



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LOS MATERIALES

**FORMACIÓN DE AGREGADOS SUPRAMOLECULARES DE
ANFIFILOS NO IÓNICOS EN MEDIO NO ACUOSO. EFECTO
LIGANTE DEL AGUA**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN QUÍMICA

MARIO ENRIQUE FLORES FLORES

PROFESOR GUÍA:

FRANCISCO MARTÍNEZ DÍAZ

PROFESOR GUIA 2:

IGNACIO MORENO VILLOSLADA

PROFESOR GUIA 3:

ANDRÉS OLEA CARRASCO

MIEMBROS DE LA COMISIÓN:

MARCELO CAMPOS VALLETE

MARÍA VICTORIA ENCINA ROJAS

ELSE LEMP MIRANDA

HERNAN RÍOS PEÑA y LILLO

SANTIAGO DE CHILE

2015

Resumen

El trabajo a continuación explora el proceso de asociación de moléculas anfífilas no iónicas en solventes apolares y el efecto ligante del agua en este proceso de asociación. En específico, se han estudiado tres moléculas anfífilas en distintos sistemas: el primero de ellos está compuesto por n-hexanol en ciclohexano, el segundo se compone del surfactante Triton X-100 (TX-100) en ciclohexano / hexanol y finalmente el tercer sistema está compuesto por el copolímero dibloque de poli(óxido de etileno)₄₃-*b*-poli(ϵ -caprolactona)₁₄ (PEO₄₃-*b*-PCL₁₄) en ciclohexanona. Tanto TX-100 como PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ presentan en común la unidad hidrofílica, poli(óxido de etileno). Estos dos sistemas se han estudiado en presencia de cantidades variables de agua. El ensamble del primer sistema se ha estudiado, además, en función de la concentración de n-hexanol.

Los estudios de agregación se han hecho empleando resonancia magnética nuclear de protones (¹H-RMN). Se ha observado una fuerte dependencia en la concentración de agua para provocar la agregación de los anfífilos estudiados. Se han estudiado los desplazamientos químicos, constantes de difusión y tiempos de relajación de los componentes presentes en las soluciones señaladas. El uso de las sondas ácido 1-anilinaftaleno-8 sulfónico (ANS) y azul de metileno (MB) ha permitido contrastar los resultados obtenidos mediante ¹H-RMN, junto con caracterizar la polaridad del entorno en el cual se encuentra disuelta la sonda. Además, se ha estudiado el proceso de agregación de estos anfífilos en presencia de Ca⁺², debido a que este catión forma complejos con poli(óxido de etileno).

Se ha observado que el agua, presente en forma de traza en las soluciones de anfífilo en solvente apolar, actúa como un agente cohesivo que ayuda a la agregación de las moléculas mediante la formación de redes de puentes de hidrógeno, en la que el agua se encuentra en un estado altamente estructurado. La estructuración de las moléculas de agua se ve afectada por la presencia de nuevas especies como iones y polielectrólitos. La estructuración del agua en un medio apolar puede dar lugar a ensamblajes moleculares entre moléculas e iones hidrofílicos con nanoestructura definida, proyectables en un abanico de aplicaciones.

Agradecimientos

Agradezco a todos los conocidos por el apoyo brindado durante estos años.

Agradezco también a las siguientes instituciones por el apoyo económico brindado:

- ✓ A CONICYT por la Beca de Doctorado Nacional;
- ✓ A FONDECYT (Proyecto nro. 1120514);
- ✓ Y a la Universidad de Waseda, que mediante el Leading Graduate Program in Science and Engineering, ha financiado en parte mis estadías en Tokio, Japón.

Tabla de contenido

Resumen.....	ii
Agradecimientos	iii
Tabla de contenido.....	iv
Listado de abreviaciones.....	vi
Capítulo 1: Introducción	1
1.1 Interacciones intermoleculares y asociación de moléculas anfífilas.....	1
1.2 Moléculas anfífilas no iónicas con unidades hidrofílicas de óxido de etileno y asociación en medio orgánico.....	6
1.3 Agua, efecto ligante en procesos de agregación	8
1.3 Estudio de formación de agregados	11
1.5 Planteamiento del problema	16
2. Hipótesis de trabajo, objetivos generales y específicos	17
Capítulo 2: Estudio de asociación de n-hexanol en ciclohexano	19
2.1. Introducción	19
2.2. Experimental.....	21
2.3. Resultados y discusión	21
2.4. Conclusiones	36
Capítulo 3: Estudio de formación de agregados de Triton X-100 / ciclohexano / n-hexanol en presencia de agua.....	37
3.1. Introducción	37
3.2. Experimental.....	40
3.3. Resultados.	42
3.4 Conclusiones	63
Capítulo 4: Síntesis de PEO ₄₃ - <i>b</i> -PCL ₁₂₋₁₄ y estudio de agregación en soluciones de polímero / ciclohexanona en presencia de agua.....	65

4.1. Introducción	65
4.2. Experimental.....	68
4.3. Resultados y discusión.....	69
4.4. Conclusiones	92
Capítulo 5: Agregación de Triton X-100 y PEO ₄₃ - <i>b</i> -PCL ₁₄ en presencia de Ca ⁺²	94
5.1. Introducción	94
5.2. Experimental.....	96
5.3. Resultados y discusión.....	97
5.4. Conclusiones.....	107
Capítulo VI: Comentarios finales	109
Referencias.....	112
Publicaciones, distinciones y asistencia a reuniones científicas.....	118

Listado de abreviaciones

ADN	Ácido desoxirribonucleico
<i>cac</i>	Concentración de agregación crítica
¹H-RMN	Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de protones
MRI	Magnetic Resonance Imaging
DOSY	Diffusion Ordered NMR Spectroscopy
T₁	Tiempo de relajación espín-red
T₂	Tiempo de relajación espín-espín
IRC	Espectroscopía de Infrarrojo Cercano
X_{hexanol}	Fracción molar de n-hexanol
DLS	Dynamic Light Scattering
TX-100	Triton X-100
AOT	Bis(2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio
w_o	Relación molar entre concentración de agua y surfactante
ANS	Ácido 8-anilinaftalen-1-sulfónico
MB	Azul de Metileno
ROP	Ring-opening polymerization
PEO	Poli(óxido de etileno)
PPO	Poli(óxido de propileno)
PCL	Poli(ε-caprolactona)
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight
GPC	Gel permeation Chromatography
PSH	Parámetros de solubilidad de Hansen
DRE	Diferencia Relativa de Energía del sistema
R_a	Radio de interacción

Capítulo 1: Introducción

1.1 Interacciones intermoleculares y asociación de moléculas anfílicas

Las interacciones intermoleculares, o también denominadas fuerzas intermoleculares, dominan la vida, y lo que nos rodea presenta al menos una interacción intermolecular entre sus componentes [1]. Muchos procesos bioquímicos y fisiológicos funcionan con estas interacciones, como por ejemplo, el reconocimiento de un sustrato por parte de una enzima [2], el plegado y desdoblamiento de proteínas [3] y la replicación del ADN [4]. Desde un punto de vista energético, las interacciones intermoleculares son más débiles en comparación con un enlace covalente, y se pueden formar y romper con facilidad. Individualmente son débiles, pero en colectivo resultan tan fuertes como un enlace covalente [5]. Estas interacciones intermoleculares no actúan solas, más bien actúan en conjunto con otras fuerzas.

Dentro del variopinto de interacciones intermoleculares, representadas en la Figura 1.1, se encuentran las denominadas fuerzas o interacciones de Van der Waals. Usualmente este término es utilizado como un sinónimo para describir la totalidad de las fuerzas intermoleculares. Dentro de las fuerzas o interacciones de Van der Waals se incluyen las interacciones entre dos dipolos permanentes (interacción dipolo-dipolo o fuerzas de Keesom), la interacción entre un dipolo permanente y un dipolo inducido (fuerzas de Debye) y la interacción entre dos dipolos inducidos instantáneamente (fuerzas de dispersión de London) [6, 7]. De acuerdo a consideraciones teóricas, la energía de las interacciones moleculares puede descomponerse en dos componentes: una atractiva y otra repulsiva. Las contribuciones atractivas corresponden a interacciones electrostáticas, inductivas y dispersivas [8, 9] entre los entes. Aunque las fuerzas de Van der Waals son relativamente débiles comparadas con un enlace covalente, se ha encontrado que estas fuerzas desempeñan roles fundamentales en áreas diversas como biología, ciencia de polímeros, nanotecnología, ciencia de superficies, etc. [10-12].

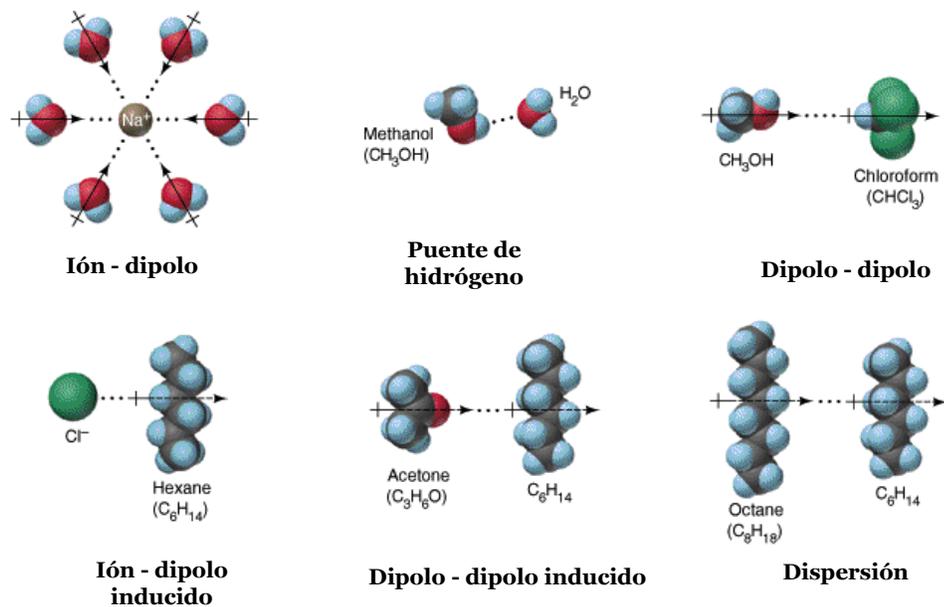


Figura 1.1. Representación de varias fuerzas intermoleculares. Imagen adaptada de referencia [13]

Dentro de las fuerzas de Van der Waals se encuentran clasificadas las llamadas fuerzas o interacciones de puentes de hidrógeno. Es una interacción fuerte dentro de las interacciones intermoleculares. Esta interacción, de carácter atractivo, se establece entre un átomo electronegativo como oxígeno, nitrógeno y flúor, y un átomo de hidrógeno que se encuentre unido covalentemente a otro átomo electronegativo. La interacción de puente de hidrógeno puede representarse como $X-H \cdots Y-Z$, donde los tres puntos denotan la interacción de puente de hidrógeno. $X-H$ corresponde al dador de protones, mientras que $Y-Z$ corresponde al aceptor de protones. La interacción de puente de hidrógeno es una interacción altamente direccional, y genera control en la estructura final entre las entidades enlazadas. Es posible observar esto en la estructura helicoidal del ADN, estructura que se forma por la presencia de interacciones de puente de hidrógeno junto con interacciones aromáticas entre bases nitrogenadas, las cuales le otorgan estabilidad a esta estructura [14-16].

Las interacciones intermoleculares están íntimamente ligadas a muchas áreas de la ciencias, y en específico, en la generación de estructuras autoensambladas o

autoasociadas [17]. La Química Supramolecular utiliza como fundamento principal las interacciones intermoleculares en la formación de estructuras autoasociadas [18, 19]. Un tipo particular, pero muy común, de moléculas que forman este tipo de estructuras supramoleculares son aquellas llamadas moléculas anfifílicas. Un ejemplo típico de este tipo de moléculas lo componen los ácidos cólicos y derivados, presentes en la bilis, y encargados de ayudar en la emulsificación de componentes oleosos [20, 21]. Son moléculas que presentan tanto características lipofílicas como hidrofílicas, debido a que en su estructura molecular hay dos o más zonas con diferente hidrosolubilidad. Esta diferencia de hidrosolubilidad entre los segmentos de una molécula genera que estén presentes varias interacciones intermoleculares en los sistemas donde participan las moléculas anfifílicas, tanto consigo mismas como con el medio continuo.

Gran parte de los estudios con moléculas anfifílicas se han hecho en solución acuosa, donde en el régimen de baja concentración de anfifilo ocurre la formación espontánea de agregados esféricos, llamados micelas [22]. En estos sistemas binarios anfifilo / agua, un incremento en la concentración de anfifilo da lugar a la formación de estructuras supramoleculares más complejas que una micela esférica, llamadas mesofases [23, 24]. Ejemplos de este tipo de estructuras lo componen estructuras cilíndricas, hexagonales, cúbicas, etc., representadas en la Figura 1.2. El proceso de asociación de una molécula anfifílica es resultado de un balance de fuerzas repulsivas y atractivas entre la molécula anfifílica y el medio. En solución acuosa, predominan las fuerzas hidrofóbicas en el proceso de asociación, y el solvente juega un rol activo en la asociación de moléculas anfifílicas, dándose un incremento positivo en la entropía del sistema y un bajo cambio entálpico.

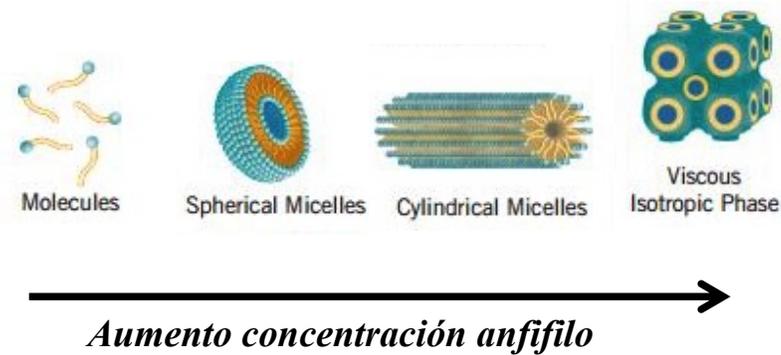


Figura 1.2. Estructuras posibles en sistema binario surfactante / agua. Figura adaptada de referencia [25].

La presencia de un tercer componente, como por ejemplo un solvente apolar, produce la formación de soluciones ternarias. Este nuevo componente en la mezcla genera la aparición de nuevas interacciones, contrarias a las observadas en solución acuosa. Las estructuras encontradas son de variada morfología, las que pueden especificarse mediante el uso de un diagrama de fase ternario. En la Figura 1.3 se muestra un ejemplo de sistema ternario compuesto por un anfifilo polimérico, de nombre comercial Pluronic P84, en mezclas de agua / p-xileno [26]. En este sistema ternario es posible encontrar estructuras normales y reversas. Las estructuras normales constan de un medio continuo acuoso mientras que en las estructuras reversas el medio continuo lo compone el solvente orgánico. Cada zona corresponde a una composición particular de anfifilo / agua / solvente orgánico, en las cuales ocurre la formación de diferentes estructuras. En la Figura 1.3 también se observa, siguiendo la línea discontinua, que se pueden modular la formación de diferentes estructuras según la cantidad de agua adicionada, partiendo desde una mezcla polímero / solvente orgánico determinada [27]. La línea discontinua mostrada que va desde un lado del diagrama de fases correspondiente a una concentración de polímero fija hacia el vértice que corresponde a 100% de concentración de agua, abarca el cambio entre una micela reversa (L_2), micela hexagonal reversa (H_2), lamela (L_α) y micela normal (L_1).

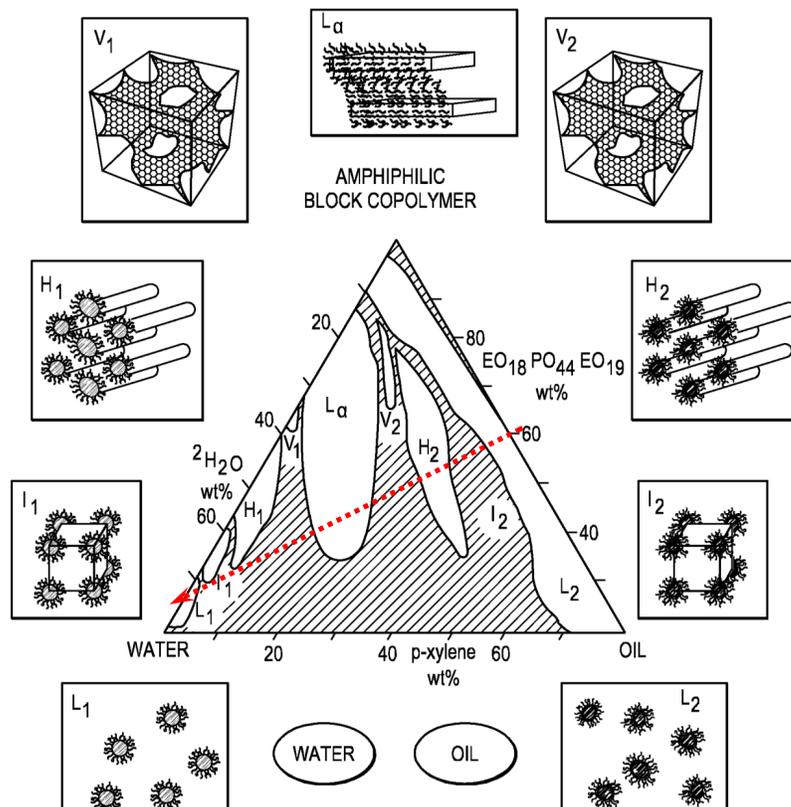


Figura 1.3. Diagrama de fases ternario EO₁₈-PO₄₄-EO₁₉ (Pluronic P84) / ²H₂O / p-xileno. L₁: micela normal esférica; I₁: cúbica normal; H₁: hexagonal normal; V₁: bicontinuo normal; L_α: lamela; L₂: micela reversa esférica; I₂: cúbica reversa; H₂: hexagonal reversa y V₂: bicontinuo reverso. (Reproducción adaptada de referencia [26]).

El trabajo que será presentado a continuación se enfoca en la formación de agregados de moléculas anfílicas, los que se forman en la zona del diagrama de fases ternario rica en solvente orgánico. Estos agregados reciben el nombre de agregados reversos o inversos, debido a la orientación relativa de las unidades hidrofílicas e hidrofóbicas, que en comparación con los agregados en medio acuoso, los segmentos hidrofílicos se encuentran asociados de forma contraria a lo observado en solución acuosa. Uno de los agregados reversos más comunes corresponde a la micela reversa, designado como L₂ en diagramas de fase ternarios.

Cabe hacer hincapié en que el comportamiento de una molécula anfílica disuelta en un medio apolar difiere significativamente de su comportamiento en agua. Como es sabido, las propiedades fisicoquímicas de soluciones acuosas de moléculas anfílicas cambian drásticamente antes y después de la concentración de agregación crítica (*cac*).

Sin embargo, se ha cuestionado la existencia de una *cac* en medio apolar, debido a que las propiedades fisicoquímicas de un anfifilo en medio apolar cambian gradualmente en función de su concentración [28, 29].

A diferencia de lo que se ha observado en sistemas acuosos, la estructura del solvente permanece en gran parte no afectada cuando se adiciona un anfifilo en un medio apolar. Los segmentos hidrofóbicos de un anfifilo disperso monoméricamente en solución interactúan sólo con el solvente, mientras que si el anfifilo se incorpora en un agregado inverso, el segmento hidrofóbico interactúa tanto con el solvente como con los segmentos hidrofóbicos vecinos presentes en el agregado. Por tanto, ya que las fuerzas de dispersión dominan cuando el anfifilo está presente como monómero, estas también dominarán cuando la molécula anfifílica está formando un agregado. Por otro lado, el segmento hidrofílico de una molécula anfifílica formando un agregado reverso interactúa con otros segmentos hidrofílicos a través de interacciones dipolares. Los agregados inversos o reversos se estabilizan por interacciones favorables entre las partes hidrofílicas del surfactante o anfifilo. La formación de nuevos enlaces no covalentes entre moléculas de agua y moléculas con segmentos afines a interactuar, representa un proceso entálpicamente controlado [30, 31]

1.2 Moléculas anfifílicas no iónicas con unidades hidrofílicas de óxido de etileno y asociación en medio orgánico.

Las moléculas anfifílicas existen en la mayor parte de lo que nos rodea, y su clasificación se hace compleja. El origen de la vida se ha discutido de acuerdo a la presencia de moléculas anfifílicas [32, 33]. Usualmente las moléculas anfifílicas se clasifican de acuerdo a la naturaleza del segmento polar, el que puede tener características iónicas (aniónico, catiónico o zwitteriónicos) y no iónicas. Dentro de estos últimos, se encuentran las moléculas anfifílicas con unidades hidrofílicas repetitivas de óxido de etileno. Estas moléculas anfifílicas presentan segmentos hidrofílicos mucho más extensos en comparación con moléculas anfifílicas iónicas. Algunas características correspondientes a homopolímeros de poli(óxido de etileno) (PEO) se encuentran en estas moléculas anfifílicas. PEO es un polímero soluble en agua y altamente polar, además de ser soluble en varios solventes orgánicos [34, 35]. Su

estructura, a pesar de diferir con las moléculas anfifílicas de amplio estudio, presenta zonas hidrofóbicas e hidrofílicas, debido a la presencia de dos carbonos metilénicos y un oxígeno, respectivamente. La estructura cristalina de PEO en estado sólido presenta una conformación tipo hélice, que contiene siete unidades estructurales de óxido de etileno (o monómeros), con dos vueltas de hélice (denominada como 7/2), y los enlaces entre unidades monoméricas se suceden entre enlaces trans (observado entre enlaces C-C-O-C), gauche (entre enlaces O-C-C-O) y trans (entre enlaces C-O-C-C). Estudios teóricos muestran que existe una interacción intramolecular de puente de hidrógeno entre los protones metilénicos y los pares electrónicos libres del oxígeno [36, 37]. Esta estructura tipo hélice, que se muestra en la Figura 1.4, se observa en solución [36, 38]. Se ha visto que la formación de esta estructura tipo hélice es dependiente de la presencia de trazas de agua, y la remoción de moléculas de agua genera un desdoblamiento de la hélice [39]. El homopolímero de PEO es bastante flexible, lo que ha permitido que este homopolímero sea empleado en modificación de superficies [40-42].

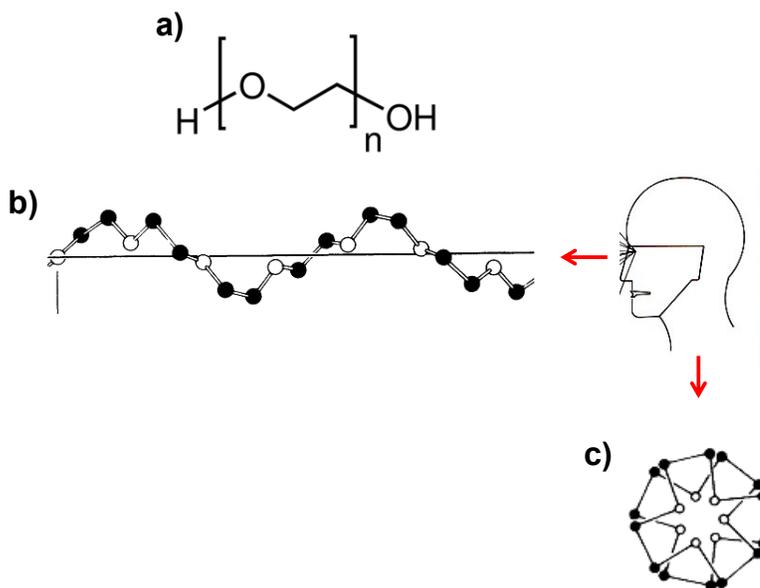


Figura 1.4: a) Fórmula molecular de poli(óxido de etileno); estructura cristalina tridimensional tipo hélice vista desde una perspectiva b) lineal y c) axial.

En solución acuosa, PEO forma su primera capa de hidratación con cuatro moléculas de agua por monómero [43]. Ambas moléculas interactúan mediante puentes de hidrógeno, actuando los oxígenos de PEO como aceptores. Se ha visto que PEO, al interactuar con moléculas de agua, genera una baja disrupción de la estructura del agua [44]. Debido a la secuencia periódica de unidades de óxido de etileno, es de imaginar que la hidratación será periódica, formando una red compleja de puentes de hidrógeno entre ambas moléculas.

Por otro lado, el homopolímero PEO interactúa con especies iónicas como Li^+ y Ca^{+2} , debido a la flexibilidad de su cadena polimérica y también a la presencia de un átomo dador de electrones [45-47]. Se ha visto que PEO presenta propiedades similares a éteres corona con respecto a la quelación de iones metálicos. La presencia de un átomo dador como el oxígeno le entrega estas propiedades a este polímero [48]. Procesos similares se han observado en solución acuosa cuando PEO es parte de una molécula anfífilica [49, 50].

1.3 Agua, efecto ligante en procesos de agregación

El agua, en su estado líquido, es esencial para todas las formas de vida, y es altamente improbable de que exista vida en ausencia de agua. Es un componente abundante en el cuerpo humano, y en este medio ocurren muchas reacciones químicas y bioquímicas. Se ha reconocido su rol en procesos biológicos como reconocimiento de sitios específicos, donde la interacción ocurre luego de que algunas moléculas de agua se eliminan de la esfera de hidratación de los sitios de unión [51]. En un contexto químico, esto se ha observado en procesos de asociación de moléculas, como los que ocurren mediante interacciones entre anillos aromáticos o por asociación mediante efecto hidrofóbico [52].

Una de las principales interacciones que presentan las moléculas de agua entre sí es la interacción de puentes de hidrógeno. Esta molécula tiene la capacidad de formar 4 enlaces de puentes de hidrógeno con moléculas de agua vecinas, como se muestra en la Figura 1.5a, y estas cuatro moléculas se consideran como la primera capa de hidratación de una molécula de agua. Los enlaces de puentes de hidrógeno son los responsables del

dinamismo de las moléculas de agua en solución, debido a que estos enlaces están constantemente formándose y rompiéndose mediante un proceso concertado (Figura 1.5b), donde las moléculas de agua se reorientan 60° con respecto a su configuración original. Algunas propiedades del agua cambian si la dinámica molecular del agua cambia. Si el agua es puesta en contacto con una interfase o rellenando cavidades nanométricas, la movilidad de estas moléculas se verá afectada, debido a interacciones entre las moléculas de agua y la interfase, dando paso a la confinación. Este tipo de agua confinada presenta propiedades diferentes con respecto al agua bulk [53, 54]. Por otro lado, la presencia de iones y / o moléculas grandes, bloqueará el dinamismo de la formación y ruptura de los enlaces de puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua [54].

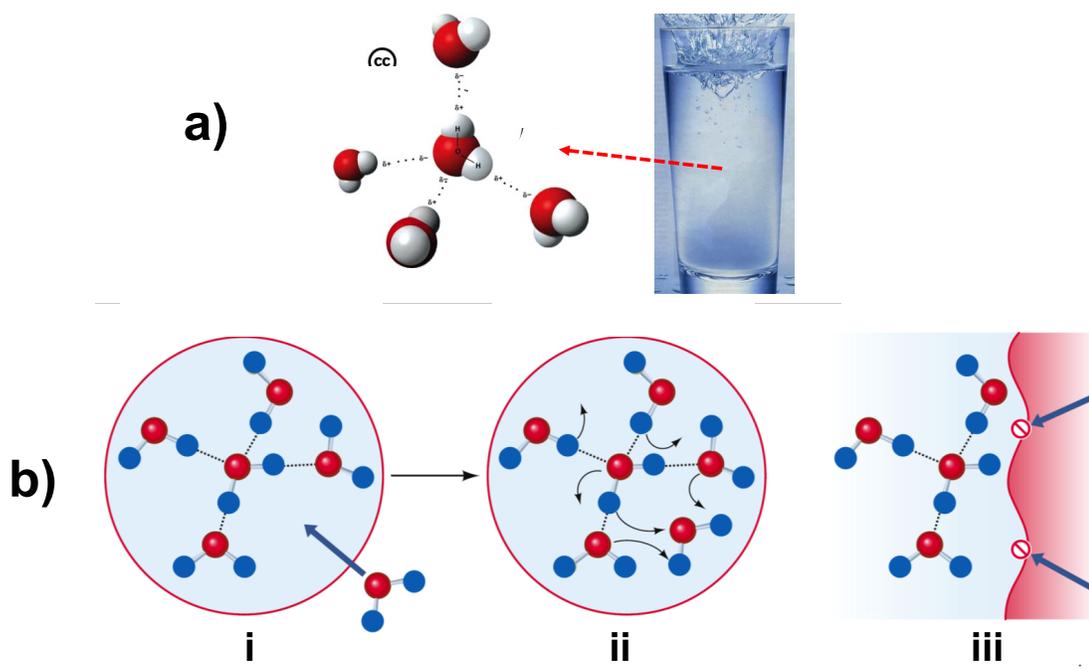


Figura 1.5: a) Representación de la primera capa de hidratación de una molécula de agua [55]; b) representación de la dinámica de moléculas de agua en solución: i) en ausencia de una interfase (i y ii) y bloqueo de esta dinámica en presencia de una interfase (iii) [56].

En la Figura 1.3 se mostró el diagrama de fases ternario de un copolímero en bloque anfifílico disuelto en solvente orgánico / agua, donde la presencia de agua es crucial para que ocurra la formación de agregados de moléculas anfifílicas. Hay controversia en literatura acerca del rol del agua en el proceso de agregación de

surfactantes y moléculas anfílicas no iónicas en medio no acuoso. Mientras algunos autores plantean que la formación de agregados en medio apolar es sólo dependiente de la concentración de anfífilo en el medio y no de la presencia de agua [57-60], existen otros autores que plantean que una mínima cantidad de agua puede iniciar el proceso de formación de agregados en medio apolar [61]. Por otro lado, algunos autores informan concentraciones micelares críticas de molécula anfílica en medio apolar, y el rol del agua no es claro [57, 62-64]. En la sección anterior se ha señalado que PEO presenta una alta solubilidad en un medio acuoso y apolar respectivamente, debido a la flexibilidad de su estructura molecular. Sin embargo, otro tipo de polímeros no iónicos, como derivados de azúcares y glicerol, se ensamblan en medio no acuoso en estructuras similares a micelas reversas, y sin participación de moléculas de agua en este proceso [27, 65, 66]. Se ha visto que la presencia de un grupo más solvofóbico en la estructura molecular del surfactante, como por ejemplo el grupo funcional hidroxilo, estimula la agregación de las moléculas de surfactante en medio apolar y en ausencia de agua, como ocurre con el proceso de formación de cajas hidrofílicas de moléculas de alcohol en un medio apolar [67].

En agregados inversos también es posible observar confinamiento de moléculas de agua. En específico, se ha informado la presencia de varios tipos de agua. El agua ligada primaria corresponde a moléculas de agua interactuando directamente con las cabezas polares del surfactante, y formando la primera capa de hidratación de estos grupos. Corresponde a moléculas de agua con baja libertad de movimiento. El segundo tipo de agua es llamada agua ligada secundaria, y corresponde a moléculas de agua alrededor de la primera capa de hidratación, y con una mayor libertad de movimiento en comparación con el agua ligada primaria. Por último, también es posible observar la presencia de agua libre, que es encontrada en el centro del agregado, y su libertad de movimiento es superior en comparación con el agua ligada, y alcanzando una similitud con el agua bulk [68-70]. Solutos solubles en agua como iones, macromoléculas y proteínas también pueden estructurar agua de igual forma como se ha observado en agregados reversos de moléculas anfílicas [71-74]. La naturaleza del segmento hidrofílico afecta la polaridad del agua atrapada en las micelas reversas. Una cabeza polar e iónica genera un gran potencial superficial, el que perturba a las moléculas de

agua de la primera capa de hidratación, provocando que la unión entre las moléculas de agua y la cabeza polar sea más fuerte. Por el contrario, cuando el segmento polar es no iónico, las moléculas de agua de la primera capa de hidratación están unidas con menos fuerza, provocando que el agua presente en micelas reversas no iónicas sea más polar en comparación con micelas reversas iónicas [75].

1.3 Estudio de formación de agregados

La formación de agregados puede ser estudiada empleando variadas técnicas como tensión superficial [76] y conductividad eléctrica [77, 78], además del uso de técnicas espectroscópicas como dispersión de luz estática y dinámica [79, 80], resonancia magnética nuclear [81, 82] y empleando sondas ópticas [83-86]. Por otro lado, los métodos termodinámicos proveen una aproximación indirecta sobre el proceso de agregación [87]. Por lo general, la respuesta espectroscópica se estudia en función de ciertas variables, las que dan evidencia de la formación de agregados. En medio no acuoso y apolar, este proceso ha sido estudiado en función de la concentración de anfifilo para la determinación de la concentración de agregación crítica (*cac*), y por otro lado, en presencia de cantidades variables de agua, expresada por lo general en relación a la concentración de surfactante [58, 66].

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear ofrece múltiples opciones para estudiar la agregación de moléculas variadas como pigmentos [88], drogas [89], surfactantes [90], etc. Las técnicas mono y bidimensionales proveen información directamente relacionada con autoagregación y formación de estructuras supramoleculares como micelas [26, 82]. Los cambios en desplazamientos químicos de los núcleos observados, generalmente ^1H y ^{13}C , son sensibles al ambiente electrónico en el cual se encuentre el núcleo observado. Por otro lado, una disminución en la movilidad molecular genera señales anchas en el espectro de RMN. El estudio de tiempos de relajación de los núcleos observados entrega información acerca del mecanismo de relajación, relacionado con la dinámica molecular de los átomos o moléculas observadas y del entorno. Con un simple espectro de ^1H -RMN se pueden evaluar ensanchamientos y desplazamientos de los picos de resonancia, lo cual está relacionado con pérdida de movilidad de las moléculas analizadas.

^1H -RMN provee un método elegante para determinar coeficientes o constantes de difusión de moléculas presentes en una mezcla. Esta técnica bidimensional es conocida como DOSY. DOSY se basa en el uso de gradientes de campo magnético macroscópico, los que contribuyen al proceso de relajación transversal (o espín-espín). Las constantes de difusión en RMN se obtienen usando gradientes de pulso, observando la atenuación de la señal RMN durante el experimento. El grado de atenuación es proporcional a la amplitud del gradiente magnético, y ocurre a una velocidad que es proporcional al coeficiente de difusión de la molécula. El coeficiente de difusión se calcula con la ecuación de Stejskal-Tanner [91, 92]:

$$A = A_0 \exp \left[-Dg^2\gamma^2\delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right) \right]$$

Donde A corresponde a la intensidad de la señal observada, A_0 es la intensidad de la señal inicial, D es el coeficiente de difusión, g es la fuerza del campo gradiente, γ es la relación giromagnética del equipo, δ es el tiempo del gradiente y Δ el tiempo de difusión.

Los procesos de relajación en los experimentos de RMN entregan valiosa información sobre dinámica molecular, relativo a movimientos traslacionales y rotacionales de los núcleos observados. El equilibrio térmico del sistema de espines se perturba luego de irradiar la muestra con un pulso de radiofrecuencia o cuando la muestra no magnetizada es puesta en un campo magnético estático. Cuando la perturbación cesa, el sistema de espines vuelve al equilibrio una vez más. Este proceso corresponde a la relajación. En RMN se distinguen dos mecanismos de relajación, el primero corresponde a la relajación longitudinal (o relajación spin-red), la que cuantifica el tiempo promedio (T_1) necesario para que un núcleo se relaje desde la componente z , transfiriendo la energía a las moléculas vecinas (red), y volviendo al estado de equilibrio térmico con sus alrededores (Figura 1.6). Este proceso ocurre tanto en presencia de un campo magnético externo como cuando se aplican pulsos de radiofrecuencia [93].

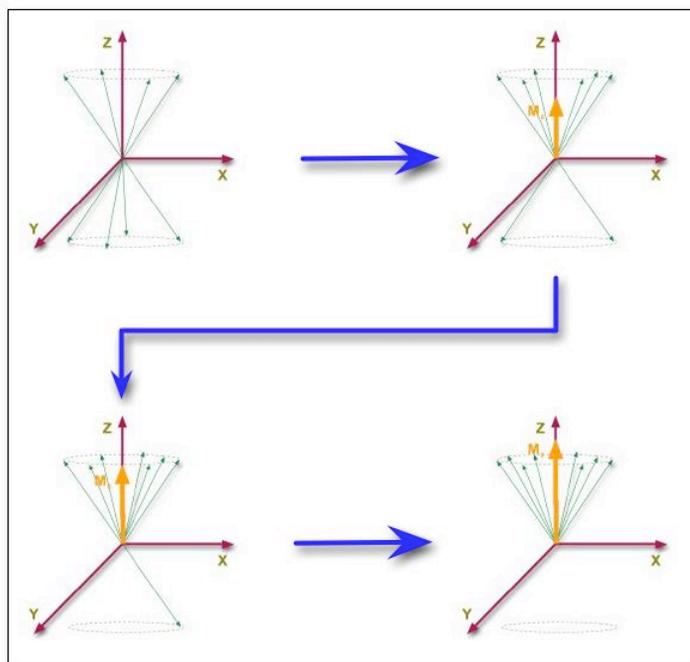


Figura 1.6: Esquema del proceso de relajación longitudinal T_1 [94].

El siguiente mecanismo de relajación corresponde al proceso de relajación perpendicular a la dirección del campo magnético aplicado (B_0), o tiempo de relajación transversal o spin-spin T_2 , que corresponde a la velocidad de decaimiento de la magnetización dentro del plano $x-y$. Luego de aplicar un pulso en 90° , los espines se alinean en una dirección, quedando en coherencia de fase, pero este arreglo se pierde gradualmente (Figura 1.7). T_2 está relacionado con el ancho de línea a mitad de altura de un pico de resonancia en un espectro de ^1H -RMN [93].

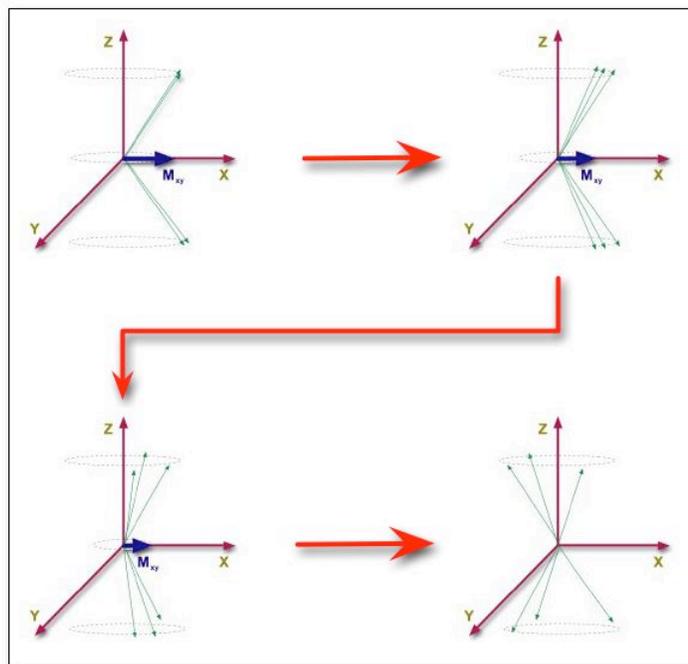


Figura 1.7: Esquema del proceso de relajación transversal T_2 [94].

