

17/58

DI. MÉRIDA
FAC. DE CIENCIAS FÍSICAS
17
58

Esta Tesis corresponde a la defendida por Dña. María José Gálvez Ruiz para obtener el Grado de Doctor en Ciencias Físicas, ante el Tribunal constituido por

Presidente: D. M. Cortijo Mérida
Secretario: D. M. Cabrerizo Vilchez
Vocales; D. P.L. Mateo Alarcón
D. C. Fernández Pineda
D. R. Hidalgo Alvarez

el día 1 de Julio de 1988, y que obtuvo la calificación de Apto Cum Laude

Prof. Dr. Cortijo Mérida
Presidente del Tribunal

Prof. Dr. Pineda
Vocal del Tribunal

María José Gálvez Ruiz
Graduada en Ciencias Físicas

UNIVERSIDAD DE GRANADA

Facultad de Ciencias

Fecha **7 MAR. 1989**

SALIDA NUM. 301

TERMODINAMICA DE LOS CAMBIOS DE FASE EN MONOCAPAS SIMPLES Y MIXTAS DE COLESTEROL-L- α -FOSFATIDILCOLINA- ACIDOS BILIARES

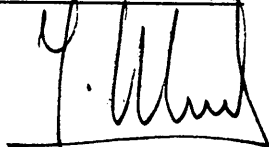
Memoria presentada para aspirar al Grado de Doctor en Ciencias Físicas

por

María José Gálvez Ruiz

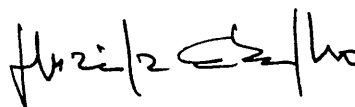
BIBLIOTECA	UNIVERSITARIA
GRANADA	
Nº Documento	<u>25615</u>
Nº Copia	<u>25641</u>

DIRECTOR DE LA TESIS



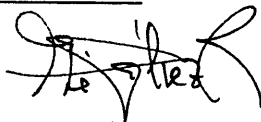
Prof. Dr. José Morales Bruque
Catedrático de Física Aplicada
Dpto. Física, Fac. Ciencias
Universidad de Extremadura

PONENTE DE LA TESIS



Prof. Dr. Fernando González Caballero
Catedrático de Física Aplicada
Dpto. Física Aplicada, Fac. Ciencias
Universidad de Granada

DOCTORANDA



María José Gálvez Ruiz
Licenciada en Ciencias (Sección Químicas)



Visado en Granada, a 24 de Mayo de 1988

en vista de su activo de actividad...
participación en la...
de dedicación a la labor investigadora.

A Miguel... y Juan Salgado...
participación en la...
de dedicación a la labor investigadora.

A Reyes... la... el haber...
de las etapas...
de dedicación a la labor investigadora.

Al Director de la...
agradecimiento...
de dedicación a la labor investigadora.

A Fernando...
de dedicación a la labor...
de dedicación a la labor investigadora.

A Antonio... y José María...
de dedicación a la labor...
de dedicación a la labor investigadora.

A Jesús... y Pedro...
de dedicación a la labor...
de dedicación a la labor investigadora.

A D. Gerardo...
de dedicación a la labor...
de dedicación a la labor investigadora.

A Miguel...
de dedicación a la labor...
de dedicación a la labor investigadora.

Agradeciendo a los Padres...
de dedicación a la labor...
de dedicación a la labor investigadora.

**A mis padres
A Victoria y Carina
A Pedro**

Es para mí un motivo de satisfacción el haber realizado esta Memoria en el Departamento de Física Aplicada. Desde aquí, mi más sincero agradecimiento a los compañeros del Departamento por el continuo interés que demostraron en este trabajo. Ellos han sido el mejor ejemplo de dedicación a la labor investigadora.

A Miguel Cabrerizo y Juan Salcedo les agradezco su participación en la realización de este trabajo. Sin ellos no hubiera llevado a cabo la última etapa de la Tesis, "Terminación Inexplicable del Trabajo".

A Roque Hidalgo le debo el haber superado la más difícil de las etapas, "Recuperación del Optimismo". Su ayuda, dedicación y comprensión han supuesto un gran estímulo para mí.

Al Director de la Tesis, José M. Bruque, quiero agradecerle todo el esfuerzo que dedicó al laboratorio, lo que aprendí de él y los buenos ratos que pasamos juntos.

A Fernando González, Ponente de la Tesis, le debo mi actual dedicación a la Investigación sobre Monocapas, su labor de orientación y la paciencia que ha tenido conmigo.

A Antonio Molina, Javier de las Nieves, Julián Garrido y José María Lara siempre les agradeceré el apoyo y ánimo que me brindaron en todo momento.

A Jesús Biel, Angel Delgado, Antonio L. Lacomba, Joaquín Marro y Pedro Garrido les agradezco la atención que prestaron a mis consultas, así como las sugerencias que realizaron al trabajo.

A D. Gerardo Pardo, Director del Departamento le expreso mi agradecimiento por el interés y confianza que depositó en esta Tesis.

A Miguel Cabrerizo Muñoz le agradezco su participación y ayuda en la puesta a punto del Laboratorio de Superficies.

Finalmente, agradezco a los Profs. Miñones, Cid e Iribarnegaray del Departamento de Fisico-química de la Facultad de Farmacia (Universidad de Santiago) el haberme recibido en su Departamento, donde aprendí la técnica de formación de películas superficiales.

CONTENIDO

LIBRO I. DE LA ADMINISTRACIÓN Y DE LOS ENTES REPRESENTATIVOS

1. Disposiciones generales

2. El Consejo de Administración

3. El Consejo de Vigilancia en distribución exclusiva

4. La preparación de resoluciones administrativas

5. El Poder del Poder Judicial

6. Disposiciones de aplicación

7. Disposiciones que forman los estatutos

8. Disposiciones orgánicas

9. La preparación de resoluciones administrativas

LIBRO II. DE LA ADMINISTRACIÓN

INDICE

<u>INTRODUCCION</u>	III
<u>CAPITULO I: MATERIALES Y METODO EXPERIMENTAL</u>	1
<u>1. MATERIALES</u>	3
1.1. Subfase Líquida.....	3
1.1.1. Materiales en disolución acuosa.....	4
1.1.2. Preparación de disoluciones acuosas.....	5
1.1.3. Medida del pH.....	5
1.2. Disoluciones no acuosas.....	6
1.2.1. Componentes que forman las monocapas.....	6
1.2.2. Disolventes orgánicos.....	9
1.2.3. Preparación de disoluciones orgánicas.....	15
<u>2. DISPOSITIVO EXPERIMENTAL</u>	15
2.1. Sistema de Medida y Control.....	16
2.1.1. Cubeta.....	16

2.1.2. Barrera Móvil.....	17
2.1.3. Barrera Fija.....	18
2.2. Sistema de Registro y Procesado.....	19
<u>3. LIMPIEZA Y CALIBRADO.....</u>	<u>20</u>
3.1. Limpieza de la Cubeta.....	20
3.2. Limpieza de la Superficie.....	20
3.3. Calibrado de la Balanza.....	21
<u>4. METODO OPERATIVO.....</u>	<u>21</u>
<u>5. BIBLIOGRAFIA.....</u>	<u>26</u>

CAPITULO II: ESTUDIO DE LAS ISOTERMAS EXPERIMENTALES PRESION SUPERFICIAL-AREA/MOLECULA (ANALISIS Y DISCUSION)..... 33

1. ESTADOS SUPERFICIALES EN PELICULAS MONOMOLECULARES

<u>2. PARAMETROS SUPERFICIALES.....</u>	<u>40</u>
2.1. Area Específica Límite.....	42
2.2. Compresibilidad.....	42
2.3. Presión y área de colapso.....	43

3. ISOTERMAS EXPERIMENTALES PRESION SUPERFICIAL-AREA/MOLECULA DE PELICULAS MONOMOLECULARES CON UN SOLO COMPONENTE..... 44

3.1. Monocapas de Colesterol.....	44
3.2. Monocapas de L- α -fosfatidilcolina.....	50
3.3. Monocapas de ácido litocólico.....	53
3.4. Monocapas de ácido quenodeoxicólico.....	58
3.5. Monocapas de ácido deoxicólico.....	63
3.6. Monocapas de ácido cólico.....	63

4. ISOTERMAS EXPERIMENTALES PRESION SUPERFICIAL-AREA/MOLECULA DE PELICULAS MONOMOLECULARES MIXTAS

4.1. Monocapas mixtas de L- α -fosfatidilcolina-colesterol	
4.1.1. Efecto condensante.....	74
4.1.2. Miscibilidad y regla de las fases en sistemas superficiales.....	87
4.2. Monocapas mixtas de ácido litocólico-colesterol	
4.2.1. Miscibilidad y fases superficiales.....	104
4.3. Monocapas mixtas de ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina.....	120
4.3.1. Miscibilidad y fases superficiales.....	127
4.4. Monocapas mixtas de ácido quenodeoxicólico-colesterol	
4.4.1. Miscibilidad y fases superficiales.....	143
4.5. Monocapas mixtas de ácido quenodeoxicólico-L- α -fosfatidilcolina.....	157
4.5.1. Miscibilidad y fases superficiales.....	168
4.6. Monocapas mixtas de ácido deoxicólico-colesterol	
4.6.1. Miscibilidad y fases superficiales.....	182
4.7. Monocapas de ácido deoxicólico-L- α -fosfatidilcolina	
4.7.1. Miscibilidad y fases superficiales.....	206
4.8. Monocapas de ácido cólico-colesterol.....	215
4.8.1. Miscibilidad y regla de las fases.....	227
4.9. Monocapas mixtas de ácido cólico-L- α -fosfatidilcolina	
4.9.1. Miscibilidad y regla de las fases.....	245
<u>5. BIBLIOGRAFIA.....</u>	<u>259</u>

CAPITULO III: DIAGRAMAS DE FASE EN MONOCAPAS MIXTAS

<u>1. TRANSICIONES ENTRE ESTADOS SUPERFICIALES EN PELICULAS MONOMOLECULARES.....</u>	<u>271</u>
--	------------

2. DESCRIPCION DE TRANSICIONES DE FASE EN MONOCAPAS

2.1. Transiciones Principales.....	272
------------------------------------	-----

2.2. Transiciones Secundarias.....275

3. DETERMINACION DE LAS TRANSICIONES DE FASE.....275

4. DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS MIXTAS.....290

4.1. Diagramas de fases en monocapas formadas por colesterol y L- α -fosfatidilcolina.....290

4.2. Diagramas de fases en monocapas formadas por colesterol y ácido litocólico.....300

4.3. Diagramas de fases en monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido litocólico.....309

4.4. Diagramas de fases en monocapas formadas por colesterol y ácido quenodeoxicólico.....315

4.5. Diagramas de fases en monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido quenodeoxicólico.....321

4.6. Diagramas de fases en monocapas formadas por colesterol y ácido deoxicólico.....327

4.7. Diagramas de fases en monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido deoxicólico.....329

4.8. Diagramas de fases en monocapas formadas por ácido cólico y colesterol.....338

4.9. Diagramas de fases en monocapas formadas por ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina.....343

5. BIBLIOGRAFIA.....351

CAPITULO IV: ESTUDIO TERMODINAMICO DEL CAMBIO DE FASE LE-LC

1. INTRODUCCION: FORMULACION TERMODINAMICA DE K. MOTOMURA (1974) DE LAS MONOCAPAS MULTICOMPONENTES.....357

1.1. Fases en la monocapa.....357

1.2. Ecuaciones fundamentales.....359

1.3. Regla de las fases aplicada a sistemas superficiales

1.4. Condiciones locales de equilibrio para una monocapa de

dos componentes.....362

2. VARIACION DE LA PRESION SUPERFICIAL DE TRANSICION CON LA TEMPERATURA.....364

3. CAMBIOS DE ENTROPIA, ENTALPIA Y ENERGIA MOLARES PARCIALES ASOCIADOS A LA TRANSICION DE FASE LIQUIDO EXTENDIDO-LIQUIDO CONDENSADO.....373

3.1. Cambio de fase en monocapas formadas por L- α - fosfatidilcolina y colesterol.....373

3.2. Cambio de fase en monocapas formadas por L- α - fosfatidilcolina y ácido litocólico.....379

3.3. Cambio de fase en monocapas formadas por L- α - fosfatidilcolina y ácido quenodeoxicólico.....384

3.4. Cambio de fase en monocapas formadas por L- α - fosfatidilcolina y ácido deoxicólico.....392

3.5. Cambio de fase en monocapas formadas por L- α - fosfatidilcolina y ácido cólico.....398

4. BIBLIOGRAFIA.....404

CONCLUSIONES.....407

1. 1 - 2070

2. 1 - 3090

3. 1 - 3170

4. 1 - 4170

LISTA DE SIMBOLOS

En las figuras donde se representan el área/molécula ó presión superficial en función de la fracción molar de uno de los componentes que forman una monocapa mixta a diferentes valores de pH y temperatura, (2.26-2.155)(capítulo II), los distintos símbolos indican en cada caso los valores de pH y temperatura siguientes:

- Δ pH = 2.00
- pH = 4.00
- * pH = 6.00
- pH = 8.00
- ▲ pH = 10.00
- x pH = 12.00

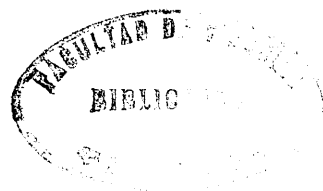
- Δ T = 25°C
- T = 30°C
- * T = 35°C
- x T = 40°C

El tratamiento de calcificación se difiere según el tipo de diagnóstico que se haya establecido. En el caso de la calcificación de la corteza, las terapias más utilizadas son la vitamina D, el calcio y el fósforo. En el caso de la calcificación de los tejidos blandos, se utilizan medicamentos como el ácido ascórbico y el ácido fólico. En el caso de la calcificación de los vasos sanguíneos, se utilizan medicamentos como el nifedipino y el lisinapril.

En todos los casos, el objetivo es reducir el nivel de calcio en la sangre y prevenir la formación de nuevos depósitos de calcio en los tejidos.

La formación de cálculos de calcio en los riñones puede ser prevenida mediante la ingesta de agua suficiente y la reducción de la ingesta de sal y proteínas.

INTRODUCCION



El fenómeno de colelitiasis o litiasis biliar tiene lugar a través de diversos procesos que conducen a la formación de cálculos a partir de los componentes que forman parte de la bilis. Estos cálculos biliares presentan, en su mayoría, una composición y morfología diversas. Podemos, no obstante, clasificarlos de acuerdo con el componente que predomina. Así, es común encontrarse en la bibliografía cálculos "de colesterol", "pigmentarios", "mixtos" o "de carbonato cálcico".

En todos los casos, el paso previo a la formación de cualquier cálculo supone una alteración de la composición normal de la bilis, enriqueciéndola en algún componente, dependiendo del tipo de litiasis.

La formación de cálculos biliares ha sido objeto de numerosos estudios a través del seguimiento de los mecanismos de agregación, en disoluciones acuosas, de los componentes que forman parte de la bilis (Admirand y Small, 1968; Carey y col., 1970, 1978; Ekwall y col., 1957, p.157; Mazer, 1978; Mazer y col., 1977, p.359, 1979, 1980, 1982,

p. 595, 1983; Small, 1967, 1968; Small y col. 1969). Sin embargo, la caracterización de tales mecanismos aún está lejos de ser completa y creemos se debe a la falta de estudios realizados sobre las propiedades de las interfases disolución acuosa-componentes de la bilis, que óbviamente influyen de forma determinante en el primer estadio de agregación. En esta Memoria se pretende obtener información sobre el comportamiento de estas interfases y contribuir con ello a la comprensión de los mecanismos implicados en la formación de los cálculos biliares.

Para ello, se propone la realización de un estudio sobre las propiedades fisico-químicas y termodinámicas de sistemas constituídos por colesterol, L- α -fosfatidilcolina y ácidos biliares (litocólico, quenodeoxicólico, deoxicólico y cólico) a través de la formación de monocapas simples y mixtas en la interfase aire-disolución acuosa, persiguiendo como objetivo final la determinación de las condiciones experimentales que favorecen la presencia de interacciones entre los distintos componentes.

Esta Memoria supone por tanto, una aportación más en la línea de investigación que sobre componentes de interés biológico se lleva a cabo en el Departamento de Física Aplicada, donde hace unos años, se marcó como objetivo el estudio del comportamiento de los principales compuestos implicados en la formación de cálculos biliares, desde distintos puntos de vista y, por consiguiente, a través de la aplicación de diferentes técnicas. En este sentido, se ha realizado un estudio sobre las distintas condiciones que facilitan la alteración de las propiedades eléctricas de la interfase disolución acuosa-componente biliar, caracterizando la distribución de las cargas ("doble capa eléctrica") mediante el denominado potencial zeta o electrocinético, determinado con la técnica de electroforesis, o traslación que experimentan las partículas (de colesterol en presencia de lecitina y/o ácidos biliares) en suspensiones al aplicar un campo eléctrico a la

misma (Salcedo, 1988). La discusión conjunta y confrontación de los distintos resultados obtenidos será el próximo trabajo a realizar, lo que nos permitirá no sólo aportar conclusiones más definitivas acerca del problema de la litiasis biliar, sino proyectar y abordar nuevos estudios sobre los sistemas de interés tanto biológico como técnico.

Son diversos los estudios que, sobre Termodinámica de Interfases y sus aplicaciones tecnológicas se han llevado a cabo por diferentes investigadores y desde distintos puntos de vista. Entre ellos destacan los realizados sobre interfases líquido-gas, las cuales pueden caracterizarse como sistemas termodinámicos y estudiarse por tanto, de una forma sistemática bajo una formulación adecuada.

Sin embargo, y en muchos casos, es limitada o pobre la información obtenida a partir del estudio de estos sistemas porque son pocas o limitadas las técnicas apropiadas para su estudio. Es importante por esta razón, elegir una técnica que nos permita obtener información precisa sobre el comportamiento de diversas sustancias en la interfase líquido-gas. En este sentido, los sistemas formados por los compuestos antes mencionados fueron estudiados con la técnica de formación de monocapas en la interfase aire-disolución acuosa, depositadas sobre una subfase contenida en una balanza de superficies tipo Langmuir.

La elección de esta técnica, y no otra, se realizó por varias razones. Desde un punto de vista científico, el estudio sobre monocapas presenta dos aspectos característicos centrados ambos en la propia naturaleza de la molécula. Uno es el hecho de la existencia de una capa con el espesor de una molécula, que permite ensayar distintos modelos para la determinación de propiedades de las sustancias como son la estimación del tamaño y forma molecular. El otro aspecto, más importante quizás, se basa en que las moléculas en monocapas se encuentran orientadas y un gran número de

fenómenos naturales dependen de una orientación preferente de las moléculas.

El estudio de capas moleculares ofrece un gran interés cuando se realiza sobre sistemas naturales. Por ejemplo, esta técnica presenta una buena aplicabilidad en el tratamiento de espumas y emulsiones. Las dispersiones de líquidos y gases en otros líquidos están, casi siempre, estabilizadas por películas interfaciales, y los estudios con monocapas aportan bastante información sobre estas películas.

La formación de películas monomoleculares en superficies puede considerarse como uno de los métodos más idóneos para el estudio de membranas biológicas. Es bien conocido, que éstas guardan un gran paralelismo en estructura con las monocapas insolubles. El concepto original de lipo-proteína bimolecular como modelo de membrana celular dependió en gran parte de los estudios sobre monocapas realizados durante los años 20; y merece especial atención la observación de que la organización molecular y el estado orientado de las moléculas, en las estructuras de capas, están relacionadas con la función biológica de las membranas. Al mismo tiempo, la composición química de las membranas también guarda relación con la de sustancias capaces de formar monocapas insolubles como son fosfolípidos, esteroides, glicéridos de ácidos grasos de larga cadena, etc.

Indicamos en este sentido, que las monocapas insolubles realmente presentan un espesor específico, y solo ciertos tipos de sustancias son capaces de formarlas. La estabilidad de una monocapa en la interfase líquido-gas bajo unas condiciones experimentales dadas, depende de las propiedades de las sustancias que participan en su formación.

Es elevado el número de trabajos que sobre monocapas constituídas por colesterol y lecitinas se han llevado a cabo por distintos autores. La mayoría de ellos,

están relacionados a lo largo de la Memoria junto con los motivos que determinaron su estudio. Sin embargo, hemos encontrado muy pocos estudios sobre ácidos biliares formando parte de películas monomoleculares. Aún menos, son los trabajos realizados con monocapas mixtas de estos tres tipos de componentes biliares. Tan solo podemos relacionar los trabajos realizados conjuntamente por Miñones y col. y Joos y col. durante los años 60, en los que se presentan estudios de distintas mezclas de estos compuestos en monocapas a diferentes condiciones experimentales, centrándose sobre todo en aquellos aspectos que informan de la miscibilidad o no de los componentes de dichas monocapas (Joos, 1968, 1969; Miñones, 1967, 1968). Resulta, pues, evidente la escasez de información sobre el comportamiento de estas monocapas mixtas, de ahí el interés adicional que supone su estudio, aunque posteriormente, el desarrollo de esta investigación nos introdujo en aspectos específicos relacionados con los cambios de fase en películas monomoleculares, que nos han ocupado buena parte de esta Memoria.

El presente trabajo lo hemos realizado en diferentes etapas:

En primer lugar, se diseñaron una serie de experiencias dirigidas a la elección de las condiciones experimentales óptimas para la compresión continua de las películas monomoleculares. Entre estas experiencias, detalladas en el primer capítulo de la Memoria, podemos citar acondicionamiento general del laboratorio, elaboración de programas específicos para el tratamiento de los datos, ensayos con diferentes disolventes de extensión, registro de isotermas a diferentes velocidades de compresión, ensayos a diferentes tiempos de espera, etc.

En segundo lugar, se eligieron las condiciones experimentales de trabajo en función de los objetivos perseguidos. Para poder evaluar las diferentes interacciones entre distintos componentes, además del estudio de monocapas

simples, se llevó a cabo la formación de monocapas mixtas binarias, eligiéndose fracciones intermedias para la composición de estas películas. Con el objeto de estudiar la influencia de la subfase sobre el comportamiento de las sustancias que forman las monocapas se planificaron una serie de ensayos a diferentes condiciones de pH fijando la temperatura y composición del sistema. Finalmente, el interés de realizar un estudio termodinámico más completo de la evolución de estos sistemas aconsejó diseñar otra serie de ensayos a diferentes temperaturas manteniendo esta vez el pH de la subfase y la composición de la monocapa constantes.

En el segundo capítulo de la Memoria se presentan todas las isotermas experimentales registradas por compresión de las monocapas a las condiciones experimentales previamente elegidas. Al mismo tiempo, se obtienen una serie de "parámetros superficiales" característicos de estas monocapas que nos permiten realizar una primera discusión sobre la disposición de las distintas moléculas estudiadas en la interfase aire-disolución acuosa, así como determinar las características fundamentales de cada uno de los componentes utilizados. Una vez realizado este estudio "preliminar", abordamos el correspondiente a monocapas mixtas, determinando la miscibilidad o no de los compuestos mezclados. Esto se realizó observando las posibles desviaciones de la linealidad al representar valores de área molecular en función de la composición de la monocapa, lo que también nos permite distinguir entre interacciones repulsivas o atractivas, es decir entre el efecto "condensante" o "expansionante".

A través de la observación directa de las isotermas experimentales se puede apreciar la existencia de diferentes estados superficiales, los cuales son susceptibles de modificación con el cambio de variables tales como temperatura y presión. El estudio de los estados superficiales de una película permite detectar modificaciones en las fuerzas inter y/o intramoleculares en la película y entre la

película y la subfase, de donde se desprende el extraordinario interés que esta información aporta al conocimiento de los sistemas antes citados. Sin embargo, no siempre es fácil determinar si la monocapa, a unas condiciones experimentales dadas se encuentra en diferentes estados superficiales, o lo que es lo mismo, no siempre es posible detectar a simple vista la presencia de cambios de fase, ni delimitar su comienzo y final. En el tercer capítulo de esta Memoria proponemos un método para la determinación de los posibles cambios de fase en las monocapas a través del cálculo de las derivadas sucesivas de las isothermas experimentales. Una vez obtenidos estos límites de fase, estudiamos los distintos diagramas de fase elaborados.

Finalmente, en el último capítulo presentamos un breve estudio termodinámico de la transición de fase que exhiben algunas de nuestras monocapas entre los estados líquido extendido y líquido condensado. Este estudio facilita la comprensión de las interacciones moleculares entre dos compuestos en diferentes fases de las películas y permite realizar un balance energético de dicha transición.

ADMIRAND, W.H.; SMALL, D.M. The Physicochemical Basis of Cholesterol Gallstone Formation in Man. *J. Clin. Investigation*, 7, 1043-1052 (1968)

CAREY, M.C.; SMALL, D.M. Micellar Properties of Dihydroxy and Trihidroxy Bile Salts: Effects of Counterion and Temperature. *Am. J. Med.*, 45, 590 (1970)

CAREY, M.C.; SMALL, D.M. The Physical Chemistry of Cholesterol Solubility in Bile (Relationship to Gallstone Formation and Dissolution in Man). *J. Clin. Invest.*, 61, 998-1026 (1978)

EKWALL, P.; FONTELL, K.; STEN, A. "Proceedings of the Second

International Congress of Surface Activity", Vol.I.
Butterworth Sci. Publishers, London (1957)

JOOS, P.; ROSSENEU-MOTREFF, M.Y.; RUYSSSEN, R. Interactions Interfaciales entre L'acide Désioxicholique, Le Cholestérol et La Lécithine. J. Chim. Phys. Physicochim. Biol., 65(5), 951-958 (1968)

JOOS, P.; RUYSSSEN, R.; MIÑONES TRILLO, J.; GARCIA FERNANDEZ, S.; SANZ PEDRERO, P. La Pression D'Affaissement des Couches Superficielles Mixtes, de Cholestérol et de Lécithine avec des Acides Biliaires. J. Chimie Physique, 66(10), 1665-69 (1969)

MAZER, N.A.; BENEDEK, G.B.; CAREY, M.C. "Micellization, Solubilization and Microemulsions", Vol.I, (Ed. K.L. Mittal). Plenum Press, New York (1977)

MAZER, N.A.; CAREY, M.C.; KWASNICK, R.I.; BENEDEK, G.B. Quasi-elastic Light Scattering Studies of Aqueous Biliary Lipid Systems. Size, Shape, and Thermodynamics of Bile Salt Micelles. Biochem. 18(14), 3064-75 (1979)

MAZER, N.A.; CAREY, M.C.; BENEDEK, G.B. Quasi-elastic Light Scattering Studies of Aqueous Biliary Lipid Systems. Mixed Micelle Formation in Bile Salt-Lecithin Solutions. Biochem. 19, 601 (1980)

MAZER, N.A.; CAREY, M.C.; BENEDEK, G.B. "Micellization, Solubilization and Microemulsions in Aqueous Biliary Lipid Systems". En: "Solution Behaviour of Surfactants" (Eds. K.L. Mittal y E.J. Fendler), Vol.I, Plenum Press, N.Y. (1982)

MAZER, N.A.; CAREY, M.C. Quasi-elastic Light Scattering Studies of Aqueous Biliary Lipid Systems. Cholesterol

Solubilization and Precipitation in Model Bile Solutions. *Biochem.*, 22, 426 (1983)

MIÑONES TRILLO, J.; GARCIA FERNANDEZ, S.; SANZ PEDRERO, P. Influencia del Soporte Salino sobre las Isotermas de Compresión y Descompresión de Monocapas de Colesterina, Lecitina y Acidos Biliares. *An. Física y Química*, LXIII B, 833-841 (1967)

MIÑONES TRILLO, J.; GARCIA FERNANDEZ, S.; SANZ PEDRERO, P. Studies on Monolayers: Mixed Films of Cholesterol and Lecithin with Bile Acids. *J. Colloid Interf. Sci.*, 26(4), 518-531 (1968)

SALCEDO SALCEDO, J. "Fenómenos Eléctricos en la Interfase Sólido/Líquido: Aplicación al Sistema Colesterol/disolución Acuosa de Componentes Biliares", Tesis, Granada (1988)

SMALL, D.M. Physicochemical Studies of Cholesterol Gallstone Formation. *Gastroenterol.*, 52(3), 607-610 (1967)

SMALL, D.M. A Classification of Biologic Lipids Based upon their Interaction in Aqueous Systems. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 45(3), 108-19 (1968)

SMALL, D.M.; ADMIRAND, W. Solubility of Bile Salts. *Nature*, 221, 265-66 (1969)

1. MATERIALES

1.1. MATERIALES LIQUIDOS

As bien conocido (Silberstein, 1971; Pollock, 1985) la temperatura de la superficie libre de un líquido en un tubo que fluye en régimen laminar, depende de las propiedades físicas del líquido, de la velocidad de flujo y de la geometría del tubo. En este trabajo se estudia el comportamiento de la temperatura de la superficie libre de un líquido en un tubo que fluye en régimen laminar, considerando la influencia de las propiedades físicas del líquido, de la velocidad de flujo y de la geometría del tubo.

CAPITULO I: MATERIALES Y METODO EXPERIMENTAL

CAPITULO

MATERIA

METODO EXPERIMENTAL

... a se e necesario a 100 cc de esta disolución
 ... a 18°C, el pH se indica en cada caso.

Tabla I.2

1 Britton-Robinson Buffer (pH 7-12)

Reactivos utilizados	Concentración	Concentración
Ac. Acético	0.1M	0.1M
Ac. Bórico	0.1M	0.1M
Ac. Fosfórico	0.1M	0.1M

	H ₂ O	HCl	H ₂ SO ₄	H ₃ PO ₄	H ₃ BO ₃	H ₂ O	H ₂ O
	g	g	g	g	g	g	g
1	100	1.8	0.4	0.2	0.02	100	100
2	100	1.8	0.4	0.2	0.02	100	100
3	100	1.8	0.4	0.2	0.02	100	100
4	100	1.8	0.4	0.2	0.02	100	100

1. MATERIALES

1.1. SUBFASE LIQUIDA

Es bien conocida (Miñones, 1971, 1981; Seimiya, 1984; Petrov, 1986) la importancia que la composición y pH de la subfase líquida tiene en el estudio de las propiedades de monocapas insolubles. Por ello, y con objeto de poder trabajar en unas condiciones perfectamente controlables, se empleó siempre como subfase una disolución tamponada. El tampón utilizado, conocido como "buffer Britton-Robinson" tiene la ventaja de adecuarse para la preparación de disoluciones tamponadas en un amplio intervalo de valores de pH. Este tampón está formado por una preparación base conteniendo ácido acético, ácido fosfórico y ácido bórico, cuyo pH se puede fijar entre los valores 2 y 12 por adición de hidróxido sódico.

En la Tabla I.1 se muestra la composición de la

disolución base y el volumen de disolución 0.2N de hidróxido de sodio que es necesario añadir a 100 cc de esta disolución para obtener, a 18°C, el pH que se indica en cada caso.

1. Britton-Robinson Buffer (pH 2-12)

(a) STOCK SOLUTIONS

- 0.04M Acetic acid
- 0.04M Phosphoric acid
- 0.04M Boric acid

(b) PREPARATION

To 100 ml of the stock solution, add 0.2M sodium hydroxide.

NaOH, ml	pH (18°C)	NaOH, ml	pH (18°C)	NaOH, ml	pH (18°C)	NaOH, ml	pH (18°C)	NaOH, ml	pH (18°C)
0.0	1.81	20.0	3.29	40.0	5.72	60.0	7.96	80.0	10.38
2.5	1.89	22.5	3.78	42.5	6.09	62.5	8.36	82.5	10.88
5.0	1.98	25.0	4.10	45.0	6.37	65.0	8.69	85.0	11.20
7.5	2.09	27.5	4.35	47.5	6.59	67.5	8.95	87.5	11.40
10.0	2.21	30.0	4.56	50.0	6.80	70.0	9.15	90.0	11.58
12.5	2.36	32.5	4.78	52.5	7.00	72.5	9.37	92.5	11.70
15.0	2.56	35.0	5.02	55.0	7.24	75.0	9.62	95.0	11.82
17.5	2.87	37.5	5.33	57.5	7.54	77.5	9.91	97.5	11.92
								100.0	11.98

TABLA I.1 Composición de la subfase a distintos pHs.

1.1.1. Materiales en Disolución Acuosa

El agua empleada en la preparación de las disoluciones tamponadas fue primero destilada y luego sometida a un proceso de purificación en el dispositivo "Milli-Q, Reagent Water System", de Millipore, en el que el agua pasa primero por dos columnas de carbón activado, luego por un lecho mezclado de resinas cambiadoras de iones y, finalmente, por un cartucho filtrante de 0.2 m de poro. El agua presentó una conductividad final del orden de $10^{-6} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$, con un pH = 6-6.5.

Los restantes componentes de las disoluciones

tamponadas se indican en la Tabla I.2.

Tabla I.2

<u>Reactivos químicos</u>	<u>Fabricante</u>	<u>Pureza</u>
Ac. Ortofosfórico	MERCK	99.0%
Ac. Bórico	"	99.8%
Ac. Acético	"	99.8%
Hidróxido Sódico	"	99.0%

1.1.2. Preparación de Disoluciones Acuosas

La disolución base se preparó por dilución hasta 1 litro de 100 ml de disolución 0.4 M de los ácidos acético, fosfórico y bórico, consiguiendo así una concentración de 0.04 M. El pH, por tanto, se ajustó añadiendo las cantidades que aparecen en la Tabla I.1 multiplicadas por 10 de disolución 0.2 M de NaOH.

La preparación de 1 litro o más de disolución tamponada fue necesaria en todos los casos debido a que la cubeta de la balanza Langmuir tiene una capacidad de 700 ml aproximadamente y, además, en la operación de limpieza tiene lugar siempre una pérdida de disolución que debe ser repuesta con el objeto de mantener el nivel constante.

1.1.3. Medida del pH

El pH de las disoluciones tamponadas se midió con un pH-metro PHM 64 de Radiometer, con electrodo de vidrio Crison. En todos los casos, el valor de pH considerado válido fue el suministrado por el pH-metro una vez preparadas las disoluciones.

1.2. DISOLUCIONES NO ACUOSAS

1.2.1. Componentes que forman las Monocapas

Se ha estudiado el comportamiento de las películas monomoleculares formadas por los componentes puros colesterol, L- α -fosfatidilcolina, ácidos biliares (litocólico o 5 β -ácido colánico-3 α -ol, quenodeoxicólico ó 5 β -ácido colánico-3 α ,7 α -diol, deoxicólico ó 3,12- dihidroxi ácido colánico y cólico ó 3 α ,7 α ,12 α -trihidroxi- 5 β -ácido colánico)(ver Lámina I), y por distintas mezclas de estos componentes a tres fracciones molares.

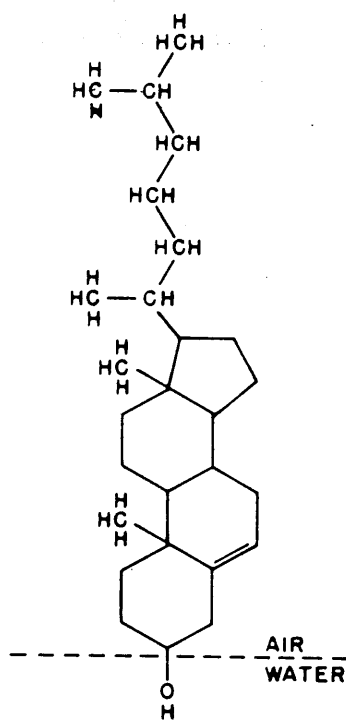
Los compuestos utilizados han sido suministrados por:

Tabla I.3

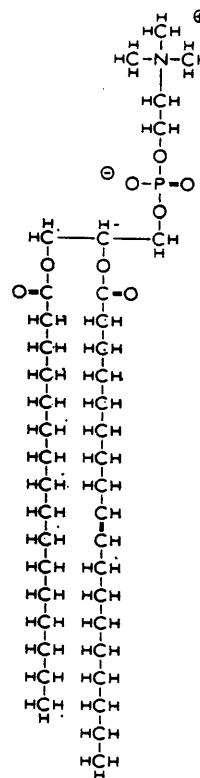
<u>Reactivos químicos</u>	<u>Fabricante</u>	<u>Pureza</u>
Colesterol	SERVA	Anal. Grade
Ac. Litocólico	SIGMA	99.0%
Ac. Quenodeoxicólico	SERVA	99.0%
Ac. Deoxicólico	"	Rese. Grade
Ac Cólico	SIGMA	99.0%
L- α -Fosfatidilcolina	"	99.0%

Las propiedades físicas más relevantes de estos compuestos se recogen en la siguiente Tabla (I.4) (Handbook, 1981).

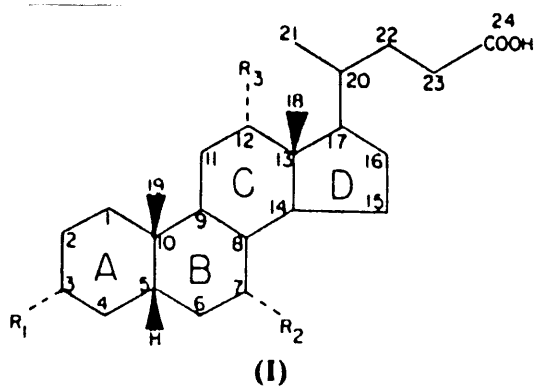
Todos estos compuestos son "zwitteriones", es decir, poseen carácter anfipático, por lo tanto, son susceptibles de acumularse en las interfases formando películas monomoleculares, y el comportamiento de las mismas refleja este hecho.



A. Disposición de la molécula de colesterol en la interfase aire-agua.



B. Fórmula desarrollada del compuesto L- α -Fosfatidilcolina.



C. Fórmula estequiométrica de los ácidos biliares, donde:

$R_1=R_2=R_3=OH$	ác. cólico
$R_1=R_2=OH, R_3=H$	ác. quenodeoxicólico
$R_1=R_3=OH, R_2=H$	ác. deoxicólico
$R_1=OH, R_2=R_3=H$	ác. litocólico

TABLA I.4

<u>COMPUESTO</u>	<u>PM(gmol⁻¹)</u>	<u>P.E.(°C)</u>	<u>P.F.(°C)</u>	<u>Densidad(gcm⁻³)</u>	<u>Solubilidad(*)</u>
Colesterol (H ₄₆ C ₂₇ O)	386.67	360	184.5	1.067	eth, bz, chl, aa
L-α-Fosfatidilcolina (H ₈₂ C ₄₂ O ₈)	714.69	---	236-7	---	eth, chl, peth
A. Litocólico (H ₄₀ C ₂₄ O ₃)	376.59	---	186.0	---	al, chl, aa
A. Quenodeoxicólico (H ₄₀ C ₂₄ O ₄)	392.59	---	---	---	---
A. Deoxicólico (H ₄₀ C ₂₄ O ₄)	392.59	---	176.0	---	al
A. Cólico (H ₄₀ C ₂₄ O ₅)	408.59	---	198.0	---	al, eth, ace, chl, aa

1.1.2.1

(*) eth: etanol, bz:benceno, chl:cloroformo, aa:a.acético, peth:pentanol, al:alcohol etílico,
ace:acetona

1.2.2. Disolventes Orgánicos

Existen diversas técnicas experimentales para el estudio de películas monomoleculares sobre superficies líquidas. Dependiendo de la técnica utilizada, en algunos casos, la información que se obtiene es distinta. Sin embargo, todas dependen de la formación de la película. Por ello, el proceso de extensión ¹ de una monocapa y los factores que le afectan constituyen el primer problema que deberá abordarse de una forma adecuada.

Tras el trabajo pionero de Devaux, Langmuir y Adam (Gaines, 1966, p.30), numerosos investigadores (Langmuir, 1943; Archer, 1955; Cook, 1956; Sutula, 1959; Robins, 1960; Bateman, 1961; Bernett, 1963; Walker, 1964; Mingins, 1969) han estudiado los requisitos que debe cumplir un disolvente o mezcla de ellos para obtener una monocapa totalmente extendida.

El primer requisito deberá atender al poder de dilución de disolvente. Lógicamente, este dependerá de la naturaleza de la sustancia a extender. En este sentido, indicamos que los fosfolípidos sintéticos y moléculas análogas son compuestos que normalmente no se disuelven en disolventes de extensión típicos como benceno o n-hexano (Phillips, 1968; Cadenhead, 1974), siendo necesario recurrir a otros disolventes orgánicos como cloroformo, mezclas de n-hexano-etanol, éter etílico-etanol, etc.

Otro factor a considerar es la capacidad de reacción química del disolvente. Este deberá ser lo más inerte posible con el fin de evitar reacciones que diesen lugar a formación de complejos, lo que enmascararía cualquier estudio realizado sobre una monocapa de un componente supuestamente puro.

¹ Por extensión de una película entendemos el proceso de deposición y formación de la misma sobre una superficie líquida, lo que en la bibliografía anglosajona se conoce como "spreading process".



El disolvente, además, caso de no ser suministrado con las suficientes garantías de pureza, debe ser fácil de purificar. Digamos solo que la presencia de cualquier impureza constituye el peor enemigo en los estudios realizados sobre superficies.

Además de las anteriores condiciones, es necesario que el disolvente sea insoluble en la subfase, por tanto, este factor dependerá de la naturaleza de la misma. Normalmente, el substrato o subfase lo constituyen disoluciones acuosas, este es nuestro caso, como puede verse en los anteriores apartados; en este sentido el requisito no es excesivamente restrictivo y bastará con cualquier disolvente orgánico insoluble en disolución acuosa, aunque en una posterior discusión veremos que la insolubilidad o hidrofobicidad de un compuesto no es absoluta y siempre es posible elegir un disolvente que en términos relativos sea más adecuado que otros.

Finalmente, es necesario que el disolvente elegido sea volátil, ya que no deberá de permanecer en la película cuando se realicen los distintos ensayos para su estudio. En cuanto al tiempo de evaporación, habrá que buscar el compromiso entre un tiempo relativamente corto para que la monocapa no se contamine y un tiempo suficientemente amplio para que el disolvente no arrastre el material que forma la película. Este, generalmente, se cifra entre 3-10 minutos. No obstante, este tiempo queda determinado por las condiciones de trabajo, por lo que se deberán realizar distintos ensayos que por eliminación nos indiquen el tiempo óptimo. En este sentido, hay que tener en cuenta que el tiempo que tarda el disolvente en evaporarse no es el mismo que cuando se forma una monocapa con otras sustancias, las condiciones del disolvente evidentemente son distintas. Algunos autores (Brady, 1949; Cook, 1956) señalan la importancia que la concentración de la sustancia formadora de la película tiene sobre el tiempo de evaporación del disolvente. Y en función de esta concentración algunos

experimentos demuestran la presencia de disolvente retenido en la película (Saraga, 1949).

Considerados los anteriores factores, que en su conjunto determinan el proceso de extensión de una película, procedimos a la elección de un disolvente capaz de extender de una forma satisfactoria los componentes objeto de estudio.

Nuestra atención se centró en los resultados de Munden y Swarbrick (1973), los cuales muestran isothermas no coincidentes para una película de dipalmitoil-lectina

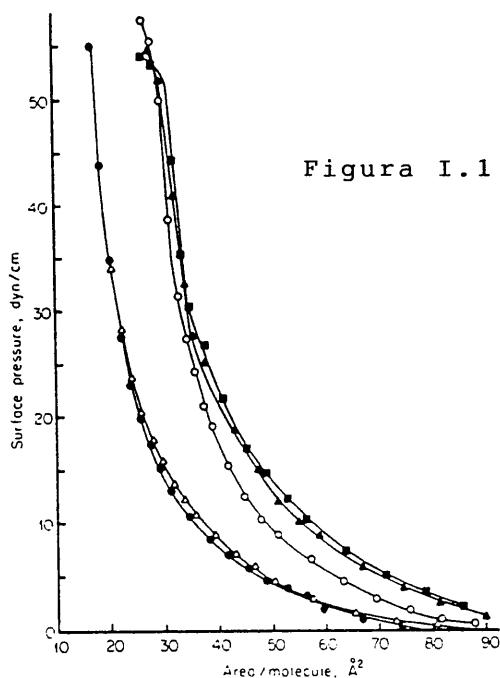


FIG. 1. Effect of spreading solvent on the surface pressure-area isotherm of DPL (Nutritional Biochemical Corp.): 1:1 hexane-chloroform (▲); 1:3 chloroform-benzene (■); 3:2 methanol-hexane (△); 3:2 ethanol-hexane (●); chloroform (○).

(DPL) (ver Fig. I.1). Estos autores observaron la dificultad de obtener isothermas presión superficial-área por molécula que estuviesen de acuerdo con estudios previos, y por ello analizaron los resultados obtenidos al estudiar el efecto de distintos solventes de extensión sobre una película de DPL. Ensayaron los solventes cloroformo, etanol, benceno, hexano, metanol y distintas mezclas de los mismos, observando mejor reproducibilidad cuando se utilizaron mezclas de metanol-hexano y etanol-hexano.

También se recogieron las sugerencias realizadas por los autores Cadenhead y Kellner (1974), quienes estudiaron el comportamiento de los solventes n-hexano, cloroformo, etanol, benceno, freon-TF, freon-TC, freon-TMC y freon-TE con películas de dipalmitoilfosfatidícolina, concluyendo, de forma análoga a Munden y Swarbrick, que los más óptimos para la extensión de este componente son una

de n-hexano- etanol y freon-TC.

Ya se habían pronunciado en el mismo sentido los autores Phillips y Chapman (1968), los cuales también repararon en las dificultades de extender fosfolípidos.

El problema de seleccionar un disolvente de extensión adecuado para fosfolípidos sintéticos se debe a la naturaleza higroscópica de los mismos y al hecho de que normalmente existen como monohidratos. De acuerdo con esto, el compuesto L- α -fosfatidilcolina, por ejemplo, no se disuelve en disolventes volátiles, no polares, insolubles en agua, tales como n-hexano y benceno, los cuales suelen ser buenos extendiendo o formando películas monomoleculares. Para disolver el compuesto L- α - fosfatidilcolina y conseguir una extensión aceptable es necesario usar mezclas de disolventes menos volátiles y no polares. La resolución de este problema reside en conseguir el balance crítico entre los componentes combinados polares y no polares del disolvente. Por tanto, las variaciones de las isoterms obtenidas con lecitinas pueden relacionarse con la solubilidad de los disolventes de extensión en la subfase y la cantidad de componente eliminado de la superficie. Cuando se comparan distintas isoterms, el efecto más notable es el desplazamiento de las mismas a lo largo del eje de las áreas por molécula. Así, el desplazamiento de la isoterma a bajas áreas sería debido a la pérdida de componente en la interfase, presumiblemente por disolución de etanol o metanol en la subfase, que arrastraría también a la sustancia que forma la película. La adición de hexano al cloroformo provoca el desplazamiento de la isoterma a mayores áreas/molécula, indicando que cuanto más hexano se añade más componente queda retenido en la superficie.

Por tanto, y en primera instancia, parece adecuado utilizar como disolvente para extender al compuesto L- α -fosfatidilcolina una mezcla de n-hexano- alcohol alifático de cadena corta.

No obstante, cabe señalar que son diversos los

trabajos presentados con estos componentes y otros análogos, y parece común el uso de distintos disolventes de extensión para formar sus películas, como demuestra la breve relación (Tabla I.5) que aquí incluimos a tal efecto. Por tanto, el interés de la consideración de este aspecto no se centra solamente en resolver el problema asociado con la elección del disolvente, sino, además, en conciliar algunas discrepancias aparentes en los parámetros superficiales de los compuestos estudiados por distintos autores.

El resto de los compuestos utilizados, colesterol y ácidos biliares, no presentan tantos problemas de extensión como las lecitinas. Sin embargo, un repaso en la bibliografía indica que los disolventes adecuados para estas últimas lo son también para dichos componentes y sus distintas mezclas. Esto, y el hecho de que utilizar el mismo tipo de disolvente es imprescindible para reproducir las condiciones experimentales de trabajo, además de facilitar el trabajo experimental, aconsejan utilizar para los compuestos colesterol y ácidos biliares un disolvente de extensión tipo mezcla hexano-alcohol, igual que en el caso de la lecitina.

De esta forma se realizaron las distintas experiencias con una mezcla de n-hexano-etanol (4:1 en volumen) añadiendo 0.05% de alcohol amílico, con el fin de favorecer la extensión de la película, efecto que vimos indicado en diversos trabajos de García Fernandez y col. (1964) y Miñones y col. (1968).

Cada experiencia se llevó a cabo dos veces, caso de no obtener isoterma coincidentes se repite la experiencia, dando finalmente como válido el resultado que obtenemos por duplicado.

Los compuestos utilizados para formar la mezcla como disolvente de extensión son:

TABLA I.5

<u>AUTORES</u>	<u>AÑO</u>	<u>COMPONENTES</u>	<u>DISOLVENTES</u>
Bernard	1958	Colesterol, Lecitina	Benceno
Otero Aenlle	1960	Ac.grasos, Ac Biliares	Eter etílico-Al. etílico(20%)
Galdston	1967	L- α -dipalmitoillecitina	Cloroformo-metanol
Miñones	1967	Colesterol, Lecitina, Acidos biliares	Etanol-heptano, trazas al. amílico
Joos	1968	Colesterol, Lecitina, Ac. Deoxicólico	Etanol, Heptano trazas al. amílico
Phillips	1968	Lecitinas, fosfatidil- etanolaminas	Hexano-etanol (4:1)
Vilallonga	1968	L- α -Dipalmitoillecitina	Etanol-Eter etílico(2:
Standish	1968	1,2-dipalmitoil-D-L- fosfatidiletanolamina	Cloroformo-etanol
Muramatsu	1969	Colesterol	Benceno-al.isopropí- lico-agua (9:9:1)
Phillips	1970	Colesterol, Lípidos	Etanol-al.amílico- éter etílico(10:0.2:8%
Llopis	1973	Lecitina, Ac.cólico	Etanol-Al.amílico- éter etílico(10:0.2:8%
Munden	1973	Dipalmitoillecitina	Cloroformo, etanol, b ceno, metanol
Cadenhead	1974	Dipalmitoillecitina	n-hexano, cloroformo, etanol, benceno, Freon (TF, TMC, TC, TE)
Albert	1975	Fosfatidilcolina, fos- fatidiletanolamina	Al.etílico, al.amílico éter etílico
Albert	1978	L- α -dipalmitoillecitina	n-hexano-etanol(9:1)
Ries	1978	Colesterol	Benceno
Snik	1979	Colesterol, Lecitina	Hexano-etanol(5:1)
Albrecht	1981	Colesterol-lecitina	Hexano-etanol(9:1)
Taneva	1984	Lecitina-seroalbúmina	Dón.acuosa proteína-a amílico(0.1)
Baglioni	1985	Colesterol	Cloroformo

Tabla I.6

<u>Reactivos químicos</u>	<u>Fabricante</u>	<u>Pureza</u>
n-Hexano($H_{14}C_6$)	MERCK	99.0%
Al. Etílico(H_6C_2O)	MERCK	99.8%
Al. iso-Amílico($H_{12}C_5O$)	QUIMON	99.0%

1.2.3. Preparación de Disoluciones Orgánicas

Se prepararon 250 cm³ de disolución de cada uno de los componentes puros, utilizando como disolvente una mezcla de n-hexano-alcohol etílico 4:1 en volumen respectivamente más 0.05% de alcohol amílico.

A partir de estas seis disoluciones base se prepararon mezclas binarias de los distintos componentes a las fracciones molares 25, 50 y 75%.

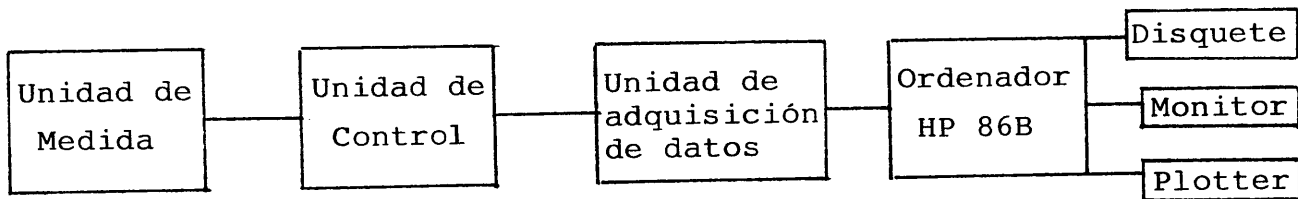
2. DISPOSITIVO EXPERIMENTAL

El dispositivo experimental utilizado para la obtención de todas las isotermas presión superficial-área por molécula ha sido una balanza de superficies automática Lauda Film Waage, siendo ésta una versión comercial de una balanza de superficies tipo Langmuir (Gaines, 1966, p.30).

El principio de medida de esta balanza es análogo al del sistema originario, se basa, por tanto, en la determinación de la presión superficial de la monocapa (diferencia entre la tensión superficial de una superficie limpia y la de una superficie con película) en función del área efectiva ocupada por molécula en la monocapa (cociente entre la superficie que ocupa la monocapa y el número de moléculas que componen la misma. En lo que sigue, denominaremos A como "área por molécula").

Esta balanza de superficies consta de dos unidades básicas, una de medida y otra de control. A este conjunto le añadimos otra tercera unidad de adquisición de datos.

El dispositivo resultante quedaría representado por el siguiente esquema:



2.1. SISTEMA DE MEDIDA Y CONTROL

El sistema de medida consta a su vez de tres elementos principales:

- Cubeta
- Barrera Móvil
- Barrera Fija

Toda esta unidad de medida se encuentra inmersa en un sistema hermético provisto de una cubierta practicable que permite su manipulación, y de esta forma quedan los tres sistemas protegidos.

2.1.1. Cubeta

El volumen líquido que soporta la película (subfase) está depositado en una cubeta metálica teflonada, A (ver Fig. I.2), la cual dispone de un sistema de regulación de temperatura. Una barrera fija, B, separa la superficie cubierta por película de la que no lo está.

Por el hecho de estar construida esta cubeta con latón teflonado (PTFE), la superficie posee carácter hidrófobo. Esto reporta varias ventajas: en primer lugar, es posible llenar el recipiente por encima de sus posibilidades geométricas, sin que se rompa la película, esto evita el paso de la película depositada bajo la barrera fija a la zona libre de ella; en segundo lugar, permite realizar la limpieza y el vaciado de la cubeta con facilidad; por último, el teflón es muy resistente a la mayoría de los componentes orgánicos e impide la descomposición del latón.

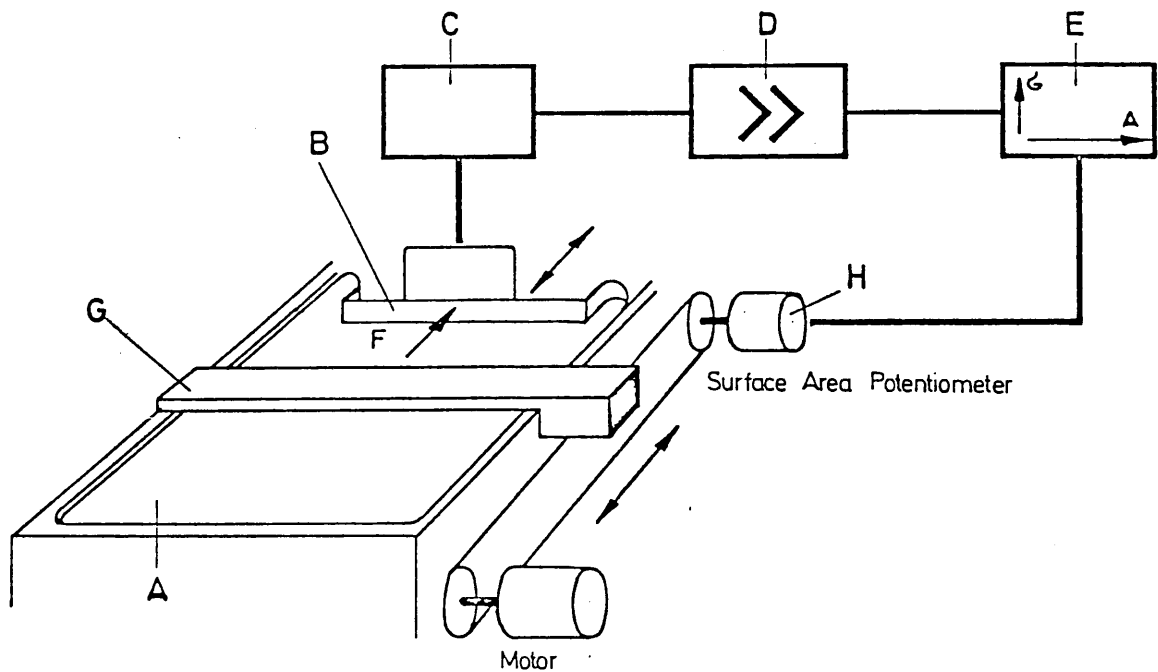


Figura I.2 Esquema del sistema de medida y control

2.1.2. Barrera Móvil

La película se extiende o comprime mediante el movimiento de una barrera móvil, G. Este movimiento lo realiza un motor a través de una cinta dentada.

La barrera móvil está recubierta de teflón por

razones análogas a las anteriores, y además es desmontable, lo que facilita su limpieza.

La velocidad de la barrera se ajusta desde la unidad de control en un intervalo de velocidades desde 0.9 cm/min hasta 6.5 cm/min.

Dos microinterruptores limitan el avance de la barrera. El contacto con cada uno de estos interruptores límite invierte automáticamente el sentido de la misma. Así pues, un microinterruptor determinará el área mínima posible, y el otro, el área máxima. Ambos microinterruptores son ajustables dentro de los límites geométricos de la cubeta.

El sistema de medida del área por molécula consiste en un potenciómetro que se mueve simultáneamente con la barrera móvil, transformando el área disponible para la película en una corriente continua, que, procesada en la unidad de control, nos permite representar directamente en el eje x del sistema de registro el valor de área/molécula con una sensibilidad de $\pm 0.01 \text{Å}^2/\text{molécula}$.

2.1.3. Barrera Fija

La barrera fija, denominada flotador, tiene dos finalidades muy importantes. Una, comentada anteriormente, reside en evitar el paso de película a la zona que debe estar libre de la misma, es decir, limpia. La otra, en contener al detector de diferencia de presión entre ambas zonas. El sistema también está teflonado, se encuentra unido a los bordes de la cubeta por dos cintas de teflón y puede desmontarse para su limpieza.

Esta barrera fija se encuentra suspendida mediante un estribo del transductor capacitivo de presión, C, cuya señal amplificada en la unidad de control D, permite representar en el eje Y del sistema de registro el valor de presión superficial, Π con una sensibilidad de $\pm 0.1 \text{ mNm}^{-1}$.

2.2 SISTEMA DE REGISTRO Y PROCESADO

El sistema de registro y procesado constituye la principal aportación realizada a nuestro dispositivo experimental, ya que sustituye al tradicional registro gráfico de dos canales por un sistema capaz de registrar digitalmente las distintas experiencias, digitalizar isoterma, almacenarlas en disco, procesarlas, etc. Así, disponemos de forma definitiva de los valores exactos de las variables Π y A, para todos los puntos de la isoterma, lo que será de gran utilidad al cálculo de valores de compresibilidad, presiones y áreas de colapso, presiones y áreas de transición de fase, realizado sin necesidad de tomar datos de una representación gráfica como usualmente se lleva a cabo en este tipo de determinaciones por distintos autores. Este método, además de contribuir a la automatización del desarrollo de las experiencias, nos permite un mejor estudio cuantitativo de las magnitudes superficiales dadas, a diferencia de otros trabajos donde hasta ahora se habían evaluado de forma cualitativa.

Este sistema consta de una unidad de adquisición de datos (HP 3421A) que recoge y digitaliza los datos registrados en los canales X e Y de la unidad de control. La unidad de adquisición de datos está controlada por un ordenador (HP 86B), que, a su vez, recoge los datos de la misma, de forma que pueden ser grabados en un disco o reproducidos gráficamente en un plotter (HP 475A).

Haciendo uso de un programa, elaborado específicamente para este trabajo, los datos almacenados pueden ser leídos y procesados de forma opcional según el resultado deseado.

3. LIMPIEZA Y CALIBRADO

3.1.LIMPIEZA DE LA CUBETA

La limpieza del dispositivo constituye una operación fundamental en el desarrollo de una experiencia. Cualquier tipo de impureza incide extraordinariamente en los resultados obtenidos al manipular superficies para su estudio. La naturaleza del material teflonado de la cubeta y de ambas barreras, fija y móvil, permite su limpieza de una forma fácil y cómoda. Una vez vaciada la cubeta, ésta se frota con un algodón impregnado primero de alcohol etílico, luego de agua destilada y, finalmente, se seca con un algodón limpio.

3.2. LIMPIEZA DE LA SUPERFICIE

Uno de los métodos más usuales de comprobación de impurezas en una superficie líquida es el llamado de dispersión. Consiste en dispersar partículas de talco sobre la superficie. En el caso de presencia de impurezas, las partículas de talco se aglutinan en torno a ellas, quedando el resto de la superficie libre del mismo, mientras que si ésta está limpia, al resultar la prueba negativa, no se observa zona alguna libre de talco.

El procedimiento de limpieza consistió precisamente en dispersar talco sobre la superficie, para después retirarlo junto con las impurezas por absorción a través de un capilar de vidrio, conectado por un tubo de goma a un aspirador.

3.3 CALIBRADO DE LA BALANZA

Para contrastar el sistema de medida directamente en unidades de presión superficial se empleó una cruz de calibrado, sostenida por un soporte en la barrera fija, y cuya parte inferior comprime a la misma. Colocando un peso de contraste, el sistema de medida queda perfectamente calibrado.

La operación de calibrado de la balanza se llevó a cabo antes de la compresión de cada película y después de la operación de limpieza, ya que no podemos asegurar el mismo nivel conseguido en la experiencia anterior.

Para realizar el calibrado se dispuso de un programa específico, de forma que colocada la cruz de calibrado tres veces, a través de la unidad de adquisición de datos, el ordenador toma una serie de valores de cada vez, calculando su media aritmética, y dando finalmente un valor de constante de calibrado, es decir, la relación entre unidades de presión y mV.

La unidad de control de la balanza dispone de un microinterruptor que permite tararla de forma automática una vez haya sido calibrada.

4. METODO OPERATIVO

En este apartado describiremos el método empleado para la obtención de isoterma, el laboratorio de superficies donde se realizaron las distintas experiencias y las condiciones del local elegido para su ubicación.

En el siguiente diagrama de bloques presentamos de forma global el esquema de nuestro laboratorio (Fig. I.3).

El local elegido está exento de vibraciones mecánicas por encontrarse en el sótano de un edificio. No obstante, se dispuso de una mesa antivibratoria, que consiste en un cajón de acero de dimensiones $100 \times 50 \times 60.5 \text{ cm}^3$

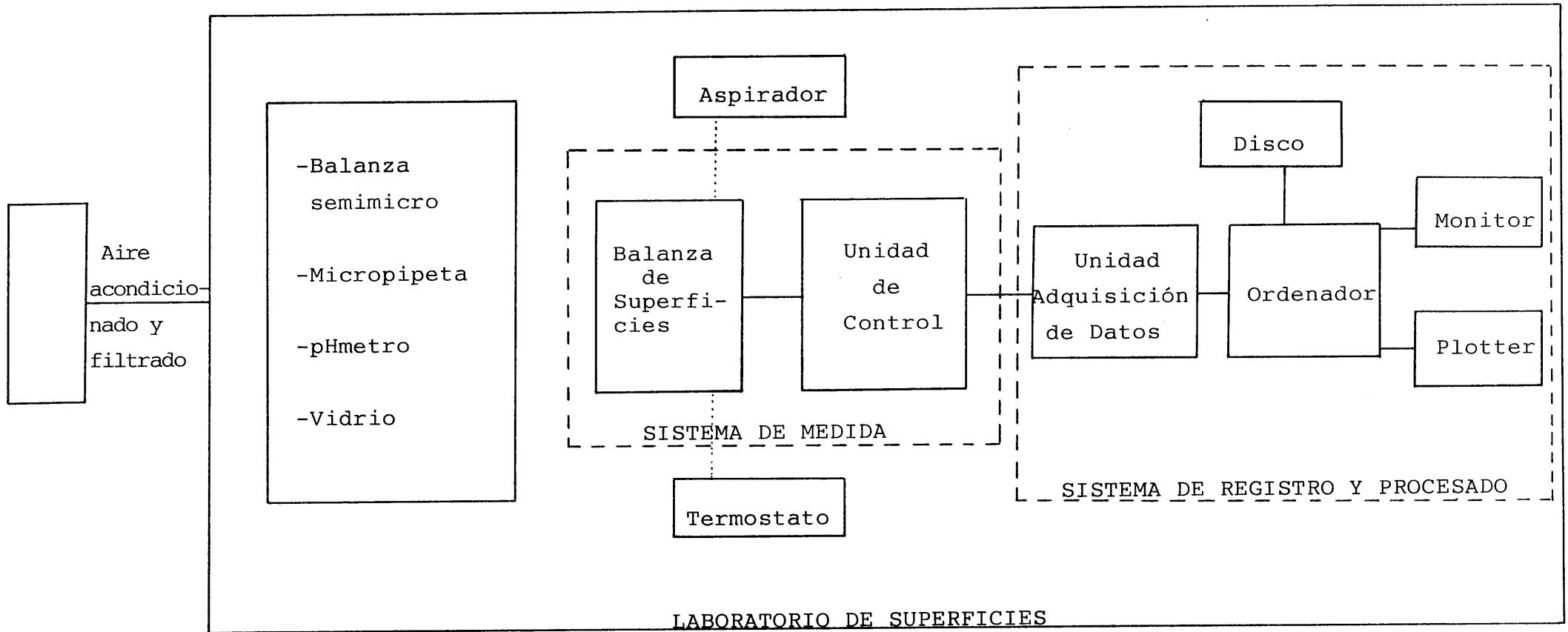


FIGURA I.3

.....vacio
 ---- conducción agua
 ——— conducción eléctrica

lleno de arena, sobre la que descansa una losa de mármol, la cual sirve de soporte a la balanza. Este cajón, a su vez, consta de patas robustas que descansan sobre cuatro amortiguadores elásticos, lo que garantiza el total aislamiento mecánico del dispositivo.

En este local se instaló un sistema de aire acondicionado que permite controlar la temperatura del ambiente en valores parecidos a los de la temperatura de trabajo, evitando así gradientes de temperatura entre las distintas fases en contacto, además de filtrar el aire del recinto.

Entre todos los dispositivos que componen nuestro laboratorio se encuentran un termostato HAAKE-F3, que asegura la termostatación de la balanza de superficies, con una sensibilidad de $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$; un aspirador (Ordisi), con el que se llevaron a cabo todos los ensayos de limpieza de superficies; una balanza semimicro METTLER AE163, donde se pasaron todas las sustancias utilizadas en la formación de las distintas disoluciones, y una micropipeta BRAND-TRANSFERPETTOR con un volumen máximo de $100\ \mu\text{l}$, que nos permitió la deposición de disolución formadora de película sobre la superficie limpia en cantidades del orden del μl . El resto de los dispositivos han sido detallados anteriormente.

Previamente a todos los ensayos para obtención de isotermas se preparó el dispositivo experimental, calibrando la superficie de la balanza. Esta operación se llevó a cabo con un programa específico de calibrado y haciendo uso de los microinterruptores que limitan el avance de la barrera móvil, anteriormente citados en el apartado 2.1.2., de forma que el microinterruptor que nos proporciona el área mínima coincida con área cero y el otro con un valor máximo y constante de área, que vendrá dado por los límites geométricos de la cubeta y por la posición de ambos microinterruptores. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el área real no es la medida directamente con el

potenciómetro, sino la resultante de sumarle un área residual previamente calculada que será la existente entre la posición de la barrera móvil de área mínima y la de la barrera fija, teniendo en cuenta, además, los bucles de teflón que la unen con los bordes de la cubeta.

Señalaremos, además, que la posición de la isoterma variará a lo largo del eje de las x , si no se tiene en cuenta el número de moléculas de sustancia formadora de película que se depositan en la superficie, ya que en este eje lo que se representa finalmente es área/molécula. Para evitar esta variación se recurre a un potenciómetro A-Ma β tab situado en la unidad de control de la balanza. Conociendo el número de moléculas depositadas, gracias a unas tablas realizadas por el fabricante de la balanza, determinamos la posición adecuada del potenciómetro, de manera que nos registre automáticamente en el eje de las x valores de área por molécula en posición correcta.

Son necesarios otro tipo de ensayos para asegurar las condiciones óptimas de trabajo. En este sentido, realizamos distintas experiencias a las diferentes velocidades de compresión posibles con nuestro dispositivo para todas las películas estudiadas, no observando ninguna diferencia de comportamiento al modificar la velocidad. Es decir, la ausencia de efectos cinéticos, trabajando a compresión continua, nos permitió considerar todos los puntos registrados de una isoterma como puntos en equilibrio, al igual que hacen otros autores (Motomura, 1974; Shibata, 1983).

También se llevaron a cabo una serie de ensayos dirigidos a determinar el tiempo de evaporación óptimo antes de la compresión de una película, una vez depositada ésta sobre la superficie limpia. Se ensayaron tiempos comprendidos entre 2 y 20 minutos, depositando disolvente solo y disolvente con sustancia formadora de película. Los resultados nos aconsejaron un tiempo mínimo de evaporación de 3 minutos y otro máximo de 10 minutos. Decidimos esperar

para todas las experiencias, antes de la comprensión de cada película, 5 minutos, asegurando así la evaporación del disolvente y la no contaminación de la película con la subfase.

Una vez preparadas todas las disoluciones, tanto las orgánicas para depositar en la superficie como la subfase constituida por una disolución tamponada, se termostató el sistema. La temperatura de la subfase y la de la superficie se registraron mediante una sonda conectada a un termómetro digital CRISON 616 N/3.

Posteriormente, para cada ensayo, se llevó a cabo una limpieza de superficie, en los términos indicados en el apartado 3.2., seguida de una compresión, obteniendo una curva de limpieza, de forma que garantizamos la misma en la superficie. Caso de registrarse alguna impureza se procede a otra nueva limpieza. A continuación se realizó el calibrado de la balanza en la forma indicada en el apartado 3.3, se pulsó el microinterruptor de tarado y se situó el potenciómetro A-Maßtab en posición adecuada, quedando finalmente la balanza preparada para un ensayo de compresión.

Concluidas las anteriores operaciones, se depositó la disolución orgánica en forma de gotas, haciendo uso de una micropipeta; se esperó 5 minutos y se comprimió la película a una velocidad de 108.3×10^{-5} m/s. Al mismo tiempo, la unidad de adquisición de datos recogía los valores de presión y área por molécula, pasándolos al ordenador, el cual los procesaba y registraba una isoterma completa, que dibujaba, inmediatamente después de la experiencia, en el plotter.

Cada isoterma se obtiene por duplicado, de manera que la coincidencia de ambas isotermas nos indica la validez de las mismas.

5. BIBLIOGRAFIA

- ALBERT, A.; LOPEZ-PADRON, S.; OTERO AENLLE, E.; QUERALTO, A. Monocapas Mixtas de Coenzima Q y Fosfolípidos Naturales y Sintéticos. An. Quím., 71, 847852 (1975).
- ALBRECHT, O.; GRULER, H.; SACKMANN, E. Polymorphism of Phospholipid Monolayers. Le Journal de Physique, 39, 301-313 (1978)
- ALBRECHT, O.; GRULER, H.; SACKMANN, E.; Pressure-Composition Phase Diagrams of Cholesterol-Lecithin, Cholesterol Phosphatidic Acid, and Lecithin-Phosphatidic Acid Mixed Monolayers: a Langmuir Film Balance Study. J. Colloid Interf. Sci., 79(2), 319-338 (1981)
- ARCHER, R.L.; LAMER, V.K. The Rate of Evaporation of Water through Fatty Acid Monolayers. J. Phys. Chem., 59, 200 (1955)
- BAGLIONI, P.; CESTELLI, G.; DEI, L.; GABRIELLI, G. Monolayers of Cholesterol at Water-Air. Interface: Mechanism of Collapse. J. Colloid Interf. Sci., 104, 143-150 (1985)
- BATEMAN, J.B.; COVINGTON, F.J. J. Colloid Interf. Sci., 16, 531 (1961) (citado por Gaines, 1966, p.33)
- BERNARD, L. DE, Associations Moleculaires entre les Lipides. II. Lecithine et Cholesterol. Bull. Soc. Chim. Biol., 40(1), 161-170 (1958)
- BERNETT, H.K.; ZISMAN, W.A. The Behavior of Monolayers of Progressively Fluorinated Fatty Acid Adsorbed on

Water. J. Phys. Chem., 67, 1534 (1963)

BRADY, A.P. J Colloid Sci., 4, 417 (1949) (citado por Cook, 1956)

CADENHEAD, D.A.; KELLNER, B.M.J. Some Observations on Monolayer Spreading Solvents with Special Reference to Phospholipid Monolayers. J. Colloid Interf. Sci., 49(1), 143-145 (1974)

COOK, H.D; RIES, H.E., Jr. Effects of the Spreading Solvent on Monolayers as Determined by Pressure-Area and Radioactivity-Area Isotherms. J. Phys. Chem., 60, 1533 (1956)

GAINES, G.L., Jr. " Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces". Intersciencie, New York (1966)

GALDSTON, M.; SHAM, D.O. Surface Properties and Hysteresis of Dipalmitoylecithin in Relation to the Alveolar Liming Layer. Biochim. Biophys. Acta, 137, 255-263 (1967)

GARCIA FERNANDEZ, S.; LEAL LOPEZ, A.; OTERO AENLLE, E. Estudios sobre Capas Monomoleculares de Superficie. V. Capas Monomoleculares Mixtas de Acidos Biliares y Acidos Grasos. Anales de Física y Química, LX-B, 137-144 (1964)

HANDBOOK OF CHEMISTRY AND PHYSICS, 61 th. Ed., CRC Press (1980-1981)

JOOS, P.; ROSSENEV-MOTREFF, M.Y.; RUYSSSEN, R. Interactions Interfaciales entre l'Acide Desoxicholique, le Cholestérol et la Lecithine. J. Chim. Phys. Physicochim.Biol., 65(5), 951- 958 (1968)

- LANGMUIR, I.; SCHAEFER, V..J. J. Frankklin Inst., 235, 119 (1943) (citado por Gaines, 1966, p.32)
- LLOPIS, J.; ALBERT,, A.; SAIZ, J.L.; ALONSO, D. Mixed Monolayers of Cholic Acid and Lecithin. Proc.VI Intern. Cong. Surface Active Substances, 339- 350 (1973)
- MINGINS, J.; OWENS, N.F.; ILES, D.H. Properties of Monolayers at the Air-Water Interface. I. The Effect of Spreading Solvent on the Surface Pressure of Octadecyltrimethylammonium Bromide. J. Phys. Chem., 73(7), 2118-2126 (1969)
- MIÑONES TRILLO, J.; GARCIA FERNANDEZ, S.; SANZ PEDRERO, P. Influencia del Soporte Salino sobre las Isotermas de Compresión y Descompresión de Monocapas de Colesterina, Lecitina y Acidos Biliares. An. Física y Química, LXIII, B, 823- 841 (1967)
- MIÑONES TRILLO, J.; GARCIA FERNANDEZ, S.; SANZ PEDRERO, P. Interacciones Moleculares en Monocapas entre Acido Litocólico y Trigliceridos. An. R. Soc. Esp. Fís. Quím. Serie B-Química, LXIV, B, 39-46 (1968)
- MIÑONES , J.; GARCIA FERNANDEZ, S.; SANZ PEDRERO, P. Monocapas de Seroalbúmina Bovina (S.A.B.). An. R. Soc. Esp. Fís. Quím. Química, 67(2), 115- 124 (1971)
- MIÑONES, J.; SANDEZ MACHO, M.I.; IRIBARNEGARAY, E.; SANZ PEDRERO, P. Phospholipid Monolayers. I. A comparative Study of Synthetic Lecithin and Cephalin Monolayers Spread on Substrats os Different pH. Colloid and Polymer Sci., 259, 382-390 (1981)

- MIÑONES, J.; SANDEZ MACHO, M.I.; IRIBARNEGARAY, E.; SANZ PEDRERO, P. Phospholipid Monolayers. II. Synthetic Lecithin and Cephalin Monolayers on Silic Acid Substrates of Different pH. *Colloid and Polymer Sci.*, 259, 450-461 (1981)
- MOTOMURA, K.; SEKITA, K.; MATUURA, R. Thermodynamics of Multicomponent Monolayers. II. Phase Transitions in Two-Component Monolayers. *J. Colloid Interf. Sci.*, 48(2), 319-326 (1974)
- MUNDEN, J.W.; SWARBRICK, J. Effect of Spreading Solvent on Monolayer Characteristics of Dipalmitoyl Lecithin. *J. Colloid Interf. Sci.*, 42(3), 657- 659 (1973)
- MURAMATSU, M.; GERSHFELD, N.L. Adhesive Forms in Mixed Films of Cholesterol and Octadecyl Sulfate as Detected by Desorption. *J. Phys. Chem.*, 73(4), 1157-1158 (1969)
- NAKAGAKI, M.; HANDA, T. The Two-Step Collapse of Mixed Monolayers of Cholesterol and its Esters. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 49(4), 880-885 (1976)
- OTERO AENLLE, E.; GARCIA MEGINO, R. Association between Fatty and Biliary Acids in Monomolecular Layers. III *Congres. Internat. de la Detergence*, vol. II, 94-96 (1960))
- PETROV, J.G.; KULEFF, I.; PLATIKANOV, D. Interaction of Octadecylamine Monolayers with Phosphate Counterions. *J. Colloid Interf. Sci.*, 109(2), 455-460 (1986)
- PHILLIPS, M.C.; CHAPMAN, D. Monolayer Characteristics on Saturated 1,2-Diacylphosphatidylcholin (Leci-

thins) and Phosphatidylethanolamines at the Air-Water Interface. *Biochim. Biophys. Acta*, 136, 301-313 (1968)

PHILLIPS, M.C.; JOOS, P. The Collapse Pressures and Miscibilities of Mixed Insoluble Monolayers. *Kolloid-Z. u. Z. Polymere*, 238(1-2), 499-505 (1970)

RIES, H.E., Jr.; SWIFT, H. Monolayers of Valinomycin and its Equimolar Mixtures with Cholesterol and with Stearic Acid. *J. Colloid Interf. Sci.*, 64(1), 111-119 (1978)

RIES, H.E., Jr. Interaction of Cholesterol, Cerebronic Acid, Valinomycin and Related Compounds in Monolayers of Binary Mixtures. *Colloids and Surfaces*, 10, 283-300 (1984)

ROBINS, M.L.; COVINGTON, F.J. *J. Colloid Interf. Sci.*, 15, 123 (1960) (citado por Gaines, 1966, p.33)

SARAGA, L.T-M. *Compt. Rend.*, 228, 548 (1949) (citado por Cook, 1956)

SEIMIYA, T.; ISHIWATA, S.; WATANBE, N.; MIYASAKA, H.; IWAHASHI, M.; TAJIMA, K.; HAYASHI, M.; MURAMATSU, T. Effect of Structural Separation between Phosphate and Ammonium Groups of Phospholipid on Calcium Binding Properties as Studied by Pressure-Area Analysis of the Monolayer. *J. Colloid Interf. Sci.*, 101(1), 267-270 (1984)

SHIBATA, O.; KENESHINA, S.; NAKAMURA, M.; MATUURA, R. Monolayers of Alkylammonium Alkonates on the Concentrated NaCl Solution. *J. Colloid Interf.*

Sci., 95(1), 87 (1983)

SNIK, A.F.M.; CRONE, A.H.M.; JOOS, P.; KRUGER, A.J. Dynamic Behavior of Surfactants. J. Colloid Interf. Sci., 70(1), 147-148 (1979)

STANDISH, M.M.; PETHICA, B.A. Surface Pressure and Surface Potential Study of a Synthetic Phospholipid at the Air-Water Interface. Trans. Faraday Soc., 64, 113-1122 (1968)

SUTULA, C.L. Disertation Iowa State College Ames. Iowa, (1959), p.146 (citado por Gaines, 1966, p.32)

TANEVA, S.; PANAIOTOV, I.; TERMINASIAN-SARAGA. Effect of Surface Pressure on Mixed Dipalmitoyl-Lecithin-Serum Albumin Monolayer Composition. Colloids and Surfaces, 10, 101-111 (1984)

VILALLONGA, F. Surface Chemistry of L- α -Dipalmitoyl-Lecithin at the Air-Water Interface. Biochim. Biophys. Acta, 163, 290-300 (1968)

WALKER, D.C.; RIES, H.E., Jr. Nature, 207, 292 (1964) (citado por Gaines, 1966, p.32)

Air-Water Interface. *Michio. Biophys. Acta*, 114, 1-10 (1963).
SMIR, A.F.M.; GROSS, A.H.M.; JOOS, P.; KRUGER, A.A.

Behavior of Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Potential Study of a Synthetic Phospholipid
Surface. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Air-Water Interface. *Langmuir*, 1, 1-10 (1963).

Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

Surface-active Colloid Inter-
face. *J. Polym. Sci. A-2*, 2, 1983-1992 (1964).

1. ESTADOS SUPERFICIALES EN PELICULAS MONOMOLECULARES

Se ha comprobado que las películas
de superficie líquida presentan
una serie de características
que dependen de factores como temperatura y presión.
El estudio de estos estados es de gran importancia.

CAPITULO II: ESTUDIO DE LAS ISOTERMAS EXPERIMENTALES PRESION SUPERFICIAL-AREA/MOLECULA (ANALISIS Y DISCUSION)

CAPITAN

ESTUDIO 1

ISOTERMAS EXPERIMENTALES

ESION SUPERFICIAL-AREA/MO

El límite de solubilidad de esta especie
 de 3000 Å²/molécula.

1. ESTADOS SUPERFICIALES EN PELICULAS MONOMOLECULARES

Es bien conocido que las películas extendidas sobre superficies líquidas pueden existir en varios estados los cuales son susceptibles de modificación con variables tales como temperatura y presión. La descripción y caracterización de estos estados superficiales es análoga a la realizada para sistemas tridimensionales. De igual forma que en tres dimensiones, los posibles estados de una monocapa representan diferentes grados de libertad u orden de las moléculas, en este caso en dos dimensiones. Por lo tanto, el estudio de los estados de una película permite detectar modificaciones en las fuerzas inter y/o intramoleculares en la película y entre la película y la subfase.

Generalmente, en una película superficial se consideran los siguientes tipos de estados: películas condensadas ("sólido" o "líquido"), películas extendidas y películas gaseosas. Sin embargo, la notación de estos estados difiere, dependiendo del autor que haga uso de

ella. Es significativa la tabla ilustrada por Gaines (1966, p.158) al respecto y que incluimos a modo de ejemplo (Tabla II.1).

TABLA II.1

		States of Monolayers							
		Gaseous	Expanded		Condensed				
Adam ^a	Gaseous	(Vapor expanded)	Liquid expanded	Transition	Close-packed heads	Condensed		Close-packed chains	
Harkins ^b	G (Gaseous)		L ₁ (Liquid expanded)	I (Intermediate)	L ₂ (Liquid condensed)	LS (Super liquid)	S (Solid)	(CS) ^c	
Dervichian ^d	Gaseous		Liquid	(Expanded mesomorphous)	Mesomorphous		Solid		

^a N. K. Adam, *Physics and Chemistry of Surfaces*, pp. 39-55.

^b W. D. Harkins, *Physical Chemistry of Surface Films*, pp. 106-117.

^c Suggested by S. Stållberg-Stenhagen and E. Stenhagen, *Nature*, 156, 239 (1945).

^d D. G. Dervichian, *J. Chem. Phys.*, 7, 931 (1939).

Por monocapas o películas gaseosas se entiende aquellas en que las moléculas se encuentran muy separadas entre sí, de manera que las fuerzas intermoleculares son muy débiles o en algunos casos inexistentes. Es difícil determinar la configuración molecular de estas monocapas, sin embargo, es fácil aceptar que la configuración promedio será más cercana a aquella en que las moléculas estén paralelas a la superficie que a la configuración donde las moléculas se ordenan verticalmente. Experimentalmente, las monocapas gaseosas se caracterizan por una presión superficial que se aproxima asintóticamente a cero, cuando el área disponible para la película se incrementa. La interpretación del comportamiento de estas películas obedece al análisis cinético de sistemas superficiales donde se ignora la subfase líquida. En esta aproximación se considera que las moléculas de la película se mueven con una energía cinética traslacional promedio de $1/2 kT$ para cada grado de libertad. Por

tanto, para el plano superficial la energía cinética total que da lugar a la presión superficial será kT , quedando la ecuación de estado para un gas bidimensional ideal como:

$$\Pi A = kT \quad (2.1)$$

El límite de validez de esta ecuación algunos autores, como Adam y col. (1926, 1928), lo cifran a partir de $5000 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$.

Las películas estudiadas con nuestro dispositivo y en las condiciones experimentales de trabajo seleccionadas no se presentan en estado gaseoso, por ello no nos extendemos en un mayor análisis de las mismas. Sólo decir que esta ecuación supone un comportamiento ideal. Existen modificaciones, como la realizada por Davies (1952), en la que se tiene en cuenta el área ocupada por las moléculas ya que estas presentan un tamaño finito, introduciendo un término co-área o área excluida, A_0 :

$$\Pi(A-A_0) = kT \quad (2.2)$$

Siendo A_0 un parámetro ajustable, asociado al área molecular observada en películas condensadas. De la forma de la ecuación se desprende que es válida para desviaciones positivas de la idealidad, y, sin embargo, en la práctica las desviaciones son siempre negativas, explicadas clásicamente en términos de fuerzas atractivas, por lo que Schofield y Rideal (1925) proponen otro tipo de modificación a la ecuación que de cuenta de estas desviaciones negativas:

$$\Pi(A-A_0) = qkT \quad (2.3)$$

donde q es menor que la unidad (generalmente = 0.7).

En oposición a las películas gaseosas, en las condensadas las moléculas están dispuestas juntas, con cierto empaquetamiento. La existencia de una monocapa

insoluble depende del balance de fuerzas intermoleculares atractivas y repulsivas. En el caso de películas condensadas, las fuerzas atractivas cadena-cadena son de mayor importancia. Sólo las moléculas que son capaces de estar íntimamente en contacto pueden exhibir tales interacciones y formar este tipo de monocapas bajo presiones superficiales bajas a temperaturas ordinarias.

Las gráficas presión superficial-área son prácticamente perpendiculares al eje de abscisas, indicando la baja compresibilidad de estas monocapas y la considerable viscosidad superficial que presentan, definida por el cociente entre la fuerza tangencial por unidad de área y la velocidad del flujo de la película.

Dentro de las monocapas condensadas, existen diversos tipos, con comportamientos diferentes, lo que ha permitido postular distintos estados o fases superficiales dentro de la categoría general de películas condensadas.

La primera clasificación, debida a Adam(1941, p. 46), está basada en la observación de los diagramas Π - A de películas condensadas de ácidos grasos, alcoholes y sustancias similares de cadena larga, que muestran dos segmentos lineales con una discontinuidad bastante pronunciada en la pendiente de ambos. En la región de mayor presión de estos diagramas, la curva muestra una elevada pendiente y el área molecular más pequeña correspondiente a la configuración de máximo empaquetamiento se aproxima a la sección transversal verdadera. Adam describe el estado de las monocapas en esta región como formadas por "cadenas totalmente empaquetadas".

Otros autores modifican y extienden este concepto según distintas interpretaciones dependiendo de los casos. Langmuir (1933) y Schulman y Hughes (1932) tienen en cuenta los efectos de hidratación de los grupos polares y de "squeezing out" de moléculas de agua por aumento de la presión; Alexander (1941, 1942) también tiene en cuenta los enlaces de hidrógeno entre grupos funcionales y moléculas de agua, así como la libertad de rotación o reagrupamiento de

estos grupos en su explicación a diferentes configuraciones.

La fase correspondiente a una baja compresibilidad en monocapas condensadas es llamada "sólido" (S), de acuerdo con Dervichian (1939) y Harkins (1952, p.106), y la más compresible se denomina como "líquido condensado" (L_C) por Harkins y como mesomorfa por Dervichian.

Las monocapas extendidas son películas intermedias entre las gaseosas y las condensadas. En principio, se puede pensar que existe un agrupamiento intermedio a las disposiciones moleculares que hemos aceptado para los tipos de monocapas anteriores.

Langmuir (1933) supone que las películas extendidas pueden considerarse como fases líquidas de muy poco espesor. Las porciones hidrofóbicas de las moléculas estarán distribuidas al azar, con una cierta orientación, y sólo los grupos funcionales polares estarán en contacto con la subfase. Dos hechos experimentales soportan la existencia de este tipo de fases intermedias y son el paso de monocapa extendida a condensada por efecto de la presión y la temperatura. Este comportamiento en monocapas, generalmente, está asociado a compuestos de cadena larga que tienen dobles enlaces "cis" o cadenas laterales.

Los diagramas Π -A correspondientes a monocapas extendidas muestran isotermas que no se aproximan tanto al eje de abscisas como lo hacen las monocapas gaseosas. El área molecular es generalmente dos o tres veces la sección transversal de la molécula y además este tipo de monocapas presentan una viscosidad superficial relativamente baja.

Langmuir interpretó cuantitativamente las isotermas Π -A de películas extendidas a través de una ecuación de estado, que obtuvo suponiendo que la superficie de la película se comporta como un hidrocarburo puro, exhibiendo ésta, por tanto, una tensión superficial propia de un líquido normal. La ecuación la obtuvo introduciendo las contribuciones de los grupos funcionales polares a la presión superficial corregida por el efecto del tamaño

molecular finito y de la presión de extensión de equilibrio de la película:

$$(\Pi - \Pi_0) (A - A_0) = kT \quad (2.4)$$

siendo A_0 el parámetro que da cuenta de la primera contribución y Π_0 corresponde al coeficiente de extensión de la parte hidrocarbonada de las moléculas de la película sobre agua.

Digamos, por último, que algunos autores (Adam y Jessop, 1926) distinguen el tipo de película vapor-extendido, análoga a la película líquido-extendido, excepto que la aproximación al eje de abscisas es más asintótica. Consideran que el diferente comportamiento de estos dos tipos de películas monomoleculares depende de las fuerzas existentes entre los distintos grupos funcionales.

Las películas monomoleculares estudiadas en este trabajo se clasificarán, por tanto, en términos genéricos, como condensadas o extendidas, dependiendo de la forma que presenten las distintas isothermas.

En la siguiente figura (2.A) presentamos una isoterma Π - A típica de monocapas formadas por compuestos de cadena larga, donde se muestran algunos de los estados de estas monocapas citados anteriormente y las transiciones que pueden ocurrir entre ellos bajo una compresión a 25°C. (Gaines, 1966, p.178).

2. PARAMETROS SUPERFICIALES

A partir de las isothermas experimentales presión superficial-área por molécula, registradas al comprimir una película monomolecular, es posible obtener una serie de "parámetros superficiales", que suministrarán amplia información sobre el estado de la monocapa, y, por tanto, sobre la estructura y orientación de las moléculas en dicha

película.

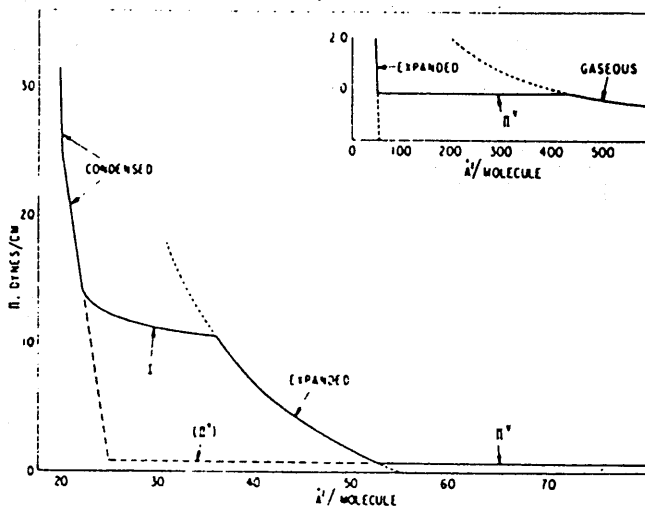


Figura 2.A

Del análisis de la bibliografía sobre este tema, caben destacar los trabajos de Ries y col. (1978, 1979, 1982, 1984) y Hayase y Tsubota (1986), los cuales hacen énfasis en el área específica límite, la compresibilidad de la monocapa y los valores de presión y área por molécula en el punto de ruptura de la película (llamados de colapso), como propiedades fundamentales de las isotermas. Otros datos de gran interés, para el caso de monocapas que sufren cambio de estado en el transcurso de la compresión, son los de presión y área por molécula correspondientes a los puntos de dichos cambios de estado. Estos últimos valores serán objeto de estudio en el siguiente capítulo, donde detallaremos su determinación.

Naturalmente, todos los parámetros superficiales pueden interpretarse a la luz de modelos, teóricos o semiempíricos. La información que se obtiene de ellos tiene, fundamentalmente, un carácter puntual, ya que se deriva de sus propias definiciones y son valores correspondientes a puntos significativos y no arbitrarios en una isoterma. El interés de estos datos también reside en que, a partir de ellos, es posible evaluar otras magnitudes importantes en el

estudio de monocapas, por la información que de ellas se deriva.

2.1. AREA ESPECIFICA LIMITE

El área específica límite (A_0) se obtiene extrapolando la parte lineal de la isoterma a presión superficial cero en la zona de menores áreas por molécula. Este parámetro nos permite obtener información acerca de la orientación de las moléculas que forman la película en el último estado accesible de la monocapa antes de colapsar. Cuando el estudio se realiza sobre compuestos con cadenas alifáticas, se acepta, generalmente, que A_0 está asociada con el área transversal de las moléculas orientadas verticalmente, de esta forma es posible estimar la orientación de las moléculas a mayores áreas por molécula en el caso de monocapas más extendidas.

Este parámetro, además, reviste gran importancia, ya que conocida la densidad de los componentes de la película, es posible determinar el espesor de la misma.

2.2 COMPRESIBILIDAD

Gibbs (Gaines, 1966, p.24) demostró que existe una elasticidad asociada con una película líquida si la tensión superficial varía con el área. Para una monocapa insoluble, la elasticidad de equilibrio está relacionada con la "compresibilidad" de la película, la cual se define como:

$$K = -1/A_0 (\partial A / \partial \Pi)_T \quad (2.5)$$

donde A_0 es el área específica límite. La compresibilidad de una superficie limpia sería, por tanto, infinita al no variar la tensión superficial con el área y la elasticidad

definida por Gibbs, inversa de la compresibilidad, adquiriría el valor 0.

Ries y col. (1978, 1979, 1981, 1984) determinan valores de compresibilidad para distintas películas superficiales haciendo uso de la expresión $(a_0 - a_1)/a_0 f_1$, donde a_0 es el área específica límite y a_1 es un área pequeña a la presión f_1 .

Sin embargo, otros autores, como Albrecht y col. (1981), prefieren calcular el valor de la compresibilidad de la monocapa en otros puntos de la isoterma, definiéndola como:

$$K = -1/A (\partial A / \partial \Pi)_T \quad (2.6)$$

donde A es un área por molécula a una presión Π .

Nosotros calcularemos el módulo de compresibilidad en la forma indicada por la ecuación (2.5) cuando discutamos su valor, junto con el de otros parámetros superficiales, y según la ecuación (2.6) cuando representamos la variación de la compresibilidad con el área por molécula, para la determinación de transiciones de fase asociadas a discontinuidades en esta función. Por tanto, el valor de este parámetro también puede usarse, de forma aproximada, para dar cuenta del estado de la monocapa.

2.3 PRESION Y AREA DE COLAPSO

Los valores de presión y área de colapso definen el punto de "ruptura" de una película monomolecular. Este valor se detecta por la caída brusca de la presión superficial a valores de área específica muy pequeños.

Cuando ocurre el colapso, las moléculas que forman la película son forzadas a salir de la misma y a formar aglomerados en una fase adyacente a la subsolución. Por tanto, la presión de colapso es la presión mayor a la cual

puede comprimirse una monocapa sin expulsión detectable de moléculas para formar otra nueva fase.

No obstante, Gaines (1966, p. 145) afirma que esta presión depende no sólo de la naturaleza de la sustancia, sino también de variables experimentales como temperatura, velocidad de compresión y de la propia historia de la película. Por tanto, este autor considera necesario establecer un criterio para definir el colapso de la monocapa. Así, Brooks y Alexander (1962) consideran que una reducción de área de la película con el tiempo, a presión constante, puede ser un criterio aceptable de colapso. Otros autores, sin embargo, definen el colapso como una caída brusca de presión si en el tiempo el área es constante. También se ha considerado como tal la presión máxima detectada a una determinada velocidad de compresión.

Nosotros adoptamos como criterio de colapso el que hemos mencionado en primer lugar, por ser el más extendido entre la mayoría de los autores, lo que nos permitirá comparar los resultados obtenidos. Así pues, en este trabajo, los distintos valores de colapso se obtuvieron analizando el listado de todos los puntos de una isoterma presión superficial/área por molécula y considerando como presión de colapso el valor a partir del cual la presión superficial disminuye continua y progresivamente.

3. ISOTERMAS EXPERIMENTALES PRESION SUPERFICIAL-AREA POR MOLECULA DE PELICULAS MONOMOLECULARES CON UN SOLO COMPONENTE

3.1. MONOCAPAS DE COLESTEROL

Las propiedades de las películas formadas por colesterol son de las más estudiadas en la físico-química de superficies, ya que este compuesto se encuentra implicado

en distintos procesos biológicos susceptibles de ser caracterizados como fenómenos superficiales.

El colesterol, además de formar parte, junto con otros compuestos, de la bilis e intervenir en el proceso de litiasis en la vesícula, en el cual se contemplan mecanismos de interacción superficial, es uno de los constituyentes fundamentales de las membranas biológicas, donde el estudio de monocapas insolubles constituye una de las mayores aportaciones al conocimiento de modelos de membranas.

A partir de la forma de las isothermas presión superficial-área por molécula de películas formadas por colesterol puro, Fig. 2.1., y los datos de la Tabla II.2. se deduce la existencia de un fuerte empaquetamiento de las moléculas de colesterol verticalmente orientadas y, por tanto, el carácter condensado de dichas películas, ya que estas isothermas son prácticamente perpendiculares al eje de abscisas desde valores de presión superficial ligeramente superiores a 0. Al mismo tiempo, los modelos moleculares demuestran que la geometría, en conjunto, de la molécula de colesterol y la localización favorable del grupo hidroxilo dan lugar a la formación de películas fuertes y estables para una estructura relativamente compleja, como es la de esta molécula (Ries, 1978, 1984). Estas propiedades se reflejan en un área específica límite pequeña, $43 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ (a $\text{pH} = 6.00$ y $T = 25^\circ\text{C}$), la cual es, según Ries (1984) aproximadamente igual al área de dos moléculas de cadena n-alquílica, en una alta presión de colapso 46 mNm^{-1} (a $\text{pH} = 6.00$ y $T = 25^\circ\text{C}$), y, finalmente, la propiedad más notable es la baja compresibilidad (alta rigidez) de la película 0.008 m mN^{-1} (Tabla II.2), lo que determina prioritariamente las características mencionadas de película condensada y justifica el modelo de empaquetamiento vertical de las moléculas propuesto anteriormente.

En la Fig. 2.1 se presentan isothermas de colesterol puro a $T = 25^\circ\text{C}$ y a diferentes pHs (de 2.00 a 12.00), observándose cómo a los pHs extremos de 2.00 y 12.00 las

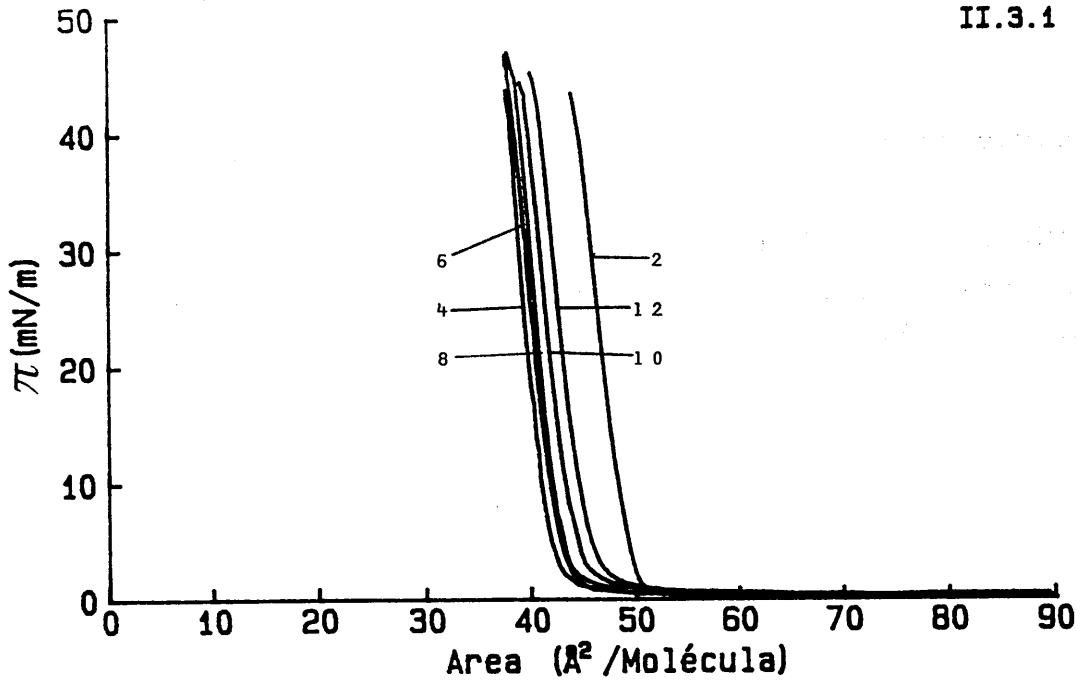


Fig. 2.1. Presión superficial en función del área por molécula para películas de colesterol a T=25°C y a distintos pHs.

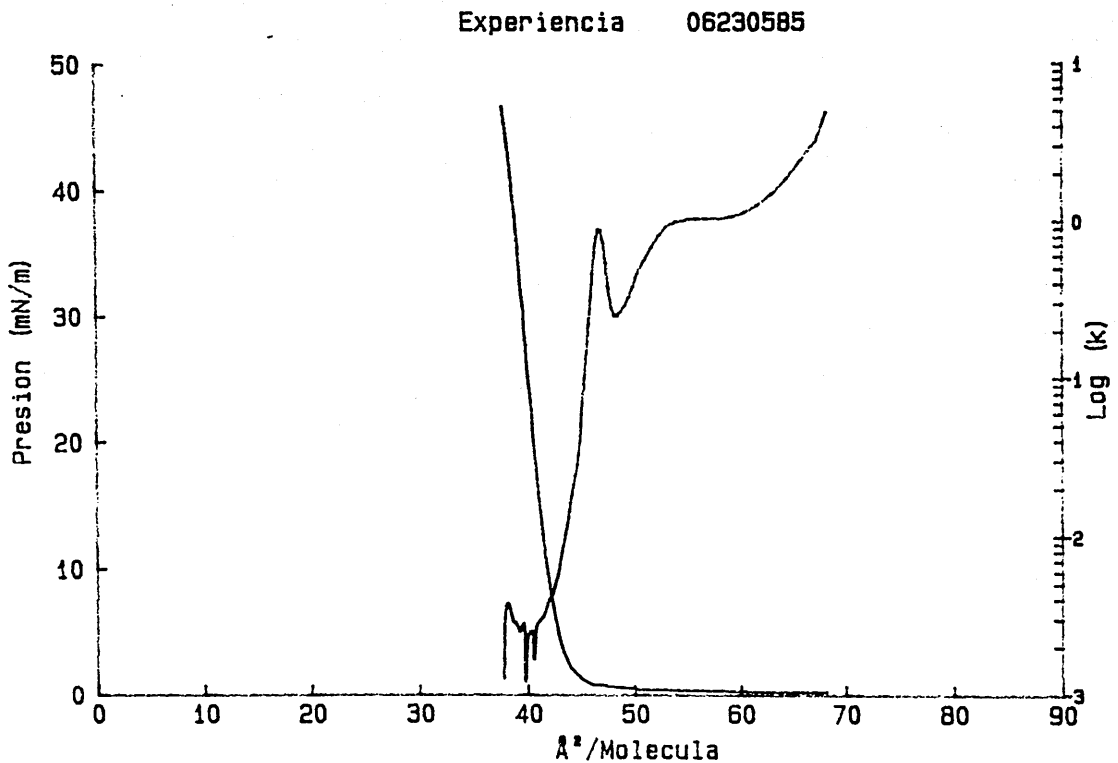


Fig. 2.2. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de colesterol a T=25°C y pH=6.00

películas se encuentran ligeramente menos condensadas que a pHs intermedios, para los cuales se puede decir que no existe diferencia apreciable en el comportamiento. Efectivamente, a pHs extremos la molécula de colesterol se encuentra más polarizada, desviándose la isoterma hacia áreas más grandes por efecto de fuerzas repulsivas de tipo electrostático. En la Tabla II.2, donde se presentan los datos de área específica límite A_0 , presión de colapso Π_c , área de colapso A_c y módulo de compresibilidad K_0 , y se observa cómo los valores de área específica límite y área de colapso son mayores para los pHs 2.00 y 12.00, y cómo las presiones de colapso están de acuerdo con estos datos, teniendo en cuenta que la compresibilidad de las películas a distintos pHs no presenta variaciones importantes.

TABLA II.2

pH	$A_0(\text{Å}^2/\text{molec.})$	$\Pi_c(\text{mNm}^{-1})$	$A_c(\text{Å}^2/\text{molec.})$	$K_0(\text{m mN}^{-1})$
2.00	49.29	43.5	43.93	0.0056
4.00	41.82	43.7	37.76	0.0054
6.00	43.09	46.8	37.68	0.0084
8.00	43.03	47.0	37.88	0.0057
10.00	44.17	44.4	39.10	0.0063
12.00	45.40	45.3	40.02	0.0063

Parámetros superficiales de monocapas de Colesterol a 25°C y diferentes pHs

En la Fig. 2.2 representamos el logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula ($T = 25^\circ\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$), observándose una disminución progresiva de la compresibilidad conforme aumenta la presión superficial. Ries y col. (1976) presentan una serie de micrografías electrónicas obtenidas para distintos estados de compresión de la monocapa que demuestran que, conforme aumenta la presión superficial, aparecen "clusters" formados

por moléculas de colesterol que se empaquetan gradualmente, hecho que justificaría la disminución del coeficiente de compresibilidad obtenido por nosotros, ya que las fuerzas cohesivas debidas a interacciones hidrofóbicas entre las estructuras de anillo del colesterol y los efectos de enlace de hidrógeno entre los grupos hidroxilos en estos "clusters" son relativamente más fuertes que en los primeros estadios de compresión de la monocapa.

Finalmente, el efecto de la temperatura sobre las películas monomoleculares de colesterol se traduce en una extensión de las isothermas a áreas mayores conforme aumenta la temperatura, no variando el carácter condensado de las mismas (Fig. 2.3). En la Tabla II.3 se presentan valores de algunos de los "parámetros superficiales" más significativos para las isothermas de colesterol a pH = 6 y distintas temperaturas. Estos resultados también están de acuerdo con una mayor extensión de las isothermas conforme aumenta la temperatura, sin variación apreciable en los valores de presión de colapso y en la compresibilidad a las temperaturas más altas, sensiblemente más bajos que los obtenidos a 25°C.

TABLA II.3

T(°C)	A _O (Å ² /molec.)	Π _C (mNm ⁻¹)	A _C (Å ² /molec.)	K _O (m mN ⁻¹)
25	43.09	46.8	37.68	0.008
30	45.57	44.5	41.55	0.005
35	49.29	45.0	43.14	0.005
40	49.57	45.3	43.90	0.005

Parámetros superficiales de monocapas de Colesterol a pH= 6.00 y distintas temperaturas

Algunos autores, como Baglioni y col.(1985), han obtenido isothermas coincidentes para el colesterol a distintas temperaturas; sin embargo, se obtuvieron al

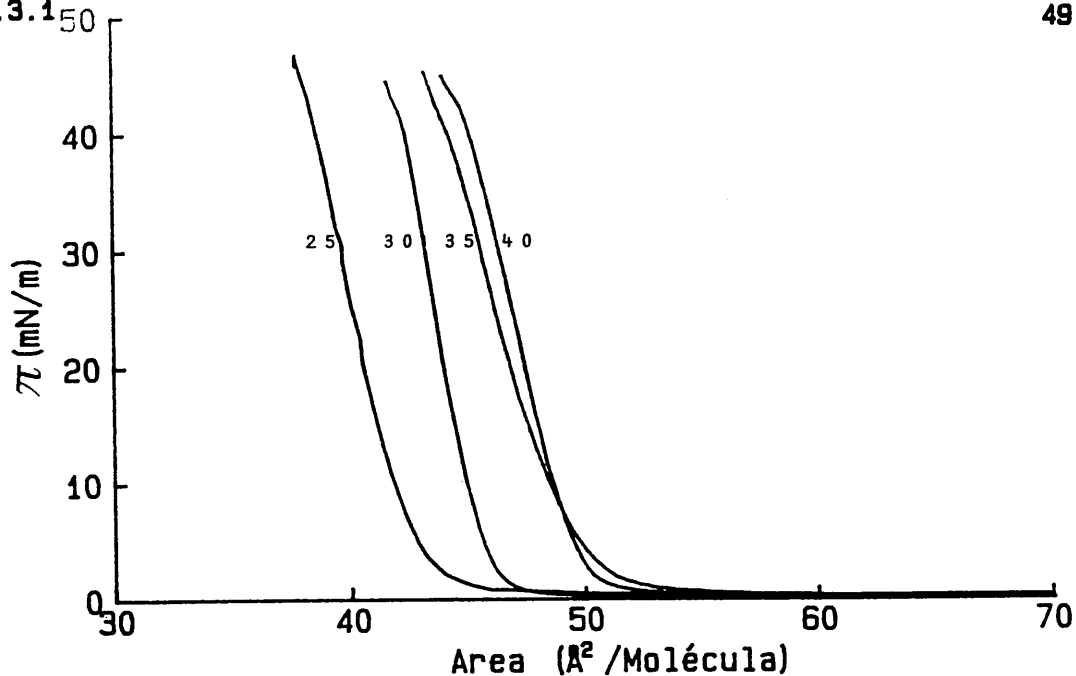


Fig. 2.3. Presión superficial en función del área por molécula para películas de colesterol a pH=6 y distintas temperaturas.

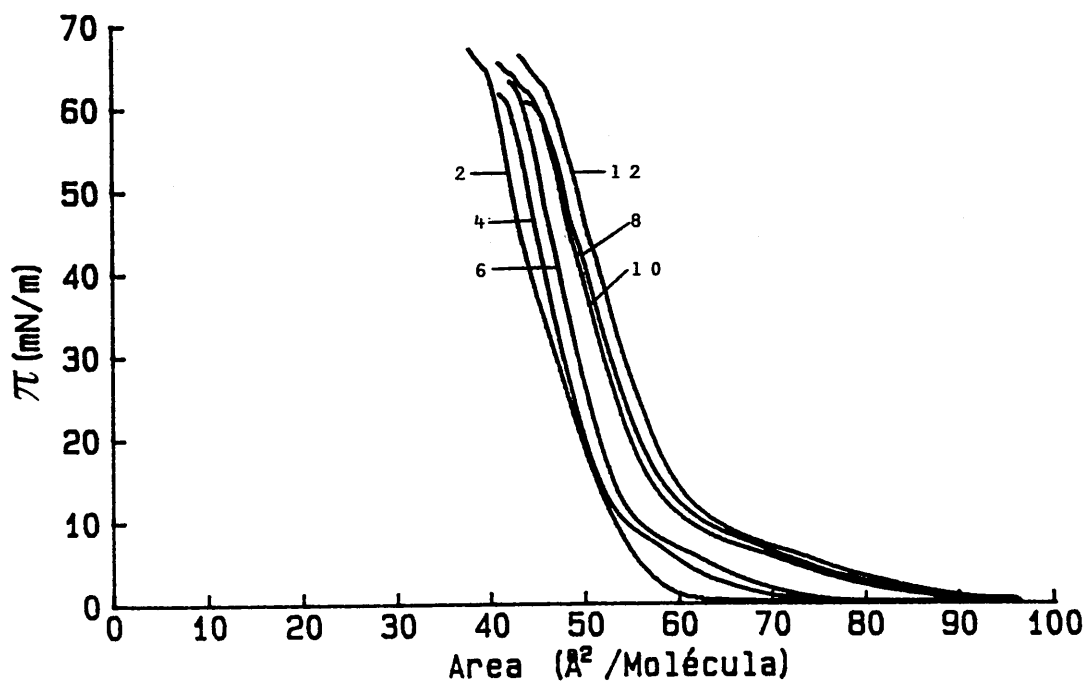


Fig. 2.4. Presión superficial en función del área por molécula para películas de L- α -fosfatidilcolina a T=25°C y a distintos pHs.

comprimirlas seis horas después de extenderlas. Por otra parte, Pethica (1955) confirma que a temperaturas superiores a 25°C y, sobre todo, a altas presiones superficiales las películas de colesterol no son estables, probablemente debido al aumento de la solubilidad del mismo en la subfase, lo que daría lugar a una desviación de las isotermas hacia áreas mayores por la inclusión de algunas moléculas de la subfase en la película. Cadenhead y Phillips (1967), por el contrario, admiten que las películas de colesterol son inestables a cualquier temperatura debido a algún cambio conformacional provocado por algún efecto como la oxidación de las moléculas, dando lugar a la formación de algún tipo de agregado tridimensional conforme se comprime la película, y que esta inestabilidad no se modifica con la temperatura sino con el tiempo (Cadenhead, 1982). Ciertamente, la inestabilidad de las monocapas de colesterol no es fácil de asignar a algún hecho experimental concreto y puede deberse a la alta rigidez de la película, como es el caso de otros materiales policíclicos. Nuestros resultados experimentales están de acuerdo, por tanto, con la interpretación dada por Pethica, ya que se observa un ligero desplazamiento de las isotermas hacia mayores áreas por molécula, a medida que aumenta la temperatura, descartando los efectos de envejecimiento descritos por Cadenhead, ya que todas las experiencias se realizaron siguiendo exactamente el mismo método.

3.2. MONOCAPAS DE L- α -FOSFATIDILCOLINA

Las películas monomoleculares insolubles de L- α -fosfatidilcolina extendidas en la interfase disolución acuosa-aire también representan un sistema de gran interés. Este compuesto, igual que el colesterol, participa en numerosos procesos biológicos de importancia junto con una variedad de sustancias, entre las que se encuentra el propio colesterol. Además, las monocapas de este compuesto

pueden presentarse bajo distintos estados físicos, por lo que las transiciones entre los estados de la monocapa constituyen otro importante objeto de estudio.

En este sentido, podemos destacar las controversias que, aún hoy, existen sobre el cambio de fase que tiene lugar entre los estados líquido extendido (LE) y líquido condensado (LC), (Neuman, 1984).

Observando las formas de las isoterms de la película de L- α -fosfatidilcolina a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y a distintos pHs, presentadas en la Fig. 2.4, vemos que prácticamente todas muestran una zona de transición de fase entre dos estados de la monocapa. Esta transición, denominada por muchos autores como "principal", es la única que se observa en las isoterms. La existencia de otro tipo de transiciones será detectada en posteriores cálculos realizados en el próximo capítulo, donde también se estudiará cuantitativamente la transición LE-LC.

Sólo diremos que la zona de la transición principal, a diferencia de lo que ocurre en sistemas tridimensionales en la región entre dos fases, no corresponde a una zona horizontal de la isoterma. En principio, algunos autores observaron que la pendiente de esta zona variaba con la pureza del compuesto, sin embargo, Albrecht y col. (1978) comprobaron que esta pendiente es una propiedad intrínseca de la monocapa, ya que, alcanzado un cierto grado de pureza, esta no desaparece. Scott (1975) atribuye esta pendiente a una presión superficial adicional causada por la interacción electrostática repulsiva debida al dipolo eléctrico en el grupo polar de la molécula.

En la Fig. 2.4 también observamos como, a medida que aumenta el pH, las isoterms se encuentran desplazadas hacia la zona de áreas mayores, presentando un carácter más extendido. Los datos de la Tabla II.4, donde se presentan los valores de los parámetros superficiales a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y a distintos pHs, dan cuenta de este comportamiento.

En principio, es de esperar que las películas de

esta lecitina se encuentren más extendidas a medida que el pH se aleja de la zona de punto isoeléctrico (pH entre 6-7, Miñones y col., 1981). Sin embargo, los resultados experimentales no están de acuerdo con esta interpretación. Miñones y col. (1981) explican la extensión de las películas conforme aumenta el pH por efecto de interacciones repulsivas de tipo electrostático, debido a la orientación perpendicular a la superficie de la molécula en forma de "zwitterion". Anderson (1956) y Dervirchian (1964) confirman también que las moléculas de lecitina sintética se encuentran en forma de zwitterion en un amplio intervalo de pH, a través de medidas de potencial superficial y constante dieléctrica, respectivamente. Es conocido que una formación de dipolos paralelos orientados verticalmente a la superficie puede producir una interacción repulsiva en el plano de esta, y ello explicaría los grandes valores de área específica obtenidos en nuestras isoterma, a diferencia de lo que ocurre cuando la orientación de los dipolos es paralela a la superficie, que provocaría la aparición de fuerzas atractivas. Estos autores, por tanto, aseguran que el signo y magnitud de las interacciones electrostáticas claramente dependen de la orientación del zwitterion respecto a la superficie.

TABLA II.4

pH	$A_0(\text{\AA}^2/\text{molec.})$	$\Pi_c(\text{mNm}^{-1})$	$A_c(\text{\AA}^2/\text{molec.})$	$K_0(\text{m mN}^{-1})$
2.00	54.77	67.1	37.77	0.010
4.00	53.17	61.7	41.07	0.011
6.00	55.57	63.2	42.20	0.015
8.00	59.25	65.4	39.99	0.014
10.00	59.65	60.8	43.89	0.015
12.00	61.41	66.4	43.26	0.014

Parámetros superficiales de monocapas de L- α -
Fosfatidilcolina a 25°C y diferentes pHs

A pHs ácidos, la molécula ya no estará en forma de zwitterion sino como un ión con carga positiva en el N del grupo trimetilamonio, lo que dará lugar a una reducción de área específica límite de la película, al reducirse también las fuerzas repulsivas.

El efecto de la temperatura sobre las películas de L- α -fosfatidilcolina puede observarse en la Fig. 2.5 donde se presentan distintas isotermas de este compuesto a pH = 6.00 y a varias temperaturas (25-40°C). Lógicamente, conforme aumenta la temperatura, las películas se encuentran más extendidas y, además, se observa un aumento progresivo de la presión superficial a la que tiene lugar la transición de fase. Phillips y Chapman (1968) determinaron que la temperatura crítica para esta transición (LE-LC), llamada temperatura de Krafft, es cercana a 41°C, a partir de este valor las isotermas se encuentran en estado líquido extendido durante toda la compresión. En nuestros resultados observamos cómo a la temperatura de 40°C la región de transición se reduce prácticamente a un punto de inflexión. En esta figura también observamos como a las temperaturas más altas en nuestro intervalo, el colapso de la película se produce a presiones superficiales inferiores, aunque prácticamente a los mismos valores de área/molécula. Este hecho está de acuerdo con los valores de compresibilidad presentados en la Tabla II.5, donde se manifiesta un progresivo aumento de la misma al aumentar la temperatura, por tanto, las moléculas a las temperaturas más altas no requerirán mayores presiones superficiales para colapsar.

3.3. MONOCAPAS DE ACIDO LITOCOLICO

Observando las isotermas correspondientes a las películas monomoleculares de ácido litocólico a diferentes pHs (Fig. 2.6), claramente se distinguen dos tipos de comportamiento, uno a pHs ácidos y otro a pHs básicos. En el



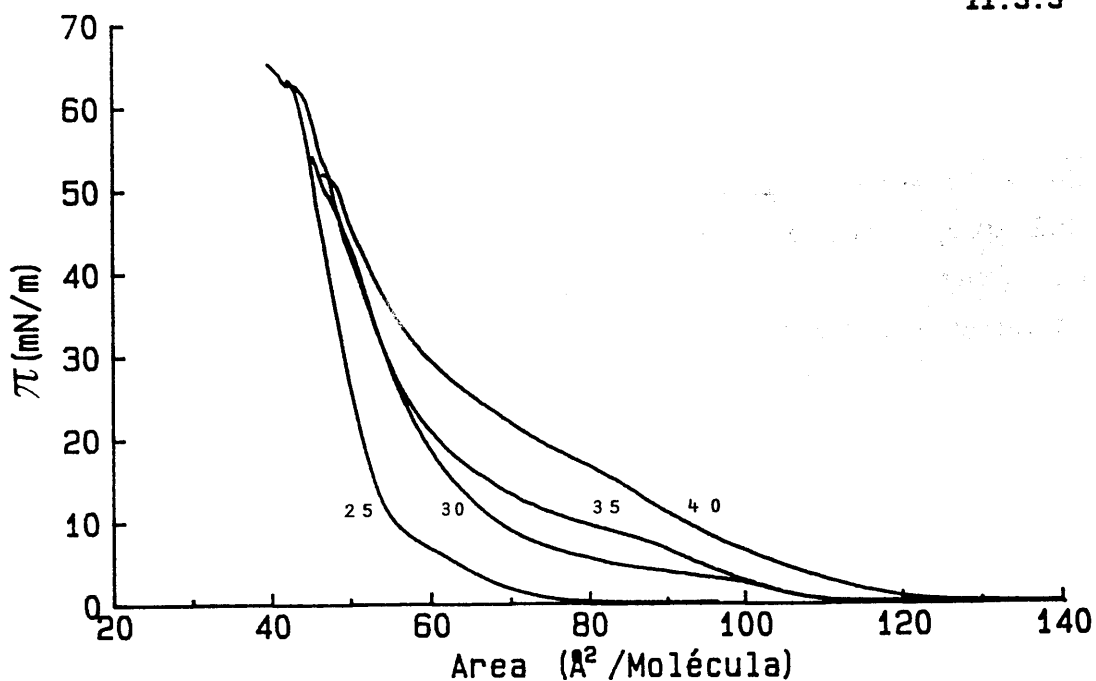


Fig. 2.5. Presión superficial en función del área por molécula para películas de L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y a distintas temperaturas

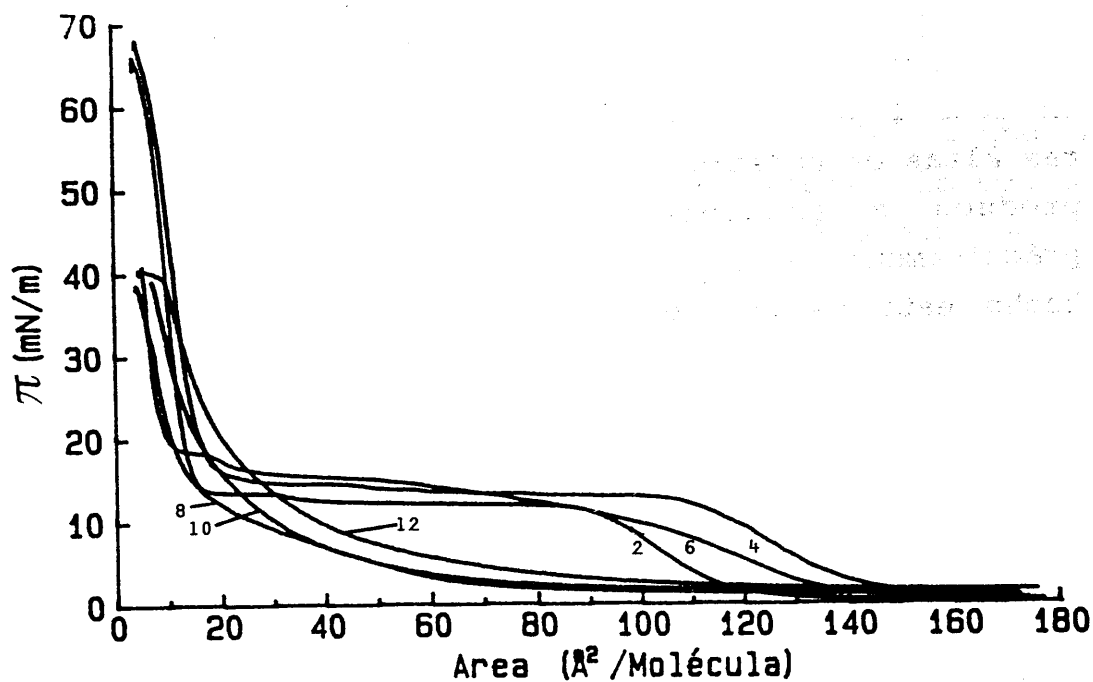


Fig. 2.6. Presión superficial en función del área por molécula para películas de ácido litocólico a T=25°C y distintos pHs

primer caso, entre $\text{pH} = 2-6$ las isotermas presentan una zona de transición de fase principal entre un estado extendido y otro condensado. Este tipo de transición, que comienza a áreas por molécula relativamente altas, obedece a un comportamiento lógico para este compuesto, donde a presiones bajas las moléculas no se encuentran suficientemente cercanas como para que tenga lugar algún tipo de interacción entre ellas, exhibiendo un estado extendido; sin embargo a valores altos de presión superficial, después de la compresión de la película, surgirán fuerzas atractivas tipo cadena-cadena o de van der Waals, dando lugar a un estado condensado. Esta transición que se manifiesta alrededor de 15 mNm^{-1} será caracterizada en el capítulo siguiente. Miñones y col. (1967, 1968) consideran que las películas de ácido litocólico colapsan alrededor de esta presión superficial. Sin embargo, con nuestro dispositivo experimental podemos alcanzar valores de presión superficial superiores y comprobar que la disminución continua de ésta con el área por molécula se produce a las presiones señaladas como las de colapso y no alrededor de 15 mNm^{-1} , donde la deflexión observada en la isoterma desaparece con una pequeña disminución del área por molécula. Esta forma de las isotermas experimentales también la observaron los autores Gershfeld (1972), Tajima (1975) y Weis (1985) (Para monocapas formadas por los compuestos dipalmitoilecitina, ácido esteárico, octanol, dimiristoilecitina, dioleoillecitina y dipalmitoilefosfatidilcolina, respectivamente) y, en el siguiente capítulo, donde estudiamos la presencia de transiciones de fase de distinto orden, discutiremos el significado físico de dichas deflexiones.

La transición principal puede detectarse también observando la forma de la Fig. 2.7, en la que se presenta el logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de ácido litocólico a $\text{pH} = 6.00$ y $T = 25^\circ\text{C}$. Los saltos bruscos de esta función corresponden al principio y final de la transición (criterio que

se explica en el siguiente capítulo), a diferencia de la forma de la curva presentada en la Fig. 2.8, que no presenta estos cambios para la misma función a pH = 12.00. Efectivamente, en la zona de pHs básicos las moléculas que forman parte de la película se encontrarán totalmente disociadas predominando en este caso las fuerzas repulsivas de tipo electrostático sobre las de interacción cadena-cadena, que surgirán entre los iones de las cabezas polares en el plano superficial. Así nos encontramos que, a partir de pH = 8, las películas se encuentran sólo en estado extendido, y este se acentúa hasta pH = 12.00, como puede comprobarse cuantitativamente observando la Tabla II.6, donde se presentan los valores de área específica límite y presiones y áreas de colapso para estas películas a T = 25°C y a distintos pHs.

TABLA II.5

T(°C)	A ₀ (Å ² /molec.)	Π _c (mNm ⁻¹)	A _c (Å ² /molec.)	K ₀ (m mN ⁻¹)
25	55.57	63.2	42.20	0.015
30	63.96	65.2	39.73	0.015
35	65.03	55.1	43.28	0.021
40	73.46	46.8	46.75	0.025

Parámetros superficiales de monocapas de L-α-Fosfatidilcolina a pH= 6.00 y distintas temperaturas

El efecto de la temperatura sobre las películas de ácido litocólico puede estudiarse observando las isotermas a pH = 6.00 y distintas temperaturas (25-40°C), presentadas en la Fig. 2.9, y los valores de área específica límite, presión y área de colapso de la Tabla II.7. De estos datos, destacamos la extensión de las isotermas conforme aumenta la temperatura y, en general, un comportamiento análogo al observado cuando aumentamos el pH de la subfase.

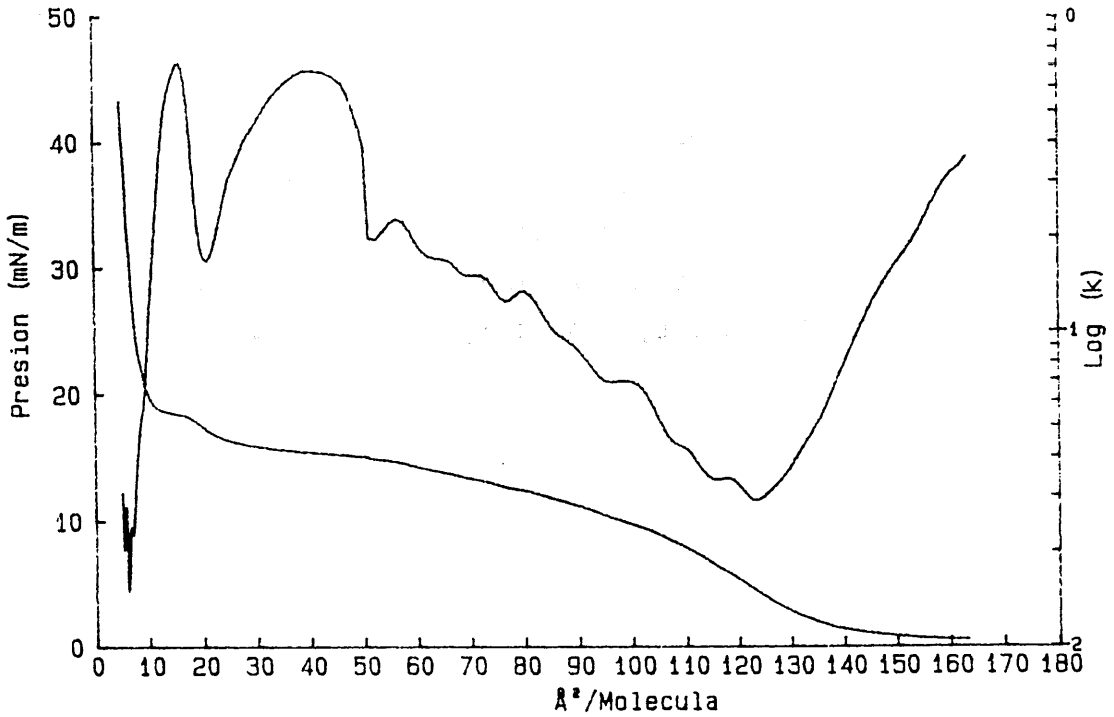


Fig. 2.7. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una película de ácido litocólico a $T=25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=6$.

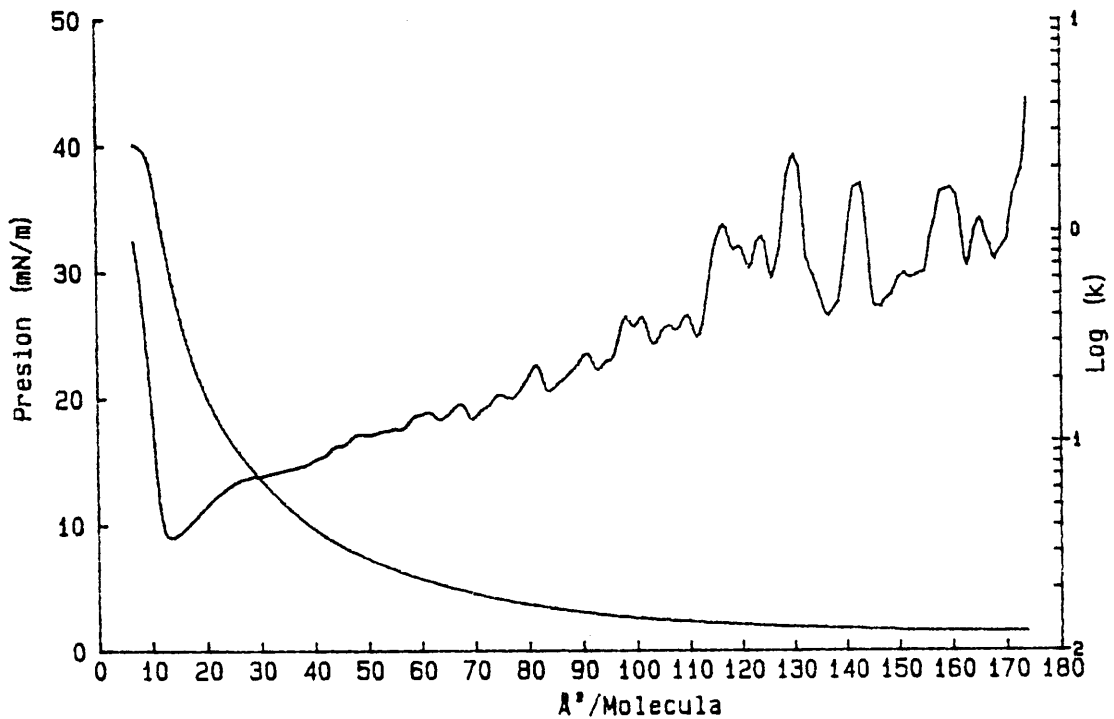


Fig. 2.8. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una película de ácido litocólico a $T=25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=12$

La figura 2.9 muestra que las películas de ácido litocólico a las temperaturas 35 y 40°C se encuentran en estado extendido, mientras que a 25 y 30°C las isoterms presentan una región de transición de fase entre los estado líquido extendido y líquido condensado más acusada en el caso de 25°C. Es decir, la temperatura crítica para las monocapas de este ácido se encuentra entre 30 y 35°C.

TABLA II.6

pH	A_0 (Å ² /molec.)	Π_C (mNm ⁻¹)	A_C (Å ² /molec.)	K_0 (m mN ⁻¹)
2.00	15.53	66.0	3.49	0.01
4.00	18.51	68.3	4.14	0.08
6.00	10.62	43.4	4.90	0.16
8.00	16.42	38.6	3.95	0.10
10.00	21.05	39.1	6.92	0.07
12.00	26.44	40.5	4.43	0.07

Parámetros superficiales de monocapas de ácido Litocólico a 25°C y diferentes pHs

TABLA II.7

T(°C)	A^0 (Å ² /moléc.)	Π_C (mN m ⁻¹)	A_C (Å ² /moléc.)
25	10.62	43.4	4.90
30	17.44	45.4	4.09
35	19.87	40.9	3.95
40	29.39	41.8	3.96

Parámetros superficiales de monocapas de ácido Litocólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

3.4. MONOCAPAS DE ACIDO QUENODEOXICOLICO

En este apartado estudiaremos el efecto del pH del

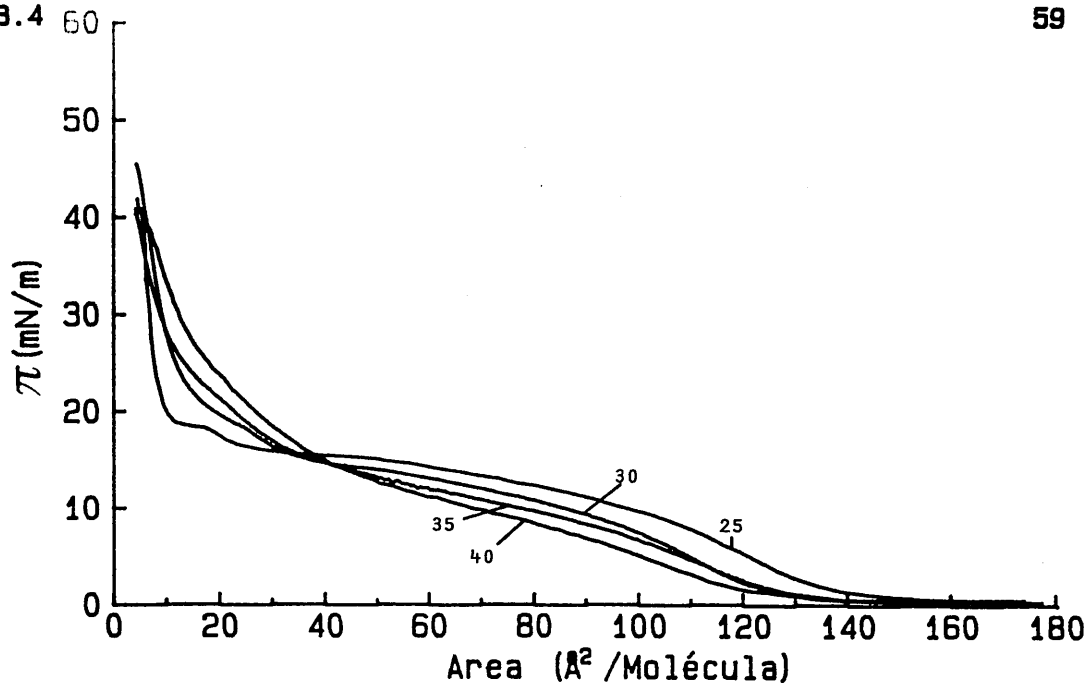


Fig. 2.9. Presión superficial en función del área por molécula para películas de ácido litocólico a pH=6 y distintas temperaturas

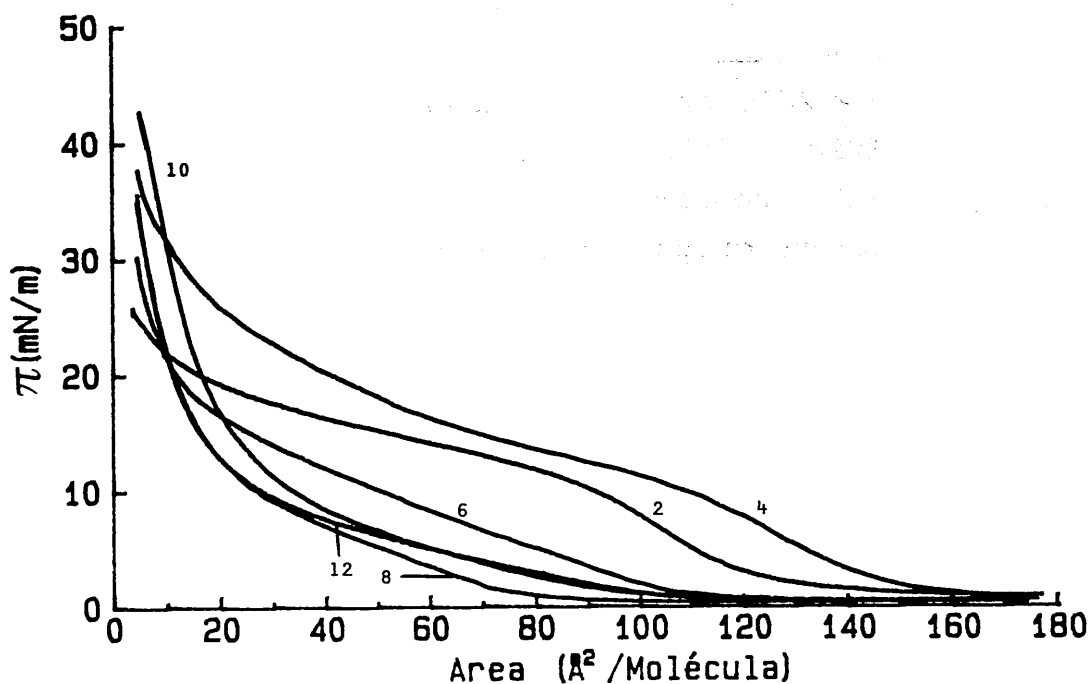


Fig. 2.10. Presión superficial en función del área por molécula para películas de ácido quenodeoxicólico a T=25°C y distintos pHs

substrato y de la temperatura sobre películas monomoleculares de ácido quenodeoxicólico.

Las isotermas registradas para películas de ácido quenodeoxicólico a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs, presentadas en la Fig. 10, son análogas a las previamente estudiadas para el ácido litocólico. También presentan una zona de transición de fase entre un estado extendido y otro condensado a pHs ácidos donde las moléculas se comportan como tales y, por tanto, nos encontramos con una situación favorable al predominio de fuerzas atractivas tipo van der Waals o enlaces de hidrógeno sobre las de tipo electrostático repulsivo, alcanzando valores más significativos a presiones superficiales altas. Sin embargo, a estos valores de pH observamos que las zonas de transición no son tan altas como en el caso del ácido litocólico y, además, que el estado final alcanzado por las películas de ácido quenodeoxicólico es más extendido.

Este hecho tiene lugar también en la zona de pHs básicos, e incluso a $\text{pH} = 6.00$ la película de ácido quenodeoxicólico no sufre ninguna transición de fase principal, encontrándose sólo en estado extendido (comparar valores de área específica límite de las Tablas II.7 y II.8). Esta diferencia de comportamiento sólo puede deberse a la presencia de un grupo hidroxilo de más en la molécula de ácido quenodeoxicólico, que, por encontrarse en posición trans respecto al grupo ácido de la molécula, favorecerá el efecto repulsivo entre moléculas, debido al grupo polar de las mismas, y, por tanto, la mayor extensión de estas películas.

En la Tabla II.8, donde se presentan valores de parámetros superficiales para películas de ácido quenodeoxicólico a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs, no incluimos datos de presión y área de colapso por considerar que la presión máxima alcanzada por estas películas no corresponde al colapso de las mismas, ya que dentro del intervalo de áreas por molécula, accesible con nuestro dispositivo, no se

detectó ninguna caída brusca en los valores de presión superficial.

TABLA II.8

pH	A_0 (Å/moléc.)	K^0 (m mN ⁻¹)
2.00	43.81	0.21
4.00	35.78	0.11
6.00	18.89	0.16
8.00	18.02	0.09
10.00	23.42	0.08
12.00	25.67	0.08

Parámetros superficiales de monocapas de ácido Quenodeoxicólico a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs

Observando las isoterms presentadas en la Fig. 2.11 para películas de ácido quenodeoxicólico a $\text{pH} = 6.00$ y distintas temperaturas, vemos que el efecto de la temperatura se traduce en una mayor extensión de estas películas. Destacamos el hecho de que en el intervalo de temperaturas estudiado las monocapas de este ácido no sufren transición principal alguna, encontrándose todas en estado líquido extendido a $\text{pH}=6.00$, lo que nos indica que la temperatura crítica para la transición principal, caso de sufrirla la monocapa, se encuentra a una temperatura inferior a los 25°C . Sin embargo, no hemos encontrado datos en la bibliografía que nos confirmen este hecho. Igual que para la temperatura de 25°C , para el resto tampoco obtuvimos valores de presión superficial y área por molécula correspondiente al colapso de la película.

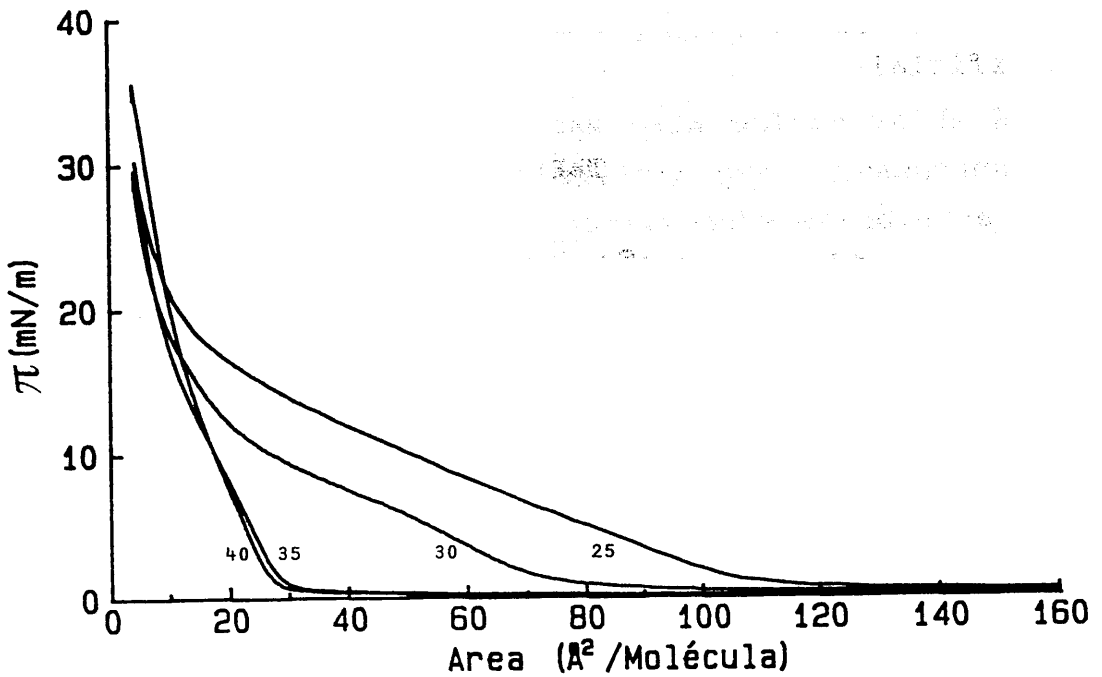


Fig. 2.11. Presión superficial en función del área por molécula para películas de ácido quodeoxílico a pH=6 y distintas temperaturas

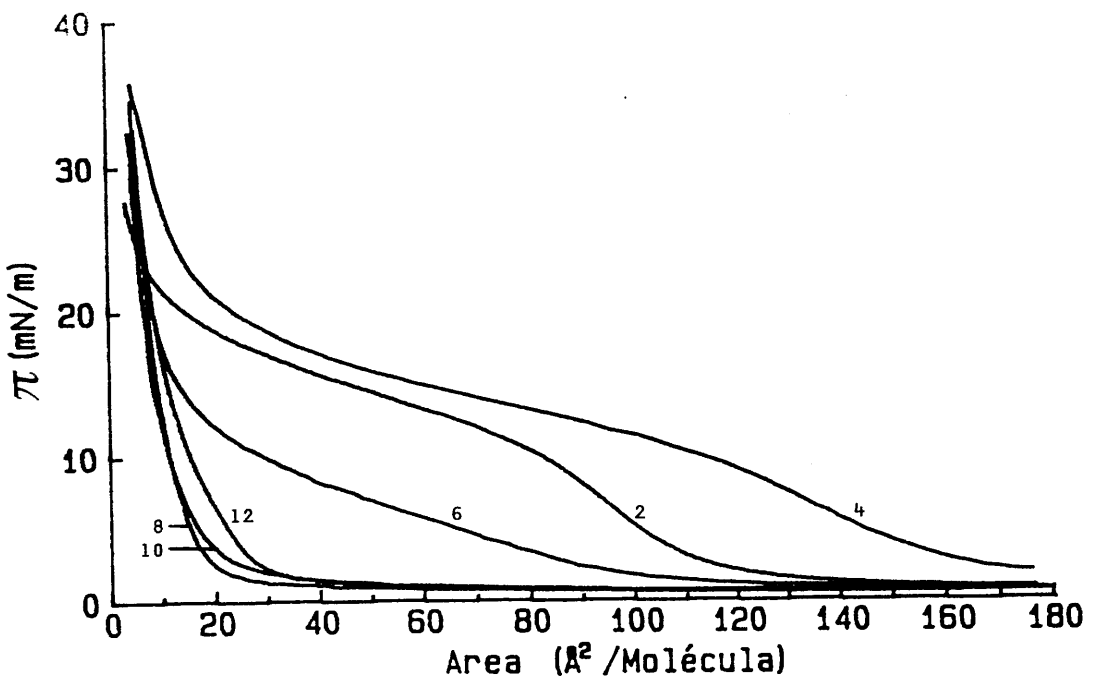


Fig. 2.12. Presión superficial en función del área por molécula para películas de ácido deoxílico a T=25°C y distintos pHs

3.5. MONOCAPAS DE ACIDO DEOXICOLICO

La forma de las isoterma correspondientes a monocapas de ácido deoxicólico puro, presentadas en la Fig. 2.12 a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs, también son análogas a las ya presentadas para los ácidos litocólico y quenodeoxicólico. Es decir, a pHs ácidos presentan una zona de transición principal de fase entre un estado extendido y otro condensado, que se explica en los mismos términos que antes. Sin embargo, a pHs básicos nos encontramos un comportamiento sensiblemente diferente al presentado por los dos ácidos anteriormente estudiados, puesto que las películas se encuentran prácticamente en estado condensado. Este efecto también se debe a la presencia de un grupo hidroxilo de más en la molécula de ácido deoxicólico respecto a la del ácido litocólico, pero, a diferencia del ácido quenodeoxicólico, este grupo se encuentra en posición cis respecto al grupo ácido de la molécula y, por consiguiente, en este caso disminuirá el efecto repulsivo.

