



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA EN MATERIALES

FACULTAD DE QUÍMICA

PELÍCULAS NANOESTRUCTURADAS EN LA INTERCARA LÍQUIDO/AIRE

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

PRESENTA:

M. EN C. JORGE HERNÁNDEZ PASCACIO

TUTOR PRINCIPAL

DR. MIGUEL ANTONIO COSTAS BASÍN

FACULTAD DE QUÍMICA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DR. ROLANDO C. CASTILLO CABALLERO

INSTITUTO DE FÍSICA

DR. HÉCTOR DOMÍNGUEZ CASTRO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

MÉXICO D.F., ENERO, 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.

Reconocimientos

Esta tesis fue realizada gracias al apoyo otorgado por:

El Consejo Nacional para la Ciencia y la Tecnología (CONACYT) de México a través de la Beca de Doctorado para el sustentante de este trabajo.

La Red Temática de Materia Condensada Blanda del CONACYT por el apoyo para el traslado y estancia en el ILL, Francia.

El Consejo Nacional para la Ciencia y la Tecnología (CONACYT) a través de los proyectos: CB-2012/182526 y 099844.

La Facultad de Química, UNAM (PAIP 5000-9018).

y

El Instituto Laue-Langevin (ILL, Grenoble Francia) con el tiempo de neutrones en el equipo FIGARO.

Agradecimientos

Al comité tutorial, por contribuir al buen desarrollo de este trabajo.

Al jurado, por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

A los integrantes del laboratorio de Bio-fisicoquímica de la Facultad de Química de la
UNAM.

A Miguel Costas.

A Richard Campbell, Pepe Campos, Miguel Costas, Ángel Piñeiro y Juan Ruso, con
quienes se sostuvieron discusiones muy enriquecedoras.

a Liliana y Violeta

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Autoensamble	1
1.2. Ciclodextrinas y Dodecil sulfato de sodio.	2
1.3. Antecedentes del proyecto	4
1.4. α -Ciclodextrina en la interfase líquido/aire.	7
1.5. Complejos supremoleculares con agregados de ciclodextrinas.	7
1.6. Hipótesis del presente trabajo.	8
1.7. Objetivos del presente trabajo.	8
2. Materiales y Métodos.	10
2.1. Preparación de muestras.	10
2.1.1. Disoluciones α -CD + H ₂ O.	10
2.1.2. Disoluciones α -CD + DSS + H ₂ O.	11
2.2. Descripción de las técnicas usadas.	13
2.2.1. Microscopía de Transmisión de Electrones.	13
2.2.2. Dispersión Dinámica de Luz.	13
2.2.3. Calorimetría de Titulación Isotérmica.	16
2.2.4. Microscopía de Ángulo de Brewster.	18
2.2.5. Tensión Superficial.	20

ÍNDICE GENERAL

2.2.5.1.	Tensión Superficial Estática: Método de imagen.	21
2.2.5.2.	Tensión Superficial Dinámica	22
2.2.6.	Módulo Dilatacional	23
2.2.7.	Reflexión de Neutrones.	26
2.2.7.1.	Modelo	26
2.2.8.	Elipsometría.	31
3.	Resultados y Discusión.	33
3.1.	Sistema binario α -CD +H ₂ O.	33
3.1.1.	Agregados de α -Ciclodextrina en el seno de la disolución.	33
3.1.1.1.	Microscopía de transmisión de electrones (MTE).	33
3.1.1.2.	Dispersión dinámica de luz y calorimetría.	34
3.1.2.	Agregados de α -Ciclodextrina en la interfase líquido/aire.	39
3.1.2.1.	Microscopía de ángulo de Brewster y tensiometría dinámica.	39
3.1.2.2.	Reflectometría de neutrones y elipsometría.	44
3.2.	Sistema Ternario α -CD + DSS +H ₂ O.	50
3.2.1.	Calorimetría de Titulación Isotérmica.	51
3.2.2.	Módulo dilatacional.	54
3.2.2.1.	Inyección continua.	54
3.2.2.2.	Inyección continua con cambio de temperatura.	55
3.2.2.3.	Método de oscilación de gota.	56
3.2.3.	Reflexión de Neutrones.	60
4.	Conclusiones.	68
4.1.	Sistema binario	68
4.2.	Sistema ternario	69
5.	Sugerencias para trabajo futuro.	71

ÍNDICE GENERAL

6. Artículos en revistas científicas que derivan de este trabajo.	73
7. Declaración de colaboraciones en el trabajo experimental.	74
Bibliografía	74
Apéndice	84
A. Elipsometría: Límite de películas delgadas.	85
B. Resultados de Módulo de Elasticidad.	88
C. Artículo publicado.	90

Índice de figuras

1.1. Molécula de alfa-ciclodextrina (α -CD).	2
1.2. Molécula de Dodecil Sulfato de Sodio (DSS).	3
1.3. Tensión superficial de mezclas de α -CD y DSS a diferentes temperaturas. . .	4
1.4. Distribución de especies obtenidas con CTI.	6
1.5. Comportamiento elástico con tensión superficial	6
2.1. Tensión superficial de disoluciones de dodecil sulfato de sodio (DSS).	11
2.2. Termograma obtenido de una titulación de α -CD en DSS a 10 °C.	17
2.3. Esquema de perturbación y reacción del módulo de elasticidad.	24
2.4. Tiempo de equilibrio determinado por tensión dinámica	25
2.5. Esquema de la reflexión especular de neutrones sobre una superficie acuosa. .	27
3.1. Micrografías de microscopía de transmisión de electrones	34
3.2. Radio hidrodinámico medido con dispersión dinámica de luz.	35
3.3. Distribución del tamaño de agregados medido con dispersión dinámica de luz.	37
3.4. Dispersión dinámica de luz. Reproducibilidad	38
3.5. Calorimetría de titulación isotérmica (CTI).	38
3.6. Presión superficial dinámica e imágenes de Microscopía de ángulo de Brewster.	40
3.7. Presión superficial dinámica, experimentos de control.	41
3.8. Reflexión de Neutrones (RN)	45

ÍNDICE DE FIGURAS

3.9. Concentración en la interfase. Reflexión de neutrones y elipsometría.	46
3.10. Elipsometría de muestras frescas y añejadas.	48
3.11. Comportamiento elástico con tensión superficial	50
3.12. Distribución de especies CTI de sistemas protonado y deuterado.	52
3.13. Tensión superficial dinámica con inyección continua.	54
3.14. Módulo dilatacional medido con inyección continua	55
3.15. Tensión superficial dinámica y su reversibilidad en función de la temperatura.	56
3.16. Módulo de elasticidad total (ME)	57
3.17. Módulo dilatacional en función de la temperatura.	58
3.18. Módulo dilatacional de los componentes puros.	59
3.19. Curvas y ajustes de RN (0.85 mM de tensoactivo)	62
3.20. Curvas y ajustes de RN (3.4 mM de tensoactivo)	62
3.21. Curvas y ajustes de RN (10.2 mM de tensoactivo)	63
3.22. Resultados de ajustes a los datos de RN.	64
3.23. ME, distribución de especies en el seno de la disolución (CTI) y composición en la interfase (RN)	67
5.1. Imágenes de una gota pendiente con 13.6 mM de h-DSS y 10 mM de α -CD	71
B.1. Modulo de elasticidad en función de la frecuencia.	89

Índice de Tablas

2.1. Concentraciones usadas en CTI	18
2.2. Contrastes usados en Reflexión de Neutrones (RN).	29
2.3. Parámetros usados en los ajustes de RN	30
3.1. Parámetros estructurales de los ajustes homogéneo y heterogéneo de RN. . .	44
3.2. Parámetros obtenidos a partir de los ajustes a los datos experimentales de calorimetría	53
3.3. Resultados de los ajustes con el modelo de 1 capa considerando α -CD, complejos 2:1 y al disolvente como los parámetros a ajustar.	65
3.4. Resultados de los ajustes con el modelo de 1 capa considerando DSS, complejos 2:1 y disolvente como los parámetros a ajustar.	66
7.1. Localidades donde se llevaron a cabo las diferentes mediciones.	75
7.2. Investigador encargado del laboratorio donde se realizó el trabajo experimental y persona o personas que llevaron a cabo este trabajo.	75

Resumen

Las películas autoensambladas en la superficie líquido/aire compuestas de α -ciclodextrina (α -CD) + tensoactivos, han sido uno de los temas principales de investigación en el laboratorio de biofísicoquímica de la Facultad de Química de la UNAM. La posibilidad de transferir estas estructuras formadas en la superficie a un sustrato sólido hacen que estos sistemas tengan una potencial aplicación en sensores orgánicos. El sistema α -ciclodextrina + dodecil sulfato de sodio (DSS) + H_2O ha sido caracterizado parcialmente tanto en el seno de la disolución como en la interfase líquido/aire, sin embargo características de la estructura y reológicas de esta interfase no han sido completamente dilucidadas. Se ha reportado que a ciertas concentraciones de α -CD y DSS hay la presencia de cuatro especies, α -CD libre, DSS libre, complejos α -CD:DSS₁ y complejos α -CD₂:DSS₁ y a relaciones de concentración 2:1 (α -CD /DSS) se forma una película en la interfase líquido/aire con propiedades excepcionales. En este trabajo se realizó una caracterización tanto estructural como reológica de la superficie, usando reflexión de neutrones, gota oscilatoria y calorimetría de titulación isotérmica, encontrando una película mayormente elástica a bajas concentraciones de DSS, mayormente viscosa a altas concentraciones de DSS y con valores altos de viscoelasticidad en la relación de concentración 2:1 (α -CD /DSS). Se sabe que las ciclodextrinas son moléculas orgánicas que presentan gran versatilidad, tanto química como física, lo que las hace una molécula muy importante para encapsular otras moléculas de tamaños parecidos. En los últimos años, se ha descubierto que también pueden encapsular moléculas mucho más grandes que ellas mediante agregados de ciclodextrinas, sin embargo a pesar de que existen varios trabajos donde se es-

ÍNDICE DE TABLAS

tudia este sistema con dispersión dinámica de luz a concentraciones parecidas, no hay datos a la temperatura usada en este trabajo (283 K), como tampoco existen datos que caracterizen la interfase líquido/aire de este sistema. Así, para poder entender completamente el sistema ternario, se caracterizó tanto el seno de la disolución, como la superficie del sistema binario α -CD + H₂O confirmando que existe la formación de una película en la interfase, cuya formación tiene una cinética lenta y su composición depende de la evolución de los agregados en el seno de la disolución.

Capítulo 1

Introducción

1.1. Autoensamble

El autoensamble o agregación molecular es uno de los principales mecanismos observados en la naturaleza mediante el cuál se llevan a cabo procesos tan complejos como i) el transporte de moléculas a través de membranas celulares, ii) el plegamiento o desplegamiento de proteínas y iii) el encapsulamiento de fármacos, ya sea a nivel molecular o macro molecular, por mencionar sólo tres ejemplos. La importancia de estudiar estos mecanismos de autoasociación y las estructuras derivadas de éstos radica en que al variar ciertos parámetros a través de cambios en el medio, se puede obtener una gran variedad de conformaciones y arreglos moleculares. Bajo este principio funcionan algunos sensores, máquinas e interruptores moleculares que pueden accionarse, moverse o activarse debido a variaciones en pH, temperatura, impulsos eléctricos y hasta cambios en concentración.

Todos estos procesos se rigen principalmente a través de interacciones moleculares débiles como los son puentes de hidrógeno y fuerzas de naturaleza electrostática. En presencia de agua las interacciones hidrofóbicas son típicamente las más importantes y en la mayoría de los casos son debidas a fuerzas de van der Waals que, aunque son relativamente débiles de manera individual, al sumarse pueden dar lugar a estructuras supra o macromoleculares

1.2. *Ciclodextrinas y Dodecil sulfato de sodio.*

estables. Está implícito que en estos procesos no existe ni formación ni destrucción de enlaces covalentes.

Este tipo de sistemas autoensamblados son el principal objeto de estudio de los investigadores del laboratorio de Biofísicoquímica de la Facultad de Química de la UNAM desde hace algunos años. Entre las diversas líneas de investigación en desarrollo se han estado estudiando diferentes mezclas de ciclodextrinas con tensoactivos. Específicamente el proyecto en el que se enmarca este trabajo está dedicado a la caracterización de mezclas de α -ciclodextrina (α -CD) + Dodecil Sulfato de Sodio (DSS) en disolución acuosa.

1.2. **Ciclodextrinas y Dodecil sulfato de sodio.**

Las ciclodextrinas (CD's) son oligosacáridos cíclicos provenientes de la degradación del almidón formadas por 6 (α -CD), 7 (β -CD) y 8 (γ -CD) unidades de glucopiranosas. Su estructura ha sido descrita comúnmente como la de cono truncado donde en su parte más ancha tiene el doble grupos hidroxilos que en la parte más angosta (figura 1.1); estos grupos hidroxilos le confieren a la molécula propiedades hidrofílicas, mientras que los carbonos dentro del anillo de glucopiranosas le proporcionan un carácter hidrofóbico. Este comportamiento dual hace que al pensar en encapsular moléculas o grupos pequeños con alta hidrofobicidad, estas moléculas sean la primera opción a considerar. Además de esta versatilidad, las ciclodextrinas

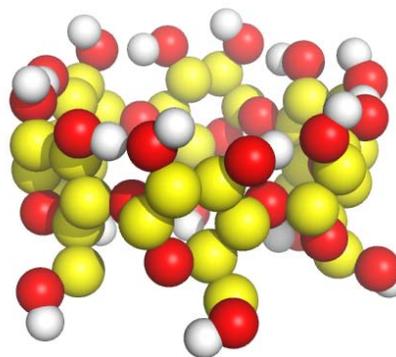


Figura 1.1: *Esquema de una molécula de α -CD. En Rojo se muestran los átomos de oxígeno, en amarillo los de carbono y en blanco los hidrógenos.*

1.2. *Ciclodextrinas y Dodecil sulfato de sodio.*

presentan otras características que las hacen aún más interesantes en muy diversas aplicaciones, como lo es su baja toxicidad, su biocompatibilidad, su estabilidad química^[57;11] y la facilidad con la que es posible modificarlas químicamente. La modificación química es importante ya que permite incrementar alguna de las características antes mencionadas^[9].

El DSS es un tensoactivo aniónico en cuyo extremo polar se encuentra el anión sulfato que en su forma de sal se encuentra formando un enlace iónico con el Na^+ . Su cadena hidrofílica está formada por 12 átomos de carbono. Algunas de las ventajas de este tensoactivo molécula es su alta solubilidad (100 g/L @ 293 K), su poca toxicidad en concentraciones bajas (se encuentra en artículos de uso diario del ser humano) y el hecho de que puede adquirirse en su forma deuterada, haciendo posible el estudio de la intercara líquido aire mediante reflexión de neutrones (ver sección 2.2.7).

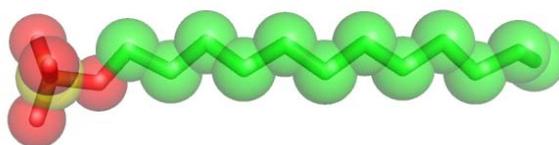


Figura 1.2: *Esquema de una molécula de DSS. Se muestran los átomos de carbono (verde), átomos de oxígeno (rojo) y un átomo de azufre (amarillo). Por claridad se omite el contraión de sodio.*

1.3. Antecedentes del proyecto

El presente trabajo forma parte de una investigación que comenzó en el 2005 con la tesis de licenciatura del sustentante de este trabajo^[24] en donde se estudió una gran cantidad de mezclas del sistema α -CD + DSS + H₂O en un amplio intervalo de concentraciones de sus dos componentes principales, α -CD de 0 a 60 mM y DSS de 0 hasta 21 mM, a 5 diferentes temperaturas entre 283 y 323 K midiendo únicamente tensión superficial con el método de volumen máximo de gota. El descubrimiento de valores de tensión superficial significativamente superiores a los del agua pura (hasta de 20 mN/m mostrados en la figura 1.3) fue el principal hallazgo de este trabajo. Este incremento de tensión se presentó a una

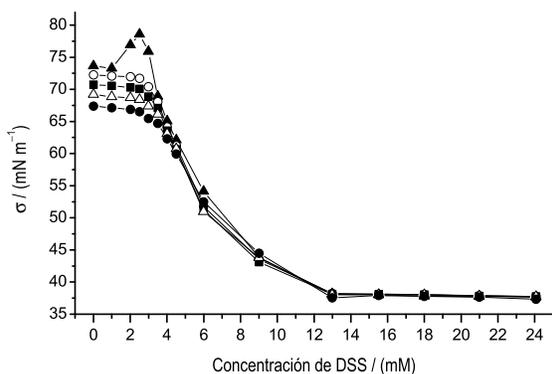


Figura 1.3: Tensión superficial para mezclas de α -CD = [12 mM] en función de la concentración de DSS a 5 diferentes temperaturas: 283 (\blacktriangle), 293 (\circ), 303 (\blacksquare), 313 (\triangle), 323 (\bullet) K. Cada punto representa el promedio tres mediciones independientes con un total de 49 gotas medidas.

temperatura de 283 K con una concentración de DSS entre 2 y 4 mM y la concentración de la α -CD en 12 mM.

La principal motivación para seguir estudiando este sistema fue dar una explicación a este valor de tensión por encima del valor del agua pura, ya que para sustancias puras en estado líquido a condiciones estándar, sólo el mercurio tiene mayor tensión superficial. Para sistemas acuosos, unos pocos sistemas iónicos presentan 2 dinas de incremento en el valor de la tensión superficial.

En el subsecuente trabajo se usaron diferentes técnicas para caracterizar el seno de la disolución. La primera fue calorimetría de titulación isotérmica (CTI), que es la técnica de referencia para determinar la presencia

1.3. Antecedentes del proyecto

de especies en el seno de la disolución. En el modelo para ajustar datos del CTI se tomaron en cuenta las siguientes especies: complejos α -CD₁:DSS (complejos 1:1), complejos α -CD₂:DSS₁ (complejos 2:1), α -CD libre y DSS libre y se midió a 283 y 298 K. Al comparar la distribución obtenida con el CTI (figura 1.4) y los resultados de tensión superficial (figura 1.3) se intuyó que los complejos 2:1 podrían ser los responsables de estos incrementos en tensión superficial. Dado que el CTI da información solamente del seno de la disolución y no de la superficie, se propuso realizar mediciones de microscopía de ángulo de Brewster (MAB), donde para las concentraciones de 10 mM α -CD y 3.4 mM de DSS se encontró una película rígida, poco rugosa y no fluida. La falta de información de MAB acerca de la estructura de esta película en la interfase líquido/aire nos dirigió hacia las simulaciones computacionales de dinámica molecular (SCDM) en donde se sugirió la presencia de una estructura tubular formada por complejos 2:1 en la interfase, la cual fue comparada con microscopía de fuerza atómica (MFA). Sin embargo MFA no es una técnica donde se estudie la interfase líquido/aire, sino la interfase transferida a un sustrato sólido. Por su lado, las SCDM iniciaron desde la estructura tubular ya formada en la superficie y aunque esta estructura fue estable durante el tiempo estudiado (20 ns) su formación espontánea es debatible.

De este trabajo publicado en el 2008^[22] se concluyó que los valores de tensión superficial encontrados coinciden con la zona en la que existe mayor población de complejos 2:1 en el seno de la disolución (CTI). En esta misma relación de concentraciones, se observó mediante MAB una superficie rígida, poco rugosa y no fluida. Los resultados de CTI y TS, sugirieron que los complejos 2:1 podrían ser los principales constituyentes de la película observada por MAB, por lo que se propuso una estructura tubular y al estudiar la película transferida a un sustrato sólido se logró encontrar una estructura parecida con MFA. Se logró un gran avance en la caracterización del sistema en este trabajo, sin embargo no se pudo encontrar una respuesta concreta a la pregunta inicial de ¿por qué la aparición del máximo de tensión superficial?

1.3. Antecedentes del proyecto

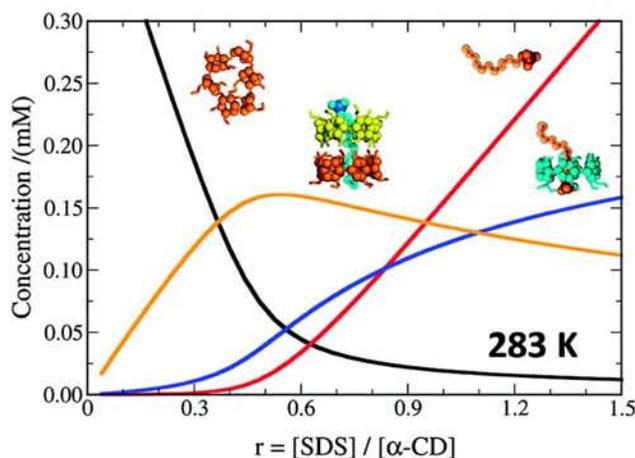


Figura 1.4: Distribución de especies en función de la relación de $[\text{SDS}]/[\alpha\text{-CD}]$, la línea negra representa la $\alpha\text{-CD}$ libre, la roja el SDS libre, la naranja los complejos 2:1 y la azul los complejos 1:1.

Aunado a la falta de pruebas para contestar esta pregunta, al realizar los experimentos control de MAB de las disoluciones binarias ($\alpha\text{-CD} + \text{H}_2\text{O}$ y $\text{SDS} + \text{H}_2\text{O}$) se encontró la presencia de material en la superficie de la disolución de $\alpha\text{-CD}$ contrario a lo que se espera al analizar la estructura de esta molécula y a lo reportado en la literatura. La $\alpha\text{-CD}$ no debería tener actividad superficial sin embargo se encontró en la interfase líquido/aire.

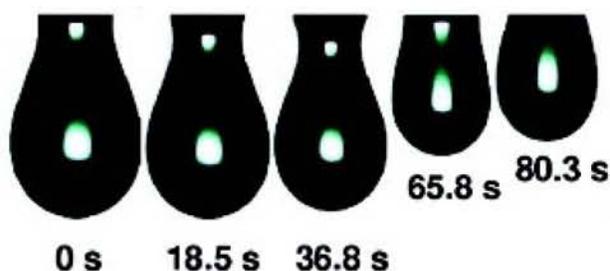


Figura 1.5: Imágenes de gotas pendientes en función del tiempo obtenidas con el tensiómetro de imagen. Imagen obtenida de^[23].

Otro hallazgo importante fue la evolución de una gota pendiente al medir tensión superficial con el método de imagen. Se observa en la figura 1.5 cómo después de detener la inyección del líquido a la gota (0 s), ésta comienza a reducir su tamaño (18.5 a 80 s), cuando el comportamiento del agua pura a ese mismo volumen es desprenderse del capilar. Esta fue

1.4. α -Ciclodextrina en la interfase líquido/aire.

un prueba contundente de que la película tenía propiedades elásticas.

Así se obtuvo una explicación parcial al máximo de tensión superficial, y surgió otra pregunta: ¿Por qué está la α -CD en la superficie? ¿Tiene alguna relación la presencia de la α -CD en superficie con la película formada a en el máximo de tensión?

1.4. α -Ciclodextrina en la interfase líquido/aire.

La importancia de estudiar el comportamiento de la α -CD en la interfase líquido/aire radica en la posible aplicación de este sistema binario para el diseño de sensores autoensamblados basados en películas delgadas. Estas películas son el principal componente de sensores electroquímicos y biológicos cuyo uso principal es la detección de fármacos como dextrometorfano^[26], ibuprofeno, diclofenaco^[29] y compuestos volátiles nitro-aromáticos^[17]. En estos casos las CD's pueden interactuar con una gran variedad de moléculas huésped y actuar como mediadores redox. El principal mecanismo por el cual se forman estas películas de α -CD en la superficie es el autoensamble.

1.5. Complejos supramoleculares con agregados de ciclodextrinas.

Recientemente se ha encontrado que las ciclodextrinas además de tener la capacidad de formar complejos de inclusión encapsulando pequeños grupos hidrofóbicos, pueden interactuar con grupos hidrofóbicos más grandes que sus cavidades^[35]. Esto ocurre porque se forman agregados de moléculas de ciclodextrina de tal forma que en vez de que sean los monómeros los que interactúan con la molécula huésped sean los agregados los que lo hacen. Este comportamiento de agregación molecular es muy atractivo para la industria farmacéutica, ya que con frecuencia los fármacos de interés son moléculas hidrofóbicas mas grandes que las ciclodextrinas. Otra aplicación reciente de estos agregados de ciclodextrina es su uso como

1.6. Hipótesis del presente trabajo.

medio de reacción química que evita la contaminación debida a productos (hidrofóbicos) secundarios indeseables^[17]. En lo concerniente a la información en la literatura^[51;60] acerca del fenómeno de agregación de ciclodextrinas, Coleman et al.^[10] ha reportado que las ciclodextrinas (α , β y γ) se agregan mediante una red de puentes de hidrógeno. Posteriormente y siguiendo la misma línea de investigación, Gaitano *et al.*^[20] reportó que la α -CD y la β -CD se agregan espontáneamente en el seno de la disolución, y Puskás^[51] reportó tamaños de agregados de hasta 600 nm de diámetro. La cantidad de información en la literatura referente a los complejos de ciclodextrinas es vasta. Sin embargo el comportamiento básico de las propiedades del seno y superficie de la simple mezcla binaria (ciclodextrina/agua) no se ha descrito completa y satisfactoriamente.

1.6. Hipótesis del presente trabajo.

- La razón por la que la α -CD se encuentra en superficie en el sistema binario (α -CD + H₂O) es porque al agregarse, sus terminaciones hidrofílicas OH's interactúan con los OH's de otras ciclodextrinas, provocando que su parte hidrofóbica (Anillo de glucopiranos) quede expuesto al agua y minimize su energía adsorbiéndose a la interfase líquido/aire.
- Los valores de tensión superficial reportados por encima de los valores del agua pura se deben a una película viscoelástica.
- Esta película viscoelástica se encuentra formada mayormente por complejos α -CD₂:DSS₁.

1.7. Objetivos del presente trabajo.

- Confirmar la presencia de la α -CD en la interfase líquido/aire.
- Caracterizar la interfase líquido/aire del sistema α -CD + H₂O.

1.7. *Objetivos del presente trabajo.*

- Encontrar si existen efectos del envejecimiento en las propiedades, tanto del seno de la disolución como de la superficie en el sistema binario α -CD + H₂O.
- Si hay efectos de envejecimiento en el seno de la disolución, encontrar si afectan a la superficie en el sistema binario α -CD + H₂O.
- Caracterizar estructuralmente la película formada en la interfase líquido aire para el sistema α -CD + DSS + H₂O en las condiciones de concentración y temperatura en la que se registraron los valores de tensión superficial mayores que los del agua pura.
- Caracterizar las propiedades reológicas de la película que se forma en la interfase líquido/aire en el sistema α -CD + DSS + H₂O.

Capítulo 2

Materiales y Métodos.

2.1. Preparación de muestras.

2.1.1. Disoluciones α -CD + H₂O.

En la preparación de las disoluciones acuosas de α -CD se usó agua ultra pura proveniente de un sistema Elix Milipore© cuya conductividad fue de 18.2 M Ω . La ciclodextrina se obtuvo de Sigma-Aldrich cuyo contenido de agua fue determinado con el método de titulación de Karl-Fisher obteniendo un 10 % en peso. Todas las disoluciones recibieron el mismo tratamiento antes de medirse o mezclarse con el tensoactivo dodecil sulfato de sodio (DSS). Este tratamiento consistió en calentar la disolución a 323 K por 30 minutos y posteriormente darle un tratamiento ultrasónico a temperatura ambiente por 15 minutos con un baño comercial de 40000 Hz. Se realizaron mediciones de UV-vis para comprobar que después de este tratamiento la ciclodextrina se encontraba completamente disuelta. En la preparación de todas las muestras, se sustrajo del seno de la disolución con el objetivo de evitar cualquier tipo de estructura, arreglo o agregado que hubiera podido formarse en la superficie de la disolución durante el proceso de preparación, como ya ha sido reportado en mezclas de polielectrolitos/tensoactivos^[58]. Los términos fresca y añejada aplicados a las disoluciones

2.1. Preparación de muestras.

estudiadas se refieren al seno de la disolución, no a la interfase. La razón por la cual se hace esta diferencia es que se puede guardar fácilmente una disolución para su posterior medición del seno de ésta, sin embargo al crear una interfase líquido/aire ésta es muy difícil de aÑejar debido al poco control que se tiene sobre la evaporación.

2.1.2. Disoluciones α -CD + DSS + H₂O.

El h-DSS (dodecil sulfato de sodio totalmente protonado, C₁₂H₂₅NaO₄S) fue purificado con etanol absoluto grado analítico debido a que el producto comercial (Sigma-Aldrich 99 % de pureza) tiene impurezas que afectan las mediciones de tensión superficial hasta en 8 mN/m alrededor de la concentración micelar crítica, que para el h-DSS es alrededor de 7 mM. Esta diferencia se muestra en la figura 2.1.

