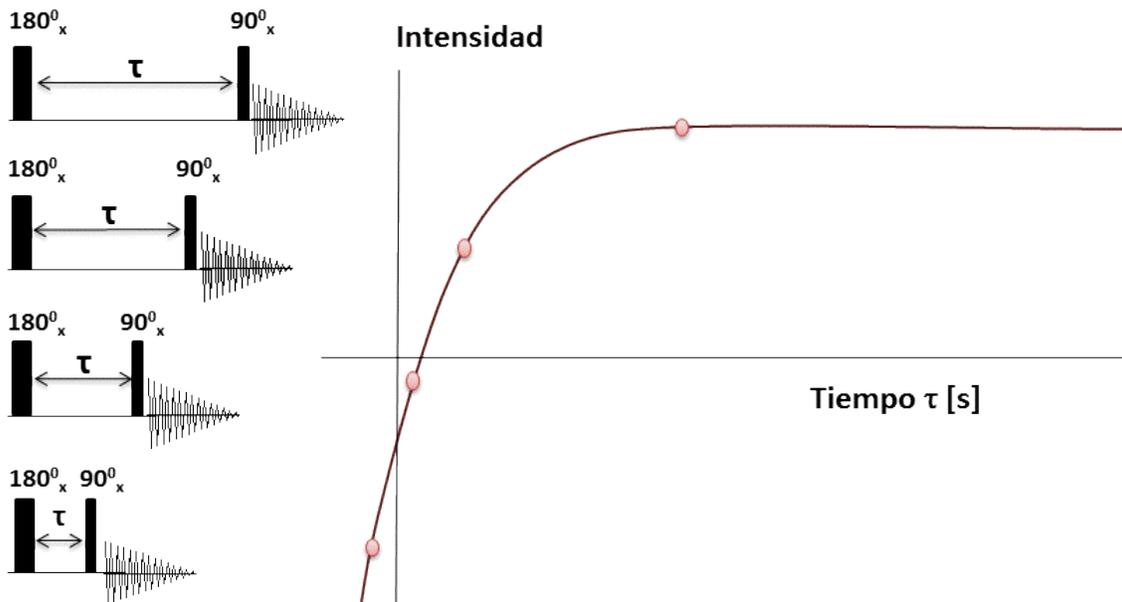


Figura 6. Secuencia de pulsos para la determinación de T_1 y gráfica exponencial de la intensidad de señal en función del tiempo τ .

$$M_Z(t) = M_Z(0) \left(1 - 2e^{-\tau/T_1}\right)$$

Ecuación 3. Ecuación exponencial con la que se obtiene el valor de T_1 , donde M_z es la magnetización en el eje z y τ es el intervalo de tiempo.

♣ Relajación espín –espín o relajación transversal o T_2

Este proceso está relacionado con la pérdida de la fase de un núcleo respecto a los otros núcleos que precesan a la misma frecuencia al querer regresar a su estado de equilibrio. Este fenómeno ocurre perpendicular a la dirección del campo aplicado. Al haber pérdida de fase, se generan componentes positivos y negativos en el **eje xy**, este proceso ocurre de manera exponencial y con una constante llamada tiempo de relajación transversal T_2 .

El T_2 puede ser determinado mediante la secuencia *Carr-Purcell-Meiboom Gill (cpmg)*, que consiste en aplicar un pulso de 90° que envía a la magnetización al plano transversal, seguido de conjuntos de ecos de espín, formados por pulsos de 180° entre intervalos de tiempo τ para reenfocar el desfase debido al desplazamiento químico y a las inhomogeneidades del campo magnético. En la Figura 7 se observa la secuencia de pulsos y la curva de decaimiento exponencial que se ajusta a la Ecuación 4.

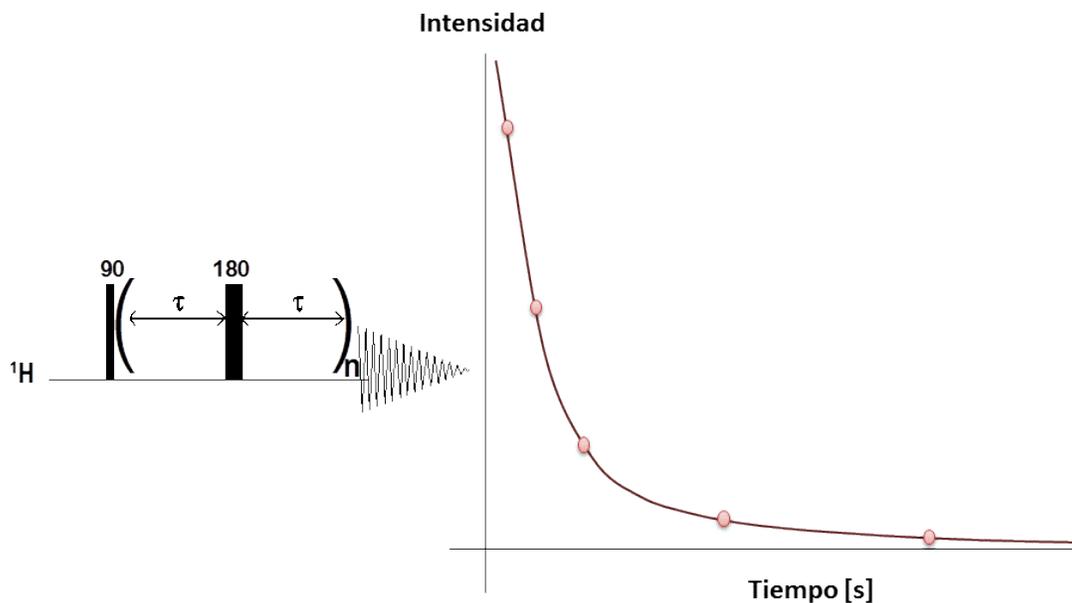


Figura 7. Secuencia de pulsos para la determinación de T_2 (donde n es el número de veces que se repite el eco de espín) y gráfica exponencial de la intensidad de señal en función del tiempo.

$$M_{xy}(t) = M_{xy}(0)e^{-t/T_2}$$

Ecuación 4. Ecuación exponencial con la que se obtiene el valor de T_2 , donde M_{xy} es la magnetización transversal y τ es el intervalo de tiempo.

Aunque no es una regla general, se ha visto que existe una tendencia entre moléculas para T_1 y T_2 :

- ♣ Moléculas pequeñas: $T_1 \approx T_2$, tiempo largo de recuperación del equilibrio.
- ♣ Moléculas grandes: $T_1 \gg T_2$.

En la actualidad, una manera de obtener una estimación de valores de CMC usando RMN es mediante la determinación de tiempos de relajación T_1 y T_2 .^{14,15,16,17} Se puede usar este parámetro debido a que la relajación en la red y entre espines es completamente diferente antes y después de formar las micelas. En la presente tesis, se determinaron estos parámetros para los tensoactivos analizados y así poder comparar estos resultados con los experimentos DOSY, técnica principal del estudio.

3.3.2.1. Procesos de relajación y tiempos de correlación

La relajación T_1 es una medida de recuperación del equilibrio en el **eje z** que depende del estado físico, viscosidad, temperatura y masa molecular que posea el sistema de estudio. La movilidad media de la red se expresa mediante el llamado tiempo de correlación molecular, τ_c , que es el tiempo promedio requerido por la molécula (o el agregado) para rotar 1 radián alrededor de un eje de coordenadas. En los líquidos, el tiempo de correlación disminuye con el aumento de temperatura y/o la reducción de la viscosidad. Cuando el tiempo de correlación es del orden del inverso de la frecuencia de resonancia del sistema, se tiene la máxima eficiencia de la relajación T_1 por lo tanto, el menor valor de T_1 (Figura 8). Las redes con una mayor movilidad conducen a valores de T_1 grandes, mientras que redes más rígidas provocan que los valores de T_1 disminuyan. Dado que el valor de T_1 se ve afectado por la dinámica local de los núcleos, es posible saber cuándo se forman agregaciones moleculares determinando su variación en función de la concentración de un tensoactivo.¹⁸

En la Figura 8 se puede observar que la relajación T_2 (que depende de la influencia de los campos magnéticos del mismo sistema) disminuye mientras mayor sea la movilidad de la red (valores de

¹⁴ Chen, M., Kumar, R., Parmar, V., Kumar, J., Samuelson, L. and Watterson, A. *Journal of Macromolecular Science*, 41(12), 1489-1496, (2004).

¹⁵ Chou, F. & Shih, J. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 49(4), 599-605, (2002).

¹⁶ Hanzhen, Y., Youru, D., Sui, Z. & Jiayong, Y. *Science in China Series A: Mathematics*, 42(3), 319-324, (1999).

¹⁷ Jiang, Y., Chen, H., Cui, X., Mao, S., Liu, M., Luo, P. and Du, Y. *Langmuir*, 24(7), 3118-3121, (2008)

¹⁸ Shi-Zhen, M., You-Ru, D., *Acta Physico-Chimica Sinica*, 19 (7), 675-680, (2003).

T₂ mayores) y alcanzan su máxima eficiencia cuando la estructura es muy rígida (valores de T₂ menores).

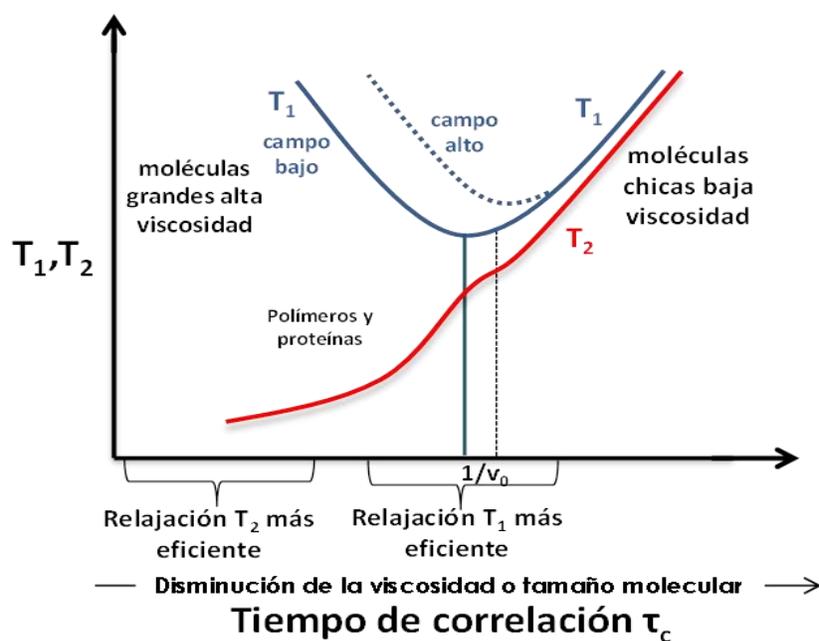


Figura 8. Curva de los tiempos de relajación T₁ y T₂ en función del tiempo de correlación τ_c.

3.4. Difusión molecular y su determinación por RMN

Gracias a los avances en el diseño de sondas de RMN de alta resolución incorporando gradientes de campo magnético estables, hoy en día es posible realizar el estudio de la difusión molecular. La técnica se conoce como DOSY. La determinación experimental se realiza adquiriendo una serie de experimentos de ¹H utilizando una secuencia de pulsos basada en el eco de espín con gradientes, donde se aumenta progresivamente la fuerza de los gradientes y se analiza la atenuación de la intensidad de las señales en cada espectro. En condiciones óptimas y en ausencia de solapamiento de señales, la relación que hay entre la intensidad de la señal observada (A) que se obtiene al utilizar gradientes G_z es una función exponencial descrita por la Ecuación 5.

$$\frac{A}{A_0} = e^{-\gamma^2 G_z^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right) D}$$

Ecuación 5. Ecuación donde se relaciona la intensidad de la señal observada A₀ respecto a la variación y aplicación de gradientes en el eje z (G_z), donde A es la intensidad de señal de referencia (con intensidad de gradiente nula), γ es la constante giromagnética, δ es la duración de los gradientes, Δ es la separación entre los gradientes y D es el coeficiente de difusión.

En la literatura se han descrito varias secuencias de pulsos para estudiar la difusión molecular, todas ellas tratando siempre de mejorar la precisión con la que se obtiene la medición.^{19,20,21,22} En las siguientes secciones se describe el experimento básico y las secuencias de pulsos utilizadas en esta tesis.

3.4.1. Secuencia de pulsos eco de espín

En 1950 Erwin L. Hahn demostró que un pulso de 180° después de un tiempo τ revierte el orden relativo de los componentes de la magnetización en el plano transversal y se obtiene un efecto de reenfoque espontáneo de las señales después de un tiempo 2τ . Por tanto, al cabo de un tiempo 2τ los componentes de magnetización, que inicialmente fueron desfasados, vuelven a dar un máximo de intensidad de señal. A este fenómeno se le llamó “eco” de la FID. La secuencia de pulsos eco de espín (**SE**) basada en el bloque $90^\circ - \tau - 180^\circ - \tau$ (Figura 9) es uno de los conceptos más simples e importantes en espectroscopía de RMN. La importancia del SE reside en que cualquier vector, independientemente de su frecuencia de Larmor, finalizará alineado con el **eje y** al final del segundo intervalo de espera. Esto también se expresa manifestando que el efecto del desplazamiento ha sido reenfocado por la secuencia **SE**.

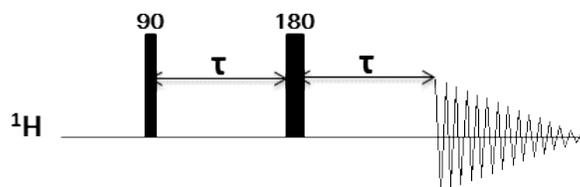


Figura 9. Secuencia eco de espín (SE).

3.4.2. Secuencias avanzadas para medir la difusión molecular

La base de los experimentos para medir la difusión molecular es la secuencia eco de espín con gradientes conocida como “*pulsed field gradient spin-echo*” (**PFGSE**), propuesta por Stejskal y Tanner en 1965.²³ La secuencia **PFGSE** es muy similar a la secuencia **SE** excepto que se aplican dos

¹⁹ Pelta, M., Barjat, H., Morris, G., Davis, A., & Hammond, S. *Magnetic Resonance Chemistry*, 36(10), 706-714, (1998).

²⁰ Gibbs, S. J.; Johnson Jr, C. S., *Journal of Magnetic Resonance*, 93, 395-402, (1991).

²¹ Ardelean, I., Kimmich, R., *The Journal of Chemical Physics*, 112(12), 5275-5280, (2000)

²² Wu, D.; Chen, A. D.; Johnson, C. S., *Journal of Magnetic Resonance*, 115, 260-264, (1995).

²³ E. O. Stejskal, J. E. Tanner, *Journal of Chemical Physics*, 42, 288-292, (1965).

pulsos de gradientes (Figura 10). La función del primer gradiente es la de desfasar la magnetización y la del segundo es reenfoclarla. Para que se cumpla dicha condición de reenfoque, los pulsos de gradientes deben ser idénticos en la forma (**s**), duración (**δ**) e intensidad (**G**). Los gradientes de desfase y de reenfoque están separados por el tiempo de difusión (**Δ**). Si durante este tiempo **Δ** los espines se mueven (difunden) a lo largo del **eje z** no serán reenfocados por el segundo gradiente y disminuirá la señal del eco de una forma proporcional a la media del desplazamiento de las moléculas en dirección del eje del gradiente.