Las películas de ácido deoxicólico también se encuentran más extendidas conforme aumenta la temperatura, como se observa en la Fig. 2.13, donde se presentan cuatro isoterma a $\text{pH} = 6.00$ y distintas temperaturas. La isoterma correspondiente a la temperatura de 25°C prácticamente no presenta zona de transición, por lo que pensamos que la temperatura crítica entre el estado extendido y condensado para estas películas se encuentra fuera del intervalo de temperaturas estudiado.

3.6. MONOCAPAS DE ACIDO COLICO

En las isoterma correspondientes a las películas de este ácido, presentadas en la Fig. 2.14 a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs, se observan también dos comportamientos diferentes dependiendo del pH de la subfase. La diferencia

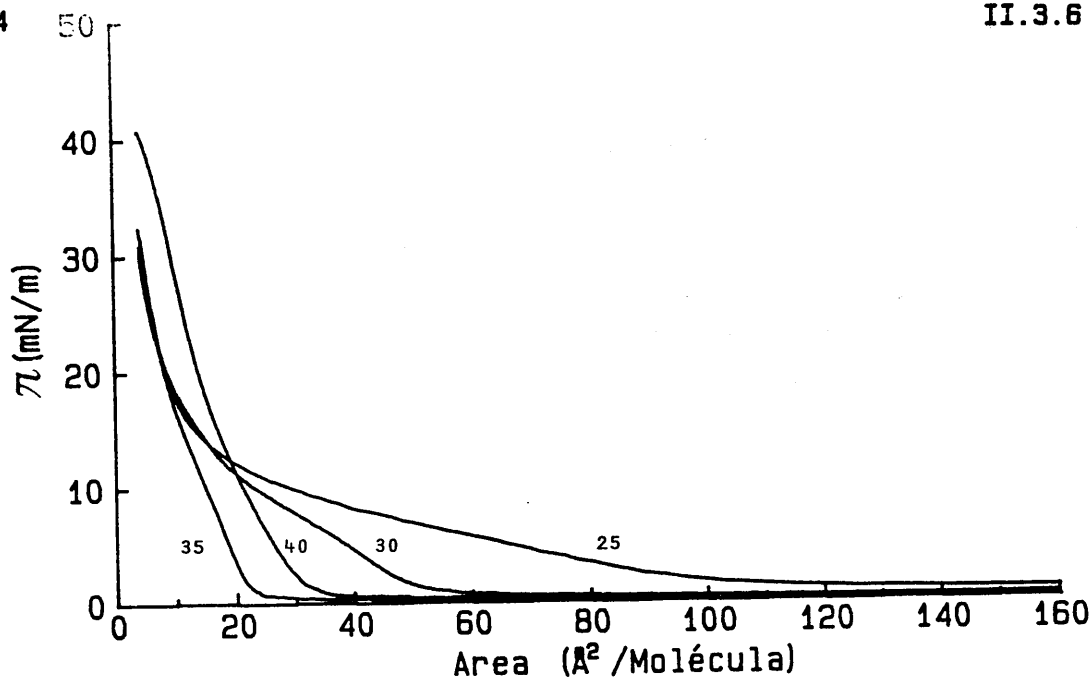


Fig. 2.13. Presión superficial en función del área por molécula para películas de ácido deoxicólico a pH=6 y distintas temperaturas

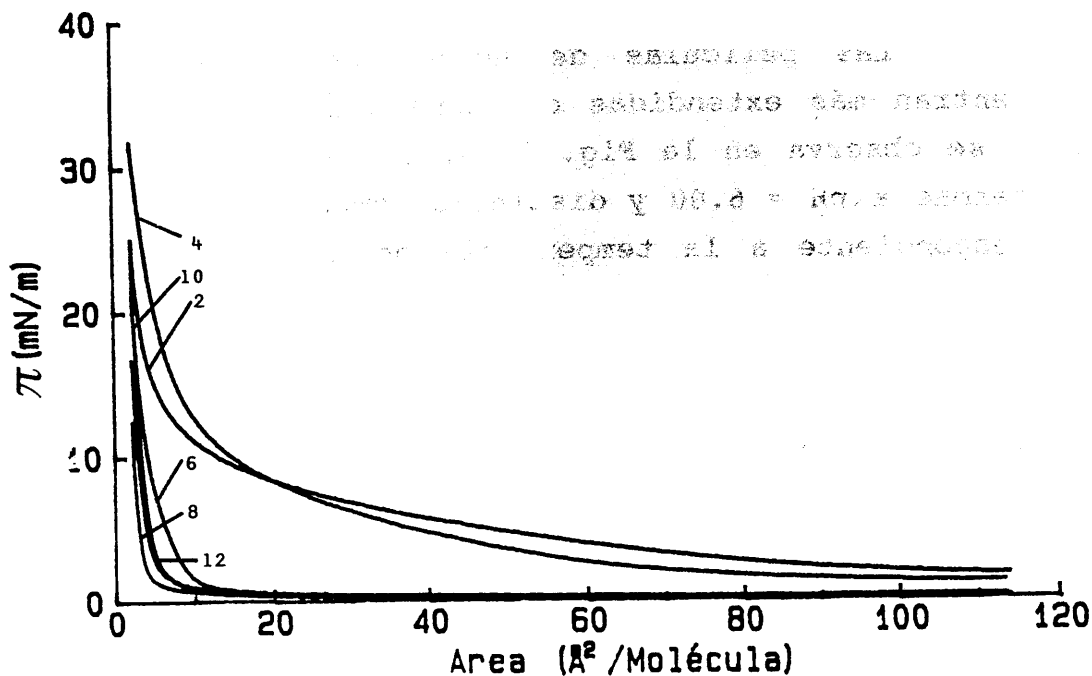


Fig. 2.14. Presión superficial en función del área por molécula para películas de ácido cólico a T=25°C y distintos pHs

más notable respecto a los otros tres ácidos biliares previamente estudiados es la mayor condensación de las películas debido a fuerzas atractivas que superan el efecto electrostático entre los grupos ácidos. El carácter de película condensada puede observarse en la Fig. 2.15, donde se representa el logaritmo del módulo de compresibilidad de una monocapa de ácido cólico en función del área por molécula y la correspondiente isoterma a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$.

El hecho de que a pHs básicos las películas de ácido cólico se encuentren más condensadas que a pHs ácidos, a diferencia de lo que hemos observado anteriormente y en contra de las interpretaciones que explican el efecto del pH del substrato sobre el comportamiento de monocapas en general, puede deberse a una significativa "deshidratación" de los grupos alcohólicos en medio ácido, con la consiguiente ruptura de los enlaces de hidrógeno intermoleculares.

En la Fig. 2.16 se presentan, a distintas temperaturas, isotermas de ácido cólico registradas a $\text{pH} 6.00$. Observamos como a la temperatura de 25°C no se manifiesta en la isoterma ninguna transición principal. El resto de las películas se encuentran también en estado condensado, siendo este menor conforme aumenta la temperatura, como podemos comprobar comparando los valores de área específica límite presentados a distintas temperaturas en la Tabla II.9.

TABLA II.9

$T(^{\circ}\text{C})$	$A_0(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$K_0(\text{m mN}^{-1})$
25	4.02	0.06
30	5.51	0.05
35	6.00	0.04
40	9.43	0.04

Parámetros superficiales de monocapas de ácido Queno-deoxicólico a $\text{pH}=6.00$ y distintas temperaturas

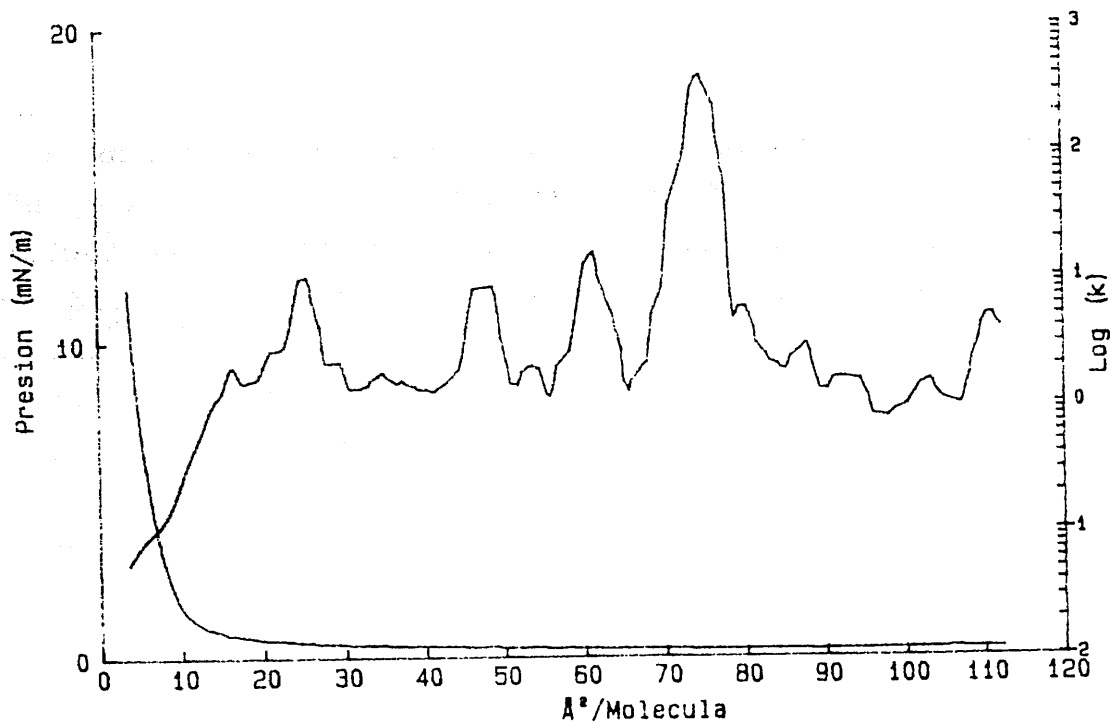


Fig. 2.15. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una película de ácido cólico a $T=25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=6$.

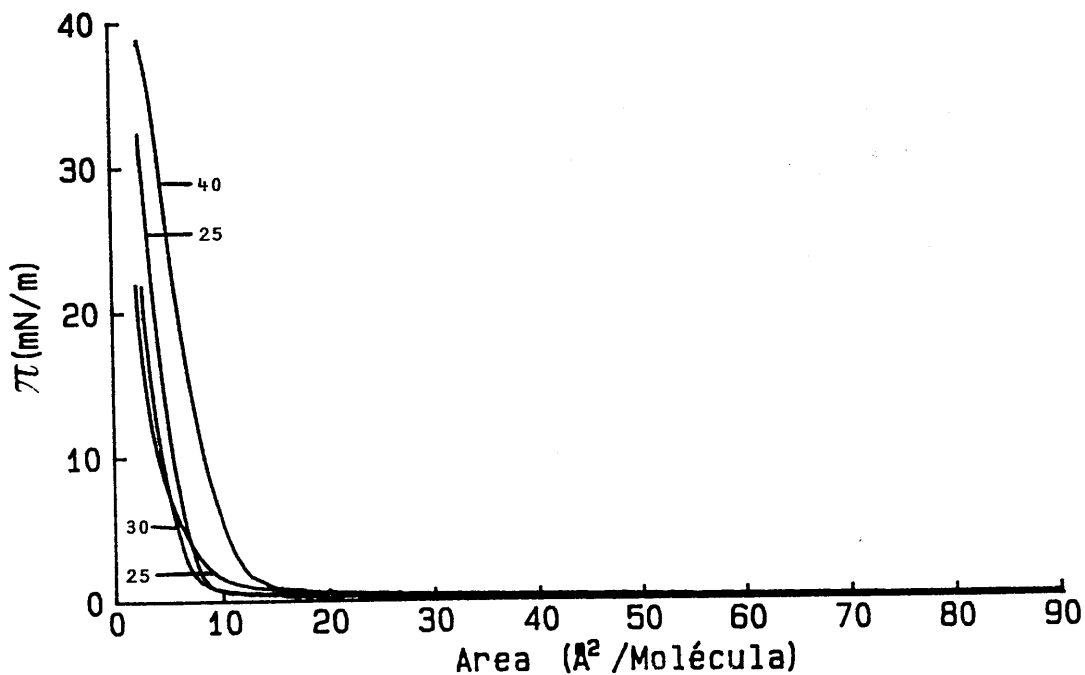


Fig. 2.16. Presión superficial en función del área por molécula para películas de ácido cólico a $\text{pH}=6$ y distintas temperaturas

4. ISOTERMAS EXPERIMENTALES PRESION SUPERFICIAL-AREA POR MOLECULA DE PELICULAS MONOMOLECULARES MIXTAS

El estudio de películas monomoleculares mixtas presenta un gran interés por la posibilidad que ofrece de caracterizar interacciones moleculares en los componentes de la monocapa. Desde un punto de vista biológico, es claro que todos los mecanismos superficiales están mediatizados por este tipo de interacciones y, por tanto, el conocimiento del comportamiento de monocapas mixtas supone una de las mayores aportaciones al estudio genérico sobre modelos de sistemas biológicos.

Las primeras investigaciones sobre películas mixtas se realizaron en la década de los años 20, destacando las aportaciones realizadas por Collet (1922), Leathes (1925) y Adam y Jessop (1928). Más adelante, Schulman y Hughes (1935) y Harkins y col. (1943) estudiaron interacciones entre dos componentes en películas superficiales mediante la técnica denominada de "penetración".

Una serie larga de trabajos se suceden desde entonces hasta los años 50, cuando Bernard y Dervirchian (1955, 1958) comienzan un estudio sistemático de las asociaciones moleculares entre lípidos a partir de la técnica de monocapas mixtas.

En los siguientes apartados de este capítulo estudiamos el comportamiento de películas monomoleculares mixtas formadas por distintas mezclas de los componentes que previamente hemos estudiado de forma individual en monocapas de un solo componente.

En primer lugar, con objeto de poder evaluar las distintas interacciones moleculares, es necesario determinar la miscibilidad de los dos componentes que forman la monocapa (Phillips, 1970). Sin embargo, diremos que el comportamiento ideal de las monocapas mixtas no está definido, depende de la teoría a la que se haga referencia. En este sentido, Costin y Barnes (1975) definen como

sistemas que se apartan de la idealidad a las películas monomoleculares mixtas cuyas propiedades o funciones simples no dependen linealmente de la composición de la monocapa.

Por tanto, y siguiendo la línea de diversos autores (García Fernández, 1964; Miñones, 1968; Kuramoto, 1972; Kruffy, 1973; Costin, 1975; Tajima, 1978; Puggelli, 1977; Chifu, 1983, etc.), optamos por examinar la relación de aditividad para el área por molécula. Esta viene dada por la siguiente expresión:

$$A_{12} = x_1 A_1 + x_2 A_2 \quad (2.7)$$

donde A_{12} es el área por molécula media de la monocapa mixta, x_1 y x_2 son las fracciones molares de los dos componentes que forman la película y A_1 y A_2 , las áreas por molécula de ambos componentes puros determinadas a la misma presión superficial que A_{12} .

Se dan dos casos en los que los valores de área por molécula cumplen esta ecuación. Uno es cuando los componentes de la película son inmiscibles, y el otro es el caso de una mezcla ideal donde no existen interacciones particulares. Una desviación de la aditividad se atribuye, generalmente, a una interacción molecular. Kuramoto y col. (1972), por ejemplo, consideran que valores negativos de A_{12} se deben a una orientación suficientemente simétrica de las porciones hidrocarbonadas de las molécula como para poder empaquetarse fuertemente entre ellas y elevar así la energía correspondiente a fuerzas de tipo van der Waals.

Sin embargo, Shah (1967, 1968) afirma que sólo medidas de presión superficial son insuficientes para determinar interacciones en monocapas mixtas, siendo también necesarias medidas de potencial y viscosidad superficial, aunque más adelante demostró que es posible evaluar interacciones entre los dos componentes de la película a partir de desviaciones de la aditividad sólo si uno o ambos componentes forman películas extendidas. De esta idea también

participan Cadenhead y Kellner (1976), pero de una forma más restrictiva, ya que afirman que el estudio de miscibilidad está limitado a sistemas donde un componente sufra un cambio de fase que, al mismo tiempo, sea susceptible de modificación por el otro componente.

Finalmente, con objeto de completar este estudio de miscibilidad, se interpretó el comportamiento de las películas mixtas según la regla de fases debida a Defay (1966) y Crisp (1949), considerándolas como soluciones bidimensionales. Esta regla se aplicó a los valores de presión de colapso, es decir, suponiendo el equilibrio entre la película superficial y la fase colapsada. Otros autores, como Kuramoto (1972), prefieren considerar el equilibrio entre dos fases de la monocapa para el caso de la existencia de una zona de transición de fase. Este estudio lo realizamos en el siguiente capítulo.

4.1. MONOCAPAS MIXTAS DE L- α -FOSFATIDILCOLINA-COLESTEROL

Todas las isotermas de compresión para películas de L- α -fosfatidilcolina, colesterol y mezclas de ambos se presentan en las Figs. 2.17-2.21 a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs, y en las Figs. 2.22-2.24 a $\text{pH} = 6.00$ y distintas temperaturas.

En general, podemos destacar, a partir de la comparación de estas figuras, que, conforme aumenta el pH, las isotermas se desplazan hacia valores de área por molécula superiores, y este mismo efecto es bastante más pronunciado cuando aumentamos la temperatura. Este hecho también podemos observarlo en los valores de los datos de área específica límite, presión y área de colapso presentados en las Tablas II.2-II.5 y II.10-II.15.

Observando las anteriores figuras podemos comprobar que las monocapas mixtas de estos dos compuestos exhiben, en general, un comportamiento intermedio al que

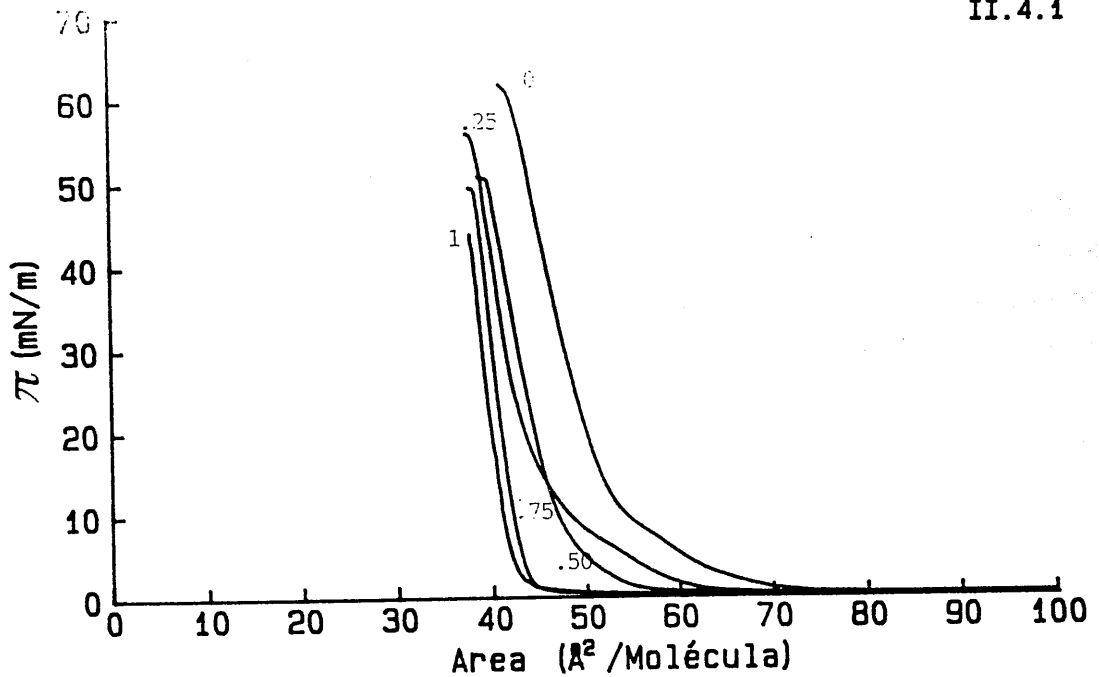


Fig. 2.17. Presión superficial en función del área por molécula para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=4 y T=25°C

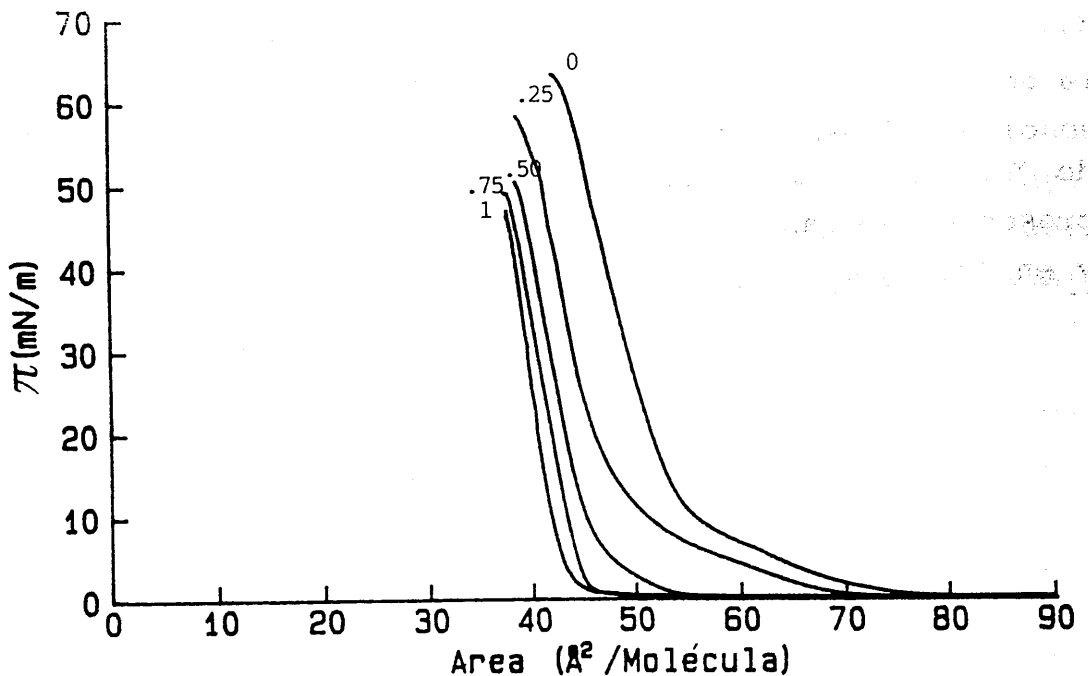


Fig. 2.18. Presión superficial en función del área por molécula para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=6 y T=25°C

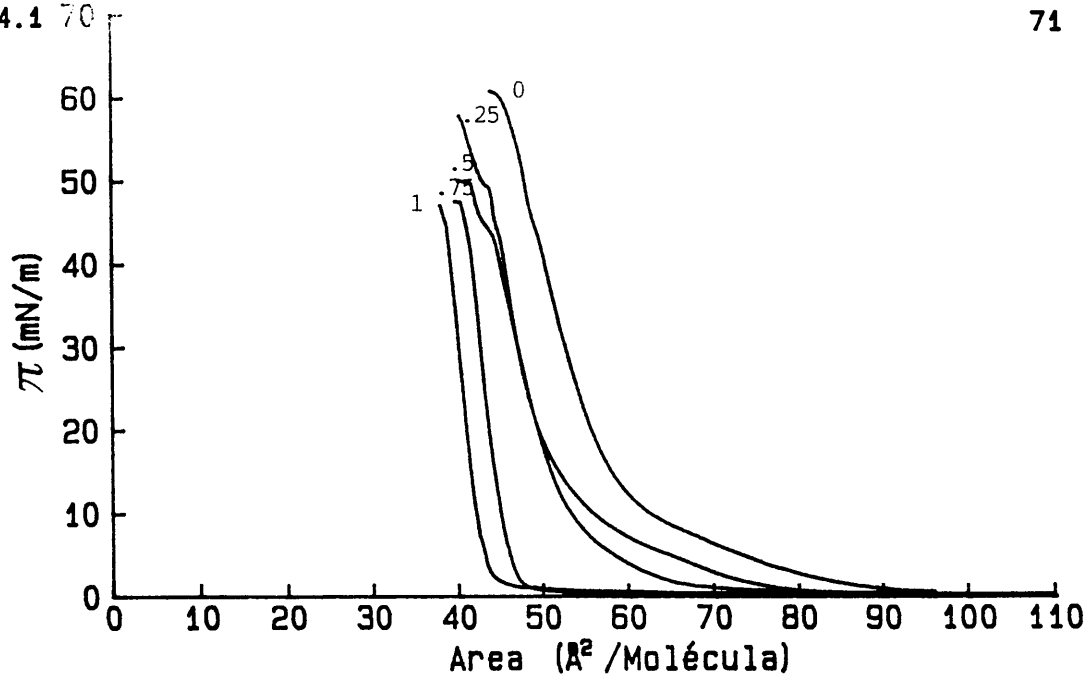


Fig. 2.19. Presión superficial en función del área por molécula para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=8 y T=25°C

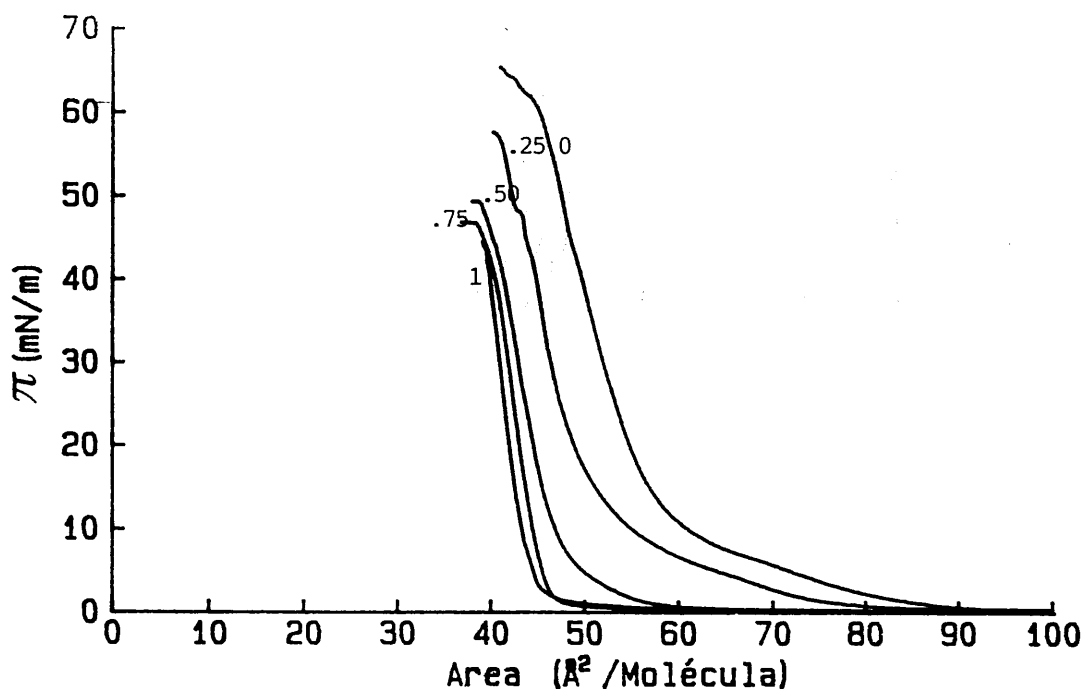


Fig. 2.20. Presión superficial en función del área por molécula para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=10 y T=25°C

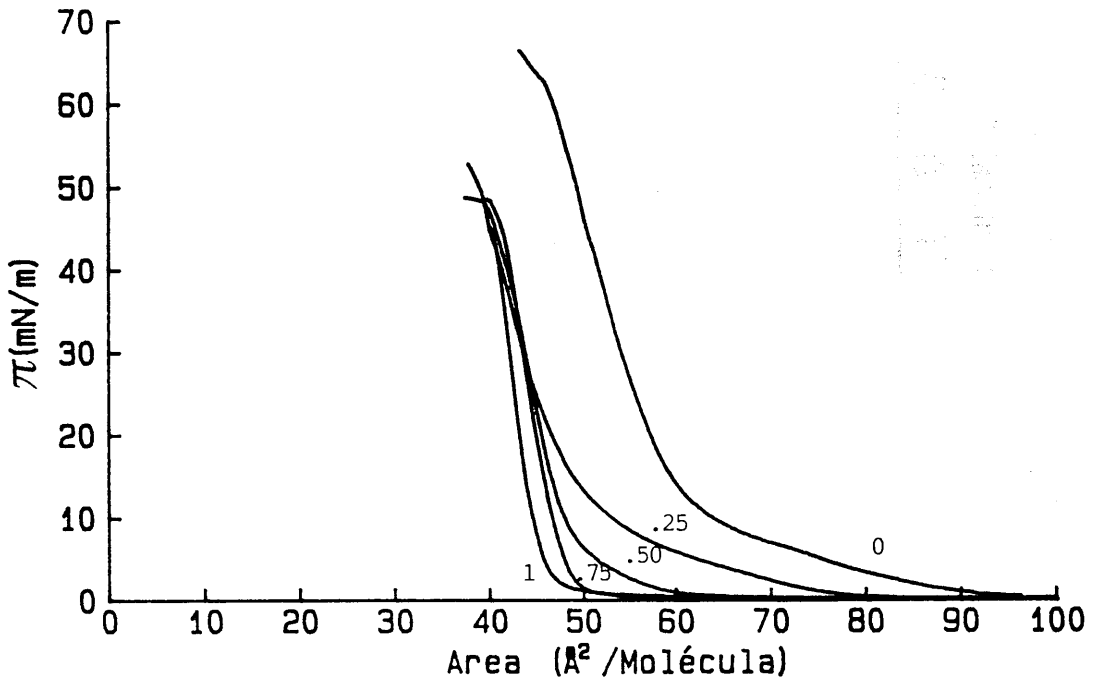


Fig. 2.21. Presión superficial en función del área por molécula para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=12 y T=25°C

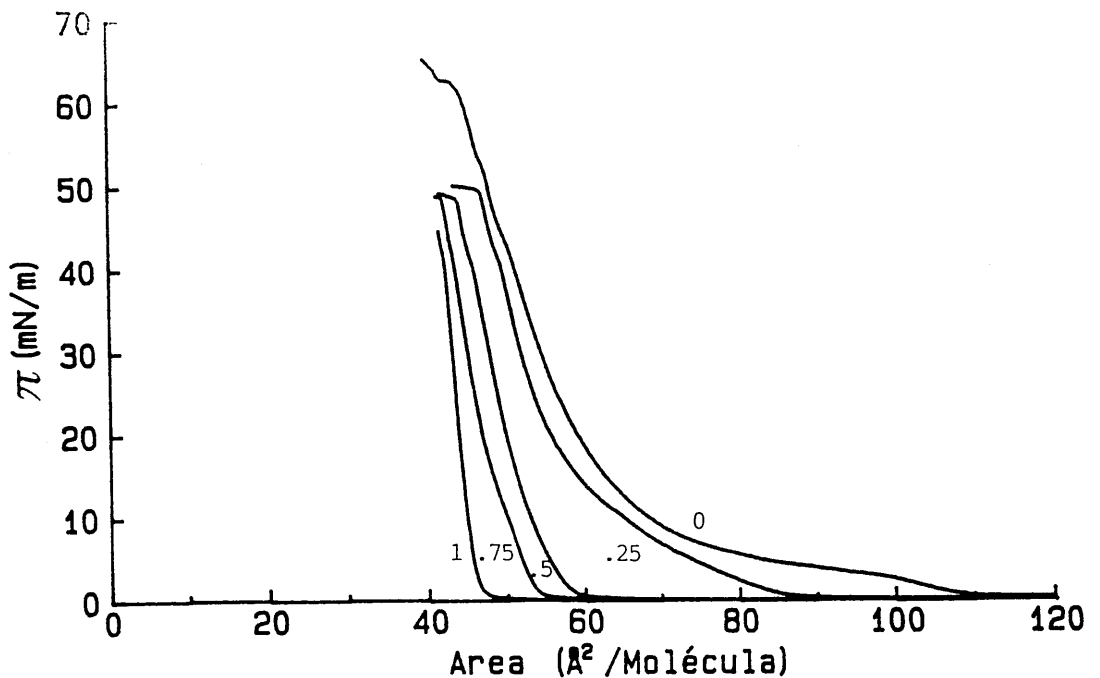


Fig. 2.22. Presión superficial en función del área por molécula para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=6 y T=30°C

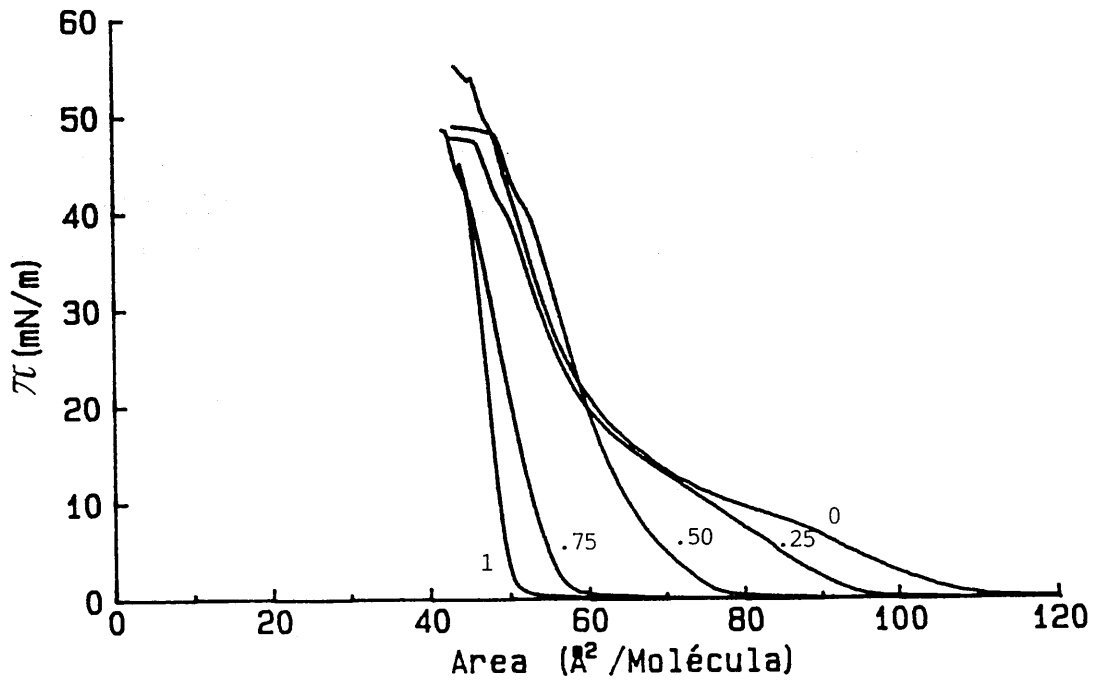


Fig. 2.23. Presión superficial en función del área por molécula para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=6 y T=35°C

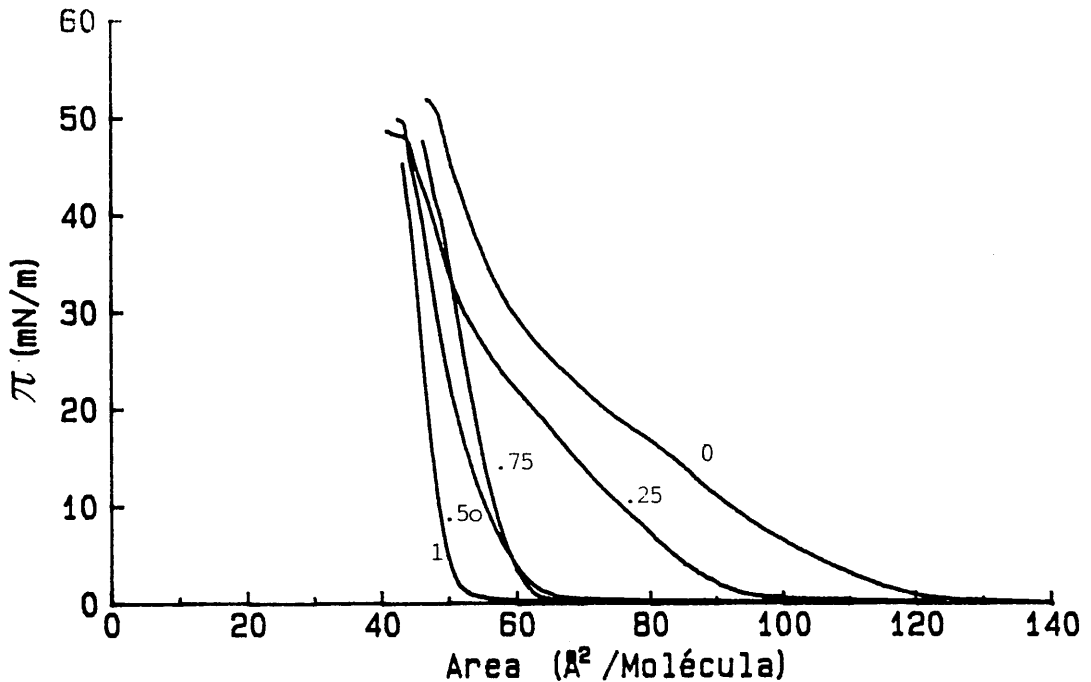


Fig. 2.24. Presión superficial en función del área por molécula para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=6 y T=40°C

muestran las películas formadas por los componentes puros. Así mismo, destacamos la presencia de una zona de transición de fase en las isoterma correspondientes a películas que contienen un % elevado de L- α -fosfatidilcolina, igual que ocurre en las monocapas de lecitina pura, y además observamos que, a medida que disminuye el contenido de lecitina, esta zona va desapareciendo hasta dar lugar a películas condensadas, análogas a las que contienen colesterol puro. Este hecho es denominado por bastantes autores como "efecto condensante" del colesterol sobre la lecitina (Miñones, 1968; Kruyff, 1973; Costin, 1975; Tajima, 1975, 1978; Evans, 1978; Müller-Landau, 1979; Smaby, 1979; Chifu, 1983).

La mayoría de estos autores interpretan la "condensación" producida por el colesterol sobre la base de un empaquetamiento molecular o bien en términos de interacciones específicas entre los compuestos que forman la película mixta.

TABLA II.10

pH	A^O ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
4.00	45.80	55.9	37.46
6.00	48.93	58.2	38.68
8.00	50.55	52.7	37.79
10.00	51.23	57.7	40.20
12.00	51.80	52.7	37.79

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Lecitina-25%Colesterol a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

4.1.1. Efecto Condensante

Este efecto de condensación podemos observarlo de una forma más clara en la Fig. 2.25, donde se representa el área por molécula en función de la fracción molar de

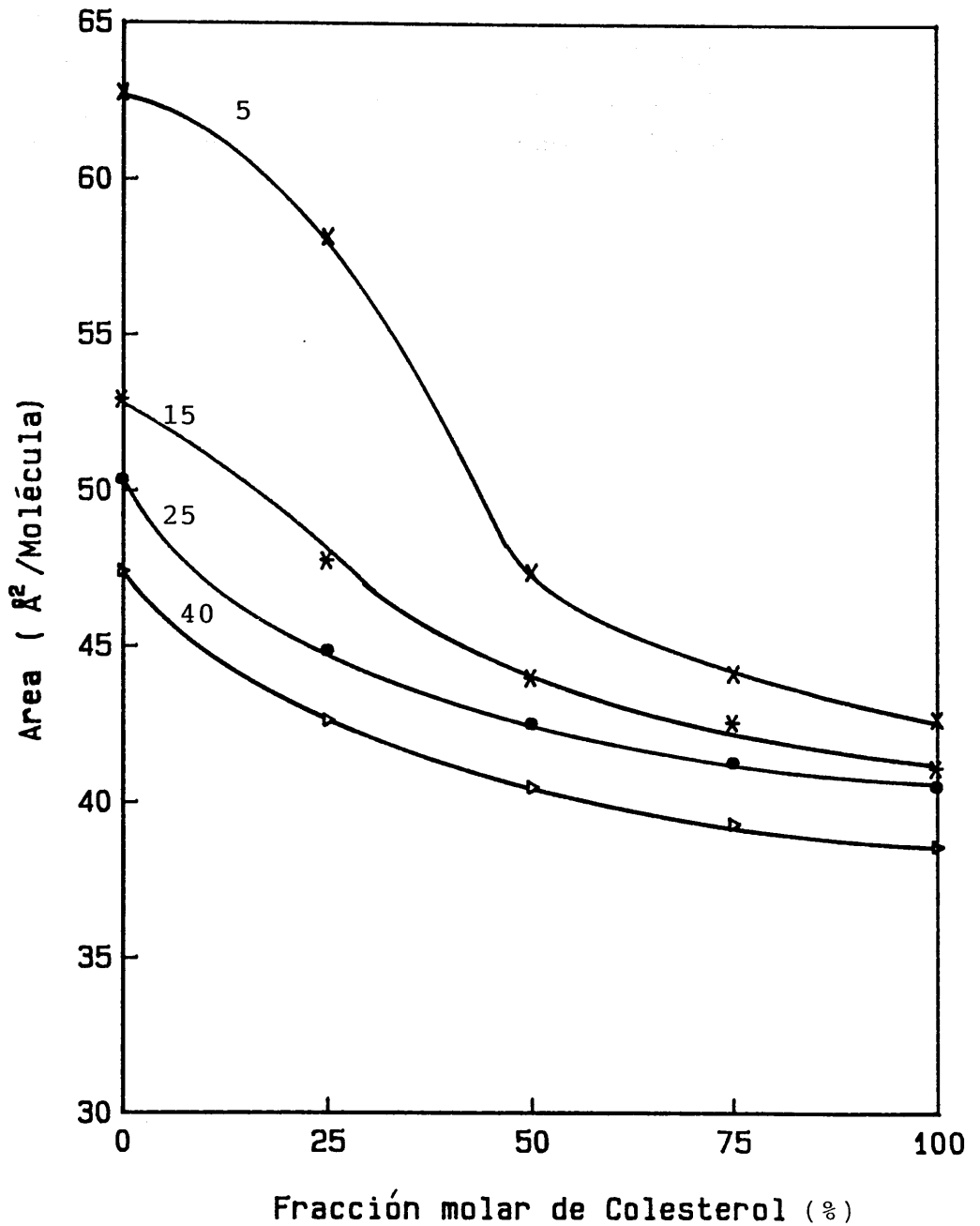


Fig. 2.25. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=6, T=25°C y distintas presiones superficiales

colesterol a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$ para varios valores de presión superficial. En todos los casos tiene lugar una notable desviación de la linealidad propuesta en la ecuación 2.7, siendo más pronunciada para valores de presión superficial baja.

TABLA II.11

$T(^{\circ}\text{C})$	$A^{\circ}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_{\text{C}}(\text{mN m}^{-1})$	$A_{\text{C}}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
25	48.93	58.2	38.68
30	58.83	50.0	43.46
35	64.49	47.8	42.46
40	64.84	48.6	40.73

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Lecitina-25%Colesterol a $\text{pH}=6.00$ y distintas temperaturas

TABLA II.12

pH	$A^{\circ}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_{\text{C}}(\text{mN m}^{-1})$	$A_{\text{C}}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
4.00	47.57	50.7	38.72
6.00	46.34	50.8	38.53
8.00	53.56	50.0	39.94
10.00	47.82	49.4	37.98
12.00	48.93	48.7	37.39

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Lecitina-50%Colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs

Con objeto de estudiar la condensación producida por el colesterol a diferentes condiciones experimentales, en la Fig. 2.26⁽¹⁾ se representa para distintos valores de

¹ En esta figura, solamente se dibuja la tendencia presentada en el caso de $\text{pH}=6.00$. En las figuras 2.26a, 2.26b y 2.26c se representan los mismos datos para los pHs

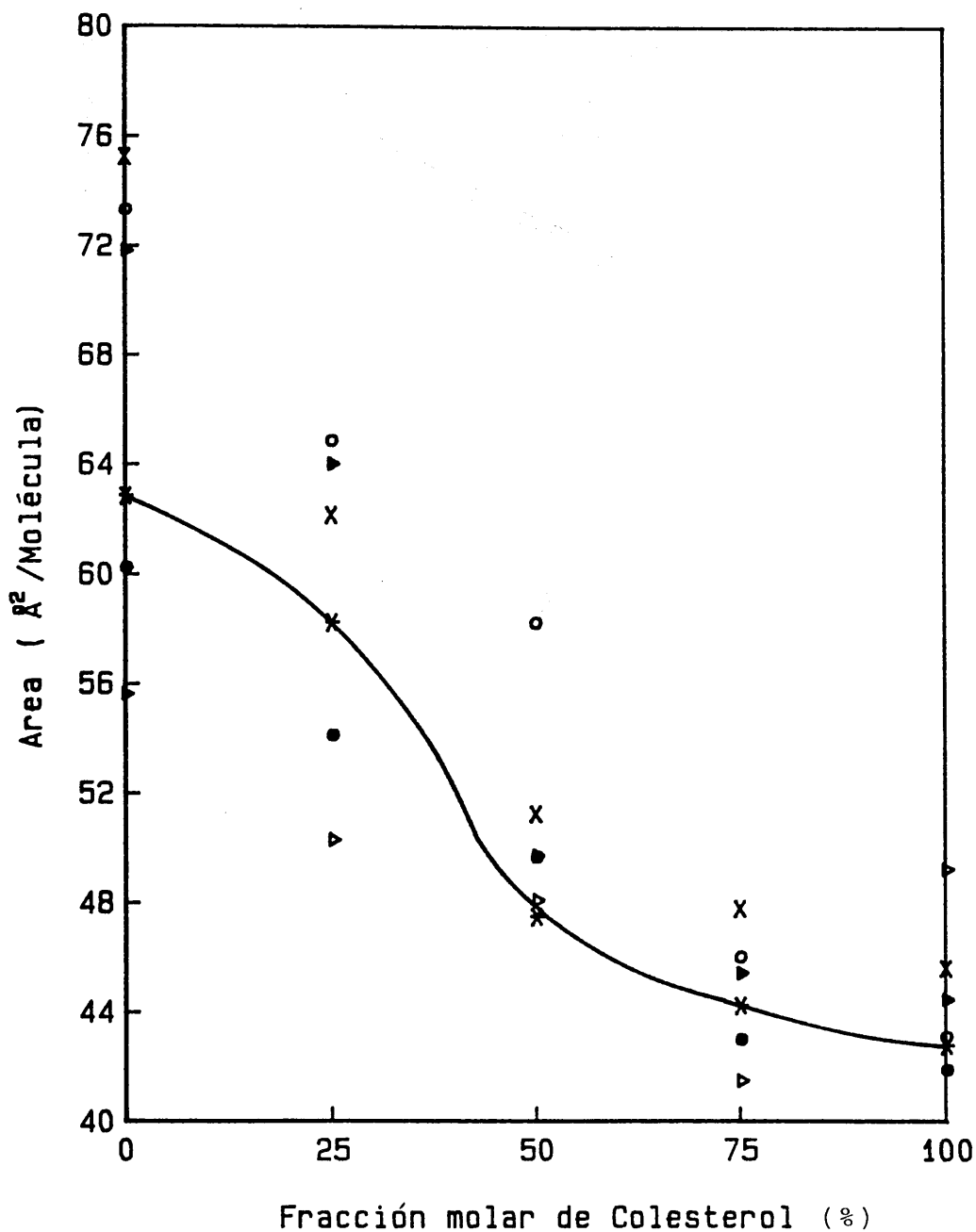
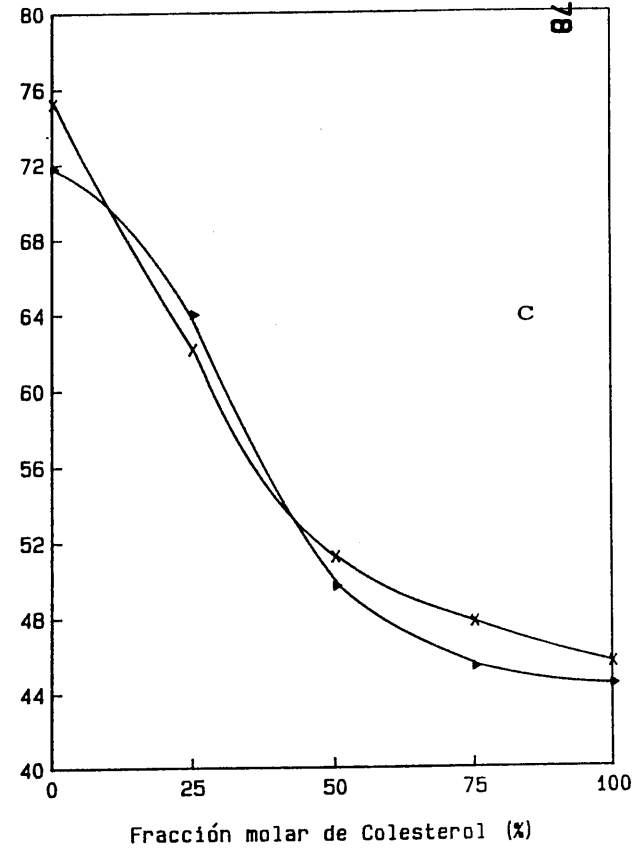
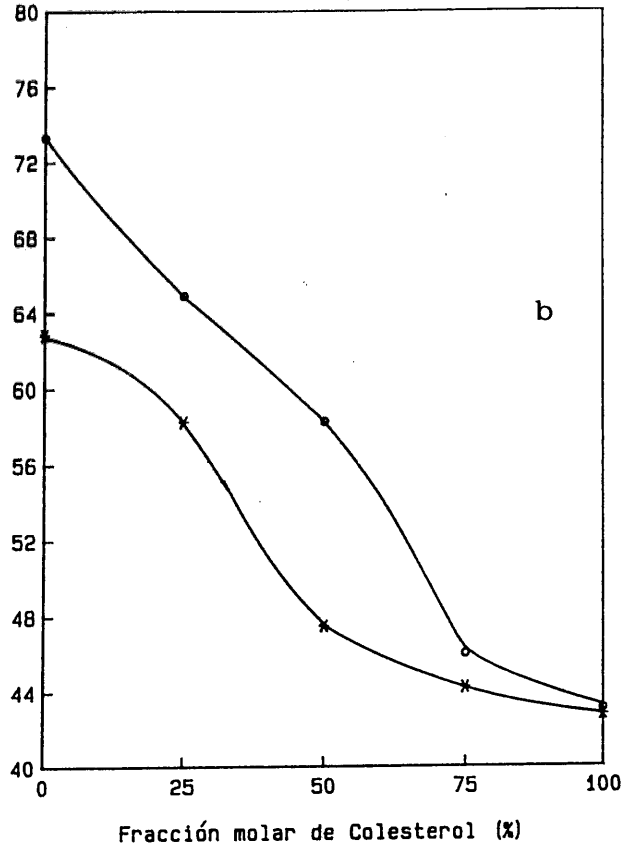
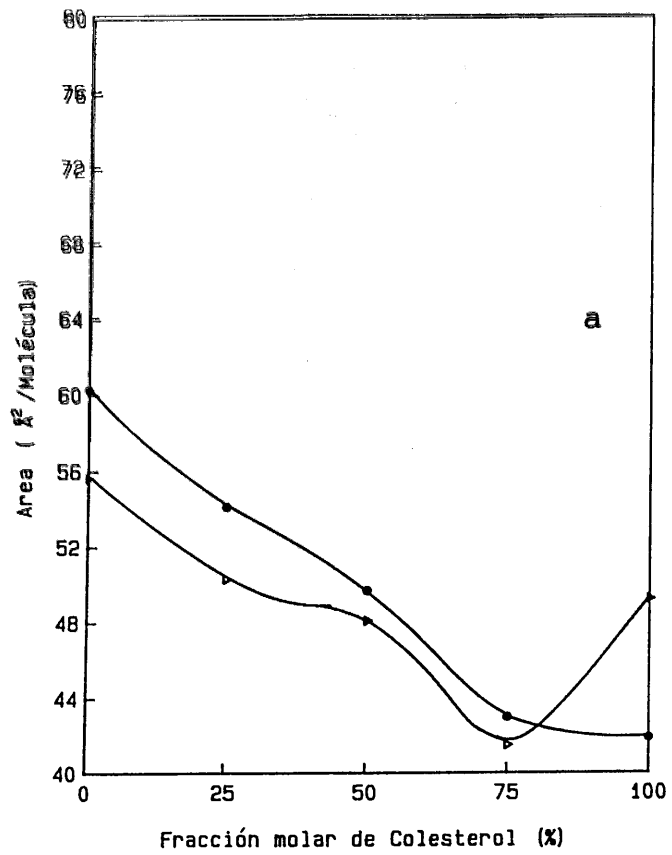


Fig. 2.26. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=5 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH=2 y 4; (b) pH=6 y 8; (c) pH=10 y 12



pH la misma función que en 2.25 a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$ y en la Fig. 2.27(a,b,c) a $\Pi = 40 \text{ mNm}^{-1}$, recogiendo así el comportamiento de las isoterms, sensiblemente distinto, a valores de presión superficial altos y bajos.

TABLA II.13

T($^{\circ}\text{C}$)	$A^{\circ}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_{\text{C}}(\text{mN m}^{-1})$	$A_{\text{C}}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
25	46.34	50.3	38.53
30	53.56	49.1	41.64
35	66.01	48.9	43.12
40	55.56	49.9	42.4

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Lecitina-50%Colesterol a pH=6.00 y distintas temperaturas

TABLA II.14

pH	$A^{\circ}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_{\text{C}}(\text{mN m}^{-1})$	$A_{\text{C}}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
4.00	42.96	49.3	37.68
6.00	44.65	48.6	37.39
8.00	45.58	47.5	39.63
10.00	45.67	46.8	36.82
12.00	47.89	48.5	39.48

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Lecitina-75%Colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs

La forma de las curvas obtenidas a diferentes pHs en las Figs. 2.26 y 2.27 es el resultado de un comportamiento intermedio de las isoterms mixtas entre las corres-

2-4, 6-8, 10-12, respectivamente, con el objeto de que puedan observarse con mayor claridad las distintas tendencias. En lo que sigue, recurriremos a esta forma de presentación cuando se comparan comportamientos de monocapas a diferentes condiciones de pH o temperatura.

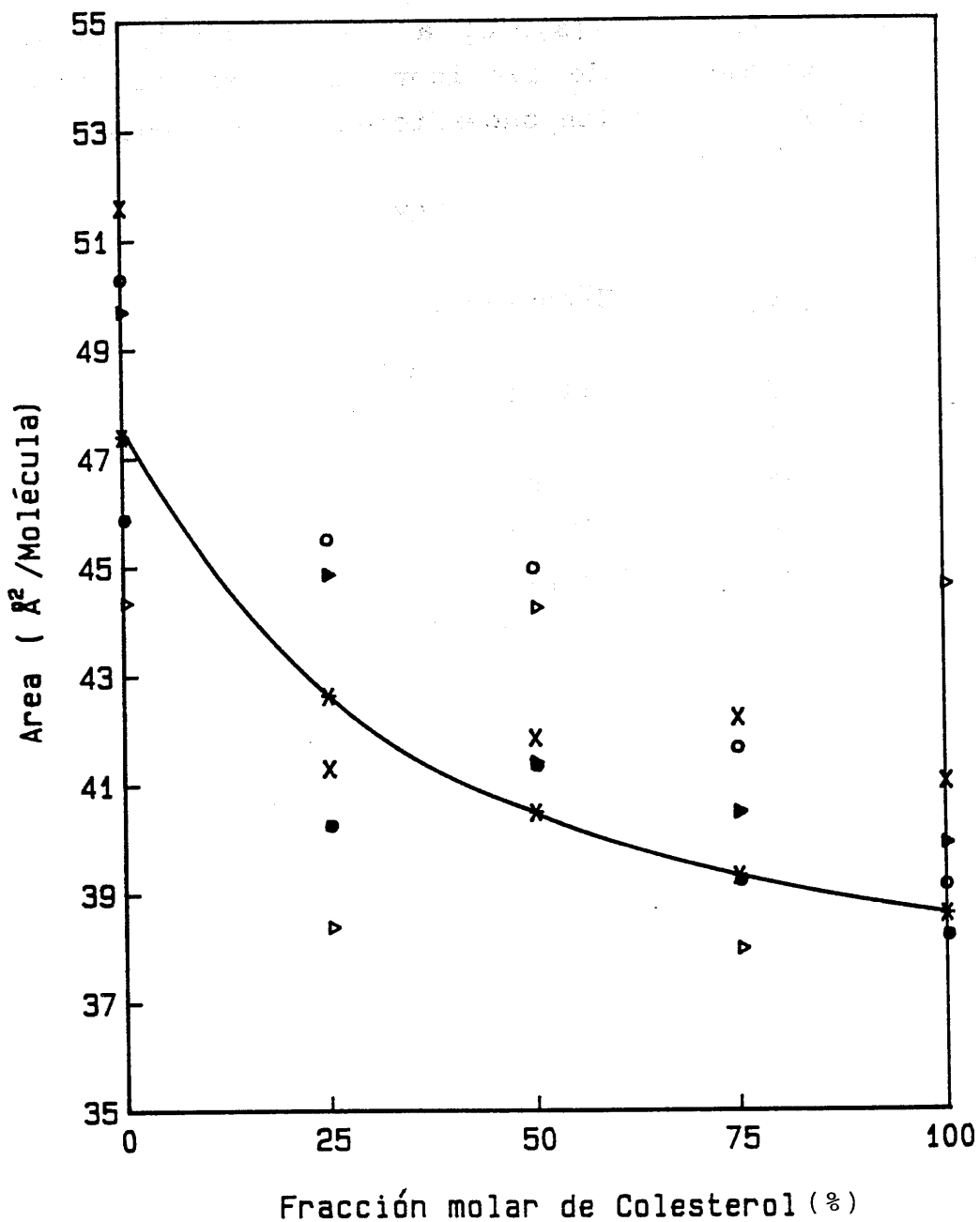
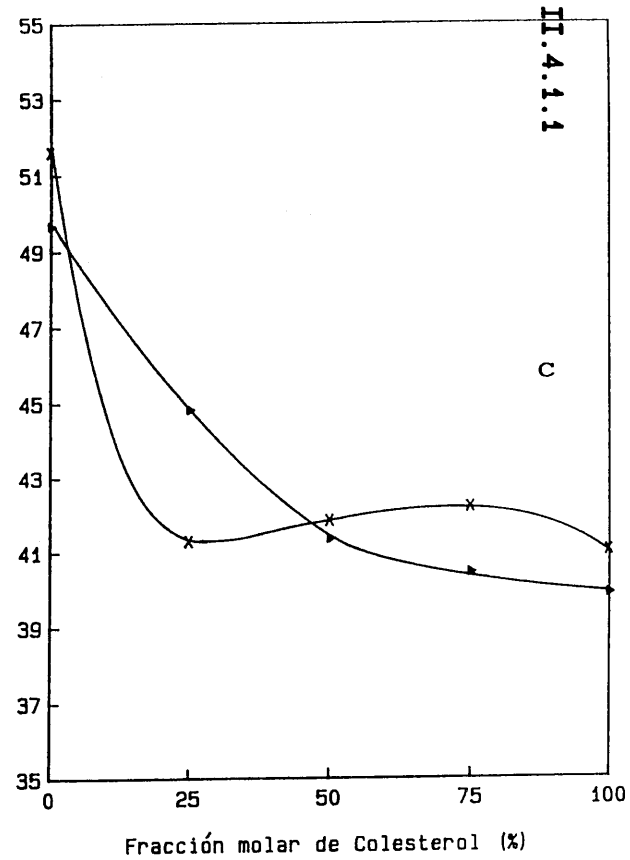
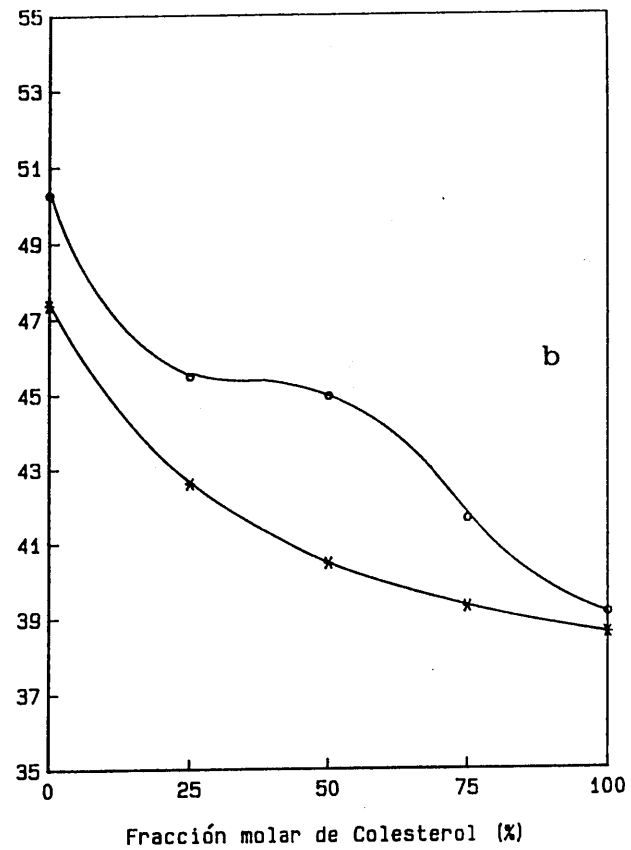
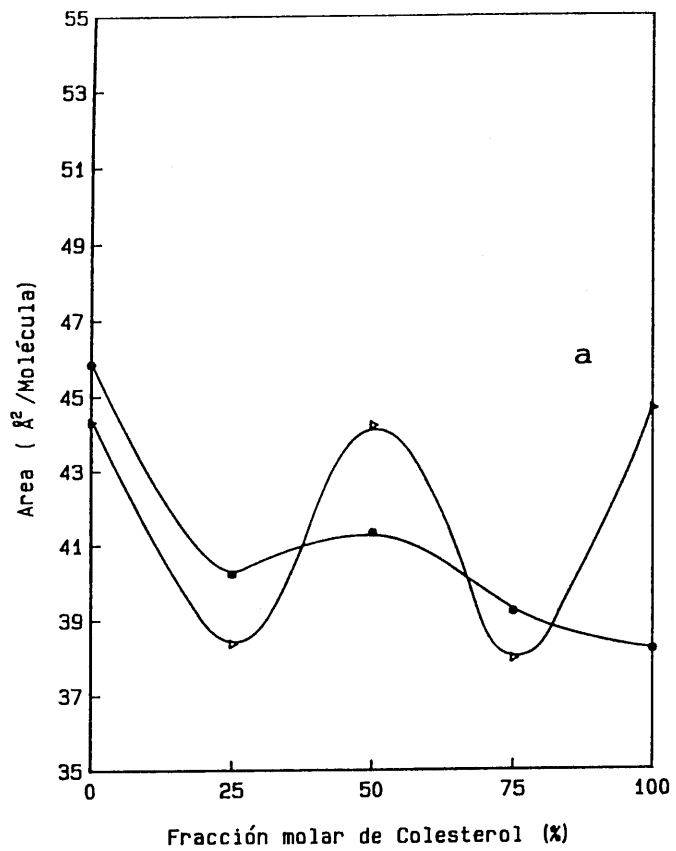


Fig. 2.27. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=40 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH=2 y 4; (b) pH=6 y 8; (c) pH=10 y 12



II.4.1.1

pondientes a los componentes puros, los cuales muestran valores de área por molécula crecientes conforme aumenta el pH para el caso de la lecitina y valores altos de área por molécula a pHs ácidos y básicos en el caso de películas que contienen colesterol sólo. Otros datos significativos son que a $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$ destaca una acusada desviación negativa para la fracción molar 75% de colesterol, y a $\Pi = 40 \text{ mNm}^{-1}$ y $\text{pH} = 8.00$ surge una desviación positiva para el 50% molar de colesterol. Este hecho refleja un comportamiento para las fracciones molares 25% y 75% de colesterol distinto al presentado por el 50% de fracción molar. Aunque no disponemos de datos a fracciones molares intermedias, estos resultados están de acuerdo con los encontrados por otros autores, como de Bernard (1958), el cual obtuvo, representando áreas por molécula en función de la composición, dos singularidades correspondientes a las proporciones moleculares simples 1 a 3 y 3 a 1. Estas proporciones definen tres regiones de concentración donde al área molecular media varía linealmente con la composición, y esto permite concluir que existen dos estructuras superficiales diferentes: una estructura impuesta por el colesterol, donde existe menos de una molécula de lecitina por cada tres de colesterol, y otra que contiene menos de una molécula de colesterol por cada tres de lecitina. Estas dos estructuras son dominantes frente a las correspondientes a proporciones intermedias que presentan un comportamiento también intermedio entre estas. Snart (1967), después de estudiar interacciones entre distintos hidrocarburos aromáticos y lecitinas, concluye que ambos tipos de compuestos tienden a asociarse a una relación molecular 3:1. Otros autores, como Müller-Landau y col. (1979), obtienen para películas monomoleculares mixtas de colesterol y dipalmitoilfosfatidilcolina una condensación máxima a la relación molar de aproximadamente 3:1; después de realizar un estudio con colesterol y otros lípidos de cadena análoga, no observando un comportamiento distinto para cada lípido, y demostrar que el momento

dipolar superficial varía linealmente con la concentración, explican este efecto de condensación sobre la base de un modelo de empaquetamiento molecular donde las interacciones hidrofóbicas entre cadenas hidrocarbonadas son predominantes.

TABLA II.15

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	44.65	49.0	37.39
30	44.79	48.8	41.21
35	54.34	48.6	41.73
40	58.31	47.6	46.16

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Lecitina-75%Colesterol a pH=6.00 y distintas temperaturas

Por tanto, y en principio, podemos postular para nuestros resultados dos interacciones fuertes a 25 y 75% molar de colesterol, que interpretadas según un modelo de empaquetamiento molecular definirían dos estructuras con proporciones moleculares 1 molécula de colesterol a 3 de lecitina y 3 moléculas de colesterol a 1 de lecitina, respectivamente, igual que de Bernard (1958).

Con el objeto de estudiar el efecto condensante a diferentes temperaturas, en las Figs. 2.28 y 2.29, representamos el área por molécula en función de la fracción molar de colesterol a pH = 6.00 y distintas temperaturas (25, 30, 35 y 40°C) a dos valores de presión superficial, Π = 5 y 40 mNm⁻¹, respectivamente. En estas Figs. observamos una condensación máxima para la fracción 75% molar de colesterol a la presión de Π = 5 mNm⁻¹, a diferencia de lo que se observa a la fracción molar de 25% de colesterol a temperaturas superiores a 25°C, donde la condensación es prácticamente nula. Este hecho nos indica que el tipo de estructura formada por tres moléculas de colesterol y una de lecitina

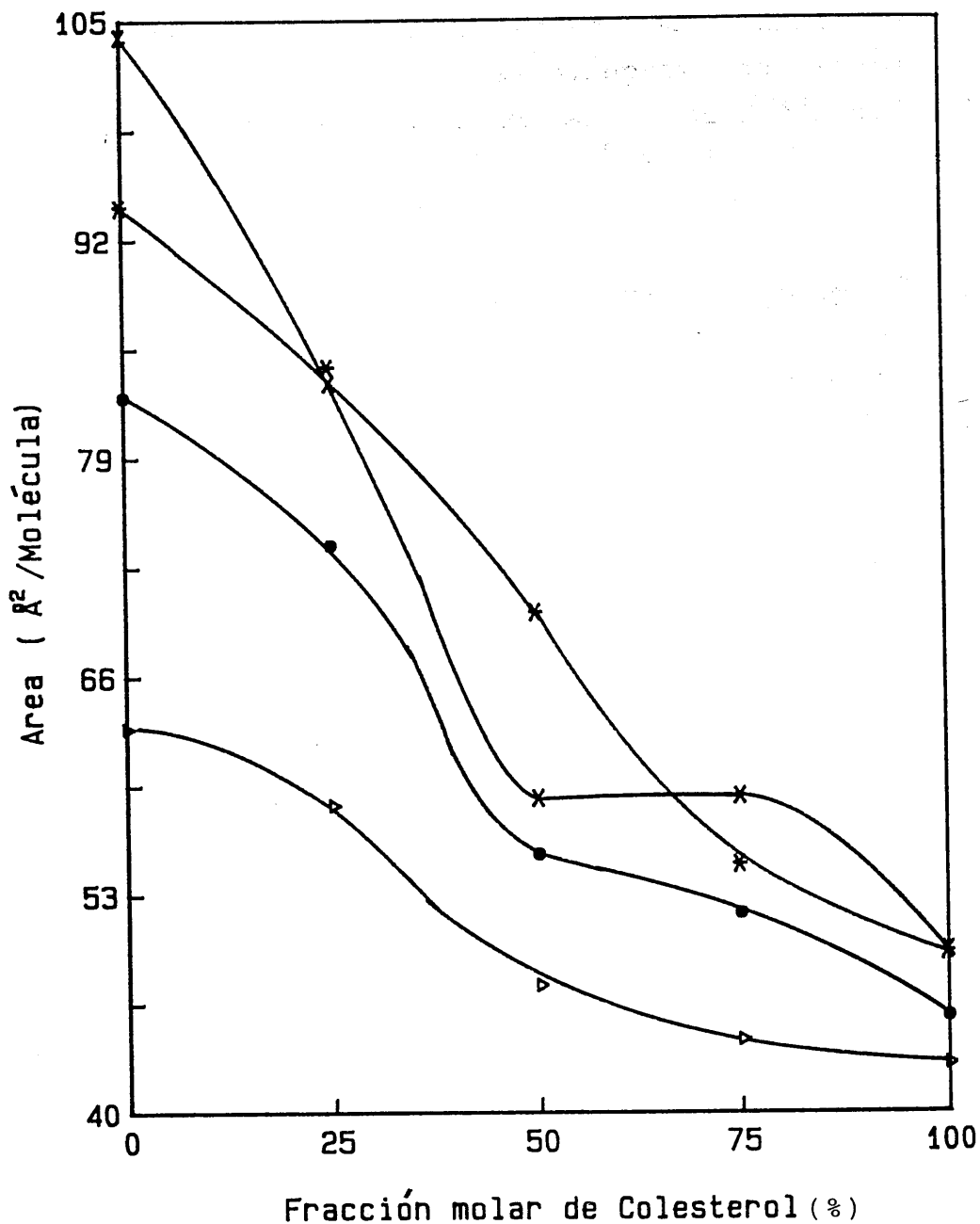


Fig. 2.28. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=6, $\Pi=5$ mNm⁻¹ y distintas temperaturas

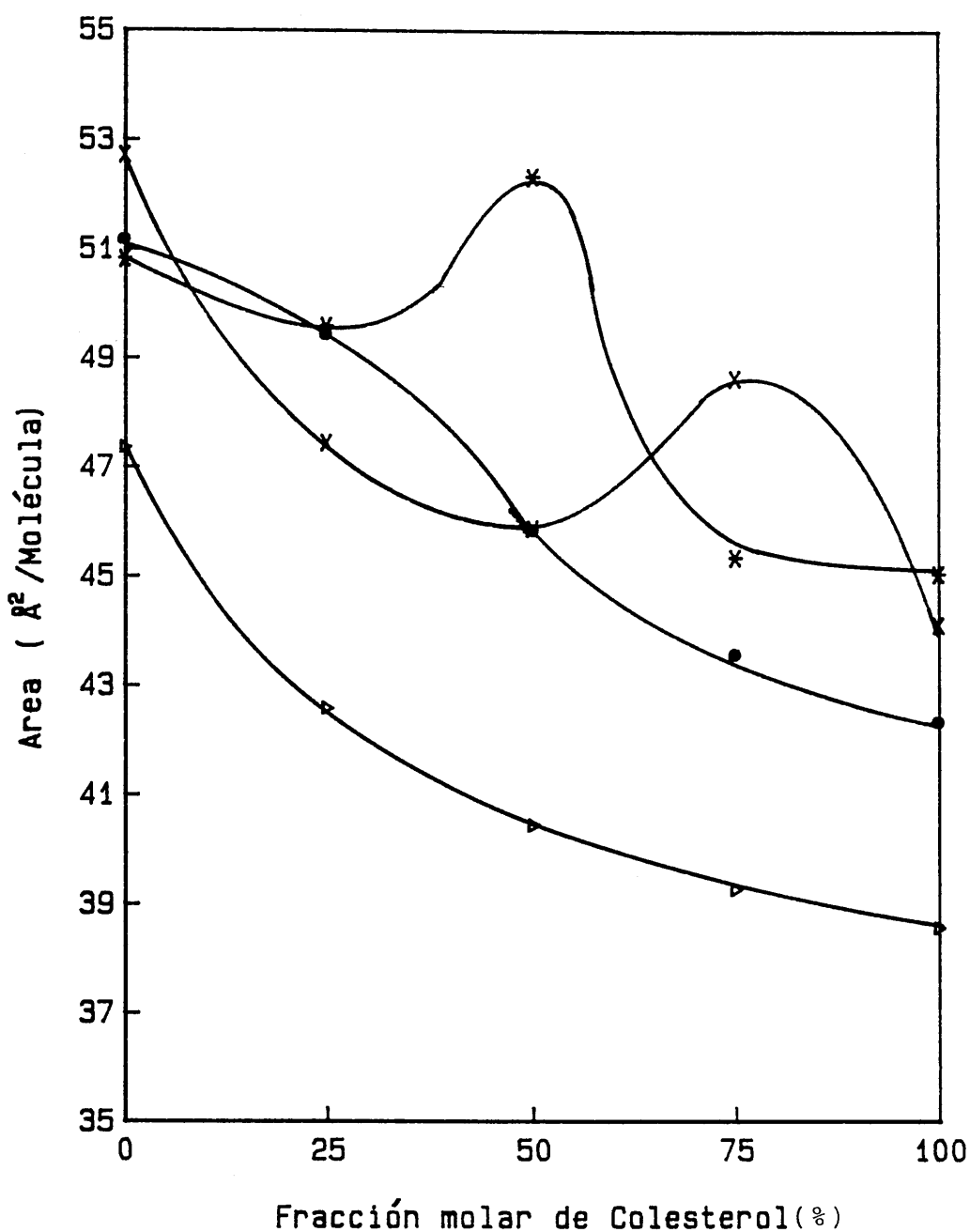


Fig. 2.29. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=6, $\Pi=40$ mNm⁻¹ y distintas temperaturas

es más estable que la formada por tres de lecitina y una de colesterol, ya que el efecto condensante para la primera no se modifica apreciablemente con el aumento de la temperatura.

A la presión superficial de 40 mNm^{-1} , el efecto condensante es bastante más relajado que a bajas presiones superficiales, llegando incluso a presentarse desviaciones positivas de la regla de aditividad de las áreas por molécula. Estos resultados, ya mencionados anteriormente y extendidos para todos los valores estudiados a diferentes condiciones experimentales de temperatura y pH, pueden deberse a varias causas. Una de ellas, anotada por algunos autores (Gershfeld, 1972; Tajima, 1975, 1978; Weis, 1985), es que a presiones superficiales altas tiene lugar una separación de fase entre los dos componentes, dejando, por tanto, el sistema de comportarse como una solución bidimensional "ideal". Así, Weis y col. (1985), mediante la técnica de R.X, presentan evidencias experimentales claras de que tiene lugar una separación de fase entre los componentes de la monocapa a altas presiones superficiales. No obstante, este aspecto lo estudiaremos en el siguiente apartado cuando contemplemos el equilibrio entre la película superficial y la fase colapsada.

Otra de las razones por las cuales el efecto condensante de colesterol sobre la lecitina es más pronunciado a bajas que a altas presiones superficiales, se debe, evidentemente, a que a grandes áreas por molécula, las películas se encuentran en un estado más extendido, mientras que a presiones superficiales altas prácticamente todas presentan carácter condensado y, por consiguiente, son menos susceptibles de condensación. Este hecho es recogido por Kruff y col. (1973), quienes al estudiar distintas monocapas mixtas de lecitinas con colesterol observaron que éste sólo ejercía su efecto condensante cuando la película es de tipo líquido extendido. Cadenhead y Kellner (1976) imponen incluso como condición necesaria para que tenga lugar

condensación que la película esté extendida, y finalmente Müller-Landau y col. (1979) concluyeron que el efecto condensante del colesterol depende del estado físico del lípido, siendo máximo cuando este se encuentra en un estado parcialmente extendido.

Como veremos en los siguientes apartados al estudiar películas mixtas con otros componentes, nuestros resultados están de acuerdo con este razonamiento, ya que en películas cuyo estado es condensado no tiene lugar un efecto condensante significativo.

4.1.2. Miscibilidad y Regla de las Fases en Sistemas Superficiales

El estudio de la variación de la presión de colapso con la composición de la monocapa nos permite obtener información sobre el grado de miscibilidad de los dos componentes en la película monomolecular y en la llamada "fase de colapso", que se alcanza, como su nombre indica, en el colapso o ruptura de la monocapa.

En la Fig. 2.30(a,b,c) representamos los valores de presión superficial de colapso de las películas mixtas formadas por L- α -fosfatidilcolina y colesterol en función de la fracción molar de colesterol a diferentes pHs y a T = 25°C. En primer lugar, observamos que las películas de fosfatidilcolina colapsan a valores de presión superficial más altos que las monocapas de colesterol (Fig. 2.18), esto indica que las películas de lecitina son más estables que las formadas con colesterol, lo cual está de acuerdo con los valores de los parámetros superficiales, por ejemplo de compresibilidad, que presentamos en los apartados 3.1 y 3.2 de este capítulo.

En segundo lugar, en esta figura destacamos la presencia de dos zonas claramente diferenciadas, una entre 0 y 50% de colesterol, en la que observamos una caída brusca

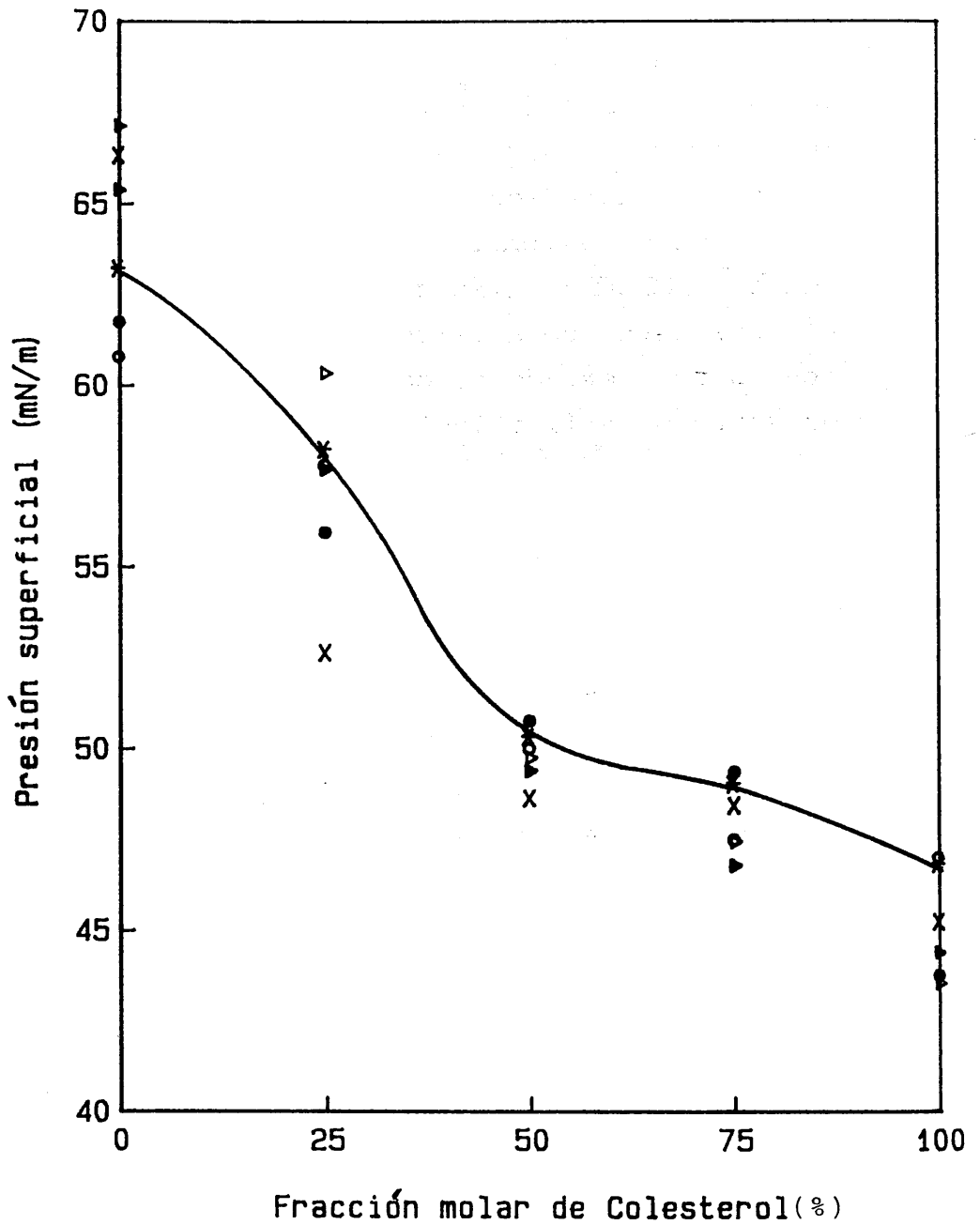
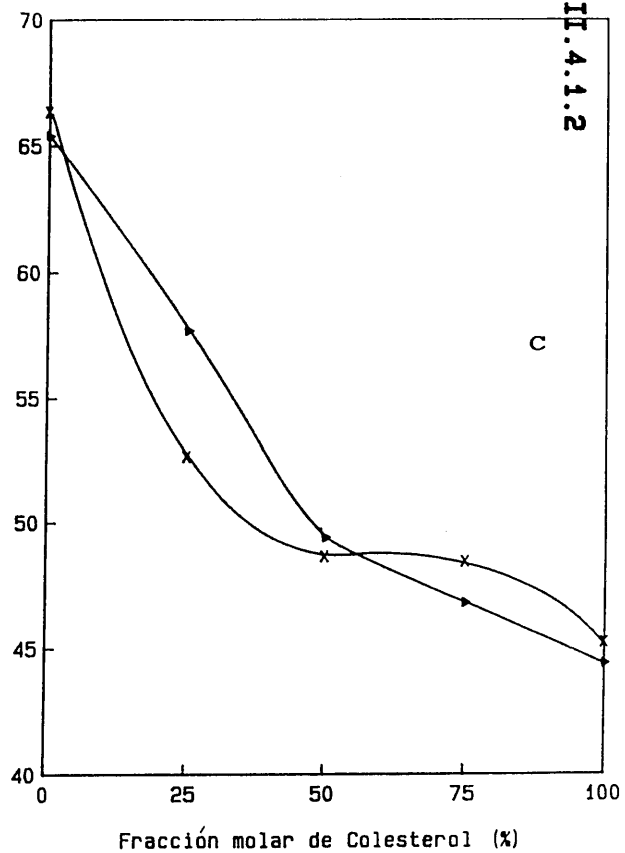
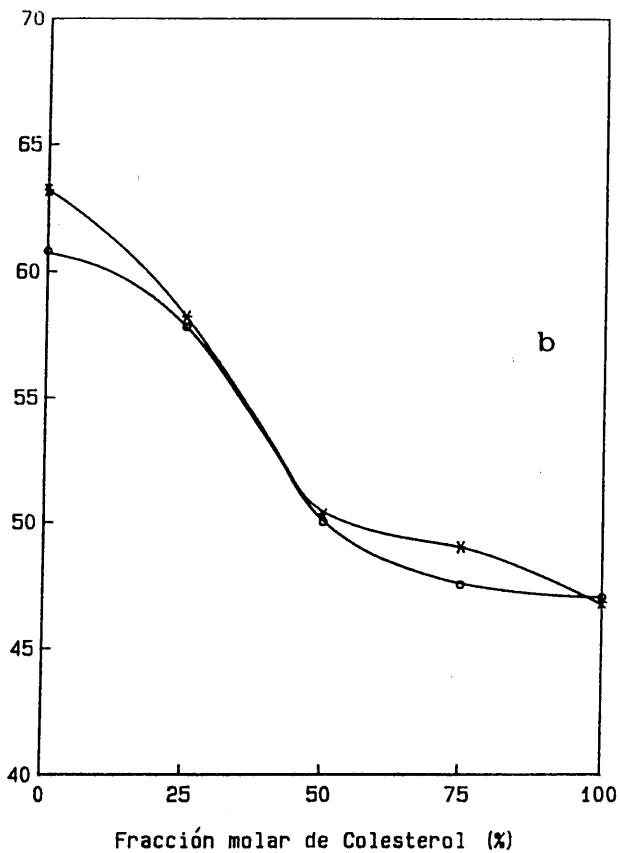
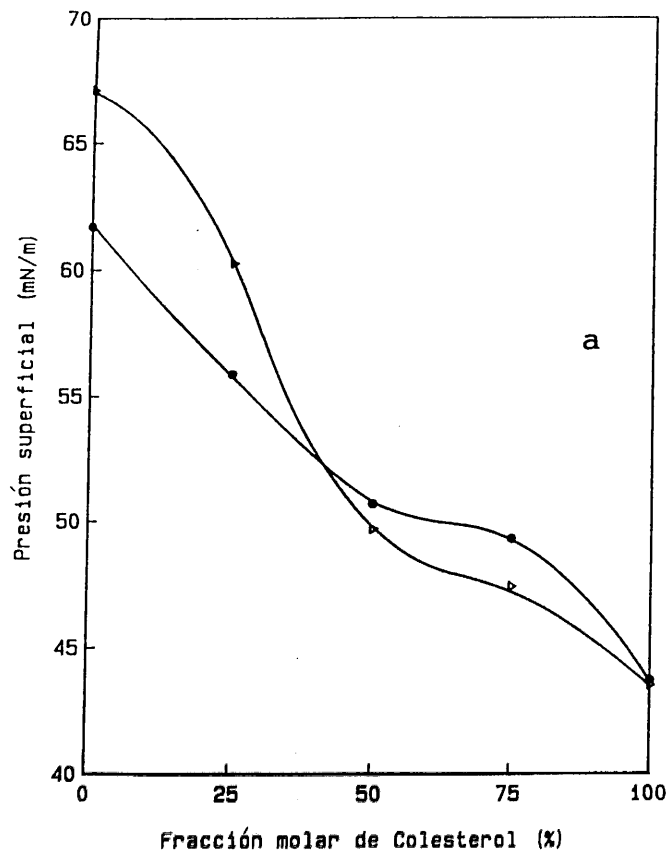


Fig. 2.30. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs: (a) pH=2 y 4; (b) pH=6 y 8; (c) pH=10 y 12



II.4.1.2

en los valores de presión de colapso, y otra, que se encuentra entre las fracciones molares de 50 y 100 % de colesterol, donde la disminución de las presiones es más leve. Sin embargo, dependiendo del valor de pH, cada curva presenta una forma particular y, en algunos casos, es posible distinguir una tercera zona, como por ejemplo la correspondiente a pH = 12.00, en la que podemos observar una zona entre las fracciones de 50 y 75% de colesterol de pendiente nula y que tomaremos como referencia para discutir todos los resultados a diferentes pHs (Fig. 2.31).

En este caso, si los dos componentes fueran miscibles entre sí, las presiones de colapso deberían variar con la composición. Sin embargo, la existencia de una zona de pendiente nula hace necesario la aplicación de la regla de las fases a sistemas superficiales de Defay-Crisp (Crisp, 1949; Defay, 1966), la cual, junto con los resultados obtenidos al representar las áreas por molécula en función de la composición (Figs. 2.26 y 2.27), nos permite conocer la situación de miscibilidad de ambos componentes.

La regla de las fases a sistemas superficiales, en el caso de interfases bidimensionales, en ausencia de reacciones químicas y a temperatura y presión externa constantes puede escribirse, según Phillips y col. (1970), como:

$$F = C - \Phi - (\Psi - S) \quad (2.8)$$

donde F es el número de grados de libertad, C el número de componentes, Φ el número de fases, Ψ el número de fases superficiales y S el número de superficies.

El valor de la variable F y la variación de la presión, en nuestro caso de colapso Π_C , con la composición nos informarán del número de fases colapsadas y de si los componentes son miscibles o no en ellas. Así, si $F=1$ y Π_C varía con la composición, tendremos una fase colapsada constituida por los dos componentes miscibles entre sí.

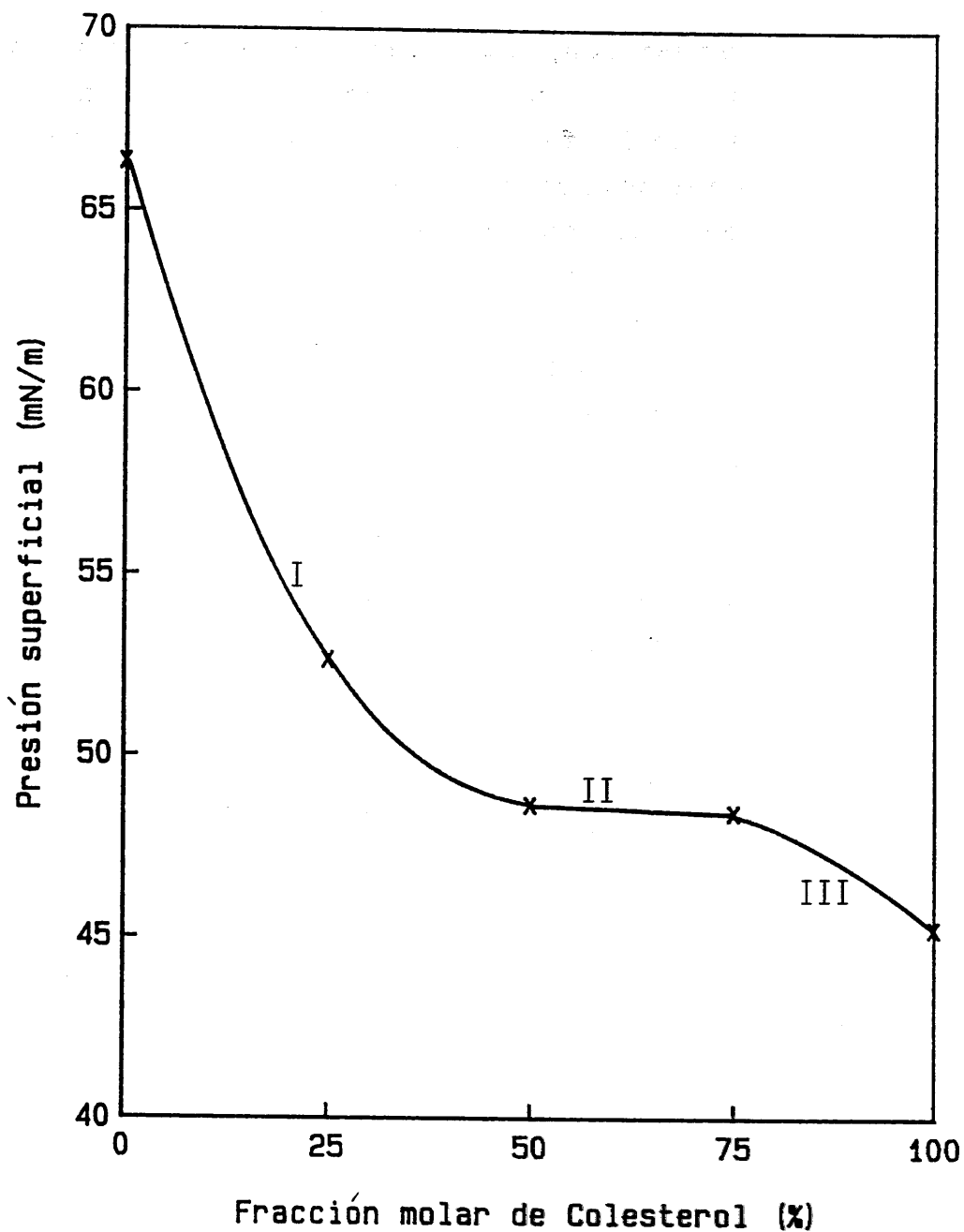


Fig. 2.31. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=12$

Cuando F toma el valor 0 y la presión superficial no varía con la composición, los componentes son inmiscibles en la fase colapsada o en la monocapa. Finalmente, si fueran inmiscibles en la fase colapsada y en la monocapa, F valdría -1, sin embargo, esta situación sería sólo posible cuando ambos componentes colapsaran a la misma presión superficial, y lo que normalmente ocurre es que el componente menos estable sale fuera de la película formando la fase colapsada y F adquirirá de nuevo el valor 0.

Consideremos para la zona que hemos llamado I en la Fig. 2.31 que ambos componentes, lecitina y colesterol, son miscibles en la monocapa y en la fase colapsada, en ese caso, aplicando la regla de las fases a este sistema $C = 4$ (aire, agua, lecitina y colesterol), $\Phi = 3$ (aire, agua y fase colapsada), $\Psi = 3$ (fase colapsada/agua, fase colapsada/aire y aire/agua) y $S = 3$ (fase colapsada/agua, fase colapsada/aire y aire/agua), $F = 1$ y la presión de colapso deberá variar con la composición. Esto está de acuerdo con los resultados experimentales, quedando comprobado que los dos componentes son miscibles tanto en la película monomolecular como en la fase colapsada.

De la observación de la zona entre las fracciones molares 50 y 75% de colesterol en la curva a $\text{pH} = 12.00$ de la Fig. 2.27, donde se representan los valores de área por molécula en función de la fracción molar de colesterol a la presión superficial $\Pi = 40 \text{ mNm}^{-1}$, cercana a los valores de colapso, podemos concluir que existe una monocapa homogénea donde los componentes son miscibles, ya que las áreas por molécula correspondientes a estas proporciones son menores que las estipuladas para un comportamiento ideal, por tanto, la variable F tendría que tener un valor 1; sin embargo, este dato no está de acuerdo con los resultados experimentales, puesto que en esta zona la presión de colapso no varía con la composición (Fig. 2.31), por esta razón se propone la existencia para esta región de dos fases colapsadas inmiscibles entre sí. Podemos pensar en la presencia de una

fase de colesterol saturada con lecitina y de otra fase de lecitina saturada con colesterol. Aplicando esta regla de las fases, como toma en este caso el valor 4 (aire, agua y dos fases colapsadas), $F = 0$, lo que si está de acuerdo con la no variación de la presión de colapso con la composición.

Finalmente, la zona III de esta curva presenta una situación análoga a la zona I, variando la presión de colapso con la composición. En esta región, F toma de nuevo el valor 1 y los dos componentes colapsarán en una sola fase miscibles entre sí. La única diferencia a destacar para esta zona respecto a la primera es que la fase colapsada estará enriquecida de colesterol.

Para el resto de películas, a los otros pHs, prácticamente podemos suponer una situación de miscibilidad de los dos componentes en la monocapa y en la fase colapsada para todo el intervalo de composición, ya que, en general, todas las presiones de colapso varían con la composición, y los valores de áreas por molécula para fracciones intermedias a las de los componentes puros son más bajas que los previstos por la regla de aditividad de las áreas. Tan solo a $\text{pH} = 8.00$, observamos en la región comprendida entre las fracciones 75 y 100% de colesterol una pendiente nula para la función presión de colapso-composición (Fig. 2.30). Como la situación, deducida de la observación de la Fig. 2.27, es de miscibilidad para los dos componentes, a este pH intermedio tendrá lugar la formación de dos fases colapsadas en esta región, una rica en colesterol y otra en L- α -fosfatidilcolina. A este mismo pH, las películas formadas por 50% de colesterol y 50% de lecitina presentan otra singularidad, ya que el valor de área por molécula a $\Pi = 40 \text{ mNm}^{-1}$ cumple con la regla de aditividad, por lo que los componentes a esta proporción son inmiscibles, y como la presión de colapso es dependiente de la composición, podemos pensar, a esta presión superficial, en la salida del componente menos estable de la monocapa, el colesterol en este caso, y en la

formación de una fase colapsada constituida sólo por este compuesto. Así pues, a 25°C y pH=8.00, tenemos otro ejemplo de tres comportamientos diferentes dependiendo de la composición de la película monomolecular; si el contenido es bajo en colesterol, al colapsar la monocapa se forma una fase con ambos componentes miscibles entre sí; cuando la composición aumenta hasta un 50% de colesterol, la fase colapsada estará constituida sólo por colesterol y, finalmente, para fracciones altas de colesterol, se forman dos fases colapsadas inmiscibles entre sí y formadas por ambos componentes. Este comportamiento, sensiblemente distinto al presentado a otros pHs, creemos es el resultado de una situación intermedia a un pH también intermedio.

El efecto de la temperatura sobre la miscibilidad de los componentes podemos deducirlo de la observación de las Figs. 2.29 y 2.32. En esta última representamos los valores de presión de colapso para las películas mixtas de colesterol y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH = 6.00.

A la temperatura de 25°C, como acabamos de ver, los dos componentes son completamente miscibles en todas las proporciones, tanto en la película como en la fase colapsada.

A 30°C, observamos el mismo comportamiento que a pH = 12.00 y T = 25°C, con tres regiones distintas: en la primera, entre 0 y 50% de colesterol, los componentes son miscibles en la monocapa y en la fase colapsada; en la segunda, comprendida entre 50 y 75% de colesterol, suponemos la existencia de dos fases colapsadas inmiscibles entre sí constituidas por ambos componentes y, finalmente, una tercera zona hasta 100% de colesterol, en la que el colesterol y la lecitina se comportan como en la primera región.

Cuando aumentamos la temperatura a 35 y 40°C, la variación de la presión de colapso con la fracción molar de colesterol es análoga a la que se observa a 30°C, y los componentes siguen siendo miscibles a todas las proporcio-

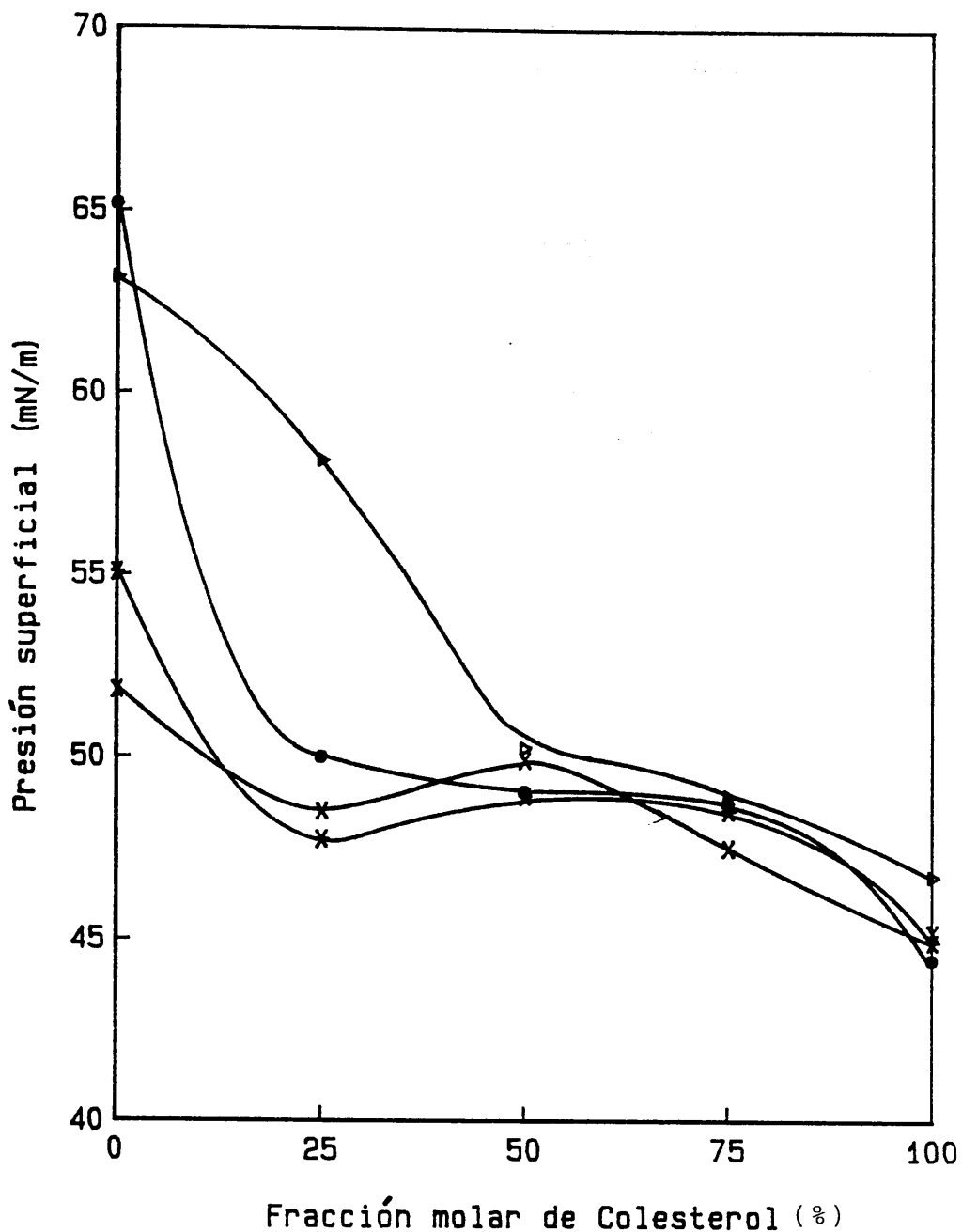


Fig. 2.32. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de L- α -fosfatidilcolina y colesterol a pH=6 y distintas temperaturas

nes, por lo que deducimos el mismo comportamiento que a esta temperatura.

4.2. MONOCAPAS MIXTAS DE ACIDO LITOCOLICO-COLESTEROL

En las Figs 2.33-2.38 se presentan las distintas isoterms a diferentes proporciones de ácido litocólico y colesterol para el intervalo de pHs comprendido entre los valores 2.00 y 12.00. A presiones superficiales altas y bajas, distinguimos dos tipos de comportamiento, según sea el pH de la subfase básico o ácido, en todos los casos.

A pHs más ácidos, las monocapas de ácido litocólico y las que contienen ambos componentes, ácido y colesterol, experimentan a lo largo de la compresión un cambio de estado bidimensional desde "líquido extendido" a bajas presiones superficiales hasta "líquido condensado" a altas presiones superficiales. A estos pHs, entre 2.00 y 6.00, las películas mixtas exhiben un comportamiento intermedio al que presentan las correspondientes a los componentes puros, es decir, el intervalo de áreas/molécula para la zona de transición disminuye conforme aumenta el contenido en colesterol. Esta transición tiene lugar, aproximadamente, a la presión superficial $\Pi = 15 \text{ mNm}^{-1}$, y el contenido en colesterol modifica algo este valor. A pH 6.00 esta transición es bastante más extensa y para películas con una fracción molar de ácido baja se presenta a presiones inferiores a 15 mNm^{-1} .

Cuando el pH de la subfase es básico, las películas formadas por ácido litocólico puro y las que contienen 75% de este ácido se encuentran en estado de "líquido extendido" a lo largo de toda la compresión. A la fracción molar de 50%, tiene lugar una pequeña transición en las películas, presentando carácter condensado a altas presiones superficiales.

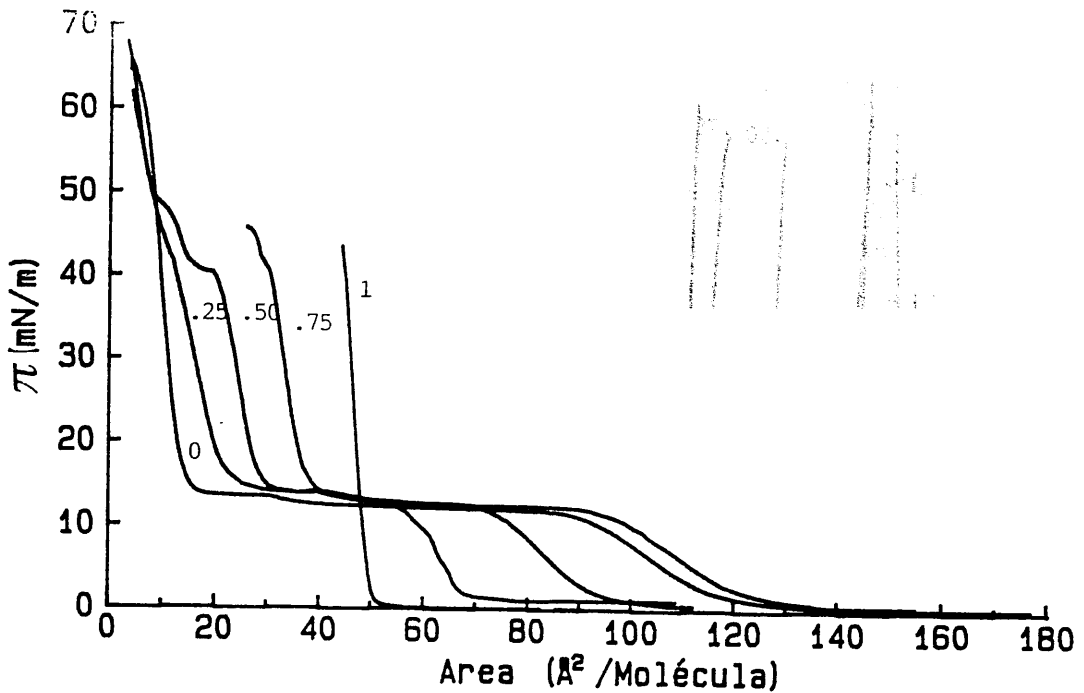


Fig. 2.33. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido litocólico y colesterol a pH=2 y T=25°C

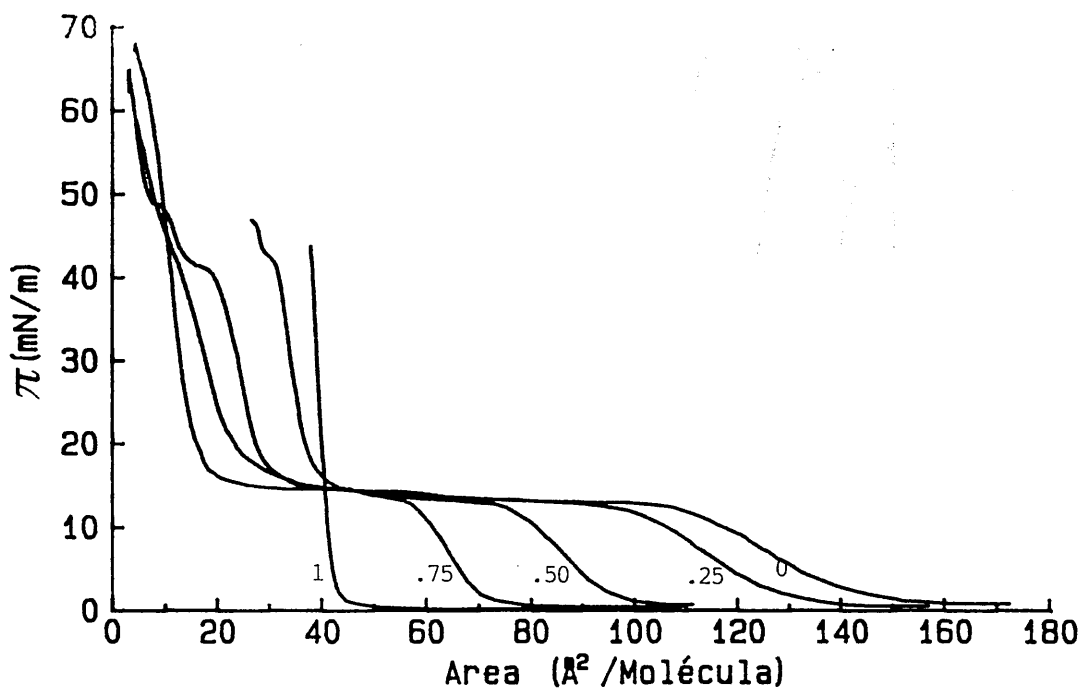


Fig. 2.34. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido litocólico y colesterol a pH=4 y T=25°C

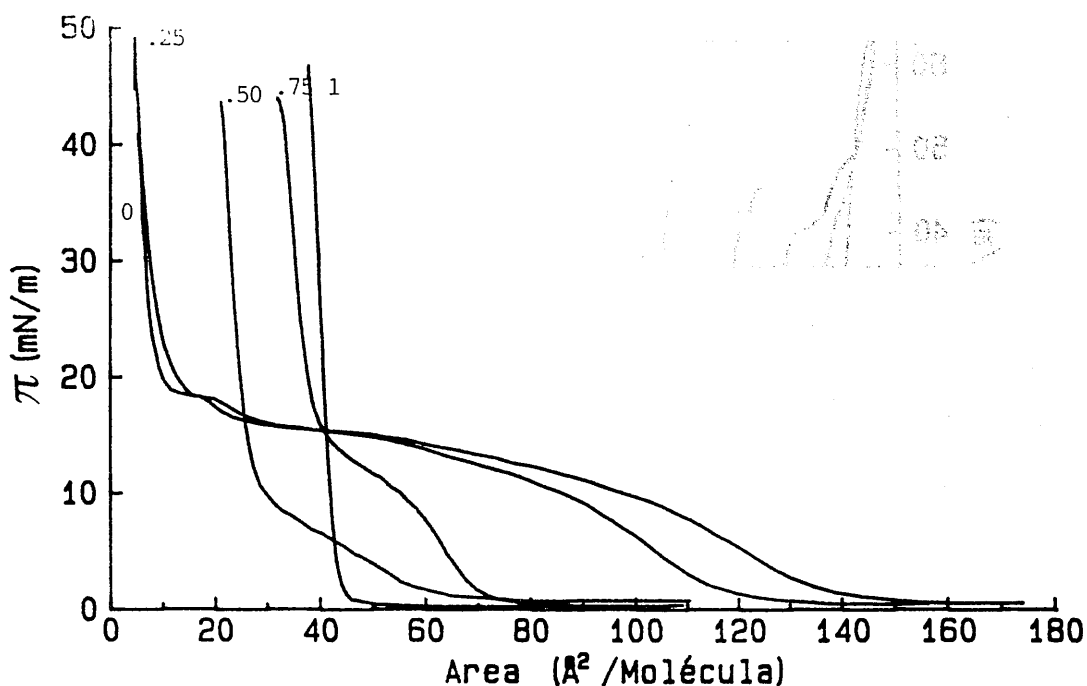


Fig. 2.35. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y colesterol a pH=6 y T=25°C

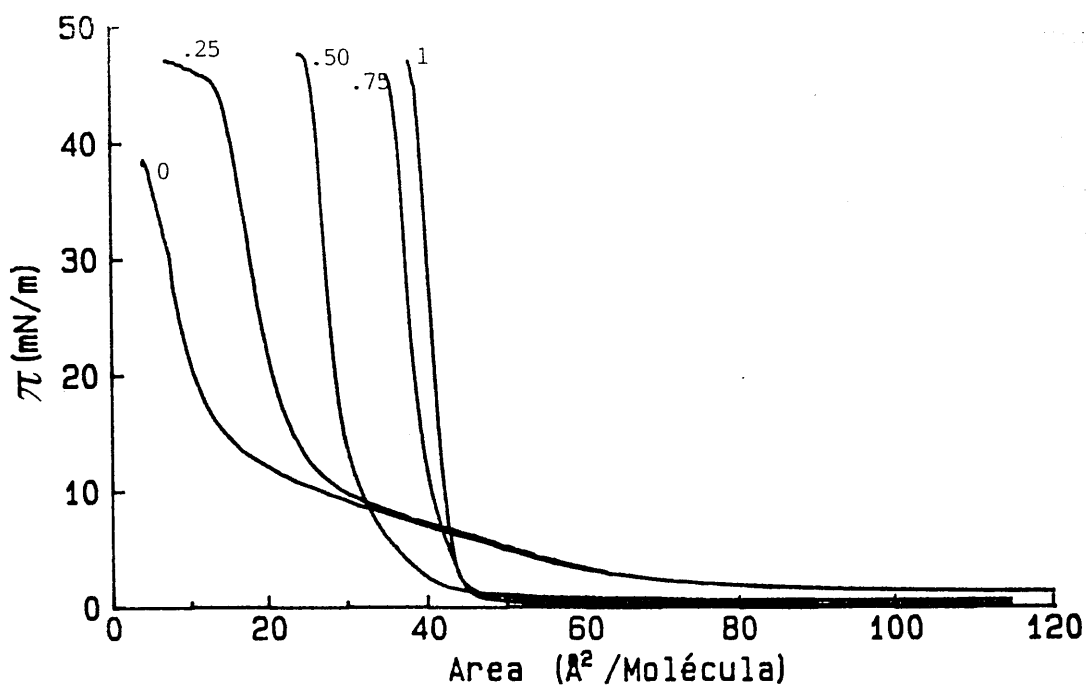


Fig. 2.36. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y colesterol a pH=8 y T=25°C

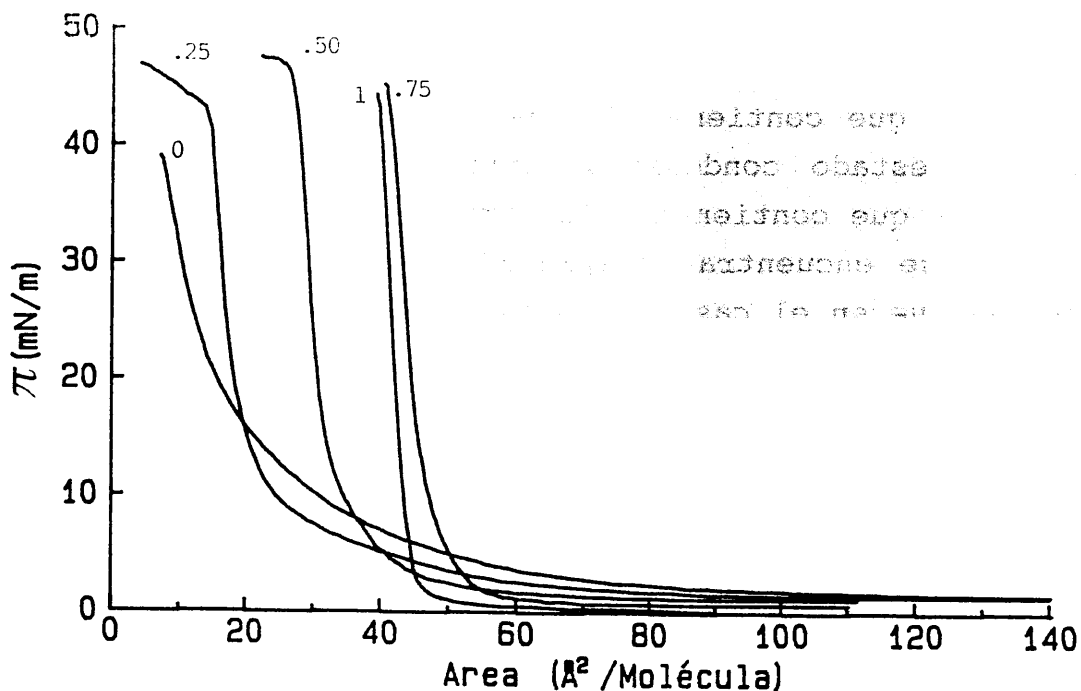


Fig. 2.37. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y colesterol a pH=10 y T=25°C

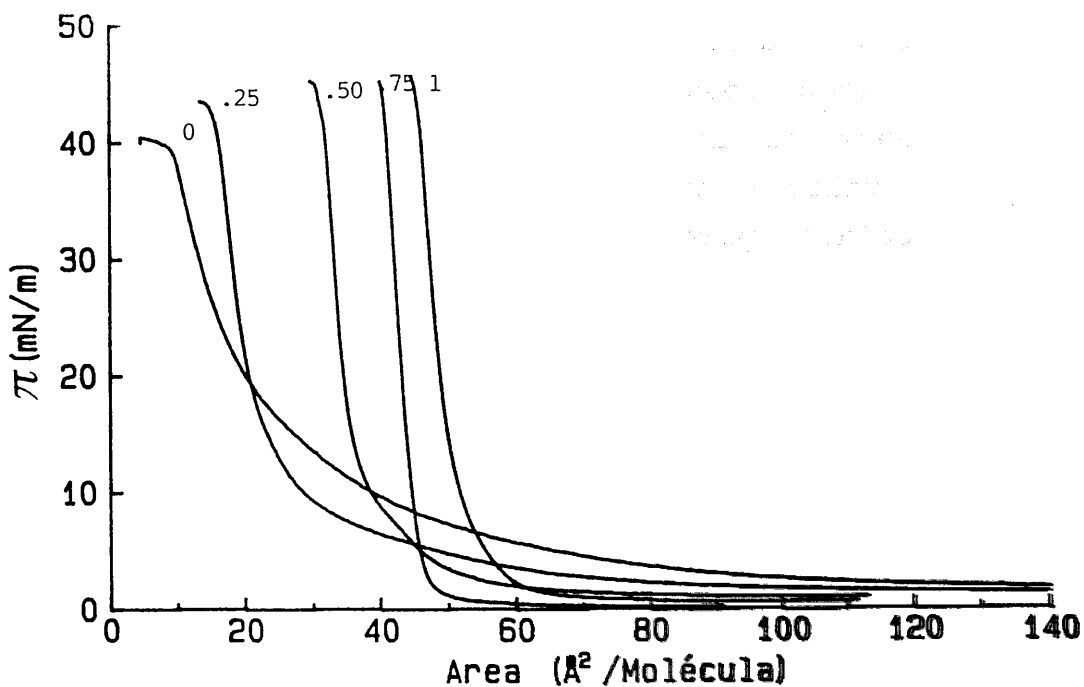


Fig. 2.38. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y colesterol a pH=12 y T=25°C

Esta zona de transición no se observa para las películas que contienen 25% de ácido, las cuales se encuentran en estado condensado, aunque más extendidas que las películas que contienen colesterol puro, que a los pHs 10.00 y 12.00 se encuentran desplazadas hacia áreas por molécula mayores que en el caso de colesterol.

El comportamiento de estas películas a distintas temperaturas podemos observarlo en las Figs. 2.35, 2.39-2.-41, donde se presentan las isotermas obtenidas para distintas proporciones de ácido litocólico y colesterol a pH = 6.00, a las temperaturas 25, 30, 35 y 40°C, respectivamente. De la comparación entre ellas podemos deducir que conforme aumenta la temperatura todas las monocapas, en general, presentan un carácter más extendido. En este intervalo de temperaturas todas las películas monomoleculares mixtas exhiben una zona de transición entre los estados líquido extendido y líquido condensado y, por tanto, para estas condiciones experimentales, también podemos distinguir dos comportamientos claramente diferentes a presiones superficiales altas y bajas.

Estos resultados experimentales están recogidos numéricamente en las Tablas II.16-II.21, en las que se presentan valores de área específica límite, presiones y áreas de colapso para las películas mixtas aquí estudiadas.

En general, destacamos entre estos resultados una disminución de las presiones de colapso y, por tanto, un aumento en las áreas por molécula correspondientes a estos puntos de ruptura, conforme aumentan los valores de pH y temperatura para las películas monomoleculares formadas por 25% de colesterol y 75% de ácido litocólico. Cuando el contenido de colesterol en la película aumenta, esta disminución de las presiones de colapso con las variables pH y temperatura no es tan acusada, e incluso para la mezcla 75% colesterol y 25% de ácido, los valores de presión de colapso prácticamente no varían al modificar las condiciones experimentales.

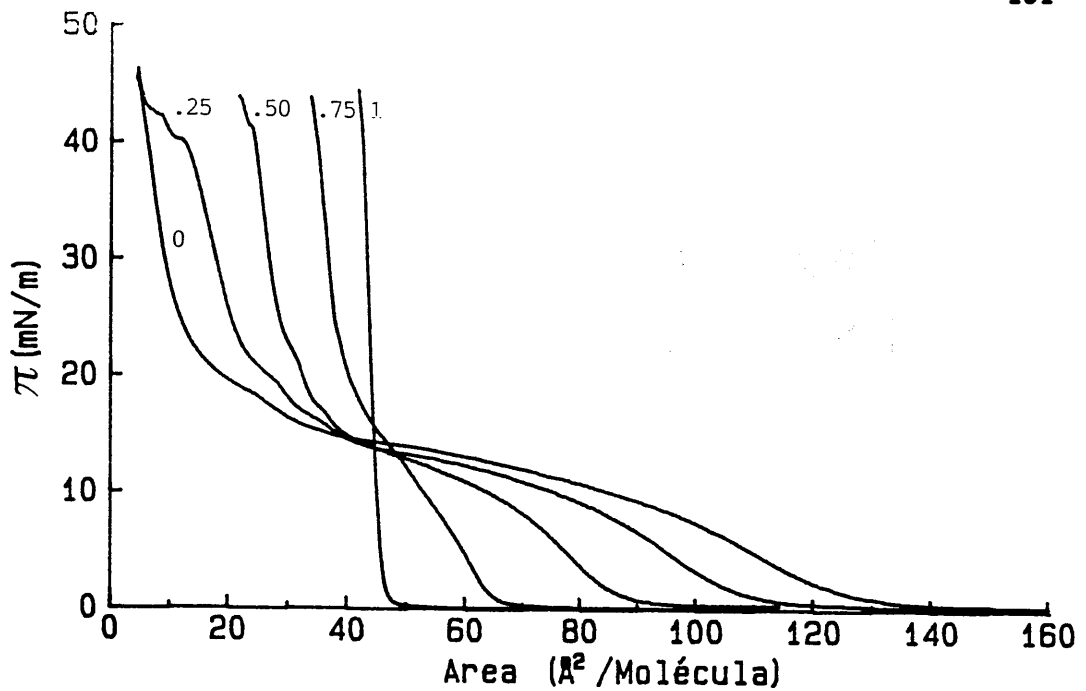


Fig. 2.39. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y colesterol a pH=6 y T=30°C

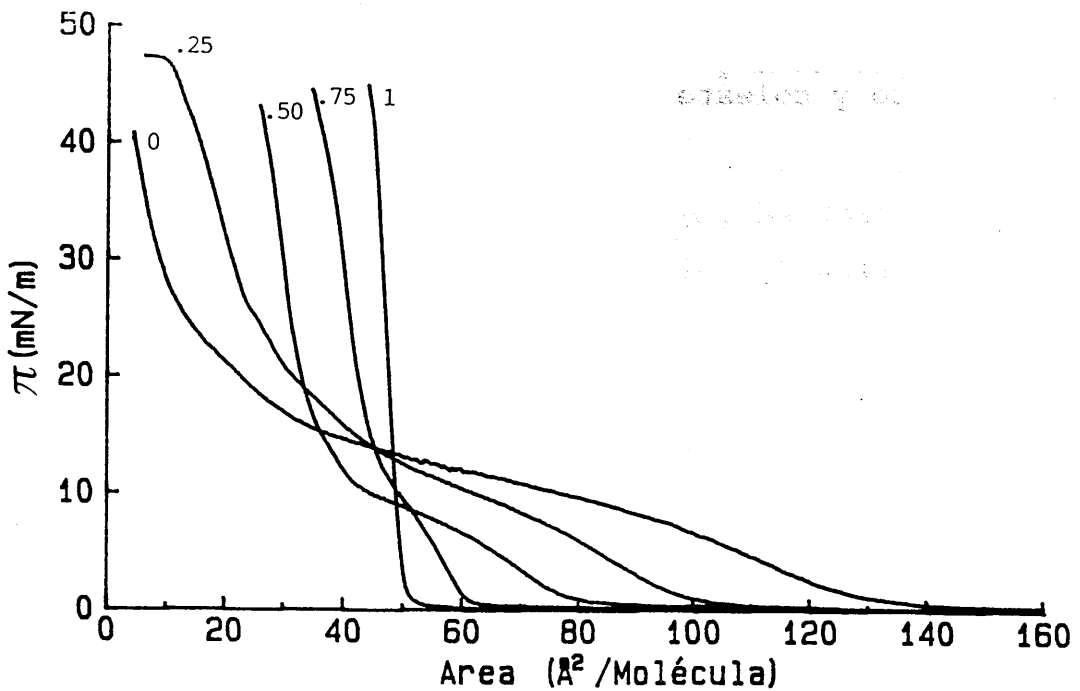


Fig. 2.40. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y colesterol a pH=6 y T=35°C

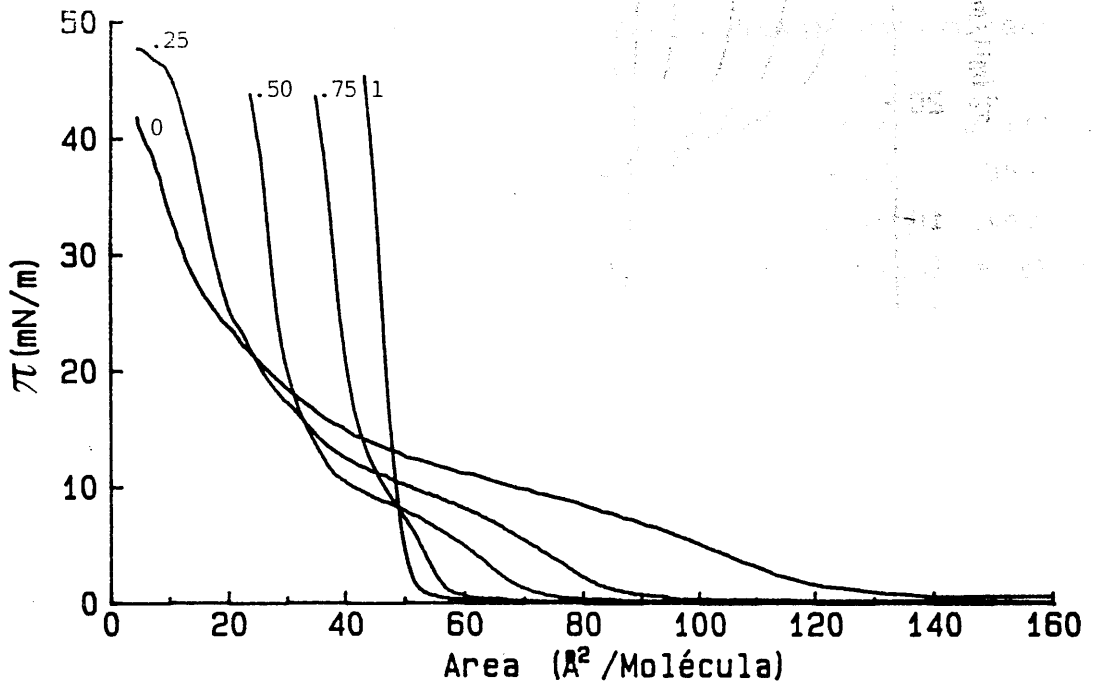


Fig. 2.41. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido litocólico y colesterol a pH=6 y T=40°C

TABLA II.16

pH	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
2.00	26.25	68.9	3.84
4.00	29.69	58.9	4.27
6.00	12.28	49.1	4.49
8.00	24.73	47.2	6.83
10.00	20.96	46.9	3.97
12.00	24.57	43.6	13.36

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Coolesterol-75%Ac.Litocólico a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.17

T ($^\circ\text{C}$)	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
25	12.28	49.1	4.49
30	31.74	46.4	4.20
35	37.69	47.4	5.88
40	29.51	47.7	4.27

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Coolesterol-75%Ac.Litocólico a $\text{pH}=6.00$ y distintas temperaturas

Finalmente, también observamos que a $T = 40^\circ\text{C}$ el área específica límite es más pequeña que para el resto de las temperaturas, y esto ocurre para todas las mezclas. Sin embargo, este resultado no indica que las películas se encuentren más condensadas, sino todo lo contrario, ya que a esta temperatura lo que tiene lugar es prácticamente la desaparición de la transición de fase bidimensional, encontrándose todas las películas cercanas a un estado de "líquido extendido" en todo el intervalo de áreas por molécula.

TABLA II.18

pH	$A^{\circ}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_c(\text{mN m}^{-1})$	$A_c(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
2.00	31.94	68.2	2.94
4.00	33.50	64.9	2.91
6.00	27.82	43.6	20.90
8.00	30.65	47.6	24.08
10.00	32.87	47.6	22.15
12.00	37.29	45.3	29.76

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Coolesterol-50%Ac.Litocólico a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.19

$T(^{\circ}\text{C})$	$A^{\circ}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_c(\text{mN m}^{-1})$	$A_c(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
25	27.82	43.6	20.90
30	34.22	43.9	21.51
35	37.13	43.1	25.68
40	32.92	43.8	23.48

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Coolesterol-50%Ac.Litocólico a $\text{pH}=6.00$ y distintas temperaturas

4.2.1. Miscibilidad y Fases Superficiales

La forma de interacción entre estos dos componentes depende no sólo de las proporciones relativas de cada uno de ellos en las monocapas, sino también del valor de la presión superficial para idénticas condiciones de temperatura y pH.

TABLA II.20

pH	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_c (mN m^{-1})	A_c ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
2.00	40.09	45.7	25.65
4.00	40.49	46.8	26.65
6.00	41.11	43.9	31.74
8.00	40.33	45.7	35.12
10.00	47.20	45.3	40.26
12.00	51.39	45.6	44.69

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Coles-
terol-25%Ac.Litocólico a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.21

T ($^\circ\text{C}$)	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_c (mN m^{-1})	A_c ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
25	41.11	43.9	31.7
30	41.93	43.9	33.6
35	46.78	44.6	34.5
40	43.74	43.6	34.8

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Coles-
terol-25%Ac.Litocólico a $\text{pH}=6.00$ y distintas
temperaturas

Así, en la Fig. 2.42, en la que se representan áreas por molécula en función de la fracción molar de colesterol para distintas monocapas mixtas a $T=25^\circ\text{C}$, $\text{pH}=6.00$ y a diferentes presiones superficiales, observamos tres comportamientos distintos dependiendo del intervalo de presiones que fijemos. En la zona de altas presiones (25 y 40 mNm^{-1}), las películas formadas por 25% de colesterol y 75% de ácido litocólico presentan desviaciones negativas del comportamiento "ideal". Este hecho nos indica la existencia de interacciones atractivas y miscibilidad entre los dos

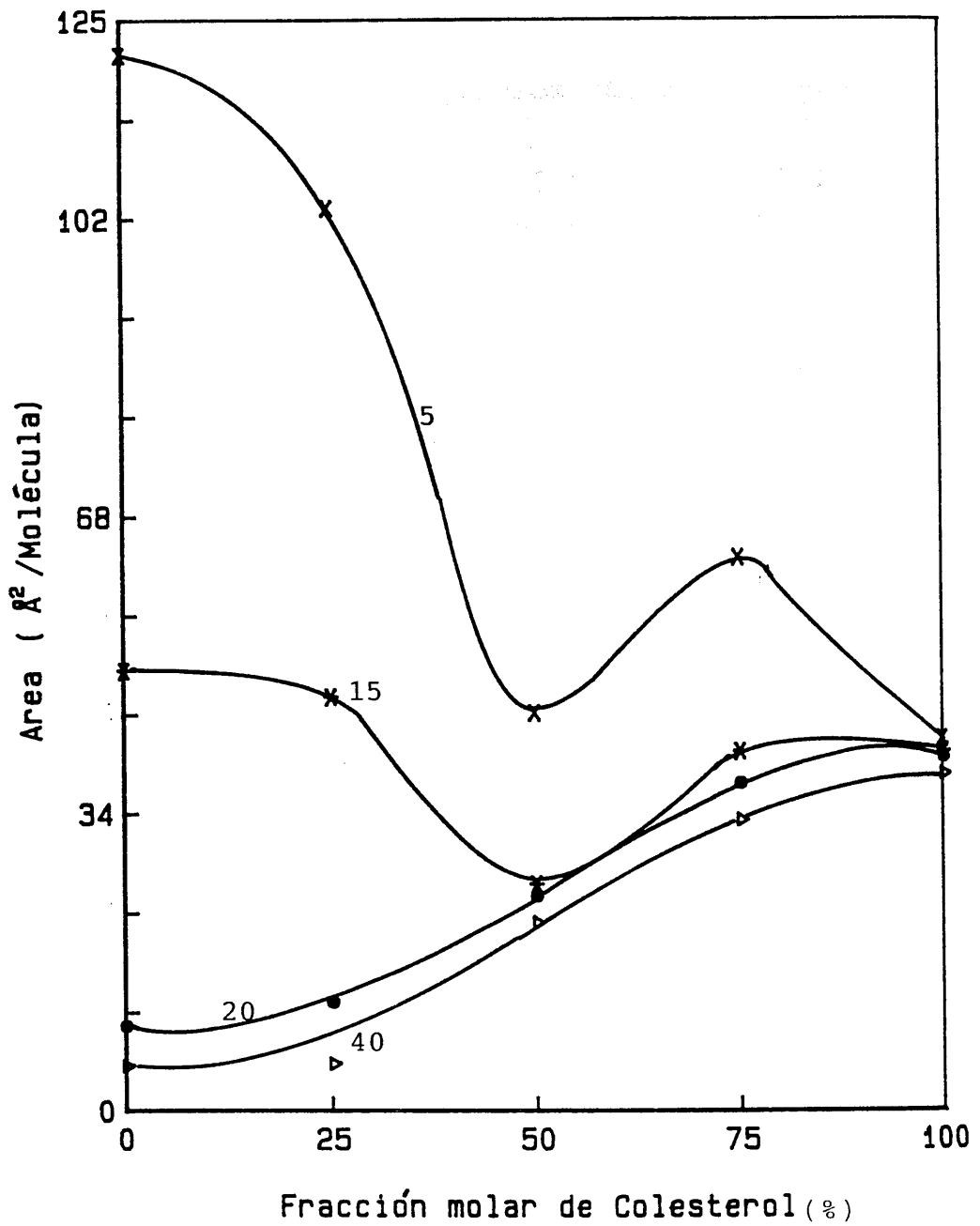


Fig. 2.42. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido litocólico y colesterol a pH=6, T=25°C y distintas presiones superficiales

componentes a esta fracción molar. Cuando el contenido de las películas en colesterol aumenta hasta un 50%, no observamos ninguna desviación de la supuesta "idealidad". Esto, en principio, puede deberse a inmiscibilidad entre los componentes o a la ausencia de interacciones particulares entre ellos. Finalmente, para la mezcla 75% colesterol y 25% ácido, los resultados se desvían positivamente de la regla de aditividad debido a la presencia de interacciones atractivas entre los dos compuestos.

El comportamiento a $\Pi = 15 \text{ mNm}^{-1}$, que es la presión a la que tiene lugar la transición de fase, nos indica que los componentes son miscibles en todas las proporciones, aunque la desviación negativa es mucho más pronunciada a la fracción 50%, hecho que nos hace pensar en la existencia de una estructura definida en la proporción 1:1.

En la región de presiones superficiales por debajo de la presión de transición, los resultados son similares a los encontrados para esta presión, sin embargo, a las proporciones de 25 y 75% de colesterol los valores de área por molécula son ligeramente superiores a los que proporciona la regla de aditividad y, por tanto, proponemos para estas proporciones un cambio en el modo de interaccionar estos dos compuestos, ya que a bajas presiones superficiales los efectos electrostáticos tendrán más relevancia que las interacciones cadena- cadena de carácter atractivo.

Con objeto de estudiar la posible miscibilidad entre los componentes a diferentes condiciones de pH, en las Figs. 2.43(a,b,c) y 2.44(a,b)⁽²⁾ representamos los valores de área por molécula en función de la fracción molar de colesterol a diferentes pHs, a las presiones de 5 y 40 mNm^{-1} , respectivamente.

Comparando estas dos figuras, observamos que a pHs

² En este caso reproducimos solamente dos figuras, en la primera, 2.44a, se presentan los datos a los pHs 2, 4 y 6 y, en la figura 2.44b a los pHs 8, 10 y 12.

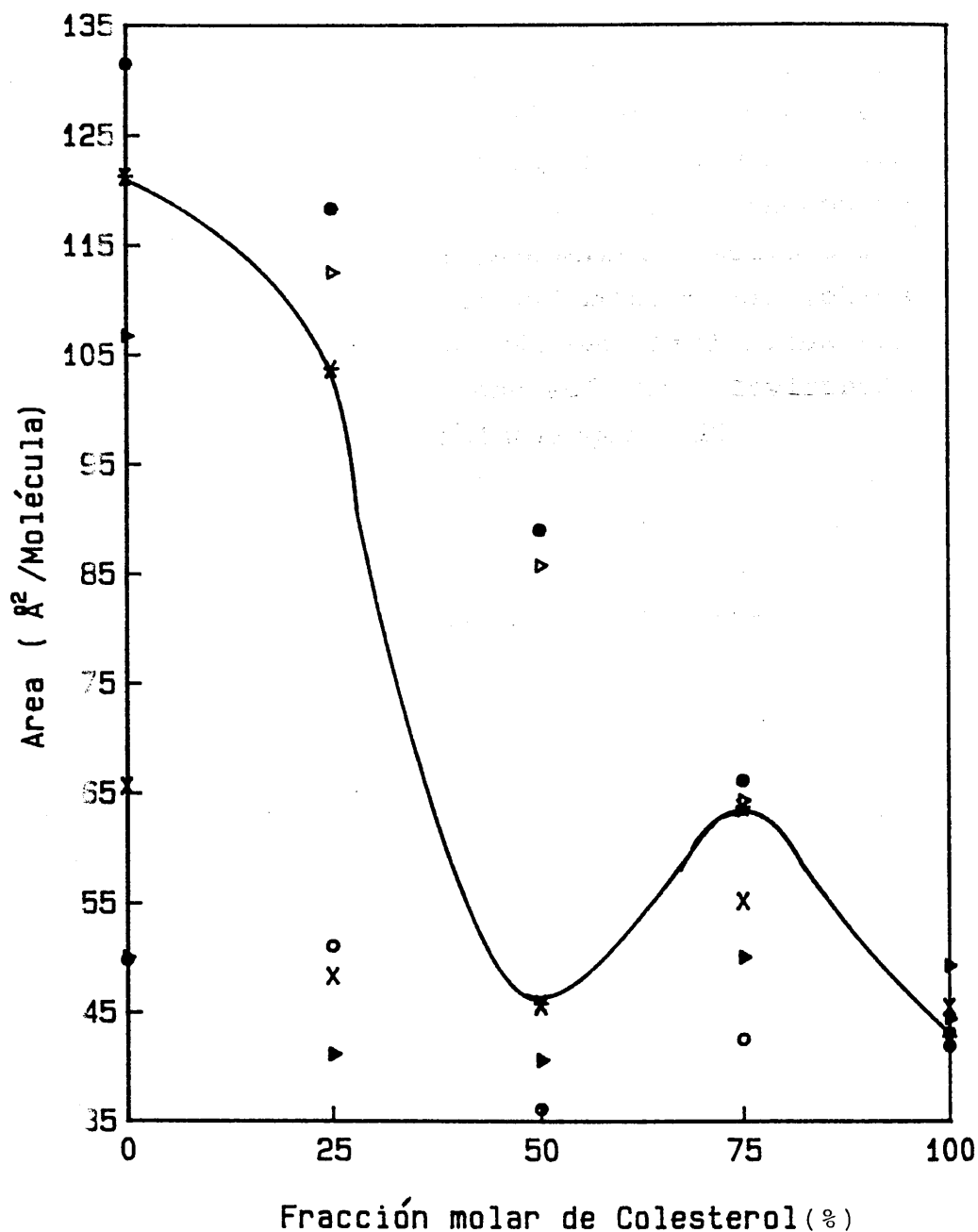
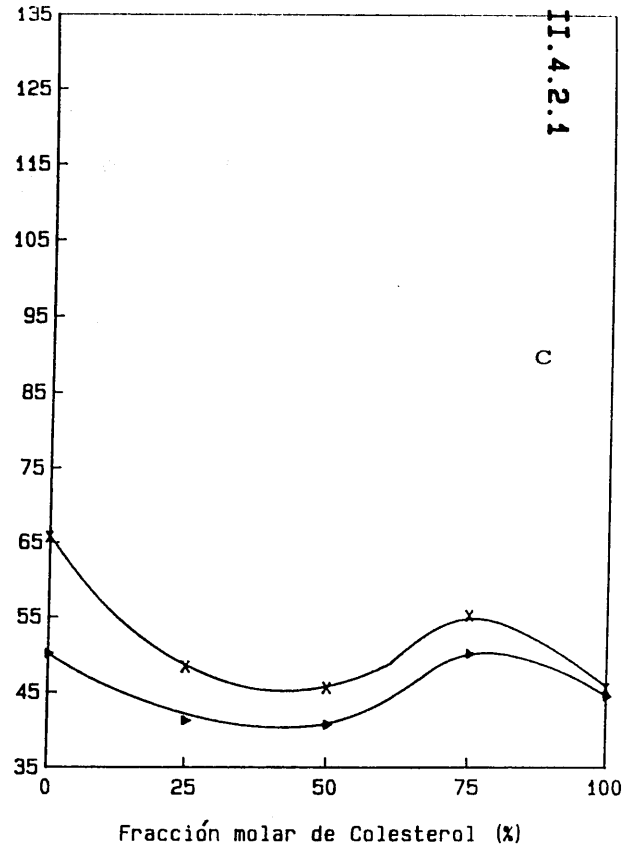
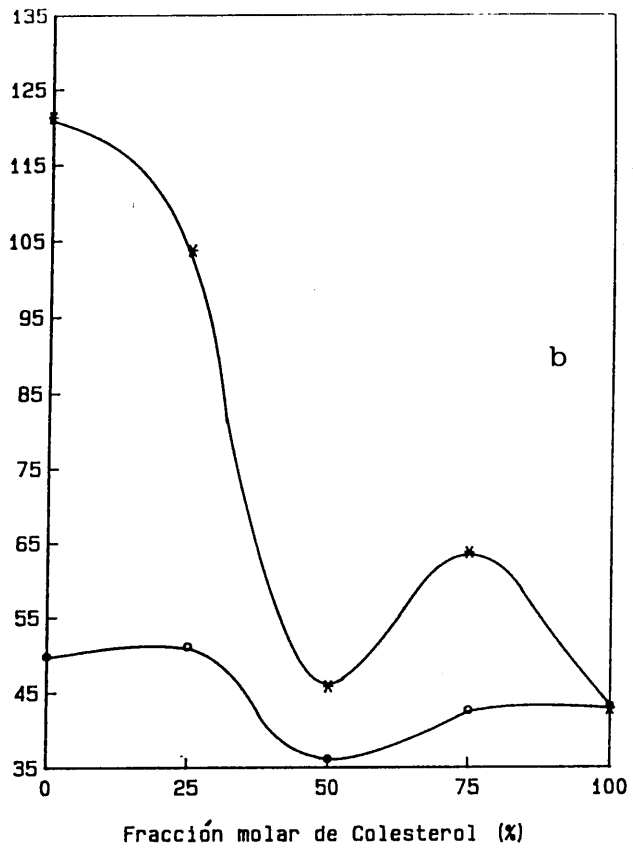
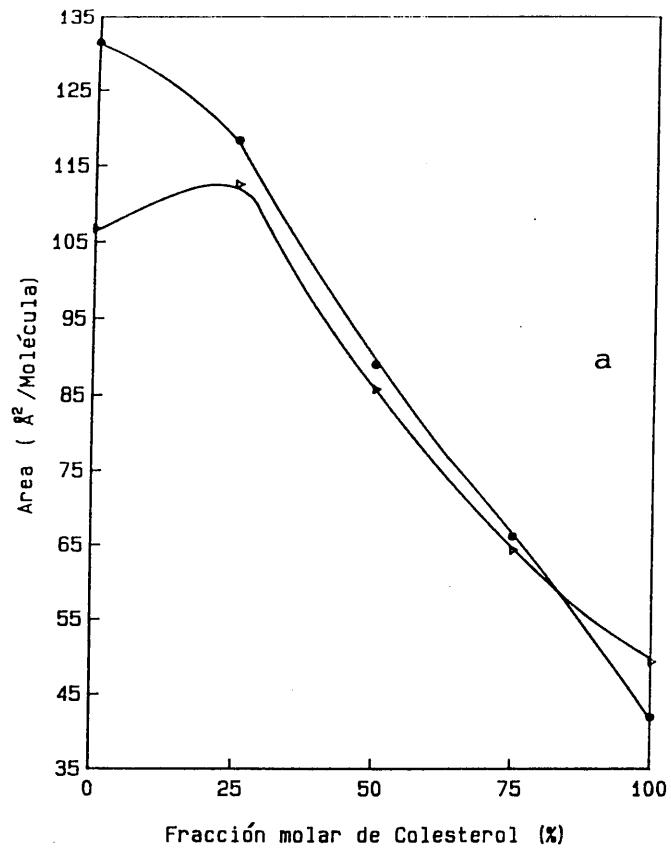


Fig. 2.43. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido litocólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=5\text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH=2 y 4; (b) pH=6 y 8; (c) pH=10 y 12



11.4.2.1



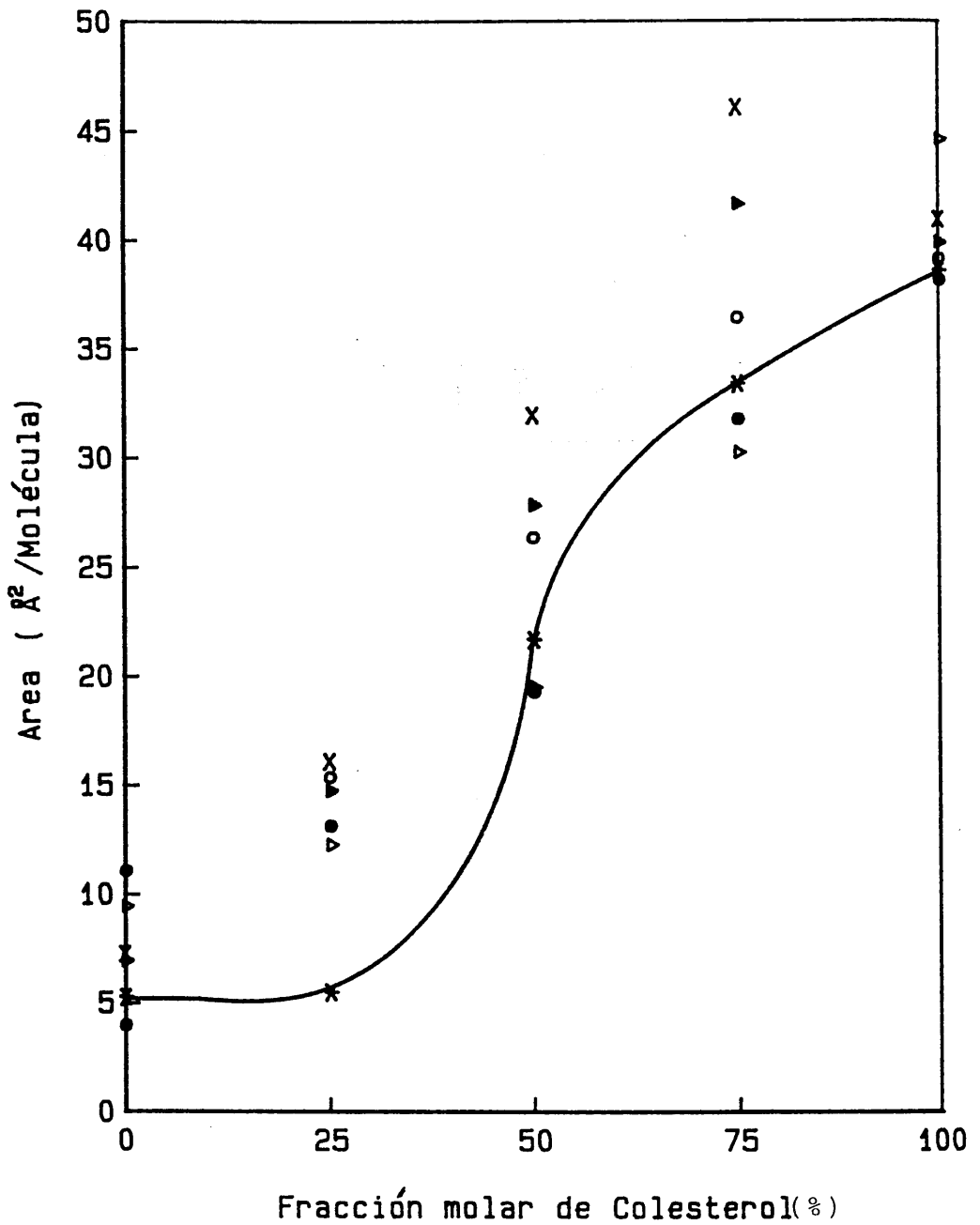
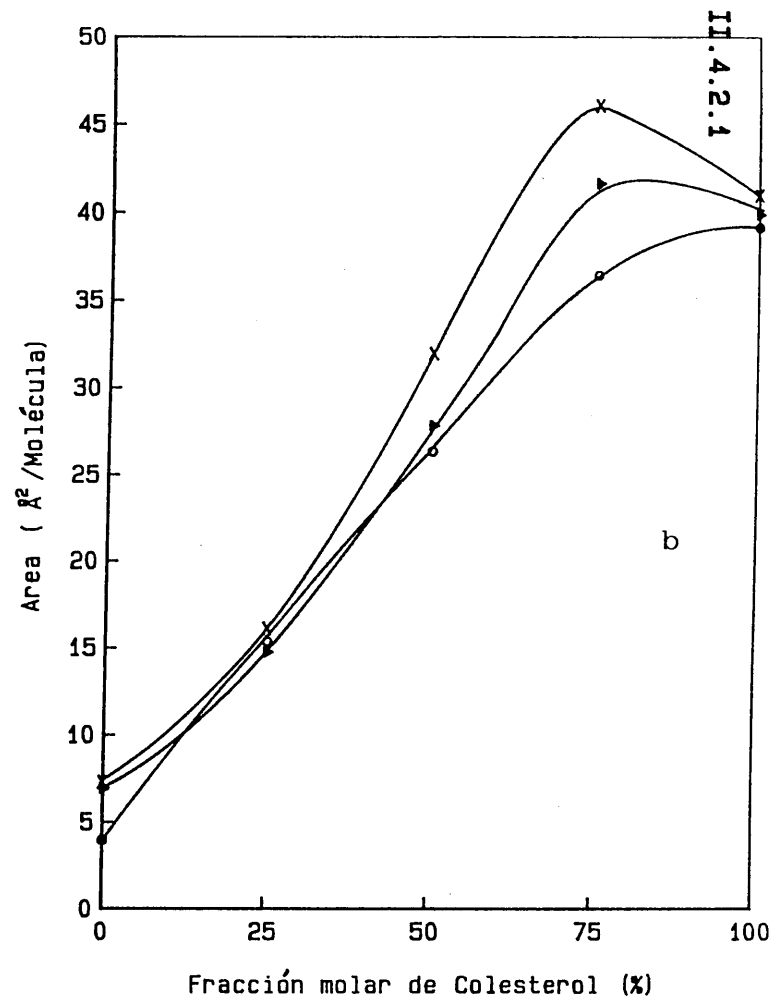
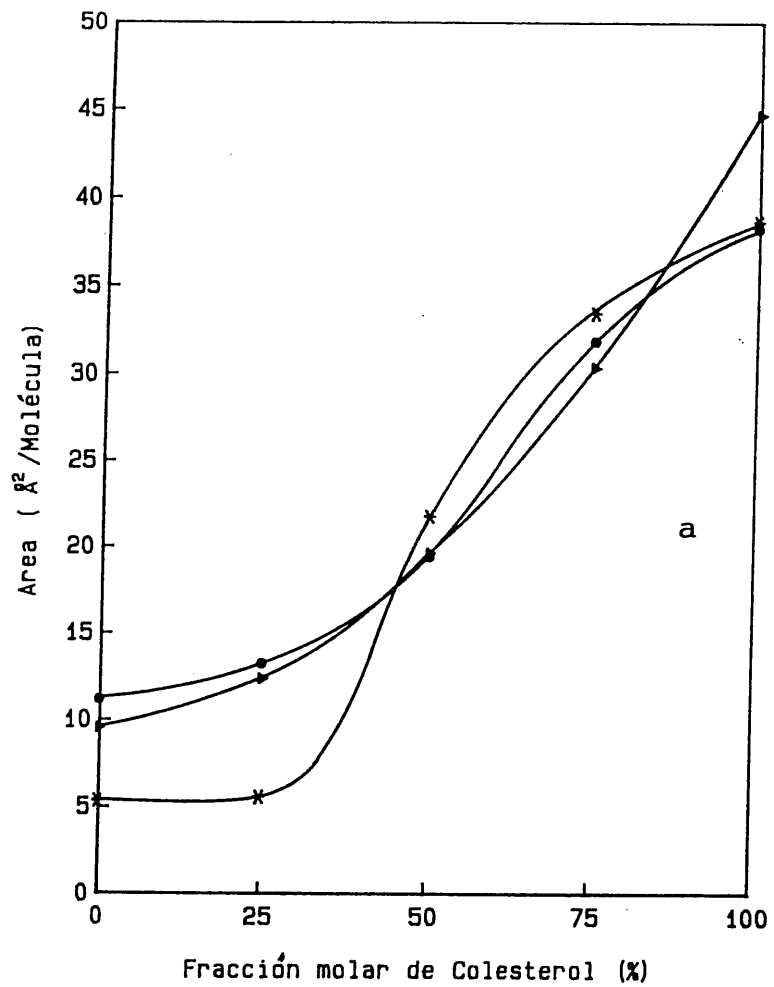


Fig. 2.44. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido litocólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=40 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH=2, 4 y 6; (b) pH=8, 10 y 12



ácidos, 2.00 y 4.00, y $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$ las áreas presentan desviaciones positivas de la linealidad y, por tanto, deducimos que los componentes son miscibles e interaccionan extendiéndose entre sí. A $\Pi = 40 \text{ mNm}^{-1}$ y a estos mismos pHs, las desviaciones son negativas, es decir, los componentes serán también miscibles en la película. Estos resultados se deben al hecho de que a $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$ las monocapas se encuentran en estado "líquido- extendido", mientras que a $\Pi = 40 \text{ mNm}^{-1}$ presentan todas ellas características de películas condensadas.