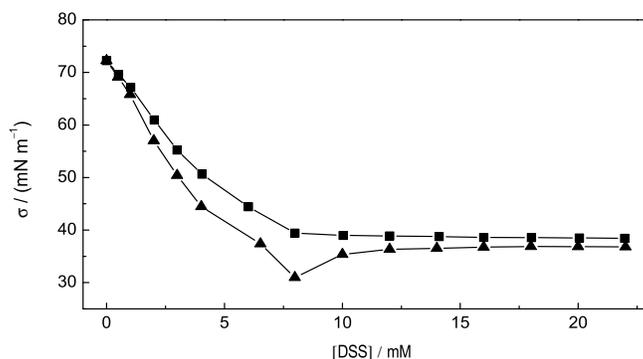


Figura 2.1: Tensión superficial de disoluciones de DSS en función de la concentración a 20° C. Al usar DSS purificado (■) se observa un comportamiento clásico de los tensoactivos, sin embargo, cuando se utiliza el DSS sin purificar (▲) existe un mínimo en 7.8 mM producido por el dodecanol.^[24]

Esta purificación consistió en realizar 3 lavados de 5 gramos de DSS en 250 mL de etanol grado HPLC. Cada lavado se llevó a cabo con agitación constante durante 10 horas, transcurrido el tiempo de agitación se dejó reposar otras 10 horas, al término de este tiempo se retiró

2.1. Preparación de muestras.

el sobrenadante con una pipeta Pasteur conectada a una bomba de vacío. El sobrenadante se identificó claramente como material sólido en la interfase líquido/aire. Posteriormente se decantó el exceso de etanol para finalmente secar con vacío. Vollhardt^[62] reportó que el dodecanol está presente en el DSS y proviene de por una reacción de hidrólisis de cinética lenta. Por esta razón, en este trabajo sólo se utilizaron muestras preparadas el mismo día de la medición. Las disoluciones ternarias se prepararon a partir de dos disoluciones binarias, una de α -CD + H₂O y la otra de DSS + H₂O del mismo volumen al doble de la concentración final deseada. La disolución binaria de α -CD se preparó de la manera antes mencionada (sección 2.1.1). Las mediciones de reflexión de neutrones requieren del empleo de dodecil sulfato de sodio completamente deuterado (d-DSS, C₁₂D₂₅NaO₄S), el cual fue adquirido de Cambridge Isotope Laboratories, así como también agua deuterada (D₂O) la cual fue proporcionada por el Institut Laue-Langevin (ILL, Grenoble, Francia). Un punto importante en la preparación de las muestras es que se puede controlar la concentración de las disoluciones binarias de h-DSS y α -CD pero al mezclarlas se tienen dos especies más, que son complejos 2 α -CD +DSS y α -CD +DSS y sus concentraciones dependen de la concentración total de α -CD y h-DSS, así para poder tener un menor error en la concentración de los complejos que se forman, las disoluciones se prepararon usando una balanza en lugar de material volumétrico, lo que nos permite corregir la concentración total con el peso del disolvente. Al preparar la disolución ternaria, siempre se tomó del seno de las dos disoluciones binarias para entonces mezclarlas en un nuevo recipiente, con el objetivo de evitar cualquier estructura que pudiera existir en la interfase líquido/aire.

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

2.2.1. Microscopía de Transmisión de Electrones.

Se efectuaron mediciones de Microscopía de Transmisión de Electrones (MTE) para una para una disolución de α -CD con una concentración de 10 mM de α -CD a una temperatura de 283 mM. Se usó un microscopio de trasmisión de electrones marca Philips CM-12 equipado con una cámara MEGA VIEW-II, operado a una diferencia de potencial de 120 kV con una magnificación de 730000x y una resolución máxima de 0.5 nm. La muestra fue preparada mediante la técnica de estañado-negativo (negative-staning) con ácido fosfotungsténico (2% p/v) sobre una gradilla de carbón Formvar-coated. El riesgo de aparición de artefactos se minimizó asegurándose de la integridad y calidad de las imágenes. Para ello se colocó una gradilla Formvar-coated en la disolución por 1 minuto para luego introducirla en ácido fosfotugsténico durante otro minuto. Después, se procedió a remover el exceso de agua con papel filtro para finalmente realizar observaciones en campo brillante.

2.2.2. Dispersión Dinámica de Luz.

La dispersión dinámica de luz (DDL) es una técnica experimental usada ampliamente tanto en la industria como en la investigación para conocer el tamaño de partícula, aunque esta técnica a ido avanzando hasta el punto de poder medir parámetros microreológicos.^[1] Las características más importantes con las que debe contar la muestra son:

- Que no sea colorida, ya que puede absorber parte de la luz.
- Concentración baja, para evitar la reflexión múltiple
- Carga iónica baja, lo que evita agregar un componente al movimiento Browniano.

La forma en que funciona el equipo es detectando las fluctuaciones de la intensidad provocadas por el movimiento Browniano de las moléculas en intervalos de tiempo del orden

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

de microsegundos. Si se considera que I es el número de fotones que llegan al detector en el intervalo τ la función de correlación se construye multiplicando el número de fotones de dos intervalos sucesivos:

$$g_2(t) = \int_0^T I(t)I(t + \tau)dt \quad (2.1)$$

esta integral puede aproximarse como:

$$g_2(t) \approx \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N I(t)I(t + \tau) \quad (2.2)$$

ó

$$g_2(t) = \langle I(t) \cdot I(t + \tau) \rangle \quad (2.3)$$

En los límites:

$$\lim_{t \rightarrow 0} g_2(t) = \langle I^2(t) \rangle \quad (2.4)$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} g_2(t) = \langle I(t) \rangle^2 \quad (2.5)$$

Porque la correlación es máxima para instantes cercanos y no existe para instantes muy lejanos.

la función de autocorrelación del campo eléctrico es:

$$g_1(t) = \int_0^T E(t)E(t + \tau)dt \quad (2.6)$$

Para pequeñas partículas esféricas, monodispersas y homogéneas esta función se puede describir como una exponencial: [U+FFFC]

$$g_1(t) = e^{(-\Gamma\tau)} \quad (2.7)$$

esta ecuación está relacionada con la función de correlación de intensidad (Eq. 2.3) por la relación de Siegert (Ec. 2.8); la dependencia cuadrática viene de la relación entre la amplitud de la onda eléctrica y la intensidad, es decir, la velocidad de flujo de radiación a través del área unitaria.

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

$$g_2(\tau) = \langle I(\tau)^2 \rangle \cdot b \cdot g_1^2(\tau) + \langle I(\tau) \rangle^2 \quad (2.8)$$

donde b es una constante del instrumento y refleja la desviación de la correlación ($b=1$ para una perfecta correlación).

El coeficiente de difusión D se relaciona con la constante de decaimiento de la siguiente manera:

$$\Gamma = -Dq^2 \quad (2.9)$$

donde

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.10)$$

finalmente mediante la ecuación de Stokes-Einstein se obtiene el radio hidrodinámico:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R_h} \quad (2.11)$$

Don k es la constante de Boltzman, T la temperatura y η la viscosidad del disolvente para sistemas polidispersos la función de correlación medida es la suma de cada una de las poblaciones medidas:

$$g_1(t) = \sum_{i=1}^n G_i(\Gamma_i \exp(-\Gamma_i \tau)) \quad (2.12)$$

$$g_1(t) = \int_0^\infty G(\Gamma) e^{-\Gamma t} d\Gamma \quad (2.13)$$

donde $G(\Gamma)$ es la función de distribución y se puede evaluar por técnicas de transformada inversa de Laplace. La rutina más común utilizado para realizar la inversa Transformada de Laplace es CONTIN.^[50]

Para las mediciones de DDL de este trabajo, se utilizó un equipo Z-Sizer modelo ZS de Malvern Instruments, UK) con un haz incidente de longitud de onda de $\lambda = 633$ nm (He-Ne, 4.0 mW). Todas las muestras medidas fueron preparadas justo antes de medirse y se filtraron

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

de 15 a 20 veces con un filtro de acetato de celulosa (Titan 2, SUN, Sri, USA) de $0.2 \mu\text{m}$, ya que esta técnica es sensible a partículas de polvo, que usualmente son más grandes que el tamaño de poro usado. Las mediciones se realizaron a temperatura constante de 283 y 298 K que se controló de dos maneras diferentes: una con un elemento Peltier dentro del equipo mientras se realizaron las mediciones, la otra con baños recirculadores con etilen glicol como fluido térmico, mientras la muestra no se encontraba dentro del equipo (durante los tiempos muertos de medición).

Después de filtrar y antes de comenzar a medir se equilibró térmicamente la muestra durante 20 minutos dentro del equipo. Cada medición reportada a un tiempo t consiste de 15 escaneos individuales, cada uno de los cuales duraron de 15-20 segundos. El software del equipo cuenta con un “filtro virtual”. De los 15 escaneos individuales, este filtro elimina los escaneos con el número de cuentas más alto que el promedio, (usualmente más del 30 %). Éste conteo alto generalmente se produce por partículas grandes que la mayor parte de las veces son partículas de polvo. Debido al lento pero continuo incremento del tamaño de los agregados observado durante las mediciones se decidió realizar mediciones a tiempos largos, usualmente fueron 300 horas por medición. En todos los casos de la hora 0 a la 10 se realizaron mediciones cada 15 minutos, a partir de la hora 10 y hasta la 24 se midió cada media hora. De la hora 24 en adelante se midió de manera aleatoria hasta llegar al total de horas de medición. La función de correlación se resolvió para el coeficiente de difusión usando el método de Non Negative Least Square (CONTIN) y posteriormente se calculó el radio efectivo R_h usando la ecuación de Stokes-Einstein. Se supuso una geometría ideal esférica para los agregados.

2.2.3. Calorimetría de Titulación Isotérmica.

La Calorimetría de Titulación Isotérmica (CTI) es una técnica usada ampliamente para caracterizar termodinámicamente las interacciones entre moléculas anfitrión-huésped como lo son complejos de inclusión o proteína-proteína o proteína-fármaco entre otros.

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

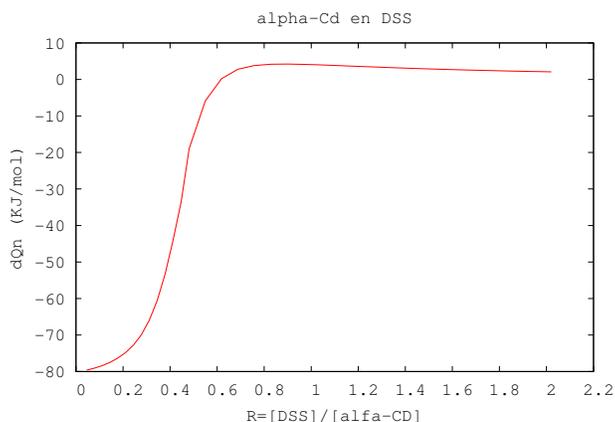


Figura 2.2: Termograma obtenido de una titulación de α -CD en DSS a 10°C .

En el CTI, uno de los componentes involucrados en la reacción (asociación, agregación, o reconocimiento molecular) se agrega gradualmente mediante una jeringa a una disolución que contiene al otro componente que se encuentra en la celda de medición. El calor involucrado en todos los eventos moleculares producidos debido a esta adición son registrados en un termograma (figura 2.2). Este equipo opera mediante el principio de compensación dinámica de potencia, es decir, detecta una absorción o liberación de energía y la compensa suministrando cierta cantidad de potencia ($\mu\text{cal/s}$) que mantiene la temperatura constante en la celda. Al integrar el área de los picos resultantes se obtiene el calor asociado a cada inyección.^[61]

Para medir los calores de dilución de muestras acuosas de α -CD se usó un calorímetro de titulación isotérmica de MicroCal, USA. La celda tiene volumen de 1.4196 mL y la jeringa de 0.3 mL. La temperatura fue controlada mediante un elemento peltier en la celda de medición. Para el sistema α -CD + H_2O se colocó en la jeringa disolución de α -CD/agua y en la celda H_2O desionizada y degasificada. Se realizaron 29 titulaciones de $10 \mu\text{L}$ en cada una. A manera de experimento control se tituló la disolución sobre sí misma; colocando la misma disolución en la jeringa y en la celda. Esto se realizó en los casos agua/agua y α -

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

CD/ α -CD. La concentración de las disoluciones de α -CD fueron de 10 mM y se midieron a temperatura de 283 y 298 K. Para el sistema α -CD + h-DSS + H₂O se colocó la disolución de α -CD en la jeringa y el tensoactivo en la celda usando como disolventes H₂O y D₂O la descripción completa de las muestras medidas se encuentra en la tabla 2.1. El instrumento y el procedimiento de ajuste se verificó con la reacción de BaCl₂(ac) con éter corona 18-crown-6(ac), la cual es una reacción estándar para calibrar este equipo.

Tabla 2.1: Concentraciones, tipo de tensoactivo, tipo de disolvente y lugar (jeringa o celda) donde se colocaron las disoluciones medidas en CTI.

[α -CD] en jeringa mM	Tensoactivo usado en celda	Concentración de tensoactivo en celda mM	disolvente
1.0	h-DSS	1.0	H ₂ O
0.5	d-DSS	0.5	D ₂ O
1.0	h-DSS	1.0	H ₂ O
0.5	d-DSS	0.5	D ₂ O

2.2.4. Microscopía de Ángulo de Brewster.

Si se hace incidir un haz de luz a través de dos medios con índices de refracción diferentes habrá un ángulo crítico de incidencia al cual la luz con cierta polarización no podrá ser reflejado, este ángulo crítico es conocido como el ángulo de Brewster

La razón por la cual la luz no puede ser reflejada es porque el campo eléctrico de las ondas de luz y la normal de la superficie se encuentran en el mismo plano. A esta luz polarizada se le da el nombre de “p-polarize” porque es paralela al plano y a la luz con polarización perpendicular se le llama “s-polarize”.

Cuando se hace incidir un haz de luz polarizada con un ángulo igual al de Brewster, tenemos:

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

$$\theta_1 + \theta_2 = 90^\circ, \quad (2.14)$$

donde θ_1 es el ángulo de incidencia y θ_2 es el ángulo de refracción. Usando la ley de Snell,

$$n_1 \sin(\theta_1) = n_2 \sin(\theta_2), \quad (2.15)$$

se puede calcular el ángulo de incidencia al cual no hay luz reflejada,

$$n_1 \sin(\theta_B) = n_2 \sin(90 - \theta_B) = n_2 \cos(\theta_B) \quad (2.16)$$

acomodando términos:

$$\theta_B = \arctan\left(\frac{n_2}{n_1}\right) \quad (2.17)$$

donde n_1 y n_2 son los índices de refracción de los dos medios. Esta ecuación (ec. 2.17) es conocida como la ley de Brewster.

La Microscopía de Ángulo de Brewster es una técnica que permite el estudio *in situ* de películas delgadas en interfases gas-líquido y sólido-gas. El punto de la superficie donde se hace incidir el haz de luz polarizada generada con el láser se observa mediante una cámara digital. Debido a que la luz está polarizada, cuando se tiene una superficie limpia se observa un tono monótono de gris oscuro. Cuando hay presencia de material en la interfase líquido/aire se observan regiones en tonos de grises claros.

La información sobre la cinética de adsorción de las moléculas de α -CD a la interfase líquido/aire se obtuvo usando un Microscopio de Ángulo de Brewster (MAB) modelo MicroBAM de KSV, Finlandia. Este equipo cuenta con un láser que incide sobre la interfase en un ángulo fijo de 53° y una cámara con un campo de visión de 3.6 mm x 4 mm y una resolución espacial de 6 μm por píxel que digitaliza las imágenes. Las muestras se colocaron en una palangana de Langmuir (Minimicro, KSV Instruments, Finland) cuya área es de 98 cm^2 y puede contener hasta 57 mL de disolución. Esta palangana también está equipada con dos barreras móviles y un tensiómetro con un sensor de barra (níquel) que tiene una

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

resolución de 0.01-1 mN/m. Para el control de la temperatura (283 y 298 K) se usó un baño recirculante. Se midieron tres diferentes disoluciones, todas a una concentración de 10 mM de α -CD, dos de ellas se usaron inmediatamente después de su preparación. La tercera disolución se guardó por siete días a temperatura ambiente y luego se midió a 283 K para observar el efecto del envejecimiento en el seno de la disolución en la formación de la película en la interfase líquido/aire. Todas las mediciones se realizaron en un cuarto limpio, con temperatura controlada y filtro de polvo. La limpieza de la palangana se llevó a cabo con cloroformo de alta pureza y con agua desionizada (18.2 M Ω). Se consideró limpia la palangana cuando la presión superficial (π) del agua desionizada vertida en la palangana fue menor a 0.2 mN/m después de usar las barreras para comprimir un 90 % del área disponible de la palangana. Terminado este procedimiento se retiró el agua de la palangana y se colocaron 40 mL de la disolución de α -CD a medir. Las imágenes de MAB se grabaron en intervalos de 15 a 20 minutos durante las primeras 6 horas y luego de 30 a 60 minutos hasta terminar el experimento. La duración promedio de los experimentos fue de 20 horas que es el límite para estas condiciones debido a la evaporación.

2.2.5. Tensión Superficial.

La intercara producida por el contacto de dos fases, que pueden ser líquido-vapor, líquido-líquido (inmiscibles o parcialmente miscibles), sólido-líquido o sólido-vapor, forma típicamente una película en la que las interacciones intermoleculares son anisotrópicas en la dirección perpendicular al plano de la intercara. Esta película puede ser tan fina como una monocapa molecular pero también puede estar formada por una superposición de capas de moléculas más o menos ordenadas. Como resultado, la interfase está sometida a una tensión superficial cuyas propiedades dinámicas y estáticas dependen de las interacciones que tienen lugar entre las moléculas que la componen. El caso que nos ocupa en este trabajo, es el de películas delgadas en interfases líquido/vapor.

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

Desde el punto de vista termodinámico, la tensión superficial de un líquido puro se define como:

$$\sigma = \left(\frac{\partial G}{\partial A} \right)_{T,P} \quad (2.18)$$

donde σ es la tensión superficial, G la energía de Gibbs y A el área de la interfase.

Existe una gran variedad de métodos para obtener los valores de tensión superficial de un líquido: anillo de DuNouy, pesado de gota, volumen de gota, presión máxima de burbuja, capilaridad e imagen, principalmente. Además, la cantidad de modelos para describir los comportamientos de la tensión superficial en función de la temperatura, concentración y tiempo es amplia.

2.2.5.1. Tensión Superficial Estática: Método de imagen.

La tensiometría de imagen es una técnica que se basa en el análisis óptico del perfil de una gota pendiente de un capilar de radio conocido. Al ajustar la ecuación de Young-Laplace en su forma diferencial al perfil de esta gota se obtiene el valor de la tensión superficial. Esta ecuación es:

$$\left(\frac{y''}{(1+y'^2)^{3/2}} + \frac{y'}{x(1+y'^2)^{1/2}} \right) = 2 + \frac{\Delta\rho g R_0^2}{\sigma} Y \quad (2.19)$$

donde $\Delta\rho$ es la diferencia de los valores de densidad entre la fase densa y la ligera, g es la aceleración de la gravedad, h la altura de la columna hidrostática de la gota y R_0 el radio de curvatura de la gota. La derivación detallada de esta ecuación puede encontrarse en la referencia^[25]. Mediante cálculos de geometría analítica el software del equipo también puede proporcionar el volumen y el área de la gota.

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

2.2.5.2. Tensión Superficial Dinámica

La medición de la Tensión Superficial Dinámica (TSD) utiliza el mismo principio y el mismo equipo que el de tensión estática, la diferencia consiste en que se sigue la dependencia con el tiempo de la tensión superficial. Con estas mediciones se conoce la tensión superficial al equilibrio de un sistema cuya interfase necesite largos tiempos para llegar al equilibrio, lo que significa que las velocidades de adsorción a la superficie son muy lentas. Este es el caso de algunas macromoléculas como algunas proteínas^[63] que llegan a necesitar varias horas para alcanzar el equilibrio, o en el estudio de las impurezas presentes en el DSS a concentraciones menores a la CMC, como lo demostró Fainerman.^[16]

Los valores de (TSD) de este trabajo fueron obtenidos mediante un tensiómetro de imagen (modelo OCA20 de Dataphysics, Alemania), el cuál cuenta con una cámara de vídeo de alta resolución que puede obtener hasta 123 imágenes por segundo. Este equipo también cuenta con una celda para el control de temperatura la cual fue diseñada en nuestro laboratorio y construida por Hellma (Alemania). Esta celda permite mediciones a temperatura constante de hasta 24 horas de duración debido a que se minimiza la evaporación de la gota al crear un equilibrio líquido/vapor en su interior. Se crearon gotas con un volumen de $\approx 24\mu\text{L}$ a una velocidad de $0.5\ \mu\text{L}/\text{segundo}$ en la punta de un capilar hidrofóbico (acero) de 1.650 mm de diámetro externo. Toda la punta del capilar que se colocó dentro de la celda de control de temperatura. Las imágenes fueron grabadas a una relación de una imagen por segundo. El valor de la tensión superficial fue obtenido mediante la ecuación de Young-Laplace descrita en la sección 2.2.5.1. Se midieron dos diferentes disoluciones, ambas a una concentración de 10 mM. La primera se midió inmediatamente después de preparada y la segunda se guardó por siete días para conocer el efecto del añejado del seno de la disolución en la película formada en la interfase. Las disoluciones preparadas fueron divididas en dos, una se midió con TSD y la otra se midió simultáneamente con microscopía de ángulo de Brewster.

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

2.2.6. Módulo Dilatacional

El módulo de elasticidad o dilatacional está relacionado con la capacidad que tiene un sistema para reaccionar debido a una perturbación dada. En este caso la propiedad que responde es la tensión superficial y la propiedad perturbada es el área de la gota pendiente. Los cambios de área se pueden lograr mediante un proceso de expansión/compresión. Los valores de elasticidad están relacionados con los procesos de adsorción-desorción, así como con la reestructuración de las moléculas en la superficie y dependen del tiempo (o frecuencia) durante la cual la perturbación es aplicada. Además, estos procesos también dependen del peso molecular, la forma de la molécula y las interacciones entre las especies presentes en la superficie.

La elasticidad superficial está directamente relacionada con la estabilidad de emulsiones y películas espumosas,^[44] así como con algunos bioprocesos que ocurren en las membranas celulares. Un ejemplo es el intercambio de oxígeno en las membranas de los alveolos pulmonares.^[53] También se pueden encontrar procesos que ocurren a nivel membranar en donde la interacción membrana/proteína dependen de la elasticidad y empaquetamiento de los lípidos en la membrana.

La elasticidad dilatacional (*surface dynamic elasticity*) también llamada elasticidad de superficie (*surface elasticity*) G se define como:

$$G = \frac{d\gamma}{d \ln A} \quad (2.20)$$

donde $d\gamma$ es el cambio infinitesimal de la tensión superficial con respecto al cambio del logaritmo natural del área ($d \ln A$). Tanto el área como la tensión superficial (γ) son calculados ajustando el perfil de la gota con la ecuación de Young-Laplace (ecuación 2.19).

Bajo regímenes dinámicos el comportamiento de una película va desde un comportamiento viscoso hasta uno elástico. Tomando como guía la figura 2.3, si no existe un proceso de relajación, la fase es $\delta = 0$, lo que indica que no hay diferencia entre la perturbación y la respuesta del sistema y no hay disipación de energía, en este caso el sistema se considera

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

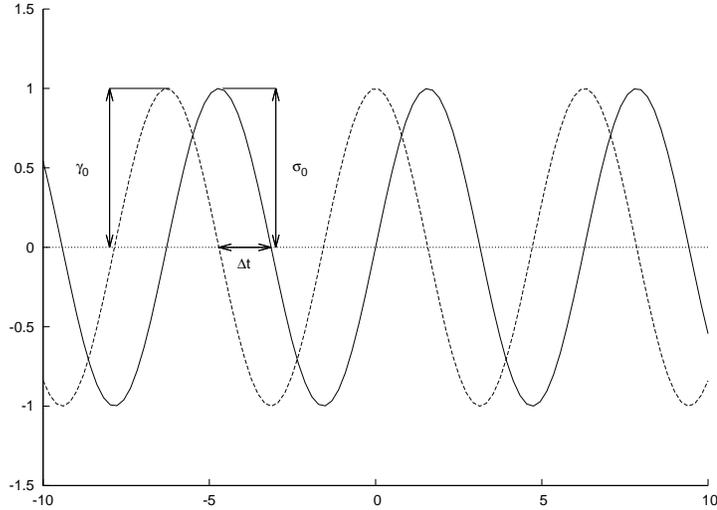


Figura 2.3: Esquema de la señal sinusoidal que provoca la perturbación del área (línea punteada) y la respuesta de la tensión superficial (línea sólida). Δt = representa el tiempo que tarda en reaccionar el sistema a la perturbación, γ_0 es la amplitud del área y σ_0 la amplitud de la tensión superficial.

elástico. En el otro extremo, cuando $\delta = 90$ el sistema es viscoso, para todos los demás valores ($0 < \delta < 90$) el sistema se considera viscoelástico.

La relación entre el esfuerzo máximo σ_0 y la deformación máxima γ_0 (figura 2.3) se conoce como el módulo de elasticidad:

$$|G^*| = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \quad (2.21)$$

En este caso se puede resolver en dos componentes:

$$|G^*| = G' + iG'' \quad (2.22)$$

Para descomponer $|G^*|$ en G' y G'' :

$$G' = |G^*| \cos \delta \quad (2.23)$$

$$G'' = |G^*| \sin \delta \quad (2.24)$$

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

El módulo dilatacional se midió para disoluciones con concentraciones constantes de α -CD en 10 mM y variables (entre 1 y 13.6 mM) de h-DSS a 283 y 293 K. Para obtener los valores de los módulos de elasticidad de la película, se usó un equipo de la marca DataPhysics modelos ODG (Alemania). Este equipo usa como módulo primario el tensiómetro de imagen OCA20. A este módulo primario se le adapta uno que posee un piezoeléctrico con el cual se realizan perturbaciones al área (a través del volumen) de la gota. El módulo dilatacional se obtiene a partir de la variación de la tensión superficial $d\gamma$ en función del área de la gota dA .

Todas las gotas fueron creadas a una velocidad constante de $0.6 \mu\text{L/s}$ y medidos a un volumen de $20 \mu\text{L}$. La gota colgó de la punta de un capilar con un radio externo de 1.65 mm. El intervalo de frecuencias usado fue de 0.01 a 0.2 Hz midiendo 5 frecuencias con cada gota. Antes de crear la gota se estabilizó térmicamente el sistema por 15 minutos; transcurrido este tiempo se creó la gota y se dejó estabilizar la superficie de la gota por 1.5 horas. Para estimar el tiempo de estabilización se hicieron pruebas de tensión dinámica (a volumen constante) como lo indica la figura 2.4; cuando la tensión superficial dinámica muestra una pendiente constante, cercana a cero, se consideró al sistema como estable.^[18]

Al terminar este tiempo de estabilización comenzó la perturbación sinusoidal del área. Las imágenes se grabaron a una razón de 120 por ciclo, en cada frecuencia se midieron 12 ciclos dando un total de 1,200 imágenes por frecuencia y 6,000 por gota. Posteriormente se procesaron las imágenes para obtener los valores de tensión superficial. Con estos datos el

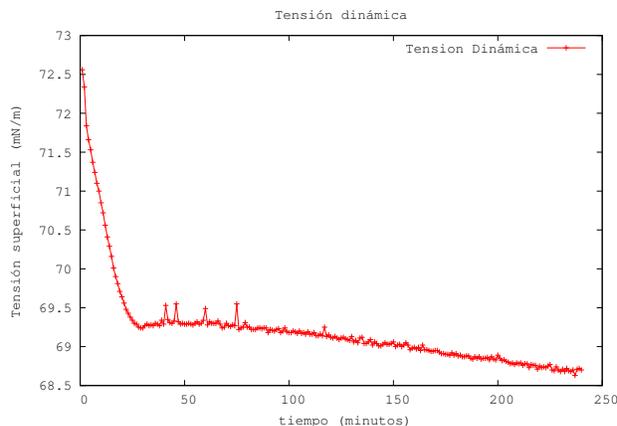


Figura 2.4: Medidas de tensión dinámica de disoluciones con concentraciones de α -CD [10mM] y h-DSS [3.4mM], para conocer el tiempo de espera necesario para alcanzar la estabilidad en la intercara.

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

módulo dilatacional $|G^*|$ es calculado, así como sus componentes G' (parte real/viscoso) y G'' (parte imaginaria/elástica). También se obtiene δ que es ángulo de desfase. Se realizaron exhaustivas pruebas de reproducibilidad para poder obtener dos parámetros básicos de las mediciones, a saber: el cambio de área de la gota que fue de 8% y la cantidad máxima de frecuencias por gota, fue de 5. (el equipo es capaz de grabar hasta 20 frecuencias por gota, pero se obtienen reproducibilidades muy pobres). También se realizaron mediciones de las disoluciones binarias α -CD /H₂O y h-DSS/H₂O y agua pura como controles.

2.2.7. Reflexión de Neutrones.

Las técnicas de reflectometría son importantes para la caracterización de la estructura de interfases a nivel nanométrico (entre 1-5000 angstroms)^[31;39] La reflectometría se utiliza principalmente en el estudio de las propiedades internas de la estructura de interfases, dando información de la estructura y de las propiedades del material que se encuentran formando éstas. Particularmente la reflexión de neutrones nos da la posibilidad de estudiar interfases acuosas con ayuda de sustituciones isotópicas de hidrógenos por deuterios, lo que nos brinda la oportunidad de distinguir entre la subfase, la superfase y la/las interfases. En un experimento típico de reflexión especular se hace incidir un rayo colimado de neutrones sobre la superficie a estudiar con un ángulo θ (figura 2.5). La reflectividad, (R) del rayo reflejado especularmente es medido como una función del cambio en el momento perpendicular a la superficie, $Q_z [Q_z = (4\pi \sin\theta)/\lambda]$, y es definido como la relación entre la intensidad del rayo incidente y el reflejado.

2.2.7.1. Modelo

La reflectividad medida depende de la variación del parámetro SLD (Scattering Length Density) $\rho(z)$ que es perpendicular a la interfase. Generalmente la estructura interfacial puede ser aproximada mediante un modelo de capas con espesor d_n (donde n es la capa a la

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

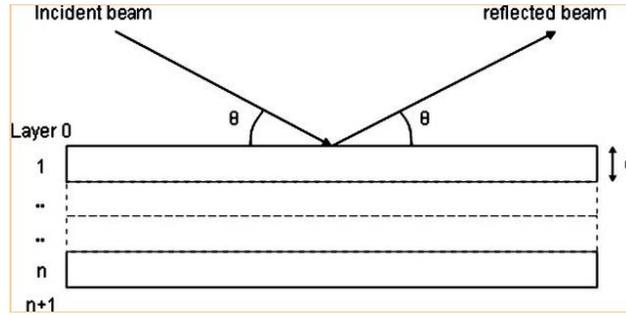


Figura 2.5: Esquema de la reflexión especular de neutrones sobre una superficie acuosa.

que se hace referencia) cada una de estas capas tiene un “scattering length density” (SLD) ρ_n y rugosidad $\sigma_{n,n+1}$. Estas capas se encuentran entre la súper y la subfase.