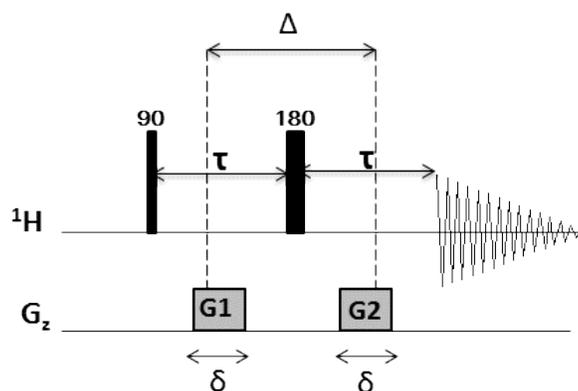


Figura 10. Experimento eco de espín con gradientes (PFGSE). En el canal de G_z se representan los gradientes G_1/G_2 de desfase/reenfoque con forma rectangular, con duración δ , separación Δ (tiempo de difusión), y cuya fuerza se varía simultáneamente y de manera progresiva durante el experimento.

Las secuencias de pulsos utilizadas en esta tesis para adquirir los experimentos DOSY fueron las siguientes:

- **BPPLED:** Secuencia eco de espín estimulado utilizando pulsos bipolares. Es una de las secuencias más utilizadas y más robustas para experimentos de difusión molecular. Los gradientes bipolares permiten compensar el efecto de las corrientes *eddy* (al igual que el tiempo longitudinal **T_e**) y también ayudan a reenfoclar la inhomogeneidad del campo **B_0** (Figura 11).

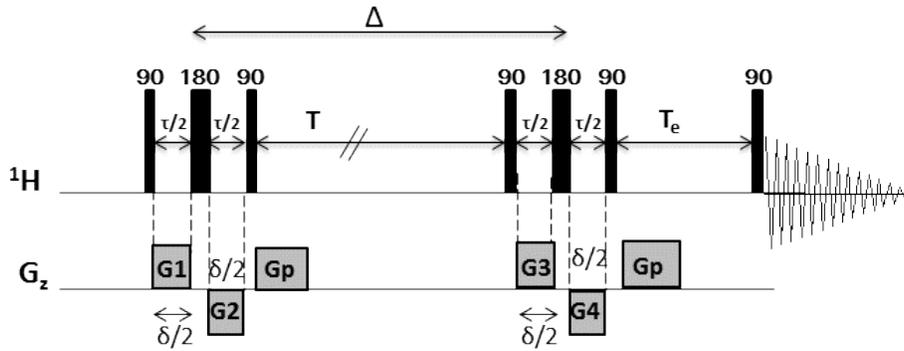


Figura 11. Secuencia eco de espín estimulado utilizando pulsos bipolares y tiempo longitudinal T_e , para desvanecer las corrientes eddy (BPPLED). En el canal G_z se representan los pulsos de gradiente: G_p son gradientes de purga con fuerza constante, pero diferente entre sí, y G_1G_2/G_3G_4 de duración $\delta/2$, son los gradientes de desfase/reenfoque con forma rectangular, con separación Δ , y cuya fuerza se varía simultánea y progresivamente durante el experimento.

- **DBPPLED:** Secuencia doble eco de espín estimulado utilizando pulsos bipolares. Para eliminar los problemas de convección A. Jerschow y N. Müller proponen que se aplique la secuencia BPPLED dos veces pero invirtiendo los gradientes (Figura 12).²⁴ Con ello la fase inducida en la primer parte de la secuencia por el movimiento constante de la convección es igual pero tiene sentido contrario a la producida en la segunda parte y por tanto el cambio de fase total de la secuencia es nulo.

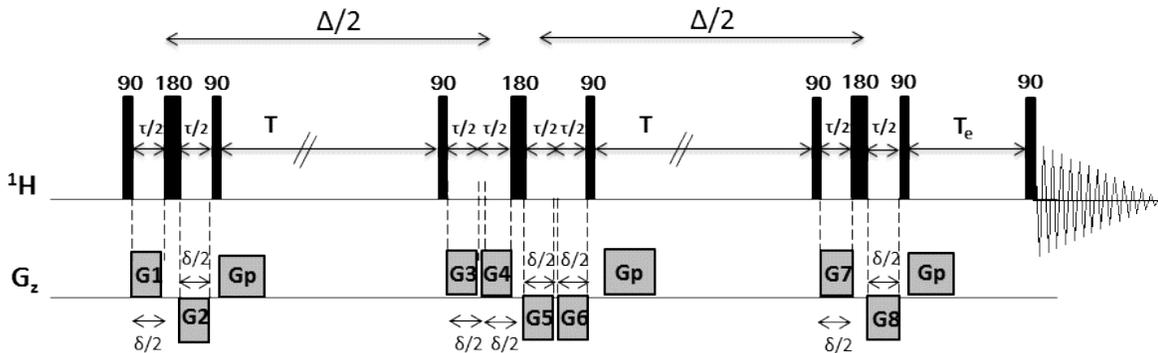


Figura 12. Secuencia doble-BPPLED que compensa los efectos de convección (DBPPLED). En el canal G_z se representan pulsos de gradientes, G_p son gradientes de purga con fuerza constante, y G_1G_2/G_3G_5 y G_4G_6/G_7G_8 son los gradientes de desfase/reenfoque, con duración $\delta/2$ y cuya fuerza se varía simultánea y progresivamente durante el experimento. El periodo de difusión Δ está dividido entre los dos ecos.

²⁴ Jerschow, A.; Müller, N., *Journal of Magnetic Resonance*, 125, 372-375, (1997).

3.4.3. Representación DOSY

Una forma muy atractiva de presentar los resultados de los datos de difusión es mediante un espectro pseudo 2D donde se grafica D en el **eje y** y en el **eje x** el espectro de ^1H . Esta representación conocida como espectro DOSY (*Difussion Ordered Spectroscopy*),²⁵ es el resultado del procesado de una serie de espectros de difusión adquiridos con incrementos de la intensidad de gradiente, donde primero se aplica la transformada de Fourier en la dimensión directa para obtener la serie de espectros de ^1H , a los cuales posteriormente se les aplica la transformada de Laplace inversa en la dimensión indirecta para resolver la exponencial y obtener el valor de D .²⁶

En la Figura 13 se muestra un espectro DOSY donde se representa una mezcla de tres compuestos que difunden a una diferente velocidad entre sí. A cada señal del espectro monodimensional (**eje x**) se le asocia una en el diagrama pseudo 2D un valor de D dependiendo del tamaño molecular.

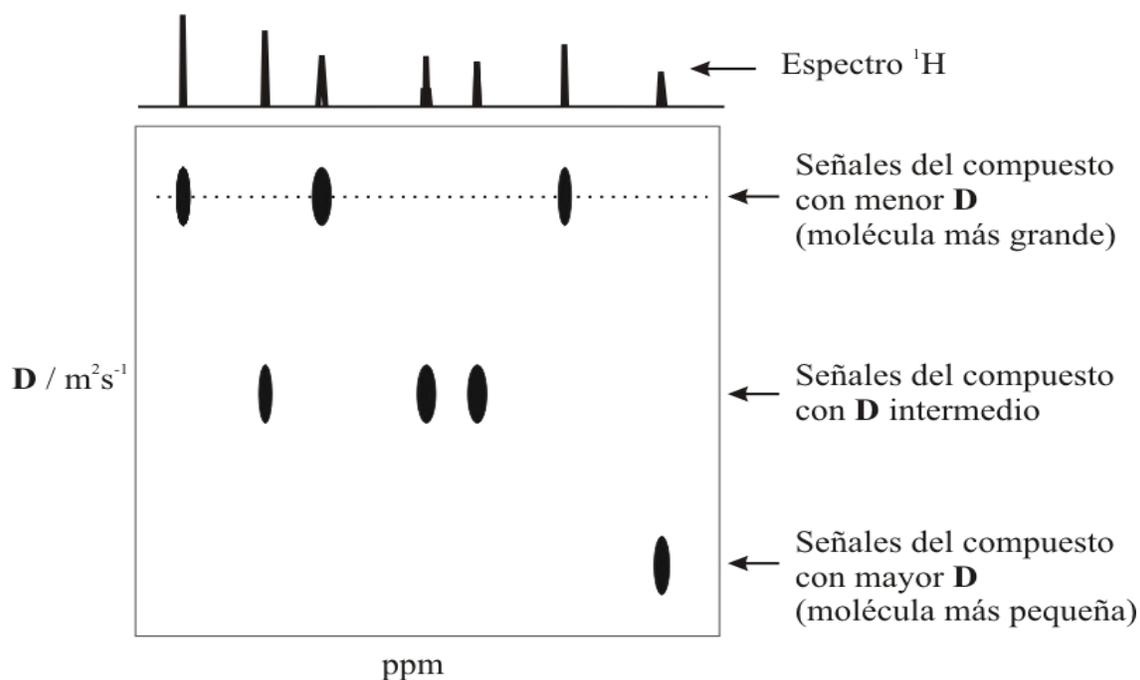


Figura 13. Representación clásica de un espectro DOSY correspondiente a una mezcla de 3 compuestos con diferentes velocidades de difusión.

²⁵ Johnson, C. S., *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 34, 203-256, (1999).

²⁶ Morris, K. F.; Stilbs, P.; Johnson, C. S., *Analytical Chemistry*, 66, 211-215, (1994).

La técnica DOSY tiene la gran ventaja sobre otros métodos de que no requiere la separación física de sus componentes, como lo podría ser una separación cromatográfica.²⁷ DOSY se ha aplicado para el estudio de interacciones intermoleculares en aglomerados moleculares^{28,29,30} y para la determinación del grado de pureza y pesos moleculares en el análisis de mezclas de compuestos,³¹ identificación de monómeros y copolímeros,^{32,33} tamaños moleculares,³⁴ análisis de tensoactivos catiónicos y aniónicos³⁵ y cambios conformacionales de agregados premicelares.³⁶ En los últimos años, una de las aplicaciones más novedosas es en la determinación de la CMC basada en el cambio brusco del coeficiente de difusión al formarse las micelas.^{37,38.}

²⁷ Hoffman, R E; Arzuan, H; Pemberton, C; Aserin, A; Garti, N., *Journal of Magnetic Resonance* 194, 295-299, (2008).

²⁸ Cohen, Y., Avram, L. & Frish, L. *Angewandte Chemistry International Edition*, 44(4), 520-554, (2005).

²⁹ Bellachioma, G.; Ciancaleoni, G.; Zuccaccia, C.; Zuccaccia, D.; Macchioni, A., *Coordination Chemistry Reviews*, 252, 2224-2238, (2008).

³⁰ Erik Pettersson, *Langmuir*, 20, 4: 1138-1143, (2004).

³¹ Macchioni, A., Ciancaleoni, G., Zuccaccia, C. and Zuccaccia, D. *ChemInform*, (37) 479-489, (2008).

³² Biernesser, A., D.C; K., Curley, J. & Byers, J. *Angewandte Chemie International Edition*, 55(17), 5251-5254. (2016).

³³ Lopez, G., Guerre, M., Schmidt, J., Talmon, Y., Ladmiral, V., Habas, J. and Améduri, B. *Polymer Chemistry*, 7(2), 402-409,(2016).

³⁴ Björnerås, J., Botana, A., Morris, G. and Nilsson, M. *Journal of Biomolecular NMR*, 58(4), 251-257. (2013).

³⁵ Jaroslav Kříž & Jiří Dybal, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 51 (5)275-282, (2013).

³⁶ Xueyan F., *The Journal of Physical Chemistry*, 114, 34, 11017-11026,(2010).

³⁷ Bakkour Y., Darcos V., Suming L. & Coudanea J., *Polymer Chemistry*, 3, 2006–2010, (2012).

³⁸ Shi-Zhen, M., You-Ru, D., *Acta Physico-Chimica Sinica*, 19 (7), 675-680, (2003).

4. Metodología

En este capítulo se detalla la metodología para la determinación de la CMC mediante RMN. Se describe la calibración de los gradientes de campo magnético y la adquisición de los experimentos DOSY y de los experimentos para la determinación de los tiempos de relajación T_1 y T_2 .

4.1. Reactivos

Tensoactivos comerciales:

- SDS, producto comercial. Polvo blanco cristalino soluble en agua.
- ALE10, producto comercial. Consistencia cerosa soluble en agua.
- ALE30, producto comercial. Polvo blanco soluble en agua.

Para la preparación de las disoluciones se usó D_2O al 99.9%-d.

4.2. Instrumentación

El equipo utilizado fue un espectrómetro Bruker Avance III de 11.744 Teslas (500 MHz para 1H), provisto de una sonda de detección directa (5 mm BBFO), con una unidad de generación de gradientes de campo en el *eje z* (50.119 G/cm) y equipado con un automuestreador de 24 muestras (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.).

Figura 14. Equipo Bruker Avance III de 11.744 Teslas (500 MHz para 1H).

4.3. Preparación de disoluciones

Para la preparación de las disoluciones de cada tensoactivo, se realizó una disolución stock al 1% m/m y a partir de esta se hicieron disoluciones a concentraciones más bajas. Todas las diluciones tienen un volumen final de 2 ml. Las concentraciones van en un intervalo de:

- ♣ SDS : 0.99 mM a 14.009 mM
- ♣ ALE10: 0.1028 mM a 4.201 mM.
- ♣ ALE30: 0.0063 mM a 3.612 mM

Se tomaron 0.5 ml de cada dilución y se colocaron en un tubo de vidrio de RMN de 5 mm de diámetro externo con calidad para el equipo de RMN de 500 MHz o superior.

4.4. Adquisición y procesamiento de experimentos de RMN

4.4.1. Experimentos de ^1H

Los espectros ^1H se adquirieron mediante la secuencia de pulsos estándar de la casa comercial BRUKER (**zg30**) con los siguientes parámetros: dominio del tiempo (**TD**) 64 K, tiempo de adquisición (**AQ**) de 3.27 s, tiempo de espera entre transientes (**d1**) de 1 s, número de transientes (**NS**) de 16 y 2 *dummy scans* (**DS** o número de transientes adquiridos en los que se pulsa completamente la secuencia correspondiente del experimento a adquirir pero no se acumulan datos). Los espectros se referenciaron a la señal residual del D_2O .

Las FIDs se exportaron al programa MestReNova 11.0, donde se procesaron mediante transformada de Fourier, apodización por función exponencial utilizando un ancho de línea de 0.3 Hz, ajuste manual de fase y corrección de línea base con ajuste polinomial.

4.4.2. Experimentos para medir la difusión molecular

La calibración de los gradientes de campo magnético se realizó ajustando el valor de la intensidad de los gradientes hasta obtener el valor de $\mathbf{D} = 1.9 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ para el HDO residual de una muestra de D_2O (99.9 %-d) a 298K. En la Figura 15 se muestra el decaimiento de la intensidad de la señal del HDO en función de la fuerza del gradiente. El valor de la intensidad de los gradientes obtenido para el equipo Bruker Avance III HD de 500 MHz utilizado fue de 50.12 G cm^{-1} .