Las propiedades fotofísicas de algunas moléculas aromáticas son dependientes de la polaridad del solvente o medio, fenómeno conocido como solvatocromismo [95-97]. Esta propiedad ha sido ampliamente utilizada para estudiar la formación y propiedades de agregados de moléculas anfifílicas. Solventes o medios homogéneos de diferente polaridad producen cambios en los espectros de absorción y emisión de la molécula estudiada, en específico la forma, posición e intensidad de la banda. Estos cambios se deben a interacciones intermoleculares entre la sonda y el solvente, las cuales alteran la diferencia de energía entre el estado basal y el primer estado excitado de la sonda. La estabilización de estos estados de energía se debe a la solvatación por parte de las moléculas de solvente alrededor de la sonda. Durante la transición electrónica, el momento dipolar de la molécula, que corresponde a una migración de las cargas eléctricas durante una transición electrónica, es diferente tanto en el estado excitado como en el basal, generando dos estados electrónicos con diferente polaridad. Estas diferencias en estado basal y excitado pueden ser estabilizadas por diferentes medios o solventes. Si el primer estado excitado es más polar que el estado basal, el espectro de absorción se desplazará hacia menores energías conforme aumente la polaridad del solvente; si el estado basal es más polar que el primer estado excitado, la banda de

absorción se desplazará hacia mayores energías. Por otro lado, los espectros de emisión también se verán afectados por cambios en la polaridad del solvente, y la posición de la banda de emisión se desplaza conforme aumenta la polaridad del solvente. Sin embargo, hay que tener en cuenta la reorganización de la caja de solvente que rodea a la sonda luego que ocurre el proceso de excitación y emisión. Por lo general, las sondas de polaridad pasan por un proceso intramolecular de transferencia de carga, el que ocurre luego del proceso de excitación, provocando que el estado excitado sea más polar que el estado basal. Luego de la excitación, la caja de solvente alrededor de la sonda pasa por un proceso de relajación o reorganización de mínima energía. La estabilización del estado excitado es mayor en solventes polares, provocando que la banda de emisión se desplace hacia menores energías.

Dentro del contexto de este trabajo de tesis, se destaca la sonda ácido 8-anilinaftaleno-1-sulfónico (ANS). ANS ha sido ampliamente utilizada para determinar la hidrofobicidad de sitios de unión en proteínas, junto con cambios conformacionales [98, 99]. ANS es una sonda que presenta un comportamiento espectroscópico dependiente de la polaridad del medio o solvente, observándose un desplazamiento del espectro de emisión hacia menores energías y una disminución del rendimiento cuántico de fluorescencia conforme aumenta la polaridad del medio [100-102]. ANS presenta dos estados excitados. El primero es un estado singlete (S^*_1), relacionado con una conformación no planar entre los anillos aminobenceno y naftalensulfonato de la molécula. El segundo estado excitado ($S^*_{1,CT}$), también un estado singlete, de menor energía, que presenta una importante componente de transferencia de carga. Este último estado excitado, que aparece luego de que ocurre la excitación, es observado debido a la presencia de un grupo electrodador (grupo arilamino) y un electroceptor ($S=O$). Este último estado excitado se desactiva mediante procesos no radiativos en medio acuoso, provocando que la fluorescencia de ANS se apague en este medio. La emisión puede ocurrir desde cualquiera de estos dos estados. El rendimiento de transferencia de carga desde S^*_1 a $S^*_{1,CT}$ se ve influenciado por cambios estructurales por los que pasa la sonda, los cuales dependen de la polaridad y viscosidad del medio. Estas dos últimas propiedades físicas del medio y su relación con la emisión de fluorescencia de ANS, han sido interpretadas de acuerdo a la presencia o ausencia de conformaciones

coplanares entre los anillos arilamino y naftaleno de ANS. El bajo rendimiento cuántico de fluorescencia observado en agua se debe a que ANS adquiere mayor flexibilidad en agua, debido a que este solvente estabiliza la conformación no planar de ANS. En alcoholes, ANS presenta un rendimiento cuántico de fluorescencia mayor, ya que se favorece la formación de un enlace de puentes de hidrógeno intramolecular entre el grupo amino y sulfonato, lo que genera una conformación coplanar. Esta conformación coplanar también se favorece en medios viscosos, debido a una disminución en la movilidad molecular de la sonda [61, 85, 103].

La sonda azul de metileno (MB) también ha sido empleada para caracterizar la formación de agregados tipo micela reversa, y en específico para caracterizar la asociación de moléculas anfifílicas no iónicas con unidades hidrofílicas de óxido de etileno. Su particularidad reside en que puede formar complejos con estos segmentos hidrofílicos, debido al carácter iónico de MB y parcialmente iónico de PEO [59]. MB presenta un efecto solvatoocrómico pequeño con respecto a sondas clásicas. Los cambios espectroscópicos observados con MB en agregados inversos han sido relacionados a la presencia de agua ligada y agua libre, cambios que se observan en la posición del máximo de absorción conforme aumenta la concentración de agua o de molécula anfifílica [57, 69, 104].

1.5 Planteamiento del problema

Por lo general, la descripción del proceso de asociación de moléculas anfifílicas en presencia de solventes polares y apolares se realiza mediante diagramas de fases. Mediante estos diagramas de fase se pueden determinar zonas donde se observa la asociación de moléculas anfifílicas en medio apolar (asociación reversa). Sin embargo, existe escasa información, controvertida y confusa, acerca del autoensamble de moléculas en medio orgánico en el régimen de baja concentración de agua. Las interacciones entre moléculas anfifílicas en estas condiciones pueden dar lugar a una variedad de estructuras y procesos de autoensamble que, por lo general, son pasados por alto en los estudios que aparecen en la literatura. En particular, existe poca información sobre el proceso de asociación de moléculas anfifílicas con unidades hidrofílicas de óxido de etileno en medio apolar y en presencia de bajas cantidades de

agua. Por lo tanto, en el presente estudio se propone evaluar la influencia del agua en el comportamiento coloidal de soluciones de diferentes moléculas anfifílicas en solventes apolares, enfocado en la zona del diagrama de fases con exceso de solvente orgánico, que actúa como medio continuo, denominada zona reversa, y en la que las moléculas de anfifilo se presenta como soluto, y las moléculas de agua se encuentran en muy bajas concentraciones.

2. Hipótesis de trabajo, objetivos generales y específicos

2.1 Hipótesis de trabajo

La agregación de moléculas anfifílicas que contienen unidades de óxido de etileno, como el surfactante Triton X-100 o el copolímero en bloque poli(óxido de etileno)-*b*-poli(ϵ -caprolactona) en solvente orgánico, es fuertemente dependiente de la presencia de bajas cantidades de agua, la que actuaría como ligante en este proceso.

2.2 Objetivo general

Estudiar la agregación de moléculas anfifílicas tales como *n*-hexanol, Triton X-100 y copolímeros anfifílicos con unidades hidrofílicas de poli(óxido de etileno) en solvente apolar y en presencia de bajas cantidades de agua y otros cosolutos por resonancia magnética nuclear de protones y mediante el uso de sondas de absorción UV-vis y fluorescentes.

2.3 Objetivos específicos

1. Estudiar la agregación de *n*-hexanol en ciclohexano en función de la concentración de *n*-hexanol y en presencia de agua.
2. Estudiar la agregación de Triton X-100 en ciclohexano/*n*-hexanol en función de la concentración de agua.
3. Sintetizar y caracterizar copolímeros en bloque de poli(óxido de etileno)-*b*-poli(ϵ -caprolactona), PEO-*b*-PCL, mediante polimerización por apertura de anillo.
4. Estudiar la agregación de PEO-*b*-PCL en solvente apolar en función de la concentración de agua.

5. Determinar la influencia de Ca^{+2} en el proceso de agregación de Triton X-100 y PEO-*b*-PCL en solventes orgánicos

El resultado del cumplimiento de los objetivos específicos se ha ordenado en Capítulos. El Capítulo 2 comprende un estudio de asociación de moléculas de n-hexanol en ciclohexano. Parte del trabajo mostrado en este Capítulo ha sido publicado en el *Journal of Molecular Liquids* [67]. El Capítulo 3 muestra el estudio de agregación del surfactante Triton X-100, y el rol del agua en el proceso de agregación. El Capítulo 4 comprende la síntesis y caracterización de los copolímeros anfifílicos PEO_{43} -*b*- PCL_{12} y PEO_{43} -*b*- PCL_{14} , junto con el estudio de agregación de PEO_{43} -*b*- PCL_{14} en ciclohexanona en función de la cantidad de agua. Finalmente, el Capítulo V muestra la influencia de Ca^{+2} en el proceso de asociación de Triton X-100 y PEO_{43} -*b*- PCL_{14} .

Capítulo 2: Estudio de asociación de n-hexanol en ciclohexano

2.1. Introducción

Los alcoholes de cadena larga son considerados como moléculas anfífilas, debido a que su estructura molecular presenta un grupo hidroxilo, de carácter polar, y un segmento hidrofóbico correspondiente a la cadena hidrocarbonada. La anfifilia de los alcoholes permite que estas moléculas se comporten de manera similar a surfactantes [105]. Los alcoholes de cadena larga presentan una baja solubilidad en agua, y tienden a particionarse entre dominios acuosos y no acuosos [106]. Los alcoholes de cadena larga se han utilizado extensivamente en la formulación de agregados tipo micela inversa [106-109]. En este tipo de agregados, la presencia de alcoholes produce un aumento en la capacidad de solubilización de agua, y además provocan modificaciones en los diagramas de fases ternario compuestos por surfactante / agua / aceite [110]. Por otra parte, los sistemas ternarios alcohol / agua / aceite se pueden comportar de forma similar a microemulsiones formadas por surfactante / agua / aceite [111-115]. Estas soluciones libres de surfactante han sido utilizadas para aislar productos de transformación enzimática, así como para aplicaciones analíticas [113, 116, 117].

Es un tema conocido que las moléculas de alcohol tienden a asociarse en estructuras polimoleculares, proceso impulsado principalmente por interacciones de puentes de hidrógeno. El proceso de formación de interacciones de puentes de hidrógeno es un proceso cooperativo, ya que la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas de alcohol dependerá de la interacción previamente formada mediante esta interacción [118]. La interacción de puentes de hidrógeno es relativamente débil, y cambios en la temperatura dan lugar a la ruptura reversible de esta interacción [119]. La agregación de moléculas de alcohol es dependiente de varios factores como estructura molecular, temperatura, naturaleza del solvente, y otros. Se ha encontrado un vasto número de modelos para explicar el proceso de agregación de moléculas de alcohol en medio apolar. Estos modelos describen la formación de polímeros lineales y cíclicos. Los

n-alcoholes se asocian en estructuras poliméricas lineales, mientras que los alcoholes ramificados se asocian en estructuras poliméricas cíclicas. Se ha visto que la asociación de moléculas de n-alcohol en un medio apolar produce una disrupción del orden molecular del solvente a altas concentraciones de n-alcohol [120, 121].

La presencia de agua en mezclas binarias de alcohol en solvente apolar influye en la dinámica de asociación de alcoholes, debido a que las moléculas de agua forman complejos con moléculas de alcohol mediante puentes de hidrógeno [122-124]. Se ha informado que las moléculas de agua forman complejos tetraédricos con cuatro moléculas de n-pentanol [125]. Además, se ha visto que los agregados de alcoholes en solvente no polar pueden dispersar agua, generando mezclas ópticamente transparentes y termodinámicamente estables. El agua tiende a estructurarse en las cavidades hidrofílicas de estos agregados [112, 113].

El proceso de asociación puede ser estudiado mediante técnicas volumétricas [121, 124] y espectroscópicas como espectroscopía de infrarrojo [123, 126-128] y resonancia magnética nuclear [129-132]. Los métodos termodinámicos son útiles al proveer información indirecta acerca de la conformación molecular y dinámica del proceso de asociación [127]. Los métodos espectroscópicos han sido utilizados extensivamente para caracterizar la asociación de moléculas como n-alcoholes en solvente apolar, debido a que la respuesta espectroscópica de las moléculas de n-alcohol en su forma libre, con respecto a moléculas formando un agregado, es diferente. La espectroscopía de infrarrojo cercano ha sido utilizada para caracterizar la asociación de alcoholes [123, 127, 133]. Algunos parámetros de RMN como desplazamientos químicos, tiempos de relajación y coeficientes de difusión, pueden ser usados para caracterizar la asociación [134-136].

La observación del comportamiento de las moléculas siendo parte o no de un agregado provee información relativa al empaquetamiento de las moléculas e interacciones preferenciales entre ellas. En este Capítulo se presenta un estudio de asociación de n-hexanol en ciclohexano, estudiado en función de la concentración de n-hexanol y en presencia de bajas cantidades de agua. Mediante ^1H -RMN se ha estudiado esta asociación, interpretando desplazamientos químicos, tiempos de relajación y

coeficientes de difusión en función de la concentración de n-hexanol. Se ha utilizado IRC para caracterizar las moléculas de n-hexanol en su forma libre y asociada, relativo a la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas de n-hexanol.

2.2. Experimental

2.2.1 Reactivos: Ciclohexano (Sigma Aldrich), ciclohexano-d₁₂ (Sigma Aldrich), n-hexanol anhidro (agua < 0.005%) (Sigma Aldrich) y hexanol con 1.7% de agua (TCI) fueron utilizados sin purificación.

2.2.2 Equipos: Los espectros de 1D y 2D ¹H-RMN fueron determinados a 25 °C en un espectrómetro AVANCE 600 (Bruker). Los espectros de infrarrojo cercano (IRC) fueron medidos a 25 °C en un espectrómetro FT-NIR Nicolet 6700 (Thermo Scientific).

2.2.3 Procedimientos: Para la medición de muestras en RMN e IRC se han utilizado métodos convencionales. Las muestras analizadas en RMN e IRC se han preparado por adición sucesiva de n-hexanol en ciclohexano o ciclohexano-d₁₂, en la cantidad requerida para completar la concentración deseada. La concentración de n-hexanol en ciclohexano se expresa como fracción molar, $X_{hexanol}$. Las muestras fueron homogenizadas durante un minuto mediante sonicación. Las titulaciones de soluciones a diferentes concentraciones de n-hexanol en ciclohexano se llevaron a cabo hasta observar la formación de soluciones turbias y posterior separación de fases. Los experimentos de IRC fueron determinados en una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico, usando ciclohexano como blanco. Los experimentos de ¹H-RMN fueron medidos en ciclohexano-d₁₂.

2.3. Resultados y discusión

2.3.1 Asociación de n-hexanol en ciclohexano. En la Figura 2.1 se muestra un conjunto de espectros de ¹H-RMN de soluciones de n-hexanol en ciclohexano a diferentes concentraciones de n-hexanol, entre $X_{hexanol}$ de 0.002 y 0.904. La asignación de los desplazamientos químicos se ha hecho de acuerdo a intensidad, multiplicidad y desplazamiento químico de cada pico de resonancia y relativo a la estructura molecular de n-hexanol, mostrada en la Figura 2.1. El pico de resonancia, multiplete, a 3.53 ppm se

ha asignado a los protones Hb, que aparecen acoplados a los protones Hc observados a 1.50 ppm. El pico de resonancia a 1.31 ppm se ha asignado a los protones Hd y el pico de resonancia a 0.90 ppm a los protones He. La posición de estos picos de resonancia no presenta dependencia de $X_{hexanol}$. Sin embargo, la posición del pico de resonancia del protón hidroxílico presenta dependencia de $X_{hexanol}$, como se puede observar en la Figura 2.1, y más específicamente en la Figura 2.2.

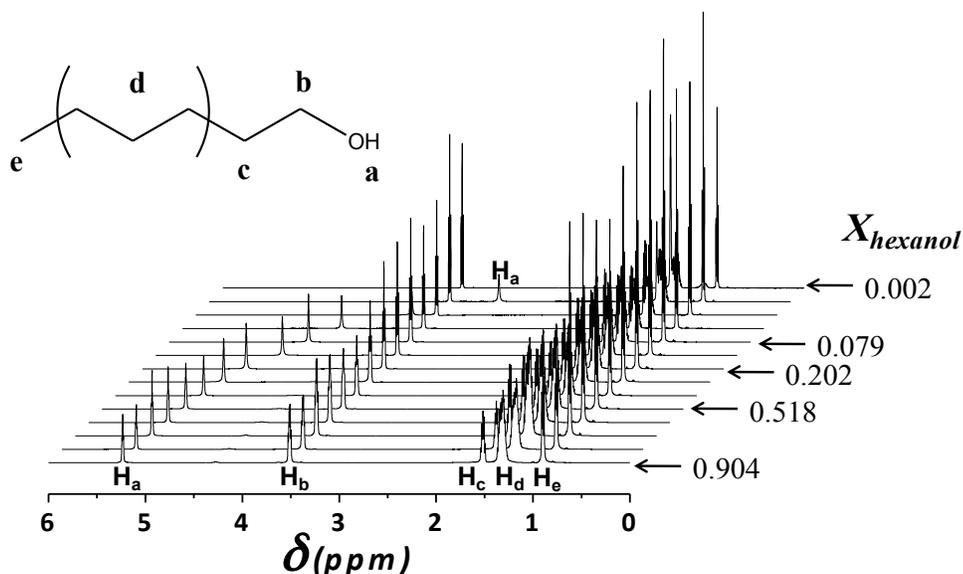


Figura 2.1. Conjunto de espectros ^1H -RMN a diferentes $X_{hexanol}$.

Se puede apreciar en las Figuras 2.1 y 2.2 que a baja $X_{hexanol}$ (0.002), el pico de resonancia de Ha se observa a 1.04 ppm. Un incremento en $X_{hexanol}$ provoca un agudo desplazamiento hacia campo bajo de este pico de resonancia, alcanzando un valor de 4.8 ppm a $X_{hexanol}$ de 0.131. Un aumento de $X_{hexanol}$ hasta 0.904 genera un suave desplazamiento hacia campo bajo hasta alcanzar un valor de 5.24 ppm.

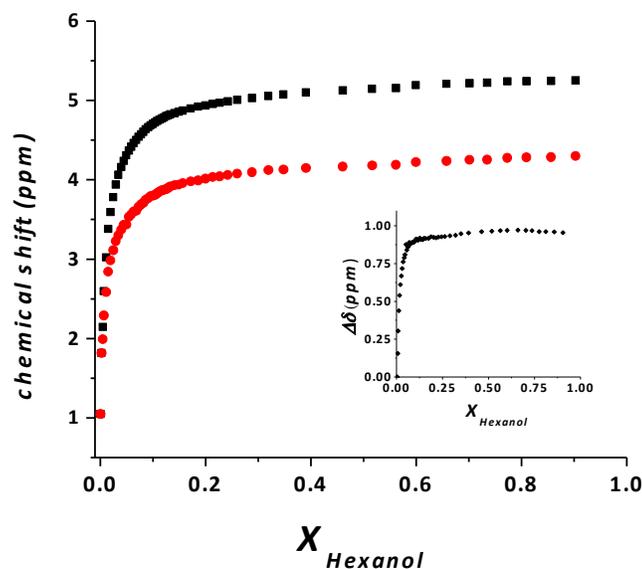


Figura 2.2 Desplazamientos químicos de los protones Ha (■) y agua (●) en función de $X_{hexanol}$.
Inserto: diferencia en desplazamiento químicos de Ha y agua.

Se ha identificado un 1.7 % de agua en las soluciones por medio de integración de los picos de resonancia del agua. Los desplazamientos químicos del agua se muestran en la Figura 2.2, y se puede apreciar que este pico de resonancia sigue un patrón de comportamiento similar al desplazamiento del pico de resonancia de Ha en función de $X_{hexanol}$. La diferencia entre los desplazamientos químicos de Ha y agua conserva un valor de aproximadamente 1 ppm en casi todo el rango estudiado (Figura 2.2, inserto).

Por otro lado, un análisis a las multiplicidades de los picos de resonancia Ha y Hb en función de $X_{hexanol}$, muestra que conforme aumenta $X_{hexanol}$ las multiplicidades de estos protones cambia. En la Figura 2.3 se puede observar, que dentro del rango de $X_{hexanol}$ de 0.002 a 0.350, el protón Ha aparece como un singlete y los protones Hb como un triplete, debido a que Hb está acoplado con los protones Hc. En el rango de $X_{hexanol}$ de 0.350 a 0.596, ambos picos de resonancia se ensanchan, mostrando multiplicidad compleja. A $X_{hexanol}$ de 0.659 el pico de resonancia de Hb aparece como un cuarteto, mientras que Ha aparece como un triplete, dando a notar la presencia de acoplamiento entre Ha y Hb. Este fenómeno ha sido observado en espectros de ^1H -RMN de alcoholes a una fracción molar de 1 [137].

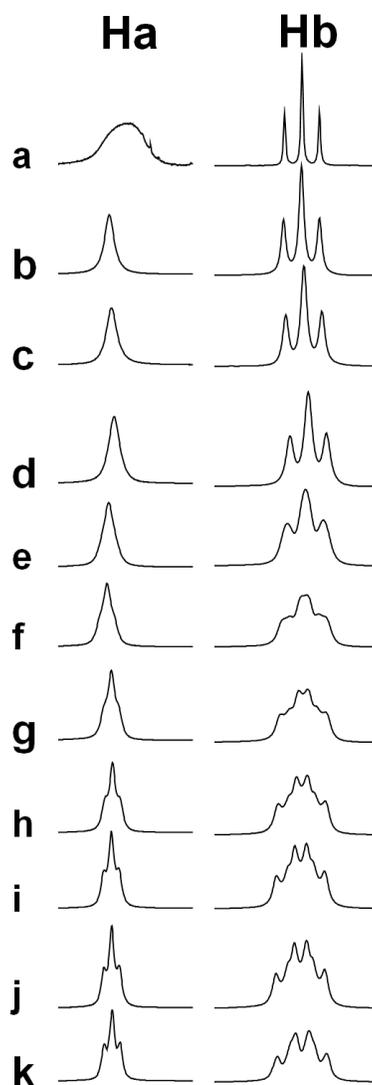


Figura 2.3. Patrón de multiplicidad de los protones Ha y Hb a diferentes $X_{hexanol}$: (a) 0.002, (b) 0.051, (c) 0.101, (d) 0.202, (e) 0.350, (f) 0.462, (g) 0.563, (h) 0.601, (i) 0.659, (j) 0.701 y (k) 0.904.

Las constantes de difusión de n-hexanol y agua han sido determinadas mediante DOSY. Un espectro típico de DOSY muestra las constantes de difusión de todos los núcleos observados. La molécula de n-hexanol tiene cinco tipos de protones (Figura 2.1) que pueden ser usados para determinar la constante de difusión de n-hexanol en ciclohexano. Las constantes de difusión del solvente, ciclohexano, no se han determinado, debido a que se ha usado ciclohexano- d_{12} . En la Figura 2.4 se puede observar que conforme aumenta $X_{hexanol}$, la constante de difusión de todos los protones

de n-hexanol disminuye. El inserto *a* de la Figura 2.4 muestra que, en el rango de baja concentración de n-hexanol, el coeficiente de difusión del protón hidroxílico (Ha) adquiere un valor mayor en comparación con los coeficientes de difusión del resto de la molécula. Por otro lado, se puede apreciar en el inserto *b* de la Figura 2.4 que el coeficiente de difusión del agua, que pudo ser observado desde una $X_{hexanol}$ de 0.27 debido a la baja intensidad de esta señal, sigue el mismo patrón que las constantes de difusión de los protones de n-hexanol. Sin embargo, un aumento de $X_{hexanol}$ desde 0.56 provoca un pequeño aumento en la constante de difusión del agua.

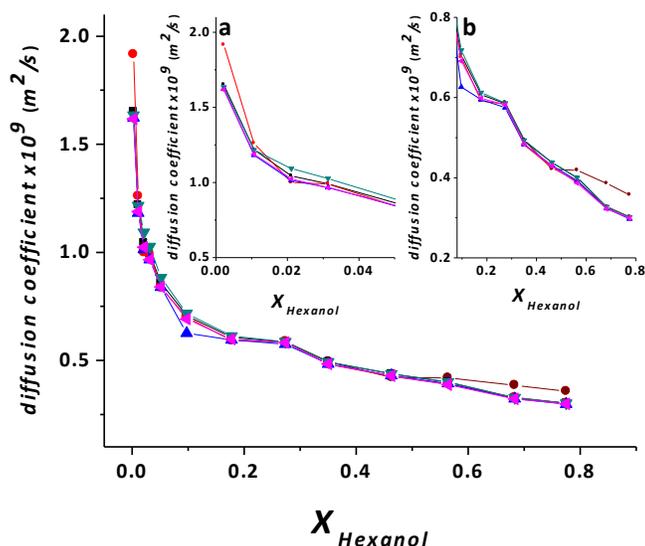


Figura 2.4: Constantes de difusión obtenidas mediante DOSY ^1H -RMN de los protones Ha (\square), Hb (\blacksquare), Hc (\blacktriangle), Hd (\blacktriangledown), He (\blacktriangleleft) y agua (\square) en función de $X_{hexanol}$. Inserto a) coeficientes de difusión entre $X_{hexanol}$ de 0 y 0.025 y b) coeficientes de difusión entre $X_{hexanol}$ de 0.2 y 0.9.

De forma complementaria a los resultados presentados anteriormente, se han determinado, en función de $X_{hexanol}$, los tiempos de relajación espín-red (T_1) y espín-espín (T_2). El proceso de relajación T_1 ocurre principalmente debido a interacciones magnéticas dipolo-dipolo entre el núcleo observado y su entorno, ya que el entorno, compuesto principalmente por moléculas, genera campos magnéticos fluctuantes. Esta interacción se ve afectada por variables como el volteo molecular y difusión traslacional de las moléculas. El proceso de relajación T_2 ocurre debido a interacciones que se dan entre núcleos similares y relativos a la misma especie. Este mecanismo de relajación, reflejado en el tiempo de relajación T_2 , da una estimación acerca de la fuerza de unión de grupos funcionales similares presentes en la molécula estudiada. Además, los tiempos de

relajación T_2 son altamente sensibles al movimiento molecular local y volteo molecular, y pueden ser utilizados para entender el empaquetamiento de moléculas de n-hexanol formando parte de un agregado. La distancia (d) entre los dos núcleos equivalentes, afecta el valor de T_2 , y es proporcional a d^{-3} . El empaquetamiento molecular provoca una disminución en el movimiento molecular, y genera una alta densidad de protones de la misma especie.

En la Figura 2.5 se muestran los tiempos de relajación T_1 y T_2 correspondientes a todos los protones de n-hexanol a diferentes $X_{hexanol}$. Para este estudio se ha utilizado n-hexanol anhidro y n-hexanol con trazas de agua (1.7%). Los tiempos de relajación T_1 no presentan variaciones significativas cuando se utiliza n-hexanol anhidro o con trazas de agua. A baja $X_{hexanol}$, todos los protones de n-hexanol presentan valores de T_1 similares, cercanos a 3.3 s. Sin embargo, un aumento en $X_{hexanol}$ a 0.025 provoca una abrupta disminución en el tiempo de relajación T_1 , y los protones de n-hexanol se relajan a diferentes tiempos, relativo al movimiento segmentado de cada uno de los protones en la molécula de n-hexanol. A $X_{hexanol}$ de 0.05 los protones terminales He presentan un tiempo de relajación T_1 de 2.33 s, mientras que el protón Ha presenta un tiempo de relajación T_1 de 1.22 s. Los protones restantes (Hb, Hc y Hd) presentan valores intermedios de relajación con respecto a los ya señalados. También se puede ver en la Figura 2.5 que los valores de T_1 de todos los protones disminuyen suavemente en el rango de alta concentración de n-hexanol en ciclohexano.

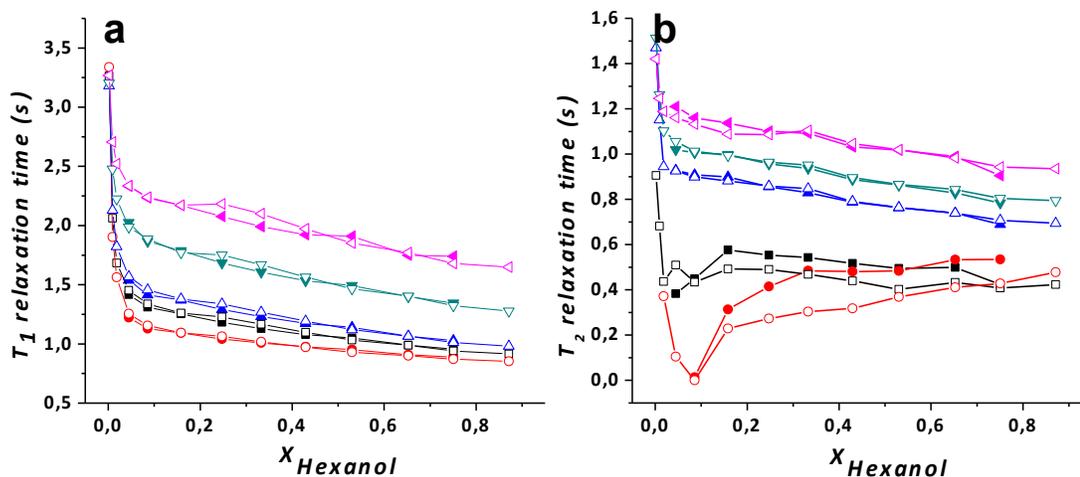


Figura 2.5. Tiempos de relajación espín-red T_1 (a) y espín-espín T_2 (b) en función de $X_{hexanol}$ de los protones Ha (○), Hb (■), Hc (▲), Hd (▼), and He (◄). Los símbolos llenos representan las soluciones preparadas con n-hexanol anhidro y los símbolos vacíos representa soluciones preparadas con n-hexanol húmedo (1.7% agua)

Un patrón de comportamiento similar al observado con los tiempos de relajación T_1 se ha observado con los tiempos de relajación T_2 . Sin embargo, los protones Ha y Hb se comportan de manera diferente con respecto a los protones Hc, Hd y He. A $X_{hexanol}$ de 0.002, el tiempo de relajación T_2 de Ha es indetectable, toma un valor de 0.91 s para Hb y alrededor de 1.45 s para Hc, Hd y He. El tiempo de relajación T_2 de Ha alcanza un valor de 0.38 s a $X_{hexanol}$ de 0.02, y por sobre una $X_{hexanol}$ de 0.08 se observa una disminución en los valores de T_2 , en especial los correspondientes a Ha. Por sobre esta fracción molar y hasta valores de 0.2, el tiempo de relajación T_2 vuelve a aumentar, y luego de esta concentración sólo se observa un aumento suave en los valores de T_2 . Cabe notar que los tiempos de relajación T_2 correspondientes a los protones Hb siguen un patrón similar al observado con los tiempos de relajación T_2 del protón Ha. Por el contrario, los tiempos de relajación T_2 correspondientes a los protones Hc, Hd y He exhiben una continua y suave disminución conforme aumenta $X_{hexanol}$. Se puede ver en la Figura 2.5 que a $X_{hexanol}$ de 0.65, el tiempo de relajación T_2 de Ha aumenta con respecto al tiempo de relajación T_2 de Hb. Además se puede ver que la ausencia de agua en las soluciones de n-hexanol en ciclohexano genera algunas diferencias en los valores de T_2 correspondientes a Ha y Hb, siendo los valores de relajación de estos protones mayores cuando las soluciones están en ausencia de agua.

Los valores de T_1 están directamente relacionados con movimientos rotacionales y traslacionales en solución de los grupos funcionales o núcleos observados, mientras que los valores de T_2 entregan información exclusiva relacionada con rotaciones moleculares [138, 139]. Ambos valores de tiempos de relajación pueden correlacionarse mediante la razón T_2/T_1 , una medida adimensional del volteo molecular de los grupos funcionales o núcleos observados. Valores de T_2/T_1 cercanos a uno indican que la dinámica del volteo molecular es alta, mientras que valores de T_2/T_1 bajos indican que esta dinámica ocurre más lentamente. En la Figura 2.6 se muestran los valores de T_2/T_1 correspondientes a todos los protones observables de n-hexanol. Como puede apreciarse, los valores de T_2/T_1 correspondientes a Hc, Hd y He se mantienen dentro de valores altos dentro de todo el rango de $X_{hexanol}$ estudiado, indicando que el proceso de asociación no restringe la dinámica de este segmento de la molécula de n-hexanol. Sin embargo, los valores de T_2/T_1 correspondientes a los protones Ha y Hb son más bajos respecto de Hc, Hd y He. Esto último es un indicativo de que Ha y Hb están íntimamente ligados participando en la formación de agregados de n-hexanol. Este proceso de asociación limita la dinámica de ambos protones, debido al anclaje que se produce mediante interacciones de puentes de hidrógeno entre moléculas de n-hexanol.

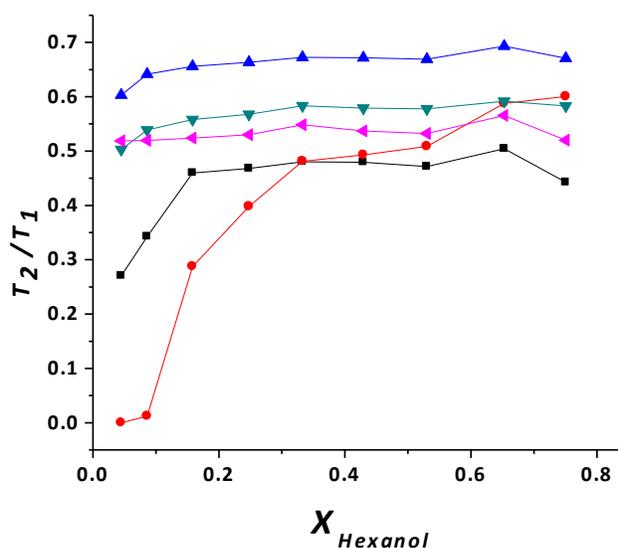


Figura 2.6: Razón T_2 / T_1 en función de $X_{hexanol}$ para los protones Ha (○), Hb (■), Hc (▲), Hd (▼), y He (◄).

De forma complementaria al escenario ofrecido con los resultados de RMN, se ha realizado un estudio de asociación de n-hexanol en ciclohexano mediante infrarrojo cercano (IRC). IRC puede ser utilizado para estudiar transiciones de baja energía y sobretonos, como por ejemplo deformaciones y estiramientos correspondientes al grupo hidroxilo, las que se relacionan con la formación de puentes de hidrógeno entre varias moléculas de alcohol. La presencia de moléculas de n-hexanol libres (o no formando parte de un agregado) y ligadas (formando parte de un agregado) puede ser estudiada mediante IRC, debido a que los modos vibracionales de cada una de estas especies resuenan a diferentes frecuencias en el espectro infrarrojo. Algunos autores han asignado la banda de alrededor de los 7100 cm^{-1} al primer sobretono de estiramiento del grupo OH, mientras que las bandas entre 6200 y 7000 cm^{-1} han sido atribuidas a diferentes especies formadas por interacción de puentes de hidrógeno [123, 127, 133]. En la Figura 2.7a se puede ver que los grupos hidroxilos libres de n-hexanol absorben a 7100 cm^{-1} . La intensidad de esta banda aumenta conforme aumenta $X_{hexanol}$. Sin embargo, este aumento continúa como una curva de saturación, indicando que los agregados de alcohol se están formando. En la Figura 2.7b se muestra cómo varía la intensidad de la banda a 6275 cm^{-1} , atribuida a especies poliméricas de n-hexanol. Esta banda aumenta su intensidad linealmente con respecto a $X_{hexanol}$, Esto muestra que posterior al proceso de agregación de n-hexanol, las moléculas extra de n-hexanol adicionadas pasan a formar parte del agregado.

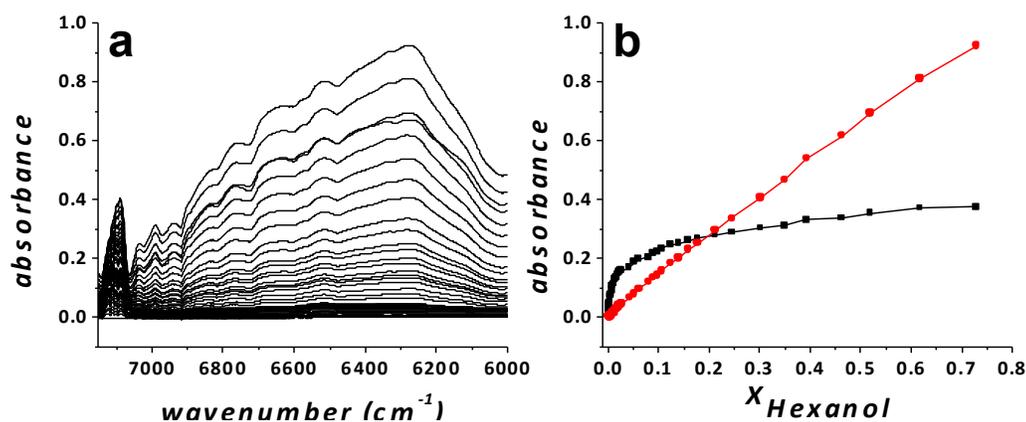


Figura 2.7: a) Espectro IRC de soluciones de n-hexanol en ciclohexano, b) absorbancia a 7100 cm^{-1} (■) y 6275 cm^{-1} (○) correspondiente a grupos hidroxilos libres y polimerizados, respectivamente, en función de $X_{hexanol}$.

Dos consideraciones podrían ayudar a interpretar los resultados expuestos anteriormente. Conforme aumenta $X_{hexanol}$, la polaridad de las soluciones aumenta. Algunos autores han informado que un aumento en $X_{hexanol}$ provoca un aumento en la viscosidad de soluciones binarias [124]. Estos dos efectos provocan una disminución en los movimientos traslacionales y en la difusión molecular, todo esto relativo a un aumento en la probabilidad de que ocurran interacciones dipolares no específicas en la mezcla. Esto produce una disminución en los valores de T_1 y T_2 en muestras de baja viscosidad, siguiendo el mismo patrón observado en la Figura 2.5. El incremento en la viscosidad es mayoritariamente el responsable de la suave disminución de los coeficientes de difusión y en los tiempos de relajación T_1 y T_2 correspondiente a los protones Hc, Hd y He en todo el rango de $X_{hexanol}$ estudiado.

Por otro lado, un aumento en la probabilidad de formación de una nueva red de puentes de hidrógeno entre moléculas de agua y moléculas de n-hexanol provoca que los picos de resonancia del agua e hidroxilos se desplacen hacia campo bajo, debido a que disminuye la densidad electrónica alrededor del dador de protones. A bajos valores de $X_{hexanol}$, el pico de resonancia del protón hidroxílico aparece hacia campo alto, indicando que las moléculas de n-hexanol se encuentran en solución como unímeros o libres. Estos unímeros desaparecen rápidamente conforme aumenta $X_{hexanol}$, dando lugar a la formación de dímeros, trímeros y agregados de alto orden, lo que genera el desplazamiento del pico de resonancia de Ha hacia campo bajo. El proceso de asociación de n-hexanol es altamente cooperativo, y depende del o de los agregados previamente formados [118]. La formación de especies poliméricas ha sido observada en el régimen de alta concentración de n-hexanol, como fue visto mediante IRC. Por otro lado, la presencia de trazas de agua en las soluciones de n-hexanol en ciclohexano puede influir en la formación de agregados de n-hexanol, debido a la presencia de un nuevo componente con la habilidad de interactuar mediante puentes de hidrógeno con moléculas de n-hexanol. La presencia o ausencia de trazas de agua afecta los tiempos de relajación T_2 correspondientes a los protones Ha y Hb, como puede ser apreciado en la Figura 2.5b. Los bajos valores de T_2 observados para los protones Ha y Hb en ausencia de agua se deben a que la formación de agregados de n-hexanol ocurre por anclaje entre los grupos hidroxilo de cada molécula de n-hexanol, generando un empaquetamiento de

moléculas de n-hexanol más compacto en comparación con soluciones en presencia de trazas de agua. En la literatura se ha reportado que el enlace de puentes de hidrógeno entre moléculas de alcohol y agua presenta un tiempo de vida mayor con respecto al enlace de puentes de hidrógeno que se forma sólo entre moléculas de agua y sólo entre moléculas de alcohol, respectivamente [138, 140, 141]. Debido a esto, la traza de agua se hace parte del ensamble generado que está presente en las soluciones de n-hexanol en ciclohexano, lo que provoca que tanto el pico de resonancia del agua como el correspondiente a los hidroxilos de n-hexanol se desplacen hacia campo bajo conforme aumenta $X_{hexanol}$ (Figura 2.2). Lo anteriormente descrito se fundamenta en el hecho que a $X_{hexanol}$ de 0.6 se ha observado que los coeficientes de difusión del agua e hidroxilo de n-hexanol son similares y siguen un patrón similar, como se puede apreciar en la Figura 2.4. Además, cabe destacar que la presencia de moléculas de agua podría ayudar en el proceso cooperativo de asociación de moléculas de n-alcohol en un régimen de baja concentración [124]. Los tiempos de vida del enlace de puentes de hidrógeno en n-alcohol o agua pura son del orden de los picosegundos, relativo al carácter transiente de esta interacción. En la Figura 2.2 se observó que la separación entre el pico de resonancia del agua e hidroxilos adquiriría un valor constante, lo que se relaciona con que los protones presentes en la red de puentes de hidrógeno se están intercambiando lentamente. Ya que la separación entre ambas señales es de alrededor de 1 ppm (o 600 Hz), el intercambio de protones está ocurriendo a una escala de tiempo de alrededor de 0.4 ms [142]. Por tanto, el carácter transiente del proceso de asociación es bajo, y las moléculas de n-hexanol se encuentran participando en dominios altamente estructurados.