La situación es diferente a pHs básicos, para presiones bajas los valores correspondientes a las proporciones 25 y 50% de colesterol se desvían negativamente y a la fracción de 75% lo hacen de forma positiva. Tendríamos así películas con componentes miscibles entre sí en todo el intervalo de concentración. A presiones altas, 40 mNm^{-1} , las desviaciones de la idealidad son todas positivas, es decir, a pHs básicos y altas presiones, el ácido litocólico y el colesterol sufren interacciones repulsivas.

Finalmente, a $\text{pH} = 6.00$ y $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$, se observan desviaciones negativas a la fracción de 50% y positivas para el resto de las proporciones. A este mismo pH y $\Pi = 40 \text{ mNm}^{-1}$, tienen lugar condensaciones a 25 y 50% de colesterol.

Con el objetivo de completar el estudio sobre la miscibilidad de estos dos componentes, representamos las presiones de colapso en función de la fracción molar de colesterol a distintos pHs (Fig. 2.45(a,b,c)) y aplicamos la regla de fase bidimensional al equilibrio entre la monocapa y la fase colapsada.

De la observación de esta figura destacamos, en primer lugar, que a los pHs 2.00 y 4.00 las monocapas de ácido litocólico colapsan a una presión superficial superior a 60 mNm^{-1} , mientras que para el resto de los pHs lo hacen a presiones inferiores a 45 mNm^{-1} , a diferencia de las películas que contienen colesterol, las cuales colapsan en torno a 45 mNm^{-1} . Este hecho provoca que la variación de la

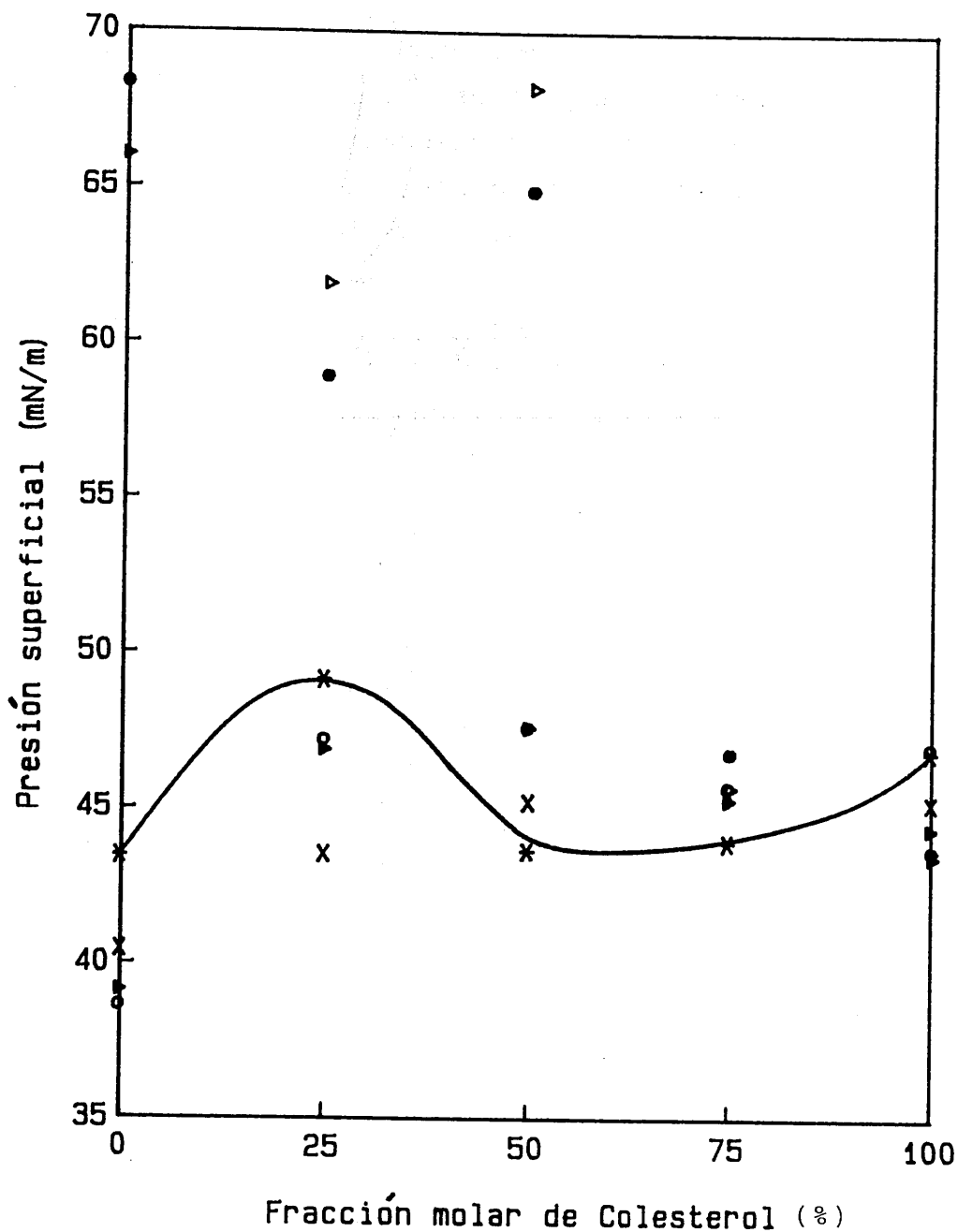
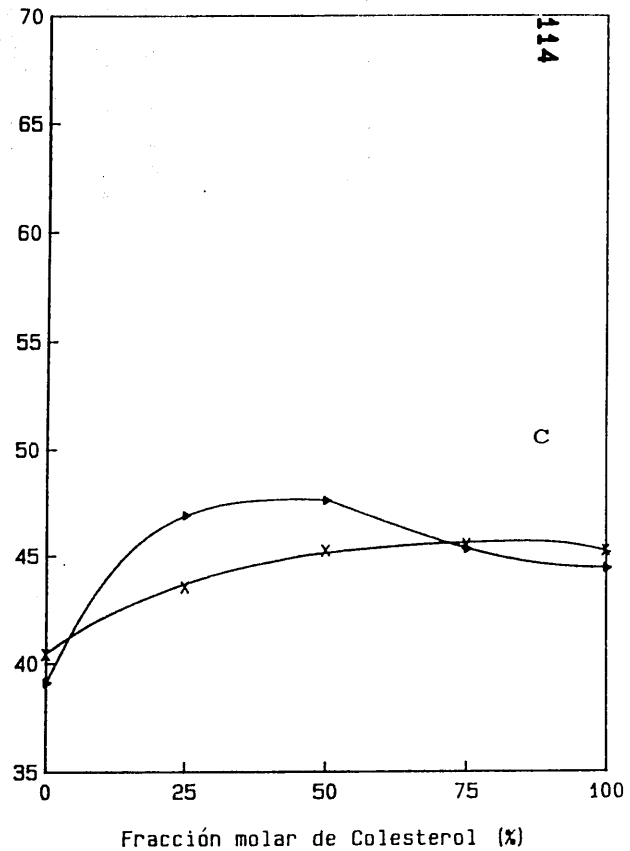
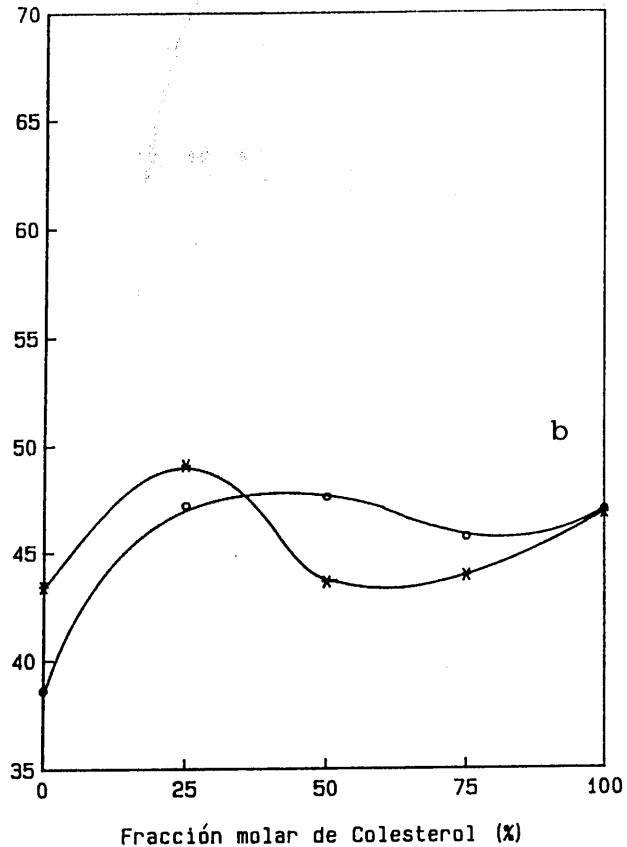
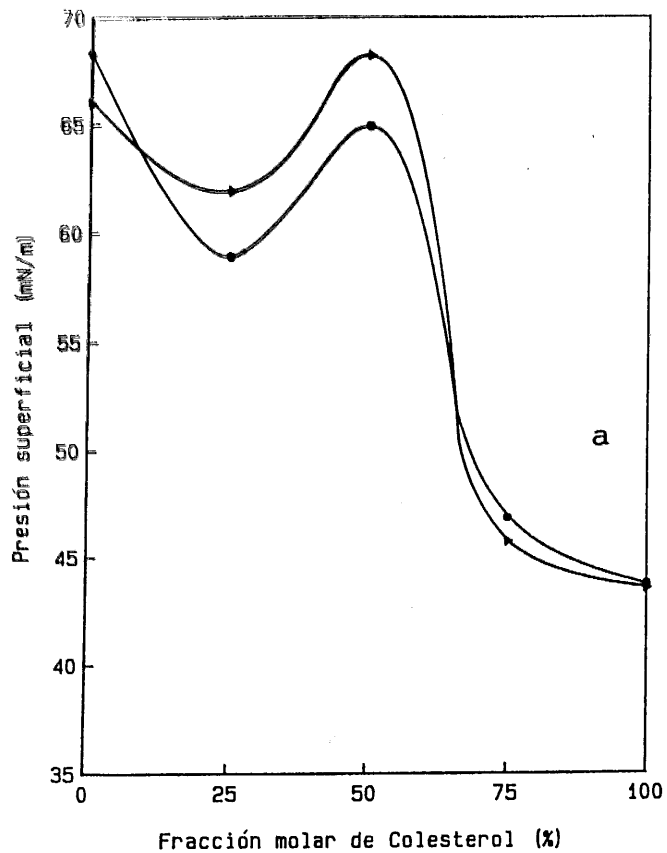


Fig. 2.45. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido litocólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs: (a) pH=2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



presión de colapso con la composición sea, a pHs ácidos, distinta a la que presenta para otros pHs.

En segundo lugar, observamos que la presión de colapso varía siempre con la composición, excepto a los pHs 6.00 y 12.00, donde distinguimos una zona de pendiente nula entre las fracciones 50 y 75% de colesterol y entre 50 y 100% de colesterol, respectivamente.

A pHs = 2.00 y 4.00 y a la presión superficial de 40 mNm^{-1} cercana al colapso, comprobamos que los componentes son miscibles, por tanto, aplicando la regla de las fases, tenemos $C = 4$ (aire, agua, dos componentes), $\Phi = 3$ (aire, agua, fase colapsada), $\Psi = 3$ (fase colapsada /aire, fase colapsada/agua, agua/aire) y $S = 3$ (fase colapsada/aire, fase colapsada/agua, agua/aire), es decir, $F = 1$, lo que está de acuerdo con los resultados experimentales, ya que la presión de colapso varía con la composición, en ambos casos. Queda demostrado, pues, que el ácido litocólico y el colesterol son miscibles entre sí, tanto en la película monomolecular como en la fase colapsada a pHs ácidos.

A pH = 6.00 la situación de miscibilidad para estas películas mixtas es la misma que a pH = 4.00, sin embargo, en el diagrama presión de colapso-composición figura una zona de pendiente nula entre las proporciones 50 y 75% de colesterol, es decir, en este intervalo, donde $F = 0$, se deduce la existencia de dos fases colapsadas, una rica en colesterol y otra en ácido litocólico.

Cuando el pH de la subfase es básico (8.00-12.00), las desviaciones de la linealidad para el área molecular son todas positivas, luego los componentes ácido litocólico y colesterol siguen siendo miscibles entre sí, y al variar la presión de colapso continuamente con la composición, estas películas sólo podrán colapsar formando una sola fase colapsada constituida por ambos componentes miscibles entre sí.

Finalmente, a las condiciones experimentales de pH

más básico, 12.00, se distinguen dos comportamientos distintos en el diagrama de presión de colapso-fracción molar de colesterol (Fig. 2.45c), uno entre las proporciones 0 y 50% de colesterol, donde la presión varía con la composición, y otro entre 50 y 100% de colesterol, donde estas variables son independientes. Para la primera situación tendremos una fase colapsada compuesta por los dos componentes miscibles entre sí, y para el segundo caso estarán presentes dos fases colapsadas inmiscibles entre ellas y formadas por colesterol y ácido litocólico.

A continuación realizamos este mismo estudio modificando la temperatura del sistema. Para ello, presentamos las figuras 2.46(a,b) y 2.47. En la primera representamos áreas por molécula en función de la fracción molar de colesterol a pH = 6.00 y distintas temperaturas, 25, 30, 35 y 40°C, para la presión superficial $\Pi = 40 \text{ mNm}^{-1}$, cercana a los valores de las presiones de colapso, que representamos en la segunda figura también en función de la fracción molar de colesterol al mismo pH y para idéntico intervalo de temperaturas.

En la Fig. 2.46 observamos que, para todas las temperaturas estudiadas, los valores de área por molécula a la fracción de 25% de colesterol se desvían negativamente del comportamiento lineal; los valores correspondientes a la fracción 50% no se desvían y los obtenidos para un 75% de colesterol sufren una desviación positiva. A estas temperaturas, las presiones de colapso varían continuamente con la composición, por lo que, de acuerdo con la regla de fase bidimensional, existirá una sola fase colapsada en todo el intervalo de concentración formada desde 0 hasta 50% molar de colesterol por los dos componentes miscibles entre sí; a 50% de colesterol, estará constituida por el componente menos estable, que excepto a 30°C es el ácido litocólico, y a partir de esta proporción hasta 100% de colesterol estará nuevamente constituida por ambos componentes, aunque en esta región la proporción de colesterol en esta fase será mayor

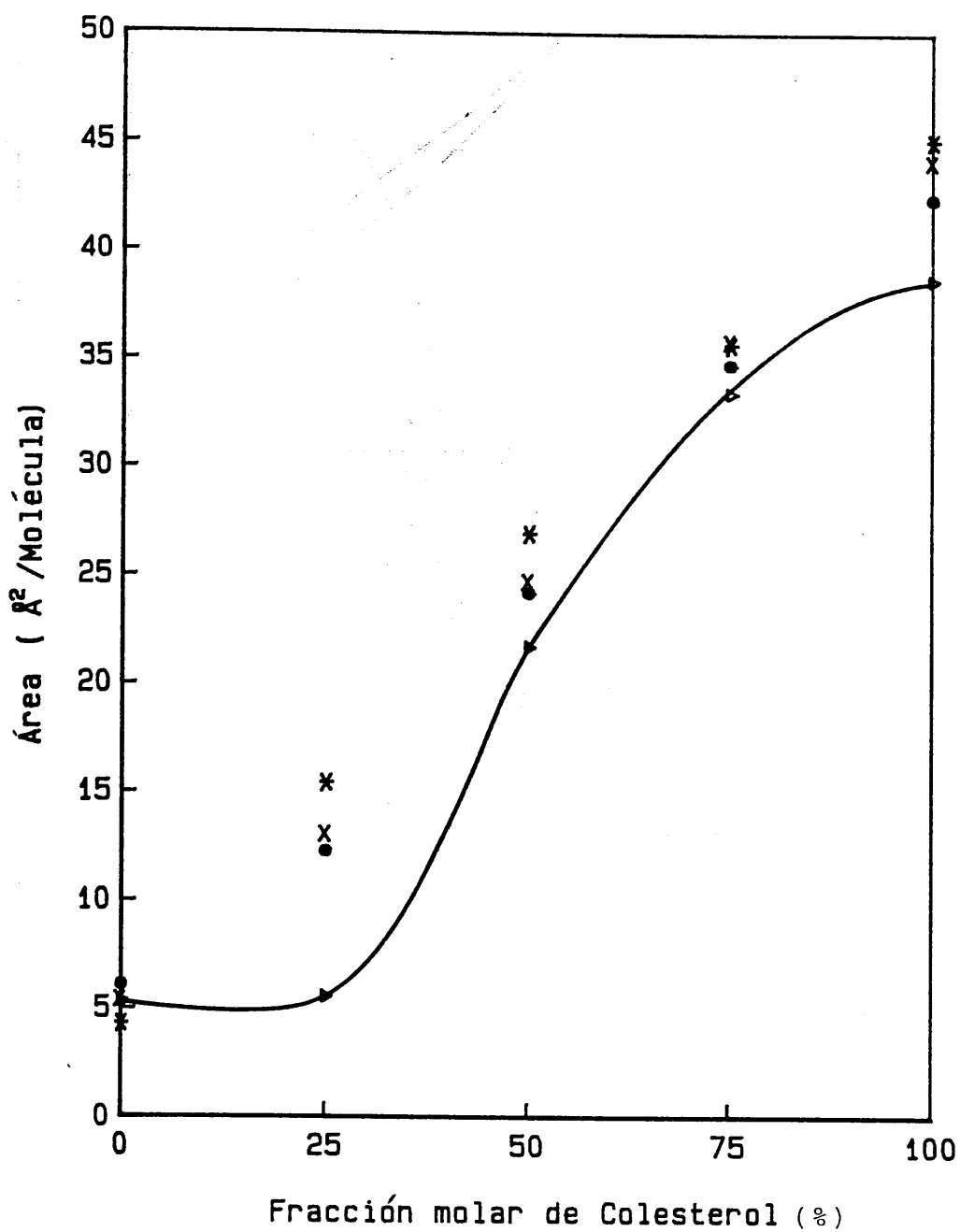
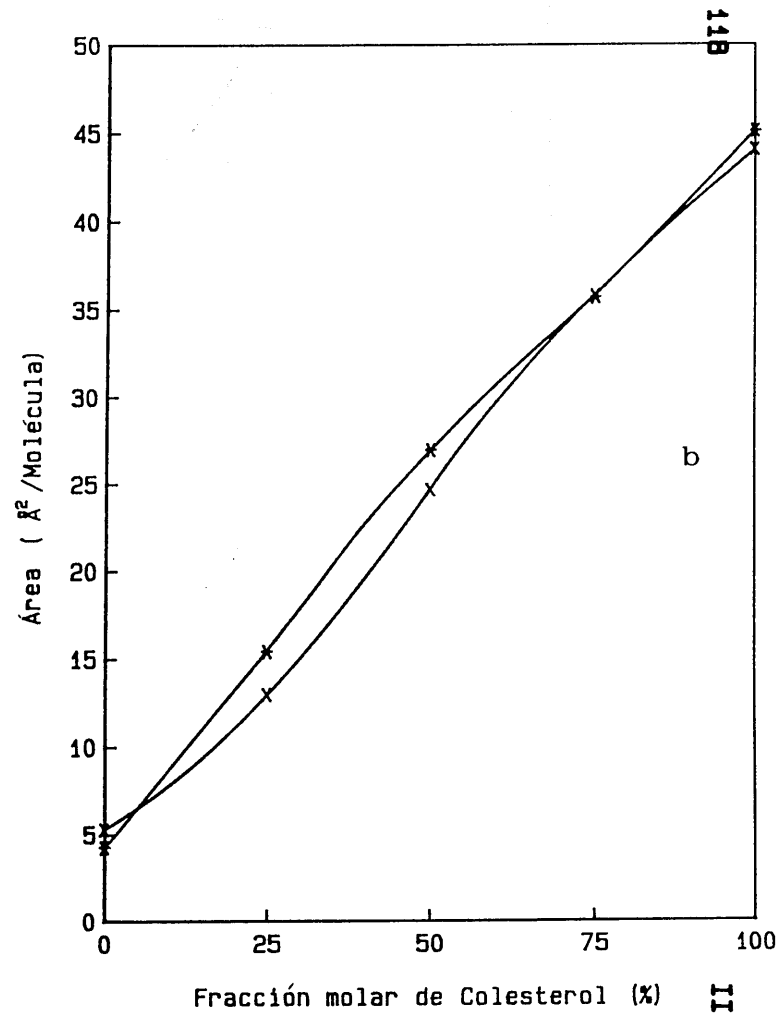
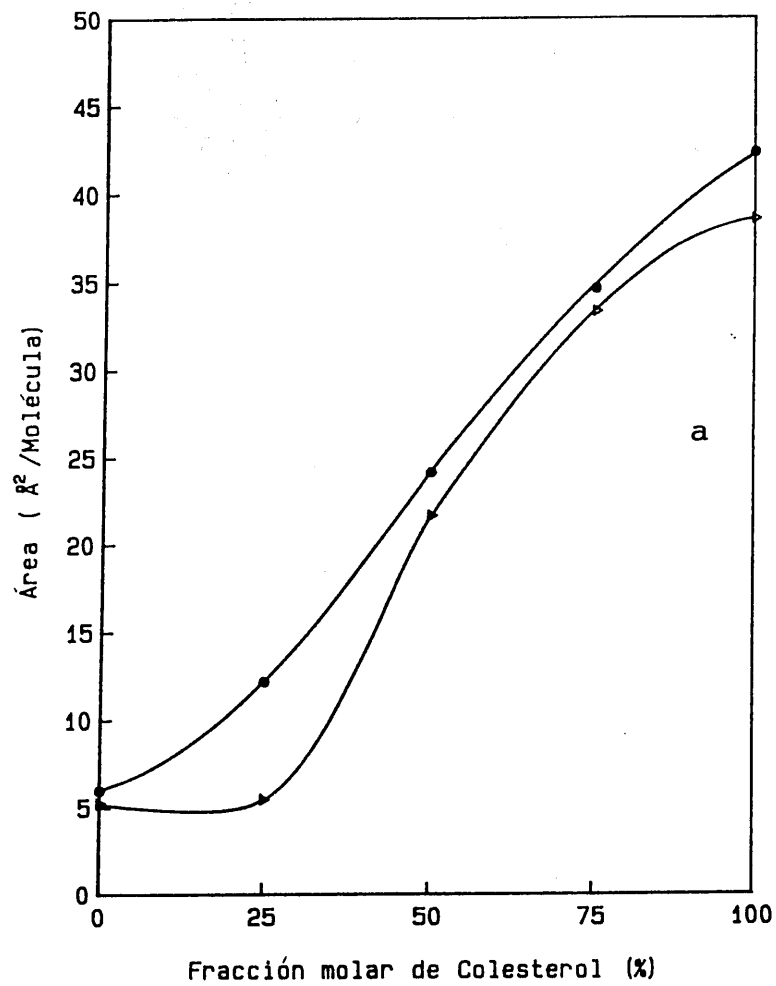


Fig. 2.46. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido litocólico y colesterol a $\text{pH}=6$, $\Pi=40 \text{ mNm}^{-1}$ y distintas temperaturas: (a) $T=25$ y 30°C ; (b) $T=35$ y 40°C



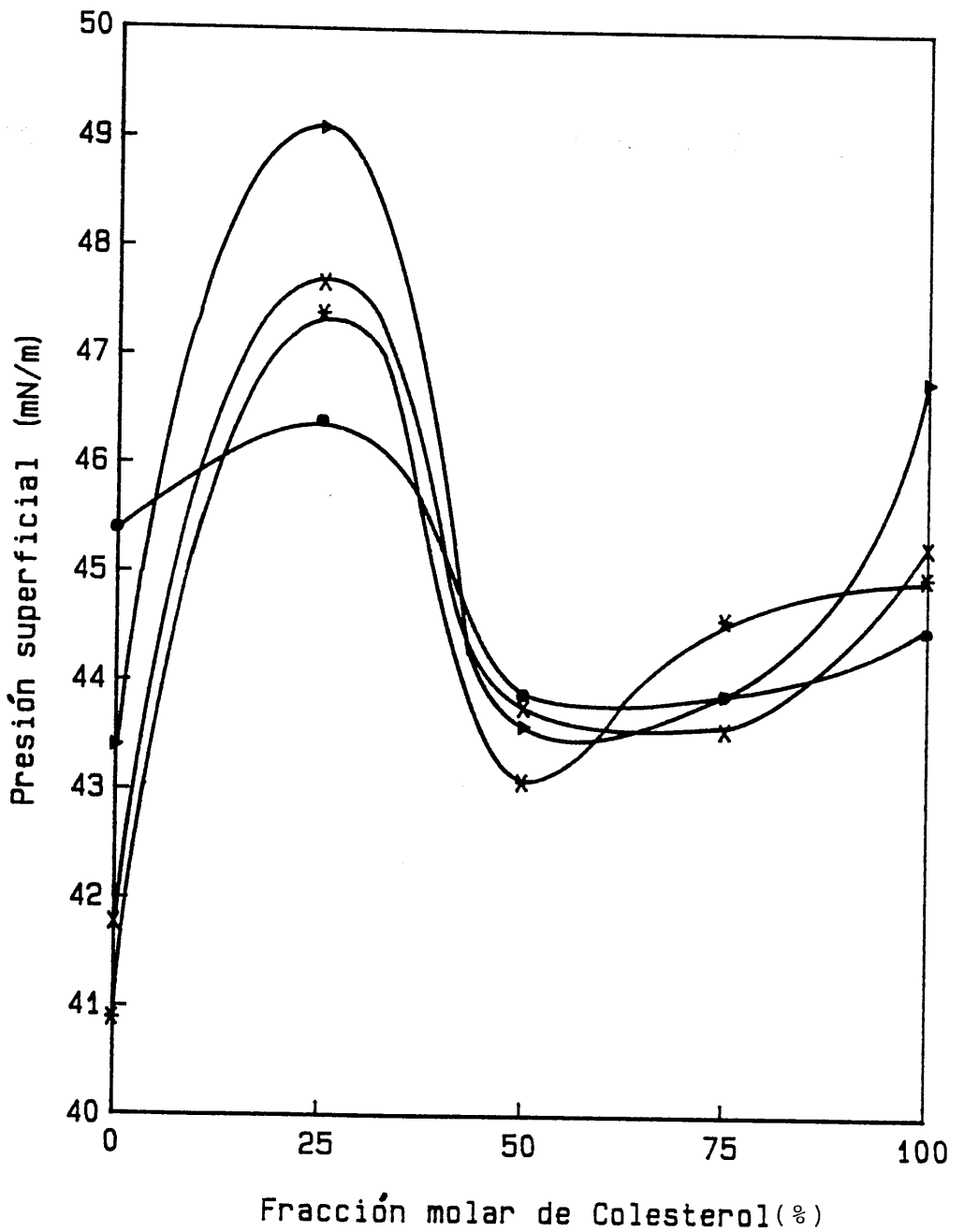


Fig. 2.47. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido litocólico y colesterol a pH=6 y distintas temperaturas

al igual que en la monocapa.

4.3 MONOCAPAS MIXTAS DE ACIDO LITOCOLICO-L- α -FOSFATIDILCOLINA

Las isoterms experimentales registradas a lo largo de la compresión de las películas monomoleculares mixtas constituidas por ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina se presentan en las Figs. 2.48-2.53 a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y diferentes pHs y en las Figs. 2.54-2.56 a $\text{pH} = 6.00$ y distintas temperaturas.

Las monocapas simples de L- α -fosfatidilcolina se encuentran más condensadas que las que contienen ácido litocólico sólo a presiones superficiales bajas (inferiores a la presión de transición de fase bidimensional), y más extendidas que las de ácido a altos valores de presión superficial. Todas las películas mixtas muestran un comportamiento intermedio a estas películas simples. El compuesto L- α -fosfatidilcolina ejerce así un efecto condensante sobre el ácido litocólico en estas monocapas, aunque más débil que el ejercido por el colesterol.

Otro comportamiento generalizado a todas las películas reside en una progresiva extensión de las mismas a medida que aumenta el pH y la temperatura.

A pHs ácidos, las películas simples de ácido litocólico y las que contienen un alto porcentaje del mismo presentan una zona de transición de fase entre un estado "líquido-extendido" y otro "líquido-condensado", que disminuye a pHs intermedios, desapareciendo finalmente cuando las películas se encuentran en medio básico, donde presentan características de películas extendidas. Este mismo efecto es observado cuando aumentamos la temperatura de 25 a 40°C .

La presión de transición de fase para las películas que la presentan se encuentra entre 10 y 20 mNm^{-1} , y su

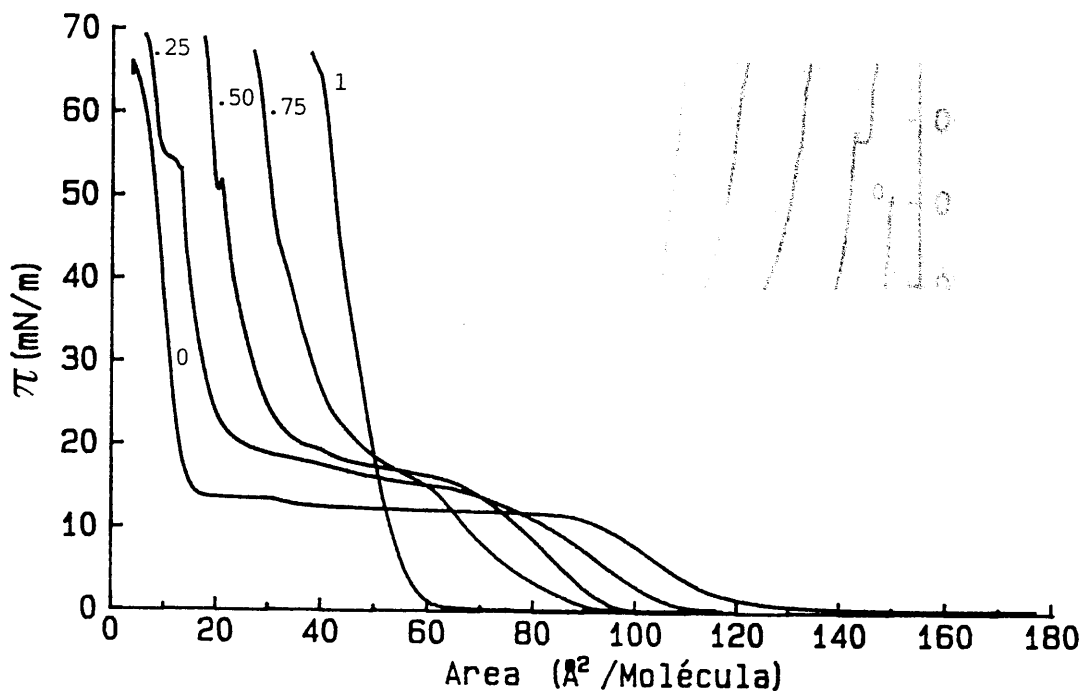


Fig. 2.48. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lítocólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=2 y T=25 $^\circ$

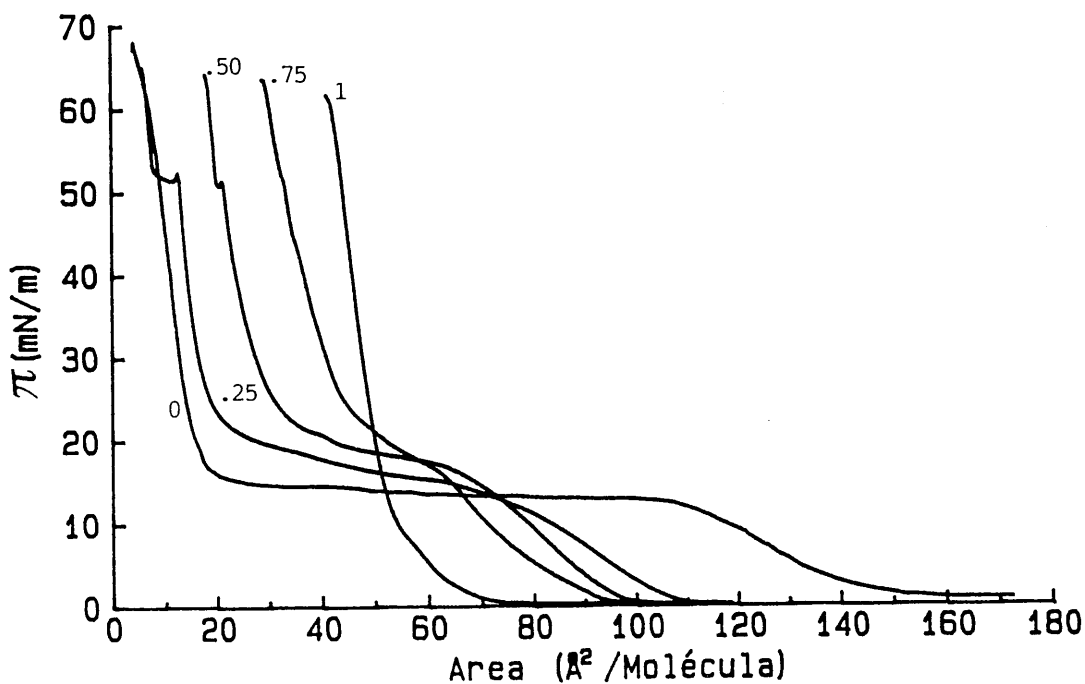


Fig. 2.49. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lítocólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=4 y T=25 $^\circ$

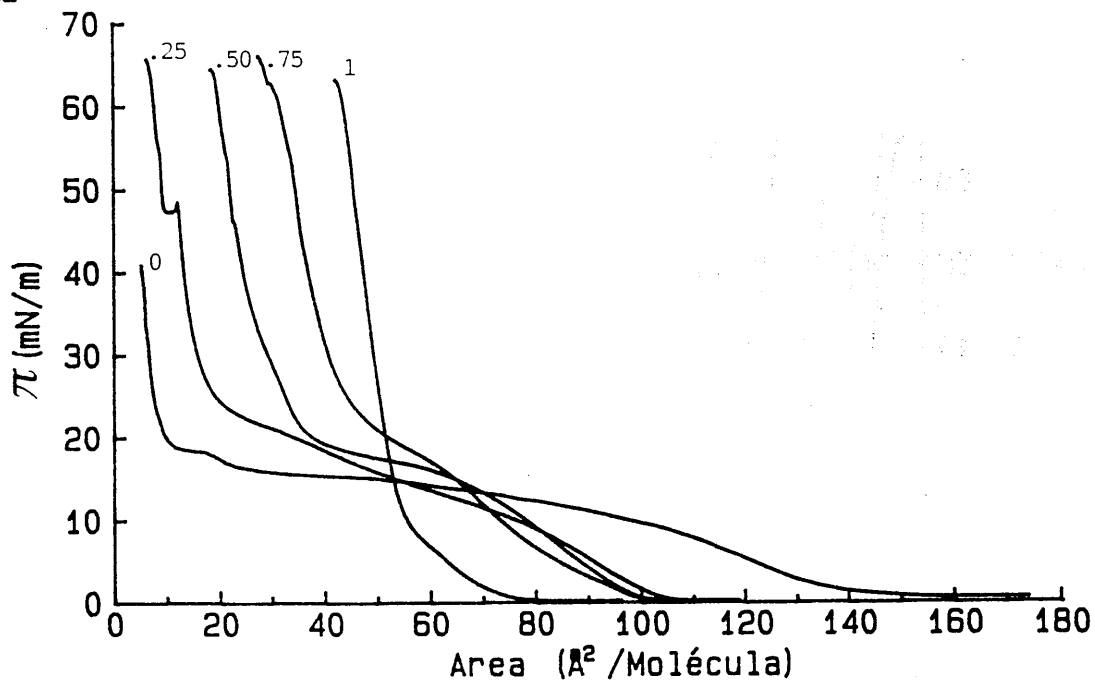


Fig. 2.50. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=25 $^{\circ}$

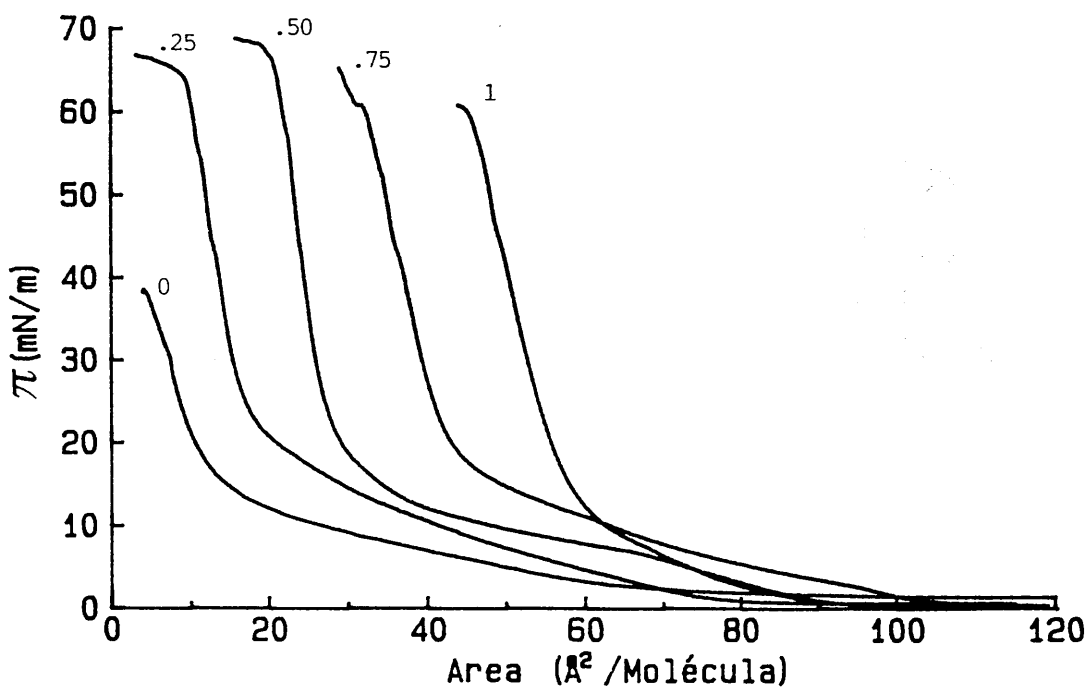


Fig. 2.51. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y L- α -fosfatidilcolina a pH=8 y T=25 $^{\circ}$

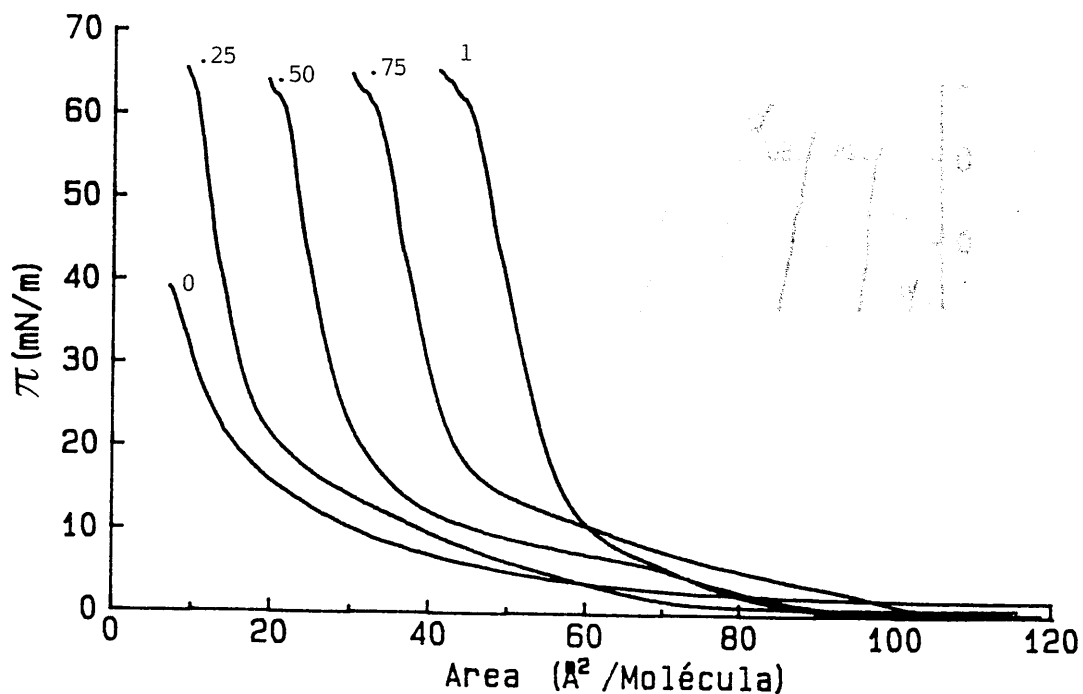


Fig. 2.52. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y L- α -fosfatidilcolina a pH=10 y T=25°C

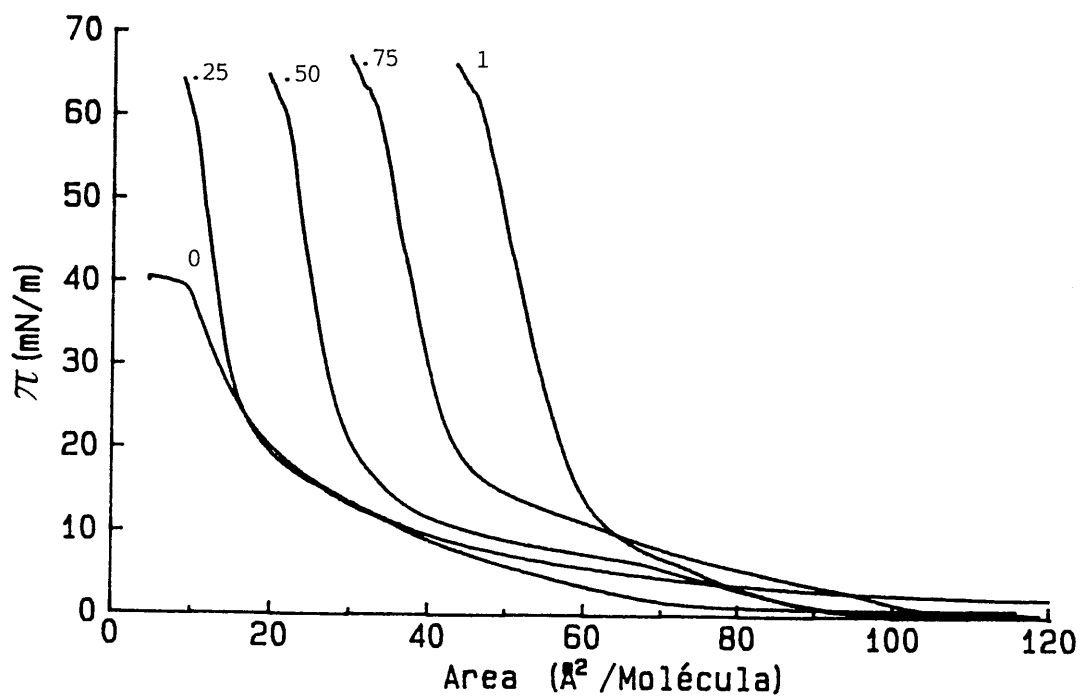


Fig. 2.53. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y L- α -fosfatidilcolina a pH=12 y T=25°C

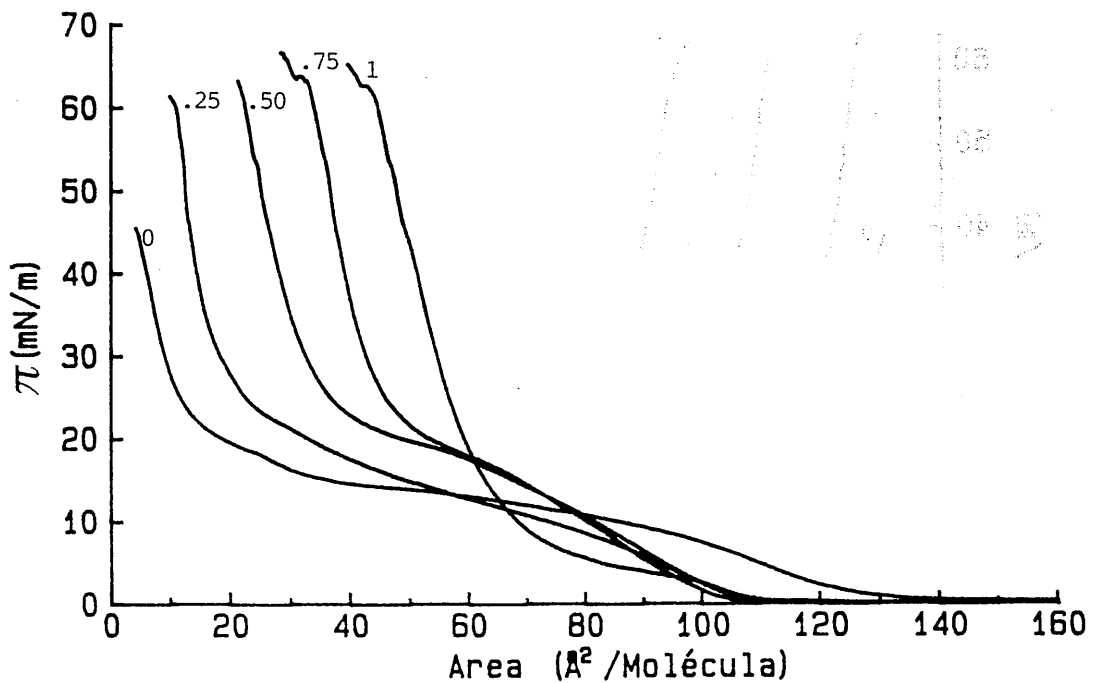


Fig. 2.54. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=30°C

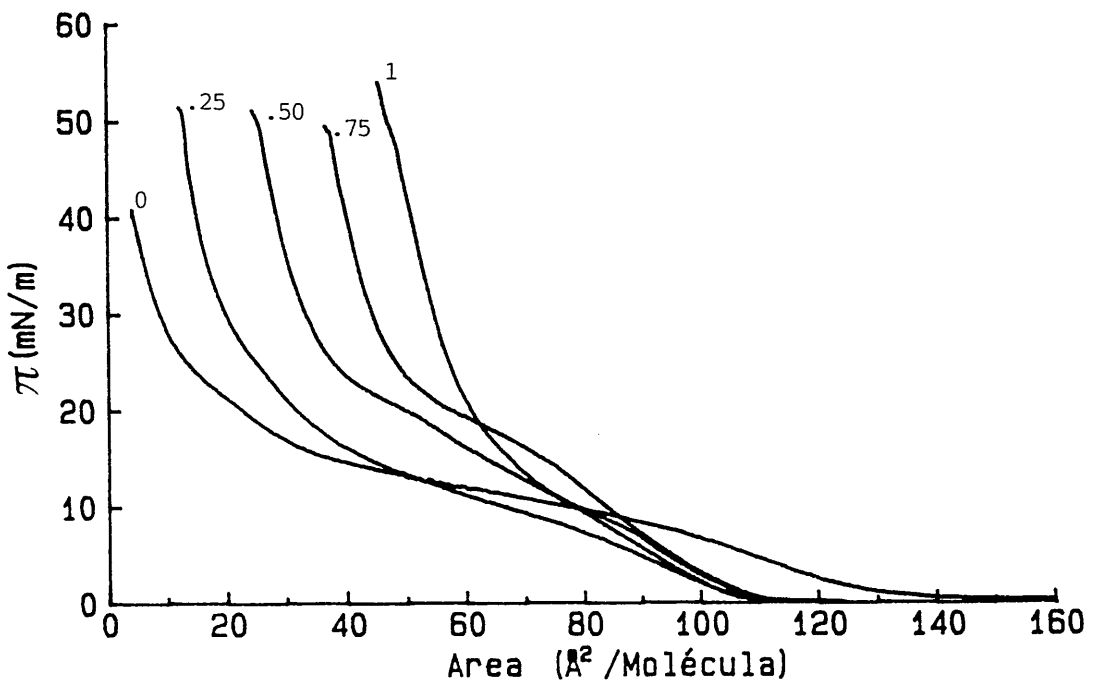


Fig. 2.55. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido lipoico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=35°C

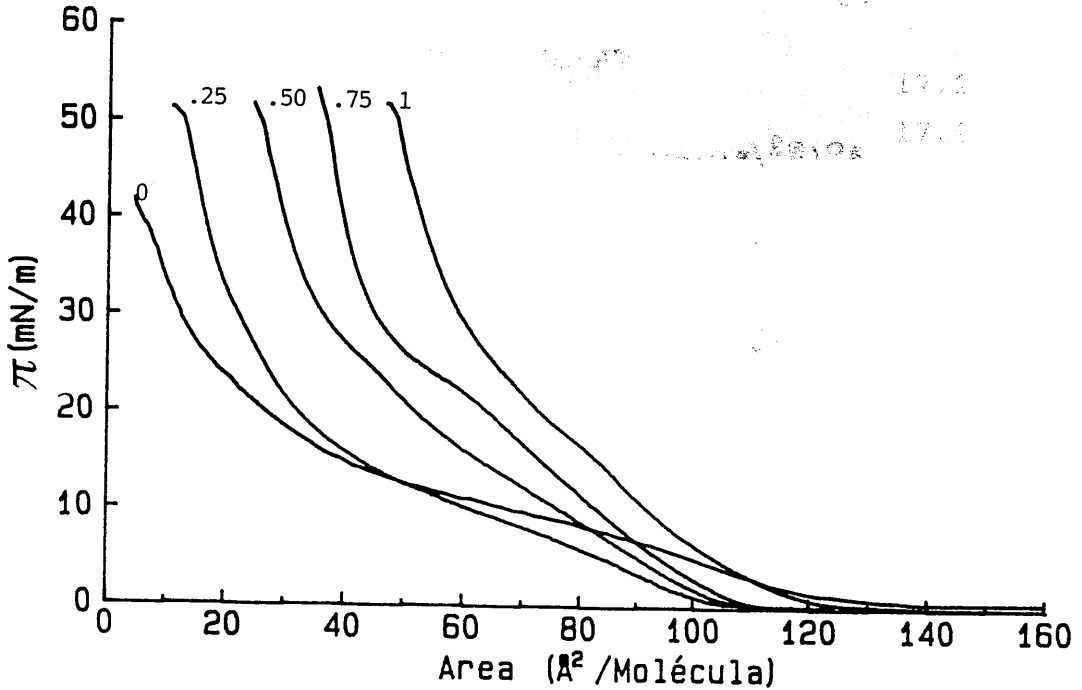


Fig. 2.56. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=40°C

valor se modifica algo con el contenido de lecitina en la película, ya que las monocapas de lecitina también sufren esta transición entre dos estados superficiales, a diferencia de las constituidas por colesterol.

En las tablas siguientes (II.22-II.27) presentamos algunos de los parámetros superficiales característicos para estas películas, donde los símbolos son conocidos.

TABLA II.22

pH	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
2.00	20.03	69.2	5.97
4.00	17.70	65.1	5.81
6.00	19.52	65.7	6.21
8.00	20.16	66.8	3.10
10.00	20.35	65.4	8.96
12.00	18.82	64.2	8.61

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Lecitina-75%Ac.Litocólico a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.23

T ($^\circ\text{C}$)	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
25	19.52	65.7	6.21
30	23.42	61.4	9.97
35	26.42	51.4	12.07
40	30.77	51.3	10.54

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Lecitina-75%Ac.Litocólico a $\text{pH}=6.00$ y distintas temperaturas

En general, destacamos entre estos datos que las presiones de colapso no se modifican prácticamente con el pH de la subfase, y sí lo hacen con la temperatura, presentando

valores inferiores a las temperaturas de 35 y 40°C, ya que un aumento de la misma en el sistema favorece la ruptura de las películas.

TABLA II.24

pH	A^0 (Å ² /moléc.)	Π_C (mN m ⁻¹)	A_C (Å ² /moléc.)
2.00	26.35	68.9	17.22
4.00	27.65	64.2	17.90
6.00	33.66	64.5	18.33
8.00	29.52	68.8	15.71
10.00	35.51	64.1	19.43
12.00	31.41	64.8	19.42

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Lecitina-50%Ac.Litocólico a T=25°C y distintos pHs

TABLA II.25

T(°C)	A^0 (Å ² /moléc.)	Π_C (mN m ⁻¹)	A_C (Å ² /moléc.)
25	33.66	64.5	18.33
30	40.06	63.2	21.36
35	42.12	51.1	24.46
40	47.30	51.7	24.31

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Lecitina-50%Ac.Litocólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

4.3.1. Miscibilidad y Fases Superficiales

Comenzamos el estudio de la miscibilidad de los compuestos L- α -fosfatidilcolina y ácido litocólico en monocapas observando la Fig. 2.57, donde se representan áreas por molécula en función de la fracción molar de

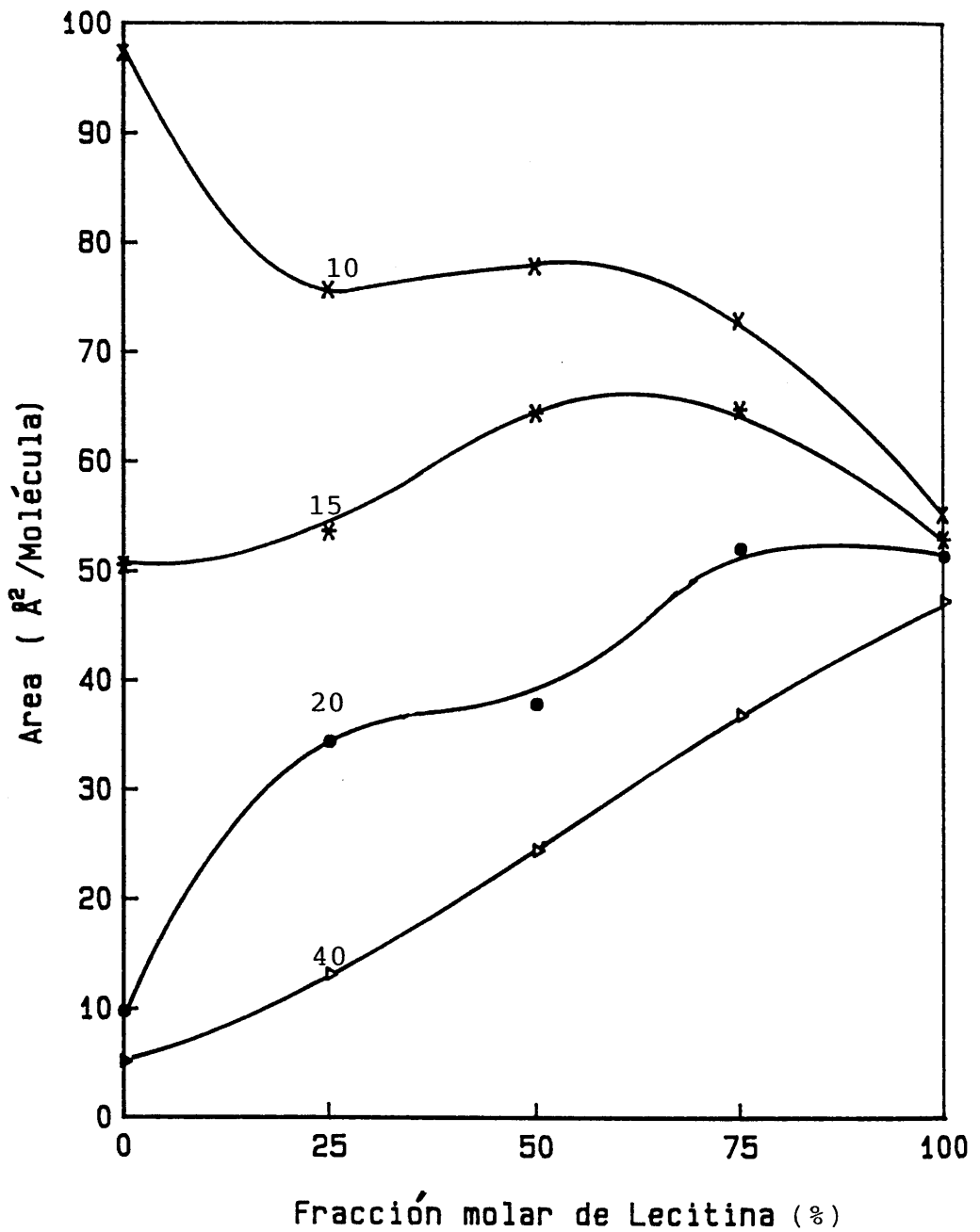


Fig. 2.57. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6, T=25°C y distintas presiones superficiales

lecitina a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$ y a distintas presiones superficiales.

TABLA II.26

pH	$A^{\circ}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_{\text{C}}(\text{mN m}^{-1})$	$A_{\text{C}}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
2.00	39.41	67.2	26.81
4.00	49.89	63.6	29.00
6.00	48.48	66.0	27.50
8.00	46.35	65.2	28.83
10.00	45.94	64.9	29.92
12.00	46.28	67.2	29.74

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Lecitina-25%Ac.Litocólico a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.27

$T(^{\circ}\text{C})$	$A^{\circ}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_{\text{C}}(\text{mN m}^{-1})$	$A_{\text{C}}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
25	48.48	66.0	27.50
30	50.02	66.6	28.53
35	53.90	51.7	32.75
40	51.53	53.3	35.06

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Lecitina-25%Ac.Litocólico a $\text{pH}=6.00$ y distintas temperaturas

Para una presión superficial de 5 mNm^{-1} , podemos afirmar que estos dos componentes, ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina, son miscibles entre sí en la monocapa y para todo el intervalo de composición. Cuando aumenta la presión superficial, destacamos dos resultados, uno es que a la proporción 75% de lecitina y 25% de ácido litocólico, ambos componentes son inmiscibles en la película monomolecular a presiones superficiales superiores a 15 mNm^{-1} , y el

otro hecho es que a medida que aumenta la presión las áreas moleculares pasan de mostrar desviaciones positivas de la linealidad a presentar desviaciones negativas a $\Pi = 40$ mNm^{-1} , es decir, a esta presión, las interacciones entre ambos componentes serán atractivas dado el carácter condensado de las películas.

A continuación presentamos los resultados obtenidos a $\Pi = 40$ mNm^{-1} a diferentes temperaturas y pHs, con objeto de estudiar el efecto de ambas variables sobre las interacciones entre ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina en monocapas mixtas.

El efecto de la temperatura sobre el grado de miscibilidad de estos dos componentes puede interpretarse a partir de las Figs. 2.58(a,b) y 2.59, donde se representan los valores de área por molécula y presión de colapso, respectivamente, en función de la fracción molar de lecitina a pH = 6.00 y para distintas temperaturas, 25,30,35 y 40°C. Así pues, este efecto sobre el comportamiento de las películas de ácido litocólico y lecitina a la presión superficial $\Pi = 40$ mNm^{-1} , se traduce en una progresiva disminución de las interacciones entre los dos componentes a medida que aumenta la temperatura y el contenido de lecitina en la monocapa, ya que a 25°C vimos que el ácido litocólico y la lecitina son miscibles entre sí, excepto cuando la proporción es de 75% de lecitina; a 30°C, los componentes dejan de ser miscibles a partir de un 50% de lecitina, y a 35 y 40°C, son inmiscibles en todo el intervalo de concentración.

En la Fig. 2.59 observamos que, excepto para la zona comprendida entre 25 y 50% de lecitina, a 40°C, las presiones de colapso varían continuamente con la composición o fracción molar de la monocapa, es decir, el número de grados de libertad en la regla de fases bidimensional será 1 para estos casos y sólo podrá formarse una única fase colapsada a la presión superficial de colapso. Cuando la temperatura del sistema es 25°C, esta fase estará formada

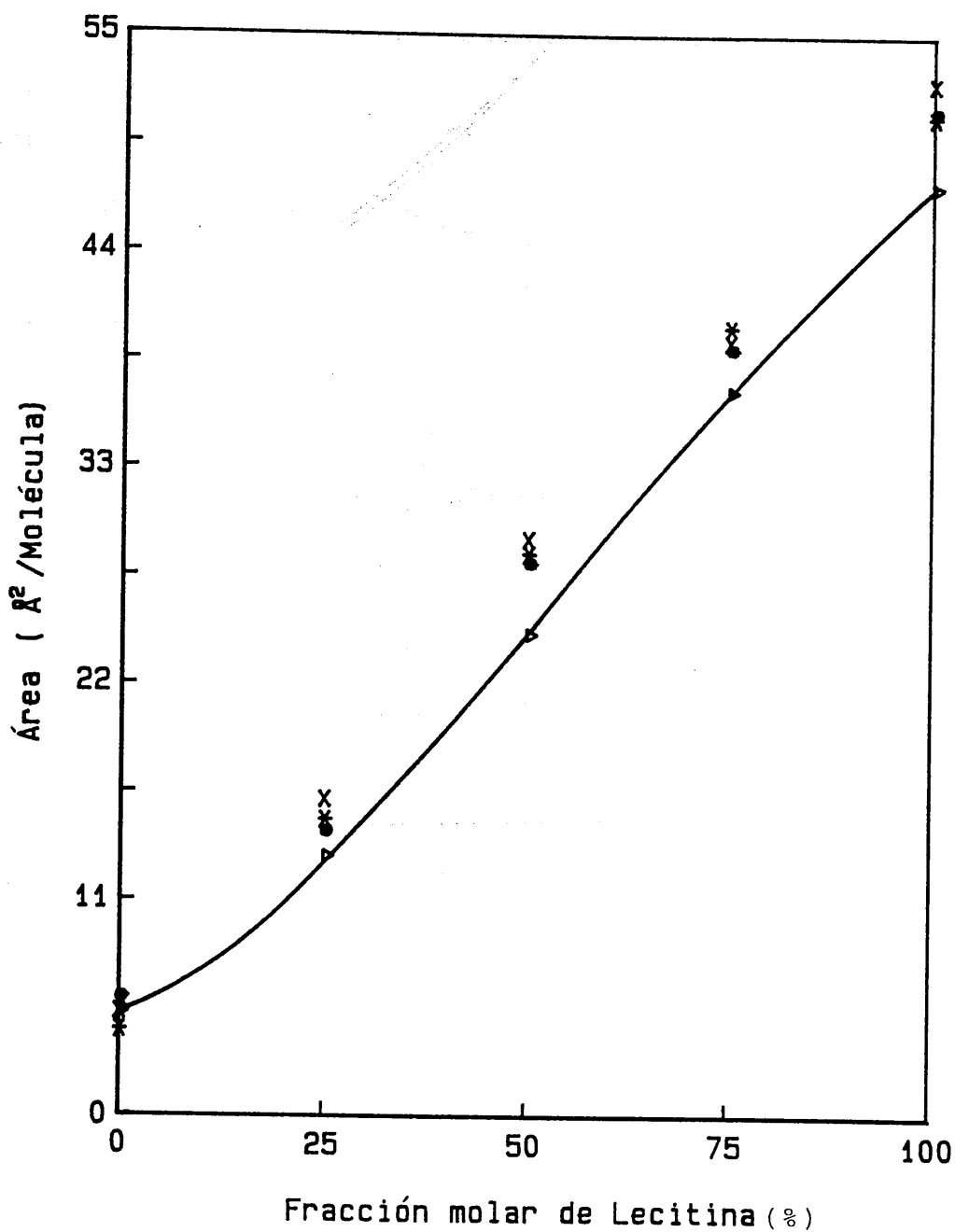
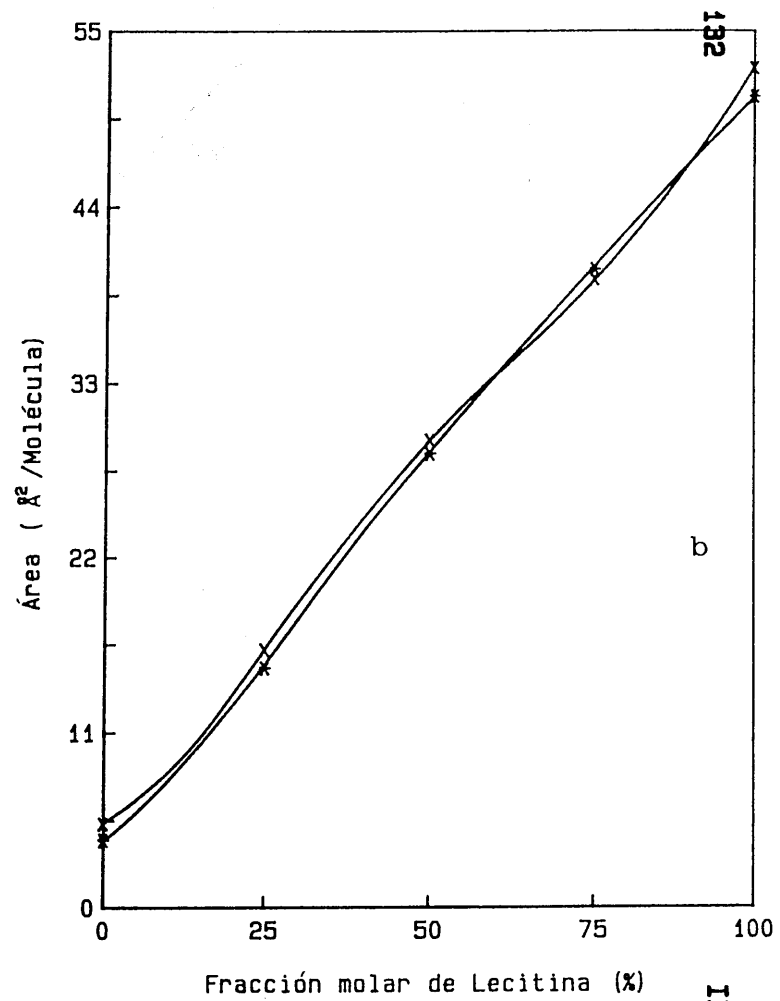
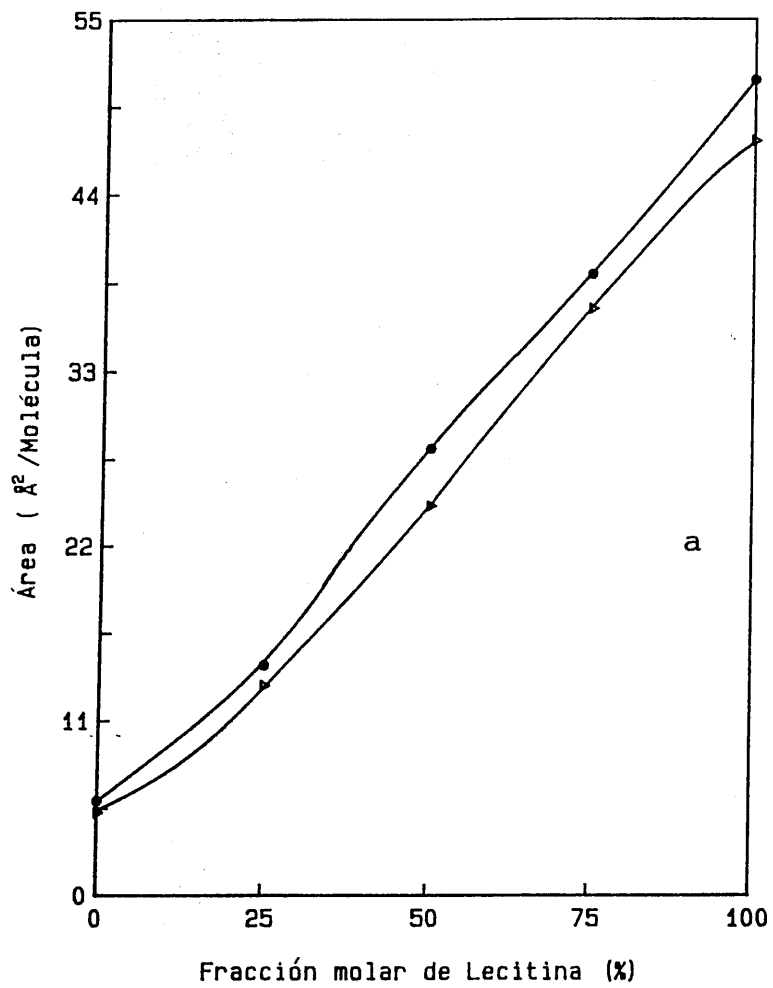


Fig. 2.58. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6, $\Gamma=40 \text{ mNm}^{-1}$ y distintas temperaturas: (a) T= 25 y 30°C; (b) T= 35 y 40°C



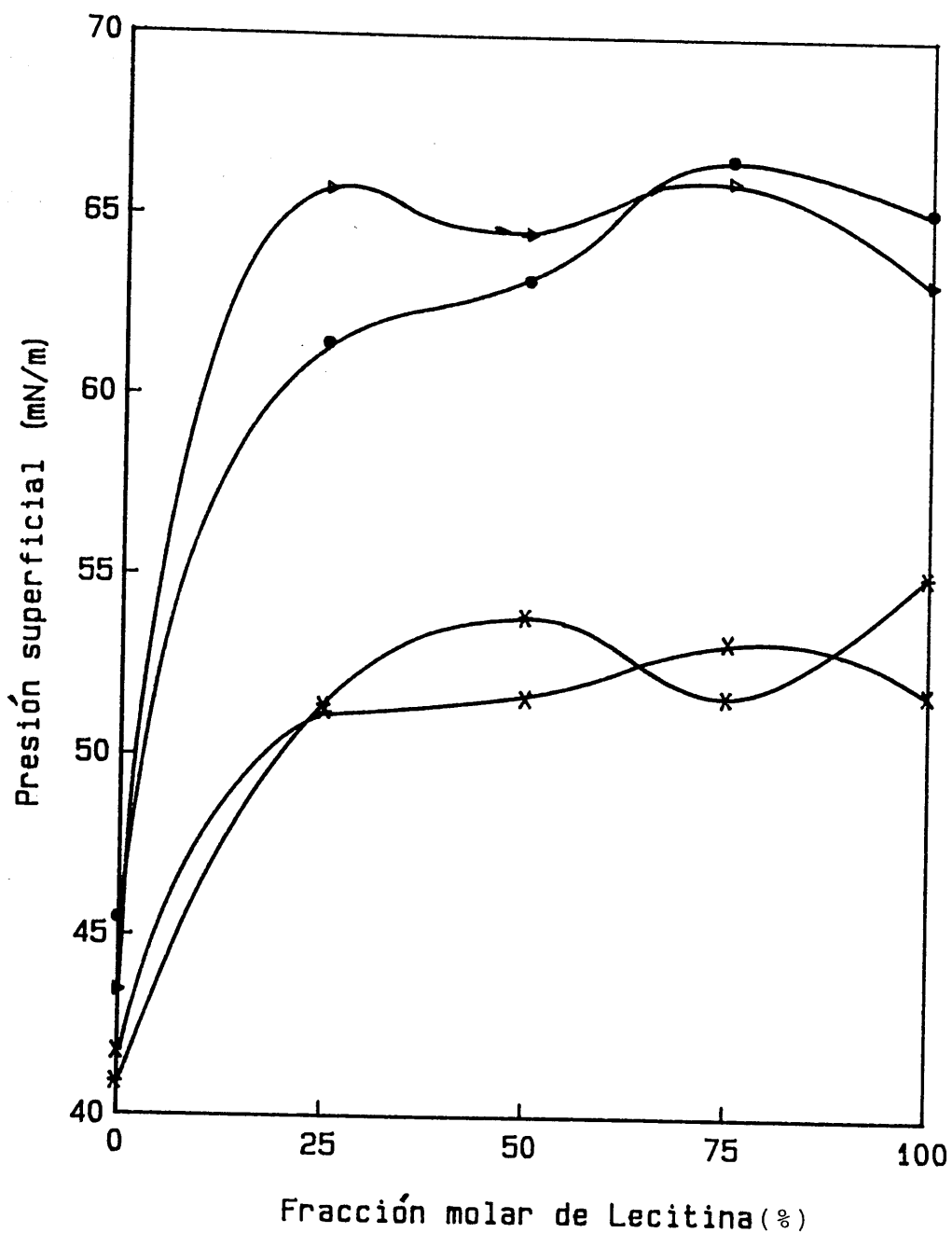


Fig. 2.59. Presión de colapso en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y distintas temperaturas

por ambos compuestos miscibles entre sí a 25 y 50 % de lecitina ; a 75% de lecitina, donde los componentes son inmiscibles en la película, saldrá el componente menos estable, en este caso el ácido litocólico, que es el que presenta una presión de colapso más baja, y formará la fase colapsada, permaneciendo la lecitina en la monocapa a esta presión superficial. A 30°C, ocurre lo mismo a las proporciones 50 y 75% de lecitina y la fase colapsada estará constituida por los dos componentes sólo cuando la composición de la película es 75% de ácido litocólico y 25% de lecitina. A 35 y 40°C, como los compuestos son inmiscibles entre sí, la única fase colapsada estará formada por ácido litocólico, el cual en el colapso sale fuera de la película, excepto a 40°C y en la región comprendida entre 25 y 50% de lecitina, donde la independencia de la presión de colapso con la composición de la monocapa permite la existencia de dos fases colapsadas (el número de grados de libertad es 0), cada una constituida por uno de los dos componentes. Este hecho probablemente sea debido a que la proporción de ácido litocólico es muy alta y su salida de la película provoque también la del otro compuesto. No obstante, esta particularidad tiene lugar a 40°C, donde ambos compuestos son bastante inestables en las monocapas.

En general, a pH = 6.00 podemos decir que para todas las temperaturas estudiadas la función área por molécula-fracción molar de lecitina a la presión superficial $\Pi = 40 \text{ mNm}^{-1}$, es prácticamente lineal, sin desviaciones acusadas del comportamiento ideal, lo que nos indica la escasa presencia de interacciones entre estos dos compuestos.

Cuando modificamos el pH de la subfase adyacente a las películas que contienen ácido litocólico y lecitina, el comportamiento de las mismas es análogo al estudiado a pH = 6.00 y distintas temperaturas, ya que los valores de área por molécula en función de la fracción apenas si se desvían de los propuestos por la regla de aditividad (Fig.

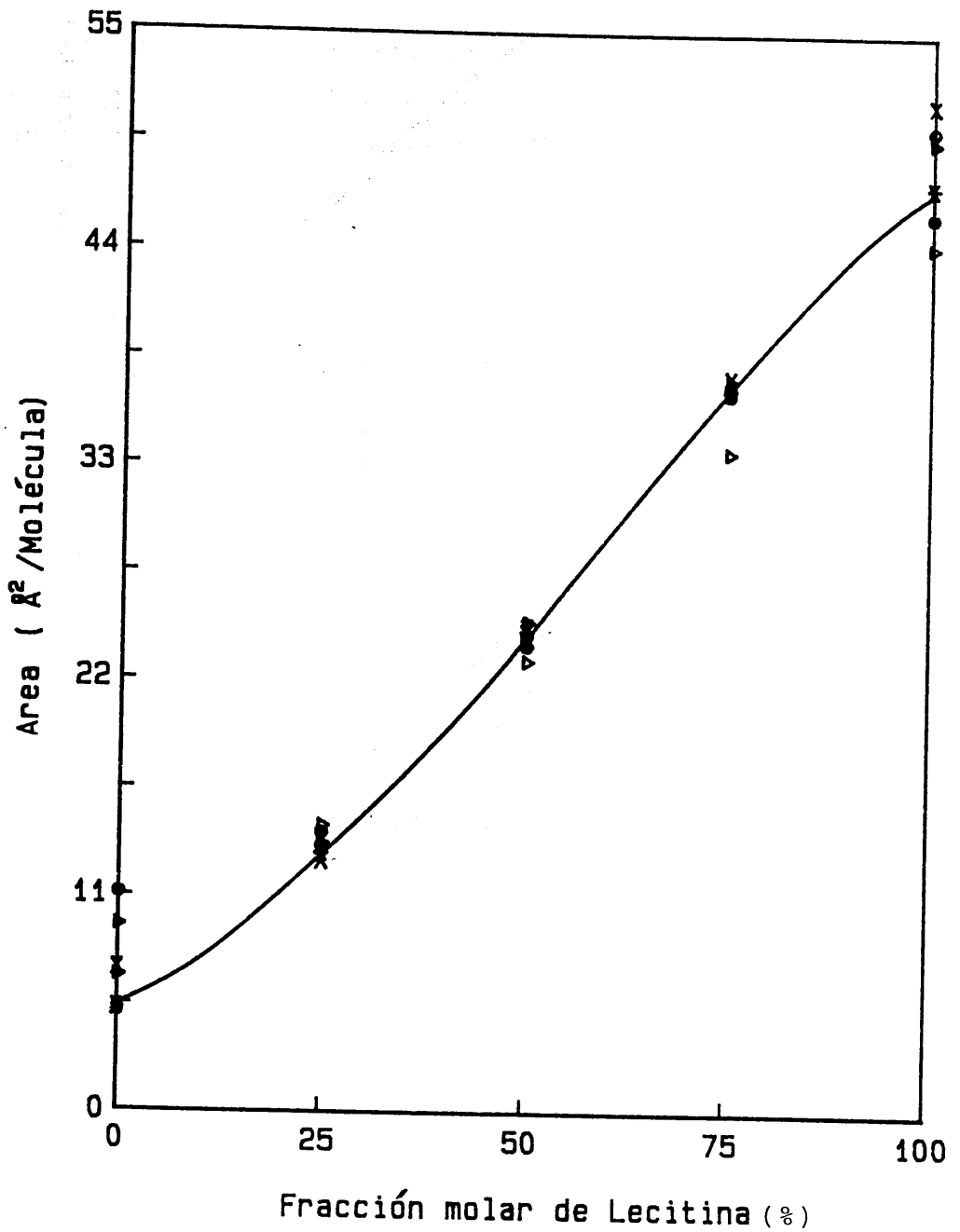
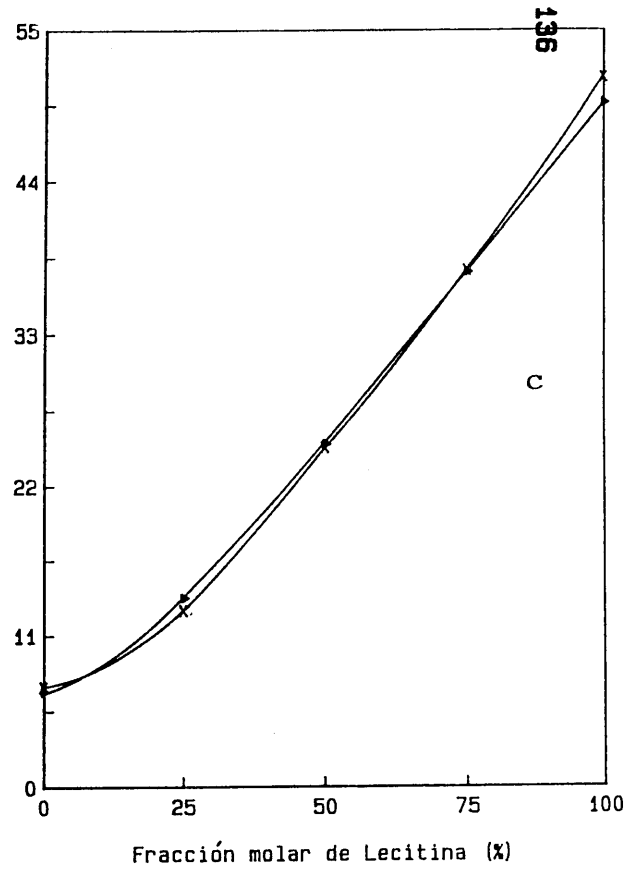
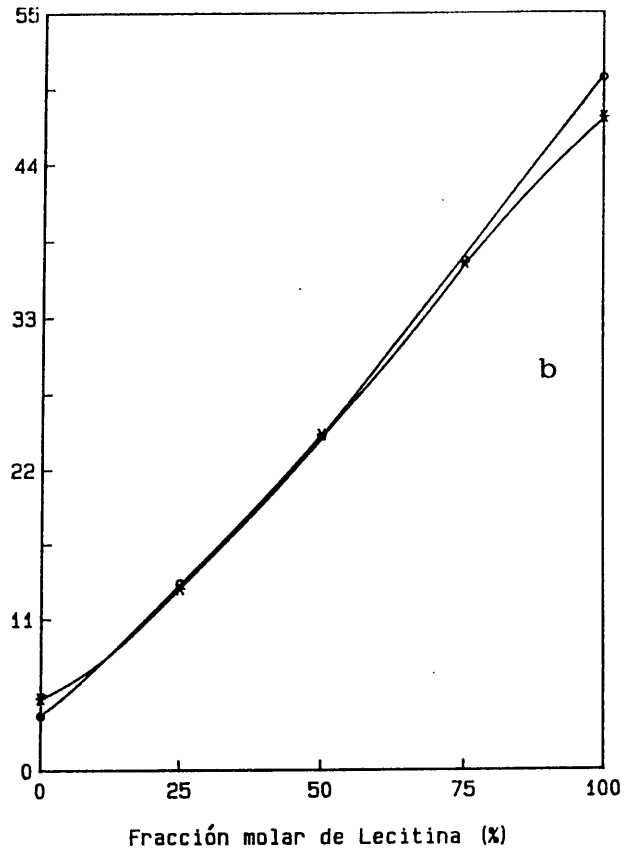
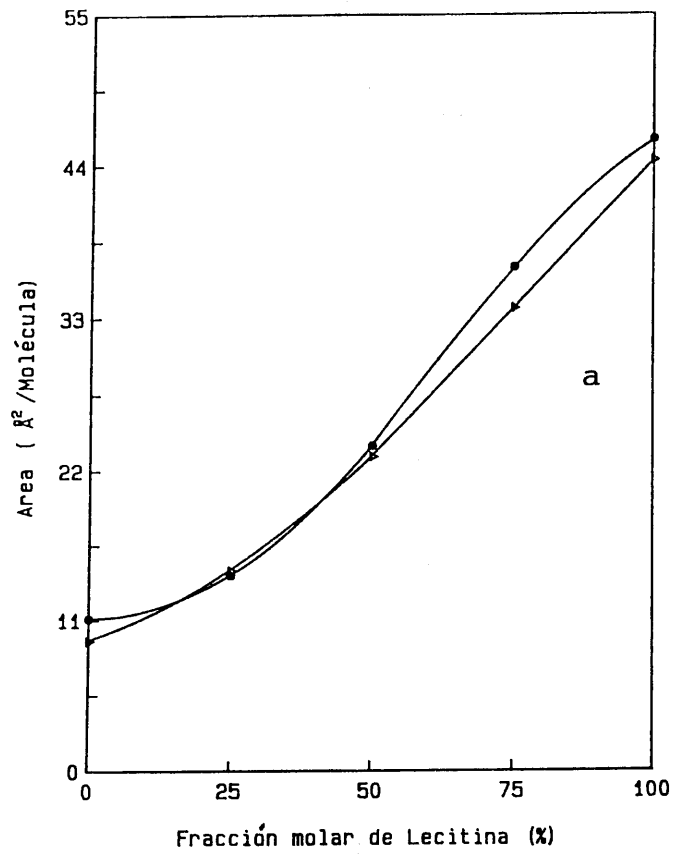


Fig. 2.60. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=40\text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



2.60(a,b,c)) y las presiones de colapso varían continuamente en todo el intervalo de composición (Fig. 2.61(a,b,c)). Existirá, por tanto, una sola fase colapsada constituida, en la mayoría de los casos, por ácido litocólico.

4.4 MONOCAPAS MIXTAS DE ACIDO QUENODEOXICOLICO-COLESTEROL

En las Figs. 2.62-2.67 se presentan las isotermas de compresión de películas monomoleculares constituidas por ácido quenodeoxicólico, colesterol y mezcla de ambos a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y a los pHs comprendidos entre 2.00 y 12.00, respectivamente.

A pHs ácidos, las películas que contienen ácido quenodeoxicólico sufren una transición de fase entre un estado líquido extendido y otro líquido condensado. Este último estado apenas si se observa para el caso del ácido quenodeoxicólico puro, ya que el final de la compresión de esta película coincide prácticamente con el término de la transición. Las películas mixtas si que presentan características de estado condensado a altas presiones superficiales, exhibiendo así un comportamiento intermedio al que presentan las películas de los dos componentes puros.

A pHs básicos, la película de ácido quenodeoxicólico no sufre ningún cambio de fase, encontrándose en todo el intervalo de áreas por molécula como líquido-extendido. El resto de las películas mixtas se encuentran en un estado intermedio por el efecto condensante ejercido por el colesterol, excepto cuando las monocapas contienen 25% de ácido quenodeoxicólico, donde se observa que las isotermas aparecen a mayores áreas/molécula que la correspondiente al colesterol puro. Este hecho puede explicarse por la desviación positiva de la regla de aditividad que presentan los valores de área molecular media a esta composición y, por tanto, a los valores tan altos que alcanzan las áreas moleculares parciales de cada uno de los componentes. Así,

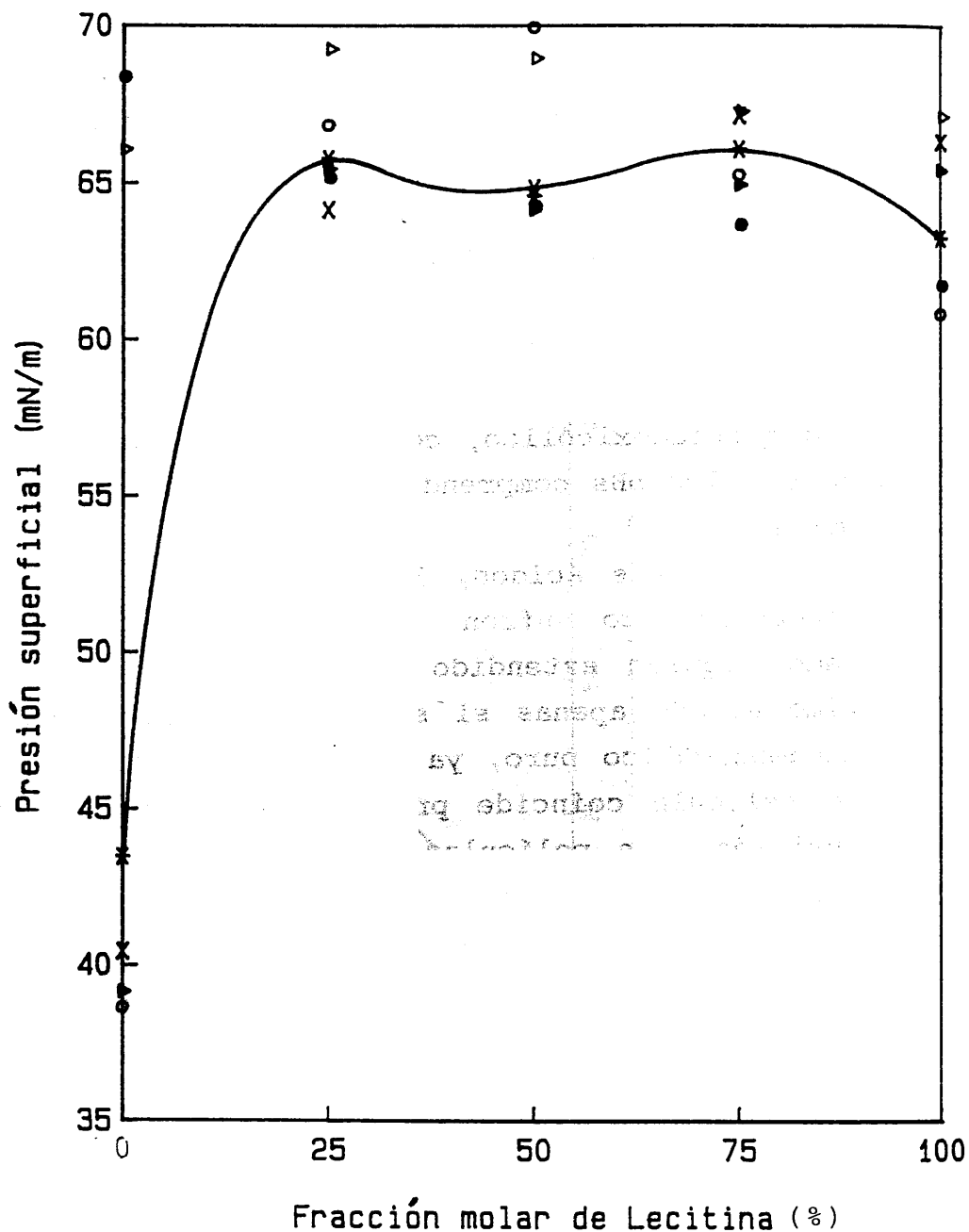
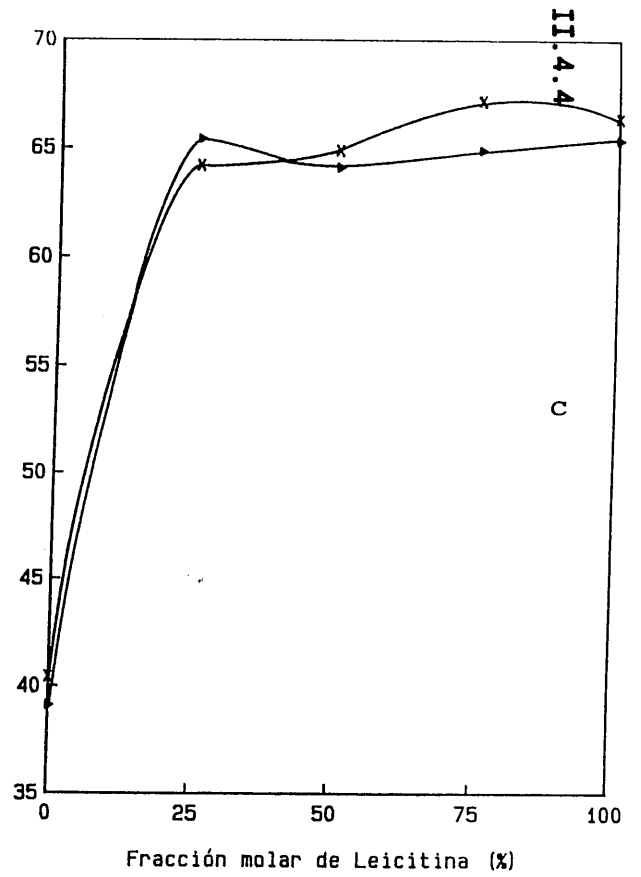
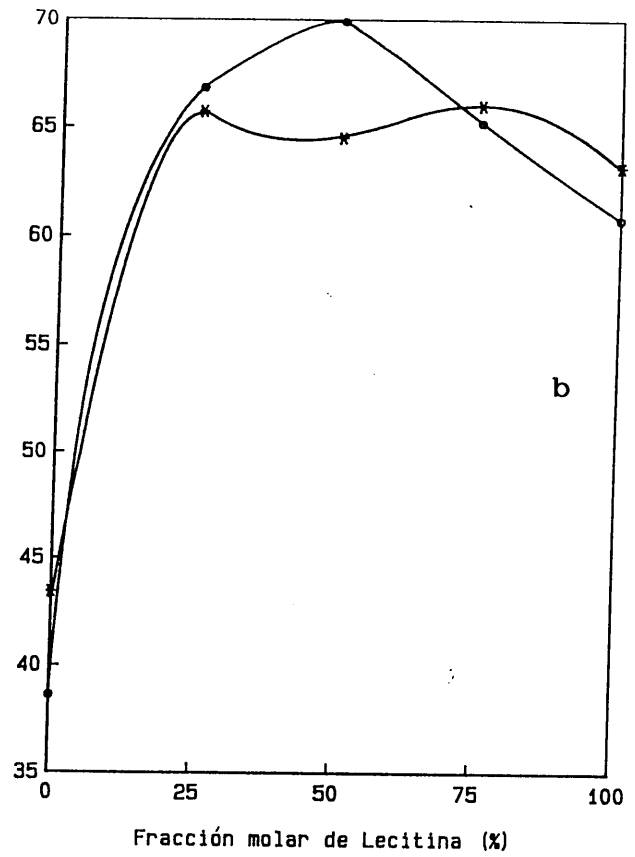
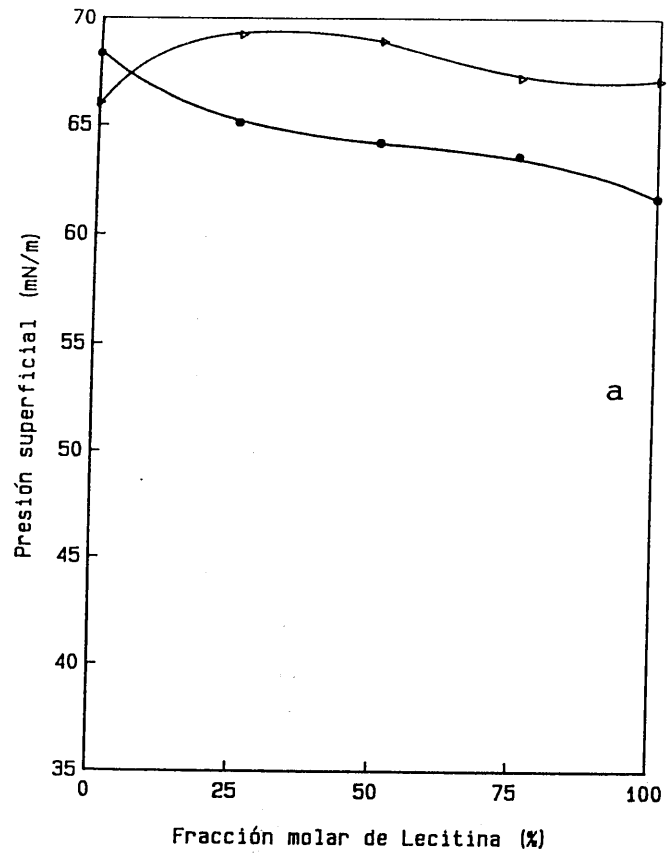


Fig. 2.61. Presión de colapso en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=40 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



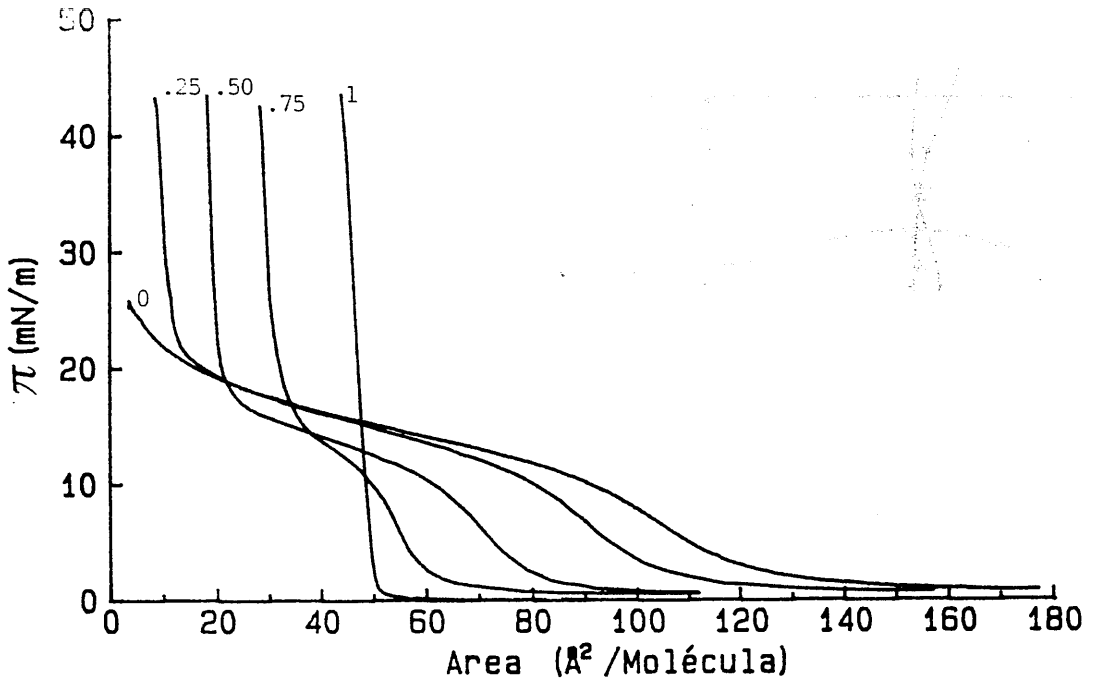


Fig. 2.62. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y colesterol a pH=2 y T=25°C

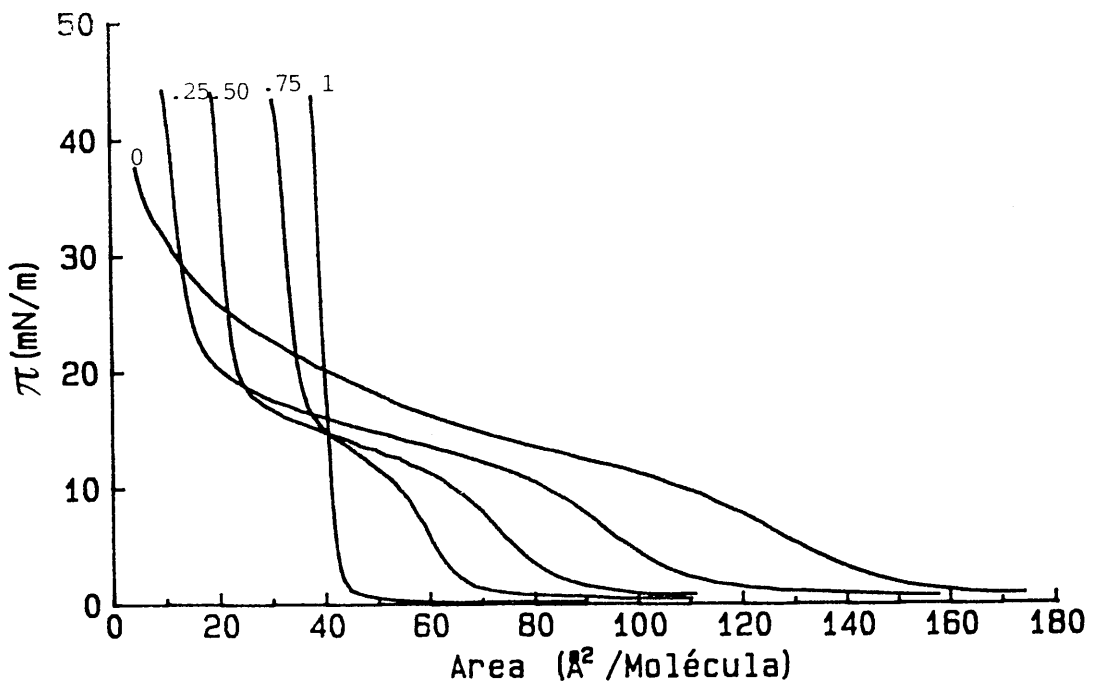


Fig. 2.63. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y colesterol a pH=4 y T=25°C

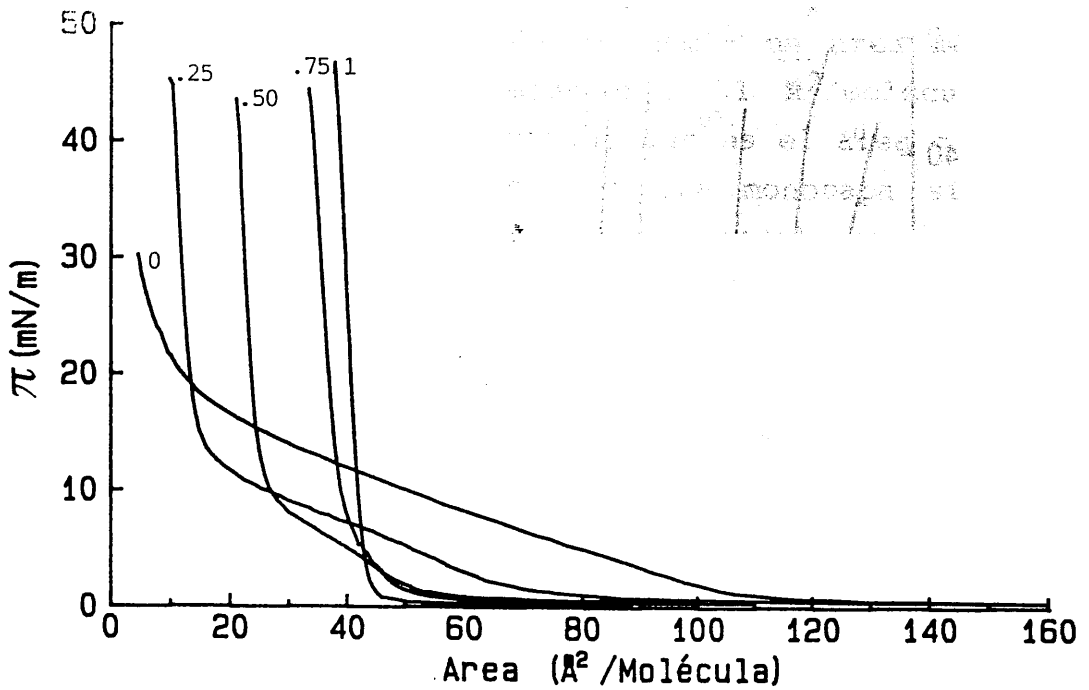


Fig. 2.64. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y colesterol a pH=6 y T=25°C

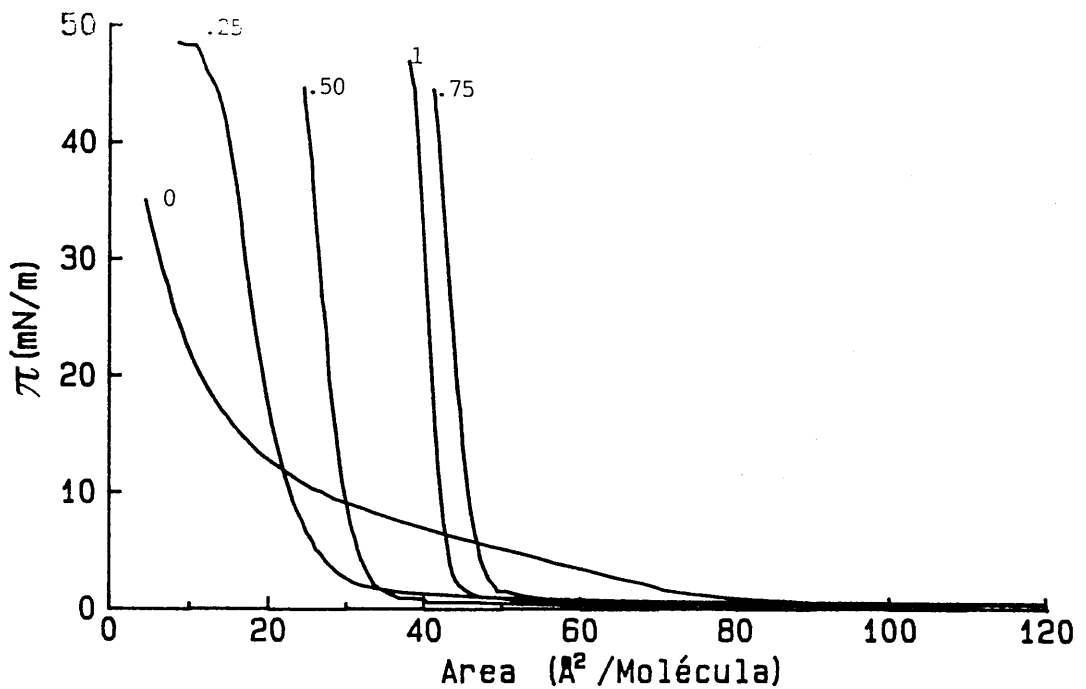


Fig. 2.65. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y colesterol a pH=8 y T=25°C

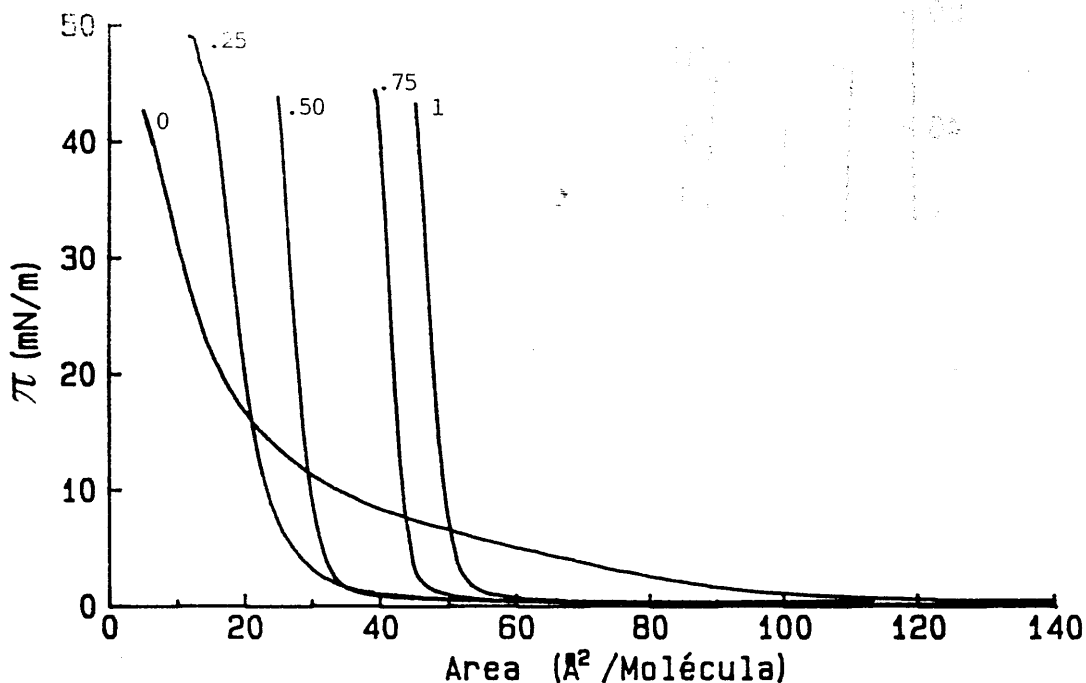


Fig. 2.66. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y colesterol a pH=10 y T=25°C

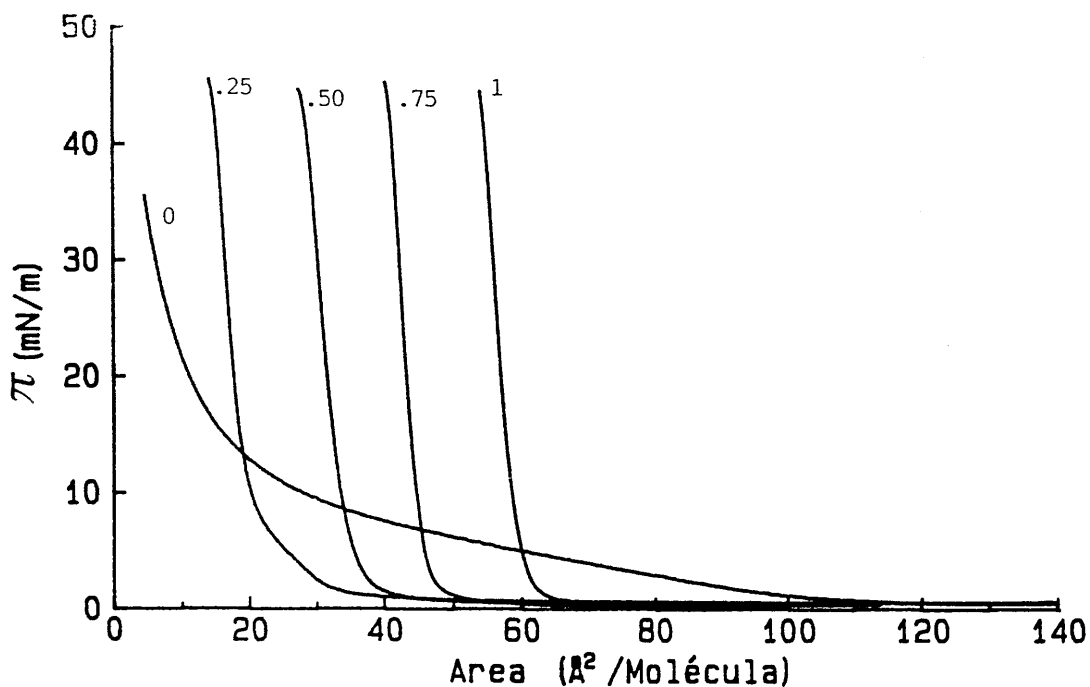


Fig. 2.67. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y colesterol a pH=12 y T=25°C

en la Fig. 2.73 observamos para la película que contiene 25% de ácido y a $\text{pH} = 8.00$ y $\Pi = 30 \text{ mNm}^{-1}$ un área molecular parcial de ácido de aproximadamente $51 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$, muy superior al valor $6.11 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$, que es el área que ocupa una molécula de este compuesto en una monocapa simple, y otra área molecular parcial de colesterol con un valor aproximado a $58 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$, también superior a $40.03 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$, área estimada para una molécula de colesterol en una película simple. Es decir, aunque el estado de la película sea condensado, las moléculas de ácido y colesterol se encontrarán algo más inclinadas respecto a la superficie que las orientadas verticalmente bajo otras condiciones experimentales. A pHs 10.00 y 12.00, ocurre lo mismo, aunque los límites de la Fig. 2.73 no nos permiten estimar los valores de área molecular parcial para estos componentes, pero sí se observan desviaciones positivas de la idealidad para las áreas moleculares medias.

El efecto de la temperatura sobre las monocapas mixtas compuestas por ácido quenodeoxicólico y colesterol es similar al ejercido por el pH de la subfase sobre las mismas y podemos observarlo en las Figs. 2.68-2.70, donde se presentan estas isoterms a $\text{pH} = 6.00$ y a las temperaturas 30, 35 y 40°C . La zona de transición entre el estado líquido extendido y el condensado desaparece al aumentar la temperatura, y las películas se encuentran más extendidas a $T = 40^\circ\text{C}$.

El comportamiento de estas isoterms también se refleja en los valores de algunos parámetros superficiales que presentamos en las siguientes tablas (II.28-II.33), donde todos los símbolos son conocidos.

4.4.1. Miscibilidad y Fases Superficiales

El efecto de la adición de colesterol a películas monomoleculares que contienen ácido quenodeoxicólico podemos

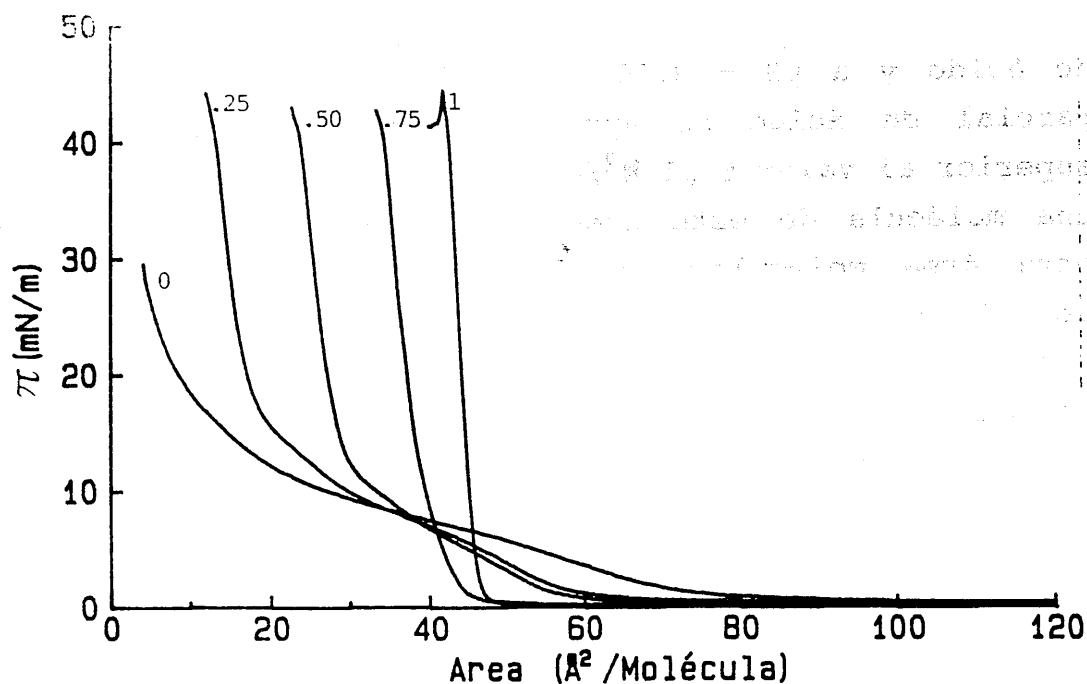


Fig. 2.68. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y colesterol a pH=6 y T=30°C

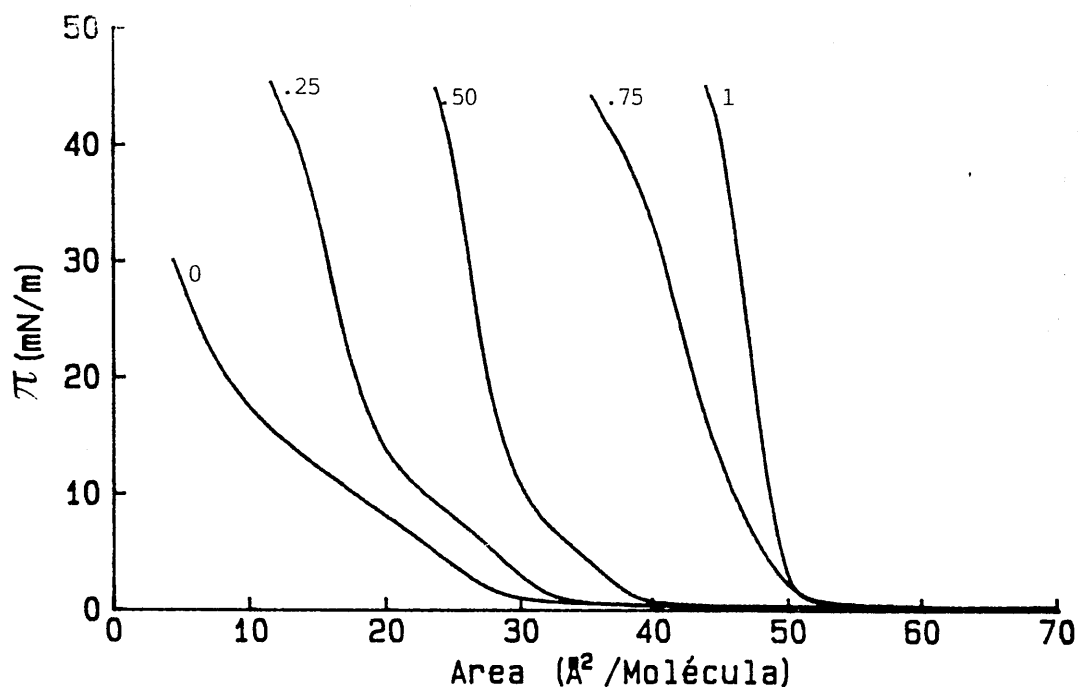


Fig. 2.69. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y colesterol a pH=6 y T=35°C

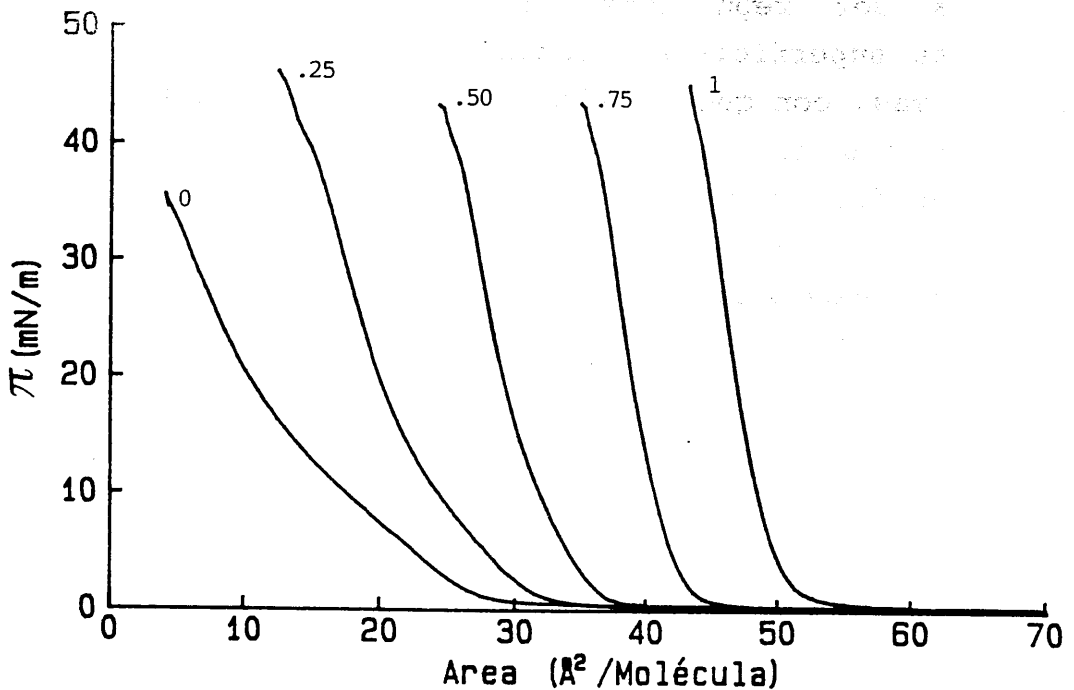


Fig. 2.70. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y colesterol a pH=6 y T=40°C

estudiarlo a $\text{pH} = 6.00$ y $T = 25^\circ\text{C}$ y a diferentes presiones superficiales en la Fig. 2.71, donde se representan las áreas moleculares medias de estas monocapas mixtas en función de la fracción molar de colesterol. En esta figura observamos que conforme aumenta la presión superficial, las interacciones entre el ácido quenodeoxicólico y el colesterol cambian de signo, pasando de ser atractivas a $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$ a ser repulsivas, en líneas generales, a altas presiones superficiales. Estos resultados están de acuerdo, una vez más, con que el efecto condensante del colesterol es más efectivo cuando el otro componente es susceptible de condensación, es decir, se encuentra en estado de líquido extendido, como ocurre a $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$ a diferencia del carácter condensado que muestran a presiones superficiales superiores. Observamos incluso a la presión de 30 mNm^{-1} y a la fracción 50% de colesterol que el área molecular media no se desvía de la linealidad propuesta por la regla de aditividad de las áreas, por tanto, a esta composición ambos componentes son inmiscibles, probablemente debido a que ninguno de ellos predomina sobre el otro, no interactuando entre sí.

TABLA II.28

pH	$A^0 (\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_C (\text{mN m}^{-1})$	$A_C (\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
2.00	15.19	43.3	8.35
4.00	18.51	44.3	9.59
6.00	16.31	45.3	9.56
8.00	23.13	48.5	8.44
10.00	24.05	48.1	11.65
12.00	20.03	45.6	13.98

Parámetros superficiales de monocapas de 25% Colesterol-75% Ac. Quenodeoxicólico a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

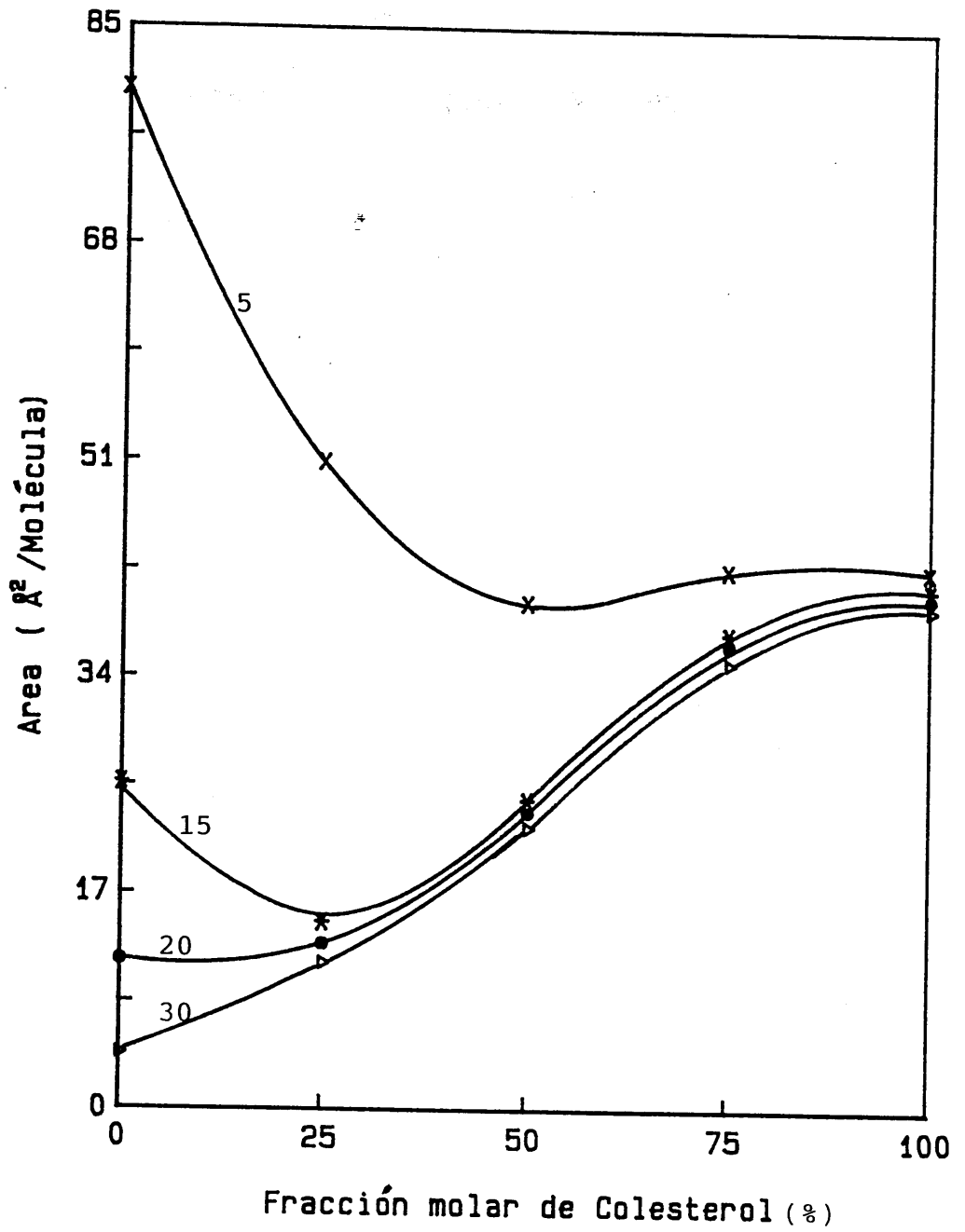


Fig. 2.71. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=6$ y distintas presiones superficiales

TABLA II.29

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	16.31	45.3	9.56
30	20.02	44.2	11.92
35	21.65	45.4	11.48
40	24.57	46.2	12.40

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Coolesterol-75%Ac.Quenodeoxicólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

TABLA II.30

pH	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
2.00	21.87	43.5	18.14
4.00	24.85	44.1	18.66
6.00	25.90	43.6	20.79
8.00	30.05	44.7	24.33
10.00	30.63	43.9	24.75
12.00	34.46	44.7	27.23

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Coolesterol-50%Ac.Quenodeoxicólico a T=25°C y distintos pHs

TABLA II.31

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	25.90	43.6	20.79
30	25.95	43.1	22.54
35	30.14	44.8	23.53
40	32.55	43.4	24.12

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Coolesterol-50%Ac.Quenodeoxicólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

TABLA II.32

pH	$A^{\circ}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_C(\text{mN m}^{-1})$	$A_C(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
2.00	32.54	42.5	28.31
4.00	37.85	43.5	30.23
6.00	39.83	44.4	33.25
8.00	46.38	44.6	41.07
10.00	50.25	43.3	44.99
12.00	34.46	44.5	53.87

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Coolesterol-25%Ac. Quenodeoxicólico a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.33

$T(^{\circ}\text{C})$	$A^{\circ}(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_C(\text{mN m}^{-1})$	$A_C(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
25	39.83	44.4	33.25
30	39.38	42.9	33.18
35	47.00	44.2	35.31
40	41.74	43.7	34.84

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Coolesterol-25%Ac. Quenodeoxicólico a $\text{pH}=6.00$ y distintas temperaturas

En las Figs. 2.72(a,b) y 2.73(a,b) representamos las áreas moleculares medias de estas películas mixtas en función de la fracción molar de colesterol a distintos pHs y $T = 25^{\circ}\text{C}$ para los valores de presión superficial 5 y 30 mNm^{-1} , respectivamente.

Cuando la presión superficial es baja, 5 mNm^{-1} , solamente a pHs básicos, 8.00-12.00, y a la fracción de 75% de colesterol, las áreas por molécula se desvían positivamente del comportamiento ideal; para el resto de los pHs y fracciones molares, las interacciones entre ambos componentes tienen carácter atractivo (Fig. 2.72). Podemos afirmar,

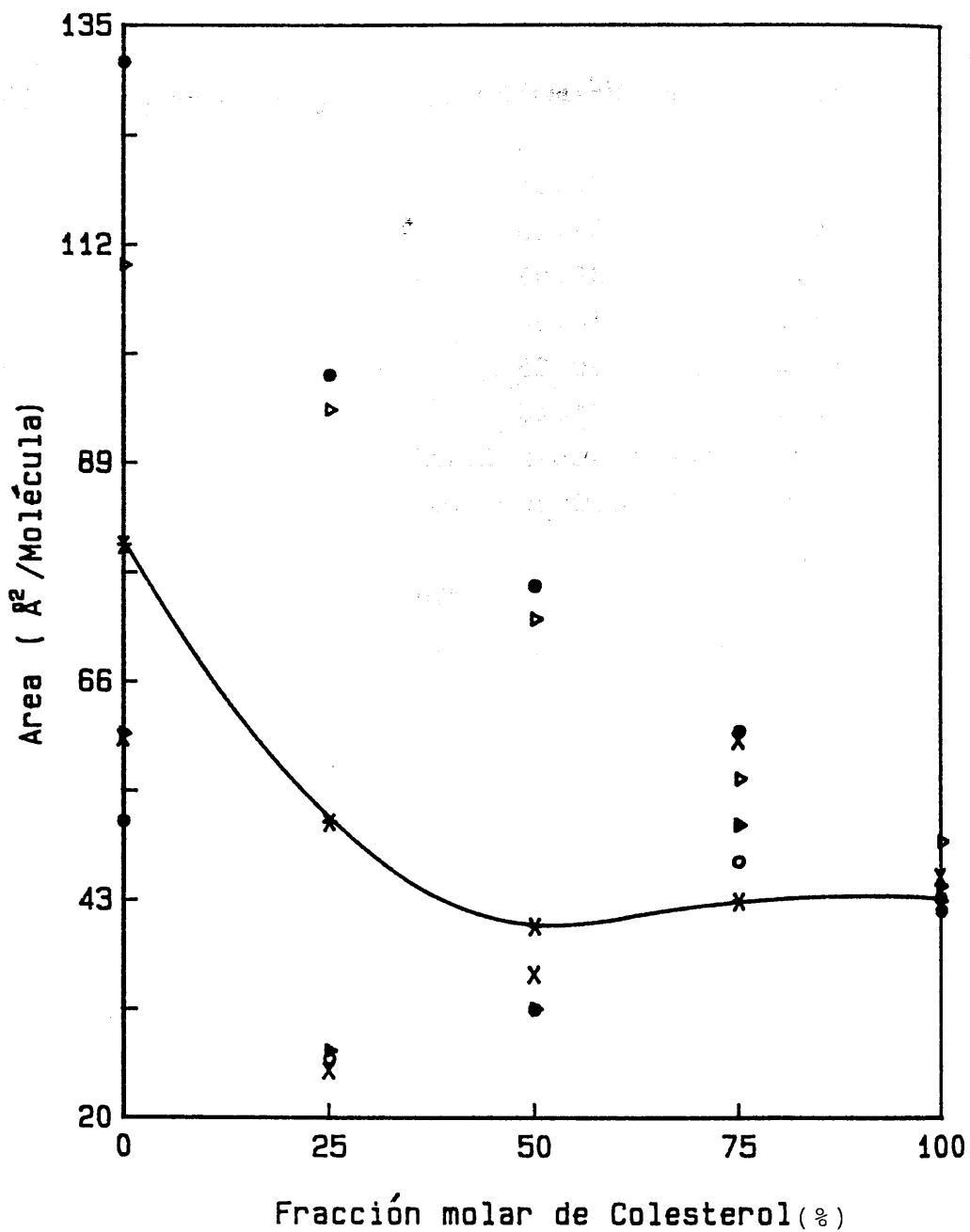
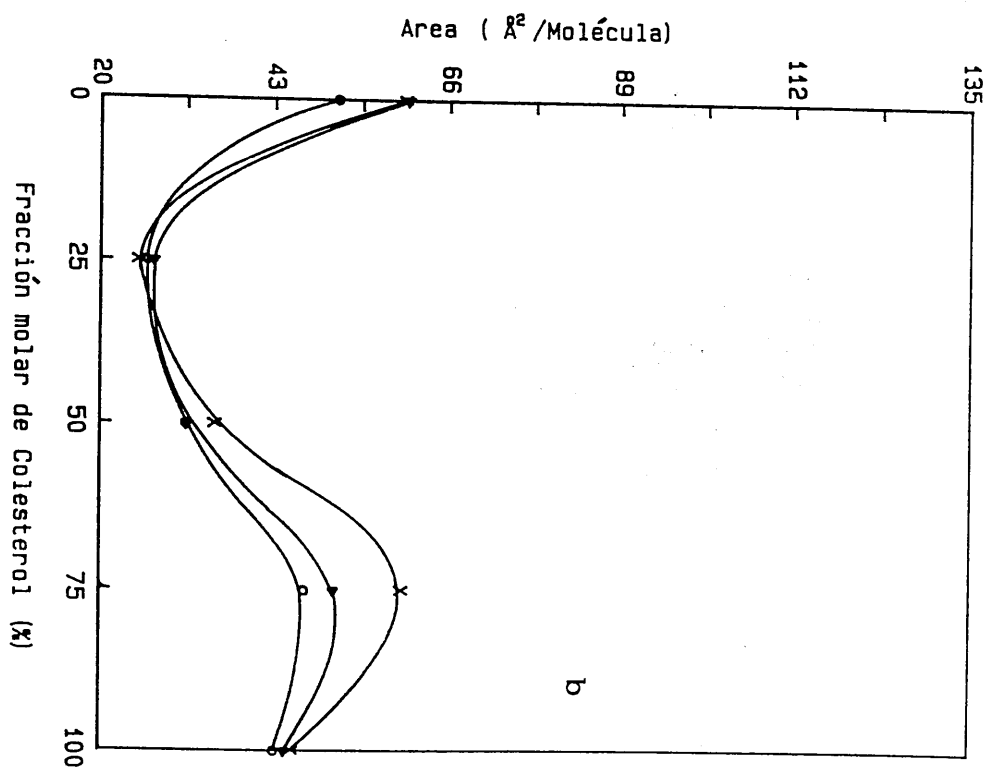
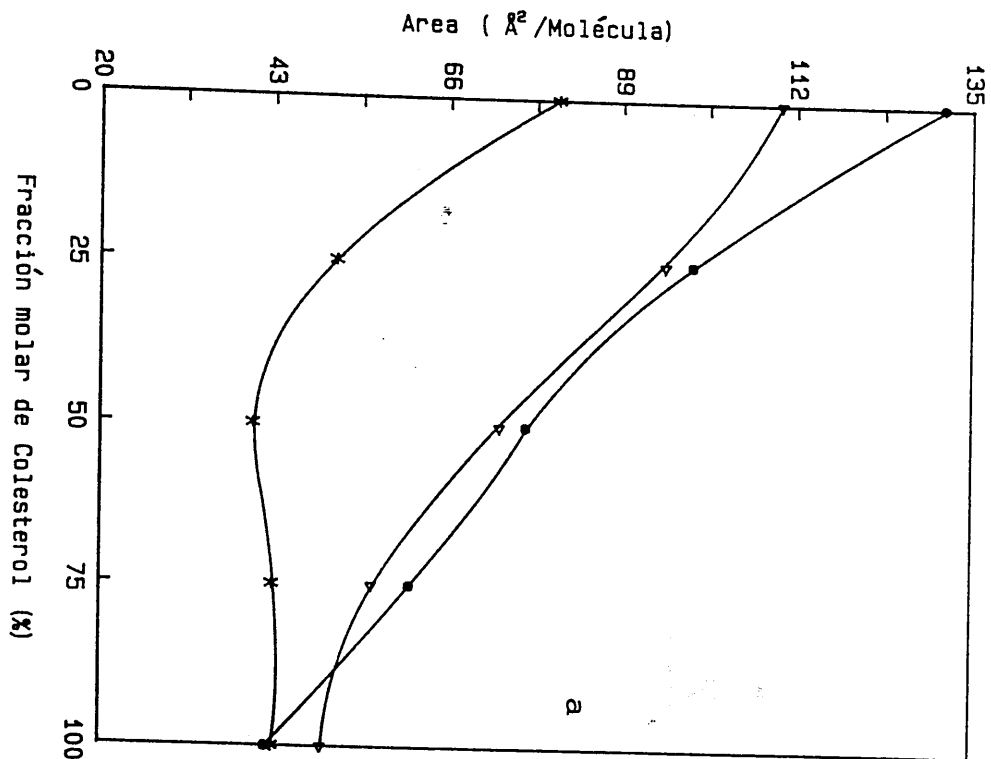


Fig. 2.72. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=5 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2, 4 y 6; (b) pH= 8, 10 y 12



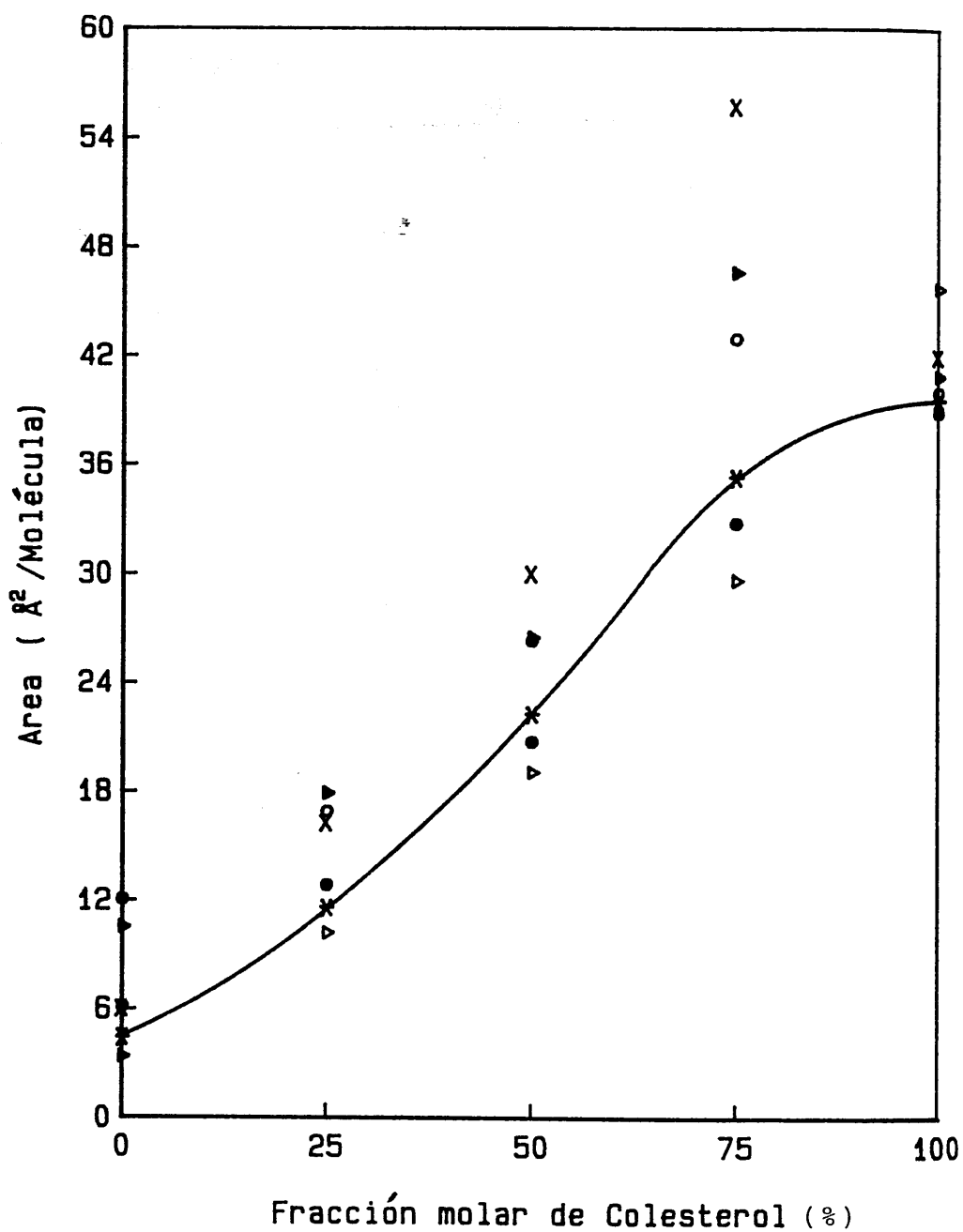
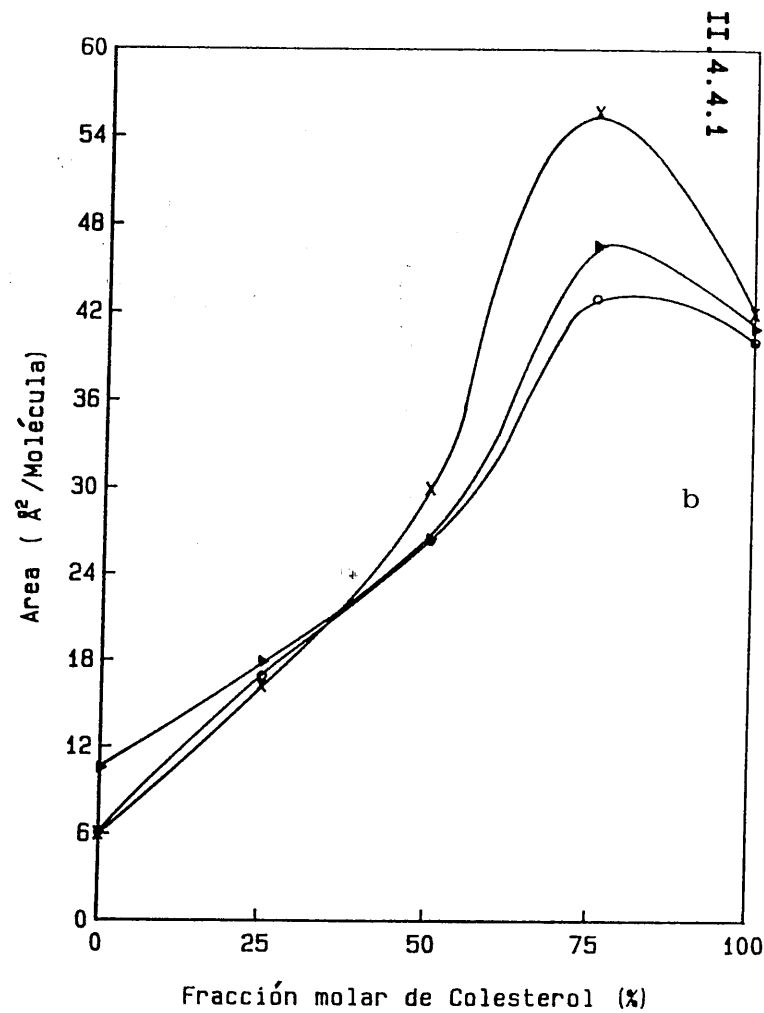
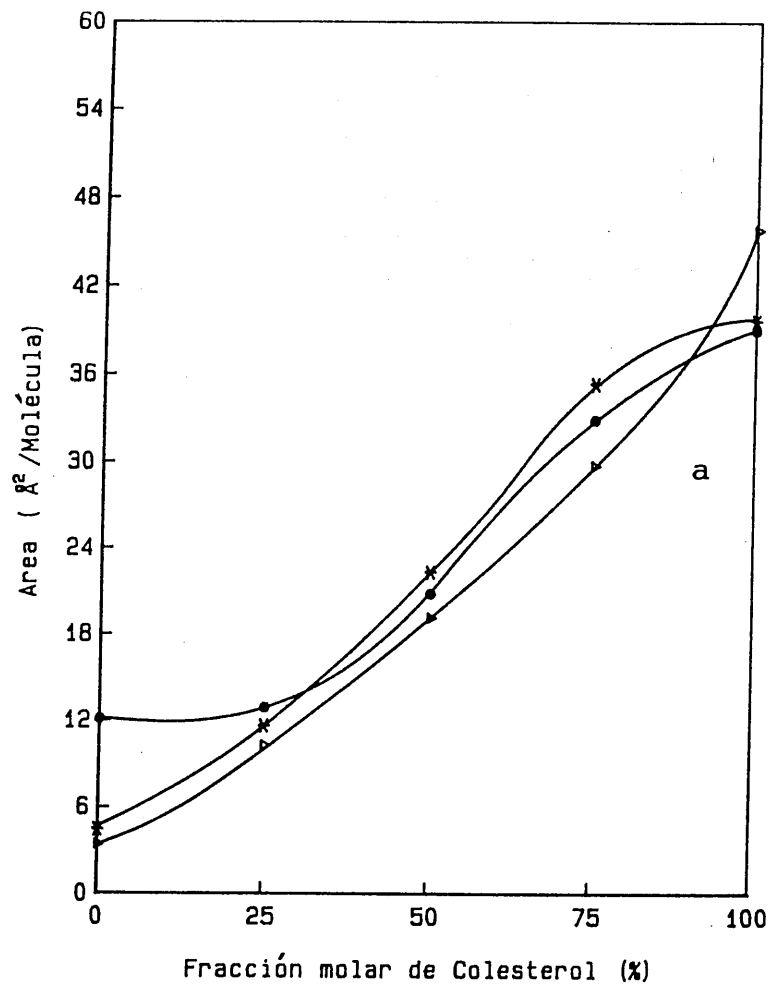


Fig. 2.73. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=30 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2, 4 y 6; (b) pH= 8, 10 y 12



II.4.4.1

por tanto, que el colesterol y el ácido quenodeoxicólico interaccionan entre sí a bajas presiones superficiales y en todo el intervalo de concentración.