En este modelo la interfase se divide en n capas y se supone que el rayo de neutrones es reflejado por cada una de estas capas; así el valor del vector de onda, k en la capa n está dado por:

$$r_{n,n+1} = \frac{k_n - k_{n+1}}{k_n + k_{n+1}} \quad (2.25)$$

El coeficiente de Fresnel se modifica debido a que la interfase entre cada capa está lejos de ser completamente plana, esta modificación se introduce mediante una función error (ecuación 2.26).

$$r_{n,n+1} = \frac{k_n - k_{n+1}}{k_n + k_{n+1}} \exp(-2k_n k_{n+1} \sigma_{n,n+1}^2) \quad (2.26)$$

También se tiene un término que representa el espesor (d_n) de cada capa:

$$\beta_n = k_n d_n \quad (2.27)$$

Entonces resulta una matriz característica, c_n para cada capa:

$$c_n = \begin{bmatrix} \exp \beta_n & r_n \exp(\beta_n) \\ r_n \exp(-\beta_n) & \exp(-\beta_n) \end{bmatrix} \quad (2.28)$$

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

La matriz resultante está definida como el producto de estas matrices características,

$$M = \prod_{n=0}^n c_n, \quad (2.29)$$

de donde la reflectividad calculada es:

$$R = \left| \frac{M_{11}}{M_{21}} \right|^2 \quad (2.30)$$

Cada una de las curvas de reflectividad se modelan con un mínimo de 5 variables: el factor de escala del equipo^[6], el SLD de la súper y subfase (generalmente conocido y constante), el ruido de fondo y la rugosidad de la subfase. El ruido de fondo agrega una constante a todos los valores de Q . Otras cuatro variables se requieren para cada capa: el espesor (d), la SLD del material (ρ) la penetración del solvente (%solv) y la rugosidad (σ). El método para realizar los ajustes de estas ecuaciones son dos: el de Abeles matrix o Parratt descrito en la literatura^[42].

En este trabajo los experimentos de Reflexión de Neutrones (RN) se llevaron a cabo en el reflectómetro FIGARO (Fluid Interfaces Grazing Angles ReflectOmeter) que se encuentra en el Instituto Laue-Langevin en Grenoble, Francia. Este equipo recibe impulsos de neutrones con una longitud de onda de 2 a 20 Å y a dos ángulos fijos: 0.624° y 3.78°. Los principios de la aplicación de esta técnica a la interfase líquido/aire se encuentran descritos en la literatura.^[6] Para obtener una mayor cantidad de datos experimentales que ayuden a obtener ajustes de mayor calidad se usaron contrastes. Éstos, son el resultado de usar componentes deuterados, tanto en los disolventes como en las moléculas. Los dos disolventes usados para las mediciones fueron agua deuterada (D₂O) y ACMW (Air Contrast Matched Water) que es una mezcla de 8.1 % en volumen de D₂O y H₂O en la cual no existe reflexión de neutrones de la subfase. En el caso de las moléculas se usó dodecil sulfato de sodio protonado (h-DSS) y dodecil sulfato de sodio deuterado (d-DSS). Los diferentes contrastes usados se muestran en la tabla 2.2 y se especifican de manera más amplia en la sección de resultados y discusión (sección 3.2.3 de este trabajo).

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

Tabla 2.2: *Diferentes contrastes usados en las mediciones de reflexión de neutrones. En estos contrastes se varía el componente deuterado. Los componentes son: d-DSS (Dodecil Sulfato de Sodio deuterado), D₂O (agua deuterada), NRW (Non Reflective Water, 81 % H₂O y 19 % D₂O.) y h-DSS (Dodecil Sulfato de Sodio protonado).*

	Descripción del contraste
Contraste1	ACMW + d-DSS
Contraste2	D ₂ O + d-DSS
Contraste3	ACMW + h-DSS
Contraste4	D ₂ O + h-DSS

En los experimentos se empleó α -CD totalmente protonada. Sin embargo los hidrógenos expuestos (que se encuentran en los grupos hidroxilos), pueden sufrir deuteración al ser disueltos en D₂O. Para conocer el grado de deuteración de la α -CD se realizaron experimentos de Resonancia Magnética Nuclear tanto en D₂O como en ACMW. Se encontró que la α -CD sufre tres sustituciones H→D que es el 100 % de los hidrógenos en grupos hidroxilos. En ACMW se sustituyen en proporción a la composición de H₂O y D₂O (92 y 8 %, respectivamente) es decir hay cuatro sustituciones H→D en toda la α -CD . Este reemplazo provoca que el parámetro “longitud de dispersión” de la α -CD sea diferente en D₂O y en ACMW (de 376.31 y 204.09 fm, respectivamente). El valor del volumen molecular (V) de la α -CD empleado fue de 995 Å³ y se determinó mediante la interpolación de datos en la literatura.^[41] Éste y otros parámetros usados para realizar los ajustes de RN se resumen en la tabla 2.3. Los ajustes se realizaron con el software SANGRA^[45] el cuál está basado en la implementación del método de Parrat^[42] para el modelado de multicapas usando las ecuaciones de Fresnel. Este análisis está limitado a la determinación de la cantidad de material absorbido a la interfase líquido/aire. Cada curva de reflexión obtenida usando ángulo bajo fue ajustada independientemente a un modelo de una capa.

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

Tabla 2.3: *Parámetros importantes usados en los ajustes de RN.*

	SL (fm)			SLD ($\times 10^{-6} \text{\AA}^{-2}$)	
molécula/complejo	Disolvente		$V_m(\text{\AA}^3)$	Disolvente	
	D ₂ O	ACMW		D ₂ O	ACMW
α -CD	376.502	204.274	995 ¹	3.784	2.053
h-DSS	15.944		407 ²	0.392	
d-DSS	276.234			6.787	
α -CD ₂ d-DSS ₁	2.937	1.621	2618 ³	2.937	1.621
α -CD ₂ h-DSS ₁	3.931	2.616		3.931	2.616

¹ *Determinado mediante la interpolación de datos encontrados en^[41]*

² *Valor usado de Campbell et al., J. Phys. Chem. B, 2012, 116 (27), pp 7981–7990^[7]*

³ *De simulaciones de dinámica molecular.*

En las muestras del sistema binario, las disoluciones de α -CD medidas fueron preparadas a una concentración de 10mM en dos diferentes contrastes: D₂O y ACMW. El ángulo bajo no contiene información estructural de la capa y a pesar de esta falta de información estructural el producto de ρ y τ fue posible estimar la concentración en superficie $\Gamma = \rho\tau/(N_A b)$ donde N_A es el número de Avogadro, y $b = \sum b_i$ es la reflexión coherente obtenida de la suma de todos los valores correspondientes sobre cada núcleo.

Para el caso de la ternaria, se midieron muestras con una concentración constante de α -CD de 10 mM y una concentración variable del tensoactivo. Los sistemas examinados fueron: h-DSS + α -CD + D₂O, h-DSS + α -CD + ACMW, d-DSS + α -CD + D₂O y d-DSS + α -CD + ACMW.

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

2.2.8. Elipsometría.

La elipsometría (EP), también conocida como elipsometría espectroscópica es una técnica no destructiva que se basa en la medición de los cambios de polarización representados por su relación de amplitud (Ψ) y el cambio de fase (Δ). Estos cambios dependen de las propiedades ópticas del material así como del espesor de la película. Sin embargo, esta técnica también puede usarse para caracterizar composición, cristalinidad, rugosidad, concentración de dopaje, entre otras propiedades. Una de las ventajas de esta técnica es que se pueden caracterizar películas delgadas que se encuentren en diferentes interfases: sólido-aire, sólido-líquido y líquido-aire.

Las mediciones de EP para este trabajo se efectuaron en la interfase líquido/aire en un equipo Picometer Light Ellipsometer (Beaglehole Instruments, Nueva Zelanda) en el departamento de Materia Condensada del ILL (Grenoble, Francia). Se midieron cuatro disoluciones de α -CD a 10 mM. Dos fueron usadas inmediatamente después de ser preparadas (frescas) y se midieron a 283 y 298 K. Las otras dos muestras se añejaron, una de ellas fue guardada a temperatura ambiente por 4 días y medida a 298 K y la otra fue guardada a 277 K por 9 días y luego medida a 283. El equipo empleado cuenta con un láser de HeNe con una longitud de onda de 632 nm y un ángulo de incidencia de 50° . Los parámetros que se midieron fueron el cambio de polarización de la luz después de ser reflejada sobre la superficie, donde la amplitud relativa y la fase de los componentes (“p-polarize” y “s-polarize”) cambian en función de la cantidad de material presente en la superficie.^[3] La atenuación Ψ y el cambio de fase Δ dependen de las propiedades de la superficie y del ángulo de incidencia. A diferencia de las mediciones en las interfases aire/sólido y líquido/sólido, donde la fase sólida es la que absorbe la luz; en la interfase líquido/aire Ψ no es sensible a las propiedades ópticas de la película delgada. De tal manera que se propuso un modelo empleando el parámetro $\Delta_{surf} = \Delta - \Delta_0$ Δ corresponde a la α -CD o sus agregados y Δ_0 a la superficie pura (agua). La resta se realiza para minimizar los efectos de rugosidad de la superficie.^[14] Para el tratamiento de

2.2. Descripción de las técnicas usadas.

los datos se propusieron dos modelos. En el primero se trata a la película con densidad es constante y el grosor variable, el cual resulta en un modelo lineal, es decir:

$$\Gamma(\Delta_{surf}) = a + b\Delta_{surf} \quad (2.31)$$

En el segundo, se asumió que el comportamiento de la película es como de partículas individuales (grosor constante y densidad variable) el cuál resulta en un modelo cuadrático:

$$\Gamma(\Delta_{surf}) = a + b\Delta_{surf} + c\Delta_{surf}^2 \quad (2.32)$$

La descripción completa del modelo se encuentra en el apéndice A.

Tomando la información obtenida de reflexión de neutrones (ver sección 2.2.7) acerca del grosor de la película en la interfase (4 nm) para el sistema α -CD + agua, se usó el modelo de grosor constante con la siguiente ecuación empírica:

$$\Gamma = (0.958 \times \Delta_{surf} - (0.0339 \times \Delta_{surf}^2)) \quad (2.33)$$

(ver Apéndice A). Para obtener esta ecuación se emplearon datos de los índices de refracción medidos para disoluciones de α -CD (0.186 cm³/g) que resultaron en un índice de refracción de 1.462 para una “película pura”.

Capítulo 3

Resultados y Discusión.

En este capítulo se presentan y discuten los resultados obtenidos empleando las técnicas y equipos descritos en el capítulo anterior. Primero para el sistema binario α -CD + H₂O y posteriormente para el sistema ternario α -CD + DSS + H₂O.

3.1. Sistema binario α -CD + H₂O.

En esta sección se presentan los resultados y discusión divididos en dos partes, primero se discutirá la caracterización del seno del líquido y después de la interfase líquido/aire.

3.1.1. Agregados de α -Ciclodextrina en el seno de la disolución.

3.1.1.1. Microscopía de transmisión de electrones (MTE).

En este trabajo, el primer indicio de la presencia de agregados en el seno de la disolución se obtuvo mediante MTE, una técnica donde se seca una gota de la disolución sobre una superficie hidrofílica. Las disoluciones medidas fueron a una concentración de 10 mM de α -CD y se empleó un filtro con poro de 0.2 μ m antes de ser depositada en el sustrato. También se usó un filtro con poro de 0.45 μ m (los mismos tamaños de poro usados en

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

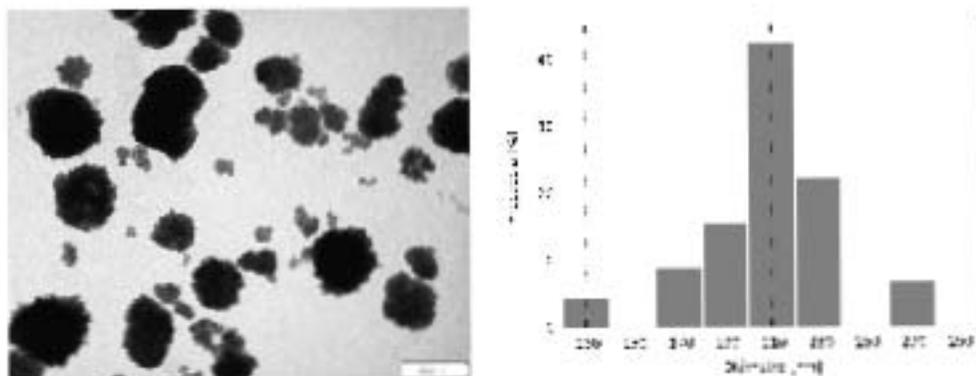


Figura 3.1: Micrografías de MTE de agregados de α -CD en el seno de la disolución. Las muestras fueron preparadas a 273.15 K, frescas. Se muestra una imagen representativa de todas las obtenidas. A la derecha se muestra la distribución de los tamaños de los agregados de α -CD .

DDL). En estos experimentos de MTE se observó la presencia de agregados de α -CD en las micrografías. Esta evidencia indirecta de los agregados de α -CD se muestran en la figura 3.1, donde además de una micrografía representativa se muestra también el histograma de distribución del tamaño de los agregados. Las imágenes que se obtuvieron con los diferentes tamaños de filtro, no muestran diferencias estadísticas, por lo que sólo se muestra una de ellas. En ésta, (figura 3.1 se observa una distribución relativamente unimodal y simétrica. Se han reportado resultados muy parecidos para la β -ciclodextrina. [3] Cabe mencionar que una transferencia de la interfase líquido/aire a superficies sólidas para su caracterización ya se ha llevado a cabo con éxito anteriormente para este sistema de α -CD + agua.^[22]

3.1.1.2. Dispersión dinámica de luz y calorimetría.

La formación espontánea de los agregados de α -CD y el cambio de su tamaño en función del tiempo fue seguida con la técnica de dispersión dinámica de luz (DDL) para disoluciones con una concentración de 10 mM y dos temperaturas: 283 K y 298 K. La figura 3.2 nos indica la presencia de agregados en el seno del líquido a las dos temperaturas, habiéndose detectado agregados unos minutos después de haber filtrado la muestra. A 298 K, el radio

3.1. Sistema binario α -CD + H₂O.

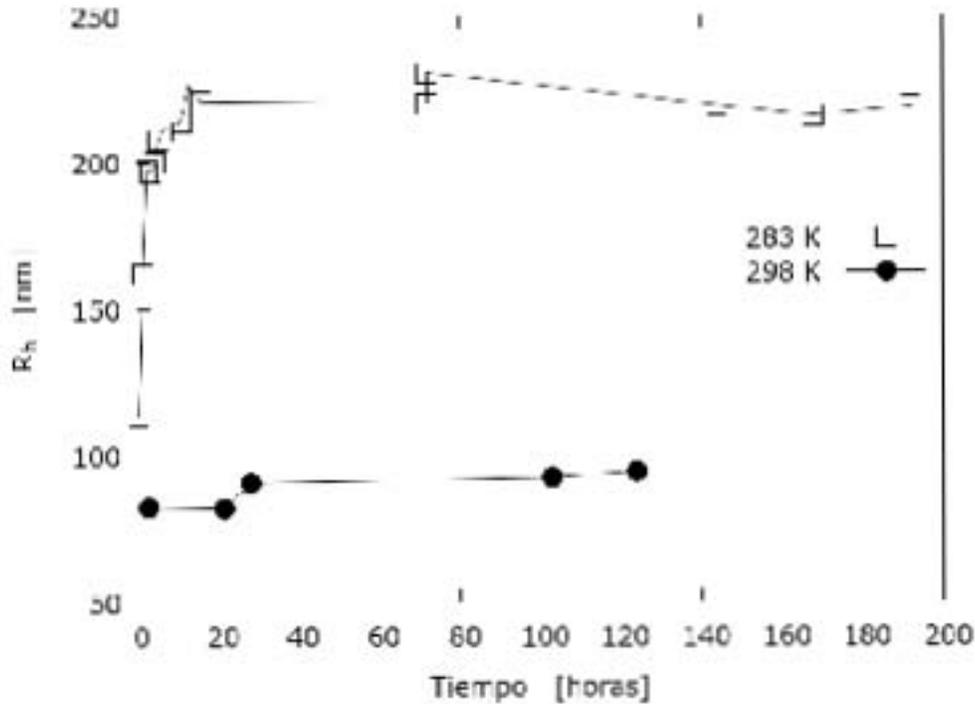


Figura 3.2: Mediciones con DDL del radio hidrodinámico (R_h) de los agregados a 283 en función del tiempo para disoluciones acuosas de α -CD, todas las disoluciones se filtraron a través de membranas de celulosa de $0.2 \mu\text{m}$; cuentas de fotones como función del tiempo.

hidrodinámico inicial (R_h) está en concordancia con el reportado en la literatura que es de $68 \pm 20 \text{ nm}$, para una disolución de 12 mM de α -CD usando el mismo tamaño de filtro.^[20] A 298 K el valor de R_h se incrementa lentamente desde 80 nm hasta alcanzar un tamaño de aproximadamente 100 nm en 120 horas, Por otro lado, a 283 K , el valor inicial de R_h es mayor (110 nm) que a 283 K . Se observa un incremento drástico del R_h hasta alcanzar un valor de 230 nm en las primeras 10 horas, para luego mantenerse constante hasta alcanzar las 200 horas.

En la figura 3.3 se muestra la distribución de los tamaños de los agregados en el seno de la disolución a 83 y 298 K que corresponden a diferentes tiempos de la figura 3.2 ($t=0$ para las dos temperaturas, $t=120$ para 298 K y $t=160$ a 283 K). Mientras que para el

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

tiempo 0 (muestra fresca) las distribuciones son invariantes (figura 3.2), se observa un cambio significativo para las muestras a tiempos largos (muestra añejada). A la temperatura de 283 K, este cambio es mayor en las primeras 10 horas, tiempo en el que los agregados llegan a alcanzar un R_h de hasta 600 nm, que es un valor mucho mayor que el que se alcanza, en el mismo tiempo, a altas temperaturas. También se observa a 283 K una distribución menos simétrica con tendencia hacia los tamaños más grandes de agregados. Ya que el cálculo que se tiene que realizar para obtener el valor en porcentaje en volumen a partir de los datos de intensidad no es del todo confiable^[51] se muestran en el recuadro de la figura 3.3 las cuentas de fotones, que es el dato crudo que se obtiene del equipo. En este recuadro, se observa cómo el conteo de los fotones se incrementa para la temperatura de 283 K, mientras que para 298 K permanece casi constante. Este resultado confirma que está ocurriendo un proceso de agregación de la α -CD en el seno de la disolución a 283 K. La figura 3.4 muestra la buena reproducibilidad de las mediciones de DDL.

Con el objetivo de confirmar la agregación de la α -CD que indicó los experimentos de DDL, se realizaron mediciones de CTI para obtener la entalpía de dilución (ΔH_{dil}). Estos experimentos de CTI se realizaron a 283 K a una concentración de 10 mM para muestras frescas (recién preparadas), y a 20 mM para disoluciones frescas y añejadas (3 y 6 días). Estos resultados se reportan en la figura 3.5. Los resultados no muestran diferencias importantes entre las muestras, ni siquiera para la muestra añejada por 6 días con concentración de 20 mM en donde se esperarían valores de ΔH_{dil} mayores reflejando la presencia de agregados más grandes. Este resultado indica que la técnica CTI no es sensible a la concentración de los agregados que sabemos por DDL aumentan su tamaño, lo que sugiere que: i) la señal corresponde a la disolución de los monómeros y la señal proveniente de la disolución de los agregados no es perceptible; esto está soportado por la baja concentración de los agregados que fue reportada por Valente^[60] como menor al 1 % y por Gaitano^[20] como de 0.8 % y ii) el hecho de que la ruptura o formación de puentes de hidrógeno, que el CTI sí puede detectar, se puede compensar con la ruptura o formación de puentes de hidrógeno con las moléculas

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

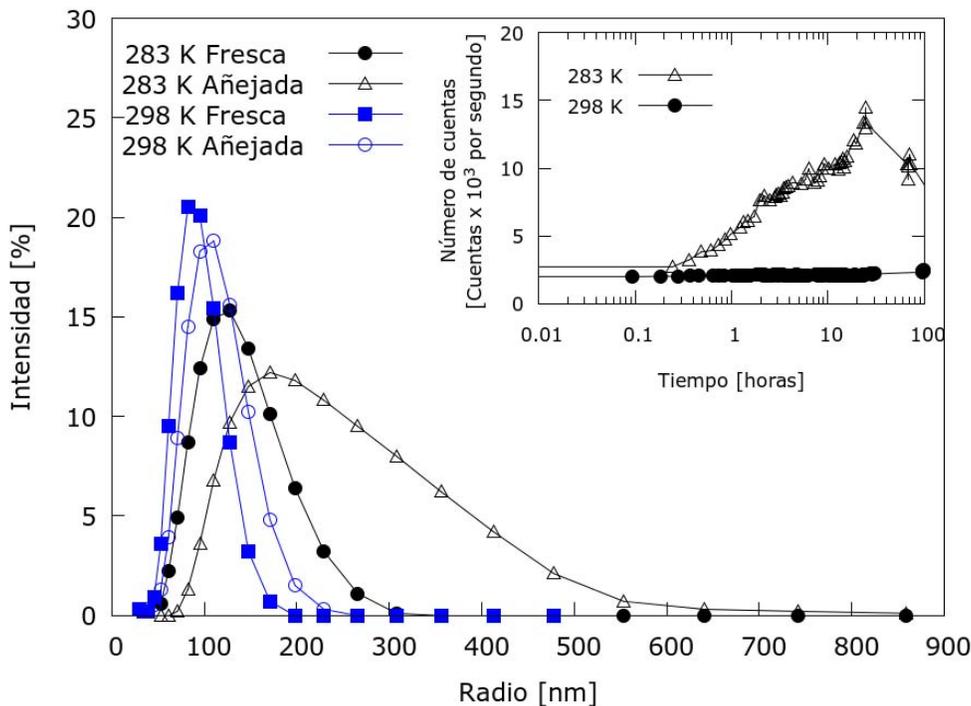


Figura 3.3: Distribución del tamaño de agregados de α -CD en función del tiempo y añejamiento de la muestra (se guardó a 277 K por 8 días) y se midió a 283 K. El recuadro muestra las cuentas de fotones en función del tiempo. Todas las disoluciones se filtraron a través de membranas de celulosa de 0.2 μm de tamaño de poro.

de agua circundantes.

Si suponemos que la molécula de α -CD tiene forma de esfera con diámetro de 1 nm y además que los agregados formados en solución también son esféricos podemos estimar, usando datos de DDL de la figura 3.2, que el número de moléculas en el agregado es del orden de $\approx 10^6 - 10^7$ moléculas (lo que está en concordancia con los datos reportados de Valente^[60] y Gaitano^[20]). Debido a las limitantes computacionales de las simulaciones de dinámica molecular que fueron realizadas recientemente por uno de los colaboradores de este trabajo, se estudiaron agregados de solamente 40 moléculas,^[38] y por esta razón no son representativas de los agregados que existen en el seno de la disolución según DDL. Sin

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

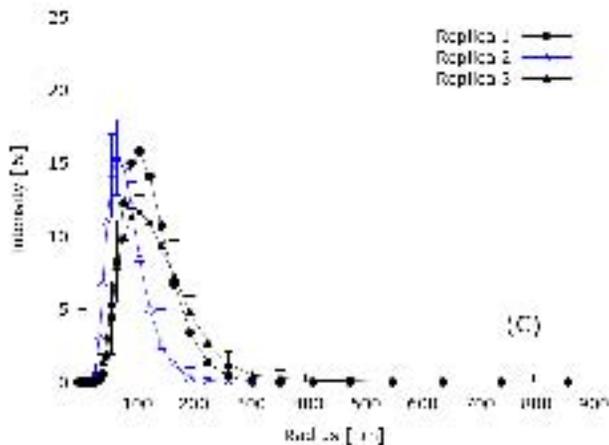


Figura 3.4: Radio hidrodinámico para 3 muestras frescas independientes medidas a 283 K y con una concentración de 10mM.

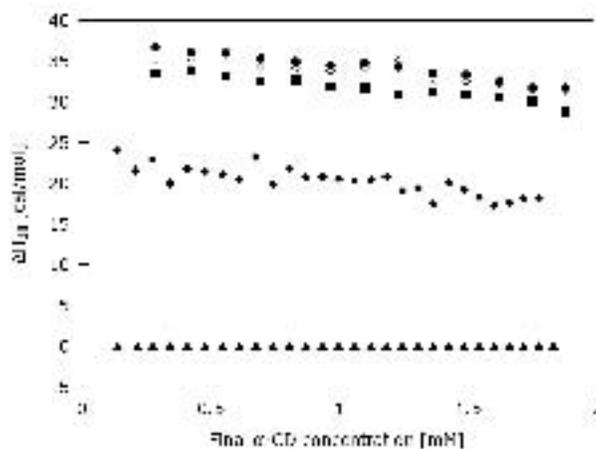


Figura 3.5: Mediciones de CTI que muestran las entalpías de dilución (ΔH_{dil}) para muestras frescas de α -CD a 10 mM(\blacklozenge) y 20 mM (\diamond) (colocadas en la jeringa) y tituladas sobre agua pura (colocada en la celda) a 283 K. También se muestran disoluciones añejadas por 3(\blacksquare)y 6 días (\bullet) a una concentración de 20 mM. Se realizaron experimentos control mediante la titulación de disoluciones de 10 mM α -CD sobre disoluciones idénticas (\blacktriangle).

embargo, basados en los cálculos de energía libre ese trabajo^[38] computacional se sugiere que la fuerza conductora (o driving-force) para la formación de agregados de α -CD son las

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

interacciones soluto-soluto. Este resultado será retomado en la siguiente sección, donde se discute la adsorción a la interfase líquido/aire.

3.1.2. Agregados de α -Ciclodextrina en la interfase líquido/aire.

El comportamiento de la interfase líquido/aire debido a la presencia de agregados de α -CD en el seno de la disolución se estudió mediante microscopía de ángulo de Brewster (MAB), tensión superficial dinámica (TD), elipsometría (EP) y reflexión de neutrones (RN). Debido a que los resultados de DDL muestran que el tamaño de los agregados en el seno de la disolución se incrementa en función del tiempo se realizaron mediciones de muestras frescas y añejadas.

3.1.2.1. Microscopía de ángulo de Brewster y tensiometría dinámica.

Se realizaron experimentos simultáneos de TD y MAB a 283 K usando la misma muestra, la cual fue depositada tanto en la palangana del microscopio de ángulo de Brewster como en la jeringa del tensiómetro. Los datos de tensión superficial dinámica se presentan como presión superficial dinámica para poder apreciar los pequeños cambios en función del tiempo (figura 3.6). En esta figura se puede observar el incremento del valor de la presión superficial en función del tiempo. Es común encontrar en la literatura resultados que indican que la α -CD no es superficialmente activa presentando pequeños cambios en los valores de tensión superficial con respecto a la concentración.^[22;47] En las mediciones de tensión dinámica encontramos decrementos en los valores de tensión superficial parecidos para una disolución de 10 mM a 20 horas y para una disolución de 70 mM a 0 horas. Sin embargo, al estudiar el comportamiento dinámico, aunque los decrementos de tensión superficial siguen siendo pequeños, ahora los encontramos a concentraciones bajas y tiempos largos (tensión superficial dinámica). Además se muestra en la figura 3.7 las 3 replicas independientes que se realizaron de la presión superficial en función del tiempo.

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

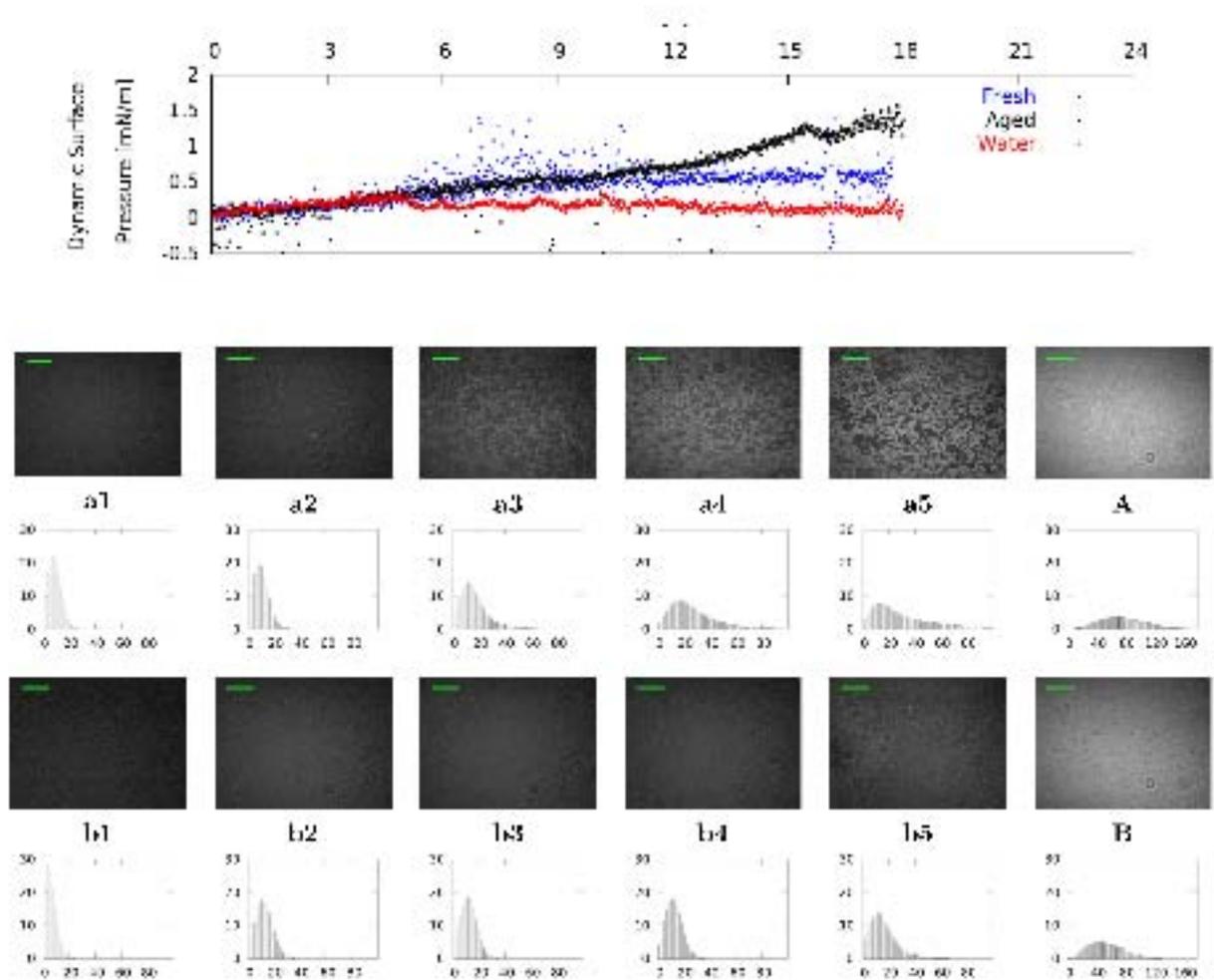


Figura 3.6: Resultados de experimentos realizados con TSD y MAB simultáneamente para la misma muestra a una concentración de 10 mM de α -CD y 283 K. La gráfica superior muestra el comportamiento de la tensión superficial dinámica en función del tiempo. Se obtuvieron imágenes de MAB a diferentes tiempos de la muestra fresca (a) y añejada (b). Los números 1, 2, 3, 4 y 5 corresponden al tiempo en que las imágenes fueron adquiridas: 0, 1, 3, 6 y 20 horas. Las últimas imágenes, A y B se obtuvieron después de comprimir la interfase en la palangana de Langmuir. Las barras verdes horizontales muestran la escala (800 μ m). Para cada una de las imágenes de MAB se muestran los respectivos histogramas.