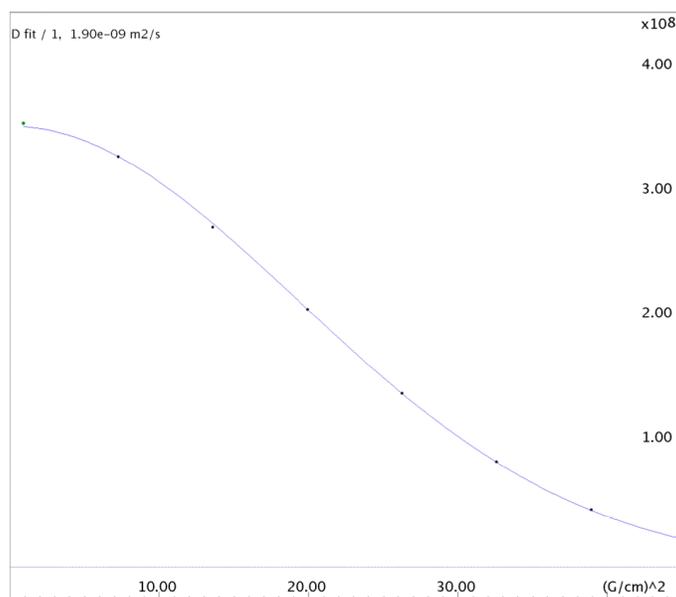


Figura 15. Intensidad de la señal en función de la fuerza de gradiente aplicada en $G\text{ cm}^{-1}$ a 25°C (16 espectros con incrementos lineales de 5 a 95% de la corriente máxima usando la secuencia BPPLIED).

Para los experimentos de difusión se usaron dos secuencias de pulsos diferentes, para el SDS se usó la secuencia de pulsos **LED** con pulsos bipolares **BPPLIED**, cuyo nombre en la librería de Bruker es *ledbpgp2s*. Debido a que los tensoactivos etoxilados requieren mayor fuerza de gradiente y presentaron problemas de convección, se usó una doble secuencia de pulsos **LED** con pulsos bipolares, **DBPPLIED**, cuyo nombre en la librería de Bruker es *dstebpgp3s*. Las condiciones utilizadas fueron:

Para el tensoactivo SDS (secuencia **BPPLIED**): dominio del tiempo (**TD**) 64 K, tiempo de adquisición (**AQ**) de 3 s, tiempo de espera entre transientes (**D1**) de 3 s, número de transientes (**NS**) de 16 y dummy scans (**DS**) de 4, tiempo de difusión (**D20**) de 0.4 s, (**D16**) de 0.0002 s, duración del pulso de gradiente (**P30**) de 500 μs para concentraciones por debajo del valor de CMC y 700 μs para concentraciones por arriba del valor de CMC. Los espectros se referenciaron a la señal residual de D_2O .

Para los tensoactivos ALE10 y ALE30 (secuencia **DBPPLIED**): dominio del tiempo (**TD**) 64 K, tiempo de adquisición (**AQ**) de 3 s, tiempo de espera entre transientes (**D1**) de 2 s, dummy scans (**DS**) de 4, tiempo de difusión (**D20**) de 0.5 s, (**D16**) de 0.0002 s, número de transientes (**NS**) de 16 o 256 dependiendo de la concentración: para ALE10 a concentraciones por arriba de 0.18 mM y para ALE30 para concentraciones por arriba de 0.09mM 16 transientes, mientras que para

concentraciones más bajas 256 transientes. La duración del pulso de gradiente (**P30**) también depende de la concentración: para ALE10 600 μ s para concentraciones de 0.07 a 0.22 mM y 700 μ s para las concentraciones restantes. Para ALE30: 600 μ s para concentraciones de 0.006 a 0.13 mM y 700 μ s para las concentraciones restantes.

Todos los espectros se referenciaron a la señal residual del D₂O.

Para la optimización de la duración y fuerza del gradiente se adquirieron espectros DOSY 1D con el fin de encontrar las condiciones para tener una disminución de la intensidad de la señal aproximada del 90% de la señal total inicial (usando 95% de la corriente máxima). Posteriormente, para adquirir los experimentos pseudo 2D se adquirieron 32 espectros con fuerza del pulso de gradiente entre el 5% y el 95% de la corriente máxima en una rampa lineal.

En la Figura 16, se muestra un ejemplo de un espectro adquirido con el 5% de la corriente máxima (color rojo) y otro con el 95% (color azul). En el espectro del 5% la atenuación de la intensidad de las señales es casi nula (la diferencia respecto a un espectro ¹H es mínima). En cambio, al aplicar el 95% de la corriente máxima la señal correspondiente al disolvente D₂O está totalmente atenuada (molécula de menor tamaño y por tanto de mayor **D**) y la intensidad de las señales correspondientes al tensoactivo disminuye hasta el 90% (molécula más grande con menor **D**).

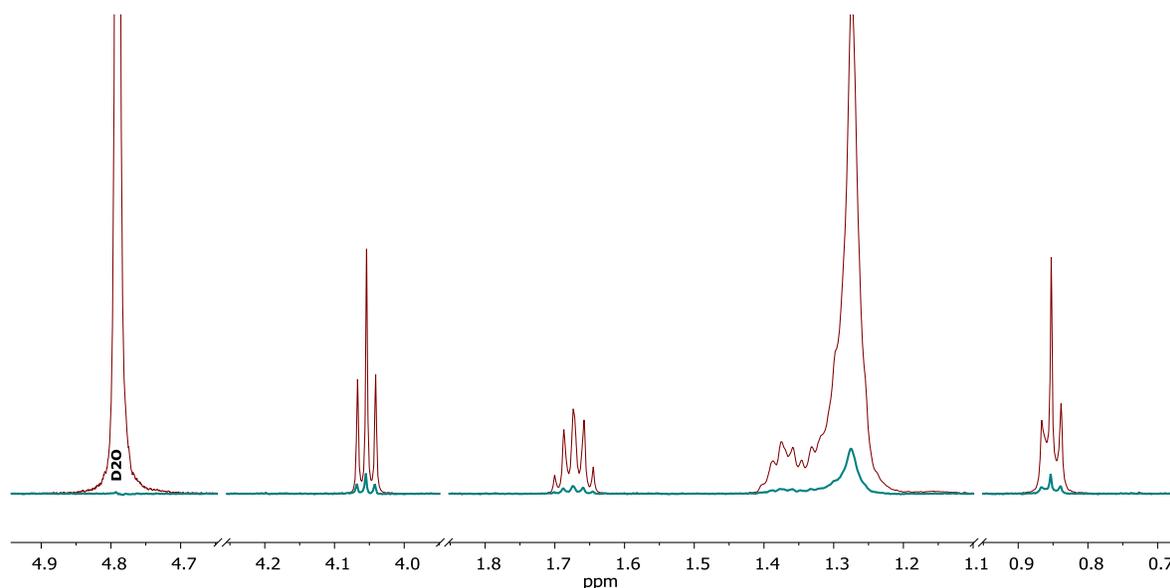


Figura 16. Espectros DOSY 1D del tensoactivo SDS, concentración 8.99 mM. En rojo se muestra el espectro aplicando 5% de la corriente máxima, mientras que en verde se muestra el espectro aplicando el 95% con P30 de 500 μ s y D20 de 400ms.

El procesamiento de los experimentos DOSY (FTR en la 2ª dimensión, ajuste manual de fase, corrección de línea base con ajuste polinomial, apodización con ancho de línea de 1 Hz) se realizó con el software Topspin 3.5 de la casa comercial Bruker-BioSpin. Para la determinación **D**, se aplicó el método de Monte Carlo para la minimización del error cuadrado entre la curva exponencial ideal y los datos experimentales con el software Dynamics Center 2.1.8, (Bruker BioSpin) utilizando la intensidad de las señales.

Por último, para realizar las gráficas de concentración en función de **D** y para la determinación de la CMC se calculó la intersección de las rectas de cada grupo de datos usando el programa Microsoft Excel 2010.

4.4.3. Experimentos para medir T_1 y T_2

En la determinación de T_1 y T_2 se adicionó a las secuencias de pulsos un intervalo de tiempo con presaturación de disolvente para atenuar la señal residual del D_2O y así aumentar la intensidad de las señales del tensoactivo con el fin de tener una mayor precisión en la medida de los tiempos de relajación.

La determinación experimental de T_1 se llevó a cabo utilizando la secuencia de pulsos “recuperación de la inversión” con la adición del módulo de presaturación de disolvente (Figura 17).

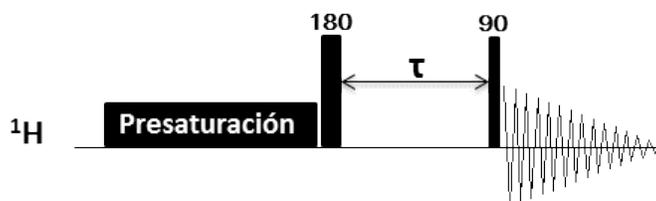


Figura 17. Secuencia de pulsos “recuperación de la inversión” para la determinación de T_1 con un módulo de presaturación de disolvente de 2 s.

Los experimentos se llevaron a cabo utilizando 15 s de tiempo de espera entre transientes (**D1**), 4 *dummy scans* (**DS**), número de transientes de 16 (**NS**), 3.5 s de tiempo de adquisición (**AQ**), tiempo de presaturación del disolvente de 2 s y un dominio del tiempo 46K (**TD**). Para todas las disoluciones con concentración variable, se utilizó una lista de 16 puntos con los siguientes valores de τ en segundos: 0.001, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.8, 1, 1.5, 2.5, 3, 3.5, 4, 8, 10 y 20.

Para la determinación T_2 se usó la secuencia *Carr-Purcell-Meiboom Gill*, **cpmg**, con el módulo de presaturación de disolvente (Figura 18).

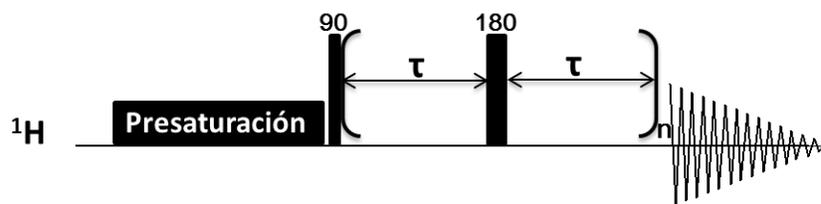


Figura 18. Secuencia de pulsos **cpmg** para la determinación de T_2 con un módulo de presaturación de disolvente de 2 s.

Los experimentos se llevaron a cabo utilizando 15 s de tiempo de espera entre transientes (**D1**), 16 *dummy scans* (**DS**), número de transientes de 16 (**NS**), 1.7 s de tiempo de adquisición (**AQ**), un *dominio del tiempo* 46K (**TD**), tiempo de difusión (**D20**) de 0.5 ms, τ de 300 μ s, tiempo de presaturación del disolvente de 2 s y se utilizó una lista de 12 puntos con los siguientes número de ciclos (n): 2, 6, 10, 30, 60, 100, 200, 400, 700, 1000, 1500 y 200.

El procesamiento de los espectros (FTR en la 2ª dimensión, ajuste manual de fase, corrección de línea base, apodización con ancho de línea de 1 Hz) se realizó con el software Topspin 3.2 de la casa comercial Bruker-BioSpin. Se aplicó el método de Monte Carlo para la minimización del error cuadrado entre la curva exponencial ideal y los datos experimentales para la determinación de los tiempos de relajación T_1 y T_2 con el software Dynamics Center 2.2.4, (Bruker BioSpin) utilizando la intensidad de las señales.

5. Resultados y discusión

Para la implementación de la metodología se utilizó el SDS debido a que es un tensoactivo ampliamente estudiado y aplicado en la industria. En la primera parte de este capítulo se presenta la determinación de la CMC del SDS midiendo el cambio: en el desplazamiento químico, en los tiempos de relajación T1 y T2 y en el coeficiente de difusión, **D**. Posteriormente con la metodología seleccionada se dan los resultados encontrados para los tensoactivos comerciales etoxilados ALE10 y ALE30.

5.1. Dodecil Sulfato de Sodio

5.1.1. Caracterización por ¹H-RMN y DOSY

Para realizar la caracterización de la muestra de SDS y conocer el grado de pureza se adquirió un experimento de ¹H. En la Figura 19 se presenta el espectro y la estructura química del SDS. Como se puede observar en el espectro hay 5 señales, una de ellas corresponde a la señal residual del D₂O (HDO en 4.79 ppm) y las otras 4 al tensoactivo con desplazamientos químicos correspondientes a: CH₃ terminal (H1, triplete, 0.91 ppm), 9 CH₂ de la cadena láurica (H2-10, señal ancha, 1.33 ppm), penúltimo CH₂ de la cadena láurica que es diferente de los demás CH₂ por la influencia que alcanza a ejercer el sulfato (H11, quintuplete, 1.70 ppm) y último CH₂ de la cadena láurica unido directamente al SO₄⁻ (H12, triplete, 4.05 ppm). La intensidad relativa de las señales del espectro es proporcional al número relativo de protones que contribuyen a cada señal. La ausencia de otras señales en el espectro indica que no hay presencia de impurezas en la muestra.

Una vez confirmada la estructura del SDS, se realizó el experimento DOSY 2D (Figura 20) en el que se observan todas las señales del SDS con un valor de **D** de $2.03 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, indicando que se trata de un sólo compuesto. También se observa la señal residual del agua, que siendo una molécula más pequeña, tiene un coeficiente de difusión mayor ($\mathbf{D}=1.48 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$).

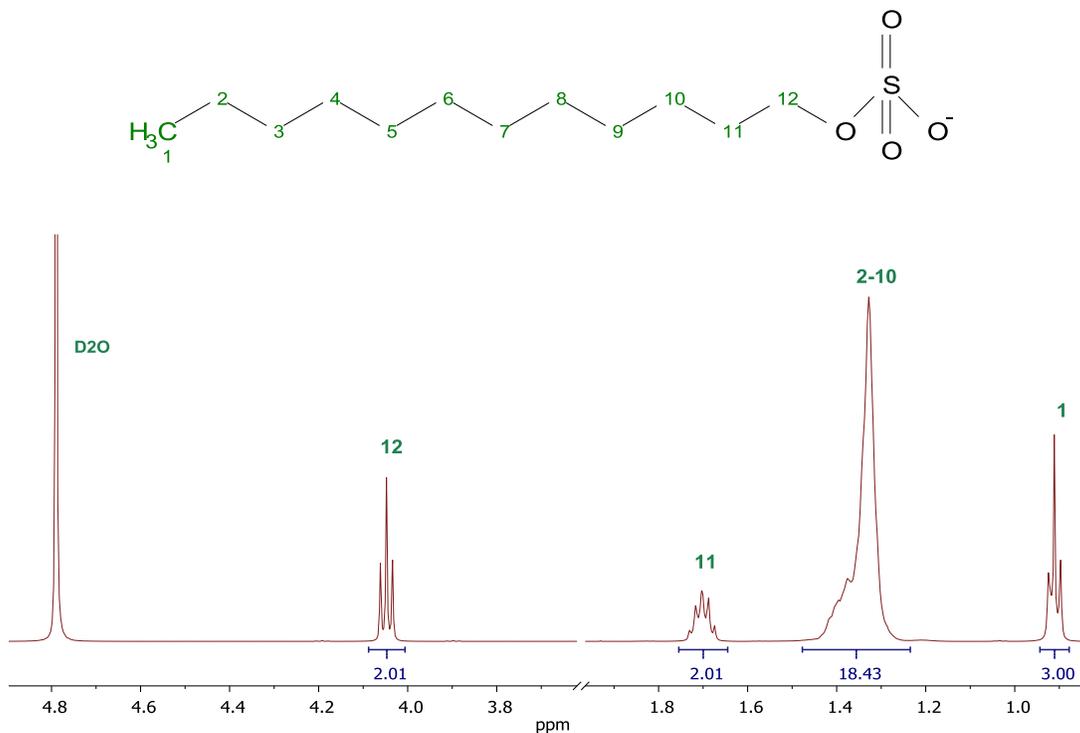


Figura 19. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de una disolución al 1% del SDS (500MHz, D_2O , 25°C). En la parte superior se muestra la estructura química del SDS cuya numeración es con fines de asignación.