Si la presión superficial alcanza el valor de 30 mNm^{-1} , las películas presentan un comportamiento distinto a pHs ácidos y básicos.

A $\text{pH} = 2.00$, todos los valores de área molecular media se desvían negativamente de la regla de aditividad (Fig. 2.73), y en la Fig. 2.74(a,b,c), donde representamos las presiones de colapso en función de la fracción molar de colesterol a $T = 25^\circ\text{C}$, observamos que a este pH las presiones varían continuamente con la composición, por lo que existirá una sola fase colapsada con colesterol y ácido quenodeoxicólico miscibles en ella.

A $\text{pH} = 4.00$, el comportamiento es análogo, tan sólo las películas que contienen 75% de colesterol exhiben un valor de área molecular media superior al propuesto por el modelo ideal, pero esta situación también es de miscibilidad para ambos componentes, y la fase colapsada será idéntica que a $\text{pH} = 2.00$.

Cuando el pH de la subfase es 6.00, las presiones de colapso varían siempre con la composición (Fig. 2.74), y son miscibles entre sí a 25 y 75% de colesterol e inmiscibles a 50% de colesterol, así pues, para las primeras fracciones, la fase colapsada estará constituida por ambos componentes, colesterol y ácido quenodeoxicólico, y para la última fracción, se formará una fase colapsada conteniendo sólo el colesterol, ya que este es el componente menos estable en la monocapa y saldrá antes de la misma.

Los componentes son miscibles a todas las proporciones a los pHs 8.00 y 10.00. Cuando las presiones de colapso varían siempre con la composición, tendremos tan sólo un grado de libertad, lo que nos permite pensar en la sola presencia de una fase colapsada formada por colesterol y ácido quenodeoxicólico.

Finalmente, a $\text{pH} = 12.00$ y $\Pi = 30 \text{ mNm}^{-1}$, las áreas

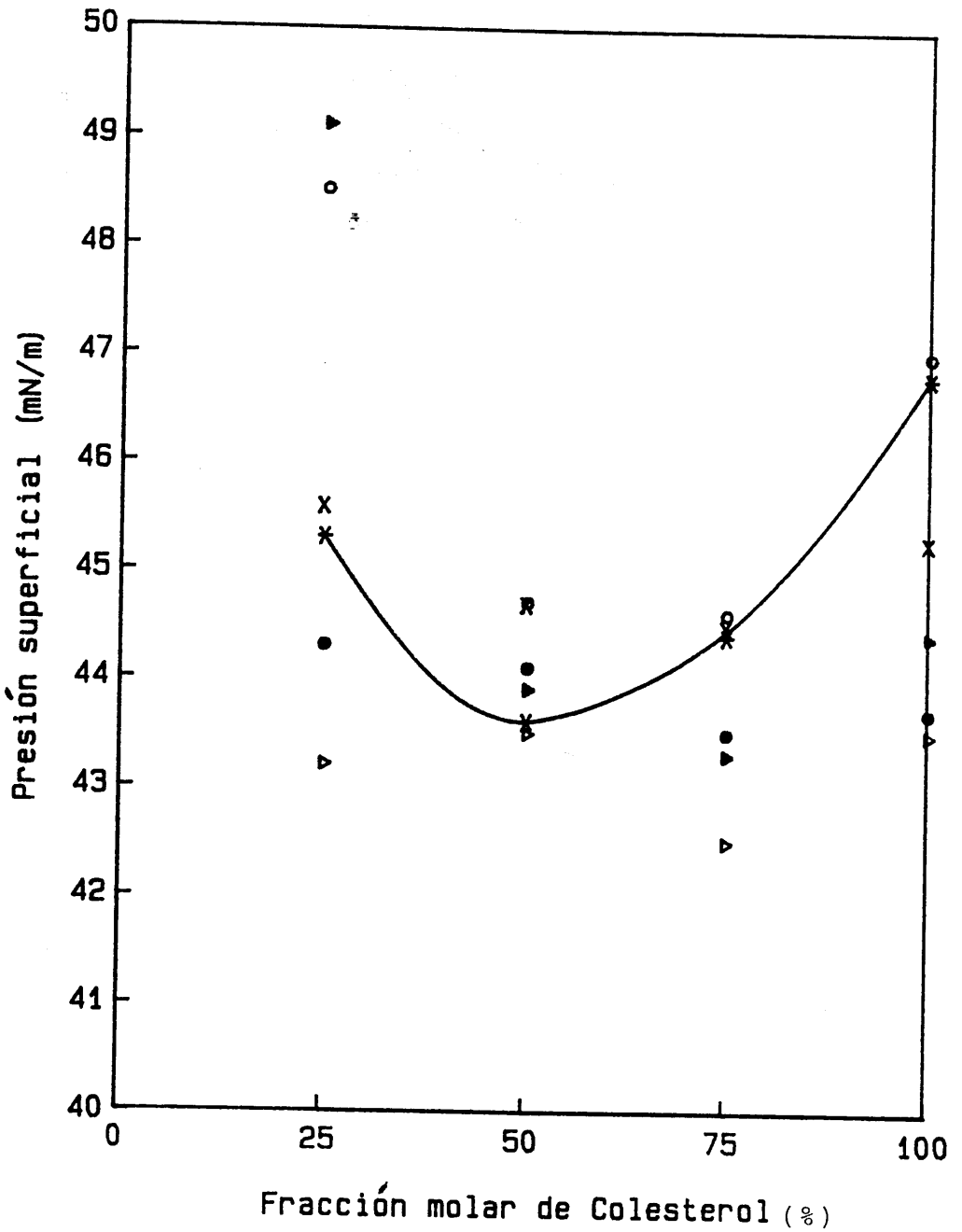
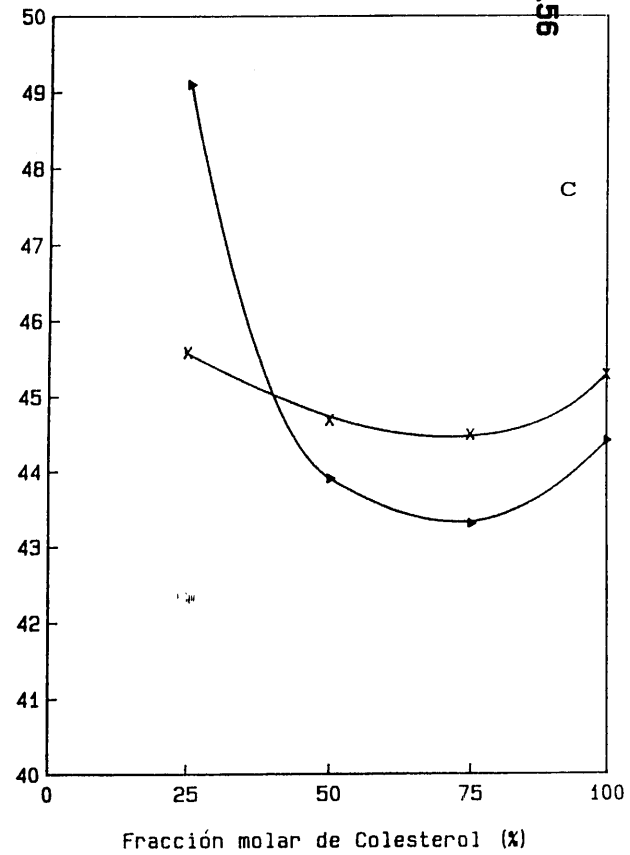
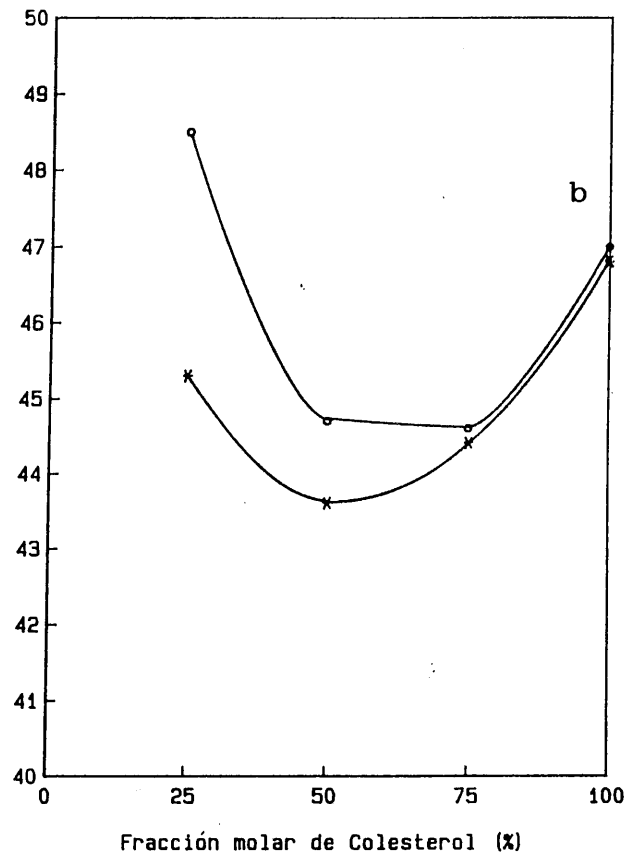
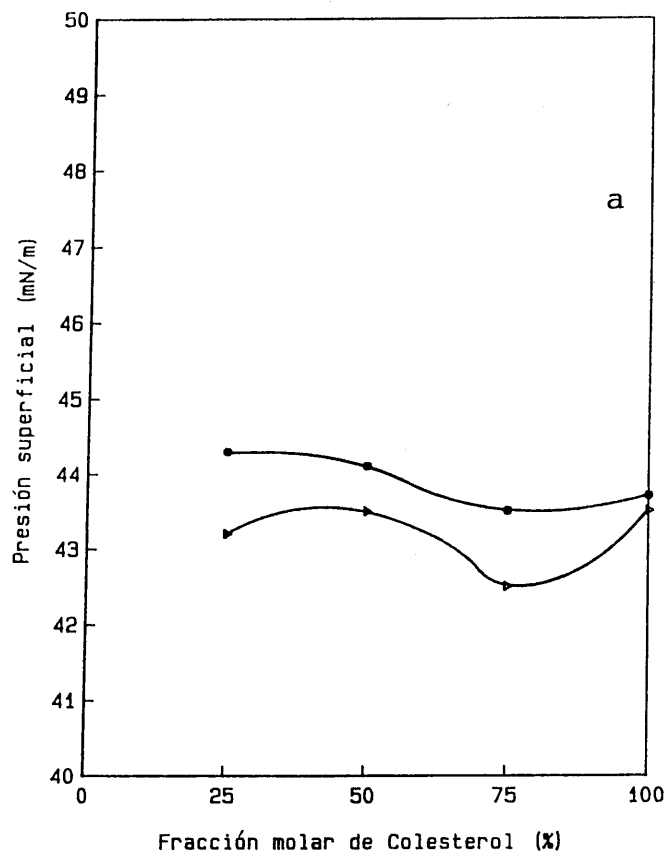


Fig. 2.74. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



moleculares medias indican que los componentes son inmiscibles a las fracciones molares 25 y 50% de colesterol y miscibles para la fracción 75% de colesterol. En el caso de inmiscibilidad, la fase colapsada estará integrada sólo por colesterol y a la última composición, por ambos compuestos, colesterol y ácido miscibles entre sí, ya que a este pH, el número de grados de libertad de la regla de Defay-Crisp sigue siendo 1 (Fig. 2.74).

El efecto de la temperatura podemos deducirlo a partir de las Figs. 2.75 y 2.76, donde representamos valores de área molecular media y presión de colapso, respectivamente, en función de la fracción molar de colesterol a pH = 6.00 y distintas temperaturas.

Cuando la temperatura de las películas es superior a 25°C, la Fig. 2.75 nos indica que estos dos componentes son miscibles e interaccionan débilmente entre sí, y la Fig. 2.76 nos informa que sólo puede existir una fase colapsada, ya que la presión de colapso varía continuamente con la composición, por lo que esta fase estará formada de nuevo por ácido quenodeoxicólico y colesterol.

Como resumen, indicamos que las distintas interacciones descritas en este apartado se modifican fácilmente con las variables temperatura y pH, por tanto, no es posible pensar en la existencia de una interacción particular que de lugar a una estructura definida entre estos dos compuestos.

4.5. MONOCAPAS MIXTAS DE ACIDO QUENODEOXICOLICO-L- α -FOSFATIDILCOLINA

Las monocapas mixtas formadas con ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina presentan un comportamiento intermedio al que estudiamos para las películas monomoleculares simples de ambos compuestos.

Este comportamiento se observa en las Figs. 2.77-2.82, donde se presentan las isotermas registradas a

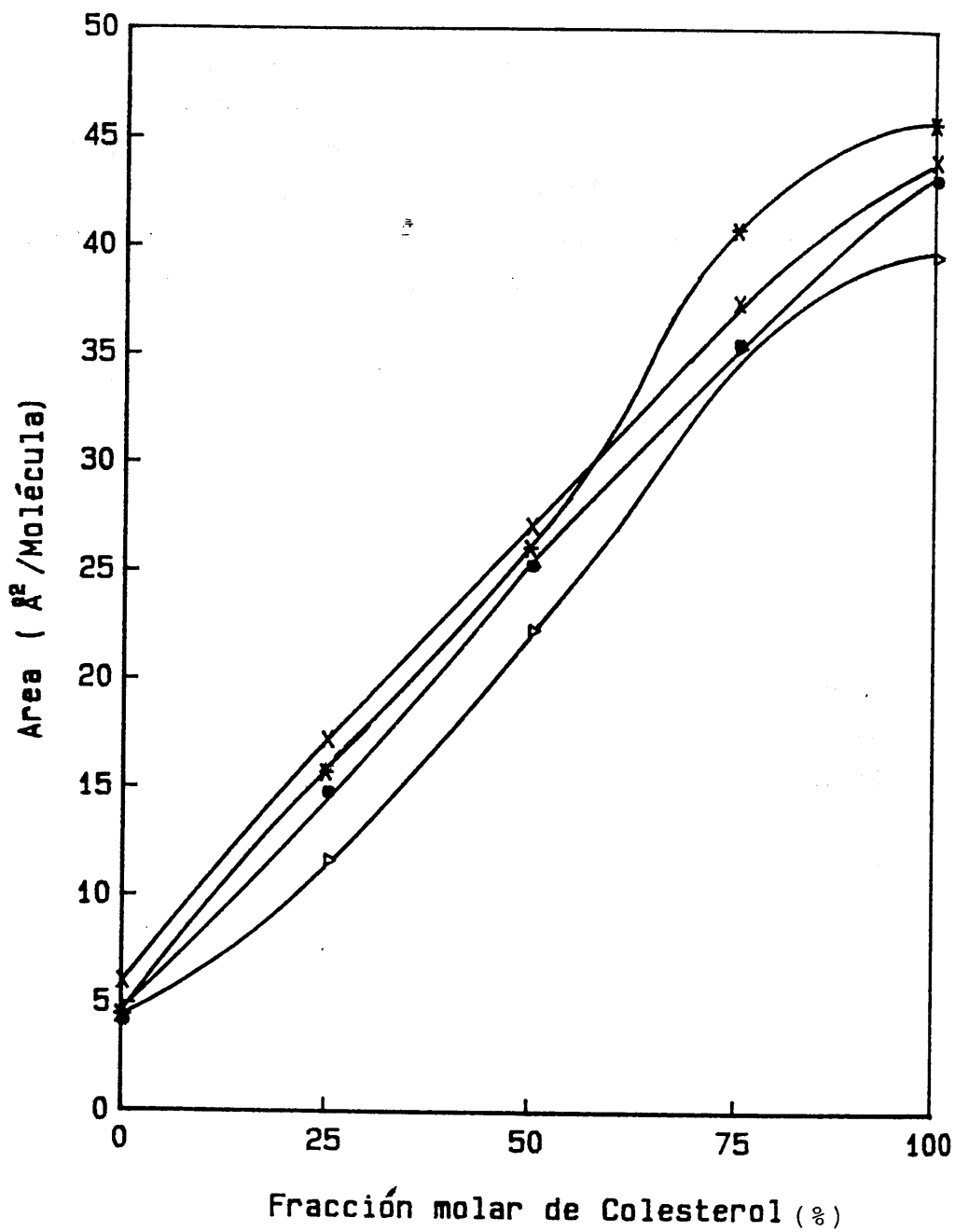


Fig. 2.75. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol a pH=6, $\Pi=30 \text{ mNm}^{-1}$ y distintas temperaturas

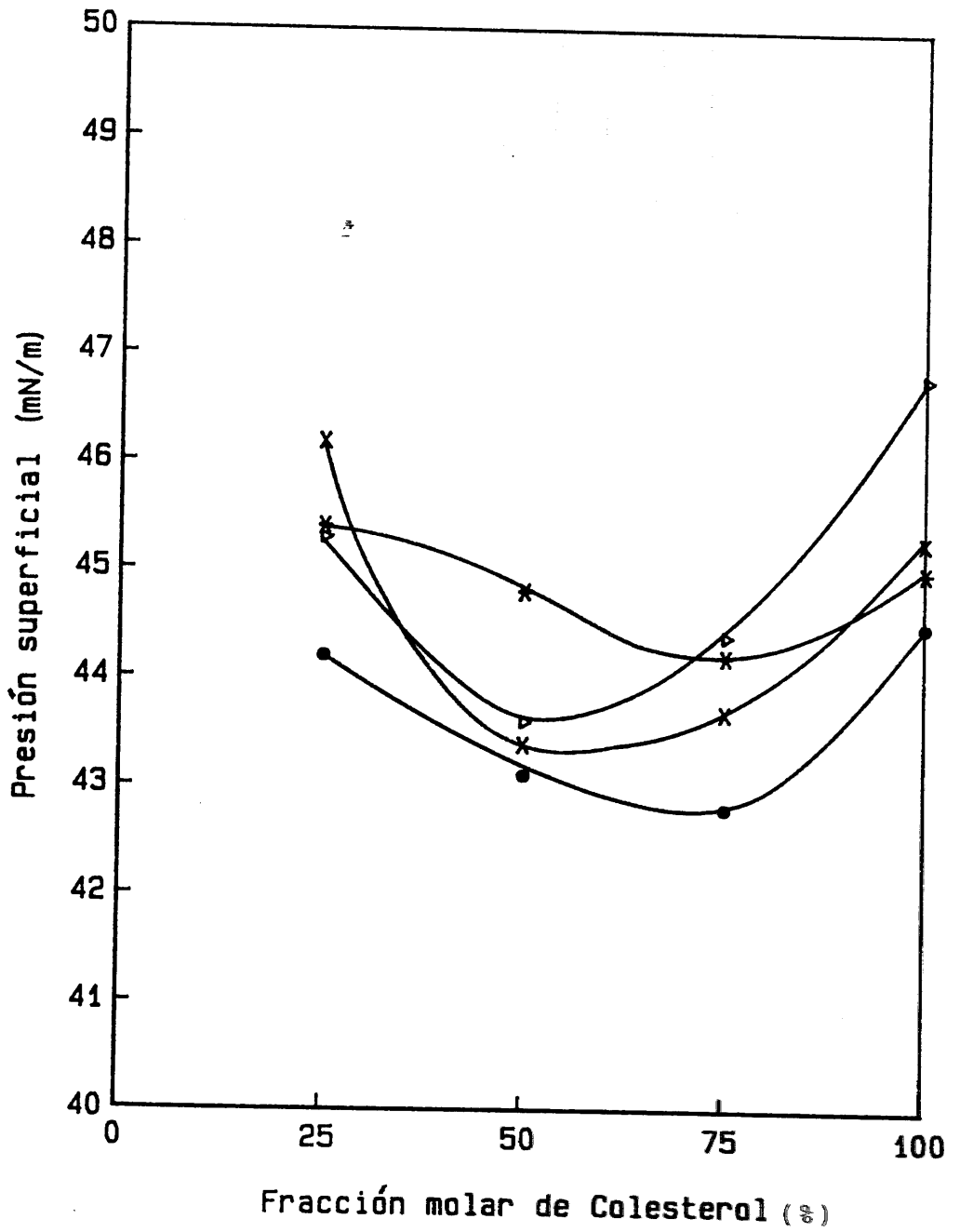


Fig. 2.76. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y colesterol a pH=6 y distintas temperaturas

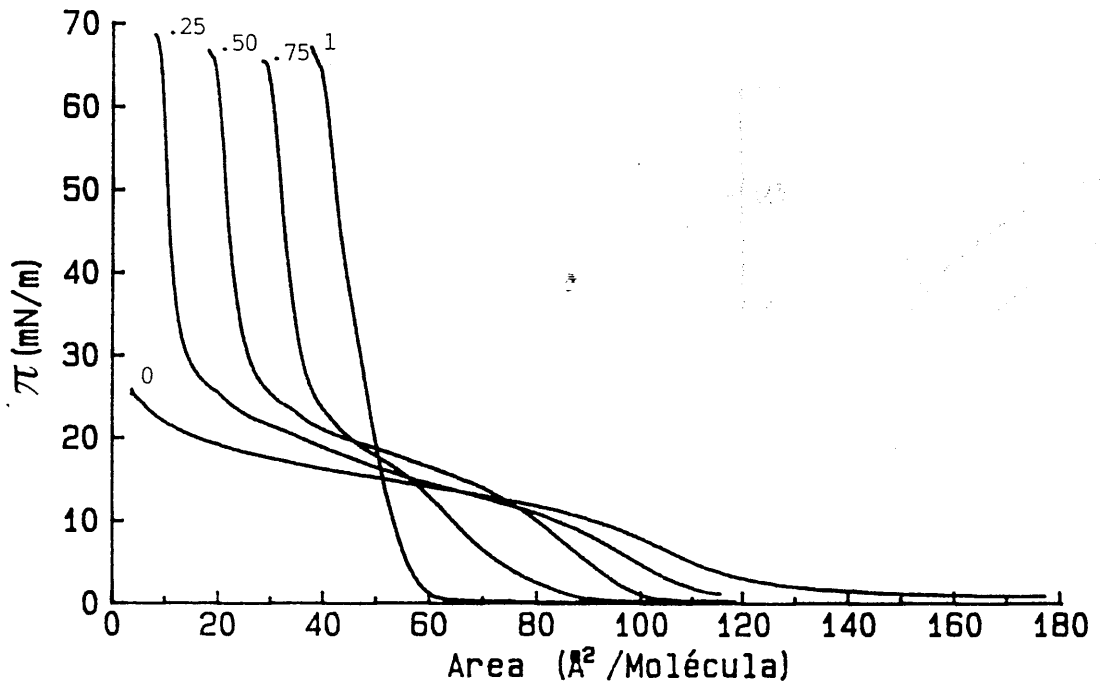


Fig. 2.77. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=2 y T=25°C

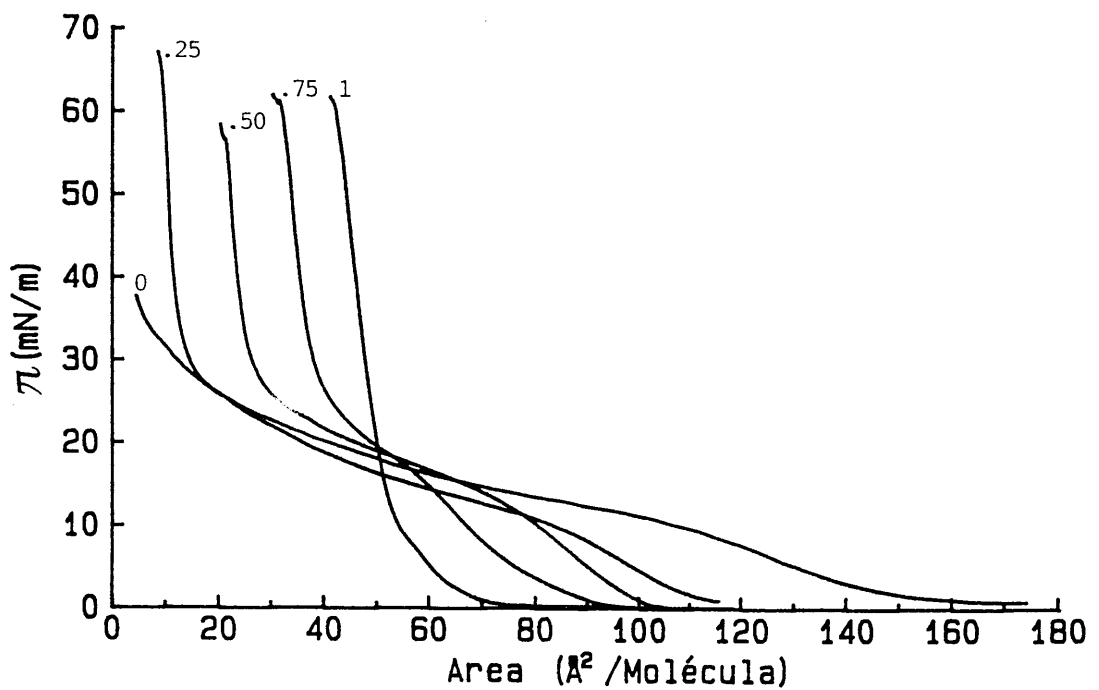


Fig. 2.78. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=4 y T=25°C

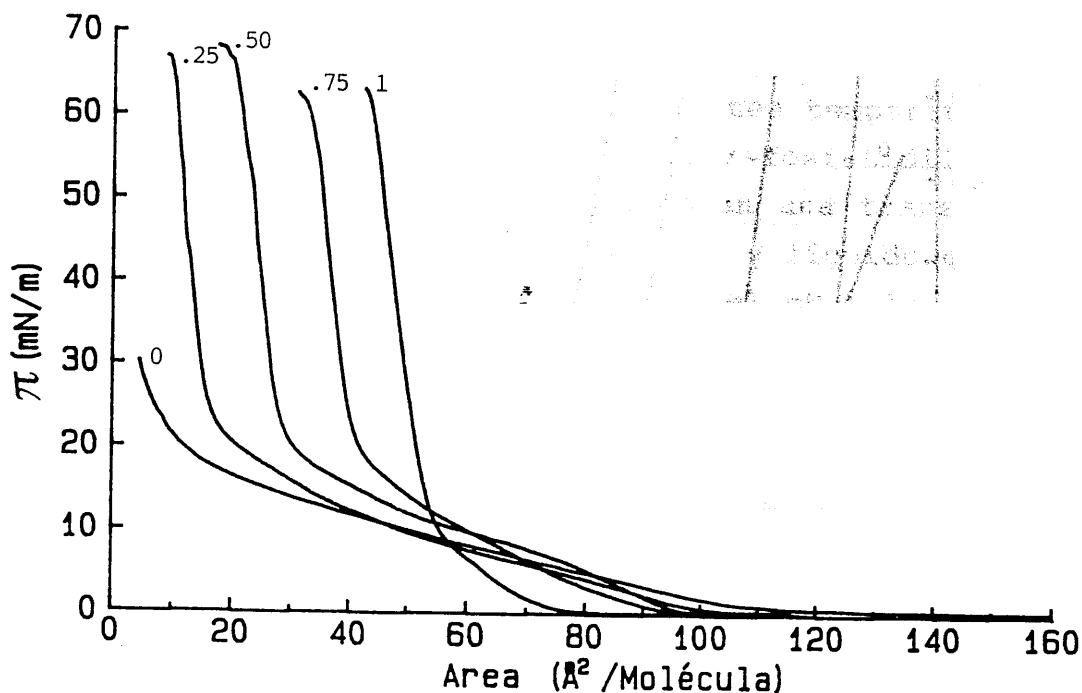


Fig. 2.79. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=25°C

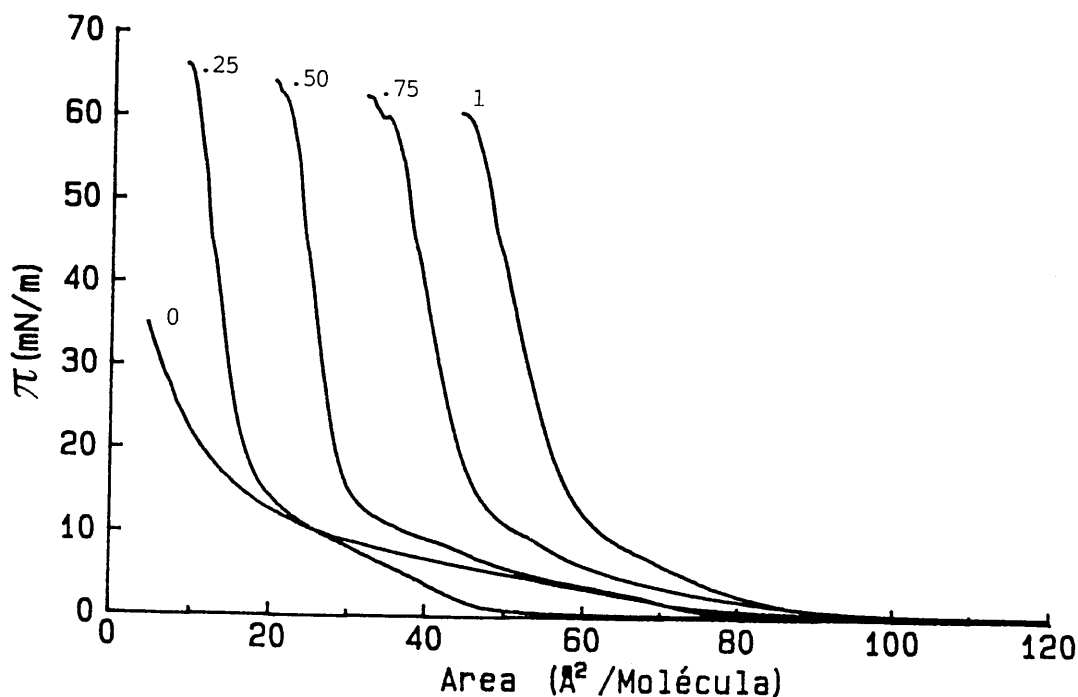


Fig. 2.80. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=8 y T=25°C

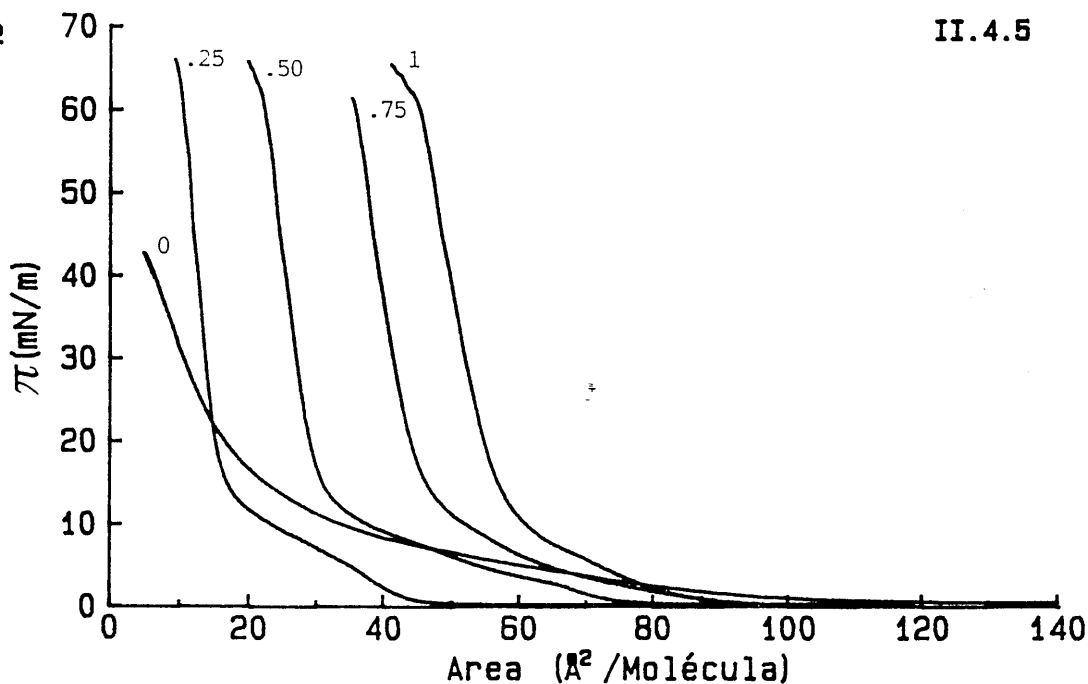


Fig. 2.81. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=10 y T=25°C

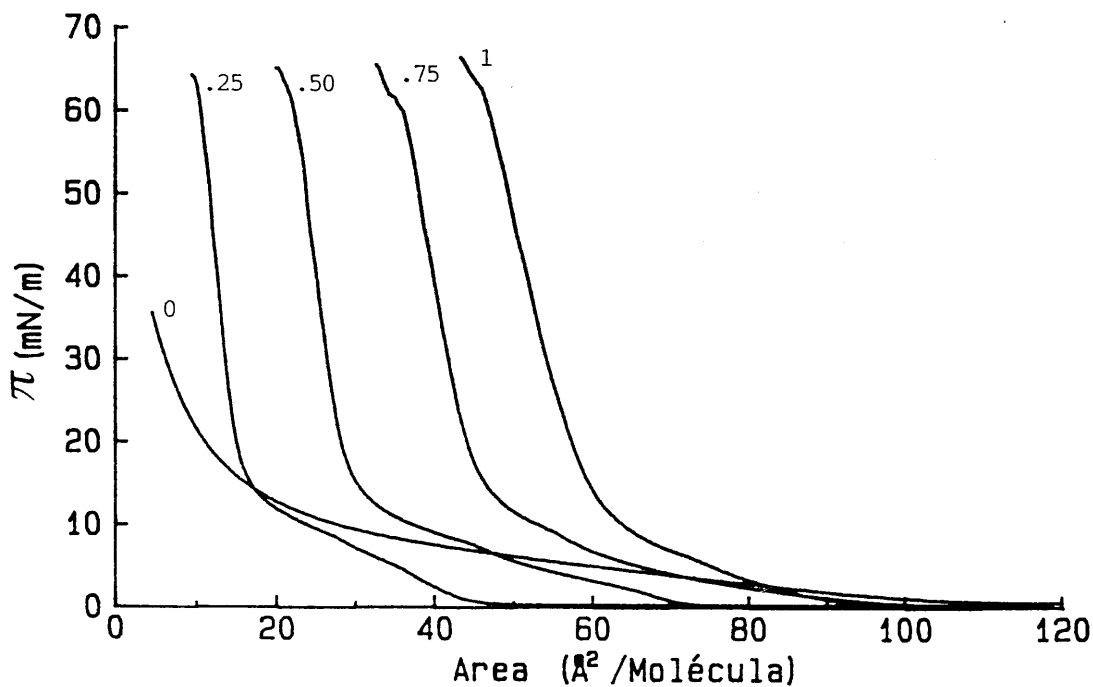


Fig. 2.82. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=12 y T=25°C

$T = 25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs, y en las Figs. 2.83-2.85, que muestran isoterms a $\text{pH} = 6.00$ y diferentes temperaturas.

Las películas formadas por L- α -fosfatidilcolina y con un alto contenido de ésta, presentan una transición de fase entre los estados líquido extendido y líquido condensado, que no desaparece conforme aumentan el pH o la temperatura de la monocapa. En general, todas las películas están más extendidas a valores de pH y temperatura altos, y, comparando ambos efectos, observamos que estas monocapas son algo más sensibles al aumento de la temperatura que al del pH.

Estas características también se reflejan en las Tablas II.34-II.39, donde presentamos valores de área específica límite y presiones y áreas de colapso a distintas condiciones experimentales para todas las fracciones molares intermedias.

TABLA II.34

pH	$A^0(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_C(\text{mN m}^{-1})$	$A_C(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
2.00	14.53	68.6	7.94
4.00	14.92	67.1	8.51
6.00	18.91	67.0	8.75
8.00	18.36	66.1	8.84
10.00	17.14	66.0	9.21
12.00	16.53	64.3	9.27

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Lecitina-75%Ac. Quenodeoxicólico a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs

Los valores presentados en las tablas anteriores están de acuerdo, en general, con la descripción previa que realizamos de las isoterms registradas a distintas condiciones experimentales. Así, los valores de área específica límite y área de colapso son inferiores a pHs ácidos y

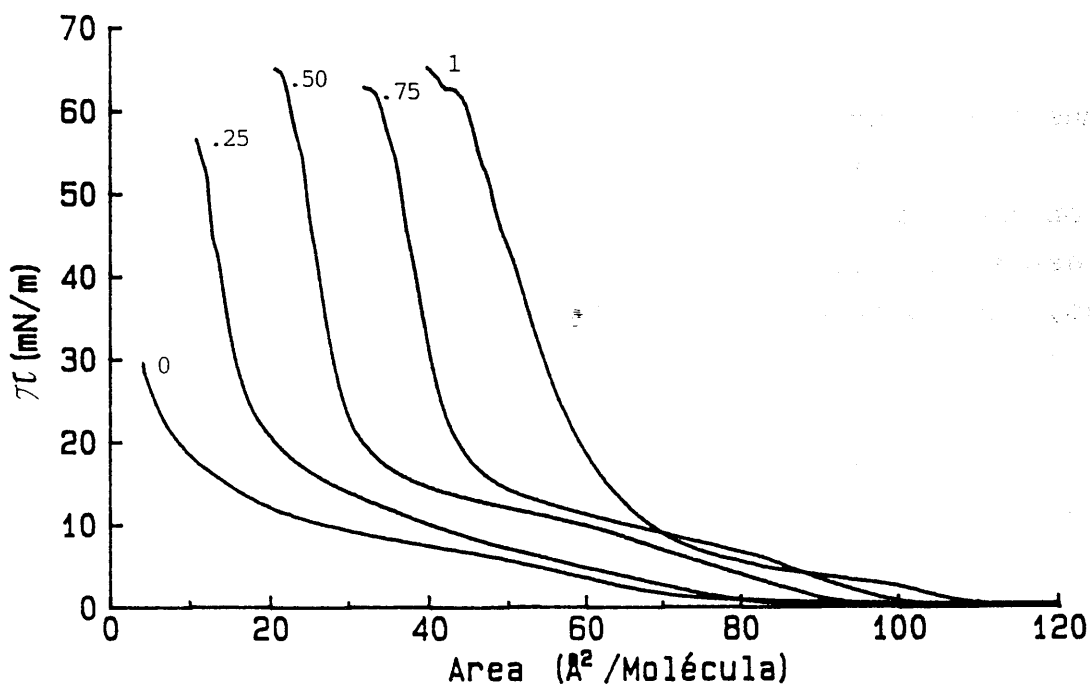


Fig. 2.83. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=30°C

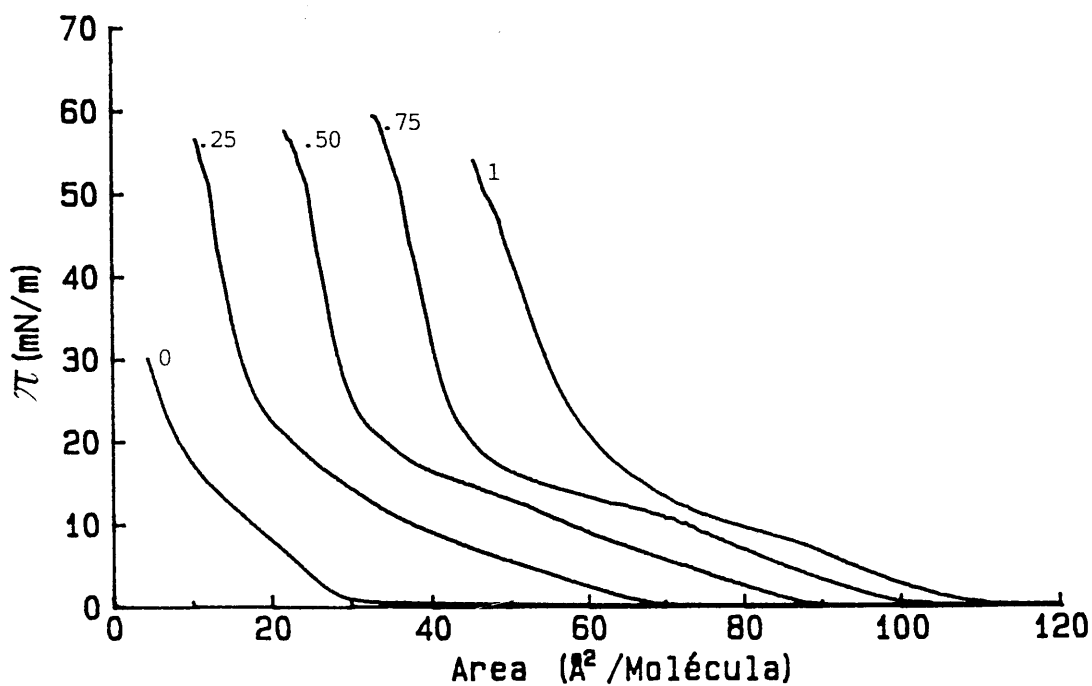


Fig. 2.84. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=35°C

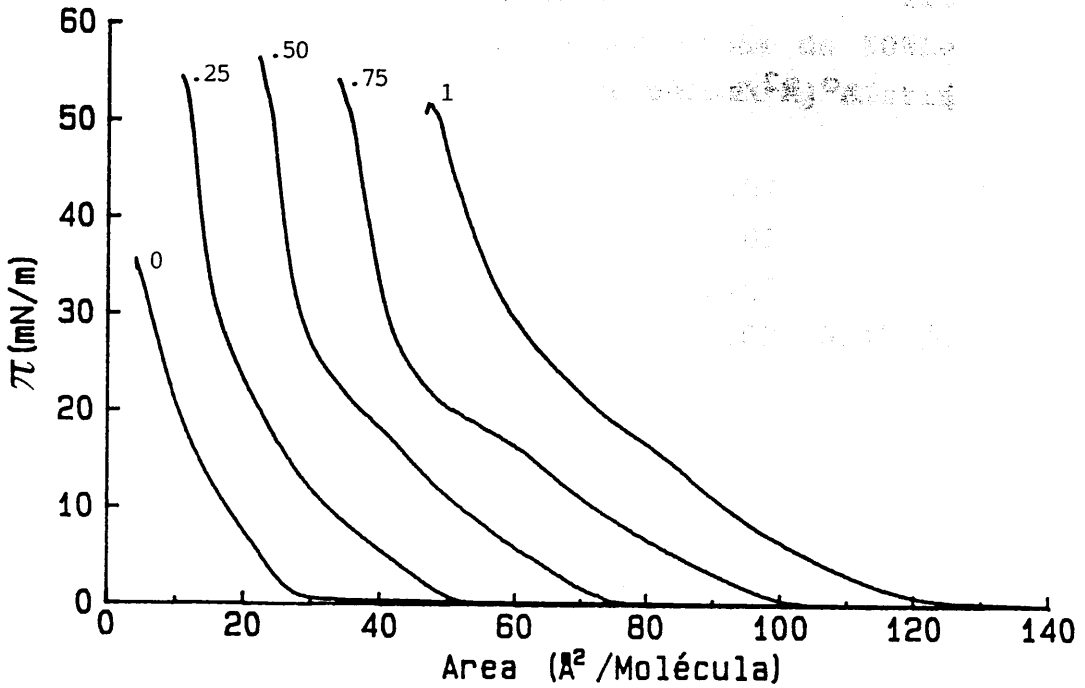


Fig. 2.85. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido queno-deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=40°C

9.91 94.01 1.23 32.7 25.05 1000
 números superficiales de monómeros de 20000
 100-20000 Queno-deoxicólico a T=40°C y pH=6
 37.55 32.7 25.05 1000
 números superficiales de monómeros de 20000

temperaturas bajas (pH = 6.00) que los estimados a pHs básicos y temperaturas altas (pH = 6.00), y los valores de colapso siguen la tendencia inversa. Este último efecto nos indica que estas películas presentan una compresibilidad similar.

TABLA II.35

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	18.91	67.0	8.75
30	20.28	56.6	10.84
35	22.30	63.5	6.84
40	20.07	54.4	10.66

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Leci-
tina-75%Ac.Quenodeoxicólico a pH=6.00 y distintas
temperaturas

TABLA II.36

pH	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
2.00	27.25	66.7	18.10
4.00	28.06	58.4	20.27
6.00	31.80	68.3	17.19
8.00	30.86	64.3	19.94
10.00	31.60	65.8	19.79
12.00	30.32	65.1	19.81

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Leci-
tina-50%Ac.Quenodeoxicólico a T=25°C y distintos
pHs

TABLA II.37

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	31.80	68.3	17.19
30	32.53	* 66.2	19.95
35	34.40	62.4	18.00
40	31.98	56.5	21.99

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Lecitina-50%Ac.Quenodeoxicólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

TABLA II.38

pH	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
2.00	39.43	65.4	28.46
4.00	40.03	62.0	30.16
6.00	44.01	62.7	30.78
8.00	47.70	62.6	31.80
10.00	46.98	65.6	31.76
12.00	46.93	65.6	32.61

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Lecitina-25%Ac.Quenodeoxicólico a T=25°C y distintos pHs

TABLA II.39

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	44.01	62.7	30.78
30	45.43	62.9	31.91
35	46.90	63.4	29.11
40	47.85	54.3	33.62

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Lecitina-25%Ac.Quenodeoxicólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

4.5.1. Miscibilidad y Fases Superficiales.

En el diagrama área molecular media-fracción molar de lecitina, presentado en la Fig. 2.86 a $\text{pH} = 6.00$ y $T = 25^\circ\text{C}$, observamos que a estas condiciones y a presiones superficiales altas, 25 y 30 mNm^{-1} , el ácido quenodeoxicólico y la lecitina son inmiscibles entre sí. Cuando disminuye la presión superficial a 15 y 5 mNm^{-1} , las áreas exhiben desviaciones positivas del comportamiento ideal si las películas contienen 50 y 75% de lecitina. En esta zona de presiones superficiales la lecitina ejerce un efecto expansionante sobre el ácido, y éste sobre la lecitina, ya que ambos compuestos se encuentran en estado de líquido extendido, así pues, queda de manifiesto la existencia de fuerzas repulsivas entre estos dos componentes a las proporciones de lecitina 1:1 y 1:2, respectivamente, debidas probablemente a efectos de tipo estérico, ya que si fueran de tipo electrostático se darían también a la primera proporción y, además, a $\text{pH} = 6.00$ las moléculas de ácido quenodeoxicólico no estarán excesivamente disociadas. No obstante, estudiaremos a continuación el efecto del pH tanto a altas como a bajas presiones superficiales.

En la Fig. 2.87(a,b) presentamos las curvas área por molécula-fracción molar de lecitina a $T = 25^\circ\text{C}$ y $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$ para distintos valores de pH .

Cuando el pH es ácido, las áreas se desvían positivamente del comportamiento previsto por la regla de aditividad, demostrando la existencia de fuerzas repulsivas entre ambos componentes para todos los valores de composición.

En medio básico, estos componentes exhiben una interacción contraria a la anterior, es decir, de tipo atractivo, que se manifiesta por las desviaciones negativas de la aditividad, y que pueden interpretarse teniendo en cuenta que a esta presión superficial el ácido quenodeoxicólico se extiende mucho más que la lecitina por efecto del

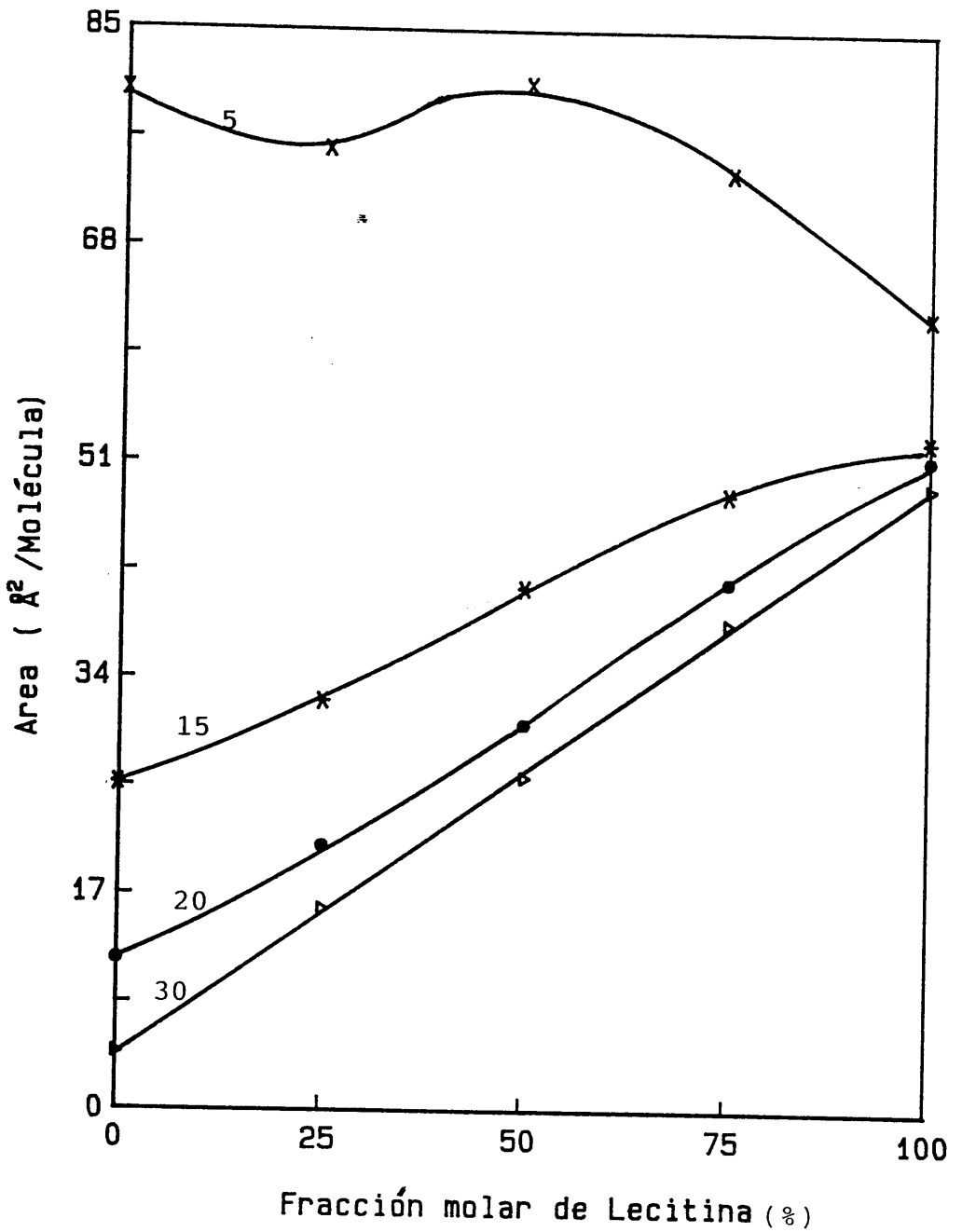


Fig. 2.86. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido queneoicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6, T=25°C y distintas presiones superficiales

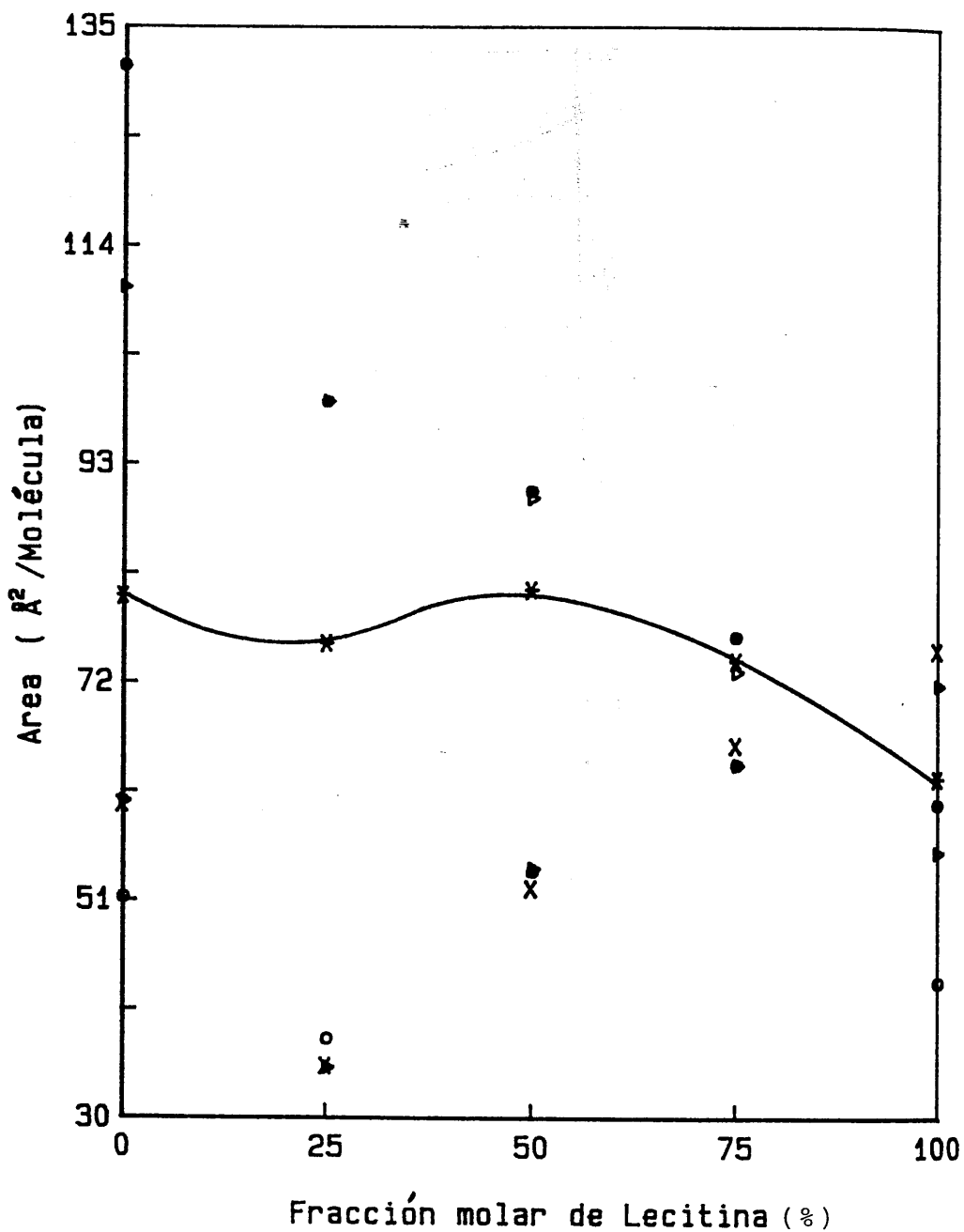
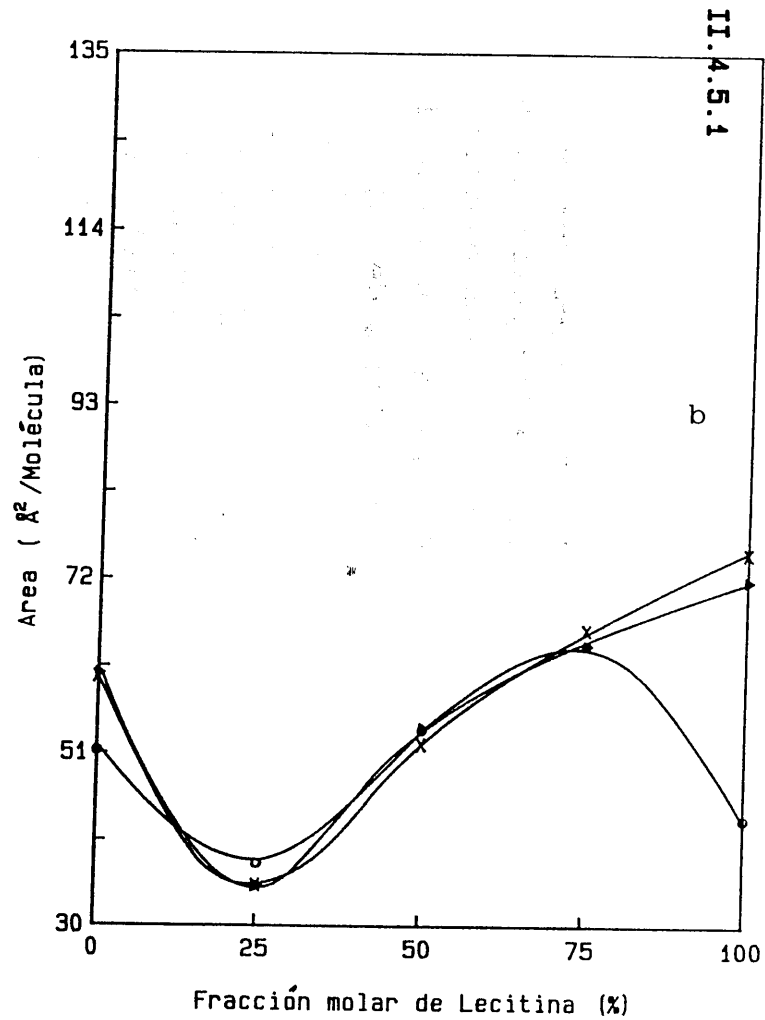
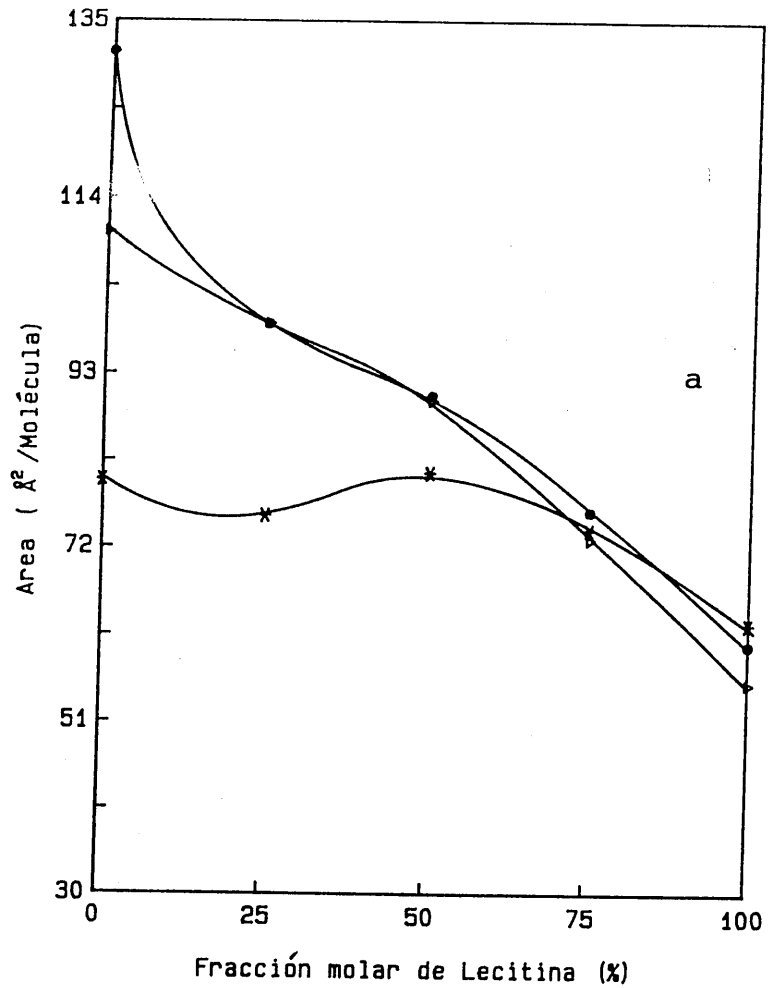


Fig. 2.87. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=5 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2, 4 y 6; (b) pH= 8, 10 y 12



II.4.5.1

pH, de forma que a pHs básicos existe una diferencia apreciable en las características de las películas de ambos componentes y el ácido es susceptible de condensación por la lecitina. (Las interacciones electrostáticas serán dominantes entre ambos compuestos a estos valores de pH).

Si el pH de la subfase es intermedio a los dos vistos con anterioridad, el comportamiento de las películas es también intermedio al que presentan a esas condiciones.

El efecto del pH a 30 mNm^{-1} se presenta en la Fig. 2.88(a,b,c). Prácticamente para todo el intervalo de pHs, el ácido quenodeoxicólico y el colesterol son inmiscibles a esta presión superficial, aunque en la zona de pHs básicos (8.00-12.00), se observa una tendencia de las áreas a desviarse negativamente del comportamiento ideal a las fracciones 25 y 50% de colesterol. Este efecto tiene la misma explicación que a bajas presiones superficiales.

En la Fig. 2.89(a,b,c) representamos los valores de presión de colapso en función de la fracción molar de lecitina a $T = 25^\circ$ y distintos pHs, observándose una variación continua de la presión con la composición, de forma que si aplicamos la regla de fase bidimensional, el número de grados de libertad es igual a 1, y existirá una sola fase colapsada, que en el caso de pHs ácidos estará constituida sólo por L- α -fosfatidilcolina, y cuando el pH es básico, coexistirán ambos componentes en esta fase.

El efecto de la temperatura sobre estas películas monomoleculares mixtas es análogo al ejercido por el pH de la subfase, e incluso más acusado. Este efecto se recoge en la Fig. 2.90 a la presión superficial 5 mNm^{-1} , y donde las desviaciones positivas del comportamiento ideal, a 25 y 30°C en las fracciones 50 y 75% de lecitina y a 35°C en todo el intervalo de composición, que presentan las áreas moleculares medias ponen de manifiesto la existencia de interacciones repulsivas entre ambos compuestos, igual que ocurre a pHs ácidos y presiones superficiales bajas, probablemente debidos también a efectos de tipo estérico. Cuando la

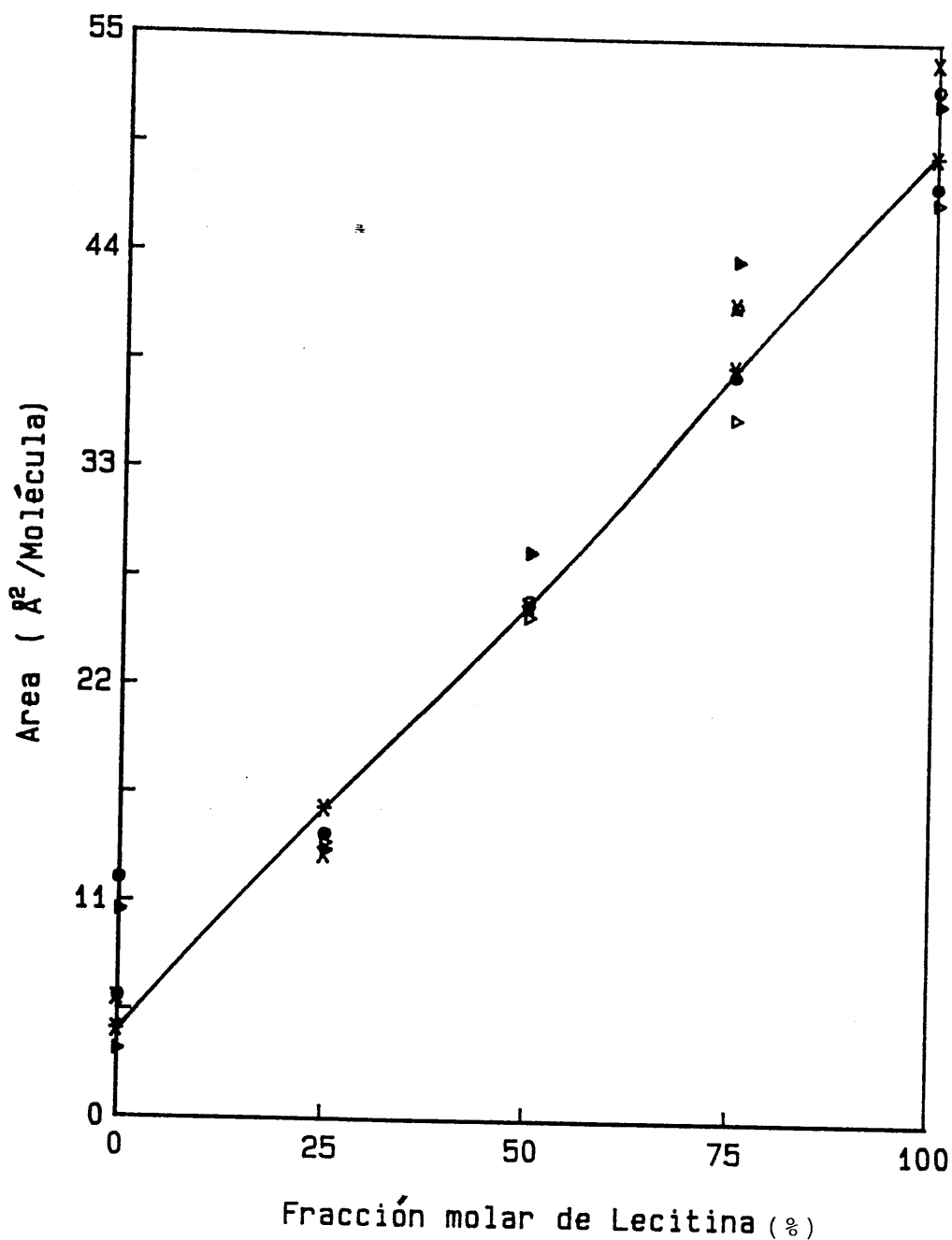
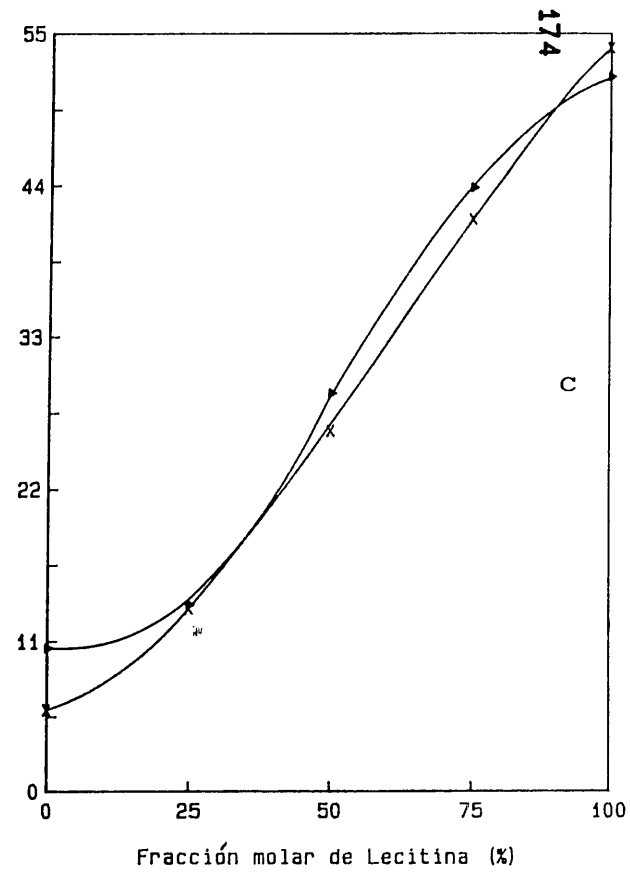
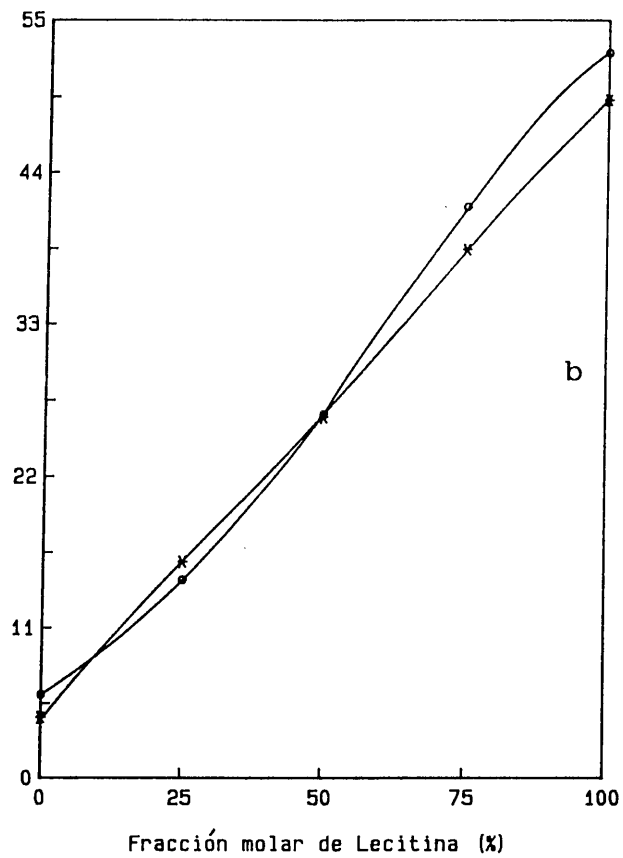
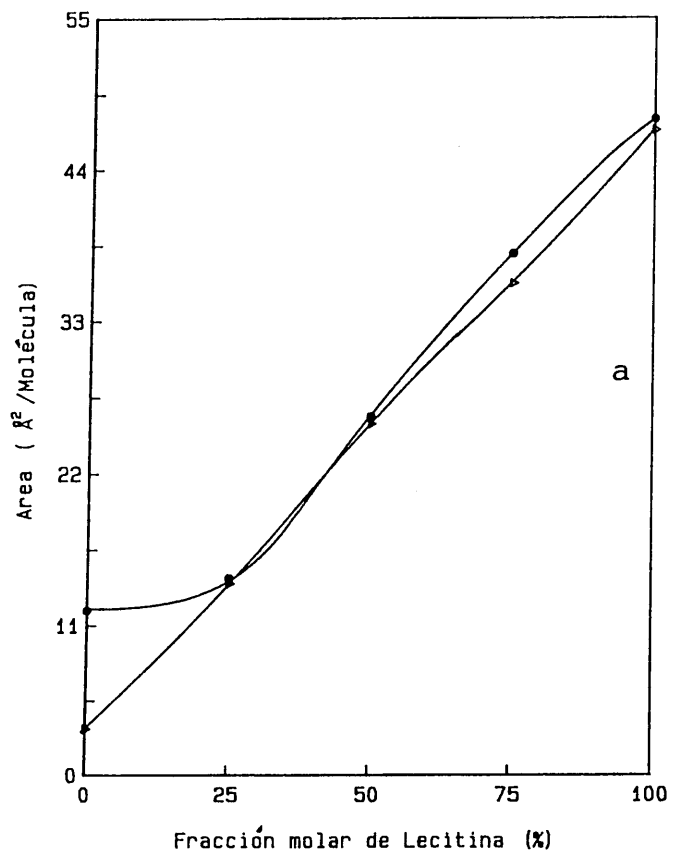


Fig. 2.88. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=30 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



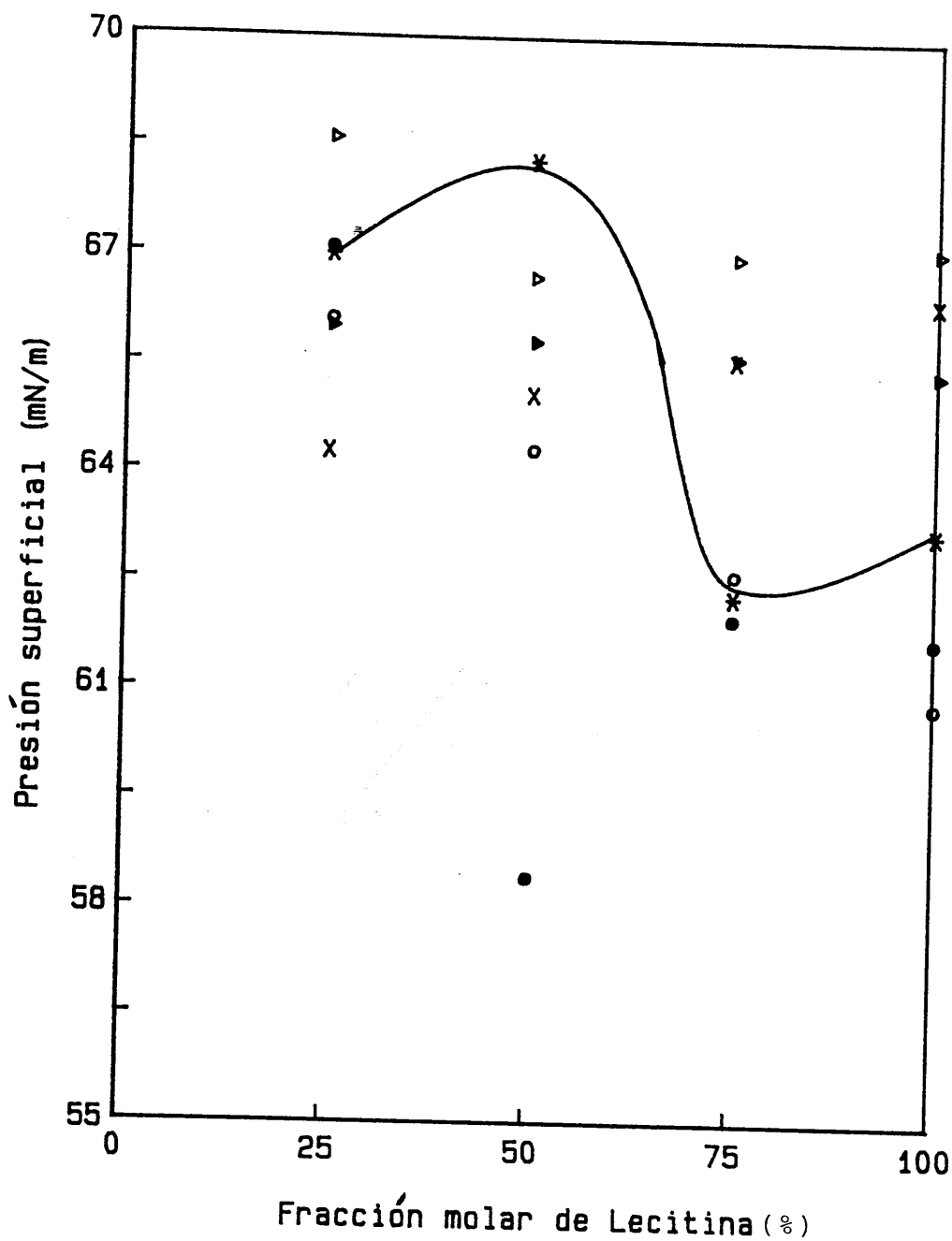
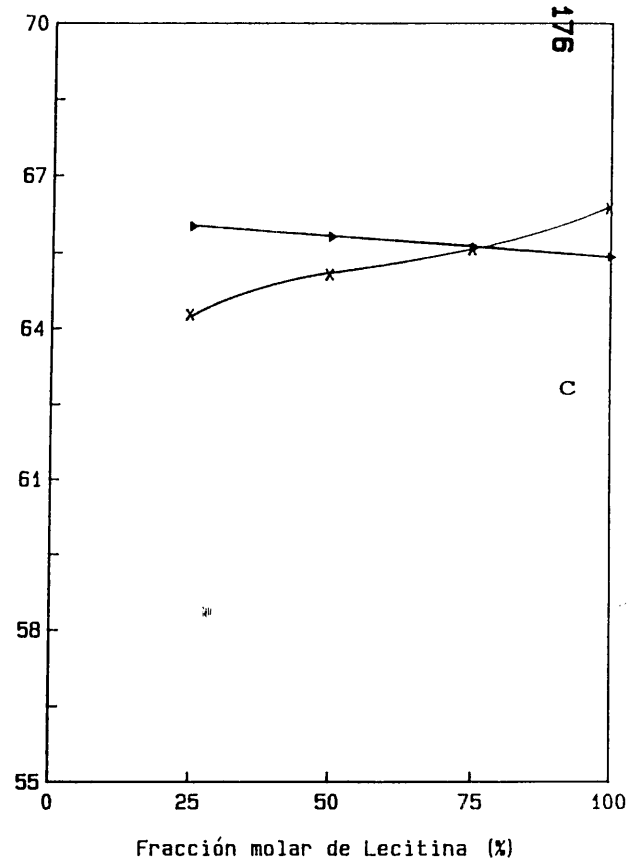
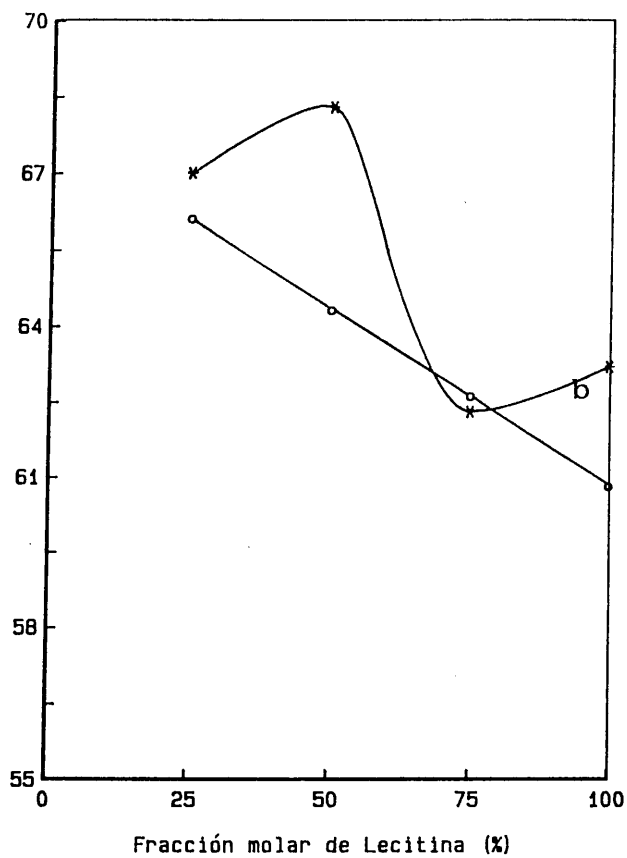
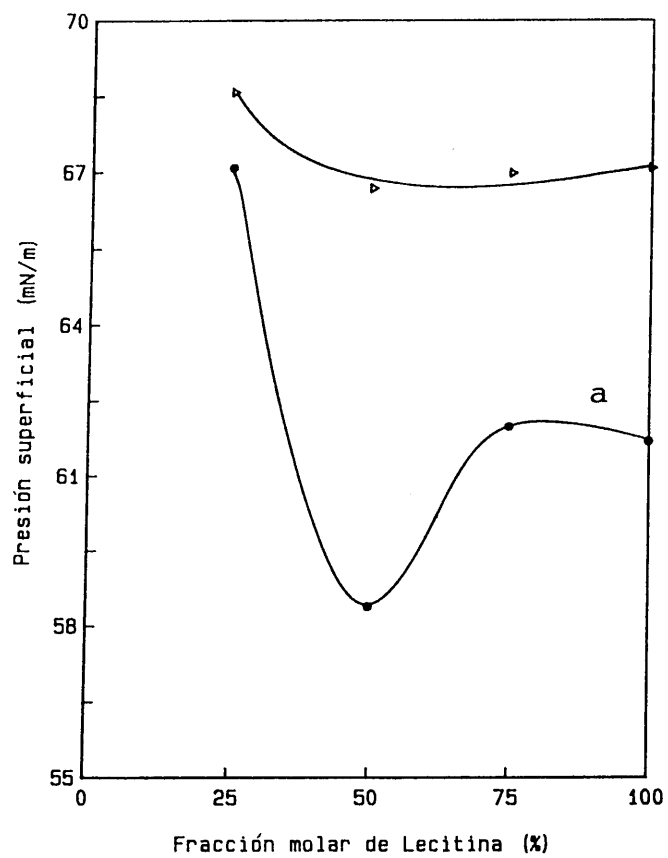


Fig. 2.89. Presión de colapso en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



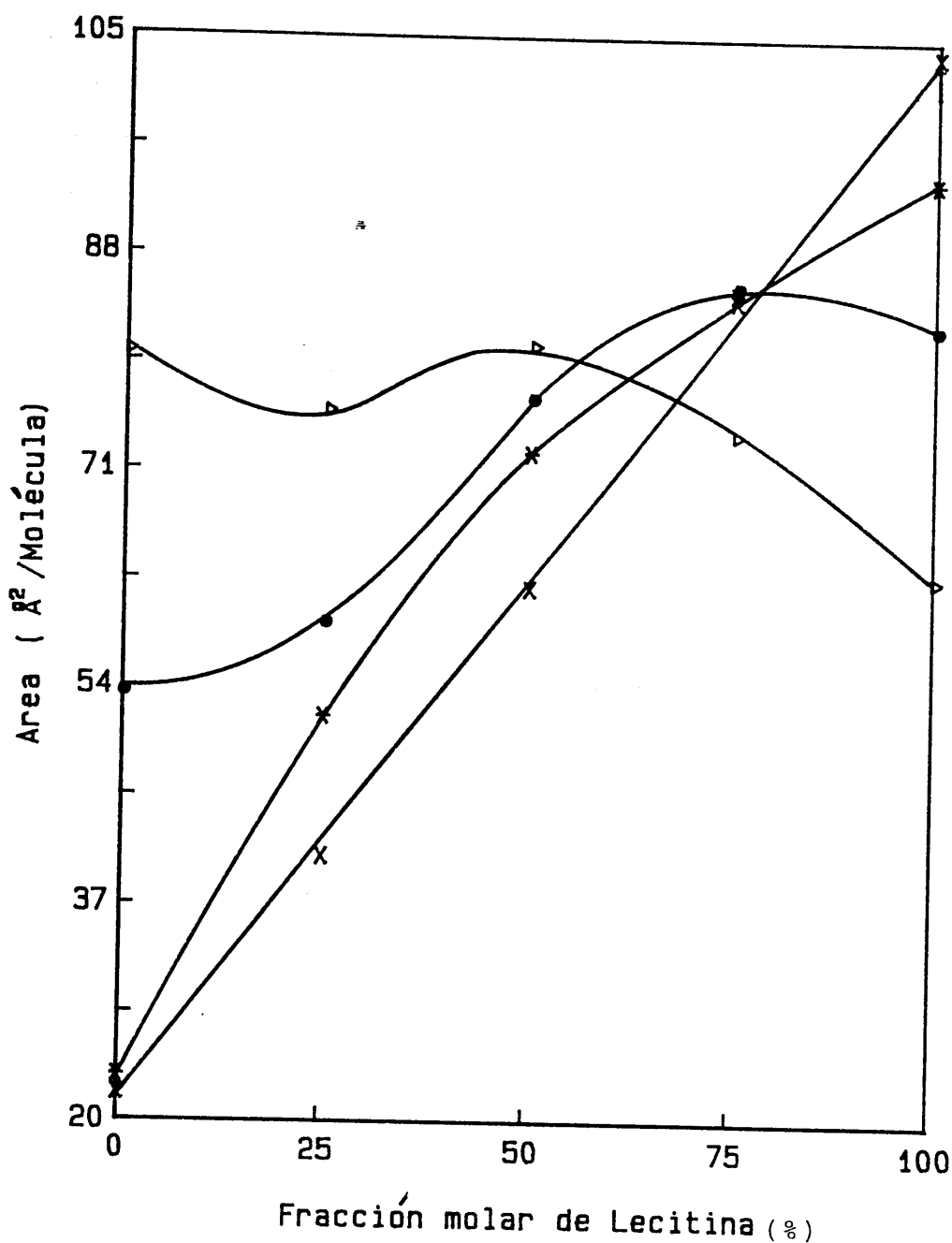


Fig. 2.90. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6, $\Pi=5 \text{ mNm}^{-1}$ y distintas temperaturas

temperatura del sistema se eleva a 40°C, el comportamiento lineal de las áreas por molécula declara completa inmiscibilidad entre ambos componentes, ya que a esta temperatura las moléculas en continuo movimiento no se acercarán lo suficiente como para interactuar entre sí.

El mismo diagrama, pero a $\Pi = 30 \text{ mNm}^{-1}$, se representa en la Fig. 2.91(a,b). A partir de su observación, podemos deducir que, a medida que aumenta la presión superficial en la película, los componentes ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina cambian su configuración o manera de ordenarse en la superficie, ya que a presiones altas y a temperaturas de 25, 30 y 35°C, estos componentes son inmiscibles entre sí, y a 40°C interactúan, produciendo la lecitina una débil condensación de ácido quenodeoxicólico. Estos resultados podemos explicarlos suponiendo que estos dos tipos de moléculas no interactúan cuando se encuentran en posición vertical, excepto a pHs muy básicos o a temperaturas muy altas donde las películas de ácido se encuentran mucho más extendidas que las de lecitina, ejerciendo esta un efecto condensante sobre el ácido. Cuando estas moléculas se encuentran paralelas a la superficie, las películas están más extendidas por efecto de interacciones repulsivas entre ambos compuestos, debidas, probablemente, a efectos de tipo estérico.

En la Fig. 2.92 observamos como las presiones de colapso varían continuamente con la composición a pH = 6.00 y a las temperaturas estudiadas. Esto indica la presencia de una sola fase colapsada que a 25, 30 y 35°C estará constituida sólo por la lecitina, permaneciendo el ácido quenodeoxicólico en la película durante el colapso, y a 40°C esta fase estará formada por ambos componentes miscibles entre sí. Al no observarse grandes desviaciones de la linealidad, no pensamos que exista una estructura definida a alguna proporción.

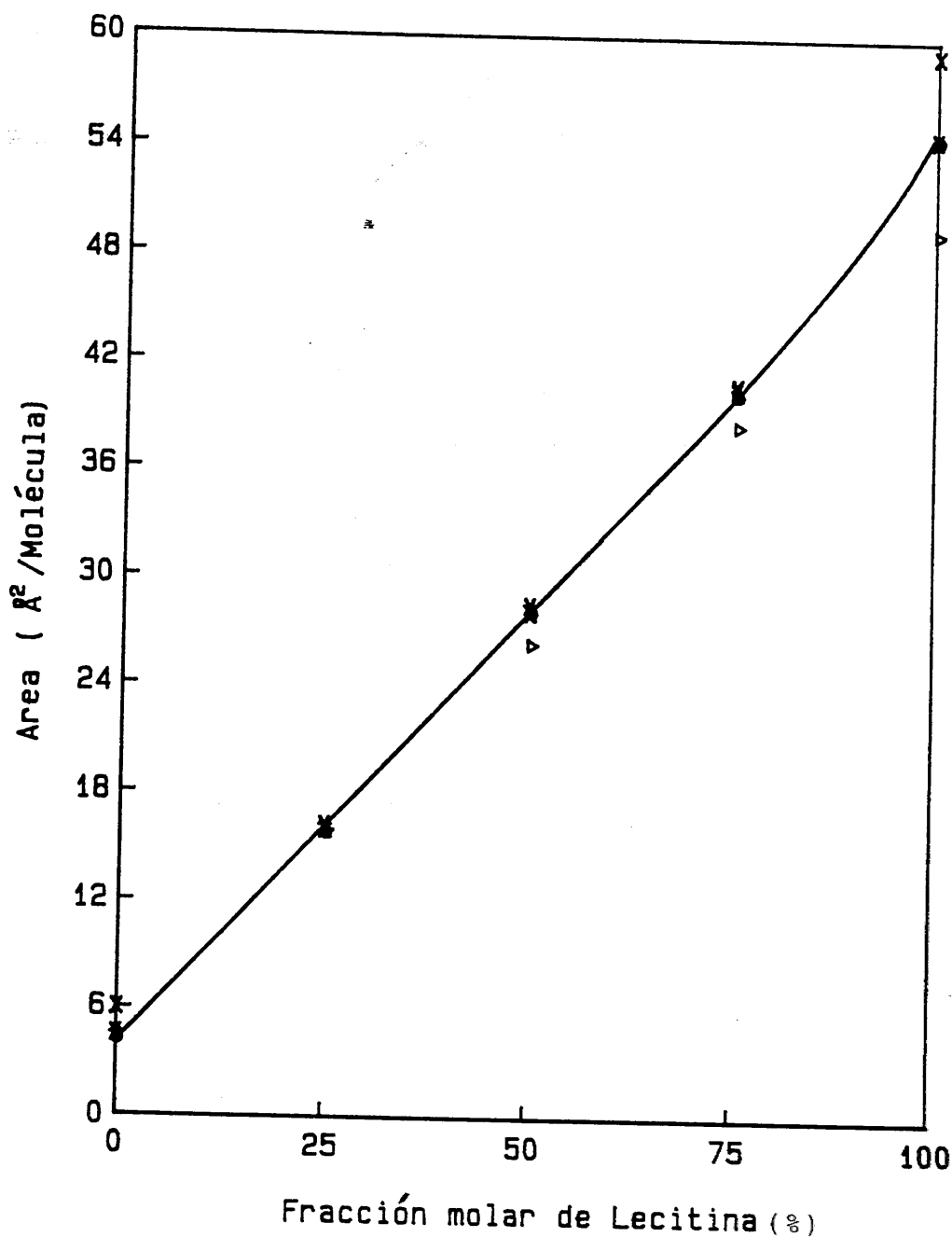
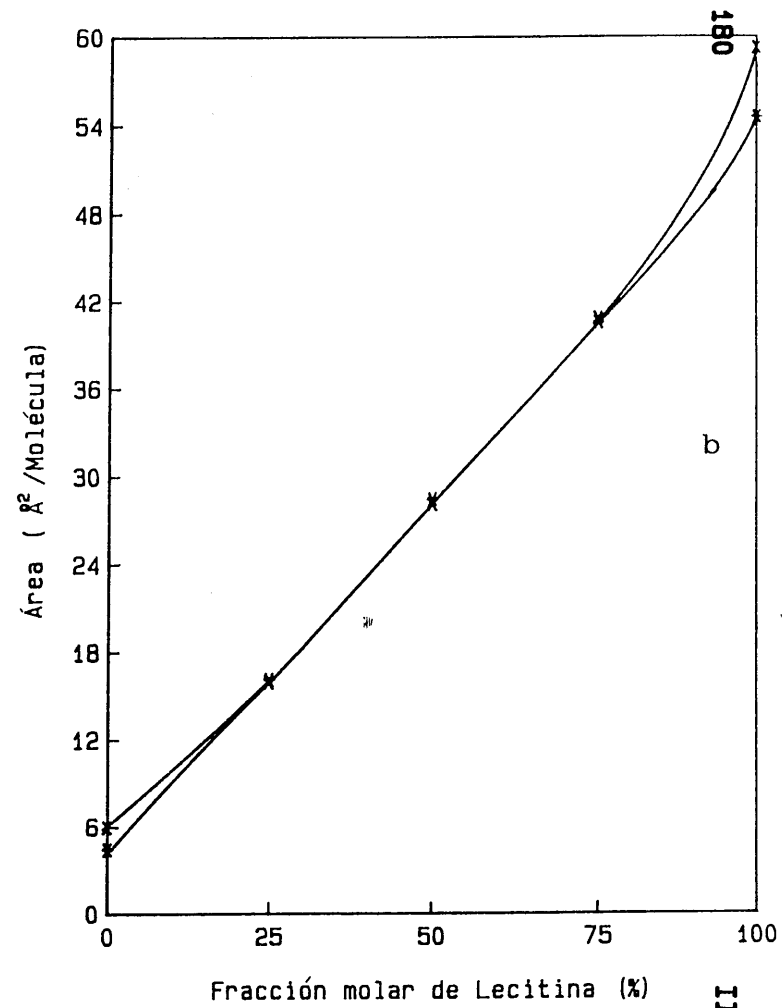
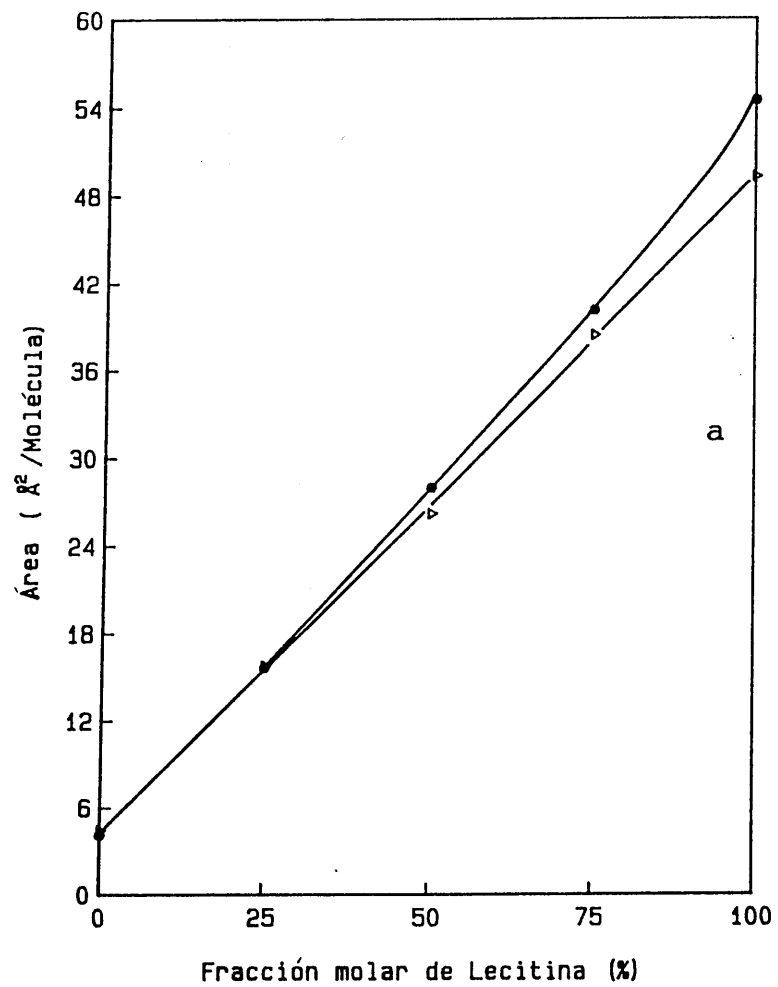


Fig. 2.91. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6, $\Pi=30 \text{ mNm}^{-1}$ y distintas temperaturas: (a) T= 25 y 30°C; (b) T= 35 y 40°C



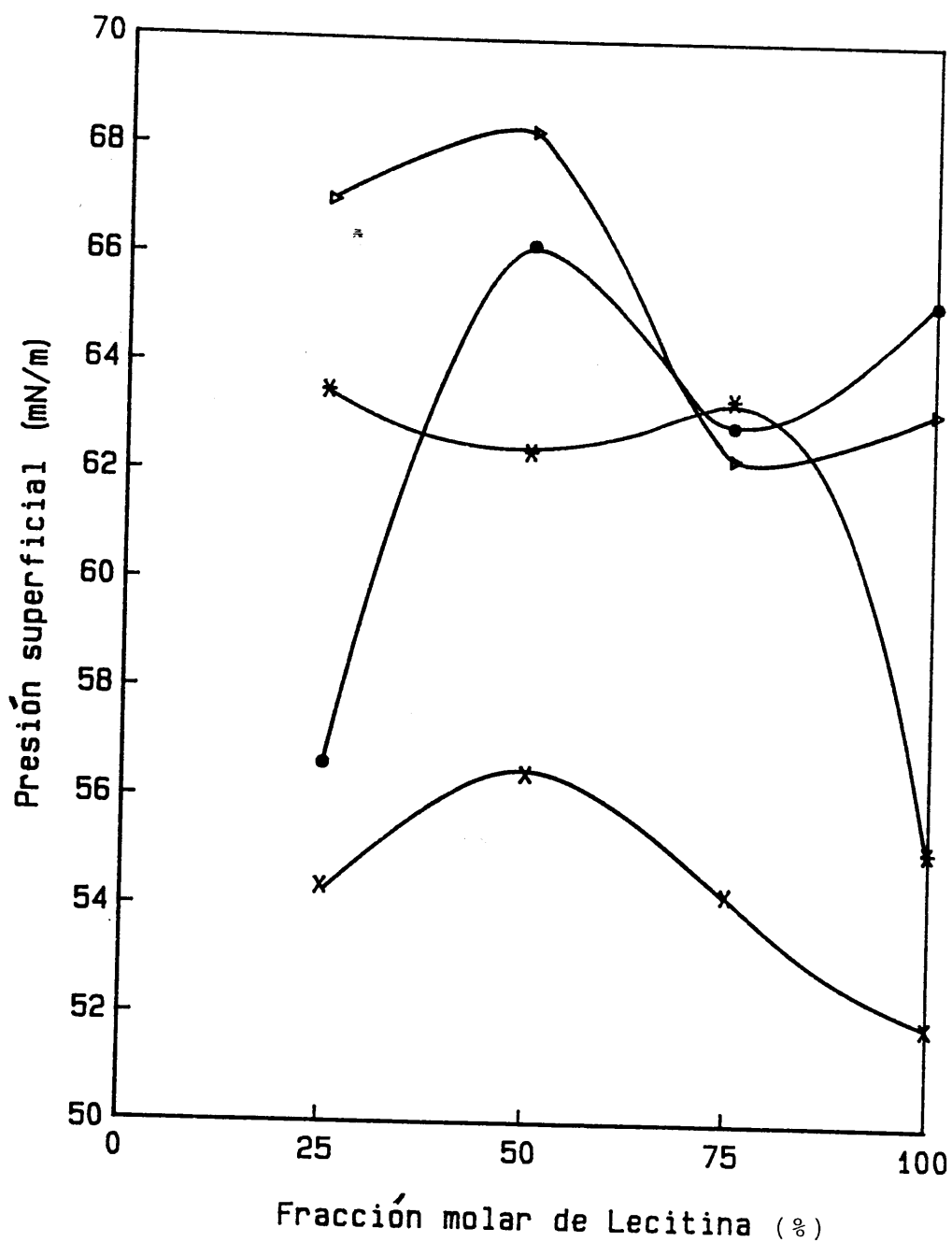


Fig. 2.92. Presión de colapso en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y distintas temperaturas

4.6. MONOCAPAS MIXTAS DE ACIDO DEOXCICOLICO-COLESTEROL

Las isoterms obtenidas para películas que contienen ácido deoxicólico, colesterol y mezclas de ambos a diferentes condiciones experimentales están dibujadas en las Figs. 2.93-2.98, a distintos pHs; y en las Figs. 2.99-2.101, a diferentes temperaturas.

Como el comportamiento de este ácido es muy parecido al presentado por el ácido quenodeoxicólico, muchos de los resultados obtenidos en este apartado serán discutidos en los mismos términos que anteriormente.

Las películas formadas por ácido deoxicólico y mezcla de este con colesterol sufren una transición de fase principal entre dos estados líquidos, uno extendido y otro condensado, a pHs ácidos y a $T=25^{\circ}\text{C}$. Estos resultados están de acuerdo con los presentados por Leal López y col. (1966) y Miñones y col. (1968). Cuando las condiciones experimentales son inversas, es decir, a pHs básicos y temperaturas elevadas esta transición de fase no tiene lugar.

4.6.1. Miscibilidad y Fases Superficiales

Las posibilidades de interacción entre ambos compuestos a diferentes presiones superficiales podemos discutir las observando la Fig. 2.102, donde se representan las áreas moleculares medias a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=6.00$ y a distintas presiones superficiales en función de la fracción molar de colesterol. Así, percibimos que a presiones bajas estos compuestos interaccionan entre sí a través de fuerzas atractivas. A $\Pi = 25 \text{ mNm}^{-1}$, el ácido deoxicólico y el colesterol no manifiestan ningún tipo de interacción, y a la presión de 40 mNm^{-1} , desviaciones positivas de la idealidad reflejan una ligera interacción de tipo repulsivo entre ambos.

Este comportamiento es diferente cuando modifica-

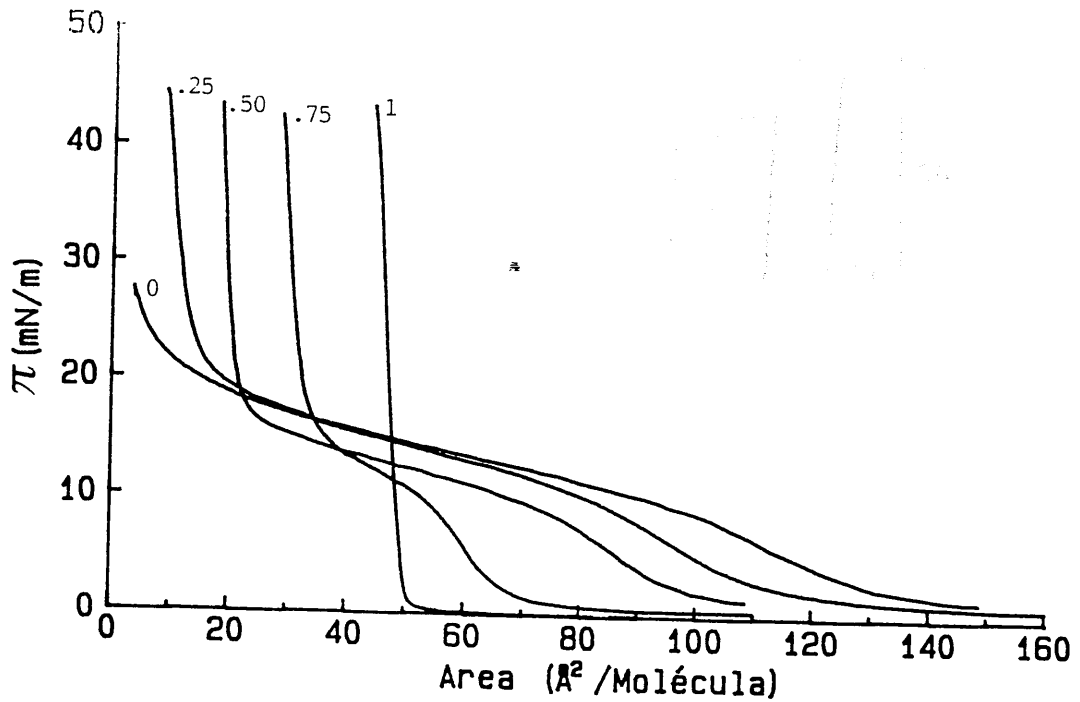


Fig. 2.93. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=2 y T=25°C

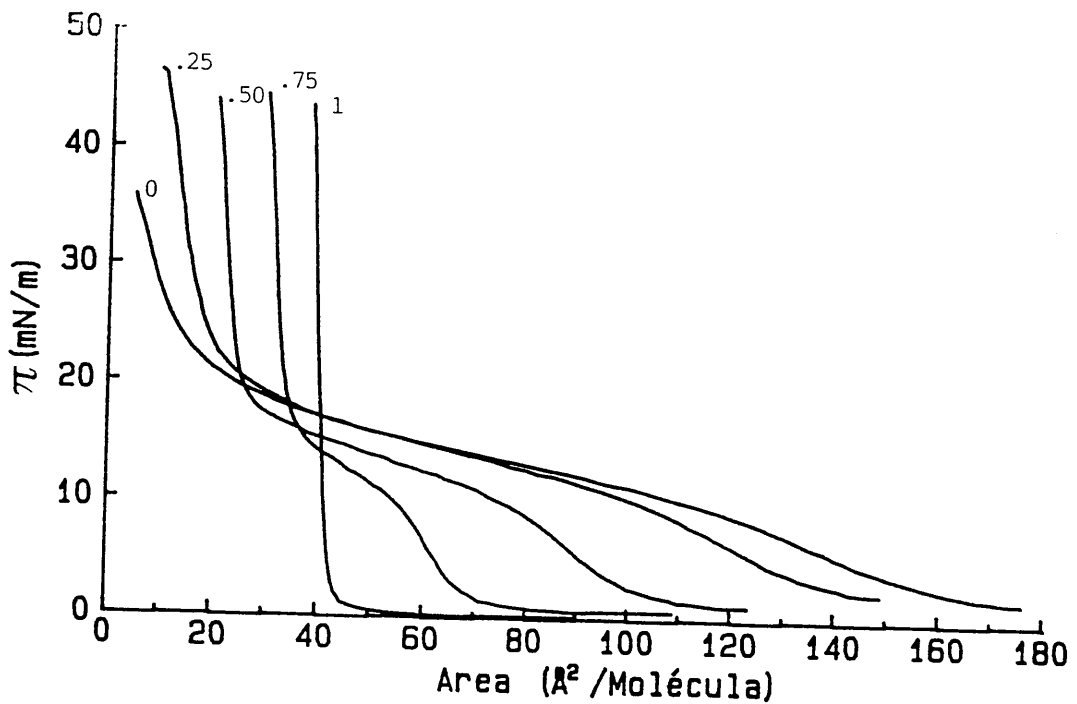


Fig. 2.94. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=4 y T=25°C

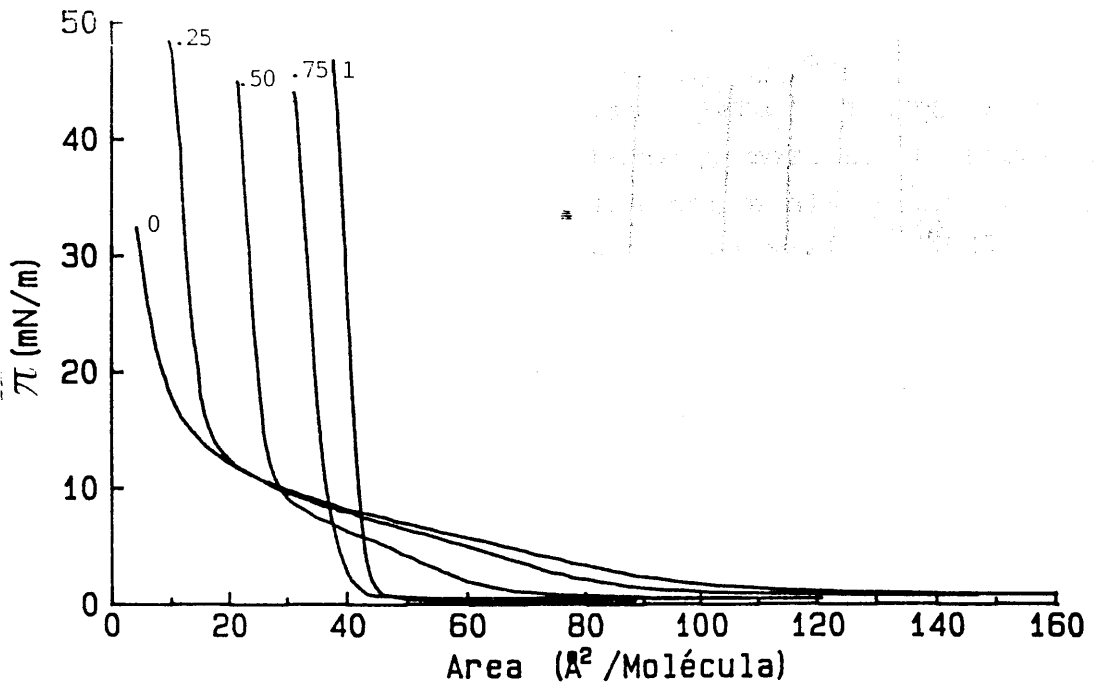


Fig. 2.95. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=6 y T=25°C

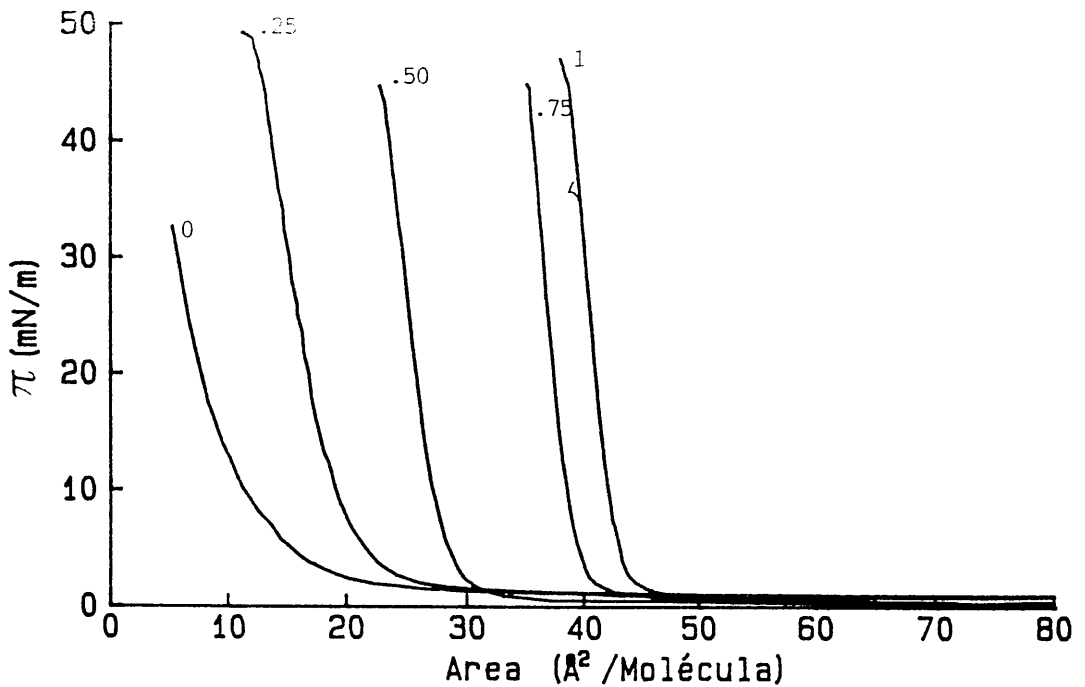


Fig. 2.96. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=8 y T=25°C

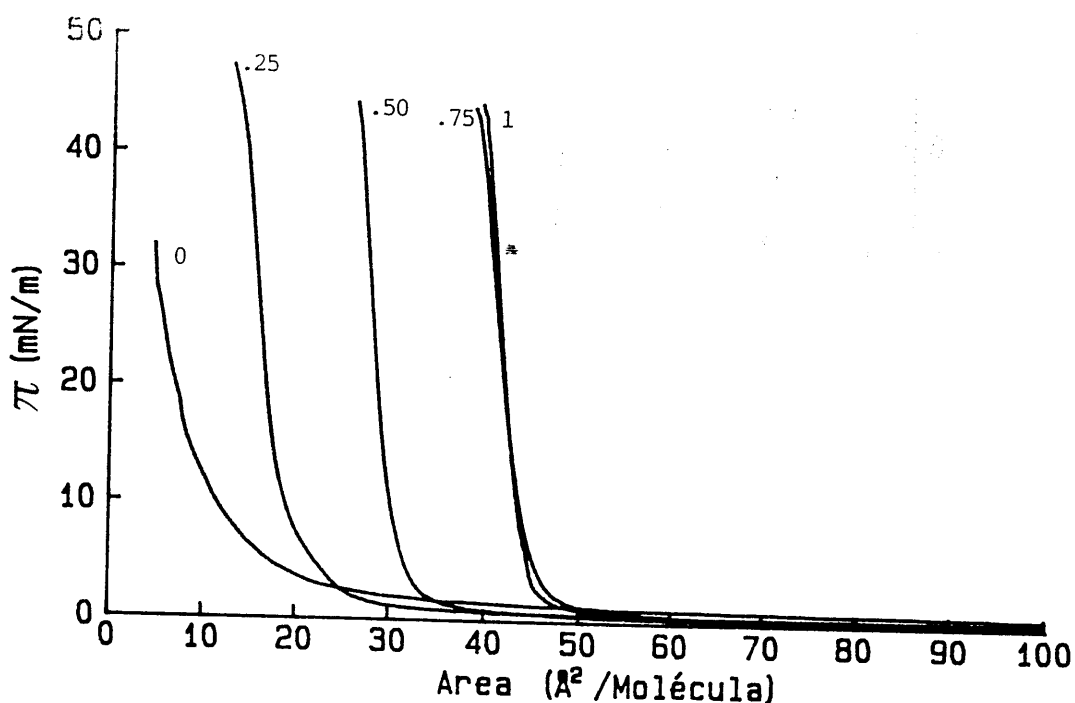


Fig. 2.97. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=10 y T=25°C

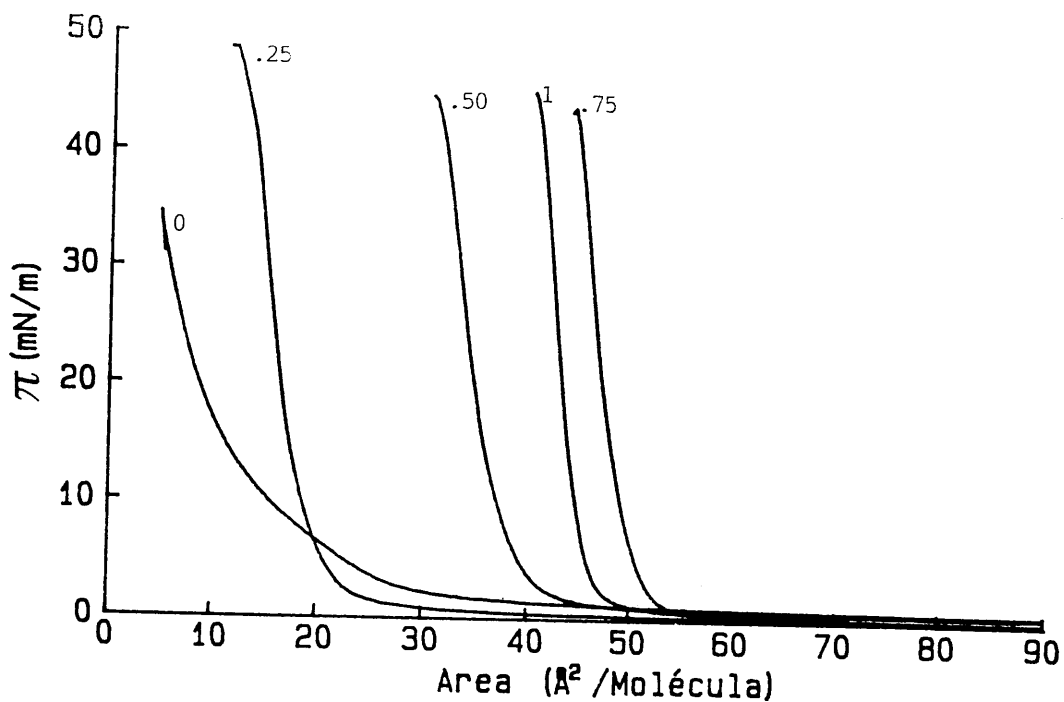


Fig. 2.98. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=12 y T=25°C

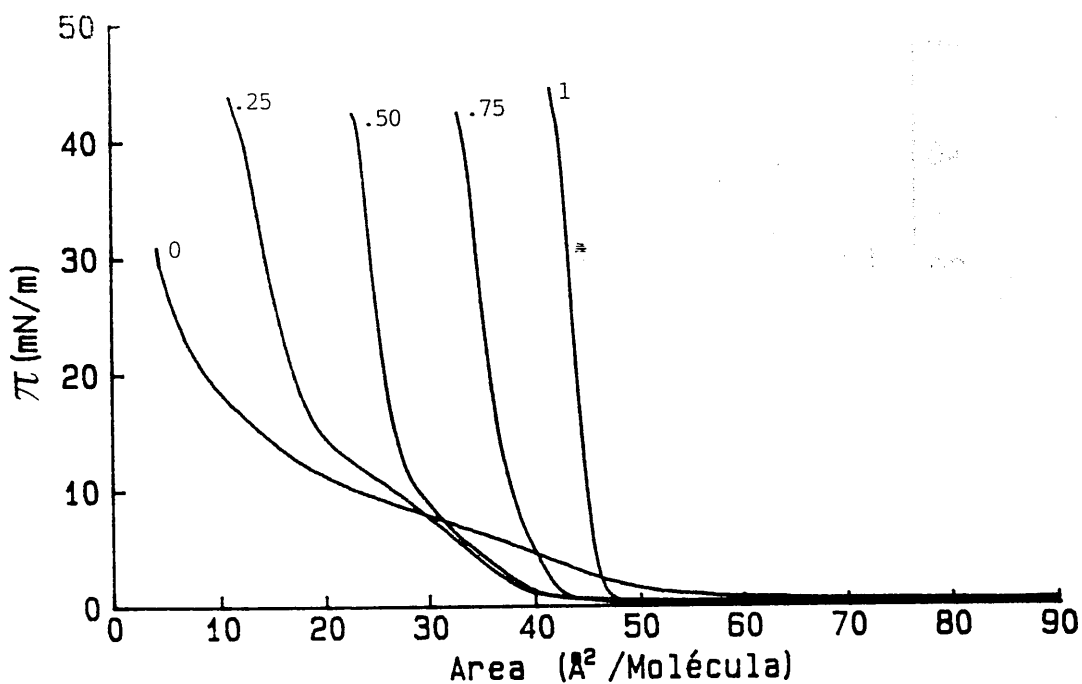


Fig. 2.99. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=6 y T=30°C

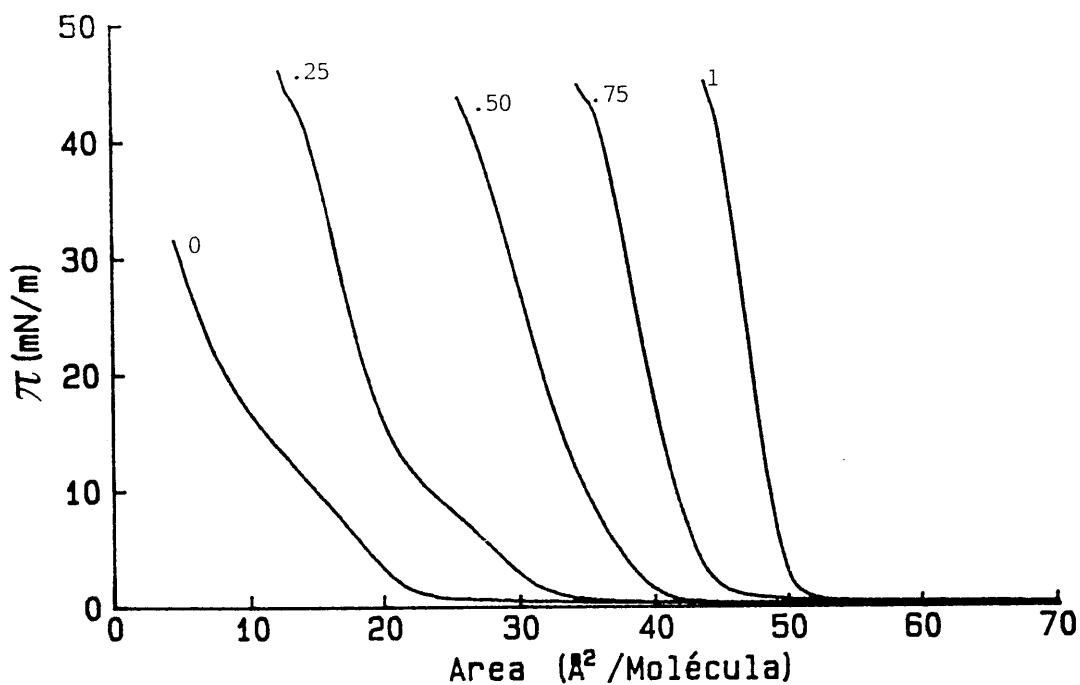


Fig. 2.100. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=6 y T=35°C

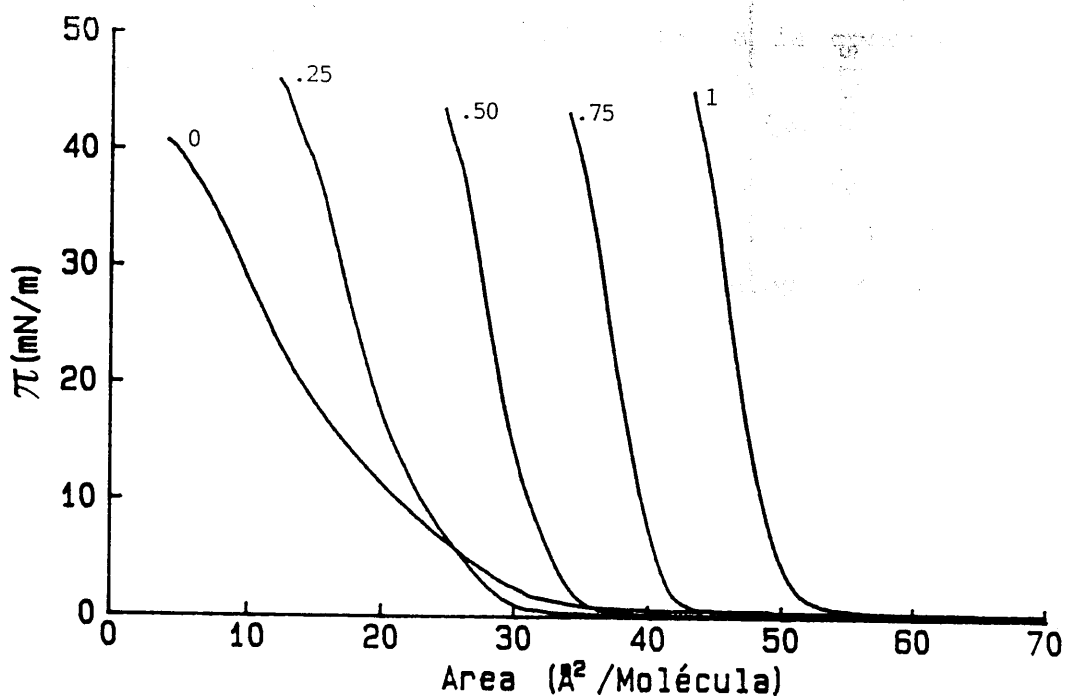


Fig. 2.101. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=6 y T=40°C

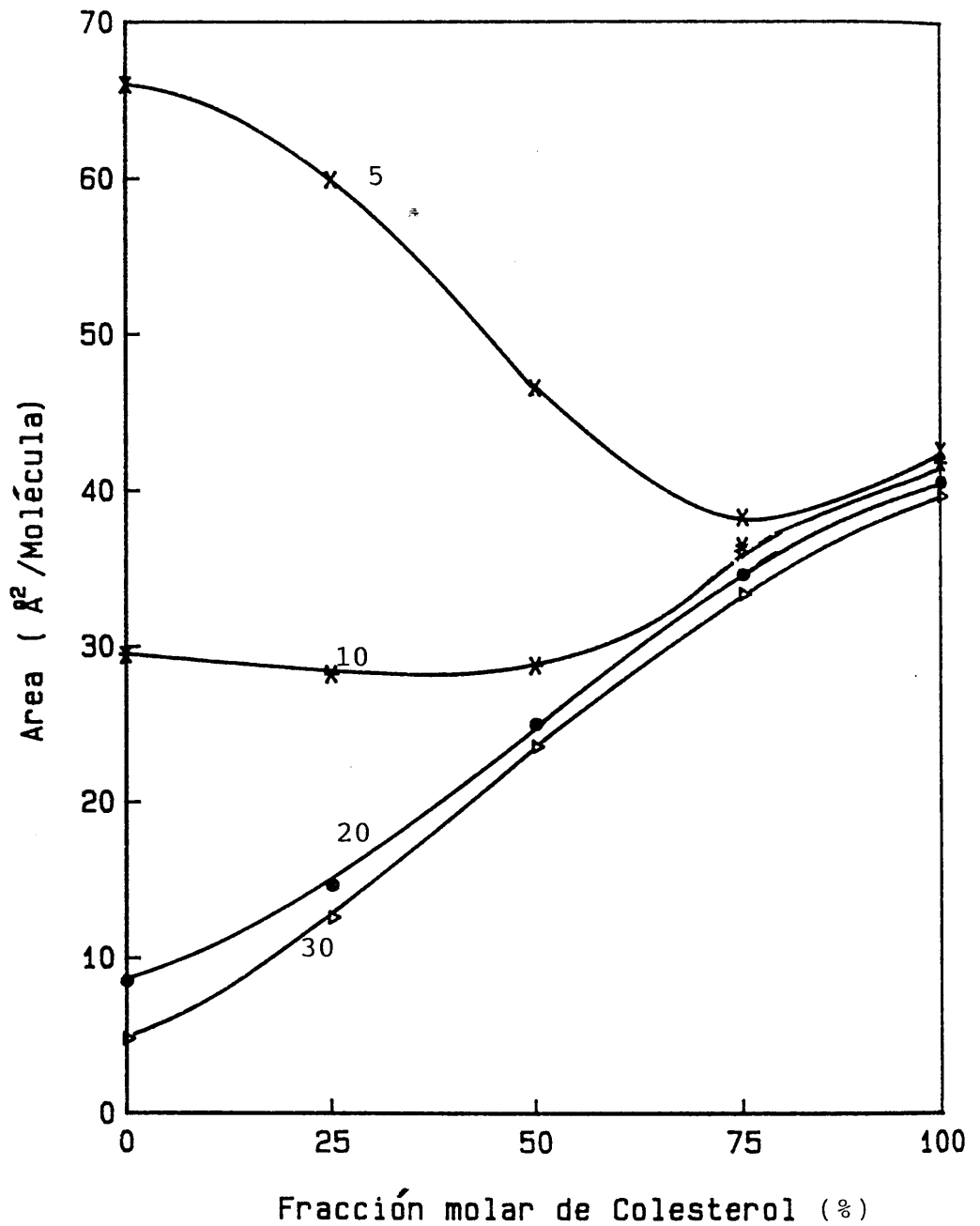


Fig. 2.102. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=6$ y distintas presiones superficiales

mos el pH de la subfase, hecho que podemos observar en las Figs. 2.103(a,b) y 2.104(a,b), donde se representan las mismas variables que en la Fig. 2.102 a diferentes pHs para las presiones superficiales 5 y 30 mNm^{-1} , respectivamente. En la primera figura comprobamos que a pH = 2.00 las áreas por molécula exhiben desviaciones positivas de la idealidad cuando las películas contienen 25 y 50% de colesterol e inmiscibilidad entre los componentes cuando la proporción es de 75% de colesterol. Cuando el pH toma el valor 4.00, la situación de inmiscibilidad se desplaza a la composición de 50% de colesterol, y para 25 y 75% de colesterol este compuesto y el ácido deoxicólico interaccionan entre sí, a través de fuerzas repulsivas en el primer caso y de tipo atractivo en el segundo. Conforme aumentamos el pH, estos compuestos pasan a ser inmiscibles entre sí para bajas proporciones de colesterol y, al aumentar el contenido de este en las películas, las áreas vuelven a mostrar desviaciones positivas del comportamiento ideal, llegando finalmente al pH más básico, 12.00, donde los resultados son inversos a los vistos para pHs ácidos.

A la presión de 30 mNm^{-1} , el comportamiento a distintos pHs es diferente que a $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$. A partir de la Fig. 2.103, deducimos que a pHs ácidos y alto contenido de colesterol estos dos compuestos interaccionan a través de fuerzas repulsivas, mientras que a bajas fracciones de colesterol lo hacen exhibiendo un efecto condensante. A pHs básicos, todas las áreas moleculares medias presentan desviaciones positivas de la idealidad.

Las curvas de la Fig. 2.105(a,b,c), en la cual están representadas las presiones de colapso de las películas en función de la fracción molar de colesterol a $T=25^\circ\text{C}$ y diferentes pHs, están de acuerdo con la tendencia de los resultados presentados en la Fig. 2.104 a 30 mNm^{-1} , que nos informan de la presencia de una sola fase colapsada para todos los casos estudiados, que estará constituida por ambos componentes, ya que son miscibles entre sí en todo el

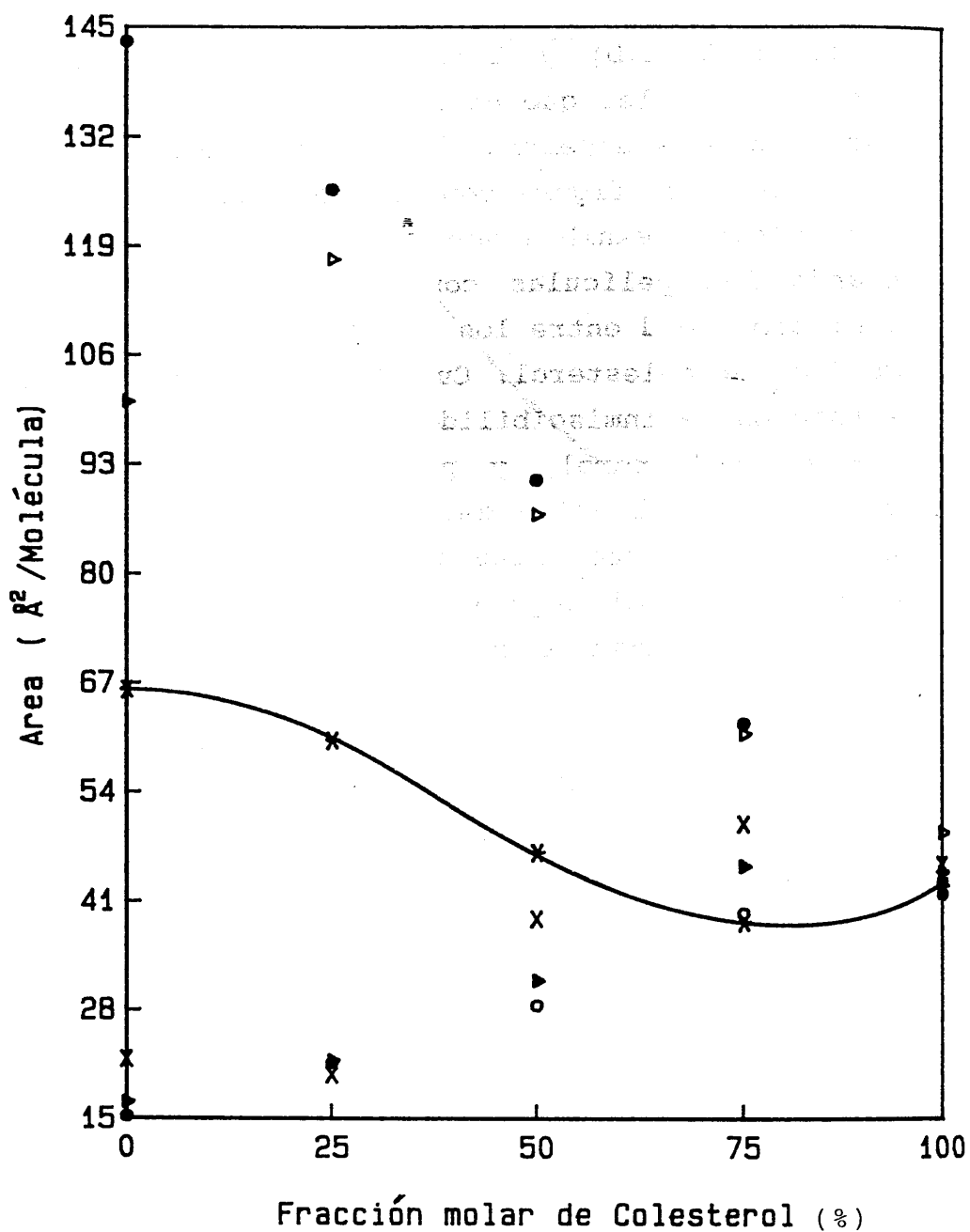
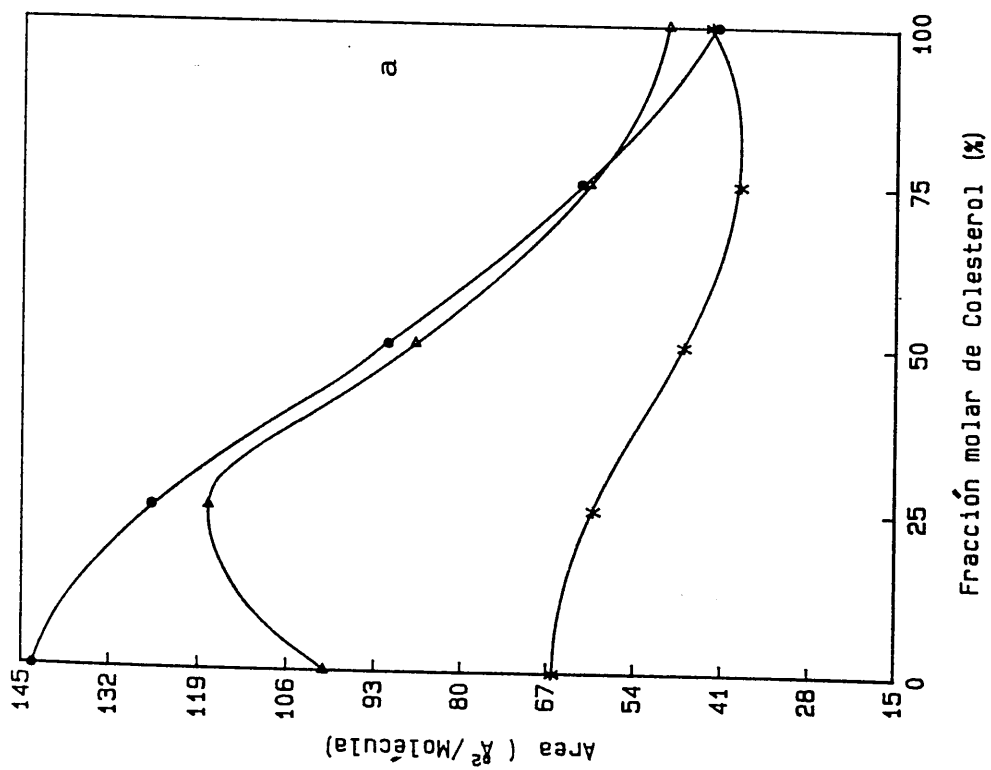
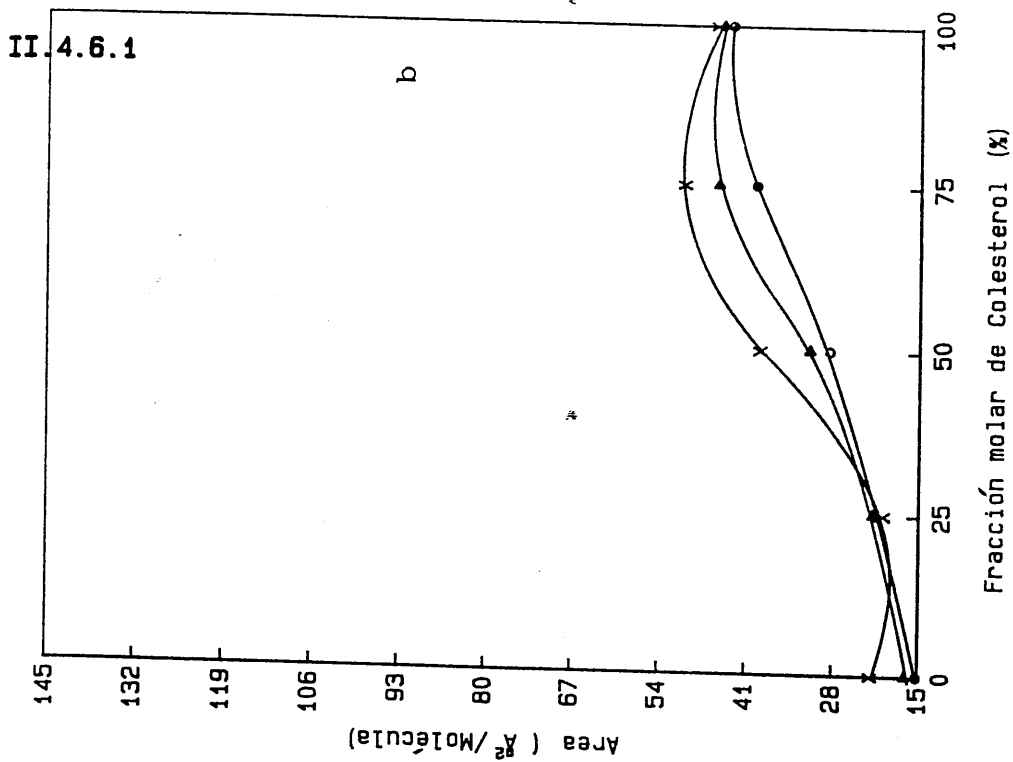


Fig. 2.103. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=5 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2, 4 y 6; (b) pH= 8, 10 y 12



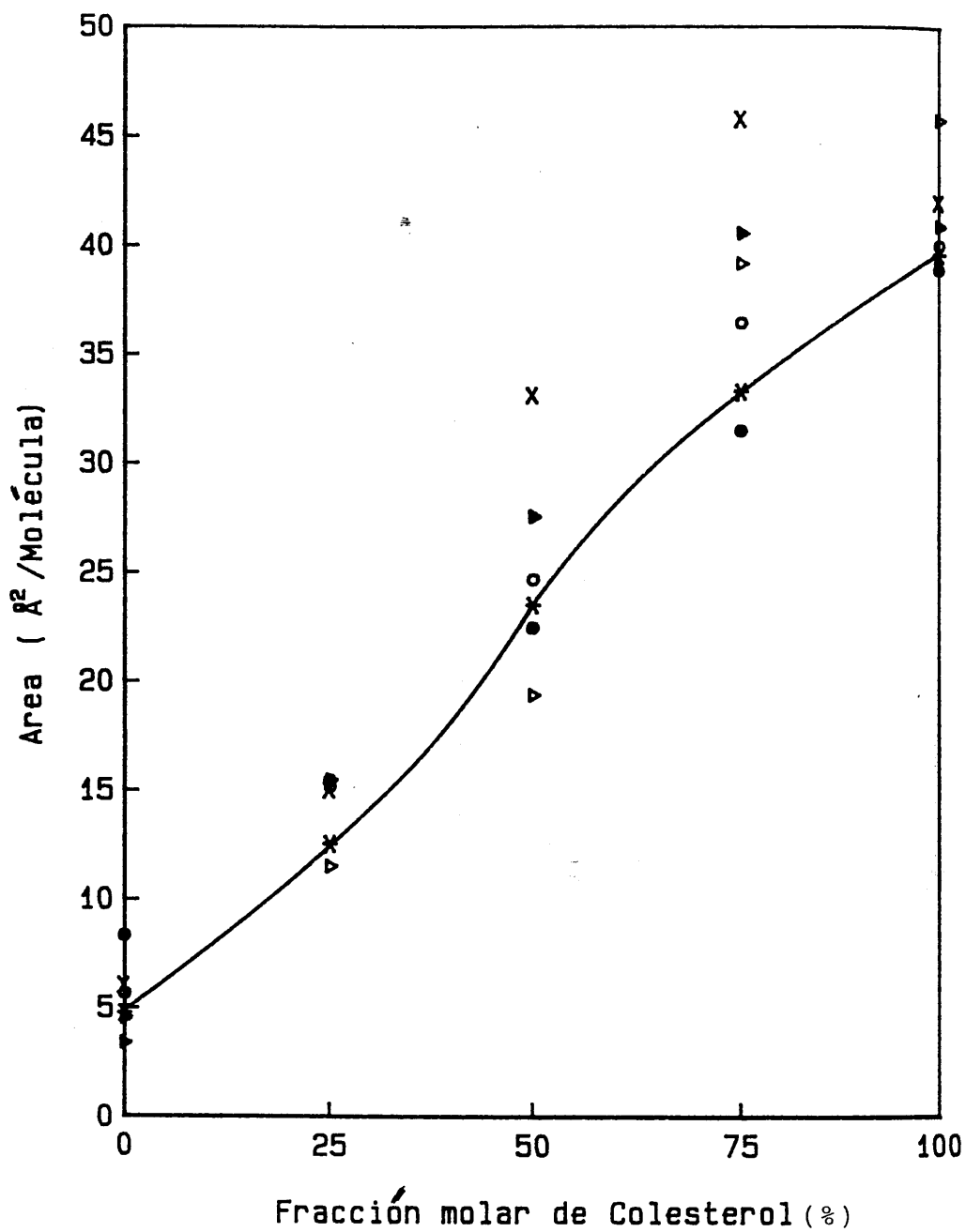
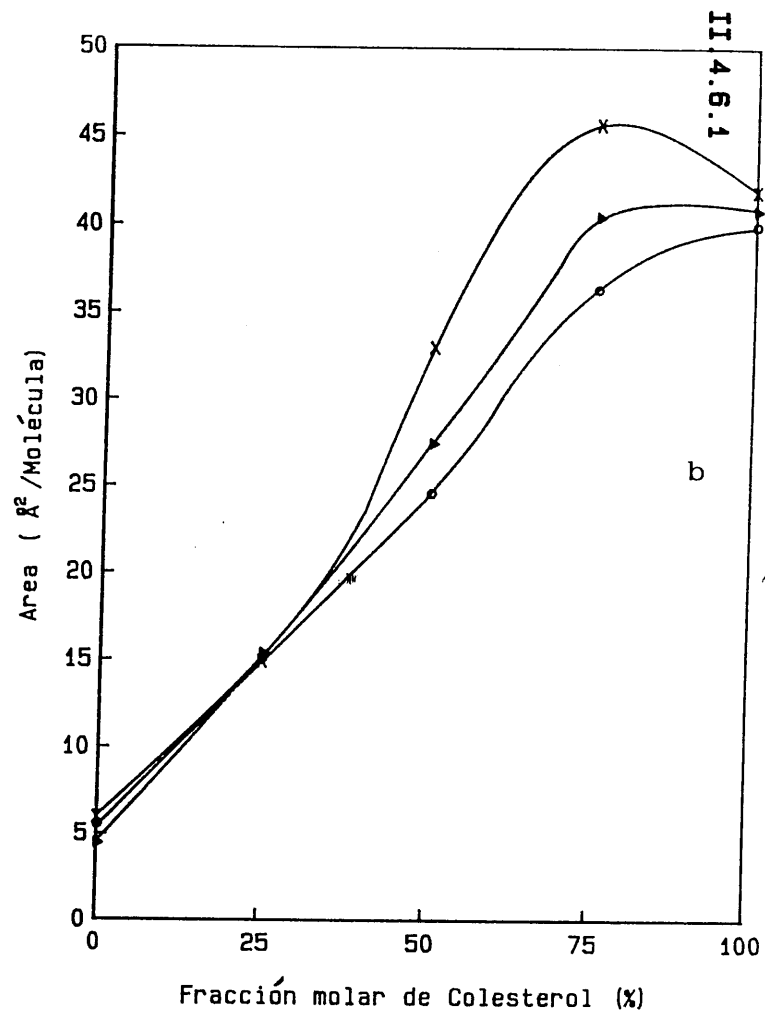
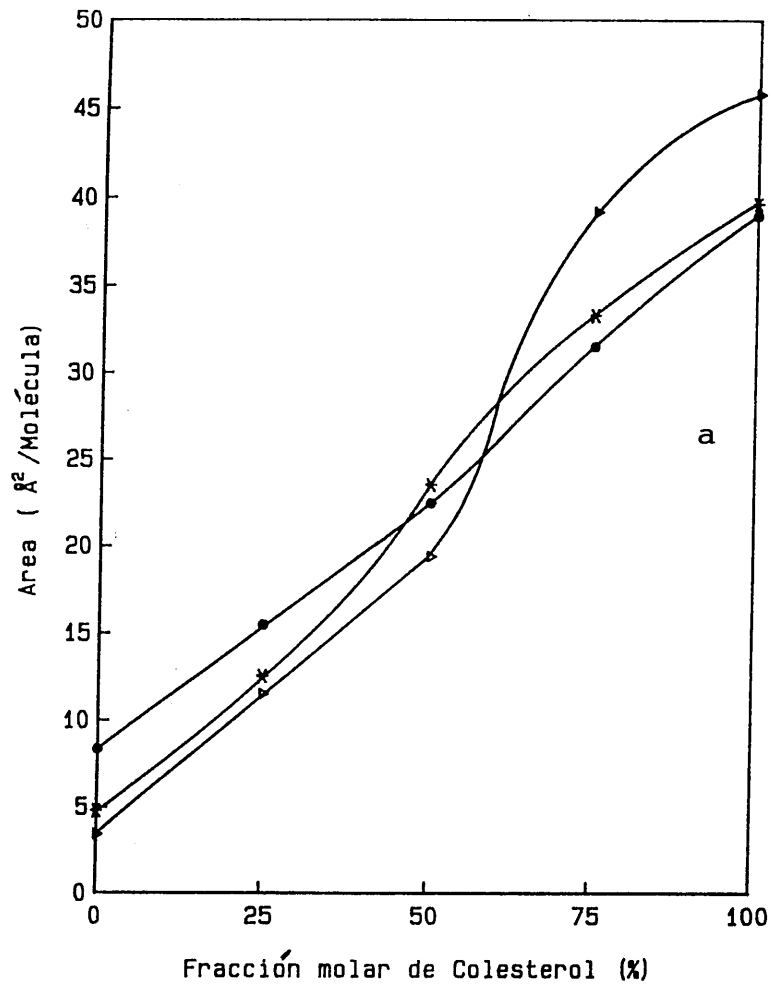


Fig. 2.104. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=30 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2, 4 y 6; (b) pH= 8, 10 y 12



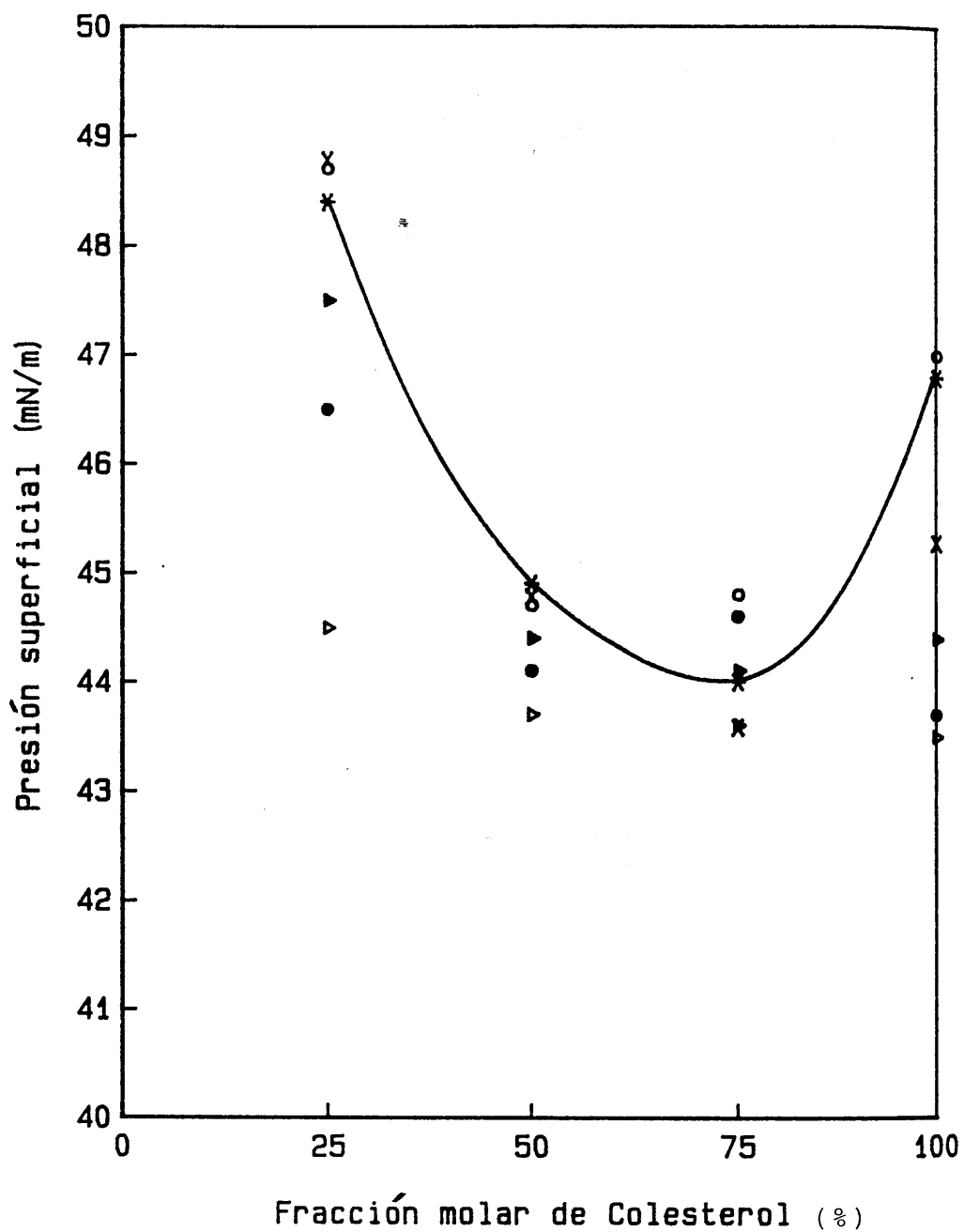
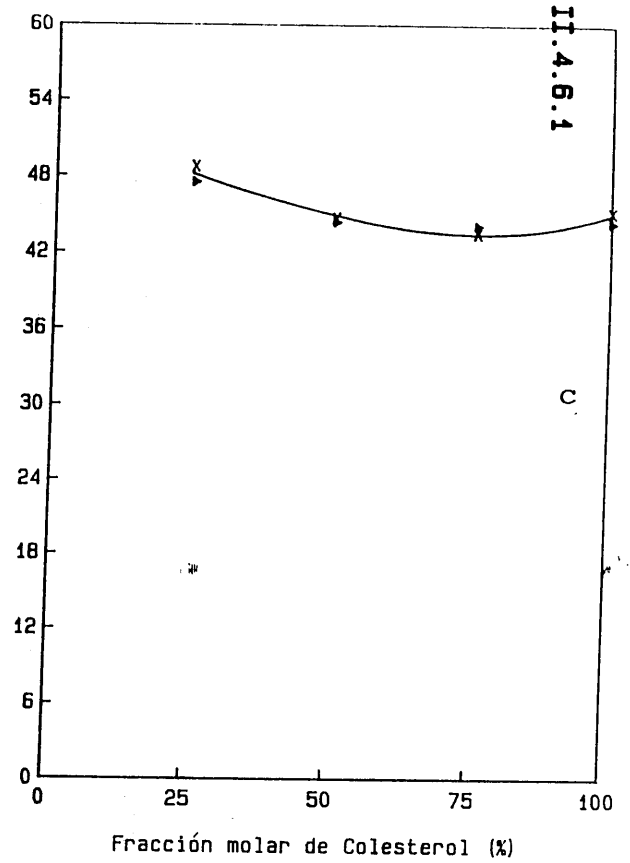
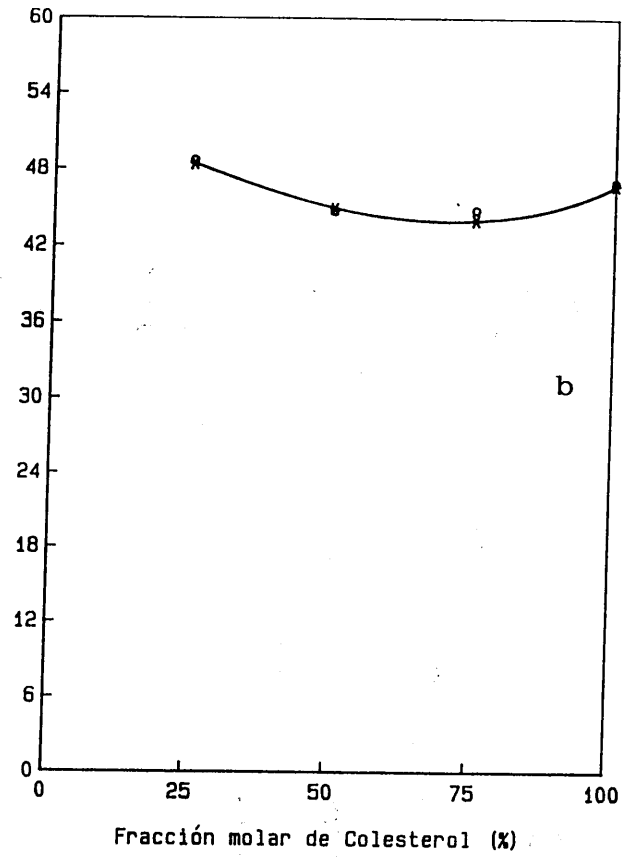
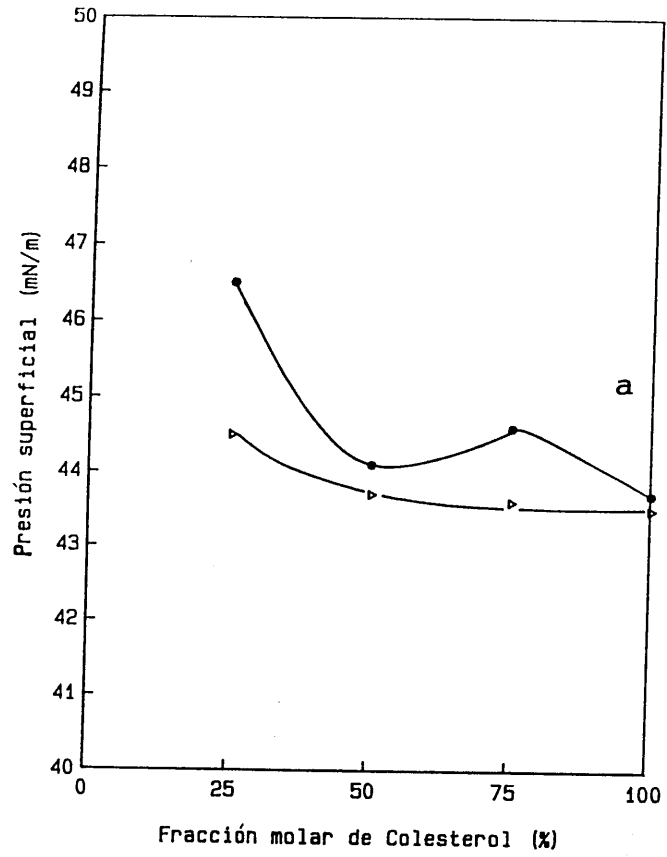


Fig. 2.105. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



intervalo de composición, y mínimos en la Fig. 2.105 se corresponde con máximos en la Fig. 2.104, como es de esperar.