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

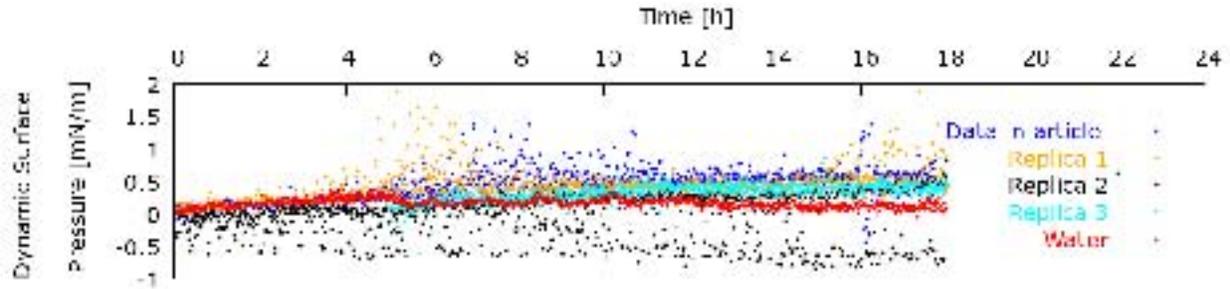


Figura 3.7: Tensión superficial dinámica en función del tiempo, donde se muestran los datos de la muestra fresca, tres réplicas y H_2O . A pesar del ruido la tendencia del incremento de la presión superficial es claro cuando se compara con el agua.

Para la interpretación de las imágenes de MAB, las regiones blancas se pueden atribuir a islas de material que generan el suficiente contraste óptico (por ejemplo por anisotropía molecular) para ser detectadas por el microscopio, mientras que las zonas negras indican zonas sin material o material desordenado.^[47;56;8] Las regiones blancas se pueden interpretar en términos de material coalescente en la interfase en una escala de decenas de cientos de micrómetros. Las imágenes de MAB (640 x 480 píxeles) fueron transformadas en histogramas de intensidad donde el número de píxeles se graficó en función de su brillantez, la escala de brillantez está dada por el valor del píxel que va desde 0 (negro) hasta el 255 (blanco), todos los números dentro de estos valores se consideran escalas de grises. El objetivo de construir esta escala de brillantez es poder discernir entre las diferentes imágenes de MAB, que dependen del tiempo, hay un cambio en la cantidad de material que se encuentra en la interfase. Estos histogramas resultaron de gran ayuda debido a la baja velocidad con la que el α -CD se adsorbe, a la falta de contraste óptico y por consecuencia a la dificultad para afirmar que hay material en la interfase.

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

En la interpretación de estos resultados presentados en las imágenes de MAB de la figura 3.6 se observa la formación de una película en la interfase líquido/aire (imágenes a3, a4 y a5), la cual presenta inhomogeneidades laterales en la escala micrométrica. Este resultado es consistente con el trabajo de maestría ya publicado.^[23] Las muestras frescas (fig. 3.6 a1-a5) al comienzo del experimento (fig. 3.6 a1) presentan poca cantidad de material en la interfase, sin embargo al observar los histogramas se aprecia un aumento en la brillantez, lo que se puede traducir en un incremento del material en la superficie. En el intervalo de una a tres horas de iniciado el experimento (imágenes/histogramas a2 y a3, respectivamente), los dominios de α -CD son visibles a pesar de su baja reflexión. Estos dominios están dispersos de manera aleatoria en la interfase, dejando áreas negras donde es probable que exista material pero con una densidad baja o una morfología desordenada. Después de seis horas y hasta veinte (imágenes/histogramas a4 y a5, respectivamente), se logra apreciar una clara adsorción del material con una morfología cada vez más homogénea y con un área de mayor de cobertura de los agregados. En la imagen (A) se muestra la interfase después de comprimirla con las barreras de la palangana, con esta imagen y su respectivo histograma se demuestra que la interfase no está en un equilibrio dinámico con la subfase, por el contrario, la morfología observada está en un estado cinéticamente atrapado. Debido a la solubilidad de la ciclodextrina se esperaría un comportamiento de la interfase como de Gibbs, por el contrario, el comportamiento se asemeja más al de una interfase de Langmuir. En resumen, de las imágenes de MAB, se infiere que la interfase está compuesta por dominios de α -CD que se encuentran en una fase diferente a los espacios vacíos (zonas oscuras) adyacentes. Con el tiempo estos dominios crecen y comienzan a coalescer formando dominios más grandes y con mayor densidad.

De las mediciones de DDL se sabe que los agregados de α -CD presentes en el seno de la disolución evolucionan en tamaño en función del tiempo. Para poder discernir si esta evolución del tamaño de los agregados afecta o no a la interfase, se comparan a continuación los resultados obtenidos con las soluciones frescas y las añejadas.

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

Los resultados de MAB obtenidos para muestras añejadas (recordando que el añejamiento se lleva a cabo en el seno de la disolución y no en la interfase) se muestran en las imágenes/histogramas de la figura 3.6 b1-b5 y éstas confirman que la acumulación del material en la interfase es más lenta que para las disoluciones frescas. Solamente al alcanzar las 20 horas (fig. 3.6 b5) es posible identificar claramente la acumulación del material en la interfase. Esta acumulación lenta de material se confirma con los histogramas. Al comprimir la interfase puede verse (cómo en la muestra fresca) que no está en un equilibrio dinámico con la subfase y que la morfología observada está en un estado cinéticamente atrapado. La falta de actividad superficial de los monómeros de α -CD está soportada por las simulaciones de dinámica molecular^[38] en donde se encontró que las estructuras de 20 moléculas de α -CD no se adsorben a la interfase líquido/aire. Por esta evidencia podemos decir que los responsables de los dominios observados con MAB no son los monómeros ni agregados pequeños, sino agregados observados en el seno de la disolución mediante MTE y DDL. Además estos agregados son más grandes a menor temperatura y a mayor tiempo de añejamiento de las disoluciones, según indican las mediciones de DDL (figuras 3.2 y 3.3).

La diferencia observada con MAB y DST en las muestras frescas y añejadas puede ser atribuida a los cambios encontrados con DDL en el tamaño de los agregados en seno de la disolución. Es posible que los agregados más grandes tengan una difusión más lenta, resultando en una acumulación de material lenta en la interfase. También es posible que las especies que se adsorben a la interfase y que son más estables ahí sean agregados menores a 100 nm de diámetro. Todas estas consideraciones nos permiten concluir que los dominios observados en la interfase son formados principalmente por agregados menores a 100 nm que llegan a la interfase, y ahí coalescen o incluso se incorporan a él algunos monómeros para formar estructuras más extensas. La fuerza conductora de este proceso puede ser atribuida a las interacciones soluto-soluto, como sugieren las simulaciones de dinámica molecular.^[38] De cualquier forma el incremento tan pequeño de la presión superficial es un poco más alta para las muestras añejadas que la de las frescas, lo cual podría estar relacionado con el estado

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

cinéticamente atrapado de la película.

3.1.2.2. Reflectometría de neutrones y elipsometría.

Las mediciones de reflexión de neutrones se efectuaron para muestras de α -CD frescas con una concentración de 10 mM a 283 K, con interfases añejadas por 7-8 horas en ACMW y D_2O . La información obtenida con esta técnica está limitada al análisis de la información estructural.^[27] Debido a que las imágenes de BAM son de escalas micrométricas, no era claro si debía emplearse un modelo heterogéneo (donde se suma la reflexión de la dispersión tanto de los dominios como de los espacios entre ellos ponderados por su área de cobertura) o uno homogéneo (donde se promedia la dispersión tanto de los dominios como de los espacios entre ellos), por lo que ambos modelos se usaron con los datos. Los valores obtenidos de la aplicación de ambos modelos a los datos experimentales se muestran en la tabla 3.1, y la calidad de los ajustes puede apreciarse en la figura 3.8.

Tabla 3.1: *Parámetros estructurales que resultan de la aplicación de los modelos homogéneo y heterogéneo a los datos de RN a 283 K mostrados en la figura 3.8*

Parámetro/Resultados	Modelo homogéneo	Modelo heterogéneo
Grosor (nm)	3.95	3.87
Área de cobertura del dominio 1 ^a	1 (fijo)	0.169
Fracción de α -CD en el dominio 1 ^a	0.119	0.652
Desviación estándar	24.2	23.7
Concentración en la interfase (mg/m ²)	0.80	0.72

^a *El dominio 1 es la proporción de la cobertura de la α -CD en la interfase, como lo muestran las imágenes de MAB; otros parámetros son: rugosidad de la capa = 2.5 Angstroms; Residuo de fondo del D_2O = 5.1×10^{-7} (ajustado sólo con datos D_2O /aire); residuo de fondo del ACMW = 1.1×10^{-6} (ajustado con los últimos 8 puntos de los datos de ACMW de la figura 3.8).*

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

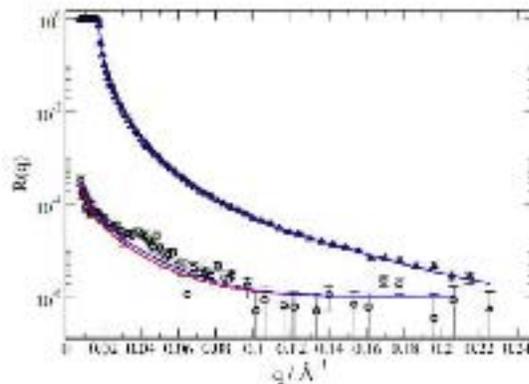


Figura 3.8: *Perfiles experimentales de reflexión de neutrones obtenidos para una disolución de 10 mM de α -CD a 283 K en D_2O (triángulos) y en ACMW (círculos). Las líneas azules son ajustes usando el modelo homogéneo de una capa y las líneas rojas son los ajustes usando el modelo heterogéneo de una capa. Ambos ajustes coinciden para las mediciones en D_2O tal que la línea roja apenas es visible.*

Después de aplicar los dos modelos se obtuvo un grosor de 3.9 nm y debido a que el eje más largo de la ciclodextrina mide aproximadamente 1 nm se infiere que la morfología interfacial es mayor a una monocapa como ya se ha reportado para sistemas compuestos por β -CD y monocapas de lípidos.^[34]

Cuando se aplica el modelo heterogéneo, la proporción de α -CD en los dominios es de 17%. Es importante hacer notar que al forzar este valor a ser mayor, los ajustes resultan cada vez con un error mayor. Estos datos de reflexión de neutrones son los únicos que han proporcionado información de la composición de la interfase hasta el momento. Los valores obtenidos a través de los dos modelos son muy similares en cuanto a la concentración en la interfase (difieren sólo en un 10%) y la desviación estándar es del 2% en ambos casos. Esto tiene dos implicaciones: i) que la información obtenida acerca de esta capa es la mayor que se puede obtener con estos datos, ii) muestran que es razonable aplicar los dos modelos para determinar la concentración en la interfase, para lo cual se adquirieron sólo datos cinéticos en

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

ACMW y hasta una $q=0.06 \text{ \AA}^{-1}$. Así, usando una composición de dominios de 17% de α -CD para limitar el número de parámetros aplicados, este modelo se empleó para la comparación con los datos de elipsometría.

La figura 3.9 muestra la concentración en la interfase obtenida de los datos de NR y de EP para muestras frescas. Estas mediciones se llevaron a cabo a 283 K por varias horas de medición. La concentración en la interfase obtenida con EP es 5 veces más grande que la de NR. Si la capa estuviera en un rápido equilibrio dinámico, esta discrepancia podría explicarse con anisotropía (i.e. diferentes índices de refracción cuando la molécula está paralela y perpendicular a la superficie. Nótese que la heterogeneidad microscópica de la interfase no se toma en consideración, ya que la distancia coherente de las mediciones

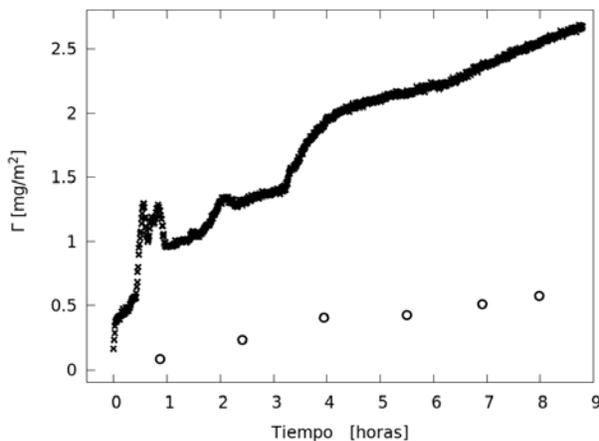


Figura 3.9: Evolución cinética de la concentración en la interfase (Γ para disoluciones de 10 mM de α -CD a 283 K medidas usando RN (círculos abiertos) y EP (cuadros sólidos)

de EP es mucho más grande que el tamaño de los dominios.^[27] Sin embargo con todas estas suposiciones el factor de 5 es del doble del observado para sistemas altamente ordenados como los sistemas lipídicos donde se presenta una separación lateral de fases^[43] y en la ausencia de una molécula huésped se esperaría que la estructura de los agregados de α -CD fuera muy poco definida^[13]. Entonces dado que tenemos una capa cinéticamente atrapada podríamos decir que los diferentes materiales y geometrías de los recipientes usados para las mediciones tanto de EP como de RN son causantes de dicha diferencia; el recipiente de RN es una palangana de material hidrofóbico que podría estar atrapando a los agregados cuya concentración está alrededor de 1 nM. Así que la aproximación a la interpretación de los datos de EP se realizará con el modelo isotrópico para poder calcular Γ pero con mu-

3.1. *Sistema binario α -CD +H₂O.*

cha cautela y restringiendo las interpretaciones a los cambios relativos y no a las escalas absolutas.

3.1. Sistema binario α -CD + H_2O .

La figura 3.10 muestra la concentración en la interfase de las muestras fresca y añejada a dos temperaturas estudiadas con RN y EP. Los datos obtenidos con EP para la muestra fresca indican un lento pero continuo crecimiento que es consistente con las imágenes de MAB. El hecho de que haya fluctuaciones temporales se puede atribuir a una capa que no es uniforme en la escala micrométrica y que existen dominios en coexistencia con zonas con poco material o zonas más densas, lo cual está acorde con lo observado con MAB y con las consideraciones de los ajustes de RN (modelo heterogéneo). En el caso de EP, las fluctuaciones temporales se atribuyen a movimientos laterales de los dominios que pasan por la zona del haz del láser como resultado del movimiento Browniano. Este fenómeno también se ha observado en mezclas que presentan una separación de fases^[44]. Es interesante que a lo largo del experimento (17 horas) no se haya podido llegar al equilibrio (zona con pendiente cero) lo que confirma la cinética lenta de adsorción de material.

En la figura 3.10 se observa una reducción drástica de la adsorción en las muestras añejadas, a pesar de que la concentración de los monómeros permanece prácticamente constante. Esta observación nos proporciona pruebas experimentales de que (i) el material en la interfase es dominado por la adsorción de los agregados de α -CD que se encuentran en el seno de la disolución. (ii) la adsorción de los monómeros a una interfase líquido/aire limpia (sin material en ella) no es favorable. También se puede decir que las películas formadas desde el seno de la disolución con una distribución más angosta de agregados a 298 K resulta en

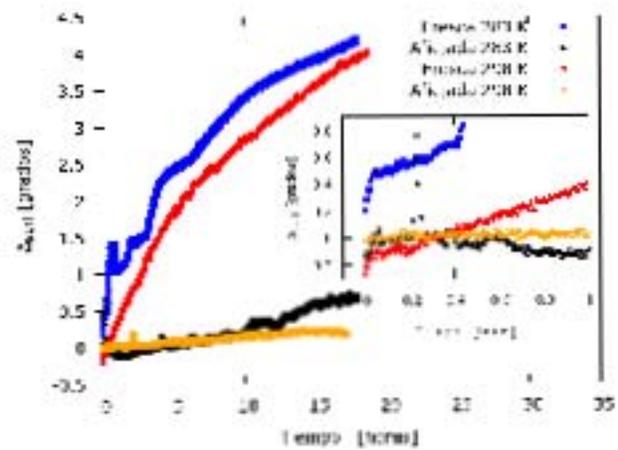


Figura 3.10: Evolución cinética de la concentración en la interfase a 283 y 298 K para muestras frescas y añejadas con una concentración de 10 mM de α -CD. La muestra añejada a 298 K se guardó a 277 K por 9 días. El recuadro muestra la concentración en la interfase durante la primera hora del experimento.

3.1. Sistema binario α -CD + H₂O.

una interfase más homogénea en la escala micrométrica, haciendo énfasis en la importancia del efecto de la temperatura para la formación de diferentes morfologías en la película. A nivel microscópico, la flexibilidad de la α -CD y sus múltiples grupos hidroxilo favorecen la formación de puentes de hidrógeno tanto en las interacciones α -CD / α -CD como en las α -CD /H₂O, lo que sugiere que la fuerza conductora, para la agregación de la α -CD y su posterior floculación lateral en la interfase es dada por las interacciones soluto-soluto, así como recientemente fue sugerido por las simulaciones de dinámica molecular.^[38] Estos resultados ponen al descubierto los diferentes procesos físicos que se llevan a cabo en un sistema binario compuesto solamente por α -CD y H₂O.

Finalmente es importante analizar los efectos que tiene la temperatura en la adsorción de los agregados de α -CD a la interfase líquido/aire. Mientras que por un lado en la figura de EP (figura 3.10) muestra sólo una pequeña disminución en la concentración en la interfase a 283 y 298 K, si existe una diferencia notable en las fluctuaciones temporales. Esto es interesante en el contexto de los experimentos de DDL, los cuales indican una distribución más angosta para el tamaño de agregados a 298 K. Esto demuestra que la temperatura tiene un efecto importante en el proceso de coalescencia resultando en una morfología más homogénea en la escala micrométrica. Claramente la temperatura es una variable clave para controlar la formación de la película existente en la interfase líquido/aire. La adición de un tensoactivo a la mezcla binaria α -CD/agua produce cambios drásticos en la situación tanto en el seno de la disolución como en la interfase líquido/aire. Estos cambios tienen su origen en la desaparición los agregados de α -CD: en el seno de la disolución son sustituidos por complejos de inclusión α -CD/tensoactivo que, en la interfase, forman una película viscoelástica. En las siguientes secciones se describen y discuten los resultados referentes a la mezcla ternaria α -CD + DSS + H₂O.

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H₂O.

Se sabe del trabajo anterior^[23] que al agregar el tensoactivo dodecil sulfato de sodio hay formación de complejos de inclusión y se tiene el antecedente de que la superficie formada tiene propiedades viscoelásticas. En dicho trabajo se encontró que en el sistema α -CD + h-DSS + H₂O se encuentran en equilibrio las especies: h-DDS libre, α -CD libre y los complejos de inclusión α -CD₂:h-DSS₁ y α -CD₁:h-DSS₁. Los complejos

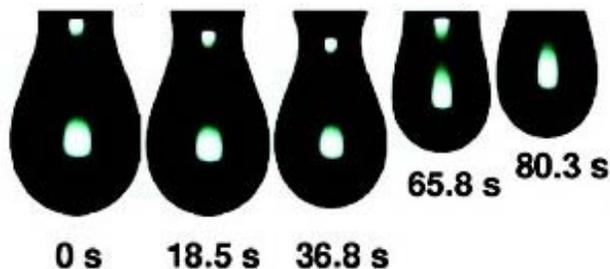


Figura 3.11: Imágenes de gotas pendientes en función del tiempo obtenidas con el tensiómetro de imagen. Imagen obtenida de^[23].

2:1 (α -CD₂:h-DSS₁) resultaron ser estables en el seno de la disolución ($K_{21} = 7800 \pm 200 \text{M}^{-1}$), y además de presentar actividad superficial¹ forman una película que se observó con microscopía de ángulo de Brewster. Esta película fue transferida mediante la técnica de Langmuir-Blodgett a una mica para explorarla con el microscopio de fuerza atómica. Se propuso que la estructura encontrada en la superficie de la mica era tubular. Una estructura muy parecida fue encontrada en la superficie líquido/aire al realizar simulaciones computacionales de dinámica molecular. Con las mediciones del tensiómetro de imagen se encontraron evidencias que indican que la película tiene propiedades elásticas: se puede observar en la figura 3.11 (tomada de^[23]) la forma de la gota que se está formando al inyectar la mezcla ternaria cambia de forma drásticamente, es decir en lugar de "ahorcarse" y caerse, la gota se contrae y "engorda" para sobrevivir. Este espectacular cambio indica que la estructura que se forma en la interfase debe ser elástica. Debido a estos resultados se decidió ahondar en el conocimiento tanto de la reología de la película así como de su estructura química. Para lograr

¹Se hicieron simulaciones de dinámica molecular donde se colocaron complejos 2:1 sin restricciones de ningún tipo y todo el tiempo que duró la simulación los complejos estuvieron en la interfase.

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H₂O.

estos objetivos se realizaron dos tipos de mediciones, primero se estudiaron las propiedades reológicas mediante la medición del módulo dilatacional con el que obtuvimos información del comportamiento visco-elástico de la película y posteriormente se realizaron medidas de reflexión de neutrones para caracterizar la composición el grosor de dicha película.

3.2.1. Calorimetría de Titulación Isotérmica.

En la técnica de reflexión de neutrones se emplean los llamados contrastes (ver sección 2.2.7). En estos contrastes se sustituyen uno o varios componentes de la mezcla (que están protonados) por algunas de las molécula deuteradas correspondientes. Para descartar que el sistema pudiera presentar características diferentes en el seno de la disolución al realizar esta sustitución, se midieron con CTI los siguientes sistemas: α -CD + h-DSS + H₂O, α -CD + h-DSS + D₂O, α -CD + d-DSS + H₂O y α -CD + d-DSS + D₂O. En la tabla 3.2 se reportan los parámetros termodinámicos para la formación de los complejos de inclusión 1:1 y 2:1 y en figura 3.12 se muestran las distribuciones de especies en el seno de la disolución. La tabla 3.2 y la figura 3.12 indican que no hay cambio en las especies presentes en el seno de la disolución cuando se sustituyen los protones por deuterios. Este resultado garantiza que las propiedades de la película en la interfase líquido/aire medidas por reflexión de neutrones no son una función algún cambio en la distribución de especies en el seno de la disolución debido al empleo de moléculas deuteradas.

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H_2O .

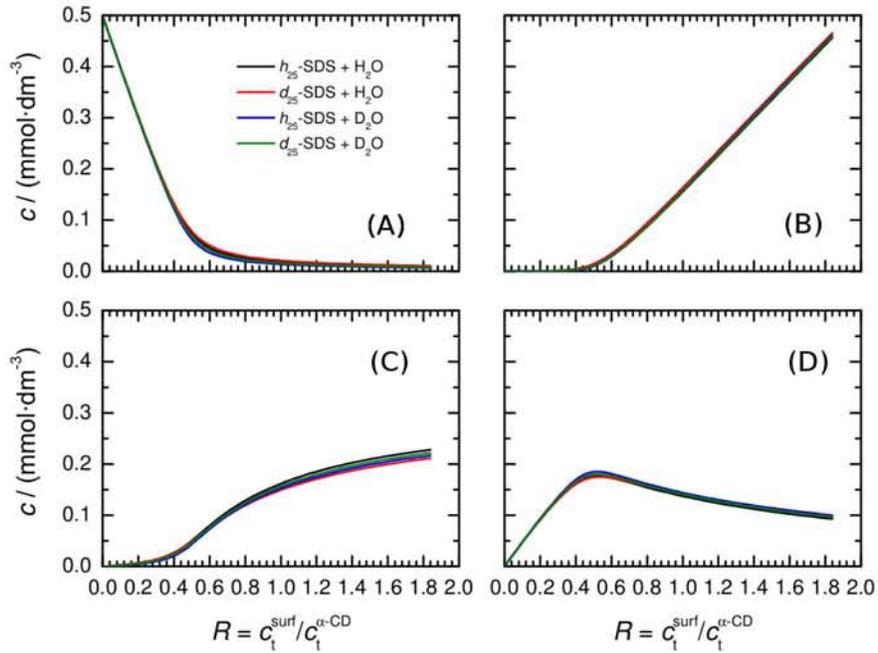


Figura 3.12: Distribución de especies obtenida con CTI para 4 sistemas diferentes, en todas las mediciones se colocó la α -CD en la jeringa y el tensoactivo (*h*-DSS ó *d*-DDS) en la celda: α -CD 1 mM + 1 mM de *h*-DDS + H_2O (negro), α -CD 0.5 mM + 0.5 mM de *d*-DDS + H_2O (rojo), α -CD 1 mM + 1 mM de *h*-DDS + D_2O (azul) y α -CD 0.5 mM + 0.5 mM de *d*-DDS + D_2O (verde). La distribución de especies es prácticamente la misma para los 4 sistemas, confirmando que la sustitución de $H^+ \rightarrow D$ no altera el comportamiento del sistema y es posible usar la técnica de NR.

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H₂O.

Tabla 3.2: *Parámetros termodinámicos obtenidos a partir de los datos experimentales empleando CTI .*

Tensoactivo	Disolvente	K_{11} $10^{-3}(\text{M}^{-1})$	K_{21} $10^{-3}(\text{M}^{-1})$	$\Delta_r H_{11}$ $(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta_r H_{11}$ $(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$s(\text{J} \cdot \text{mol}^{-1})$
h-DSS	H ₂ O	57.6 ± 0.6	47.1 ± 0.5	-22.5 ± 0.2	-60.2 ± 0.2	460
h-DSS	D ₂ O	69.8 ± 0.5	68.3 ± 0.4	-22.7 ± 0.1	-61.9 ± 0.1	280
d-DSS	H ₂ O	43.5 ± 0.6	45.4 ± 0.5	-20.6 ± 0.2	-62.2 ± 0.3	530
d-DSS	D ₂ O	62.3 ± 0.4	56.2 ± 0.4	-22.6 ± 0.1	-60.7 ± 0.1	160

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H_2O .

3.2.2. Módulo dilatacional.

3.2.2.1. Inyección continua.

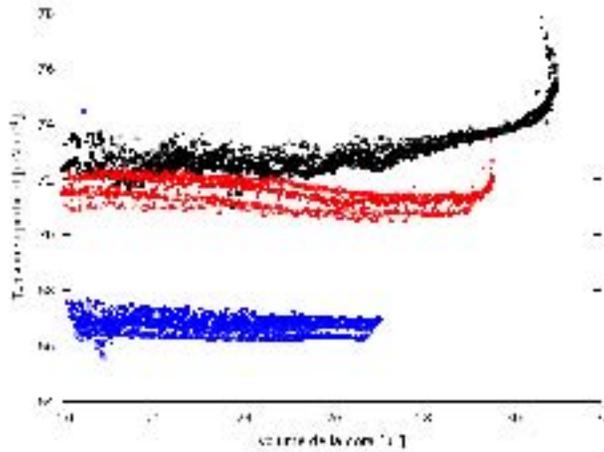


Figura 3.13: Ejemplos del comportamiento de la tensión superficial en función del volumen. Se puede observar como al acercarse el momento de desprendimiento de la gota la tensión se incrementa de manera exponencial. Este incremento está directamente ligado al módulo dilatacional. Se muestran experimentos con una concentración de: $[DSS]=1.7mM$ y $[\alpha-CD]=10mM$ en azul, $[3.4mM]/[10mM]$ en negro y $[6.8mM]/[10mM]$ en rojo. Para cada una de las concentraciones se muestran tres experimentos. Las mediciones se llevaron a cabo a $283K$.

Para obtener la información reológica de la superficie se comenzó por calcular el módulo dilatacional a partir de los valores de tensión superficial obtenidos con la técnica de inyección continua. En ésta técnica se inyecta la disolución a velocidad constante, obteniendo como resultado un incremento del área. El módulo dilatacional se puede calcular como: $E = d\gamma/\ln dA$. Al ajustar una función exponencial a los datos de tensión superficie contra área (figura 3.13) se obtiene el módulo dilatacional. La desventaja de esta técnica es que el módulo total no se puede descomponer en sus partes elástica y viscosa, y las desviaciones estándar son grandes, a veces del tamaño de la medición (fig. 3.13). Las concentraciones usadas en esta técnica fueron de α -CD en 10 mM se varió la concentración del h-DSS desde 0 hasta 7

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H_2O .

mM a 283 K.