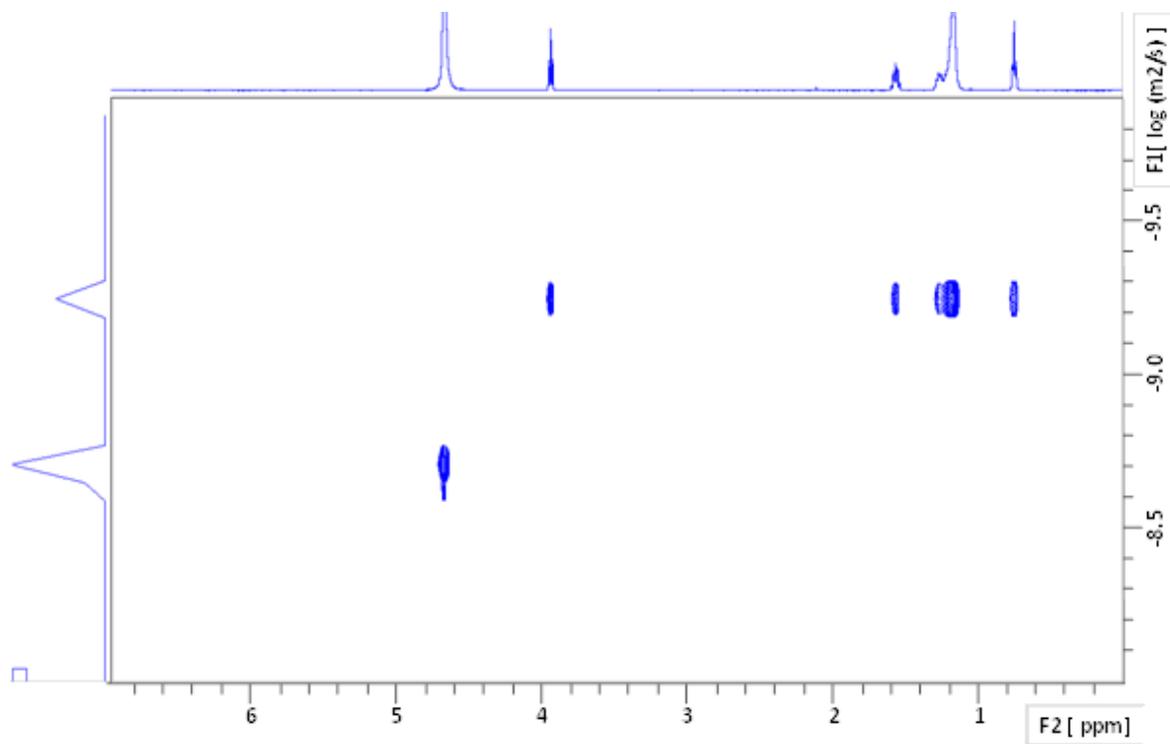


Figura 20. Espectro DOSY 2D del tensoactivo SDS (500MHz, D_2O , 298 K).

5.1.2. Determinación de la CMC

Después de haber caracterizado la muestra del SDS, se continuó con la determinación del valor de su CMC a partir del análisis de disoluciones con diferentes concentraciones. Las disoluciones se prepararon considerando el valor de CMC del SDS reportado en la literatura utilizando diferentes técnicas de análisis, el cual se encuentra alrededor de 8mM (ver referencias en sección 5.1.3).

5.1.2.1. Estudio mediante cambios en el coeficiente de difusión

Para cada una de las disoluciones del tensoactivo SDS, se adquirió el espectro DOSY 2D y se determinó el valor del **D**, los resultados de **D** en función de la concentración de tensoactivo se muestran en la Tabla 1 y se graficaron en la Figura 21, en donde claramente se observa un cambio en el comportamiento de **D** alrededor de 8 mM.

Tabla 1. Valores de **D** para las diferentes concentraciones del tensoactivo SDS.

Concentración /mM	$D(x10^{-10} /m^2 s^{-1})$
0.99	4.61
2.99	4.61
4.99	4.58
7.00	4.38
8.20	4.52
8.99	4.21
10.00	3.57
11.01	3.32
11.99	2.51
13.00	2.13
14.01	2.03

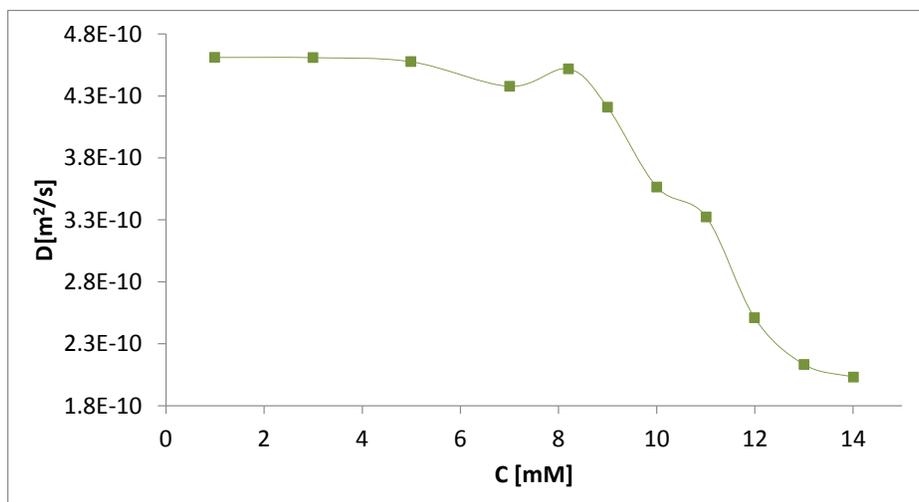


Figura 21. Gráfica de D en función de la concentración del SDS.

Como se muestra en la Figura 22, para la determinación del valor de CMC del SDS, se buscó el punto de inflexión ajustando a líneas rectas los valores antes del cambio de pendiente (antes de la formación de las micelas, $Y = -2.3912 \cdot 10^{-12} X + 4.6539 \cdot 10^{-10}$) y los valores después del cambio de pendiente (después de la formación de las micelas, $Y = -4.4863 \cdot 10^{-11} X + 8.1900 \cdot 10^{-10}$), para posteriormente, por un método matemático básico de igualación de rectas, obtener el valor de la intersección en el **eje x** que corresponde al valor de CMC de **8.32 mM**.

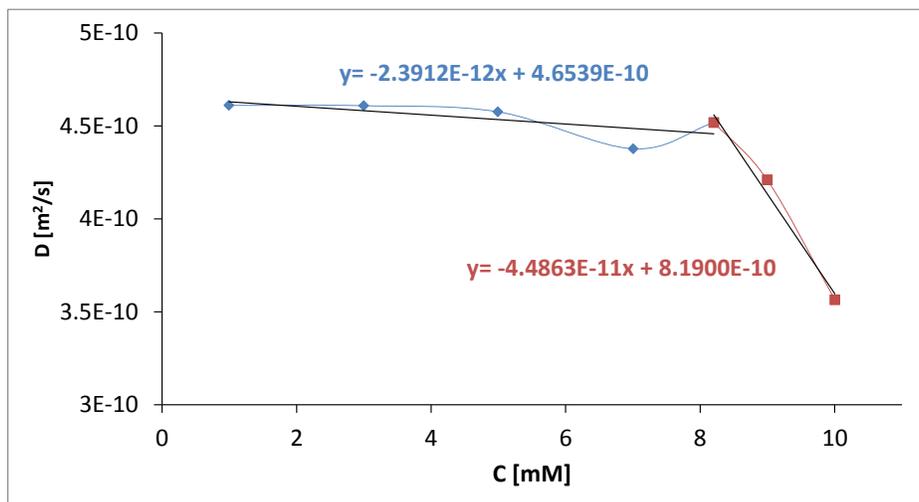


Figura 22. Gráfica con las rectas antes y después del punto de inflexión de los valores de D en función de la concentración de SDS.

5.1.2.2. Estudio mediante cambios en el desplazamiento químico

De manera alternativa, también se obtuvo el valor de la CMC mediante el estudio del desplazamiento químico de las señales del SDS en los espectros de ^1H a las diferentes concentraciones, ya que el ambiente químico de los ^1H se modifica al formarse las micelas.³⁹

Usando el software MestreNova, todos los espectros se apilaron para realizar la comparación entre ellos. La Figura 23 muestra los 11 espectros de ^1H obtenidos para cada disolución y en la Tabla 2 se enlistan los valores de desplazamiento químico para las dos señales que muestran mayor cambio, el metilo H1 (que se encuentra al centro de la micela) y el metileno H12 (que se encuentra en el exterior de la micela).

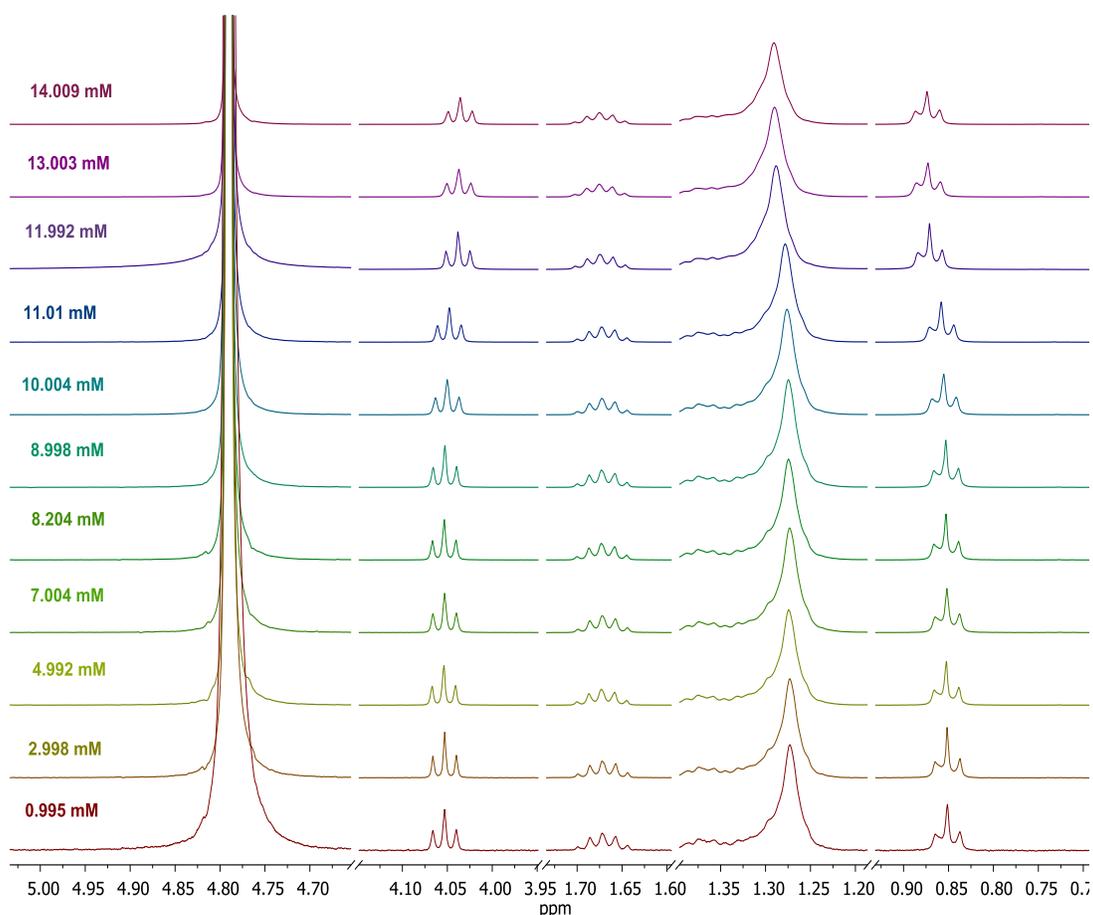


Figura 23. Espectro de ^1H -RMN del SDS a diferentes concentraciones donde se observa el cambio del desplazamiento químico.

³⁹Cui X., Mao S., Liu M., Yuan H. & Du Y., *Langmuir*, 24, 10771-10775, (2008).

Tabla 2. Desplazamiento químico para los dos triplete del SDS a diferentes concentraciones.

Concentración /mM	Metilo H1 (ppm)	Metileno H12 (ppm)
0.99	0.8512	4.0530
2.99	0.8515	4.0530
4.99	0.8524	4.0538
7.00	0.8517	4.0530
8.20	0.8527	4.0533
8.99	0.8529	4.0527
10.00	0.8553	4.0500
11.01	0.8581	4.0477
11.99	0.8712	4.0381
13.00	0.8729	4.0372
14.01	0.8738	4.0357

Al graficar los valores de desplazamiento químico del metilo H1 y el metileno H12 en función de la concentración (Figura 24), se puede observar que para ambos protones, aproximadamente a partir 8.20 mM el valor de desplazamiento químico se ve modificado obteniéndose un primer punto de inflexión, lo que indica el cambio en el entorno químico debido a la formación de las micelas. El segundo punto de inflexión en ambas gráficas, alrededor de 12 mM, corresponde a la aglomeración de las micelas, este parámetro de concentración no es objetivo de estudio en esta tesis.

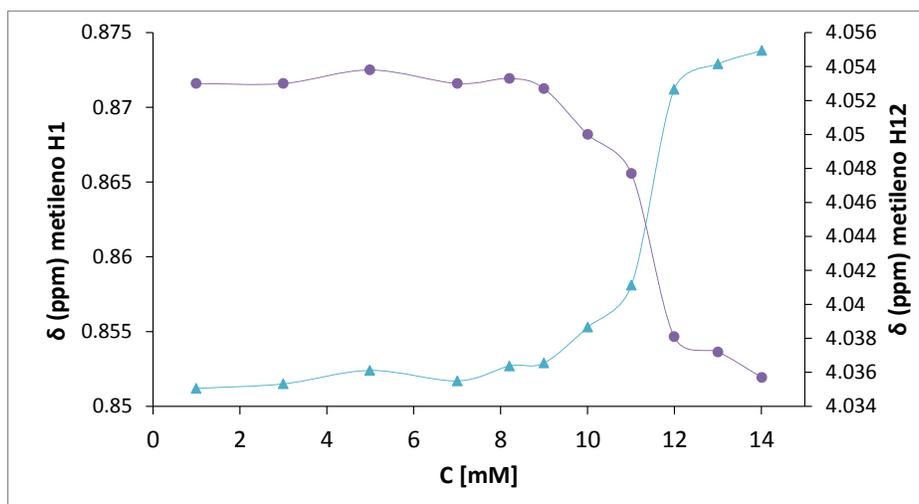


Figura 24. Gráfica de desplazamiento químico del metilo H1 (Δ azul) y el metileno H12 (● morado) en función de la concentración de SDS.

Para la determinación del valor de CMC, en ambas gráficas (H1 y H12), los valores antes y después del cambio de pendiente se ajustaron a líneas rectas con sus respectivas ecuaciones. En la Figura 25, se muestran los datos del metilo H1 y del metileno H12. Para el metilo H1 las ecuaciones obtenidas son:

- Antes de la formación de las micelas (antes del cambio de pendiente):

$$Y=7.8454*10^{-5}x + 8.5118*10^{-1}$$

- Después de la formación de las micelas (después del cambio de pendiente):

$$Y=2.5845*10^{-3}x + 8.2958*10^{-1}$$

El valor de CMC es de 8.43 mM.