En las Figs. 2.106 y 2.107 observamos el efecto de la temperatura (a pH=6.00) sobre el comportamiento de estos dos compuestos en monocapas a la presión superficial $\Pi = 30 \text{ mNm}^{-1}$. También con el aumento de la temperatura la situación de miscibilidad de ambos componentes se modifica sensiblemente. Así, a temperaturas bajas, 25 y 30°C, percibimos en la primera figura la presencia de interacciones atractivas entre el ácido deoxicólico y el colesterol. Si $T = 35^\circ\text{C}$, las áreas moleculares medias se desvían positivamente de la idealidad, demostrando la presencia de fuerzas repulsivas, y, finalmente, a la temperatura extrema de 40°C la situación es prácticamente de inmiscibilidad. Estos resultados, junto con los presentados en la Fig. 2.107, donde se comprueba que las presiones de colapso de estas películas mixtas varían en todo el intervalo de composición con ésta y, por tanto, la existencia de una sola fase colapsada, nos permiten deducir la siguiente tendencia, conforme aumenta la temperatura para el equilibrio entre la monocapa y la fase colapsada. En primer lugar, esta fase estará constituida por ácido deoxicólico y colesterol, interaccionando entre sí por efecto condensante; en una segunda situación, los componentes pasan a interaccionar extendiéndose entre sí, y una finalmente, sólo permanecerá en la fase colapsada el compuesto menos estable cuando las películas colapsan a 40°C, es decir, tendrá lugar la salida de la monocapa de colesterol durante el colapso.

Resumiendo, podemos decir que, aunque a determinadas condiciones experimentales los resultados indiquen miscibilidad entre el ácido deoxicólico y el colesterol, no se observan grandes desviaciones del comportamiento ideal y, además, éstas se modifican fácilmente con el aumento de pocas unidades de pH o pocos grados de temperatura, lo que nos hace pensar que estos compuestos no forman una estructu-

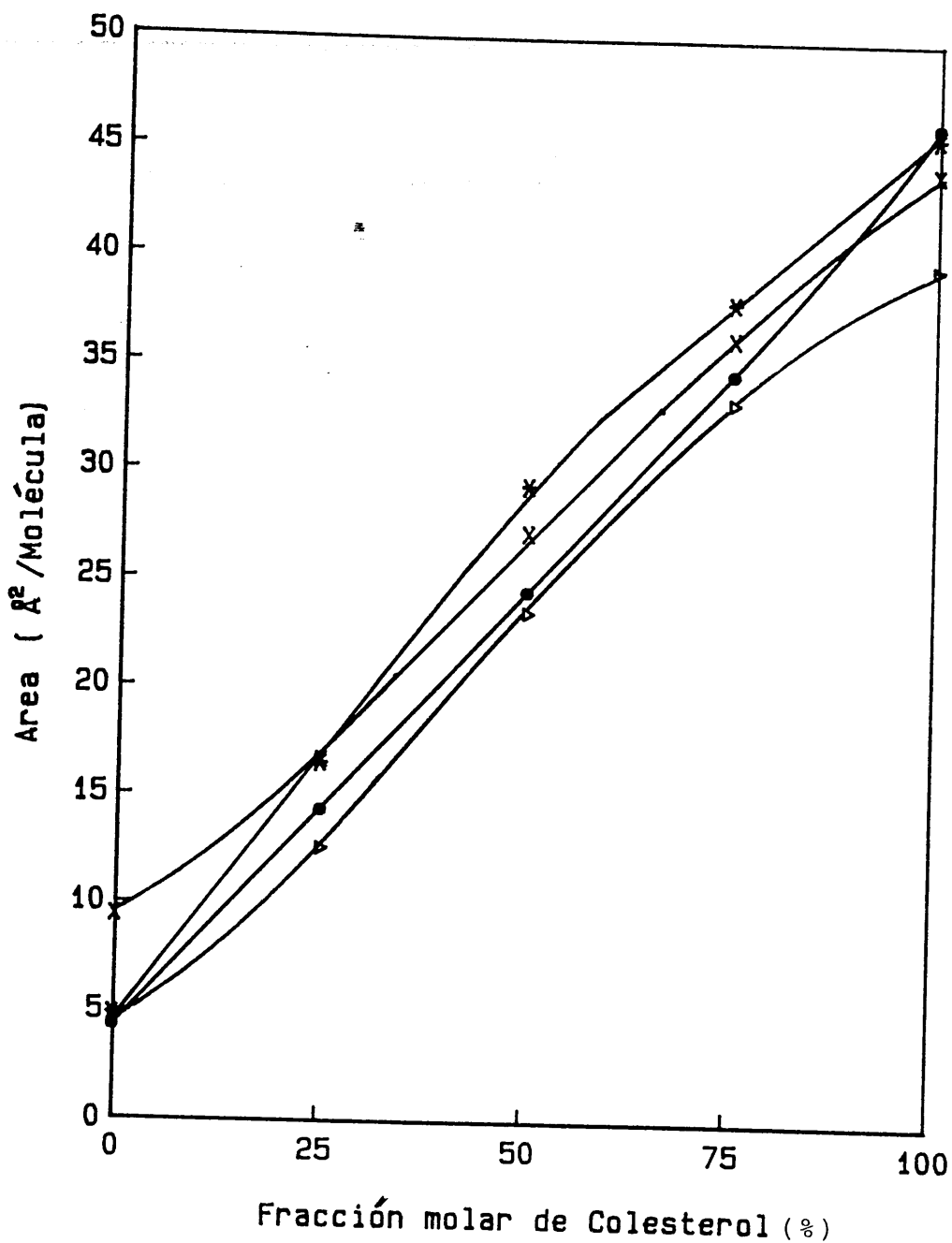


Fig. 2.106. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=6, $\Pi=30$ mNm^{-1} y distintas temperaturas

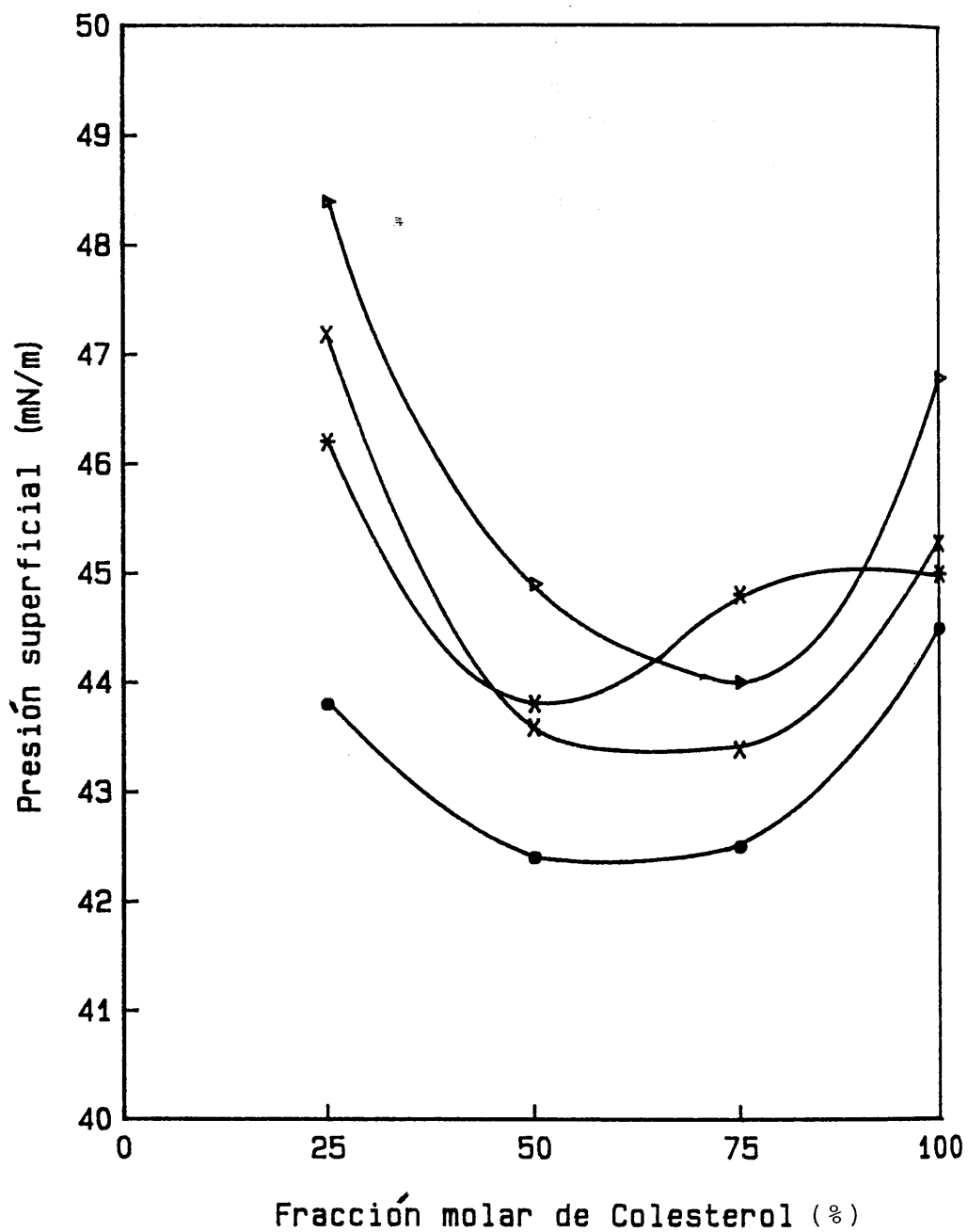


Fig. 2.107. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido deoxicólico y colesterol a pH=6 y distintas temperaturas

ra estable y definida a una proporción determinada en los intervalos de pH y temperatura estudiados.

4.7. MONOCAPAS MIXTAS DE ACIDO DEOXICOLICO-L- α -FOSFATIDILCOLINA

Los resultados experimentales obtenidos al comprimir películas monomoleculares constituidas por ácido deoxicólico, L- α -fosfatidilcolina y mezclas de ambos a diferentes condiciones de pH y temperatura se recogen en las Figs. 2.108-2.113 y 2.114-2.116, respectivamente.

En ellas seguimos observando un comportamiento análogo al mostrado por las películas mixtas de ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina. Estas películas se extienden progresivamente con el aumento de la temperatura y del pH, por lo que la transición de fase entre un estado extendido y otro condensado apenas si se observa cuando el pH de la subfase es muy básico o cuando la temperatura de la monocapa es elevada.

Cuantitativamente, este comportamiento queda reflejado en las Tablas II.40-II.45, donde los símbolos son conocidos.

TABLA II.40

pH	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
2.00	15.13	68.2	8.60
4.00	15.98	64.3	9.43
6.00	17.12	67.4	9.19
8.00	17.67	67.5	8.93
10.00	17.01	68.7	8.31
12.00	17.03	70.6	6.48

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Lecitina-75%Ac.Deoxicólico a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

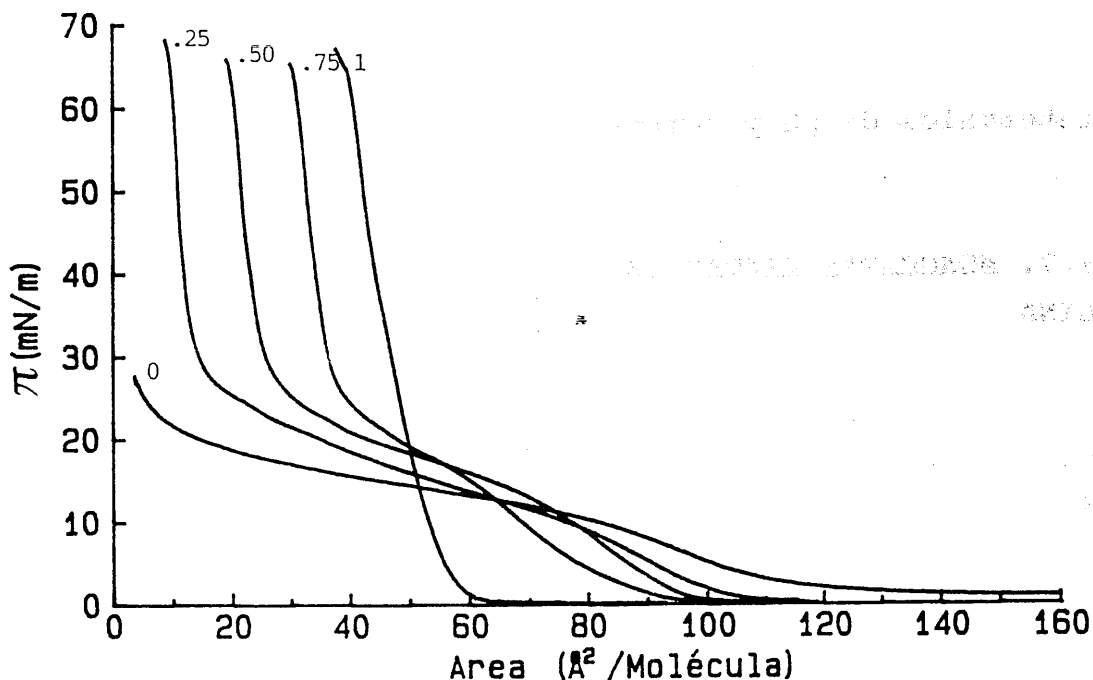


Fig. 2.108. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=2 y T=25°C

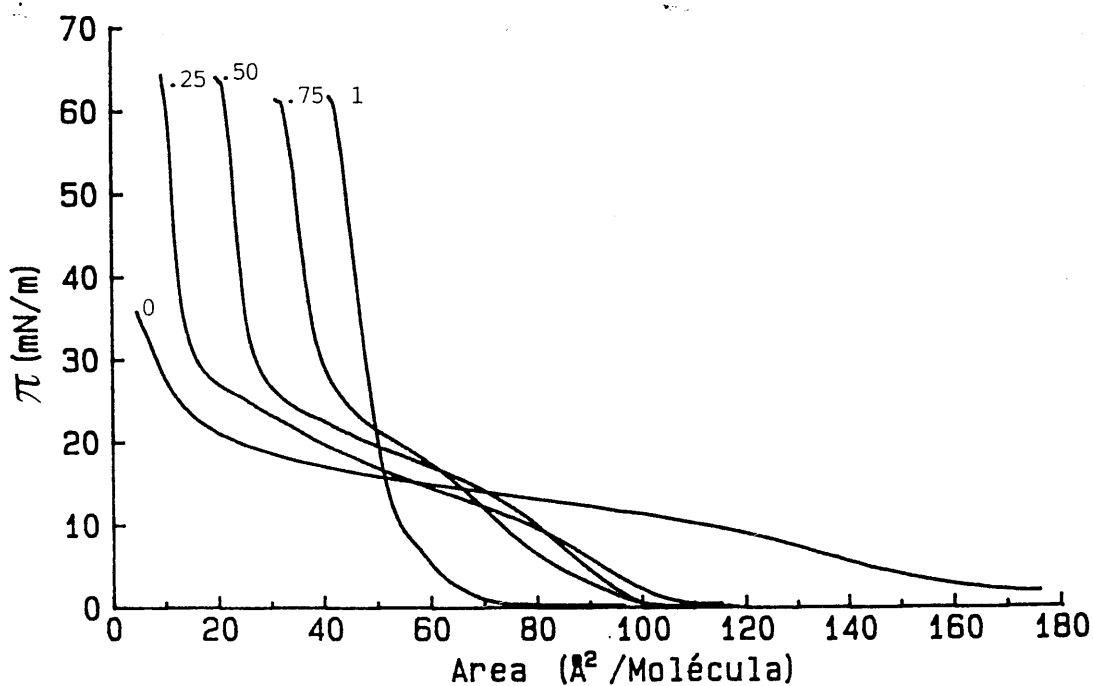


Fig. 2.109. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=4 y T=25°C

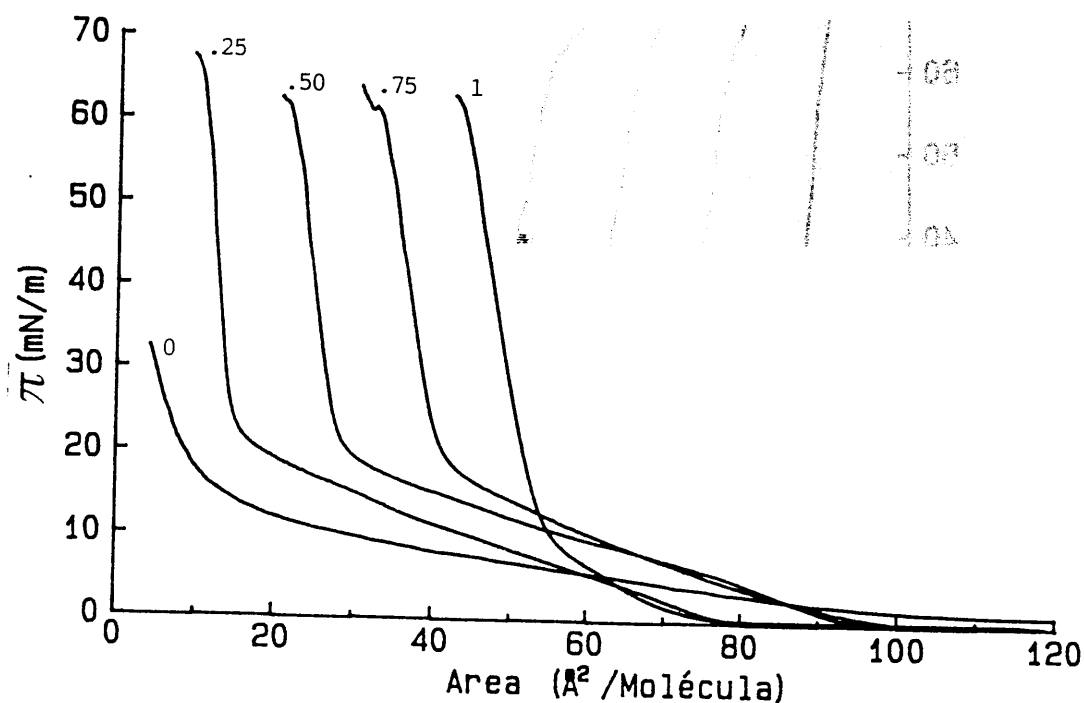


Fig. 2.110. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=25°C

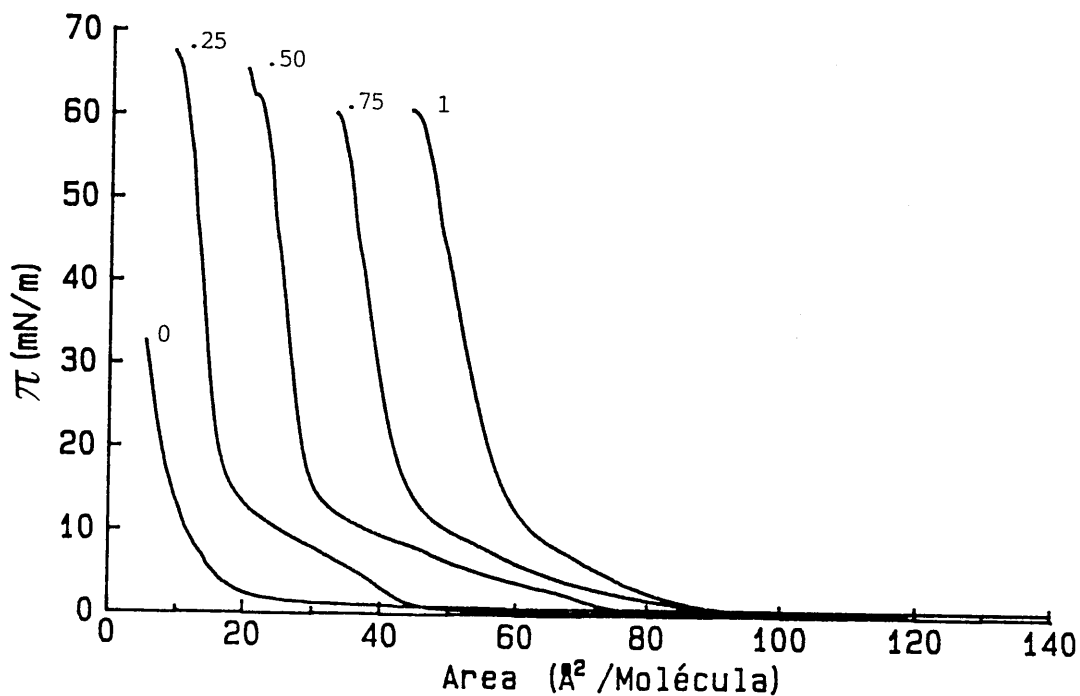


Fig. 2.111. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=8 y T=25°C

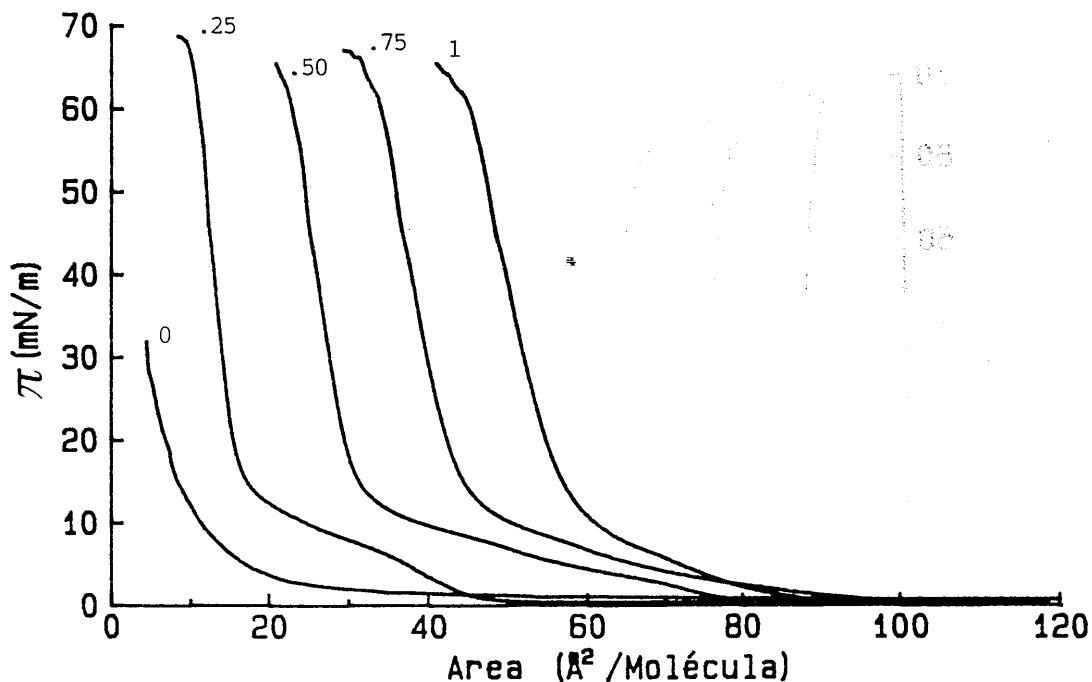


Fig. 2.112. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina apH=10 y T=25°C

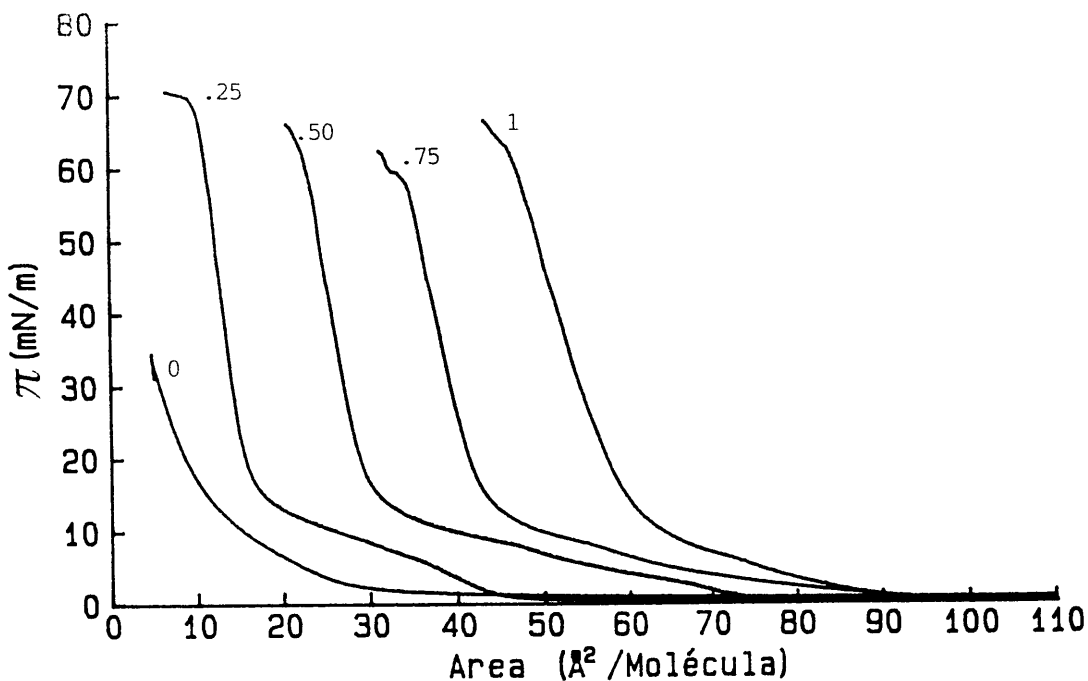


Fig. 2.113. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=12 y T=25°C

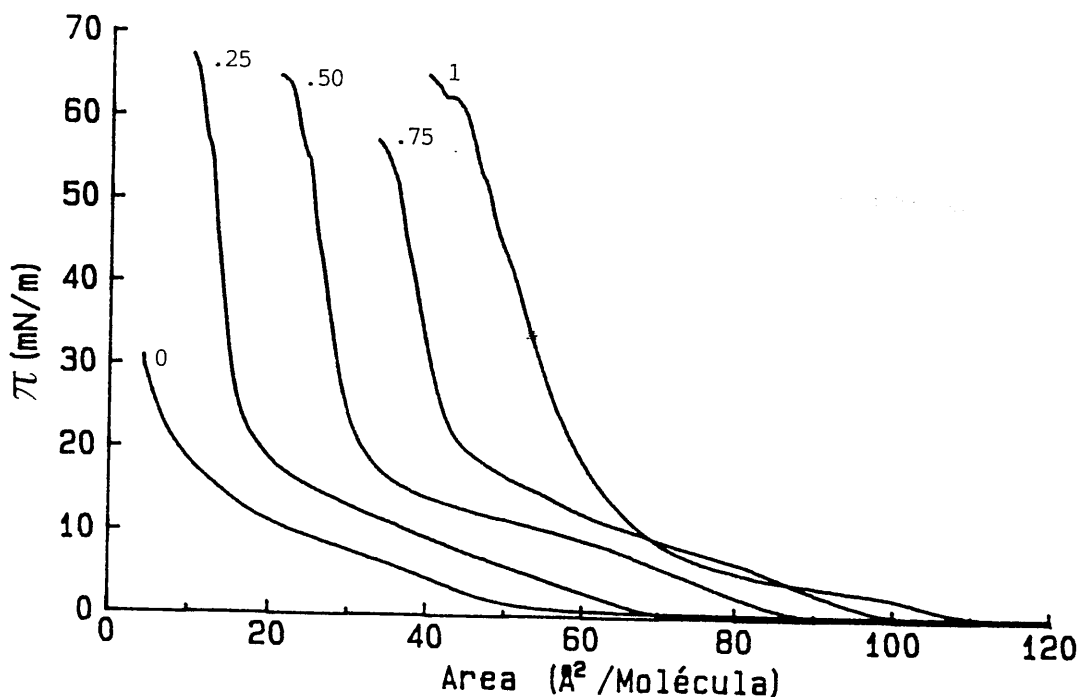


Fig. 2.114. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=30°C

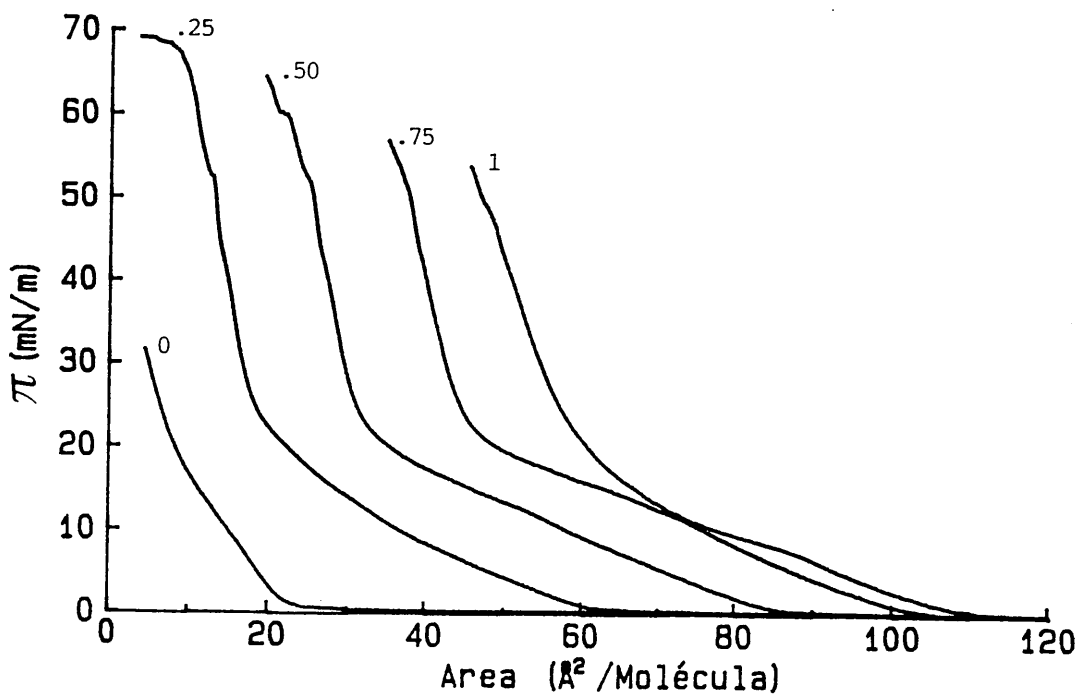


Fig. 2.115. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=35°C

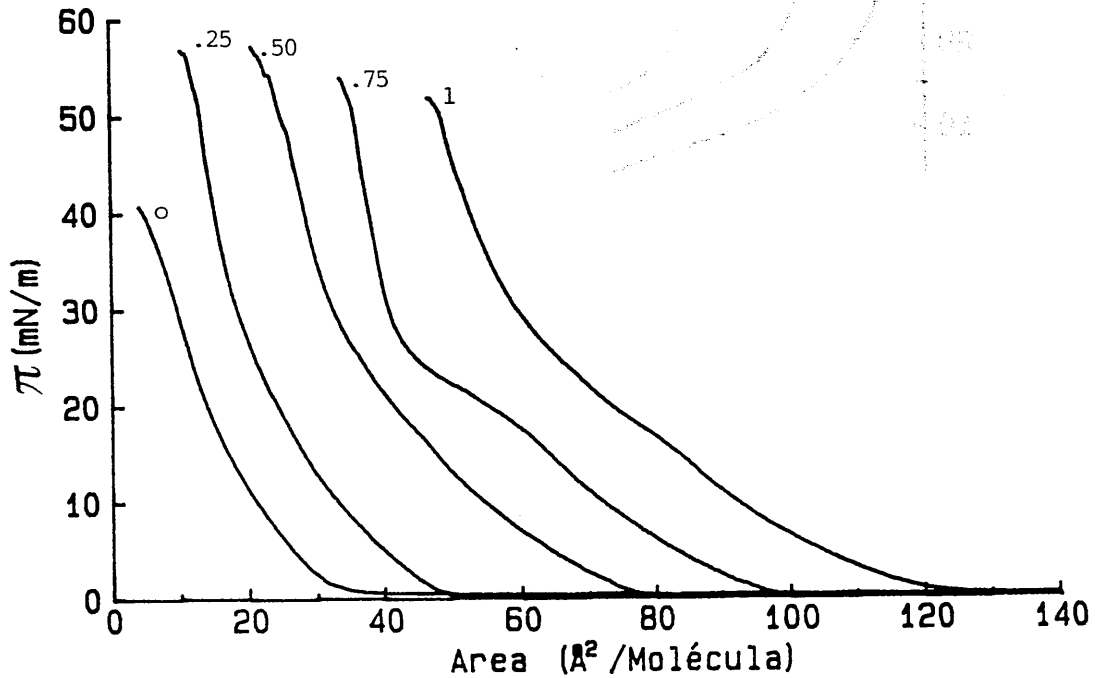


Fig. 2.116. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=40°C

TABLA II.41

T(°C)	A ^o (Å ² /moléc.)	Π _c (mN m ⁻¹)	A _c (Å ² /moléc.)
25	17.12	67.4	9.19
30	18.21	* 67.3	9.91
35	17.78	69.1	3.56
40	25.33	56.8	10.26

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Lecitina-75%Ac.Deoxicólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

TABLA II.42

pH	A ^o (Å ² /moléc.)	Π _c (mN m ⁻¹)	A _c (Å ² /moléc.)
2.00	28.17	65.9	19.05
4.00	29.70	64.1	19.67
6.00	30.70	62.6	20.42
8.00	30.88	65.4	19.86
10.00	32.21	65.4	20.85
12.00	31.03	66.0	20.62

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Lecitina-50%Ac.Deoxicólico a T=25°C y distintos pHs

TABLA II.43

T(°C)	A ^o (Å ² /moléc.)	Π _c (mN m ⁻¹)	A _c (Å ² /moléc.)
25	30.70	62.6	20.49
30	33.15	64.9	20.90
35	35.73	64.5	19.21
40	41.13	59.9	17.33

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Lecitina-50%Ac.Deoxicólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

TABLA II.44

pH	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
2.00	40.15	65.3	30.03
4.00	43.17	61.4	30.93
6.00	43.79	64.1	30.31
8.00	45.01	60.3	32.83
10.00	45.47	67.0	29.48
12.00	44.62	62.3	31.26

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Leci-
ina-25%Ac.Deoxicólico a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.45

T ($^\circ\text{C}$)	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
25	43.79	64.1	30.31
30	46.23	57.3	33.41
35	49.25	57.0	31.07
40	47.88	54.0	33.67

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Leci-
tina-25%Ac.Deoxicólico a $\text{pH}=6.00$ y distintas
temperaturas

En general, los valores de área específica límite aumentan con el pH y la temperatura, y los de presión y área de colapso permanecen prácticamente constantes, excepto a algunas condiciones de $\text{pH} = 12.00$ o $T = 40^\circ\text{C}$, donde la presión disminuye y el área aumenta, demostrando estas películas menor compresibilidad que el resto.

4.7.1. Miscibilidad y Fases Superficiales

El estudio sobre la miscibilidad o no de estos

compuestos lo iniciamos a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$ para diferentes valores de presión superficial. En la Fig. 2.117 se muestran las curvas de área molecular media- fracción molar de lecitina a estas condiciones experimentales, y se observa que a $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$, cuando la fracción molar es de 25% de lecitina, el ácido deoxicólico y el compuesto L- α -fosfatidilcolina interaccionan, ejerciendo la lecitina un efecto condensante sobre el ácido; para el resto de las proporciones el efecto es inverso, y estos dos compuestos interaccionan extendiéndose entre sí. Cuando la compresión alcanza el valor $\Pi = 15 \text{ mNm}^{-1}$, las desviaciones de las áreas moleculares media son positivas en todo el intervalo de composición, y finalmente a presiones superficiales elevadas, los componentes son inmiscibles entre sí.

Sin embargo, este comportamiento se modifica para una determinada presión superficial al variar el pH de la subfase, como se comprueba observando la Fig. 2.118, en la que se representan valores área molecular media en función de la fracción molar de lecitina a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$ para diferentes pHs. Si el pH es muy ácido, el ácido deoxicólico y la lecitina no interaccionan entre sí, a pHs intermedios las áreas por moléculas presentan desviaciones negativas de la idealidad a bajas proporciones de lecitina y positivas cuando el contenido de ésta en la película aumenta; a pHs básicos sólo exhiben desviaciones positivas.

Cuando la presión superficial es $\Pi = 30 \text{ mNm}^{-1}$, el efecto del pH sobre las películas mixtas no es tan relevante, ya que, prácticamente, a todos los pHs los componentes son inmiscibles entre sí, excepto cuando el pH es igual a 12.00 (Fig. 2.119(a,b,c)) donde se puede pensar en la presencia de una interacción débil entre los componentes. Por tanto, teniendo en cuenta estos resultados y la variación de las presiones de colapso con la composición de las películas en la Fig. 2.120(a,b,c), la regla de las fases en sistemas superficiales aplicada al equilibrio monocapa/fase colapsada nos predice la presencia de una sola fase colapsa-

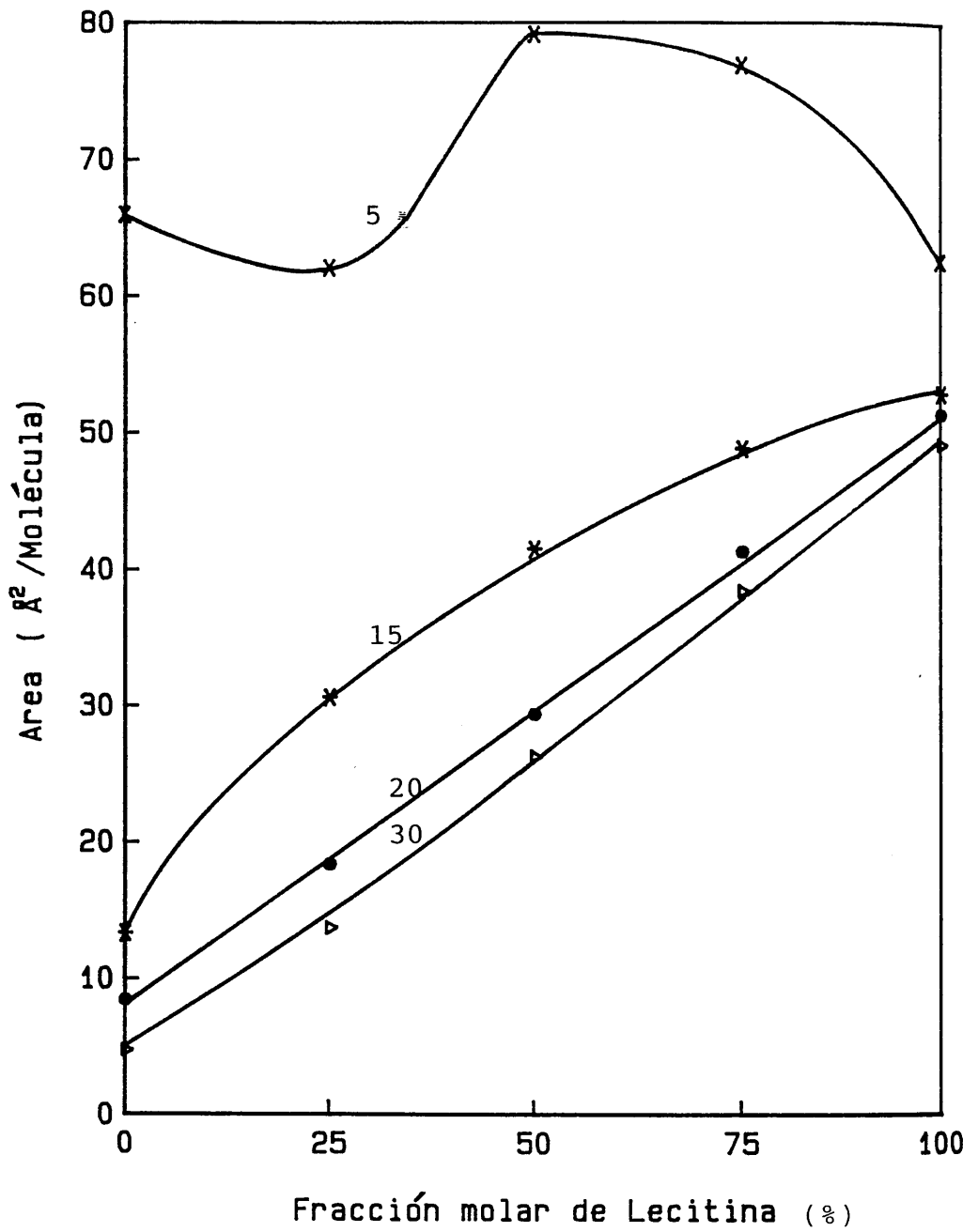


Fig. 2.117. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}$, $\text{pH}=6$ y distintas presiones superficiales

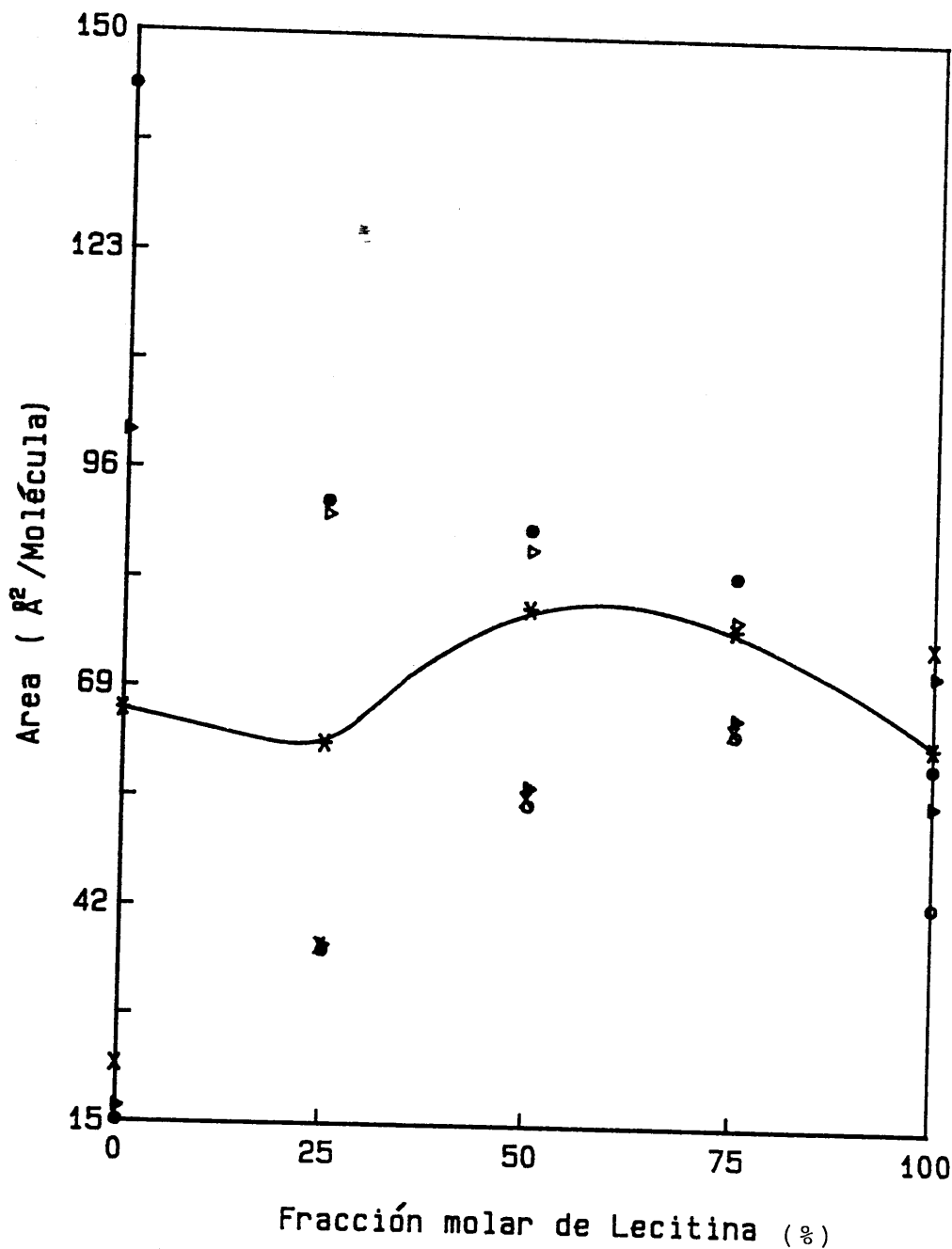
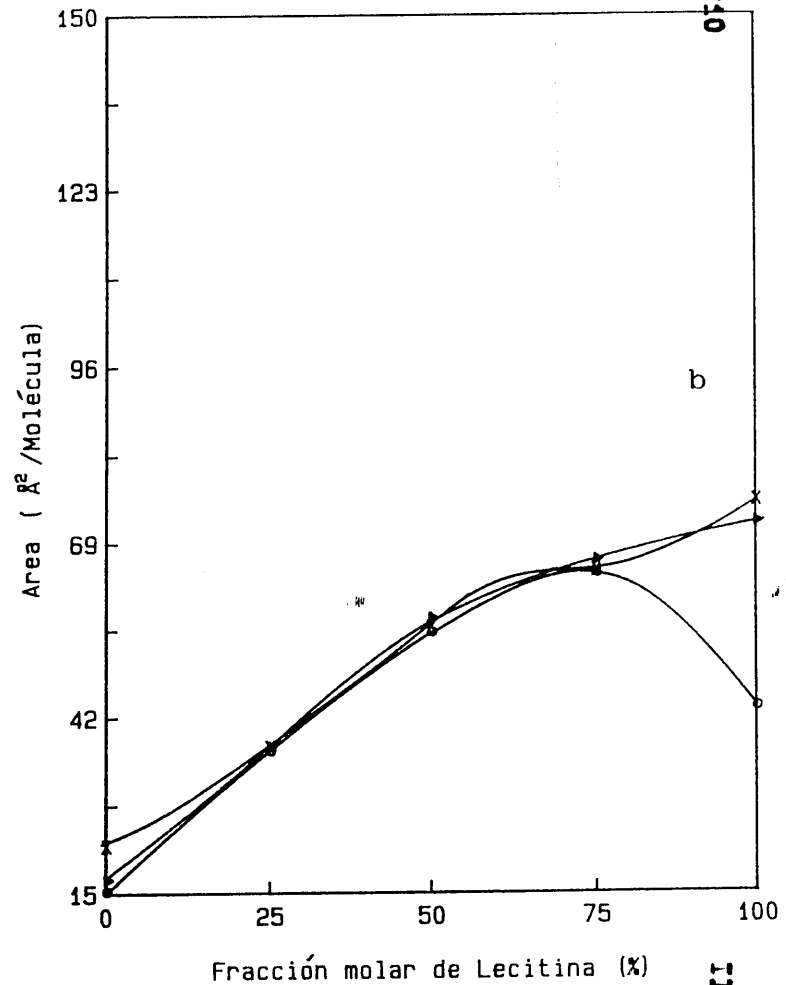
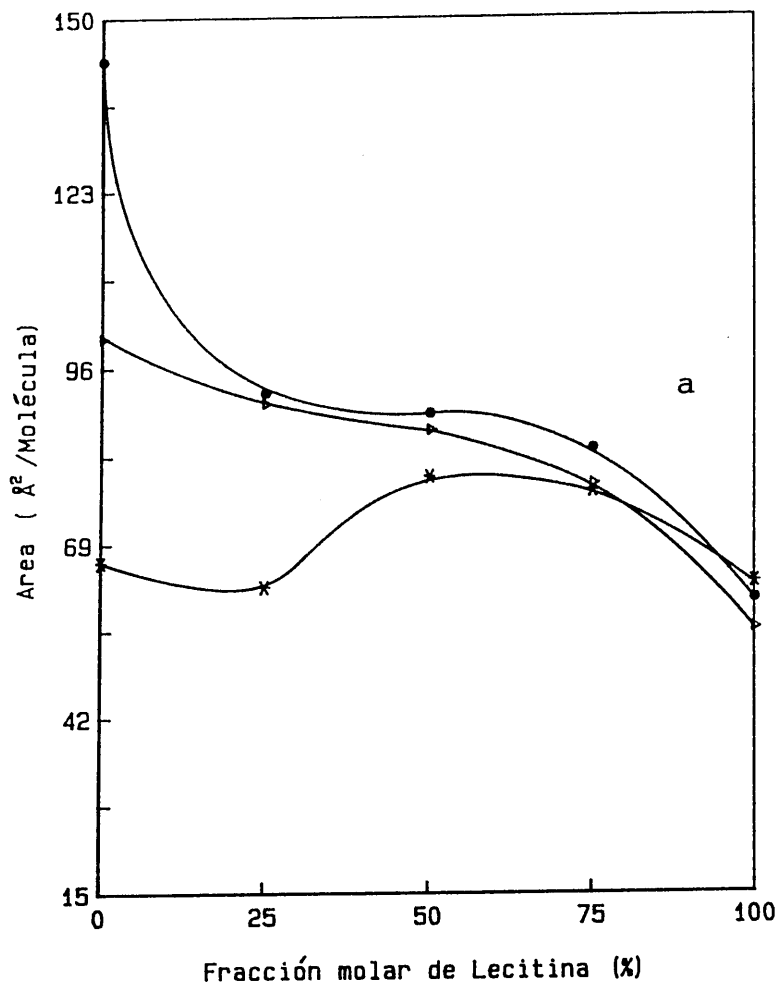


Fig. 2.118. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}$, $\nu=5 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2, 4 y 6; (b) pH= 8, 10 y 12



II.4.7.1

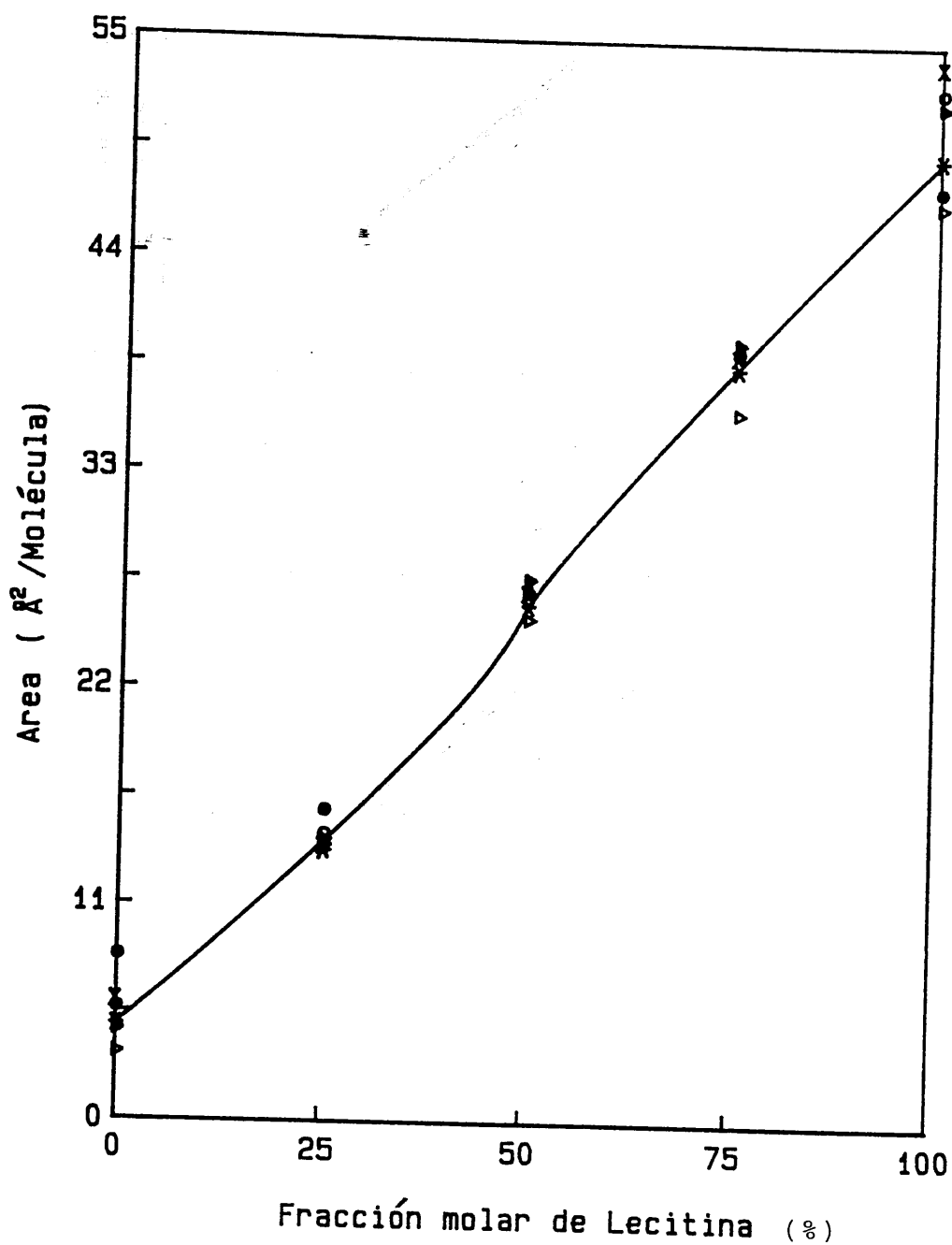
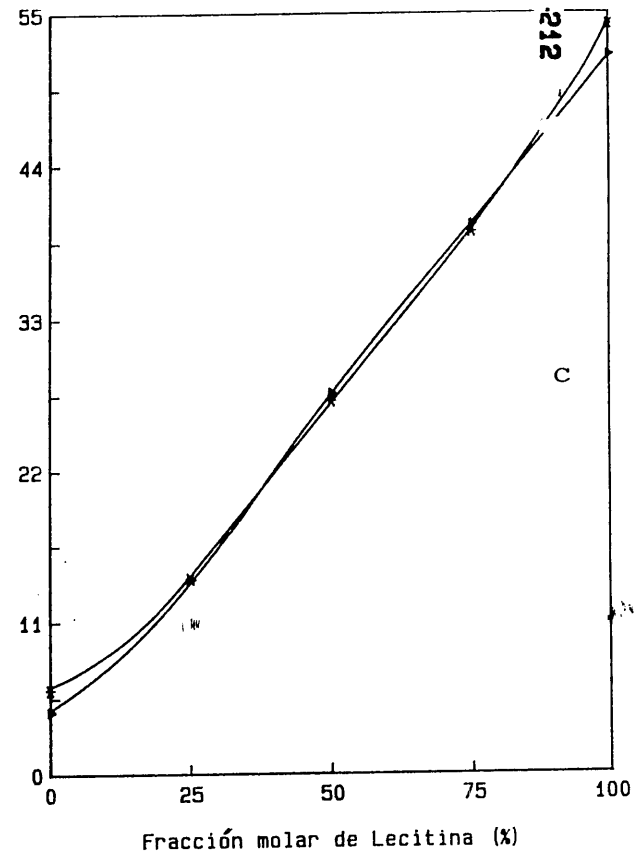
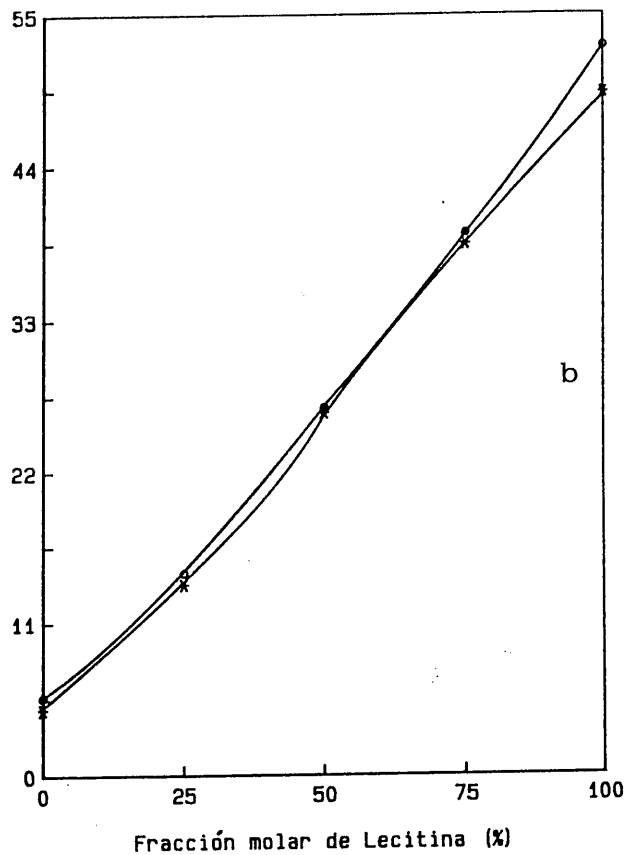
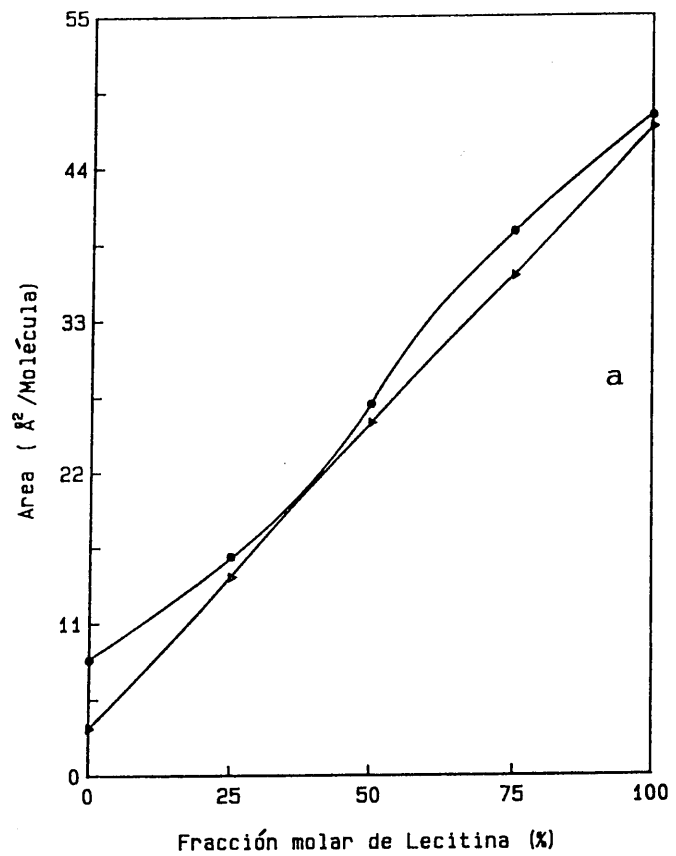


Fig. 2.119. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}$, $\Pi=30 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



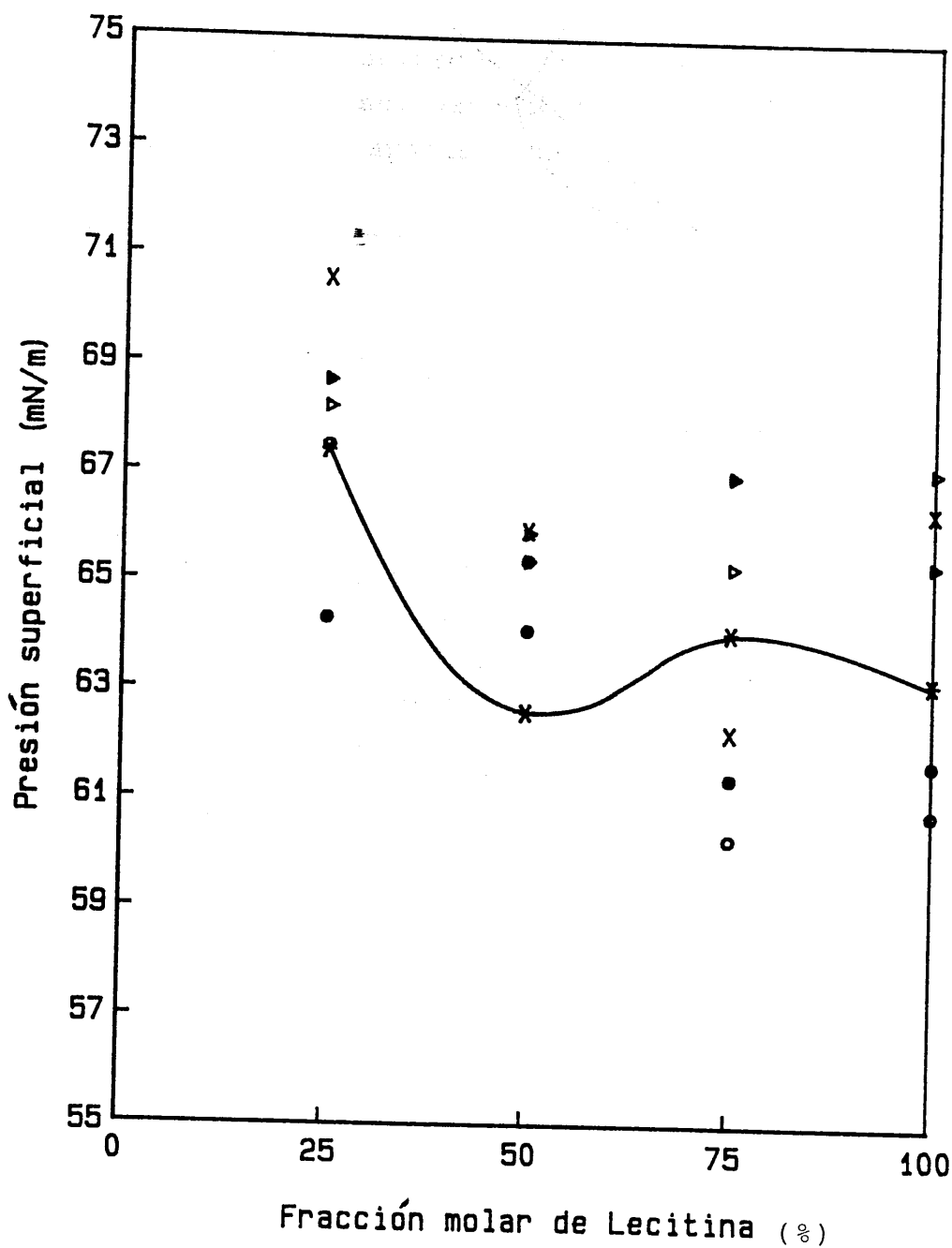
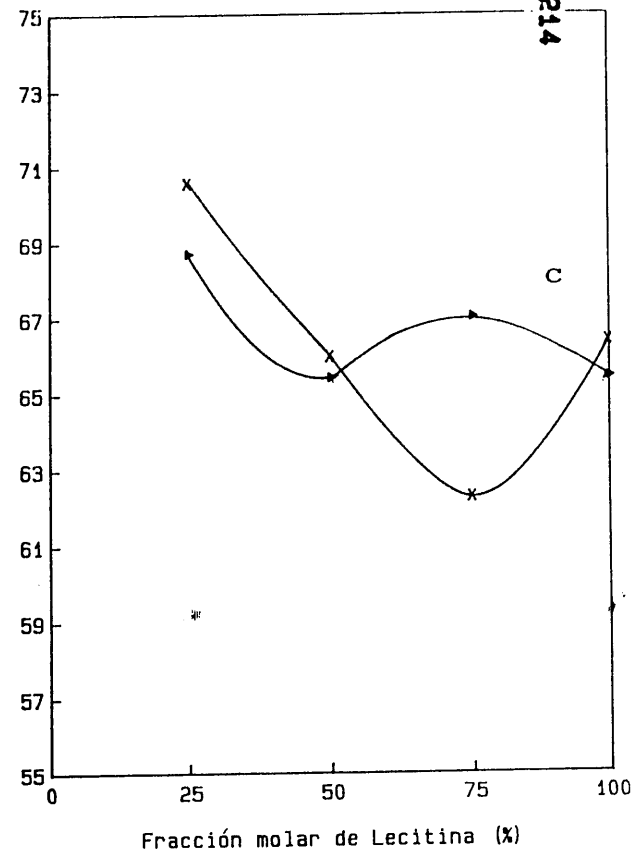
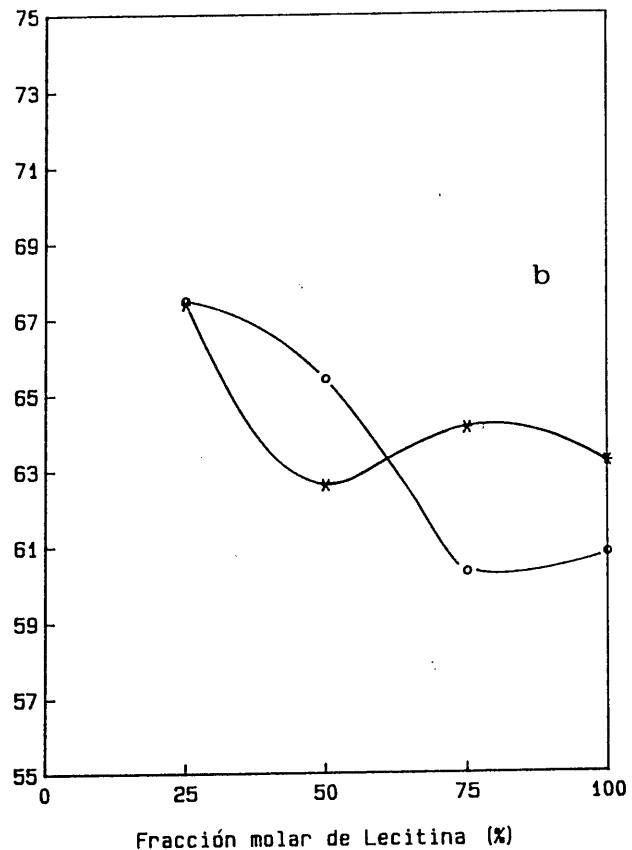
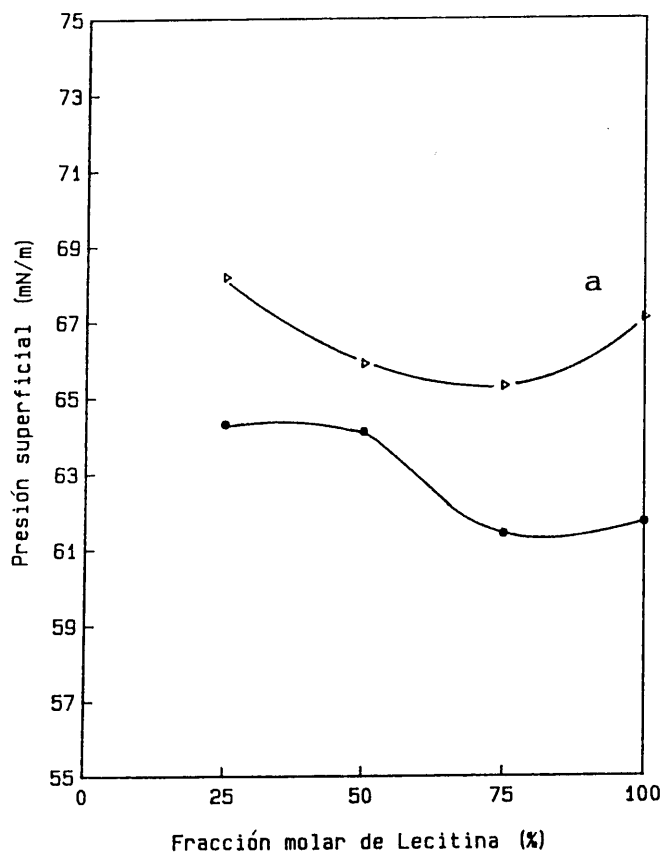


Fig. 2.120. Presión de colapso en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



da constituida por L- α -fosfatidilcolina, ya que el ácido deoxicólico, según estos resultados, permanece en la película a la presión de colapso, excepto a pH = 12.00, para el que existe una fase colapsada con ambos compuestos miscibles entre sí.

El efecto de la temperatura sobre las películas mixtas constituidas por ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina es similar al que ejerce el pH de la subfase. En efecto, si comparamos las Figs. 2.118 y 2.119, a distintos pHs, con las Figs. 2.121 y 2.122, a diferentes temperaturas, los resultados son análogos. A $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$ y a temperaturas intermedias, 30 y 35°C, estos dos compuestos interaccionan a través de fuerzas repulsivas y a $T = 40^\circ\text{C}$ no muestran ninguna interacción. Para altas presiones superficiales, $\Pi = 30 \text{ mNm}^{-1}$, este ácido biliar y la lecitina son inmiscibles entre sí, excepto a la temperatura de 40°C, en la que exhiben interacciones de tipo atractivo.

La Fig. 2.123 muestra la continua variación de las presiones de colapso con la composición a diferentes temperaturas, por lo que estas películas también colapsarán con solo L- α -fosfatidilcolina, excepto a $T = 40^\circ\text{C}$, temperatura que permite el colapso de la película conteniendo ambos componentes.

En definitiva, podemos anotar que el ácido deoxicólico tampoco forma estructuras definidas con la lecitina L- α -fosfatidilcolina, ya que las desviaciones que presentan de la idealidad son bastante efímeras, desapareciendo con pequeñas modificaciones de las condiciones experimentales.

4.8 MONOCAPAS MIXTAS DE ACIDO COLICO-COLESTEROL

El comportamiento de las mezclas formadas por ácido cólico y colesterol en películas monomoleculares en la interfase aire-disolución acuosa es intermedio al estudiado

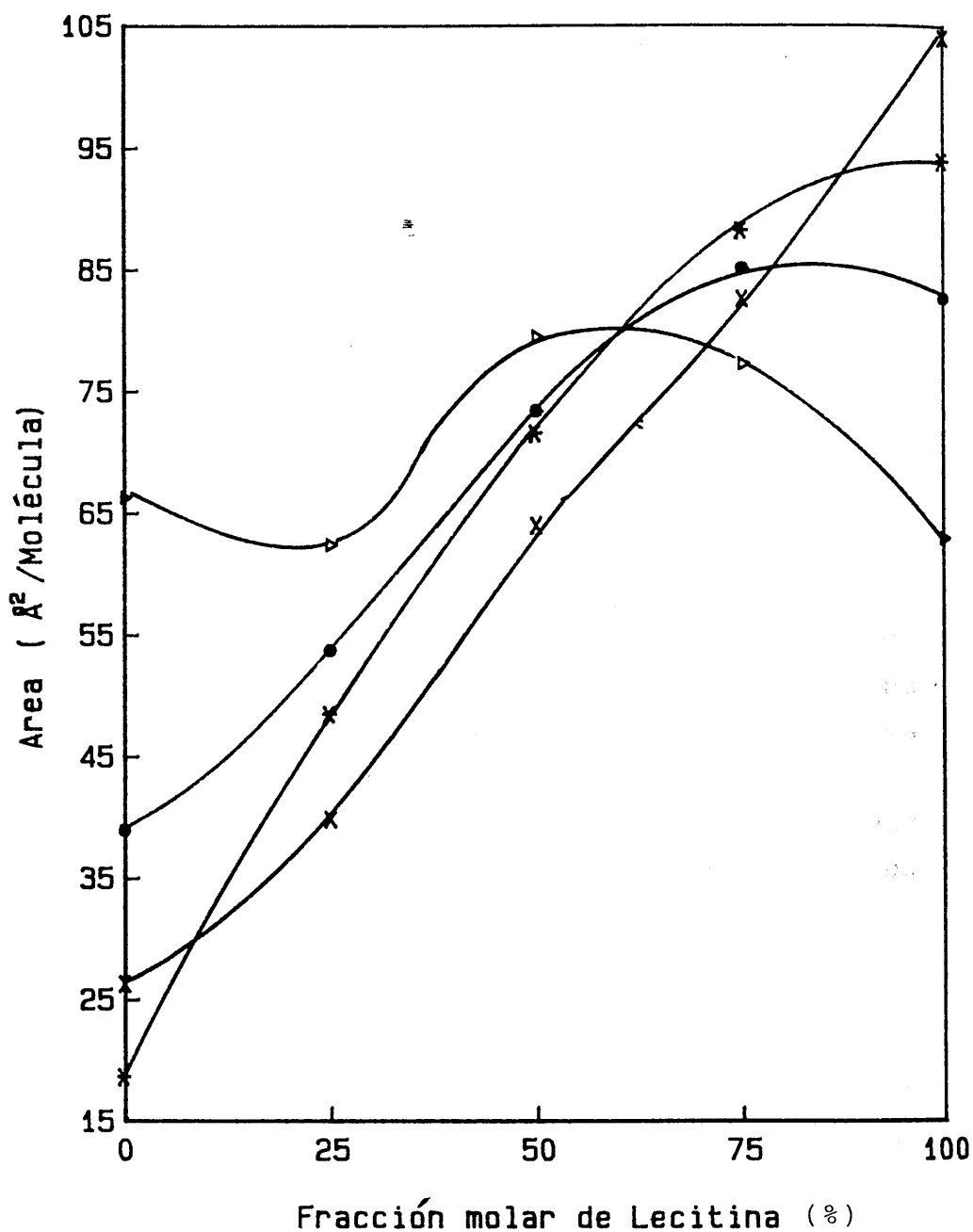


Fig. 2.121. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6, $\Pi=5 \text{ mNm}^{-1}$ y distintas temperaturas

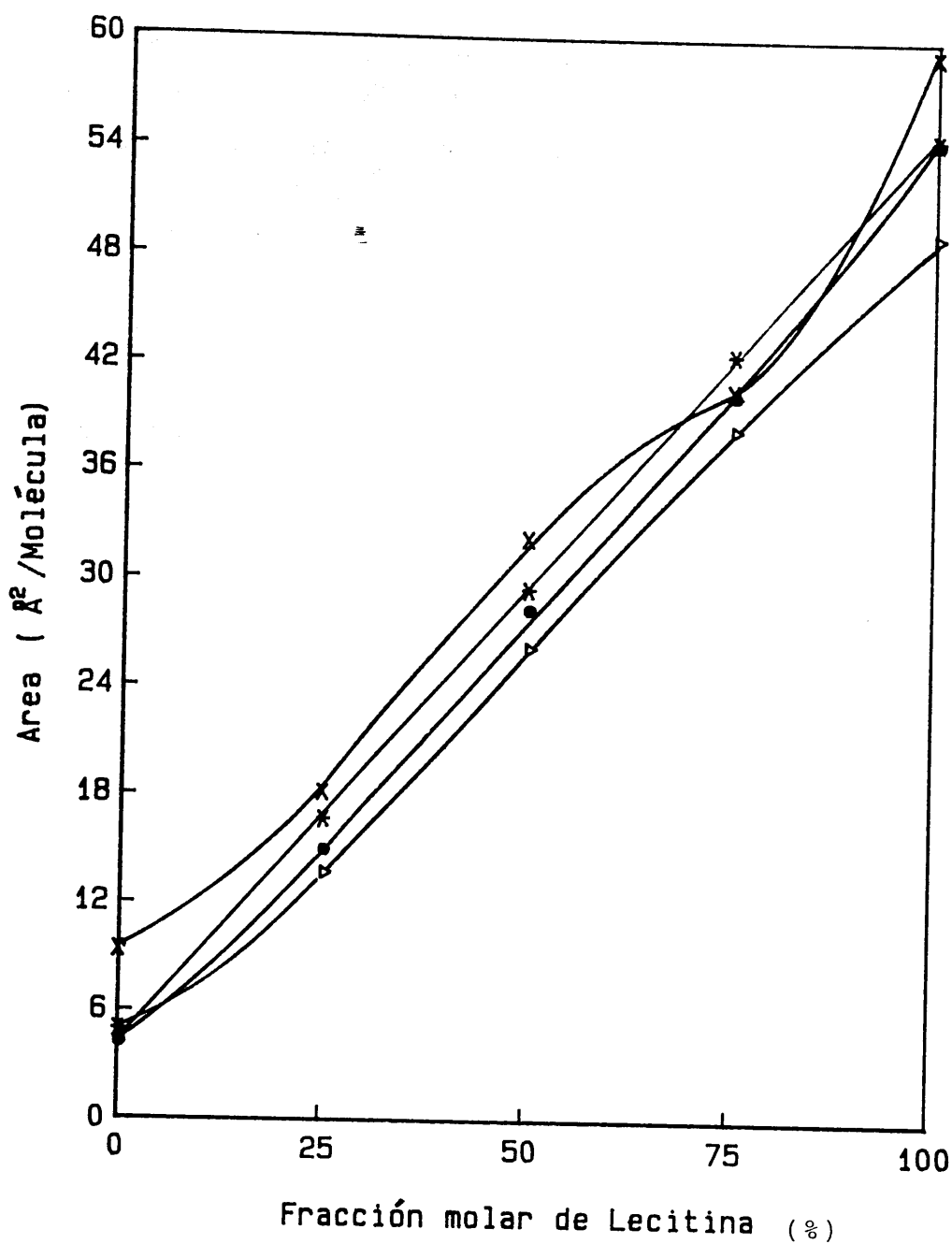


Fig. 2.122. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6, $I=30 \text{ mNm}^{-1}$ y distintas temperaturas

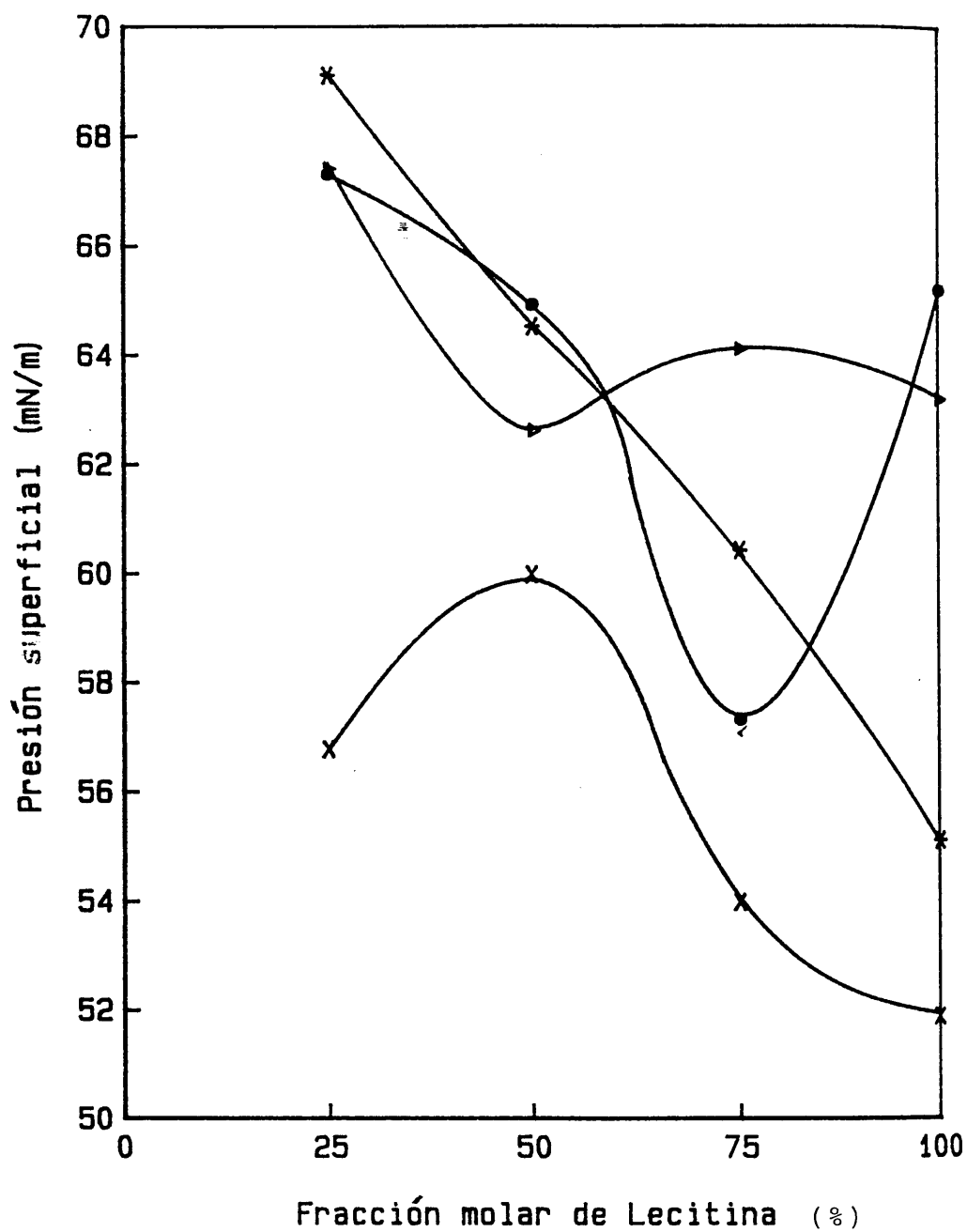


Fig. 2.123. Presión de colapso en función de área por molécula para películas mixtas de ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y distintas temperaturas

para películas simples de colesterol y ácido cólico en los apartados 3.1 y 3.6 de este capítulo, respectivamente. Estos resultados podemos observarlos en las Figs. 2.124-2.129, en las que se presentan distintas isotermas registradas para estas películas simples y mixtas a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs, y 2.130-2.132, que muestran las mismas isotermas a $\text{pH} = 6.00$ y diferentes temperaturas.

Así, comprobamos que las películas simples de ácido cólico y las mixtas que contienen un alto porcentaje ácido se encuentran en estado de líquido- extendido bajo las condiciones de pH ácido (Figs. 2.124 y 2.125), a diferencia del carácter condensado que presentan las películas de colesterol y con un alto contenido del mismo, ejerciendo este, por tanto, un efecto condensante sobre el ácido cólico. Resultados análogos obtuvieron García Fernández y col. (1964) y Llopis y col. (1973).

A partir de $\text{pH} = 6.00$, todas las películas se encuentran en estado líquido-condensado. En las Tablas II.46-II.48, que presentamos a continuación, no observamos variaciones sensibles en los valores de área específica límite y de área de colapso con el pH, debido a que a presiones superficiales altas el colesterol impone el carácter condensado de las películas y también, probablemente, el colapso de las mismas, ya que las películas que contienen ácido cólico no colapsan a estas condiciones experimentales.

El efecto de la temperatura se traduce en una ligera extensión de las películas mixtas (Figs. 2.130-2.132), excepto a $T = 40^{\circ}\text{C}$ (Tablas II.49-II.51), hecho que puede deberse a la inclusión de algunas moléculas de la subfase en la película a esta temperatura por falta de homogeneidad en la misma.

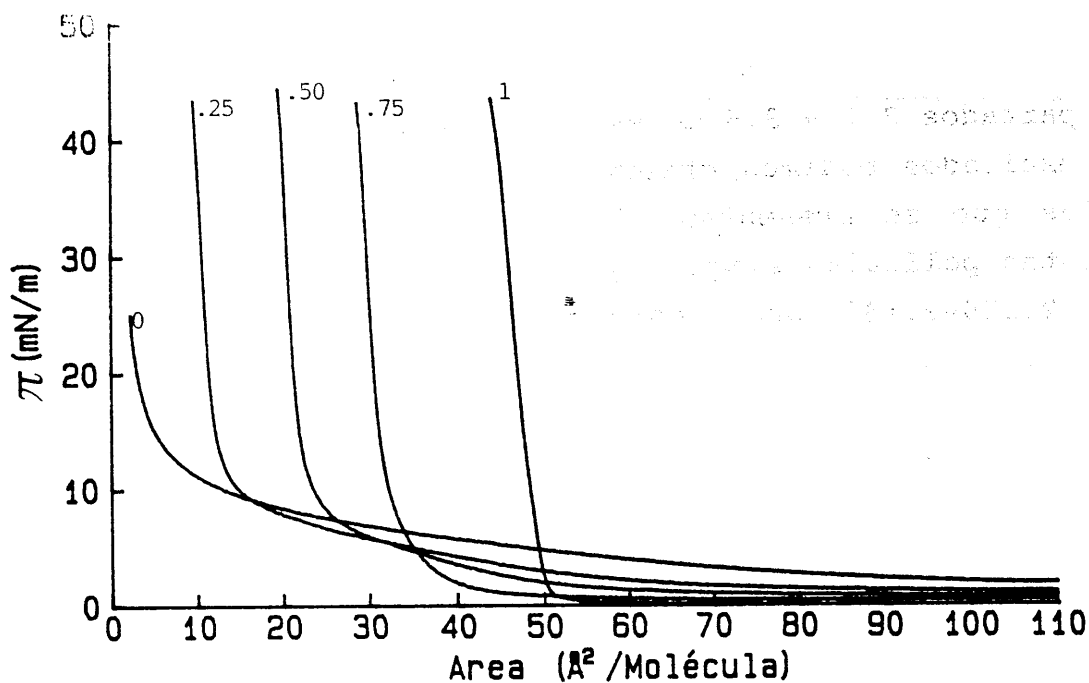


Fig. 2.124. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=2 y T=25°C

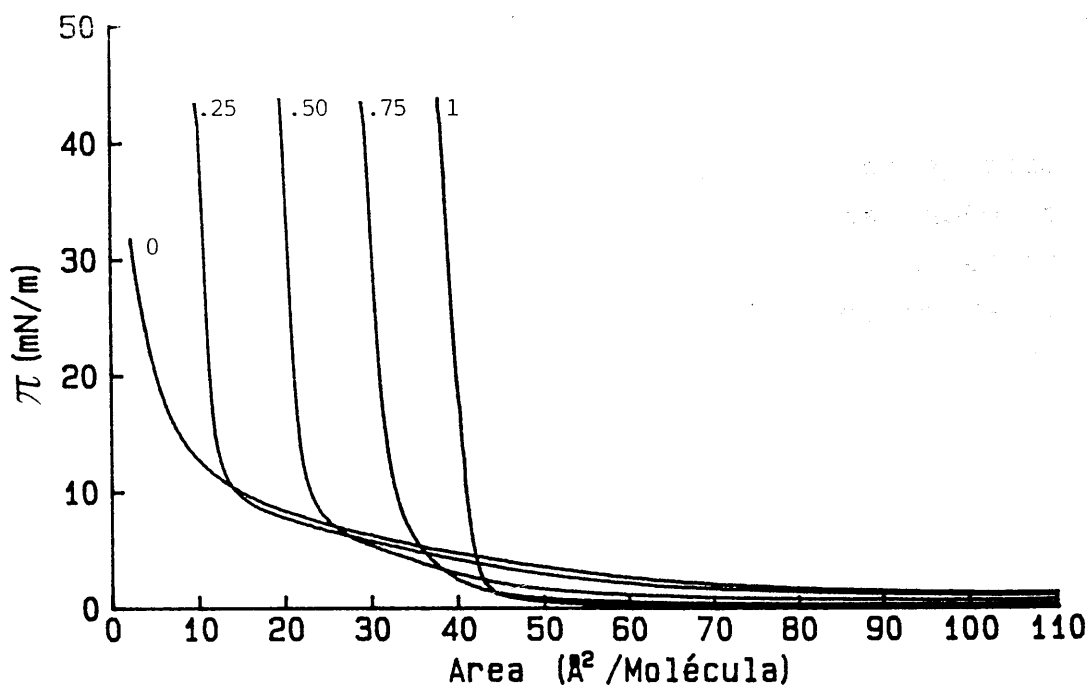


Fig. 2.125. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=4 y T=25°C

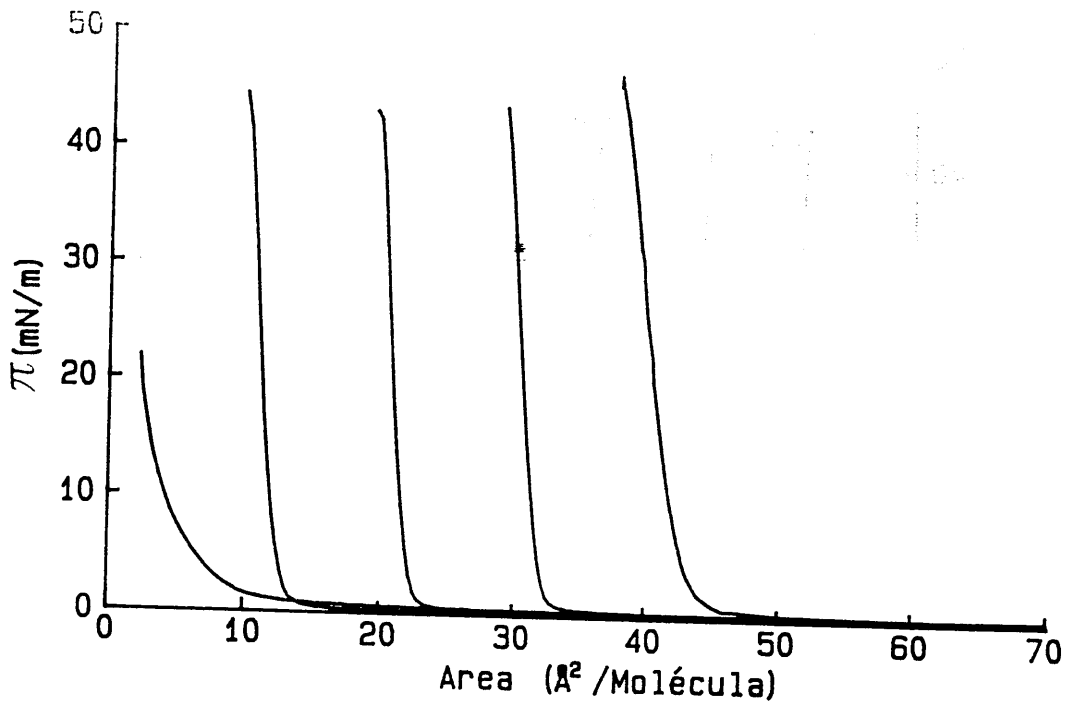


Fig. 2.126. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=6 y T=25°C

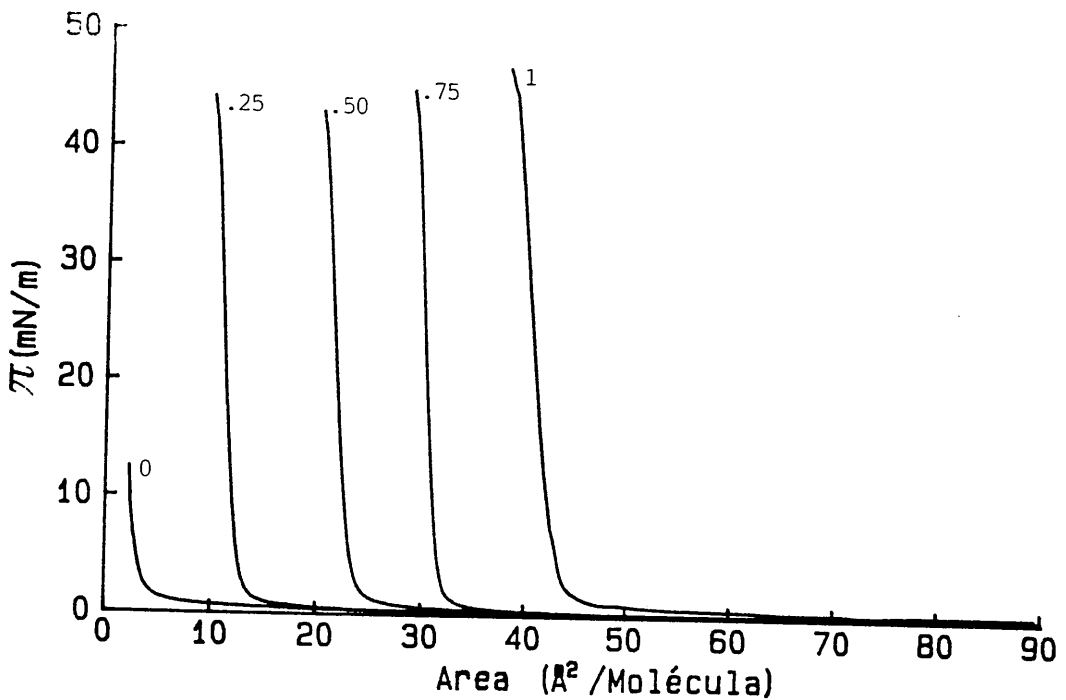


Fig. 2.127. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=8 y T=25°C

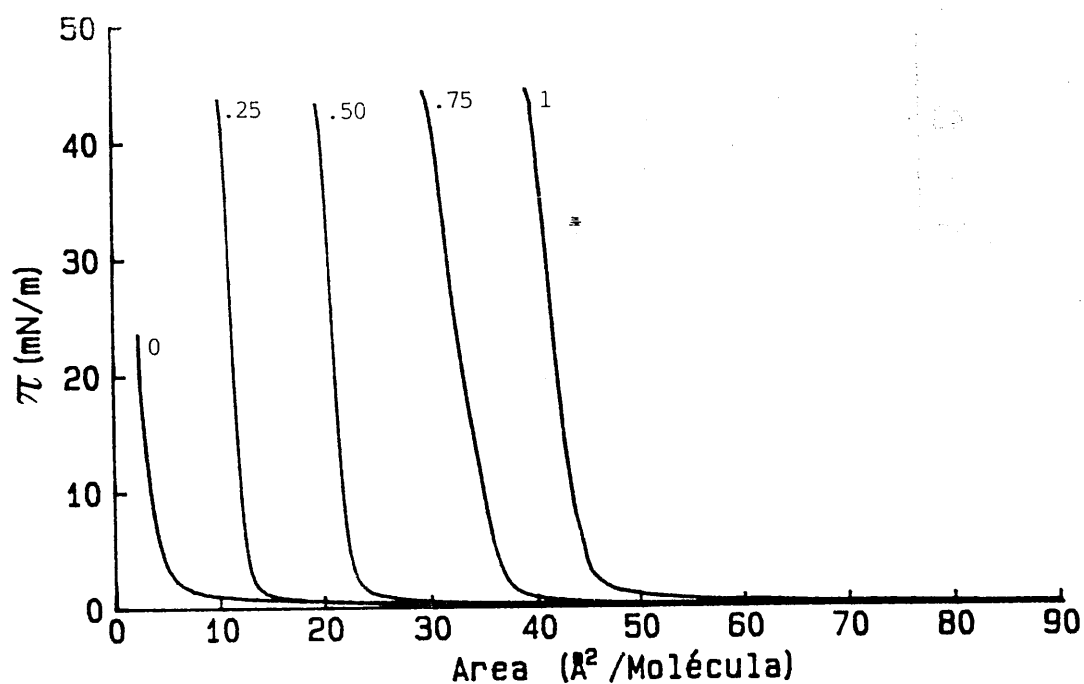


Fig. 2.128. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=10 y T=25°C

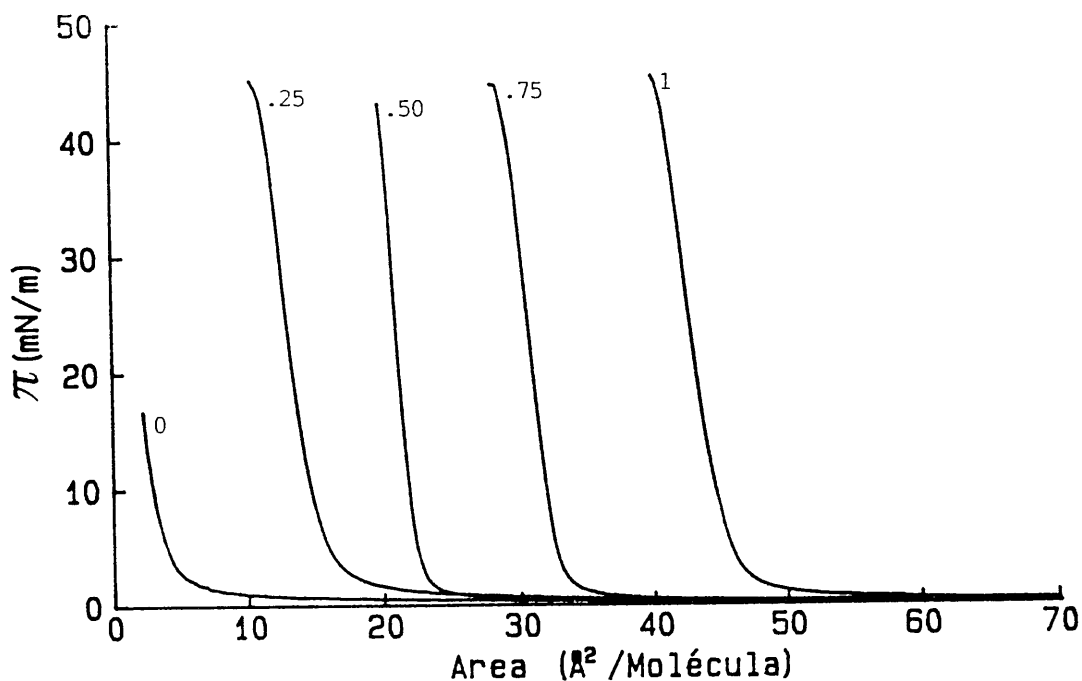


Fig. 2.129. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=12 y T=25°C

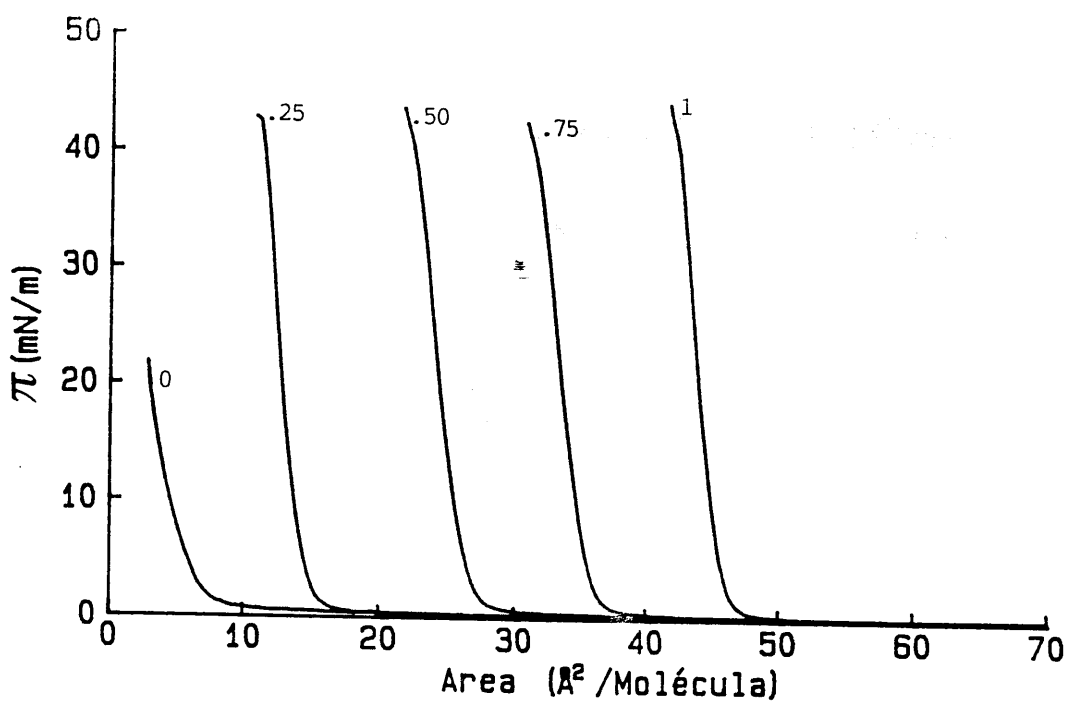


Fig. 2.130. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=6 y T=30°C

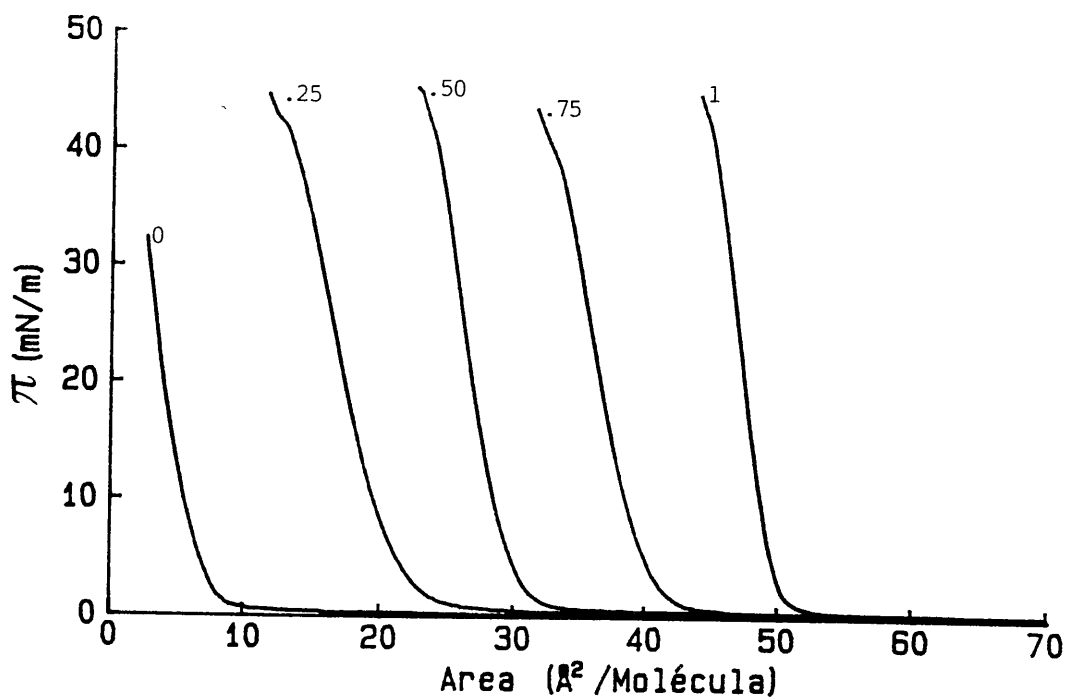


Fig. 2.131. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=6 y T=35°C

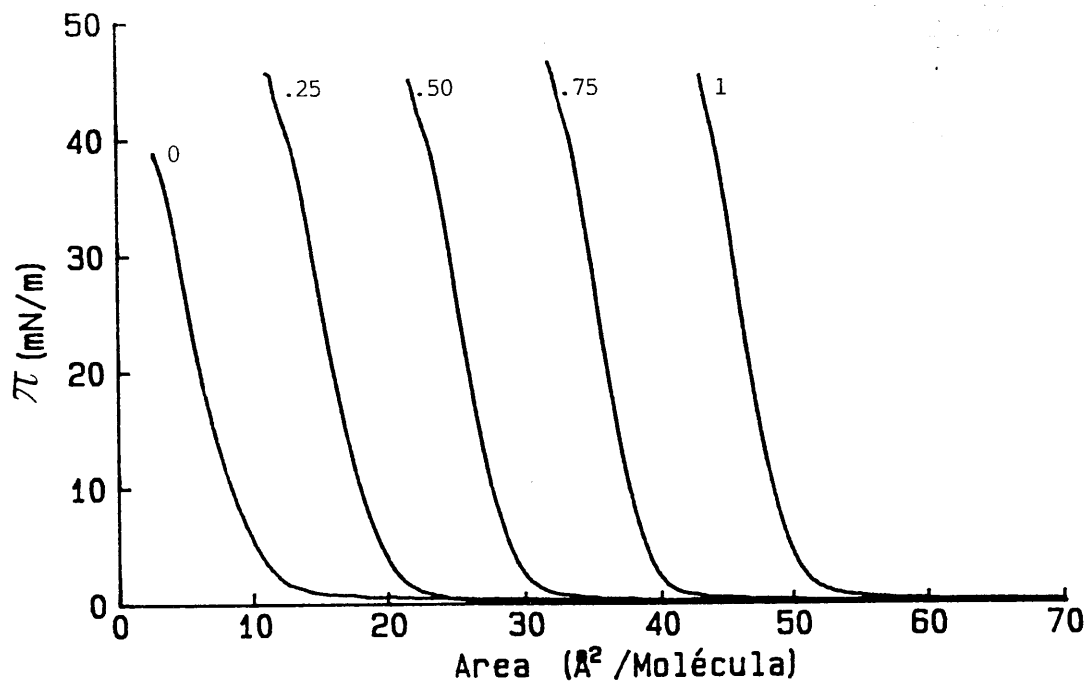


Fig. 2.132. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=6 y T=40°C

TABLA II.46

pH	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
2.00	12.73	43.4	9.65
4.00	12.58	* 43.4	9.57
6.00	12.62	44.6	9.71
8.00	12.59	44.3	9.61
10.00	12.48	43.8	10.12
12.00	15.45	45.1	10.42

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Coolesterol-75%Ac.Cólico a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.47

pH	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
2.00	22.31	44.4	19.56
4.00	22.28	43.8	19.40
6.00	22.23	43.2	19.23
8.00	23.11	43.1	19.93
10.00	22.49	43.3	19.47
12.00	22.34	43.1	19.80

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Coolesterol-50%Ac.Cólico a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.48

pH	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
2.00	31.95	43.2	28.65
4.00	32.73	43.5	28.84
6.00	32.05	43.8	28.99
8.00	31.65	45.0	28.57
10.00	35.89	44.3	29.41
12.00	32.90	44.7	28.07

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Coolesterol-25%Ac.Cólico a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.49

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	12.62	44.6	9.71
30	14.10	42.9	10.71
35	20.84	44.7	11.48
40	19.22	45.7	11.10

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Coolesterol-75%Ac.Cólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

TABLA II.50

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	22.23	43.2	19.23
30	26.06	43.8	21.53
35	29.33	45.4	22.41
40	28.81	45.1	21.66

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Coolesterol-50%Ac.Cólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

TABLA II.51

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	32.05	43.8	29.00
30	35.41	42.7	30.62
35	39.73	43.7	31.42
40	38.70	46.6	31.79

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Coolesterol-25%Ac.Cólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

4.8.1 Miscibilidad y Regla de Fases

En este apartado estudiaremos el efecto condensante del colesterol sobre el ácido cólico y cómo este se modifica con las condiciones de pH y temperatura.

Evidentemente, a presiones superficiales bajas, este efecto condensante será más efectivo que a valores superiores de presión superficial. Este hecho podemos observarlo en la Fig. 2.133(a,b), donde se representan las áreas moleculares medias en función de la fracción molar de colesterol a $T = 25^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 6.00$ y distintos valores de presión superficial (5, 15, 20 y 25 mNm^{-1}). En todos los casos, las áreas por molécula sufren pequeñas desviaciones negativas de comportamiento lineal, aunque más acusadas en la secuencia de mayor a menor presión superficial.

El efecto del pH podemos deducirlo observando las Figs. 2.134(a,b) y 2.135(a,b,c), en las que se presentan las curvas área/molécula-fracción molar de colesterol a $T = 25^{\circ}\text{C}$, distintos pHs y $\Pi = 5$ y 20 mNm^{-1} , respectivamente. El comportamiento es análogo a ambas presiones superficiales, ya que percibimos desviaciones de la regla de aditividad a pHs ácidos y básicos y un comportamiento "ideal" cuando el pH es intermedio (6.00 y 8.00). Aunque, a $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$ y pH ácido, las desviaciones negativas son bastante más acusadas que a $\Pi = 20 \text{ mNm}^{-1}$, de acuerdo con el carácter extendido de las películas de ácido cólico bajo estas condiciones.

En las siguientes Figs., 2.136 y 2.137, podemos observar que, a temperaturas superiores a 25°C , prácticamente todos los valores de área molecular cumplen con la regla de aditividad, declarando inmiscibilidad entre estos dos componentes.

La variación de la presión de colapso con la fracción molar de colesterol nos informará, una vez más, del número de grados de libertad del sistema. Para estos dos compuestos, esta variación siempre es continua (Figs. 2.138(a, b,c) y 2.139), por tanto, aplicando la regla de

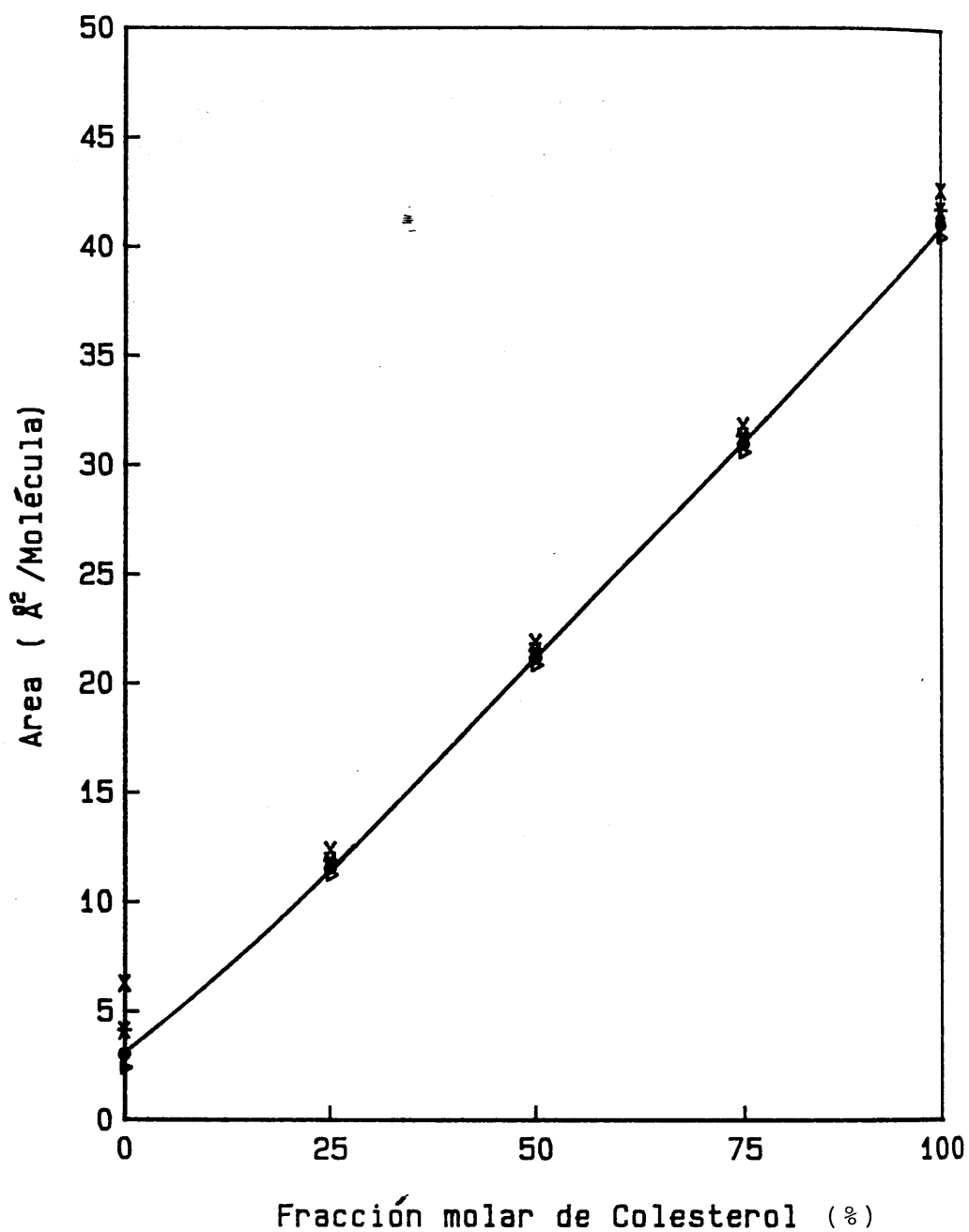
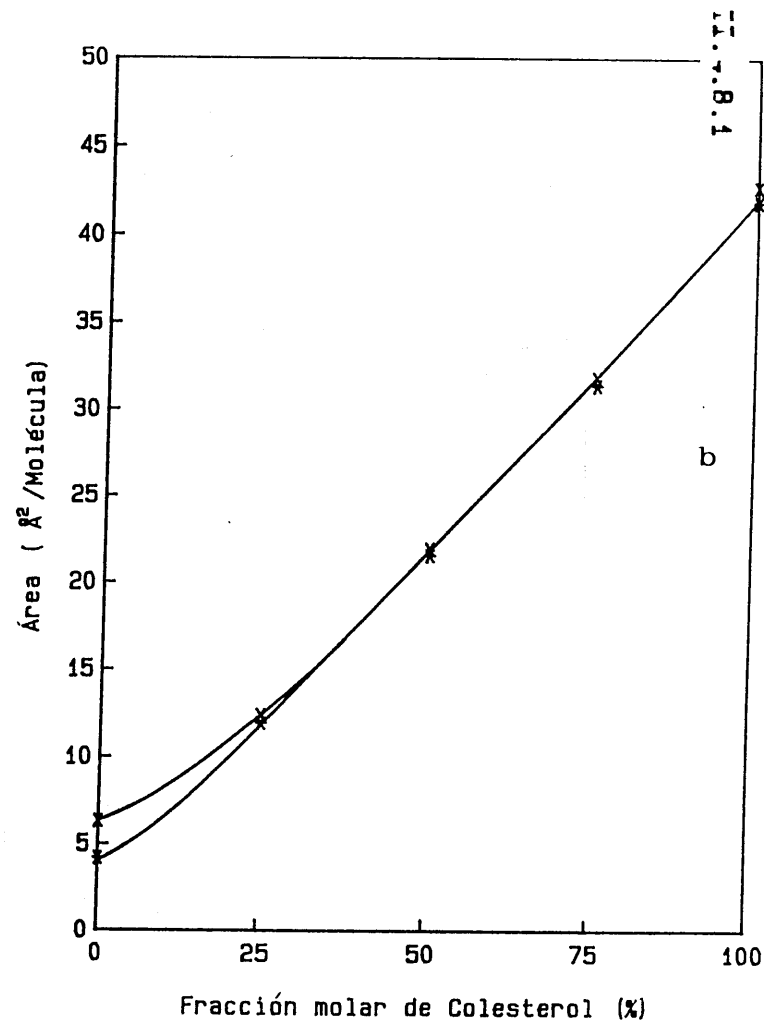
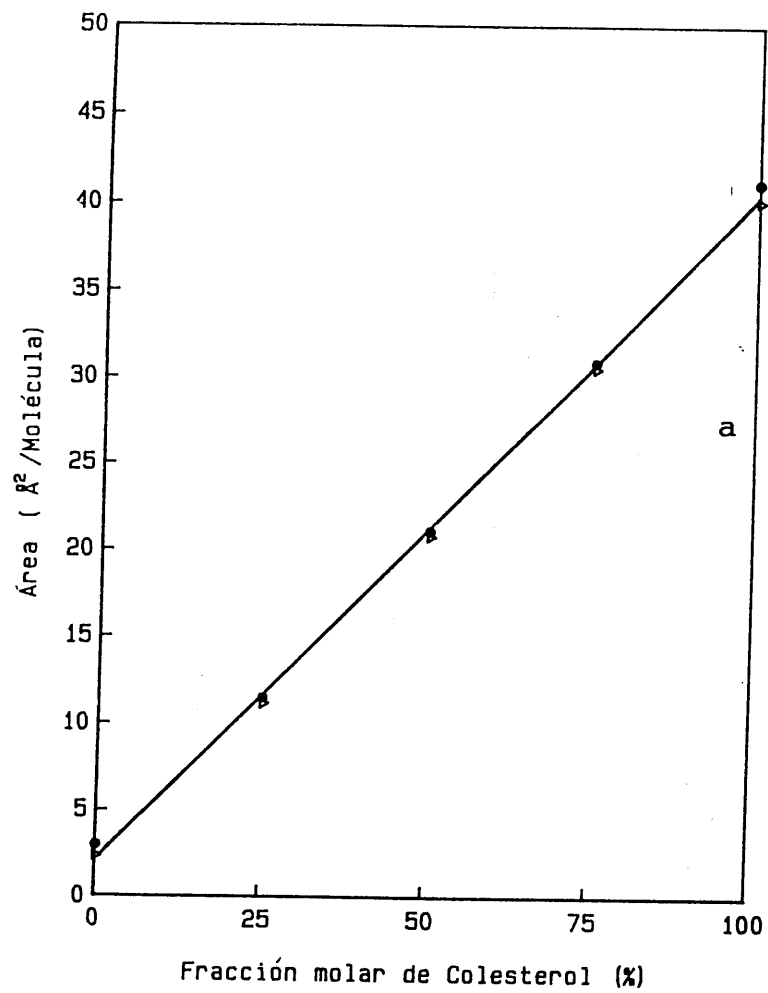


Fig. 2.133. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=6$ y distintas presiones superficiales: (a) $\Pi=20$ y 15 mN/m ; (b) $\Pi=10$ y 5 mN/m



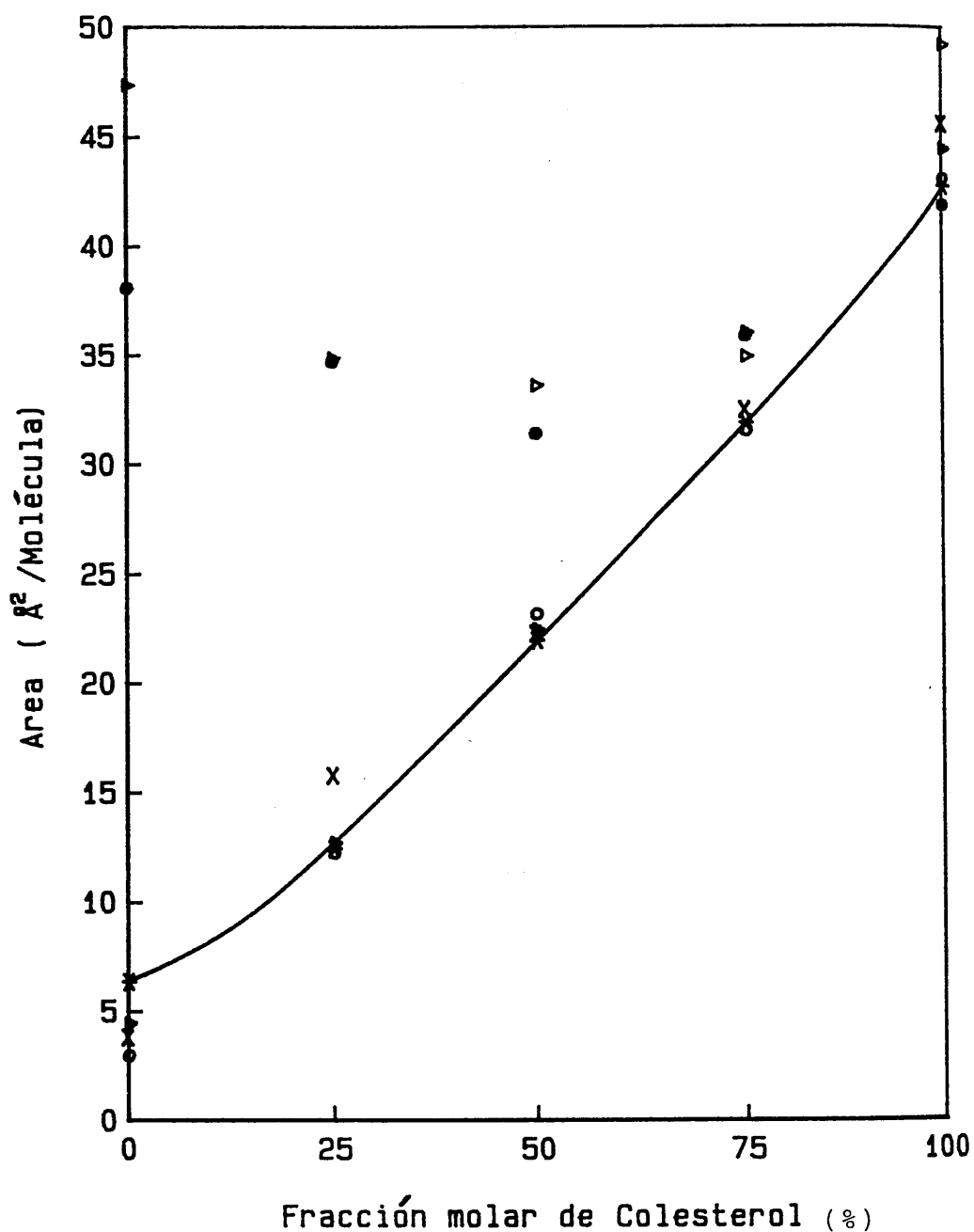
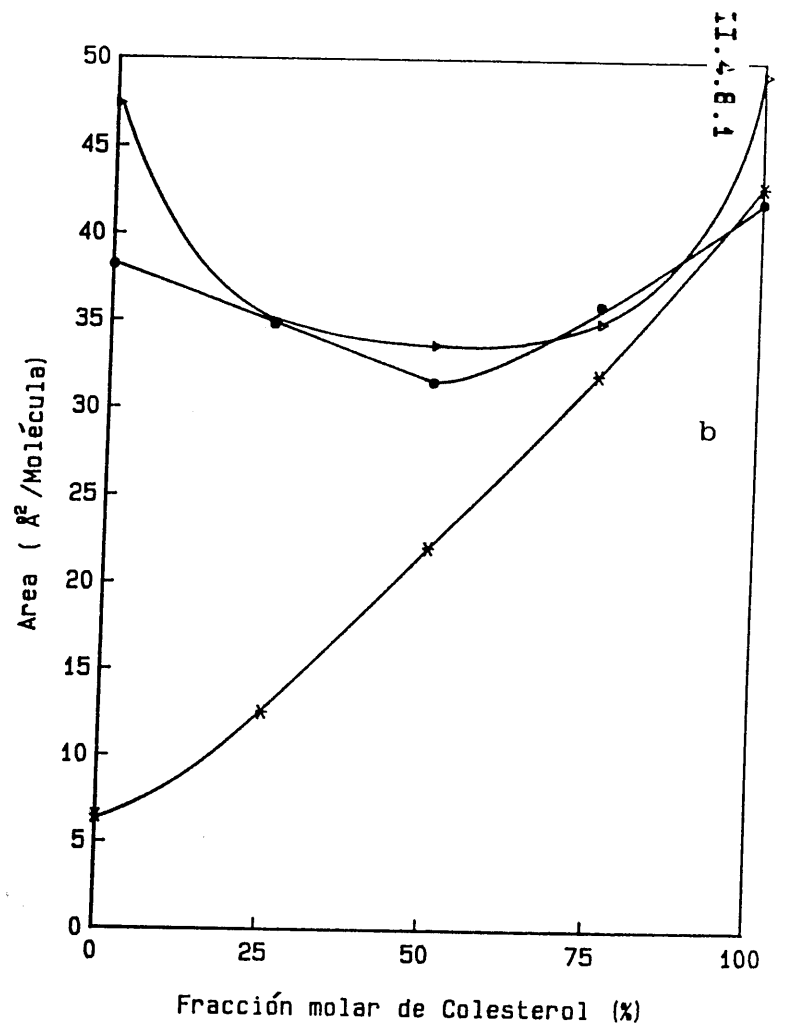
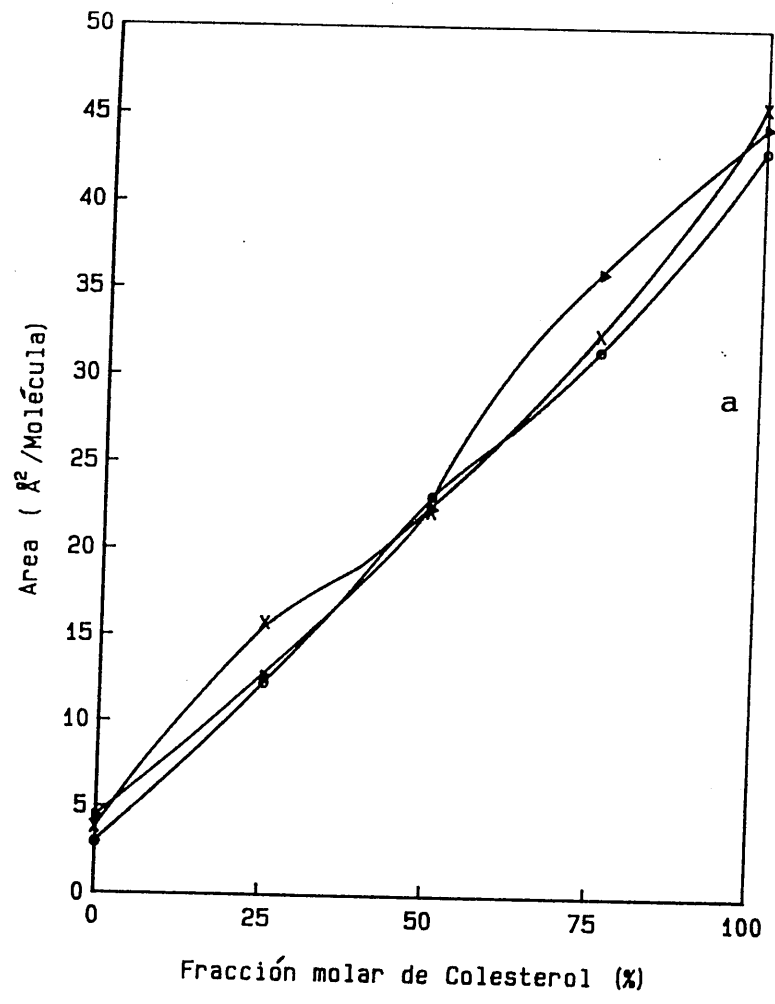


Fig. 2.134. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi=5 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2, 4 y 6; (b) pH= 8, 10 y 12



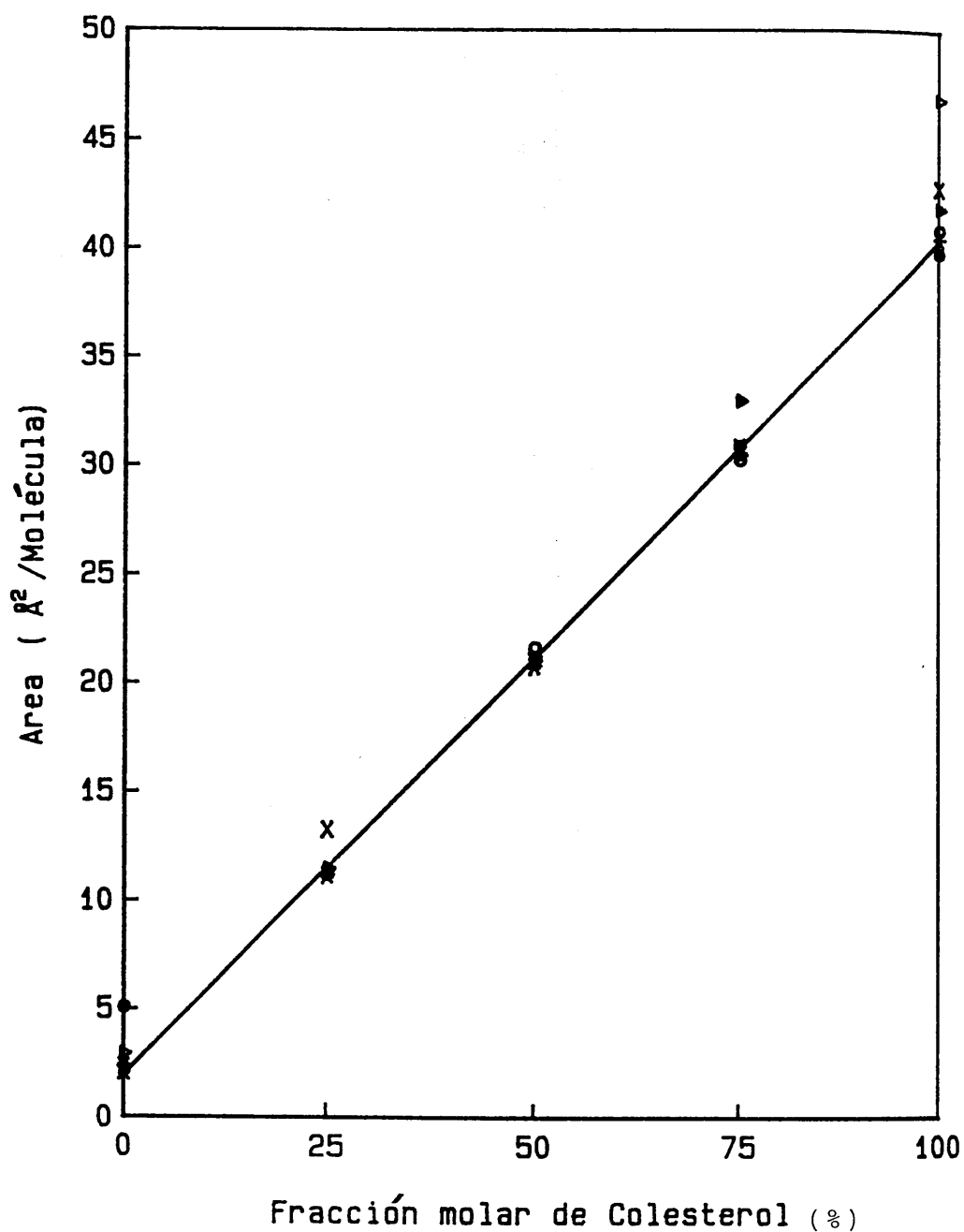
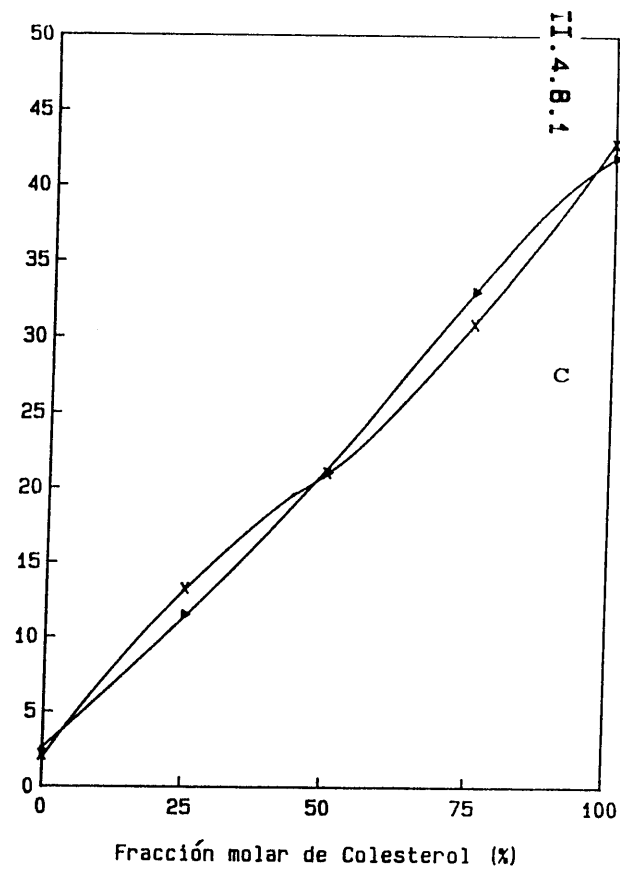
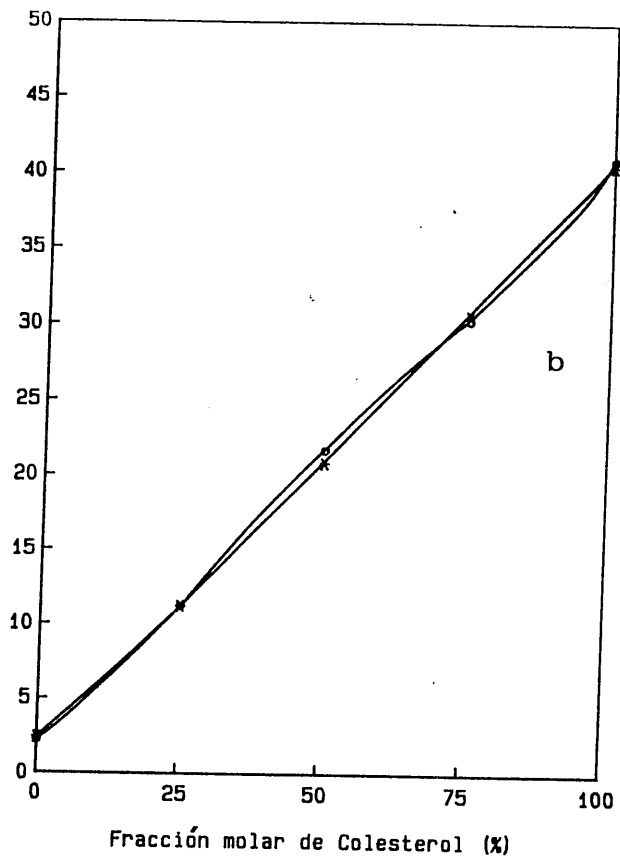
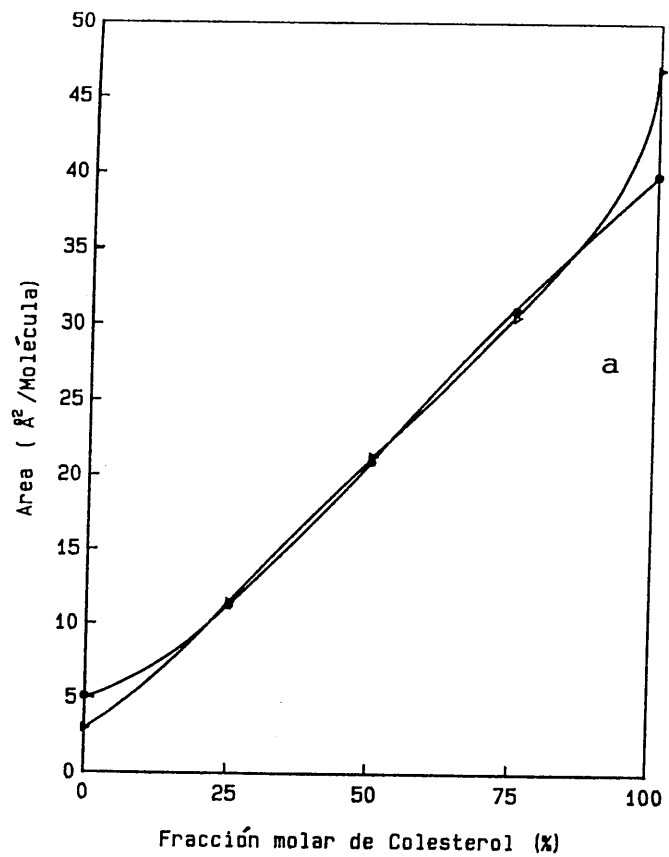


Fig. 2.135. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$, $\Pi = 20 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 8 y 10; (c) pH= 10 y 12



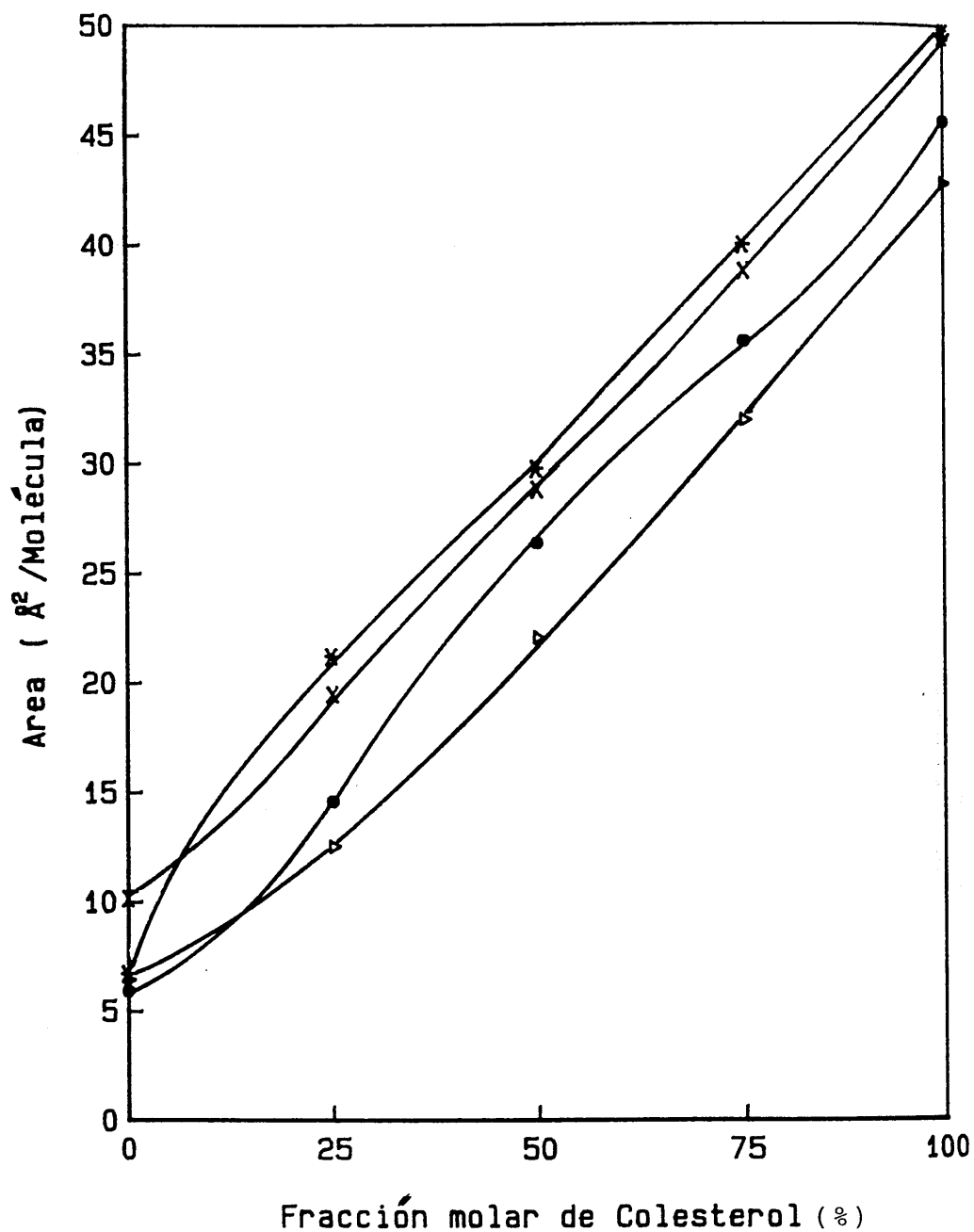


Fig. 2.136. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=6, $\Pi=5 \text{ mNm}^{-1}$ y distintas temperaturas

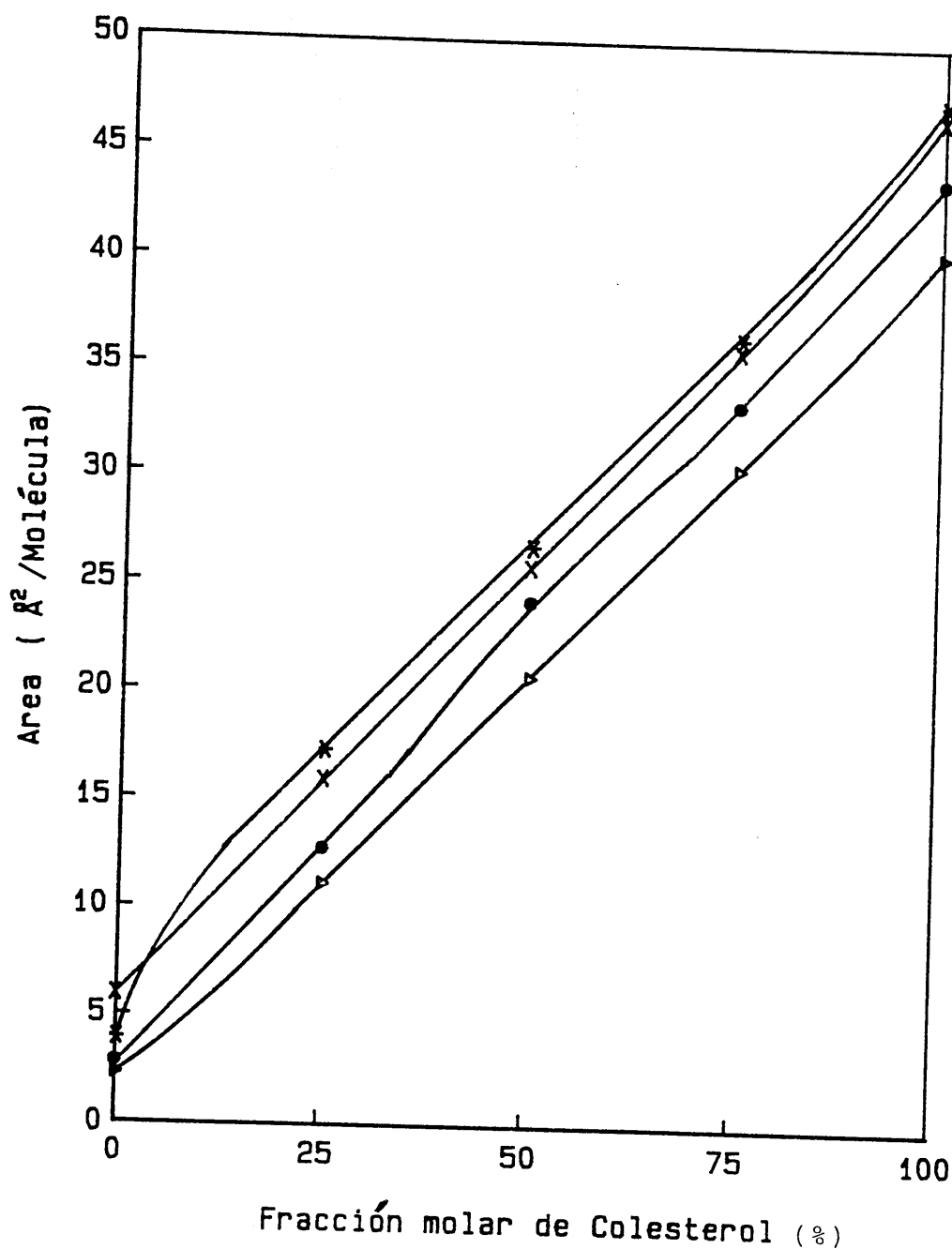


Fig. 2.137. Area por molécula en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a $\text{pH}=6$, $\Pi=20 \text{ mNm}^{-1}$ y distintas temperaturas

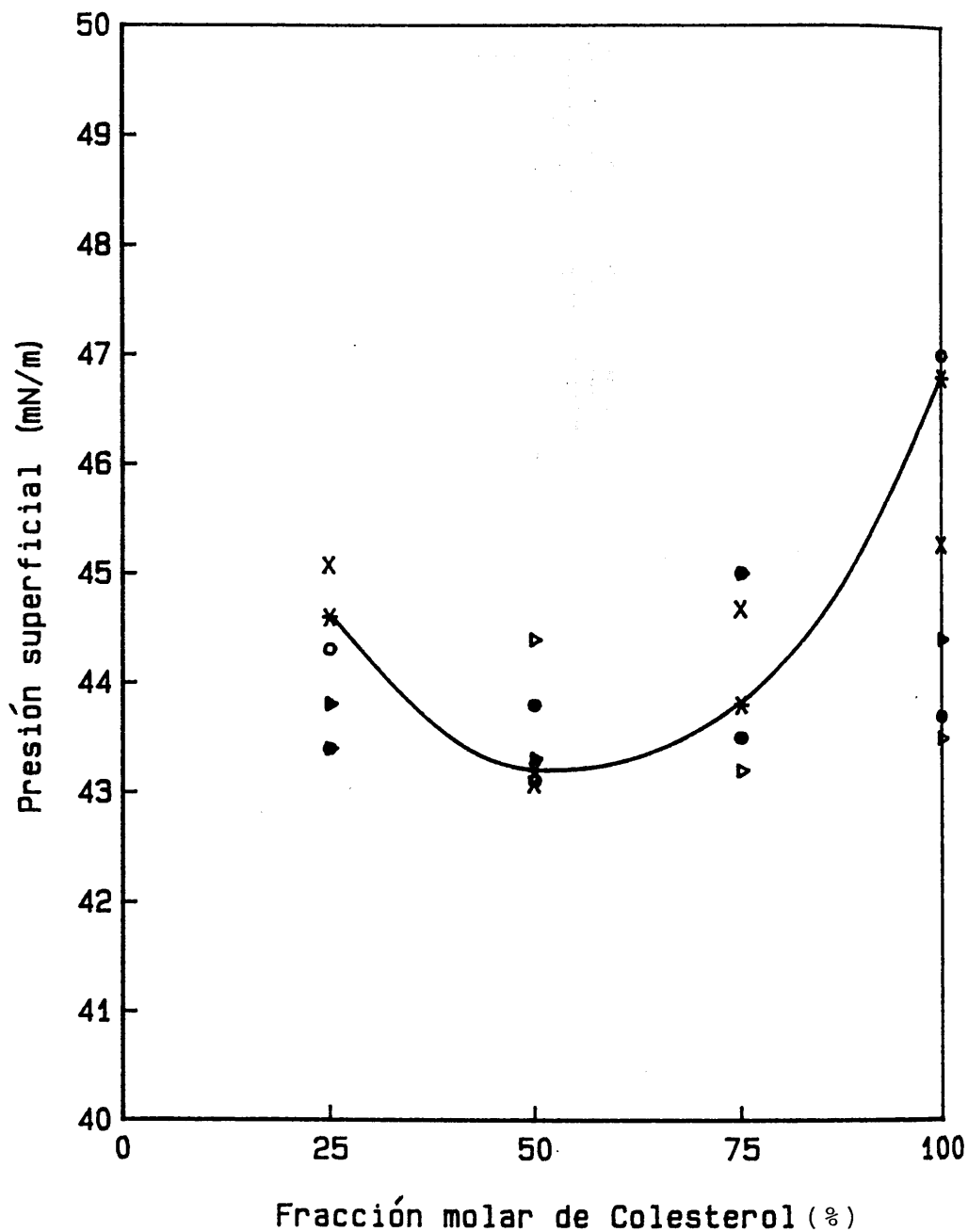
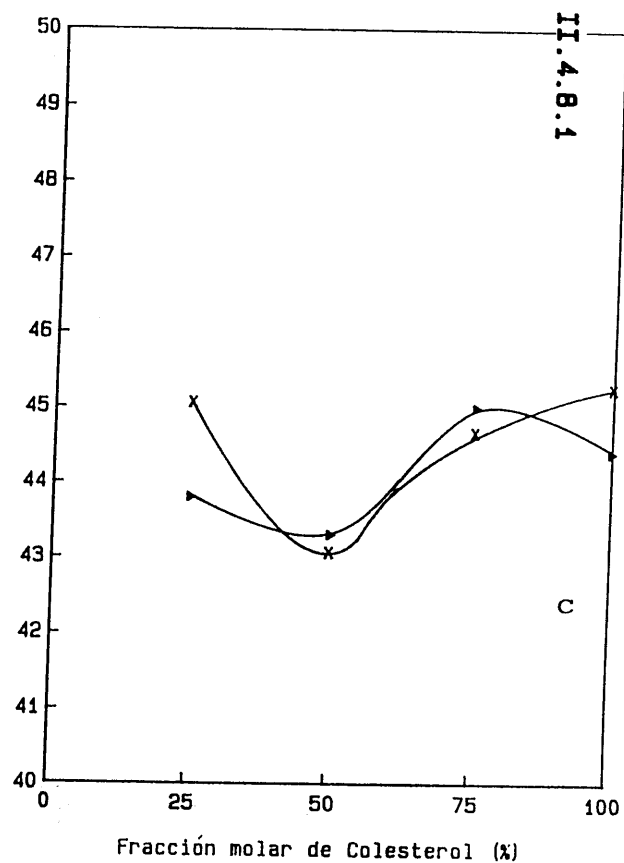
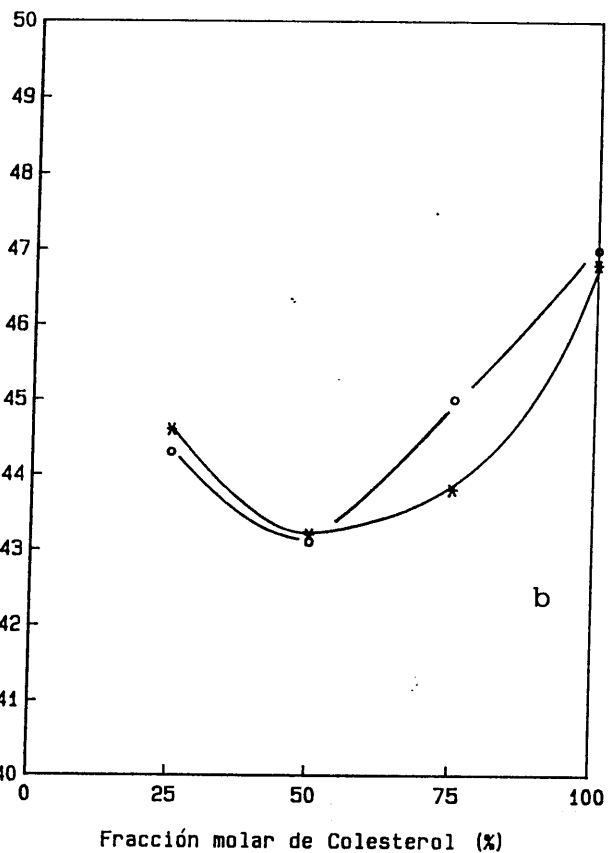
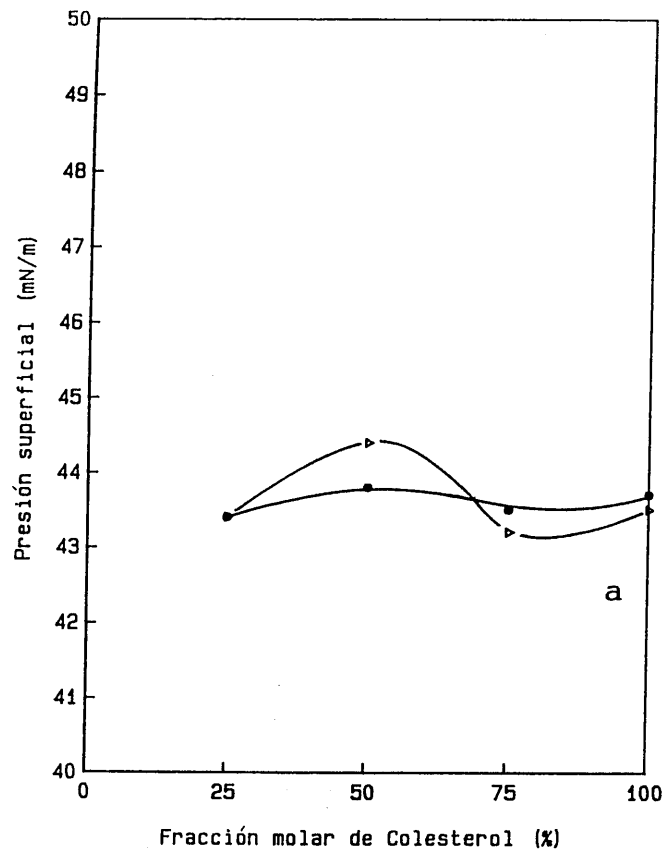


Fig. 2.138. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



II.4.8.1

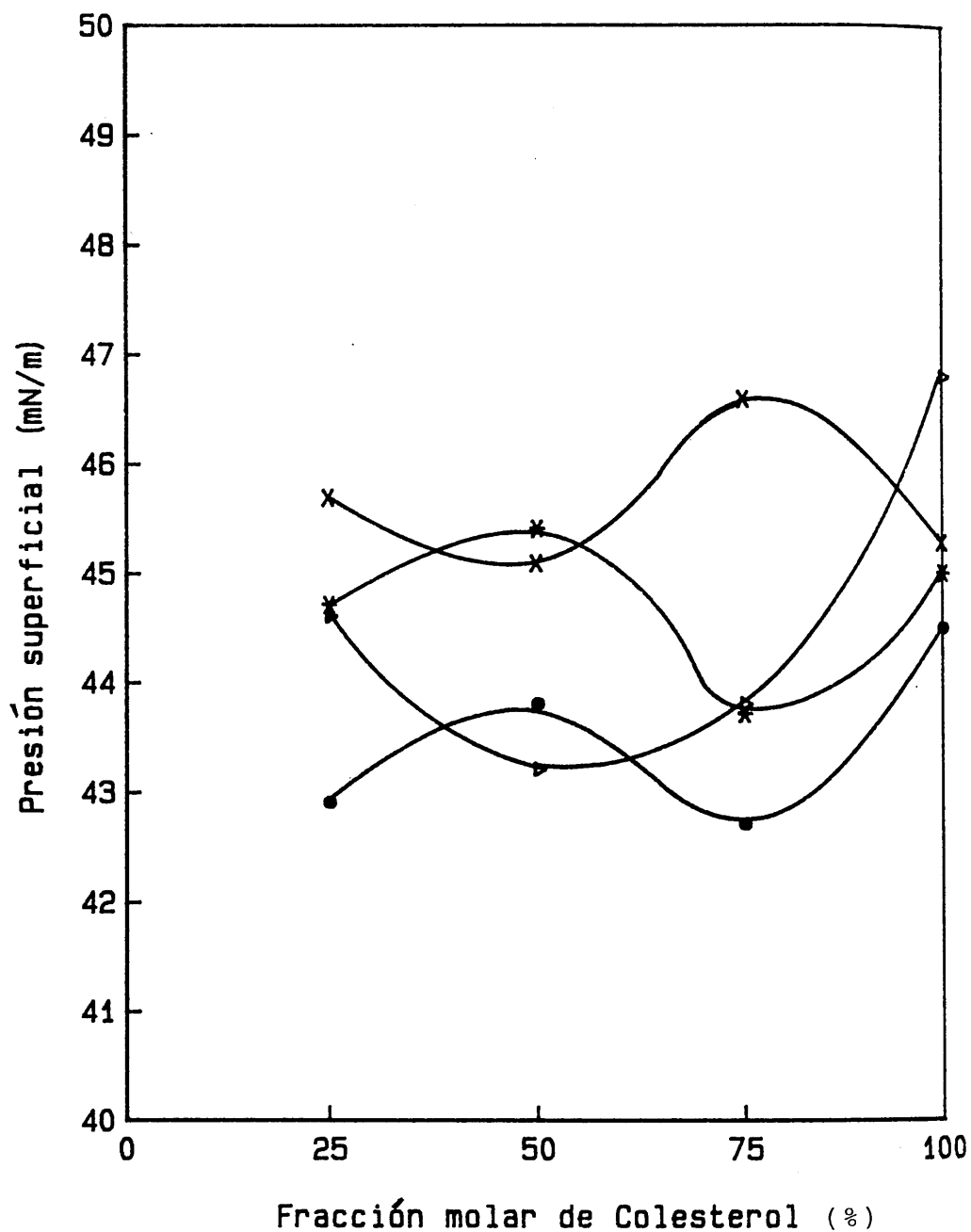


Fig. 2.139. Presión de colapso en función de la fracción molar de colesterol para películas mixtas de ácido cólico y colesterol a pH=6 y distintas temperaturas

fases al equilibrio película monomolecular-fase colapsada, tendremos $F = 1$, y todas las películas, excepto las simples de ácido cólico, colapsarán en una sola fase, que, en el caso de pHs ácidos, sobre todo, y básicos a $T = 25^{\circ}\text{C}$, estará formada por ambos compuestos, ya que en estas condiciones el ácido cólico y el colesterol exhiben miscibilidad pues interaccionan entre sí. Cuando el pH es intermedio y las temperaturas son superiores a 25°C , prácticamente la situación es de inmiscibilidad para estos compuestos y la fase colapsada estará constituida por colesterol, que es el componente considerado menos estable al presentar colapso sus películas.