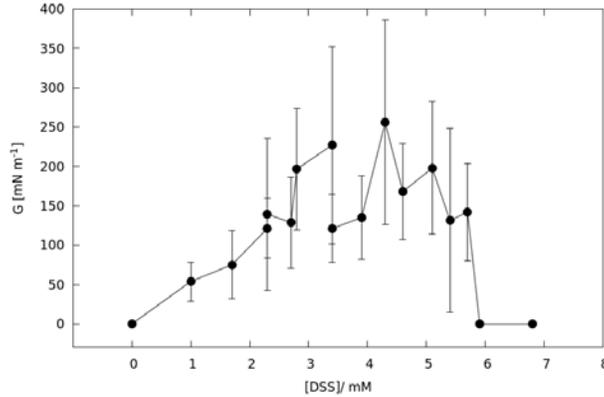


Figura 3.14: Módulo dilatacional medido en función de la concentración del tensoactivo con el método de inyección continua. La concentración de la α -CD fue de 10 mM.

3.2.2.2. Inyección continua con cambio de temperatura.

Para obtener mayor información de las propiedades de la película se efectuaron mediciones de tensión superficial dinámica con inyección continua cambiando la temperatura a mitad de la inyección, cuando la gota alcanza un volumen entre 20 y 21 μL . En la figura 3.15 se observa la curva a una temperatura de 283 K (curva verde), se detiene la inyección a un volumen de 20 μL y se cambia la temperatura a 293 K y se continúa la inyección hasta que la gota se desprende del capilar. La inyección a una temperatura de 293 K (curva naranja) fue detenida cerca de 21 μL , para cambiar la temperatura a 283 K y continuar la inyección hasta que la gota se desprende del capilar. En ambos casos los datos a la temperatura final del experimento coinciden con los datos obtenidos a sólo esa temperatura (naranja coincide con azul 283 K y verde con rojo 298 K). La figura 3.15 demuestra entonces que la película no tiene memoria de forma, y su estructura final es independiente de la temperatura a la cual se crea la superficie.

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H₂O.

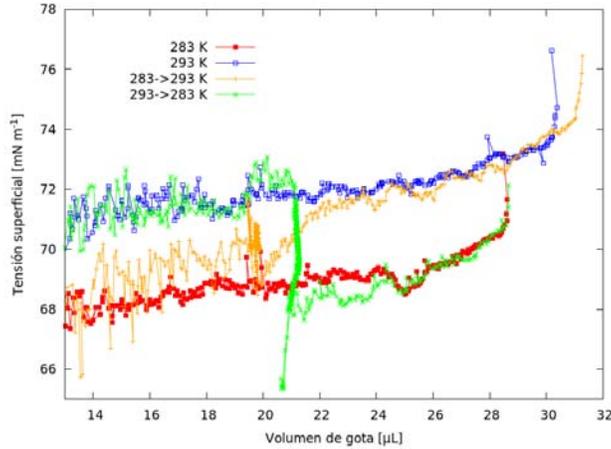


Figura 3.15: Comportamiento de la tensión superficial en función del volumen con cambios de temperatura de 283 a 293 y viceversa. Estos cambios de temperatura se efectuaron deteniendo la inyección.

3.2.2.3. Método de oscilación de gota.

Una técnica que nos permite obtener más información y con menos incertidumbre es el método de oscilación de gota, porque además de obtener el módulo dilatacional se puede conocer las contribuciones elástica y viscosa de la película. Las concentraciones medidas fueron las mismas usadas en inyección continua esta vez a dos diferentes temperaturas 283 y 293 K. Se realizaron exhaustivas pruebas y mediciones para determinar las condiciones de medición que minimizaran las desviaciones estándares. Así, encontramos los siguientes parámetros de medición: i) 5 frecuencias por cada gota, ii) 12 ciclos de medición por frecuencia, iii) 8 % de cambio máximo de área, iv) velocidad de inyección de $0.2 \mu\text{L/s}$ para la creación de la gota y v) un volumen máximo $20 \mu\text{L}$.

Los resultados del módulo dilatacional total $|G^*|$ a una temperatura de 283 K y una frecuencia de 0.2 Hz se presentan en la figura 3.16 (las demás frecuencias 0.01, 0.05, 0.10 y 0.15 que presentan tendencias parecidas y se encuentran en el apéndice B. En la figura 3.16 puede observarse un incremento constante del módulo dilatacional desde una concentración

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H_2O .

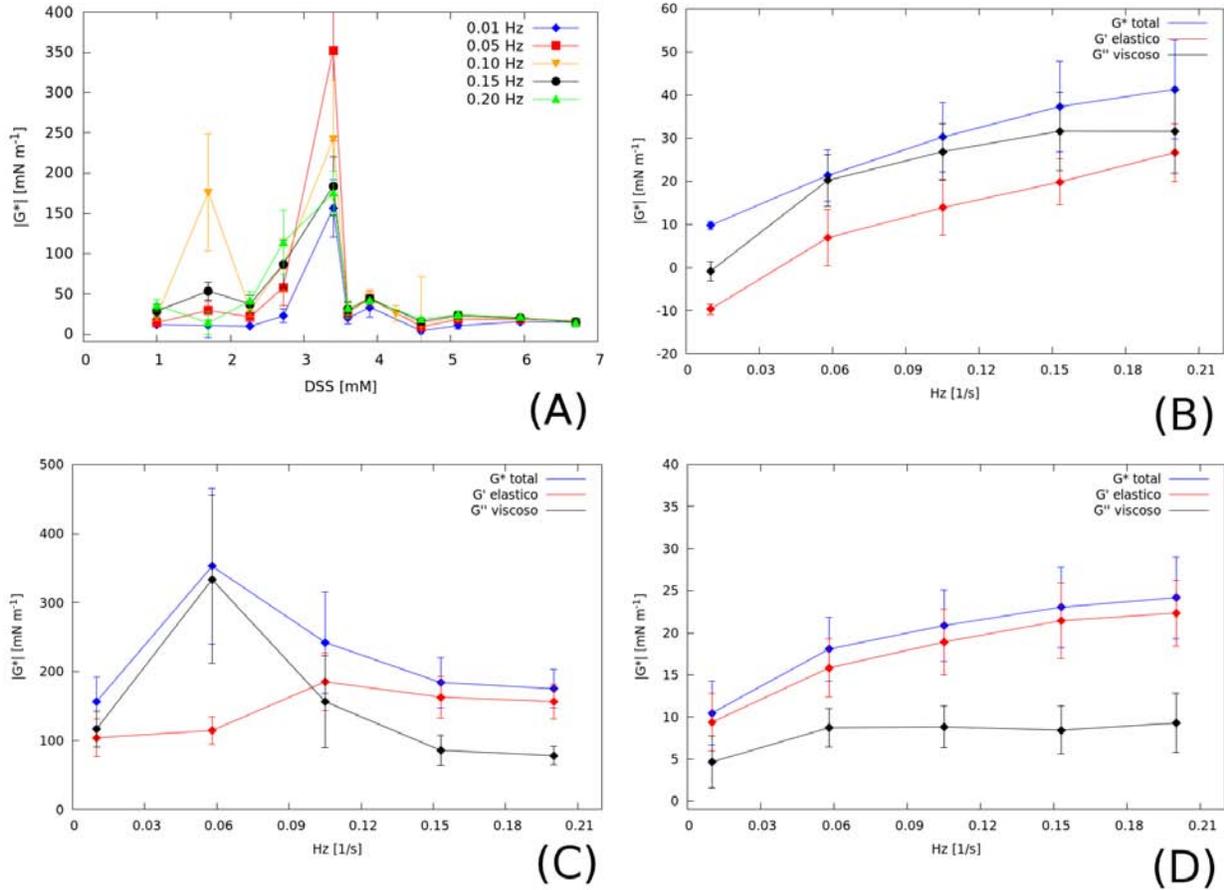


Figura 3.16: Módulo dilatacional obtenido con el método de oscilación de gota. Módulo total en función de la concentración de h-DSS (A). Las gráficas (B), (C) y (D) muestran tanto el módulo total y su descomposición en las partes viscosa y elástica como función de la frecuencia para: 2.27, 3.40 y 5.10 mM de h-DSS, respectivamente.

de 0 hasta 3.4 mM de h-DSS alcanzando en este valor un máximo de 300 mN/m para luego decrecer abruptamente. Como la perturbación usada para medir el módulo dilatacional es sinusoidal, podemos descomponer este módulo total ($|G^*|$) en su parte real e imaginaria, las cuales corresponden a la contribución elástica y viscosa, respectivamente. Si se analiza la figura 3.16 en 3 diferentes concentraciones (2.27, 3.4 y 5.1 mM) y graficamos las partes elástica (G') y viscosa (G'') en función de la frecuencia, podemos ver el cambio del comportamiento

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H_2O .

reológico de la película. Por ejemplo, para concentraciones bajas de h-DSS (2.27 mM, figura 3.16 C) la parte dominante es la imaginaria (G'') que corresponde al comportamiento viscoso mientras que a concentraciones altas (5.1 mM, figura 3.16B) de h-DSS la parte dominante es la real o elástica (G'). A la concentración crítica de 3.4 mM de h-DSS se observa el cruce de estas dos contribuciones en función de la frecuencia, a bajas frecuencias la parte viscosa es dominante mientras que a frecuencias altas la parte elástica es la dominante. Así que podemos decir que existen dos regiones principales, una en donde el comportamiento reológico de la película es predominantemente viscoso (de 0 a 3.4 mM de h-DSS) y otra donde el comportamiento es dominado por la parte elástica (de 3.4 a 13.6 mM de h-DSS). El máximo en el módulo total ($|G^*|$) que es donde se presenta el cruce de estos comportamientos (figura 3.16D) se presenta a una concentración de 3.4 mM. Esta concentración coincide con la concentración a la cual se presenta el máximo de concentración de complejos 2:1 en el seno de la disolución (CTI figura 3.12). Esta misma concentración marca el límite donde el comportamiento viscoso deja de ser dominante para dar paso al comportamiento elástico. Este tipo de cruce ha sido también observado en sistemas biológicos compuestos por bacteriófagos en función de la concentración de sal.^[54]

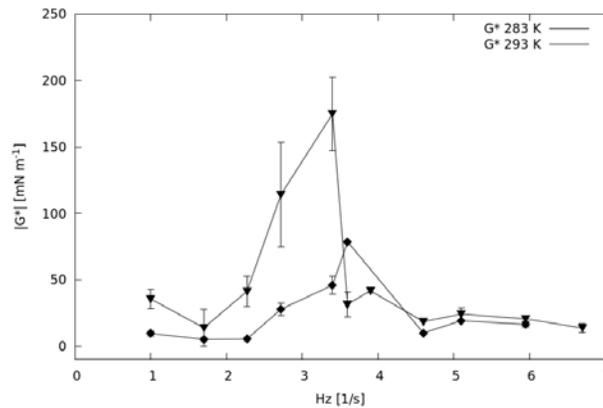


Figura 3.17: Módulo dilatacional en función de la frecuencia a 283 y 293 K, para disoluciones con concentración de $[DSS]=3.4$ mM y $[\alpha\text{-CD}]=10$ mM

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H₂O.

Cuando comparamos el módulo dilatacional total a las dos diferentes temperaturas (figura 3.17) se observa un decremento en el módulo dilatacional total, de 300 a 50 mN/m en el máximo de la gráfica, dejando ver que existe una marcada dependencia con la temperatura de las características reológicas de la película. Los datos en general siguen la misma tendencia pero tienen valores menores. Finalmente, en la figura 3.18 se muestran los módulos de elasticidad en función de la frecuencia para los sistemas binarios, α -CD + H₂O y DSS + H₂O comparados con el módulo del sistema ternario y puede verse cómo los sistemas binarios tienen un módulo dilatacional cercano al cero.

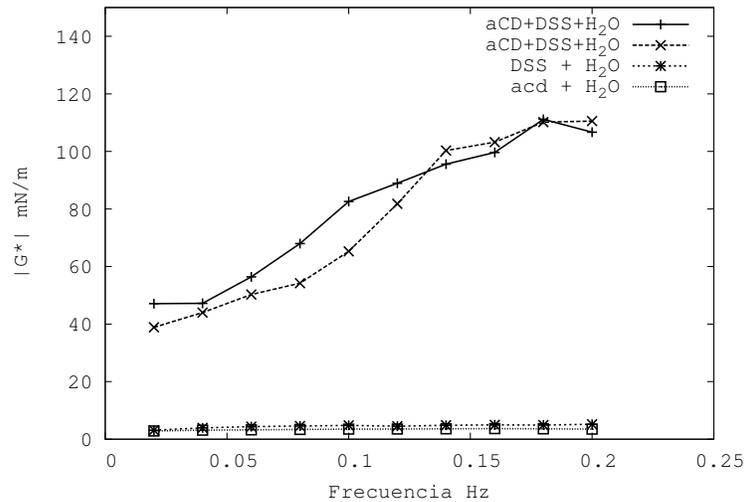


Figura 3.18: Módulo dilatacional total en función de la frecuencia a 283 K. Se presenta una medición del sistema ternario con concentraciones de α -CD = [10mM] y DSS = [3.4 mM] y los sistemas binarios, DSS + H₂O y α -CD + H₂O a las mismas concentraciones.

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H_2O .

3.2.3. Reflexión de Neutrones.

Las concentraciones empleadas en la técnica de reflexión de neutrones fueron: 0.48, 0.85, 1.7, 3.4, 5.1, 6.8, 10.2 y 13.6 mM de tensoactivo y α -CD de 10 mM en todos los casos. Las mediciones se realizaron a 283 K, y se usaron los 4 diferentes contrastes presentados en la tabla 2.2. Antes de llevar a cabo los ajustes de los datos de reflexión de neutrones a las concentraciones es importante resaltar la siguiente información: (1) en la figura 3.12 de CTI se puede observar un intervalo de concentraciones en las que la cantidad de tensoactivo libre es muy baja y otra zona en donde la cantidad de α -CD libre también es muy baja, (2) la constante de equilibrio para la formación de los complejos 2:1 (α -CD₂h-DSS₁) en el seno de la disolución, es 6 veces mayor que la de los complejos 1:1 (α -CD₁h-DSS₁) (3) los resultados de simulaciones de dinámica molecular en superficie líquido/aire^[49] donde se muestra que cuando los complejos 2:1 alcanzan la superficie no regresan al seno de la disolución, mientras que los complejos 1:1 tienen menos estabilidad en el seno de la disolución y cuando alcanzan la superficie no permanecen en ella. Estas consideraciones nos permiten disminuir el número de parámetros a ajustar que dependen de las especies en superficie de 5 (disolvente, α -CD libre, h-DSS libre, complejos 2:1 y complejos 1:1) a sólo 3, a saber, para concentraciones del tensoactivo menores a 3.4 mM: α -CD libre, complejo 2:1 y disolvente, y para concentraciones de 3.4 hasta 13 mM de tensoactivo h-DSS libre, complejos 2:1 y disolvente. Finalmente se hicieron otras dos consideraciones para realizar los ajustes: asumir que el parámetro de rugosidad fuese constante (el cual no tiene gran peso en los ajustes) con un valor de 3 Angstroms, y el uso del modelo de una capa. Los resultados de los ajustes se presentan en las tablas 3.3 y 3.4. Cuando se realizaron ajustes sin considerar al parámetro de concentración de DSS en la superficie se observó un incremento en la varianza (χ^2) para las concentraciones de 6.8 y 5.1 de DSS; cuando a estas mismas concentraciones se ajustaron con DSS libre se observó una disminución de la varianza, lo cual indica que en efecto no hay DSS libre en el intervalo de concentraciones de 0.48 a 1.7 de DSS. Con un proceso similar se también se

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H₂O.

concluyó que no hay α -CD libre en la superficie en el intervalo de concentraciones de 5.1 a 13.6 de DSS. La concentración de DSS de 3.4 mM es la única que resulta con valores de varianza parecidos cuando se ajusta con la especie DSS = 0 y con α -CD = 0, sugiriendo que en esta concentración no hay ni DSS ni α -CD en la capa sino que la especie dominante es el complejos 2:1. La composición de la película en la interfase líquido/aire (% de cada especie) se muestran en la figura 3.22 donde puede observarse, nuevamente, un máximo cerca de la concentración de 3.4 mM de h-DSS a la cual en el seno de la disolución los complejos 2:1 son predominantes. En las figuras 3.20 a 3.21 se pueden observar los datos experimentales R(q) vs q donde R(q) es la reflectividad y q el ángulo de incidencia del haz de neutrones. Estas misma figuras muestras los ajustes que como puede apreciarse son de buena calidad. Cabe señalar que la concentración de 3.4 mM se presenta en las dos tablas porque los ajustes son muy parecidos entre si, lo que nos sugiere que a esa concentración de tensoactivo en la superficie no hay ni α -CD ni tensoactivo libres, sino que la especie dominante es el complejos 2:1. La composición de la capa o película en la interfase líquido/aire (% de cada especie) se muestran en la figura 3.21 donde puede observarse, nuevamente, un máximo cerca de la concentración de 3.4 mM de h-DSS.

La figura 3.23 resume los resultados más importantes para el sistema ternario α -CD + h-DSS + H₂O. En ella se comparan los resultados obtenidos con las tres diferentes técnicas empleadas, a saber la CTI, la oscilación de gota y la reflexión de neutrones que, como se ha descrito y discutido en esta sección, proporcionan la distribución de especies en el seno de la disolución, el modulo dilatacional de la película en la interfase líquido/aire, y la composición y espesor de la película. Salta a la vista que a la concentración del tensoactivo DSS alrededor de 3.4 mM el modulo de elasticidad es máximo (fig 3.23 C) cuando la concentración de complejos 2:1 (α -CD₂:DSS) es máxima en el seno de la disolución (fig 3.23 A) y en la superficie (fig 3.23 B). Por ello, puede concluirse que las especies responsables de la viscoelasticidad de la película son los complejos 2:1. El comportamiento reológico de esta película es predominantemente viscoso a concentraciones de DSS menores a ese máximo y elástica por encima de él.

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H_2O .

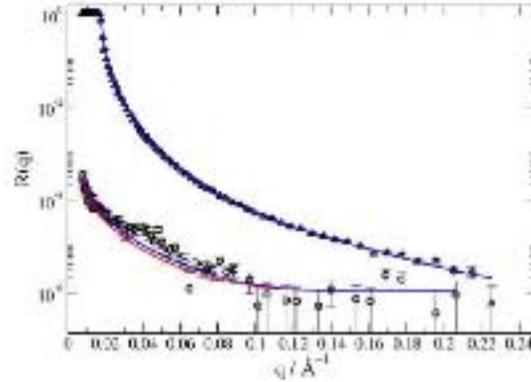


Figura 3.19: Datos experimentales y modelo de una capa con α -CD + complejos 2:1 + solvente de una disolución de 0.85 mM de tensoactivo a 283 K. Las curvas corresponden a (ACMW + d-DSS: círculos + línea roja), (D_2O + d-DSS: triángulos + línea azul), (NRW + h-DSS: cuadros + línea rosa) y (D_2O + h-DSS: diamantes + línea naranja).

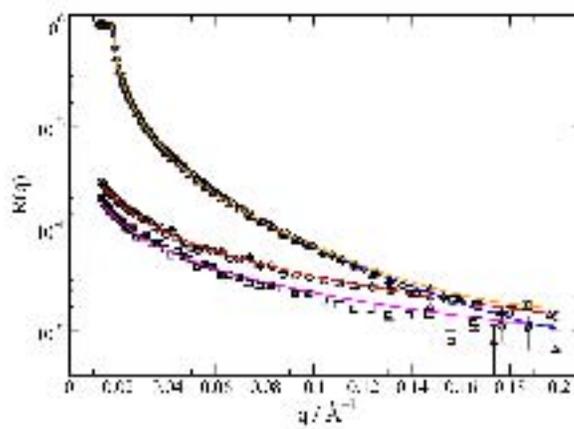


Figura 3.20: Datos experimentales y modelo de una capa con α -CD + complejos 2:1 + solvente de una disolución de 3.4 mM de tensoactivo a 283 K. Las curvas corresponden a (ACMW + d-DSS: círculos + línea roja), (D_2O + d-DSS: triángulos + línea azul), (NRW + h-DSS: cuadros + línea rosa) y (D_2O + h-DSS: diamantes + línea naranja).

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H_2O .

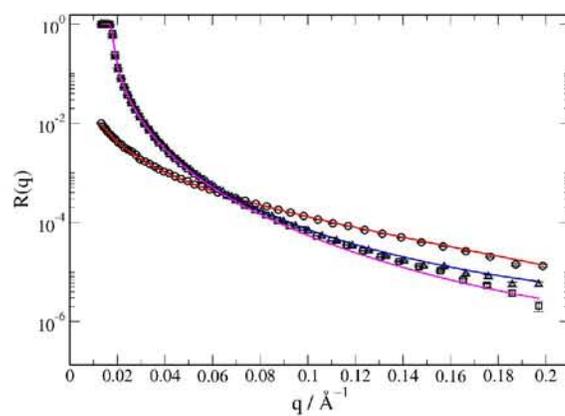


Figura 3.21: Datos experimentales y modelo de una capa con DSS + complejos 2:1 + solvente de una disolución de 10.2 mM de tensoactivo a 283 K. Las curvas corresponden a (ACMW + d-DSS: círculos + línea roja), (D_2O + d-DSS: triángulos + línea azul), (NRW + h-DSS: cuadros + línea rosa) y (D_2O + h-DSS: diamantes + línea naranja).

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H₂O.

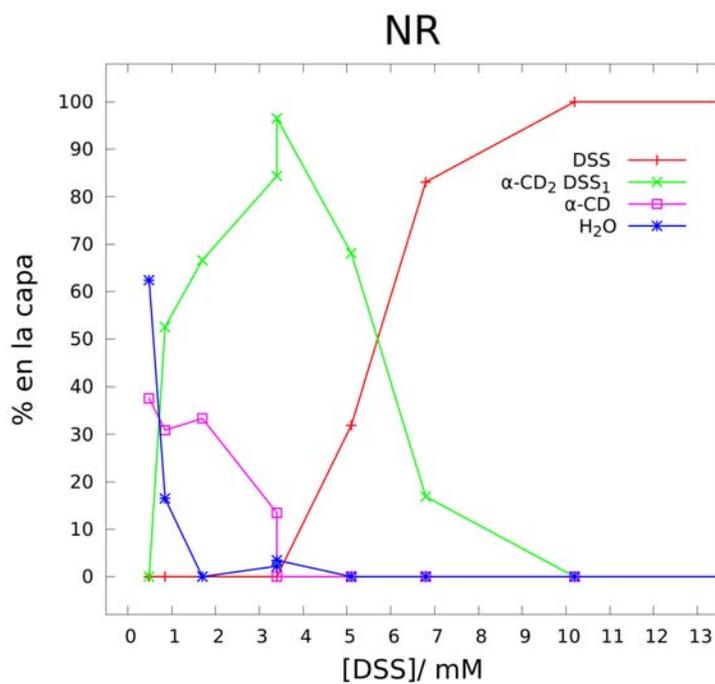


Figura 3.22: Porcentaje de las diferentes especies presentes en la película formada en la interfase líquido/aire, obtenidos de los ajustes a los datos de RN. En verde los complejos 2:1, en negro, la α -CD libre, en azul el h-DSS libre y en rojo el solvente. Todas las mediciones se llevaron a cabo a 293 K y a una concentración de 10 mM de α -CD .

Tabla 3.3: Resultados de los ajustes con el modelo de 1 capa considerando α -CD, complejos 2:1 y al disolvente como los parámetros a ajustar.

Solución [α -CD]/[DSS] mM	contrastes ajustados	% α -CD	% α -CD ₂ DSS ₁	% Agua	Espesor Angstroms	SLD-Contraste	χ^2
[10]/[6.8]	1+2	00.00	100.00	00.00	21.71	2.616, 3.931	465.48
	1+2+4	00.00	100.00	00.00	14.59	2.616, 3.931, 2.937	548.51
[10]/[5.1]	1+2	00.00	100.00	00.00	15.93	2.616, 3.931	133.22
	1+2+4	00.00	100.00	00.00	13.01	2.616, 3.931, 2.937	163.87
[10]/[3.4]	1+2	00.00	86.56	13.44	13.11	2.264, 4.242	37.53
	1+2+3	11.84	78.05	10.11	12.99	2.285, 4.147, 1.508	25.75
	1+2+4	25.62	74.38	00.00	11.98	2.472, 3.893, 3.154	77.82
	1+2+3+4	13.42	84.32	02.26	11.96	2.481, 3.964, 1.642, 3.130	61.44
[10]/[1.7]	1+2	57.41	42.59	00.00	13.22	2.293, 3.847	40.3
	1+2+4	33.38	66.62	00.00	12.42	2.428, 3.882, 3.220	92.54
[10]/[0.85]	1+2	00.00	71.98	28.02	13.65	1.883, 4.579	26.36
	1+2+3	30.52	52.02	17.46	12.94	1.987, 4.290, 1.470	18.45
	1+2+4	13.97	65.67	20.36	12.83	2.005, 4.381, 3.759	32.81
	1+2+3+4	30.97	52.27	16.46	12.79	2.001, 4.266, 1.488, 3.759	25.16
[10]/[0.48]	1+2	20.72	00.00	79.28	19.15	0.425, 5.734	22.29
	1+2+3	48.76	00.00	51.24	12.92	1.001, 5.044, 1.001	33.88
	1+2+4	00.00	21.31	78.69	20.80	0.557, 5.751, 5.611	45.83
	1+2+3+4	37.61	00.00	62.39	17.50	0.772, 5.318, 0.772, 5.375	47.02

Tabla 3.4: Resultados de los ajustes con el modelo de 1 capa considerando DSS, complejos 2:1 y disolvente como los parámetros a ajustar.

R=[α -CD]/[DSS]	Solución [α -CD]/[DSS] mM	contrastes ajustados	% DSS	% α -CD ₂ DSS ₁	% Agua Angstroms	Espesor	SLD-Contraste	χ^2
0.73	[10]/[13.6]	1+2	99.56	00.00	0.44	17.30	6.757, 6.785	21.61
		1+2+3	99.68	00.00	0.32	17.27	6.765, 6.785, 0.391	16.00
		1+2+4	100.00	00.00	0	17.13	6.787, 6.787, 0.392	62.11
		1+2+3+4	100.00	00.00	0	17.12	6.787, 6.787, 0.392, 0.392	48.99
0.98	[10]/[10.2]	1+2	91.03	00.00	1.16	16.47	6.383, 6.558	73.79
		1+2+4	100.00	11.84	0	15.31	6.787, 6.787, 0.392	97.54
1.47	[10]/[6.8]	1+2	55.06	25.62	0	14.72	4.913, 5.504	38.81
		1+2+4	83.11	13.42	0	11.56	6.083, 6.305, 0.822	82.99
1.96	[10]/[5.1]	1+2	10.84	57.41	0	014.21	3.068, 4.241	123.75
		1+2+4	31.94	33.38	0	10.76	3.948, 4.843, 2.124	121.03
2.94	[10]/[3.4]	1+2	5.83	00.00	33.62	15.07	1.980, 4.875	37.40
		1+2+3	0.00	30.52	11.73	13.09	2.309, 4.202, 1.431	26.35
		1+2+4	0.00	13.97	64.99	11.97	2.486, 4.046, 3.111	77.99
		1+2+3+4	0.00	30.97	3.46	11.98	2.526, 4.011, 1.565, 3.058	61.88

3.2. Sistema Ternario α -CD + DSS + H₂O.

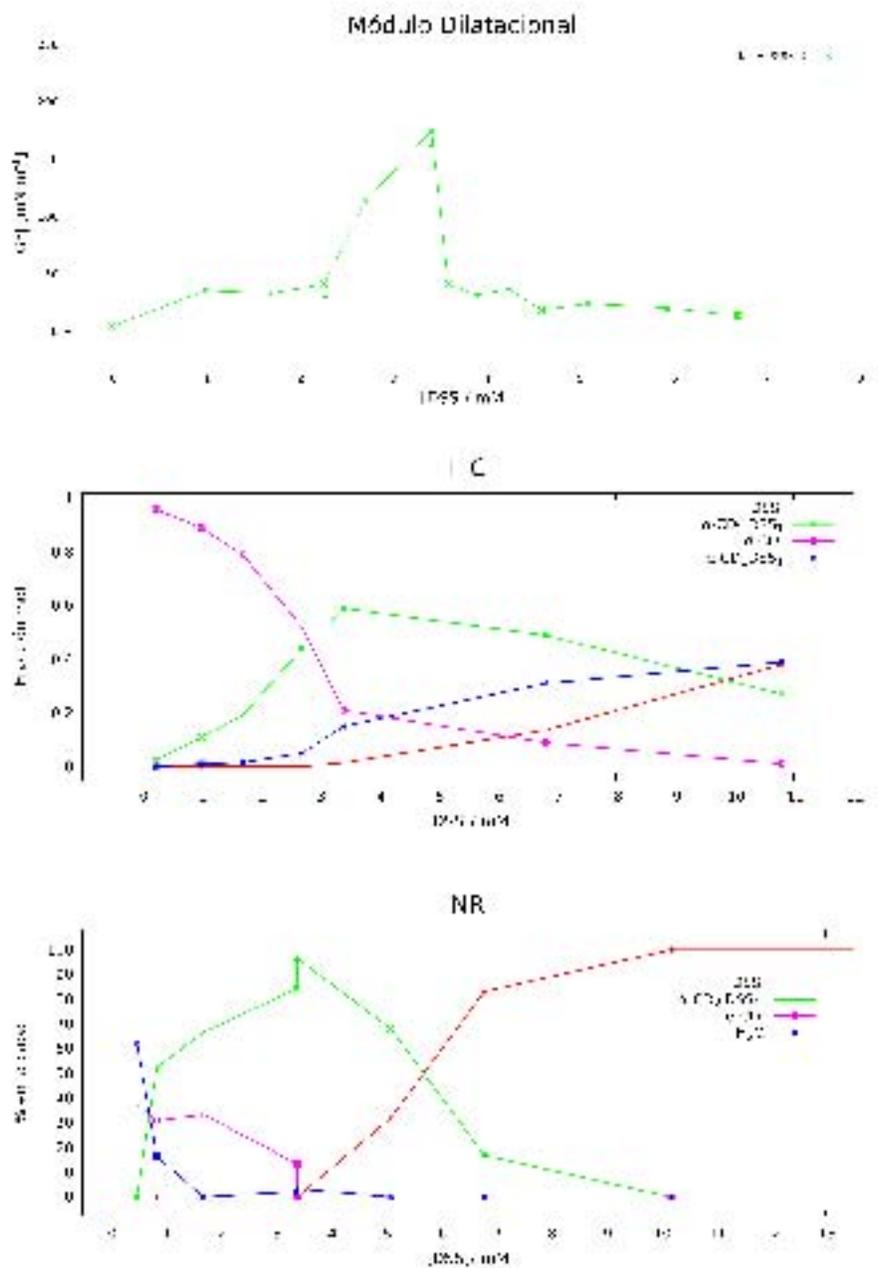


Figura 3.23: Resultados de las tres diferentes técnicas (CTI, NR y ME) usadas para estudiar el sistema α -CD + h-DSS + H₂O a 298 K.