Para el metileno H12 las ecuaciones obtenidas son:

- Antes de la formación de las micelas (antes del cambio de pendiente):

$$Y=5.0601*10^{-16}x + 4.0530$$

- Después de la formación de las micelas (después del cambio de pendiente):

$$Y=-2.4851*10^{-3}x + 4.0750$$

El valor de CMC es de 8.85 mM.

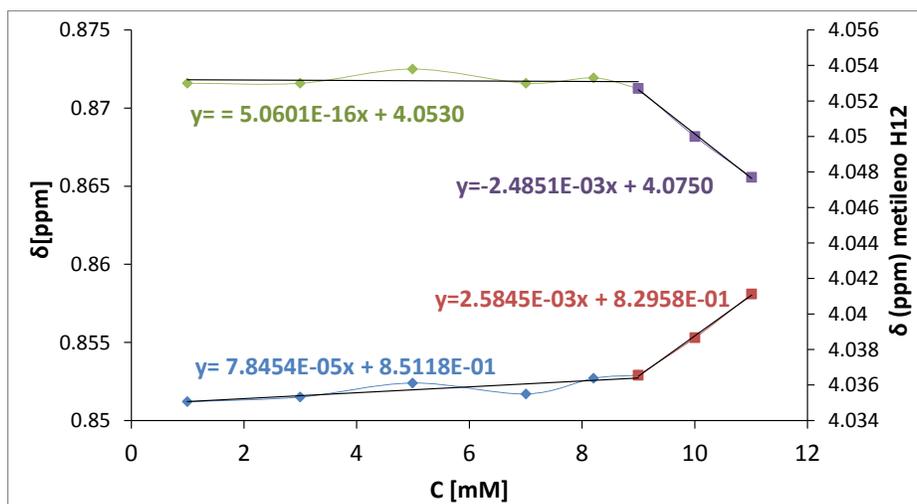


Figura 25. Gráfica con las rectas antes y después del punto de inflexión de los valores de desplazamiento químico del metilo H1 (azul-rojo) y del metileno H12 (verde-morada) en función de la concentración de SDS.

Considerando los valores obtenidos para los dos protones estudiados, se determinó que el valor promedio de la CMC del SDS mediante desplazamiento químico es de **8.64 mM**.

5.1.2.3. Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_1

Con el método de “recuperación de la inversión” descrito en la sección 4.4.3, se obtuvieron los valores de T_1 de los protones del tensoactivo SDS. En la Figura 26 se muestra un ejemplo de las gráficas obtenidas de la intensidad de señal en función del tiempo, donde se puede observar que ajusta adecuadamente para una curva monoexponencial descrita por la Ecuación 3.

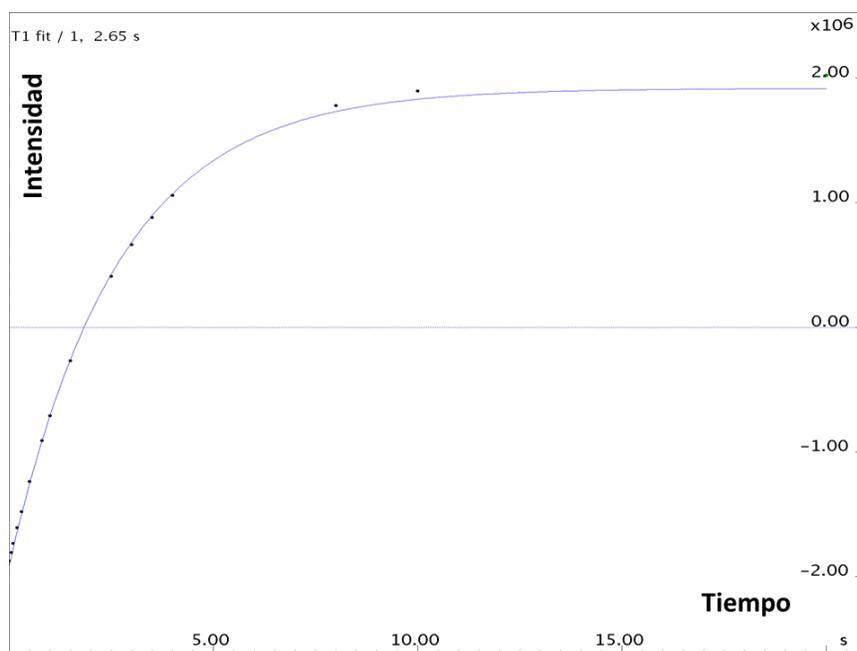


Figura 26. Gráfica exponencial de la intensidad de señal del metilo H1 del SDS (7.00 mM) en función del tiempo τ para la determinación de T_1 con el experimento “recuperación de la inversión” (180° - τ - 90° -AQC). El valor de T_1 ajustado a la Ecuación 3 es 2.65 s.

La determinación de T_1 se realizó en las diferentes concentraciones para el metilo H1, el metileno H11 y H12, y el promedio de los 18 protones correspondientes a los CH_2 de la cadena central, H2-10. Los valores de tiempos de relajación obtenidos se muestran en la Tabla 3 y en la Figura 27. La tendencia en el comportamiento de T_1 de los protones es la misma, a mayor concentración menor valor de T_1 . Por ejemplo, la señal del metilo H1, toma valores de T_1 que van de 2.65 a 1.67 s. En las concentraciones más bajas, hasta aproximadamente 8.20 mM, los valores son muy parecidos (2.65 a 2.64 s) ya que no hay formación de micelas y las cadenas láuricas están moviéndose libremente en el medio. Al aumentar la concentración, comienza la formación de micelas y disminuye la movilidad, por ende los valores de T_1 comienzan a disminuir.

Los datos de los otros protones tienen un comportamiento similar entre sí, por ejemplo, los protones H2-10 y H11, tienen valores de T_1 que disminuyen de 1.15 a 0.87 s y 1.07 a 0.87 s respectivamente. Por último, para H12, los valores de T_1 van en un intervalo de 1.37 a 1.07 s.

El comportamiento anterior se debe a que en el momento en el que se forman las micelas, la relajación de los protones se hace más eficiente, es decir, su valor disminuye debido a que el ambiente cambia de D_2O a uno hidrocarbonado. Los valores de los tiempos de relajación en las micelas, sugieren que la movilidad molecular en el interior de la misma está restringida.⁴⁰

Tabla 3. Tiempo de relajación T_1 para las señales del SDS.

		T_1 (s)			
		H1	H2-10	H11	H11
Concentración mM	Señal				
2.99		2.65	1.15	1.10	1.37
4.99		2.61	1.14	1.09	1.37
7.00		2.65	1.15	1.09	1.35
8.20		2.64	1.15	1.09	1.35
8.99		2.56	1.12	1.08	1.35
10.00		2.43	1.10	1.07	1.34
11.01		2.24	1.05	1.01	1.25
11.99		1.78	0.93	0.91	1.12
13.00		1.71	0.89	0.88	1.08
14.01		1.67	0.87	0.87	1.07

⁴⁰Shi-Zhen, M., You-Ru, D., *Acta Physico-Chimica Sinica*, 19 (7), 675-680, (2003).

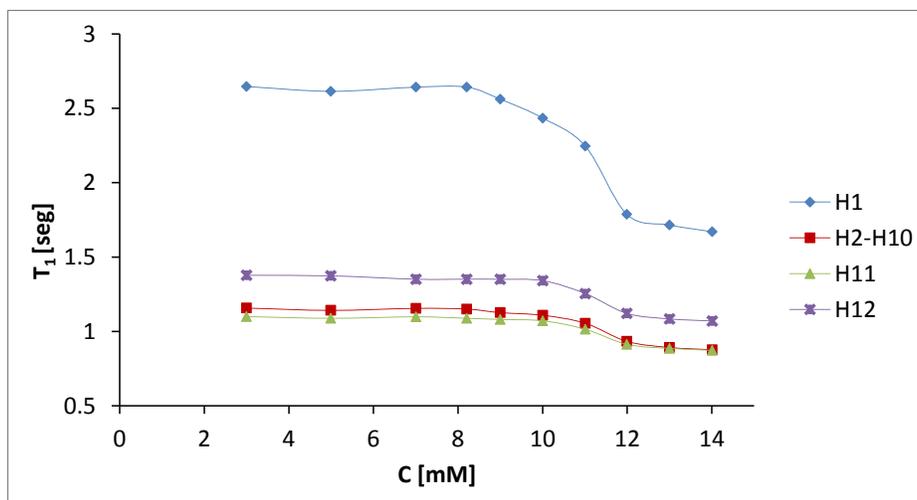


Figura 27. Gráfica de T_1 en función de la concentración del SDS para cada tipo de protón.

Para el cálculo de la CMC se eligió la señal del metilo H1 teniendo en cuenta que al formarse las micelas es el que presenta mayor cambio de entorno. En la gráfica de la Figura 28 se observa el punto de inflexión para determinar el valor de CMC alrededor de 8mM. El segundo punto de inflexión que esta alrededor de 11 mM corresponde al valor de concentración de la aglomeración de las micelas.

La gráfica de la Figura 28 muestra las rectas con las que se obtuvo el punto de inflexión, las ecuaciones que ajustan a los datos son:

- Antes de la formación de las micelas (antes del cambio de pendiente):

$$Y=7.0406 \cdot 10^{-4}x + 2.6324$$

- Después de la formación de las micelas (después del cambio de pendiente):

$$Y=-1.5696 \cdot 10^{-1}x + 3.9841$$

Mediante la igualación de las ecuaciones de las rectas, el valor de CMC es de **8.57mM**.

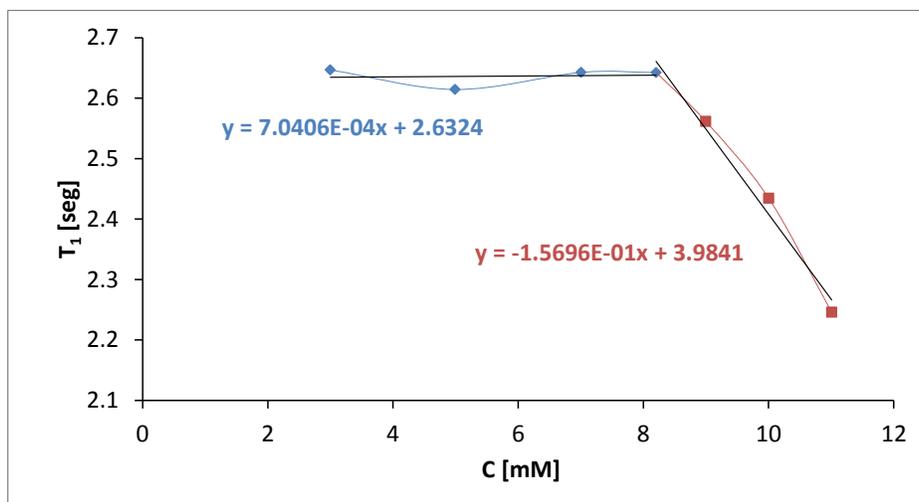


Figura 28. Gráfica con las rectas antes y después del punto de inflexión de los valores de T_1 del metilo H1 en función de la concentración del SDS.

5.1.2.4. Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_2

Con la secuencia **cpmg** descrita en la sección 4.4.3, se obtuvieron los valores de T_2 del SDS a diferentes concentraciones para la determinación de la CMC del tensoactivo. En la Figura 29 se muestra un ejemplo de las gráficas obtenidas de intensidad de señal en función del tiempo, donde se puede observar que ajusta para una curva monoexponencial descrita por la Ecuación 4.

La determinación de T_2 se realizó para el metilo H1, el metileno H11 y H12, y el promedio de los 18 protones correspondientes a los CH_2 de la cadena central, H2-10. Los valores de los tiempos de relajación obtenidos se muestran en la Tabla 4 y la gráfica correspondiente en la Figura 30. La tendencia en el comportamiento de T_2 para todos los protones es la misma, a mayor concentración menor valor de T_2 . Por ejemplo, el metilo H1 hasta aproximadamente 8.99 mM, tiene valores de T_2 entre 1.80 y 1.75 s, lo que no representa un cambio drástico en el tamaño molecular ni en la movilidad de los núcleos. Pero a concentraciones mayores, los valores de T_2 disminuyen debido a la formación de las micelas.

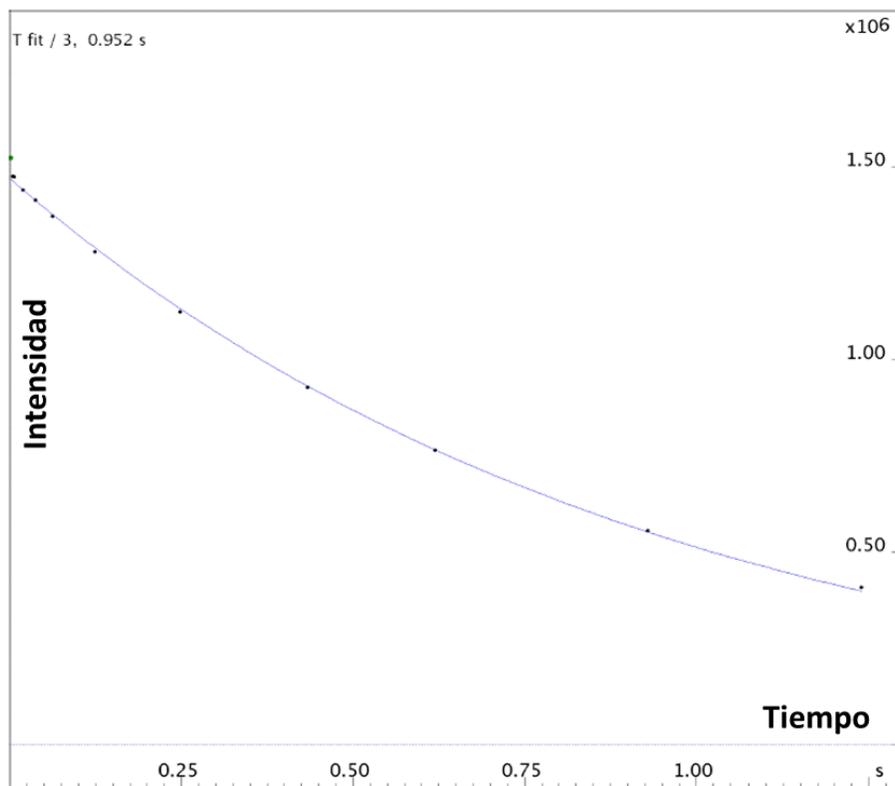


Figura 29. Gráfica exponencial de la intensidad de señal del metileno H11 del SDS (7.00 mM) en función del tiempo para la determinación de T_2 con el experimento *cpmg* (90° - $[\tau$ - 180° - $\tau]_n$ -AQC). El valor de T_2 ajustado a la Ecuación 4 es 0.95 s.

Tabla 4. Tiempo de relajación T_2 para las señales del SDS.