En general, las desviaciones presentadas de la "idealidad" son poco significativas, al menos comparadas con las que hasta ahora veníamos describiendo para otros compuestos, y podemos afirmar que el ácido cólico y el colesterol en la interfase aire-disolución acuosa no forman estructuras definidas en las condiciones experimentales estudiadas e interaccionan débilmente.

4.9 MONOCAPAS MIXTAS DE ACIDO COLICO-L- α -FOSFATIDILCOLINA

En este apartado estudiaremos las monocapas puras y mixtas constituidas por ácido cólico y lecitina sintética. A partir de las isoterms obtenidas por compresión de estas películas, será posible explicar el comportamiento de ambos compuestos en la interfase aire- disolución acuosa. En las Figs. 2.140-2.145, donde se presentan las isoterms registradas a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs, y 2.146-2.148, a $\text{pH} = 6.00$ y diferentes temperaturas, observamos que, excepto cuando el pH de la subfase es básico, prácticamente todas las monocapas mixtas presentan una zona de transición de fase principal entre los estados líquido-extendido y líquido-condensado, unas veces impuesta por la presencia de ácido cólico (bajo condiciones de pH básico) y otras, por la

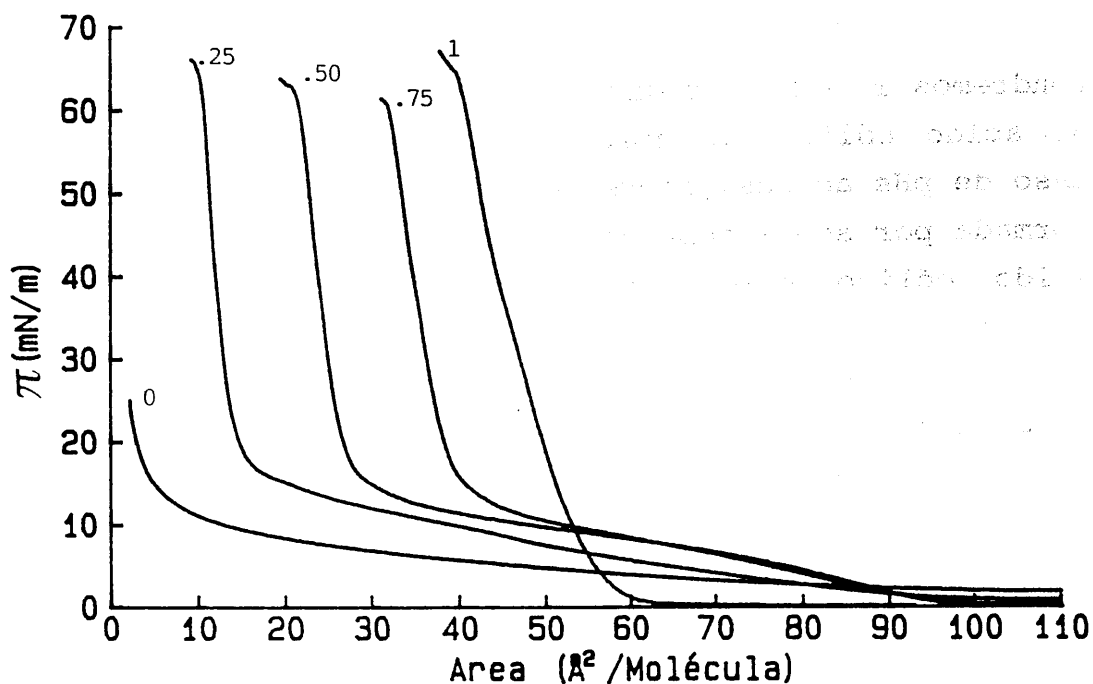


Fig. 2.140. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=2 y T=25°C

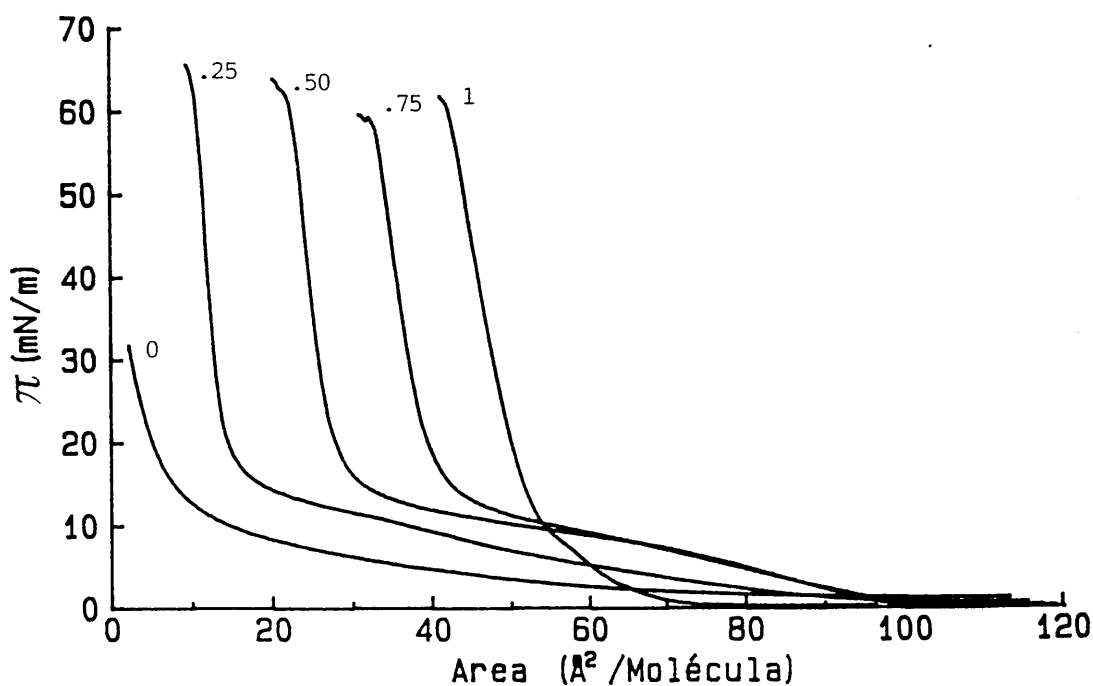


Fig. 2.141. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=4 y T=25°C

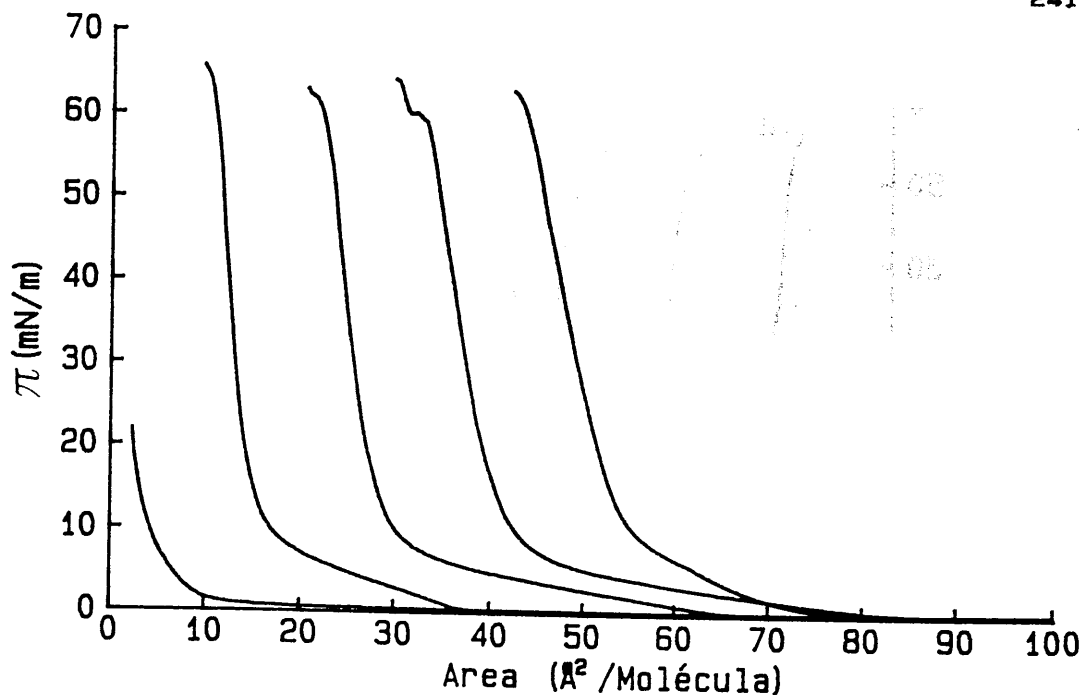


Fig. 2.142. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=25°C

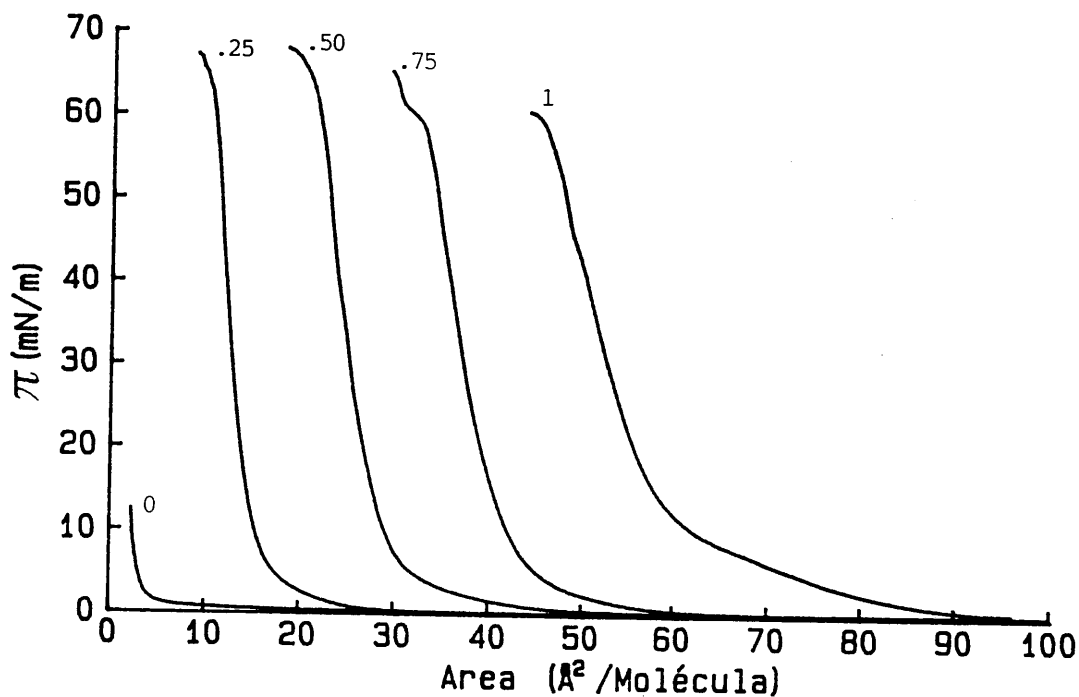
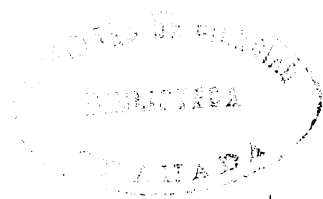


Fig. 2.143. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=8 y T=25°C



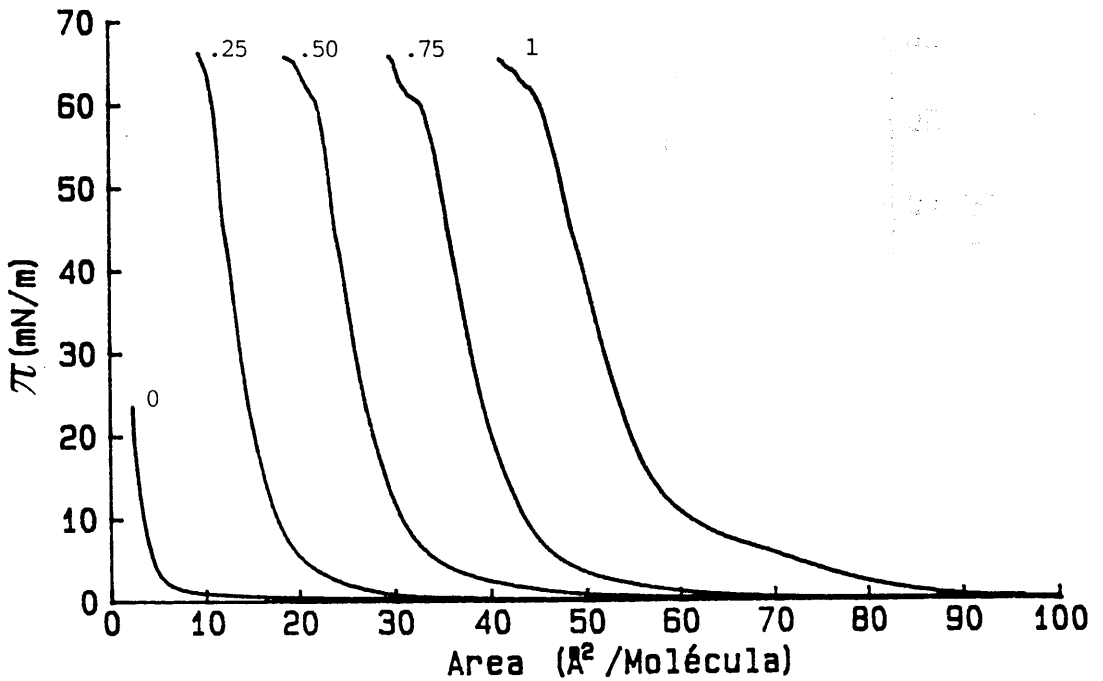


Fig. 2.144. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=10 y T=25°C

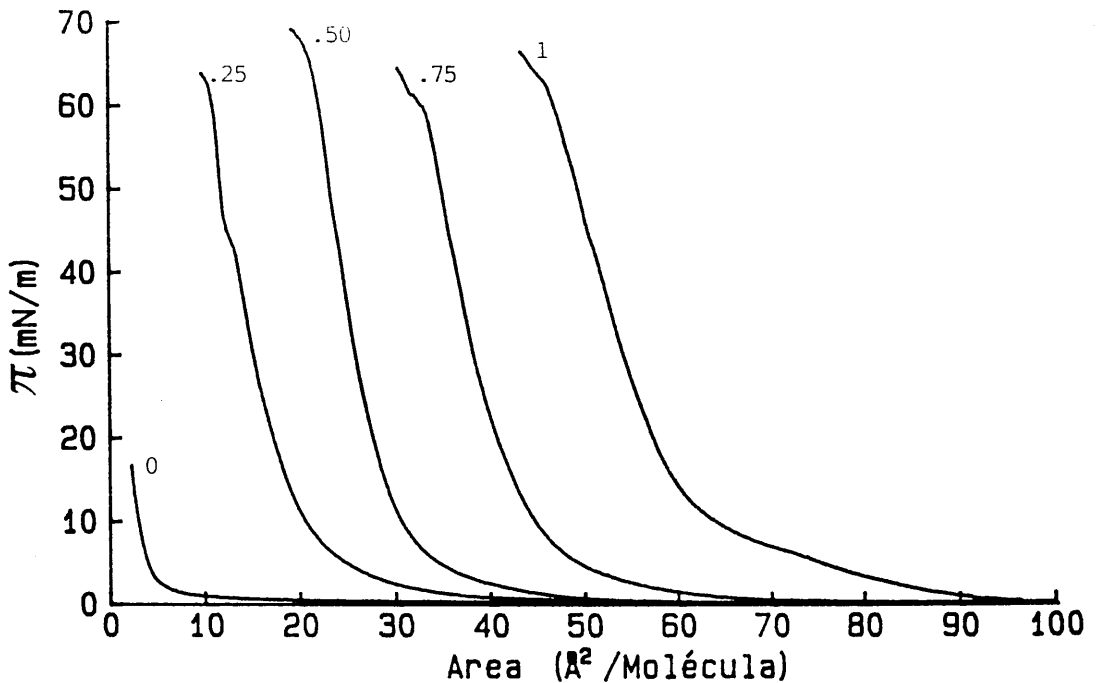


Fig. 2.145. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=12 y T=25°C

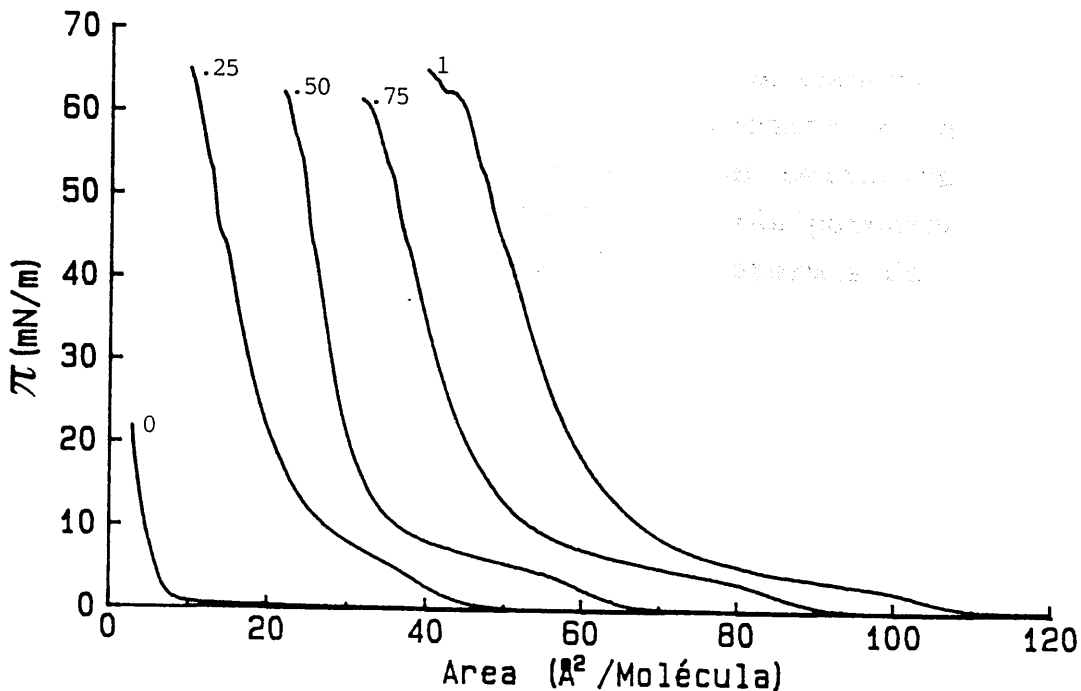


Fig. 2.146. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=30°C

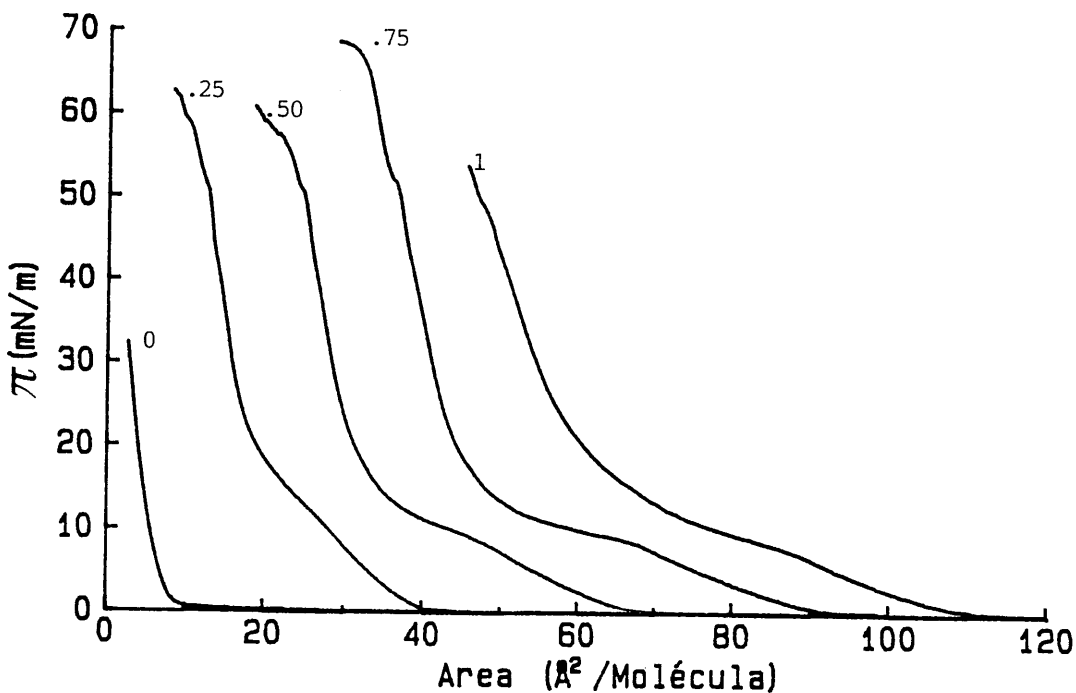


Fig. 2.147. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=35°C

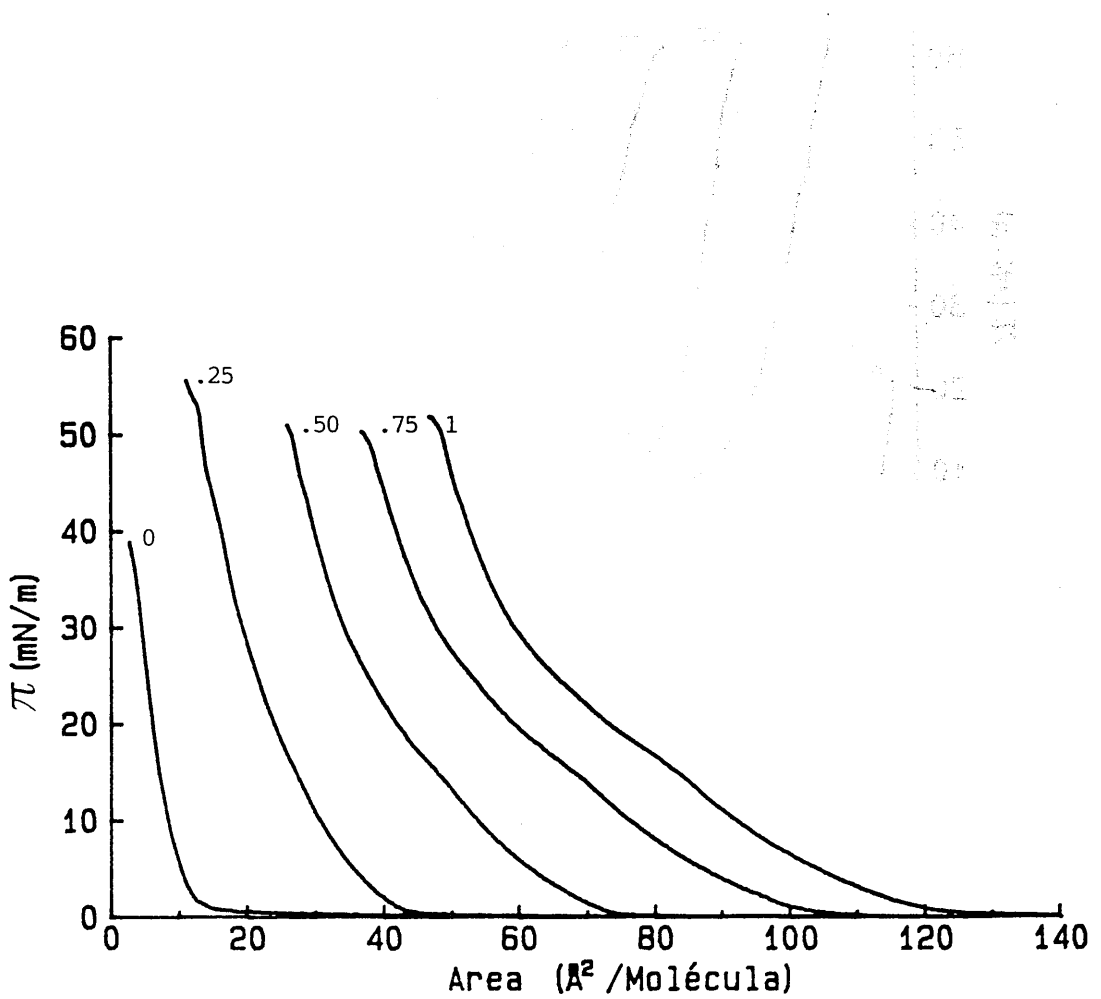


Fig. 2.148. Presión superficial en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y T=40°C

de lecitina (en este caso, a temperaturas elevadas).

En estas figuras también destacamos el hecho de que las isoterms correspondientes a las películas mixtas cuando el pH de la subfase es ácido, son más parecidas a las de ácido cólico puro, y análogas a las isoterms de lecitina si el pH es básico y la temperatura superior a 25°C, es decir, el carácter extendido de las películas es el que se impone en todas las condiciones de pH y temperatura.

En las tablas siguientes, II.52-II.57, comprobamos que los valores de área específica límite para estas monocapas mixtas aumentan con el pH a partir de su valor 6.00 y siempre con la temperatura, además de que las presiones de colapso presentan valores muy cercanos a los de las películas de L- α -fosfatidilcolina.

TABLA II.52

pH	A^0 ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)	Π_C (mN m^{-1})	A_C ($\text{\AA}^2/\text{moléc.}$)
2.00	15.17	66.1	9.31
4.00	14.95	65.6	9.35
6.00	15.69	65.7	9.56
8.00	15.05	67.1	8.70
10.00	16.89	66.2	9.43
12.00	19.62	63.8	9.68

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Le-citina-75%Ac.Cólico a T=25°C y distintos pHs

4.9.1 Miscibilidad y Regla de Fases

Representando las áreas moleculares medias en función de la fracción molar de un componente, obtendremos, como venimos haciendo para el resto de las películas mixtas estudiadas, información sobre el grado de miscibilidad de los compuestos ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina.

TABLA II.53

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	15.69	65.7	9.56
30	22.90	65.0	9.81
35	20.57	62.7	8.07
40	27.64	55.6	10.95

Parámetros superficiales de monocapas de 25%Lecitina-75%Ac.Cólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

TABLA II.54

pH	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
2.00	27.95	63.8	19.54
4.00	29.03	63.9	20.11
6.00	29.14	63.1	20.38
8.00	28.71	68.0	18.23
10.00	30.29	65.8	18.67
12.00	29.57	69.2	19.11

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Lecitina-50%Ac.Cólico a T=25°C y distintos pHs

TABLA II.55

T(°C)	A ⁰ (Å ² /moléc.)	Π _C (mN m ⁻¹)	A _C (Å ² /moléc.)
25	29.14	63.1	20.38
30	32.68	62.3	21.73
35	33.66	60.8	18.45
40	44.43	51.0	25.91

Parámetros superficiales de monocapas de 50%Lecitina-50%Ac.Cólico a pH=6.00 y distintas temperaturas

TABLA II.56

pH	$A^O(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_C(\text{mN m}^{-1})$	$A_C(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
2.00	40.62	64.2	28.61
4.00	41.48	59.3	32.10
6.00	42.10	64.4	29.68
8.00	41.71	65.4	29.23
10.00	42.41	65.8	29.57
12.00	43.43	64.4	30.25

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Le-citina-25%Ac.Cólico a $T=25^\circ\text{C}$ y distintos pHs

TABLA II.57

$T(^{\circ}\text{C})$	$A^O(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$	$\Pi_C(\text{mN m}^{-1})$	$A_C(\text{\AA}^2/\text{moléc.})$
25	42.10	64.4	29.68
30	48.74	61.6	31.50
35	47.30	68.8	28.84
40	59.20	51.5	35.09

Parámetros superficiales de monocapas de 75%Leci-tina-25%Ac.Cólico a $\text{pH}=6.00$ y distintas tempera-turas

En primer lugar, representamos las áreas/molécula en función de la fracción molar de lecitina para las isoterms obtenidas a $T = 25^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 6.00$ y distintos valores de presión superficial (Fig. 2.149). En ella observamos que, a estas condiciones experimentales, los dos componentes interaccionan sólo cuando la presión superficial es relativamente baja, $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$; a presiones superiores, esta ácido biliar y la lecitina son inmiscibles entre sí.

En la Fig. 2.150(a,b,c) observamos, no obstante, que a $\Pi = 5 \text{ mNm}^{-1}$, el comportamiento de estos compuestos varía con el pH y, así, cuando este es básico (10.00 y

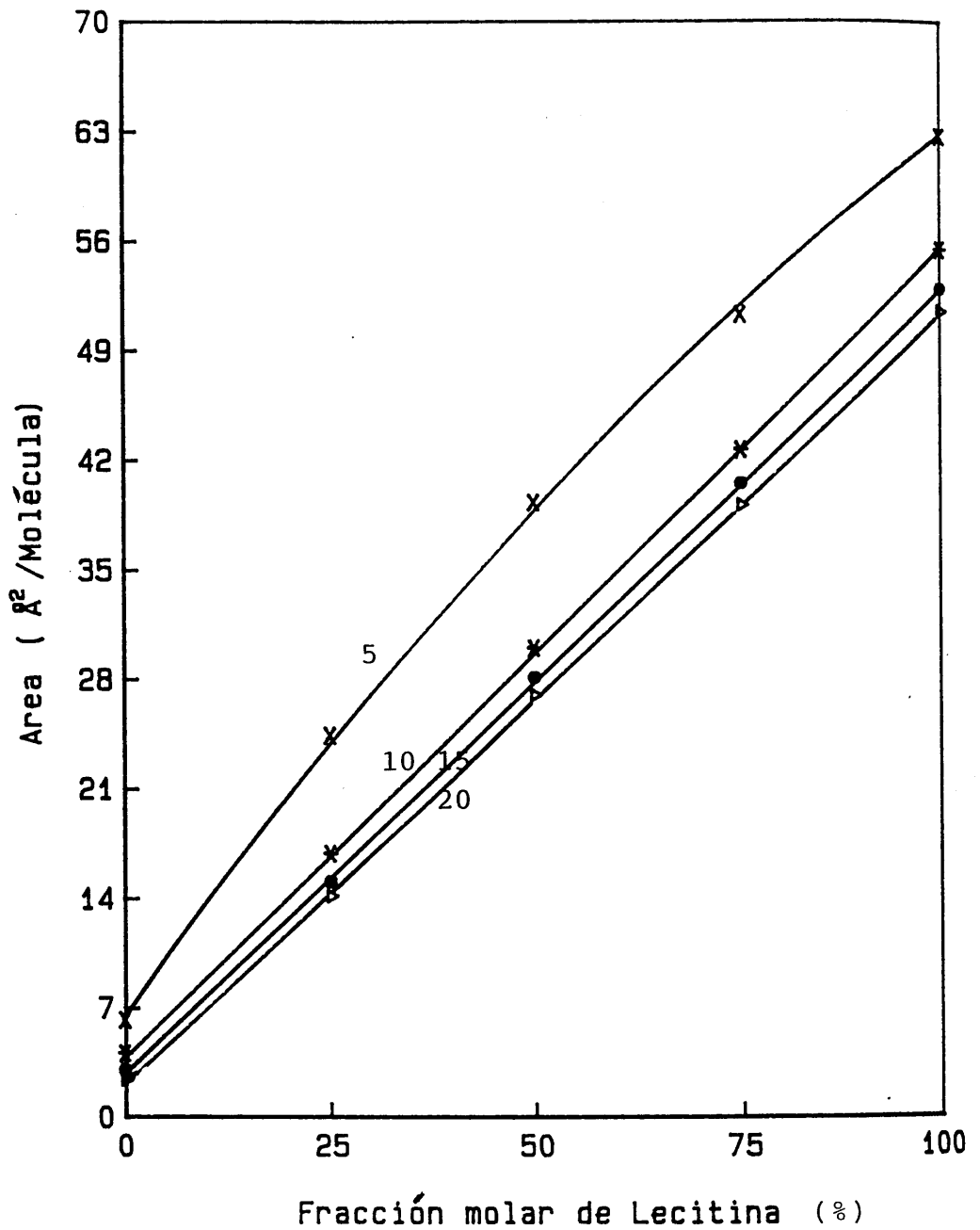


Fig. 2.149. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}$, $\text{pH}=6$ y distintas presiones superficiales

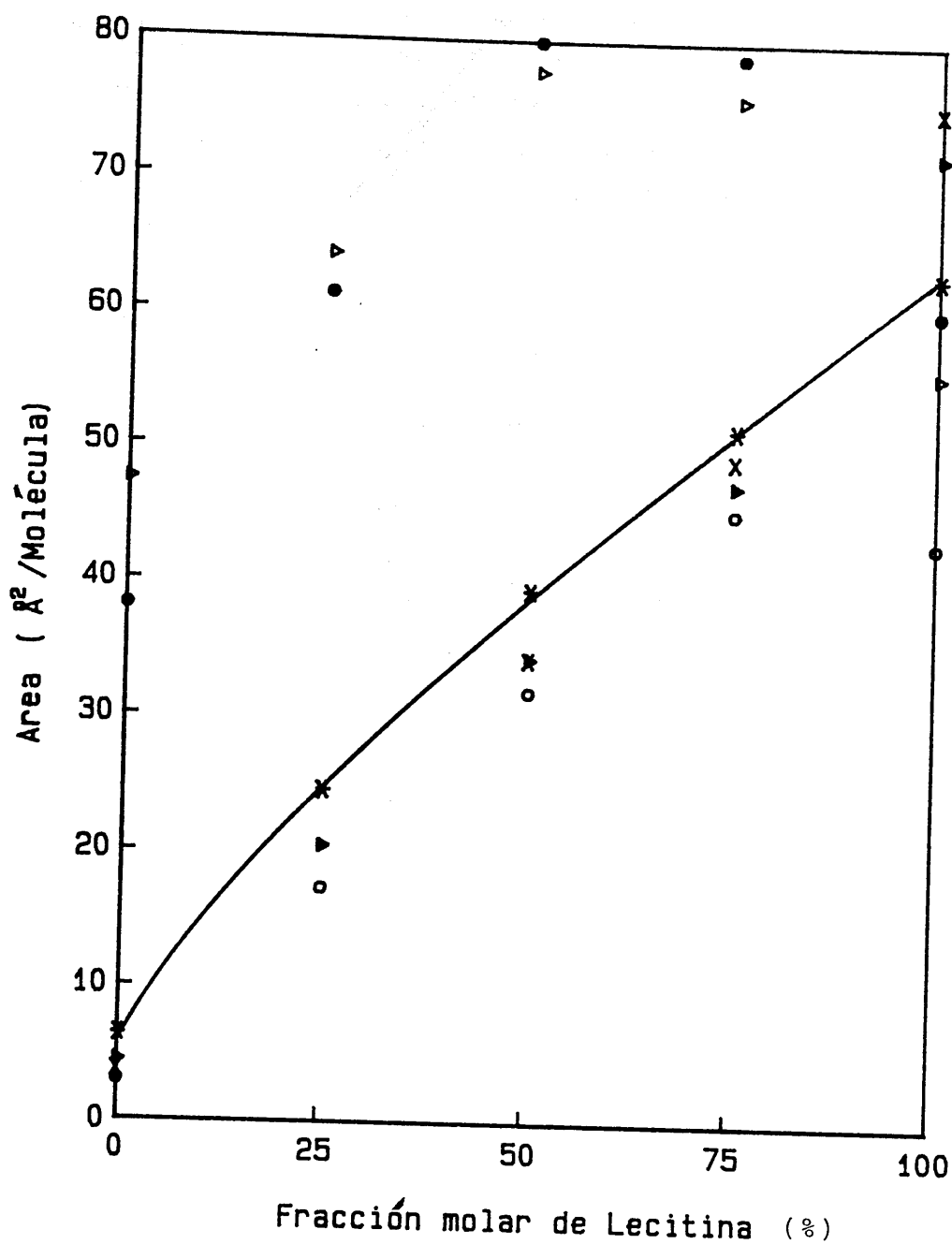
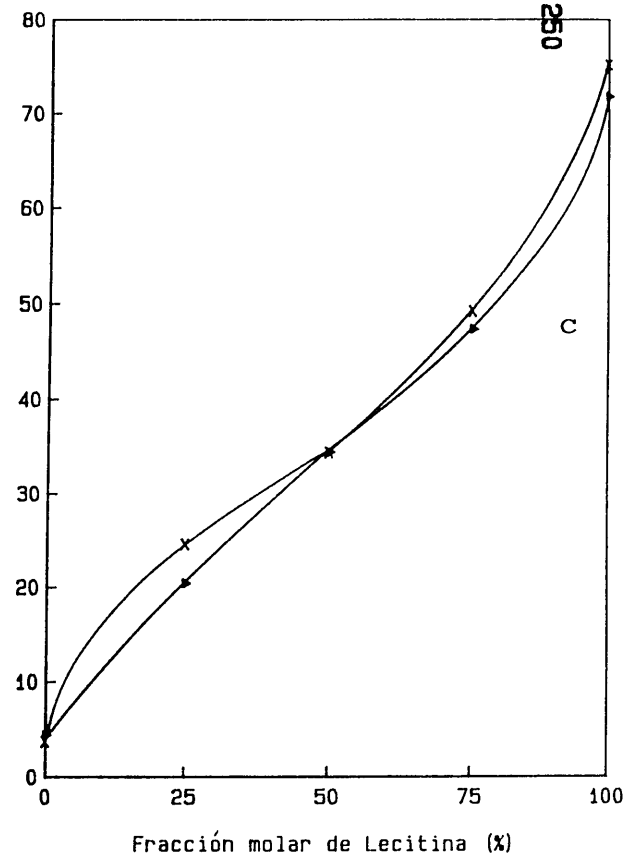
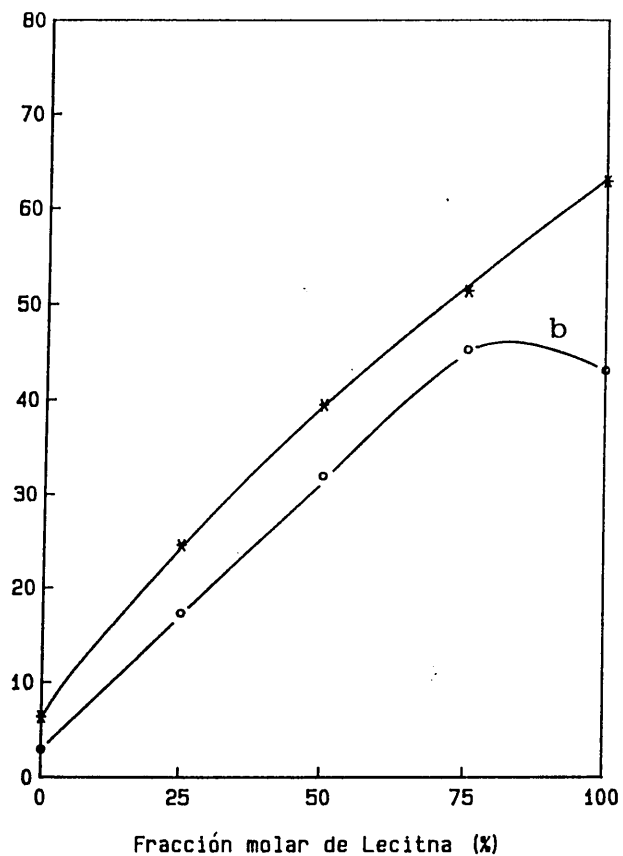
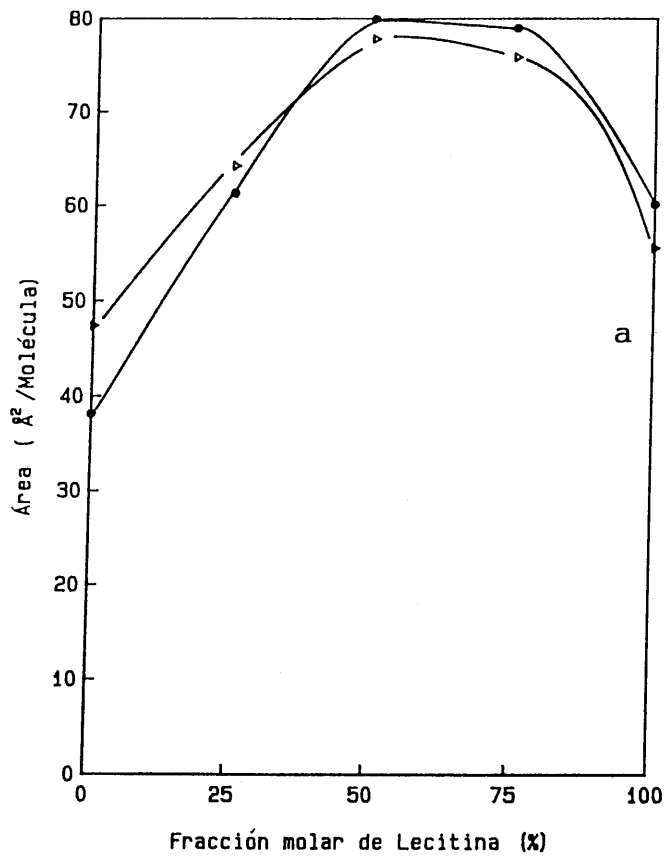


Fig. 2.150. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}$, $\Gamma=5 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



12.00), las áreas por molécula presentan desviaciones negativas del comportamiento "ideal" a 50 y 75% de lecitina e informan que cuando la composición de la película es 25% de lecitina y 75% de ácido cólico, los dos componentes son inmiscibles; para las restantes condiciones de pH, las desviaciones mostradas son positivas. También podemos afirmar que el efecto del pH, en este caso, superior al que ejerce la temperatura, ya que en la Fig. 2.152 no observamos un comportamiento distinto a temperaturas superiores a 25°C.

Cuando la presión superficial alcanza el valor $\Pi = 20 \text{ mNm}^{-1}$ (Figs. 2.151(a,b,c)-2.153), podemos considerar que la situación es de inmiscibilidad para todas las condiciones experimentales, es decir, cuando las películas están prácticamente condensadas, las variaciones de pH o temperatura no modifican la forma de interacción de los dos componentes.

Finalmente, en las Figs. 2.154(a,b,c) y 2.155, donde representamos las presiones de colapso en función de la fracción molar de lecitina a distintos pHs y diferentes temperaturas, respectivamente, comprobamos la continua variación de estas presiones con la composición de la monocapa, es decir, estas películas colapsarán siempre formando una sola fase colapsada, que, podemos afirmar, estará constituida por el componente menos estable, que en este caso es la lecitina, ya que colapsa a las condiciones experimentales estudiadas. Esta afirmación entendemos que está justificada porque a $\Pi = 20 \text{ mNm}^{-1}$ (presión más alta a la que hemos estudiado la miscibilidad de este componente), el ácido cólico y la lecitina prácticamente no interaccionan entre sí, y es lógico suponer que a presiones superficiales superiores a 20 mNm^{-1} y cercanas al colapso de las películas mixtas, la inmiscibilidad entre los componentes sea completa.

No podemos, por tanto, sugerir, a partir de nuestros resultados, la formación de algún complejo estequiométrico entre el ácido cólico y la lecitina L- α

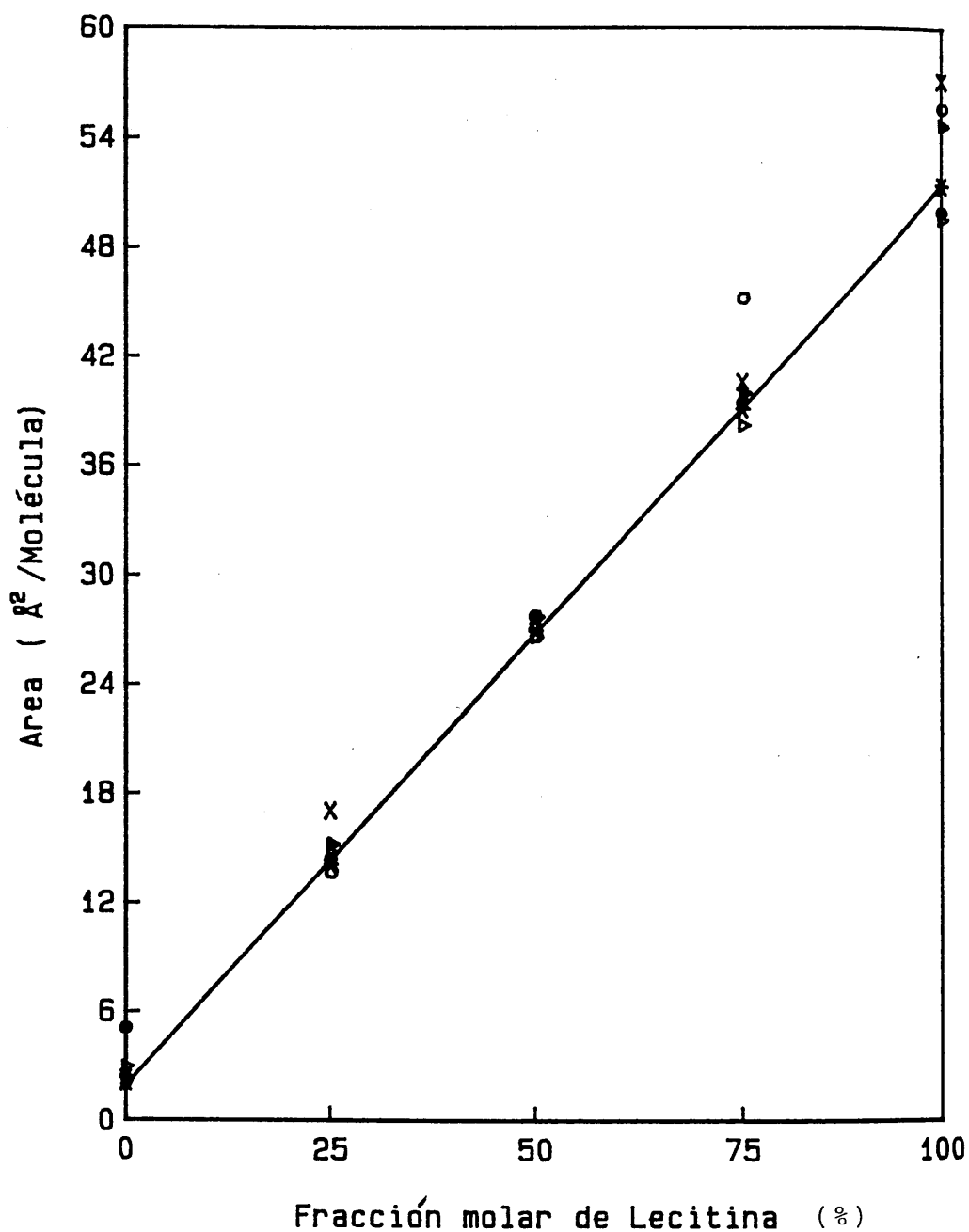
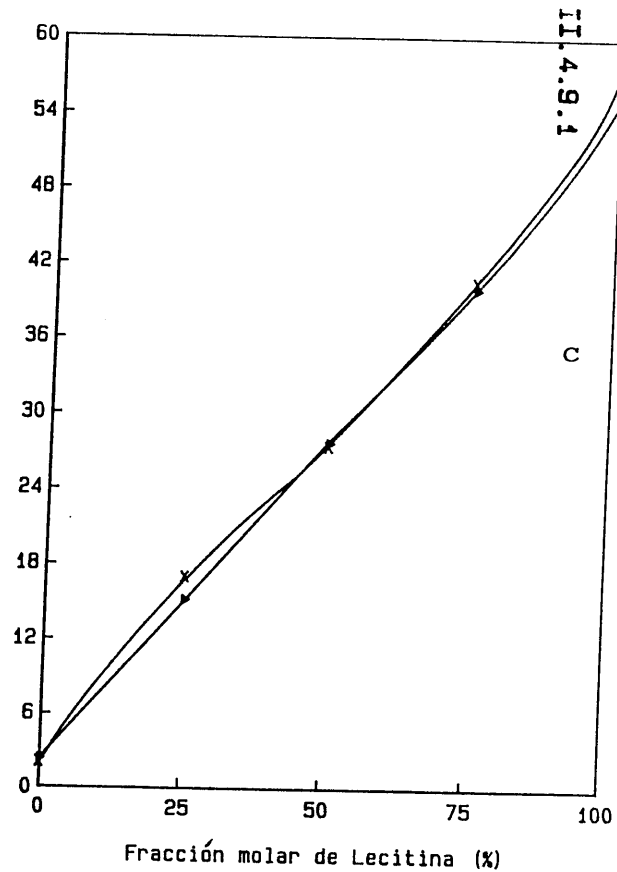
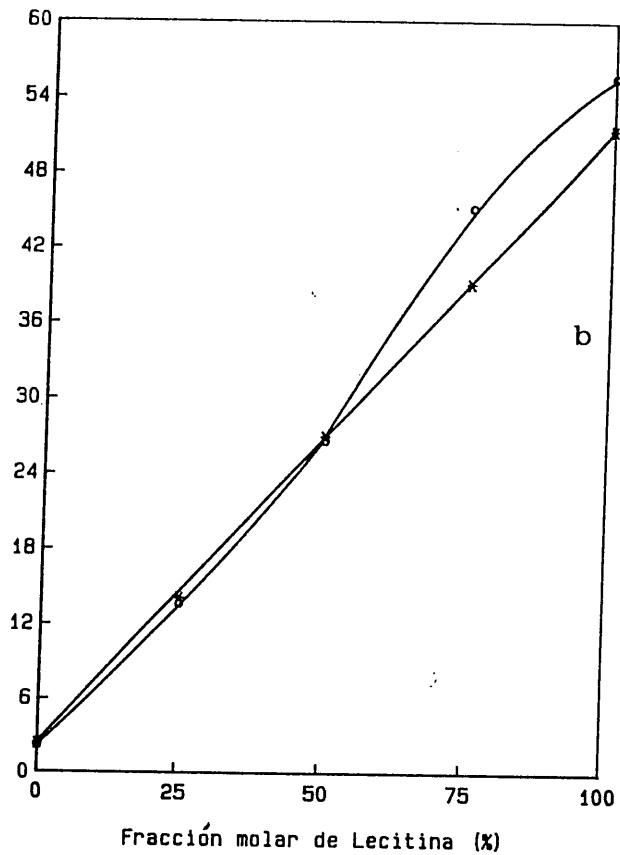
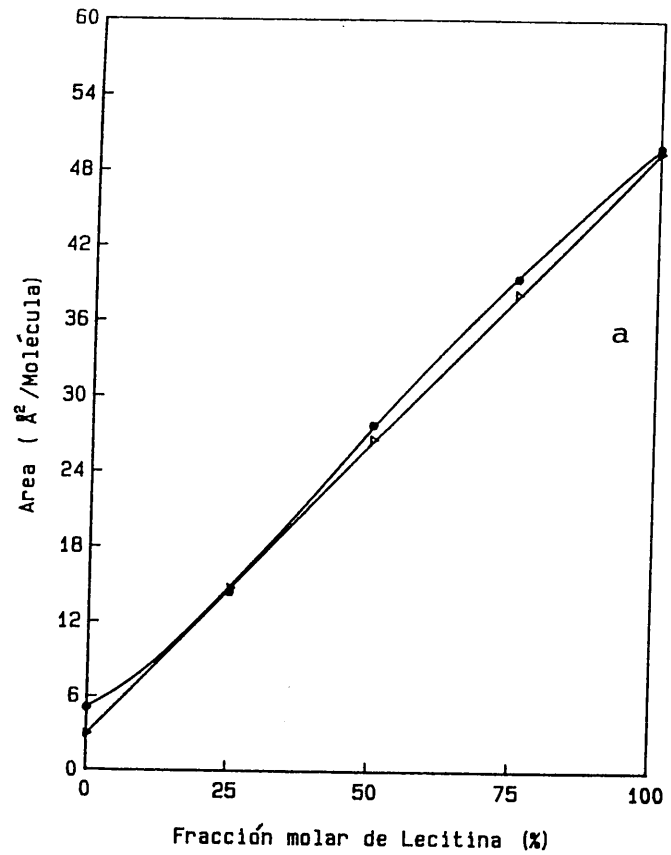


Fig. 2.151. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}$, $\Pi=20 \text{ mNm}^{-1}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



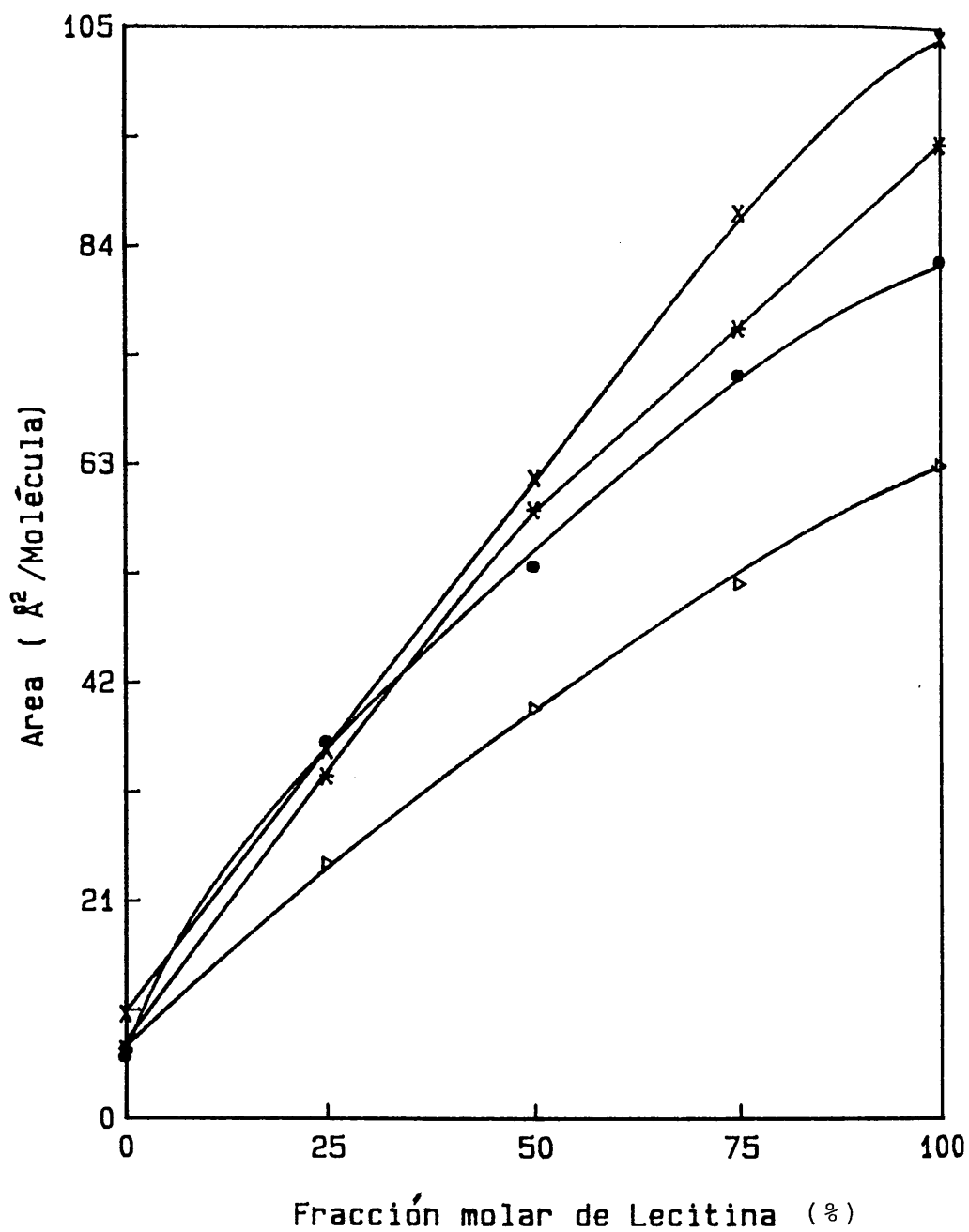


Fig. 2.152. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6, $\sigma=5$ mNm⁻¹ y distintas temperaturas

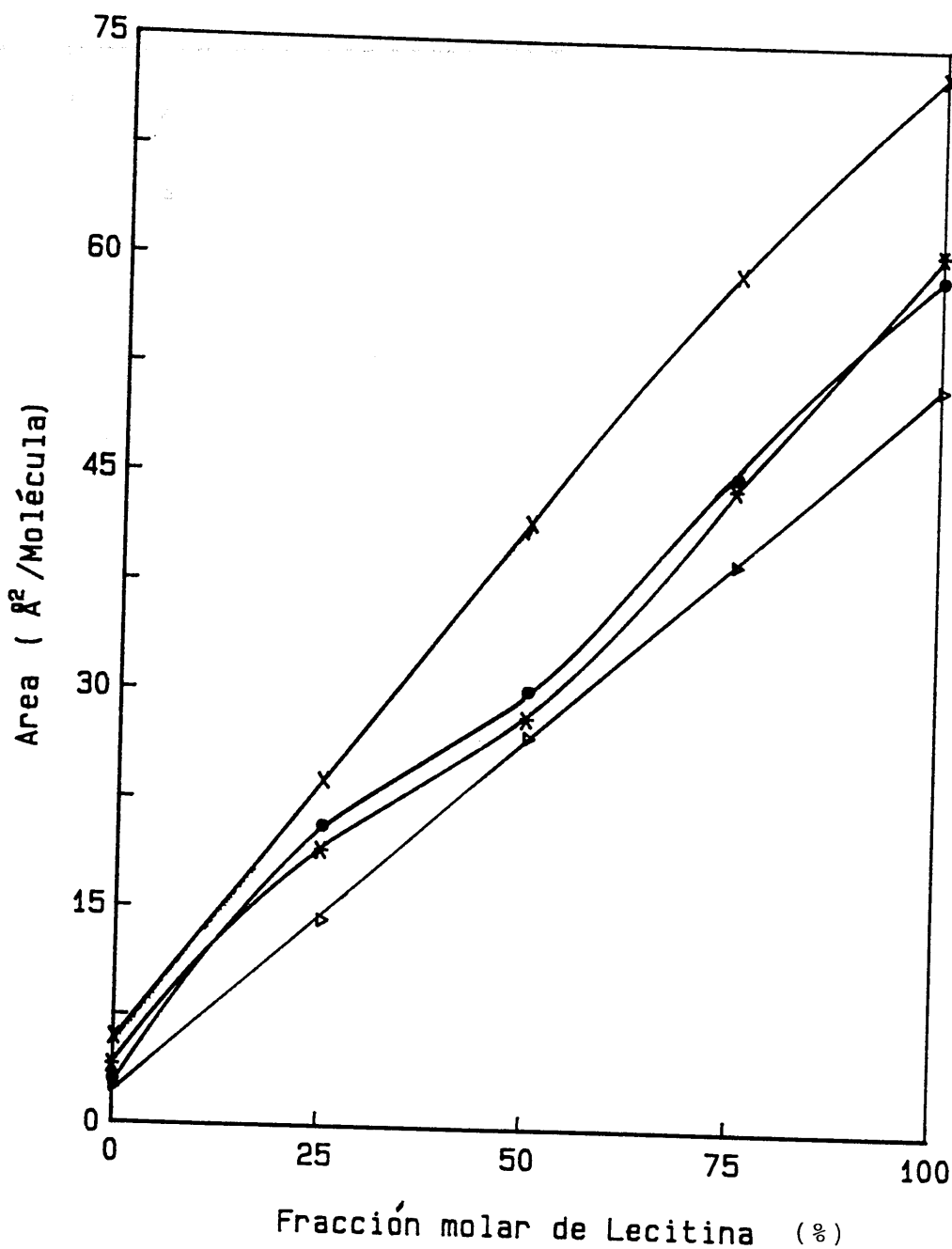


Fig. 2.153. Area por molécula en función de la fracción molar de lecitina para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6, $\Gamma=20 \text{ mNm}^{-1}$ y distintas temperaturas

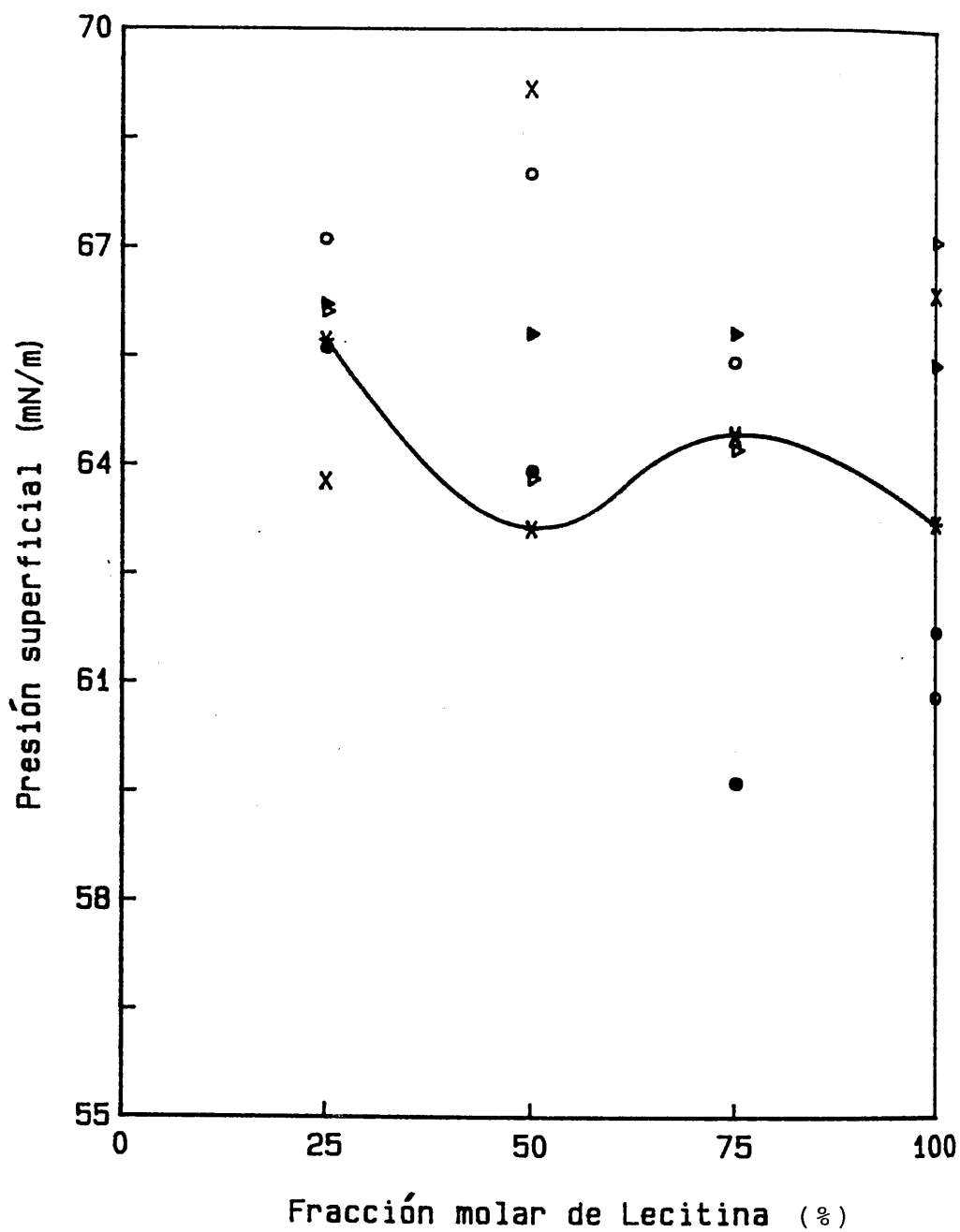
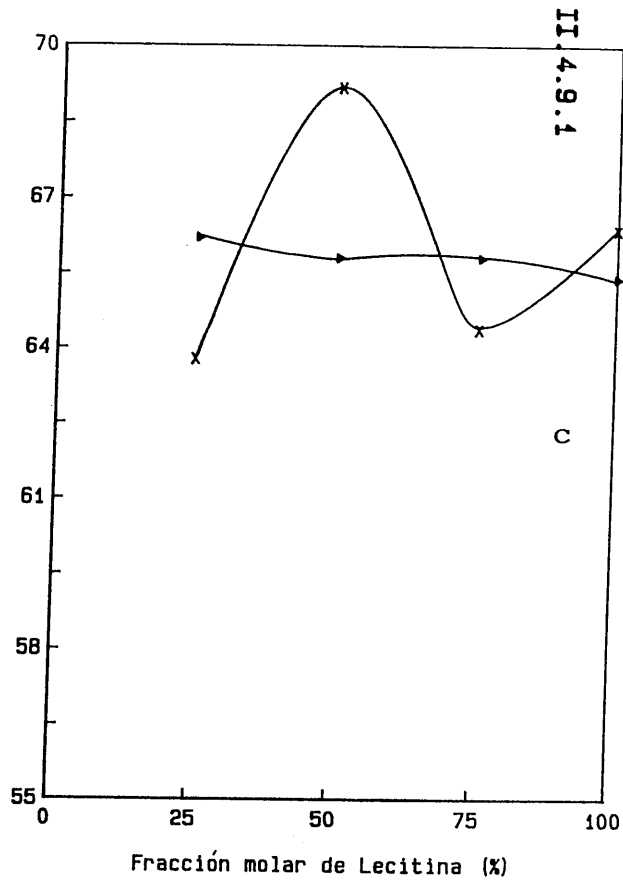
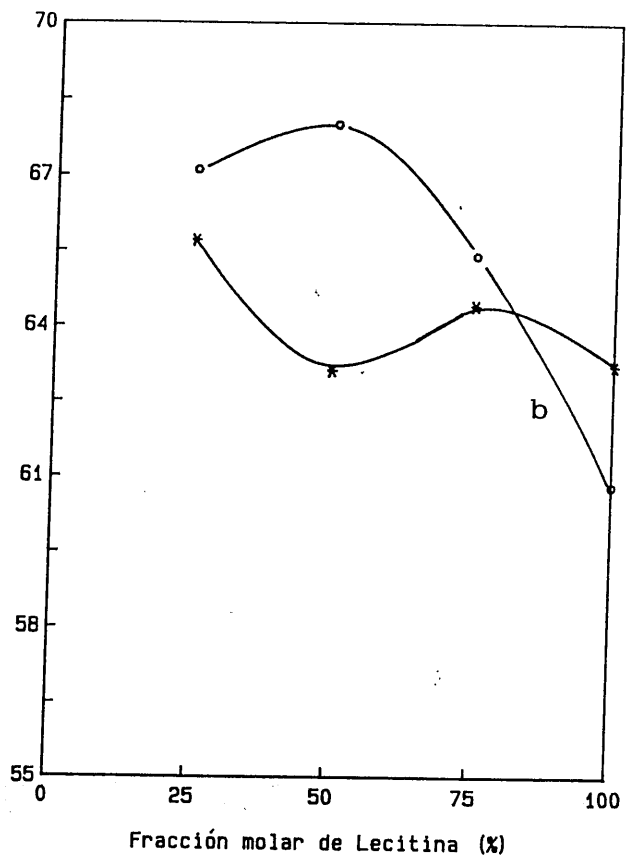
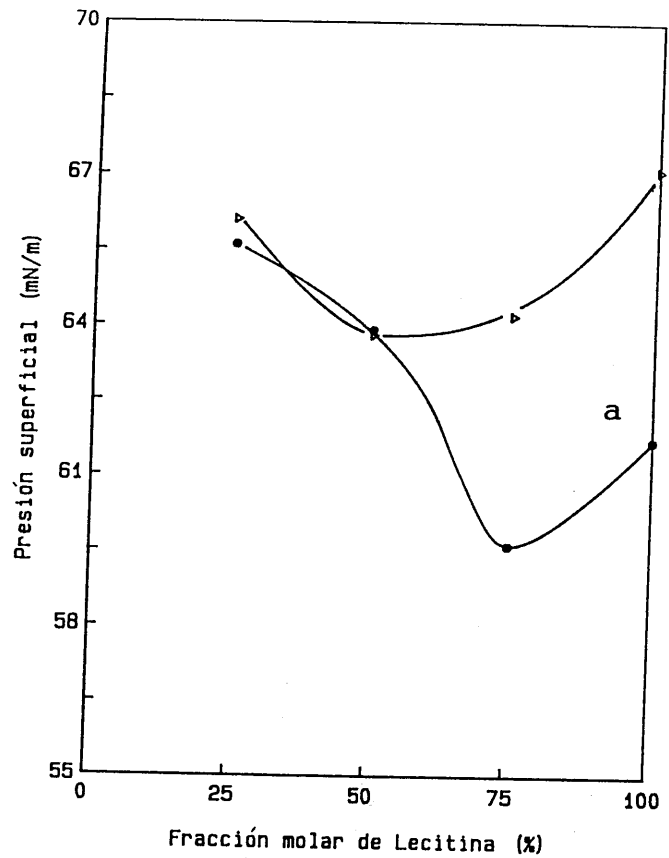


Fig. 2.154. Presión de colapso en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a $T=25^{\circ}\text{C}$ y distintos pHs: (a) pH= 2 y 4; (b) pH= 6 y 8; (c) pH= 10 y 12



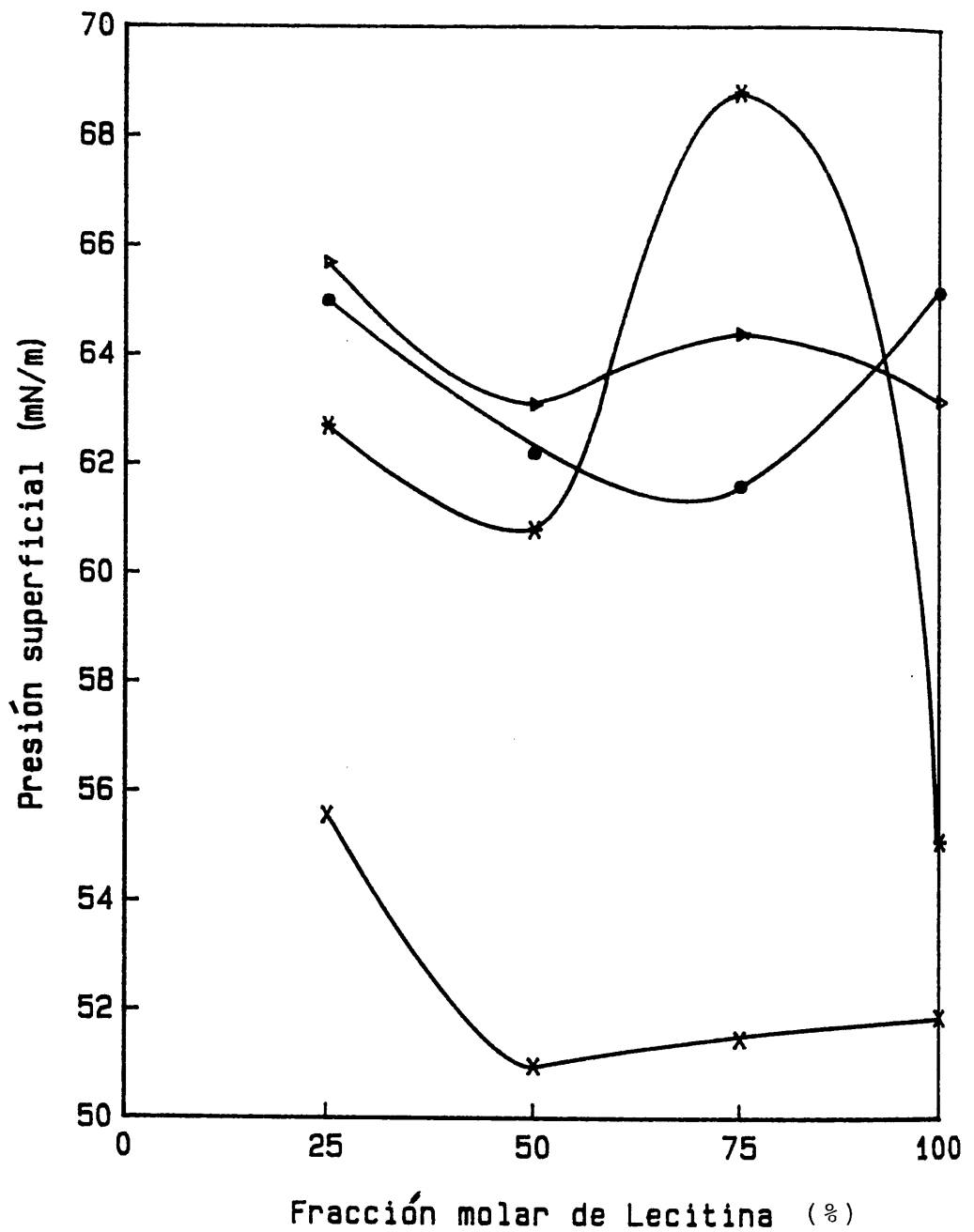


Fig. 2.155. Presión de colapso en función de área por molécula para películas mixtas de ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a pH=6 y distintas temperaturas

fosfatidilcolina, ya que no hemos observado una relación definida ácido cólico:lecitina.

5. BIBLIOGRAFIA

- ADAM, N.K.; JESSOP, G. Proc. Roy. Soc. (London), A110, 423 (1926)(citado por Gaines, 1966, p.159,172)
- ADAM, N.K.; JESSOP, G. Proc. Roy. Soc., A120, 473 (1928) (citado por MIÑONES y col. 1968)
- ADAM,, N.K. Proc. Roy. Soc. (London) A119, 628 (1928)(citado por Gaines, 1966, p.159)
- ADAM, N.K. "The Physics and Chemistry of Surfaces", Oxford University Press, Third Edition (1941)
- ANDERSON, P.J.; PETHICA, B.A. Proc. 2nd Int.Conf. Biochem. Problem. Lipids. Ghent. Butterworths, London, p. 24 (1956)
- ALBRECHT, O.; GRULER, M.; SACKMANN, E. Polymorphism of Phospholipid Monolayers. Le Journal de Physique, 39, 301-313 (1978)
- ALBRECHT, O; GRULER, M.; SACKMANN, E. Pressure- Composition Phase Diagram of Cholesterol/Lecithin, Cholesterol/Phosphatidic Acid, and Lecithin/Phosphatidic Acid Mixed Monolayers: A Langmuir Film Balance Study. J. Colloid Interf. Sci., 79(2), 319-338 (1981)
- ALEXANDER, A.E. Trans. Faraday Soc., 37, 426 (1941)(citado por Gaines, 1966, p.166)

- ALEXANDER, A.E. Proc. Roy. Soc. (London), A179, 486 (1942)
(citado por Gaines, 1966, p.166)
- BAGLIONI, P.; DEI, L.; GABRIELLI, G. Bidimensional State Conformation of Poly- γ -Methyl-L-Glutamate.II. Collapse Mechanism of and Conformations. J. Colloid Interf. Sci., 93(2), 402-410 (1983)
- BAGLIONI, P.; CESTELLI, G.; DEI, L.; GABRIELLI, G. Monolayers of Cholesterol at Water-Air Interface: Mechanism of Collapse. J. Colloid Interf. Sci., 104(1), 143-150 (1985)
- BAGLIONI, P.; DEI, L.; FERRONI, E.; GABRIELLI, G. Bidimensional Mixtures of Cholesterol and Poly- γ -Methyl-L-Glutamate in Conformation at the Water-Air Interface: Mechanism of Collapse. J. Colloid Interf. Sci., 109(1), 109-114 (1986)
- BERNARD, L. de Associations Moléculaires entre les Lipides. II. Lécithine et Cholesterol. Bull. Soc. Chim. Biol., 40(1), 161-170 (1958)
- BERNARD, L. de; DERVIRCHIAN, D.G. Bull. Soc. Chim. Biol., 37, 943 (1955) (citado por Miñones y col. 1968)
- BROOKS, J.H.; ALEXANDER, A.E. J. Phys. Chem., 66, 1851 (1962)(citado por Gaines, 1966, p.146)
- CADENHEAD, D.A.; PHILLIPS, M.C. Monolayers of some Naturally Occurring Polycyclic Compounds. J. Colloid Interf. Sci., 24, 491-499 (1967)
- CADENHEAD, D.A.; KELLNER, B.M.J. The Miscibility of Dipalmitoyl Phosphatidylcholine and Cholesterol in Monolayers.. J. Colloid Interf. Sci., 57(2),

224-227 (1986)

- CADENHEAD, D.A.; KELLNER, B.M.J.; BALTHASAR, D.M. Cholesterol Oxidation and the Behavior of 5- α - Hydroperoxy Cholesterol at the Air/Water Interface. *Chem. and Phys. of Lipids*, 31, 87-96 (1982)
- CHIFU, E.; ZSAKO, J.; TOMOAI-A-COTISEL, M. Xanthophyll Films.I. Single-Component Monolayers at the Air/Water Interface. *J. Colloid Interf. Sci.*, 95(2), 346-354 (1983)
- COLLET, P. J. *Phys. Radium*, 3, 128 (1922) (citado por Miñones y col., 1968)
- COSTIN, I.S.; BARNES, G.D. Two-Component Monolayers.III. Surface Pressure-Area Relations for the Octadecanol-Docosyl Sulphate System. *J. Colloid Interf. Sci.*, 51(1), 106-121 (1975)
- CRISP, D.J. "Surface Chemistry, Supplement to Research". p. 17 (London, 1949) (citado por Phillips y col., 1970)
- DAVIES, J.T. *Trans. Faraday Soc.*, 48, 1052 (1952)(citado por Gaines, 1966, p.16)
- DEFAY, R.; PRIGONINE, I.; BELLEMANS, A.; EVERETT, D.H. "Surface Tension and Adsorption", chap.6 (London, 1966) (citado por Phillips, 1970)
- DERVIRCHIAN, D.G. *J. Chem. Phys.*, 7, 931 (1939)(citado por Gaines, 1966, p.167)
- DERVICHIAN, D.G. "Progress in Biophysics and Molecular Biology". Ed. J.A.U.BUTTER, H.E.Huxley, p.265

(1964)

- EVANS, R.W.; TINOCO, J. Monolayers of Sterols and Phosphatidylcholines Containing a 20-Carbon Chain. *Chem. Phys. Lipids*, 22, 207-220 (1978)
- GAINES, J.L., Jr. "Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces", Interscience, N.Y. (1966)
- GARCIA FERNANDEZ, S.; LEAL LOPEZ, A.; OTERO AENLLE, E. Estudios sobre Capas Monomoleculares de Superficie.V. Capas Monomoleculares Mixtas de Acidos Biliares y Acidos Grasos. *Anales de Física y Química*, LX-B, 137-144 (1964)
- GERSHFELD, N.L.; PAGANO, R.E. Physical Chemistry of Lipid Films at the Air-Water Interface.III. The Condensing Effect of Cholesterol a Critical Examination of Mixed-Film Studies. *J. Phys. Chem.*, 76(9), 1244-1249 (1972)
- HARKINS, W.D.; COPELAND, L.E.; GORDON, B. *Surface Chemistry*, 21, 40 (1943) (citado por MIÑONES y col., 1968)
- HARKINS, W.D. "Physical Chemistry of Surface Films" Reinhold, N.Y. 1952.
- HAYASE, K.; TSUBOTA, H. Monolayer Properties of Sedimentary Humic Acid at the Air-Water Interface. *J. Colloid Interf. Sci.*, 114(1), 220-226 (1986)
- JOOS, P. Theory on the Collapse Pressure of Mixed Insoluble Monolayers with Miscible Components. *Bull. Soc. Chim. Belges*, 78, 207-217 (1969)

- KRUYFF, B. de; DEMEI, R.A.; SLOTBOOM, A.J.; VAN DEENEN, L.L.M.; ROSENTHAL, A.F. The Effect of the Polar Headgroup on the Lipid Cholesterol Interaction: A Monolayer and Differential Scanning Calorimetry Study. *Biochim. Biophys. Acta*, 307, 1-19 (1973)
- KURAMOTO, N.; SEKITO, K.; MOTOMURA, K.; NAKAMURA, M.; MATUURA, R. Mixed Monolayers of n-Long Chain Fatty Acids. *Mem. Fac. Sci. Kysushu Univ.*, C8(1), 67-87 (1972)
- LANGMUIR, I. J. *Chem. Phys.*, 1, 756 (1933)(citado por Gaines. 1966, p.166)
- LEAL LOPEZ, A.; GARCIA FERNANDEZ, S.; OTERO AENLLE, E. Associations Moléculaires en Couches Superficielles: Couches Monomoléculaires Mixtes. D'Acids Gras et Acids Biliares sur Support Salin. *Kolloid-Z*, 211, 131-143 (1966)
- LLOPIS, J; ALBERT, A; SAIZ, J.L.; ALONSO, D. Mixed Monolayers of Cholic Acid and Lecithin. *Proc. IV Intern. Cong. Surface Active Substances*, 339-350 (1973)
- LEATHES, J.B. *Lancet*, 208, 853 (1925) (citado por MIÑONES y col. 1969)
- MIÑONES TRILLO, J; GARCIA FERNANDEZ, S; SANZ PEDRERO, P. Influencia del Soporte Salino sobre las Isotermas de Compresión y Descompresión de Monocapas de Colesterina, Lecitina y Acidos Biliares. *An. Física y Química*, LXIII, B, 833-841 (1967)
- MIÑONES, J.; GARCIA FERNANDEZ, S.; SANZ PEDRERO, P. Interacciones Moleculares en Monocapas entre Acido Litocólico y Triglicéridos. *Anales de la Real*

Sociedad Española de Física y Química. Serie B-Química, Tomo LXIV (B), 39-46, N^o 1 (1968)

- MIÑONES, J.; GARCIA FERNANDEZ, S.; SANZ PEDRERO, P. Studies on Monolayers: Mixed Films of Cholesterol and Lecithin with the Bile Acids. *J. Colloid Interf. Sci.*, 26(4), 518-531 (1968)
- MIÑONES, J.; SANDEZ MACHO, M^a.I.; IRIBARNEGARAY, E.; SANZ PEDRERO, P. Phospholipid Monolayers. I. A Comparative Study of Synthetic Lecithin and Cephalin Monolayers Spread on Substrates of Different pH. *Colloid and Polymer Sci.*, 259, 382-390 (1981)
- MULLER-LANDAU, F.; CADENHEAD, D.A. Molecular Packing in Steroid-Lecithin Monolayers. Part II: Mixed Films of Cholesterol with Dipalmitoylphosphatidylcholine and Tetradecenoic Acid. *Chem. Phys. Lipids*, 25, 315-328 (1979)
- NAKAGAKI, M.; HANDA, T. The Two-Step Collapse of Mixed Monolayers of Cholesterol and its Esters. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 49(14), 880-885 (1976)
- NEUMAN, R.D.; FERESHTEHKHOU, S.; OUALLE, R. Electron Microscopic Observation of LE/LC Phase Transition in Dipalmitoyl Phosphatidylcholine Monolayers. *J. Colloid Interf. Sci.*, 101(2), 309-313 (1984)
- PETHICA, B.A. The Thermodynamics of Monolayer Penetration at Constant Area. *Trans Faraday Soc.*, 51, 1402 (1955)
- PHILLIPS, M.C.; CHAPMAN, D. Monolayer Characteristics on Saturated 1,2-Diacyl Phosphatidylcholines (Lecithins) and Phosphatidylethanolamines at the Air-Water. *Biochim. Biophys. Acta*, 163, 301-313

(1968)

- PHILLIPS, M.C.; JOOS, P. The Collapse Pressures and Miscibilities of Mixed Insoluble Monolayers. *Kolloid-Z. u. Z. Polymere*, 238(1-2), 499-505 (1970)
- PUGELLI, M.; GABRIELLI, G. Behavior of Vinyl Polymers in Mixed Monolayers. *J. Colloid Interf. Sci.*, 61(3), 420-427 (1977)
- RIES, H.E., Jr.; MATSUMOTO, M.; UYEDA, N.; SUITO, E. Electron Micrographs of Cholesterol Monolayers. *J. Colloid Interf. Sci.*, 57(2), 396-398 (1976)
- RIES, H.E., Jr.; SWIFT, H. Monolayers of Valinomycin and its Equimolar Mixtures with Cholesterol and with Stearic Acid. *J. Colloid Interf. Sci.*, 64(1), 111-119 (1978)
- RIES, H.E., Jr.; Stable Ridges in a Collapsing Monolayer. *Nature*, 281(5729), 287-289 (1979)
- RIES, H.E., Jr.; SWIFT, H. Monolayers of Mitochondrial Cardiolipin and Cerebronic Acid and their Equimolar Mixture. *J. Colloid Interf. Sci.*, 89(1), 245-256 (1981)
- RIES, H.E., Jr. Heart-Shaped Monolayer Islands and Ridged Collapse Structures of Ceramide Galactoside. *J. Colloid Interf. Sci.*, 88(1), 298-301 (1982)
- RIES, H.E., Jr. Interaction of Cholesterol, Cerebronic Acid, Valinomycin and Related Compounds in Monolayers of Binary Mixtures. *Colloid and Surfaces*, 10, 283-300 (1984)

- SCHOFIELD, R.K.; RIDEAL, E.K. Proc. Roy. Soc. (London), A109, 57 (1925)(citado por Gaines, 1966, p.161)
- SCHULMAN, J.H.; HUGHES, A.H. Proc Roy. Soc. (London), A138, 430 (1932)(citado por Gaines, 1966, p.166)
- SCHULMAN, J.H.; HUGHES, A.H. Biochem.J., 29, 1243 (1935)
(citado por MIÑONES y col. 1968)
- SCOTT, H.L. BBA Libr., 406, 329 (1975)(citado por Albrecht, 1978)
- SHAH, D.O.; SCULMAN, J.H. J. Lipid Res., 8, 215 (1967)
(citado por KURAMOTO y col. 1972)
- SHAH, D.O.; CAPP, R.W. J. Colloid Interf. Sci., 27, 319
(1968) (citado por KURAMOTO y col. 1972)
- SHAH, D.O.; SCHULMAN, J.H. Advan. Chem. Ser., 84, 189 (1968)
(citado por KURAMOTO y col. 1972)
- SMABY, J.M.; BAUMAN, W.J.; BROCKMAN, H.L. Lipid Structure and the Behavior of Cholesteryl Esters in Monolayer and Bulk Phases. J. Lipid Research, 20, 789-795 (1979)
- SNART, R.S. Molecular Interaction of Aromatic Hydrocarbons in Lipid Monolayers.. Biochim. Biophys. Acta,, 114, 10-17 (1967)
- TAJIMA, K.; GERSHFELD, N.L. Thermodynamics of Monolayers Solutions of Lecithin and Cholesterol Mixtures by the Surface Vapor Pressure Method. Adv. Chem. Ser. (Monolayers, Mem. Symp.1974), 144, 165-176 (1975)

- TAJIMA, K. GERSHFELD, N.L. Equilibrium Studies of Lecithin-Cholesterol Interactions.II. Phase Relations in Surface Films: Analysis of the "Condensing" Effect of Cholesterol. *Biophysical Journal*, 22, 489-500 (1978)
- TOMOAI-A-COTISEL, M.; CHIFU, E. Xanthophyll Films.II. Two-Component Monolayers of Some Xanthophylls and Egg Lecithin at the Air/Water Interface. *J. Colloid Interf. Sci.*, 95(2), 355-361 (1983)
- WATKINS, J.C. The Surface Properties of Pure Phospholipids in Relation to those of Lung Extracts. *Biochim. Biophys. Acta*, 152, 293-306 (1968)
- WEIS, R.M.; McCONNELL, H.M. Cholesterol Stabilizes the Crystalliquid Interface in Phospholipid Monolayers. *J. Phys. Chem.*, 89, 4453-4459 (1985)

CAPITULO
DIAGRAMAS DE FAS
MONOCAPAS R

Effect of cholesterol...
1971-72

...
1972-73

...
1973-74

...
1974-75

...
1975-76

...
1976-77

...
1977-78

...
1978-79

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
SECRETARÍA DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

CAPITULO III:
DIAGRAMAS DE FASES EN
MONOCAPAS MIXTAS



INDONESIA
DEPARTEMEN PERKOTAAN
KAPITULO III

1. TRANSICIONES ENTRE ESTADOS SUPERFICIALES EN PELICULAS MONOMOLECULARES

Uno de los fenómenos de más interés en películas monomoleculares es el denominado "transición de fase". Su estudio permite obtener información detallada acerca de la configuración de las monocapas y de sus propiedades en la interfase aire-disolución acuosa.

El cambio de fase de mayor interés, el cual ha sido objeto de bastantes controversias (Neuman, 1984), es el que tiene lugar entre los estados líquido extendido (LE) y líquido condensado (LC). Esta transición ha sido descrita como de primer orden (Albrecht, 1978; Gaines, 1978; Hard, 1981; Middlenton, 1981), de primer orden difuso (Cadenhead, 1977, p.63-83), de orden $3/2$ (Nagle, 1975) y como de segundo orden (Baret, 1982). Es claro, por ello, que la naturaleza de las transiciones que tienen lugar en monocapas, es aún tema motivo de investigación.

En este capítulo, estudiaremos dos tipos de transiciones . El primero de ellos agrupa a las denominadas "transiciones principales" entre los estados líquido extendido y líquido condensado (en las condiciones experimentales en que hemos trabajado no se presenta el estado "gaseoso"). El segundo tipo de transiciones se asocian a cambios conformacionales en los dos estados anteriores y se agrupan bajo la denominación de "transiciones secundarias" ya que, como veremos posteriormente, son de orden superior a las principales.

2. DESCRIPCION DE TRANSICIONES DE FASE EN MONOCAPAS

2.1 TRANSICIONES PRINCIPALES

Dentro de esta clasificación podemos considerar dos tipos de transiciones.

La primera de ellas conduce al estado "gaseoso" en la monocapa. Esta transición se produce a presiones superficiales muy bajas, generalmente inferiores a 1 dyn cm^{-1} , y puede tener lugar desde películas monomoleculares en estado líquido extendido o en estado líquido condensado.

En ambos casos, la transición a un estado "gaseoso" está caracterizada por una presión de vapor constante, denominada "presión de vapor superficial", en un determinado intervalo de áreas por molécula. Esta transición, generalmente, se considera de primer orden, excepto posiblemente en el caso para el cual la película se encontraba inicialmente en el estado de vapor extendido (Adam, 1926).

El otro tipo de transición principal es el que tiene lugar entre los estados líquido extendido y líquido condensado. A diferencia de la anterior, esta transición ha sido observada y caracterizada para la mayoría de las monocapas estudiadas en esta Memoria.

La región de transición entre los estados "extendido" y "condensado" fue señalada en primer lugar por Dervirchian (1939) para ácidos grasos y posteriormente para fosfolípidos por Phillips y col. (1968). Esta región se caracteriza por un valor de presión superficial prácticamente constante (en teoría la pendiente de la isoterma debería ser nula), y por tanto, por un cambio brusco en el módulo de compresibilidad.

Aunque el orden de esta transición de fase ha sido muy discutido por distintos autores, como dijimos antes, algunos de ellos han presentado evidencias experimentales de que se trata de una transición de primer orden. Así, Albrecht y col. (1978) observaron una histéresis pronunciada en las curvas temperatura-área por molécula para la región de transición en monocapas formadas por varios tipos de lecitinas y calcularon los calores latentes correspondientes a esta transición aplicando la ecuación de Clausius-Clapeyron. También realizaron un estudio comparativo con la transición que tiene lugar en sistemas constituidos por bicapas, y a través de ensayos con difracción de R.X. observaron la naturaleza cristalina del último estadio de compresión de la monocapa después de la transición, concluyendo que ésta no es de tipo conformacional, o de Van der Waals, sino de tipo fluido-cristal, igual que la transición termotrópica que tiene lugar para bicapas. Finalmente, estudiaron el comportamiento de esta transición de fase con la temperatura, observando que alcanzado un cierto valor, temperatura crítica, esta transición desaparece, definiendo por tanto, un punto crítico en el diagrama de fases.

Como se verá en el siguiente apartado, en este trabajo se ha caracterizado a la transición principal como de primer orden. Sin embargo, en nuestras experiencias hemos observado que la isoterma exhibe una determinada pendiente en la región de transición. Ya dijimos en el segundo capítulo, que en primera instancia esta pendiente es

atribuible a la presencia de impurezas. A pesar de ello, puede comprobarse que, alcanzado un cierto grado de pureza, la pendiente no desaparece por lo que puede afirmarse que ello es atribuible a alguna propiedad intrínseca de la monocapa.

Algunos autores, como Scott (1975) atribuyen la existencia esta pendiente finita a una presión superficial adicional, causada por la interacción electrostática del dipolo eléctrico de la región del grupo polar. Por otra parte, esta pendiente finita podría relacionarse con el tamaño limitado de las moléculas que se transforman cooperativamente.

En este sentido, Langmuir (1933) consideró que esta transición tiene lugar cuando las moléculas de una película extendida se organizan en "clusters" o micelas bidimensionales; al comprimir la película, el número de micelas deberá aumentar hasta conseguir que ésta pase a condensada. Este autor realizó un estudio cuantitativo de la región de transición considerando que la presión superficial observada es la suma de las contribuciones de las moléculas simples y de las micelas, y que ambas ocupan un área característica en la película condensada. Este tipo de consideraciones le llevó a obtener la siguiente ecuación:

$$\Pi = \Pi^e + KT/\beta A^e (A^e - A)/(A - A^C) \quad (3.1)$$

donde Π^e y A^e son la presión superficial y el área molecular al comienzo de la transición en la región extendida, A^C el área molecular de la película condensada y β el número de moléculas por micela.

Otros autores difieren del tratamiento seguido por Langmuir y proponen varios tipos de ecuaciones empíricas que caracterizan la región de transición en el diagrama Π - A (Gaines, 1966, p.184).

2.2. TRANSICIONES SECUNDARIAS

Bajo esta denominación describimos el tipo de transiciones que se detectan experimentalmente en las isothermas Π -A a través de "puntos de ruptura" (break points), y por tanto, por discontinuidades finitas en los coeficientes experimentales módulo de compresibilidad y coeficiente de dilatación térmica, es decir, a diferencia de las transiciones principales, las secundarias están definidas por un solo punto en la isoterma experimental. La ausencia de histéresis en las curvas T-A y la existencia de discontinuidades en los coeficientes experimentales son los criterios utilizados por Albrecht (1978) para caracterizar a estas transiciones como de segundo orden.

Sackmann (1983) interpreta estos cambios de fase como cambios conformacionales dentro de los estados cristalino (líquido condensado, según nuestra clasificación) y líquido (líquido extendido). Albrecht y col.(1978) los atribuyen a cambios de orientación de las moléculas respecto a la superficie. En cualquier caso, la naturaleza de estas transiciones aún no es del todo conocida, y en lo sucesivo nosotros las llamaremos transiciones secundarias para diferenciarlas de las descritas como transiciones principales.

3. DETERMINACION DE LAS TRANSICIONES DE FASE

Teóricamente, es claro que las transiciones de fase principales (de "primer" orden) vendrían definidas en las isothermas Π -A, por una región de pendiente nula con dos puntos (inicio y final de la transición) bien definidos. Los puntos de ruptura (break points) en dichas isothermas indicarían la presencia de transiciones secundarias.

Sin embargo, la determinación de las presiones superficiales correspondientes al inicio y final de la

transición principal, y a la transición secundaria resulta difícil, debido a que las isoterms registradas experimentalmente no se corresponden de forma estricta con los modelos teóricos descritos en el anterior capítulo, para los distintos estados de las películas monomoleculares de manera que por simple observación de la isoterma no se detectan dichos puntos singulares.

En la bibliografía consultada, hemos encontrado tan solo dos métodos para la determinación de presiones superficiales correspondientes a transiciones de fase en las isoterms experimentales registradas de forma continua.

El primero de ellos, propuesto por Albrecht y col. (1981), estudia la forma de las curvas módulo de compresibilidad-área por molécula (K-A). Estos autores determinan límites de existencia de fase a través de los puntos de ruptura o discontinuidades observados en estas curvas.

Efectivamente, si en el diagrama Π -A, una región de pendiente nula se asocia a una transición de fase principal, al representar el módulo de compresibilidad en función del área por molécula obtendremos una zona en que aquél tiende a infinito en el intervalo de área/molécula para el cual tiene lugar la transición. Sin embargo, acabamos de decir que las isoterms experimentales presentan zonas en las que la transición no está bien delimitada y que, en la mayoría de los casos, exhibe una ligera pendiente, por lo que las curvas K-A presentarán un máximo en forma de U invertida en el intervalo correspondiente a la transición. Estas curvas se obtuvieron en nuestros resultados experimentales, en todos los casos donde tiene lugar el cambio de fase LE/LC. Varios ejemplos se ilustran en las figuras 3.1 a 3.5, para diferentes condiciones de composición y temperatura.

No obstante, este método sigue siendo insuficiente, ya que no es posible distinguir puntos concretos en las curvas K-A asociados al cambio de fase, tan solo podemos delimitar intervalos en los que tienen lugar estas transi-

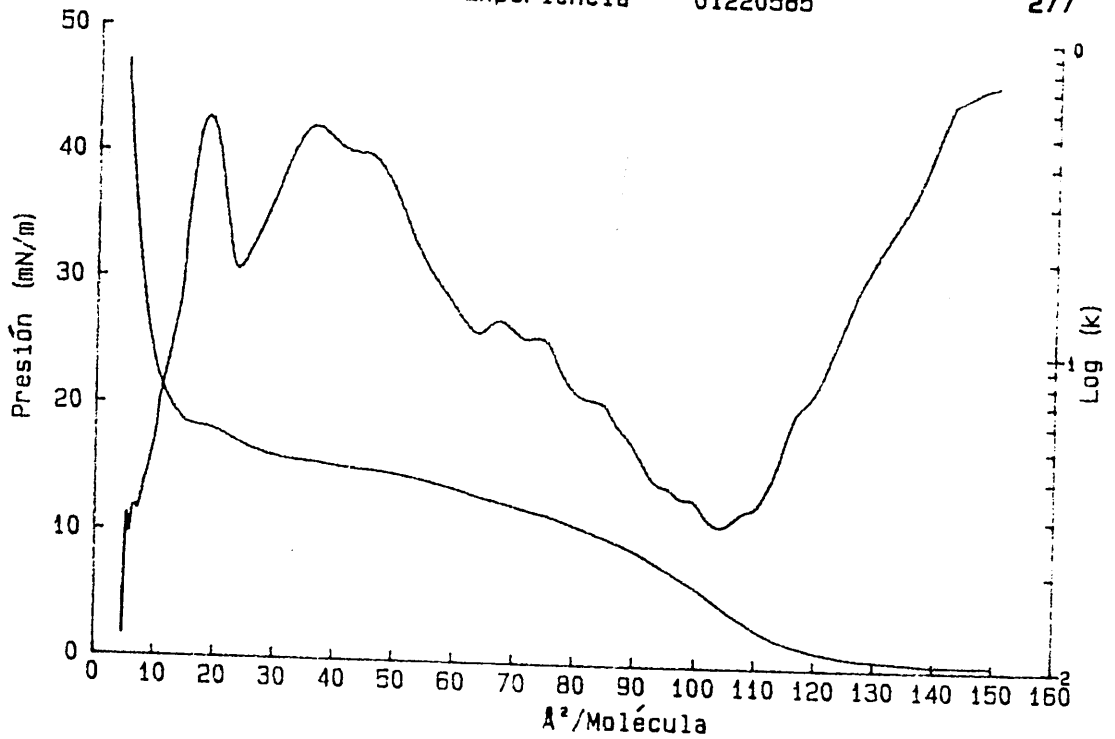


Fig. 3.1a. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 25%colesterol-75% ácido litocólico a T=25°C y pH=6.

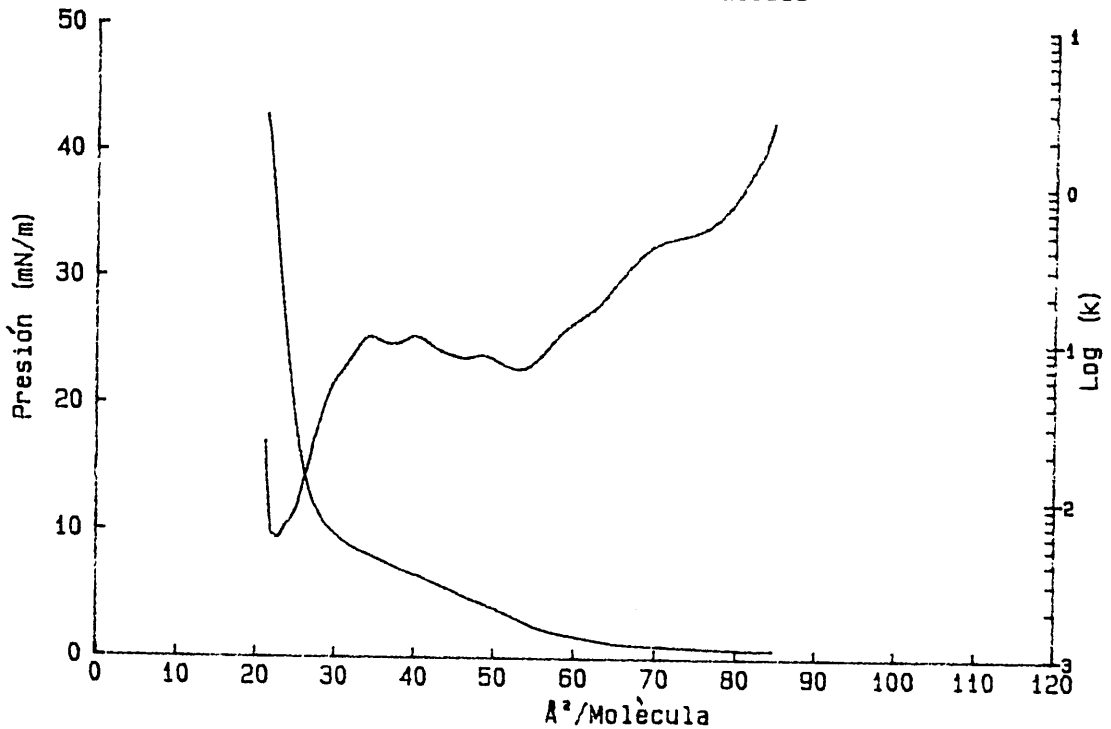


Fig. 3.1b. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 50%colesterol-50% ácido litocólico a T=25°C y pH=6.

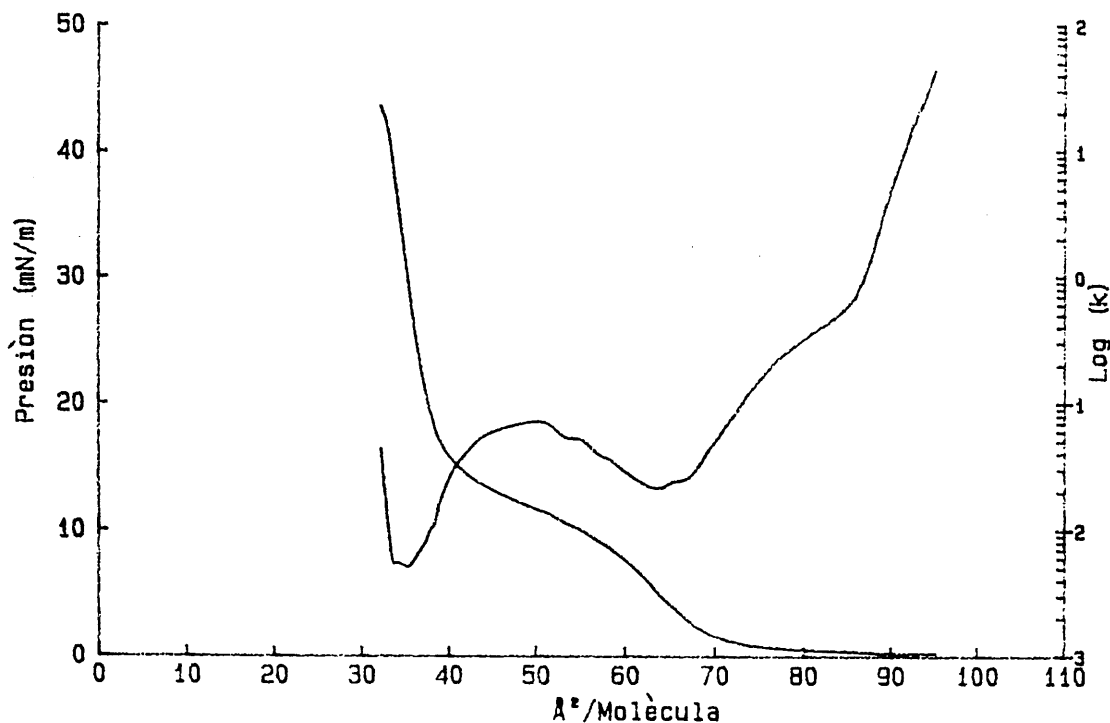


Fig. 3.1c. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 75%colesterol-25% ácido litocólico a $T=25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=6$.

Experiencia 05070885

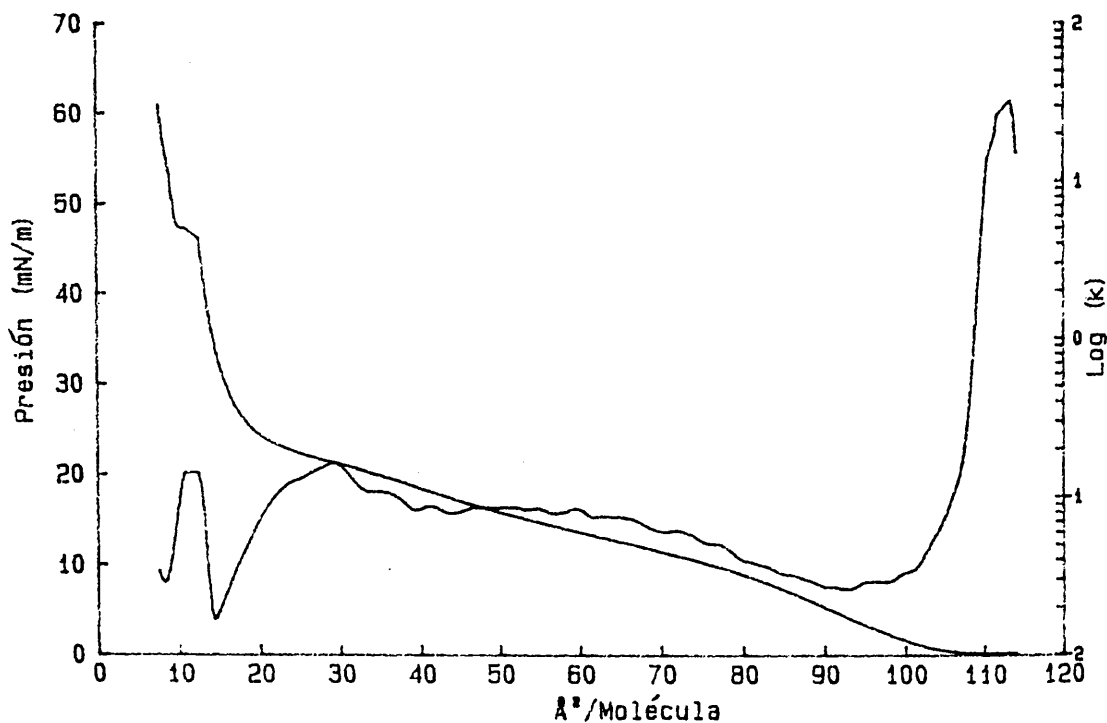


Fig. 3.2a. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 25%L- α -fosfatidilcolina-75% ácido litocólico a $T=25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=6$.

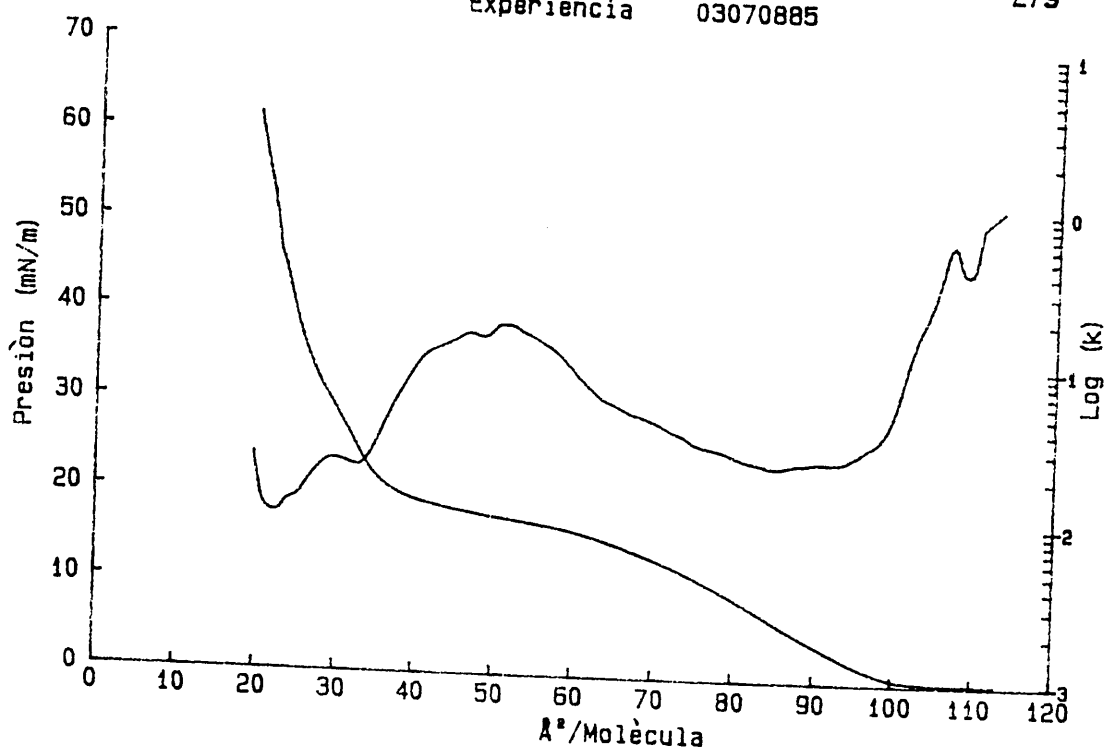


Fig. 3.2b. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 50%L- α -fosfatidilcolina-50% ácido litocólico a T=25°C y pH=6.

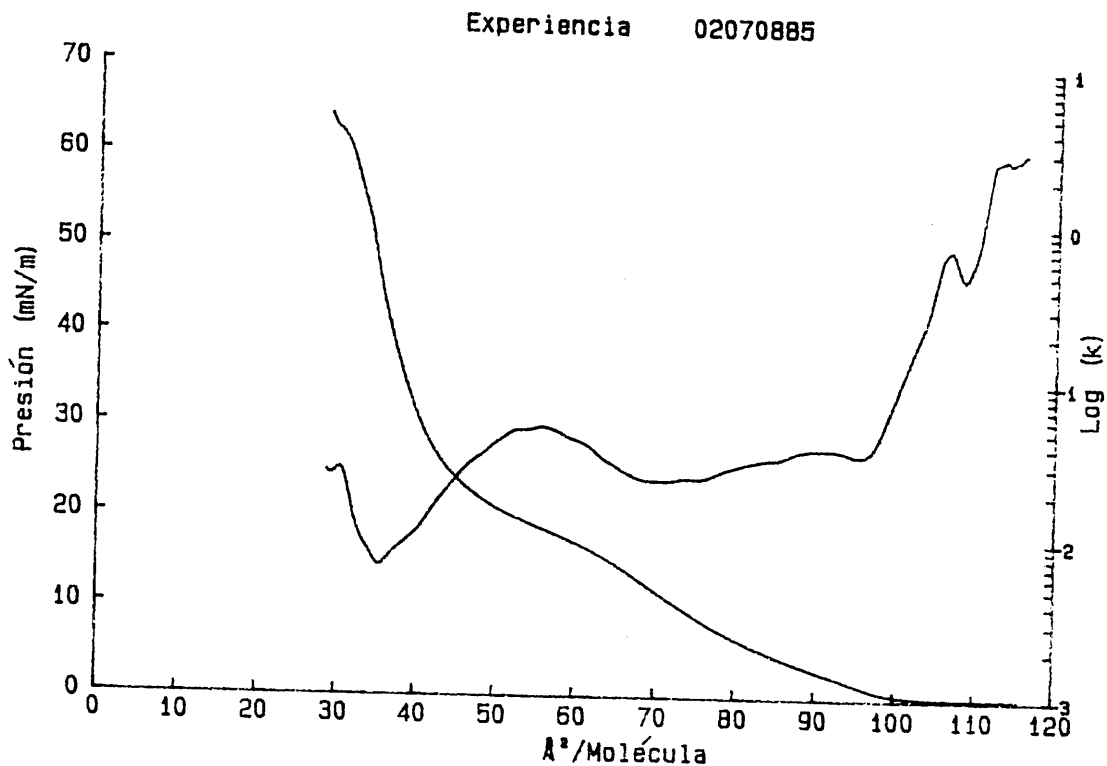


Fig. 3.2c. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 75%L- α -fosfatidilcolina-25% ácido litocólico a T=25°C y pH=6.

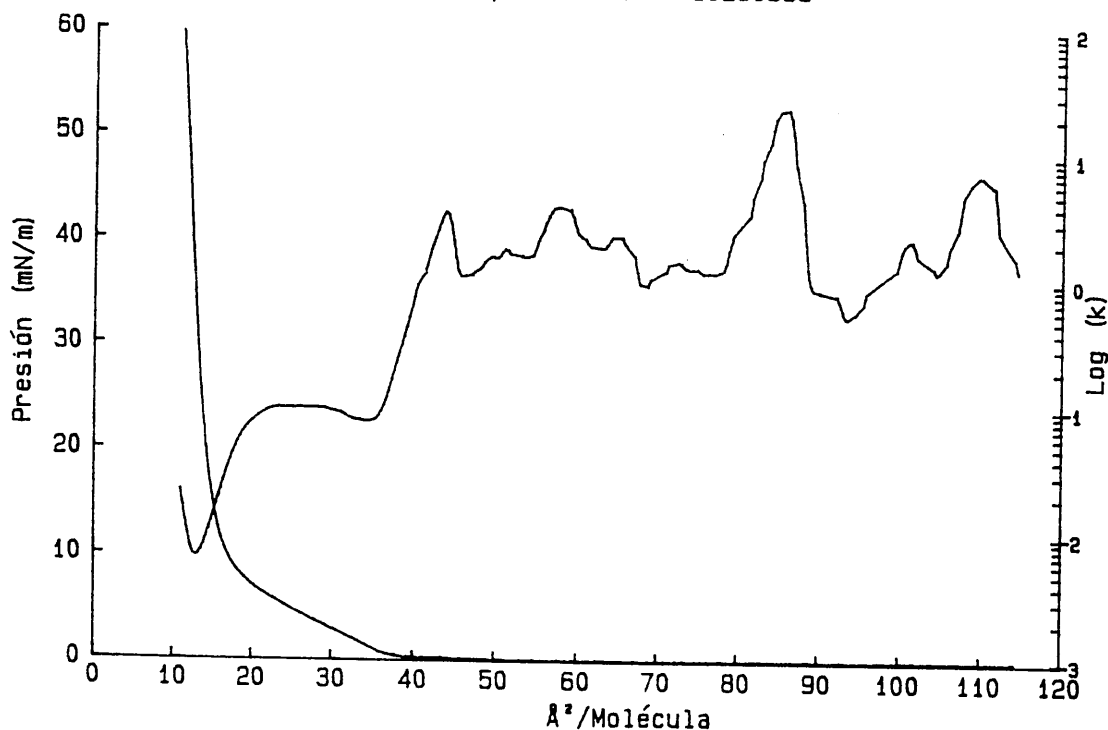


Fig. 3.3a. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 25%L- α -fosfatidilcolina-75% ácido cólico a T=25°C y pH=6.

Experiencia 01100286

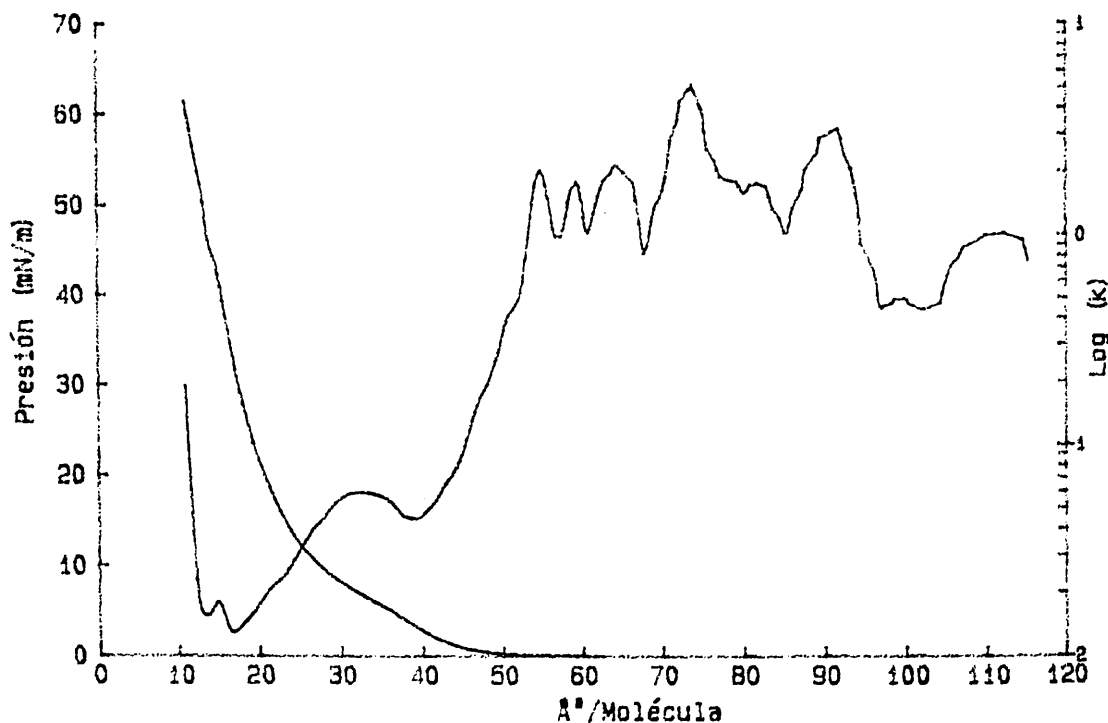


Fig. 3.3b. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 25%L- α -fosfatidilcolina-75% ácido cólico a T=30°C y pH=6.

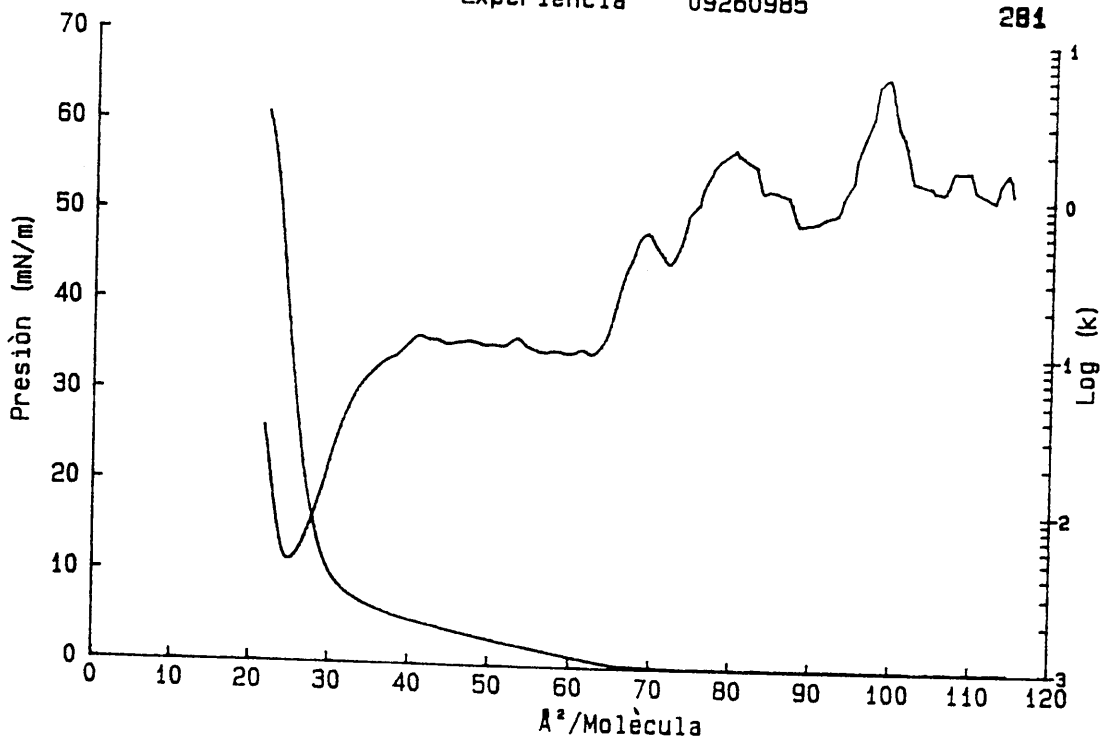


Fig. 3.4a. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 50%L- α -fosfatidilcolina-50% ácido cólico a $T=25^\circ\text{C}$ y $\text{pH}=6$.

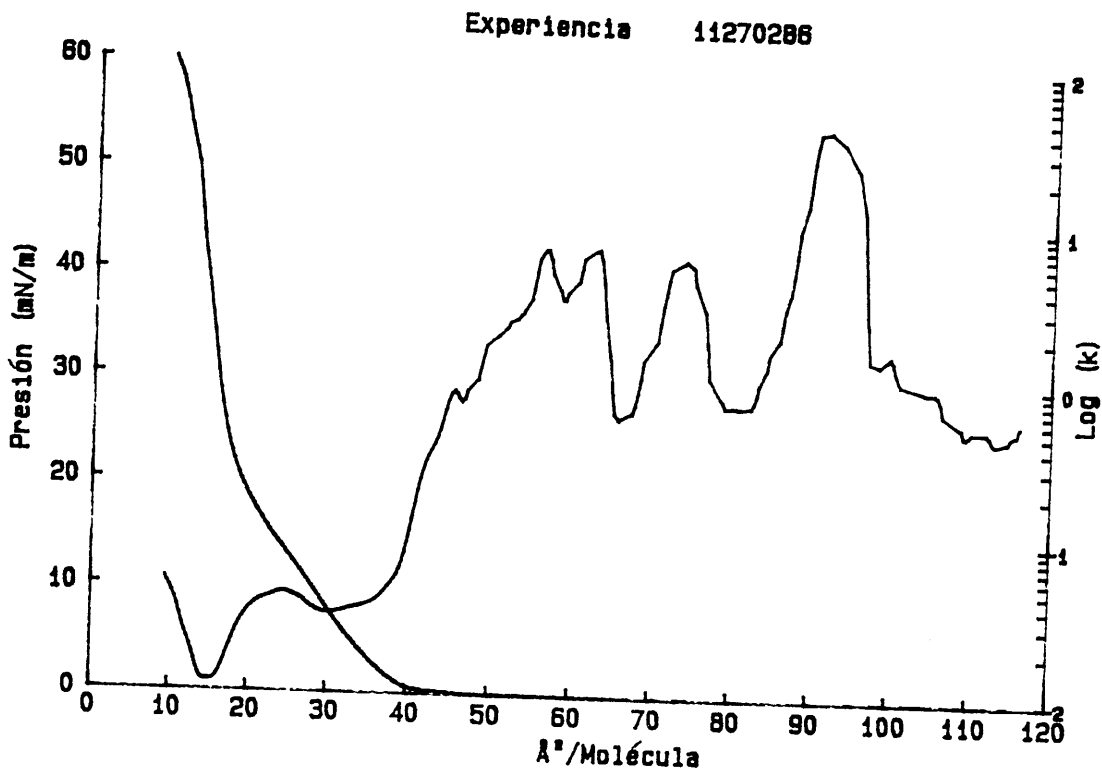


Fig. 3.3c. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 25%L- α -fosfatidilcolina-75% ácido cólico a $T=35^\circ\text{C}$ y $\text{pH}=6$.

Experiencia 03070286

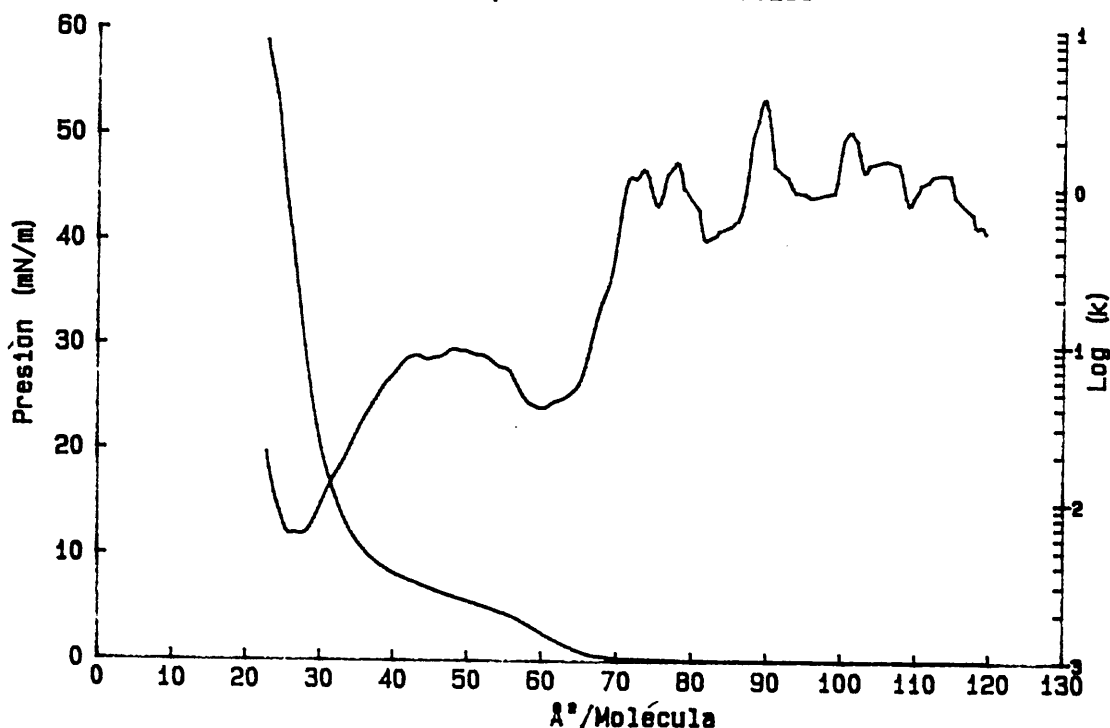


Fig. 3.4b. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 50%L- α -fosfatidilcolina-50% ácido cólico a $T=30^\circ\text{C}$ y $\text{pH}=6$.

Experiencia 12270286

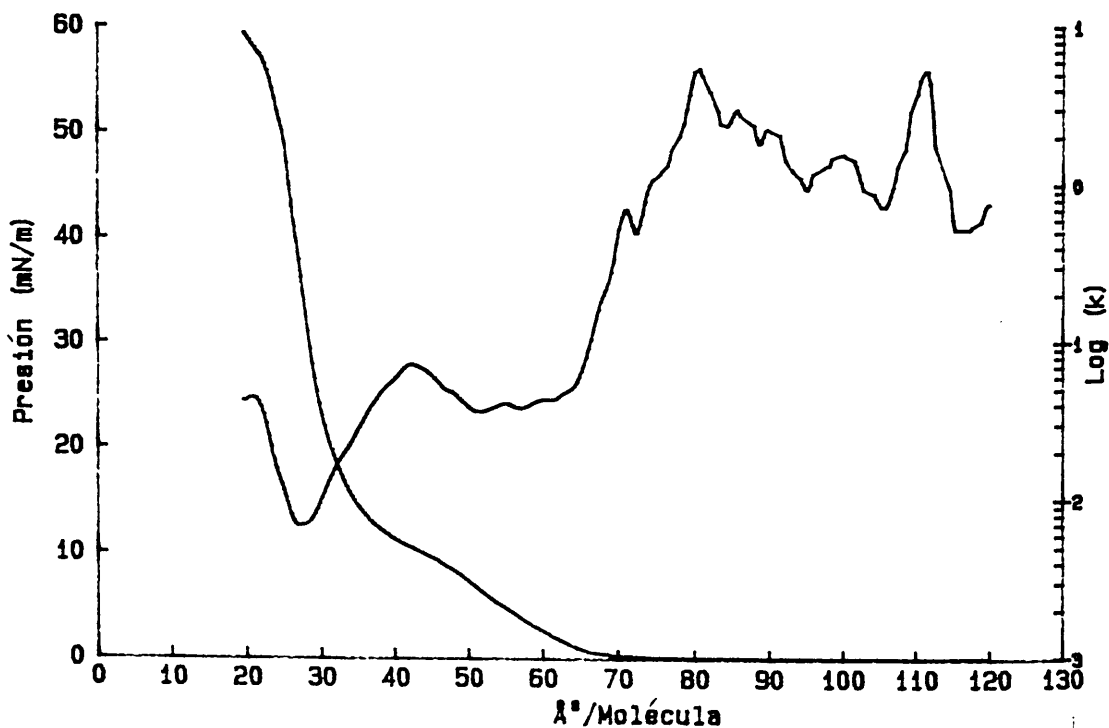


Fig. 3.4c. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 50%L- α -fosfatidilcolina-50% ácido cólico a $T=35^\circ\text{C}$ y $\text{pH}=6$.

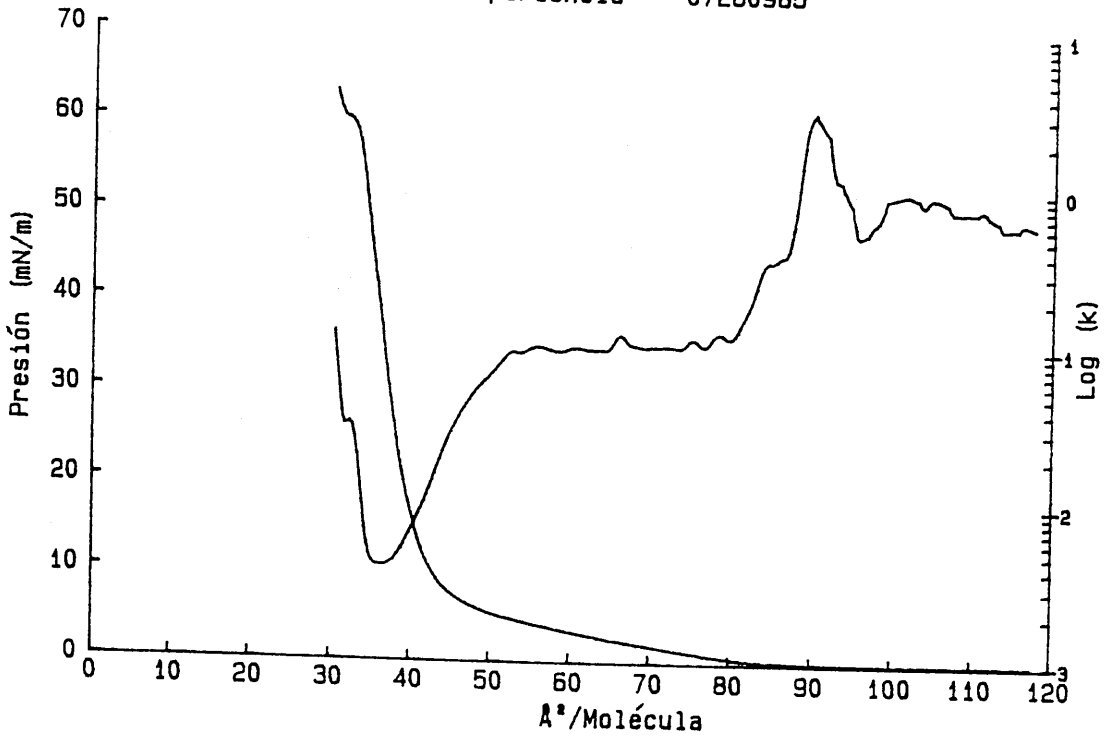


Fig. 3.5a. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 75%L- α -fosfatidilcolina-25% ácido cólico a T=25°C y pH=6.

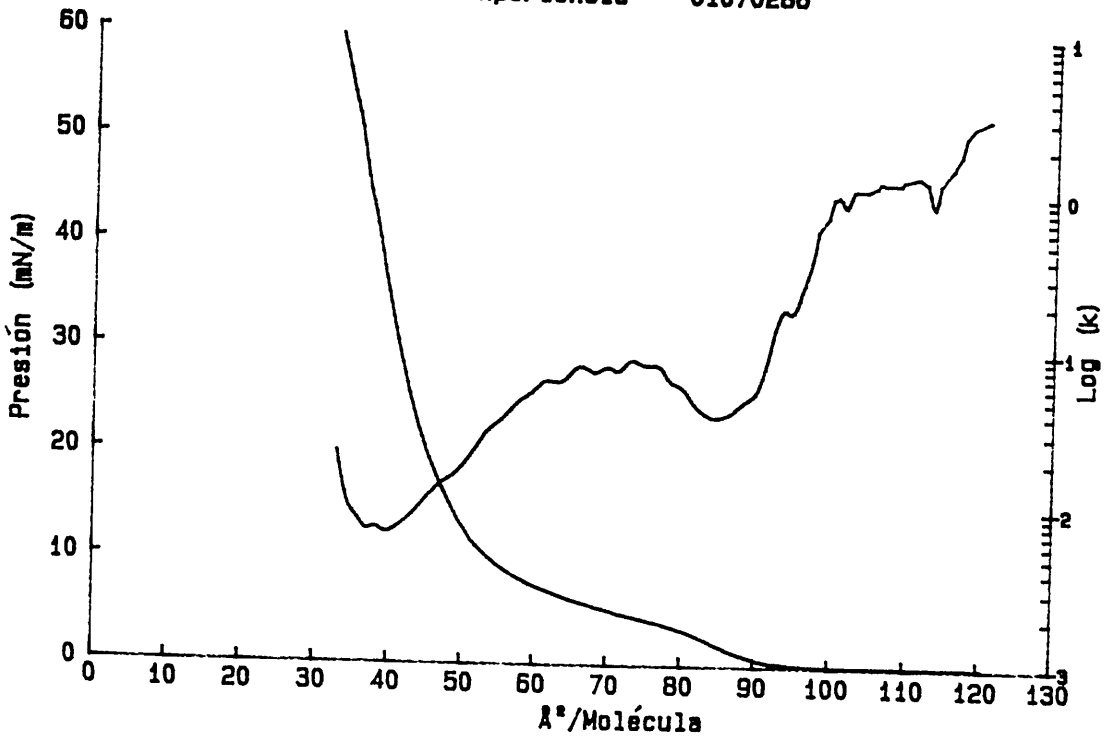


Fig. 3.5b. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 75%L- α -fosfatidilcolina-25% ácido cólico a T=30°C y pH=6.

ciones.

Por ello fue necesario recurrir al método descrito por Brockman y col. (1980), que estudian las derivadas sucesivas de las isoterma experimentales y definen como puntos de transición aquellos que presentan un mínimo en la segunda derivada de la función (tercera derivada nula), es decir, estos autores asocian un punto de inflexión en la primera derivada de la isoterma con un punto de transición de fase.