Se pueden identificar varios rangos dentro del rango de $X_{hexanol}$ estudiado, los que se relacionan con diferentes fuerzas de unión que explicarían la formación de agregados de n-hexanol en ciclohexano. El primer rango, evidenciado entre $X_{hexanol}$ de 0.002 y hasta alrededor de 0.05, se caracteriza por la presencia de unímeros o moléculas libres de n-hexanol en ciclohexano y pequeñas trazas de agua directamente unidas a la cabeza polar de n-hexanol. Esto es coherente con los resultados vistos por IRC, donde la señal a 7100 cm^{-1} , correspondiente a los grupos hidroxilos libres, aumenta abruptamente con un aumento en $X_{hexanol}$ (Figura 2.7). En este rango predominan las fuerzas de dispersión

entre ciclohexano y los unímeros de n-hexanol, y las moléculas de n-hexanol se encuentran solvatadas por ciclohexano. Sin embargo, los valores de tiempos de relajación T_1 y T_2 correspondientes al protón hidroxílico son menores en comparación con los correspondientes a los protones de la cadena alifática, y los correspondientes tiempos de relajación aumentan conforme aumenta la distancia entre el grupo hidroxilo y el protón de la cadena alifática, indicando que existen contactos efectivos entre las cabezas polares de n-hexanol (Figura 2.5). La formación de redes de puentes de hidrógeno entre moléculas de n-hexanol genera que la cadena alquílica retenga un cierto grado de libertad conformacional, lo que se hace más evidente para los segmentos que están más lejos del grupo polar donde ocurre el anclaje. Por otro lado, se ha visto mediante los experimentos de DOSY (Figura 2.4a), que los coeficientes de difusión del protón hidroxílico de n-hexanol son mayores en comparación con los coeficientes de difusión de los protones de la cadena alquílica, indicando que puede ocurrir un intercambio de protones entre las moléculas de agua y alcohol en la escala de tiempo de DOSY. Esta diferencia en los coeficientes de difusión disminuye conforme aumenta $X_{hexanol}$, lo que es un indicativo de que las moléculas de n-hexanol se están asociando estrechamente, lo que también se evidencia por la disminución en los tiempos de relajación T_2 (Figura 2.5). Un incremento en $X_{hexanol}$ hasta 0.2, provoca que aumente la cantidad de moléculas de n-hexanol en la caja de solvente formada por ciclohexano. Los experimentos de DOSY de la Figura 2.4 muestran que los coeficientes de difusión del protón hidroxílico y los correspondientes a los protones de la cadena alifática son similares, lo que se debe a una disminución en la dinámica de difusión de toda la molécula de n-hexanol, relativo al proceso de anclaje de moléculas de n-hexanol hacia la formación de un agregado. Debido a esto, se sugiere que en el rango de $X_{hexanol}$ de alrededor de 0.05 a 0.2, las interacciones moleculares están dominadas por enlaces de puentes de hidrógeno entre las cabezas polares de varias moléculas de n-hexanol, generando una red de puentes de hidrógeno, en la cual hay participación de trazas de agua. En este rango, los valores de T_2 correspondientes al protón hidroxílico disminuyen y luego aumentan abruptamente, pasando por un valor mínimo asociado a la formación de un dominio altamente estructurado. Dentro de este rango, la intensidad de la señal de IRC correspondiente a las especies poliméricas de n-hexanol aumenta linealmente conforme aumenta $X_{hexanol}$, mientras que la intensidad de la señal asociada a los

hidroxilos libres tiende a un valor constante (Figura 2.7b). También se ha visto que los tiempos de relajación T_2 correspondientes a los protones Hb siguen un patrón similar a lo observado con los protones hidroxílicos, debido a que la formación de la red de puentes de hidrógeno provoca restricciones conformacionales que afectan en gran medida al protón vecinal al centro de anclaje. Los protones Hc, Hd y He presentan menor restricción, a juzgar por los altos valores de T_2/T_1 observados en la Figura 2.6. Finalmente, a $X_{hexanol}$ entre 0.2 y 0.9, las interacciones dipolares no específicas se tornan predominantes, y las moléculas en el ensamble presentan una mayor libertad de movimiento. Un incremento en la polaridad de las soluciones induce en los protones hidroxílicos movimientos traslacionales y rotacionales, lo que se evidencia por un leve aumento en sus valores de T_2 . Sin embargo, cabe destacar que las moléculas de n-hexanol permanecen formando agregados poliméricos, como se evidencia mediante IRC. A pesar del aumento en la movilidad, la diferencia entre el pico de resonancia del agua e hidroxilos permanece en 1 ppm en este rango, lo que indica que la red de puentes de hidrógeno aún se mantiene. Dentro de este rango, a una $X_{hexanol}$ de 0.43, los valores de T_2/T_1 correspondientes al protón Ha comienzan a aumentar en comparación con los correspondientes a Hb, lo que podría relacionarse con un aumento en la curvatura de los agregados de n-hexanol conforme este polimeriza, generando que la distancia entre los protones Hb de las moléculas de n-hexanol empaquetadas se haga más estrecha. Por otro lado, a $X_{hexanol}$ de 0.6, el coeficiente de difusión del agua aumenta en comparación con la difusión de n-hexanol, indicando que las moléculas de agua traza pueden moverse entre diferentes sitios dentro de un ambiente altamente polar (Figura 2.4). Estudios volumétricos y viscosimétricos de soluciones de n-hexanol en ciclohexano realizados por Chowdhury y colaboradores [121] revelan que la entropía de activación de flujo viscoso presenta valores positivos a una $X_{hexanol}$ de alrededor de 0.5, lo que es un indicativo de que tanto las moléculas de agua traza como las moléculas de n-hexanol y ciclohexano se encuentran en un medio menos ordenado en comparación con soluciones de n-hexanol a $X_{hexanol}$ bajo 0.5.

2.3.2 Titulación de soluciones de n-hexanol en ciclohexano con agua.

Se ha visto que las trazas de agua en las soluciones de n-hexanol en ciclohexano participan en las redes de puente de hidrógeno que forman las moléculas de n-hexanol.

Por tanto, es de gran interés estudiar la capacidad de estas soluciones de solubilizar agua. En la parte introductoria se señaló que las soluciones ternarias de n-alcohol / solvente orgánico / agua se comportan de manera similar a soluciones ternarias compuestas por surfactantes [111-115]. En la Figura 2.8 se muestra el diagrama de fases ternario de n-hexanol / ciclohexano / agua. Se ha partido de ocho soluciones con diferente composición de ciclohexano y n-hexanol con 1.7 % de agua ($X_{hexanol-inicial}$). Se observan dos zonas en este diagrama de fases: la primera corresponde a soluciones transparentes y homogéneas, mientras que la segunda comprende soluciones turbias o con separación de fases. Los puntos graficados en la frontera de ambas zonas corresponden al máximo de solubilidad de agua de las ocho diferentes soluciones de n-hexanol en ciclohexano, antes de que se observe separación de fases macroscópica. Se puede apreciar en la Figura 2.8 que las soluciones de n-hexanol en ciclohexano disuelven considerables cantidades de agua, y la capacidad de solubilizar agua aumenta conforme aumenta $X_{hexanol-inicial}$.

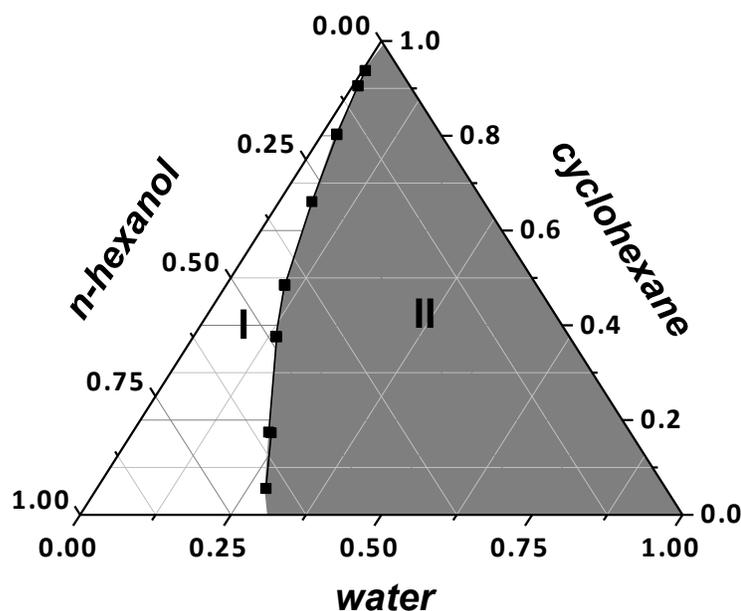


Figura 2.8: Diagrama de fases ternario n-hexanol / ciclohexano / agua. La zona I corresponde a soluciones homogéneas y transparentes, mientras que la zona II corresponde a soluciones turbias o que tienden a separación de fases

Se han evaluado los desplazamientos químicos del protón hidroxílico en función de la concentración de agua disuelta para las ocho soluciones con diferente $X_{hexanol-inicial}$.

Los resultados se pueden ver en la Figura 2.9. Los correspondientes desplazamientos químicos para las soluciones iniciales aumentan conforme aumenta $X_{hexanol-inicial}$, como se vio en la sección anterior, relacionado con la formación de puentes de hidrógeno entre las cabezas polares de n-hexanol. Se puede observar, que conforme aumenta la cantidad de agua adicionada, el pico de resonancia del protón hidroxílico se desplaza mostrando una curva de saturación. Es interesante observar que las soluciones con una $X_{hexanol-inicial}$ de 0.06, 0.09 y 0.177, presentan la misma capacidad de disolución de agua, y las correspondientes curvas de saturación son abruptas. Estos valores de $X_{hexanol-inicial}$ corresponden a composiciones iniciales que mostraron una alta estructuración de la red de puentes de hidrógeno (rango de $X_{hexanol-inicial}$ entre 0.05 y 0.2). En cambio, para mayores valores de $X_{hexanol-inicial}$, la solubilidad de agua aumenta, y las curvas de saturación son más suaves, haciéndose casi plana a $X_{hexanol-inicial}$ 0.567, e invirtiendo su tendencia para composiciones iniciales más ricas en n-hexanol.

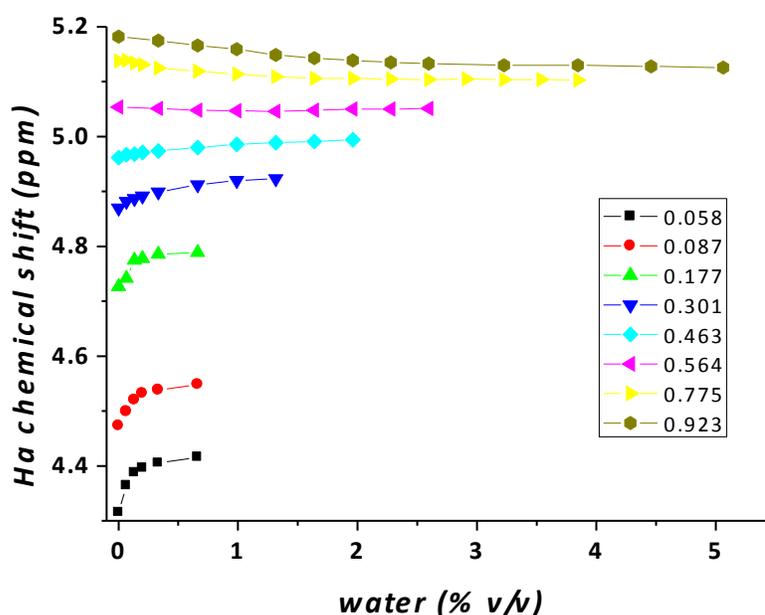


Figura 2.9. Desplazamiento químico del protón hidroxílico de n-hexanol en soluciones de n-hexanol en ciclohexano a diferentes $X_{hexanol-iniciales}$ (detalle en cuadro inserto) en función de concentración de agua adicionada.

En el siguiente Capítulo se mostrará el estudio de asociación de un surfactante no iónico en presencia de ciclohexano y n-hexanol [60, 69]. Algunos autores han observado que la presencia de n-hexanol aumenta la capacidad de solubilización de agua cuando se

utiliza como cosurfactante en la formulación de agregados del tipo micela reversa, en comparación con alcoholes de cadenas hidrocarbonadas más cortas [143, 144]. En la formulación que se presenta en el Capítulo 3, n-hexanol está presente a una concentración expresada en $X_{hexanol}$ de 0.177, concentración que se encuentra en el rango donde dominan las interacciones intermoleculares de puentes de hidrógeno.

2.4. Conclusiones

Se ha presentado un estudio de la asociación de n-hexanol en ciclohexano mediante RMN e IRC. Los resultados obtenidos han sido útiles para entender la dinámica de las mezclas de n-hexanol en ciclohexano. La formación de agregados de n-hexanol en ciclohexano ocurre principalmente a través de enlaces de puentes de hidrógeno, y este proceso es dependiente de $X_{hexanol}$. Entre $X_{hexanol}$ de 0.002 a 0.05, las interacciones moleculares están principalmente dominadas por fuerzas de dispersión, y los enlaces de puentes de hidrógeno formados presentan un carácter transiente. En este rango, las moléculas de n-hexanol permanecen como unímeros libres, y solvatadas por moléculas de ciclohexano. Entre $X_{hexanol}$ de 0.05 a 0.2 se observa la formación de especies poliméricas de n-hexanol, y la formación de estas especies está principalmente dominada por interacciones de puentes de hidrógeno. Las trazas de agua presentes en soluciones de n-hexanol forman parte de los agregados de n-hexanol, y en ausencia de trazas de agua las moléculas de n-hexanol se empaquetan algo más estrechamente. Los espectros de IRC han permitido verificar la formación de especies poliméricas de n-hexanol. Entre $X_{hexanol}$ de 0.2 a 0.9 dominan las interacciones dipolares no específicas. Se ha visto también que las soluciones de n-hexanol en ciclohexano pueden disolver considerables cantidades de agua, capacidad que aumenta conforme aumenta $X_{hexanol}$. Este último punto deja abierto un abanico de aplicaciones en las cuales se podrían ver envueltas las soluciones de n-hexanol en ciclohexano. En específico, n-hexanol es ampliamente usado como un cosurfactante en la formulación de agregados inversos, y donde las moléculas de n-hexanol tienden a ser parte de estos agregados.

Capítulo 3: Estudio de formación de agregados de Triton X-100 / ciclohexano / n-hexanol en presencia de agua.

3.1. Introducción

Es sabido que las moléculas anfifílicas pueden formar diferentes agregados en solución. Muchos estudios se han llevado a cabo en solución acuosa [145-147], donde el proceso de asociación es dependiente de la concentración de anfifilo. Por otro lado, las moléculas anfifílicas también pueden formar agregados en solventes de baja polaridad [148, 149]. Los agregados que se forman en este último medio presentan un centro de características polares y compuesto principalmente por los segmentos hidrofílicos del surfactante [150-153]. Estos agregados presentan micro y nano dominios polares, y pueden almacenar agua y otros solutos polares. En solución acuosa, el proceso de agregación está controlado por un factor entrópico, donde predomina el efecto hidrofóbico, mientras que en medio no acuoso la formación de agregados está gobernada por las interacciones dipolo-dipolo y par iónico entre los segmentos hidrofílicos de las moléculas de anfifilo [66, 143, 144, 154]. Los agregados más comunes que se forman en medio apolar son las micelas reversas, las cuales están compuestas por una mezcla de surfactante, solvente orgánico, usualmente un cosurfactante (alcoholes o aminas de cadena larga) y agua [155]. El surfactante puede ser iónico o no iónico, de bajo peso molecular o polimérico. Las características estructurales tanto del surfactante como del cosurfactante, junto con la composición relativa de ambos en la mezcla, determinan el tipo y tamaño de los agregados. Por otro lado, el solvente orgánico juega un rol principal en la estabilización de estos agregados [156].

Las soluciones de surfactante en un medio apolar poseen interesantes aplicaciones, tales como limpieza en seco de superficies [58], síntesis de nanopartículas inorgánicas [157-159], y como medio para reacciones enzimáticas [160, 161]. Muchas de estas aplicaciones se realizan empleando el surfactante Triton X-100 (TX-100). TX-100 es un surfactante no iónico, el que posee un segmento hidrofóbico compuesto por un anillo aromático sustituido por una cadena alquílica, mientras que el segmento polar

está compuesto de 9 a 10 unidades repetitivas de óxido de etileno. Este último segmento actúa como un aceptor de puentes de hidrógeno [35], y también tiene la capacidad de formar complejos con cationes [162, 163]. La formación de micelas reversas de TX-100 en medio apolar se ha estudiado mediante dispersión de luz dinámica [164], resonancia magnética nuclear [144, 154] y mediante sondas solvatocrómicas [165-167]. En estas formulaciones, la ausencia de un cosurfactante (moléculas de n-alcohol) genera soluciones con baja capacidad de solubilizar agua, dando lugar a la formación de micelas reversas no esféricas [168]. La presencia de n-hexanol, en comparación con otros n-alcoholes, aumenta la capacidad de solubilizar agua en esas formulaciones [143]. Las moléculas de cosurfactante presentan una gran habilidad para inducir la disolución del surfactante y moléculas de agua. Sin embargo, debe destacarse la estructuración de moléculas de agua en estos sistemas. En aplicaciones específicas, la estructuración de moléculas de agua puede ser esencial para el resultado final a observar. La presencia de agua estructurada podría ser una fuente de nanoestructuración en la síntesis de nanopartículas o materiales.

El agua presente en el centro de los agregados reversos puede ser encontrada formando redes de puentes de hidrógeno tanto consigo misma como con los segmentos hidrofílicos del surfactante. Se ha mencionado en el capítulo introductorio que el agua en estado líquido (o *bulk*) forma una variedad de redes de puentes de hidrógeno entre moléculas vecinas, y la estructura tetraédrica formada por las moléculas de agua se irrumpe si se confina a las moléculas de agua en espacios pequeños [169] o cuando el agua está en contacto con interfases [54, 56]. Las propiedades del agua confinada difieren significativamente en comparación con el agua *bulk*. Por otro lado, las moléculas de agua en micelas reversas puede ser encontrada como agua libre y / o agua ligada [54, 56, 69, 170]. El agua ligada primaria corresponde a moléculas de agua interactuando directamente con los segmentos polares del surfactante y formando la primera capa de hidratación de estos segmentos; el agua ligada secundaria corresponde a moléculas de agua interactuando directamente con las moléculas de agua ligada primaria; por último está el agua libre, que es encontrada en el centro del agregado, y alcanza similitud con el agua *bulk*. La dinámica del agua ligada primaria es menor en comparación con el agua *bulk* [171]. La naturaleza del segmento hidrofílico del surfactante afecta la polaridad del

agua atrapada o confinada. Un segmento iónico genera un gran potencial superficial, y las moléculas de agua primaria estarán unidas a este segmento con mayor fuerza, mientras que las moléculas de agua primaria unidas a segmentos hidrofílicos no iónicos estarán unidas con menos fuerza, generando que el agua presente en estas últimas presente mayor polaridad [75]. El uso de técnicas espectroscópicas ha permitido estudiar esta estructuración del agua en macromoléculas [172, 173] y en materiales nanométricos porosos [169, 174].

En este Capítulo se mostrará un estudio de asociación del surfactante TX-100 en medio apolar. TX-100 es un surfactante que ha sido ampliamente utilizado en la formación de agregados reversos, y donde este proceso de agregación no es claro. En específico, se ha estudiado la formación de agregados de TX-100, ciclohexano, n-hexanol y agua, proceso que fue descrito primeramente por Kumar y Balasubramanian [143, 144, 154]. Ellos han identificado la formación de micelas reversas o microemulsiones y cristales líquidos, proceso que ocurre en presencia de pequeñas cantidades de agua. Sus estudios se han hecho con relaciones en masa entre TX-100 y n-hexanol de 4:1 y 3:2. Ciclohexano es considerado como el solvente apolar. El uso de n-hexanol, en comparación con otros alcoholes de cadena corta, aumenta la capacidad de solubilización de agua en micelas reversas que se forman con una composición similar de TX-100 a la ensayada en este trabajo [143]. Sin embargo, las soluciones estudiadas en este Capítulo presentan una mayor concentración de n-hexanol, en comparación con las soluciones estudiadas por Kumar y Balasubramanian. Ellos han estudiado las soluciones de TX-100, ciclohexano, n-hexanol y agua en función de la concentración de agua mediante RMN (desplazamientos químicos de protones, ensanchamiento de picos de resonancia, tiempos de relajación), y mediante sondas de polaridad. Estos autores han visto que soluciones de TX-100 forman microemulsiones esféricas a concentraciones de agua del 10% v/v, y una posterior adición de agua genera un cambio en la morfología hacia estructuras tipo cristal líquido. Por otro lado, Qi y colaboradores [69] han estudiado las soluciones de TX-100, ciclohexano, n-hexanol y agua, a una composición similar a la estudiada por Kumar, mediante el uso de sondas de absorción en UV-vis, y en específico empleando azul de metileno. Por otro lado, Pramanick [60], empleando azul de metileno como sonda, ha informado agregación de TX-100 en el mismo medio

anterior. Pramanick y Qi [60, 69] han interpretado los cambios espectroscópicos como la consecuencia de la formación de complejos de transferencia de carga entre TX-100 y azul de metileno, lo que se observa en el remarcado cambio de color de las soluciones de TX-100, ciclohexano, n-hexanol, en ausencia de agua. Tanto Qi como Pramanick no dejan claro el rol del agua, y sus investigaciones apuntan a la formación de micelas reversas sin agua. Se debe tener en cuenta que el segmento de poli(óxido de etileno) presenta un amplio espectro de solubilidad en diferentes solventes. Así, en solventes apolares las moléculas de este tipo tenderán a estar disueltas monoméricamente, siendo difícil que ocurra la formación de estructuras supramoleculares en ausencia de agua [27, 175, 176]. En comparación con lo ya visto para este sistema, en el presente Capítulo se expondrán los resultados empleando una concentración similar de TX-100 a la usada por Kumar, Qi y Pramanick. Por otro lado, la concentración de n-hexanol en las soluciones estudiadas está casi 10 veces por sobre lo usado por estos autores. Esta concentración de n-hexanol corresponde aproximadamente al doble de unidades de óxido de etileno y está dentro del rango de formación de agregados de n-hexanol en ciclohexano, donde el ensamble de moléculas de n-hexanol está principalmente gobernado por puentes de hidrógeno, como se vio en el Capítulo 2. Estas soluciones disuelven hasta un 3% de agua en ausencia de surfactante. Los estudios de asociación se han realizado mediante ^1H -RMN, dispersión de luz dinámica y empleando las sondas azul de metileno (MB) y ácido 1-anilinaftaleno-8 sulfónico (ANS).

3.2. Experimental

3.2.1 Reactivos: El surfactante Triton X-100 (TX-100, Sigma-Aldrich) fue secado en estufa de vacío a 50 °C por dos días. Ciclohexano, ciclohexano- d_{12} y n-hexanol fueron adquiridos en Sigma-Aldrich y utilizados tal cual fueron recibidos. Las sondas ácido 1-anilinaftaleno-8 sulfónico (ANS, Invitrogen) y azul de metileno (MB, Synt) fueron utilizadas sin purificar. Las soluciones madre de las sondas fueron preparadas en etanol (Merck).

3.2.2 Equipos: Los espectros de RMN de una dimensión fueron registrados en un espectrómetro JNM Lambda500 (Jeol, 500 MHz) realizando 64 barridos. Los espectros en dos dimensiones fueron adquiridos en un espectrómetro AVANCE600 (Bruker, 600

MHz). Los espectros de fluorescencia fueron medidos en celdas de cuarzo de paso óptico de 1 cm, en los espectrofluorímetros Scinco FluoroMate FS-2 y Perkin Elmer LS 55. Los espectros de fluorescencia de la sonda ANS fueron adquiridos excitando la muestra a 380 nm. Los espectros de UV-vis fueron adquiridos en un espectrofotómetro Thermos Helios Gamma. Las mediciones de viscosidad fueron realizadas en un viscosímetro vibracional SV-10 Series (A&D Company). Las imágenes digitales de las soluciones estudiadas fueron adquiridas con una cámara digital semi-automática (Canon PowerShot SX30-IS), equipada con un polarizador circular (Canon PC-C B, 67 mm). Se utilizó una pantalla LED como fuente de luz polarizada.

3.2.3 Procedimientos: Las muestras fueron preparadas mezclando las cantidades necesarias de TX-100, ciclohexano y n-hexanol en relación molar de 1 : 74 : 16. Esto corresponde a una concentración de TX-100 y hexanol de 0.1 M y 1.6 M, respectivamente. Las muestras fueron sonicadas por un minuto para ayudar a la homogenización de los componentes. Se utilizó agua desionizada en las formulaciones, la que se adicionó por medio de una microjeringa. Para los estudios de fluorescencia y UV-vis, la concentración de la sonda fue de $1 \cdot 10^{-5}$ M. Las soluciones de sondas fueron preparadas a una concentración de $1 \cdot 10^{-3}$ M en etanol. Se adicionaron las cantidades necesarias de solución de sonda por medio de una microjeringa, y posteriormente se evaporó el etanol en estufa a 40 °C. Las muestras se dejaron en agitación por un día para asegurar la disolución de la sonda en las soluciones de surfactante. La cantidad de agua adicionada a las soluciones estudiadas se ha expresado relativa a la concentración de TX-100, mediante el parámetro w_0 :

$$w_0 = \frac{[water]}{[TX - 100]}$$

El diagrama de fases pseudoternario se construyó preparando soluciones de TX-100 en ciclohexano : n-hexanol en una relación molar de 16:74. Se realizó una dilución controlada con agua, hasta alcanzar el vértice del diagrama de fases correspondiente a una concentración de agua del 100%. Todas las muestras fueron homogenizadas por 5 minutos a 25 °C. Las muestras fueron analizadas mediante inspección visual para identificar la formación de una o varias fases. Además, las muestras estudiadas en este

Capítulo fueron estudiadas empleando luz polarizada, para chequear la formación de estructuras lamelares y birrefringentes.

3.3. Resultados.

3.3.1 El sistema molecular.

El sistema estudiado se compone de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano en relación molar 1:16:74. La formación de micelas reversas de TX-100, hexanol, ciclohexano y agua, a diferentes composiciones, ha sido estudiada por Kumar y colaboradores [143, 144, 154], los cuales han estudiado soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano en relaciones molares de 1:4:48 y 1:1.5:36. Los autores han reportado que la adición de agua a mezclas de TX-100 / n-hexanol / ciclohexano produce, en una primera etapa, la unión de moléculas de agua a los segmentos de óxido de etileno en TX-100, seguido de la formación de micelas reversas y posterior separación de fases. En algunos casos, antes de que ocurra la separación de fases, se observa la formación de estructuras lamelares y birrefringentes [144]. En el trabajo descrito a continuación, se ha utilizado una formulación con mayor concentración de n-hexanol, en comparación con las soluciones ensayadas por Kumar. Antes de realizar el estudio detallado y a concentraciones de TX-100 similares a las usadas por Kumar, se ha realizado el diagrama de fases pseudoternario experimental de TX-100 / ciclohexano : n-hexanol (16:74) / agua. El diagrama de fases se muestra en la Figura 3.1, y se pueden distinguir varias zonas o dominios. En la zona I, correspondiente a la zona del diagrama de fases rica en solvente orgánico, se observa la presencia de soluciones claras y homogéneas; la zona II representa a las soluciones que muestran turbidez y separación de fases; la zona III corresponde a soluciones viscosas y gelificadas; la zona IV se asigna a la presencia de agregados normales, con un medio continuo acuoso. El trabajo que se describe a continuación explora una pequeña parte de la zona I de este diagrama de fases, ya que en esta zona podría ocurrir la formación de preagregados micelares, cuya formación se quiere evaluar. Kumar ha descrito que previo a la formación de agregados ocurre primero la formación de preagregados micelares, correspondientes a moléculas de TX-100 hidratándose. Este término no implica la presencia de un agregado formal como una micela. El diagrama de fases inserto en la Figura 3.1 muestra la zona estudiada, la que

abarca una concentración de agua entre 0 y 8 %. A pesar de que la zona estudiada sólo abarca una pequeña parte del diagrama de fases, se han observado cambios apreciables luego de adicionar agua a una solución seca de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano en relación molar 1:16:74.

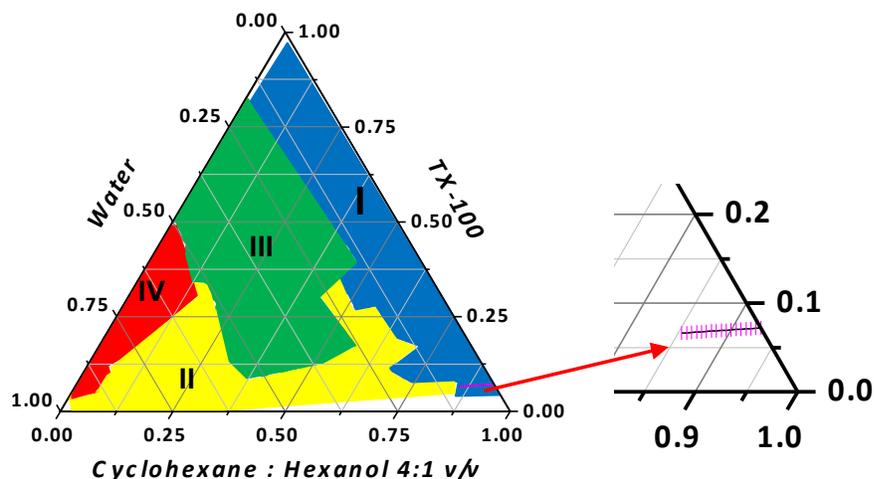


Figura 3.1. Diagrama de fases pseudoternario de TX-100 / ciclohexano : n-hexanol (16:74) / agua. El inserto muestra la zona del diagrama de fases estudiada en este Capítulo.

En la Figura 3.2 se muestran imágenes digitales con luz polarizada de las soluciones estudiadas a diferentes concentraciones de agua, y expresada relativa a la concentración de surfactante (w_o). Como se puede apreciar, las soluciones con un contenido de agua entre 3.87 % a 6.43 % presentan birrefringencia, fenómeno que ha sido observado en soluciones de anfifilo en medio orgánico formando lamelas y cristales líquidos [177-179]. Este comportamiento es característico de las soluciones de TX-100, ciclohexano, n-hexanol estudiadas por Kumar y Balasubramanian [143, 144, 154].

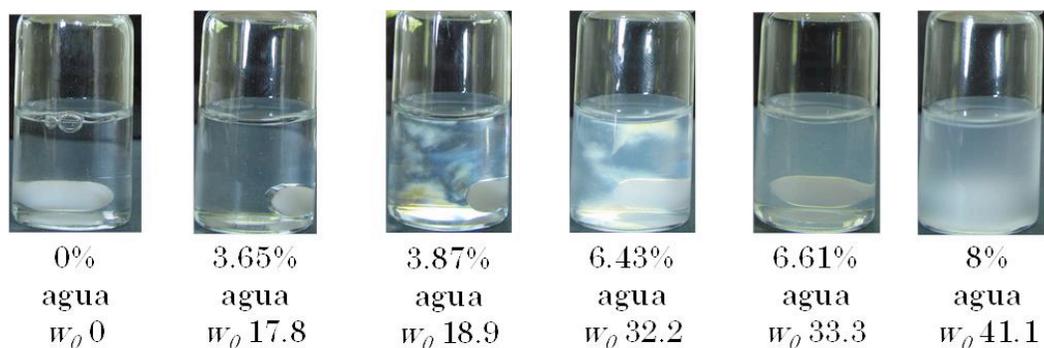


Figura 3.2. Imágenes digitales con luz polarizada de soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano en relación molar 1:16:74, a diferentes concentraciones de agua.

Se ha observado que la turbidez de las soluciones ensayadas tiende a aumentar conforme aumenta la cantidad de agua (Figura 3.3), haciéndose este aumento más pronunciado a valores de w_o mayores a 20. Por sobre w_o 41, las soluciones turbias se separan en 3 fases. Aún no se ha identificado qué tipo de fases están coexistiendo en la misma solución, así que los resultados que se presentan llegan hasta este valor de w_o . A w_o 5.6 se observa un pronunciado aumento en la turbidez, la cual desaparece conforme aumenta w_o .

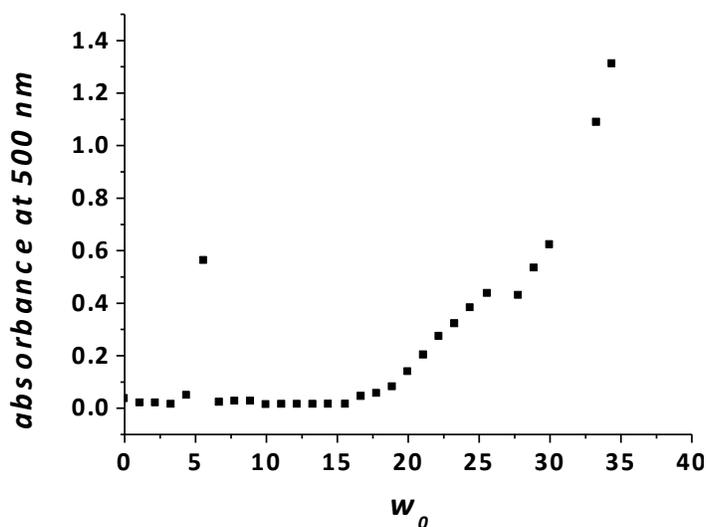


Figura 3.3: Turbidez de soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano en relación molar 1:16:74, en función de w_o .

3.2 Estudio espectroscópico mediante ^1H -RMN, fluorescencia, UV-vis y dispersión de luz dinámica.

Se ha empleado ^1H -RMN para estudiar los cambios espectroscópicos en las soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74 en función de w_o , los que pueden estar directamente relacionados con procesos de asociación. En el Capítulo 2 se ha visto que ciertos parámetros medibles de RMN pueden ser utilizados para determinar interacciones específicas entre moléculas. Las moléculas ensayadas presentan espectros ^1H -RMN que permiten distinguir una molécula de otra. Se sabe que el desplazamiento químico de los protones hidroxílicos en un espectro de RMN es dependiente de la concentración de alcohol y del tipo de solvente que se emplea. El efecto de la concentración de n-hexanol y la posición del desplazamiento químico del protón hidroxílico fue estudiado en el Capítulo 2, el cual se ve influenciado por la presencia o ausencia de interacciones de puentes de hidrógeno [180-183].

En la Figura 3.4 se muestran los espectros ^1H -RMN de las mezclas de n-hexanol : ciclohexano- d_{12} 16:74 y de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74. La asignación de los desplazamientos químicos, la cual se ha realizado de acuerdo a entornos químicos teóricos, intensidad y multiplicidad de los picos de resonancia, está relacionada con las estructuras moleculares de la Figura 3.4. Los protones aromáticos Hg y Hh de TX-100 aparecen como dobletes a 6.77 y 7.19 ppm, respectivamente, con una constante de acoplamiento de 10 Hz. Los pequeños picos de resonancia observados a 3.77 y 4.02 ppm son asociados a los protones He y Hf, respectivamente. Estas señales se observan como tripletes, con una constante de acoplamiento de 5.15 Hz. Este valor en la constante de acoplamiento está relacionado con una conformación *gauche* preferida entre los grupos metilénicos del segmento de óxido de etileno, conformación preferida en solventes de diferente polaridad [184, 185]. Los protones restantes de la cadena hidrofílica, correspondientes a Hb, Hc y Hd, aparecen entre 3.55 y 3.66 ppm. Una amplia señal se observa a 3.57 ppm, la que integra para 30 protones, asignados a Hd. Los protones Hb y Hc aparecen a 3.63 y 3.60 ppm, respectivamente. Los protones de la cadena alifática se observan entre 1.72 y 0.90 ppm. Los protones Hj y Hk aparecen como singletes a 1.72 y 0.72 ppm. El desplazamiento químico observado a 1.32 ppm corresponde a los protones Hi de TX-100 y Hd' de n-hexanol, los que aparecen solapados.

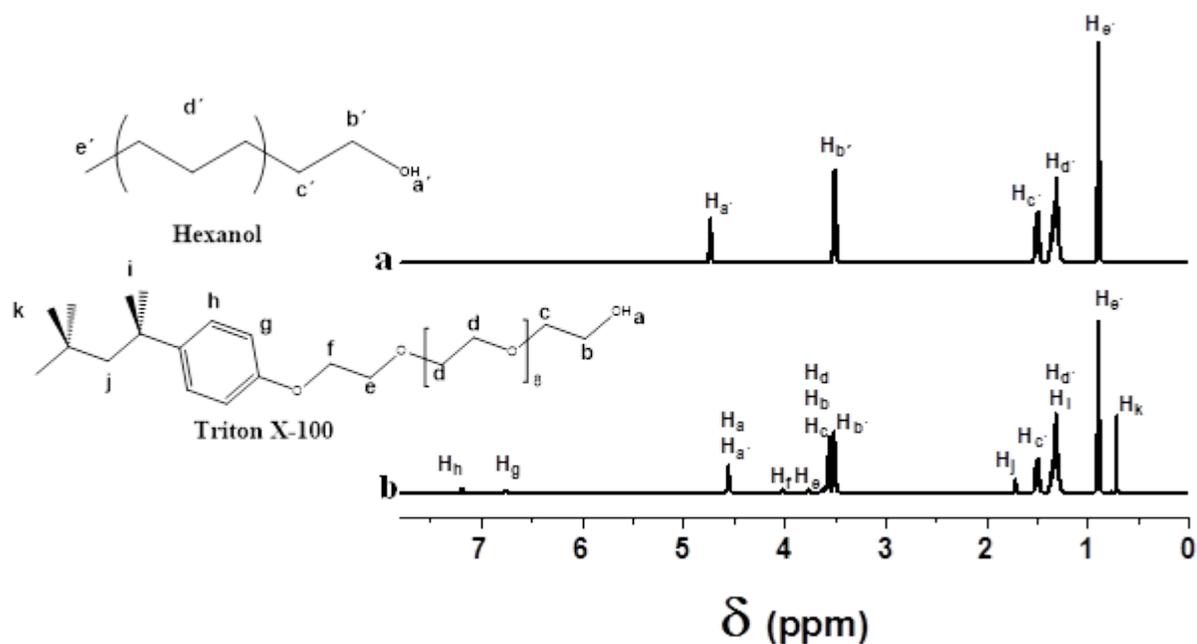


Figura 3.4: Espectros de ¹H-RMN para de las soluciones de (a) n-hexanol : ciclohexano-d₁₂ en relación molar 16:74 y (b) TX-100 : n-hexanol : ciclohexano en relación molar 1:16:74

Cabe hacer notar que los protones hidroxílicos de n-hexanol y TX-100 presentan el mismo desplazamiento químico, que se observa como un singlete a 4.57 ppm (HaHa'), indicando que el intercambio químico entre ambos es rápido, presentando estos protones un ambiente químico similar. Sin embargo, la concentración de hidroxilos de n-hexanol es superior a la concentración de hidroxilos de TX-100. En la Figura 3.5 se puede observar que, en ausencia de surfactante, los protones Ha' y Hb' se encuentran acoplados, y los picos de resonancia aparecen con multiplicidades triplete y cuadruplete respectivamente. En presencia de TX-100 no se observa dicho acoplamiento, apareciendo Ha' como un singlete y Hb' como un triplete. El cambio en la multiplicidad y posición del desplazamiento del pico de resonancia de HaHa' puede estar relacionado con la formación de redes de puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxílicos del n-hexanol con los segmentos de óxido de etileno, lo que provoca el desacoplamiento de Ha' con Hb'. Se sabe que los segmentos de óxido de etileno pueden actuar como aceptores polares de enlaces por puentes de hidrógeno [35, 186].