		T_2 (s)			
		H1	H2-10	H11	H11
Concentración mM	Señal				
2.99		1.79	1.01	0.95	1.14
4.99		1.80	1.02	0.95	1.15
7.00		1.78	1.05	0.95	1.18
8.20		1.79	1.05	0.93	1.12
8.99		1.80	1.03	0.90	1.13
10.00		1.75	0.97	0.86	1.02
11.01		1.50	0.87	0.73	0.71
11.99		1.20	0.63	0.57	0.70
13.00		1.13	0.64	0.58	0.71
14.01		1.12	0.62	0.56	0.68

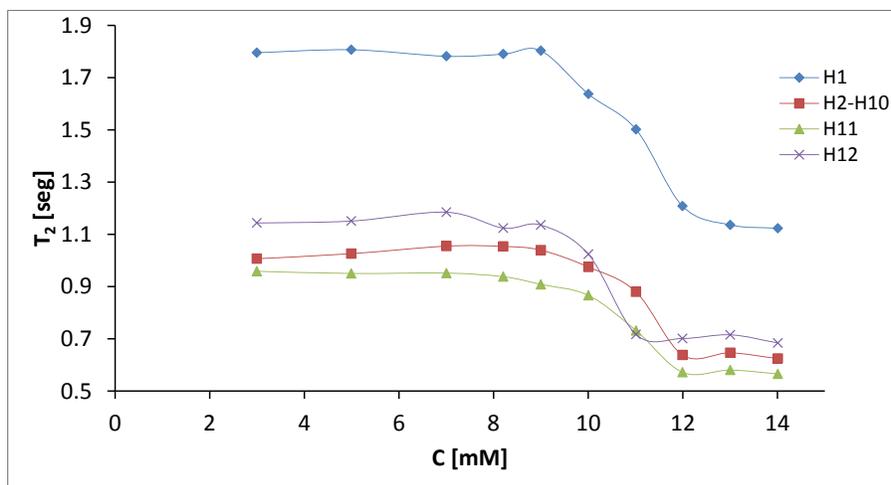


Figura 30. Gráfica de T_2 en función de la concentración del SDS para cada tipo de protón.

Para el cálculo de la CMC se eligió la señal del metilo H1 teniendo en cuenta que al formarse las micelas es el que presenta mayor cambio de entorno. Las ecuaciones que describen el primer punto de inflexión (Figura 31), el cual proporciona el valor de CMC son:

- Antes de la formación de las micelas (antes del cambio de pendiente):

$$Y = -2.4305 \cdot 10^{-3} x + 1.8078$$

- Después de la formación de las micelas (después del cambio de pendiente):

$$Y = -1.4978 \cdot 10^{-1} x + 3.1459$$

Mediante la igualación de las ecuaciones de las rectas, el valor de CMC es de **9.08mM**.

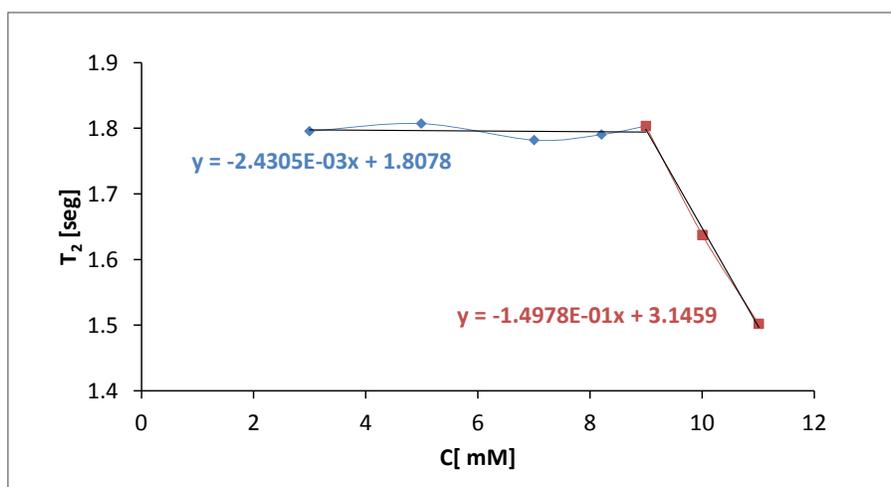


Figura 31. Gráfica con las rectas antes y después del punto de inflexión de los valores de T_2 del metilo H1 en función de la concentración del SDS.

5.1.3. Comparación con valores reportados en la literatura

En la Tabla 5, se enlistan algunas referencias de valores de CMC del SDS reportadas en la literatura. Los valores oscilan entre 7.76 y 8.70 mM dependiendo del método utilizado. Comparando con los valores obtenidos en este trabajo para la CMC del SDS, 8.32 mM mediante **D**, 8.64 mM para desplazamiento químico, 8.57 mM para T_1 y 9.08 mM para T_2 , se presume que los valores calculados por **D**, desplazamiento químico y T_1 se encuentran dentro del intervalo reportado en la literatura, por lo cual dichas técnicas representan una buena alternativa para su determinación. Sin embargo, el valor de CMC determinado mediante T_2 resultó ser ligeramente mayor a lo reportado en la literatura.

Tabla 5. Valores de CMC reportados en la literatura obtenidos por diferentes técnicas.

CMC	Técnica	Referencia
8.10 mM	Índice de refracción	41
7.76 mM	Conductimetría	42
8.08 mM	Conductimetría	43
8.30 mM	Electroforesis capilar	44
8.70 mM	Potenciometría	45
8.30 mM	RMN	45

5.2. Tensoactivos ALE10

5.2.1. Caracterización por ^1H y DOSY

Para hacer la caracterización del tensoactivo ALE10 y conocer el grado de pureza se adquirió un experimento de ^1H . En la Figura 32 se observa el espectro y la estructura química del ALE10. Al ser un tensoactivo de gran tamaño molecular, las señales son anchas y no se aprecia la multiplicidad.

Cabe señalar que en ALE10 es un producto comercial y un producto de polimerización, por lo que los 10 moles de óxido de etileno son normalmente un promedio cercano al producto mayoritario.

⁴¹ Tan H.C., Huang J. Z. & Guang H. X., *Analytical Biochemistry*, 401, 144–147, (2012).

⁴² Tennouga L., Mansri A., Medjahed K., Chetouani A. & Warad I., *Mater Environ Scientist.*, 6 (10), , 2711-2716 (2015).

⁴³ E. Fuguet et al. *Analytical Chemistry*, 548, , 95–100, (2005).

⁴⁴ Cifuentes A., Bernal J. L., and Diez M. J.C., *Analytical Chemistry*, 69 (20), 4271-4274, (1997) .

⁴⁵ Javadian S. *Journal of Molecular Liquids*, 137, 74–79. (2008).

En el espectro se observan 6 regiones con señales asignadas, una de ellas corresponde a la señal residual del D₂O (HDO en 4.79 ppm) y las otras 5 al tensoactivo: CH₃ terminal (H32, triplete, 0.91 ppm), 9 CH₂ de la cadena láurica (H23-31, señal ancha, 1.32 ppm), penúltimo y último CH₂ de la cadena láurica unido al oxígeno antes de iniciar la cadena etoxilada (H22 y H21, señales anchas, 1.59 y 3.47 ppm respectivamente), CH₂ del grupo exilado unido a la cadena láurica (H20 y H19, señales anchas, 3.61 y 3.66 ppm respectivamente) y 18 CH₂ que conforman el resto de la cadena etoxilada (H18-H1, señal ancha, 3.72 ppm). La intensidad relativa de las señales del espectro es proporcional al número relativo de protones que contribuyen a cada señal. La ausencia de otras señales en el espectro indica la ausencia de impurezas en la muestra.

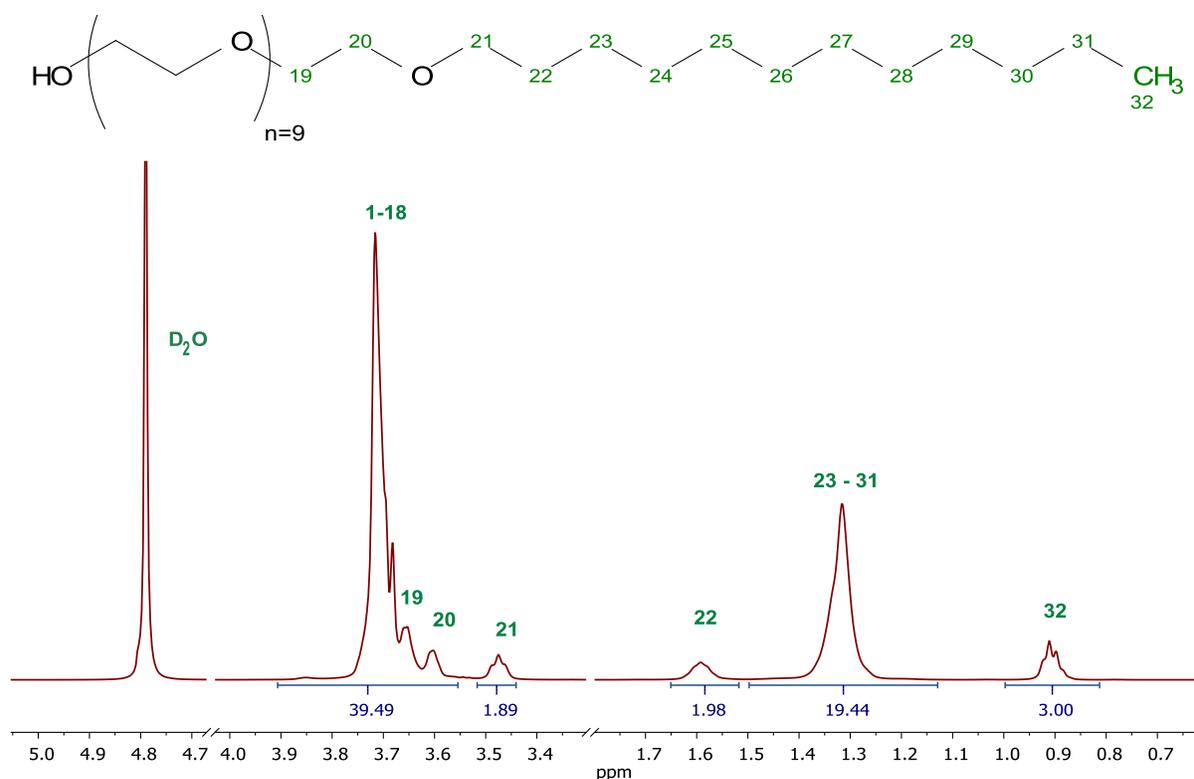


Figura 32. Espectro de ¹H-RMN del alcohol láurico etoxilado con 10 moles de óxido de etileno (500MHz, D₂O, 25°C). En la parte superior se muestra la estructura química del tensoactivo ALE10.

5.2.2. Determinación de la CMC

Una vez caracterizada la muestra del tensoactivo ALE10, se continuó con la realización de disoluciones con diferentes concentraciones para la determinación de la CMC.

5.2.2.1. Coeficiente de difusión en función de la concentración

Para cada una de las disoluciones del tensoactivo, se adquirió el espectro DOSY 2D y se determinó el valor de **D**, los resultados de **D** en función de la concentración de tensoactivo se muestran en la El segundo punto de inflexión que esta alrededor de 0.2 mM corresponde al valor de concentración de la aglomeración de las micelas.

Tabla 6 y en la Figura 33, en donde claramente se observa un cambio en el comportamiento de **D** alrededor de 0.15 mM. El segundo punto de inflexión que esta alrededor de 0.2 mM corresponde al valor de concentración de la aglomeración de las micelas.

Tabla 6. Valores de **D** para las diferentes concentraciones del tensoactivo ALE10.

Concentración /mM	$D(\times 10^{-10} /m^2 s^{-1})$
0.07	1.66
0.10	1.66
0.13	1.62
0.15	1.58
0.19	1.43
0.22	1.21
0.27	1.17
0.29	1.09
0.34	1.07
0.43	0.91
0.6	0.84
4.20	0.51

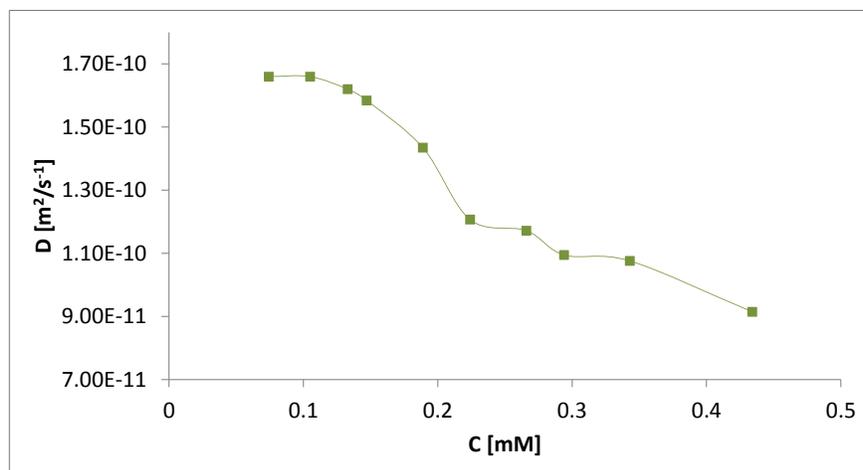


Figura 33. Gráfica de D en función de la concentración del ALE10.

Siguiendo el mismo tratamiento de datos que se usó con el SDS, se ajustaron líneas rectas al punto de inflexión para obtener las ecuaciones correspondientes, tal y como se muestra en la Figura 34, para posteriormente determinar el valor de CMC de este tensoactivo. Las ecuaciones correspondientes son:

- Antes de la formación de las micelas (antes del cambio de pendiente):

$$Y = -6.7168 \cdot 10^{-11} x + 1.7166 \cdot 10^{-10}$$

- Después de la formación de las micelas (después del cambio de pendiente):

$$Y = -4.8619 \cdot 10^{-10} x + 2.3162 \cdot 10^{-10}$$

El valor de CMC del tensoactivo ALE10 es de **0.14 mM**.

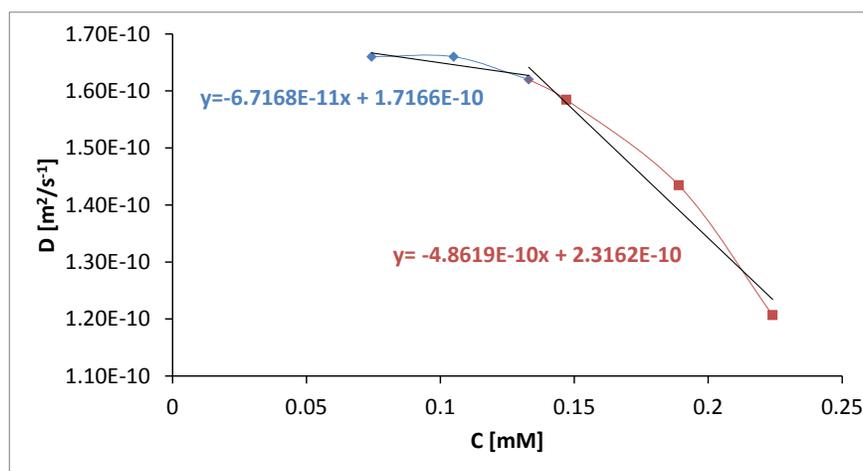


Figura 34. Gráfica con las rectas antes y después del punto de inflexión de los valores de D en función de la concentración de ALE10.