Capítulo 4

Conclusiones.

4.1. Sistema binario

El sistema α -CD + H₂O se estudió mediante calorimetría de titulación isotérmica, tensión superficial dinámica, microscopía de transmisión de electrones, microscopía de ángulo de Brewster, dispersión dinámica de luz, reflexión de neutrones y elipsometría. Se logró caracterizar, tanto la evolución de tamaño de los agregados en el seno de la disolución como la consecuente formación de dominios con inhomogeneidades laterales en la escala micrométrica en la interfase líquido/aire. Los principales resultados se pueden resumir de la siguiente manera:

- La α -CD forma de manera espontánea agregados en el seno de la disolución. Estos agregados se forman instantáneamente.
- Estos agregados aumentan de tamaño en función del tiempo y son mayores a bajas temperaturas.
- La α -CD se adsorbe lentamente a la interfase mediante un fenómeno de difusión. Esta aparición de material en la superficie resulta en una caída pequeña en tensión superficial. Este proceso es todavía más lento para muestras añejadas y temperaturas altas.

4.2. Sistema ternario

- Una vez que los agregados de α -CD han alcanzado la interfase forman dominios en la escala micrométrica producto de la coalescencia lateral de estos agregados, formando una película que se encuentra en un estado cinéticamente atrapado con espesor en la escala nanométrica.

La formación espontánea de los agregados de α -CD en el seno de la disolución, su transporte a la interfase líquido/aire y la mínima disminución en los valores de tensión superficial abren caminos interesantes para la ciencia aplicada. En este trabajo se muestra que la temperatura y el envejecimiento de las disoluciones son parámetros clave para poder controlar las propiedades superficiales. Ejemplos de posibles aplicaciones son la solubilización de fármacos poco solubles con agregados de α -CD en el seno de la disolución ó la optimización del rendimiento de sensores y su diseño basados en las propiedades de la interfase líquido/aire.

4.2. Sistema ternario

El sistema α -CD + h-DSS + H₂O se estudió mediante tres técnicas, que fueron: reflexión de neutrones, gota oscilatoria y calorimetría de titulación isotérmica. Se obtuvo información de la distribución de especies en el seno de la disolución, información estructural y de composición de la interfase líquido/aire y su comportamiento reológico.

Los principales resultados se pueden resumir de la siguiente manera:

- En el seno de la disolución se encuentran las siguientes especies: complejos α -CD /DSS 1:1 y 2:1, α -CD libre y DSS libre. Con la concentración de α -CD fija en 10 mM, en el intervalo de concentración de DSS 2.5 a 8 mM los complejos 2:1 son la especie predominante en el seno de la disolución. α -CD libre y DSS libre. Cuando la relación de α -CD y DSS es de 2:1, en esta relación, los complejos 2:1 son la especie predominante.
- La sustitución de moléculas protonadas por deuteradas (h-DSS \rightarrow d-DSS, y H₂O \rightarrow D₂O),

4.2. Sistema ternario

que se hace para realizar los experimentos de reflexión de neutrones no afecta la distribución de especies en el seno de la disolución.

- La película formada en la interfase líquido/aire tiene 1 nm de grosor.
- El comportamiento reológico de esta película es predominantemente viscoso a concentraciones de DSS menores a 3.4 mM (con α -CD de 10 mM) y elástica por encima de este valor.
- El modulo de elasticidad es máximo cuando la concentración de complejos 2:1 (α -CD₂:DSS) es máxima en la superficie y en el seno de la disolución. Las especies responsables de la viscoelasticidad de la película son los complejos 2:1.

Capítulo 5

Sugerencias para trabajo futuro.

Cambio de fase. En los experimentos de reflexión de neutrones se encontró que para la concentración de 13.6 mM de tensoactivo el valor del grosor de la capa es muy grande. Además, con la técnica de tensión superficial observando las imágenes de las gotas pendientes se encontró lo que parece ser un cambio de fase a esta misma concentración (figura 3.11). Un posible trabajo futuro podría ser el estudio de este cambio de fase y explorar su posible uso en biosensores.

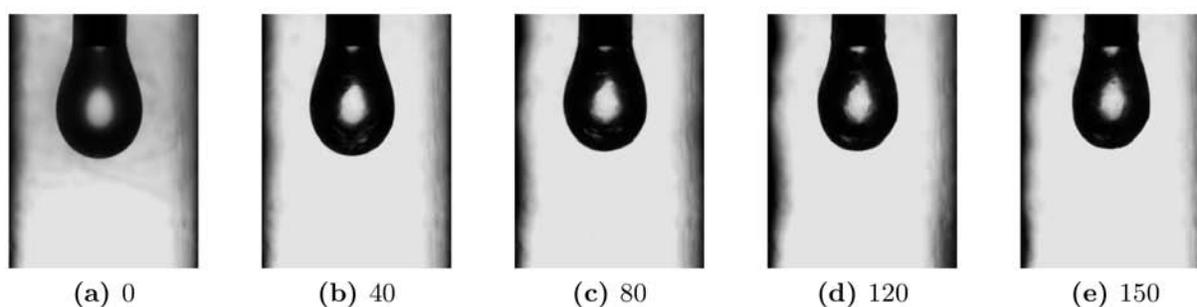


Figura 5.1: *Imágenes de la gota formada con una disolución de $[\alpha\text{-CD}] = 10 \text{ mM}$ y $[\text{h-DSS}] = 13.6 \text{ mM}$ en función del tiempo (en minutos). En estas imágenes se puede apreciar un cambio de fase en la superficie. Las mediciones se llevaron a cabo a 283 K.*

Cambio de concentración de α -CD . Todas las mediciones (excepto CTI) se llevaron a cabo a concentración constante de α -CD (10 mM). Algunos experimentos exploratorios (no presentados en este trabajo) dieron indicios de que las propiedades de la superficie podrían modificarse de manera significativa al cambiar la concentración de la α -CD . Sería interesante explorar esta posibilidad con detalle. (figura 3.12).

Cambio de tensoactivo. Otro camino de investigación que deja abierto este proyecto es el de la sustitución del DSS por otros tensoactivos de cadenas más cortas, de cadenas más largas, con cabezas polares de diferente carga y diferente tamaño. Este tipo de estudio podría arrojar luz acerca de la naturaleza y magnitud de las interacciones moleculares que hacen posible la viscoelasticidad de la película.

Dinámica de formación de la película. La dinámica de formación de la superficie se puede estudiar “creando” la superficie *in situ*. Para ello, se puede inyectar en el seno de una disolución de α -CD + agua una disolución de DSS + agua. Esto podría hacerse en la palangana de Langmuir bajo el microscopio de ángulo de Brewster o en las palanganas de RN o en un capilar concéntrico en el equipo de tensión superficial de imagen.

Capítulo 6

Artículos en revistas científicas que derivan de este trabajo.

- Complex Behavior of Aqueous α -Cyclodextrin Solutions. Interfacial Morphologies Resulting from Bulk Aggregation Jorge Hernandez-Pascacio, Ángel Piñeiro, Juan M. Russo, Natalia Hassan, Richard A. Campbell, José Campos-Terán, and Miguel Costas Langmuir (publicado, ver anexo C).
- Characterization of a viscoelastic film at the liquid/air interphase Jorge Hernandez-Pascacio, Daniel Ondo, José Campos-Terán, Miguel Costas, Richard A. Campbell and Angel Piñeiro (en preparación)

Capítulo 7

Declaración de colaboraciones en el trabajo experimental.

En este trabajo se emplearon una gran número de técnicas experimentales (8 principales y 3 secundarias), disponibles en 4 instituciones localizadas en 3 países. Se contó con la valiosa guía y ayuda de los responsables de los equipos que, naturalmente, se volvieron colaboradores en el proyecto. Con la excepción de los experimentos de Microscopía de Transmisión Electrónica, el autor de esta tesis fue el experimentador único o participó activamente en las mediciones que, por su naturaleza, fueron realizadas en equipo. Toda esta información se encuentra resumida en las siguientes dos tablas.

Tabla 7.1: *Localidades donde se llevaron a cabo las diferentes mediciones.*

Técnica	Laboratorio/Institución	Institución	País
CTI	Laboratorio de Biofísicoquímica, Facultad de Química, UNAM	FQ-UNAM	México
ME	Laboratorio de Biofísicoquímica, Facultad de Química, UNAM	FQ-UNAM	México
TSD	Laboratorio de Biofísicoquímica, Facultad de Química, UNAM	FQ-UNAM	México
MTE	Instituto de Física	USC	España
MAB	UAM-C Laboratorio de Superficies	UAM-C	México
DDL	UAM-C Laboratorio de Superficies	UAM-C	México
RN y EP	Institute Laue-Langevin, Grenoble Francia.	ILL	Francia

Tabla 7.2: *Investigador encargado del laboratorio donde se realizó el trabajo experimental y persona o personas que llevaron a cabo este trabajo.*

Técnica	Investigador a cargo	Persona o personas que realizaron el trabajo experimental
CTI	Miguel Costas	Jorge Hernández-Pascacio/Miguel Costas
ME	Miguel Costas	Jorge Hernández-Pascacio
TSD	Miguel Costas	Jorge Hernández-Pascacio
MTE	Ángel Piñeiro	Juan Ruso
EP	Richard Campbell	Jorge Hernández-Pascacio/José Campos Terán
MAB	José Campos-Terán	Jorge Hernández-Pascacio
DDL	José Campos-Terán	Jorge Hernández-Pascacio
RN	Richard Campbell	Jorge Hernández-Pascacio, Richard Campbell, Ángel Piñeiro, José Campos Terán, Miguel Costas

Bibliografía

- [1] Samiul Amin, Steven Blake, Rachel Kennel, and E. Lewis. Revealing New Structural Insights from Surfactant Micelles through DLS, Microrheology and Raman Spectroscopy. *Materials*, 8(6):3754–3766, jun 2015.
- [2] Anna Angus-Smyth, Richard A Campbell, and Colin D. Bain. Dynamic Adsorption of Weakly Interacting Polymer/Surfactant Mixtures at the Air/Water Interface. *Langmuir*, 28(34):12479–12492, aug 2012.
- [3] R.M.A. Azzam and N.M. Bashara. *Ellipsometry and Polarized Light*. North Holland, 1999 edition, 1997.
- [4] Massimo Bonini, Simona Rossi, Göran Karlsson, Mats Almgren, Pierandrea Lo Nostro, and Piero Baglioni. Self-assembly of beta-cyclodextrin in water. Part 1: Cryo-TEM and dynamic and static light scattering. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 22(4):1478–1484, 2006.
- [5] Richard A Campbell, Joo Chuan Ang, Federica Sebastiani, Andrea Tummino, and John W. White. Spread Films of Human Serum Albumin at the Air–Water Interface: Optimization, Morphology, and Durability. *Langmuir*, 31(50):13535–13542, dec 2015.
- [6] Richard A Campbell, H P Wacklin, I Sutton, R Cubitt, and G Fragneto. FIGARO: The new horizontal neutron reflectometer at the ILL. *The European Physical Journal Plus*, 126(11):107, nov 2011.

BIBLIOGRAFÍA

- [7] Richard A. Campbell, Marianna Yanez Arteta, Anna Angus-Smyth, Tommy Nylander, and Imre Varga. Effects of Bulk Colloidal Stability on Adsorption Layers of Poly(diallyldimethylammonium Chloride)/Sodium Dodecyl Sulfate at the Air–Water Interface Studied by Neutron Reflectometry. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(51):15202–15213, dec 2011.
- [8] Marité Cárdenas, Tommy Nylander, Bengt Jönsson, and Björn Lindman. The interaction between DNA and cationic lipid films at the air-water interface. *Journal of colloid and interface science*, 286(1):166–75, 2005.
- [9] Rajeswari Challa, Alka Ahuja, Javed Ali, and R K Khar. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. *AAPS PharmSciTech*, 6(2):E329–E357, 2005.
- [10] Anthony W. Coleman, Ioannis Nicolis, Nelly Keller, and Jean Pierre Dalbiez. Aggregation of cyclodextrins: An explanation of the abnormal solubility of β -cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 13(2):139–143, jun 1992.
- [11] Kenneth a Connors. The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution. *Chem. Rev.*, 97(5):1325–1357, 1997.
- [12] Celsa Díaz-Tejada, Igor Ariz-Extreme, Neha Awasthi, and Jochen S. Hub. Quantifying Lateral Inhomogeneity of Cholesterol-Containing Membranes. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 6(23):4799–4803, dec 2015.
- [13] H. Dodziuk. Rigidity versus flexibility. A review of experimental and theoretical studies pertaining to the cyclodextrin nonrigidity. *Journal of Molecular Structure*, 614(January):33–45, 2002.
- [14] Dominique Langevin and Langevin D. *Light Scattering by Liquid Surfaces and Complementary Techniques (Surfactant Science)*. CRC Press, 1992.

BIBLIOGRAFÍA

- [15] Christopher J Easton and Stephen F Lincoln. *Modified Cyclodextrins: Scaffolds and Templates for Supramolecular Chemistry*. Imperial College Press, 1999.
- [16] V. B. Fainerman, S. V. Lylyk, E. V. Aksenenko, J. T. Petkov, J. Yorke, and R. Miller. Surface tension isotherms, adsorption dynamics and dilational visco-elasticity of sodium dodecyl sulphate solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 354(1-3):8–15, 2010.
- [17] Michel Ferreira, Hervé Bricout, Nathalie Azaroual, David Landy, Sébastien Tilloy, Frédéric Hapiot, and Eric Monflier. Cyclodextrin/Amphiphilic Phosphane Mixed Systems and their Applications in Aqueous Organometallic Catalysis. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 354(7):1337–1346, 2012.
- [18] Ch. Frese, S. Ruppert, M. Sugár, H. Schmidt-Lewerkühne, K.P. Wittern, V.B. Fainerman, R. Eggers, and R. Miller. Adsorption kinetics of surfactant mixtures from micellar solutions as studied by maximum bubble pressure technique. *Journal of Colloid and Interface Science*, 267(2):475–482, nov 2003.
- [19] M Girschikofsky, M Rosenberger, S Belle, M Brutschy, S R Waldvogel, and R Hellmann. Allylated cyclodextrins as effective affinity materials in chemical sensing of volatile aromatic hydrocarbons using an optical planar Bragg grating sensor. *Analytica chimica acta*, 791:51–9, aug 2013.
- [20] G. González-Gaitano, P. Rodríguez, J. R. Isasi, M. Fuentes, G. Tardajos, and M. Sánchez. The Aggregation of Cyclodextrins as Studied by Photon Correlation Spectroscopy. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, 44(1-4):101–105, 2002.
- [21] Yifeng He, Pei Fu, Xinghai Shen, and Hongcheng Gao. Cyclodextrin-based aggregates and characterization by microscopy. *Micron (Oxford, England : 1993)*, 39(5):495–516, jul 2008.

BIBLIOGRAFÍA

- [22] Jorge Hernández-Pascacio, Xavier Banquy, Silvia Pérez-Casas, Miguel Costas, Alfredo Amigo, and Ángel Piñeiro. A small molecular size system giving unexpected surface effects: α -Cyclodextrin + sodium dodecyl sulfate in water. *Journal of Colloid and Interface Science*, 328(2):391–395, 2008.
- [23] Jorge Hernández-Pascacio, Cristina Garza, Xavier Banquy, Norma Díaz-Vergara, Alfredo Amigo, Salvador Ramos, Rolando Castillo, Miguel Costas, and Ángel Piñeiro. Cyclodextrin-Based Self-Assembled Nanotubes at the Water/Air Interface. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(44):12625–12630, 2007.
- [24] J. Hernández-Pascacio. *Validación del modelo KFST para cálculo de constantes de equilibrio a partir de medidas de tensión superficial*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, 2006.
- [25] J. Hernández-Pascacio. *Estudio de estructuras autoensambladas formadas por α -Ciclodextrina y Dodecil Sulfato de Sodio en superficie acuosa*. Tesis de Maestría, Instituto de Investigaciones en Materiales, UNAM, 2010.
- [26] Elmorsy Khaled, Manal S. Kamel, Hassan N.A. Hassan, and Hassan Y. Aboul-Enein. Cyclodextrin-based dextromethorphan potentiometric sensors. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 661(1):239–244, oct 2011.
- [27] V. Lauter-Pasyuk. Neutron grazing incidence technique for nanoscience. *Collection de la Société Française de la Neutronique*, 7:221–240, 2007.
- [28] V Lauter-Pasyuk. Neutron grazing incidence techniques for nano-science. *Collect. Soc. Fr. Neutron*, 7, 2007.
- [29] Joanna Lenik. A new potentiometric electrode incorporating functionalized β -cyclodextrins for diclofenac determination. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 45:109–16, dec 2014.

BIBLIOGRAFÍA

- [30] Pei Xun Li, Robert K Thomas, and Jeffrey Penfold. Limitations in the use of surface tension and the Gibbs equation to determine surface excesses of cationic surfactants. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 30(23):6739–47, jun 2014.
- [31] J.R. Lu, R.K. Thomas, and J Penfold. Surfactant layers at the air/water interface: structure and composition. *Advances in Colloid and Interface Science*, 84(1-3):143–304, jan 2000.
- [32] J H Luong, R S Brown, K B Male, M V Cattaneo, and S Zhao. Enzyme reactions in the presence of cyclodextrins: biosensors and enzyme assays. *Trends in biotechnology*, 13(11):457–63, nov 1995.
- [33] Samantha Manning-Benson, Stephen R. W. Parker, Colin D. Bain, and Jeffrey Penfold. Measurement of the Dynamic Surface Excess in an Overflowing Cylinder by Neutron Reflection. *Langmuir*, 14(5):990–996, mar 1998.
- [34] J Mascetti, S Castano, D Cavagnat, and B Desbat. Organization of beta-cyclodextrin under pure cholesterol, DMPC, or DMPG and mixed cholesterol/phospholipid monolayers. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 24(17):9616–22, sep 2008.
- [35] Martin Messner, Sergey V. Kurkov, Marcus E. Brewster, Phatsawee Jansook, and Thorsteinn Loftsson. Self-assembly of cyclodextrin complexes: Aggregation of hydrocortisone/cyclodextrin complexes. *International Journal of Pharmaceutics*, 407(1-2):174–183, 2011.
- [36] Martin Messner, Sergey V. Kurkov, Ramon Flavià-Piera, Marcus E. Brewster, and Thorsteinn Loftsson. Self-assembly of cyclodextrins: The effect of the guest molecule. *International Journal of Pharmaceutics*, 408(1-2):235–247, 2011.
- [37] Martin Messner, Sergey V. Kurkov, Phatsawee Jansook, and Thorsteinn Loftsson. Self-

BIBLIOGRAFÍA

- assembled cyclodextrin aggregates and nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 387(1-2):199–208, mar 2010.
- [38] Edgar Mixcoha, José Campos-Terán, and Ángel Piñeiro. Surface Adsorption and Bulk Aggregation of Cyclodextrins by Computational Molecular Dynamics Simulations as a Function of Temperature: α -CD vs β -CD. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(25):6999–7011, 2014.
- [39] Andrew Nelson. Co-refinement of multiple-contrast neutron/X-ray reflectivity data using *MOTOFIT*. *Journal of Applied Crystallography*, 39(2):273–276, 2006.
- [40] Tomoki Ogoshi and Akira Harada. Chemical Sensors Based on Cyclodextrin Derivatives. *Sensors*, 8(8):4961–4982, 2008.
- [41] M.L Origlia-Luster, T.G Call, and E.M Woolley. Apparent molar volumes and apparent molar heat capacities of aqueous solutions of α - and β -cyclodextrins at temperatures from 278.15 K to 393.15 K and at the pressure 0.35 MPa. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 33(11):1587–1596, 2001.
- [42] L. G. Parratt. Surface Studies of Solids by Total Reflection of X-Rays. *Physical Review*, 95(2):359–369, jul 1954.
- [43] Marta Pérez-Morales, José M. Pedrosa, María T. Martín-Romero, Dietmar Möbius, and Luis Camacho. Reversible Trilayer Formation at the Air–Water Interface from a Mixed Monolayer Containing a Cationic Lipid and an Anionic Porphyrin. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(14):4457–4465, apr 2004.
- [44] N Peron, J Meunier, A Cagna, M Valade, and R Douillard. Phase separation in molecular layers of macromolecules at the champagne-air interface. *Journal of microscopy*, 214(Pt 1):89–98, apr 2004.
- [45] A Piñeiro. <http://smmb.usc.es/sangra/sangra.php>.

BIBLIOGRAFÍA

- [46] Ángel Piñeiro. <http://smmb.usc.es./tools.html>.
- [47] Ángel Piñeiro, Xavier Banquy, Silvia Pérez-Casas, Edgar Tovar, Abel García, Alessandra Villa, Alfredo Amigo, Alan E Mark, and Miguel Costas. On the Characterization of Host–Guest Complexes: Surface Tension, Calorimetry, and Molecular Dynamics of Cyclodextrins with a Non-ionic Surfactant. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(17):4383–4392, may 2007.
- [48] Ángel Piñeiro, Pilar Brocos, Alfredo Amigo, Mercedes Pintos, and Bravo Ramón. Surface tensions and refractive indices of (tetrahydrofuran + n-alkanes) at $T = 298.15$ K. *J. Chem. Thermodynamics*, 31(7):931–942, 1999.
- [49] Ángel Piñeiro, Edgar Mixcoha, Rebeca García Fandiño, and Roberto Rosende Dopazo. <http://cyclo-lib.mduse.com>.
- [50] Stephen Provencher. A constrained regularization method for inverting data represented by linear algebraic or integral equations. *Computer Physics Communications*, (27):213–227, 1982.
- [51] István Puskás, Mária Schrott, Milo Malanga, and Lajos Szenté. Characterization and control of the aggregation behavior of cyclodextrins. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 75(3-4):269–276, mar 2012.
- [52] Juan M. Ruso, David Attwood, Carlos Rey, Pablo Taboada, Víctor Mosquera, and Félix Sarmiento. Light Scattering and NMR Studies of the Self-Association of the Amphiphilic Molecule Propranolol Hydrochloride in Aqueous Electrolyte Solutions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 103(34):7092–7096, aug 1999.
- [53] Sameh M.I. Saad, A.Wilhelm Neumann, and Edgar J. Acosta. A dynamic compression–relaxation model for lung surfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 354(1-3):34–44, feb 2010.

BIBLIOGRAFÍA

- [54] E. Sarmiento-Gomez, D. Montalvan-Sorrosá, C. Garza, J. Mas-Oliva, and R. Castillo. Rheology and DWS microrheology of concentrated suspensions of the semiflexible filamentous fd virus. *European Physical Journal E*, 35(5), 2012.
- [55] T.F.A. Sousa, C.G. Amorim, M.C.B.S.M. Montenegro, and A.N. Araújo. Cyclodextrin based potentiometric sensor for determination of ibuprofen in pharmaceuticals and waters. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 176:660–666, jan 2013.
- [56] C. Stefaniu, G. Brezesinski, and H. Möhwald. Polymer-capped magnetite nanoparticles change the 2D structure of DPPC model membranes. *Soft Matter*, 8(30):7952–7959, 2012.
- [57] J Szejtli. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem. Rev.*, 98(97):1743–1753, 1998.
- [58] Katrin Tonigold, Imre Varga, Tommy Nylander, and Richard A Campbell. Effects of Aggregates on Mixed Adsorption Layers of Poly(ethylene imine) and Sodium Dodecyl Sulfate at the Air/Liquid Interface. *Langmuir*, 25(7):4036–4046, 2009.
- [59] Ilenia Tredici, Daniele Merli, Francesca Zavarise, and Antonella Profumo. α -Cyclodextrins chemically modified gold electrode for the determination of nitroaromatic compounds. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 645(1):22–27, jun 2010.
- [60] Artur J M Valente, Rui A Carvalho, and Olle Söderman. Do Cyclodextrins Aggregate in Water? Insights from NMR Experiments. *Langmuir*, 31(23):6314–6320, 2015.
- [61] Adrian Velazquez-Campoy and Ernesto Freire. Isothermal titration calorimetry to determine association constants for high-affinity ligands. *Nature Protocols*, 1(1):186–191, jun 2006.

BIBLIOGRAFÍA

- [62] D Vollhardt and G Emrich. Coadsorption of sodium dodecyl sulfate and medium-chain alcohols at the air/water interface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 161(1):173–182, 2000.
- [63] Christophe Ybert and J.-M. di Meglio. Study of Protein Adsorption by Dynamic Surface Tension Measurements: Diffusive Regime. *Langmuir*, 14(2):471–475, 1998.

Apéndice A

Elipsometría: Límite de películas delgadas.

Aquí se define el efecto que tiene el material en la interfase líquido/aire sobre el cambio de fase $\Delta_{surf} = \Delta - \Delta_0$, donde Δ es el parámetro medido para una disolución de α -CD y Δ_0 es el valor de referencia medido para el agua pura. Dentro del límite de las películas delgadas Δ_{surf} es linealmente proporcional al espesor elipsométrico η ^[1]

$$\Delta_{surf} = \frac{g(\theta)}{\lambda} \cdot \eta \quad (\text{A.1})$$

donde $g(\theta)$ es una función que depende de las propiedades del bulto y del ángulo de incidencia^[2] de la siguiente manera:

$$g(\theta) = \frac{4\pi n_{air} n_{water}^2 \cos \theta \sin^2 \theta}{(n_{water}^2 - n_{air}^2)(n_{water}^2 - n_{air}^2) \cos^2 \theta - n_{air}^2} \quad (\text{A.2})$$

y η puede ser expresado en términos del perfil del índice de refracción a lo largo de la interfase^[3] como:

$$\eta = \int \frac{(n(z)^2 - n_{air}^2)(n(z)^2 - n_{water}^2)}{n(z)^2} \quad (\text{A.3})$$

donde $n(z)$ es el perfil del índice de refracción en la dirección normal a la interfase, $n_{air} = 1.000$ es el índice de refracción del aire y $n_{water} = 1.332$ es el del agua. En el caso de una sola capa uniforme e isotrópica separada por interfases bien definidas, las ecuaciones A.1 y A.3 pueden ser reducidas a una expresión para Δ_{surf} en términos tanto de τ (el espesor de la capa) como de ρ (la densidad de la capa)

$$\Delta_{surf} = \frac{g(\theta)(n_{surf}^2 - n_{air}^2)(n_{surf}^2 - n_{water}^2)}{n_{surf}^2 \lambda} \cdot \tau \quad (\text{A.4})$$

donde n_{surf} es el índice de refracción de la capa superficial (y el solvente). Finalmente las ecuaciones de de Feijter pueden ser obtenidas de la relación entre la concentración en superficie Γ y Δ_{surf} ,^[4]

$$\Gamma = \frac{(n_{surf} - n_{water})}{dn/dc} \cdot \frac{n_{surf}^2 \lambda}{n_{surf}^2 - n_{air}^2)(n_{surf}^2 - n_{water}^2)} \cdot \Delta_{surf} \quad (\text{A.5})$$

donde dn/dc representa el incremento del índice de refracción para disoluciones de α -CD. Es posible escoger uno de dos modelos que describen los cambios de la cobertura del material como: “oil like” (donde cambia τ y se mantiene constante ρ) o “particle-like” (donde varía ρ y se mantiene constante τ). Para el caso en que ρ es constante no existe solvente en la superficie, así que n_{surf} es constante y por lo tanto la relación entre Γ y Δ_{surf} es lineal. En el caso cuando τ es constante, n_{surf} es variable y se refiere a la fracción del volumen del material en la capa, por lo que la relación entre Γ y Δ_{surf} es cuadrática. Esta relación se obtuvo usando las mediciones del índice de refracción realizadas en este proyecto, y es:

$$\Gamma = 0.958 \times \Delta_{surf} - (0.0348 \times \Delta_{surf}^2) \quad (\text{A.6})$$

[1] Langevin D. Light Scattering by Liquid Surfaces and Complementary Techniques (Surfactant Science); CRC Press, 1992.

[2] Motschmann, H.; Teppner, R. Ellipsometry in Interface Science. In Novel Methods to Study Interfacial Layers; Möbius, D., Miller, R., Eds.; Studies in Interface Science; Elsevier, 2001; Vol. 11, pp 1-42.

[3] Drude, P. Ueber Die Reflexion Und Brechung Ebener Lichtwellen Beim Durchgang Durch Eine Mit Oberflächenschichten Behaftete Planparallele Platte. Ann. Phys. 1891, 279 (5), 126-157.

[4] De Feijter, J. A.; Benjamins, J.; Veer, F. A. Ellipsometry as a Tool to Study the Adsorption Behavior of Synthetic and Biopolymers at the Air-Water Interface. Biopolymers 1978, 17 (7), 1759-1772.

Apéndice B

Resultados de Módulo de Elasticidad.