Al aplicar este método, observamos que, efectivamente, mínimos en la segunda derivada de la isoterma coinciden con puntos en los que debe ocurrir una transición de fase, de esta forma descartamos como válidos el resto de los mínimos que aparecen por este procedimiento a lo largo de toda la isoterma.

Resumiendo, en primer lugar aplicamos el primer método descrito con objeto de delimitar los intervalos en los que tiene lugar un cambio de fase para, a continuación, determinar los puntos con un mínimo en la segunda derivada de la isoterma (tercera nula) que se presentan en estos intervalos. De esta forma, definimos una región de transición de fase principal delimitada por dos puntos de inflexión en las curvas módulo de compresibilidad-área por molécula.

En el caso de que la transición a determinar sea secundaria, el primer método, descrito con más detalle por Albrecht (1978), identifica una discontinuidad finita en el módulo de compresibilidad con la transición secundaria. Sin embargo, tampoco es posible asignar un valor exacto de presión superficial a la misma, como podemos observar en la Fig. 3.6 (tramo p-q), por ello, volvemos a recurrir al segundo método y calculamos el punto de inflexión correspondiente a la primera derivada de la isoterma que coincidiría con el punto que define al cambio de fase. En las Figs. 3.7 a 3.9 observamos las formas de las derivadas sucesivas de las isoterma que presentamos en la Fig. 3.6.

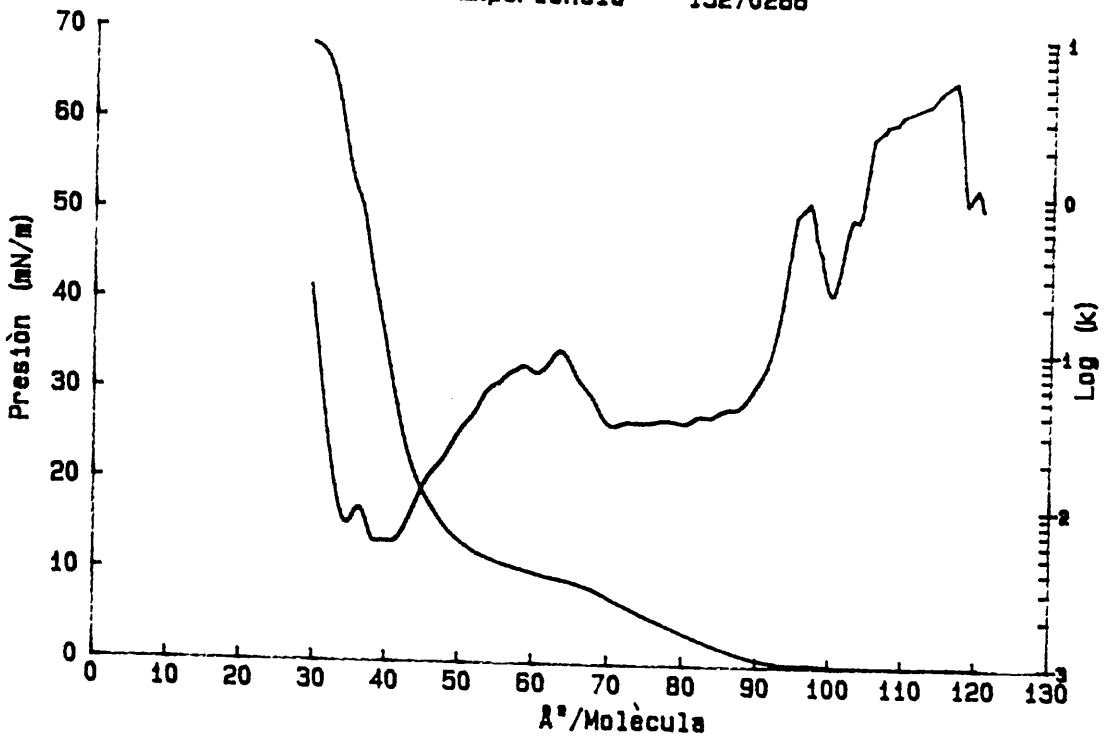


Fig. 3.5c. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 75%L- α -fosfatidilcolina-25% ácido cólico a T=35°C y pH=6.

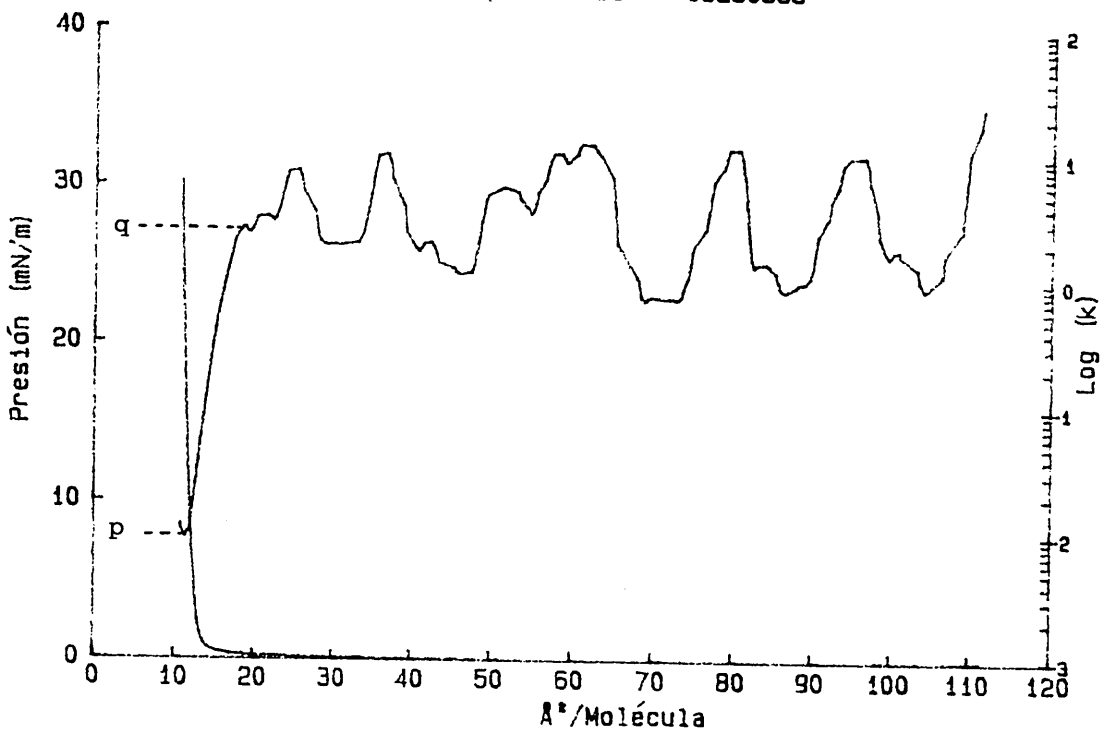


Fig. 3.6a. Logaritmo del módulo de compresibilidad en función del área por molécula para una monocapa de 25% colesterol-75% ácido cólico a T=25°C y pH=6.

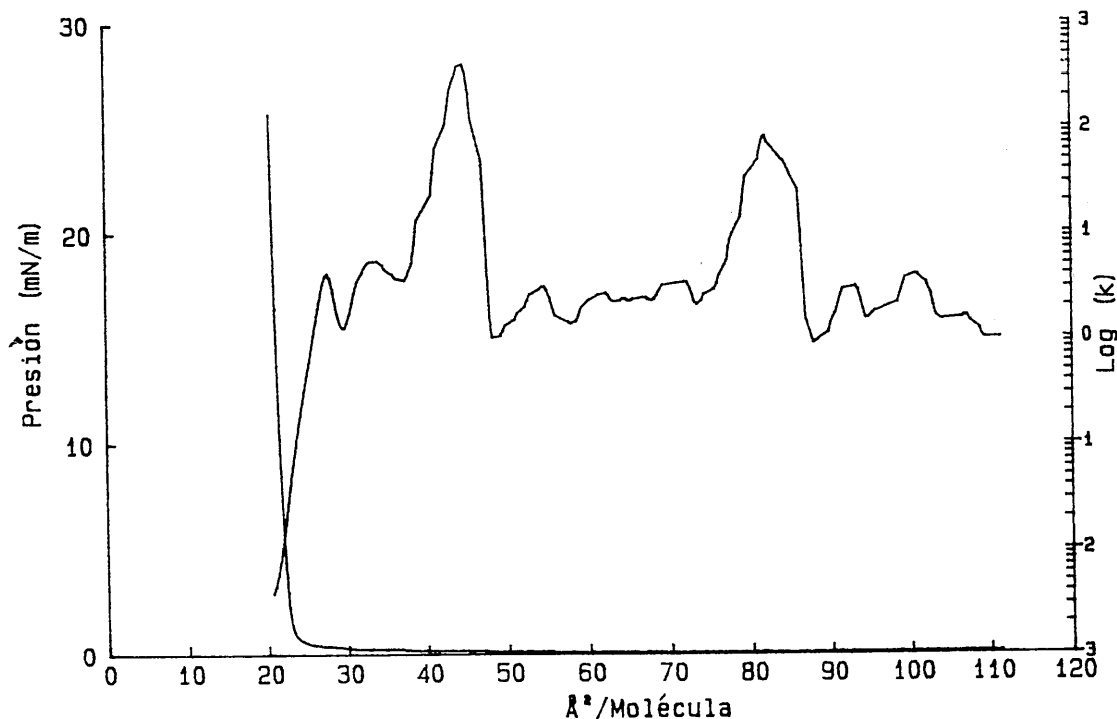


Fig. 3.6b. Logaritmo del m\u00f3dulo de compresibilidad en funci\u00f3n del \u00e1rea por mol\u00e9cula para una monocapa de 50% colesterol-50% \u00e1cido c\u00f3lico a $T=25^\circ\text{C}$ y $\text{pH}=6$.

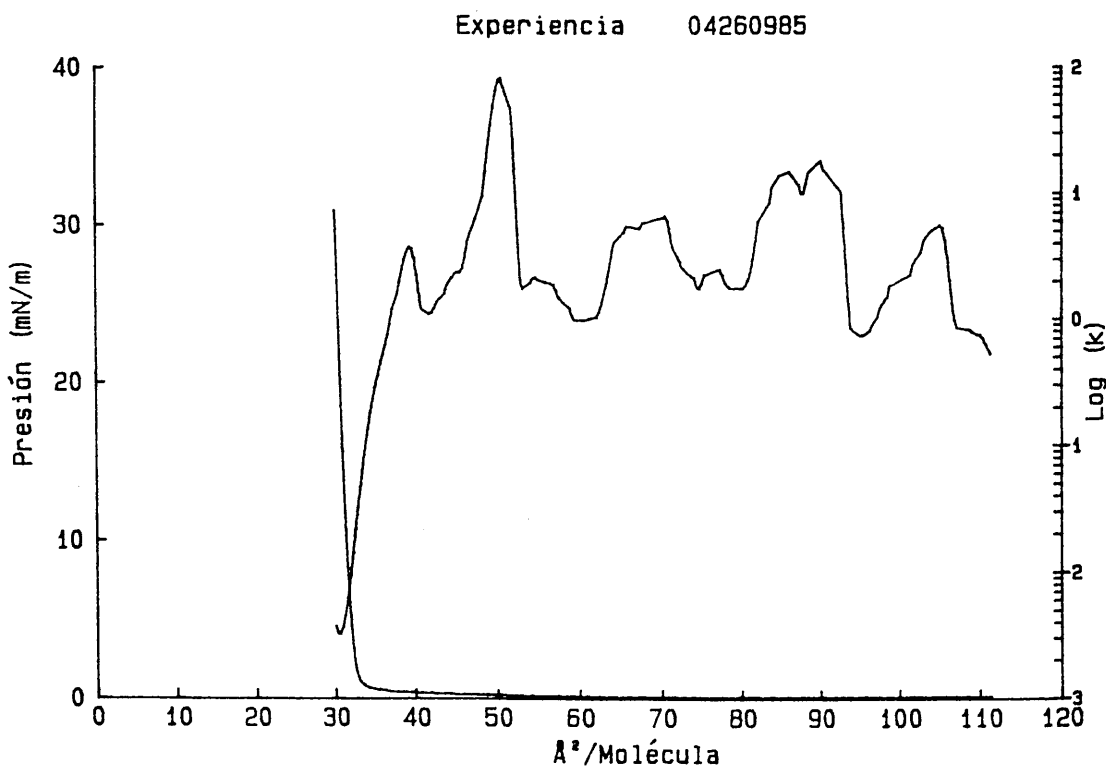


Fig. 3.6c. Logaritmo del m\u00f3dulo de compresibilidad en funci\u00f3n del \u00e1rea por mol\u00e9cula para una monocapa de 75% colesterol-25% \u00e1cido c\u00f3lico a $T=25^\circ\text{C}$ y $\text{pH}=6$.

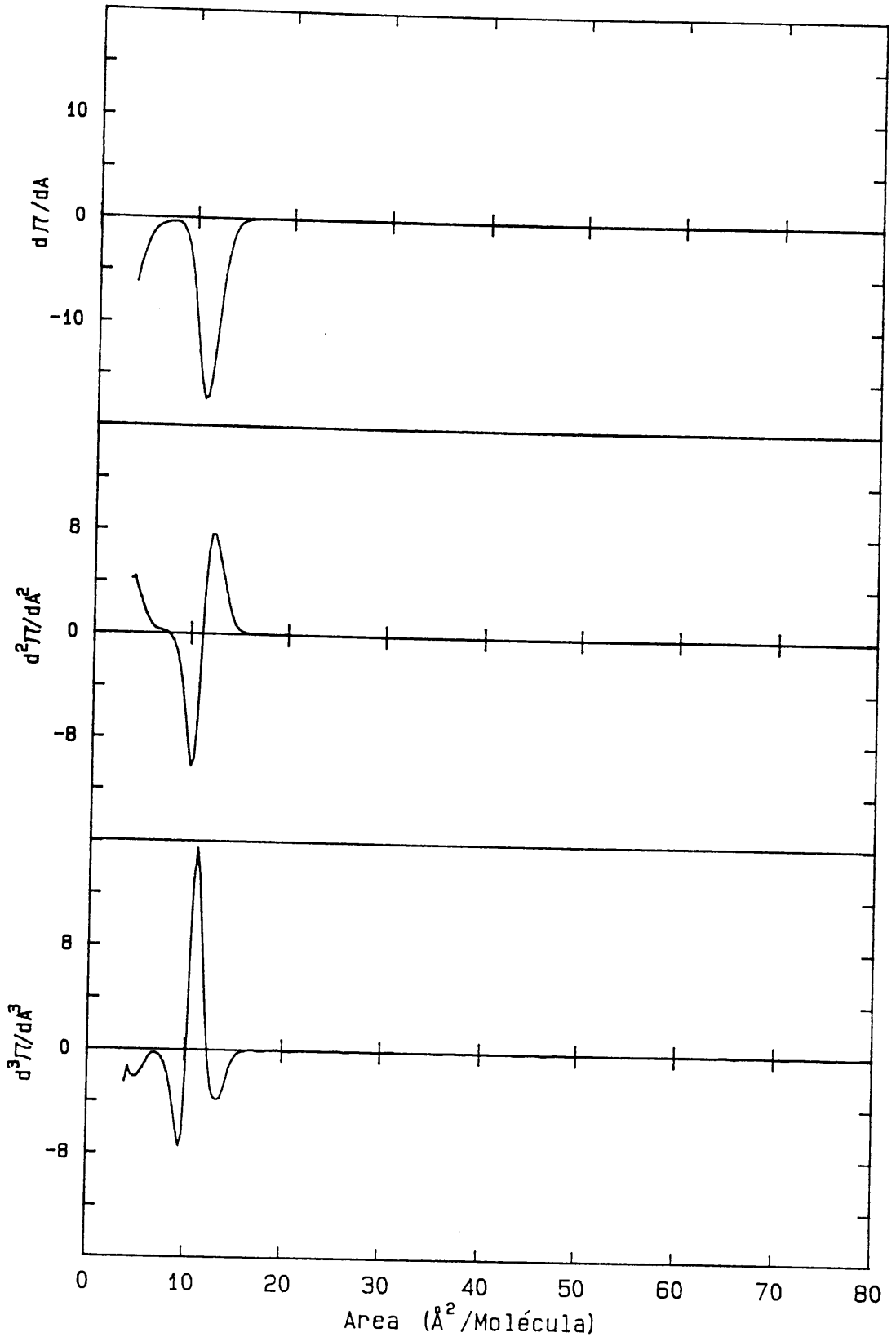


Fig. 3.7. Derivadas sucesivas de las isothermas de compresión correspondientes a la monocapa de 75% ácido cólico-25% colesterol a 25°C y pH=6.00

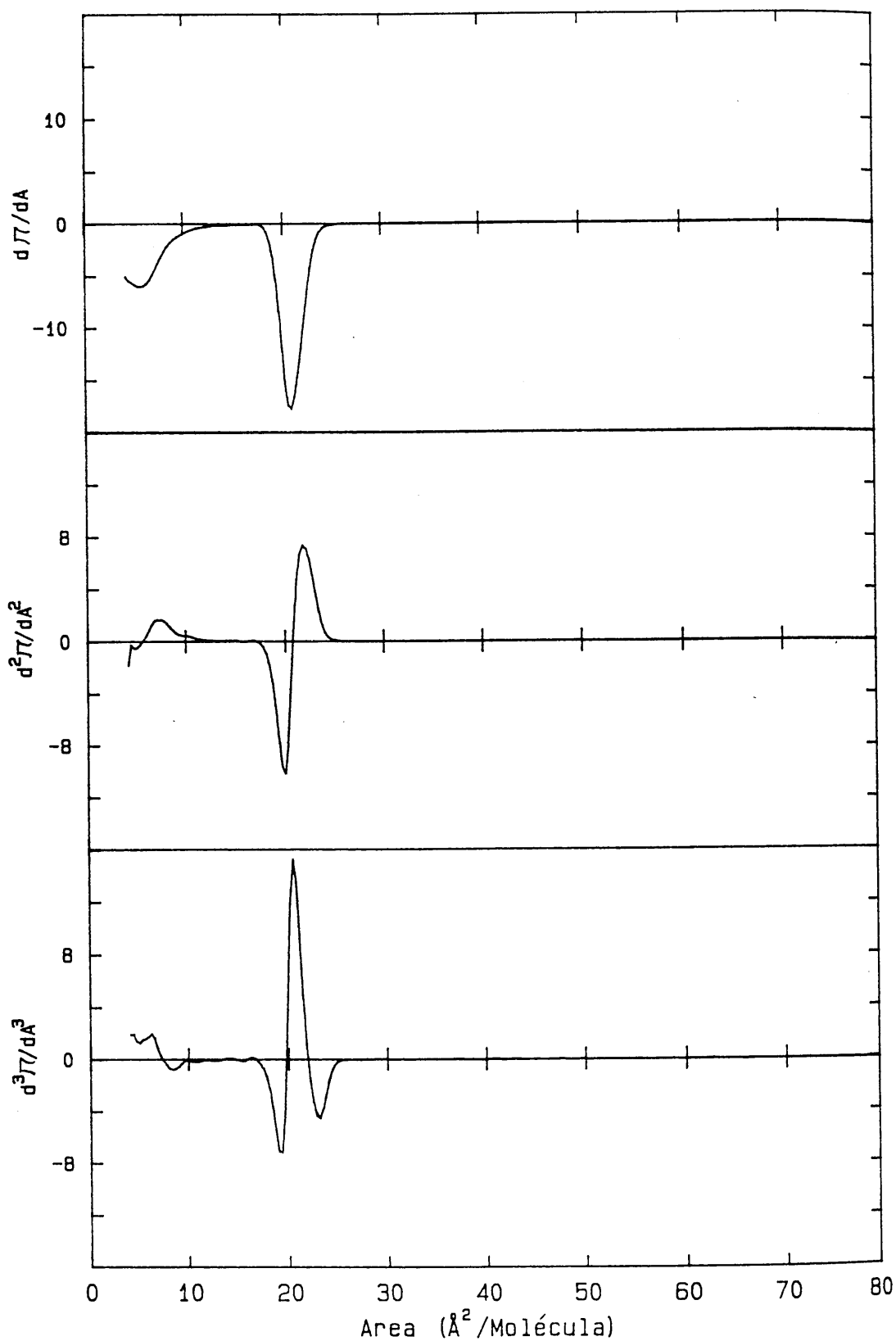


Fig. 3.8. Derivadas sucesivas de las isothermas de compresión correspondientes a la monocapa de 50% ácido cólico-50% colesterol a 25°C y pH=6.00

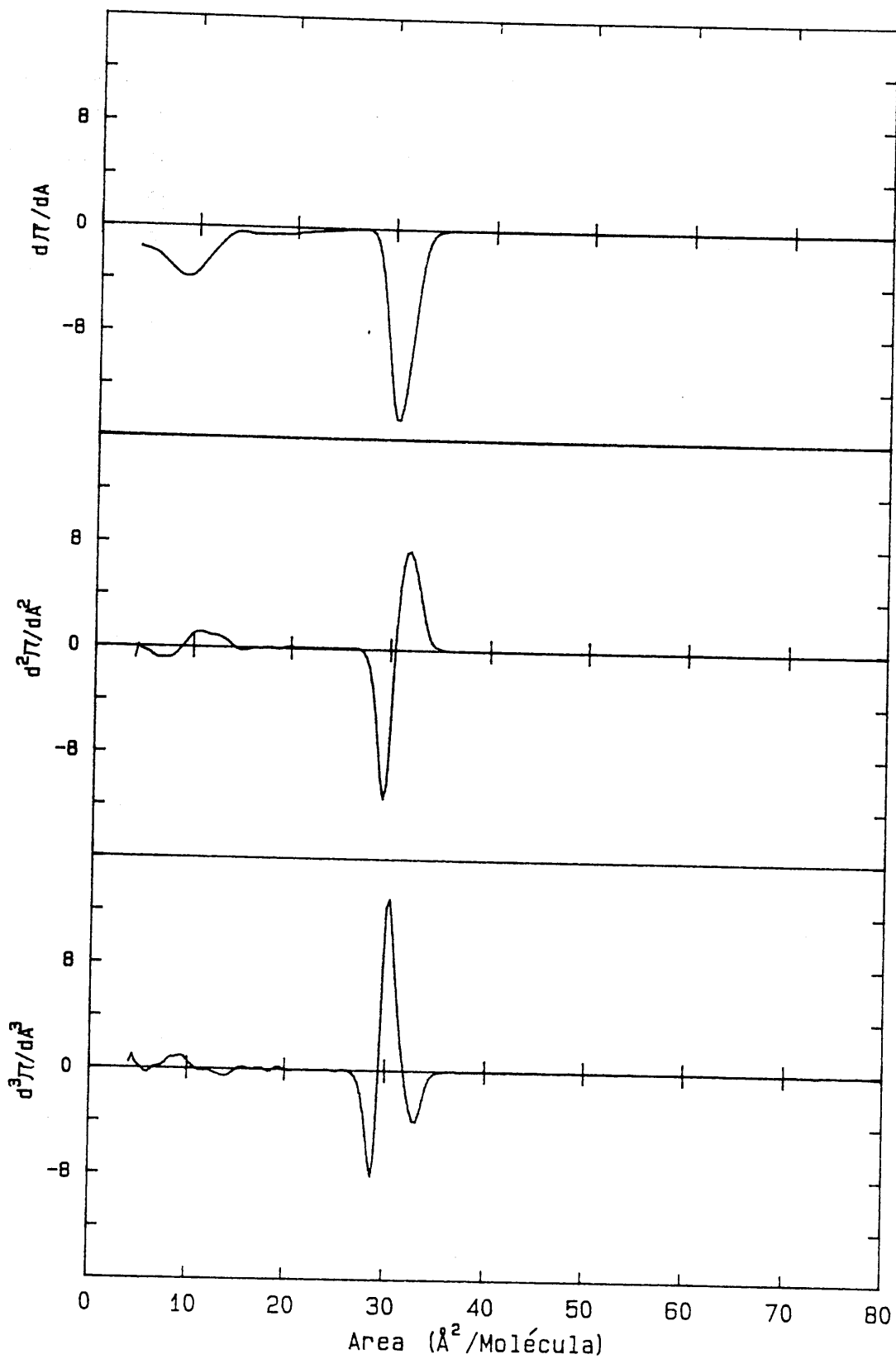


Fig. 3.9. Derivadas sucesivas de las isothermas de compresión correspondientes a la monocapa de 25% ácido cólico-75% colesterol a 25°C y $\text{pH}=6.00$

Una vez calculadas las distintas presiones superficiales a las que las películas sufren una transición de fase, obtenemos los diagramas, denominados "de fase", donde se representan estas presiones en función de la fracción molar de uno de los componentes que forman las monocapas mixtas, definiendo así los distintos límites de fase que exhiben las películas monomoleculares estudiadas a temperatura constante.

4. DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS MIXTAS

4.1 DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS FORMADAS POR COLESTEROL Y L- α -FOSFATIDILCOLINA

En este apartado presentamos los diagramas de fases obtenidos al representar los valores de presión superficial correspondientes a cambios de fase en las monocapas en función de la fracción molar de uno de los componentes que constituyen estas películas monomoleculares, en este caso, colesterol y L- α - fosfatidilcolina, a las temperaturas 25, 30, 35 y 40°C (Figs. 3.10 a 3.13, respectivamente).

A la temperatura de 25°C (Fig. 3.10) se distinguen cuatro regiones en el diagrama de fases . Estas se encuentran separadas por curvas que podemos denominar "límites de fase".

La primera región, I, se encuentra separada de la que hemos anotado como II, a través del límite de fases P (transición principal), en el cual están representados los valores de presión superficial a los que tiene lugar el cambio de fase entre los estados líquido extendido y líquido condensado, delimitando así la zona o región de transición . Como vimos en el anterior capítulo, esta transición solamente la presentan monocapas formadas por lecitina pura y las que contienen un alto porcentaje de ésta junto con algo de

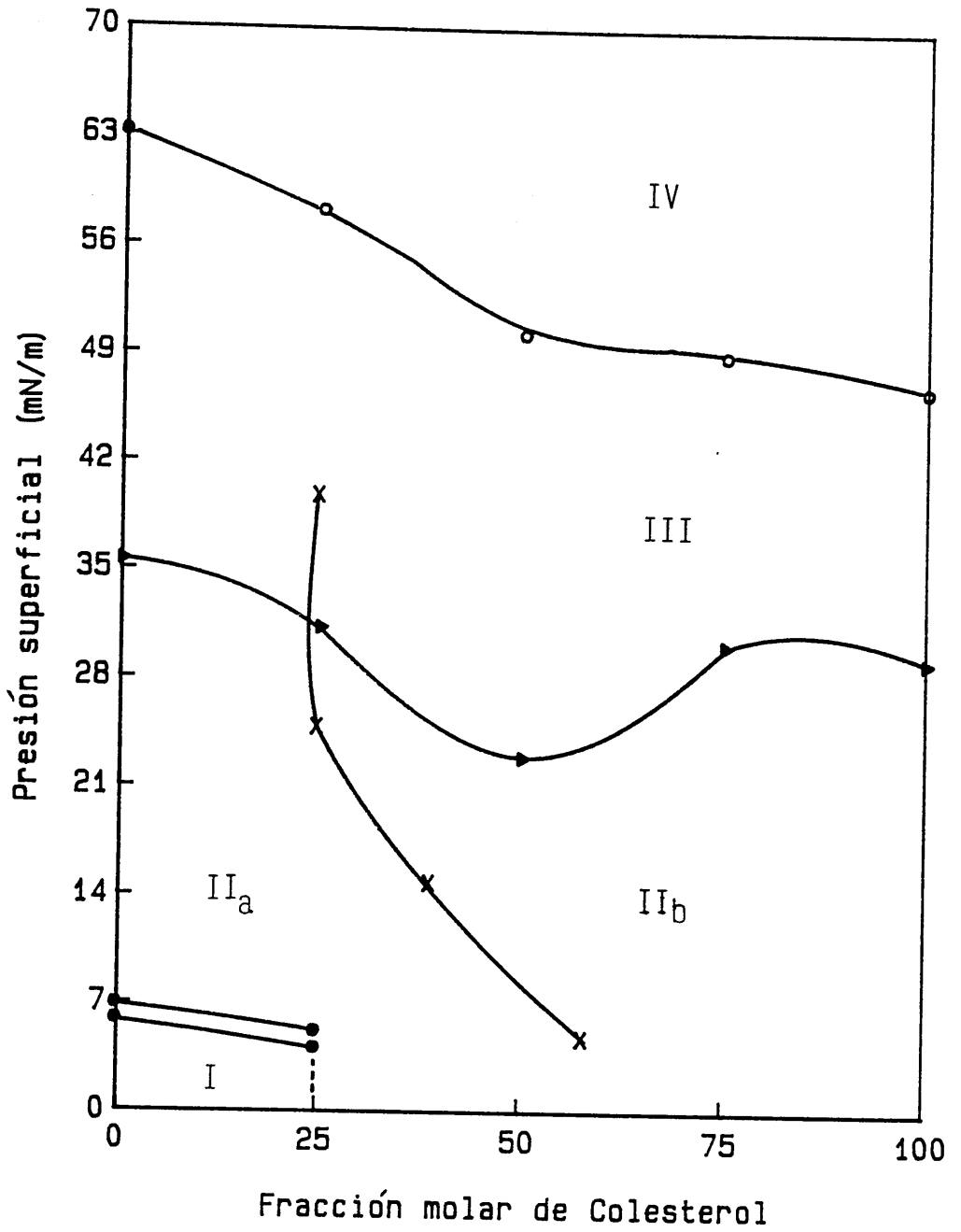


Fig. 3.10. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y L- α -fosfatidilcolina a $T= 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

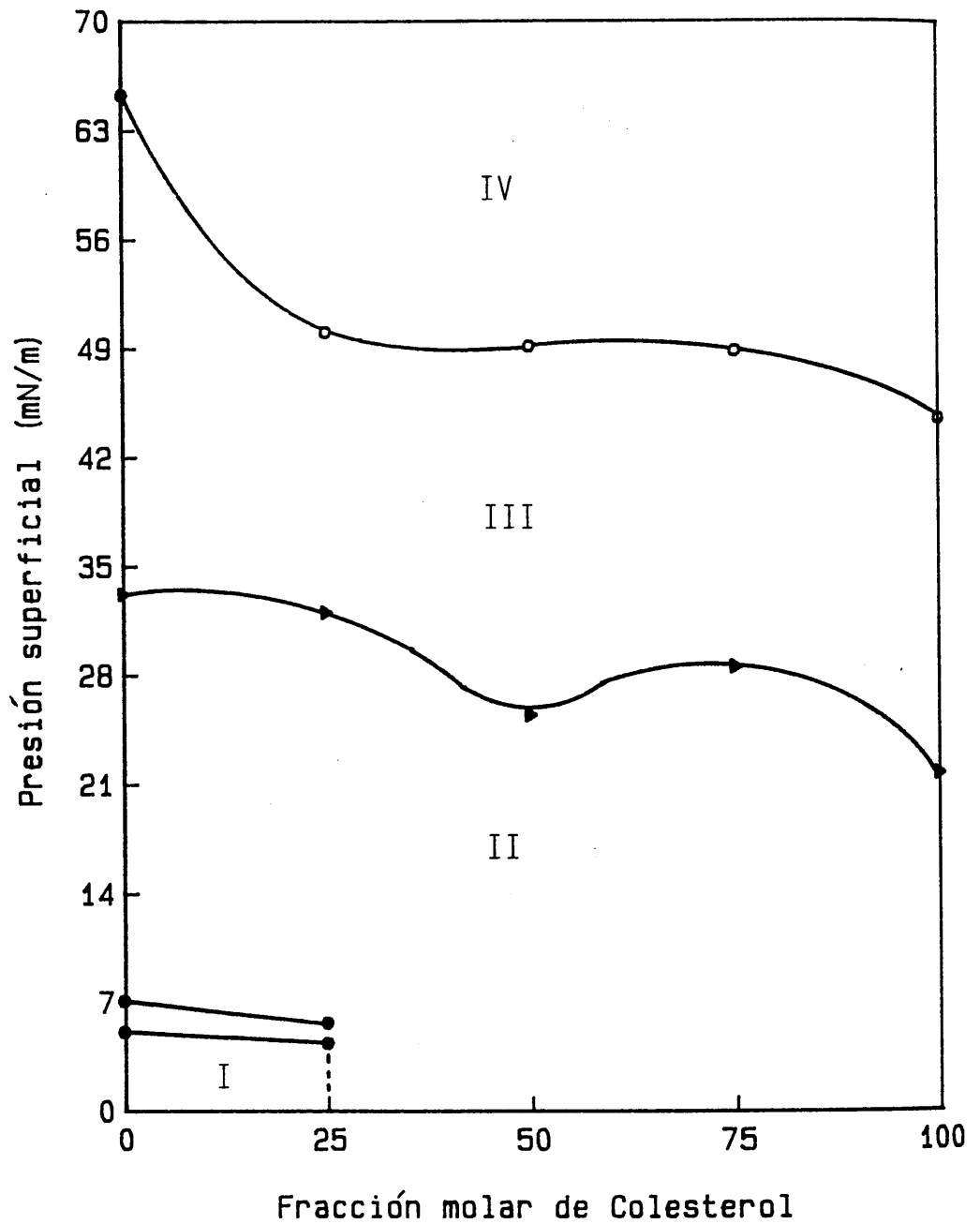


Fig. 3.11. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y L- α -fosfatidilcolina a $T= 30^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

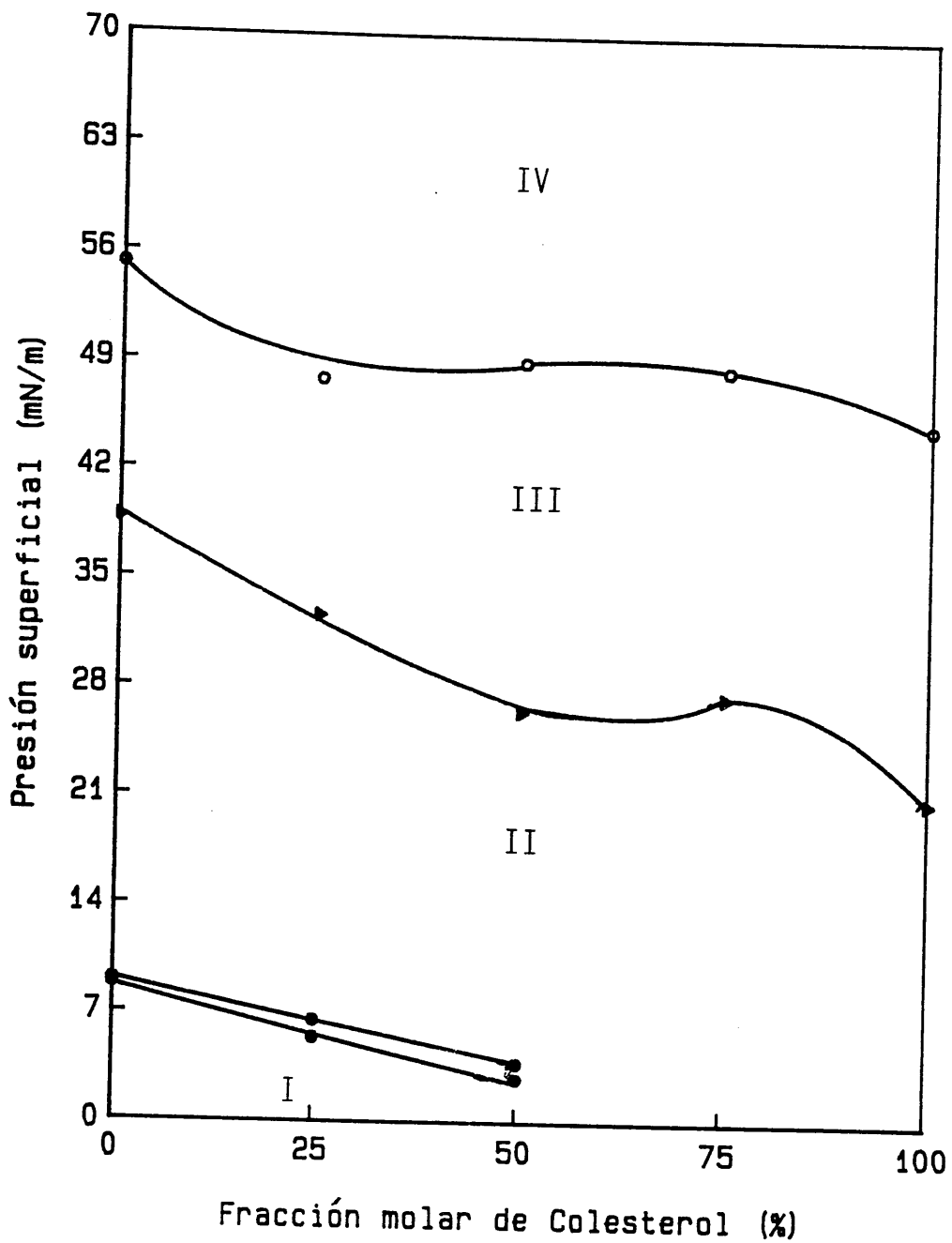


Fig. 3.12. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y L- α -fosfatidilcolina a $T= 35^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

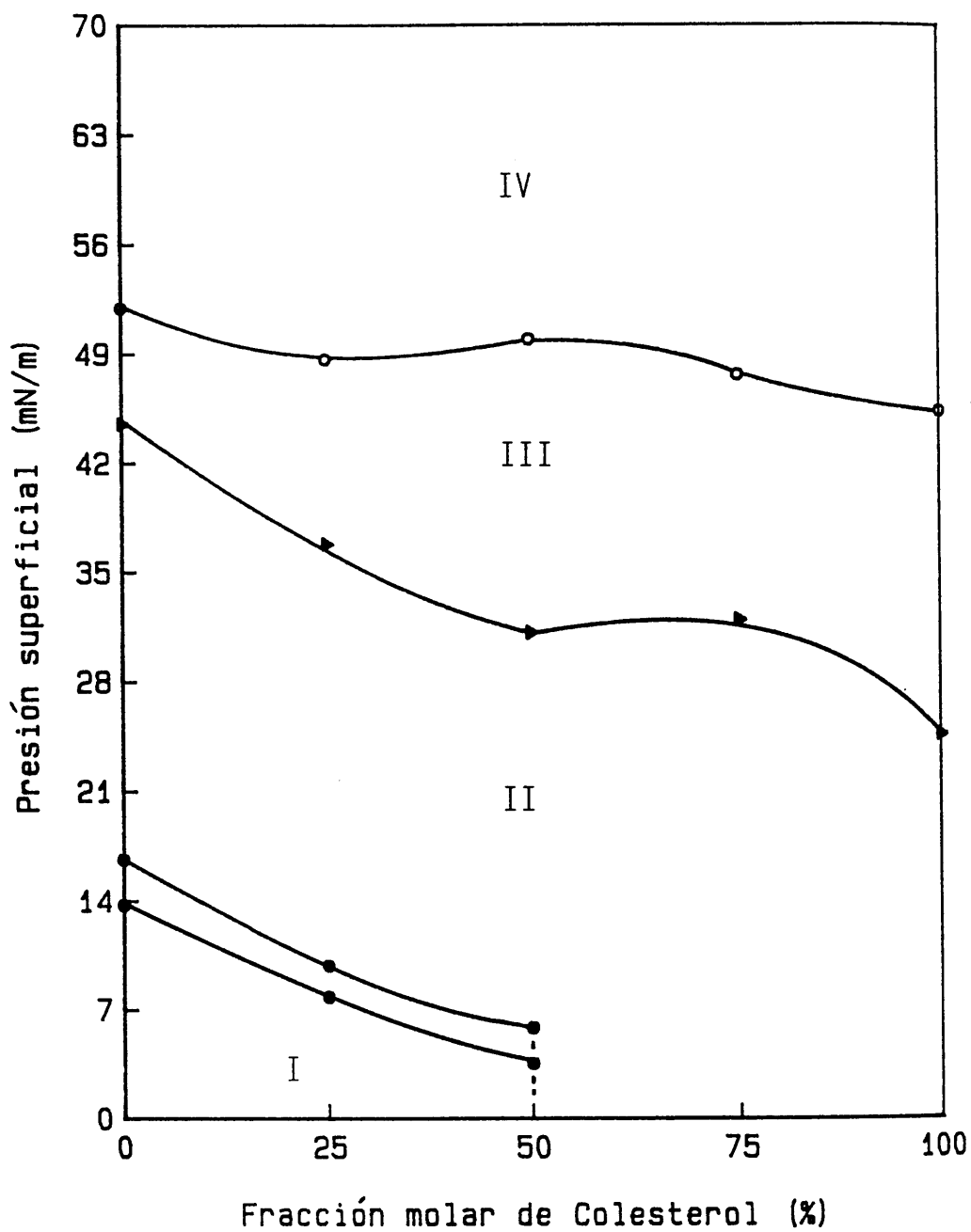


Fig. 3.13. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y L- α -fosfatidilcolina a $T= 40^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

colesterol; nosotros solamente observamos esta transición de fase hasta un 25% de colesterol en la monocapa (en lo que sigue, expresaremos la composición de la monocapa en porcentajes, referidos a fracción molar); sin embargo, otros autores consideran que esta transición principal desaparece cuando el contenido de colesterol en la monocapa supera al 33%. En este sentido se pronunciaron Müller-Landau y col. (1979) y Albrecht y col. (1981), que estudiaron proporciones intermedias a las nuestras en monocapas constituídas por dipalmitoilfosfatidilcolina-colesterol, obteniendo un límite de fases para esta región hasta un 33% de colesterol, lo que nos permite aceptar la posibilidad de que la región I sea más extensa de lo que figura en nuestro diagrama de fases.

La región I, por tanto, estará formada por una mezcla "fluída" de colesterol y L- α -fosfatidilcolina, es decir, representa a monocapas de L- α -fosfatidilcolina pura y de lecitina con algo de colesterol en estado líquido-extendido.

Con los datos que disponemos, no es posible ampliar la interpretación de lo que ocurre en esta región; sin embargo, haremos uso de información adicional publicada por otros autores.

Así, Müller-Landau y col. (1979) presentaron la propuesta de un modelo de empaquetamiento entre moléculas de dipalmitoilfosfatidilcolina y colesterol, concluyendo que tiene lugar una separación de fases entre 22 y 23% de colesterol (a una relación de cadena lipídica/colesterol de aproximadamente 7:1). Estos autores observaron cómo a medida que aumenta la concentración de colesterol, la presión de transición va aumentando linealmente hasta un máximo de 8.7% de colesterol, esto sería indicativo de la presencia de una fase homogénea; a continuación el valor de la presión superficial en el punto de transición de fase no se modifica con el aumento de la concentración; en este caso es lógico pensar en la formación de dos fases para un intervalo de

concentración superior. Es decir, hasta 8.7% las cadenas de lípido interaccionarán con colesterol, a partir de este punto dejan de estar en contacto con él e irán desapareciendo sucesivamente en los estados más extendidos hasta que tiene lugar la separación de fases a la composición citada. Estas dos fases, dentro del estado extendido, están presentes hasta un 33% de colesterol, donde desaparece la transición principal.

Nosotros, por el contrario, pensamos que la región I tiene que ser homogénea para todos los intervalos de concentración, a diferencia de la zona de transición entre las regiones I y II que presentará carácter heterogéneo, ya que si nos situamos en medio de la misma, es posible que el estado extendido presente una composición enriquecida en un componente respecto a la que exhibe el estado de líquido condensado; en este sentido, podremos hablar de separación fase y de una región no homogénea. Por tanto, el modelo de empaquetamiento entre estos dos componentes presentado por Müller-Landau explicaría, según nuestra interpretación, la dependencia de la presión de transición con la composición en esta zona o región de transición de fase.

Neuman y col. (1984) han presentado evidencia experimental, a través de micrografías electrónicas, de que las monocapas de dipalmitoilfosfatidilcolina son homogéneas en los estados líquido extendido y líquido condensado, mientras que en la región intermedia son bifásicas y no-homogéneas; estos resultados son consistentes con la consideración de que la transición LE/LC es una transición de primer orden, y de acuerdo también con los nuestros, puesto que la hemos caracterizado así mismo como de primer orden.

Albrecht y col. (1981) indicaron la posibilidad de que tenga lugar una separación de fase en dos, una rica y otra pobre en colesterol dentro de la región I, basándose en los estudios calorimétricos sobre bicapas de DPPC y colesterol realizados por Mabrey y col. (1978). No obstante,

hacemos notar que la transición termotrópica "gel-cristal líquido" estudiada por estos autores y que se presenta aproximadamente a 41°C para la lecitina, es distinta de la transición LE/LC que nosotros estudiamos para monocapas formadas por lecitina y colesterol, y los resultados, por tanto, no tendrían que interpretarse en los mismos términos.

Albrecht y col. (1978) han realizado un estudio comparativo de la transición principal para bicapas y monocapas. Observaron que para la lecitina DPC, la transición principal de una bicapa es idéntica a la transición principal de una monocapa a la presión superficial $\Pi = 50 \text{ dyn cm}^{-1}$. Sin embargo, termodinámicamente esta identidad no es correcta puesto que a esta presión superficial, aproximadamente, la monocapa alcanza su punto crítico, y la bicapa, por el contrario, presenta un calor de transición superior a 32.2 kJ mol^{-1} y un gran cambio en el área, $A = 10 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$. Por esta razón, estos autores consideraron más apropiado igualar los cambios en el área y entropía de la bicapa con los correspondientes valores de la monocapa. Experimentalmente se comprueba que los valores 32.2 kJ mol^{-1} y $10 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ son los obtenidos para monocapas a la presión superficial de 12.5 dyn cm^{-1} . Ahora la contradicción reside en la diferencia en los valores de presión superficial y por tanto, de temperatura de transición, 26°C para la monocapa y 42°C para la bicapa. Esta dificultad se resolvió aplicando la teoría de Landau, que considera una presión superficial adicional para la bicapa que se compara con la monocapa. La contribución de esta presión superficial tiene en cuenta que en una monocapa la superficie de la cadena hidrocarbonada está libre, mientras que en bicapas se ha de considerar la interacción entre las dos superficies hidrocarbonadas. Por tanto, determinando y restando esta contribución, es posible comparar el comportamiento de bicapas y monocapas y extender la interpretación a los diagramas de fase.

Así, la singularidad de determinadas proporciones

(20 y 33% de colesterol para el sistema DPPC-colesterol) puesta de manifiesto por Albrecht para ambas transiciones, es indicativa de que a nivel molecular es posible pensar en la existencia de proporciones definidas donde el comportamiento entre ambos componentes se manifiesta peculiar independientemente de la temperatura del sistema. En este sentido, Engelman y Rothman (1972) describen un complejo con colesterol monomérico y con cadenas lipídicas compartidas a un 33% de colesterol; si no se requieren cadenas lipídicas compartidas, la composición a la que tiene lugar la formación del complejo está alrededor del 20% de colesterol.

La región II de nuestro diagrama de fases representa monocapas constituídas por L- α -fosfatidilcolina y colesterol en estado de líquido condensado. No obstante, dentro de esta región podemos distinguir dos subregiones, IIa y IIb, separadas por una línea de máxima interacción, determinada a partir de las gráficas A-x (Fig. 2.25 del capítulo anterior), en la que se presentan los valores de presión superficial para los cuales el efecto de condensación ejercido por el colesterol sobre la lecitina es máximo. Por tanto, en la región IIa el comportamiento será cercano al que presentan las monocapas de lecitina pura, a diferencia de la región IIb donde el componente cuya acción predomina, determinando el estado físico de la monocapa, es el colesterol.

La línea de separación de las regiones III y IV (Fig. 3.10) indica la presencia de transiciones de fase secundarias dentro del estado genérico condensado. Esta línea corresponde a la ruptura en la pendiente de la isoterma (mínimo en la gráfica módulo de compresibilidad-área/molécula), la cual ha sido interpretada previamente (Albrecht, 1981) como una transición sólido-sólido debida a la lecitina en su caso. Otros autores como Neuman (1984) la denominan líquido condensado-sólido condensado (LC-SC). Por tanto, la región III representa el estado de máxima condensación de las películas monomoleculares antes de su colapso.

A partir de este análisis y de los resultados obtenidos para estas monocapas a 25°C en el anterior capítulo, podemos confirmar que la fase colapsada, región IV, está constituida por colesterol y lecitina miscibles entre sí. El aumento de la presión de colapso con el lípido sería suficiente índice de que no se separa una fase de colesterol o de lecitina puros.

Los diagramas de fases obtenidos para monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y colesterol a temperaturas superiores a 25°C (30, 35 y 40°C) (Figs. 3.11, 3.12 y 3.13) no difieren significativamente del presentado para esta temperatura. Las diferencias más notables se manifiestan, en primer lugar, en una progresiva extensión de la región I o de la fase en estado de líquido extendido conforme aumenta la temperatura. En segundo lugar, también en una región de transición principal superior a mayores temperaturas, es decir, las diferencias de presión superficial al comienzo y final de la transición se acentúan a las temperaturas más elevadas, ya que a éstas, el intervalo correspondiente a los valores de área por molécula para la transición en una isoterma determinada es inferior y la pendiente de la misma más acusada.

Otro de los resultados observados en la misma figura, es que la transición secundaria asignada al cambio de fase LC-SC que sufre el colesterol, tiene lugar a presiones inferiores conforme aumenta la temperatura de 25 a 35°C, invirtiéndose la tendencia al pasar de 35 a 40°C. Este hecho puede deberse a la transición polimórfica que sufre el colesterol puro a la temperatura de 37°C (Tajima, 1975).

Finalmente, a estas tres últimas temperaturas, observamos una región entre 50 y 75% de colesterol, donde la presión de colapso se mantiene constante, por lo que, de acuerdo con lo discutido previamente en el apartado 4.1.2. del anterior capítulo, la región IV para este intervalo de concentración estará formada por dos fases inmiscibles entre sí, una de colesterol saturada con lecitina y otra de

lecitina saturada con colesterol, a diferencia de lo que ocurre para el resto de las proporciones y para 25°C, temperatura a la que ambos componentes colapsan miscibles entre sí.

En estos últimos diagramas de fases no hemos dibujado las líneas de máxima interacción, ya que no realizamos este estudio a presiones superficiales intermedias, no obstante, a partir de las figuras área/molécula--composición a 5 y 40 mNm⁻¹ podemos indicar que a mayores temperaturas se requiere más colesterol para obtener una condensación máxima, de acuerdo con resultados obtenidos por Müller-Landau (1979).

Resumiendo, el comportamiento de estos dos componentes, L- α -fosfatidilcolina y colesterol, en películas monomoleculares no difiere cualitativamente a diferentes condiciones de temperatura, lo que nos hace suponer que las fases constituídas por los mismos son relativamente estables. Este comportamiento se resume en monocapas en estado de líquido extendido a bajas presiones superficiales y cuando el contenido de lecitina es alto, monocapas en estado de líquido condensado a presiones superficiales mayores, las cuales sufren una transición de fase secundaria en todo el intervalo de composición, y finalmente en completa o relativa miscibilidad de los componentes en la fase colapsada.

4.2. DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS FORMADAS POR COLESTEROL Y ACIDO LITOCOLICO

En la Fig. 3.14 presentamos el diagrama de fases obtenido al estudiar monocapas mixtas formadas por colesterol y ácido litocólico, cuando las condiciones experimentales son T=25°C y pH=6.00. En este diagrama distinguimos cuatro regiones que, análogamente a las estudiadas para los componentes colesterol y lecitina, representan los estados

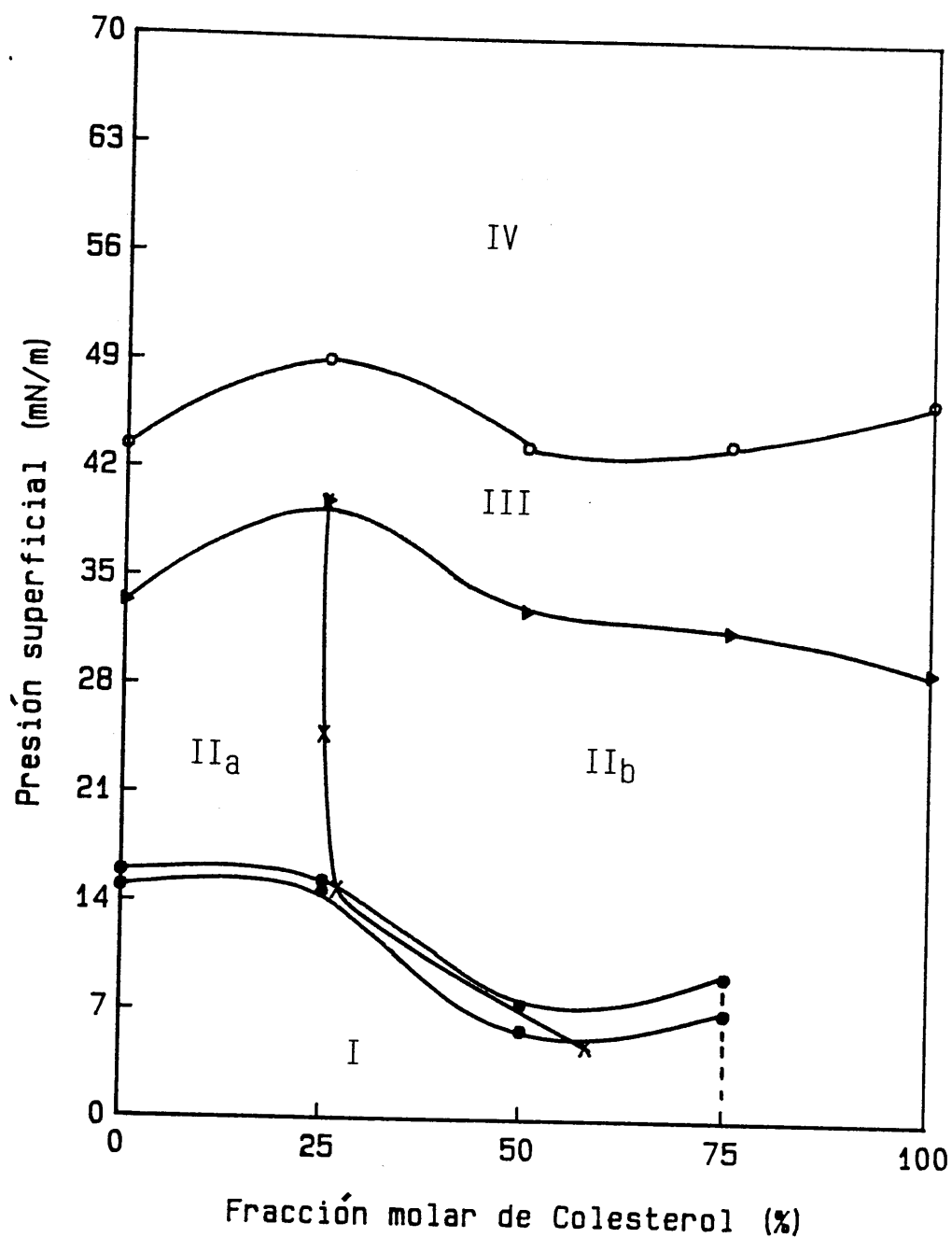


Fig. 3.14. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido litocólico a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$

superficiales en los que se encuentran las distintas monocapas en función de la composición relativa de las mismas.

Así, la región I define la zona en la que el ácido litocólico y el colesterol en películas monomoleculares mixtas se encuentran en estado líquido extendido. En resultados, esta zona se extiende hasta un 75% de colesterol, ya que las monocapas constituídas solo por colesterol se encuentran en estado condensado en todo el intervalo de temperaturas estudiado, incluida la temperatura de 25°C que aquí nos ocupa. Es de esperar, sin embargo, que esta región de transición se presente a mayores proporciones de colesterol, ya que la transición de fase que sufren todas las monocapas que contienen ácido litocólico, incluidas las de bajo contenido, como 25% de ácido biliar, tienen lugar en un intervalo de área/molécula relativamente amplio (ver Fig. 2.35); esto indica, que aún cuando la presencia de colesterol en la monocapa sea mayoritaria, las isoterma experimentales exhiben zonas de transición de fase principal. En nuestro caso, no han sido observadas porque no se ha estudiado el comportamiento del sistema para proporciones intermedias entre 75% y 100% de colesterol.

En esta figura (3.14) también observamos que la región comprendida entre los estados líquido extendido y líquido condensado es más extensa a proporciones intermedias de la monocapa. Este hecho puede interpretarse de nuevo, como debido a la existencia de una región en donde tiene lugar una separación de fases (Neuman, 1984).

Por encima de esta región todas las películas monomoleculares se encuentran en estado de líquido condensado, fase que en nuestro diagrama se anota como II.

Esta fase podemos dividirla en dos subfases o subregiones por una línea de máxima interacción, obtenida a partir de las gráficas área/molécula-fracción molar de colesterol (Figs. 2.43 y 2.44), donde se observan notables desviaciones negativas de un comportamiento lineal a

determinadas proporciones definidas. Este comportamiento que ya hemos observado y descrito para el caso de películas formadas por colesterol y lecitina se repite para los componentes que aquí estudiamos, y es lógico que así ocurra porque de nuevo estamos analizando las posibles interacciones entre dos compuestos que en monocapas se comportan de diferente manera. Uno de ellos se encuentra en estado completamente condensado y el otro presenta un carácter más extendido y por tanto, es susceptible de condensación por el primero. Así, a lo largo del estudio de estos diagramas de fase observaremos la presencia de líneas de máxima interacción solo cuando un componente ejerza un efecto condensante sobre el otro. Por tanto, esta línea nos permite delimitar dos subfases condensadas en las que los componentes interactúan menos entre sí y en las que por esta razón es posible pensar que en la región IIa el efecto debido al ácido litocólico es el predominante en la monocapa, mientras que en la región IIb lo es el debido al colesterol.

Así mismo, este efecto se ve reflejado en los valores de presión superficial de transición de fase secundaria que desde 0 hasta 25% de colesterol aumenta y a partir de este punto disminuye hasta un 100% de colesterol. Es lógico que esto ocurra, ya que en el primer intervalo las películas se encuentran menos condensadas que en el segundo y requieren más presión para pasar a un estadio de mayor condensación, como la región III de nuestro diagrama de fases, donde todas las películas monomoleculares formadas por ácido litocólico y colesterol se encuentran en estado de sólido condensado, y excepto a la fracción molar 50% de colesterol, ambos componentes son miscibles entre sí.

Finalmente, la fase IV, es la fase conocida como de colapso y cuyo estudio realizamos previamente en el anterior capítulo. Recordemos que las monocapas de estos componentes colapsan cuando aquellos son miscibles entre sí, excepto en el intervalo comprendido entre 50 y 75% de colesterol, donde se observa una zona de pendiente nula,

hecho que aplicando la regla de fases de Defay y Crisp nos indica la presencia de dos fases colapsadas, una rica en colesterol y otra en ácido litocólico.

Las siguientes figuras, 3.15-3.17, muestran los diagramas de fase para estos dos componentes a las temperaturas 30, 35 y 40°C respectivamente. Analizándolos observamos que la región de existencia de la fase I, es decir, la fase que representa el estado más extendido de las películas, aumenta al hacerlo la temperatura como cabía esperar. Incluso a las temperaturas 35 y 40°C, esta zona no se cierra por la izquierda, ya que el ácido litocólico no sufre ningún cambio de fase en la monocapa, encontrándose siempre como líquido extendido. Por tanto, este hecho se refleja también en la fase II cuya región de existencia es bastante más pequeña a estas temperaturas que a 25 y 30°C.

Todas las películas formadas por ambos componentes y por ácido litocólico y colesterol respectivamente, sufren un cambio de fase secundario en todo el intervalo estudiado de temperaturas. Sin embargo, éstos presentan distinto significado físico, ya que el estado de partida antes de la transición es diferente según la monocapa y la temperatura. A 25 y 30°C, Figs. 3.14 y 3.15, la línea que divide la zona II de la III representa un cambio conformacional dentro del estado "condensado" o "cristalino", que según Albrecht (1978) cabría atribuir a un cambio de orientación de las cadenas, pasando de estar inclinadas respecto a la superficie (estado "líquido condensado") a orientarse perpendiculares (estado "sólido condensado"). Sin embargo, a 35 y 40°C, el ácido litocólico no sufre un cambio de fase principal, las películas manifiestan carácter extendido, por lo que el cambio de fase secundario que experimentan a 32.2 y 31.2 mNm⁻¹ a 35 y 40°C respectivamente, será un cambio conformacional dentro del estado líquido extendido, atribuible de nuevo a un cambio de orientación en las cadenas. Así pues, las monocapas formadas por ácido litocólico colapsan sin alcanzar el estado condensado. Este hecho se refleja en la

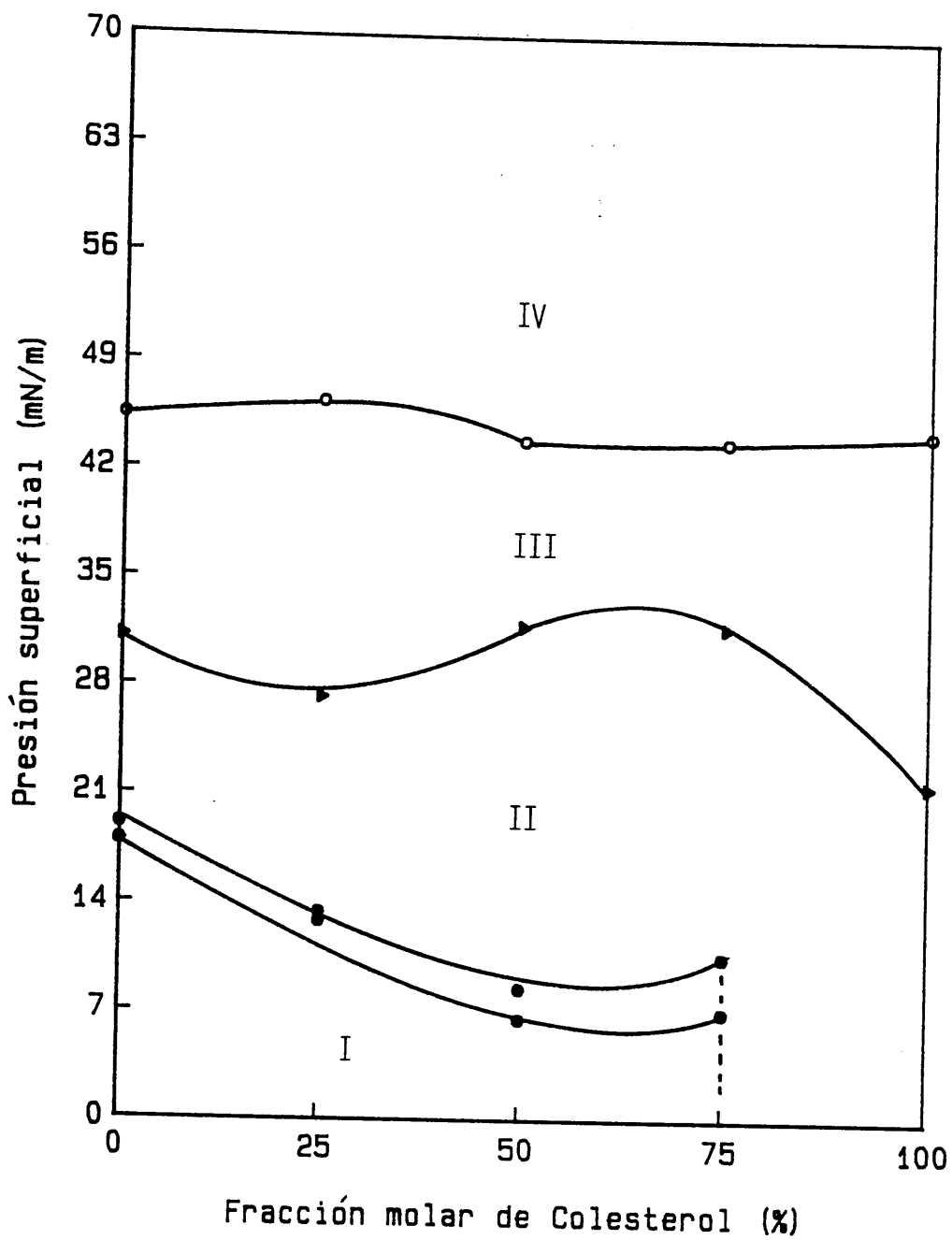


Fig. 3.15. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido litocólico a $T= 30^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

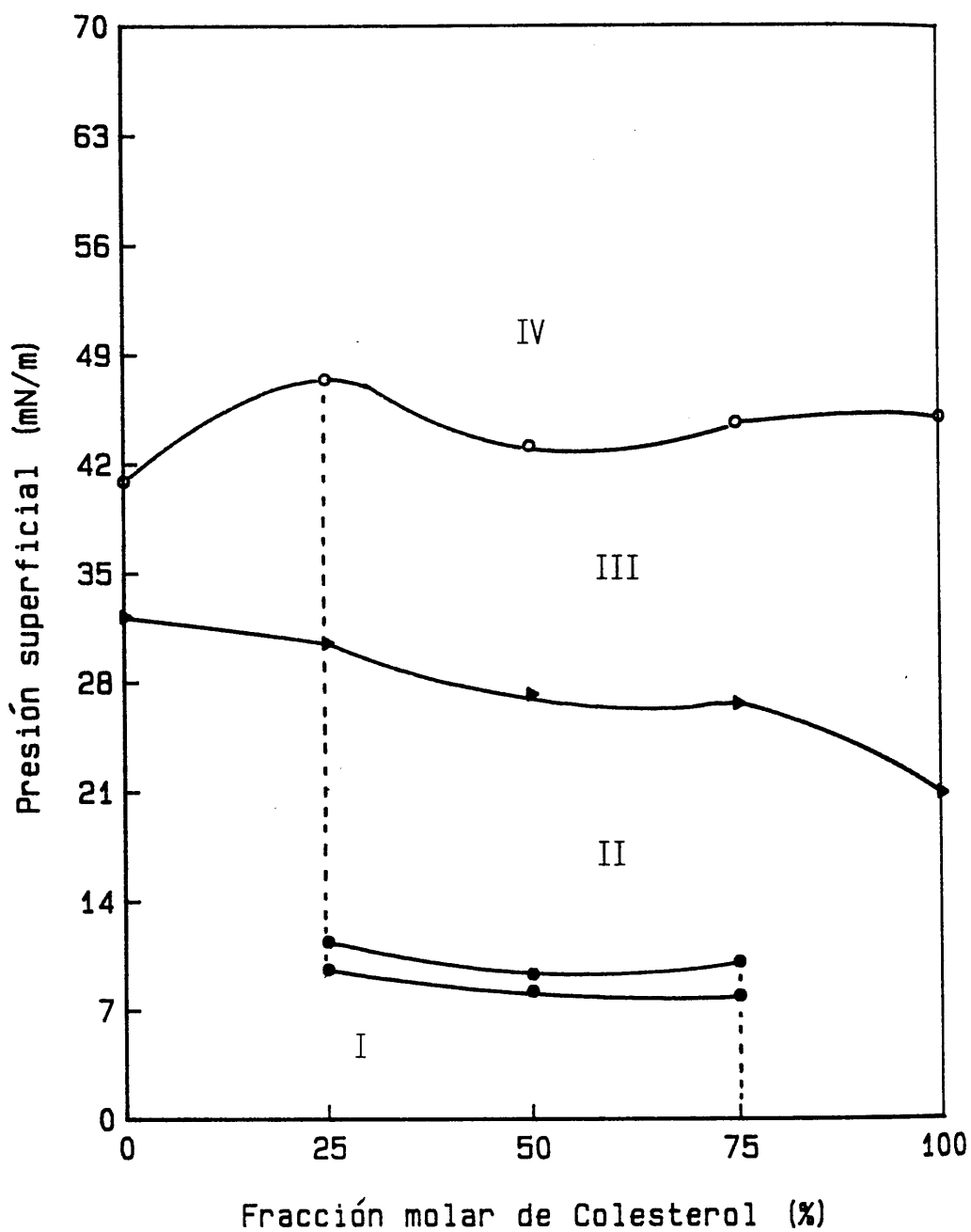


Fig. 3.16. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido litocólico a $T= 35^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

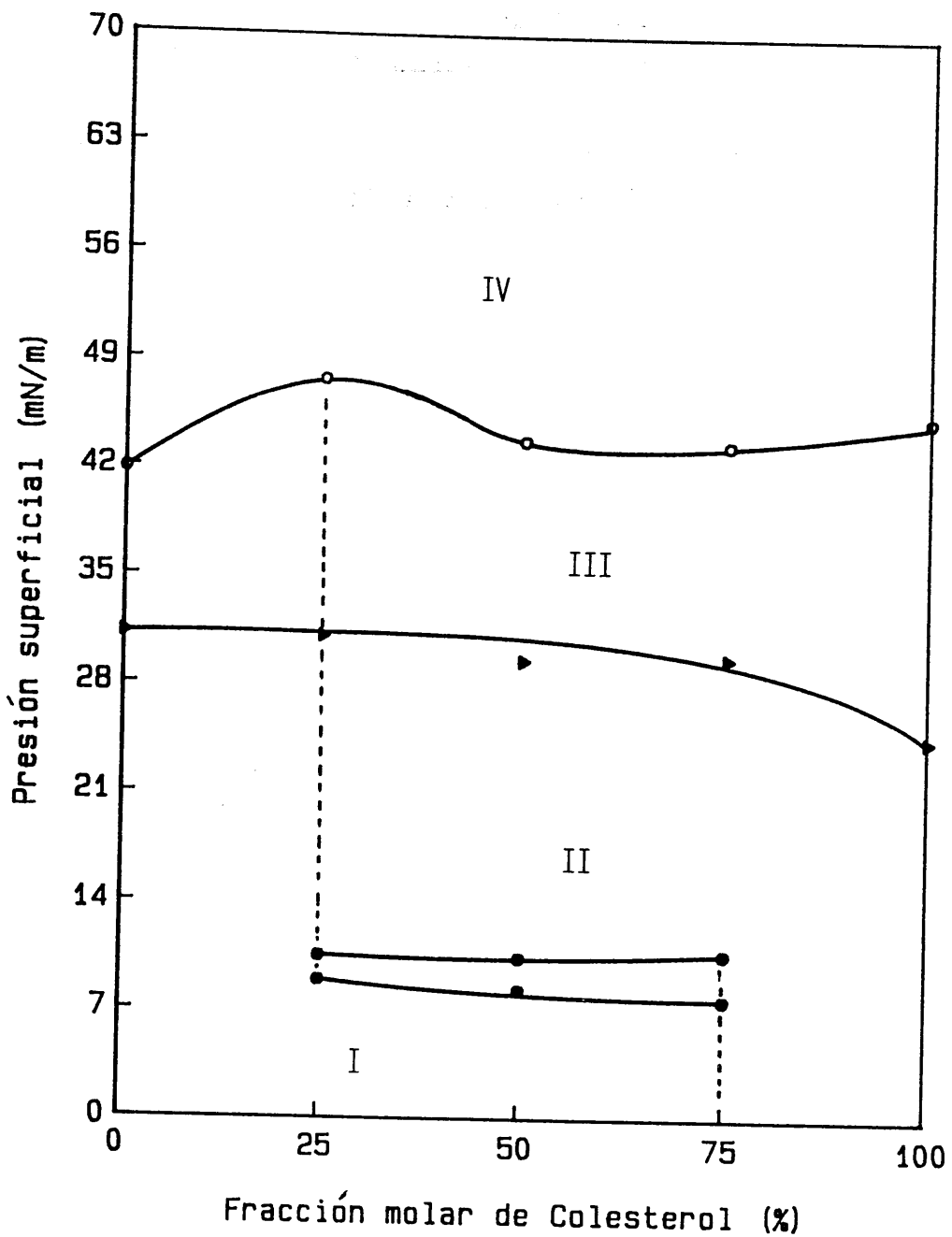


Fig. 3.17. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido litocólico a $T= 40^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

forma de los diagramas de fase. Si comparamos las figuras 3.14 y 3.15 con las figuras 3.16 y 3.17 observamos que en las primeras, la línea de separación de las regiones II y III presenta zonas de acusada pendiente, a diferencia de la representada en las últimas figuras. En el primer caso, la presión superficial de transición de líquido condensado a sólido condensado dependerá de la cuantía de la interacción entre ambos componentes, en el último por el contrario, tenemos dos tipos de cambio de fase secundario, el que presentan las películas monomoleculares de ácido litocólico, y el que exhiben el resto de las películas, donde la presión superficial a la que tiene lugar este cambio disminuye con el porcentaje de colesterol en la monocapa, ya que este último componente es el que se encuentra más condensado en películas monomoleculares.

En este apartado también señalamos que las presiones superficiales a las que tienen lugar los cambios de fase secundarios dentro del estado de líquido extendido, son relativamente altas, indicando que a estas condiciones experimentales las moléculas de ácido litocólico se encuentran relativamente separadas en las monocapas. No ocurre así cuando disminuimos la temperatura, ya que no solo sufren un cambio a estado condensado, sino que por debajo de esta transición no experimentan lo que acabamos de describir como cambio de fase secundario en estado extendido. Es decir, la compresión de las películas monomoleculares no incidirá de manera relevante en la predisposición de las moléculas a interaccionar entre sí o a orientarse de una forma determinada, o lo que es lo mismo, el efecto de la temperatura sobre las monocapas es mayor que el efecto de compresión de las mismas.

Finalmente, nos queda recordar la forma en que colapsan estas monocapas a temperaturas superiores a 25°C. Del estudio realizado en el anterior capítulo, podemos decir en función de la concentración de colesterol, que las películas monomoleculares formadas solo por ácido litocólico

colapsan en estado de líquido extendido, el resto de éstas dan lugar a la formación de una sola fase colapsada donde los componentes se encuentran miscibles entre sí, excepto a la proporción de 50% de colesterol, donde no se observan desviaciones de la linealidad propuestas para las áreas moleculares en las figuras área/molécula-fracción molar de colesterol, y por tanto la fase colapsada está formada solo por el componente menos estable, es decir, por el componente que presenta la menor presión superficial de colapso, que en todos los casos, excepto a 30°C, es el ácido litocólico.

4.3. DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS FORMADAS POR L- α -FOSFATIDILCOLINA Y ACIDO LITOCOLICO

El estudio de los diagramas de fases obtenidos para el sistema binario L- α -fosfatidilcolina y ácido litocólico en películas monomoleculares, demuestra que ambos componentes interaccionan de manera sensiblemente diferente a como lo hacen los anteriores sistemas estudiados, ya que como hemos comentado antes, en esta ocasión ningún componente ejerce un efecto importante de condensación sobre el otro.

Los distintos diagramas, obtenidos a las temperaturas 25, 30, 35 y 40°C podemos observarlos en las figuras 3.18-3.21, respectivamente.

Los diagramas son análogos para las temperaturas 25 y 30°C. En ellos distinguimos (Figs. 3.18 y 3.19) una zona I representativa de monocapas en estado extendido. La región de transición entre las zonas I, y II, correspondiente al cambio de fase de líquido extendido a líquido condensado, se extiende a todo el intervalo de composición. Esta zona de cambio es más amplia a proporciones intermedias, indicando de nuevo la posibilidad de una separación de fases entre ambos componentes dentro de la misma. La línea que separa las zonas II y III representa un cambio de fase secundario entre los estados líquido condensado y sólido

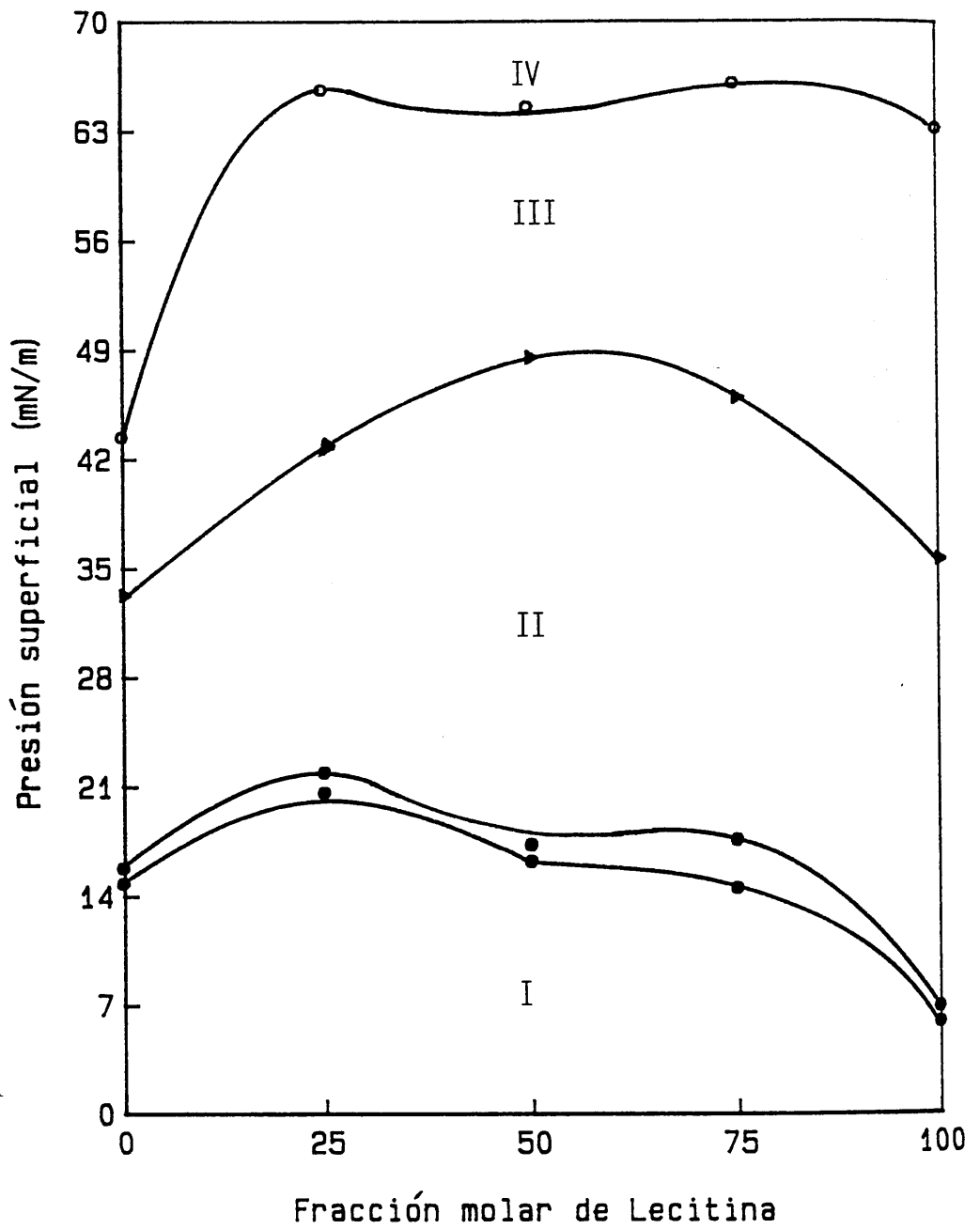


Fig. 3.18. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido litocólico a $T= 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

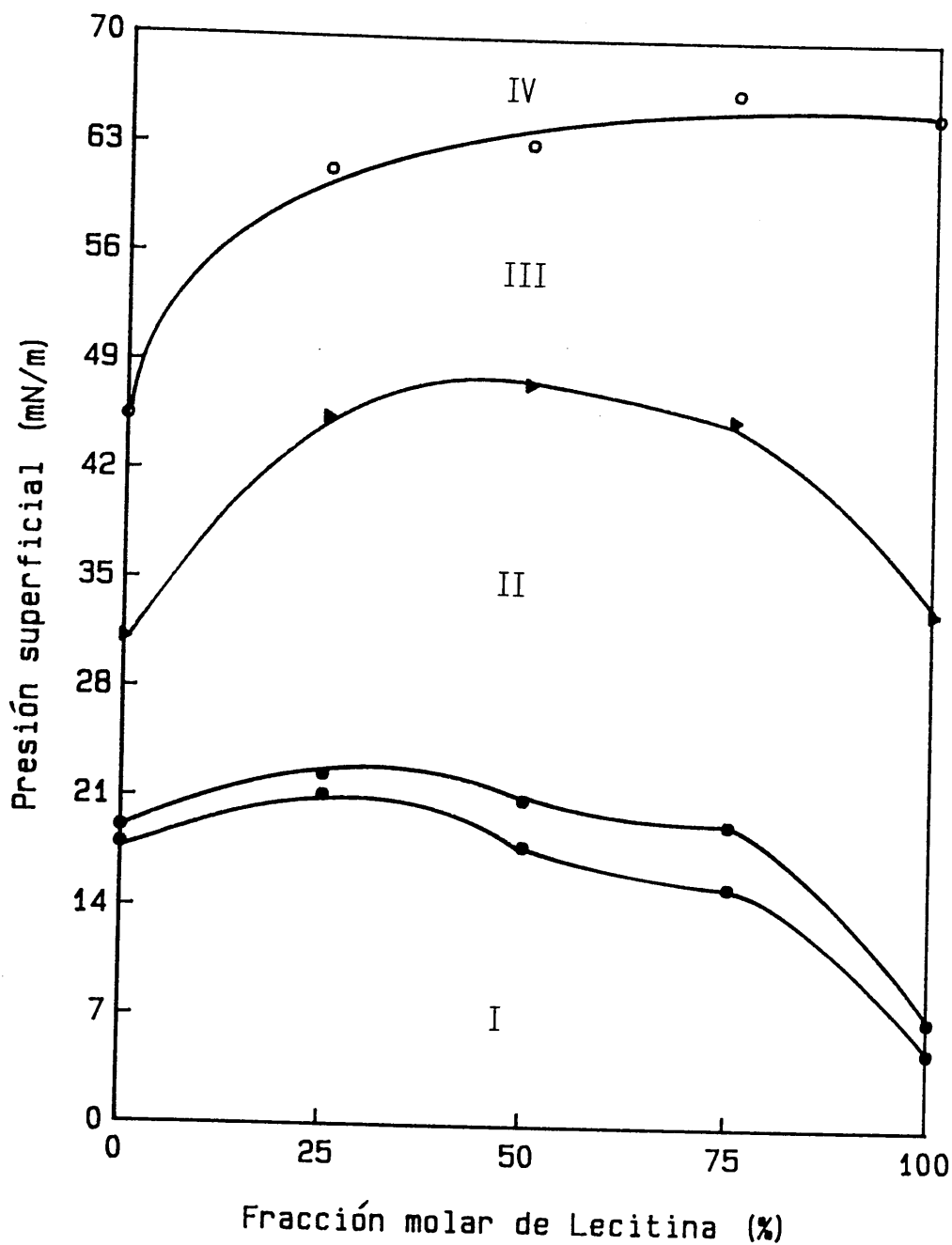


Fig. 3.19. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido litocólico a $T= 30^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

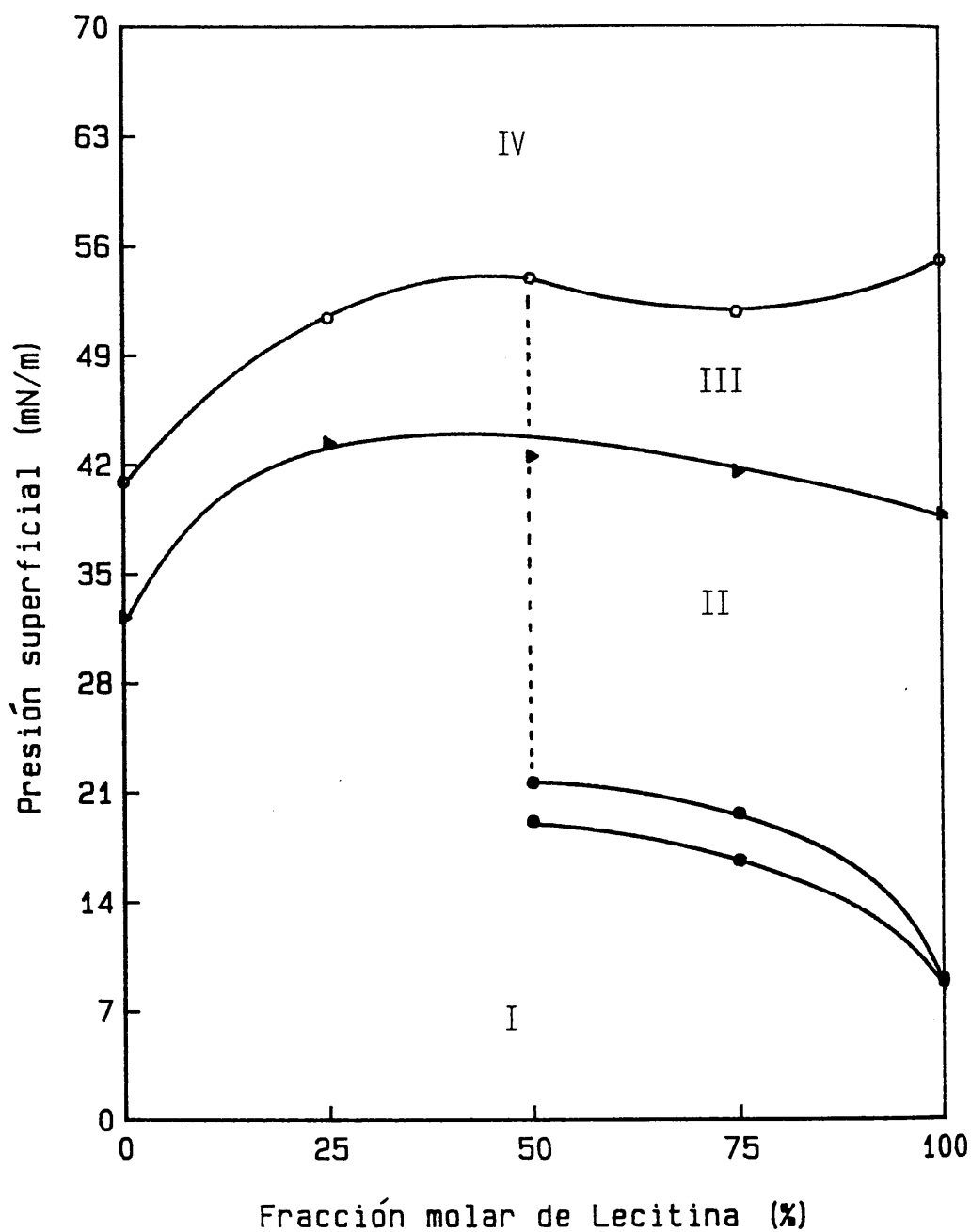


Fig. 3.20. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido litocólico a $T= 35^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

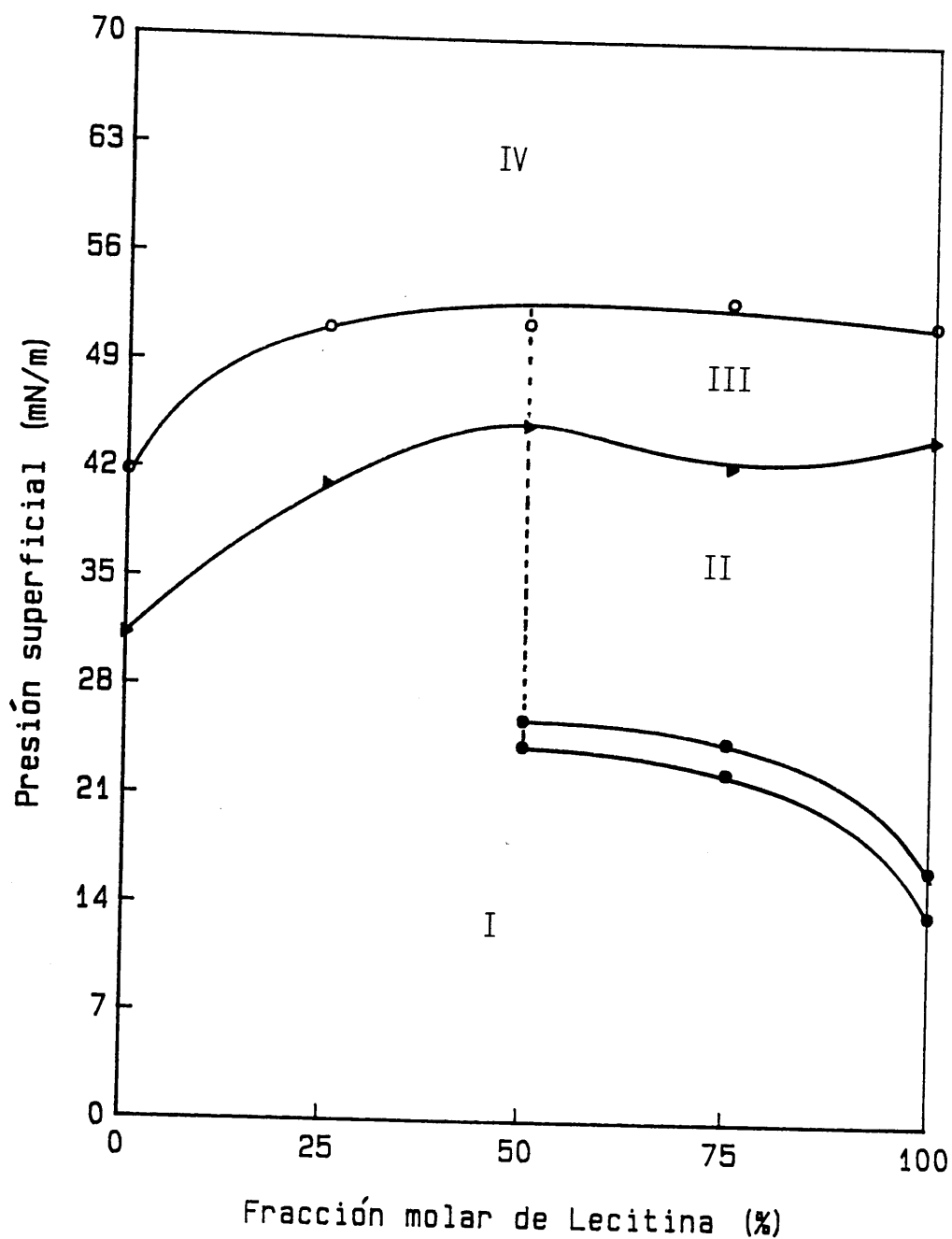


Fig. 3.21. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido litocólico a $T= 40^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

condensado. Finalmente, la fase colapsada, zona IV de los diagramas, queda separada de la III por la línea que une las distintas presiones de colapso de las monocapas. No obstante, podemos señalar alguna diferencia de comportamiento dependiendo de la temperatura. Así, a 30°C se observa una mayor región de líquido extendido que a 25°C.

Otra diferencia reside, según el estudio previo que llevamos a cabo en el capítulo II, en cómo queda configurada la fase de colapso, dependiendo de la temperatura. Efectivamente, en este estudio comprobamos que a $\Pi=40$ mNm⁻¹, es decir, a presiones superficiales altas y cercanas al colapso de las películas monomoleculares, cuando la temperatura del sistema es 25°C, el ácido litocólico y la lecitina interaccionan entre sí a proporciones inferiores a 75% de lecitina, mientras que a 30°C dejan de ser miscibles estos dos componentes a partir de un 50% de lecitina, por tanto, las fases colapsadas de estos dos diagramas de fase difieren en que en el primer caso, la fase está constituida por ambos componentes miscibles entre sí, hasta una fracción molar de un 75% de lecitina, donde a partir de esta composición la fase colapsada estará formada sólo por el componente menos estable, en este caso el ácido litocólico, permaneciendo en la monocapa la lecitina. A 30°C, ocurre lo mismo, pero a partir de la proporción 50% molar de lecitina, y en este caso el componente menos estable es el ácido litocólico.

Los diagramas de fase a 35 y 40°C son también análogos entre sí. La diferencia más notable con los dos que acabamos de comentar a 25 y 30°C, es que tanto las películas monomoleculares formadas por ácido litocólico y por 75% de ácido no sufren un cambio de fase de primer orden, es decir, la zona I representativa del estado extendido de las monocapas es bastante más amplia en los dos últimos casos. De nuevo, nos encontramos por tanto, con transiciones secundarias dentro del estado de líquido extendido, por lo que las fases anotadas como III, representan hasta un 50% de

lecitina monocapas en estado líquido extendido más condensadas que las anteriores, y a partir de esta composición, monocapas en estado sólido condensado.

Son destacables los altos valores de presión superficial a los que tiene lugar la transición de fase principal a 40°C comparándolos con el resto a temperaturas inferiores. También observamos nuevamente, la posibilidad de una separación de fase en la región comprendida entre líquido extendido y líquido condensado.

Finalmente, estos dos componentes a 35 y 40°C son inmiscibles entre sí a presiones superficiales cercanas al colapso de las monocapas, por lo que la fase colapsada en ambos casos estará constituida por el componente ácido litocólico, en todo el intervalo de composición, excepto a 40°C donde se observa entre 25 y 50% de lecitina, que la presión de colapso no cambia con la composición, en este caso, al ser el ácido litocólico y la lecitina inmiscibles entre sí, podemos pensar en la existencia de dos fases colapsadas, constituidas cada una por uno de los dos componentes; probablemente este hecho sea debido al alto valor de la temperatura, que a estas composiciones, no permite la permanencia de la lecitina en la monocapa cuando colapsa o sale fuera de la misma el ácido litocólico.

4.4. DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS FORMADAS POR COLESTEROL Y ACIDO QUENODEOXICOLICO

En las figuras 3.22-3.25 representamos los diagramas de fases obtenidos para la mezcla ácido quenodeoxicolico-colesterol en monocapas mixtas y simples a las temperaturas 25, 30, 35 y 40°C, respectivamente.

En la primera de estas figuras, a 25°C, observamos una región I, donde las películas se encuentran en estado de líquido extendido, y donde, incluso a presiones superficiales altas, no sufren ningún cambio de fase. Tan solo las

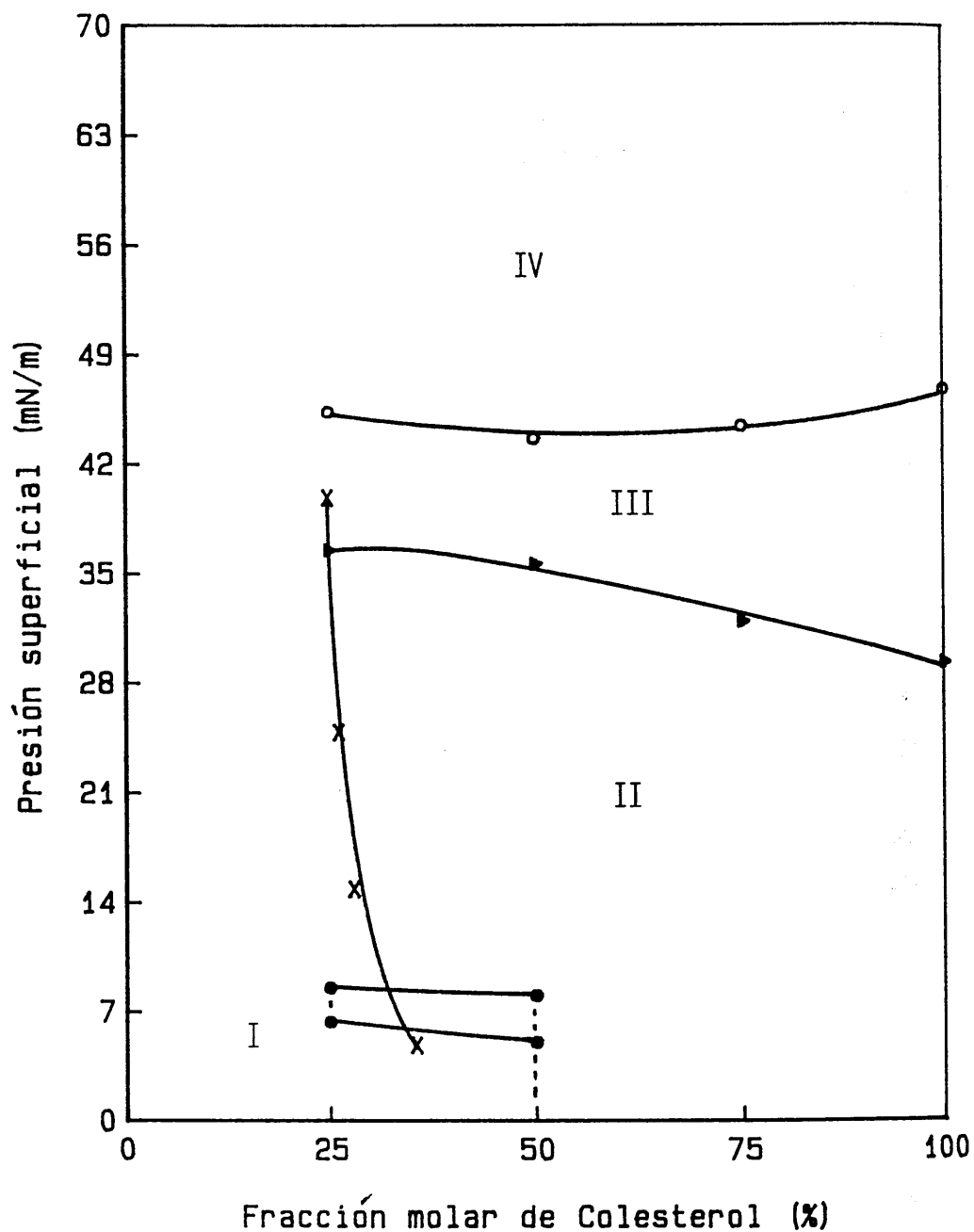


Fig. 3.22. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido quenodeoxicólico a $T= 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

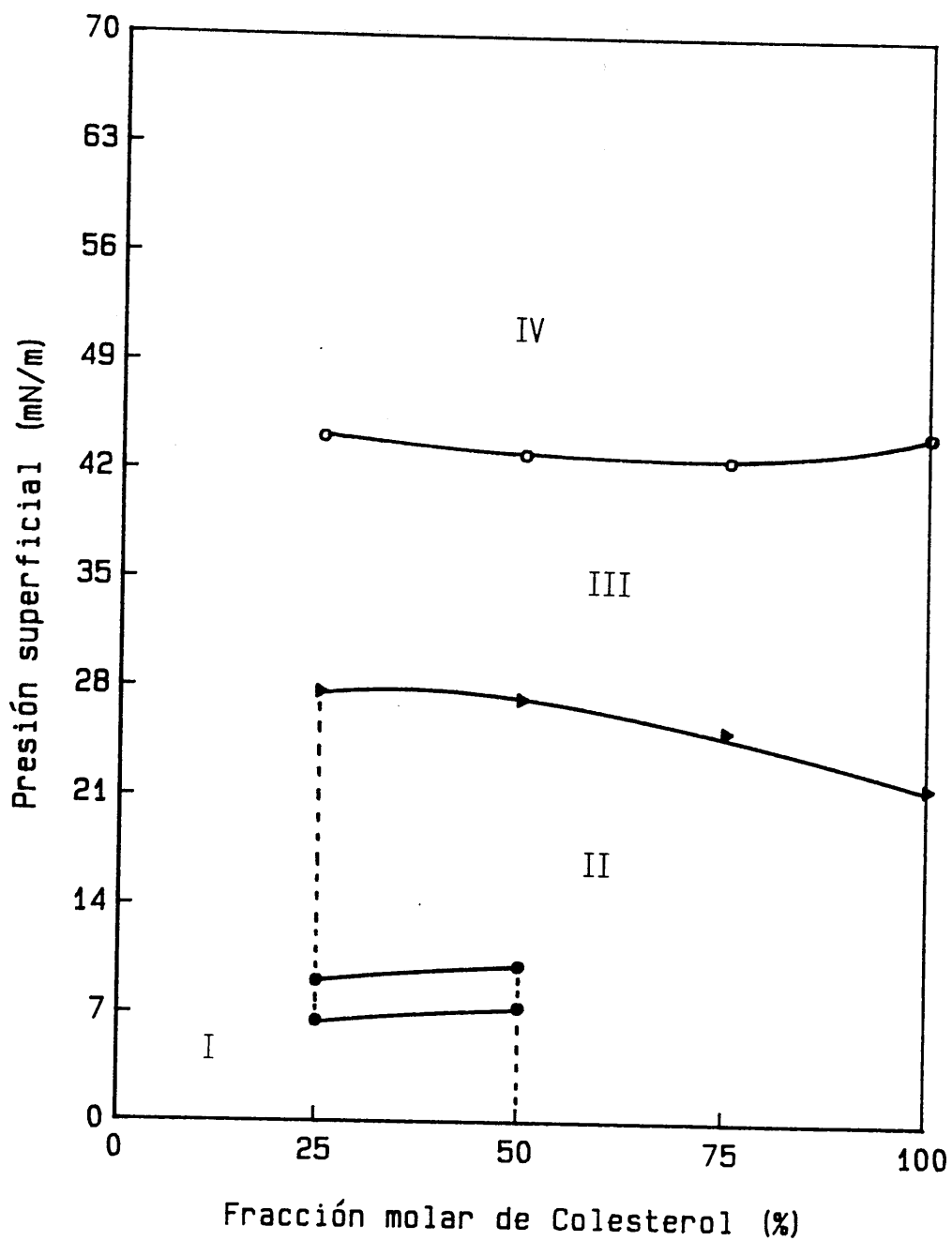


Fig. 3.23. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido quenodeoxicólico a $T = 30^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$

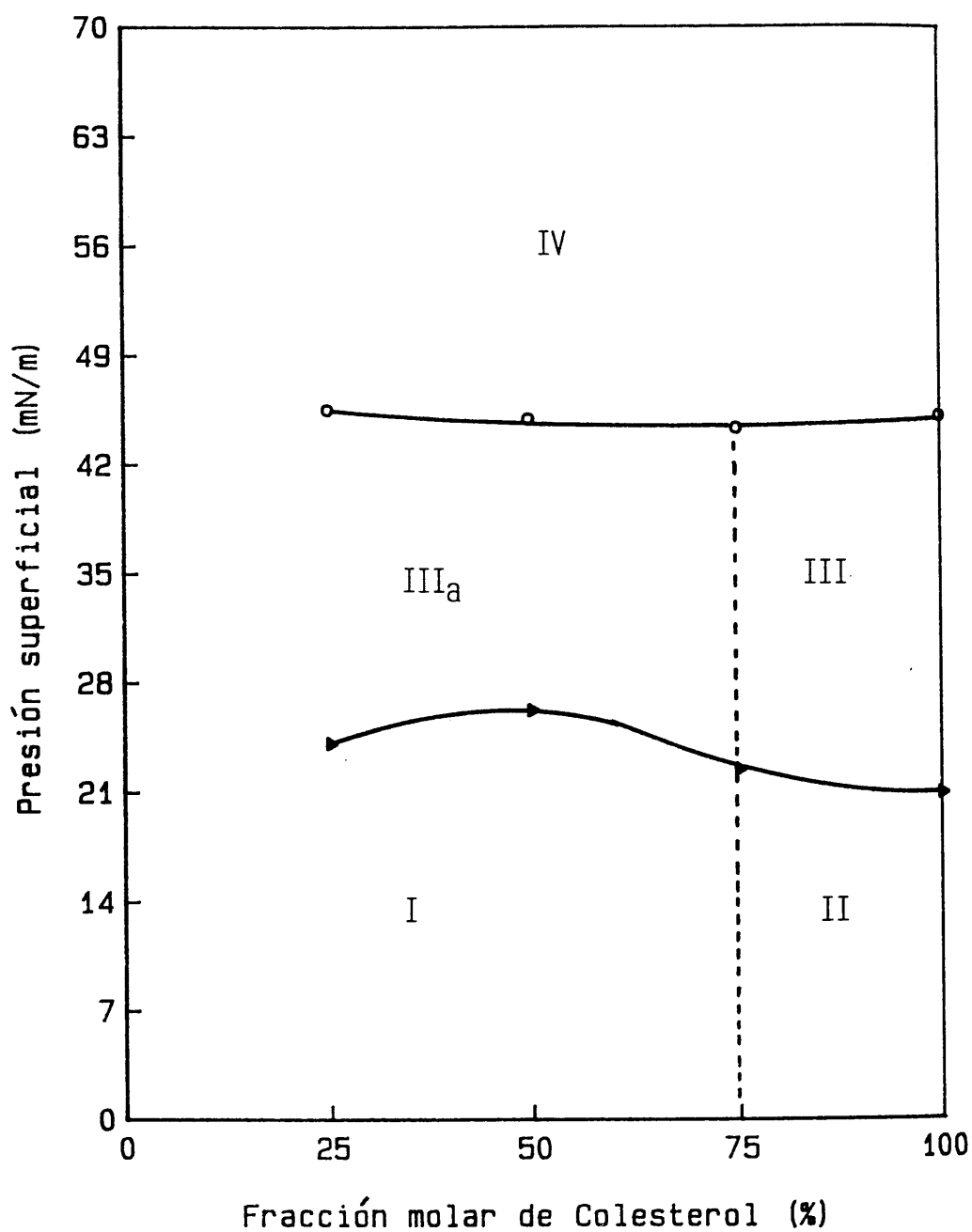


Fig. 3.24. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido quenodeoxicólico a $T=35^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=6.00$

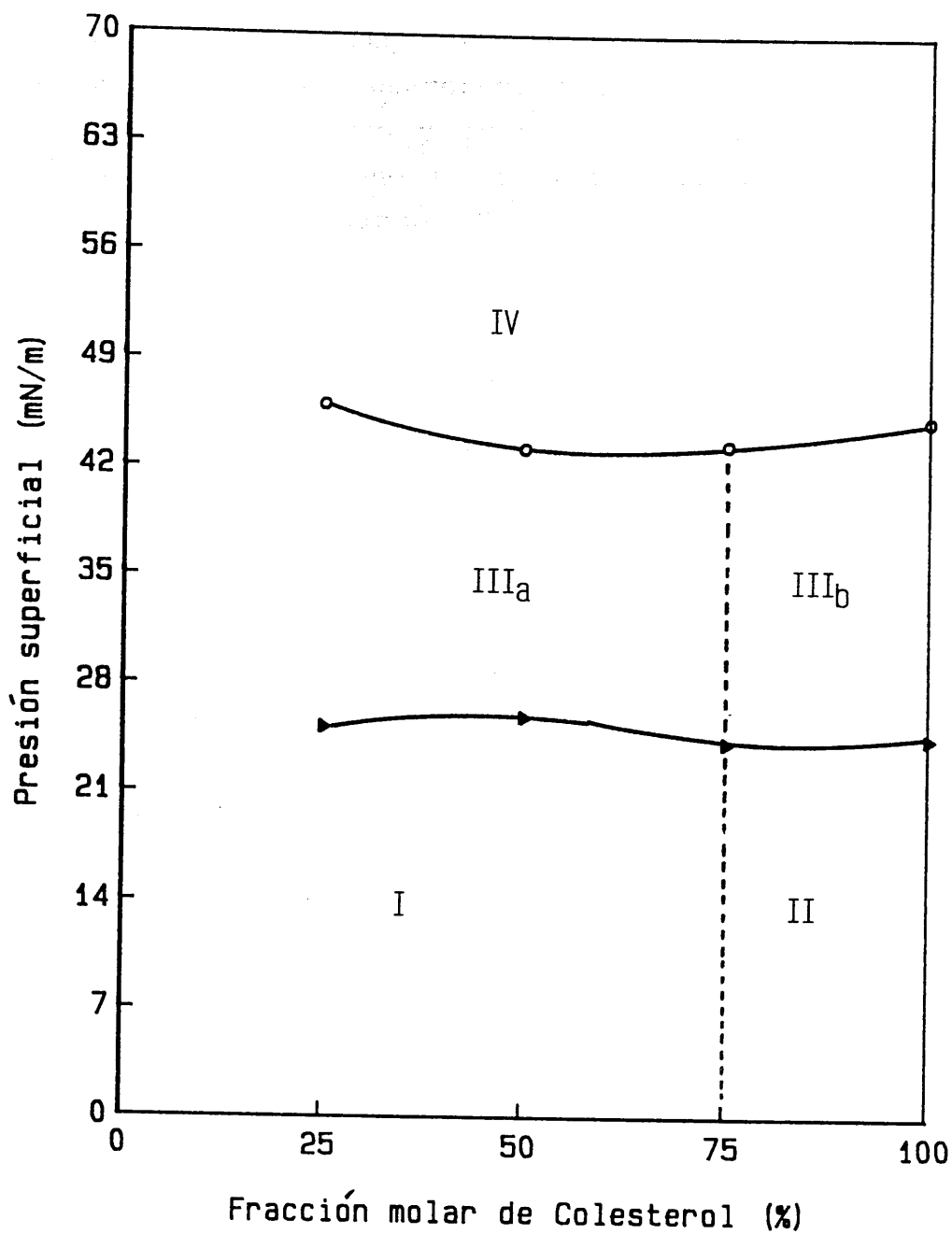


Fig. 3.25. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido quenodeoxicólico a $T=40^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=6.00$

monocapas formadas por 25 y 50% de colesterol experimentan un cambio de fase principal entre los estados líquido extendido y líquido condensado. Las películas monomoleculares con colesterol puro y con 75% de colesterol y 25% de ácido quenodeoxicólico se encuentran en estado de líquido condensado, zona II. Es decir, todas las transiciones de fase secundarias observadas en la línea que divide las regiones II y III son transiciones entre los estados líquido y sólido condensados.

La línea de máxima interacción, que prácticamente divide la región de estado extendido respecto de la correspondiente al condensado, se encuentra en torno a 25% de colesterol; a esta proporción, el colesterol ejerce un gran efecto condensante sobre el ácido quenodeoxicólico e incluso a altas presiones superficiales los componentes son miscibles entre sí, a diferencia de la composición 50% de colesterol, a la cuál, este ácido biliar y el colesterol son inmiscibles. Este hecho da lugar a que la fase colapsada, IV, esté formada por ambos compuestos miscibles entre sí, excepto la constituida a partir de una monocapa con 50% de colesterol, que sólo contendrá a éste, ya que el ácido quenodeoxicólico es mucho más estable en dicha monocapa.

Podemos afirmar que la estabilidad de éste último componente es alta, porque no se observa colapso alguno de las monocapas formadas sólo por ácido quenodeoxicólico, no solo a 25°C, sino en todo el intervalo de temperaturas estudiado.

A 30°C, se obtiene un diagrama de fases similar al anterior, aunque en este caso no hemos representado la línea de máxima interacción, ya que como dijimos en otra ocasión, a temperaturas superiores a 25°C no realizamos un estudio de miscibilidad a presiones superficiales intermedias; sin embargo, la forma de las isothermas y los resultados obtenidos al determinar los cambios de fase indican que esta línea debe encontrarse también en torno a 25% de colesterol.

El resto de los diagramas de fases a 35 y 40°C son

bastante más simples, ya que ninguna monocapa sufre una transición de fase principal.

A estas temperaturas, las monocapas formadas por ácido quenodeoxicólico, 25 y 50% de colesterol son líquido extendido, y a partir de esta proporción hasta colesterol puro, las películas monomoleculares presentan carácter de líquido condensado. Así pues, las transiciones de fase secundarias que dividen estos estado de la región III del diagrama, serán en el primer caso un cambio conformacional dentro del estado extendido y en el segundo caso, un paso de líquido a sólido condensado. De nuevo nos encontramos con una diferencia poco significativa en los valores de presión superficial correspondientes a dos cambios de fase secundarios diferentes, esto nos hace pensar que este valor de presión depende más de la composición de la película que del estado de la misma.

La fase colapsada, región IV, a 35 y 40°C, está formada por ambos componentes miscibles entre sí.

4.5. DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS FORMADAS POR L- α -FOSFATIDILCOLINA Y ACIDO QUENODEOXICOLICO

Los cambios de fase que sufren películas monomoleculares constituídas por ácido quenodeoxicólico, lecitina y mexclas de ambos, están representados en los diagramas de fases de las figuras 3.26-3.29 a las temperaturas 25, 30, 35 y 40°C, respectivamente.

La forma de estos diagramas no varía con la temperatura. Así, observamos que la zona I, representativa del líquido extendido es muy amplia, ya que todas las monocapas, formadas por ácido quenodeoxicólico y 25% de lecitina con 75% de este ácido biliar, al comprimir las dan lugar a isoterms típicas de este estado. Por el contrario, las isoterms correspondientes a películas monomoleculares formadas por lecitina pura, 50 y 75% de lecitina, exhiben

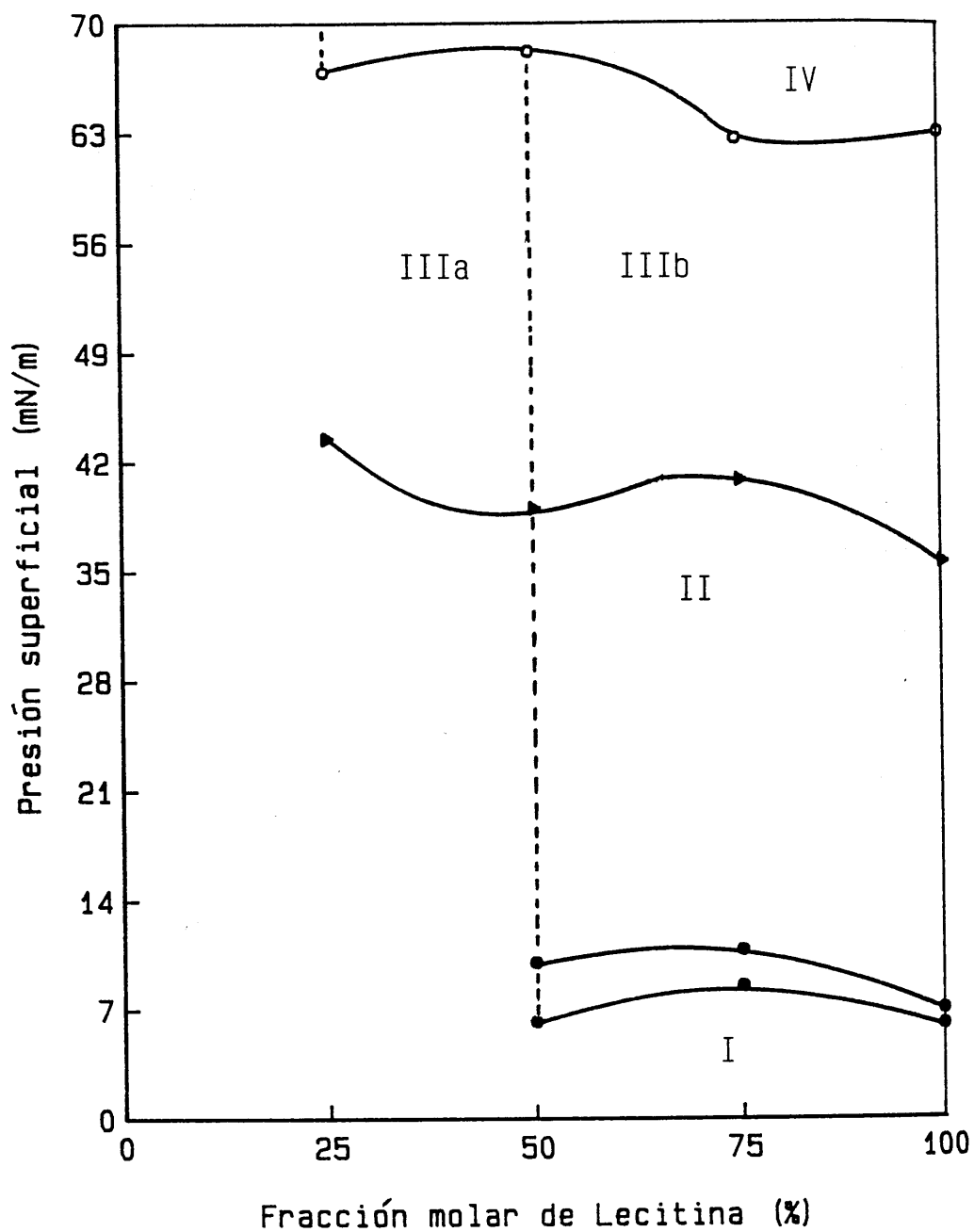


Fig. 3.26. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido quenodeoxicólico a T= 25°C y pH= 6.00

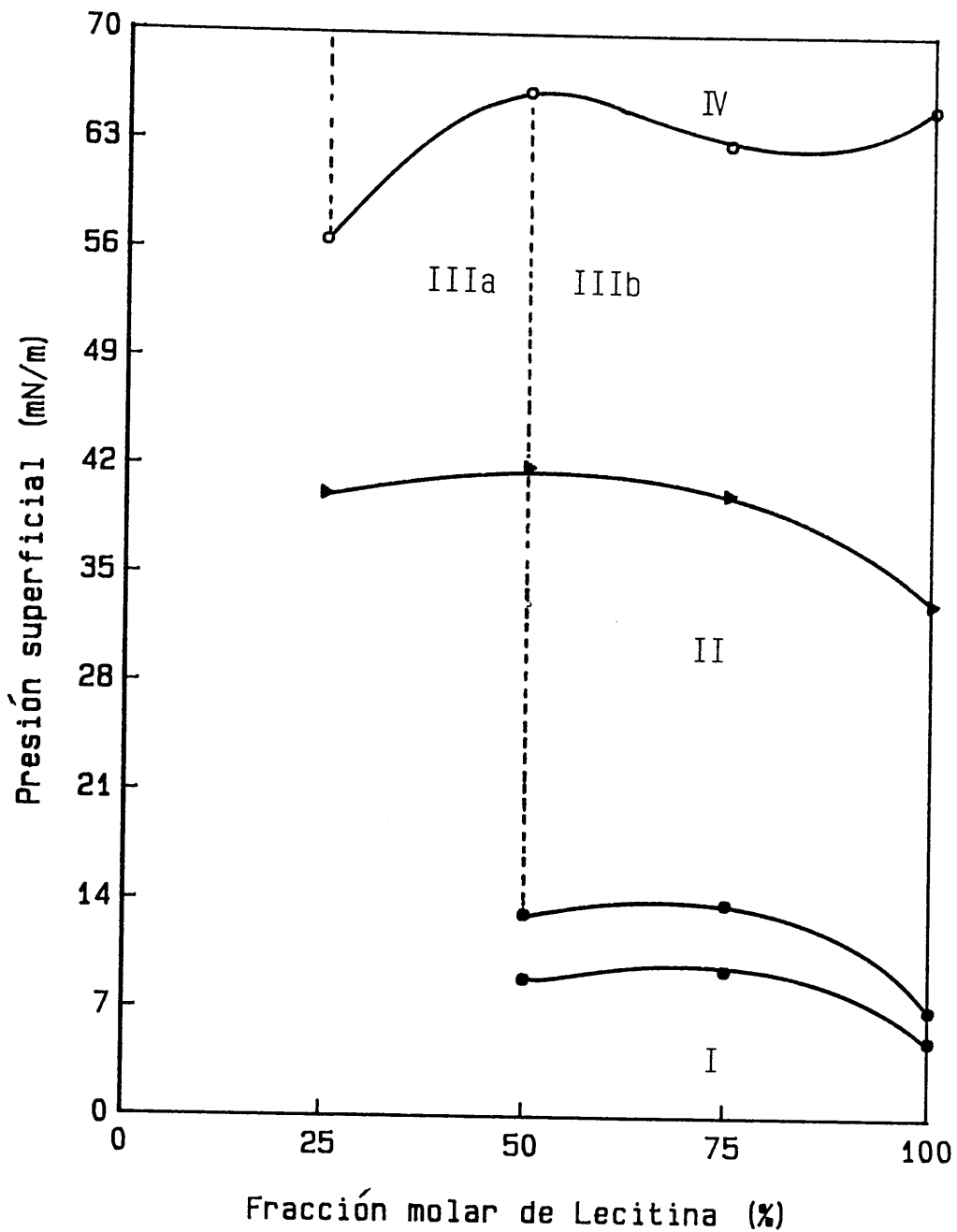


Fig. 3.27. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido quenodeoxicólico a $T = 30^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$

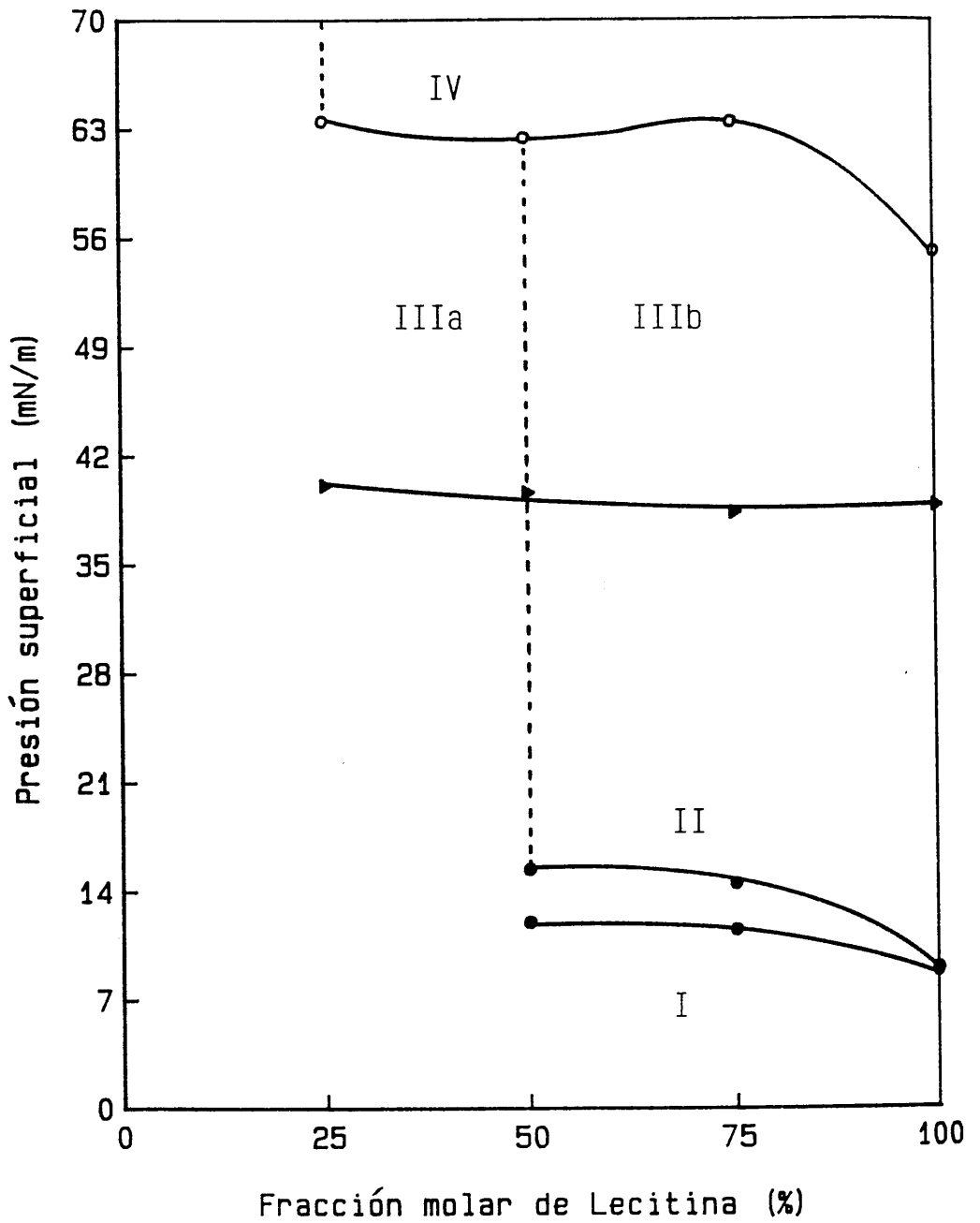


Fig. 3.28. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido quenodeoxicólico a T= 35°C y pH= 6.00

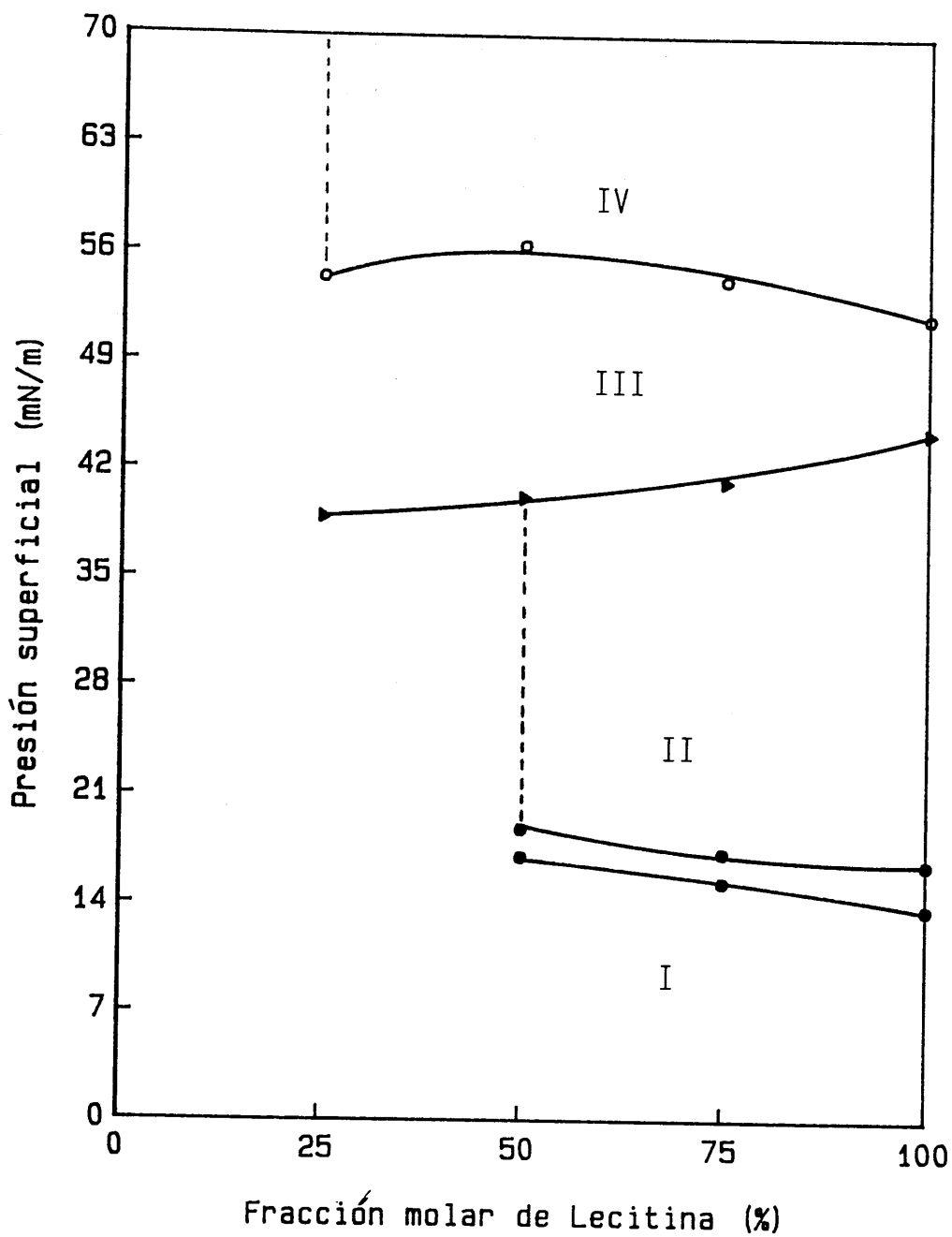


Fig. 3.29. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido quenodeoxicólico a $T= 40^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

zonas de transición de fase de primer orden entre líquido extendido y líquido condensado (región II). Por lo tanto, nuevamente distinguimos en estos diagramas dos tipos de cambios conformacionales, uno dentro del estado líquido extendido y otro que supone la transición entre líquido condensado y sólido condensado. Este hecho nos lleva a dividir la región III en dos subregiones IIIa y IIIb representativas de las anteriores fases, respectivamente.

En lo que se refiere al colapso de las películas, en estos diagramas destacamos la no observación de la presión de colapso para monocapas formadas por ácido quenodeoxicólico, es decir, este compuesto a las condiciones experimentales estudiadas presenta una alta estabilidad en monocapas, ya que la compresión de dichas películas no provoca su salida fuera de las mismas.

A 25, 30 y 35°C. estos componentes son inmiscibles entre sí a presiones superficiales cercanas al colapso de las monocapas, por lo que la fase colapsada, para el resto de las películas monomoleculares, está formada sólo por L- α -fosfatidilcolina, permaneciendo la cantidad correspondiente de ácido quenodeoxicólico en la monocapa. A 40°C, observamos una débil condensación de la lecitina sobre el ácido quenodeoxicólico a presiones superficiales altas (Fig. 2.91), es decir, podemos pensar en la presencia de ambos componentes en la fase colapsada, a esta temperatura.

Resumiendo, las distintas fases que forman el ácido quenodeoxicólico y la lecitina L- α -fosfatidilcolina, en distintos estadios de compresión de sus películas, no se altera en el intervalo de temperaturas entre 25 y 40°C. Como única diferencia de comportamiento con la temperatura, podemos indicar el distinto grado de interacción que presentan estos compuestos, en la forma discutida en el apartado 4.5. del capítulo anterior.

4.6. DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS FORMADAS POR COLESTEROL Y ACIDO DEOXCICOLICO

El primer diagrama de fases construido con las distintas presiones superficiales a las que los componentes ácido deoxicólico y colesterol interaccionan más, sufren transiciones de fase y colapsan, está representado en la figura 3.30 a las condiciones experimentales $T=25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=6.00$.

En este diagrama observamos una zona I correspondiente a películas monomoleculares en estado líquido extendido. Probablemente esta zona sea más pequeña de lo que figura en este diagrama, ya que en realidad las únicas monocapas que observamos extendidas, son las constituidas únicamente por ácido deoxicólico puro, y al mismo tiempo observamos que el efecto condensante del colesterol sobre este ácido biliar es muy pronunciado, ya que el resto de las isoterms registradas para películas monomoleculares mixtas formadas por cualquier composición de estos dos compuestos tiene carácter de líquido condensado.

Por tanto, un primer hecho a destacar es la ausencia de transiciones de fase de primer orden para estos dos componentes a esta temperatura.

La línea de máxima interacción obtenida a partir de los datos extraídos de la figura 2.102 (ver capítulo II), nos permite una vez más, distinguir dos subregiones dentro del estado líquido condensado anotado como II, dentro de las cuales predominará el componente mayoritario en la monocapa. No obstante, cabe señalar que en esta zona de bajas presiones superficiales, aproximadamente hasta 25 mNm^{-1} , estos componentes son miscibles entre sí y además forman películas condensadas, por lo que el predominio de un componente sobre el otro en cada subregión lo contemplamos siempre en términos relativos refiriéndonos a la zona de máxima interacción entre el colesterol y el ácido deoxicólico.

Así pues, las transiciones secundarias que

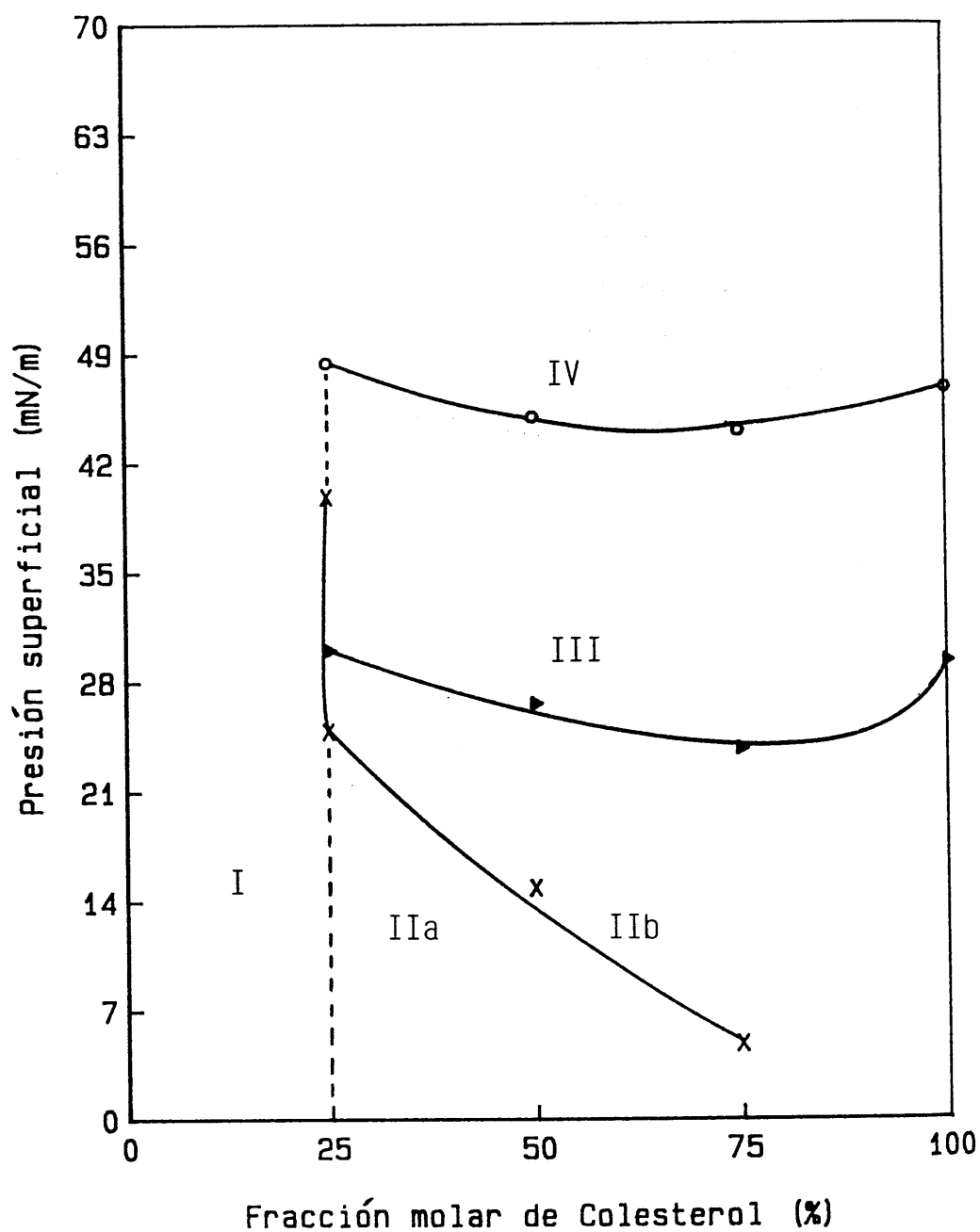


Fig. 3.30. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido deoxicólico a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$

observamos entre las zonas II y III las interpretamos como cambios conformacionales dentro del estado condensado, es decir, como un cambio de fase entre los estados líquido condensado y sólido condensado.

Finalmente, a presiones superficiales cercanas al colapso de las monocapas, estos componentes siguen siendo algo miscibles entre sí y la presión de colapso varía continuamente con la composición, es decir, podemos proponer una fase colapsada formada por ácido deoxicólico y colesterol interaccionando entre sí. Tan solo queda recordar, como ya dijimos en el anterior capítulo, que las películas monomoleculares formadas sólo por ácido deoxicólico, no alcanzan su colapso a las condiciones experimentales estudiadas.

La descripción realizada para el anterior diagrama de fases a 25°C y pH=6.00, la hacemos extensiva al resto de las temperaturas estudiadas, 30, 35 y 40°C, para las que los diagramas de fase respectivos están recogidos en las figuras 3.31-3.33. Esto nos indica que la constitución de las fases obtenidas para estos dos compuestos y los cambios de fase que tienen lugar no se modifican con la temperatura, hecho indicativo de la estabilidad del ácido biliar deoxicólico y del colesterol en películas monomoleculares comprimidas a las condiciones experimentales señaladas.

4.7. DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS FORMADAS POR L- α - FOSFATIDILCOLINA Y ACIDO DEOXICOLICO

En las figuras 3.34-3.37 se presentan los diagramas de fase constituidos, a las temperaturas 25, 30, 35 y 40°C, respectivamente, con las presiones superficiales de transición obtenidas de las isotermas correspondientes a películas monomoleculares simples y mixtas constituidas por ácido deoxicólico y L- α - fosfatidilcolina.