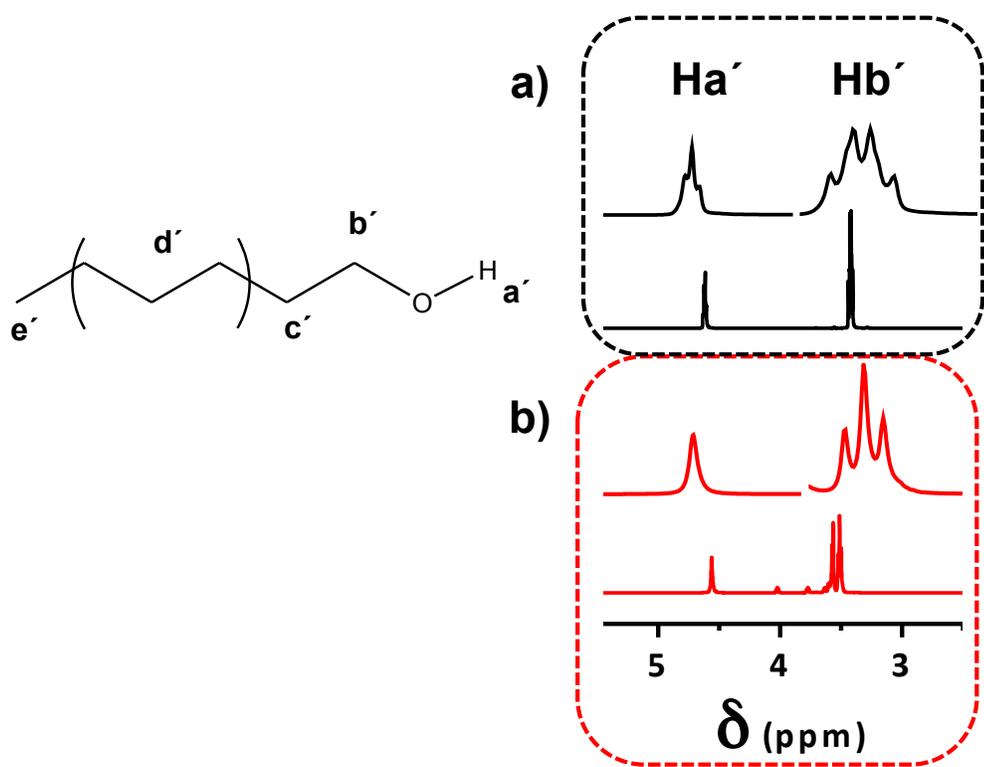


Figura 3.5: Detalle de espectro ^1H -RMN de soluciones de (a) n-hexanol : ciclohexano- d_{12} 16:74 y (b) TX-100 : n-hexanol : ciclohexano en relación molar 1:16:74

La adición de agua a las soluciones de TX-100 / n-hexanol / ciclohexano modifica la respuesta espectroscópica de este sistema, lo que está relacionado con la formación de preagregados micelares [27, 66, 143, 144, 156, 187]. Estos preagregados micelares se relacionan con la formación de complejos entre las unidades hidrofílicas de óxido de etileno y n-hexanol y con la hidratación del segmento hidrofílico de TX-100. Aparecen nuevas fuerzas de unión, como los enlaces de puentes de hidrógeno, los que contribuyen a la agregación en ciclohexano de este tipo de surfactante. Un conjunto de espectros de ^1H -RMN se muestran en la Figura 3.6 en función de w_o , que varía entre valores de w_o entre 0 y 41.6. Dentro de este rango es posible encontrar subrangos con respuestas espectroscópicas diferentes.

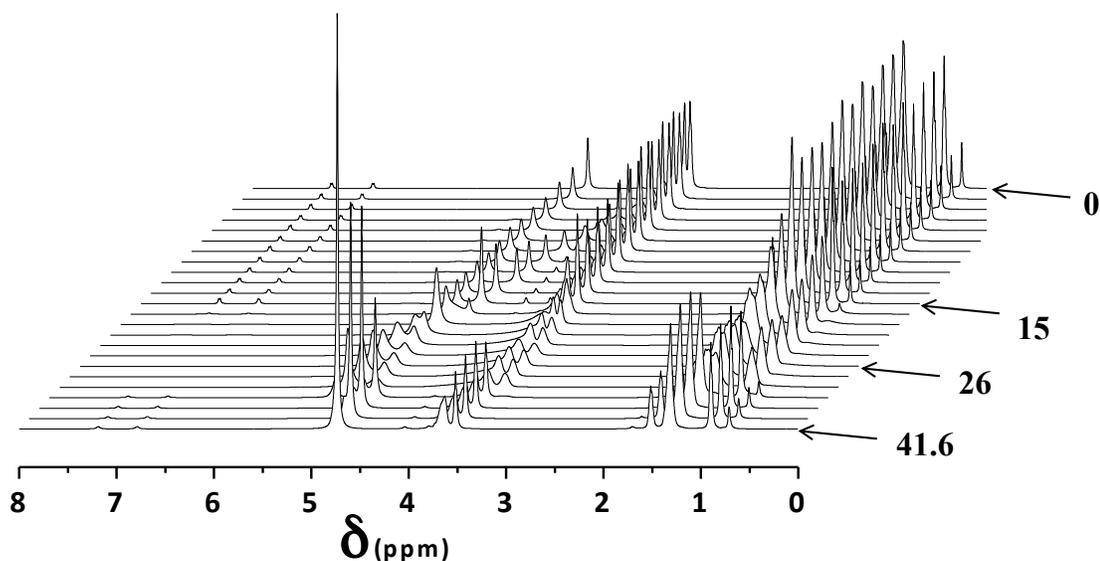


Figura 3.6: Selección de espectros de ^1H -RMN para mezclas de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74 a diferentes w_0 : 0, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 5.6, 6.7, 7.8, 8.9, 10, 13.9, 15, 18.3, 19.4, 20.5, 23.3, 25, 26.1, 27.8, 30.6, 33.3, 36.1, 38.9 y 41.6

El primer rango se observa entre w_0 0 y 15, y donde encontramos menos de una molécula de agua por grupo hidroxilo. Dentro de este rango los desplazamientos químicos aparecen como picos bien definidos. A w_0 1.1 se ha observado la aparición de un nuevo pico de resonancia a 3.78 ppm, con multiplicidad singlete, correspondiente a los protones del agua, los que se diferencian de los grupos hidroxilos HaHa' que aparecen a 4.57 ppm. Ambos picos de resonancia se ven afectados por una mayor concentración de agua. En las Figuras 3.6 y 3.8 se puede observar que conforme aumenta el valor de w_0 , ambos picos de resonancia se desplazan hacia campo bajo, y la intensidad del pico del agua aumenta. El pico de resonancia del agua se desplaza hacia campo bajo por sobre 4.5 ppm conforme aumenta w_0 . Kumar y colaboradores han observado este comportamiento en los protones hidroxílicos de n-hexanol, pero estos autores han visto sólo un pico de resonancia para el agua e hidroxilos [144]. Dentro de este rango, un aumento en la concentración de agua también genera otros cambios en el espectro de ^1H -RMN de las soluciones, y algunos picos de resonancia se ven afectados por el aumento en la cantidad de agua. Los picos de resonancia de los protones aromáticos, en especial el pico de resonancia de los protones Hg, se ve ligeramente afectado, desplazándose el correspondiente pico de resonancia hacia campo bajo, y aproximándose este al pico de resonancia de los protones Hh. Este desplazamiento se

atribuye al bajo efecto dador del oxígeno en posición orto a Hg debido a su participación en una posible red de puentes de hidrógeno. De forma similar, el pico de resonancia de los protones Hb-Hf se desplaza hacia campo alto.

El segundo rango se observa entre valores de ω_o 15 y 26. Importantes cambios resaltan dentro de este rango. Se produce un ensanchamiento de los picos de resonancia más importantes, tal como se puede ver en la Figura 3.7. El ensanchamiento de los picos de resonancia en un espectro de RMN es por lo general una consecuencia de pérdida de movilidad molecular. El ancho de línea de un pico de resonancia es inversamente proporcional a la movilidad rotacional del protón observado. Las señales con baja intensidad (Hh, Hg, Hf, He y Hj) desaparecen del espectro ^1H -RMN. El pico de resonancia del protón Hh disminuye su intensidad, para finalmente desaparecer. Las señales relativas al multiplete Hb-Hd muestran un intenso ensanchamiento, y un pico ancho aparece por debajo de los dos picos asignados en cuanto a su intensidad a Hd y Hb'. Los picos de resonancia de los protones del n-hexanol también muestran ensanchamiento dentro de este rango, en particular Hc', el cual se separa en dos señales. La complejidad del multiplete que incluye a Hd'-Hi aumenta. Dentro de este rango aparecen algunas singularidades. A ω_o 19.4 se observa que las señales del protón hidroxílico y del agua aparecen en la misma posición, como un singlete. Conforme aumenta ω_o , este pico se separa en dos señales, y los protones correspondientes al agua empiezan a desplazarse hacia campo bajo.

El tercer rango se observa a valores de ω_o entre 26 y 41.6. En este rango, otros cambios son evidenciados. En las Figuras 3.6 y 3.7 es posible observar que se recupera la estructura fina de los picos de resonancia.

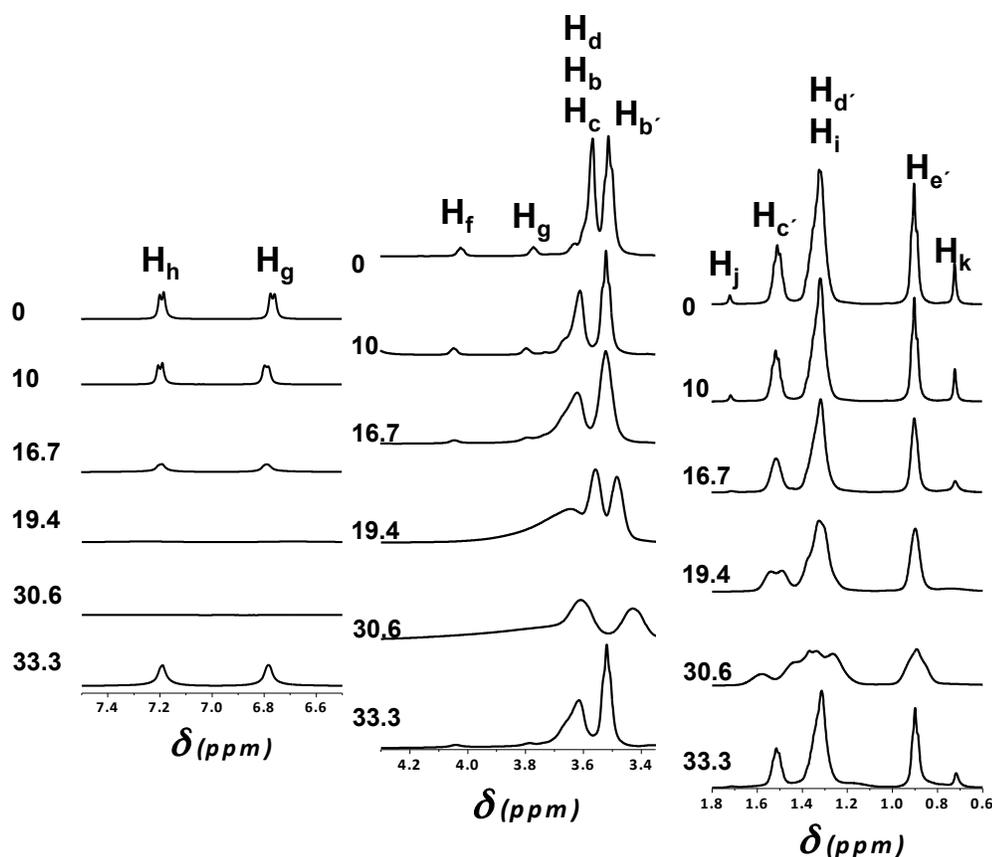


Figura 3.7: Detalle de los espectros de ^1H -RMN de las soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74, a diferentes valores de ω_0 : 0, 10, 16.7, 19.4, 30.6 y 33.3

Las moléculas de agua pueden interaccionar atractivamente tanto con los segmentos hidrofílicos de óxido de etileno en el surfactante TX-100 como con las moléculas de n-hexanol mediante puentes de hidrógeno. Un aumento en la probabilidad de formación de puentes de hidrógeno viene de la mano con un aumento en la concentración de agua, lo que genera que los picos de resonancia de las especies que interaccionan se desplacen hacia campo bajo, debido a que se produce una disminución en la densidad electrónica alrededor del dador de protones, como puede ser observado en la Figura 3.8. Esto se justifica a nivel molecular porque los componentes de la mezcla están en exceso con respecto a la cantidad de agua. Todos los componentes presentan grupos funcionales que pueden interactuar mediante puentes de hidrógeno, excepto el ciclohexano, que es considerado como solvente. La presencia de una mayor cantidad de agua afecta la densidad electrónica de las posibles redes de puentes de hidrógeno ya formadas, justificando así el desplazamiento hacia campo bajo. Los distintos símbolos de

la Figura 3.8 representan las redes de puentes de hidrógeno que se forman, y que podrían presentar características diferentes. Un efecto similar ha sido observado en el Capítulo 2 en el estudio de asociación de n-hexanol en ciclohexano, donde un aumento en la concentración de alcohol produce un desplazamiento del pico de resonancia del protón hidroxílico hacia campo bajo.

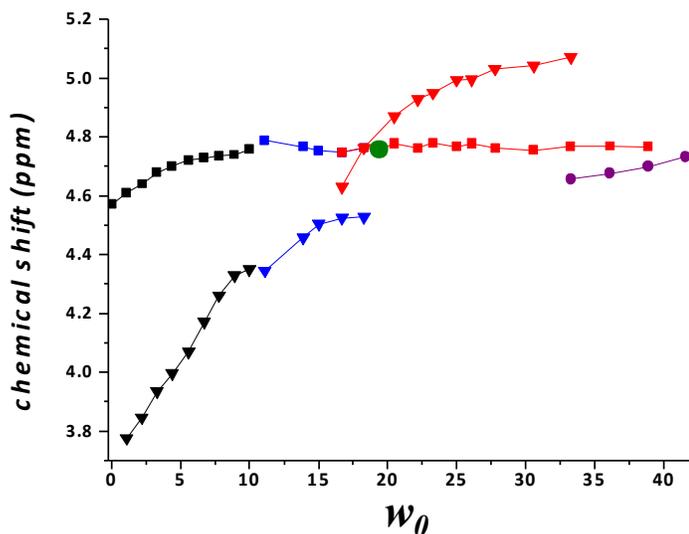


Figura 3.8: Desplazamiento químico de protones intercambiables en soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74 en función de ω_0 . Los diferentes colores corresponden a posibles redes de puentes de hidrógeno. (▼): protones del agua, (■): protones hidroxílicos, (●) protones hidroxílicos y agua

El hecho de que los picos de resonancia de los protones del agua e hidroxílicos sean distinguibles en el espectro $^1\text{H-NMR}$, es un indicativo de que el intercambio químico entre los protones del agua e hidroxilos está ocurriendo entre ambientes químicos diferentes. Es posible, empleando la separación de ambos picos de resonancia, obtener la velocidad de intercambio químico (k , s^{-1}) [93]. La separación entre ambos picos de resonancia es indicativa de qué tan rápido está ocurriendo este proceso. Una baja velocidad de intercambio se observa cuando $k \ll \nu_{\text{HaHa}'} - \nu_w$, donde $\nu_{\text{HaHa}'} - \nu_w$ es la separación de los picos de resonancia de los protones del agua e hidroxílicos, respectivamente. Una velocidad de intercambio intermedia ocurre cuando se inicia la fusión de ambos picos de resonancia en uno, y $k \sim \nu_{\text{HaHa}'} - \nu_w$. Por último, se observa un intercambio rápido ($k \gg \nu_{\text{HaHa}'} - \nu_w$) cuando el espectro de RMN muestra solo una línea, indicando que el intercambio no es detectable a la escala de tiempo de RMN (0.4 ms). En la Figura 3.9 se observa que la separación de los picos de resonancia del agua y

protones hidroxílicos disminuye conforme aumenta la cantidad de agua, indicando que el intercambio químico entre ambas especies ocurre más rápido conforme aumenta w_o , y por tanto ocurre un aumento en la velocidad de intercambio entre los protones del agua e hidroxilos. Los valores negativos observados entre w_o 20 y 35 son debidos a que el desplazamiento químico del agua está más desapantallado con respecto al pico de resonancia de los protones hidroxílicos. Kumar ha observado que tanto el agua como los hidroxilos aparecen en un pico de resonancia, lo que ha sido atribuido a que el intercambio químico entre estas especies ocurre rápido en todo el rango de concentración de agua que han estudiado [144].

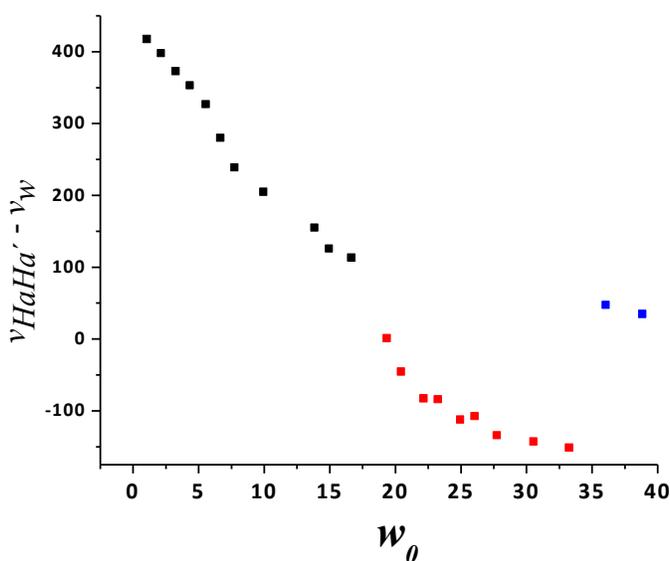


Figura 3.9: Separación de los picos de resonancia de los protones hidroxílicos ($\nu_{HaHa'}$) y agua (ν_w) en función de w_o .

Como se puede apreciar en las Figuras 3.6 y 3.7, los espectros de ^1H -RMN de las mezclas ensayadas pasan por cambios drásticos al adicionar agua, como ensanchamientos y desplazamientos de los picos de resonancia, lo que es un indicativo de que las moléculas ensayadas están perdiendo movilidad conforme se adicionan pequeñas cantidades de agua. La movilidad molecular puede ser seguida por DOSY, técnica bidimensional que puede ser empleada para obtener las constantes de difusión traslacional (D) de moléculas presentes en una mezcla. El valor de D de n-hexanol en ciclohexano 1.6 M es de $5.7 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 / \text{s}$, mientras que en presencia de TX-100 toma un valor de $4.69 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 / \text{s}$. Esta disminución en la constante de difusión en presencia de

surfactante está relacionada con la formación de complejos entre moléculas de TX-100 y n-hexanol, considerando que este último está en exceso. Cabe destacar que TX-100, a la concentración trabajada, no es soluble en ciclohexano, lo que podría explicar que la presencia de n-hexanol da lugar a la formación de un complejo entre TX-100 y n-hexanol. Por otro lado, se observa un aumento en la viscosidad de $0.95 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ a $1.30 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ en presencia de TX-100. Una variación en la viscosidad de la solución genera cambios en las constantes de difusión experimentales [188, 189]. En presencia de agua, la viscosidad de las soluciones aumenta conforme aumenta la cantidad de agua, como se observa en la Figura 3.10. Por sobre w_o 15 se observa un agudo aumento en la viscosidad, la que se estabiliza a w_o 25. Estos agudos cambios en la viscosidad están relacionados con cambios en la morfología de los agregados, inducidos por la adición de agua [27, 190].

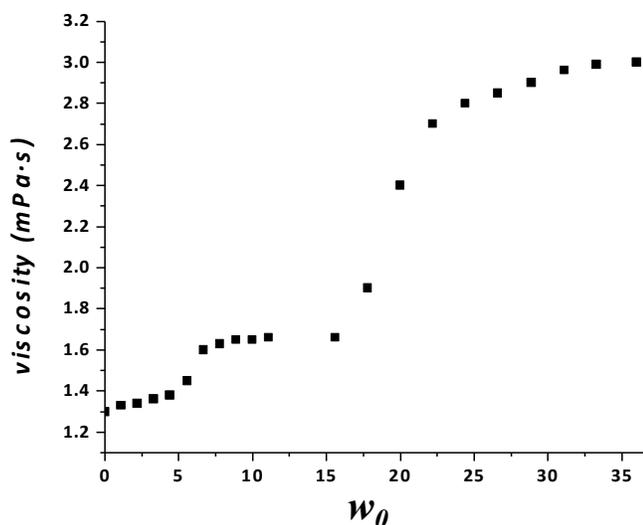


Figura 3.10: Viscosidad de las soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74 en función de w_o .

En la Figura 3.11 se muestra la variación en las constantes de difusión de las moléculas presentes en solución en función w_o . Nuevamente se observan tres rangos, dentro de los mismos valores descritos en la sección anterior. En el primer rango, entre w_o 0 y 15, no se observa mayor variación en el coeficiente de difusión del segmento hidrocarbonado del n-hexanol y TX-100. Es interesante destacar que los coeficientes de difusión correspondientes a los protones hidroxílicos de n-hexanol, TX-100 y los protones del agua presentan un valor intermedio entre los coeficientes de difusión

correspondientes a los protones alifáticos de TX-100 y n-hexanol, lo que es indicativo de que estas especies están interaccionando mediante puentes de hidrógeno, lo que restringe su movilidad en comparación con los componentes individuales más móviles. Esto es coherente con la formación de redes de puentes de hidrógeno estimuladas por la adición de agua, lo que explica la restricción de movimiento que están experimentando las moléculas de agua y protones hidroxílicos al formar la red. Se debe destacar que los coeficientes de difusión obtenido por DOSY de una mezcla de compuestos, son dependientes de la forma y peso molecular de la molécula en estudio, y los patrones de difusión cambian en presencia de especies que puedan interaccionar mediante puentes de hidrógeno [188]. Por otro lado, debido a que en este rango el intercambio químico está ocurriendo lento, la movilidad difusional de los protones intercambiables entre dos moléculas con diferente coeficiente de difusión refleja la movilidad promedio de las dos moléculas [191, 192]. En este rango, los coeficientes de difusión del agua e hidroxilos tienden a disminuir conforme aumenta w_o .

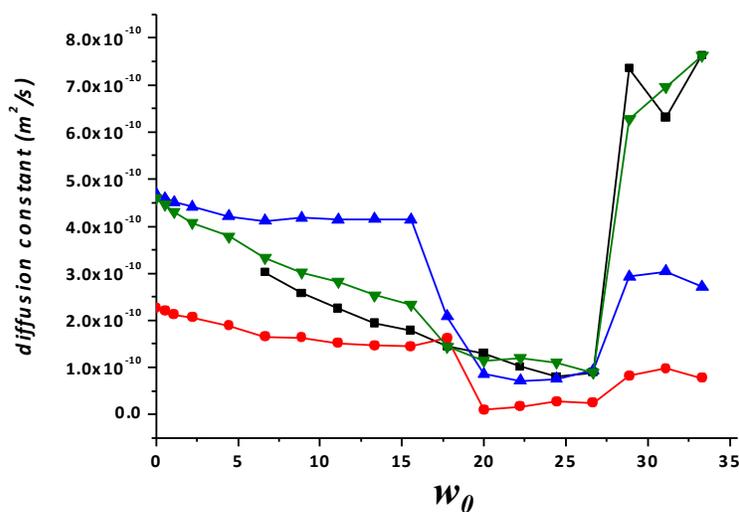


Figura 3.11: Coeficientes de difusión obtenidos mediante DOSY-RMN en función de w_o de: TX-100 (●), protones hidroxílicos de n-hexanol y TX-100 (▼), protones del agua (■) y protones de la cadena alquílica del n-hexanol (▲).

Por sobre valores de w_o 15 y hasta 26, se observa que los coeficientes de difusión de las moléculas en estudio disminuyen notablemente. En este rango hay una transición hacia la formación de un nuevo agregado con una morfología diferente a una micela reversa, a juzgar por la birrefringencia que presentan estas soluciones (Figura 3.2). El coeficiente de difusión de los protones hidroxílicos sufre una pequeña baja, alcanzando

valores similares a los coeficientes de difusión del agua y n-hexanol. Se observa que el coeficiente de difusión del agua mantiene la tendencia a descender y a igualarse con el coeficiente de difusión de los protones hidroxílicos.

El siguiente rango se observa dentro de valores de w_o 26 y 33.3. Es interesante destacar que las constantes de difusión del agua son mayores en comparación con los rangos de w_o descritos anteriormente. Se puede entonces concluir que las moléculas de agua se encuentran en el núcleo de un agregado donde tienen mayor libertad de movimiento. Una morfología adecuada para esta explicación es la micela reversa, la que en su interior puede almacenar tanto agua libre como agua ligada. Sin embargo, hay que destacar que las soluciones dentro de este rango presentan birrefringencia, lo que no calza con la formación de micelas reversas. Los coeficientes de difusión de TX-100 y n-hexanol tienden a aumentar en comparación con el segundo rango, y se puede ver que ambos coeficientes de difusión aumentan en igual proporción.

El proceso de relajación de RMN entrega valiosa información sobre movimiento molecular, en específico, con cambios que se relacionan con movimientos rotacionales y traslacionales de las moléculas en cuestión. Las moléculas de agua en estado líquido (agua pura o *bulk*) forman una red tridimensional, a través de interacciones de puentes de hidrógeno. Cada molécula de agua interacciona con cuatro moléculas más, formando un arreglo tetraédrico. La red que forman estas moléculas no es estática, debido a que los enlaces de puentes de hidrógeno están constantemente formándose y rompiéndose. Esta dinámica produce que los valores observados de tiempos de relajación espín-red (T_1) y espín-espín (T_2) en agua pura a 25° C sean similares [193-195]. Al disminuir la temperatura del agua bulk, se promueve la formación de enlaces de puentes de hidrógeno, y los valores de T_2 disminuyen notablemente, y $T_2 < T_1$. Si el agua está en presencia de solutos como macromoléculas, los cuales puedan interaccionar con el agua mediante enlaces de puentes de hidrógeno o de tipo electrostático, las moléculas de agua pasan a formar la primera capa de hidratación de las macromoléculas [196, 197], disminuyendo así su movilidad. Los valores de T_2 experimentales son bajos si en solución hay especies paramagnéticas o moléculas formando puentes de hidrógeno con otras especies. Valores pequeños de T_2 indican menor movilidad molecular, y están íntimamente ligados con la dinámica y empaquetamiento molecular. Los tiempos de

relajación T_1 son sensibles a cambios en movimientos traslacionales y rotacionales [67], mientras que los tiempos de relajación T_2 son altamente sensibles a cambios rotacionales del protón observado, pero relativo a la misma especie de protones. Los valores de T_2 disminuyen por reacciones de intercambio químico (cuando en la mezcla analizada hay sustancias con grupos hidroxilo, carboxílico, amino). Este efecto es la base de la Resonancia Magnética de Imagen (MRI), técnica con capacidad de distinguir modificaciones en la movilidad y grado de organización de las moléculas de agua alrededor de tejidos [93, 198]. Si el agua es puesta en contacto con una interfase o rellenando cavidades nanométricas (confinada), algunas propiedades del agua cambian, siendo diferentes estas propiedades entre agua confinada y agua libre [53, 54]. Por ejemplo, el agua ligada presenta una menor polaridad, una mayor viscosidad y una menor constante dieléctrica que el agua libre [199, 200]. La presencia de iones, moléculas grandes e interfases, bloquea el dinamismo de la formación / ruptura de los enlaces de puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua [54]. Los agregados que se forman en un medio no acuoso presentan dominios hidrofílicos, los cuales también pueden estructurar agua. Este fenómeno ha sido observado por algunos autores en micelas reversas iónicas [68, 201] y no iónicas [69, 154, 202], encontrando que el agua presente en esos agregados puede estar como agua libre y como agua ligada y / o estructurada.

En la Figura 3.12 se muestran los tiempos de relajación del agua en función de ω_o . En las soluciones ensayadas, se ha observado que el valor de T_2 es mucho más pequeño que T_1 . No ha sido posible medir el valor de T_2 del agua por debajo de ω_o 8, debido a que el pico de resonancia del agua presenta una baja intensidad. Además, T_2 no presenta mayor variación hasta ω_o 25. Como fue mencionado anteriormente, valores bajos de T_2 indican una alta estructuración y una menor movilidad molecular, lo que se relaciona con la participación de las moléculas de agua tanto en la primera esfera de hidratación del segmento de óxido de etileno, como en una red de puentes de hidrógeno, por lo que a valores bajo ω_o 25 estamos en presencia de agua ligada primaria y secundaria. No es posible diferenciar el agua primaria de la secundaria con estos resultados. Por sobre ω_o 25, es posible observar un agudo aumento en el valor de T_2 , alcanzando este al valor de

T_1 . A valores de ω_o 30, el valor de T_2 alcanza valores similares a T_1 , lo que se relaciona con la presencia de agua libre dentro de este rango.

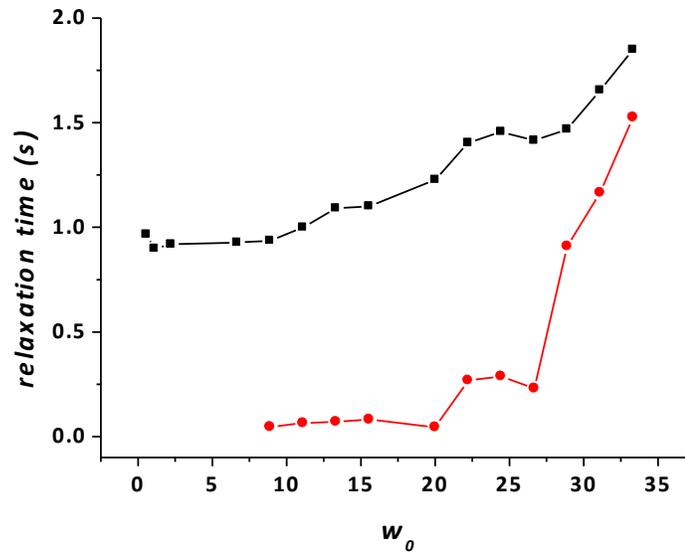


Figura 3.12: Tiempos de relajación T_1 (•) y T_2 (■) del pico de resonancia del agua en función de ω_o

En la Figura 3.13 se muestran los tiempos de relajación T_1 y T_2 correspondientes al segmento de óxido de etileno de TX-100. Se puede apreciar que los tiempos de relajación T_1 permanecen casi constantes dentro del rango de ω_o entre 0 y 15, y que estos tienden a aumentar hasta un máximo de alrededor de 1.5 s a ω_o 25, desde donde se observa que vuelve a disminuir conforme aumenta ω_o .

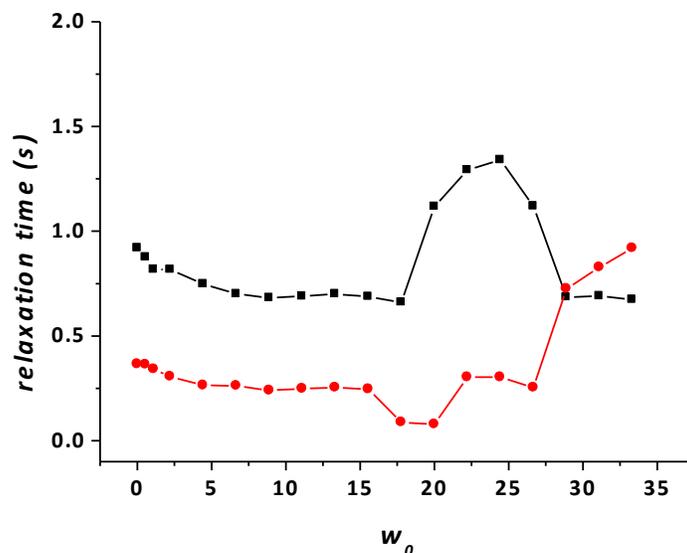


Figura 3.13: Tiempos de relajación T_1 (■) y T_2 (●) del pico de resonancia de los protones de PEO (Hb) en función de w_0

Los valores de T_1 son mayores que el tiempo de relajación T_2 dentro del rango de w_0 0 y 25. La diferencia entre los valores de T_1 y T_2 dentro del rango de w_0 15 y 25 aumenta, debido a que T_2 disminuye. Esto es relativo a una pérdida de movilidad de este segmento. También se puede apreciar en la Figura 3.13 que los valores de T_2 son mayores con respecto a los valores de T_1 por sobre valores de w_0 30. Esto es un indicativo del aumento en la movilidad de este segmento.

De forma complementaria a los resultados de RMN presentados anteriormente, se han utilizado sondas para estudiar el proceso de asociación de TX-100. En específico, se ha usado la sonda fluorescente ácido 8-anilinoftaleno-1-sulfónico (ANS) para estudiar el comportamiento del agua confinada que ha sido encontrada con los experimentos de RMN. Esta sonda ha sido ampliamente utilizada para caracterizar la formación de agregados tipo micela reversa. ANS presenta un estado excitado de mayor momento dipolar que el estado basal, siendo una sonda ideal para estudiar cambios de polaridad. En la Figura 3.14 se observa que la respuesta espectroscópica de esta sonda en las soluciones de TX-100 es dependiente de la concentración de agua, y relativo a cambios en la polaridad del medio. ANS presenta una alta intensidad de fluorescencia a 465 nm cuando está disuelta en las soluciones de TX-100 en ausencia de agua, indicando que el entorno de la sonda es apolar, similar al entorno que sentiría una solución de ANS en octanol : hexano y octanol puro [203]. Conforme aumenta la cantidad de agua, la

intensidad de fluorescencia disminuye y la posición del pico de emisión se desplaza hacia bajas energías, como puede verse en la Figura 3.15. A w_o 6 se observa una distorsión de la intensidad de fluorescencia, debido a que este punto presenta turbidez, punto que ha sido omitido en la gráfica. El agua produce un efecto de apagamiento de la fluorescencia de esta sonda, debido a que un ambiente polar estimula una mayor flexibilidad en la molécula, con lo que aumenta la velocidad de desactivación no radiativa y por tanto disminuye el rendimiento cuántico de fluorescencia. El descenso en la intensidad de fluorescencia presenta dos claras tendencias. Un rápido descenso en la intensidad de fluorescencia se observa hasta w_o 10, y por sobre este valor la intensidad disminuye menos abruptamente. A altos valores de w_o , el máximo de fluorescencia se desplaza hacia 487 nm, como se ve en la Figura 3.15, indicando que la polaridad del medio en el cual se encuentra disuelto ANS se mantiene constante. Valores similares en el máximo de fluorescencia de ANS se han visto en soluciones de tetraetilenglicol/agua [61], indicando que esta sonda se ubica preferencialmente en la interfase de los agregados inversos, ocluida entre las unidades de óxido de etileno de TX-100. Por otro lado, el quiebre observado en la Figura 3.15 ha sido asociado por Gleen y colaboradores al punto donde ocurre la formación de micelas reversas de AOT, un surfactante aniónico, en n-alcános [204]. Sin embargo, la interpretación dada por Gleen y colaboradores no puede ser extrapolada al sistema estudiado, ya que este quiebre no refleja la formación de micelas reversas de TX-100.

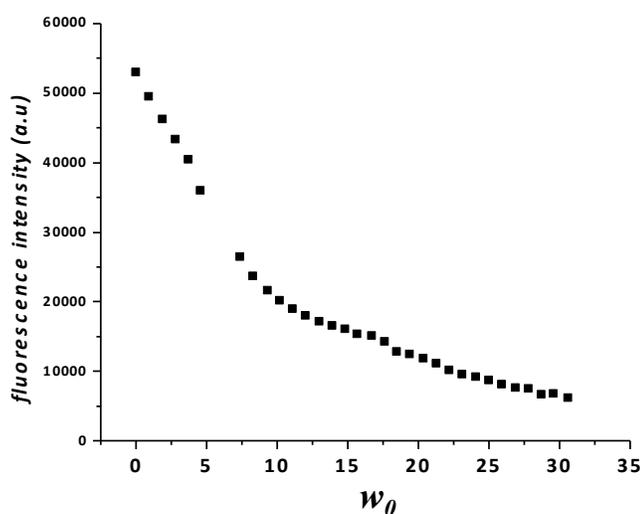


Figura 3.14: Intensidad de fluorescencia de ANS en soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74 en función de w_o .

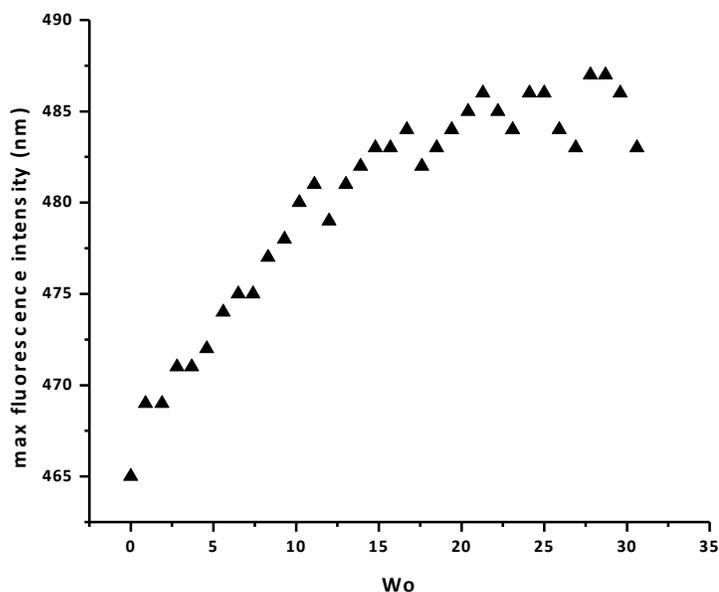


Figura 3.15: Longitud de onda del máximo de intensidad de fluorescencia de ANS en soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74 en función de w_o .

Otra molécula que ha sido utilizada ampliamente como sonda para el estudio de formación de micelas reversas es azul de metileno (MB). Al igual que ANS, se ha observado que la respuesta espectroscópica de esta sonda es dependiente de la cantidad de agua. Qi y colaboradores han encontrado que a w_o 5,3 ocurre la transición de agua ligada a agua libre en soluciones de TX-100 : ciclohexano : n-hexanol de similar composición a las soluciones ensayadas [69]. En la Figura 3.16 es posible observar que a valores de w_o menores a 5 aparece una banda de absorción ubicada a 520 nm, que genera que las soluciones, inicialmente azules, se tornen de color rosa. La formación de esta banda de absorción se ha asociado a la formación de un complejo 1:1 entre MB y TX-100 [60], y relacionado con un efecto de confinamiento de las moléculas de MB en el interior de una micela reversa. Se debe tener en cuenta que MB es una molécula catiónica, y podría formar complejos con los segmentos de óxido de etileno de TX-100. Varios autores han asumido, que en ausencia de agua, se da lugar a la formación de agregados de TX-100, en específico micelas reversas, una conclusión que según nuestros resultados es errónea. La aparición de esta banda de absorción presenta una alta componente de transferencia de carga, y donde participa el anillo aromático de TX-100. Esta banda de absorción también ha sido observada cuando MB se extrae con tolueno desde una solución acuosa básica [205]. Por sobre w_o 5, las soluciones se tornan azules.

Los espectros UV-vis de la Figura 3.16 muestran que en este punto se hace más notoria la aparición de una banda de absorción a 634 nm, que presenta similitud con la forma de la banda de azul de metileno en agua, que absorbe a 666 nm [88, 136, 206-208]. Esta se encuentra desplazada 32 nm con respecto al espectro de MB en agua. Esto puede deberse a la presencia de un entorno de menor polaridad [209], comparado con el agua bulk. Cabe destacar que la concentración local de MB (con respecto a la cantidad de agua adicionada, no al volumen final) está dentro del rango en el que aparecen agregados de este tinte (dímeros, trímeros y polímeros). Sin embargo, el espectro UV-vis muestra que esta molécula se encuentra en forma monomérica y probablemente está solvatada no sólo por moléculas de agua, sino también con los grupos funcionales del alcohol y TX-100, lo que explica el desplazamiento hacia menores longitudes de onda del máximo de absorción de MB. Según lo visto anteriormente, en ausencia de agua no existen agregados de TX-100 tipo micela reversa, lo que se contradice con lo descrito en la literatura [60, 69], quienes fundamentan la existencia de micelas reversas de TX-100 secas. De forma comparativa con sondas de polaridad clásicas, el espectro de UV-vis de MB no presenta una dependencia regular con la polaridad del medio. Se ha destacado ampliamente la capacidad de esta sonda de formar complejos con TX-100, los que muestran un marcado cambio de color, como puede observarse en la Figura 3.16. Sin embargo, este cambio no se puede atribuir a la presencia de un agregado de TX-100 en ciclohexano, más bien estos cambios reflejan el proceso de hidratación de los segmentos hidrofílicos de TX-100.