5.2.2.2. Estudio mediante cambios en el desplazamiento químico

La determinación del valor de CMC para el tensoactivo etoxilado ALE10 mediante el estudio del cambio del desplazamiento químico no fue posible debido a que las señales observadas en el espectro de ^1H son muy anchas y no se observó cambio medible en el desplazamiento de las señales al variar la concentración. Estos resultados son congruentes con la literatura, la cual reporta que para algunos tensoactivos el cambio en el desplazamiento químico del ^1H en función de la concentración es muy pequeño y difícilmente se puede observar el punto de inflexión que indica la formación de micelas.⁴⁶

5.2.2.3. Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_1

La determinación de la CMC del tensoactivo ALE10 también se realizó estudiando el cambio en el tiempo de relajación T_1 con la misma metodología implementada para el SDS. En la Figura 35 se muestra un ejemplo de las gráficas obtenidas de intensidad de señal en función del tiempo, donde se puede observar un ajuste adecuado de la curva monoexponencial descrita por la Ecuación 3.

⁴⁶Shi-Zhen, M., You-Ru, D., *Acta Physico-Chimica Sinica*, 19 (7), 675-680, (2003).

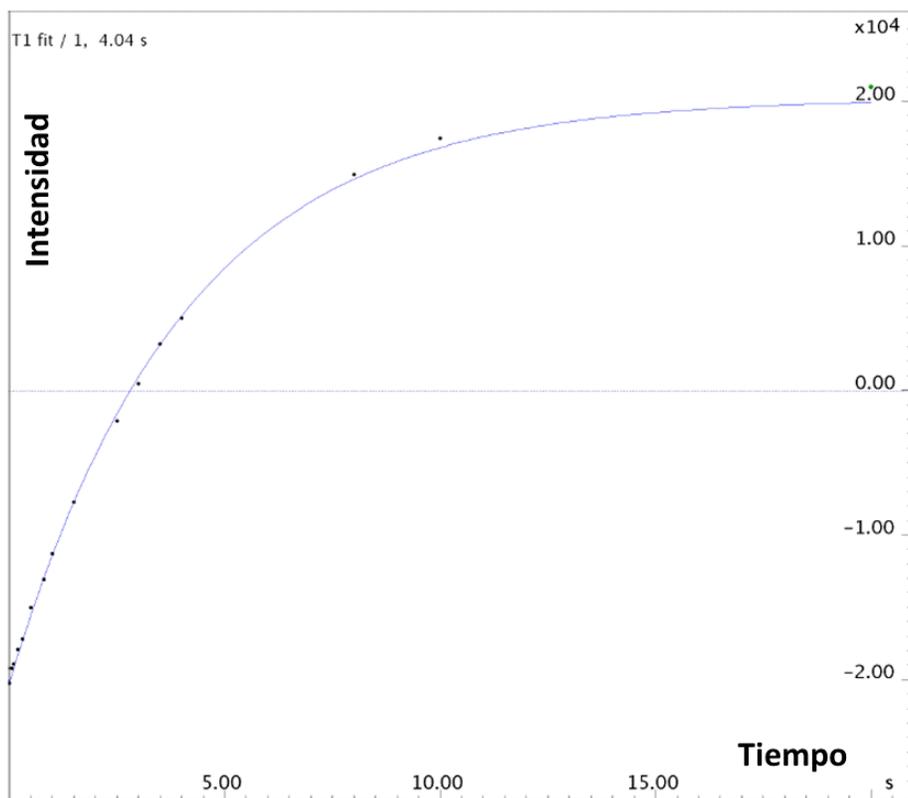


Figura 35. Gráfica exponencial de la intensidad de señal del metilo H32 del ALE10 (0.10 mM) en función del tiempo τ para la determinación de T_1 con el experimento "recuperación de la inversión" (180° - τ - 90° -AQC). El valor de T_1 ajustado a la Ecuación 3 es 4.04s.

Para la determinación de T_1 se analizaron dos señales representativas: el metilo de la cadena láurica H32 y el CH_2 de la cadena láurica unido a la cadena etoxilada H21. El primero está en el centro de las micelas formadas, mientras que el segundo está en medio de las cadenas. No fue posible seguir el comportamiento de T_1 del CH_2 unido al OH, que es el que está justo al borde de la esfera de micelización, ya que su desplazamiento químico coincide con el de los otros CH_2 etoxilados.

Los valores de tiempos de relajación en función de la concentración se muestran en la Tabla 7 y en la Figura 36. La tendencia en el comportamiento de T_1 de los protones analizados del ALE10 muestra que a mayor concentración de tensoactivo el valor de T_1 disminuye. El metilo H32, toma valores que van de 4.04 a 1.06 s. El primer cambio de pendiente indica la formación de las micelas y es visible después del segundo punto de la curva, debido a la baja sensibilidad de la técnica no es posible estudiar concentraciones más bajas. En las concentraciones de 0.10 y 0.13 mM el valor de T_1 casi no varía (4.04 y 4.00 s), ya que no hay cambio en el tamaño ni en la movilidad del sistema.

Conforme la concentración aumenta, el T_1 disminuye. El metileno H21 presenta la misma tendencia en el comportamiento, tomando valores que van de 1.46 a 0.53 s.

Tabla 7. Tiempo de relajación T_1 para las señales del ALE10.

Concentración mM	Señal	T_1 (s)	
		H32	H21
0.10		4.04	1.46
0.13		4.00	1.34
0.15		3.20	0.86
0.19		1.84	0.54
0.22		1.63	0.56
0.27		1.48	0.54
0.29		1.46	0.53
0.34		1.34	0.55
0.43		1.30	0.53
0.6		1.07	0.52
4.20		1.06	0.54

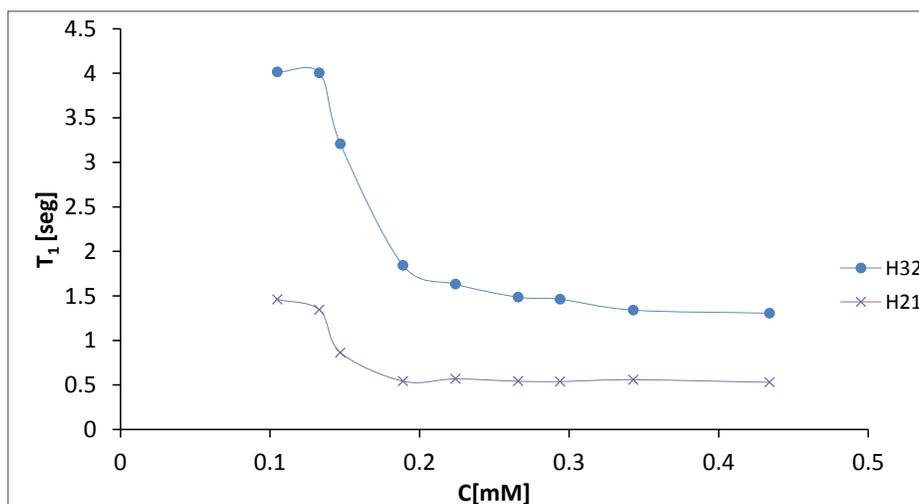


Figura 36. Gráfica de T_1 en función de la concentración del ALE10 para cada tipo de protón estudiado.

La determinación de la CMC se llevó a cabo utilizando la señal del metilo H32, que es la señal que pierde más movilidad al formarse las micelas y en la que se observa un mayor decaimiento en la relajación T_1 y por tanto, su determinación tiene menos error. Como se ha hecho anteriormente,

para buscar el punto de inflexión (Figura 37) se ajustaron a líneas rectas los valores obtenidos en función de la concentración, cuyas ecuaciones son las siguientes:

- Antes de la formación de las micelas (antes del cambio de pendiente):

$$Y=1.0853x + 4.1403$$

- Después de la formación de las micelas (después del cambio de pendiente):

$$Y=-3.7198 \cdot 10^{-1}x + 8.8328$$

El valor de CMC es de **0.13 mM**.

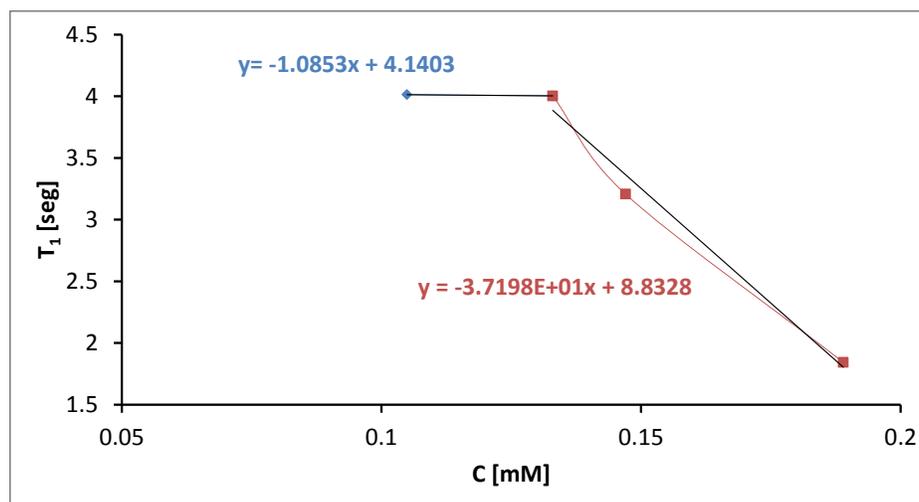


Figura 37. Gráfica con las rectas antes y después del punto de inflexión de los valores de T_1 del metilo H32 en función de la concentración del ALE10.

5.2.2.4. Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_2

La determinación del valor de CMC para el tensoactivo etoxilado ALE10 mediante el estudio del cambio de T_2 no se realizó debido a que en las primeras mediciones se observó que las curvas de intensidad en función a los números de ciclos se ajustaban a una exponencial con un error considerable.

5.3. Tensoactivo ALE30

5.3.1. Caracterización por ^1H y DOSY

Para realizar la caracterización del tensoactivo ALE30 y conocer el grado de pureza se adquirió un experimento de ^1H (Figura 38) en el que se puede observar que las señales son anchas debido a que es un tensoactivo de gran tamaño molecular, por lo que no se observa bien la multiplicidad.

ALE30, también es un producto comercial y un producto de polimerización, por lo que los 30 moles de óxido de etileno son normalmente un promedio cercano al producto mayoritario.

En el espectro hay 6 regiones con señales asignadas: una de ellas corresponde a la señal residual del D₂O (HDO en 4.79 ppm) y las otras 5 al tensoactivo: CH₃ terminal (H72, triplete, 0.92 ppm), 9 CH₂ de la cadena láurica (H63-H71, señal ancha, 1.32 ppm), penúltimo y último CH₂ de la cadena láurica unido al oxígeno antes de iniciar la cadena etoxilada (H62 y H61, señales anchas, 1.59 y 3.48 ppm respectivamente), CH₂ del grupo exilado unido a la cadena láurica (H60 y H59, señales anchas, 3.61 y 3.65 ppm respectivamente) y los CH₂ que conforman el resto de la cadena etoxilada (H58-H1, señal ancha, 3.72 ppm). La intensidad relativa de las señales del espectro es proporcional al número relativo de protones que contribuyen a cada señal. La ausencia de otras señales en el espectro indica la ausencia de impurezas en la muestra.

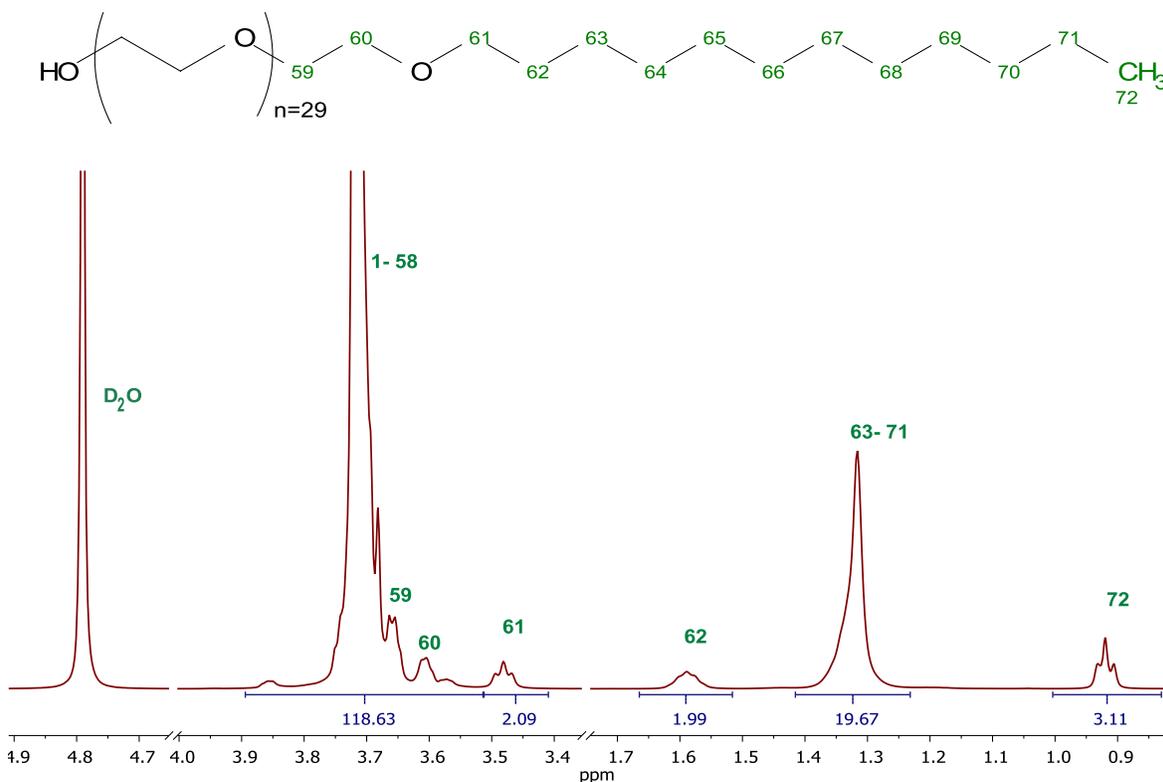


Figura 38. Espectro de ¹H- RMN del alcohol láurico etoxilado con 30 moles de óxido de etileno (500MHz, D₂O, 25°C). En la parte superior se muestra la estructura química del tensoactivo ALE30.

5.3.2. Determinación de la CMC

Una vez caracterizada la muestra del tensoactivo ALE30, se continuó con la determinación del valor de la CMC a partir de la preparación de disoluciones a diferentes concentraciones.

5.3.2.1. Coeficiente de difusión en función de la concentración

Para cada una de las disoluciones se adquirió el espectro DOSY 2D y se determinó el valor de **D**, los resultados de **D** en función de la concentración de tensoactivo se muestran en la Tabla 8 y en la Figura 39, en donde claramente se observa un cambio en el comportamiento de **D** alrededor de 0.132 mM.

Tabla 8. Valores de **D** para las diferentes concentraciones del tensoactivo ALE30.