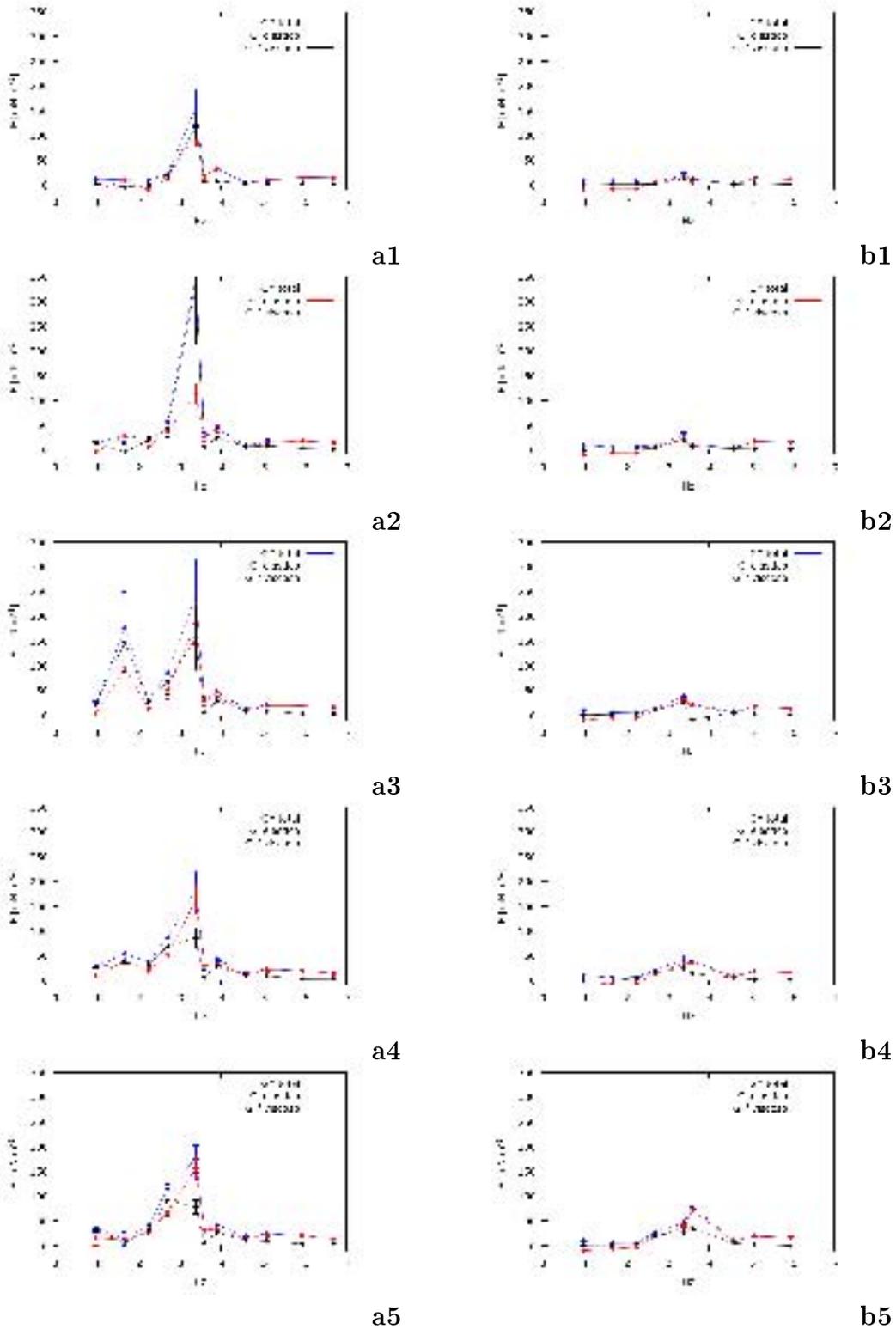


Figura B.1: Valores del módulo de elasticidad total $|E^*|$, parte imaginaria E'' y parte real (E') en función de la concentración del tensoactivo DSS a 283 (a) y 293 (b) K. Se muestran 5 diferentes frecuencias: 0.01, 0.05, 0.1, 0.15 y 0.2 Hz, que corresponden a las figuras 1, 2, 3, 4 y 5 respectivamente.

Apéndice C

Artículo publicado.

Complex Behavior of Aqueous α -Cyclodextrin Solutions. Interfacial Morphologies Resulting from Bulk Aggregation

Jorge Hernandez-Pascacio,[†] Ángel Piñero,[‡] Juan M. Ruso,[‡] Natalia Hassan,^{‡,⊥} Richard A. Campbell,^{*,§} José Campos-Terán,^{*,||} and Miguel Costas^{*,†}

[†]Laboratorio de Biofísicoquímica, Departamento de Físicoquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F. 04510, Mexico

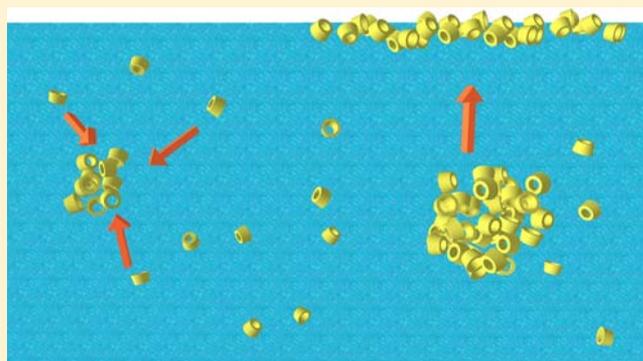
[‡]Soft Matter and Molecular Biophysics Group, Department of Applied Physics, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela 15782, Spain

[§]Institut Laue-Langevin, 71 avenue des Martyrs, CS 20156, 38042 Grenoble, Cedex 9, France

^{||}Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa, Av. Vasco de Quiroga 4871, Col. Santa Fe, Delegación Cuajimalpa de Morelos 05348, Mexico

Supporting Information

ABSTRACT: The spontaneous aggregation of α -cyclodextrin (α -CD) molecules in the bulk aqueous solution and the interactions of the resulting aggregates at the liquid/air interface have been studied at 283 K using a battery of techniques: transmission electron microscopy, dynamic light scattering, dynamic surface tensiometry, Brewster angle microscopy, neutron reflectometry, and ellipsometry. We show that α -CD molecules spontaneously form aggregates in the bulk that grow in size with time. These aggregates adsorb to the liquid/air interface with their size in the bulk determining the adsorption rate. The material that reaches the interface coalesces laterally to form two-dimensional domains on the micrometer scale with a layer thickness on the nanometer scale. These processes are affected by the ages of both the bulk and the interface. The interfacial layer formed is not in fast dynamic equilibrium with the subphase as the resulting morphology is locked in a kinetically trapped state. These results reveal a surprising complexity of the parallel physical processes taking place in the bulk and at the interface of what might have seemed initially like a simple system.



1. INTRODUCTION

Cyclodextrins (CDs) are cyclic oligosaccharides formed by six (α), seven (β), or eight (γ) 1,4-linked α -D-glucopyranoside units that result from the enzymatic degradation of starch. They have been described as truncated cone shaped molecules with both a hydrophobic cavity, which increases in size from α - to γ -CD, and a hydrophilic region located at their external surface. CDs are unique molecules from several points of view. They are probably the first family of molecules that springs to mind when looking for means to encapsulate small atomic groups of significant hydrophobicity. CDs meet a number of characteristics that are not easy to bring together in a family of compounds: low toxicity, biocompatibility, chemical stability, and ease of synthesis and purification.^{1,2} Additionally, CDs are good targets for chemical modifications,³ which on many occasions are able to enhance one or several of those characteristics.⁴ Because of these general features, the number of basic studies and practical applications of CDs in several areas is very large. Nevertheless, the fundamental behavior of CDs in aqueous solutions is not fully understood.

There are two previous categories of experimental results for aqueous solutions of CDs that are particularly relevant to the present work. The first concerns the bulk aqueous solution where it was shown by Coleman et al. that α -, β -, and γ -CD exist in the form of aggregates bound together by a network of hydrogen bonds.⁵ This study was followed up by González-Gaitano et al. and Puskas et al., who reported cyclodextrin molecules spontaneously form aggregates,^{6,7} and while Valente et al. did not observe aggregates in α -CD, β -CD, and γ -CD solutions using NMR experiments, they commented that aggregates could be present at a concentration up to 1%.⁸ The issue has been further discussed explicitly in two reviews.^{9,10} The aggregation of CD molecules in the bulk solution is an important finding because recently it has been reported that CD aggregates contribute to the solubilization of poorly soluble drugs,¹¹ making this phenomenon very relevant

Received: April 29, 2016

Revised: June 8, 2016

Published: June 14, 2016

to the pharmaceutical industry. CDs have also been employed as a chemical reaction medium to favor the recovery of the reactants and products, thus preventing contamination.¹² The second category concerns the liquid/air interface. Some years ago, we showed that significant quantities of α -CD are present at the surface even though the surface tension is very close to that of pure water.^{13,14} This surface was transferred to mica sheets using Langmuir–Blodgett deposition, and the resulting dried film was characterized using atomic force microscopy.¹⁴ Also, we have reported recently a detailed computational study on the adsorption and aggregation of α -CD and β -CD at 283 and 298 K using atomistic molecular dynamics (MD) simulations.¹⁵ It was observed that the affinities for the liquid/air interface of individual CD molecules and of small CD aggregates (<20 molecules) are negligible. On the other hand, the MD simulations in the bulk solution using up to 40 CD molecules showed that β -CD has a clear tendency to aggregate at 283 and 298 K, while for α -CD this tendency is clear at 283 K but less marked at 298 K. The study of the behavior of CD at interfaces is important because CD layers or films have been used as a main component of electrochemical and biological sensors,¹⁶ having an important impact in the detection of pharmaceutical molecules like dextromethorphan,¹⁷ ibuprofen,¹⁸ diclofenac,¹⁹ and volatile²⁰ or nitro aromatic compounds.²¹ In these cases, the CDs interact with a large variety of guest molecules to form inclusion complexes and work as redox mediators. An important aspect in these devices is the formation of a CD film that is formed either by dip coating or by the self-assembly of a monolayer at the surface of the sensors. Presently, an open area of research is to study the effects on CD films of molecular organization, packing, and permeability on sensor performance.²²

The aim of the present work is to describe comprehensively the spontaneous aggregation of α -CD in the bulk solution combined with the behavior at the liquid/air interface of the resulting aggregates. This is particularly interesting given that the driving forces for spontaneous aggregation in the bulk solution and the adsorption at a liquid/air interface are typically closely connected. We have carried out a characterization of the bulk aggregates of α -CD as a function of sample age, which is information that is lacking in the literature. Further, we have examined in detail the liquid/air interface, also as a function of sample age, to gain insight into the possible forces and mechanisms that determine and control the adsorption of α -CD aggregates. To reach these goals, we have employed a battery of experimental techniques: transmission electron microscopy, dynamic light scattering, dynamic surface tensiometry, Brewster angle microscopy, neutron reflectometry, and ellipsometry.

2. EXPERIMENTAL SECTION

2.1. Sample Preparation. Ultra pure water with a conductivity of 18.2 M Ω cm was obtained from a Millipore system, and α -CD was purchased from Sigma-Aldrich (purity >98%). The water content of α -CD was 10% by weight, as determined by Karl Fischer titration. To guarantee complete solubilization of α -CD, prior to any measurement, samples were heated for 30 min at 323 K and sonicated at room temperature for 15 min in an ultrasonic bath at 40 kHz. All solutions were made directly at their final bulk concentration rather than by dilution of a concentrated stock solution. Turbidity tests using UV–vis spectroscopy showed that the CD molecules were completely dissolved. All liquid samples were pipetted from the bulk to the measurement dish to avoid the transfer of kinetically trapped material formed at the liquid/air interface during its creation.²³ The data in the

main text were all measured at 283 K. Measurements were limited to 10 mM as a result of the solubility limit of α -CD at 283 K being 39 mM (extrapolated from the 293–323 K data in ref 24).

2.2. Transmission Electron Microscopy (TEM). TEM was performed using a Philips CM-12 transmission electron microscope equipped with a digital camera MEGA VIEW-II DOCU and operated at 120 kV with a magnification of 730 000 \times and a maximum resolution of approximately 0.5 nm. The sample was prepared by the negative-staining technique with 2% (w/v) phosphotungstic acid. A carbon Formvar-coated copper grid was placed into the solution for 1 min and into the sodium phosphotungstate for another minute, and then the grid was dried. A small amount of sample was pipetted onto a TEM grid and allowed to dry at room temperature (usually for 1–2 h). In between and thereafter, excess liquid was wicked away with filter paper. Observations were made in a bright field.

2.3. Dynamic Light Scattering (DLS). Samples for DLS measurements were filtered between 15 and 20 times through a 0.2 μ m cellulose acetate membrane (Titan 2, SUN Sri, U.S.). Because the refractive index of the solution is highly sensitive to the α -CD concentration, we used this property to check if a significant amount of α -CD was lost during the filtration process. We found that the refractive index of the solution before and after filtration was the same to the fifth significant figure, which means that the amount of CD retained was negligible. The DLS measurements as a function of time were made at a back scattering angle of 173°. A Z-sizer Nano model ZS (Malvern Instruments, UK) was used to perform the measurements with an incident beam of $\lambda = 633$ nm (He–Ne, 4.0 mW). Prior to being measured, samples were equilibrated inside the DLS cell for 20 min. Measurements consisted of at least 15 scans of 20–25 s. For the first 10 h, measurements were performed every 15 min. After that and up to 24 h, measurements were performed every 30 min. Thereafter, the same sample was followed for up to 300 h, measuring at different total times. All measurements were performed in triplicate. A “dust filter” option in the software was used to eliminate scans with a large number of counts. The electric field time correlation exponential function was solved for the translational diffusion coefficient using the Non Negative Least Square (CONTIN algorithm) method, which is reported as ideal for heterodisperse, polydisperse, and multimodal systems that cannot be resolved with the cumulant method.²⁵ Employing the Stokes–Einstein equation, we estimated the hydrodynamic effective sphere radius R_h while making the assumption that the aggregates formed are spherical.

2.4. Dynamic Surface Tensiometry (DST). The dynamic surface tension was measured using an image drop profile tensiometer (OCA20, Dataphysics, Germany) with a high-resolution USB camera (max 123 images/s sample rate) and a home-designed cell constructed with optic glass by Hellma, Germany. This cell allows measurements of up to 24 h at constant temperature and with low evaporation rate. Drops of 24 μ L were created at 0.5 μ L/s at the end of a syringe tip (1.650 mm outer diameter). Images of drop profiles were collected every minute. The surface tension γ was obtained using the Young–Laplace equation $\Delta P = (\rho_d - \rho_l)gh = (\gamma/R_1) + (\gamma/R_2)$, where ΔP is the pressure difference across the interface, ρ_d and ρ_l are the densities of the denser and the lighter phases, respectively, g is the gravitational constant, h is the height of the drop, and R_1 and R_2 are the two main drop curvature radius. Two different aqueous α -CD solutions were used: one was employed immediately after preparation, and the other was kept for 7 days at room temperature prior to being examined. The DST and BAM experiments were performed simultaneously using the same sample.

2.5. Brewster Angle Microscopy (BAM). Morphological information on the α -CD present at the liquid/air interface was obtained using BAM. A MicroBAM (KSV Instruments, Finland) machine equipped with a laser beam fixed to 53° for a water/air interface and a camera with a field of view of 3.6 mm \times 4 mm and spatial resolution of 6 μ m per pixel was used. Samples were placed in a Langmuir trough (Minimicro, KSV Instruments, Finland) of 98 cm² area, 57 mL subphase volume, with two movable barriers and a platinum rod sensor as a tensiometer (0.01–1 mN/m resolution), all in a dust-free environment. Three different aqueous α -CD solutions

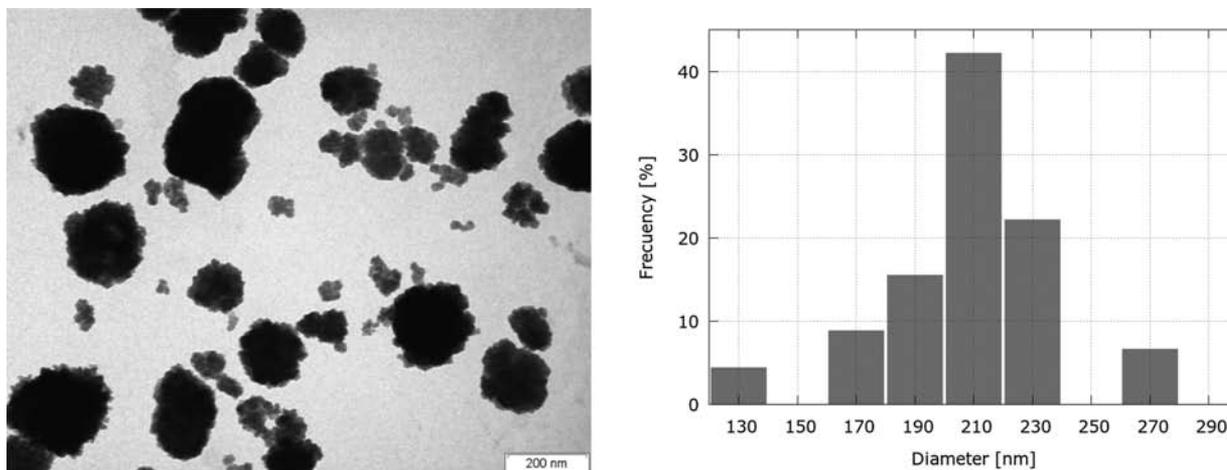


Figure 1. TEM micrographs of α -CD aggregates in a freshly prepared 10 mM solution at 283 K (left). This image was chosen to be as representative of the bulk samples measured as possible. Size distribution of the α -CD aggregates (right).

were used: two were employed immediately after preparation, and the third was kept for 7 days at room temperature prior to being examined. Before each experiment, the trough was cleaned with high purity chloroform and ultra pure water. The trough was considered clean when the water/air interface had a surface pressure of $\Pi < 0.2$ mN/m during the total compression of the surface with the movable barriers. After this, the water subphase was exchanged for the aqueous α -CD solution. BAM images were obtained in intervals of 15–30 min during the first 6 h and 30–60 min for the rest of the experiment, which typically lasted 20 h.

2.6. Neutron Reflectometry (NR). NR experiments were performed on the time-of-flight reflectometer FIGARO at the Institut Laue-Langevin (Grenoble, France).²⁶ Profiles of the neutron reflectivity R at the liquid/air interface as a function of the momentum transfer $q = 4\pi \sin(\theta)/\lambda$ were recorded using pulses in the wavelength range $\lambda = 2$ –30 Å and at fixed incident angles of $\theta = 0.62^\circ$ and 3.8° . The principles of the technique have been described elsewhere.²⁷ α -CD solutions were prepared in two different isotopic contrasts: D₂O and air contrast matched water (ACMW; a mixture of 8.1% by volume of D₂O in H₂O). NMR experiments in D₂O and in ACMW (performed in our laboratories) revealed that α -CD experiences a H \rightarrow D replacement of three hydrogen atoms per glucopyranoside ring (presumably the hydroxyl groups). Thus, the scattering lengths of α -CD were calculated to be 376.31 fm in D₂O and 204.09 fm in ACMW. The value employed for the molecular volume of α -CD (995 Å³) was determined by interpolating data in the literature.²⁸ The experimental scattering length density (ρ) obtained for D₂O was 6.24×10^{-6} Å⁻², while the values calculated for α -CD were 3.78×10^{-6} Å⁻² in D₂O and 2.05×10^{-6} Å⁻² in ACMW. The analysis of the NR data was performed using the homemade SANGRA software,²⁹ which is based on the implementation of the Parratt method³⁰ for the modeling of stratified layers by using the Fresnel equations. Also implemented in this software is the ability to model domains of different composition with sizes above the coherence length, which varies from hundreds of micrometers at low q (dominating the surface excess) to 1–10 μ m at high q (dominating the structural analysis).³¹

Two types of analysis were carried out. First, data recorded over the full q -range in both isotopic contrasts were fitted using both a homogeneous layer model (i.e., reflection from the average scattering properties of the domains and gaps) and a heterogeneous layer model (i.e., additive reflection from the scattering of both the domains and the gaps weighted to their area coverage). Second, kinetic data were recorded in just one isotopic contrast (in ACMW) over a restricted q -range (up to 0.06 Å⁻¹). The product of the constrained ρ and the fitted thickness (τ) and volume fraction (v_i) of the layer was employed to calculate directly the surface excess using $\Gamma = \rho\tau v_i / (N_A b)$, where N_A is Avogadro's number and $b = \sum b_i$ is the coherent scattering length obtained from the sum of the corresponding values over all nuclei. The

data were restricted to a low- q value of 0.03 Å⁻¹ to be as independent as possible of details of the structural model applied.^{32,33}

2.7. Ellipsometry (EP). EP data were recorded using a Picometer Light ellipsometer (Beaglehole Instruments, New Zealand) in the Partnership for Soft Condensed Matter (Grenoble, France) using a HeNe laser with $\lambda = 633$ nm and $\theta = 50^\circ$. Measurements are of the change in polarization of light upon reflection at a surface, where the attenuation, Ψ , and phase shift, Δ , depend on the optical properties of the surface and on θ .³⁴ At the air/water interface, Ψ is insensitive to the optical properties of thin transparent films, so we model the measured parameter $\Delta_{\text{surf}} = \Delta - \Delta_0$, where Δ_{surf} is the change in Δ from the α -CD aggregates at the interface, Δ is the measured value, and Δ_0 is the value for pure water; its subtraction is to minimize effects on the data from surface roughness.³⁵

An optical matrix model can be used to model the relation between Γ and Δ_{surf} . The complexities of such modeling are well documented,³⁶ and a comparison with data measured directly using NR is often used.³⁷ Even so, for the calibration of the ellipsometry data, in the thin film limit, a model with an oil-like layer (constant density; changing thickness) results in a linear $\Gamma(\Delta_{\text{surf}})$, and a model with a particle-like layer (constant thickness; changing density) results in a quadratic $\Gamma(\Delta_{\text{surf}})$.³⁸ A description of these models is given in part 1 of the Supporting Information. Their comparison produced very similar results, and the latter was chosen as more physically relevant for aggregate adsorption. As α -CD aggregates were shown to form layers with a thickness of 3.9 nm at the air–water interface using NR (see the Results and Discussion), a model of constant layer thickness with the following empirical relation was used: $\Gamma = (0.958 \times \Delta_{\text{surf}}) - (0.0348 \times \Delta_{\text{surf}}^2)$. The other main input parameter was the measured refractive index increment of α -CD (0.186 cm³/g), which resulted in a “pure layer” refractive index of 1.462 (see part 2 of the Supporting Information). Two aqueous α -CD solutions were measured: one immediately after preparation (freshly mixed), and the other was aged in a refrigerator at 277 K for 9 days.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. α -Cyclodextrin Aggregates in the Bulk Aqueous Solution. A freshly prepared 10 mM α -CD bulk solution at 283 K was measured using TEM to determine if aggregates were present. Figure 1 shows a micrograph and the corresponding distribution histogram of the size of the aggregates after filtration through membranes with pores of 0.2 μ m; note that samples filtered through 0.45 μ m membranes like those used in the DLS measurements were also measured and showed no statistical differences. The image shows a uniform distribution of aggregates that are well separated from

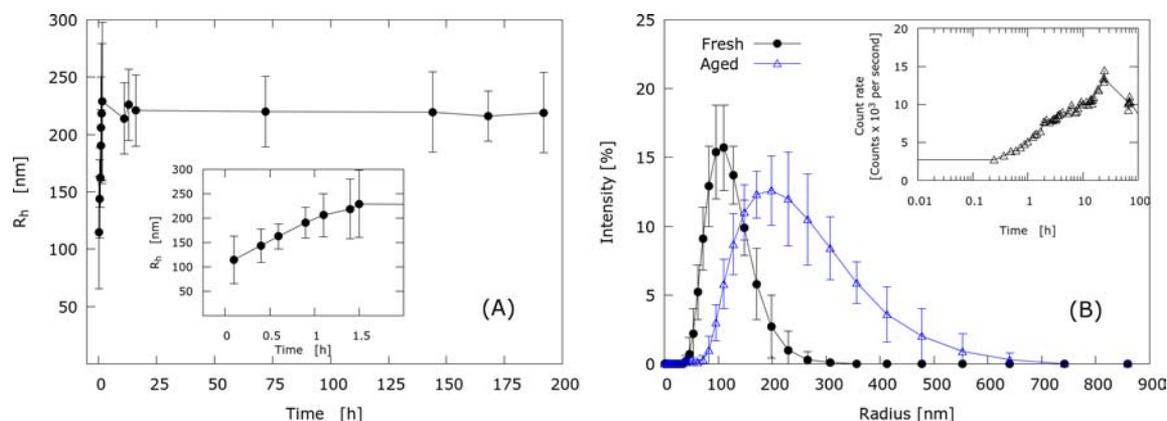


Figure 2. DLS measurements of (A) the hydrodynamic radius R_h of α -CD aggregates at 283 K as a function of time for 10 mM aqueous α -CD solutions filtered through a $0.2\text{-}\mu\text{m}$ cellulose membrane. The inset shows R_h for the first 2 h of measurement. (B) Size distribution of α -CD aggregates as a function of time and sample age. The aged sample was kept at 277 K for 8 days. The size distributions are reproducible as shown in part 3 of the [Supporting Information](#) for three fresh and independently prepared α -CD solutions. The inset shows the count rates as a function of time.

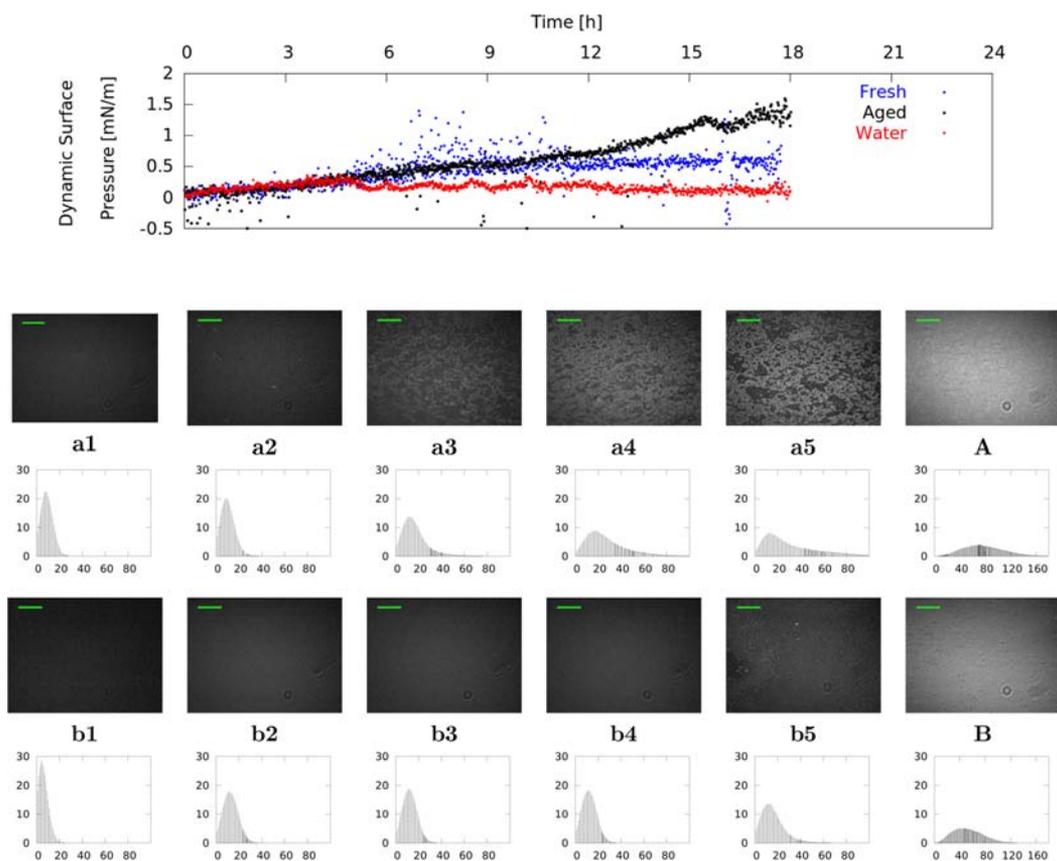


Figure 3. Dynamic surface pressure at 283 K for water and two 10 mM α -CD solutions: a freshly prepared sample and a sample that was aged for 7 days (kept at room temperature). Using the same samples, BAM images at different times were taken for the fresh (a) and aged (b) solutions. Numbers 1, 2, 3, 4, and 5 correspond to 0, 1, 3, 6, 20 h of elapsed time. The last observed surfaces, a5 and b5, were compressed in the Langmuir trough producing the images A and B, respectively. The horizontal green bars indicate the scale ($800\ \mu\text{m}$). For each BAM image, the corresponding intensity histogram (pixels $\times 10^{-3}$ vs brightness) is shown.

each other, the distribution being relatively unimodal and symmetrical. Similar results using TEM have been also reported for β -CD.³⁹ Histograms of the average diameter area were generated from different TEM images of ~ 100 particles. The average diameter and uncertainties have been obtained from fitting histograms to single peak distributions giving 211 ± 24 nm.

The spontaneous formation of α -CD aggregates in solution was also followed with time using DLS to examine the size evolution of the resulting structures. [Figure 2A](#) indicates that large aggregates were present in the bulk solution already within a few minutes after filtration. As the two-dimensional TEM micrographs indicate circular structures, and as CDs without any encapsulated ligand are not expected to have a

dominant direction to grow because their structure is poorly defined,⁴⁰ the DLS data were analyzed assuming that the aggregates are spherical. The initial hydrodynamic radius (R_h) grows drastically from 110 to 230 nm within the first 10 h and then remains constant for 200 h. The slow initial aggregation kinetics corresponds to a gradual increase in the count rate (inset to Figure 2B). Figure 2B shows the size distribution of the aggregates for two different sample ages. The distribution is wider for the aged sample, which highlights the growth of aggregates in the first 10 h up to a maximum of 600 nm in size. Also, distributions are asymmetrical with a skewed shape toward larger areas, which increases with time. For β -CD, the aggregate size has also been found to increase with sample age.⁴¹

Note that measurements were also conducted using DLS for samples at 298 K (see part 3 of the Supporting Information). It was observed that the aggregates at 298 K both for the fresh and for the aged samples are smaller than at 283 K, with a smaller observed growth as a result of sample aging. The maxima of the size distributions are for the fresh samples 128 nm at 283 K and 82 nm at 298 K, while for the aged samples 171 nm at 283 K and 110 nm at 298 K. Further, measurements were also carried out at 283 K using isothermal titration calorimetry, but in this case the technique was insensitive to the presence of aggregates (see part 4 of the Supporting Information).