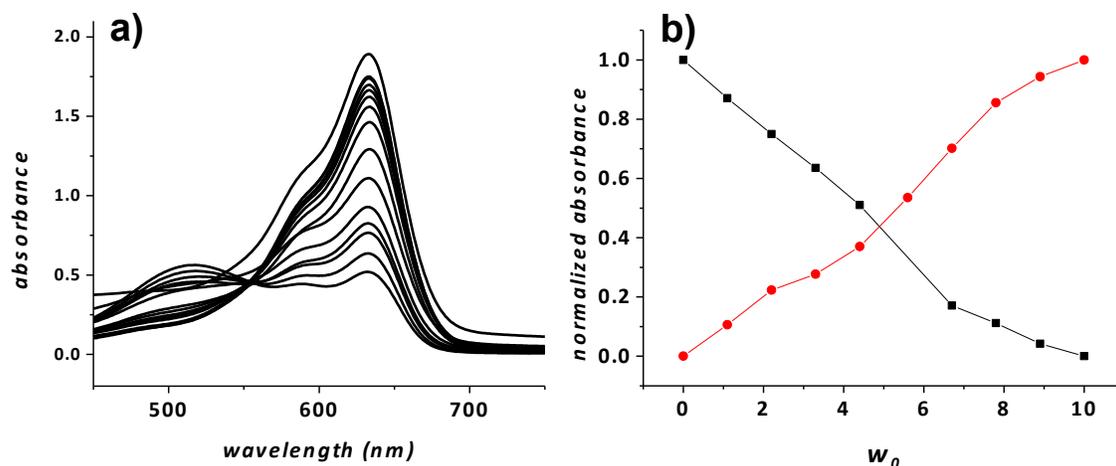


Figura 3.16: a) Espectro UV-vis de azul de metileno $1 \cdot 10^{-5}$ M en soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74 en función de w_o . b) Variación de las absorbancias normalizadas a 520 (■) y 634 nm (●) en función de w_o

Una de las técnicas más utilizadas para caracterizar el tamaño de partículas coloidales como micelas es la dispersión de luz dinámica (DLS). En la Figura 3.17 se muestran los tamaños promedio en función de w_o . En el rango de w_o entre 0 y 15 las soluciones muestran tamaños aparentes con altos índices de polidispersidad, lo que se relaciona con la ausencia de agregados. Por sobre w_o 15 se observa que los tamaños promedio de las soluciones adquieren homogeneidad, junto con disminuir el índice de polidispersidad y desviación estándar de los tamaños promedios obtenidos, lo que indica que por sobre esta concentración de agua se observa la formación de agregados. De acuerdo a lo visto en el diagrama de fases de la Figura 3.1, junto con las fotografías con luz polarizada de la Figura 3.2, por sobre w_o 15 se observa la formación de estructuras birrefringentes lamelares.

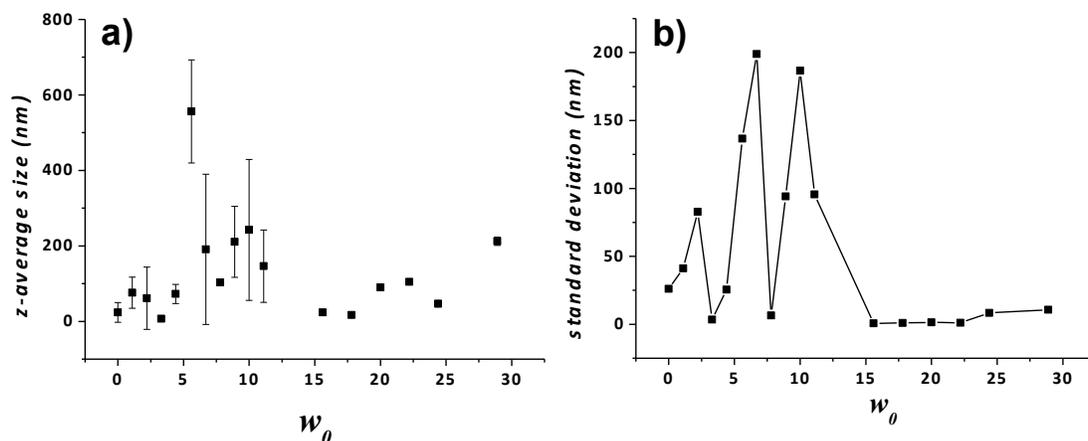


Figura 3.17: a) Tamaño promedio y b) desviación estándar de las mediciones de DLS de las soluciones de TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74 en función de w_0

3.4 Conclusiones

Se ha estudiado el proceso de asociación de TX-100 en ciclohexano : n-hexanol y en presencia de trazas de agua ,ediante ^1H -RMN, DLS y empleando sondas de absorción UV-vis y fluorescentes. Se ha observado que la formación de agregados de TX-100 es fuertemente dependiente de la presencia de agua en la mezcla, aunque también se cree que hay complejos de TX-100 y n-hexanol participando en este proceso de agregación. Los resultados sugieren que anterior al proceso de autoasociación de TX-100 debe ocurrir la hidratación de los segmentos hidrofílicos de cada molécula anfifílica, para formar los llamados preagregados. Conforme aumenta la concentración de agua, aumenta la cantidad de moléculas de agua hidratando estos segmentos, hasta alcanzar un máximo de hidratación. Por sobre este máximo de hidratación, y relativo a la presencia de agua ligada secundaria, ocurre la asociación inversa de TX-100. Los desplazamientos hacia campo bajo de los protones hidroxílicos y del agua se relacionan con la formación de redes de puente de hidrógeno, en las cuales se ven envueltas las moléculas presentes. DOSY ha permitido evaluar las constantes de difusión de las moléculas en cuestión, observando la presencia de rangos, los cuales se asocian a la presencia de preagregados micelares a $w_0 < 15$ y posterior agregación de TX-100 a w_0 mayores a 15, y presencia de agua ligada hasta w_0 30. Los experimentos de tiempos de relajación T_1 y T_2 han permitido distinguir y caracterizar los diferentes tipos de agua que se forman dentro de los agregados, aunque no ha sido posible distinguir entre el agua

ligada primaria y agua ligada secundaria. La presencia de agua ligada y/o estructurada se ha observado dentro de rangos de w_o entre 1,1 y 22, mientras que el agua libre comienza a aparecer a valores de w_o mayores a 30. El uso de sondas ha permitido caracterizar la polaridad del entorno en el cual se encuentra disuelta la sonda, pero no se ha encontrado concordancia entre los cambios espectroscópicos observados y la formación de agregados. El proceso de asociación de TX-100 no puede ser descrito usando estas sondas. Empleando DLS se ha visto la presencia de agregados por sobre valores de w_o de 15.

Se ha encontrado, empleando las diferentes técnicas, que la autoagregación de las cadenas de TX-100 es fuertemente dependiente de la presencia de agua. La presencia de agua en las soluciones de TX-100 estimula la formación de interacciones de puente de hidrógeno entre el agua y las unidades de óxido de etileno y grupos hidroxilos de n-hexanol, las cuales pueden ser consideradas como las principales fuerzas para que ocurra la autoagregación. Los resultados obtenidos para el sistema TX-100 : n-hexanol : ciclohexano 1:16:74, son similares a lo observado por Kumar, pero en nuestro caso no se observa la formación de micelas reversas a baja concentración de agua, debido a que en la zona de baja concentración de agua se observa primero la formación de preagregados micelares, y esta zona se extiende hasta observar la formación de estructuras tipo cristal líquido.

Capítulo 4: Síntesis de PEO₄₃-*b*-PCL₁₂₋₁₄ y estudio de agregación en soluciones de polímero / ciclohexanona en presencia de agua

4.1. Introducción

Los copolímeros en bloque están compuestos por dos o más segmentos de polímeros que tienen composición química diferente [210]. En un contexto tecnológico, los copolímeros en bloque son materiales importantes, debido a sus potenciales aplicaciones en química, ciencia de los materiales, así como en contribuciones del ámbito biológico y ciencias médicas [211]. Los copolímeros en bloque anfífilicos, los cuales presentan bloques con distinta hidrosolubilidad, son capaces de generar estructuras autoensambladas como micelas, las que pueden ser empleadas en aplicaciones farmacéuticas [212, 213]. La formación de estas estructuras supramoleculares puede llevarse a cabo en medios con diferentes características, los cuales determinan las propiedades de estas estructuras [214-217].

Gran atención han recibido los copolímeros en bloque anfífilicos que presentan segmentos hidrofílicos de poli(óxido de etileno) (PEO). Este tipo de polímeros ha sido estudiado extensivamente en solución acuosa, medio en el cual forman agregados de diferente morfología. La morfología de los agregados puede ser modulada cuando el polímero es parte de un sistema ternario polímero / agua / aceite [26, 218]. Existe una familia de copolímeros en bloque, denominados Pluronic[®], compuestos por bloques hidrofílicos de PEO e hidrofóbicos de poli(óxido de propileno) (PPO). Estos copolímeros presentan diagramas de fases ternarios ricos en estructuras ensambladas y de variada morfología, tal como se muestra en la Figura 4.1.

De forma opuesta al proceso de agregación de polímeros en bloque compuestos por unidades hidrofílicas de PEO en medio acuoso, en medio no acuoso las cadenas macromoleculares de este tipo de polímero tienden a estar disueltas como unímeros, independiente de la concentración de polímero. Esto ocurre debido a que PEO es soluble

tanto en solventes acuosos como en solventes apolares. PEO además presenta la característica de que puede modular interacciones intramoleculares según el solvente en el cual se disuelva, haciendo que PEO presente una amplia solubilidad en solventes orgánicos. Por tanto, en medio no acuoso la agregación no depende de la concentración de polímero, más bien depende de la presencia de agua. En la Figura 4.1 se muestra el diagrama de fases del sistema ternario Pluronic F127 / butanol / agua [218]. La mezcla ternaria, en distintas proporciones, forma agregados con diferente morfología, dentro de ellas la micela reversa (L_2) y lamela (L_α). Cada morfología abarca un dominio en el diagrama de fases ternario, y los dominios de algunas morfologías están bastante cerca. En la interfase de estos dominios las morfologías observadas pueden coexistir y transformarse irreversiblemente una en otra. Por otro lado, este cambio se puede observar siguiendo la línea de dilución entre 0 y 100 % de agua

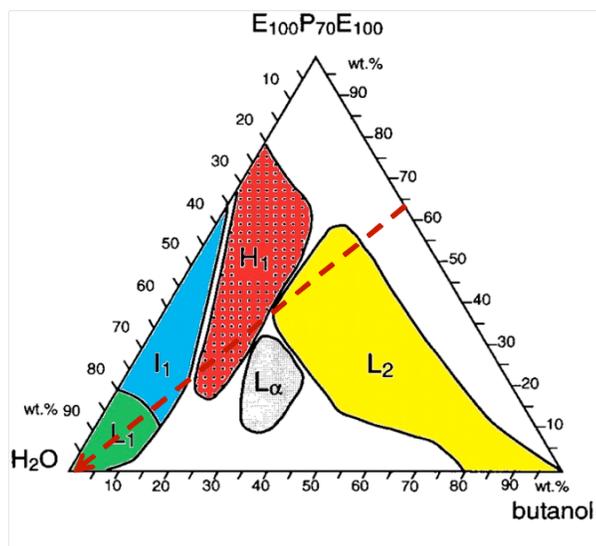


Figura 4.1. Diagrama de fases correspondiente al sistema ternario PEO_{100} - b - PPO_{70} - b - PEO_{100} (Pluronic F-127) / Butanol / Agua. L_2 : micela reversa; L_α : lamela; H_1 : hexagonal normal; I_1 : cúbica normal; L_1 : micela normal. Imagen reproducida de referencia [218]

Este proceso de agregación, inducido por la adición de agua, puede ser estudiado y monitoreado utilizando técnicas espectroscópicas. La formación de estas estructuras ha sido ampliamente evidenciada usando sondas fluorescentes y de absorción en UV-vis, cuyo comportamiento fotofísico es altamente dependiente de la polaridad del medio, debido a que los agregados de moléculas anfífilas poseen dominios de diferente polaridad. Además, se destaca el uso de RMN para estudiar cambios en la dinámica de

las moléculas en la mezcla cuando se produce el autoensamble, como se vio en los Capítulos anteriores.

En este Capítulo se aborda el estudio de agregación reversa del copolímero en bloque anfílico de PEO con unidades hidrofóbicas de poli(ϵ -caprolactona) (PCL). Estos copolímeros se autoensamblan en solución acuosa formando agregados de variada morfología, los cuales pueden modularse mediante la selección de solventes afines a uno u otro bloque del polímero [219-221]. Estos copolímeros y sus agregados han sido ampliamente estudiados como sistema de transporte y liberación de sustancias de interés farmacológico [222, 223]. Se ha encontrado sólo un estudio relativo a la asociación de PEO-*b*-PCL en solvente orgánico (cloroformo/isopropanol/agua). Los autores han visto que copolímeros de PEO-*b*-PCL con segmentos de PCL suficientemente largos en comparación con los de PEO, tienden a formar microemulsiones agua en aceite [224]. En el presente Capítulo se muestra la síntesis del copolímero en bloque de poli(óxido de etileno)-*b*-poli(ϵ -caprolactona), (PEO-*b*-PCL) empleando la polimerización por apertura de anillo (ROP) [223, 225]. Esta técnica se destaca por entregar copolímeros en bloque monodispersos, es decir, con estrecha distribución de tamaño. Se ha elegido esta técnica debido a que con ella se puede obtener poliésteres como poli(ϵ -caprolactona) y poli(ácido láctico), ambos biocompatibles. La reacción de polimerización procede mediante la apertura de anillo de la ϵ -caprolactona, en presencia de octanoato de estaño que actúa como catalizador. Para la obtención de copolímeros dibloque, es necesario utilizar un homopolímero o macroiniciador que contenga sólo un hidroxilo terminal al final de cada cadena polimérica. En esta reacción de polimerización, el grupo hidroxilo terminal de cada macroiniciador de PEO actúa como el centro activo de la polimerización. La formación de los copolímeros en bloque se ha corroborado mediante ^1H -RMN y MALDI-TOF. Además, se ha ensayado la solubilidad del copolímero en bloque en diferentes solventes, y contrastados estos resultados con parámetros de solubilidad polímero/solvente. Se ha estudiado la formación de agregados de copolímero en bloque en mezclas de ciclohexanona/agua a través de ^1H -RMN, DLS y fluorescencia.

4.2. Experimental

2.1 Reactivos: El polímero comercial poli(óxido de etileno) monometil éter (Sigma Aldrich, M_n 2000 g / mol) fue secado en estufa de vacío a 35 °C durante dos días. La síntesis de los copolímeros dibloque se realizó utilizando ϵ -caprolactona (Sigma Aldrich, 97 %) previamente destilada y guardada bajo atmósfera de nitrógeno; octanoato de estaño, SnOct₂ (Sigma Aldrich, 97 %) se utilizó tal cual fue recibido. Se usaron THF y n-hexano grado analítico para purificar el crudo de reacción de la polimerización. Se utilizó THF grado cromatográfico para preparar las muestras analizadas en MALDI-TOF.

2.2 Instrumentación: Los espectros de ¹H-RMN utilizados para caracterizar los copolímeros sintetizados fueron adquiridos en un espectrómetro RMN Bruker Avance de 300 MHz, mientras que los ensayos de agregación fueron adquiridos en un espectrómetro RMN Bruker Avance de 600 MHz. La adquisición de espectros de masas se realizó en un equipo MALDI-TOF Microflex (Bruker). Previo a la obtención de los espectros se realizó una calibración del equipo con un estándar externo correspondiente a una mezcla de péptidos de masas 1000-3000 Da (Bruker). El tamaño aparente de las soluciones fue analizado mediante dispersión de luz dinámica (DLS) en un Nano ZS (Malvern), equipado con láser de 633 nm y detector a 173 °.

2.3 Metodología

- **Síntesis del copolímero en bloque PEO₄₃-*b*-PCL₁₂₋₁₄:** La síntesis del copolímero se llevó a cabo por duplicado. A cada tubo de reacción tipo Schlenk, conectado a una línea de vacío, se adicionó 6 mL (54 mmol) de ϵ -caprolactona bajo atmósfera de nitrógeno, el que contenía previamente 5 g (2.5 mmol) de PEO. La mezcla fue agitada y homogeneizada para luego adicionar una gota de SnOct₂ bajo atmósfera de nitrógeno. Se procedió a realizar tres ciclos de congelamiento / vacío / descongelamiento con el fin de eliminar el aire disuelto en la solución. Finalizados los tres ciclos, los tubos fueron puestos en atmósfera inerte, sellados y llevados a un baño de glicerina a 135 °C por 24 horas. Luego del tiempo señalado, el crudo obtenido, de apariencia viscosa, fue disuelto en THF y precipitado en un exceso de n-hexano frío. El precipitado obtenido fue

recolectado mediante filtración, lavado con n-hexano y secado en estufa de vacío a 35 °C por dos días hasta peso constante. Rendimiento: 98 % (11 g) [223, 225]

- **¹H-RMN:** Se realizaron espectros de ¹H-RMN para la caracterización de los polímeros, usando métodos convencionales. Para cada muestra se utilizó una concentración de polímero de 0,03 g / mL, en CDCl₃ como solvente. En los ensayos de agregación, se utilizó ciclohexanona no deuterada como solvente, y como referencia para el equipo de RMN se utilizó acetona deuterada dentro de un tubo coaxial, como el que se muestra en la Figura 4.2:

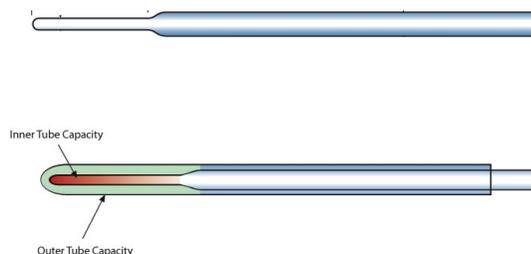


Figura 4.2. Tubo coaxial utilizado para las mediciones de RMN.

- **MALDI-TOF.** Todas las muestras se analizaron a igual concentración (3 mg / mL) en agua o THF como solvente. Para la obtención de espectros las diferentes soluciones de las muestras se mezclaron con la matriz ácido α -ciano-4-hidroxicinámico (preparada a una concentración de 10 mg/mL en acetonitrilo/ácido fórmico 0.1 % v/v 1:1) en razón 1:1 y se depositaron 2 μ L de cada mezcla en una placa porta muestra.

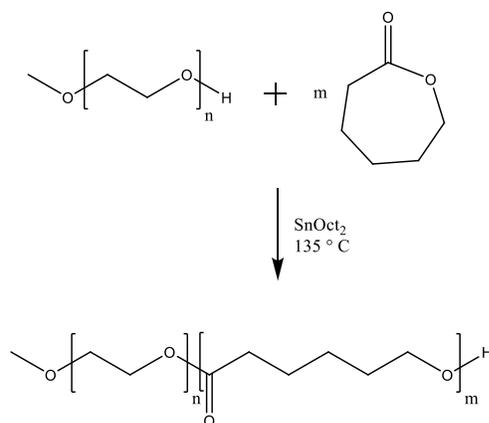
-**DLS.** La medición de las muestras se realizó a 25 °C en una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Previo a la medición, las muestras se estabilizaron a 25 °C por 2 minutos. Cada medida fue realizada por triplicado.

4.3. Resultados y discusión.

3.1 Síntesis del copolímero en bloque PEO₄₃-b-PCL₁₂₋₁₄

La síntesis del copolímero dibloque se ha realizado de acuerdo al Esquema 4.1. La reacción procede con un gran porcentaje de conversión del monómero de ϵ -caprolactona, a juzgar por el rendimiento obtenido (98 %, 11 g). La formación del copolímero en cada uno de los duplicados de síntesis se ha corroborado mediante ¹H-

RMN. Los correspondientes espectros se muestran en la Figura 4.3. Como referencia, se muestra el espectro del macroiniciador de partida, PEO. En el espectro de ^1H -RMN de PEO se observa que los protones metilénicos de la unidad repetitiva de óxido de etileno aparecen como un singlete a 3.65 ppm. Los protones correspondientes al grupo metoxi terminal se observan a 3.38 ppm como un singlete. A 2.57 ppm se observa un singlete, el que se atribuye a los protones del grupo hidroxilo terminal. La aparición de nuevas señales corrobora la formación de los copolímeros dibloque. Los protones Hh del segmento de ϵ -caprolactona aparecen a 4.06 ppm como triplete, con una constante de acoplamiento de 6.6 Hz. El pico de resonancia a 2.31 ppm es asignado a los protones Hd, que aparece como un triplete, con una constante de acoplamiento de 7.5 Hz. Los protones He y Hg aparecen juntos en el mismo pico de resonancia, a 1.65 ppm, como un multiplete deforme. A 1.38 ppm, se observa un multiplete deforme, el que corresponde a Hf.



Esquema 4.1: Esquema de síntesis de los copolímeros en bloque PEO-*b*-PCL

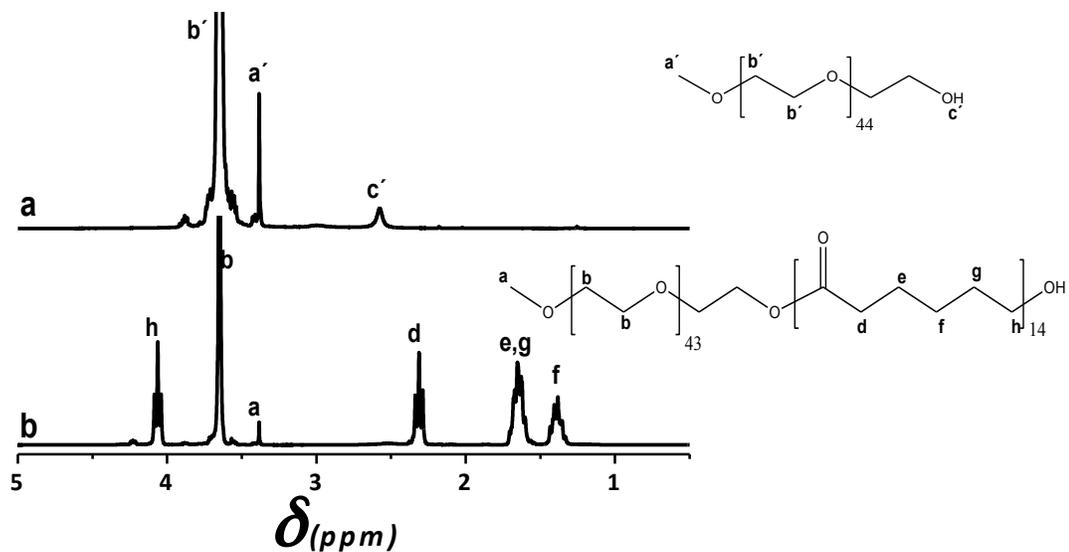


Figura 4.3. Espectros de ¹H-RMN en CDCl₃ de: a) PEO₄₃, b) PEO₄₃-b-PCL₁₄.

La determinación del peso molecular se ha realizado mediante el método de integrales de ¹H-RMN y con espectroscopía de masas MALDI-TOF. La estimación del peso molecular mediante RMN se ha realizado utilizando la integral del pico de resonancia de PEO, observada a a 3.65 ppm, como referencia de peso molecular, y la integral del pico de resonancia del protón Hh del segmento de poli(ϵ -caprolactona). En la Tabla 4.1 se muestran los pesos moleculares obtenidos por RMN. Para ambos copolímeros, las unidades de ϵ -caprolactona adicionadas son similares.

Tabla 4.1: Pesos moleculares en número (M_n), masa (M_w), índice de polidispersión (IPD) y número de unidades monoméricas (N) obtenidos experimentalmente a través de RMN y MALDI-TOF.

	M_n	M_w	IPD	N_{PEO}	N_{PCL}	M_n	N_{PEO}	M_n	N_{PEO}	N_{PCL}
	MALDI	MALDI		MALDI	MALDI	Proveedor	Proveedor	RMN	RMN	RMN
	(g/mol)	(g/mol)				(g/mol)		(g/mol)		
PEO	1869	1923	1.03	43	-	2000	45	-	-	-
PEO- <i>b</i> - PCL 1	3472	3837	1.10	43	14	-	-	4430	45	21
PEO- <i>b</i> - PCL 2	3205	3409	1.06	43	12	-	-	4598	45	23

En conjunto con RMN, se ha empleado la espectroscopía de masas MALDI-TOF, la cual es conocida por entregar un peso molecular absoluto, a diferencia del que se obtiene por GPC, que es un método relativo. La Figura 4.4 muestra los espectros de masa del homopolímero PEO y de los copolímeros PEO-*b*-PCL. A simple vista, es posible observar la diferencia en pesos moleculares entre el macroiniciador monofuncional de PEO y los copolímeros sintetizados. La Tabla 4.1 resume los valores de peso molecular obtenidos empleando esta técnica. Se observa que el valor de peso molecular y unidad monoméricas de PCL calculados mediante integrales de picos de ^1H -RMN, es relativamente mayor que los datos obtenidos por MALDI-TOF. Los valores informados en la literatura para la síntesis del mismo polímero, y obtenidos por GPC coinciden con lo encontrado por ^1H -RMN en este trabajo, de alrededor de 4000-4500 g/mol [225]. Aún así, por ser una técnica precisa, se asumirán los pesos moleculares obtenidos por MALDI-TOF.

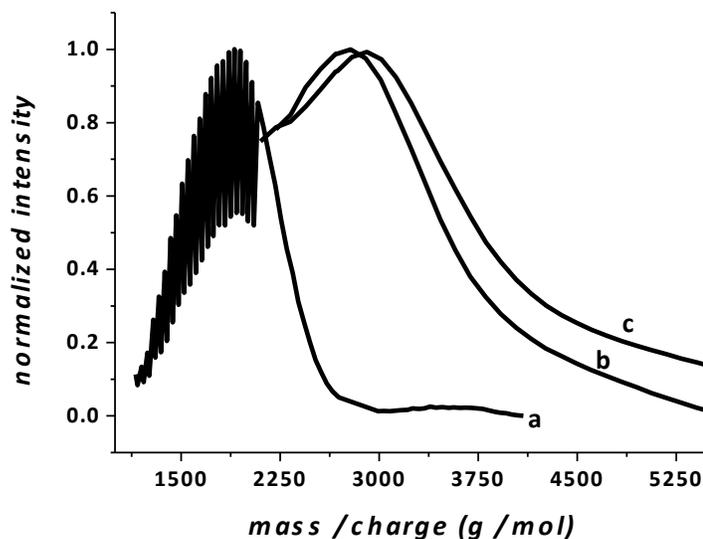


Figura 4.4. Espectros de masas MALDI-TOF de a) macroiniciador PEO₄₃, b) PEO₄₃-*b*-PCL₁₂ c) PEO₄₃-*b*-PCL₁₄

MALDI-TOF entrega la llamada huella digital del copolímero en bloque, ya que la separación entre cada pico del espectro de masas es característica para el tipo de polímero analizado, y está relacionada con el peso molecular de la unidad monomérica [226]. En el espectro de masas MALDI de PEO mostrado en la figura 4.5, la separación entre cada pico masa / carga es de 44 g / mol, correspondiente al peso molecular de la unidad monomérica de óxido de etileno. Por otro lado, en los espectros de masa de los copolímeros se observa también esta separación, y a mayores valores de masa / carga es posible observar unos picos de baja intensidad, donde la separación entre estos toma un valor de 114 g/mol, correspondiente al peso molecular del monómero de ϵ -caprolactona.

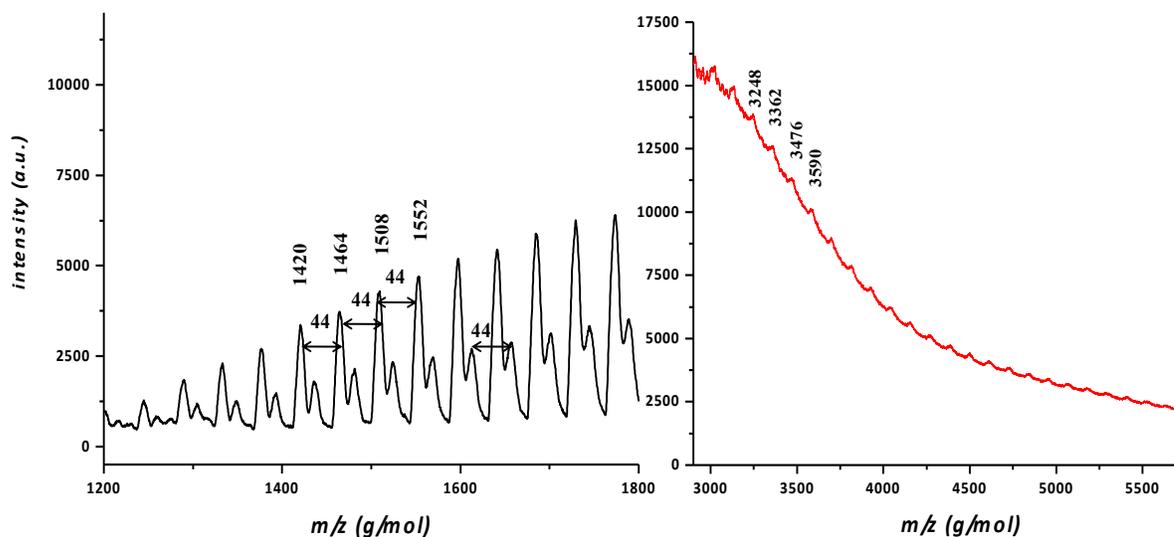


Figura 4.5. Huella digital de espectro MALDI-TOF de PEO y PCL en los copolímeros de PEO-*b*-PCL

3.2 Agregación de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ en solventes orgánicos.

En los ensayos cuyos resultados se presentan a continuación, se ha utilizado el copolímero PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ de los dos copolímeros de PEO₄₃-*b*-PCL_n sintetizados en los dos duplicados, los que presentan una diferencia de dos unidades de ϵ -caprolactona (n de 12 y 14 respectivamente).

3.2.1 Solubilidad de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ en solventes orgánicos

Previo al estudio de formación de agregados de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ se realizó un estudio de solubilidad del polímero en tolueno, ciclohexano, hexano, cloroformo y ciclohexanona. El copolímero en bloque es soluble en tolueno, cloroformo y ciclohexanona, mientras que en los otros solventes no se disuelve. Se ha probado la solubilidad del agua en las soluciones de polímero en tolueno, cloroformo y ciclohexanona. Se observó que las soluciones de polímero en tolueno y cloroformo disuelven una pequeña cantidad de agua y la adición de una mayor cantidad de agua genera la aparición de soluciones lechosas. Las soluciones PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ en ciclohexanona disuelven una mayor cantidad de agua, y la aparición de soluciones lechosas se observa en presencia de grandes cantidades de agua.

Lo observado anteriormente puede ser explicado empleando los parámetros de solubilidad de Hansen (PSH) [227, 228] de ambos bloques que componen el polímero y de los solventes utilizados. Estos parámetros se utilizan para predecir si un soluto se disolverá en un determinado solvente, y donde dominan fuerzas no covalentes en el proceso de disolución: fuerzas de dispersión, fuerzas dipolares y fuerzas de puentes de hidrógeno. Cada solvente presenta tres parámetros (en MPa^{0.5}), relativos a energías de unión por fuerzas dispersión (δ_D), dipolares (δ_P) y puentes de hidrógeno (δ_H) entre moléculas. Estos tres parámetros se toman como coordenadas en un espacio tridimensional, llamado espacio de Hansen. Los buenos solventes se ubican dentro de una esfera, la que presenta un radio específico y que es determinada por el soluto analizado, llamado radio de interacción (R_0). Este parámetro determina el radio de la esfera en el espacio. Los malos solventes están fuera de esta esfera. Los solutos que presenten valores de PSH similares a los solventes dentro de la esfera tenderán a disolverse en esos solventes. Para determinar si los parámetros de dos moléculas, como por ejemplo un polímero y un solvente, están dentro del rango del radio de interacción, se suele calcular la distancia (R_a) entre los PSH del soluto (2) y solvente (1) de acuerdo a:

$$(R_a)^2 = 4(\delta_{d2} - \delta_{d1})^2 + (\delta_{p2} - \delta_{p1})^2 + (\delta_{h2} - \delta_{h1})^2$$

Al dividir el valor de R_a con el radio de interacción R_0 se obtiene un parámetro, llamado diferencia relativa de energía del sistema (DRE):

$$DRE = R_a/R_0$$

Tabla 4.2. Parámetros de solubilidad de Hansen (en MPa^{0.5}) de PEO, PCL, y solventes empleados en ensayos de solubilización y parámetros de interacción Ra y DRE.

	δ_D	δ_P	δ_H	δ	R_{aPEO}	DRE_{PEO}	R_{aPCL}	DRE_{PCL}	ref
PEO	17.3	3	9.4	19.9					[229]
PCL	17	4.8	8.3	19.5					[230]
Ciclohexanona	17.8	6.3	5.1	19.6	5.5	0.78	3.9	0.55	[231]
Tolueno	18	1.4	2	18.2	7.7	1.08	7.4	1.05	[231]
Cloroformo	17.8	3.1	5.7	18.9	3.8	0.54	3.5	0.49	[231]
Hexano	14.9	0	0	14.9	11	1.55	10.5	1.47	[231]
Ciclohexano	16.8	0	0.2	16.8	9.7	1.37	9.4	1.33	[231]

Los valores de DRE menores a uno indican que las moléculas de soluto se disolverán en un determinado solvente. Valores de DRE iguales a uno indican que el soluto se disolverá parcialmente, mientras que valores de DRE mayores a uno indican que el soluto no se disolverá. En la Tabla 2 se muestran los valores de literatura de PSH correspondientes a los homopolímeros PEO y PCL, y los correspondientes a los solventes empleados [227-230]. Se ha visto que estos valores varían significativamente de acuerdo a la metodología empleada para su obtención. Los homopolímeros de PEO y PCL presentan valores similares de PSH (δ), a pesar de que ambos presentan estructuras químicas completamente diferentes, uno es un poliéter y el otro un poliéster.

También se muestra en la Tabla 2 las distancias R_a y el parámetro DRE correspondientes al espacio de Hansen de PEO y PCL con los respectivos solventes, los que han sido calculados a través de una hoja de cálculo de libre descarga en internet [232]. Estos valores indican que ciclohexanona y cloroformo son buenos solventes tanto para el bloque de PEO como para el bloque de PCL, debido a que el parámetro de DRE entre PEO-solvente y PCL-solvente es menor a uno. En estos casos se favorece que el polímero esté completamente disuelto en el solvente. Por otro lado, tolueno, hexano y ciclohexano serán malos solventes, debido a que el DRE es mayor a uno, y no se espera que ocurra la disolución en esos solventes. Esta predicción coincide con lo observado en el ensayo de solubilidad realizado al polímero de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄. Para favorecer que el

polímero esté completamente solvatado y no agregado en ausencia de agua, se ha seleccionado ciclohexanona como solvente para realizar los estudios de agregación.

3.2.2. Agregación de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ en ciclohexanona en presencia de agua

Como fue comentado anteriormente, las soluciones de polímero en ciclohexanona presentan una alta capacidad de disolución de agua, comportamiento también observado en los sistemas estudiados en el Capítulo 2 y 3. En la Figura 4.6 se muestra el diagrama de fases ternario experimental de soluciones de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ / ciclohexanona / agua, a diferentes composiciones. El diagrama de fases se estudió entre concentraciones de polímero de 0 a 15 % en peso y concentraciones de agua entre 0 y 100 % en peso. Es posible apreciar en el diagrama de fases 4 zonas dentro del rango de concentraciones de polímero y agua mencionados anteriormente. La Zona I se caracteriza por la presencia de soluciones con baja turbidez; en la Zona II se observan soluciones con turbidez; en la Zona III aparecen soluciones viscosas con aspecto de gel; y en la Zona IV se observan soluciones lechosas. El diagrama de fases de la Figura 4.6 presenta algunas similitudes con diagramas de fases ternarios polímero / solvente orgánico / agua encontrados en la literatura [26, 216, 218]. Se destaca de este diagrama de fases que la presencia de agua en una mezcla binaria polímero / solvente orgánico influye en el proceso de asociación del polímero, junto con modular la morfología de los agregados conforme aumenta la concentración de agua. Este comportamiento de las soluciones de polímero en presencia de agua ya ha sido observado para el sistema compuesto por el surfactante TX-100, visto en el Capítulo 3.

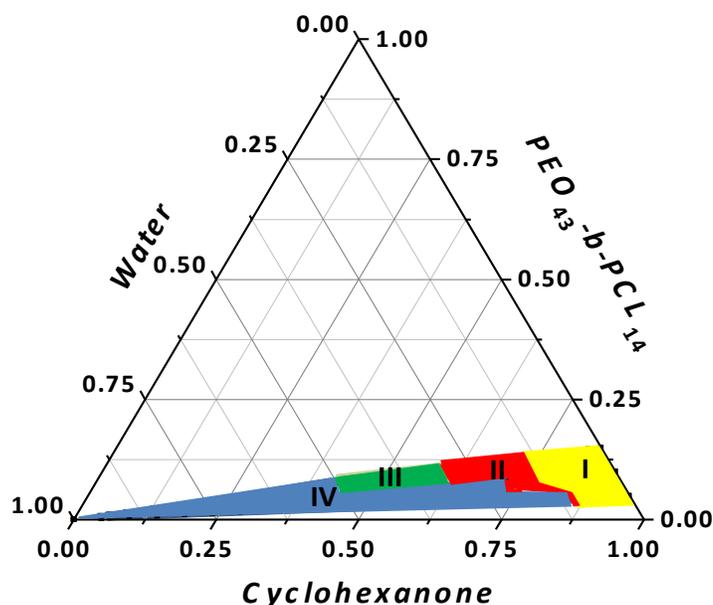


Figura 4.6. Diagrama de fases ternario de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ / Ciclohexanona / Agua. Zona I corresponde a soluciones claras; Zona II corresponde a soluciones con baja turbidez; Zona III corresponde a soluciones con aspecto viscoso y gel y Zona IV corresponde a soluciones lechosas.

Como se dijo anteriormente, los PSH muestran que ciclohexanona no es un solvente selectivo para los bloques del polímero, por lo que en ausencia de agua las cadenas macromoleculares se encontrarán completamente solvatadas por moléculas de ciclohexanona, y cada cadena macromolecular de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ estará en solución como unímero, libre o monoméricamente dispersa, y no siendo parte de algún tipo de agregado. El diagrama de fases muestra que, conforme aumenta la cantidad de agua, se promueve la agregación de las cadenas macromoleculares de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄, ya que el agua es un solvente selectivo para PEO pero no para PCL. Con la finalidad de estudiar el proceso de asociación de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ en ciclohexanona y en presencia de agua, se han realizado estudios de RMN en las concentraciones detalladas en el diagrama de fases de la Figura 4.6, y empleando las técnicas utilizadas para estudiar la asociación de agregados de *n*-hexanol y TX-100, visto en los Capítulos 2 y 3, respectivamente.

Previo al estudio de agregación del copolímero en bloque, se realizó un estudio en ausencia de polímero y sólo variando la concentración de agua en ciclohexanona pura. Ciclohexanona es una cetona cíclica y actúa como un aceptor de puentes de hidrógeno, lo que permite que pueda interactuar con moléculas de alcohol y agua a través de enlaces de puentes de hidrógeno. La solubilidad de agua en ciclohexanona es de 5.6 % en peso a

25°C, la cual aumenta conforme aumenta la temperatura [233]. En la Figura 4.7 se muestran los espectros de ^1H -RMN de soluciones de ciclohexanona con diferentes concentraciones de agua. Los tres picos de resonancia observados entre 2.4 y 1.7 ppm corresponden a los protones de ciclohexanona Ha' , Hb' y Hc , respectivamente. En presencia de agua, se observa la aparición de un nuevo pico de resonancia, correspondiente a los protones del agua. Conforme aumenta la cantidad de agua en soluciones de ciclohexanona / agua, el pico de resonancia del agua se desplaza hacia campo bajo, como puede ser observado en la Figura 4.8. A baja concentración de agua, el pico de resonancia del agua aparece a 2.86 ppm y conforme aumenta la concentración de agua este pico se desplaza hacia campo bajo, alcanzando un valor de 3.51 ppm cuando la concentración de agua es de 6.5 %. Un aumento en la concentración de agua genera una mayor probabilidad de que las interacciones de puentes de hidrógeno dominen, lo que explica el desplazamiento de este pico de resonancia hacia campo bajo.