Concentración /mM	$D(x10^{-10} /m^2s^{-1})$
0.006	1.54
0.039	1.55
0.051	1.56
0.085	1.55
0.090	1.54
0.132	1.44
0.325	1.07
0.361	0.93
3.613	0.51
7.226	0.43

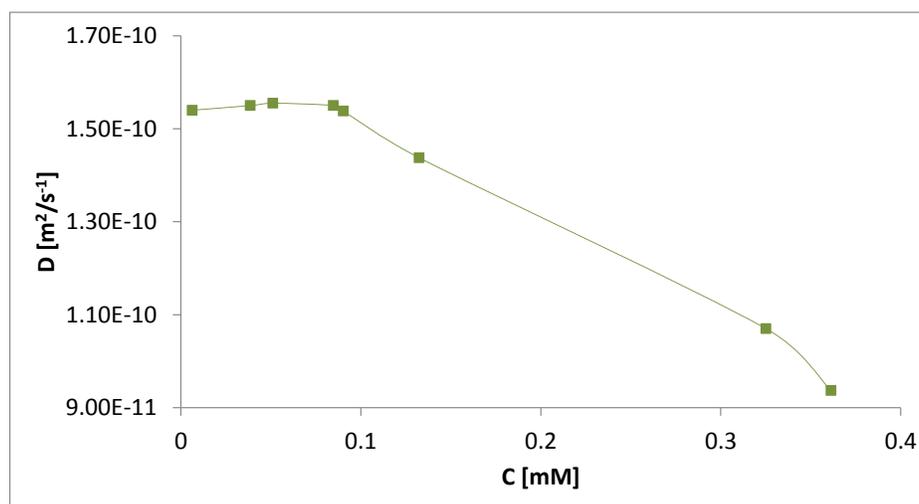


Figura 39. Gráfica de **D** en función de la concentración de ALE30.

Para la determinación del valor de CMC del ALE30 (Figura 40), y siguiendo el mismo tratamiento de datos hasta ahora, las ecuaciones que describen mejor el punto de inflexión son las siguientes:

- Antes de la formación de las micelas (antes del cambio de pendiente):

$$Y=1.3353*10^{-11}x + 1.5427*10^{-10}$$

- Después de la formación de las micelas (después del cambio de pendiente):

$$Y=-1.9674*10^{-10}x + 1.7079*10^{-10}$$

El valor de CMC del tensoactivo ALE30 es de **0.079 mM**.

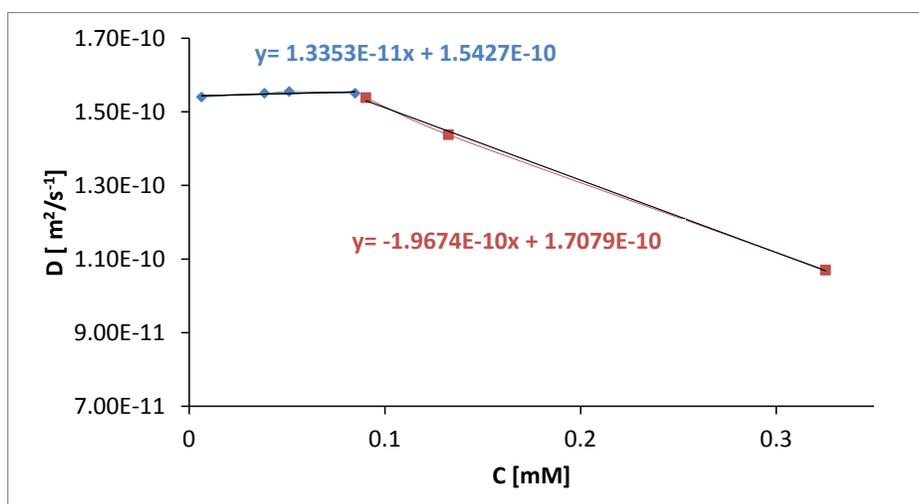


Figura 40. Gráfica con las rectas antes y después del punto de inflexión de los valores de D en función de la concentración de ALE30.

5.3.2.2. Estudio mediante cambios en el desplazamiento químico

La determinación del valor de CMC para el tensoactivo etoxilado ALE30 mediante el estudio del cambio en el desplazamiento químico tampoco fue posible debido a que las señales en el espectro de ^1H son muy anchas y no se observó cambio medible en el desplazamiento de cada señal al variar la concentración.

5.3.2.1. Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_1

La determinación de los tiempos de relajación T_1 del tensoactivo ALE30 también se realizó con el método de “recuperación de la inversión”. En la Figura 41 se muestra un ejemplo de las gráficas obtenidas de intensidad de señal en función del tiempo, donde se puede observar un ajuste adecuado de la curva monoexponencial descrita por la Ecuación 3.

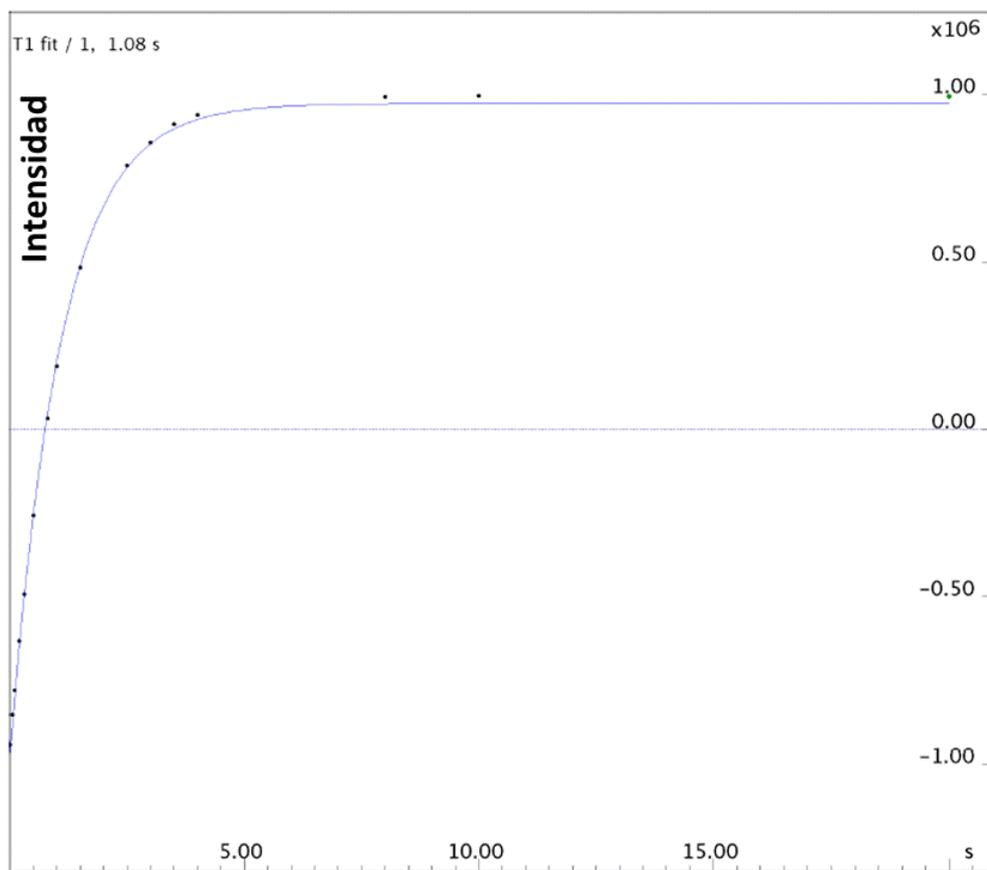


Figura 41. Gráfica exponencial de la intensidad de señal del metilo H72 de ALE30 (3.613 mM) en función del tiempo τ para la determinación de T_1 con el experimento "recuperación de la inversión" (180° - τ - 90° -AQC). El valor de T_1 ajustado a la Ecuación 3 es 1.08 s.

Para la determinación de la CMC con los valores de T_1 se analizaron las dos señales representativas para estudiar el comportamiento del tensoactivo: el metilo de la cadena láurica H72 y el CH_2 unido al oxígeno al comenzar la cadena etoxilada H61, el primero está en el centro de las micelas formadas, mientras que el segundo está en medio de las cadenas. No fue posible seguir el comportamiento T_1 del CH_2 unido al OH, que está justo al borde de la esfera de micelización, ya que su desplazamiento químico coincide con el de los otros CH_2 etoxilados.

Para la determinación del valor de CMC, como se ha visto anteriormente, únicamente se estudia el primer punto de inflexión (que está a más bajas concentraciones) debido a que el otro punto de inflexión corresponde a la aglomeración entre las micelas.

Los valores de tiempos de relajación en función de la concentración se muestran en la Tabla 9 y en la Figura 41. La tendencia en el comportamiento de T_1 de los protones del ALE30 muestra que a mayor concentración de tensoactivo el valor de T_1 disminuye.

El metilo H72, toma valores que van de 2.18 a 1.08 s. El cambio de pendiente que indica la formación de las micelas es visible entre el tercer y cuarto punto de la curva, debido a la baja sensibilidad de la técnica no es posible estudiar concentraciones más bajas. En las concentraciones de 0.006 y 0.0051 mM el valor de T_1 casi no varía (2.18 a 1.99 s) ya que no hay cambio en el tamaño ni en la movilidad del sistema. Conforme la concentración aumenta, el T_1 disminuye. El metileno H61 presenta la misma tendencia en el comportamiento, tomando valores que van de 0.67 a 0.54 s.

Tabla 9. Tiempo de relajación T_1 para las señales del ALE30.

Concentración mM	Señal	T_1 (s)	
		H72	H61
0.006		2.18	0.67
0.039		2.07	0.66
0.051		1.99	0.65
0.085		1.57	0.63
0.090		1.36	0.60
0.132		1.10	0.57
0.325		1.10	0.55
3.613		1.08	0.54

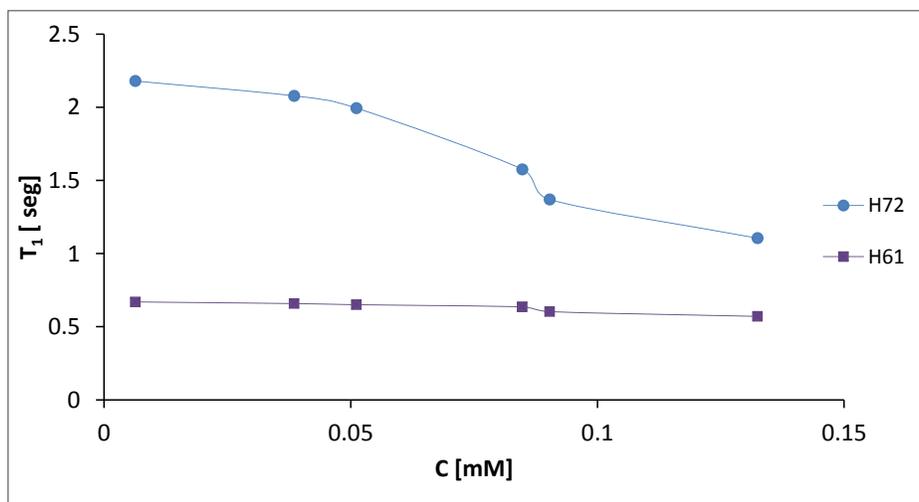


Figura 41. Gráfica de T_1 en función de la concentración de ALE30 para cada tipo de protón estudiado.

La determinación de la CMC se llevó a cabo utilizando la señal del metilo H72, que es la señal que cambia más su entorno al formarse las micelas, y en la que se observa un mayor decaimiento en la relajación T_1 en comparación con la gráfica del H61. Este decaimiento no es tan pronunciado como en los otros estudios realizados, por lo que aumenta el error en la determinación del valor de CMC.

Considerando las tres primeras diluciones para ajustar la recta antes de la formación de las micelas y las dos siguientes para la recta después de la formación de las mismas, se observa un ligero cambio de T_1 . Los valores de las rectas que describen el punto de inflexión en la gráfica de la Figura 42 son:

- Antes de la formación de las micelas, $Y = -3.9409x + 2.2096$
- Después de la formación de las micelas, $Y = 3.7216 \cdot 10^1 x + 4.7309$

El valor de CMC es de **0.075 mM**

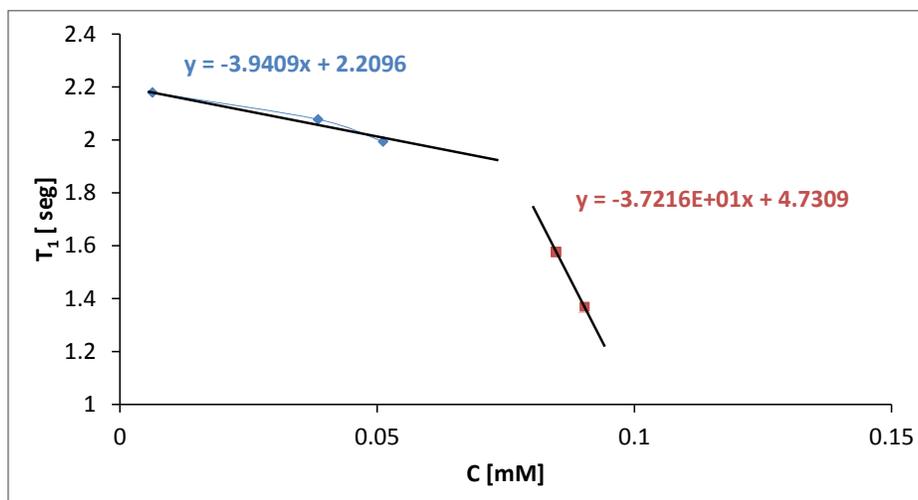


Figura 42 Gráfica con las rectas antes y después del punto de inflexión de los valores de T_1 del metilo H72 en función de la concentración del ALE30.

5.3.2.1. Estudio mediante cambios en el tiempo de relajación T_2

Al igual que para el ALE10, la determinación del valor de CMC para el tensoactivo etoxilado ALE30 mediante el estudio del cambio de T_2 no se realizó.

5.4. Comparación de los valores obtenidos de CMC

Los valores estimados de CMC tanto para el ALE30 como para el ALE10 siguen la tendencia reportada en la literatura, es decir, a mayor tamaño molecular de tensoactivo menor valor de CMC.⁴⁷ Para el ALE10 por D y T_1 se obtuvo un valor de 0.14 mM y 0.13 mM respectivamente. Mientras que para el ALE30 se obtuvieron valores de 0.079 mM mediante D y un valor de 0.075 mM por T_1 .

⁴⁷ Schick, M. Nonionic surfactants. 1st Ed. New York, Marcel Dekker, 316-317, (1987).

6. Conclusiones

Este trabajo, se centró en el estudio de la CMC de SDS, ALE10 y ALE30. La CMC se determinó por métodos no invasivos de ^1H RMN basados en la medición del cambio en características fisicoquímicas del sistema a consecuencia del fenómeno de micelización de los tensoactivos. Los resultados obtenidos muestran que para tensoactivos con gran tamaño molecular y con valores de CMC muy pequeños, esta técnica presta limitaciones principalmente por la baja sensibilidad de la RMN.

Los parámetros de RMN estudiados con el fin de determinar la CMC fueron: coeficiente de difusión, desplazamiento químico y tiempos de relajación T_1 y T_2 . En concreto se pueden citar como contribuciones de la tesis:

- Para el SDS se encontraron valores experimentales de CMC similares a los reportados en la literatura. Los valores obtenidos experimentalmente en este trabajo oscilan entre 8.32 y 8.64 mM para las técnicas utilizadas.
- El estudio del cambio en el valor de D y T_1 en función de la concentración, resultó ser una herramienta útil para la determinación de la CMC para los tres tensoactivos.
- El análisis de la variación del desplazamiento químico y T_2 en función de la concentración, resultó una buena metodología de análisis para el SDS pero no así para el ALE10 ni para el ALE30.
- En el presente trabajo de tesis se reporta por primera vez la CMC de los tensoactivos ALE10 y ALE30, cuyo valor promedio es de 0.135 mM y 0.077 mM respectivamente. Estos valores están en concordancia con lo reportado en la literatura: a mayor tamaño molecular menor valor de CMC.