Assuming that α -CD molecules can be approximated to spheres with a diameter of 1 nm, and that the aggregates that form in solution are also spherical, we may estimate from the DLS data in Figure 2 that the number of molecules in the aggregates is on the order of $\sim 10^6$ – 10^7 . The MD simulations recently performed for α -CD aggregates used only a maximum of 40 molecules,¹⁵ and therefore inevitably they are not representative for the much larger aggregates determined experimentally in the present work. However, on the basis of the solvation free energy calculations, the latter computational work suggests that the driving forces for the formation of α -CD aggregates are the solute–solute interactions (mainly direct and water-mediated H-bonds between α -CD molecules), in contrast to the hydrophobic forces driving aggregation, for example, in surfactant micelles and also protein solutions.⁴² This result is important in connection with the following sections of this work, focused on adsorption of the α -CD aggregates at the liquid/air interface.

3.2. α -Cyclodextrin Aggregates at the Liquid/Air Interface. Simultaneous DST and BAM measurements were carried out at 283 K on the same fresh and aged samples of 10 mM α -CD. We will present the tensiometry results in terms of the dynamic surface pressure to highlight the small changes observed, which are attributed to changes in the surface rather than bulk properties associated with α -CD solvation because the differences in the data from pure water increase with time, and from DLS the maximum monomer concentration would be expected at $t = 0$. In Figure 3, the value of the dynamic surface pressure increases for the freshly prepared sample. It has been commonly reported that α -CD is not surface active on the basis that its solutions do not result in a significant change in the surface tension as compared to that of pure water.^{13,43} Nevertheless, the changes in dynamic surface pressure observed here, while small, are reproducible (see Figure S4 in part 5 of the Supporting Information) and statistically significant, and there is a further indication of the surface activity in α -CD samples by the small negative slope in the surface tension

isotherm with respect to the bulk concentration (see Figure S5 in part 5 of the Supporting Information).

In the interpretation of the BAM images, white regions can be attributed to patches of material with sufficient optical contrast to be detected (e.g., high molecular density or anisotropy), while black regions indicate either gaps or areas of low molecular density or disordered material.^{44–46} In the case of freshly prepared samples, BAM images and their corresponding intensity histograms in Figure 3 show the progressive formation of an interfacial layer with lateral inhomogeneities on the micrometer scale, consistent with that reported by ourselves previously.¹⁴ At the start of the experiment (image a1), a very small amount of material is observed at the interface. After 1 and 3 h (images a2 and a3, respectively), α -CD domains are visible, albeit with a low intensity. These domains appear randomly dispersed at the interface leaving extended regions (in black) either with no material at the interface or with material present in a very low density or a disordered morphology. After 6 and 20 h (images a4 and a5, respectively), progressively more material populates the surface, and the morphology becomes more homogeneous with higher area coverage of the α -CD condensed domains.

To gain insight into the mechanism by which α -CD interacts with the water/air interface, now we compare the results from fresh and aged samples. The results for the aged sample (images b1 to b5) in Figure 3 confirm that the accumulation of material at the liquid/air interface is slower in this case. Only after 20 h (b5 in Figure 3) is it possible to identify clearly material at the interface in the BAM images.

It is interesting that when the last observed surface (images a5 and b5) was compressed in the Langmuir trough, the accumulated material at the surface is even clearer (images A and B). These results show that the interfacial layers created are not in fast dynamic equilibrium with the subphase, and that the resulting interfacial morphology exists in a kinetically trapped state. We may infer that the interface consists of domains of α -CD that are in a different phase to the adjoining gaps. As the α -CD domains grow larger with observation time, it follows that they are formed through the lateral coalescence of the material that has adsorbed to the interface. It is interesting to compare this interfacial morphology to that of spread films of human serum albumin, where it was recently shown that an extended network structure can also result in samples with very high surface tension values.³⁸ Such morphologies were also observed at the liquid/air interface of champagne.⁴⁷

The different interfacial behavior of the aged α -CD samples must be attributed to the changes that take place in the bulk. Indeed it follows that slower diffusion of the larger bulk aggregates with time results in a slower interaction with the interface. We may conclude that the α -CD domains that form at the liquid/air interface arise primarily from the adsorption of the relatively small aggregates from the bulk (close to 100 nm radius) followed by their lateral coalescence and possibly by incorporation of α -CD monomers from the bulk to the aggregate to form more extended structures. The driving forces for this coalescence are attributed to solute–solute interactions, as suggested by the reported MD simulations.¹⁵ However, the modest rise in dynamic surface pressure is slightly higher for the aged sample than for the fresh sample, although this may be related to the kinetically trapped nature of the formed layer. Additional techniques are required to elaborate this issue, so we went on to apply NR and EP to the same systems.

NR measurements were carried out on freshly prepared samples with a surface age of 7–8 h in ACMW and D₂O. The limited amount of information in the data limits the structural model applied to a single interfacial layer. The coherence length of the measurement falls in the micrometer range at the higher q values that dominate the structural analysis.³¹ As the features observed in the BAM images span such length scales (Figure 3), it was not apparent to us whether it is more appropriate to apply a homogeneous or heterogeneous layer model (as described in the Experimental Section). As such, both models were applied to the experiment data, and the refined simultaneous fits are shown in red and blue, respectively, in Figure 4 with the relevant structural parameters and results listed in Table 1.

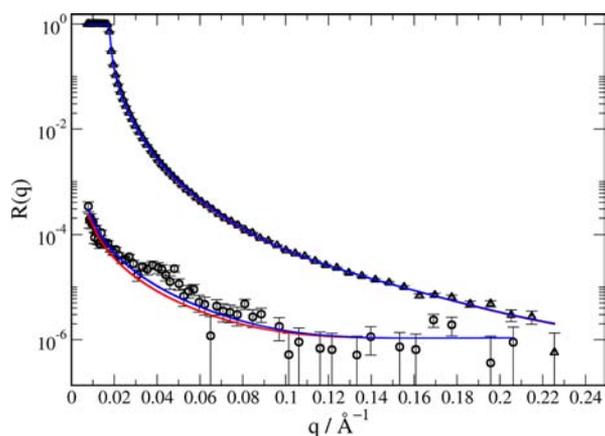


Figure 4. Experimental neutron reflectivity profiles obtained for a 10 mM α -CD solution at 283 K in D₂O (triangles) and in ACMW (circles). The blue lines are the fits using the homogeneous layer model, and the red lines are the fits using the heterogeneous layer model. Both fits practically coincide for the measurement in D₂O, and hence the red curve is barely visible.

Table 1. Structural Parameters and Results from the Application of Homogeneous and Heterogeneous Layer Model Fits to the NR Data at 283 K Shown in Figure 4

parameter/result	homogeneous model	heterogeneous model
thickness (nm)	3.95	3.87
area coverage of domain 1 ^a	1 (fixed)	0.169
fraction of α -CD in domain 1 ^a	0.119	0.652
standard deviation	24.2	23.7
surface excess (mg/m ²)	0.80	0.72

^aDomain 1 is the proportion of the interface coverage by α -CD aggregates as indicated by the BAM images; other parameters are layer roughnesses = 2.5 Å; D₂O residual background = 5.1×10^{-7} (fitted from pure air/D₂O data); ACMW residual background = 1.1×10^{-6} (fitted from the last 8 points of the ACMW data in Figure 4).

A layer thickness of 3.9 nm is determined from the application of both models to the experimental data. Given that the longest axis of the molecule is approximately 1 nm, we may infer that the interfacial morphology extends beyond a monolayer of α -CD monomers, as it has been reported for systems composed by β -CD and lipid monolayers.⁴⁸ It is interesting to place the nanometer-scale film thickness determined using NR in the context of work dealing with aggregates created in systems involving α -CD with inclusion

hosts. For example, in the work by Polarz et al., silica was used to template worm-like aggregates of α -CD in the presence of xylene, and TEM images showed an aggregate–aggregate separation on the order of several nanometers.⁴⁹ In the present work, α -CD was not complexed to an inclusion host, but the film created was nevertheless templated, by a planar hydrophobic boundary between liquid and air. It will be interesting in the future to resolve and compare the driving forces for the templating in the two different types of systems with a view to optimization of film formation.

In the case of the heterogeneous layer model, the proportion of α -CD in the domains is 17%; note that forcing this value to be higher resulted in worse fits to the experimental data. This is the only information about the possible composition of the domains we have resolved to date. There are very similar values for the surface excess (a difference of 10%) and the standard deviation (difference of 2%) from the two models, which has two implications. First, they show that we cannot interpret any more information about the interfacial structure from these data beyond that specified above. Second, they show that it is reasonable to apply either model to determine the surface excess during adsorption, for which we recorded kinetic data only in ACMW and up to $q = 0.06 \text{ \AA}^{-1}$. As such, with a fixed domain composition of 17% α -CD to limit the number of fitting parameters, this model was applied to the kinetic data for comparison with ellipsometry (EP) measurements.

Figure 5 shows a comparison of the NR and EP data of fresh samples over several hours. The surface excesses measured

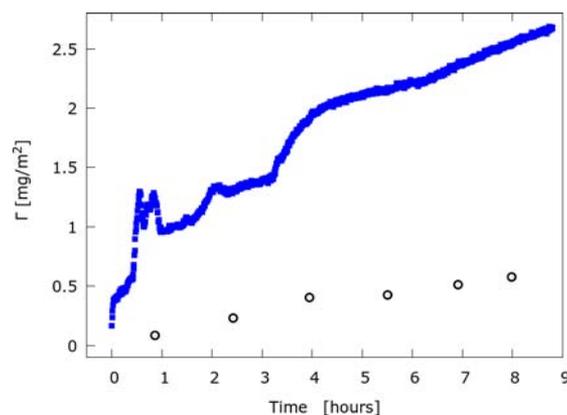


Figure 5. Kinetic evolution of the surface excess for 10 mM α -CD solutions at 283 K measured using NR (O) and EP (blue ■).

using EP are higher by about a factor of 5. If the adsorbed layer were in a fast dynamic equilibrium with the subphase (e.g., a soluble surfactant at sufficient bulk concentration), such a discrepancy could be explained by anisotropy (i.e., different refractive indices parallel with and perpendicular to the interface); note that the microscopic heterogeneity of the interface is not a consideration here given that the coherence length of the EP measurement is much larger than the domain size.³¹ However, anisotropy of a factor of 5 would be double that observed even of highly ordered domains in lipid-based systems that exhibit lateral phase separation,⁴⁴ and in the absence of inclusion hosts the structure of α -CD aggregates may be expected to be rather poorly defined.⁴⁰ An alternative explanation, given the nonequilibrium nature of the kinetically trapped films created here, is that the different geometries and materials of the sample containers used in the NR and EP

measurements resulted in different adsorption rates: the former vessels were shallower and were made of a hydrophobic material to which deposition of aggregates may have occurred. As such, we go ahead now to exploit the precision, sensitivity, and time resolution of EP with a comparison of the effects of sample age on the adsorption kinetics using the isotropic optical model to calculate Γ , yet with a degree of caution we restrict our interpretations to relative changes rather than the absolute scaling.

Figure 6 shows the surface excess evolution of fresh and aged α -CD solutions. The EP data of the freshly prepared solution

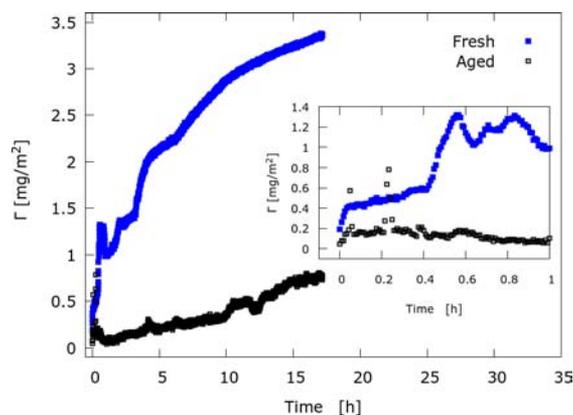


Figure 6. Kinetic evolution of the surface excess at 283 K for fresh and aged 10 mM α -CD solutions measured using EP. The aged sample was kept at 277 K for 9 days. The inset shows the surface excess during the first hour of measurement.

show clearly a slow but continual increase in the surface excess with time, consistent with the accumulation of material at the interface observed using BAM. The fact that there are temporal fluctuations in the measured values suggests the formation of a nonuniform layer on the micrometer scale, with condensed domains of the aggregates in coexistence with less dense areas or gaps, as is also supported by BAM and considered in the NR fittings (the heterogeneous model). In the case of EP, the temporal fluctuations may be attributed to the lateral movement of the domains in and out of the region probed by the laser as a result of Brownian motion, as has been seen, for example, in mixtures that exhibit phase separation.^{23,47} It is interesting that an interfacial excess plateau was not found within the observation time. This feature suggests that the adsorption and coalescence processes of the aggregates would probably take days or longer to reach equilibrium while the gaps at the interface are being slowly filled.

The EP data show a drastic reduction in the surface excess kinetics for the aged sample as compared to the fresh sample, providing further evidence for the observations made about the adsorption and subsequent coalescence at the interface of aggregates that had formed in the bulk on the basis of the BAM images above. Indeed the fact that the adsorption is so much slower for the aged solutions, yet the bulk monomer concentration had probably remained practically constant, indicates strongly that the dominant interfacial interactions are from the aggregates, and the adsorption of monomers is unfavorable. This inference supports the conclusions made in our recent study based on MD simulations.¹⁵ Even so, the adsorption of monomers to the condensed α -CD domains is not precluded and is a matter that merits further investigation.

Again, the temporal fluctuations show that the interface is laterally inhomogeneous on the micrometer scale. The physical picture indicated by BAM and EP can be put into context of the DLS data for fresh versus aged samples (Figure 2) where larger α -CD aggregates were found in the bulk solution with time and that, by Brownian diffusion, would take longer times to reach the liquid/air interface. Hence, we may conclude that the smaller aggregates can adsorb at a faster rate and then flocculate laterally for the freshly mixed samples, producing the large domains seen using BAM at faster rate.

Note that measurements were also carried out at 298 K using ellipsometry (see part 6 of the Supporting Information). In this case, there was only a small effect on the adsorption rate, but reduced temporal fluctuations showed that the films were more uniform on the micrometer scale. This finding shows that temperature is a key variable in film formation and as such is a promising candidate to tune in future investigations.

4. CONCLUDING REMARKS

Through exploitation of an extended set of bulk and surface techniques, a systematic study of α -CD aqueous solutions has been performed. The formation of α -CD aggregates in the bulk and the consequent formation at the liquid/air interface of α -CD domains with lateral inhomogeneities on the micrometer-scale have been characterized. The main results can be summarized as follows: (i) α -CD molecules spontaneously aggregate in the bulk solution, (ii) the average size of these aggregates increases with time, (iii) through a diffusion mechanism α -CD aggregates progressively adsorb to the interface over many hours resulting in only minor changes in the dynamic surface pressure, the process being even slower for aged samples, which is attributed to the slower diffusion of the larger aggregates, and (iv) once at the interface, the α -CD aggregates form, through lateral coalescence, extended domains on the micrometer scale in a kinetically trapped film with a thickness on the nanometer scale.

A particularly significant observation is the drastic reduction in adsorption for aged solutions, even though the bulk monomer concentration had remained practically constant during the intervening period. This result provides strong experimental indications that (1) the material at the interface is dominated by the adsorption of α -CD aggregates that had formed in the bulk and (2) the adsorption of α -CD monomers at a bare liquid/air interface is unfavorable.

At a microscopic level, the ability of the very flexible α -CD molecules to form many α -CD/ α -CD and α -CD/water H-bonds suggests that the driving force for their aggregation in the bulk solution and for their flocculation once at the interface is the solute–solute interactions, as recently indicated from MD simulation studies. Our results therefore highlight the complexity of the parallel physical processes taking place on the measured time scales in the binary system composed only of α -CD molecules and water. Although this would initially seem like a simple system, we have resolved a complex variety of processes.

The spontaneous formation of α -CD aggregates in the bulk and their transport to the interface with a minimal change in its free energy opens interesting avenues for applied research. The present work shows that for α -CD aqueous solutions, sample age is a key parameter to tune their bulk and interfacial properties. This characteristic could, for example, be exploited for delivery applications in a range of systems: in the bulk to improve and control the solubilization of poorly soluble drugs,

and at the surface to optimize the performance and design of biosensors.

■ ASSOCIATED CONTENT

■ Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b01646.

- (1) Ellipsometry: additional details on the data analysis,
- (2) refractive index measurements: experimental details and results,
- (3) dynamic light scattering: additional results,
- (4) isothermal titration calorimetry: experimental details and results,
- (5) dynamic surface tensiometry: additional results, and
- (6) ellipsometry: additional results (PDF)

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Authors

*E-mail: campbell@ill.eu.

*E-mail: jcampos@correo.cua.uam.mx.

*E-mail: costasmi@unam.mx.

Present Address

[†]Laboratorio de Nanobiotecnología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago 8320000, Chile.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Nuria Esturau for performing the NMR experiments and to Simon Wood for his technical assistance. We thank the Institut Laue-Langevin (ILL, Grenoble, France) for beam time on FIGARO and the Partnership for Soft Condensed Matter for the use of the ellipsometer. J.H.-P. thanks CONAcYT-México for a graduate student scholarship. N.H. acknowledges funding from Programa Fondecyt Post-doctoral number 3140489. J.C.-T., J.H.-P., and M.C. thank the Red Temática Materia Condensada Blanda (Mexico) for travel and living expenses to ILL. This work was supported by MINECO-Spain (grant MAT2011-25501) to Á.P., CONAcYT-México grant numbers CB-2012/182526 to J.C.-T. and 099844 to M.C., and PAIP-FQ-UNAM grant number 5000-9018 to M.C.

■ REFERENCES

- (1) Connors, K. A. The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution. *Chem. Rev.* **1997**, *97* (5), 1325–1357.
- (2) Szejtli, J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (97), 1743–1753.
- (3) Easton, C. J.; Lincoln, S. F. *Modified Cyclodextrins: Scaffolds and Templates for Supramolecular Chemistry*; Imperial College Press: London, 1999.
- (4) Challa, R.; Ahuja, A.; Ali, J.; Khar, R. K. Cyclodextrins in Drug Delivery: An Updated Review. *AAPS PharmSciTech* **2005**, *6* (2), E329–E357.
- (5) Coleman, A. W.; Nicolis, I.; Keller, N.; Dalbiez, J. P. Aggregation of Cyclodextrins: An Explanation of the Abnormal Solubility of β -Cyclodextrin. *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **1992**, *13* (2), 139–143.
- (6) González-Gaitano, G.; Rodríguez, P.; Isasi, J. R.; Fuentes, M.; Tardajos, G.; Sánchez, M. The Aggregation of Cyclodextrins as Studied by Photon Correlation Spectroscopy. *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **2002**, *44* (1–4), 101–105.
- (7) Puskás, I.; Schrott, M.; Malanga, M.; Szente, L. Characterization and Control of the Aggregation Behavior of Cyclodextrins. *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **2013**, *75* (3–4), 269–276.
- (8) Valente, A. J. M.; Carvalho, R. A.; Söderman, O. Do Cyclodextrins Aggregate in Water? Insights from NMR Experiments. *Langmuir* **2015**, *31* (23), 6314–6320.
- (9) Messner, M.; Kurkov, S. V.; Flavià-Piera, R.; Brewster, M. E.; Loftsson, T. Self-Assembly of Cyclodextrins: The Effect of the Guest Molecule. *Int. J. Pharm.* **2011**, *408* (1–2), 235–247.
- (10) He, Y.; Fu, P.; Shen, X.; Gao, H. Cyclodextrin-Based Aggregates and Characterization by Microscopy. *Micron* **2008**, *39* (5), 495–516.
- (11) Messner, M.; Kurkov, S. V.; Jansook, P.; Loftsson, T. Self-Assembled Cyclodextrin Aggregates and Nanoparticles. *Int. J. Pharm.* **2010**, *387* (1–2), 199–208.
- (12) Ferreira, M.; Bricout, H.; Azaroual, N.; Landy, D.; Tilloy, S.; Hapiot, F.; Monflier, E. Cyclodextrin/Amphiphilic Phosphane Mixed Systems and Their Applications in Aqueous Organometallic Catalysis. *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354* (7), 1337–1346.
- (13) Hernández-Pascacio, J.; Banquy, X.; Pérez-Casas, S.; Costas, M.; Amigo, A.; Piñero, Á. A Small Molecular Size System Giving Unexpected Surface Effects: α -Cyclodextrin + Sodium Dodecyl Sulfate in Water. *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *328* (2), 391–395.
- (14) Hernández-Pascacio, J.; Garza, C.; Banquy, X.; Díaz-Vergara, N.; Amigo, A.; Ramos, S.; Castillo, R.; Costas, M.; Piñero, Á. Cyclodextrin-Based Self-Assembled Nanotubes at the Water/Air Interface. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111* (44), 12625–12630.
- (15) Mixcoha, E.; Campos-Terán, J.; Piñero, Á. Surface Adsorption and Bulk Aggregation of Cyclodextrins by Computational Molecular Dynamics Simulations as a Function of Temperature: α -CD vs β -CD. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (25), 6999–7011.
- (16) Luong, J. H.; Brown, R. S.; Male, K. B.; Cattaneo, M. V.; Zhao, S. Enzyme Reactions in the Presence of Cyclodextrins: Biosensors and Enzyme Assays. *Trends Biotechnol.* **1995**, *13* (11), 457–463.
- (17) Khaled, E.; Kamel, M. S.; Hassan, H. N. a.; Aboul-Enein, H. Y. Cyclodextrin-Based Dextromethorphan Potentiometric Sensors. *J. Electroanal. Chem.* **2011**, *661* (1), 239–244.
- (18) Sousa, T. F. A.; Amorim, C. G.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Araújo, A. N. Cyclodextrin Based Potentiometric Sensor for Determination of Ibuprofen in Pharmaceuticals and Waters. *Sens. Actuators, B* **2013**, *176*, 660–666.
- (19) Lenik, J. A New Potentiometric Electrode Incorporating Functionalized β -Cyclodextrins for Diclofenac Determination. *Mater. Sci. Eng., C* **2014**, *45*, 109–116.
- (20) Girschikofsky, M.; Rosenberger, M.; Belle, S.; Brutschy, M.; Waldvogel, S. R.; Hellmann, R. Alkylated Cyclodextrins as Effective Affinity Materials in Chemical Sensing of Volatile Aromatic Hydrocarbons Using an Optical Planar Bragg Grating Sensor. *Anal. Chim. Acta* **2013**, *791*, 51–59.
- (21) Tredici, I.; Merli, D.; Zavarise, F.; Profumo, A. α -Cyclodextrins Chemically Modified Gold Electrode for the Determination of Nitroaromatic Compounds. *J. Electroanal. Chem.* **2010**, *645* (1), 22–27.
- (22) Ogoshi, T.; Harada, A. Chemical Sensors Based on Cyclodextrin Derivatives. *Sensors* **2008**, *8* (8), 4961–4982.
- (23) Campbell, R. A.; Yanez Arteta, M.; Angus-Smyth, A.; Nylander, T.; Noskov, B. A.; Varga, I. Direct Impact of Nonequilibrium Aggregates on the Structure and Morphology of Pdmac/SDS Layers at the Air/Water Interface. *Langmuir* **2014**, *30* (29), 8664–8674.
- (24) Frömming, K. H.; Szejtli, J. *Cyclodextrins in Pharmacy*; Academic Publishers: The Netherlands, 1994; p 10.
- (25) Scotti, A.; Liu, W.; Hyatt, J. S.; Herman, E. S.; Choi, H. S.; Kim, J. W.; Lyon, L. A.; Gasser, U.; Fernandez-Nieves, A. The CONTIN Algorithm and Its Application to Determine the Size Distribution of Microgel Suspensions. *J. Chem. Phys.* **2015**, *142* (23), 234905.
- (26) Campbell, R. A.; Wacklin, H. P.; Sutton, I.; Cubitt, R.; Fragneto, G. FIGARO: The New Horizontal Neutron Reflectometer at the ILL. *Eur. Phys. J. Plus* **2011**, *126* (11), 107.

- (27) Lu, J. R.; Thomas, R. K.; Penfold, J. Surfactant Layers at the Air/water Interface: Structure and Composition. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2000**, *84* (1–3), 143–304.
- (28) Origlia-Luster, M. L.; Call, T. G.; Woolley, E. M. Apparent Molar Volumes and Apparent Molar Heat Capacities of Aqueous Solutions of α - and β -Cyclodextrins at Temperatures from 278.15 to 393.15 K and at the Pressure 0.35 MPa. *J. Chem. Thermodyn.* **2001**, *33* (11), 1587–1596.
- (29) Piñeiro, Á. <http://smmb.usc.es/tools.html>.
- (30) Parratt, L. G. Surface Studies of Solids by Total Reflection of X-Rays. *Phys. Rev.* **1954**, *95* (2), 359–369.
- (31) Lauter-Pasyuk, V. Neutron Grazing Incidence Technique for Nanoscience. *Collect. la Société Française la Neutron* **2007**, *7*, 221–240.
- (32) Angus-Smyth, A.; Campbell, R. A.; Bain, C. D. Dynamic Adsorption of Weakly Interacting Polymer/Surfactant Mixtures at the Air/Water Interface. *Langmuir* **2012**, *28* (34), 12479–12492.
- (33) Abraham, Á.; Campbell, R. A.; Varga, I. New Method to Predict the Surface Tension of Complex Synthetic and Biological Polyelectrolyte/surfactant Mixtures. *Langmuir* **2013**, *29* (37), 11554–11559.
- (34) Azzam, R. M. A.; Bashara, N. M. *Ellipsometry and Polarized Light*; North Holland: Amsterdam, 1997; pp 283–288.
- (35) Langevin, D. *Light Scattering by Liquid Surfaces and Complementary Techniques (Surfactant Science)*; CRC Press: New York, 1992; pp 333–364.
- (36) Li, P. X.; Thomas, R. K.; Penfold, J. Limitations in the Use of Surface Tension and the Gibbs Equation to Determine Surface Excesses of Cationic Surfactants. *Langmuir* **2014**, *30* (23), 6739–6747.
- (37) Manning-Benson, S.; Parker, S. R. W.; Bain, C. D.; Penfold, J. Measurement of the Dynamic Surface Excess in an Overflowing Cylinder by Neutron Reflection. *Langmuir* **1998**, *14* (5), 990–996.
- (38) Campbell, R. A.; Ang, J. C.; Sebastiani, F.; Tummino, A.; White, J. W. Spread Films of Human Serum Albumin at the Air–Water Interface: Optimization, Morphology, and Durability. *Langmuir* **2015**, *31* (50), 13535–13542.
- (39) Bonini, M.; Rossi, S.; Karlsson, G.; Almgren, M.; Lo Nostro, P.; Baglioni, P. Self-Assembly of Beta-Cyclodextrin in Water. Part 1: Cryo-TEM and Dynamic and Static Light Scattering. *Langmuir* **2006**, *22* (4), 1478–1484.
- (40) Dodziuk, H. Rigidity versus Flexibility. A Review of Experimental and Theoretical Studies Pertaining to the Cyclodextrin Nonrigidity. *J. Mol. Struct.* **2002**, *614* (1–3), 33–45.
- (41) Sa Couto, A.; Loftsson, T. β -Cyclodextrin Aggregates: The Osmolarity Method in Comparison to Other Detection Methods; <http://abstracts.aaps.org/Verify/AAPS2015/PosterSubmissions/T2269.pdf>.
- (42) Heintz, A.; Lehmann, J. K.; Kozlova, S. A.; Balantseva, E. V.; Bazyleva, A. B.; Ondo, D. Micelle Formation of Alkylimidazolium Ionic Liquids in Water and in Ethylammonium Nitrate Ionic Liquid: A Calorimetric Study. *Fluid Phase Equilib.* **2010**, *294* (1–2), 187–196.
- (43) Piñeiro, Á.; Banquy, X.; Pérez-Casas, S.; Tovar, E.; García, A.; Villa, A.; Amigo, A.; Mark, A. E.; Costas, M. On the Characterization of Host–Guest Complexes: Surface Tension, Calorimetry, and Molecular Dynamics of Cyclodextrins with a Non-Ionic Surfactant. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111* (17), 4383–4392.
- (44) Pérez-Morales, M.; Pedrosa, J. M.; Martín-Romero, M. T.; Möbius, D.; Camacho, L. Reversible Trilayer Formation at the Air–Water Interface from a Mixed Monolayer Containing a Cationic Lipid and an Anionic Porphyrin. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108* (14), 4457–4465.
- (45) Cárdenas, M.; Nylander, T.; Jönsson, B.; Lindman, B. The Interaction between DNA and Cationic Lipid Films at the Air–Water Interface. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *286* (1), 166–175.
- (46) Stefaniu, C.; Brezesinski, G.; Möhwald, H. Polymer-Capped Magnetite Nanoparticles Change the 2D Structure of DPPC Model Membranes. *Soft Matter* **2012**, *8* (30), 7952–7959.
- (47) Peron, N.; Meunier, J.; Cagna, A.; Valade, M.; Douillard, R. Phase Separation in Molecular Layers of Macromolecules at the Champagne–Air Interface. *J. Microsc.* **2004**, *214* (Pt 1), 89–98.
- (48) Mascetti, J.; Castano, S.; Cavagnat, D.; Desbat, B. Organization of Beta-Cyclodextrin under Pure Cholesterol, DMPC, or DMPG and Mixed Cholesterol/phospholipid Monolayers. *Langmuir* **2008**, *24* (17), 9616–9622.
- (49) Polarz, S.; Smarsly, B.; Bronstein, L.; Antonietti, M. From Cyclodextrin Assemblies to Porous Materials by Silica Templating. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40* (23), 4417.