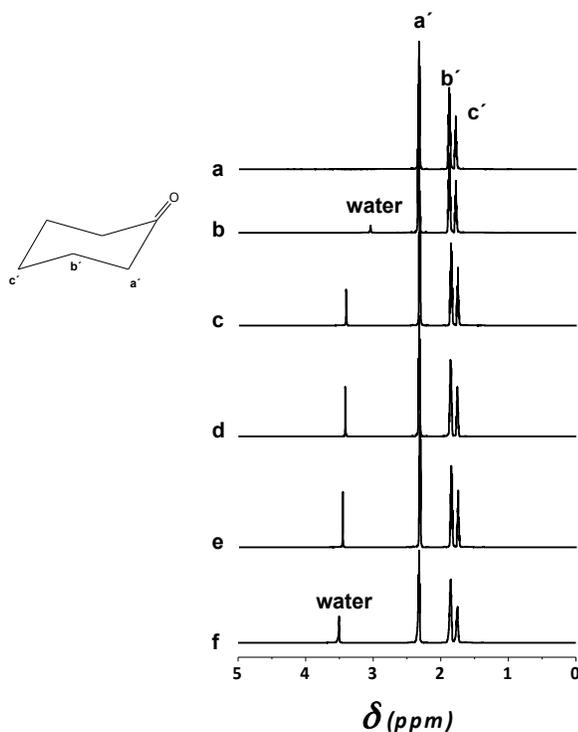


Figura 4.7. Espectros de ^1H -RMN de ciclohexanona, en presencia de diferentes concentraciones de agua (% en peso): a) 0, b) 2.5, c) 5, d) 5.5, e) 6 y f) 6.5

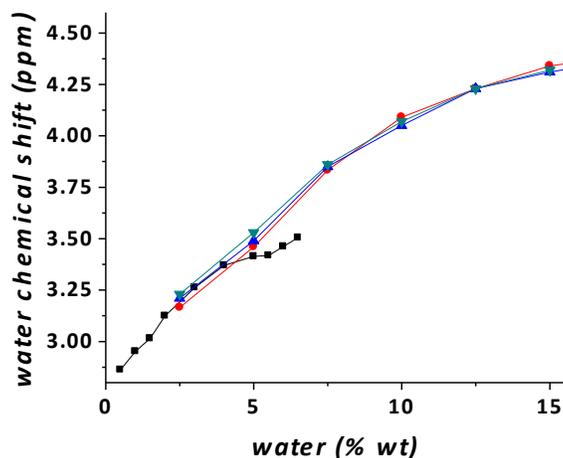


Figura 4.8. Desplazamientos químicos del pico de resonancia del agua en función de la concentración de agua en soluciones de ciclohexanona / agua en ausencia (■) y en presencia de PEO₄₃-b-PCL₁₄ a diferentes concentraciones: 5 % (●), 10 % (▲) y 15 % (▼).

En la Figura 4.8 se muestran los desplazamientos químicos del agua en presencia de diferentes concentraciones de PEO₄₃-b-PCL₁₄. El pico de resonancia del agua tiende a desplazarse hacia campo bajo, siguiendo la misma tendencia que en ausencia de polímero, hasta que el agua alcanza una concentración del 5 %, concentración cercana al límite de solubilidad del agua en ciclohexanona. En presencia de polímero, la señal del agua continúa desplazándose a campo bajo conforme aumenta la concentración de agua, siguiendo una curva de saturación. Estas curvas de saturación no muestran una dependencia con la concentración de polímero. En todo el rango de concentración de polímero estudiado, los desplazamientos químicos del agua permanecen similares, y es un indicativo de un aumento en la probabilidad de formación de redes de puentes de hidrógeno. Debido a que ciclohexanona es un solvente relativamente polar en comparación con su análogo alifático, ciclohexano, produce que las soluciones de polímero en ciclohexanona posean una mayor polaridad en comparación con las soluciones estudiadas en el Capítulo 3, además de poseer capacidad de disolución y estructuración de agua. Esto sugiere que la interacción entre los segmentos de óxido de etileno y el agua pasa desapercibida, y debido al exceso de ciclohexanona en las soluciones estudiadas, es de esperar que exista una interacción preferente entre las moléculas de ciclohexanona y agua.

En la Figura 4.9 se muestra el espectro de ^1H -RMN de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ a una concentración de 15 % en peso en ciclohexanona no deuterada y en ausencia de agua. Los picos de resonancia del copolímero aparecen en posiciones similares a las observadas en el espectro de ^1H -RMN registrado en cloroformo deuterado y empleado en la caracterización del copolímero en bloque (Figura 4.3). En ausencia de agua, los picos de resonancia del polímero aparecen como señales bien definidas y angostas, pero conforme aumenta la cantidad de agua, algunas señales se ensanchan (datos no mostrados). Este ensanchamiento se explica debido a una pérdida en la movilidad molecular del polímero, lo que sugiere que el polímero se agrega en presencia de agua. En ausencia de agua, se asume que las cadenas macromoleculares de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ se encuentren como unímeros o no agregadas, ya que ciclohexanona no es un solvente selectivo para los bloques poliméricos.

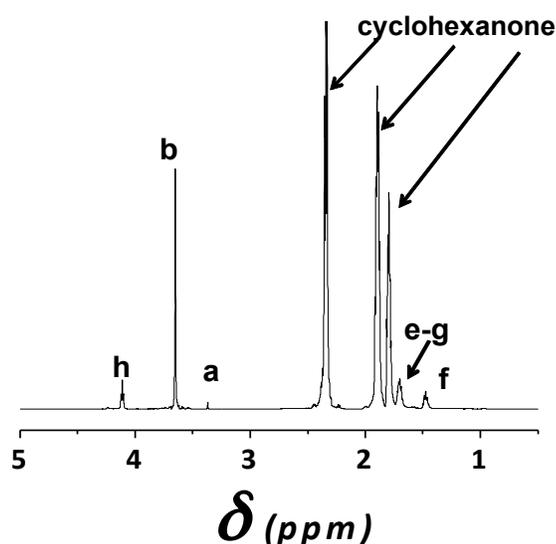


Figura 4.9. Espectro de ^1H -RMN de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ 15 % en ciclohexanona y en ausencia de agua.

Con el objetivo de reforzar la idea de pérdida de movilidad de las cadenas macromoleculares de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$, se han realizado experimentos en dos dimensiones de ^1H -RMN (DOSY y tiempos de relajación), los que permiten analizar con más detalle lo planteado anteriormente. En la Figura 4.10 se muestran los coeficientes de difusión obtenidos mediante DOSY del agua, ciclohexanona, y los correspondientes a los segmentos de PEO y PCL del copolímero en bloque, en función de la concentración de

polímero y agua. En la Figura 4.10b, se observa que un incremento en la concentración del polímero produce una disminución en los coeficientes de difusión del solvente, ciclohexanona. Esta disminución en el coeficiente de difusión se relaciona con un aumento en la viscosidad de las soluciones, lo que provoca que el solvente difunda más lento.

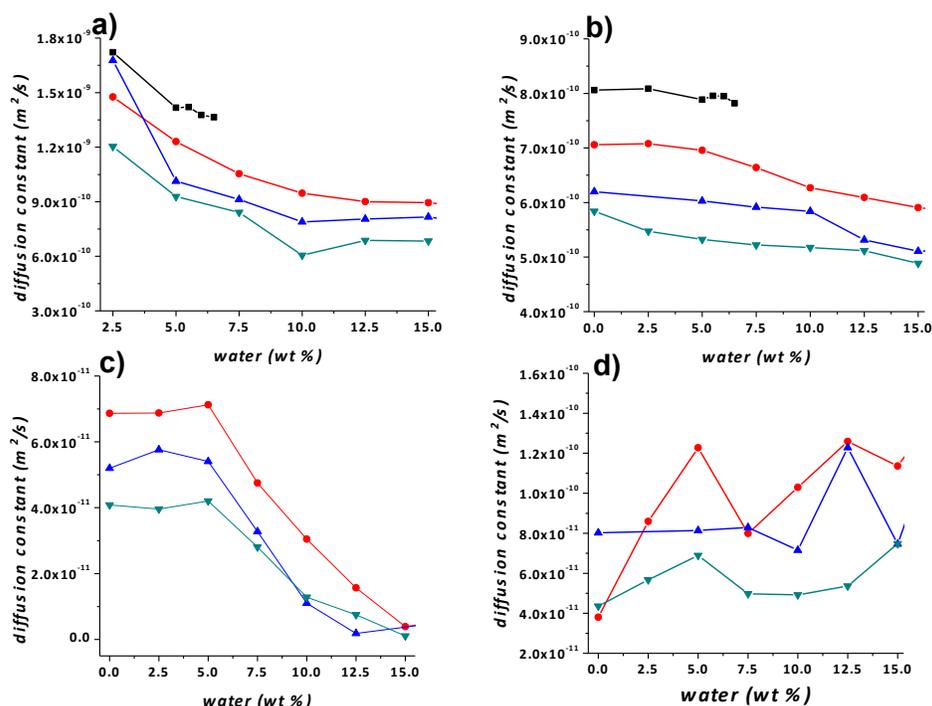


Figura 4.10. Coeficientes de difusión obtenidos mediante DOSY-RMN en función de la concentración de agua en soluciones de PEO₄₃-b-PCL₁₄ / ciclohexanona a diferentes concentraciones de polímero: 0 % (■), 5 % (●), 10 % (▲) y 15 % (▼), y correspondientes a a) agua, b) ciclohexanona, y los correspondientes a los bloques de c) PEO y d) PCL del copolímero.

Por otro lado, los coeficientes de difusión del agua también disminuyen conforme aumenta la concentración de agua y polímero, como se muestra en la Figura 4.10a, y esta disminución está relacionada con una pérdida en la movilidad de las moléculas de agua, la que se relaciona con que las moléculas de agua están interactuando directamente con las moléculas de ciclohexanona y segmentos de PEO mediante puentes de hidrógeno, y correspondiente a agua ligada o altamente estructurada. Los coeficientes de difusión de los segmentos de PEO y PCL del copolímero en bloque se muestran en las Figuras 4.10c y 4.10d, respectivamente. Conforme aumenta la concentración de polímero, el

coeficiente de difusión de PEO disminuye, mientras que los coeficientes de difusión de PCL no presentan una tendencia clara, debido a que las señales de $^1\text{H-RMN}$ de este bloque son de baja intensidad, y se superponen con las señales de ciclohexanona, generando una mala estimación del coeficiente de difusión por esta técnica. La disminución en los coeficientes de difusión de agua y PEO se hace evidente a una concentración de agua del 5%, lo que sugiere que el copolímero de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ se agrega en presencia de concentraciones de agua mayores al 5%, lo que está relacionado con que primero se alcanza el máximo de solubilidad del agua en ciclohexanona, y luego el copolímero en bloque ayuda a estabilizar el agua extra, autoasociándose. Como se puede ver en la Figura 4.10c, los coeficientes de difusión de PEO no varían cuando la concentración de agua está entre 0 y 5 %, lo que sugiere que en este rango no habrían interacciones entre el agua y PEO.

En los Capítulos anteriores ha sido visto que cambios en los tiempos de relajación T_1 y T_2 se relacionan con cambios en movilidad molecular de las especies estudiadas, y estos cambios son relativos a cambios en movimientos traslacionales y rotacionales, los cuales se ven afectados por cambios en las interacciones entre las moléculas presentes en solución. En la Figura 4.11 se muestran los tiempos de relajación T_1 y T_2 del agua, ciclohexanona, y los correspondientes a los bloques de PEO y PCL del copolímero en bloque, en función de la concentración de polímero y agua. El agua presenta tiempos de relajación T_1 entre 1.5 y 1.8 s cuando la concentración de agua es de 2.5 %. Sin embargo, los tiempos de relajación T_2 no son detectables a baja concentración de agua. Se puede observar en la Figura 4.11a, que un aumento en la concentración de polímero provoca una disminución en el tiempo de relajación T_1 del agua, y este tiempo de relajación tiende a aumentar ligeramente por sobre una concentración de agua de 10 % para todas las concentraciones de polímero estudiadas. Los tiempos de relajación T_2 del agua se hacen detectables a una concentración de agua mayor al 5 %, pero permanecen dentro de valores bajos, 0.1-0.2 s, lo que se relaciona con la presencia de agua ligada, y relacionado con la pérdida de movilidad de estas moléculas. Los tiempos de relajación T_1 de ciclohexanona permanecen constantes dentro del rango de agua estudiado, y con muy poca diferencia entre distintas concentraciones de polímero, aunque los tiempos de relajación en ausencia de polímero son ligeramente mayores, como se puede apreciar en

la Figura 4.11b. El tiempo de relajación T_2 de ciclohexanona tiende a disminuir por sobre concentraciones de agua de 10 %, mostrando una pequeña diferencia entre ambos, lo que da a notar que las moléculas de ciclohexanona presentan libertad de movimiento. En la Figura 4.11c se observa que los tiempos de relajación T_1 y T_2 de PEO disminuyen casi linealmente conforme aumenta la cantidad de agua, lo que sugiere que PEO pierde movilidad conforme aumenta la concentración de agua. Los tiempos de relajación T_1 y T_2 de PCL (Figura 4.11d) se mantienen constantes conforme aumenta la concentración de polímero y agua.

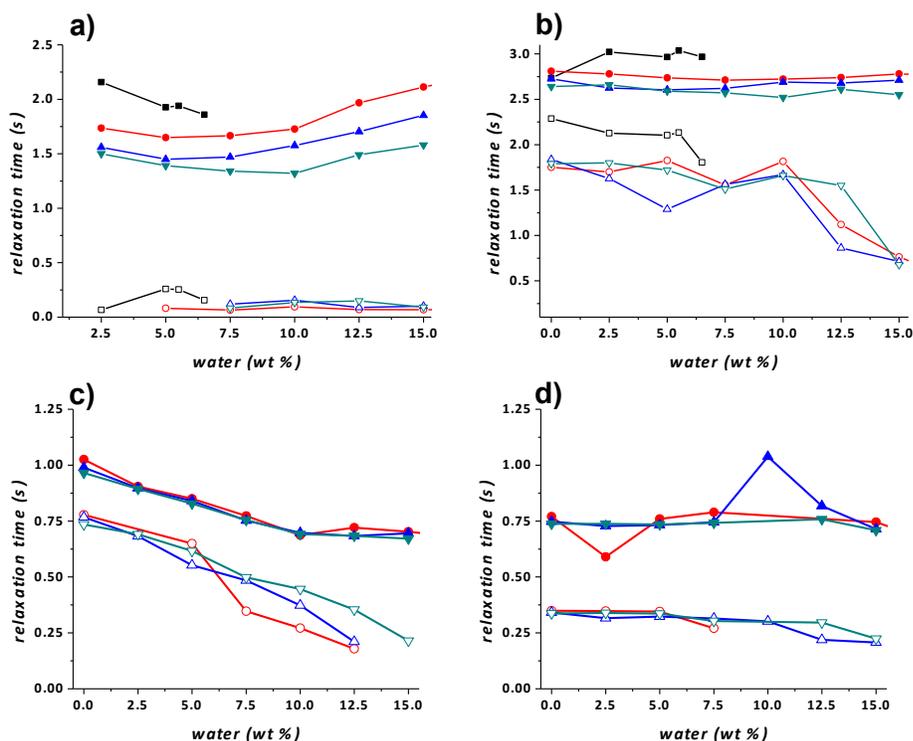


Figura 4.11. Tiempos de relajación T_1 (símbolos llenos) y T_2 (símbolos vacíos) en función de la concentración de agua y concentración de polímero de 0 % (■) 5 % (•), 10 % (▲) y 15 % (▼) para a) agua, b) ciclohexanona, y los correspondientes a los bloques de c) PEO y d) PCL del copolímero.

La razón entre los valores de T_2 y T_1 (T_2/T_1) está directamente relacionada con el tiempo promedio, o tiempo de correlación, que le toma a la molécula o segmento analizado en rotar un radián, llamado volteo molecular (molecular tumbling) [138, 139, 234]. Para moléculas en solución, el volteo molecular se relaciona con el movimiento Browniano [235]. Este movimiento molecular se verá afectado si aumenta la viscosidad del medio o si aumenta el peso molecular de la especie analizada. En el párrafo anterior se ha remarcado que valores similares de T_1 y T_2 se relaciona con moléculas que presentan libertad de movimiento, provocando campos magnéticos transientes que ayudan a que el proceso de relajación no sea efectivo. Valores similares de T_1 y T_2 entregarán razones T_2/T_1 cercanas a uno. Por el contrario, si los valores de T_1 y T_2 son diferentes, la razón T_2/T_1 será menor a uno, y directamente relacionado con un tiempo de correlación mayor, relativo a que el núcleo observado presenta un volteo molecular restringido. En la Figura 4.12 se muestran las razones T_2/T_1 para agua, ciclohexanona, y las correspondientes a los bloques de PEO y PCL del copolímero en bloque. La razón T_2/T_1 para las moléculas de agua (Figura 4.12a) es baja dentro del rango estudiado, entre 0 a 0.1, indicando que el volteo molecular de las moléculas de agua está ocurriendo lento, lo que se relaciona con que las moléculas de agua han perdido movilidad luego de que han formado enlaces no covalentes tanto con PEO como con ciclohexanona. Esto es congruente con la existencia de agua ligada primaria y secundaria en todo el rango de concentración de agua y polímero estudiado. Por otro lado, las moléculas de ciclohexanona presentan un valor de T_2/T_1 alto en comparación con las moléculas de agua, como se puede apreciar en la Figura 4.12b. A concentraciones de agua de 2.5 y hasta 10 %, ciclohexanona presenta un valor de T_2/T_1 de aproximadamente 0.7, indicando que el volteo molecular es rápido. Sin embargo, por sobre 10 % de agua, los valores de T_2/T_1 disminuyen, indicando que el volteo molecular se hace más lento, relacionado con el aumento de la viscosidad que se observa al aumentar la concentración de polímero y agua, como se vio en los estudios de difusión hechos mediante DOSY. Por otro lado, la razón T_2/T_1 del segmento de PEO (Figura 4.12c) están dentro de valores de alrededor de 0.8, indicando que este segmento presenta movilidad no restringida, y relativo a los parámetros de solubilidad de Hansen que predicen que el bloque de PEO se encuentra disuelto y no agregado cuando el medio continuo lo compone ciclohexanona. Este valor de T_2/T_1 se mantiene hasta concentraciones de agua de 5 %, y por sobre esta

concentración de agua, la relación T_2/T_1 disminuye notablemente. Anteriormente se vio que los coeficientes de difusión de PEO disminuían conforme aumentaba la concentración de agua por sobre 5 %. Esto se relaciona con la asociación del segmento de PEO en agregados reversos, y donde este segmento compone el centro del agregado, lo que genera una restricción del movimiento a este segmento. En la Figura 4.12c se muestra la razón T_2/T_1 correspondiente al segmento de PCL del copolímero en bloque, y se observa, al igual que con los valores de T_2/T_1 del segmento de PEO, que bajo concentraciones de agua de 5 %, los valores T_2/T_1 se mantienen dentro de valores de 0.5, indicando que el volteo molecular es rápido a bajas concentraciones de agua, pero tiende a disminuir para ambos conforme aumenta la cantidad de agua. La adición de agua restringe indirectamente el movimiento de este segmento o bloque.

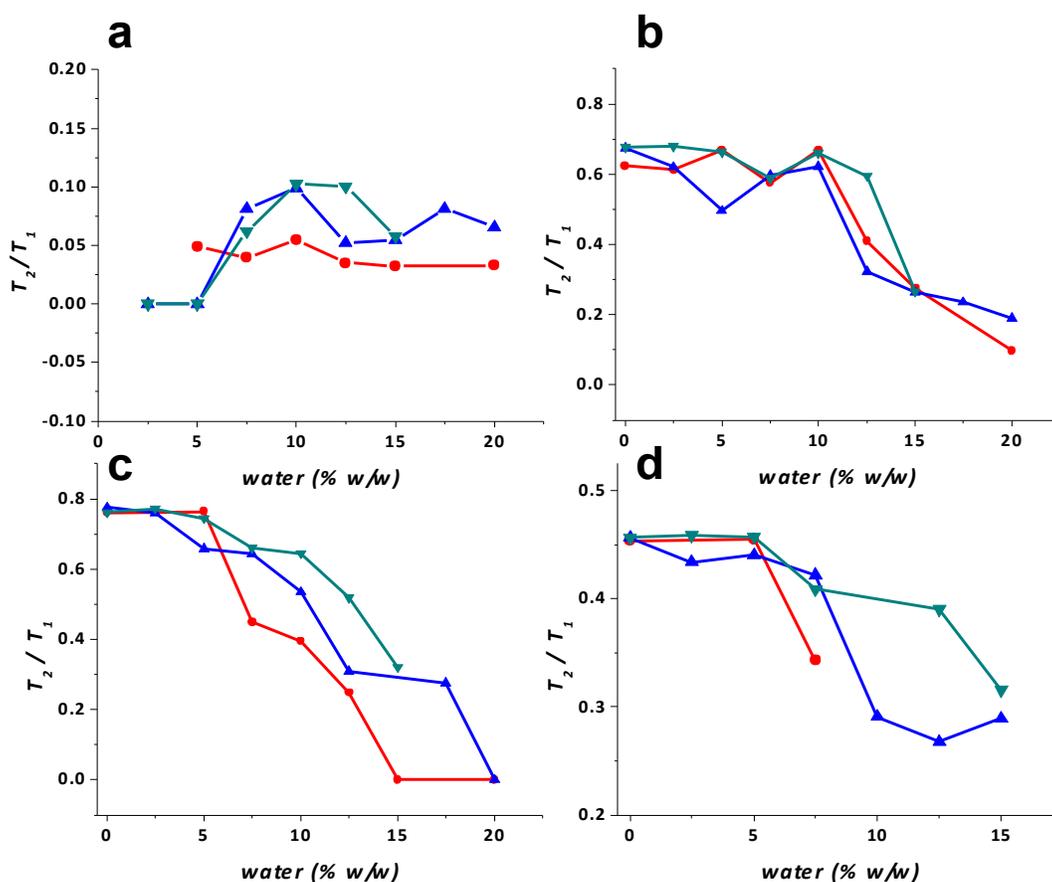


Figura 4.12. Razón T_2/T_1 en función de la concentración de agua y concentración de polímero de 5 % (•), 10 % (▲) y 15 % (▼) para: a) Agua, b) Ciclohexanona, y los correspondientes a los bloques de c) PEO y d) PCL del copolímero.

3.2.3 Propiedades coloidales de soluciones de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄.

Se ha visto que la formación de agregados de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ en ciclohexanona es dependiente de la cantidad de agua más que de la concentración de polímero. Es interesante estudiar el tamaño promedio de los agregados que se forman, estudio que puede llevarse a cabo mediante dispersión de luz dinámica. Se puede apreciar en la Figura 4.13 que en ausencia de agua, las soluciones no muestran formación de agregados, a juzgar por los valores de tamaño y polidispersidad obtenidos. Conforme aumenta la concentración de agua a 5 %, se observa asociación y formación de estructuras nanométricas, como puede apreciarse en la Figura 4.13. Las soluciones preparadas a una concentración de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ de 5 %, muestran un aumento en el tamaño aparente por sobre concentraciones de agua de 5 %, formando finalmente soluciones lechosas y con tamaños monodispersos. Las soluciones preparadas con 10 y 15 % de polímero muestran una disminución en el tamaño aparente hasta concentraciones de agua de 10-12 %. El rango de tamaños de los agregados formados es similar a lo informado en literatura para agregados de PEO-*b*-PCL en cloroformo / isopropanol y agua [224].

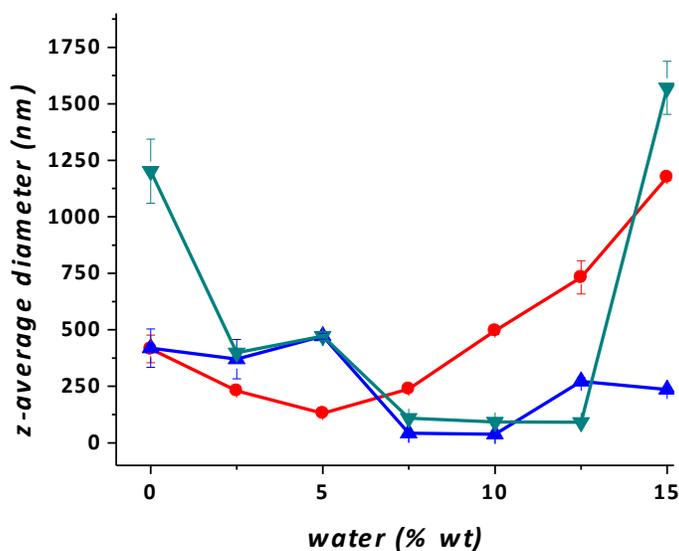


Figura 4.13. Tamaño aparente obtenido mediante dispersión de luz dinámica de soluciones de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ / ciclohexanona a diferentes concentraciones de polímero, 5 % (•), 10 % (▲) y 15 % (▼) y en función de la cantidad de agua.

Es interesante prestar atención a los correlogramas obtenidos en los experimentos de dispersión de luz dinámica, debido a que estos proveen información sobre el comportamiento coloidal de las soluciones, y es el paso anterior a la estimación del tamaño promedio. Por lo general corresponden a un decaimiento exponencial, y este decaimiento depende del tamaño de las partículas presentes en la solución analizada. En la Figura 4.14 se muestran los correlogramas correspondientes a soluciones de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ en ciclohexanona, a diferentes concentraciones de polímero y en función de la concentración de agua. Se puede observar que en ausencia de agua, los correlogramas muestran el típico decaimiento correspondiente a partículas grandes y con tendencia a precipitar, a juzgar por un mayor tiempo de decaimiento de la señal, junto con la aparición de ruido a tiempos de correlación mayores. Para las soluciones con 5 % de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄, conforme aumenta la concentración de agua de 0 a 5 %, la curva de decaimiento se desplaza hacia menores tiempos de correlación, y toma similitud con una curva de decaimiento monoexponencial. Esto sugiere que cuando se adiciona agua a las soluciones de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ en ciclohexanona, se produce una estructuración de los componentes presentes en la solución analizada, generando un ensamble nanométrico y uniforme. Por sobre 5 % de agua adicionada, se observa que la curva se desplaza hacia mayores tiempos de correlación, provocando un aumento en los tamaños promedio observados en la Figura 4.13, relacionado con agregados poco estables, debido a la presencia de ruido en la parte final de los correlogramas luego del decaimiento. El correlograma correspondiente a soluciones con 10 % de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ muestra el mismo patrón que lo observado en la Figura 4.14a, y el desplazamiento de la curva se hace notorio a concentraciones de agua entre 5 % y 12-5 % cuando la concentración de polímero es del 10 % y entre 5 % y 15 % cuando la concentración de polímero aumenta a 15 %.

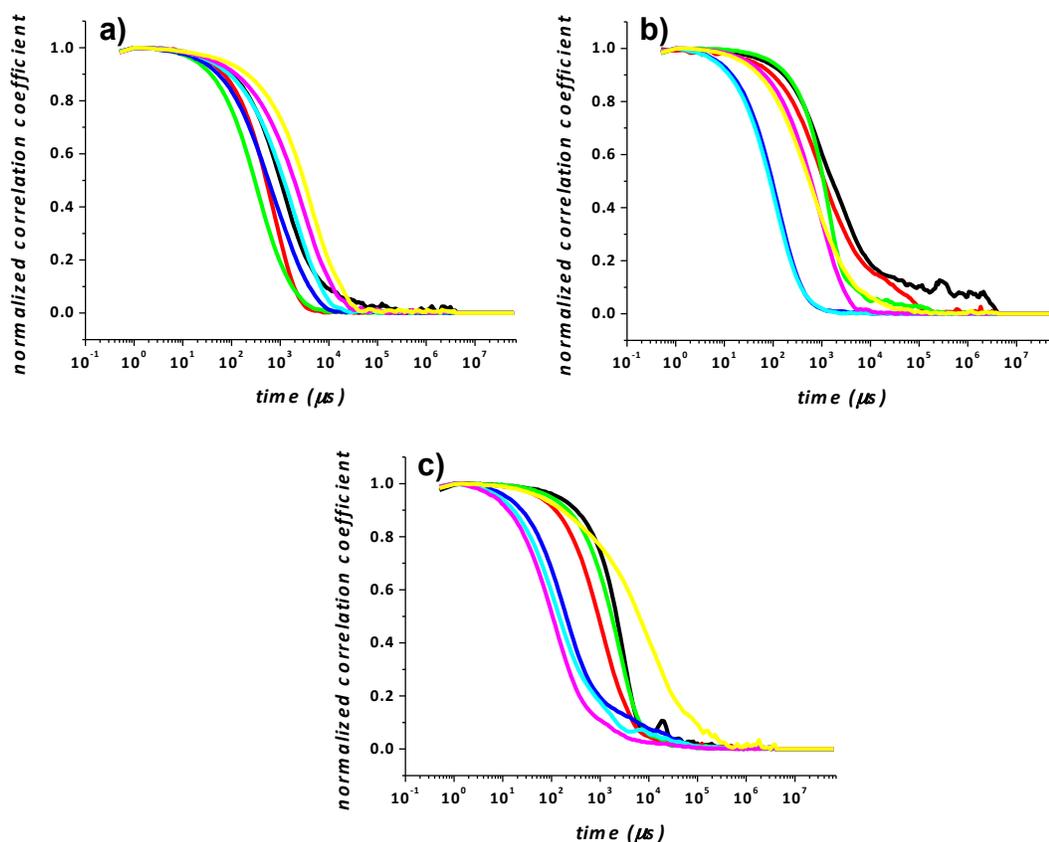


Figura 4.14. Coeficiente de correlación de DLS de soluciones de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ / ciclohexanona a diferentes concentraciones de polímero: 5 % (a), 10 % (b) y 15 % (c) en presencia de cantidades variables de agua: 0 (—); 2.5 (—); 5 (—); 7.5 (—); 10 (—); 12.5 (—) y 15 % (—).

3.2.4 Estudios empleando las sondas ANS y MB

De forma complementaria a los resultados obtenidos con ¹H-RMN, se han realizado estudios de fluorescencia empleando la sonda ácido 8-anilinaftaleno-1-sulfónico (ANS). Tal como se ha descrito en el Capítulo introductorio del presente trabajo, ANS es una sonda que presenta un comportamiento de fluorescencia dependiente de la polaridad del medio. Esta sonda ha sido utilizada para estudiar el ensamble del sistema compuesto por el surfactante TX-100, mostrado en el Capítulo 3, y donde cambios en la polaridad del medio han permitido observar un comportamiento solvatoocrómico en esta sonda. En la Figura 4.15a se muestra la variación en la intensidad de fluorescencia de ANS en soluciones de polímero / ciclohexanona, en función de la concentración de agua. En general se observa que conforme aumenta la concentración de agua, el entorno que rodea a ANS se hace más polar, ya que la intensidad de

fluorescencia disminuye notablemente, similar a lo observado en literatura cuando ANS es utilizado para evidenciar la asociación de moléculas anfífilas [61, 203, 204]. En el Capítulo 3 se ha discutido que ANS tiende a ubicarse en la interfase de los agregados formados, ocluyéndose entre los segmentos de PEO [61]. La posición del máximo de fluorescencia, que se muestra en la Figura 4.15b, presenta dos claras tendencias. Primeramente se observa un pronunciado desplazamiento de la banda de emisión de ANS entre concentraciones de agua de 0 a 5 %, y por sobre esta concentración de agua se evidencia que el máximo de fluorescencia se mantiene constante, en alrededor de 480 nm, indicando la presencia de un medio de polaridad homogénea. El máximo de fluorescencia se mantiene estable dentro de los mismos valores de concentración de agua observados con $^1\text{H-RMN}$ (mayores a 5 %) y asociados a la formación de agregados.

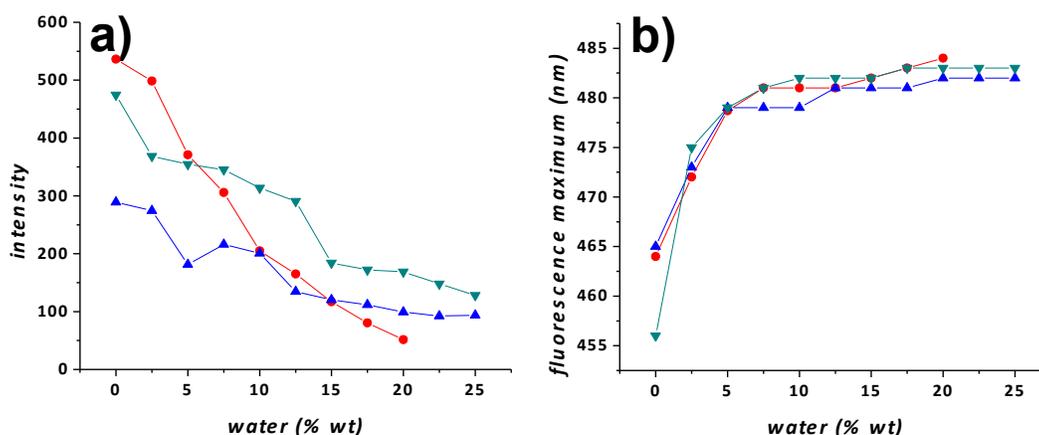


Figura 4.15. a) Intensidad de fluorescencia de ANS (excitación a 350 nm) y b) posición del máximo de fluorescencia en soluciones de PEO₄₃-b-PCL₁₄ / ciclohexanona a diferentes concentraciones de polímero, 5 % (●), 10 % (▲) y 15 % (▼) en presencia de diferentes cantidades de agua.

De forma complementaria, y similar al estudio realizado al sistema compuesto por Triton X-100, se ha empleado la sonda de absorción en UV-vis azul de metileno (MB). Como fue descrito en el Capítulo 3, esta sonda no presenta un comportamiento fuertemente dependiente de la polaridad del entorno, y los desplazamientos en la banda de absorción presentan un bajo corrimiento en comparación con sondas solvatocrómicas clásicas [69, 104]. Se ha destacado ampliamente como sonda debido a que forma complejos con segmentos de PEO, evidenciados por la aparición de una nueva banda de absorción a 520 nm [57, 60, 69]. Esto fue observado en presencia de soluciones de TX-

100, vistas en el Capítulo 3. En las soluciones estudiadas en este Capítulo, no se ha observado la formación de la banda de MB ubicada a 520 nm, la cual ha sido descrita en literatura como la formación de un complejo 1 : 1 entre MB y óxidos de etileno del surfactante TX-100 [60]. La formación de este complejo requiere la presencia de interacciones por transferencia de carga, requisitos que no cumple el copolímero en bloque. En la Figura 4.16 se muestran los máximos de absorción de MB en las soluciones de polímero / ciclohexanona. Se observa que el máximo de absorción aparece a 651, 645 y 652 nm en las soluciones con 5, 10 y 15 % de polímero, respectivamente. Conforme se adiciona agua a las soluciones, el máximo de absorción se desplaza hacia menores energías. Este desplazamiento en la banda de absorción se debe a un cambio en la polaridad del medio sentido por MB. En ausencia de agua, el entorno sentido por MB es principalmente no polar, mientras que en presencia de agua el entorno guarda similitud con un entorno polar pero no completamente acuoso, a juzgar por el valor del máximo de absorción, 660 nm, con concentraciones de agua entre 5 y 10 %. Se debe tener en cuenta que MB puede formar complejos con PEO, debido al carácter iónico de MB y parcialmente iónico de PEO, y MB está sensando el entorno generado por moléculas de agua que son parte de la esfera de hidratación de PEO.

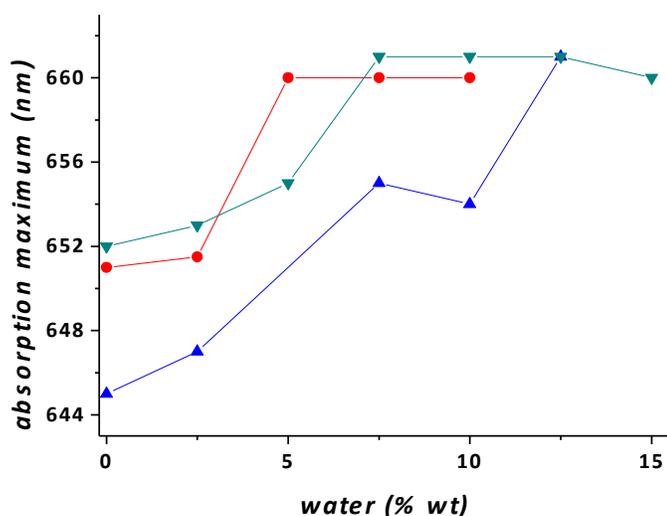


Figura 4.16. Desplazamiento del máximo de absorción de MB en presencia de diferentes concentraciones de PEO₄₃-b-PCL₁₄: 5 % (•), 10 % (▲) y 15 % (▼) y en función de la concentración de agua.

4.4. Conclusiones

Se han sintetizado copolímeros dibloque anfífilicos de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ monodispersos y con un alto porcentaje de rendimiento. La metodología de polimerización genera copolímeros con bajo crecimiento, entre 12 y 14 unidades de ϵ -caprolactona adicionadas al homopolímero de PEO. Se ha observado que el proceso de agregación de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ en ciclohexanona, es fuertemente dependiente de la presencia de agua, al igual que el sistema estudiado en el Capítulo 3. El solvente empleado, ciclohexanona, no es un solvente selectivo para los segmentos de PEO o PCL, mientras que el agua si es un solvente selectivo para PEO pero no para PCL. Esto último ha sido corroborado con los PSH, con los cambios observados en los espectros de ^1H -RMN en ausencia de agua y con los experimentos en dos dimensiones de RMN. Se han observado dos rangos, relacionados con la concentración de agua, en todos los estudios. El primer rango abarca un rango de concentraciones de agua entre 0 y 5 %. Dentro de este rango, la solubilidad del agua en las soluciones de polímero / ciclohexanona es debido a interacciones de puentes de hidrógeno entre moléculas de agua y moléculas de ciclohexanona. Tanto las moléculas de ciclohexanona como las del copolímero en bloque se encuentran en solución con una relativa libertad de movimiento en ausencia de agua. La interacción atractiva entre las moléculas de agua y ciclohexanona y moléculas de agua con segmentos de PEO produce que el agua presente en estas soluciones se encuentre altamente estructurada. Si la hidratación se da con el segmento de PEO, en este rango está ocurriendo la formación de preagregados micelares. Por sobre concentraciones de agua del 5 % procede la agregación del copolímero en una estructura reversa. Debido a un posible empaquetamiento de las unidades de PEO al formar el agregado, es que se observa que tanto los coeficientes de difusión de PEO como los valores de T_2/T_1 relativos con el volteo molecular de las unidades de PEO y PCL disminuyen, lo que se relaciona con una pérdida de movilidad molecular de las cadenas macromoleculares del copolímero en bloque cuando estas pasan a formar parte de un agregado. En este rango de concentración, se ha observado que las soluciones presentan agregados de tamaño nanométrico. Además, dentro de este rango de concentración de agua los correlogramas tienden a decaer de modo monoexponencial, lo que sugiere la presencia de agregados homogéneos. Estos agregados poseen en su interior un entorno polar, constituido por

moléculas de agua ligada, ya que dentro de todo el rango de agua estudiado, de 0 a 15 %, no se observó presencia de agua libre, evidenciado por los coeficientes de difusión y tiempos de relajación del agua. El entorno polar sentido por la sonda fluorescente ANS y la sonda de absorción MB corrobora lo anterior descrito. En comparación con el sistema estudiado en el Capítulo 3, la polaridad del entorno que rodea al polímero es mayor, debido a que ciclohexanona es un solvente relativamente polar. Cabe destacar que en el sistema estudiado en el Capítulo 3, el solvente no posee un rol activo en la disolución de agua.

Capítulo 5: Agregación de Triton X-100 y PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ en presencia de Ca⁺²

5.1. Introducción

El polímero de poli(óxido de etileno) es un polímero versátil a pesar de la sencillez de la unidad repetitiva, la cual tiene la fórmula molecular X-O-[CH₂-CH₂-O]_n-Y, donde n corresponde al número de unidades monoméricas de óxido de etileno que componen el polímero. Este polímero es completamente soluble en agua debido a la presencia de interacciones de puentes de hidrógeno entre moléculas de agua y los oxígenos de las unidades monoméricas de PEO, junto con presentar una amplia solubilidad en una variedad de solventes de diferente polaridad [236]. Debido a que la estructura de PEO presenta dos grupos metilenos, de carácter hidrofóbico, y oxígenos con pares de electrones no enlazantes que pueden interactuar con otras especies polares, se da un balance entre fuerzas hidrofóbicas e hidrofílicas que le atribuye un carácter anfifílico a este polímero [237]. Se ha observado que PEO puede formar monocapas en la interfase agua/aire, una propiedad que ha sido asociada a moléculas anfifílicas [238, 239]. Además, el carácter anfifílico se ha atribuido a la flexibilidad de la cadena hidrofílica, la cual se adapta al entorno modulando las interacciones de puentes de hidrógeno intramoleculares [38, 240, 241].

A pesar de que las unidades monoméricas que componen a PEO no presentan carga, este puede interactuar con especies iónicas a través de interacciones del tipo ión dipolo, en específico con cationes mono y divalentes [47, 242, 243]. Gracias a esto, el polímero de PEO se utiliza en varias aplicaciones, como por ejemplo, en membranas poliméricas de electrólitos para baterías y celdas de combustible [244, 245] y como agente cristizador de sustancias inorgánicas [246, 247]. Dependiendo de la especie iónica, se puede dar coordinación de una molécula de cosoluto iónico con varias unidades monoméricas de óxido de etileno. En específico, en la Figura 5.1 se muestra una representación de la interacción entre Ca⁺² y PEO [46]. Horikoshi y

colaboradores, mediante espectros de infrarrojo y Raman, han encontrado que Ca^{+2} pueden coordinarse con 4 unidades de óxido de etileno, como se muestra en la Figura 5.1.

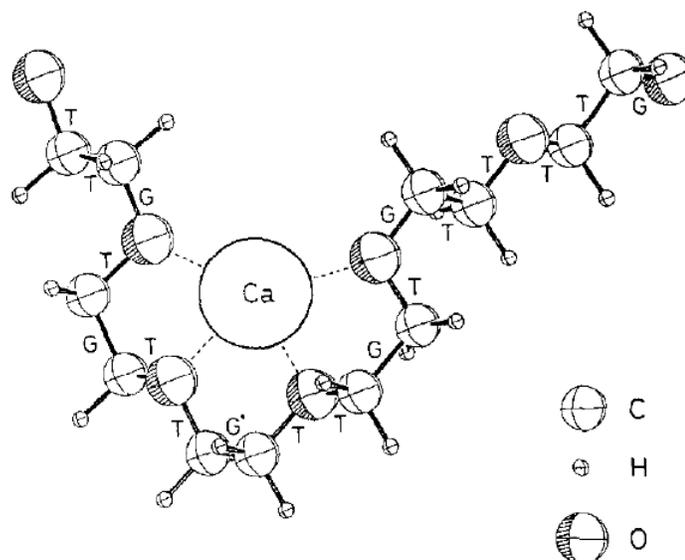


Figura 5.1. Modelo molecular de la interacción entre Ca^{+2} y PEO. Contenido reproducido de referencia [46]. T y G indican las conformaciones *trans* y *gauche* respectivamente.

Se ha informado que la interacción entre las unidades de óxido de etileno en PEO y agua se destruye cuando se adicionan cationes como K^+ [248]. La esfera de coordinación acuosa del catión se reemplaza por unidades de óxido de etileno, y este polímero se comporta de forma similar a como lo hacen los éteres corona en el proceso de quelación de cationes [249, 250]. Estudios de difracción de rayos X han demostrado que las cadenas de PEO cambian de conformación cuando se adiciona una sal inorgánica [251]. Es de esperar que, en presencia de iones como calcio, la conformación del segmento de PEO cambie, afectando el proceso de agregación de moléculas anfifílicas con unidades hidrofílicas de óxido de etileno.

La presencia de especies iónicas modula el comportamiento del agua. Los iones de Ca^{+2} se encuentran en solución acuosa solvatados de entre 5 a 10 moléculas de agua [252-254]. El ión Ca^{+2} presenta una fuerte interacción con moléculas de agua para formar la esfera de hidratación de este ión. Se ha visto que Ca^{+2} tiene preferencia para interactuar con moléculas de agua más que con otro solvente, como por ejemplo un

alcohol. La presencia de Ca^{+2} destruye la red de puentes de hidrógeno que forman las moléculas de agua, debido a que parte de las moléculas de agua que residen en la esfera de coordinación del ión Ca^{+2} , forman menos interacciones de puentes de hidrogeno con moléculas vecinas, ya que estas se encuentran fuertemente enlazadas al catión [255].

En los Capítulos 3 y 4 se ha estudiado el proceso de asociación de dos anfifilos derivados de PEO, Triton X-100 (TX-100) y un copolímero dibloque con unidades de PEO y ϵ -caprolactona, respectivamente. Se ha visto que estas moléculas anfifílicas se pueden autoensamblar en medio orgánico adicionando cantidades controladas de agua a una solución inicial de anfifilo / solvente orgánico. Previo a la formación de agregados se ha observado la formación de preagregados micelares en función de la concentración de agua, correspondiente a la interacción entre el agua y las moléculas o segmentos afines, como por ejemplo entre moléculas de agua y segmentos de PEO de cada anfifilo. El agua en estos agregados se encuentra principalmente como agua ligada, e interactuando tanto con PEO como con el solvente y/o cosurfactante. El proceso de asociación ocurre luego de adicionar una cierta cantidad de agua a las soluciones anfifilo / solvente orgánico. La adición de componentes diferentes al agua, pero solubles en esta, como por ejemplo fármacos, iones y polielectrólitos, podría afectar el proceso de asociación. Los estudios que se presentan a continuación comprenden las soluciones estudiadas en los Capítulos 3 y 4, TX-100 / ciclohexano : hexanol / agua y $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ / ciclohexanona / agua. En este Capítulo se estudiará el efecto en el patrón de agregación de ambos sistemas en función de la concentración de agua y en presencia de Ca^{+2} . La concentración de Ca^{+2} se ha dejado menor con respecto a la concentración total de cadenas de molécula anfifílica.

5.2. Experimental

5.2.1 Reactivos: Triton X-100 (Sigma Aldrich) fue secado en estufa de vacío a 50 °C por dos días. Ciclohexano, hexanol (Sigma Aldrich), ciclohexanona (TCI) y CaCl_2 anhidro (TCI) fueron utilizados tal cual fueron recibidos. El copolímero $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ fue sintetizado de acuerdo al procedimiento experimental detallado en el Capítulo 4.

5.2.2 Equipos: Los espectros de una y dos dimensiones fueron adquiridos en un espectrómetro AVANCE600 (Bruker, 600 MHz).

5.2.3 Procedimientos: Las muestras ensayadas corresponden a las mismas soluciones estudiadas en el Capítulo 3 y 4. Las soluciones de TX-100 / ciclohexano : hexanol se prepararon adicionando a una cantidad previamente pesada de TX-100 una mezcla de ciclohexano : hexanol 4/1 v/v, para generar una solución de TX-100 0.1 mol/L. Las soluciones de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ en ciclohexanona se prepararon pesando una cantidad apropiada de polímero para generar soluciones con 5, 10 y 15 % en peso de polímero. Las muestras fueron agitadas para ayudar a la homogenización de los componentes. La incorporación de CaCl₂ en las soluciones estudiadas, se llevó a cabo a partir de una solución madre de CaCl₂ 5 mol/L, de la cual se tomó una alícuota y se adicionó a las soluciones de TX-100 y PEO₄₃-*b*-PCL₁₄, quedando una concentración de Ca⁺² en las soluciones de 1 x 10⁻² M. Todas las soluciones han sido estudiadas en función de la concentración de agua. Se utilizó agua desionizada en las formulaciones, la que se adicionó por medio de una microjeringa. La adición de agua al sistema TX-100 / ciclohexano / n-hexanol se expresa de acuerdo al parámetro w_o , correspondiente a la concentración molar del agua en relación con la concentración molar de surfactante. La adición de agua al sistema PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ / ciclohexanona, se expresa sólo con respecto a la concentración de agua.

5.3. Resultados y discusión

5.3.1 Estudio de soluciones de TX-100 en presencia de Ca⁺²

En la Figura 5.2 se muestran los desplazamientos químicos correspondientes a los protones del agua y a los protones hidroxilos de n-hexanol y TX-100 en ausencia y presencia de Ca⁺² en soluciones de TX-100 / ciclohexano / hexanol. En ausencia de Ca⁺², los desplazamientos químicos del agua e hidroxilos aparecen por separado entre valores de w_o 0 y 19.4. A w_o 19.4 los desplazamientos químicos de ambas especies aparecen en un solo pico de resonancia. Por sobre w_o 19.4 los picos de resonancia del agua e hidroxilo se separan, y el pico de resonancia del agua se desplaza hacia campo bajo, mientras que el pico de resonancia de los grupos hidroxilos mantiene su posición en 4.7 ppm. Estos cambios en los desplazamientos químicos están íntimamente ligados con interacciones de puentes de hidrógeno entre moléculas, como por ejemplo entre una molécula de agua interaccionando con grupos hidroxilos y/o con las unidades de óxido

de etileno del surfactante TX-100. Un desplazamiento hacia campo bajo de picos de resonancia es indicativo de que la densidad electrónica alrededor del protón que se intercambia tiende a disminuir. Por otro lado, la separación entre los picos de resonancia es indicativa de que el intercambio químico ocurre lento y a la escala de tiempo de RMN.

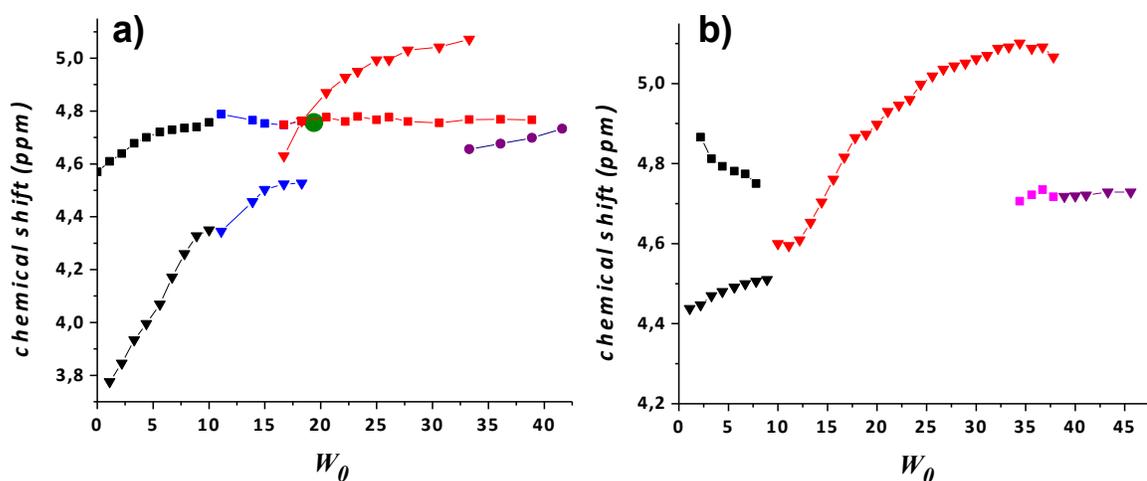


Figura 5.2. Desplazamientos químicos 1H -RMN de agua (\blacktriangledown) e hidroxilos (\blacksquare) en soluciones de TX-100 / Ciclohexano / n-hexanol en ausencia de Ca^{+2} (a) y en presencia de Ca^{+2} (b)

En presencia de Ca^{+2} y a w_0 1.1 los picos de resonancia del agua e hidroxilos se observan a 4.47 y 4.87 ppm respectivamente, lo cual representa un corrimiento de 0.7 y 0.26 ppm hacia campo bajo a lo observado en ausencia de Ca^{+2} . Esta diferencia en la posición inicial en presencia y ausencia de Ca^{+2} puede ser atribuida a la formación de complejos entre Ca^{+2} - agua y Ca^{+2} - alcohol, aunque se ha demostrado que el ión calcio en sistemas multicomponente tiende a formar complejos con moléculas de agua más que con moléculas de alcohol [255]. La adición de agua provoca una unión preferencial de las moléculas de agua a la esfera de coordinación del ión calcio. Tomando en cuenta que la velocidad de intercambio del protón observado aumenta conforme disminuye el valor de la separación de los picos de resonancia del agua e hidroxilos, en presencia de Ca^{+2} este intercambio ocurre más rápido con respecto a las soluciones en ausencia de Ca^{+2} , debido a que la diferencia entre desplazamientos químicos del agua y grupos hidroxilos es menor en presencia de Ca^{+2} en el rango de w_0 entre 0 y 10. Por sobre valores de w_0 10, sólo se observa un pico de resonancia para ambas especies, el cual comienza a

desplazarse conforme aumenta ω_o , alcanzando un valor cercano a 5 ppm cuando ω_o toma un valor de 26.7. A ω_o 34.4 se observa la aparición de dos picos singletes de resonancia a 4.71 ppm y 5.10 ppm, asignados a los protones del agua e hidroxilos, respectivamente. Estos nuevos picos se representan en la Figura 5.2 con diferentes símbolos. A ω_o 38.9 sólo se observa un pico de resonancia para ambas especies y centrado a 4.72 ppm. Una comparación entre la Figura 5.2a y 5.2b señala que el proceso de hidratación de las unidades hidrofílicas del surfactante e hidroxilos cambia cuando en la solución está presente un electrólito como Ca^{+2} . En ausencia de Ca^{+2} , las moléculas de agua adicionadas tenderán tanto a hidratar las cabezas polares del surfactante, en este caso la unidad repetitiva de PEO, como a interactuar vía puentes de hidrógeno con los hidroxilos del n-hexanol. En presencia de Ca^{+2} , el proceso de hidratación del catión está rompiendo la interacción entre PEO y agua que se observaba en ausencia de Ca^{+2} . La unión de iones de Ca^{+2} a los segmentos de óxido de etileno libera moléculas de agua, provocando a la vez un aumento en la velocidad de intercambio de moléculas de agua, además de provocar que la agregación de TX-100 ocurra a menores valores de ω_o .

Mayor información puede obtenerse usando técnicas bidimensionales de resonancia magnética nuclear. En específico, mediante DOSY se puede estudiar la difusión de las moléculas que participan en los sistemas TX-100 / ciclohexano / hexanol / agua y PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ / ciclohexanona / agua. En la Figura 5.3 se muestra el promedio de los valores de difusión de n-hexanol, TX-100, hidroxilos de n-hexanol y agua. En ausencia de Ca^{+2} y a valores de ω_o bajo 17, las constantes de difusión de TX-100 y n-hexanol tienden a disminuir levemente conforme aumenta ω_o , mientras que las constantes de difusión del agua e hidroxilos tienden a disminuir progresivamente conforme aumenta ω_o . Por sobre valores de ω_o 17.5 y hasta 26.7 se observa un abrupto descenso en el valor de las constantes de difusión. A valores de ω_o mayores a 26.7 se observa un aumento notorio en el valor de la constante de difusión del agua e hidroxilos. Cabe hacer notar que la constante de difusión del protón hidroxílico es levemente menor comparada con la difusión de los protones de la cadena alifática de n-hexanol.

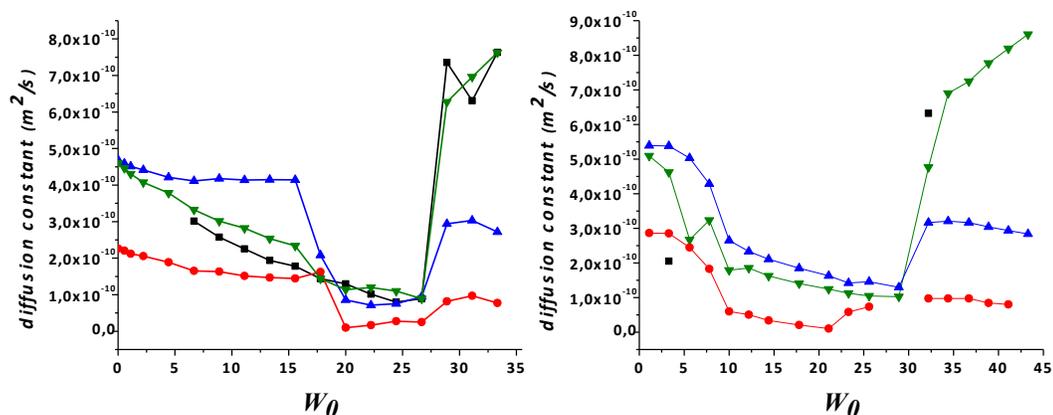


Figura 5.3. Constantes de difusión obtenidas mediante 1H -DOSY RMN de soluciones de TX100 / ciclohexano / n-hexanol en ausencia (a) y en presencia de Ca^{+2} (b). Los símbolos corresponden a las constantes de difusión de TX-100 (•), n-hexanol (▲), hidroxilo n-hexanol y TX-100 (▼) y agua (■)

De forma comparativa, en la Figura 5.3 se muestran las constantes de difusión de TX-100, n-hexanol, hidroxilos y agua en presencia de Ca^{+2} . Es posible observar 3 zonas con apreciables cambios en las constantes de difusión, de igual forma a lo observado en ausencia de Ca^{+2} . En presencia de Ca^{+2} , estos rangos se mantienen, en comparación con las soluciones en ausencia de Ca^{+2} , pero los rangos observados se desplazan hacia menores valores de w_0 . El primer rango, se desplaza desde w_0 17 en ausencia de Ca^{+2} a w_0 9-10 en presencia de Ca^{+2} . Este primer rango fue identificado previamente en el Capítulo 3 como una etapa en la cual ocurre la hidratación de los segmentos polares de TX-100, y corresponde a la zona donde se forman los preagregados micelares. Tal como fue explicado anteriormente, Ca^{+2} tiene preferencia para interactuar con las moléculas de agua, aunque podría estar ocurriendo que algunos monómeros del segmento de poli(óxido de etileno) estén formando parte de la esfera de coordinación de Ca^{+2} . Las moléculas de agua adicionales pasarían a formar parte tanto de la esfera de coordinación de Ca^{+2} , además de hidratar los segmentos hidrofílicos de óxido de etileno. Tomando en cuenta que el ión Ca^{+2} interactúa con las unidades de óxido de etileno, este ión se encuentra ocupando los sitios de unión del agua en el segmento hidrofílico de óxido de etileno, por lo que el rango de preagregados micelares se desplaza hacia menores contenidos de agua, y se necesita una menor cantidad de moléculas de agua para que ocurra la asociación. Cabe hacer notar que las constantes de difusión del agua en presencia de calcio no fueron detectadas mediante DOSY. Estudios teóricos

realizados por Owczarek y colaboradores [255] han mostrado que Ca^{+2} presenta interacción preferente por moléculas de agua, en un sistema binario agua / metanol, con preferencia de interactuar más con moléculas de agua que con metanol. La interacción preferente entre Ca^{+2} y agua provoca que disminuya notablemente las constantes de difusión del agua, indicativo de la interacción entre estos, aunque no se puede dejar de lado la interacción entre los óxidos de etileno y el agua. Esto da una idea de la restricción de movilidad que están experimentando las moléculas de agua, y directamente relacionado con la presencia de agua ligada cuando las soluciones poseen Ca^{+2} como cosoluto. Por otro lado, tanto en ausencia como en presencia de Ca^{+2} , los coeficientes de difusión del protón hidroxílico presenta valores intermedios entre los correspondientes coeficientes de difusión de las moléculas de n-hexanol y TX-100, en especial dentro de valores de w_o bajos. Si el intercambio químico ocurre entre dos moléculas que presentan diferentes coeficientes de difusión, la movilidad difusional del protón intercambiable refleja la movilidad promedio de las dos moléculas [191, 192].

Se han medido los tiempos de relajación T_1 y T_2 para los sistemas ensayados anteriormente. En la Figura 5.4 se muestran los tiempos de relajación T_1 y T_2 correspondientes al agua, hidroxilos y PEO en el sistema TX-100 / ciclohexano / n-hexanol en ausencia y presencia de Ca^{+2} . Los tiempos de relajación T_1 y T_2 del agua en ausencia de Ca^{+2} (Figura 5.4a) se mantienen casi constantes dentro del rango de w_o entre 0 y 26, y sobre este rango alcanzan valores similares, indicando la presencia de agua libre por sobre este rango. En presencia de Ca^{+2} , no se detectan todos los tiempos de relajación T_1 y T_2 del agua. T_2 se hace indetectable, y sólo se observan valores de T_1 a w_o 3.3 y 32.2. Lo anterior ya fue observado con las constantes de difusión del agua en presencia de Ca^{+2} , y se relaciona con la presencia de agua ligada. Por otro lado, un patrón similar al descrito anteriormente se da con los tiempos de relajación T_1 y T_2 de los grupos hidroxilo de n-hexanol y TX-100 (Figura 5.4b). En ausencia de Ca^{+2} , los valores de tiempos de relajación T_1 y T_2 tienden a aumentar conforme aumenta w_o . En presencia de Ca^{+2} , los tiempos de relajación T_2 no se detectan hasta valores de w_o 32.2, y son menores en comparación con soluciones en ausencia de Ca^{+2} , lo que indica que el agua presente en las soluciones con presencia de Ca^{+2} está mucho más estructurada que en ausencia de este. Los valores de T_1 de los grupos hidroxilos en presencia de Ca^{+2} se

mantienen similares dentro del rango de w_o entre 0 a 22.2, y por sobre este valor de w_o se observa que los valores de T_1 del grupo hidroxilo disminuyen levemente comparado con los valores de T_1 en ausencia de Ca^{+2} .

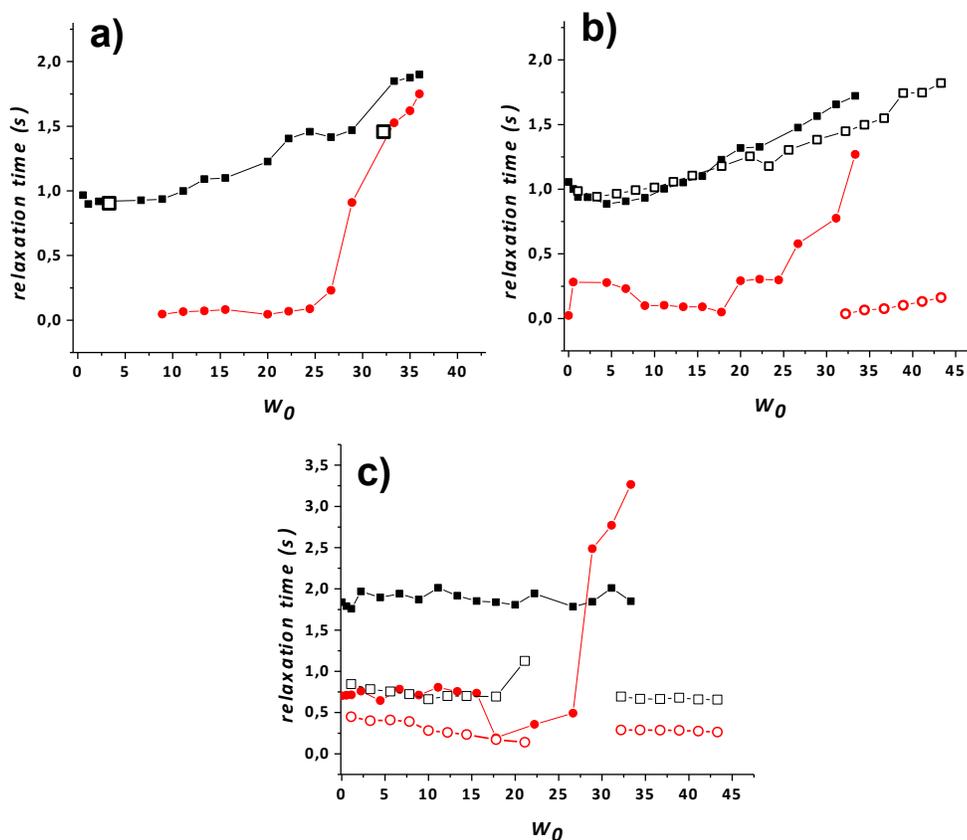


Figura 5.4. Tiempos de relajación T_1 (■) y T_2 (•) correspondientes a a) agua, b) hidroxilos y c) PEO. Los símbolos llenos indican soluciones en ausencia de Ca^{+2} , y los símbolos vacíos indican soluciones con presencia de Ca^{+2} .

En la Figura 5.4c se muestran los tiempos de relajación correspondientes a PEO, y se observa que el tiempo de relajación T_1 de PEO en ausencia de Ca^{+2} no varía conforme aumenta w_o . Los valores de T_2 de PEO en ausencia de Ca^{+2} se mantienen también sin variación y menores que T_1 , y a w_o 16.7 se observan un descenso en estos valores. Por sobre w_o 26.7, los tiempos de relajación T_2 aumentan, hasta alcanzar valores mayores que T_1 . En presencia de Ca^{+2} se observa un abrupto descenso en los valores de T_1 de PEO y un leve descenso en los valores T_2 . Esta disminución en el tiempo de relajación de PEO es un indicativo de la pérdida de movilidad que experimenta este segmento de la molécula de TX-100 al interactuar con Ca^{+2} y con las moléculas de agua. Los tiempos

de relajación del agua no fueron detectados, indicando que las moléculas de agua en presencia de Ca^{+2} tenderán a hidratar tanto a Ca^{+2} como a las unidades de PEO.

5.3.2 Estudio de soluciones de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ en presencia de Ca^{+2}

En la Figura 5.5 se muestran los desplazamientos químicos del agua a diferentes concentraciones de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$, en ausencia y presencia de Ca^{+2} . A diferencia del sistema TX-100 / ciclohexano / n-hexanol, la posición de los desplazamientos químicos de los protones del agua no se ve afectada por la presencia de una mayor cantidad de polímero ni por la presencia de Ca^{+2} . De forma comparativa con el sistema TX-100 / ciclohexano / n-hexanol, el polímero $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ posee 32-33 unidades de óxido de etileno más que TX-100, por lo que la probabilidad de que el ión calcio interaccione formando complejos con las unidades repetitivas de óxido de etileno es alta. Las moléculas de agua que se van adicionando estarían interaccionando tanto con Ca^{+2} , como con PEO y ciclohexanona. En el Capítulo 4 se describió que por sobre concentraciones de agua del 5 % ocurría la asociación de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$, y que el entorno que genera ciclohexanona es relativamente polar, donde también es probable que los iones de Ca^{+2} estén disueltos.

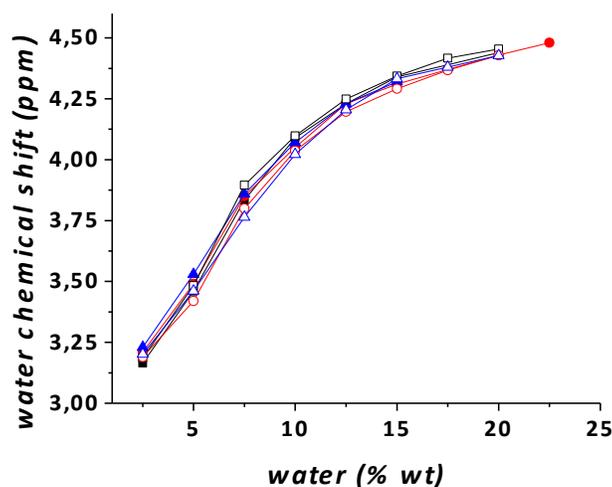


Figura 5.5. Desplazamientos químicos del agua a diferentes concentraciones de polímero y en presencia (símbolos llenos) y ausencia de Ca^{+2} (símbolos vacíos). Los símbolos representan la concentración de polímero, correspondiente a 5 % (■), 10 % (●), y 15 % (▲)

En la Figura 5.6 se muestran las constantes de difusión del agua y segmento PEO en soluciones de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ / ciclohexanona / agua, en ausencia y presencia de Ca²⁺. Es posible observar que una variación en la concentración de polímero provoca una disminución en las constantes de difusión observadas. Las constantes de difusión del agua (Figura 5.6a) en ausencia de Ca²⁺, tienden a disminuir conforme aumenta la concentración de agua.

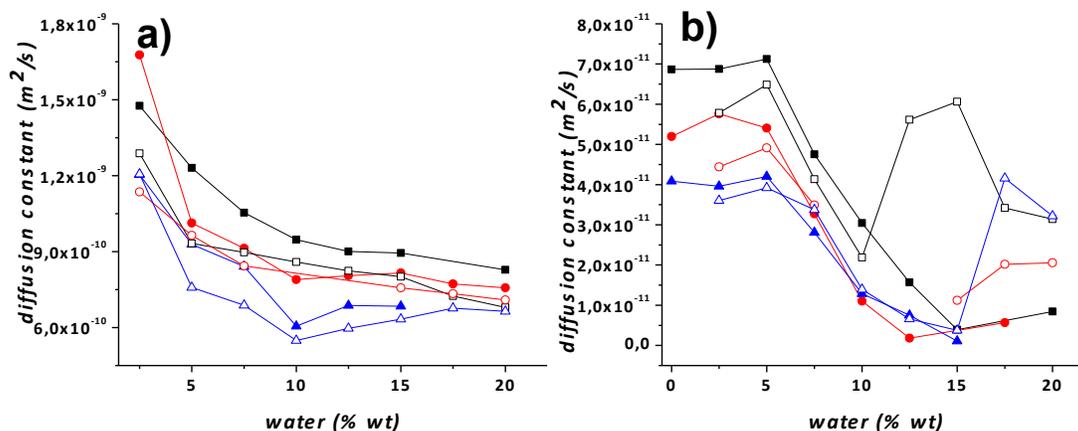


Figura 5.6. Constantes de difusión de a) agua y b) bloque de PEO de soluciones de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ / ciclohexanona en ausencia (símbolos llenos) y en presencia de Ca²⁺ (símbolos vacío). Los símbolos representan la concentración de polímero, correspondiente a 5 (■), 10 (●), y 15 (▲) % en peso.

En presencia de Ca²⁺ se observa una pequeña disminución en el coeficiente de difusión del agua para las tres concentraciones de polímero ensayadas. Esta disminución en el coeficiente de difusión del agua, indica que Ca²⁺ tiende rápidamente a hidratarse para formar con las moléculas de agua la primera y segunda capa de hidratación, además de que está ocurriendo la hidratación tanto de ciclohexanona como de PEO. Los coeficientes de difusión del bloque de PEO del copolímero en bloque en ausencia y presencia de Ca²⁺ se muestran en la Figura 5.6b. Se observa que los coeficientes de difusión del bloque de PEO no varían significativamente dentro del rango de agua de 0 y 5 %, pero por sobre esta concentración de agua los coeficientes de difusión disminuyen significativamente a concentraciones de agua de 7.5-10 %. En presencia de Ca²⁺, se observa que el coeficiente de difusión de PEO disminuye levemente comparado con los coeficientes de difusión en ausencia de Ca²⁺. A una concentración de polímero del 5 %, y

en presencia de Ca^{+2} , se observa que las constantes de difusión de PEO tienden a aumentar conforme aumenta la concentración de agua por sobre 10 %.

En la Figura 5.7 se muestran los tiempos de relajación T_1 y T_2 correspondientes a los protones del agua en el sistema $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ / ciclohexanona en presencia y ausencia de Ca^{+2} . Se puede observar que conforme aumenta la concentración de polímero, los valores de T_1 del agua tienden a disminuir, mientras que los valores de T_2 se mantienen dentro de valores bajos. Por sobre valores de 10 % de agua se observa que los tiempos de relajación T_1 del agua tienden a aumentar. La adición de Ca^{+2} a este sistema provoca una disminución en el tiempo de relajación T_1 del agua..

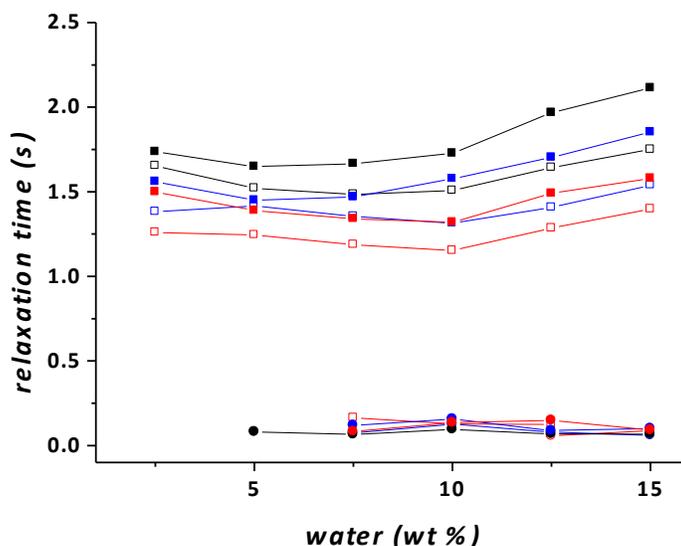


Figura 5.7. Tiempos de relajación T_1 (■) y T_2 (•) del agua en sistema $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ / ciclohexanona / agua a diferentes concentraciones de polímero: 5 % (■,•), 10 % (■,•), y 15 % (■,•). Los símbolos llenos representan soluciones en ausencia de Ca^{+2} , mientras que los símbolos vacíos representan soluciones en presencia de Ca^{+2} .

Los tiempos de relajación T_1 y T_2 correspondientes al segmento de PEO del copolímero en bloque en el sistema $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ / ciclohexanona, se muestran en la Figura 5.8. Se puede observar que en ausencia de Ca^{+2} , tanto el valor de T_1 como el de T_2 tienden a disminuir conforme aumenta la concentración de agua, y T_1 alcanza valores constantes a partir de un 10 % de agua adicionada. En el Capítulo 4 se ha mencionado que conforme aumentaba la concentración de agua en las soluciones de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ / ciclohexanona, las cadenas macromoleculares del polímero comienzan a perder

movilidad y a experimentar restricciones en la dinámica molecular. En presencia de Ca^{+2} , los valores de T_1 correspondientes a PEO disminuyen levemente en comparación con soluciones en ausencia de Ca^{+2} .

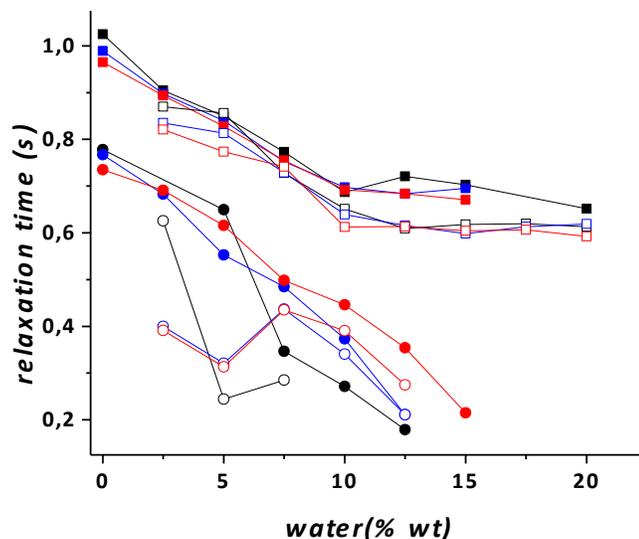


Figura 5.8. Tiempos de relajación T_1 (■) y T_2 (●) de PEO en sistema $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ / ciclohexanona / agua a diferentes concentraciones de polímero: 5 % (■, ●), 10 % (■, ●), y 15 % (■, ●). Los símbolos llenos representan soluciones en ausencia de Ca^{+2} , mientras que los símbolos vacíos representan soluciones en presencia de Ca^{+2} .

La presencia de Ca^{+2} en las soluciones estudiadas anteriormente afecta de manera diferente el proceso de asociación de TX-100 y $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$. El medio continuo no presenta las mismas características en cada una de las soluciones estudiadas. En las soluciones de TX-100, el patrón de agregación se ve afectado, ocurriendo este a valores de w_0 menores en comparación con soluciones en ausencia de Ca^{+2} . Los óxidos de etileno del surfactante TX-100 estarían actuando en la estabilización del ión calcio. Este segmento se satura con una menor cantidad de moléculas de agua en presencia de Ca^{+2} , debido a que Ca^{+2} estaría ocupando los sitios de unión del agua en TX-100, y las moléculas de agua extra adicionadas tenderían a ocupar los sitios vacantes para hidratar el segmento de PEO, y también tenderán a hidratar el ión calcio. Esta observación se fundamenta con la disminución en las constantes de difusión de los componentes presentes en las soluciones (Figura 5.3). Cabe destacar que las constantes de difusión y tiempos de relajación del agua no fueron detectados, lo que indicaría que el agua

presente en soluciones de TX-100 con Ca^{+2} se encuentra altamente estructurada, posiblemente hidratando tanto al segmento de PEO de TX-100 como al ión calcio.

La presencia de Ca^{+2} en las soluciones de $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ / ciclohexanona / agua ha presentado poca influencia en el proceso de asociación del polímero. Los desplazamientos químicos del agua permanecen sin mayor variación tanto en ausencia como en presencia de Ca^{+2} . De forma contraria a lo observado con TX-100, el segmento de PEO no presenta un rol activo en estabilizar a Ca^{+2} , ya que este rol también puede ser atribuido a ciclohexanona. La formación de un posible complejo entre el polímero y Ca^{+2} se evidencia a concentraciones de polímero de 10 y 15 %, debido a que los tiempos de relajación T_2 de PEO disminuyen notablemente dentro del rango de 2.5 a 5 % de agua. En comparación con las soluciones de TX-100 en presencia de Ca^{+2} , en las soluciones de polímero - Ca^{+2} ha sido posible detectar los tiempos de relajación del agua, lo que indicaría que en estas soluciones el agua estaría en un entorno que no restringe fuertemente a las moléculas de agua a estar enlazadas preferentemente con calcio, PEO o ciclohexanona.

5.4. Conclusiones

Los resultados expuestos anteriormente pueden ayudar a construir una visión supramolecular acerca de la autoagregación de las moléculas anfifílicas ensayadas, TX-100 y $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$, en presencia de Ca^{+2} . Se ha visto que el patrón de agregación de TX-100 se ve altamente afectado en presencia de Ca^{+2} , mientras que el correspondiente a $\text{PEO}_{43}\text{-}b\text{-PCL}_{14}$ no varía significativamente. En ausencia de Ca^{+2} , conforme aumenta la cantidad de agua en las soluciones de TX-100, predomina la interacción entre las unidades hidrofílicas de PEO y agua, dando paso a la formación de agua estructurada, a juzgar por los valores de relajación T_1 y T_2 del agua, los que se mantienen diferentes dentro de este rango. En presencia de Ca^{+2} , esta interacción se complementa con la interacción entre Ca^{+2} y PEO, dando paso a que Ca^{+2} se hidrate y forme su esfera de hidratación. Esto se corrobora con los valores de difusión del agua en presencia y ausencia de Ca^{+2} para el sistema TX-100 / ciclohexano / n-hexanol, donde las constantes de difusión del agua cambian notoriamente en presencia y ausencia de Ca^{+2} . La presencia de un ión en las soluciones estudiadas genera una alta estructuración de las

moléculas de agua, afectando y alterando el proceso de asociación de TX-100. Se hace interesante su estudio por las posibles aplicaciones de estas soluciones, y en específico, en las aplicaciones que podrían estar envueltos los agregados formados.

Capítulo VI: Comentarios finales

En este trabajo de tesis, se ha mostrado el rol del agua como un agente necesario para que ocurra la asociación de moléculas anfifílicas no iónicas. Puede reconocerse el rol del agua como agente modulador entre las diferentes estructuras o agregados que se han formado en función de la concentración de agua. Una pequeña cantidad de moléculas de agua estimula la agregación de moléculas anfifílicas en medio no acuoso y apolar. Debido a que la cantidad de moléculas de agua es menor en comparación con los otros componentes, estas moléculas se encuentran interaccionando fuertemente con los segmentos o zonas hidrofílicas, lo que restringe su movimiento en solución, dando paso a la estructuración de moléculas de agua, proceso que ocurre principalmente en los segmentos hidrofílicos de PEO. La presencia de agua estructurada es independiente de si existe o no un agregado formado. Un aumento en la cantidad de moléculas de agua, hasta alcanzar la saturación de todos los sitios posibles de interacción, es la responsable de que ocurra la asociación de moléculas anfifílicas en medio apolar. El proceso de asociación de TX-100 ya había sido descrito por Kumar y colaboradores, los que han sentado las bases del proceso de agregación de TX-100. Aunque el sistema estudiado difiere en la composición utilizada por Kumar y Qi, se han encontrado interesantes tendencias, relativas a la asociación de este surfactante, y este trabajo complementa la visión dada por estos autores. Por otro lado, se destaca el uso de RMN como técnica analítica para detectar agua ligada o estructurada. La presencia de agua libre sólo ha sido observada en el sistema compuesto por TX-100, mientras que en las soluciones de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄, el agua adicionada se encuentra como agua ligada tanto en la etapa de preagregación, como en los agregados. La asociación de estas moléculas en medio reverso genera soluciones con partículas de tamaño nanométrico. Con vistas a futuras aplicaciones de las soluciones ensayadas durante este trabajo de tesis, se ha visto que la presencia de un cosoluto iónico como Ca⁺², cambia el patrón de asociación tanto de las moléculas de agua como del sistema TX-100 en n-hexanol / ciclohexano.

Las proyecciones del trabajo presentado se orientan hacia varios campos, de los cuales se destacan los siguientes:

i) Almacenaje y liberación de sustancias hidrofílicas polares: Los agregados que se han estudiado en esta tesis presentan centros de características hidrofílicas, que los convierte en vehículos ideales para almacenar sustancias hidrofílicas de interés en farmacia, bioquímica, medicina, etc.[256-261]. Las soluciones estudiadas en esta tesis presentan muy baja biocompatibilidad para ser aplicadas en este campo, pero si se emplearan aceites biocompatibles como medio continuo, el estudio llevado a cabo puede proyectarse y ampliarse a varias líneas de investigación. Un ejemplo es el ácido oleico, que se usa actualmente en formulaciones farmacéuticas y alimenticias [262-264]. De forma indirecta se ha observado que las moléculas anfífilas estudiadas en medio apolar se asocian en presencia de agua, además de que el agua se comporta como un agente modulador entre diferentes morfologías. Este comportamiento se ha utilizado para generar materiales con características específicas. Por ejemplo, soluciones de lecitina en medio oleoso forman micelas reversas, y en contacto con una mayor cantidad de agua se transforman en cristales líquidos [260, 265]. Esto podría utilizarse como un vehículo de entrega controlada de sustancias de interés. Las soluciones estudiadas forman sistemas tipo cristal líquido (lamelas y similares) pero no se ahondó en este tema. Por otro lado, en medio acuoso, los polímeros de PEO-*b*-PCL forman nanopartículas. Estas nanopartículas pueden usarse como vehículos para la entrega controlada de moléculas de interés, debido a que el segmento de PCL es biodegradable mientras que el segmento de PEO es biocompatible pero no biodegradable [266, 267].

ii) Nanotecnología y materiales: Las soluciones que se han ensayado durante este trabajo de tesis presentan aplicaciones directas en la síntesis de nanoestructuras inorgánicas en fase líquida [268, 269], debido a que ofrecen control sobre la morfología fina de la nanopartícula inorgánica. Ya que la adición de agua modifica la morfología de los agregados en medio orgánico, estos ofrecen un control sobre la morfología final de la nanopartícula en un amplio rango de concentraciones de agua. Por lo general, los precursores de nanopartículas inorgánicas son sales solubles en agua. Esto permite almacenar dichos precursores en las cavidades hidrofílicas de agregados estudiados, junto también con realizar una mezcla de ambos precursores en el interior del agregado. Hemos observado que el patrón de agregación de TX-100 y PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ cambia en presencia de Ca⁺², un precursor para la síntesis de nanopartículas inorgánicas de CaCO₃

[270-272]. También las soluciones estudiadas pueden utilizarse para la obtención de nanopartículas orgánicas de alginato de calcio [273-276].

El poder estructurante del agua en zonas de alta concentración de surfactante puede dar lugar a nuevos materiales, como los que se intuyen en los diagramas de fases como geles. La remoción del solvente podría dar lugar a la formación de nuevos materiales, lo que conlleva a la generación de sistemas fuera del equilibrio.

Referencias

1. Cragg PJ. *Supramolecular Chemistry: From Biological Inspiration to Biomedical Applications*: Springer Netherlands, 2010.
2. Williams DH, Stephens E, O'Brien DP, and Zhou M. *Angewandte Chemie International Edition* 2004;43(48):6596-6616.
3. Privalov PL and Makhatadze GI. *Journal of Molecular Biology* 1992;224(3):715-723.
4. Kool ET. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 2001;30:1-22.
5. Frieden E. *Journal of Chemical Education* 1975;52(12):754.
6. Van Oss CJ, Good RJ, and Chaudhury MK. *Journal of Colloid and Interface Science* 1986;111(2):378-390.
7. Israelachvili J and Tabor D. *Progress in surface and membrane science* 1973;7:1-55.
8. Su P and Li H. *The Journal of Chemical Physics* 2009;131(1):-.
9. Cerny J and Hobza P. *Physical Chemistry Chemical Physics* 2007;9(39):5291-5303.
10. Israelachvili JN. *Q Rev Biophys* 1973;6(4):341-387.
11. Autumn K, Sitti M, Liang YA, Peattie AM, Hansen WR, Sponberg S, Kenny TW, Fearing R, Israelachvili JN, and Full RJ. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2002;99(19):12252-12256.
12. Frank IW, Tanenbaum DM, van der Zande AM, and McEuen PL. *Journal of Vacuum Science & Technology B* 2007;25(6):2558-2561.
13. Chieh C. *Intermolecular forces*.
14. Mignon P, Loverix S, Steyaert J, and Geerlings P. *Nucleic Acids Research* 2005;33(6):1779-1789.
15. Šponer J, Leszczynski J, and Hobza P. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 1996;14(1):117-135.
16. Arunan E, Desiraju Gautam R, Klein Roger A, Sadlej J, Scheiner S, Alkorta I, Clary David C, Crabtree Robert H, Dannenberg Joseph J, Hobza P, Kjaergaard Henrik G, Legon Anthony C, Mennucci B, and Nesbitt David J. *Defining the hydrogen bond: An account (IUPAC Technical Report)*. *Pure and Applied Chemistry*, vol. 83, 2011. pp. 1619.
17. Whitesides GM and Grzybowski B. *Science* 2002;295(5564):2418-2421.
18. Lehn J-M. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2002;99(8):4763-4768.
19. Steed JW and Atwood JL. *Supramolecular chemistry*: John Wiley & Sons, 2009.
20. Frazer A, Schulman J, and Stewart H. *The Journal of physiology* 1944;103(3):306-316.
21. Maldonado-Valderrama J, Wilde P, Macierzanka A, and Mackie A. *Advances in Colloid and Interface Science* 2011;165(1):36-46.
22. Cabane B, Duplessix R, and Zemb T. *J. Phys. France* 1985;46(12):2161-2178.
23. Mitchell DJ, Tiddy GJT, Waring L, Bostock T, and McDonald MP. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases* 1983;79(4):975-1000.
24. Alami E, Levy H, Zana R, and Skoulios A. *Langmuir* 1993;9(4):940-944.
25. *Phase Behavior of Surface-Active Solutes*. *Particle Sciences - Technical Brief Volumen 6*, 2012.
26. Alexandridis P, Olsson U, and Lindman B. *Langmuir* 1998;14(10):2627-2638.
27. Shrestha RG, Shrestha LK, Acharya S, and Aramaki K. *J Oleo Sci* 2012;61(10):575-584.
28. Ravey JC, Buzier M, and Picot C. *Journal of Colloid and Interface Science* 1984;97(1):9-25.
29. Ramanathan M, Shrestha LK, Mori T, Ji Q, Hill JP, and Ariga K. *Phys Chem Chem Phys* 2013;15(26):10580-10611.
30. von Stockar U and van der Wielen LAM. *Biothermodynamics: The Role of Thermodynamics in Biochemical Engineering*: EFPL Press, 2013.
31. Dokter AM. *Water in confinement: ultrafast dynamics of water in reverse micelles*. FNWI: Van 't Hoff Institute for Molecular Science (HIMS), vol. PhD.: Universiteit van Amsterdam, 2008. pp. 141.
32. Luisi PL, Walde P, and Oberholzer T. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 1999;4(1):33-39.
33. Monnard P-A and Deamer DW. *The Anatomical Record* 2002;268(3):196-207.
34. Kjellander R and Florin E. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases* 1981;77(9):2053-2077.
35. Dormidontova EE. *Macromolecules* 2001;35(3):987-1001.
36. Sasanuma Y. *Intramolecular Interactions of Polyethers and Polysulfides, Investigated by NMR, Ab Initio Molecular Orbital Calculations, and Rotational Isomeric State Scheme: An Advanced Analysis of NMR Data*. *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, vol. Volume 49: Academic Press, 2003. pp. 213-280.
37. Smitter LM. *Study of the interactions between poly(ethylene oxide) and anionic surfactants in elongational flow*. The University of Arizona.
38. Sasanuma Y, Ohta H, Touma I, Matoba H, Hayashi Y, and Kaito A. *Macromolecules* 2002;35(9):3748-3761.
39. Norman AI, Fei Y, Ho DL, and Greer SC. *Macromolecules* 2007;40(7):2559-2567.
40. Lee JH, Ju YM, and Kim DM. *Biomaterials* 2000;21(7):683-691.
41. Amiji M and Park K. *Biomaterials* 1992;13(10):682-692.
42. Jo S and Park K. *Biomaterials* 2000;21(6):605-616.
43. Shikata T, Takahashi R, and Sakamoto A. *The Journal of Physical Chemistry B* 2006;110(18):8941-8945.
44. Hammouda B, Ho DL, and Kline S. *Macromolecules* 2004;37(18):6932-6937.
45. Payne DR and Wright PV. *Polymer* 1982;23(5):690-693.
46. Horikoshi K, Hata K, Kawabata N, Ikawa S-I, and Konaka S. *Journal of Molecular Structure* 1990;239(0):33-42.
47. Wahab SA, Ruhul Matin M, and Matsuura H. *Journal of Molecular Structure* 2003;658(1-2):79-86.
48. Soler-Illia GJdAA and Sanchez C. *New Journal of Chemistry* 2000;24(7):493-499.
49. Sagawa N and Shikata T. *The Journal of Physical Chemistry B* 2013;117(37):10883-10888.
50. Sturcova A, Schmidt P, and Dybal J. *J Colloid Interface Sci* 2010;352(2):415-423.

51. Robinson CR and Sligar SG. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1995;92(8):3444-3448.
52. Tait MJ and Franks F. Nature 1971;230(5289):91-94.
53. Fayer MD and Levinger NE. Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif) 2010;3:89-107.
54. Fayer MD. Acc Chem Res 2012;45(1):3-14.
55. Qwerter. 3d model of hydrogen bond in water (http://commons.wikimedia.org/wiki/File:3D_model_hydrogen_bonds_in_water.svg). In: Commons W, editor.
56. Fayer MD. Water in a Crowd, 2011.
57. Gárate J, de los Ángeles Valenzuela M, Gárate M, and Olea A. Journal of Surfactants and Detergents 2009;12(3):231-236.
58. Sandoval TE, Espinoza LJ, Guerra IA, Olea AF, and Gárate MP. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2012;398(0):17-23.
59. Qi L and Ma J. J Colloid Interface Sci 1998;197(1):36-42.
60. Pramanick D and Mukherjee D. Journal of Colloid and Interface Science 1993;157(1):131-134.
61. Vasilescu M, Caragheorghopol A, Caldaru H, Bandula R, Lemmetyinen H, and Joela H. The Journal of Physical Chemistry B 1998;102(40):7740-7751.
62. Naoe K, Ura O, Hattori M, Kawagoe M, and Imai M. Biochemical Engineering Journal 1998;2(2):113-119.
63. Correa NM, Biasutti MA, and Silber JJ. Journal of Colloid and Interface Science 1996;184(2):570-578.
64. Santhanalakshmi J and Maya SI. Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Chemical Sciences 1997;109(1):27-38.
65. Shrestha LK, Shrestha RG, Aramaki K, Acharya S, Hill JP, and Ariga K. J Nanosci Nanotechnol 2012;12(5):3716-3724.
66. Shrestha LK, Shrestha RG, Aramaki K, Hill JP, and Ariga K. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2012;414(0):140-150.
67. Flores ME, Shibue T, Sugimura N, Nishide H, Martínez F, Olea AF, and Moreno-Villoslada I. Journal of Molecular Liquids 2014;199(0):301-308.
68. Picquart M, Valdez D, Vázquez H, Urbach W, and Waks M. AIP Conference Proceedings 2005;759(1):103-110.
69. Qi L and Ma J. Journal of Colloid and Interface Science 1998;197(1):36-42.
70. Pileni MP. The Journal of Physical Chemistry 1993;97(27):6961-6973.
71. Ohno H, Shibayama M, and Tsuchida E. Die Makromolekulare Chemie 1983;184(5):1017-1024.
72. Bounds DG. Molecular Physics 1985;54(6):1335-1355.
73. Pope JM and Cornell BA. Chemistry and Physics of Lipids 1979;24(1):27-43.
74. Onori G and Santucci A. The Journal of Physical Chemistry 1993;97(20):5430-5434.
75. Das D and Nath DN. The Journal of Physical Chemistry B 2007;111(37):11009-11015.
76. Shinoda K, Yamaguchi T, and Hori R. Bulletin of the Chemical Society of Japan 1961;34(2):237-241.
77. Kumar VV, Kumar C, and Raghunathan P. Journal of Colloid and Interface Science 1984;99(2):315-323.
78. Blattner C, Bittner J, Schmeer G, and Kunz W. Physical Chemistry Chemical Physics 2002;4(10):1921-1927.
79. Schurtenberger P and Cavaco C. Langmuir 1994;10(1):100-108.
80. Li J, Shi L, An Y, Li Y, Chen X, and Dong H. Polymer 2006;47(26):8480-8487.
81. Orädd G, Lindblom G, Fontell K, and Ljusberg-Wahren H. Biophysical Journal 1995;68(5):1856-1863.
82. Lindman B, Kamenka N, Kathopoulos TM, Brun B, and Nilsson PG. The Journal of Physical Chemistry 1980;84(19):2485-2490.
83. Chattopadhyay A, Mukherjee S, and Raghuraman H. The Journal of Physical Chemistry B 2002;106(50):13002-13009.
84. Falcone RD, Correa NM, Biasutti MA, and Silber JJ. Langmuir 2000;16(7):3070-3076.
85. Caldaru H, Caragheorghopol A, Vasilescu M, Dragutan I, and Lemmetyinen H. The Journal of Physical Chemistry 1994;98(20):5320-5331.
86. Pant D and Levinger NE. Langmuir 2000;16(26):10123-10130.
87. Kahlweit M, Strey R, and Busse G. The Journal of Physical Chemistry 1990;94(10):3881-3894.
88. Moreno-Villoslada I, Torres C, González F, Shibue T, and Nishide H. Macromolecular Chemistry and Physics 2009;210(13-14):1167-1175.
89. Attwood D, Waigh R, Blundell R, Bloor D, Thévand A, Boitard E, Dubès J-P, and Tachoire H. Magnetic Resonance in Chemistry 1994;32(8):468-472.
90. Lesemann M, Thirumoorthy K, Kim YJ, Jonas J, and Paulaitis ME. Langmuir 1998;14(19):5339-5341.
91. Hrabe J, Kaur G, and Guilfoyle DN. J Med Phys 2007;32(1):34-42.
92. Stejskal EO and Tanner JE. The Journal of Chemical Physics 1965;42(1):288-292.
93. Friebolin H. Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy: Wiley, 2010.
94. Wikibooks. Basic Physics of Nuclear Medicine/MRI & Nuclear Medicine 2013.
95. Kowski A, Bojarski P, and Kukliński B. Chemical Physics Letters 2008;463(4-6):410-412.
96. Valeur B and Berberan-Santos MN. Environmental Effects on Fluorescence Emission. Molecular Fluorescence: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012. pp. 109-140.
97. Reichardt C. Chemical Reviews 1994;94(8):2319-2358.
98. Uversky VN, Winter S, and Löber G. Biophysical Chemistry 1996;60(3):79-88.
99. Kirk WR, Kurian E, and Prendergast FG. Biophysical Journal 1996;70(1):69-83.
100. Upadhyay A, Bhatt T, Tripathi HB, and Pant DD. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 1995;89(3):201-207.
101. Wong M, Thomas JK, and Graetzel M. Journal of the American Chemical Society 1976;98(9):2391-2397.
102. Kosower EM, Dodiuk H, Tanizawa K, Ottolenghi M, and Orbach N. Journal of the American Chemical Society 1975;97(8):2167-2178.
103. Verbeeck A, Gelade E, and De Schryver FC. Langmuir 1986;2(4):448-456.
104. Maxim ME, Stinga G, Iovescu A, Baran A, Ilie C, and Anghel DF. Revue Roumaine de Chimie 2012;57(3):6.
105. Kahlweit M, Strey R, and Busse G. The Journal of Physical Chemistry 1991;95(13):5344-5352.

106. Caponetti E, Lizzio A, Triolo R, Griffith WL, and Johnson JS. *Langmuir* 1992;8(6):1554-1562.
107. Mathew DS and Juang R-S. *Separation and Purification Technology* 2007;53(3):199-215.
108. Nagarajan R and Ruckenstein E. *Langmuir* 2000;16(16):6400-6415.
109. Zheng O, Zhao J-X, and Fu X-M. *Langmuir* 2006;22(8):3528-3532.
110. Penders MHGM and Strey R. *The Journal of Physical Chemistry* 1995;99(25):10313-10318.
111. Borys NF, Holt SL, and Barden RE. *Journal of Colloid and Interface Science* 1979;71(3):526-532.
112. Khmelnitsky YL, Van Hoek A, Veeger C, and Visser AJWG. *The Journal of Physical Chemistry* 1989;93(2):872-878.
113. Khmelnitsky YL, Zharinova IN, Berezin Iv, Levashov Av, and Martinek K. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1987;501(1):161-164.
114. Smith GD, Donelan CE, and Barden RE. *Journal of Colloid and Interface Science* 1977;60(3):488-496.
115. Xu J, Yin AL, Zhao JK, Li DX, and Hou WG. *Journal of Physical Chemistry B* 2013;117(1):450-456.
116. Aucelio RQ, Doyle A, Pizzorno BS, Tristao MLB, and Campos RC. *Microchemical Journal* 2004;78(1):21-26.
117. de Souza RM, Meliande ALS, da Silveira CLP, and Aucelio RQ. *Microchemical Journal* 2006;82(2):137-141.
118. Gupta RB and Brinkley RL. *AIChE Journal* 1998;44(1):207-213.
119. Gainaru C, Kastner S, Mayr F, Lunkenheimer P, Schildmann S, Weber HJ, Hiller W, Loidl A, and Böhmer R. *Physical Review Letters* 2011;107(11):118304.
120. Buchbinder AM, Weitz E, and Geiger FM. *Journal of the American Chemical Society* 2010;132(41):14661-14668.
121. Chowdhury MA, Majid MA, and Saleh MA. *The Journal of Chemical Thermodynamics* 2001;33(3):347-360.
122. Alam MK and Callis JB. *Analytical Chemistry* 1994;66(14):2293-2301.
123. Czarnecki MA, Muszyński AS, and Troczyńska H. *Journal of Molecular Structure* 2010;974(1-3):60-67.
124. D'Aprano A, Donato I, and Liveri V. *Journal of Solution Chemistry* 1990;19(7):711-720.
125. D'Aprano A, Donato D, and Agrigento V. *Journal of Solution Chemistry* 1982;11(4):259-269.
126. Fletcher AN and Heller CA. *The Journal of Physical Chemistry* 1967;71(12):3742-3756.
127. Iwahashi M, Hayashi Y, Hachiya N, Matsuzawa H, and Kobayashi H. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions* 1993;89(4):707-712.
128. Murty TSSR. *Canadian Journal of Chemistry* 1970;48(1):184-187.
129. Bich E, Hensen U, Michalik M, Wandschneider D, and Heintz A. *Physical Chemistry Chemical Physics* 2002;4(23):5827-5832.
130. Fujiwara H and Ikenoue T. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases* 1976;72(0):2375-2380.
131. Kumeev RS, Nikiforov MY, Totchasov ED, and Al'per GA. *Journal of Structural Chemistry* 2008;49(6):1120-1123.
132. Tucker EE and Becker ED. *The Journal of Physical Chemistry* 1973;77(14):1783-1795.
133. Czarnecki MA and Orzechowski K. *The Journal of Physical Chemistry A* 2003;107(8):1119-1126.
134. Bogdan M, Floare CG, and Pîrnau A. *Journal of Physics: Conference Series* 2009;182(1):012002.
135. Davies DB, Djimant LN, and Veselkov AN. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions* 1996;92(3):383-390.
136. Moreno-Villoslada I, Torres-Gallegos Cs, Araya-Hermosilla R, and Nishide H. *The Journal of Physical Chemistry B* 2010;114(12):4151-4158.
137. Manley GA and Rovnyak D. *Application Note* 2006.
138. Corsaro C, Spooen J, Branca C, Leone N, Broccio M, Kim C, Chen S-H, Stanley HE, and Mallamace F. *The Journal of Physical Chemistry B* 2008;112(34):10449-10454.
139. Stringfellow TC and Farrar TC. *The Journal of Physical Chemistry* 1995;99(12):3889-3891.
140. Ferrario M, Haughney M, McDonald IR, and Klein ML. *The Journal of Chemical Physics* 1990;93(7):5156-5166.
141. Micali N, Trusso S, Vasi C, Blaudez D, and Mallamace F. *Physical Review E* 1996;54(2):1720-1724.
142. Bryant RG. *Journal of Chemical Education* 1983;60(11):933.
143. Kumar C and Balasubramanian D. *Journal of Colloid and Interface Science* 1979;69(2):271-279.
144. Kumar C and Balasubramanian D. *Journal of Colloid and Interface Science* 1980;74(1):64-70.
145. Wennerström H and Lindman B. *Physics Reports* 1979;52(1):1-86.
146. Uchegbu IF and Florence AT. *Advances in colloid and interface science* 1995;58(1):1-55.
147. Sakya P, Seddon JM, Templar RH, Mirkin RJ, and Tiddy GJT. *Langmuir* 1997;13(14):3706-3714.
148. Merdas A, Gindre M, Ober R, Nicot C, Urbach W, and Waks M. *The Journal of Physical Chemistry* 1996;100(37):15180-15186.
149. Shrestha LK, Sato T, Dulle M, Glatzer O, and Aramaki K. *The Journal of Physical Chemistry B* 2010;114(37):12008-12017.
150. Tung SH and University of Maryland CPCE. *Self-assembly of Amphiphilic Molecules in Organic Liquids: University of Maryland, College Park, 2007.*
151. Michaels MA, Sherwood S, Kidwell M, Allsbrook MJ, Morrison SA, Rutan SC, and Carpenter EE. *Journal of Colloid and Interface Science* 2007;311(1):70-76.
152. Riter RE, Undiks EP, Kimmel JR, and Levinger NE. *The Journal of Physical Chemistry B* 1998;102(41):7931-7938.
153. Correa NM, Silber JJ, Riter RE, and Levinger NE. *Chemical Reviews* 2012;112(8):4569-4602.
154. Kumar C and Balasubramanian D. *The Journal of Physical Chemistry* 1980;84(15):1895-1899.
155. Bru R, Sánchez-Ferrer A, and García-Carmona F. *Biochem. J.* 1995;310(3):721-739.
156. Shrestha LK, Shrestha RG, and Aramaki K. *J Nanosci Nanotechnol* 2011;11(6):4863-4873.
157. Altavilla C and Ciliberto E. *Inorganic Nanoparticles: Synthesis, Applications, and Perspectives: Taylor & Francis, 2010.*
158. Bellusci M, La Barbera A, Seralessandri L, Padella F, Piozzi A, and Varsano F. *Polymer International* 2009;58(10):1142-1147.
159. Yang H-H, Zhang S-Q, Chen X-L, Zhuang Z-X, Xu J-G, and Wang X-R. *Analytical Chemistry* 2004;76(5):1316-1321.
160. Gupte A, Nagarajan R, and Kilara A. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 1995;34(8):2910-2922.

161. Carvalho CM and Cabral JM. *Biochimie* 2000;82(11):1063-1085.
162. Churakhina YI, Ivanova YB, Maltzeva OV, and Mamardashvili NZ. *Russian Journal of Coordination Chemistry* 2009;35(11):850-856.
163. Jayakannan M and Ramakrishnan S. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 2000;38(15):2635-2644.
164. Zhu DM, Wu X, and Schelly ZA. *The Journal of Physical Chemistry* 1992;96(17):7121-7126.
165. Zhu DM and Schelly ZA. *Langmuir* 1992;8(1):48-50.
166. Das K, Jain B, and Patel HS. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2004;60(8-9):2059-2064.
167. Kluge T, Knoll H, and Helmstedt M. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* 1997;101(11):1703-1705.
168. Zhu DM, Feng KI, and Schelly ZA. *The Journal of Physical Chemistry* 1992;96(5):2382-2385.
169. Grünberg B, Emmler T, Gedat E, Shenderovich I, Findenege GH, Limbach H-H, and Buntkowsky G. *Chemistry – A European Journal* 2004;10(22):5689-5696.
170. Tan H-S, Piletic IR, Riter RE, Levinger NE, and Fayer MD. *Physical Review Letters* 2005;94(5):057405.
171. Despa F. *Physical Chemistry Chemical Physics* 2008;10(32):4740-4747.
172. Israelachvili J and Wennerstrom H. *Nature* 1996;379(6562):219-225.
173. Fullerton GD, Potter JL, and Dornbluth NC. *Magnetic Resonance Imaging* 1982;1(4):209-226.
174. Takamuku T, Yamagami M, Wakita H, Masuda Y, and Yamaguchi T. *The Journal of Physical Chemistry B* 1997;101(29):5730-5739.
175. Shrestha LK, Sato T, Acharya DP, Iwanaga T, Aramaki K, and Kunieda H. *The Journal of Physical Chemistry B* 2006;110(25):12266-12273.
176. Schick MJ. *Nonionic Surfactants: Physical Chemistry: MARCEL DEKKER Incorporated, 1987.*
177. Wu S-T. *Physical Review A* 1986;33(2):1270-1274.
178. Cappelaere E, Berret JF, Decruppe JP, Cressely R, and Lindner P. *Physical Review E* 1997;56(2):1869-1878.
179. Hecht E and Hoffmann H. *Langmuir* 1994;10(1):86-91.
180. Bernet B and Vasella A. *Helvetica Chimica Acta* 2000;83(5):995-1021.
181. Konrat R, Tollinger M, Kontaxis G, and Kräutler B. *Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly* 1999;130(8):961-982.
182. Mizuno K, Miyashita Y, Shindo Y, and Ogawa H. *The Journal of Physical Chemistry* 1995;99(10):3225-3228.
183. Karachewski AM, McNeil MM, and Eckert CA. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 1989;28(3):315-324.
184. Sasanuma Y and Sugita K. *Polym. J* 2006;38(9):983-988.
185. Hezaveh S, Samanta S, Milano G, and Roccatano D. *The Journal of Chemical Physics* 2012;136(12):124901.
186. Dormidontova EE. *Macromolecules* 2004;37(20):7747-7761.
187. Shrestha LK, Shrestha RG, Aramaki K, and Ariga K. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 2011;11(8):6986-6994.
188. Cabrera EJ and Berger S. *Magnetic Resonance in Chemistry* 2001;39(S1):S142-S148.
189. Kapur GS, Cabrera EJ, and Berger S. *Tetrahedron Letters* 2000;41(37):7181-7185.
190. Kaur G, Chiappisi L, Prévost S, Schweins R, Gradzielski M, and Mehta SK. *Langmuir* 2012;28(29):10640-10652.
191. Moonen CTW, Van Gelderen P, Vuister GW, and Van Zijl PCM. *Journal of Magnetic Resonance* (1969) 1992;97(2):419-425.
192. Plummer R, Hill DJT, and Whittaker AK. *Macromolecules* 2006;39(11):3878-3889.
193. Tiezzi E. *Ann Chim* 2003;93(4):471-476.
194. Modig K and Halle B. *Journal of the American Chemical Society* 2002;124(40):12031-12041.
195. Chary KVR and Govil G. *NMR in Biological Systems: From Molecules to Human: Springer, 2008.*
196. Packer KJ. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1977;278(959):59-87.
197. Fung BM. *Biophys J* 1977;18(2):235-239.
198. Williams DS, Detre JA, Leigh JS, and Koretsky AP. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1992;89(1):212-216.
199. Willard DM, Riter RE, and Levinger NE. *Journal of the American Chemical Society* 1998;120(17):4151-4160.
200. Pang Y and Urbana-Champaign UoIa. *Ultrafast Vibrational Dynamics of Water and Confined Water in Reverse Micelles: University of Illinois at Urbana-Champaign, 2007.*
201. Karukstis KK, Frazier AA, Martula DS, and Whiles JA. *The Journal of Physical Chemistry* 1996;100(26):11133-11138.
202. Balasubramanian D and Kumar C. *Water-in-Oil Microemulsions: Structural Features and Application as Biological Models.* In: Mittal KL and Fendler EJ, editors. *Solution Behavior of Surfactants: Springer US, 1982.* pp. 1207-1223.
203. Abuin E, Lissi E, and Jara P. *Journal of the Chilean Chemical Society* 2007;52:1082-1087.
204. Glenn KM and Palepu RM. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2006;179(3):283-288.
205. Mills A, Hazafy D, Parkinson J, Tuttle T, and Hutchings MG. *Dyes and Pigments* 2011;88(2):149-155.
206. Moreno-Villoslada I, Flores ME, Marambio OG, Pizarro GdC, and Nishide H. *The Journal of Physical Chemistry B* 2010;114(23):7753-7759.
207. Spencer W and Sutter JR. *The Journal of Physical Chemistry* 1979;83(12):1573-1576.
208. Zhang G, Shuang S, Dong C, and Pan J. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2003;59(13):2935-2941.
209. Maxim ME, Stinga G, Iovescu A, Baran A, Ilie C, and Anghel DF. *Revue Roumaine de Chimie* 2012;57(3):203-208.
210. Leibler L. *Macromolecules* 1980;13(6):1602-1617.
211. Schacher FH, Rupar PA, and Manners I. *Angewandte Chemie International Edition* 2012;51(32):7898-7921.
212. Kabanov AV, Batrakova EV, and Alakhov VY. *Journal of Controlled Release* 2002;82(2-3):189-212.
213. Riess G. *Progress in Polymer Science* 2003;28(7):1107-1170.
214. Alany RG, Tucker IG, Davies NM, and Rades T. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2001;27(1):31-38.
215. Alexandridis P, Olsson U, and Lindman B. *The Journal of Physical Chemistry* 1996;100(1):280-288.

216. Holmqvist P, Alexandridis P, and Lindman B. *Macromolecules* 1997;30(22):6788-6797.
217. Park S-J, Kang S-G, Fryd M, Saven JG, and Park S-J. *Journal of the American Chemical Society* 2010;132(29):9931-9933.
218. Ivanova R, Lindman B, and Alexandridis P. *Langmuir* 2000;16(23):9058-9069.
219. Allen C, Yu Y, Maysinger D, and Eisenberg A. *Bioconjugate Chemistry* 1998;9(5):564-572.
220. Geng Y and Discher DE. *Journal of the American Chemical Society* 2005;127(37):12780-12781.
221. Könczöl L, Döll W, Buchholz U, and Mülhaupt R. *Journal of Applied Polymer Science* 1994;54(6):815-826.
222. Qi W, Ghoroghchian PP, Li G, Hammer DA, and Therien MJ. *Nanoscale* 2013;5(22):10908-10915.
223. Meier MAR, Aerts SNH, Staal BBP, Rasa M, and Schubert US. *Macromolecular Rapid Communications* 2005;26(24):1918-1924.
224. Sereti V, Zoumpantioti M, Papadimitriou V, Pispas S, and Xenakis A. *The Journal of Physical Chemistry B* 2014;118(32):9808-9816.
225. Luo L, Tam J, Maysinger D, and Eisenberg A. *Bioconjugate Chemistry* 2002;13(6):1259-1265.
226. Pappin DC. Peptide Mass Fingerprinting Using MALDI-TOF Mass Spectrometry. In: Smith B, editor. *Protein Sequencing Protocols*, vol. 64: Humana Press, 1997. pp. 165-173.
227. Hansen CM. *Hansen Solubility Parameters: A User's Handbook*, Second Edition: Taylor & Francis, 2007.
228. Barton AFM. *CRC Handbook of Solubility Parameters and Other Cohesion Parameters*, Second Edition: Taylor & Francis, 1991.
229. Mieczkowski R. *European Polymer Journal* 1991;27(4-5):377-379.
230. Bordes C, Fréville V, Ruffin E, Marote P, Gauvrit JY, Briangon S, and Lanteri P. *International Journal of Pharmaceutics* 2010;383(1-2):236-243.
231. Hansen CM. *Hansen Solubility Parameters: A User's Handbook*, Second Edition: Taylor & Francis, 2012.
232. Hansen Solubility Parameters in Practice <http://hansen-solubility.com/HSPiP.html>.
233. Stephenson RM. *Journal of Chemical & Engineering Data* 1992;37(1):80-95.
234. Reich HJ. *Relaxation in NMR Spectroscopy*. 2014.
235. Pidgeon C. *Advanced Tutorials for the Biomedical Sciences: Animations, Simulations, and Calculations Using Mathematica*: Wiley, 1996.
236. Özdemir C and Güner A. *European Polymer Journal* 2007;43(7):3068-3093.
237. Hezaveh S, Samanta S, Milano G, and Roccatano D. *The Journal of Chemical Physics* 2012;136(12):-.
238. Henderson JA, Richards RW, Penfold J, Thomas RK, and Lu JR. *Macromolecules* 1993;26(17):4591-4600.
239. Kawaguchi M, Tohyama M, Mutoh Y, and Takahashi A. *Langmuir* 1988;4(2):407-410.
240. Filippova OY, Kuchanov SI, Topchiyeva IN, Olonovskii AN, Khalatur PG, and Pletnyeva SG. *Polymer Science U.S.S.R.* 1985;27(9):2127-2135.
241. Bailey FE and Koleske JV. *Poly(ethylene oxide)*: Academic Press, 1976.
242. Banka PA, Selser JC, Wang B, Shenoy DK, and Martin R. *Macromolecules* 1996;29(11):3956-3959.
243. Lundberg RD, Bailey FE, and Callard RW. *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* 1966;4(6):1563-1577.
244. Deimede V, Kandilioti G, Kallitsis JK, and Gregoriou VG. *Macromolecular Symposia* 2005;230(1):33-38.
245. Baril D, Michot C, and Armand M. *Solid State Ionics* 1997;94(1-4):35-47.
246. Yu C, Tian B, Fan J, Stucky GD, and Zhao D. *Journal of the American Chemical Society* 2002;124(17):4556-4557.
247. Öner M, Norwig J, Meyer WH, and Wegner G. *Chemistry of Materials* 1998;10(2):460-463.
248. Tasaki K. *Computational and Theoretical Polymer Science* 1999;9(3-4):271-284.
249. Zhou H, Lai Z, and Wu P. *Appl Spectrosc* 2010;64(8):912-917.
250. Rey I, Lassègues JC, Grondin J, and Servant L. *Electrochimica Acta* 1998;43(10-11):1505-1510.
251. Moulin JF, Damman P, and Dosière M. *Polymer* 1999;40(21):5843-5850.
252. Katz AK, Glusker JP, Beebe SA, and Bock CW. *Journal of the American Chemical Society* 1996;118(24):5752-5763.
253. Pavlov M, Siegbahn PEM, and Sandström M. *The Journal of Physical Chemistry A* 1998;102(1):219-228.
254. Zavitsas AA. *The Journal of Physical Chemistry B* 2005;109(43):20636-20640.
255. Owczarek E, Rybicki M, and Hawlicka E. *The Journal of Physical Chemistry B* 2007;111(51):14271-14278.
256. Koyamatsu Y, Hirano T, Kakizawa Y, Okano F, Takarada T, and Maeda M. *Journal of Controlled Release* 2014;173(0):89-95.
257. Müller-Goymann CC. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2004;58(2):343-356.
258. Chowdhury PK, Ashby KD, Datta A, and Petrich JW. *Photochemistry and Photobiology* 2000;72(5):612-618.
259. Lawrence MJ and Rees GD. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2012;64, Supplement(0):175-193.
260. Wu Z, Alany RG, Tawfeek N, Falconer J, Zhang W, Hassan IM, Rutland M, and Svirskis D. *Journal of Controlled Release* 2014;174(1):188-194.
261. Farkas E, Kiss D, and Zeltó R. *International Journal of Pharmaceutics* 2007;340(1-2):71-75.
262. Lawrence MJ and Rees GD. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2000;45(1):89-121.
263. Strickley R. *Pharmaceutical Research* 2004;21(2):201-230.
264. FDA. Sec. 172.862 Oleic acid derived from tall oil fatty acids. vol. 3, 2014.
265. Mueller-Goymann CC and Hamann HJ. *Journal of Controlled Release* 1993;23(2):165-174.
266. Alcantar NA, Aydil ES, and Israelachvili JN. *J Biomed Mater Res* 2000;51(3):343-351.
267. Nelson KD, Eisenbaumer R, Pomerantz M, and Eberhart RC. *Asaio j* 1996;42(5):M884-889.
268. Cushing BL, Kolesnichenko VL, and O'Connor CJ. *Chemical Reviews* 2004;104(9):3893-3946.
269. Setua P, Pramanik R, Sarkar S, Ghatak C, Rao VG, Sarkar N, and Das SK. *Journal of Molecular Liquids* 2011;162(1):33-37.
270. Ghadam AGJ, Idrees M, and Naqvi SAH. *International Journal of Nano and Biomaterials* 2014;5(1):14-26.
271. Li M and Mann S. *Advanced Functional Materials* 2002;12(11-12):773-779.
272. Boyjoo Y, Pareek VK, and Liu J. *Journal of Materials Chemistry A* 2014;2(35):14270-14288.

273. Angelescu DG, Anastasescu M, and Anghel DF. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2014;460(0):95-103.
274. Nesamony J, Singh PR, Nada SE, Shah ZA, and Kolling WM. J Pharm Sci 2012;101(6):2177-2184.
275. You J-O and Peng C-A. Macromolecular Symposia 2005;219(1):147-153.
276. Machado AHE, Lundberg D, Ribeiro AJ, Veiga FJ, Lindman B, Miguel MG, and Olsson U. Langmuir 2012;28(9):4131-4141.

Publicaciones, distinciones y asistencia a reuniones científicas

Publicaciones

Flores, M. E., Shibue, T., Sugimura, N., Nishide, H., Martínez, F., Olea, A. F., Moreno-Villoslada, I. (2014). *n-Hexanol association in cyclohexane studied by NMR and NIR spectroscopies. Journal of Molecular Liquids*, 199(0), 301-308.

Distinciones obtenidas

Premio mejor presentación modalidad poster postgrado.

"Estudio espectroscópico de formación de agregados de Triton X-100 en mezclas ciclohexano/hexanol/agua".

Mario E. Flores-Flores, Francisco Martínez, Ignacio Moreno-Villoslada, Andrés Olea. VI Coloquio de Macromoléculas, 5-8 de Diciembre de 2012, Termas de Catillo, Catillo-Parral, Chile

Presentaciones a congresos y reuniones científicas

"Síntesis de copolímeros pentabloque mediante ATRP".

Mario E. Flores, Francisco Martínez, Ignacio Moreno-Villoslada, Andrés F. Olea. V Coloquio de Macromoléculas (CM-5), Termas de Catillo, Parral, Chile, 01-03 Diciembre 2010

"Estudio espectroscópico de formación de agregados de Triton X-100 en mezclas ciclohexano/hexanol/agua".

Mario E. Flores-Flores, Francisco Martínez, Ignacio Moreno-Villoslada, Andrés Olea. VI Coloquio de Macromoléculas (CM-6), Termas de Catillo, Catillo-Parral, Chile, 5-8 de Diciembre de 2012.

“Síntesis de PEO₄₃-*b*-PCL₁₄ y estudio de agregación en soluciones de polímero/ciclohexanona en presencia de agua”

Mario E. Flores, Francisco Martínez, Andrés Olea, Ignacio Moreno-Villoslada, Toshimishi Shibue, Hiroyuki Nishide
VII Coloquio de Macromoléculas (CM-7), Termas de Catillo, Parral-Chile. 03-06 de Diciembre de 2014.