A diferencia de las mezclas estudiadas en el

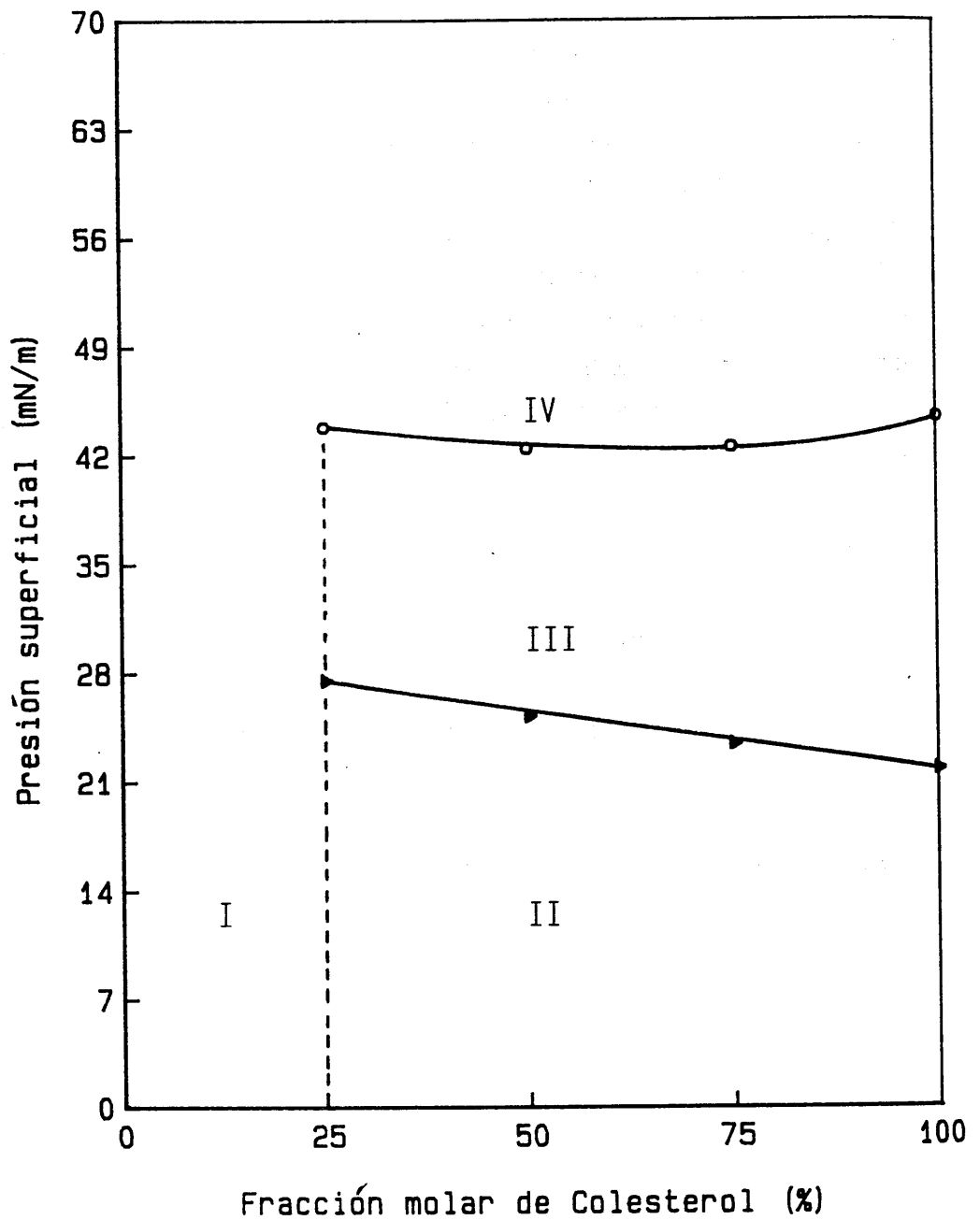


Fig. 3.31. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido deoxicólico a $T = 30^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$

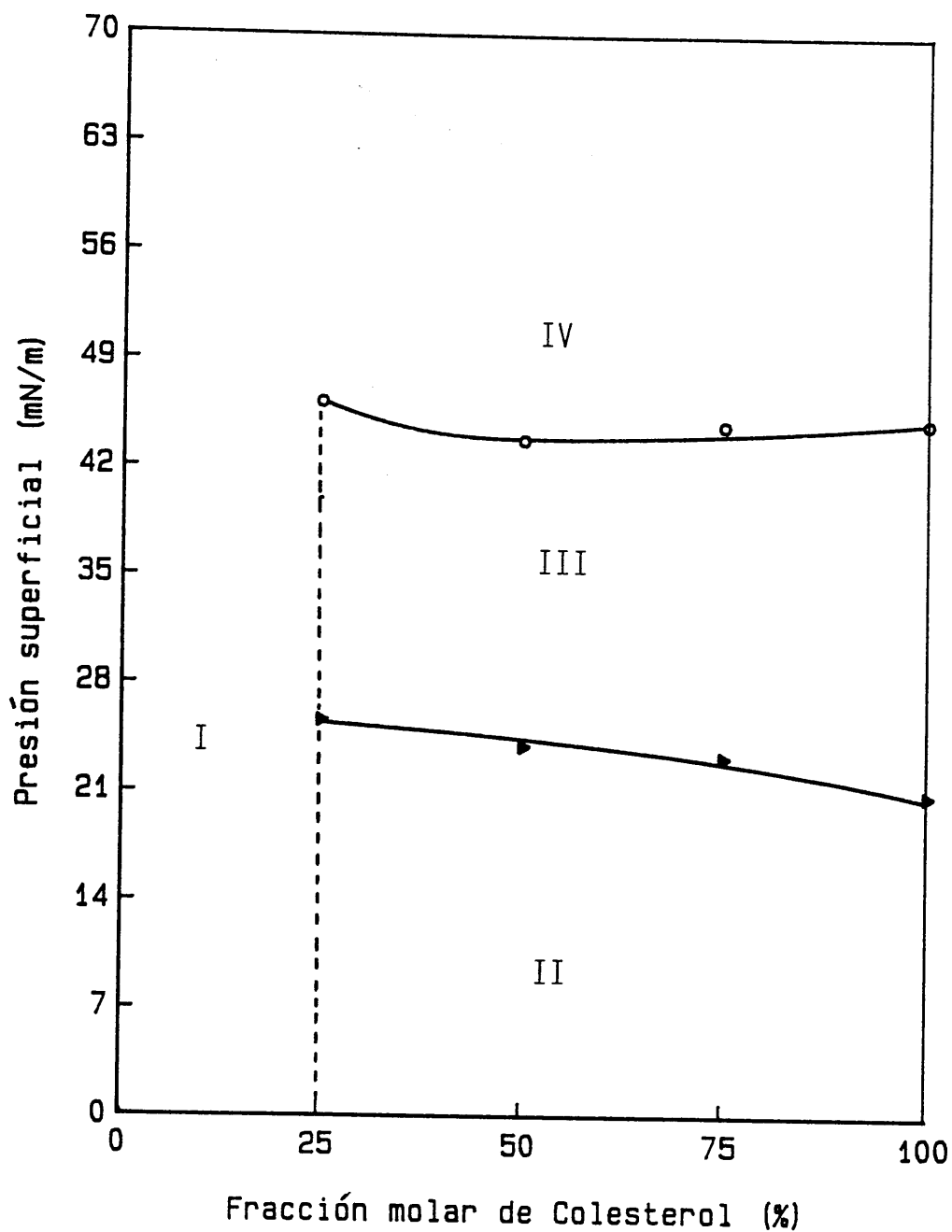


Fig. 3.32. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido deoxicólico a $T= 35^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

REPRODUCIDO DE: *Journal of Colloid and Interface Science*
BIBLIOTECA
UNIVERSIDAD DE CALDAS

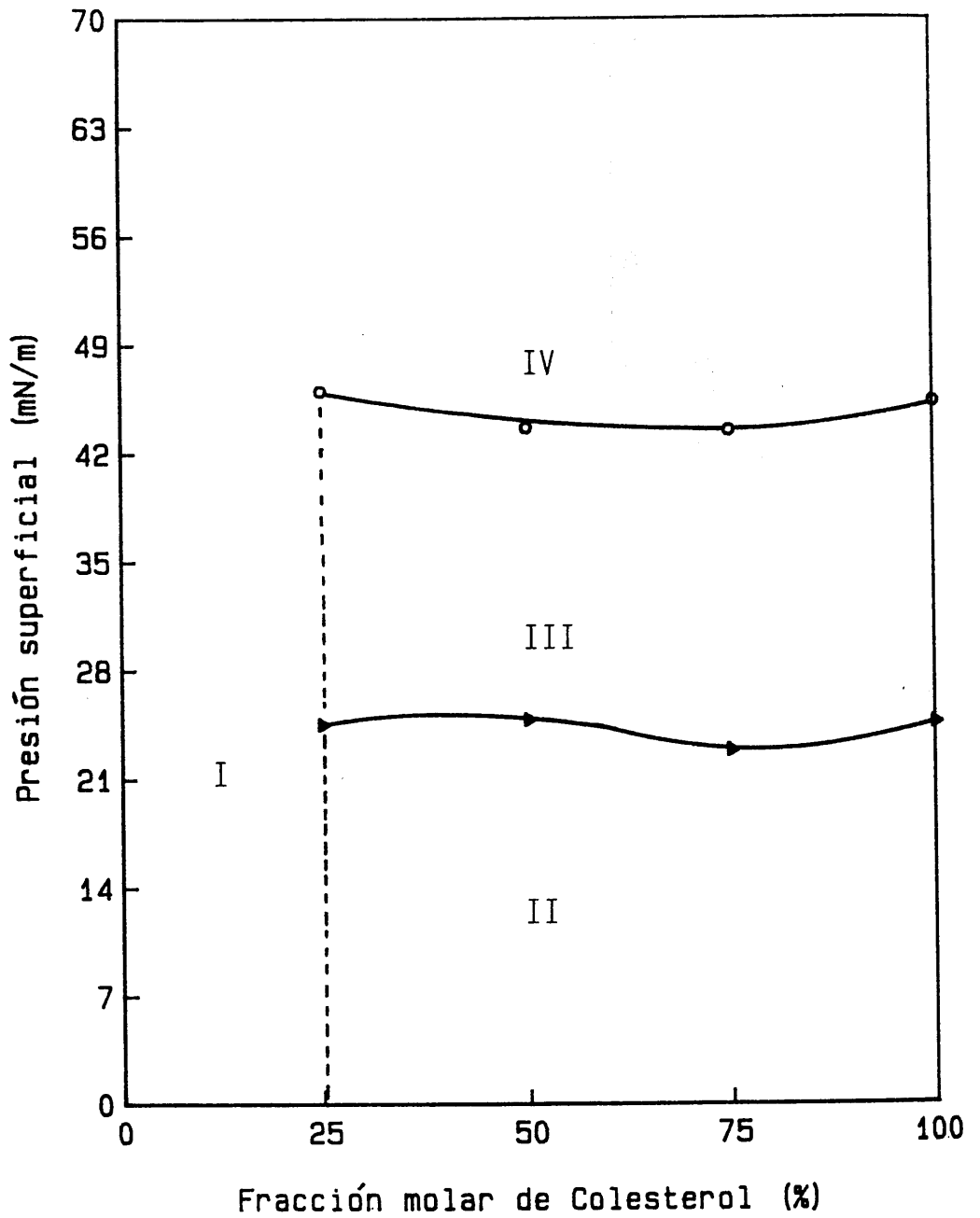


Fig. 3.33. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido deoxicólico a $T= 40^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

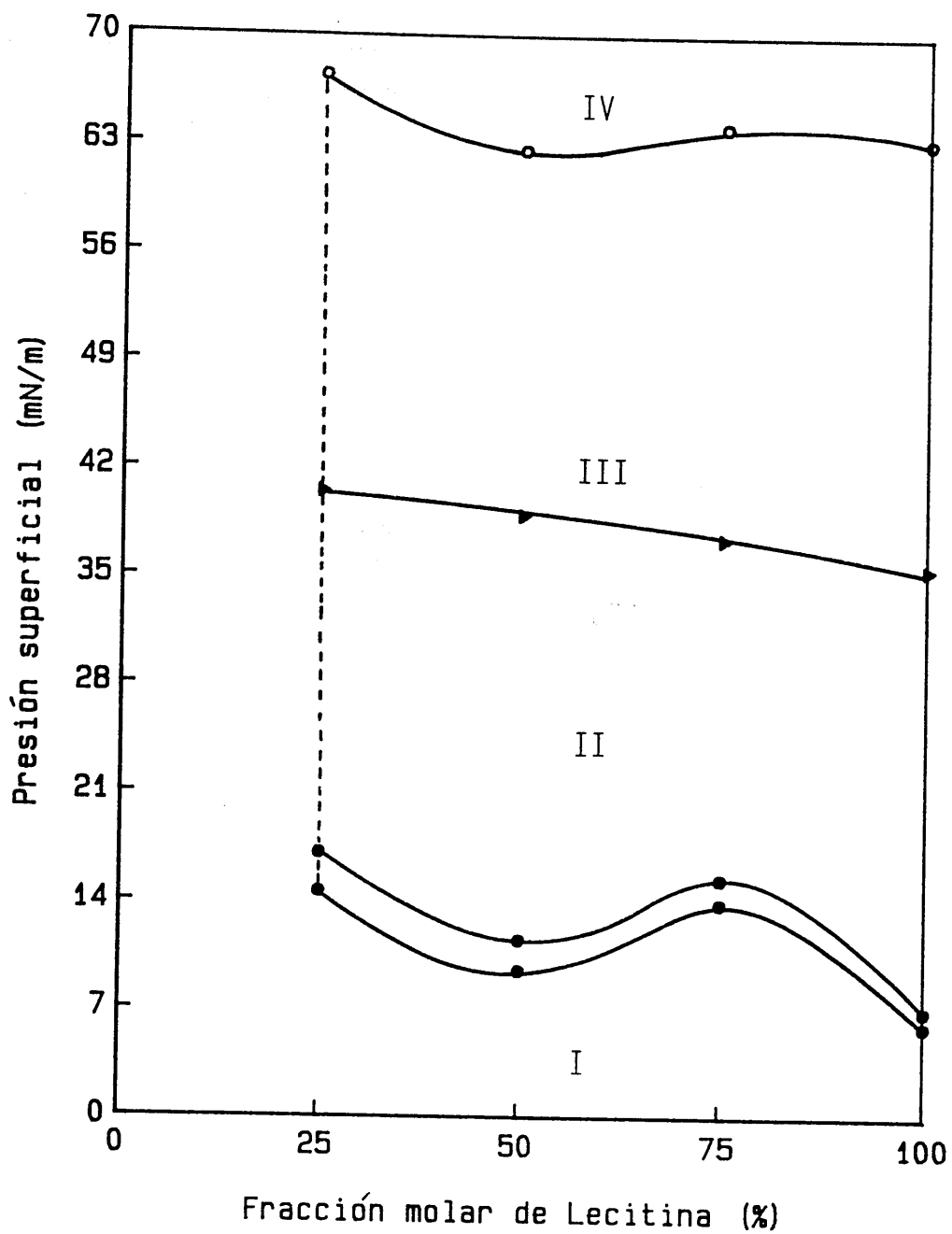


Fig. 3.34. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido deoxicólico a $T= 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

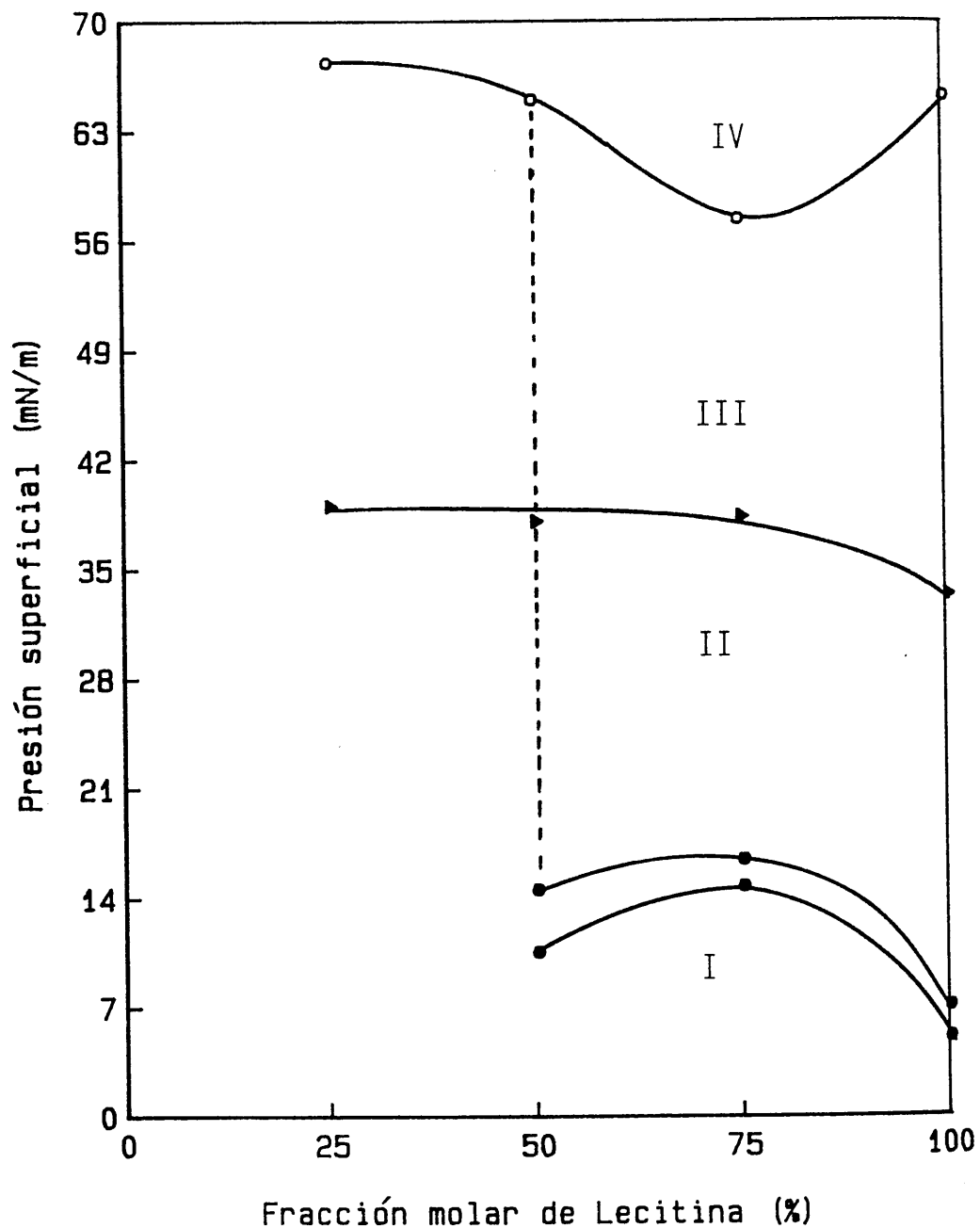


Fig. 3.35. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido deoxicólico a $T=30^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=6.00$

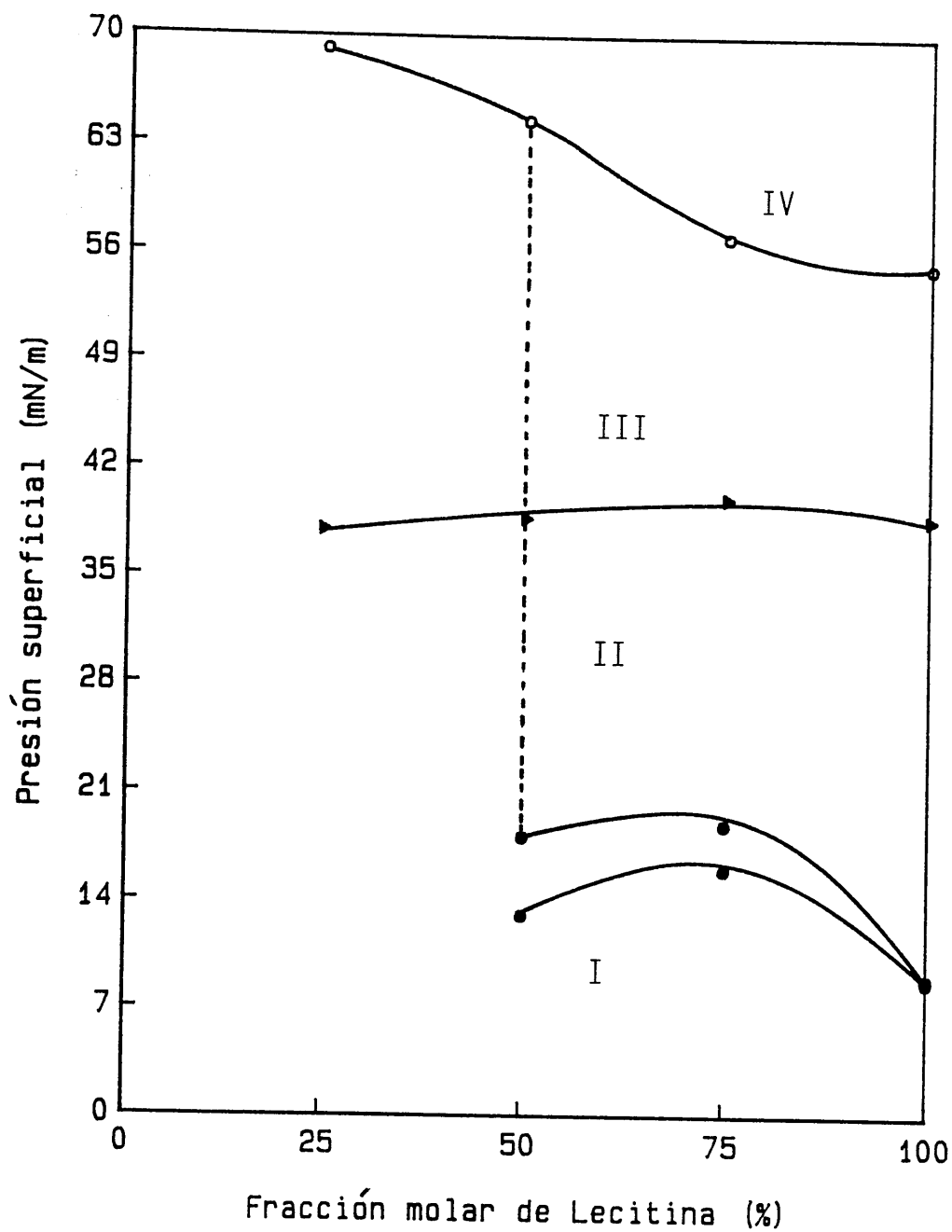


Fig. 3.36. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido deoxicólico a $T=35^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=6.00$

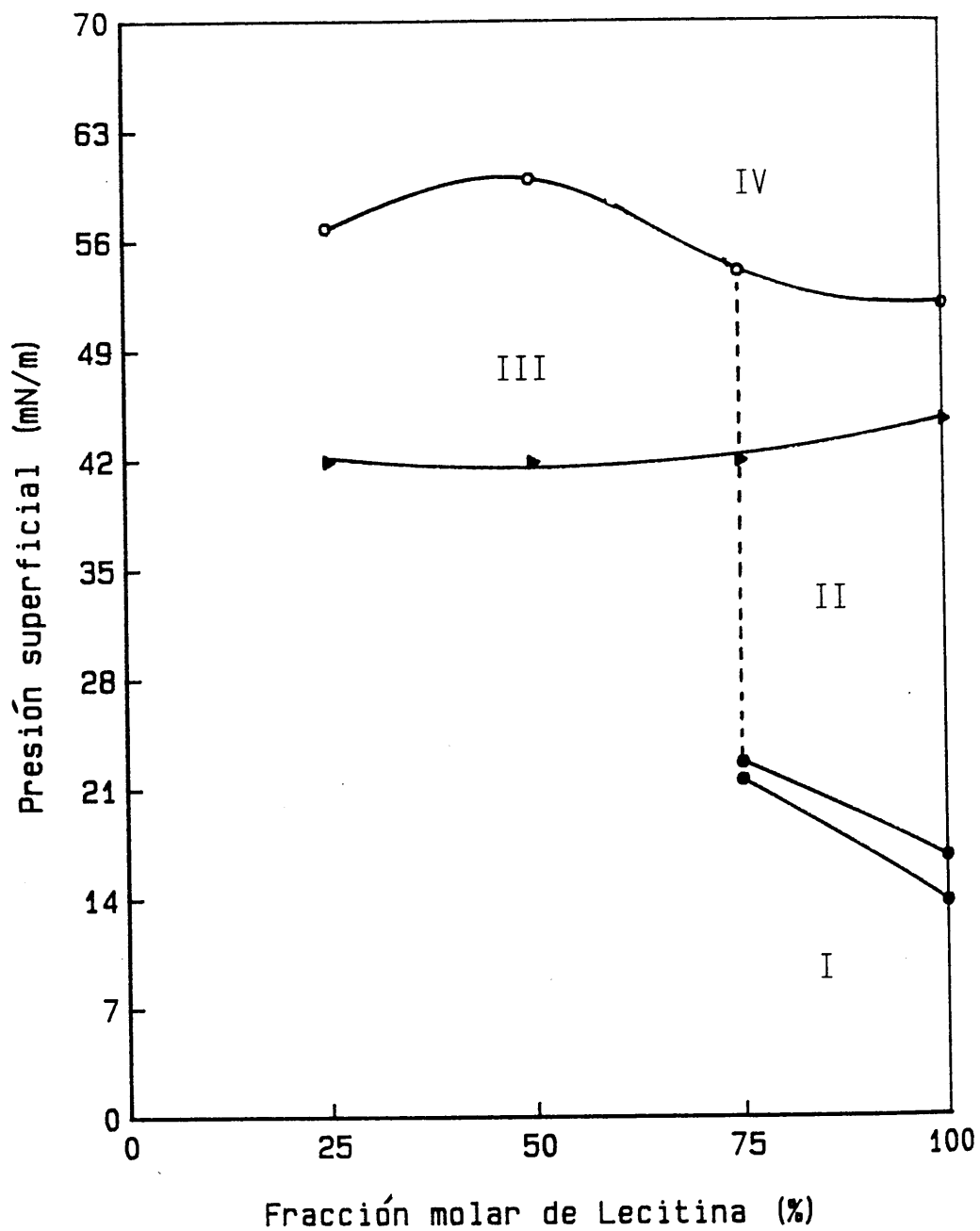


Fig. 3.37. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido deoxicólico a $T= 40^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

anterior apartado, en este caso, ninguna de las monocapas formadas por ácido deoxicólico o lecitina poseen un carácter marcadamente condensado, por lo que el efecto condensante predominante en el caso de la presencia de colesterol, desaparece cuando este compuesto lo sustituimos por L- -fosfatidilcolina.

En el primer diagrama de fases, (Fig. 3.34 a 25°C), observamos que todas las películas monomoleculares, excepto las formadas por ácido deoxicólico como único componente, sufren una transición principal entre los estados líquido extendido y líquido condensado. Por tanto, todas las transiciones de fase secundarias que aparecen entre las regiones II y III se interpretan como cambios conformacionales entre los estados líquido y sólido condensados.

En todas estas fases los componentes ácido deoxicólico y lecitina son miscibles entre sí, ya que las gráficas área/molécula-composición (Figs. 2.121 y 2.122) presentan desviaciones positivas, por lo que a veces interaccionan extendiéndose entre sí. Sin embargo, en la zona de altas presiones superficiales no se desvían del comportamiento ideal, es decir, en estado de sólido condensado estos dos componentes no interaccionan, son inmiscibles. Esto provoca que la fase colapsada, región IV, esté constituida solo por el componente menos estable que, lógicamente, es la lecitina, ya que el ácido deoxicólico ni siquiera colapsa en este intervalo de temperaturas.

Cuando aumentamos la temperatura de las monocapas formadas por este sistema, la diferencia de comportamiento más notable se resume en una progresiva desaparición de la transición de fase principal. Así, a 30 y 35°C solo la sufren monocapas con más de 50% de lecitina y a 40°C con más de 75% de lecitina. El resto de las películas se encuentran en estado líquido extendido. Por ello, cabe una vez más distinguir dos tipos de transiciones secundarias entre las zonas II y III en las figuras 3.35-3.37, las que tienen

lugar dentro del estado extendido y las que ocurren en el estado condensado, cuya interpretación se ha anotado ya en repetidas ocasiones. Nuevamente, observamos que los valores de presión superficial a los que tienen lugar estos cambios de fase secundarios dependen más de la composición de la monocapa que del propio estado de la monocapa.

A 30 y 35°C, el ácido deoxicólico y la lecitina L- α -fosfatidilcolina siguen siendo inmiscibles entre sí a presiones superficiales cercanas al colapso de las monocapas, por lo que las fases colapsadas, regiones IV, seguirán estando formadas por la lecitina. Sin embargo, a 40°C se observan débiles interacciones entre ambos componentes, lo que da lugar a que en la fase colapsada y a esta temperatura, estén presentes ambos componentes. De nuevo, la posible explicación de este hecho se deba a la pérdida de estabilidad del ácido deoxicólico a la temperatura de 40°C y en presencia de L- α -fosfatidilcolina, de forma que la salida de ésta de la monocapa provoca también la del ácido biliar.

4.8. DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS FORMADAS POR ACIDO COLICO Y COLESTEROL

En este apartado estudiamos las distintas fases formadas en monocapas compuestas por ácido cólico y colesterol, a través de la descripción de los distintos diagramas de fases presentados en las figuras 3.38-3.41 a las temperaturas 25, 30, 35 y 40°C, respectivamente y a pH=6.00.

La primera observación de estos diagramas de fase nos informa que no existe diferencia cualitativa de comportamiento para estos sistemas cuando variamos la temperatura, ya que en todos ellos se distinguen las mismas fases, y prácticamente también entre los mismos valores de presión superficial.

Las fases observadas son líquido condensado, representado por las regiones II de los respectivos diagra-

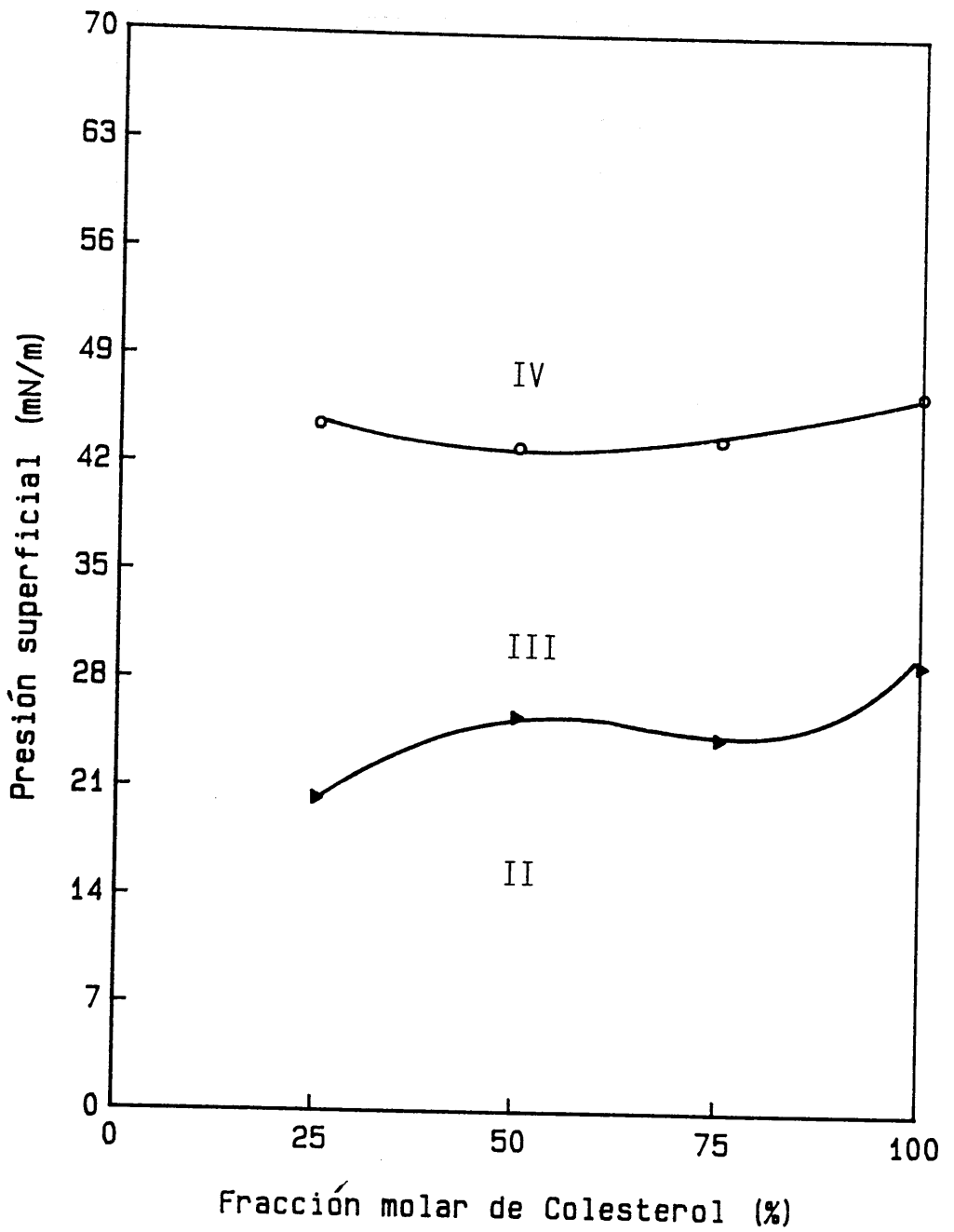


Fig. 3.38. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido cólico a $T = 25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$

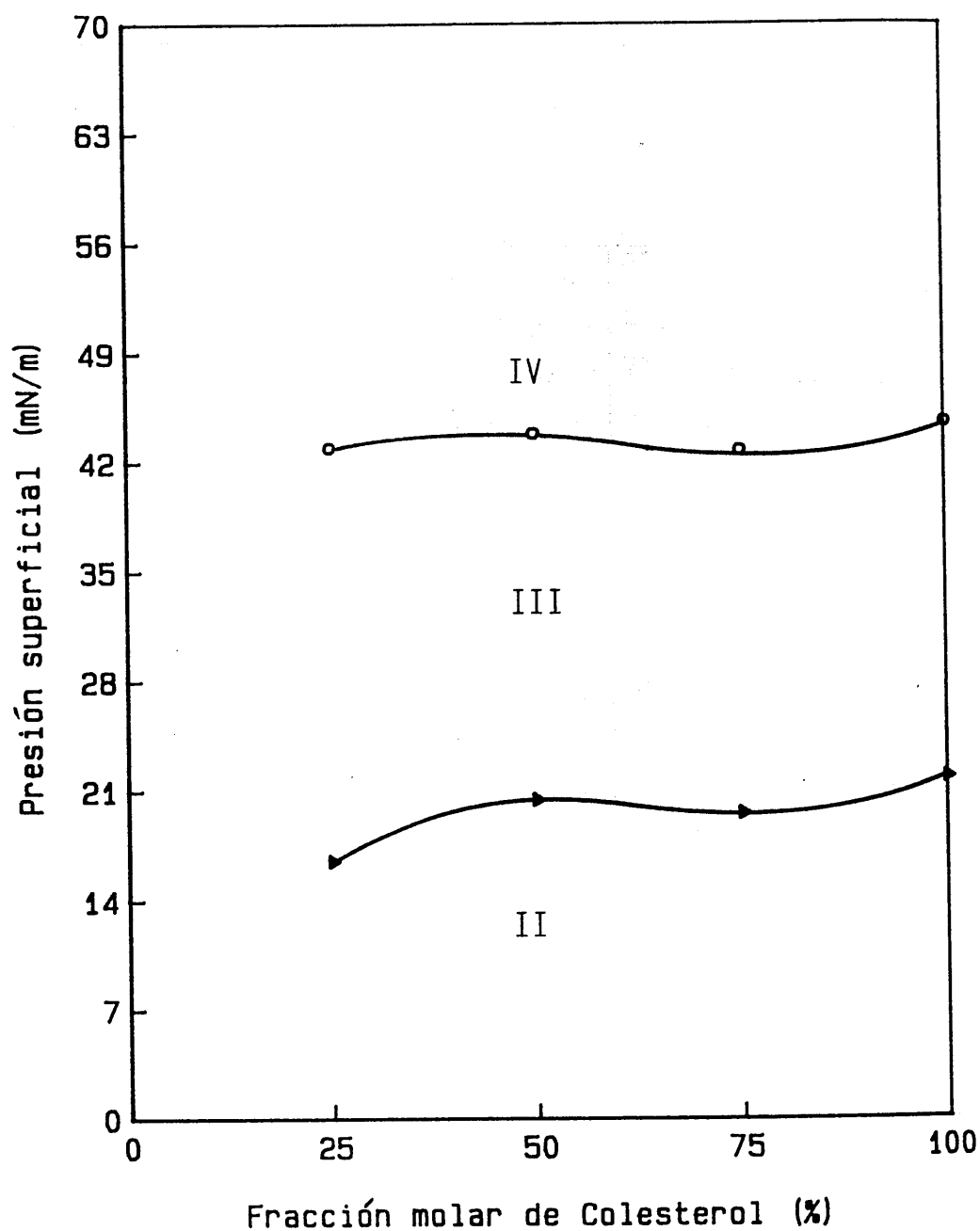


Fig. 3.39. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido cólico a $T = 30^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$

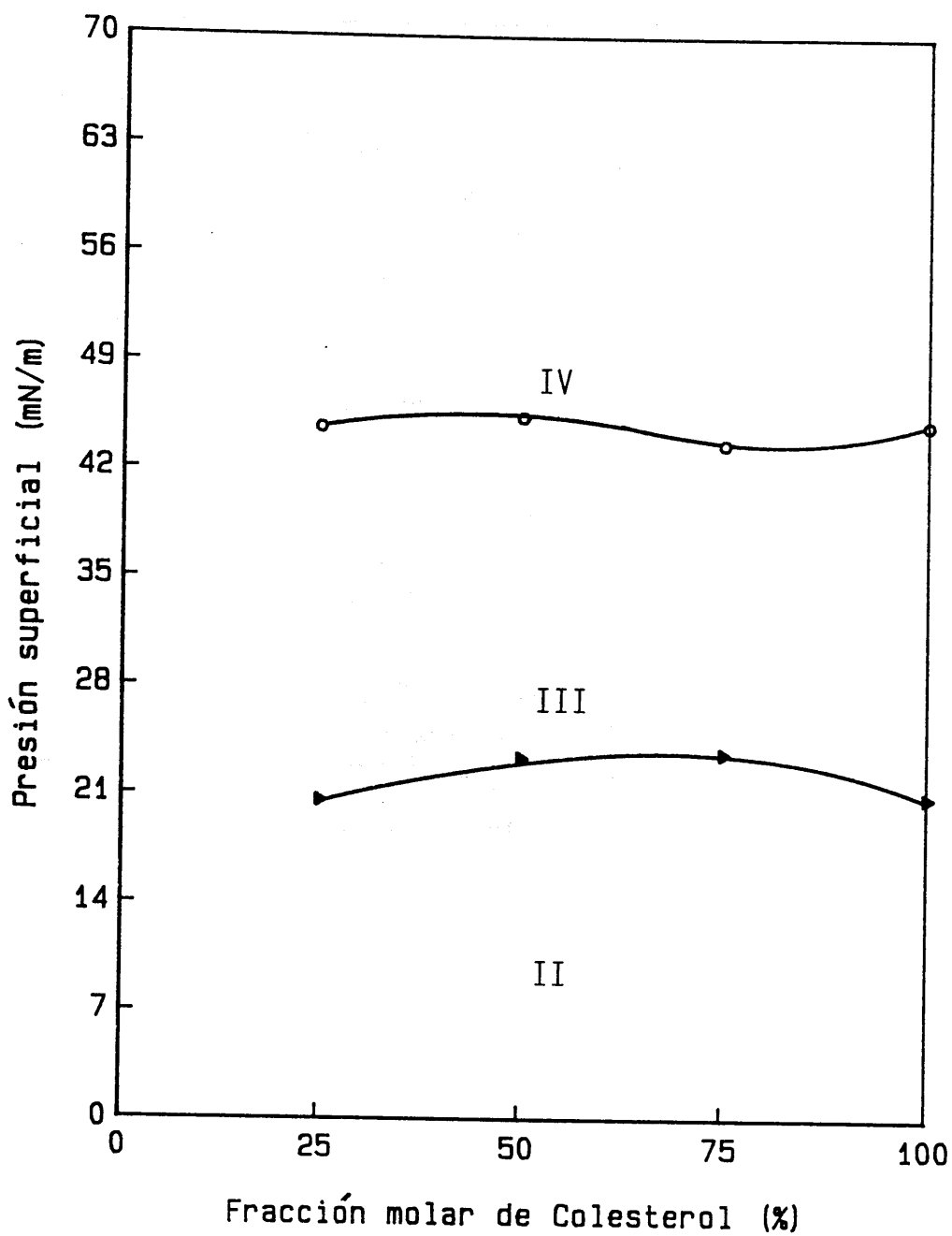


Fig. 3.40. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido cólico a $T = 35^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$

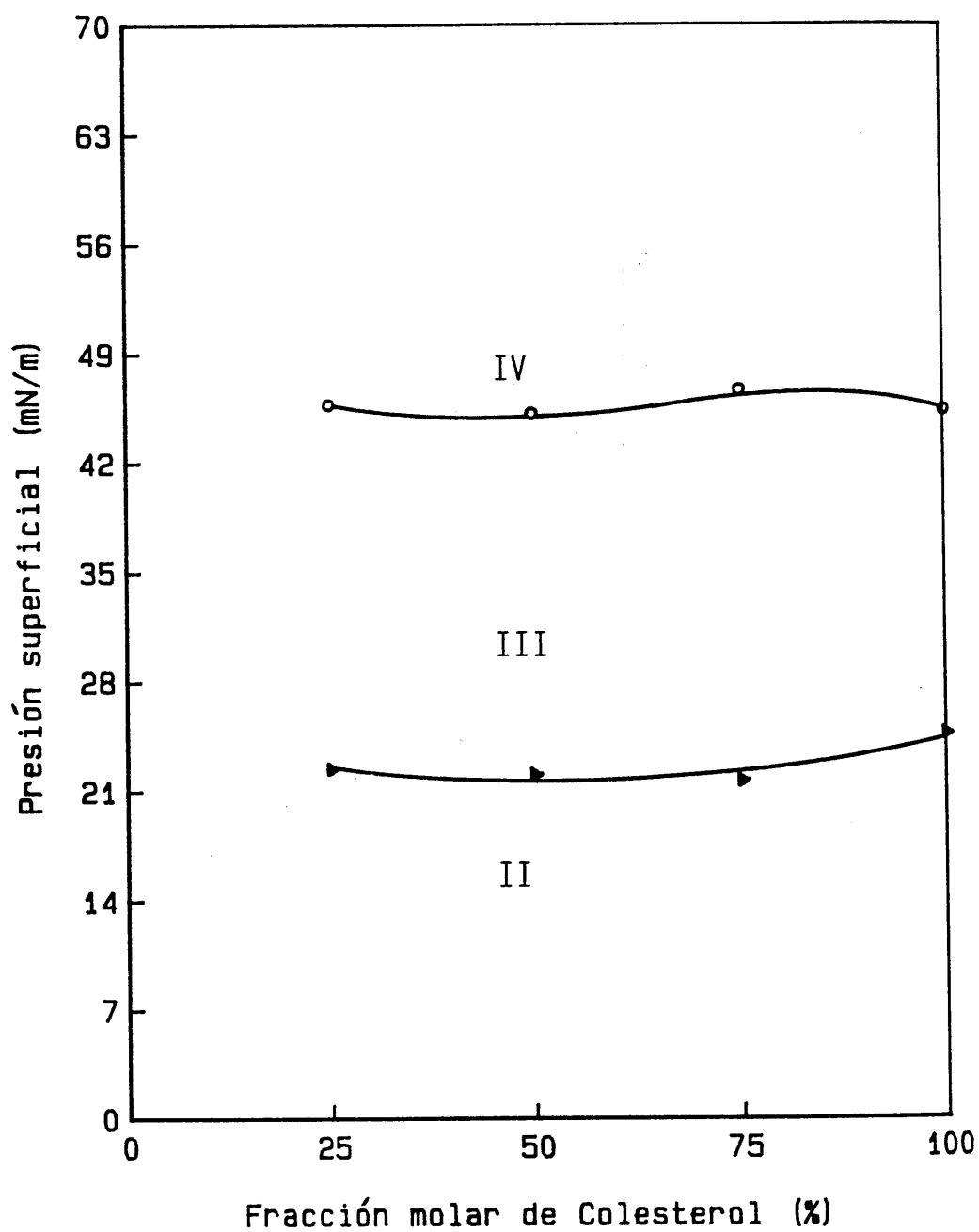


Fig. 3.41. Diagrama de fases de monocapas formadas por colesterol y ácido cólico a $T = 40^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH} = 6.00$

mas, sólido condensado (regiones III) y la fase colapsada, anotada como región IV.

Es decir, estas películas monomoleculares simples y mixtas formadas por ácido cólico y colesterol no sufren cambios de fase de primer orden. Solo se observan cambios de fase secundarios dentro del estado condensado, correspondientes a cambios conformacionales asociados a la inclinación de las cadenas hidrocarbonadas de estos compuestos, excepto las películas constituidas únicamente por ácido cólico, las cuales ni siquiera colapsan bajo nuestras condiciones experimentales de trabajo.

Cuando la temperatura de la monocapa es 25°C, estos componentes son algo miscibles entre sí para valores de presión superficial inferiores a 25 mNm⁻¹ aproximadamente, por lo que en la fase líquido condensado del diagrama (Fig. 3.38) el ácido cólico y el colesterol interaccionan débilmente entre sí, ejerciendo el colesterol efecto condensante sobre el ácido. En la fase sólido condensado a esta temperatura, y en las dos fases que coexisten en estas monocapas a temperaturas superiores a 25°C, estos compuestos se declaran inmiscibles entre sí, por lo que estarán presentes sin interacciones definidas entre ellos.

Este hecho también provoca que la única fase colapsada que se forma en todos los casos, considerando que la presión superficial de colapso varía continuamente con la composición de la monocapa, esté constituida solo por colesterol, siendo éste el componente menos estable en películas monomoleculares formadas a pH=6.00 y entre 25 y 40°C.

4.9. DIAGRAMAS DE FASES EN MONOCAPAS FORMADAS POR ACIDO COLICO Y L- α -FOSFATIDILCOLINA

Los siguientes diagramas de fases (Figs. 3.42-3.45) fueron construidos con distintos valores de presiones

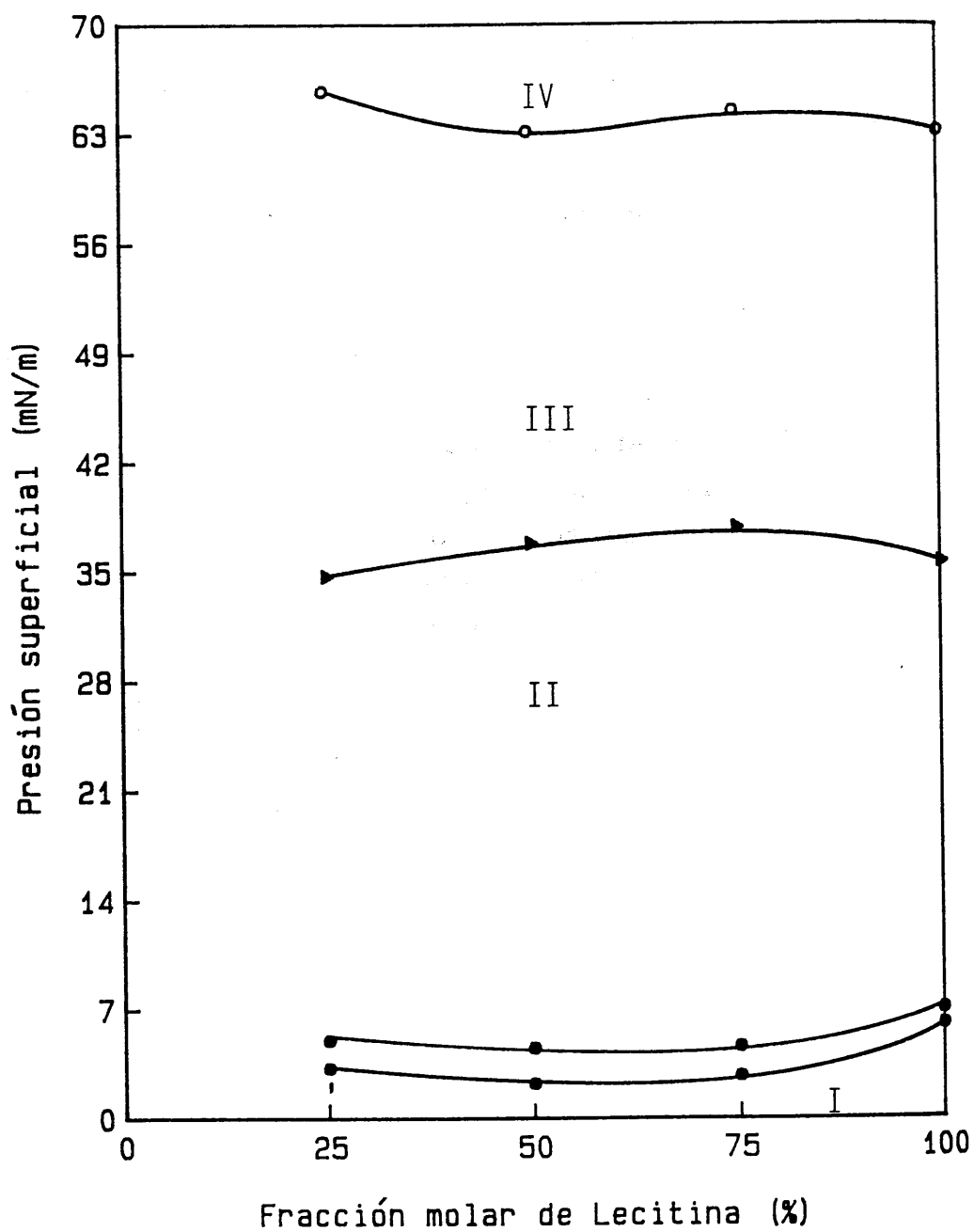


Fig. 3.42. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido cólico a T= 25°C y pH= 6.00

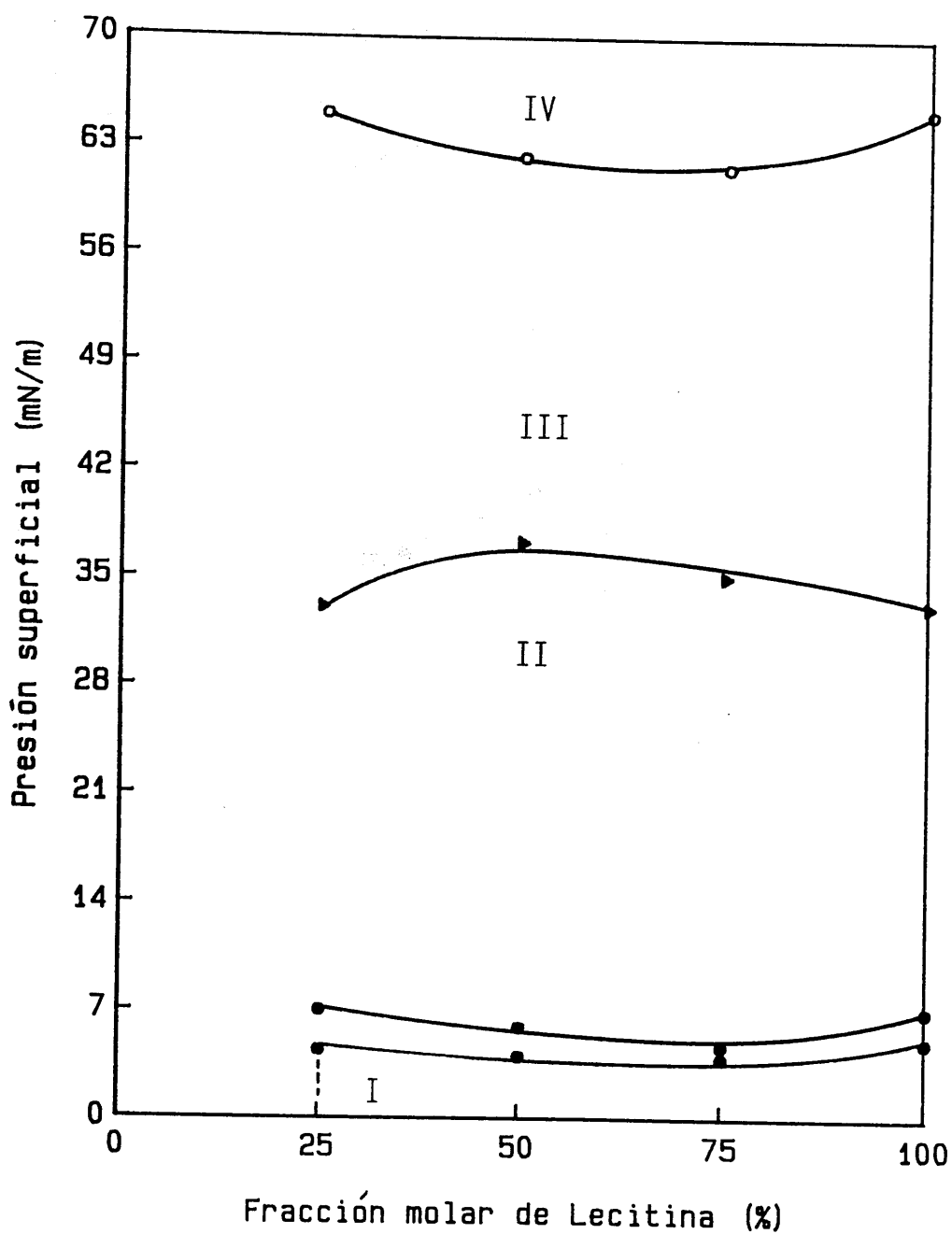


Fig. 3.43. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido cólico a $T= 30^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

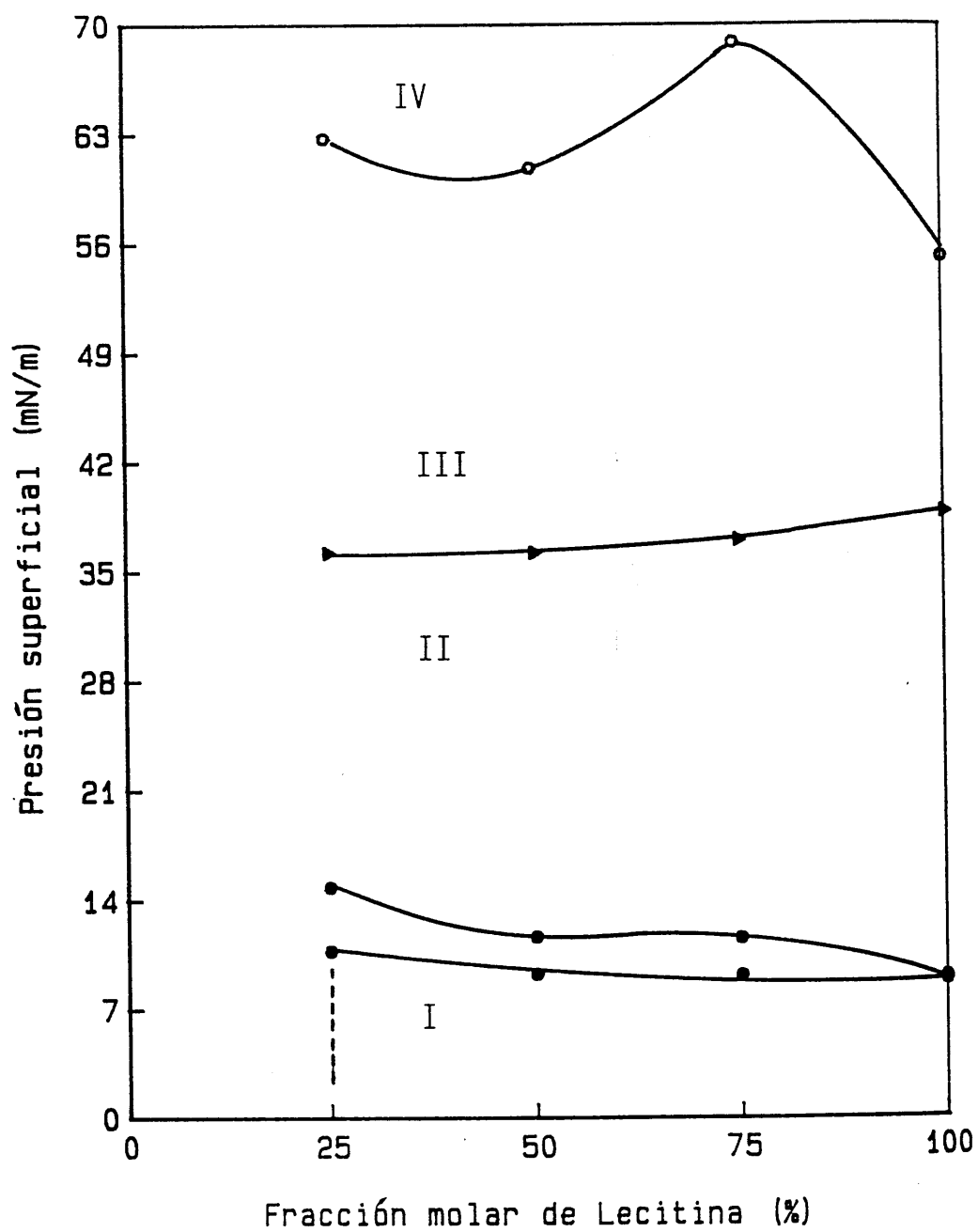


Fig. 3.44. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido cólico a T= 35°C y pH= 6.00

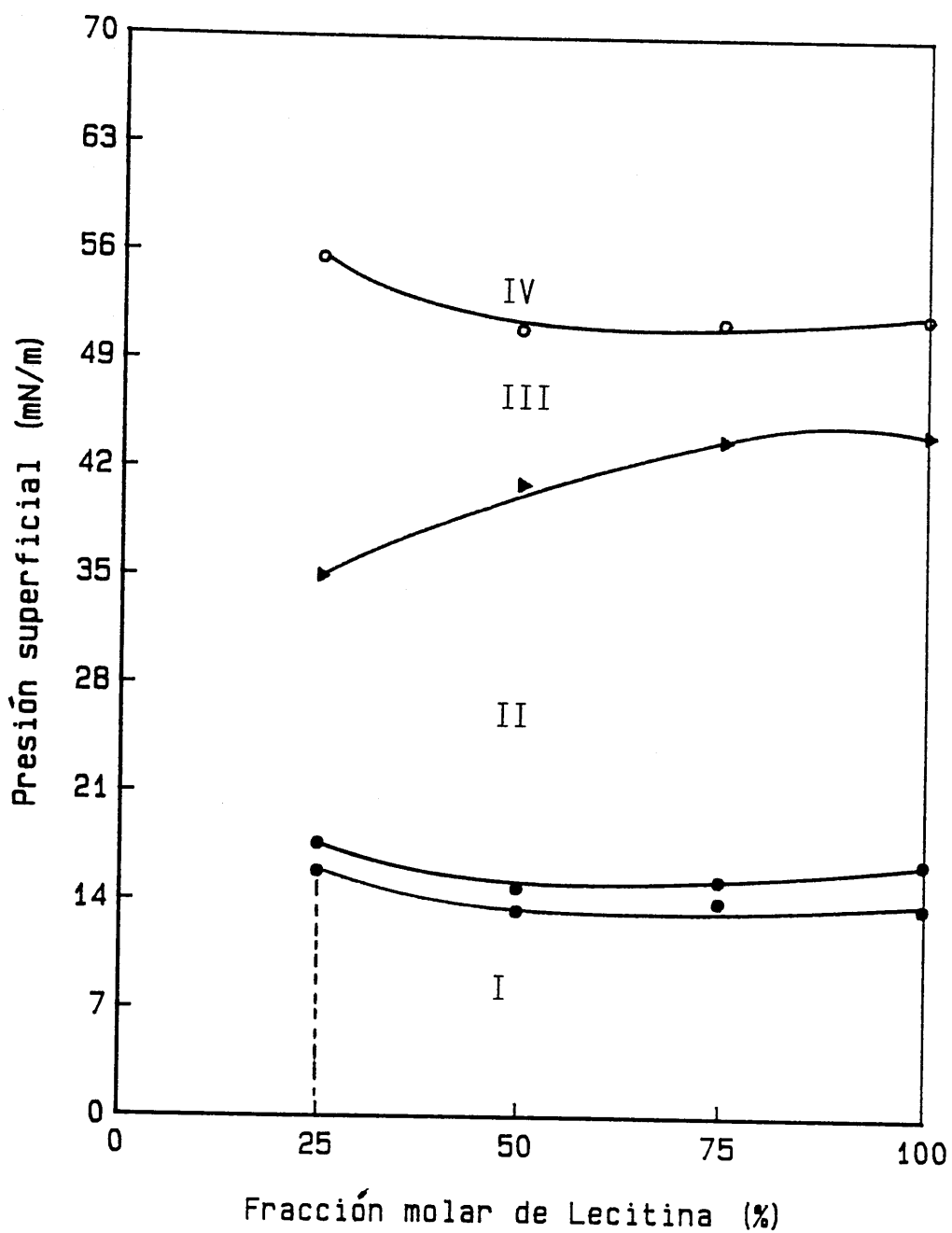


Fig. 3.45. Diagrama de fases de monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina y ácido cólico a $T= 40^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}= 6.00$

superficiales, a los cuales tienen lugar los cambios de fase y el colapso de las monocapas formadas por ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina.

A $T=25^{\circ}\text{C}$ y $\text{pH}=6.00$ (Fig. 3.42), observamos que todas las monocapas que contienen algo de lecitina sufren un cambio de fase de primer orden entre líquido extendido (región I) y líquido condensado (zona II); las monocapas formadas únicamente por ácido cólico se encuentran en estado líquido condensado para todo el intervalo de compresión. Por tanto, el carácter o fase condensada es predominante en monocapas formadas por este sistema.

Las transiciones de fase secundarias observadas entre las zonas II y III del diagrama de fases, son de nuevo cambios conformacionales entre líquido y sólido condensados.

El estudio realizado en el anterior capítulo sobre la miscibilidad de estos componentes informa que estos solamente interaccionan entre sí a presiones superficiales bajas, aproximadamente 5 mNm^{-1} , es decir, el ácido cólico y la lecitina solo serán miscibles en el estado líquido extendido. Para el resto de las fases presentes en las monocapas no se observa interacción alguna entre estos dos compuestos. Por tanto, la fase colapsada (se comprueba que es solamente una) estará formada por L- α -fosfatidilcolina, ya que en el punto de colapso de estas monocapas, saldrá de las mismas únicamente la lecitina.

Este comportamiento se mantiene análogo al aumentar la temperatura de las monocapas hasta 40°C , y tan solo cabe señalar que la región correspondiente a la fase líquido extendido es más amplia conforme aumenta la temperatura como cabía esperar, ya que los valores de presión superficial de transición aumentan según lo hace la temperatura.

A partir de la descripción realizada de los distintos diagramas de fase para diferentes sistemas formados por un ácido biliar y colesterol o L- α -fosfatidilcolina, podemos hacer un breve estudio comparativo del

comportamiento presentado por los cuatro ácidos biliares utilizados en presencia de los anteriores lípidos.

Las películas monomoleculares formadas por ácido litocólico sufren un cambio de fase principal entre los estados líquido extendido y líquido condensado a 25 y 30°C. Cuando aumentamos la temperatura de la monocapa, las isothermas registradas muestran el carácter de líquido extendido de la monocapa en todo el intervalo de compresión, sin sufrir el cambio de fase anterior, es decir, se han extendido por efecto de la temperatura.

Cuando las monocapas están formadas por ácido quenodeoxicólico o ácido deoxicólico, éstas se encuentran siempre en estado líquido extendido a cualquier temperatura. Por el contrario, las monocapas con ácido cólico están en estado condensado bajo cualquier condición experimental.

Así pues, la diferencia de comportamiento de estos ácidos en monocapas es notoria y no puede tener otra explicación que la debida a la forma molecular de los mismos, es decir, al diferente número de grupos OH en las moléculas o a la diferente disposición de éstos en dichas moléculas. Esta secuencia de extensión, ácido quenodeoxicólico > ácido deoxicólico > ácido litocólico > ácido cólico, fue explicada en los apartados 3.3.- 3.7. del anterior capítulo.

Cuando estos ácidos biliares forman monocapas mixtas en presencia de colesterol, observamos que en el caso del ácido litocólico, las películas monomoleculares sufren un cambio de fase principal entre los estados líquido extendido y líquido condensado.

Si se emplea ácido quenodeoxicólico, esta transición principal desaparece para la proporción 25% ácido quenodeoxicólico-75% colesterol a la que la monocapa se encuentra en estado líquido condensado. Este comportamiento tiene lugar a 25 y 30°C y se modifica al aumentar la temperatura, situación para la cual las películas que experimentaban en el caso del ácido litocólico un cambio de

fase de primer orden, se manifiestan ahora como líquido extendido.

Finalmente, si el ácido es deoxicólico o ácido cólico, las películas monomoleculares mixtas se encuentran en estado líquido condensado a lo largo de todo el intervalo de temperaturas.

Podemos afirmar que cuando los ácidos son litocólico o cólico, es decir, cuando estamos en el caso de ácidos que forman películas menos extendidas, el carácter de los mismos predomina en las películas mixtas, y así en el primer caso nos encontramos con cambios de fase de primer orden y en el segundo caso con estado líquido condensado. Cuando los ácidos son quenodeoxicólico o deoxicólico, que dan lugar a películas monomoleculares extendidas, el comportamiento de las monocapas mixtas es intermedio al que presentan las monocapas simples de ácido y colesterol, respectivamente, ya que estos ácidos son más susceptibles de condensación por el colesterol y nos encontramos con situaciones intermedias que se modifican con la temperatura. En el caso del ácido deoxicólico, el colesterol ejerce un gran efecto condensante.

Cuando las películas monomoleculares mixtas se constituyen por uno de estos ácidos biliares y por L- α -fosfatidilcolina en lugar de colesterol, las diferencias entre las distintas fases encontradas no son tan notables como en el caso anterior. En presencia de lecitina la mayoría de las monocapas mixtas sufren un cambio de fase entre los estados líquido extendido y líquido condensado. En el caso del ácido litocólico el comportamiento que presentan es análogo al que se observa para las monocapas simples de ácido y lecitina respectivamente. Para películas monomoleculares con ácido quenodeoxicólico o deoxicólico el comportamiento es intermedio entre monocapas en estado extendido y monocapas que sufren un cambio de fase de primer orden. Finalmente, si el ácido biliar es ácido cólico, la forma de los diagramas de fase corresponde a películas intermedias a

las que se comportan como líquido condensado y a las que sufren de nuevo un cambio de fase principal.

5. BIBLIOGRAFIA

- ADAM, N.K. Proc. Roy. Soc. (London), A103, 687 (1923)
(citado por Gaines, 1966, p.180)
- ADAM, N.K.; JESSOP, G. Proc. Roy. Soc. (London), A112, 362
(1926) (citado por Gaines, 1966, p.172)
- ALBRECHT, O.; GRULER, H.; SACKMANN, E. Polymorphism of
Phospholipid Monolayers. J. Phys. (Paris), 39,
301-313 (1978)
- ALBRECHT, O.; GRULER, H.; SACKMANN, E. PressureComposition
Phase Diagrams of Cholesterol/Lecithin, Cholesterol/
Phosphatidic Acid and Lecithin/Phosphatidic
Acid Mixed Monolayers: A Langmuir Film Balance
Study. J. Colloid Interf. Sci., 79(2), 319-338
(1981)
- BARET, J.F.; BOIS, A.G.; DUPIN, J.J. FIRPO, J.L. The Liquid-
Expanded and the Liquid-Condensed Phases in
Amphiphil Monolayers are Separated by a Second-
Order Phase Transition. J. Colloid Interf. Sci.,
86, 370 (1982)
- BROCKMAN, H.L.; JONES, C.M.; SCHWEBKE, C.J.; SMABY, J.M.
JARVIS, D.E. Application of a Microcomputer-
Controlled Film Balance System to Collection and
Analysis of Data from Mixed Monolayers. J. Colloid
Interf. Sci., 78(2), 502-512 (1980)
- CADENHEAD, D.A. "Structure of Biological Membranes" (Abra-

hamsson, S. and Pascher, I. Eds.), Plenum Press, N.Y., 1977

DERVIRCHIAN, D.G. J. Chem. Phys. 7, 931 (1939) (citado por Albrecht, 1978)

ENGELMAN, D.C.; ROTHMAN, J.E. J. Biol. Chem. 247, 3694- 3697 (1972) (citado por Mabrey, 1978)

GAINES, G.L., Jr. "Insoluble Monolayers a Liquid-Gas Interfaces". Interscience, N. Y. , 1966

GAINES, G.L., Jr. J. Chem. Phys. 69, 924 (1978) (citado por Neuman, 1984)

HARD, S.; NEUMAN, R.D. Laser Light-Scattering Measurements of Viscoelastic Monomolecular Films. J. Colloid Interf. Sci., 83, 315 (1981) (citado por Neuman, 1984)

LANGMUIR, I. J. Chem. Phys., 1, 756 (1933) (citado por Gaines, 1966, p.183)

MABREY, S.; MATEO, P.L.; STURTEVANT, J.M. High Sensitivity Scanning Calorimetric Study of Mixtures of Cholesterol with Dimyristoyl- and Dipalmitoyl-phosphatidylcholines Biochemistry, 17(2), 2464-2468 (1978)

MIDDLETON, S.R.; PETHICA, B.A. Faraday Symp. No. 16, 109 (1981) (citado por Neuman, 1984)

MULLER-LANDAU, F.; CADENHEAD, D.A. Molecular Packing in Steroid-Lecithin Monolayers, Part II: Mixed Films of Cholesterol with Dipalmitoylphosphatidylcholine and Tetradecanoic acid. Chem. and Phys. of

Lipids, 25, 315-328 (1979)

NAGLE, J.F. J. Chem. Phys., 63, 1255 (1975) (citado por Neuman, 1984)

PHILLIPS, M.C.; CHAPMAN, D. Monolayer Characteristic on Saturated 1,2-Diacylphosphatidylcholines (Lecithins) and Phosphatidylethanolamines at the air-water interface. Biochim. Biophys. Acta, 163, 301-313 (1968)

SACKMANN, E. "Physical Foundations of the Molecular Organization and Dynamics of Membranes". Biophysics, Ed. by W. Hoppe, W. Lohmann, H. Martel, H. Ziegler, Springer-Verlag Berlin Heidelberg N.Y. Tokyo (1983), p. 425

SCOTT, H.L. BBA libr. 406, 329 (1975) (citado por Albrecht, 1978)

TAJIMA, K.; GERSHFELD, N.L. Latent Heat of Transition between Crystalline Polymorphic States of Cholesterol by Equilibrium Spreading Pressures. J. Colloid Interf. Sci., 52(3), 619-620 (1975)

ESTUDIO TERMOANÁLISIS
DEL CAMBIO DE FASE

MAGLIE, A. E. J. Chem. Phys., 55, 1235 (1971) (Cited in
1971, N.Y.C.)

Abstracts: 1971
PHILLIPS, M. G.; CHARMAN, D. Monolayer Characteristics on
1,2-Diacylglycerol

Abstracts: 1971
Abstracts: 1971
Abstracts: 1971

Abstracts: 1971
Abstracts: 1971
Abstracts: 1971

Abstracts: 1971
Abstracts: 1971
Abstracts: 1971

Abstracts: 1971
Abstracts: 1971
Abstracts: 1971

Abstracts: 1971
Abstracts: 1971
Abstracts: 1971

Abstracts: 1971
Abstracts: 1971
Abstracts: 1971

Abstracts: 1971
Abstracts: 1971
Abstracts: 1971

Abstracts: 1971
Abstracts: 1971
Abstracts: 1971

Abstracts: 1971
Abstracts: 1971
Abstracts: 1971

Abstracts: 1971
Abstracts: 1971
Abstracts: 1971

El estudio termodinámico de los cambios de fase de fase que tienen lugar en monocapas adsorbidas por dos componentes, ofrece un gran interés. El autor se propone en este trabajo estudiar el problema de la adsorción de un gas por un sólido, considerando el caso de una monocapa adsorbida en un sólido poroso. El estudio se realiza considerando el caso de una monocapa adsorbida en un sólido poroso, considerando el caso de una monocapa adsorbida en un sólido poroso.

CAPITULO IV: ESTUDIO TERMODINAMICO DEL CAMBIO DE FASE LE-LC

CAPÍTULO IV

ESTUDIO TÉCNICO
DEL CAMBIO DE PAÍS

El estudio termodinámico de los cambios o transiciones de fase que tienen lugar en monocapas mixtas constituidas por dos componentes, ofrece un gran interés ya que son pocos los autores que han analizado desde este punto de vista el comportamiento de monocapas en la interfase aire-disolución acuosa y además facilita la comprensión de las interacciones moleculares existentes entre ambos componentes en diferentes fases de las películas monomoleculares.

El objeto de este capítulo lo constituye la caracterización termodinámica de la transición principal que se presenta en nuestras monocapas entre los estados líquido extendido y líquido condensado.

1. INTRODUCCION: FORMULACION TERMODINAMICA DE K. MOTOMURA (1974) DE LAS MONOCAPAS MULTICOMPONENTES

1.1. FASES EN LA MONOCAPA

Una sustancia con un grupo polar adecuado puede

extenderse sobre una superficie de agua (o disolución acuosa) para formar una monocapa insoluble. En la monocapa, las moléculas de la sustancia que forma la película pueden interaccionar entre sí y con moléculas de agua (o disolución acuosa). Desde este punto de vista, dicha monocapa puede considerarse como una disolución superficial. A áreas suficientemente grandes, la monocapa es una disolución ideal, y por tanto, las moléculas de la sustancia se comportan "idealmente". Cuando el área disminuye, la monocapa deja de comportarse como una disolución ideal surgiendo interacciones entre las moléculas de la sustancia, y a un valor determinado de área, la monocapa se transforma en una disolución superficial concentrada. Esta transición tiene lugar cuando la temperatura es inferior a la temperatura crítica, la cual depende de la energía cohesiva entre las moléculas de la sustancia. La presión superficial de esta disolución concentrada aumenta rápidamente al disminuir el área. A áreas relativamente pequeñas, puede tener lugar una transición a una fase sólida, la cual se denomina genéricamente "película sólida", y esta fase puede existir a su vez en algunos estados diferentes (polimorfismo) (Motomura, 1967).

Existe además un aspecto importante a destacar en relación a las condiciones de equilibrio. Estos autores consideraron los datos de las isothermas experimentales como de equilibrio, cuando las experiencias (compresión de las películas monomoleculares) no se realizan necesariamente bajo condiciones de equilibrio, como podría pensarse en nuestro caso, para el cual las isothermas se registran de forma continua. Aunque termodinámicamente lo correcto sería considerar a la monocapa como un sistema metaestable, existen evidencias experimentales de que las presiones superficiales de transición en buena aproximación se pueden considerar como puntos de equilibrio. Motomura (1967) entendió que la monocapa, y por tanto todos los puntos de la isoterma experimental, puede considerarse en equilibrio

puesto que todas las presiones superficiales registradas generalmente son superiores al valor de presión de extensión de equilibrio. Finalmente, Motomura y col. (1969) señalaron que la principal causa de inestabilidad de la monocapa es la solubilidad en la subfase de los componentes que la forman, aunque, se comprueba que la velocidad de disolución es despreciable frente a la velocidad de compresión, no observándose ningún efecto cinético. Por estas razones, nosotros también consideramos los puntos registrados en las isotermas experimentales como datos en equilibrio, hecho indicado anteriormente en el apartado 4 del primer capítulo.

1.2. ECUACIONES FUNDAMENTALES

Una monocapa insoluble de sustancias que forman película extendida en la interfase aire-disolución acuosa tiene diferentes propiedades de las dos fases adyacentes, y puede considerarse por tanto, como una fase bien definida. Al describir sus propiedades termodinámicas, ésta se considera como una fase homogénea. Aunque se hace notar que las concentraciones de aire y disolución acuosa variarán continuamente el espesor de dicha fase, pueden utilizarse las concentraciones promedio, que dependerán a su vez de la posición de los planos que separan la fase monocapa de las fases adyacentes (Motomura, 1974).

Considerando una fase monocapa independiente compuesta de c componentes que forman la película, la diferencial total de su energía libre de Helmholtz, F^m , viene dada por:

$$dF^m = -S^m dT - p dV^m + \gamma d\sigma + \mu_a dn_a^m + \mu_d dn_d^m + \sum_i^c \mu_i dn_i \quad (4.1)$$

donde σ es el área ocupada por la monocapa y γ la tensión superficial. Los subíndices a , d e i indican aire, disolución acuosa y número i de componente que forma la película,

respectivamente.

Introduciendo la energía libre de Gibbs y la entalpía definidas como:

$$G^m = F^m + pV^m - \gamma\sigma \quad (4.2)$$

y

$$H^m = G^m + T S^m \quad (4.3)$$

Derivando estas ecuaciones y restándolas obtenemos:

$$S^m dT - V^m dp + \sigma d\gamma + n_a^m d\mu_a + n_d^m d\mu_d + \sum_i n_i^m d\mu_i = 0 \quad (4.4)$$

esta es análoga a la ecuación de Gibbs-Duhem.

Aplicando la relación de Maxwell a la diferencial total de la energía libre de Gibbs, se obtiene:

$$\partial\mu_i / \partial T = -\partial S^m / \partial n_i^m = -\bar{s}_i^m \quad (4.5)$$

$$\partial\mu_i / \partial p = -\partial V^m / \partial n_i^m = -\bar{v}_i^m \quad (4.6)$$

$$\partial\mu_i / \partial \gamma = -\partial \sigma / \partial n_i^m = -\bar{a}_i^m \quad (4.7)$$

donde \bar{s}_i^m , \bar{v}_i^m y \bar{a}_i^m son la entropía, volumen y área molares parciales del componente i , respectivamente, y son las cantidades que se pueden evaluar experimentalmente.

Las anteriores ecuaciones termodinámicas no son aplicables a los resultados experimentales obtenidos bajo condiciones donde existe "equilibrio dinámico" entre la monocapa y las fases adyacentes. Con el objeto de evaluar las cantidades termodinámicas de la monocapa en equilibrio, es necesario construir un nuevo tratamiento termodinámico con respecto a las monocapas.

El hecho de que las moléculas de aire y disolución acuosa de la monocapa estén en equilibrio con las de las

fases adyacentes, reduce el número de variables termodinámicas independientes. Se introduce la cantidad termodinámica:

$$G^{\pi} = G^m - n_a^m \mu_a - n_d^m \mu_d = \sum_i n_i^m \mu_i \quad (4.8)$$

denominada energía libre de Gibbs de la monocapa en equilibrio, y siguiendo el mismo procedimiento anterior, finalmente se obtiene:

$$S^{\pi} dT - v^{\pi} dp - \sigma d\Pi + \sum_i n_i^m d\mu_i = 0 \quad (4.9)$$

y a partir de la expresión diferencial total de G^{π} obtenemos \bar{s}_i , \bar{v}_i y \bar{a}_i que son las cantidades molares parciales antes mencionadas, pero ahora de la monocapa en equilibrio, quedando la ecuación que proporciona la diferencial total del potencial químico en la forma:

$$d\mu_i = -\bar{s}_i^{\pi} dT + \bar{v}_i^{\pi} dp + \bar{a}_i^{\pi} d\Pi + \sum_{j \neq i} (\partial \mu_i / \partial x_j^{\pi}) dx_j^{\pi} \quad (4.10)$$

donde el término $\partial \mu_i / \partial x_j^{\pi}$ viene dado por:

$$\partial \mu_i / \partial x_j = n^m (\mu_{i,j}^{\pi} - \mu_{i,i}^{\pi}) \quad (4.11)$$

1.3. REGLA DE LAS FASES APLICADA A SISTEMAS SUPERFICIALES

Estos autores consideran los posibles equilibrios entre los sistemas aire/monocapa/disolución acuosa y los existentes en la propia monocapa, bien entre componentes, bien entre distintas fases. Por tanto, entre estos equilibrios se encuentra el que a nosotros nos interesa, es decir, el equilibrio entre los estados líquido extendido y líquido condensado de una monocapa extendida en la interfase aire-disolución acuosa, de manera que podamos evaluar el cambio que sufren las interacciones moleculares al pasar de un estado a otro. Para este equilibrio, el número de grados de

libertad viene dado por:

$$f = C + 3 - \psi \quad (4.12)$$

donde C es el número de componentes que forman la monocapa insoluble y ψ el número de fases en la monocapa. En nuestro caso $C=2$ y $\psi=2$, con lo que el número de grados de libertad es igual a 3. Desde un punto de vista experimental interesa elegir como variable la temperatura y fijar la presión y la composición de uno de los componentes, de esta forma estudiando la dependencia de la presión superficial de transición con la temperatura evaluaremos el cambio de entropía molar aparente asociado a la transición principal.

1.4. CONDICIONES LOCALES DE EQUILIBRIO PARA UNA MONOCAPA DE DOS COMPONENTES

En este apartado, se considera el equilibrio existente entre dos fases de una monocapa binaria, líquido extendido (LE) y líquido condensado (LC) (Motomura, 1974).

Si estas dos fases están en equilibrio, los potenciales químicos del componente i en las dos fases deben ser iguales:

$$d\mu_1^c = d\mu_1^e \quad (4.13)$$

Estas diferenciales totales vienen dadas en los mismos términos que la ecuación 4.10, referidos a los estados LC y LE (superíndices c y e) respectivamente.

De acuerdo con la regla de las fases de la ecuación 4.12, el número de variables a especificar es $c+1$. Por tanto, eligiendo T como variable independiente y manteniendo p , $x_2^{\pi,c}$, e , \dots , $x_c^{\pi,e}$ constantes, la ecuación 4.13 se reduce a un conjunto de c ecuaciones algebraicas lineales para $\partial\mu_c/\partial T$, $\partial x_2^{\pi,c}/\partial T$, \dots , $\partial x_c^{\pi,c}/\partial T$:

$$\begin{aligned}
 (\bar{a}_1^{\pi,c} - \bar{a}_1^{\pi,e}) (\partial \Pi_t / \partial T) + \sum_j (\partial \mu_1^c / \partial x_j^{\pi,c}) (\partial x_j^{\pi,c} / \partial T) = \\
 = \bar{s}_1^{\pi,c} - \bar{s}_1^{\pi,e}
 \end{aligned}
 \quad (4.14)$$

Así, el cambio de entropía molar aparente se evalúa aplicando la relación (Motomura, 1976, 1979):

$$\begin{aligned}
 \Delta s = (a^c - a^e - (x_2^{\pi,c} - x_2^{\pi,e}) (\partial a^e / \partial x_2^{\pi,e})_{T,p,\pi}) ((\partial \Pi_t / \partial T)_{p,x_2^{\pi,e}} \\
 - (\partial \gamma^o / \partial T)_p)
 \end{aligned}
 \quad (4.15)$$

Considerando $x_2^{\pi,c} = x_2^{\pi,e}$, finalmente el cambio de entropía molar aparente asociado a la transición LC-LE viene dado por la ecuación (Shibata, 1980, 1983):

$$\Delta s = (a^c - a^e) (\partial \Pi_t / \partial T)_{p,x_2^{\pi,e}} - (\partial \gamma^o / \partial T) \quad (4.16)$$

donde a^c y a^e son la áreas moleculares (expresadas en m^2/mol) en los estados líquido condensado y líquido extendido respectivamente, Π_t es la presión superficial a la que tiene lugar la transición principal¹, γ es la tensión superficial de la disolución acuosa que forma la subfase y T la temperatura.

El cambio de entalpía molar aparente para esta transición principal se calcula a través de la relación:

$$\Delta h = T \Delta s \quad (4.17)$$

Y finalmente, el cambio de energía molar aparente podemos relacionarlo con Δs por la expresión:

¹Como valor de la presión superficial de transición tomamos el valor medio de las presiones superficial al comienzo y final de la transición principal.

$$\Delta U = -(\bar{\pi}_t - \gamma) (a^c - a^e) + T \Delta S \quad (4.18)$$

2. VARIACION DE LA PRESION SUPERFICIAL DE TRANSICION CON LA TEMPERATURA

Para poder evaluar las distintas magnitudes molares parciales anteriormente relacionadas, es necesario conocer la variación de la presión superficial a la que tiene lugar la transición entre líquido extendido y líquido condensado con la temperatura.

En las figuras 4.1-4.6 presentamos la dependencia de estas variables para los casos en los que las películas monomoleculares simples y mixtas sufren cambios de fase principales.

Comparando las curvas de la figura 4.1, donde se representan las presiones superficiales a las que tiene lugar la transición principal en función de la temperatura para monocapas que contienen lecitina y 25% de colesterol-75% de lecitina respectivamente, observamos el efecto condensante ejercido por el colesterol sobre el componente lecitina provocando la presencia de una sensible disminución de los valores de presión superficial de transición en todo el intervalo de temperaturas estudiado. Para la proporción 50% de colesterol-50% de lecitina solamente obtenemos dos valores de presión superficial para los que tiene lugar la transición LE-LC a las temperaturas 35 y 40°C, ya que al disminuir la temperatura desaparece esta transición principal presentándose las monocapas en estados con carácter condensado. Este comportamiento se repite, pero esta vez en todo el intervalo de temperaturas, con películas monomoleculares que contienen 75% de colesterol-25% de lecitina y colesterol solo.

En la figura 4.2 también puede observarse el efecto condensante ejercido por el colesterol sobre el ácido biliar litocólico a altas temperaturas (308.15 y 313.15 K),

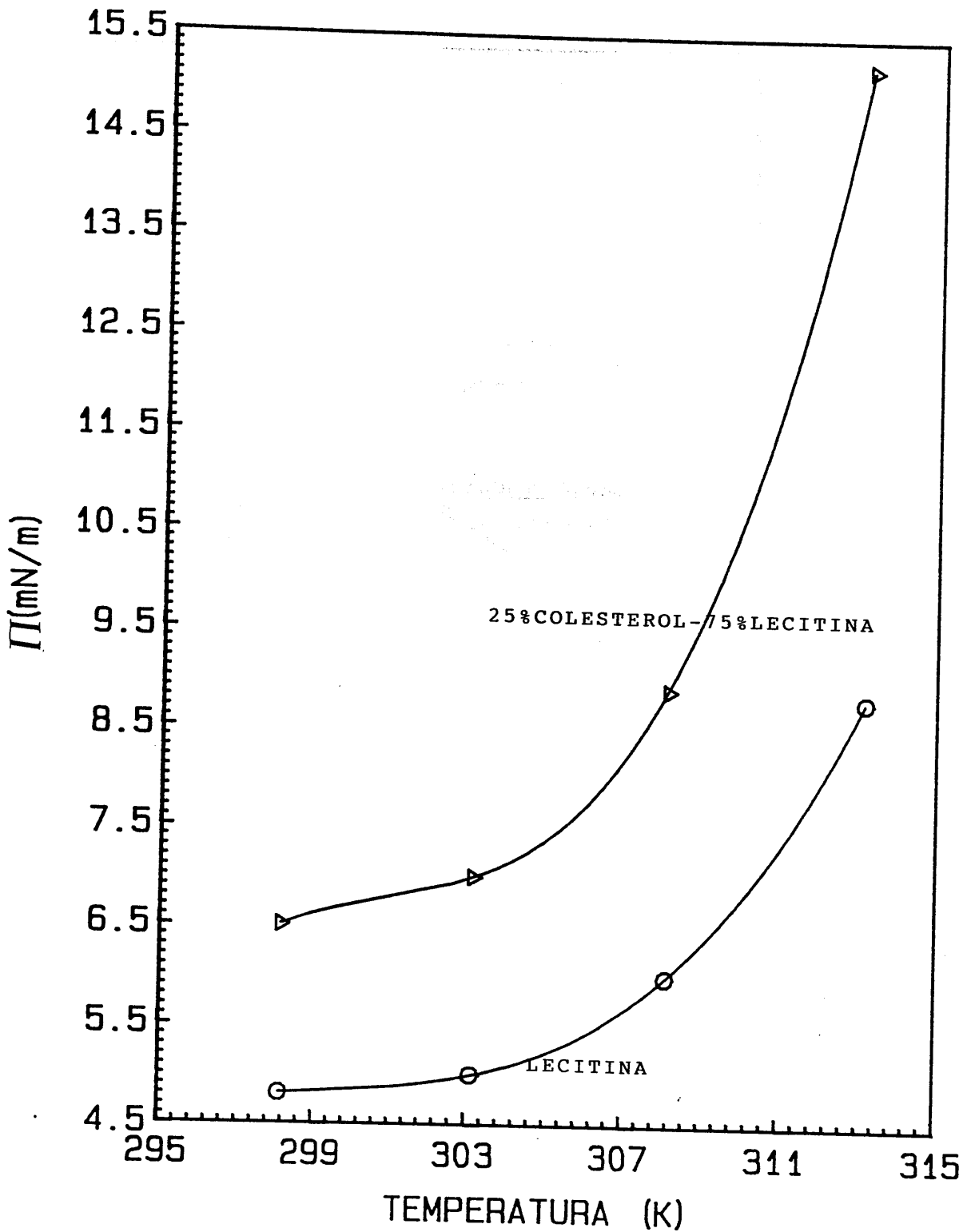


Fig. 4.1. Presión superficial a la que tiene lugar la transición LE-LC en monocapas formadas por ácido colesterol y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00



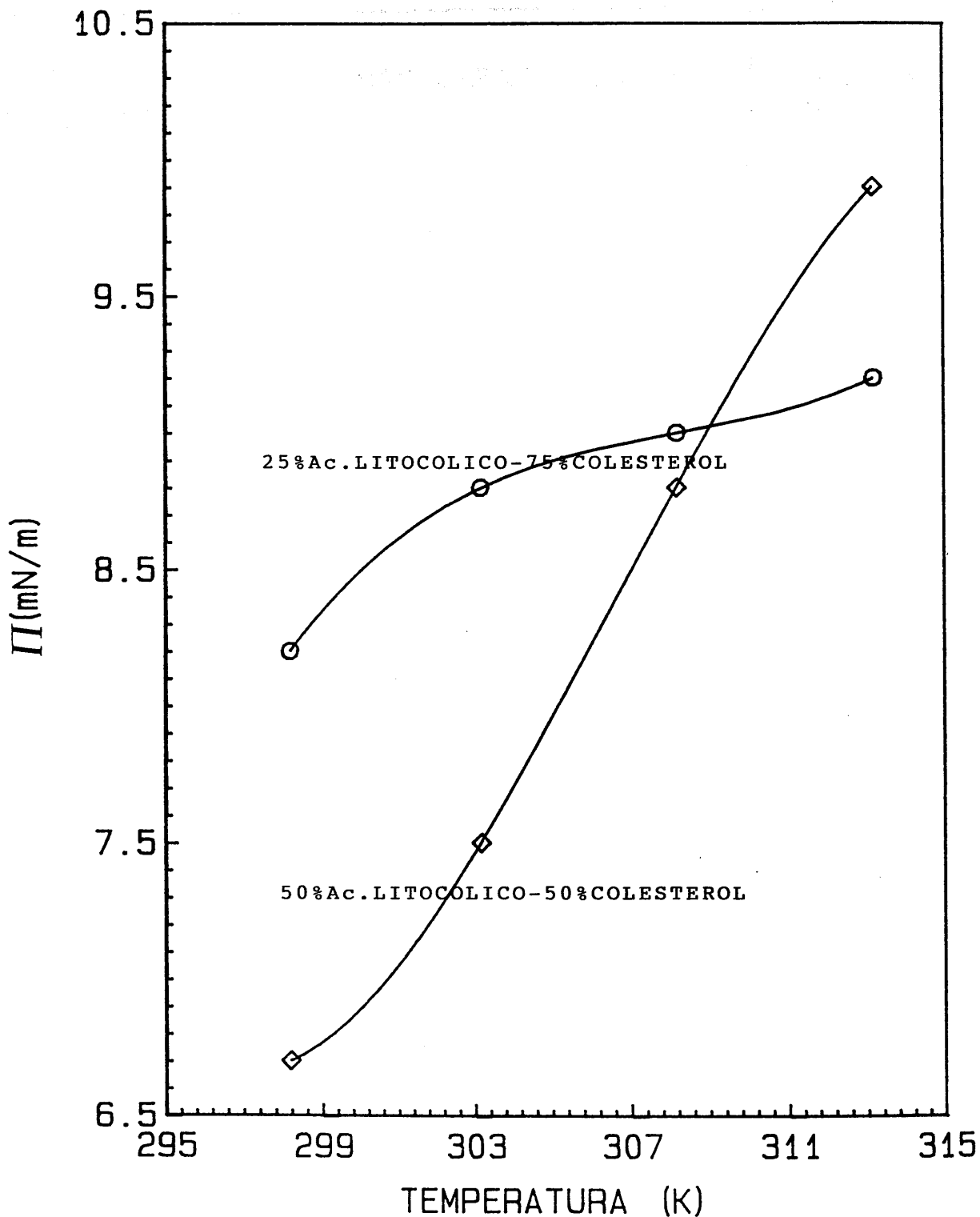


Fig. 4.2. Presión superficial a la que tiene lugar la transición LE-LC en monocapas formadas por ácido colesterol y ácido litocólico a diferentes temperaturas y pH=6.00

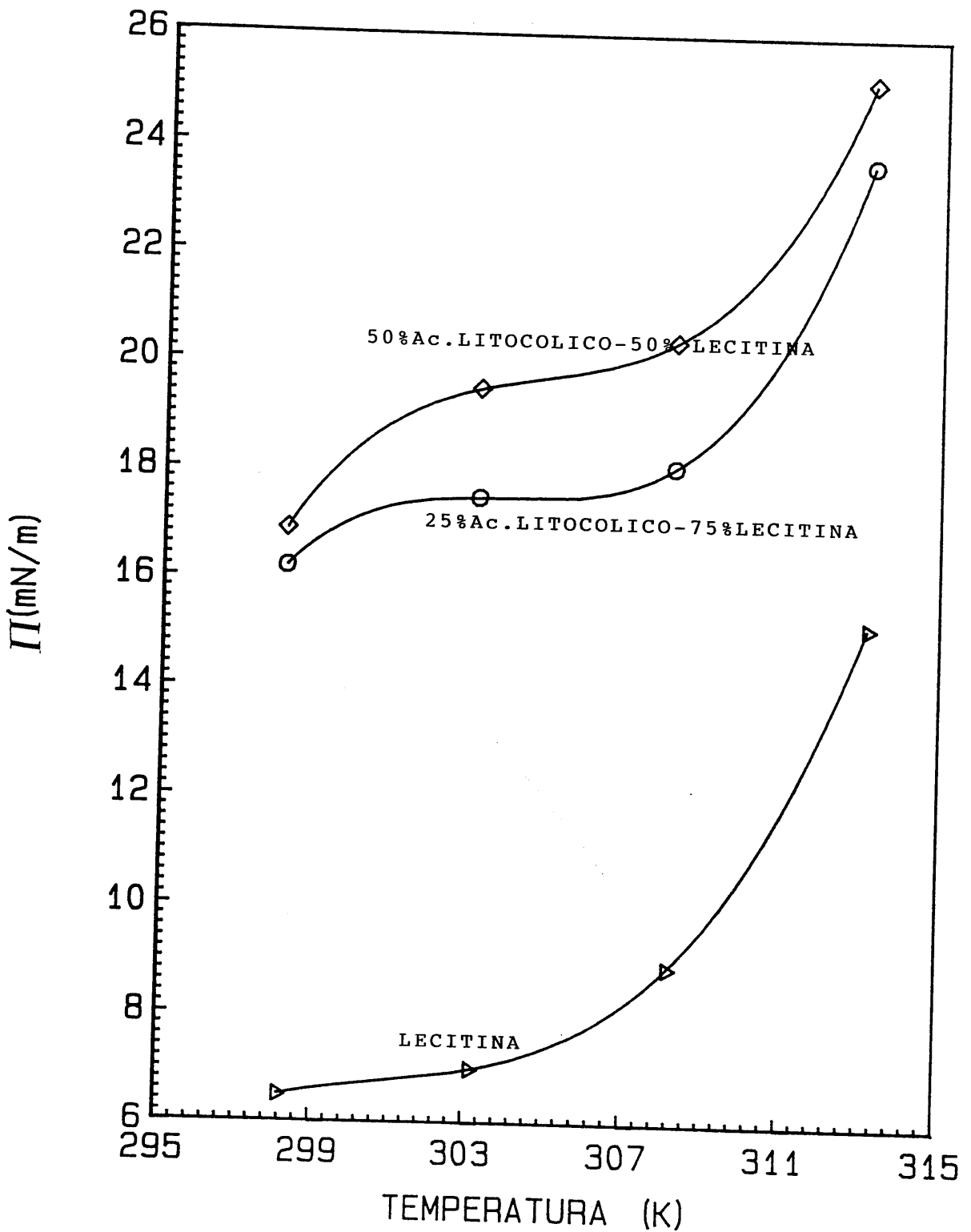


Fig. 4.3. Presión superficial a la que tiene lugar la transición LE-LC en monocapas formadas por ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

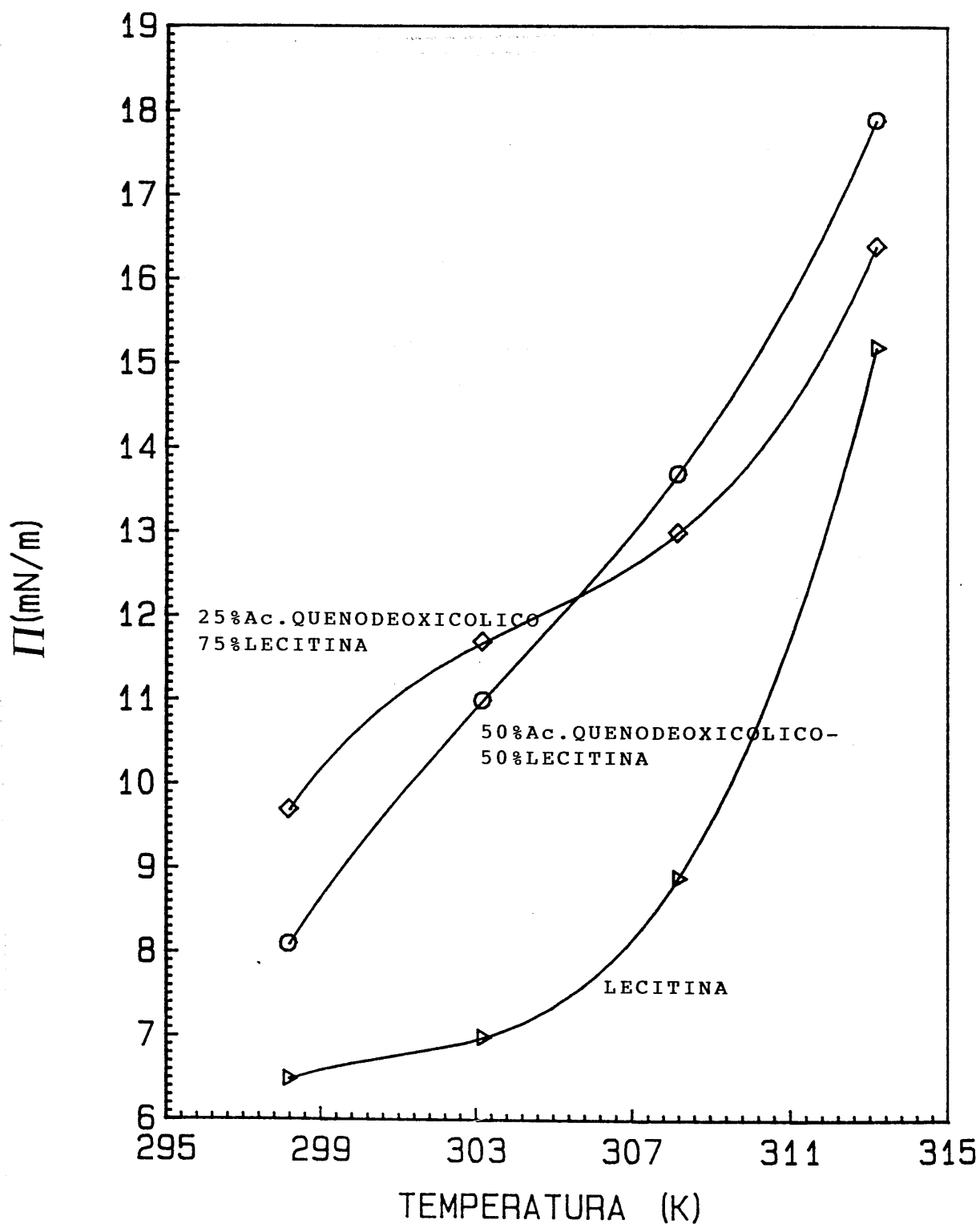


Fig. 4.4. Presión superficial a la que tiene lugar la transición LE-LC en monocapas formadas por ácido queno-deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

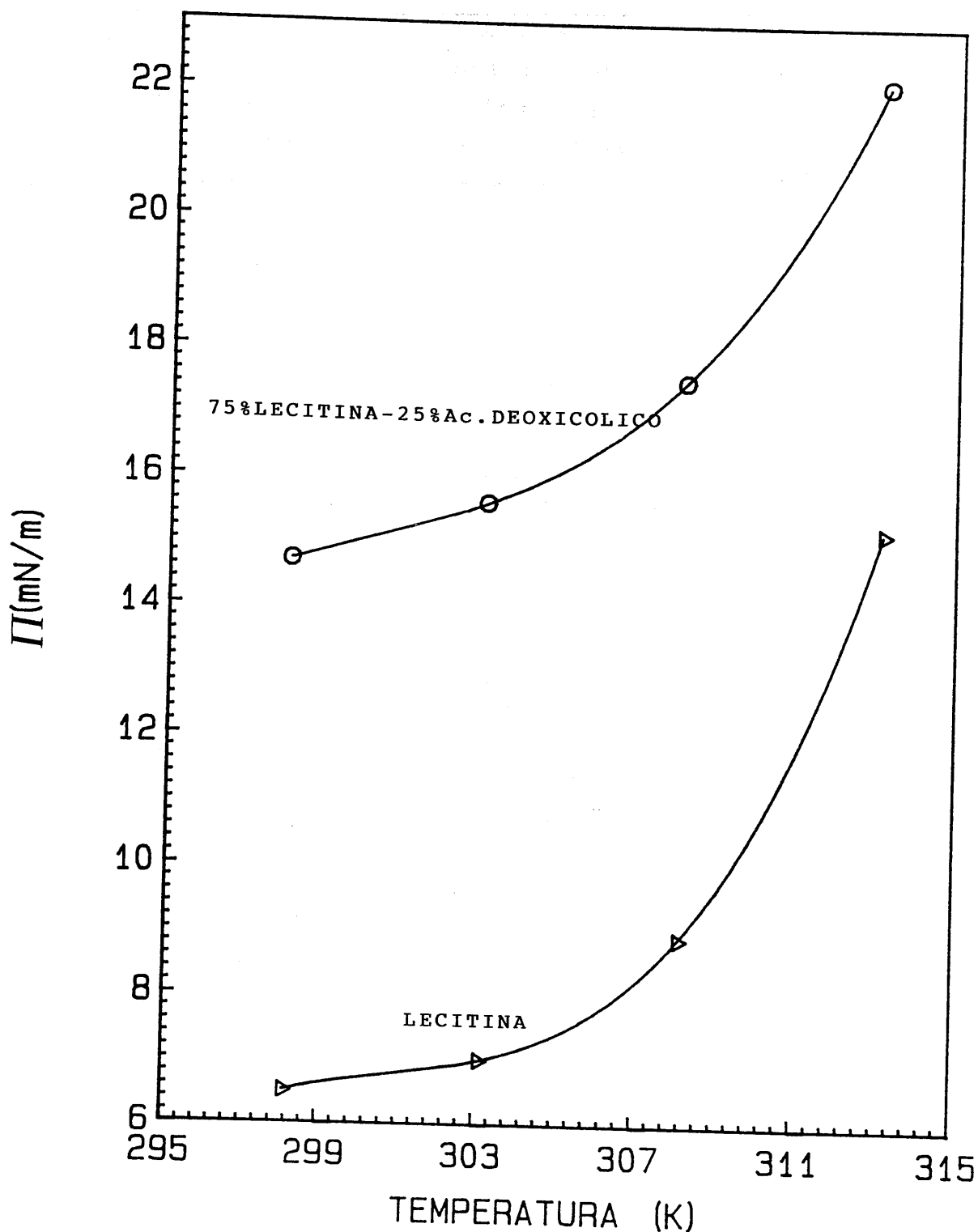


Fig. 4.5. Presión superficial a la que tiene lugar la transición LE-LC en monocapas formadas por ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

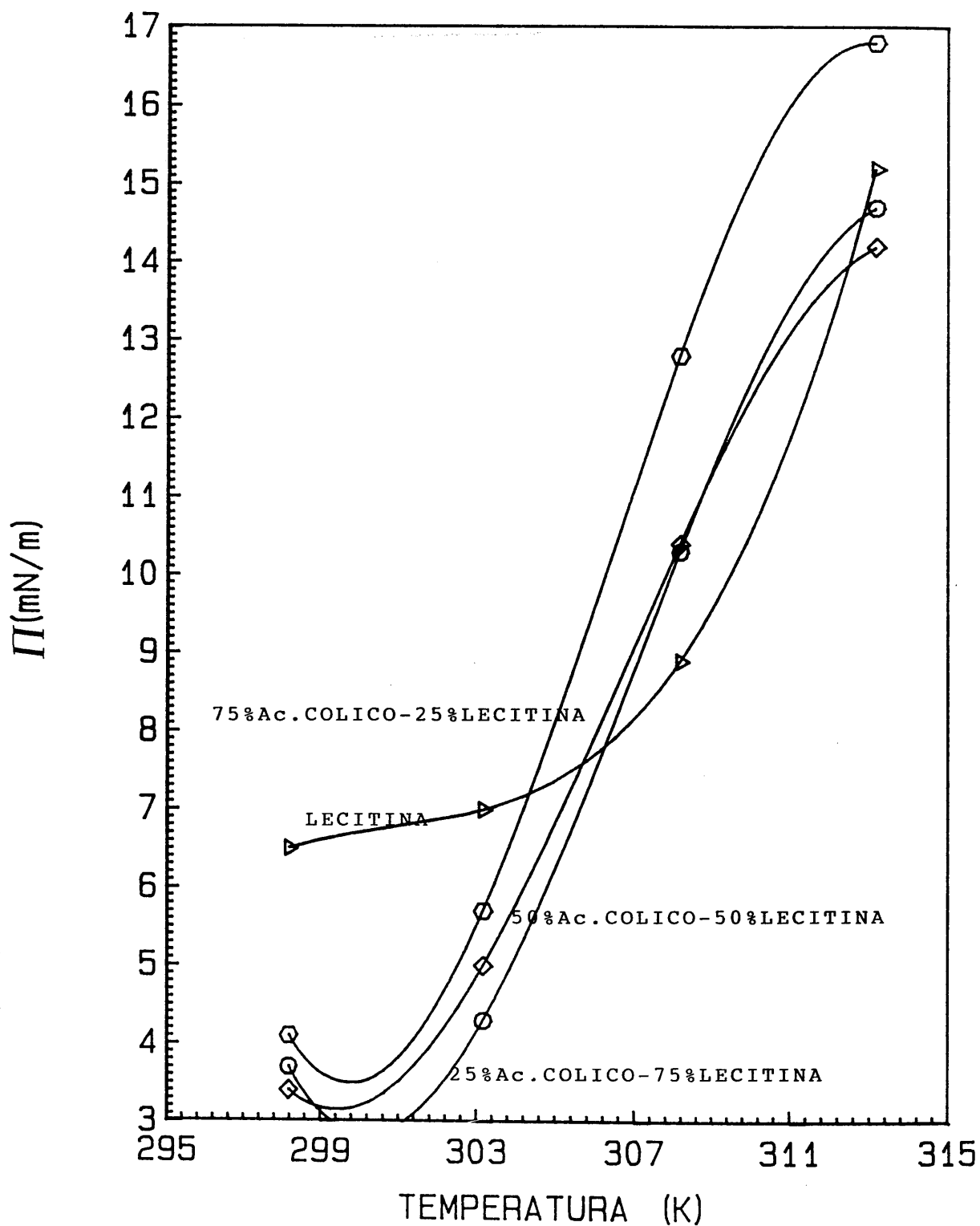


Fig. 4.6. Presión superficial a la que tiene lugar la transición LE-LC en monocapas formadas por ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

donde los valores de presión superficial a los que tiene lugar la transición LE-LC disminuyen al aumentar el porcentaje de colesterol en la monocapa desde 50 hasta 75%.

Los resultados para las películas monomoleculares formadas por ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina se observan en la figura 4.3 donde un aumento de la proporción de ácido biliar provoca mayores valores en la presión superficial a la que tiene lugar la transición principal objeto de estudio.

En las siguientes figuras 4.4-4.6 se representan las mismas variables, presión superficial de transición-temperatura para los casos de películas monomoleculares formadas por lecitina y los ácidos quenodeoxicólico, deoxicólico y cólico a diferentes proporciones. En todas ellas se observa una disminución en los valores de presión superficial, en comparación con los observados para el sistema lecitina-ácido litocólico, ya que estos tres ácidos biliares no presentan la transición LE-LC cuando se extienden solos para formar monocapas, a diferencia del comportamiento presentado por el ácido litocólico.

En todos los casos se observa un progresivo aumento de la pendiente conforme aumenta la temperatura y en particular, a partir de la temperatura 308.15 K, la presión superficial de transición experimenta un considerable aumento.

En la figura 4.7 representamos los valores medidos de tensión superficial de la disolución tampón (a pH=6.00) utilizada como subfase en función de la temperatura, que también serán de utilidad en el posterior cálculo del cambio de entropía molar parcial. La tensión superficial se midió en un dispositivo automático descrito por Cabrerizo (1986) y Bruque (1987).

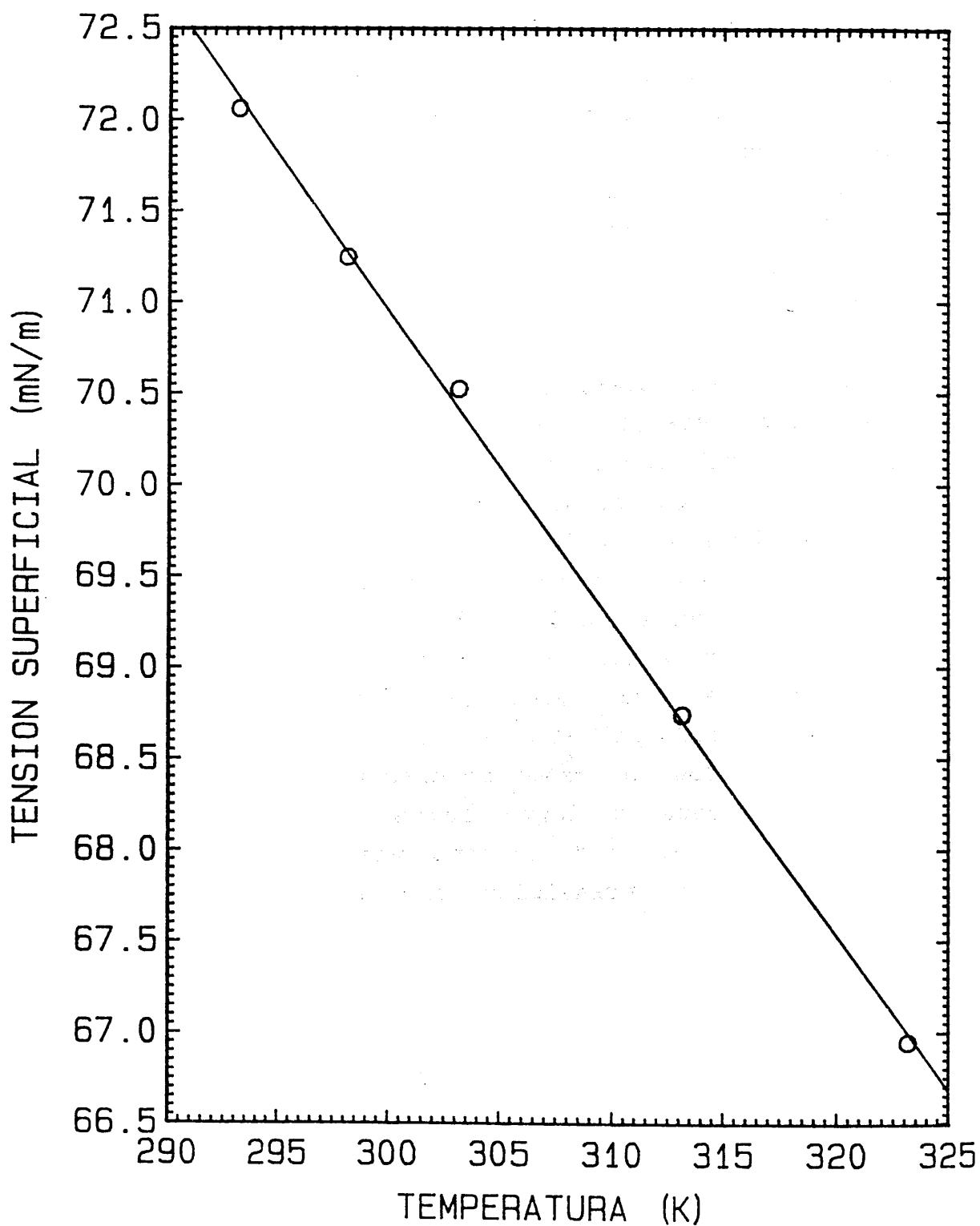


Fig. 4.7. Tensión superficial de la disolución acuosa que constituye la subfase a diferentes temperaturas y pH=6.00

3. CAMBIOS DE ENTROPIA, ENTALPIA Y ENERGIA MOLARES PARCIALES ASOCIADOS A LA TRANSICION DE FASE LIQUIDO EXTENDIDO-LIQUIDO CONDENSADO

En este apartado estudiamos los cambios de entropía, entalpía y energía molares parciales que tienen lugar cuando las monocapas sufren una transición entre los estados líquido extendido (LE) y líquido condensado (LC). Solamente presentamos los casos de películas monomoleculares constituidas por L- α -fosfatidilcolina y colesterol y por esta misma lecitina con los cuatro ácidos biliares estudiados en esta Memoria, ya que las monocapas mixtas compuestas por colesterol y uno de estos ácidos biliares no exhiben, en la mayoría de los casos, la transición LE-LC.

3.1. CAMBIO DE FASE EN MONOCAPAS FORMADAS POR L- α -FOSFATIDILCOLINA Y COLESTEROL

En la figura 4.8 representamos el cambio de entropía molar parcial que experimentan las películas monomoleculares que sufren la transición de fase LE-LC en función de la temperatura cuando las monocapas están constituidas por distintas fracciones de lecitina y colesterol.

En primer lugar, observamos que la variación de entropía molar parcial en todos los casos es negativa como cabía esperar, ya que estamos estudiando la evolución de la monocapa al pasar de estado líquido extendido a estado líquido condensado.

Un cambio de entropía mayor en la transición puede sugerir un considerable cambio de orientación molecular en las monocapas, a diferencia de un pequeño cambio de entropía asociado a un cambio débil en la configuración molecular de la monocapa. En este sentido, cuando la monocapa está constituida solo por L- α -fosfatidilcolina observamos un progresivo aumento del cambio de entropía (en valor absolu-

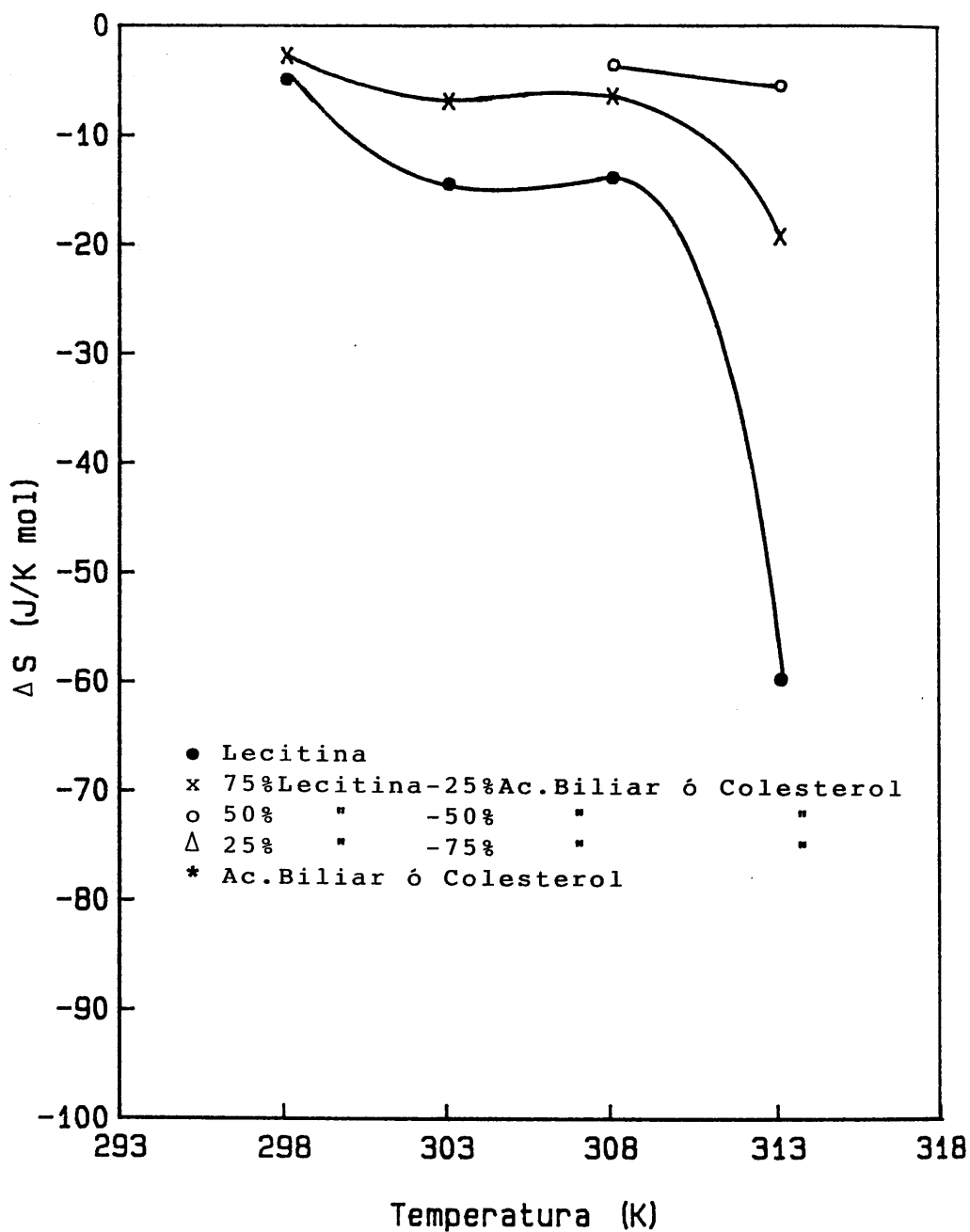


Fig. 4.8. Cambio de entropía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por colesterol y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

to) conforme aumenta la temperatura y en particular, éste se hace más significativo entre 35 y 40°C, resultado que lógicamente está de acuerdo con el observado en la figura 4.1, donde la presión superficial de transición aumenta considerablemente al elevar la temperatura desde 35 hasta 40°C.

Cuando la composición de la monocapa es de 75% de lecitina y 25% de colesterol, el efecto condensante de éste sobre la primera provoca una disminución en los valores de presión superficial de transición (Fig. 4.1) y esto se ve reflejado en el menor aumento del cambio de entropía al pasar de 35 a 40°C. Por la misma razón y de forma más acusada, estos cambios de entropía para transiciones en monocapas con 50% de lecitina y 50% de colesterol oscilan entre -3 y -5 JK⁻¹mol⁻¹.

El hecho de que el cambio de entropía molar parcial para la transición LE-LC se modifique con la composición de la monocapa a un temperatura fija, es indicativo de que este tipo de transición puede explicarse por cambios entrópicos (Motomura, 1979), es decir, soporta el significado físico dado a esta transición por diversos autores y anotado en distintas ocasiones en esta Memoria, que se resume en un cambio de orientación y ordenación molecular por compresión de la monocapa.

En las siguiente figura, 4.9, representamos los cambios de entalpía molar parcial en función de la temperatura, para la transición LE-LC que sufren las monocapas formadas por las mismas proporciones de lecitina y colesterol de la figura 4.8.

En primer lugar destacamos para estas curvas un comportamiento cualitativo análogo al presentado por las curvas cambio de entropía-temperatura.

Los valores de cambio de entalpía molar parcial son lógicamente negativos, indicando que la transición LE-LC constituye un proceso exotérmico. El hecho de que estos cambios no sean independientes de la composición de la

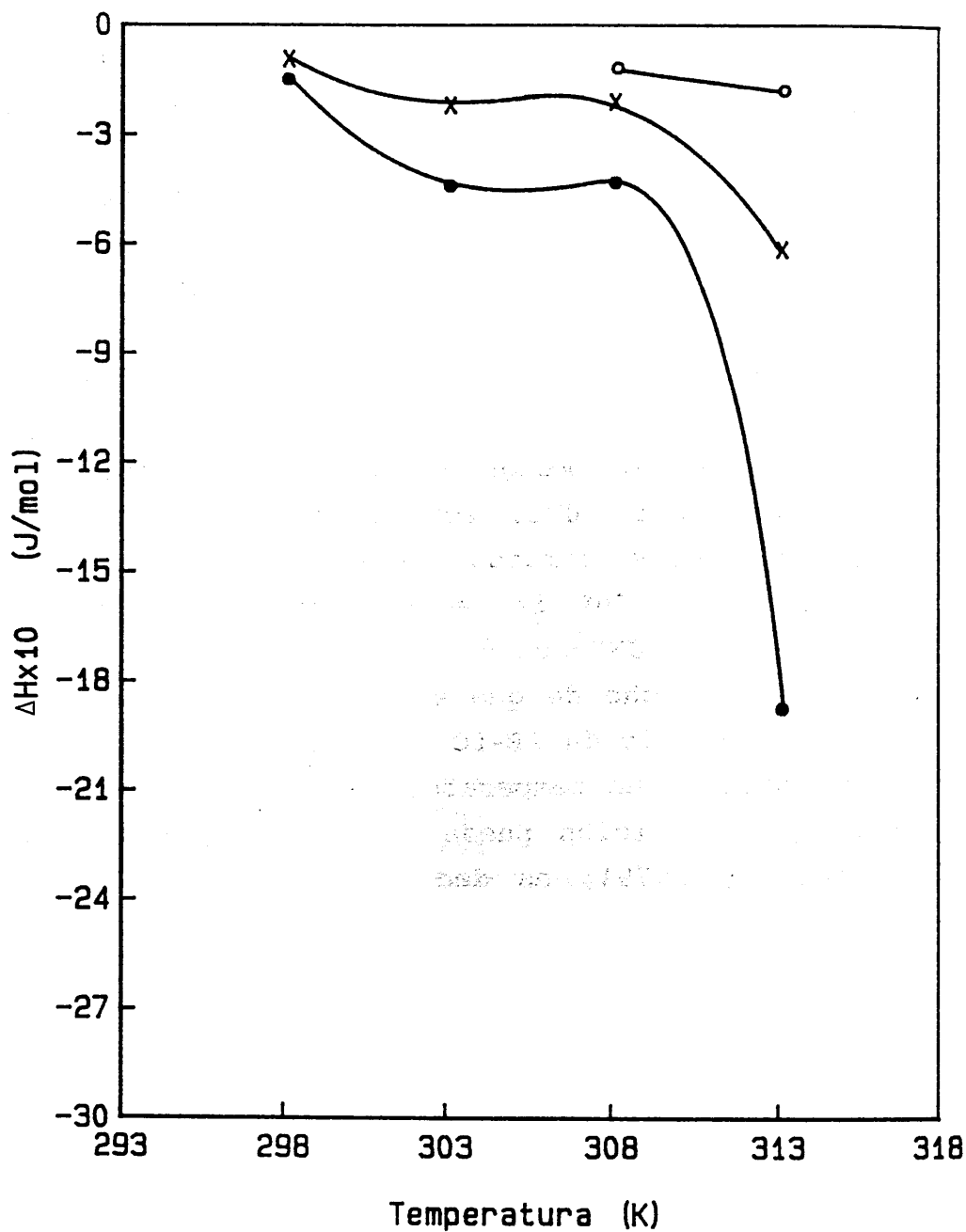


Fig. 4.9. Cambio de entalpía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por colesterol y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

monocapa permite pensar de nuevo en la presencia de interacciones específicas entre los componentes que forman la monocapa, ya que la no dependencia con la composición se presenta en ejemplos típicos de monocapas que se comportan como mezclas ideales (Motomura, 1974). Este hecho también justifica los resultados obtenidos por nosotros para estas películas monomoleculares que en el segundo capítulo de esta Memoria nos permitían concluir que la miscibilidad entre estos componentes es más acusada conforme aumenta la temperatura, y en efecto, las diferencias en los cambios de entalpía para diferentes composiciones a temperatura fija son más pronunciados a 313.15 K.

Con el objeto de poder discutir la dependencia del cambio de energía molar parcial con la temperatura, en la siguiente figura, 4.10, hemos representado en función de la temperatura el factor que evalúa las interacciones debidas a la tensión superficial, dado por la expresión:

$$\Delta U - \Delta H = -(\bar{\Pi} - \gamma) (a^c - a^e) \quad (4.19)$$

Para las transiciones LE-LC que tienen lugar en monocapas formadas por lecitina y 75% de lecitina-25% de colesterol, observamos que esta interacción es máxima a la temperatura de 303.15 K. Este resultado queda explicado por la propia evolución de esta transición con la temperatura, la cual tiene lugar a presiones superficiales más altas y en intervalos de área/molécula menos amplios conforme aumenta la temperatura. A temperaturas relativamente altas, 308.15 y 313.15 K, el factor $(a^c - a^e)$ es muy pequeño y a la temperatura más baja de las estudiadas, 298.15 K, la presión superficial de transición también presenta un valor bajo, sin embargo a la temperatura intermedia 303.15 K, tanto la presión superficial de transición como el intervalo de área/molécula presentan valores intermedios que se superponen provocando este efecto acusado frente al observado para las otras temperaturas.

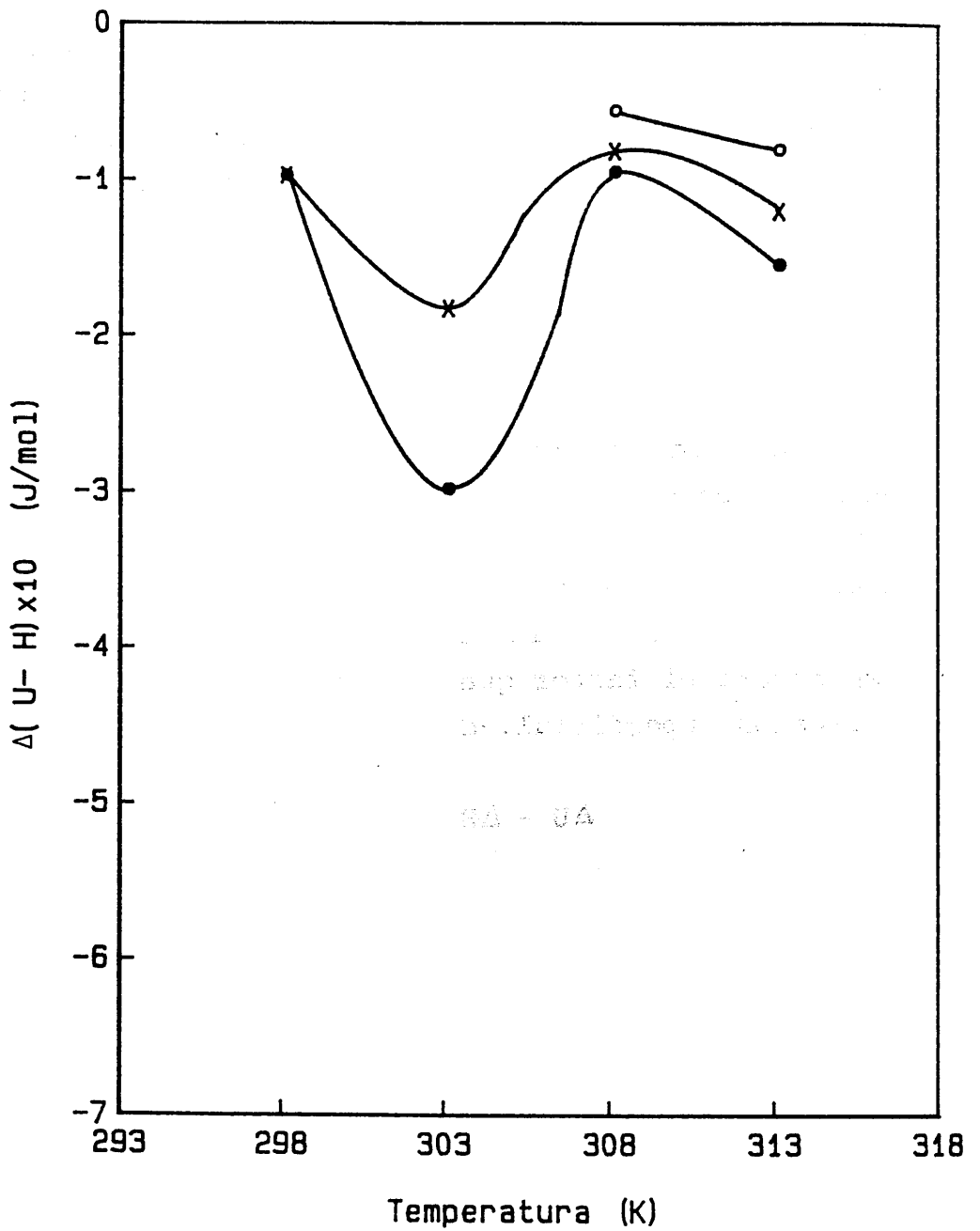


Fig. 4.10. Diferencia entre los cambios de energía y entalpía molares parciales en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por colesterol y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

Este resultado explica la forma de las curvas presentadas en la figura 4.11, en la cual representamos el cambio de energía molar parcial asociado a la transición LE-LC en función de la temperatura. En esta figura observamos una dependencia análoga a la obtenida para el cambio de entalpía con la temperatura, con la diferencia de que este cambio es más pronunciado que el anterior a 303.15 K por la presencia de interacciones entre los componentes debidas a la tensión superficial. Sin embargo, en términos generales podemos concluir que este tipo de interacción no modifica la evolución de esta transición con la temperatura, por lo que las interacciones entre moléculas debidas a una orientación preferente serán las determinantes.

Finalmente, la disminución del cambio de energía molar parcial con la fracción molar de colesterol soporta la conclusión de que la interacción mutua entre moléculas de colesterol y lecitina es más débil que las interacciones entre moléculas de los componentes puros en un estado superficial (Motomura, 1979) y efectivamente esto se refleja en la forma de las isothermas experimentales registradas para monocapas de colesterol (en estado LC) diferente de las que presentan las correspondientes a monocapas mixtas de lecitina y colesterol (que presentan transición LE-LC, es decir, están menos condensadas).

3.2. CAMBIO DE FASE EN MONOCAPAS FORMADAS POR L- α -FOSFATIDILCOLINA Y ACIDO LITOCOLICO.

Los cambios de entropía y entalpía molares parciales evaluados para la transición LE-LC que sufren películas monomoleculares constituídas por distintas proporciones de lecitina y ácido litocólico, en función de la temperatura, están representados en las figuras 4.12 y 4.13 respectivamente.

En estas figuras observamos que las monocapas

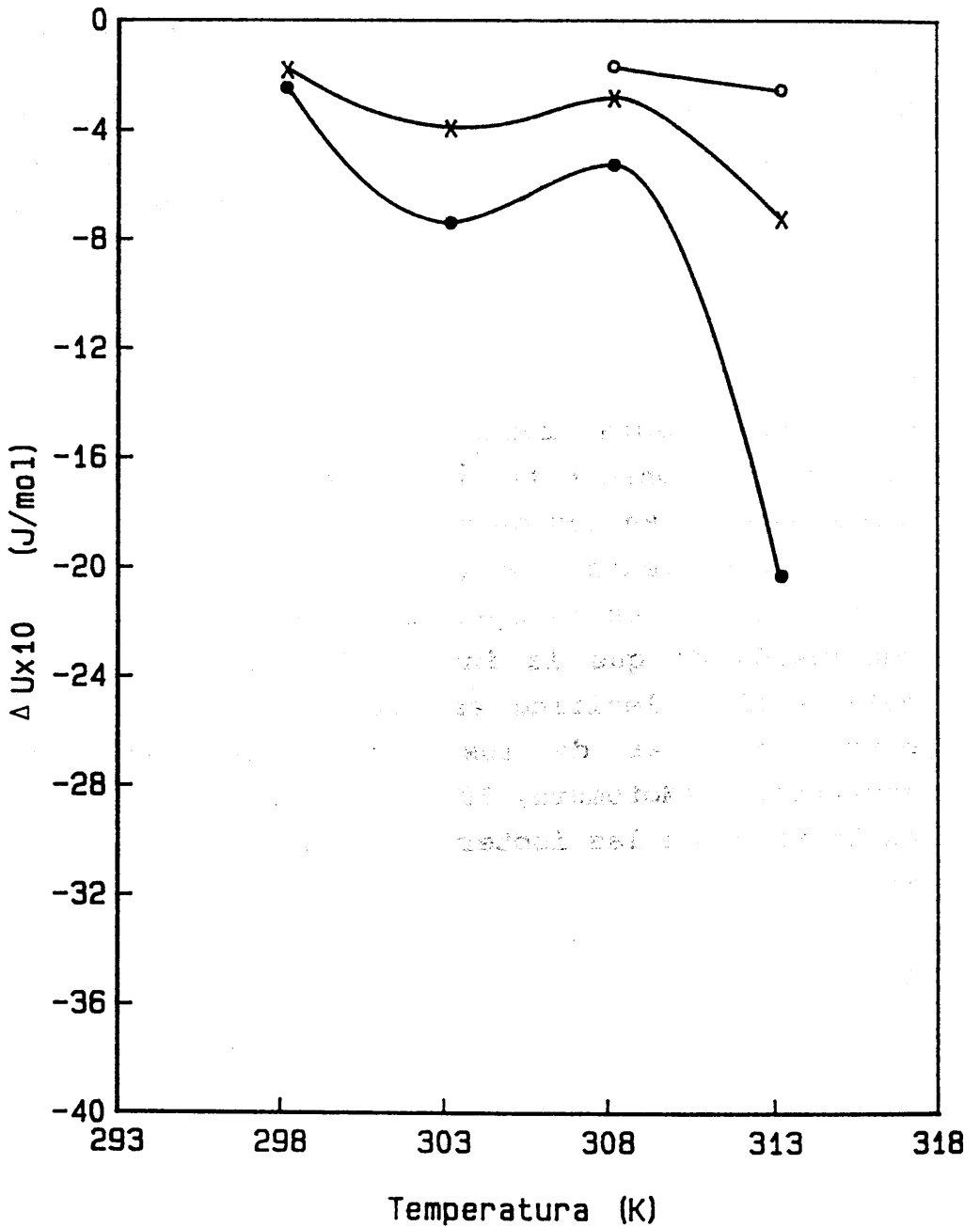


Fig. 4.11. Cambio de energía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por colesterol y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

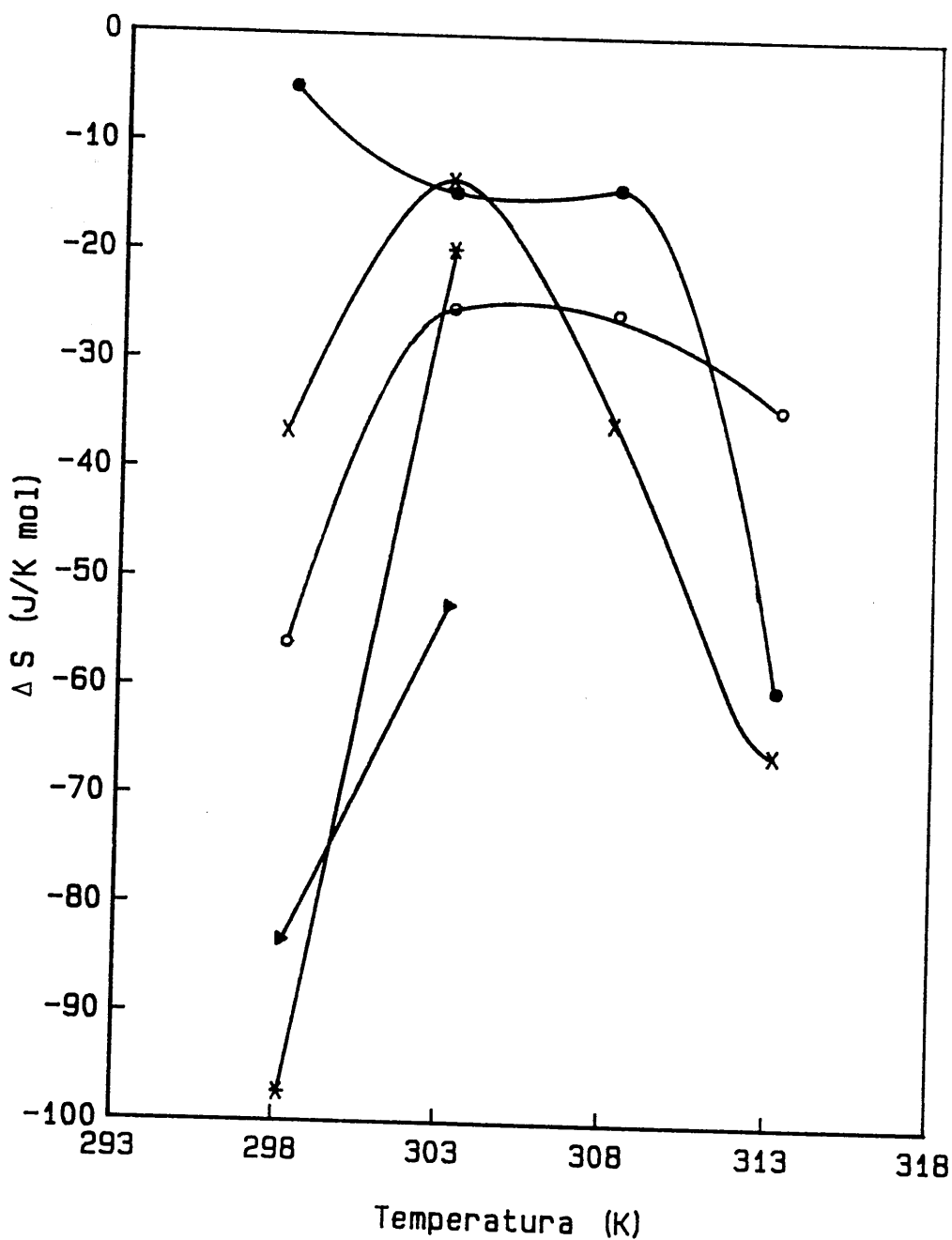


Fig. 4.12. Cambio de entropía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

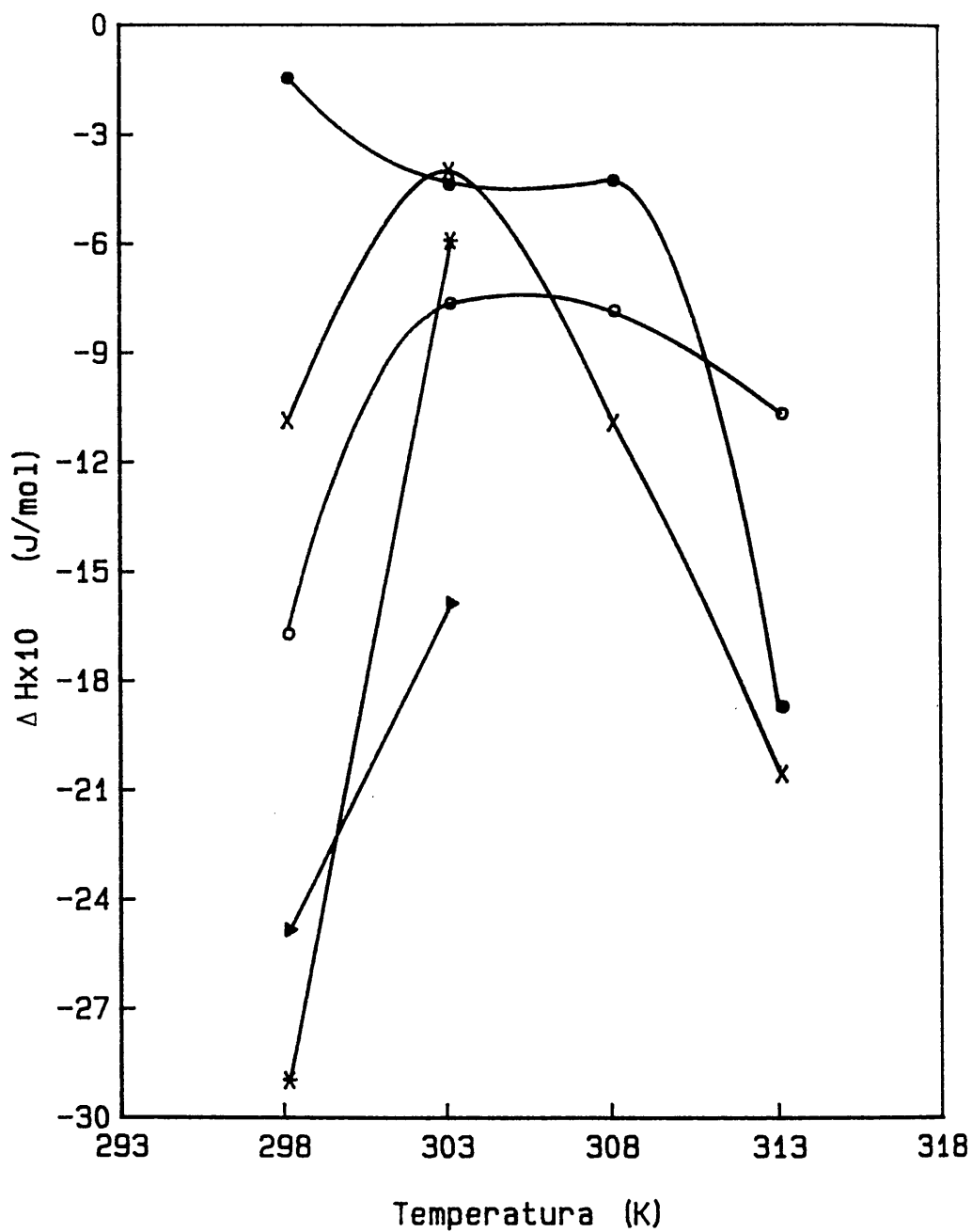


Fig. 4.13. Cambio de entalpía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

constituídas por ácido litocólico y por el sistema 75% de ácido litocólico-25% de lecitina sufren la transición LE-LC solamente a las temperaturas 298.15 y 303.15 K. Al mismo tiempo la evolución de esta transición con la temperatura se presenta inversa a la observada para el caso de películas formadas por lecitina, en el sentido de que los cambios de entropía y entalpía molares parciales disminuyen (en valor absoluto) con el aumento de la temperatura. Este comportamiento tiene su explicación en la forma de las isothermas experimentales registradas por compresión, las cuales muestran que a la temperatura de 298.15 K los estados LE y LC se encuentran bastante alejados entre si, predominando el término $(a^c - a^e)$ y, el hecho de que la temperatura crítica para la transición que exhiben las monocapas formadas por estos sistemas se encuentra entre 303.15 y 308.15 K, ya que a esta última temperatura el estado de las monocapas es LE en todo el intervalo de área/molécula. El comportamiento diferente presentado por los cambios de entropía y entalpía para esta misma transición pero cambiando el sistema por lecitina, se debe a que la temperatura crítica para esta transición se encuentra por encima de 313.15 K y en el intervalo de temperaturas estudiado, los estados LE y LC se encuentran próximos entre si predominando el término $\partial \Pi_t / \partial T$, o lo que es lo mismo, el valor de la presión superficial de transición experimenta un gran aumento con la temperatura.

El resto de los resultados obtenidos para proporciones intermedias (25, 50 y 75% de lecitina) quedan explicados ya que presentan un comportamiento también intermedio al estudiado para los componentes individuales.

Los cambios de entropía y entalpía molares parciales siguen siendo negativos como cabía esperar, ya que la transición LE-LC experimentada por nuestras monocapas es la misma para todos los sistemas, por lo que este resultado será una constante en todos los casos estudiados.

Las diferencias máximas para los cambios de entalpía molar parcial a diferentes composiciones y temperatura fija

se observan a 298.15 K de acuerdo con los resultados obtenidos en el apartado 4.3.1. del segundo capítulo que predicen mayor miscibilidad a esta temperatura. No obstante, en el intervalo de presiones superficiales comprendidas entre 5 y 15 mNm^{-1} , donde sufren la transición LE-LC el sistema ácido litocólico-lecitina, el estudio de miscibilidad indica la presencia de interacciones entre ambos componentes (ver figura 2.57, a $T=25^{\circ}\text{C}$), de acuerdo con los resultados obtenidos en este apartado, donde el cambio de entalpía molar parcial se modifica con la composición de la monocapa.

La figura 4.14, en la que se representa el término $\Delta U - \Delta H$ en función de la temperatura, nos informa que la interacción debida a la tensión superficial es máxima para el caso de monocapas de ácido litocólico a 25°C y para el resto de las películas a 30°C . Estos resultados se explican en los mismos términos que en el anterior apartado para el caso de monocapas constituidas por colesterol y lecitina y adelantamos, que esta interacción máxima a 30°C es una constante en la mayoría de los sistemas estudiados, ya que la transición LE-LC viene impuesta por la presencia del componente lecitina en los mismos.

Los cambios de energía molar parcial representados en la figura 4.15 en función de la temperatura, evalúan las interacciones globales en el transcurso de la transición LE-LC experimentada por las películas de ácido litocólico y lecitina. Estos cambios presentan el mismo comportamiento con la temperatura que los cambios de entalpía, por lo que la interacción evaluada por la diferencia entre ambos no es determinante en el conjunto de las interacciones existentes entre estos dos componentes y previstas por los cambios de energía con la composición de la monocapa.

3.3. CAMBIO DE FASE EN MONOCAPAS FORMADAS POR L- α -FOSFATIDILCOLINA Y ACIDO QUENODEOXICOLICO.

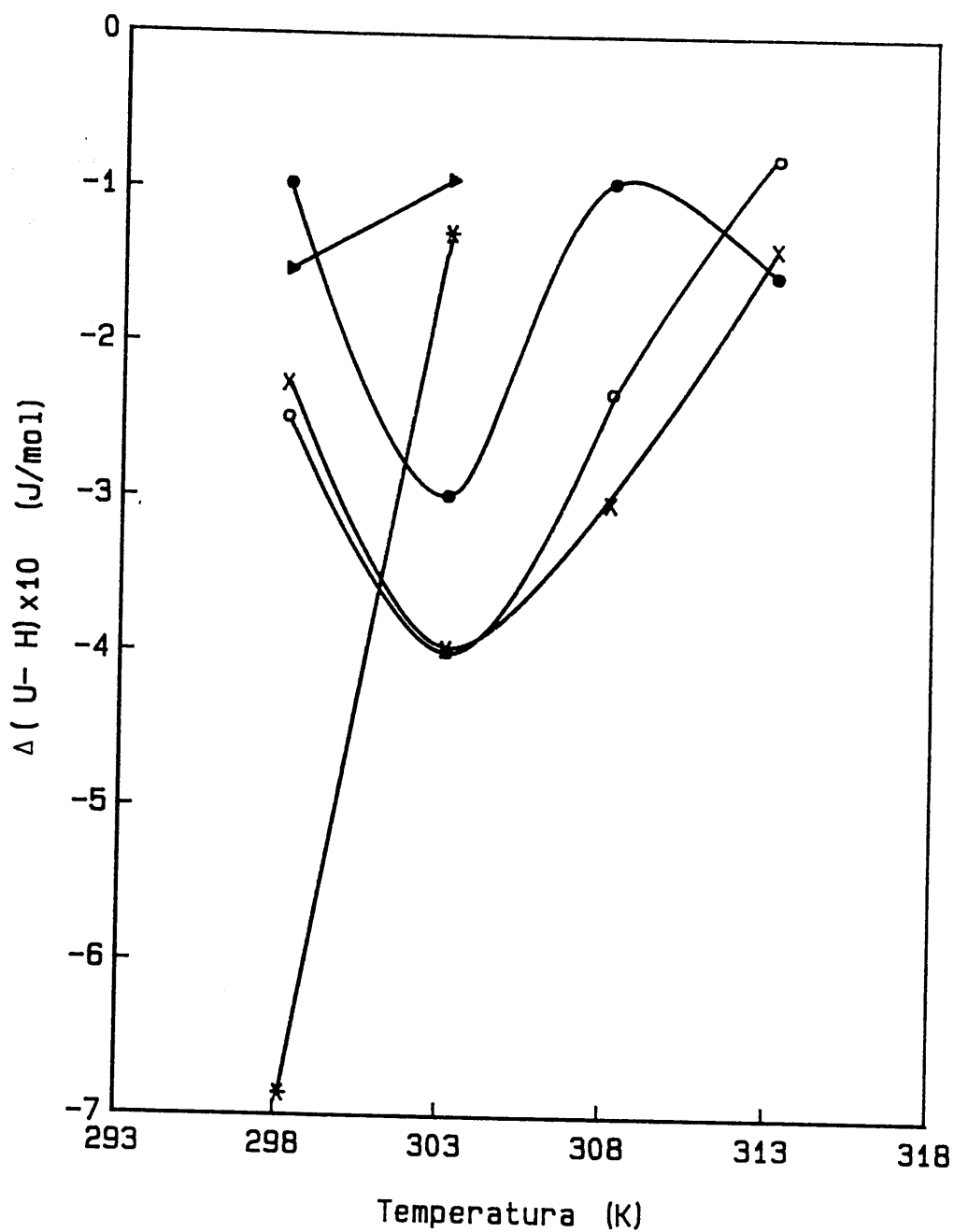


Fig. 4.14. Diferencia entre los cambios de energía y entalpía molares parciales en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

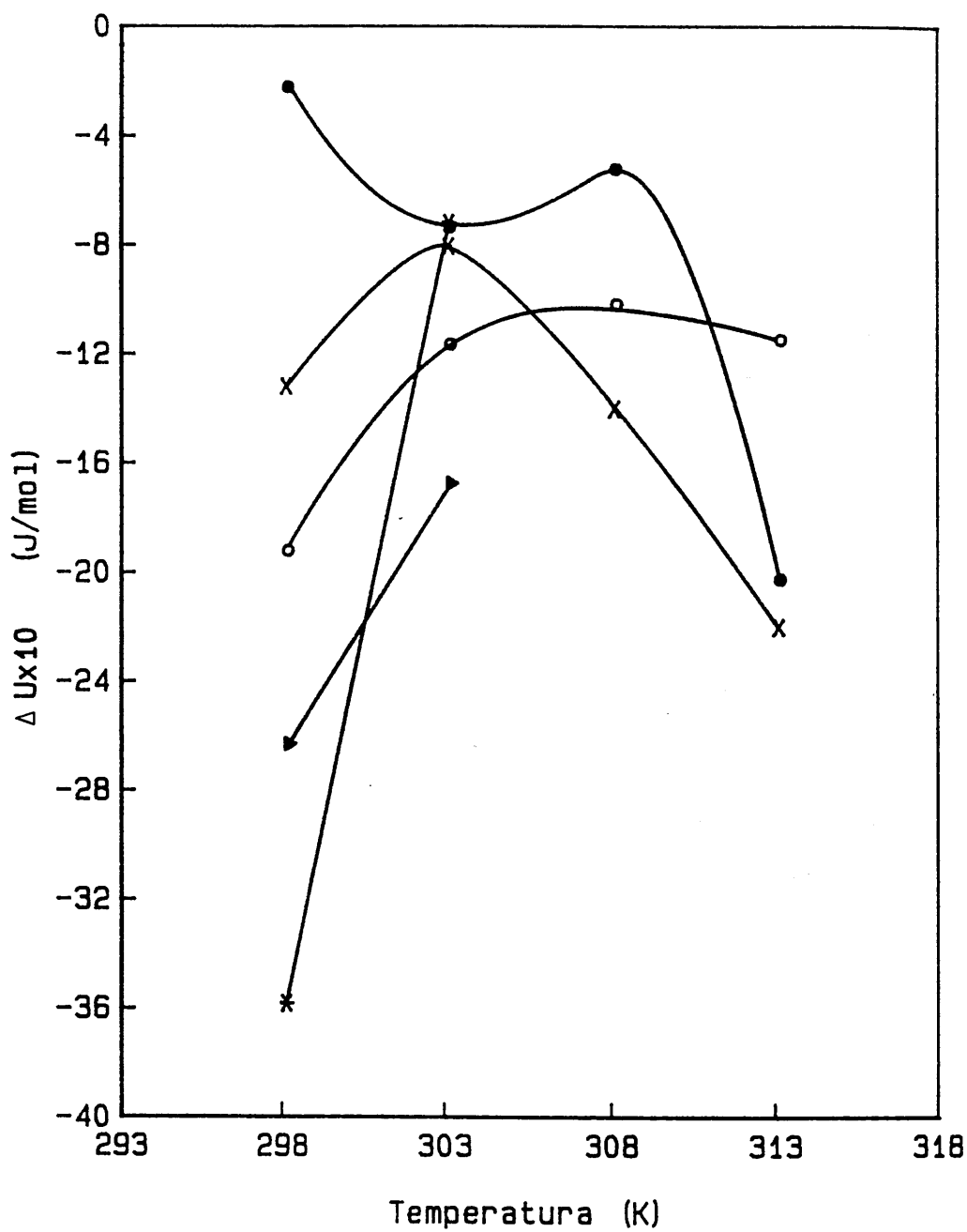


Fig. 4.15. Cambio de energía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

Las figuras 4.16 y 4.17 presentan de nuevo las variaciones con la temperatura de los cambios de entropía y entalpía molares parciales, pero esta vez obtenidos para la transición LE-LC que sufren las monocapas formadas por lecitina y ácido quenodeoxicólico.

En este caso, solamente presentan transición principal las películas monomoleculares con un alto contenido en lecitina, concretamente y para todo el intervalo de temperaturas estudiado, solo cuando la composición es de 50% de lecitina-50% de ácido quenodeoxicólico. El resto de las películas con más proporción de este ácido biliar se encuentran en estado LE y no experimentan este tipo de transición.

Estos cambios de entropía y entalpía, cuando la fracción es 50% de lecitina-50% de ácido quenodeoxicólico, disminuyen (en valor absoluto) con la temperatura, es decir, la diferencia entre los estados LE y LC es menor a altas temperaturas y por tanto, la energía puesta en juego debido al orden de dichos estados es también menor al aumentar la temperatura. Este comportamiento está provocado por el valor del término $a^c - a^e$, que experimenta una gran disminución con la temperatura, debido a que a esta fracción molar y a 40°C, la temperatura crítica para los cambios de entropía y entalpía para las películas con 75% de lecitina y 25% de ácido quenodeoxicólico, evolucionan con la temperatura de forma intermedia a como lo hacen la fracción anteriormente estudiada y la lecitina.

El cambio de energía debido a la tensión superficial de estas monocapas se presenta en función de la temperatura en la figura 4.18. En ella observamos de nuevo un comportamiento semejante a los casos anteriores, es decir, una interacción máxima a 30°C.

Finalmente, en la figura 4.19, están representados los cambios de energía molar parcial en función de la temperatura. Estos cambios varían igual que los de entalpía, lo que nos lleva a concluir una vez más, que la energía

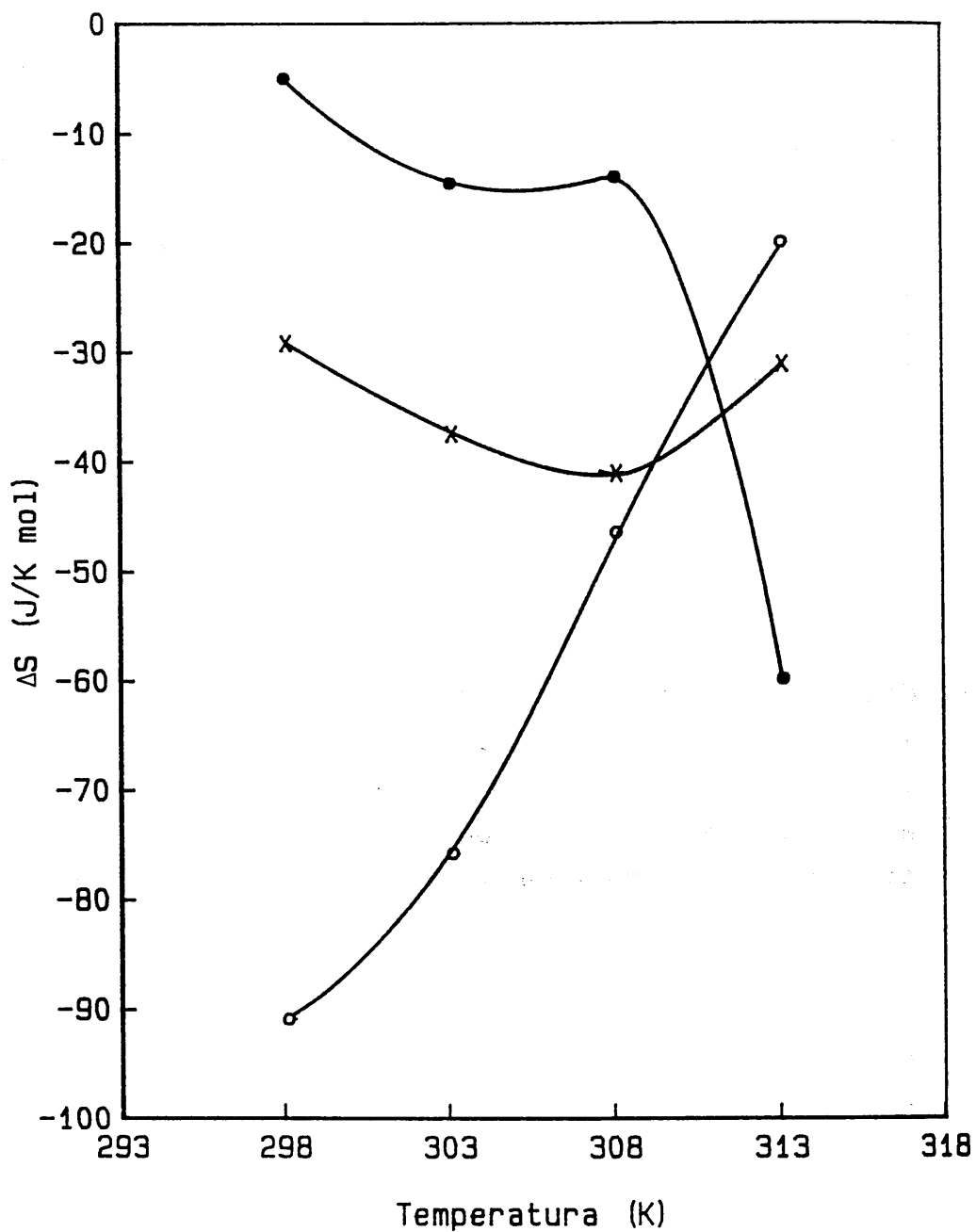


Fig. 4.16. Cambio de entropía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

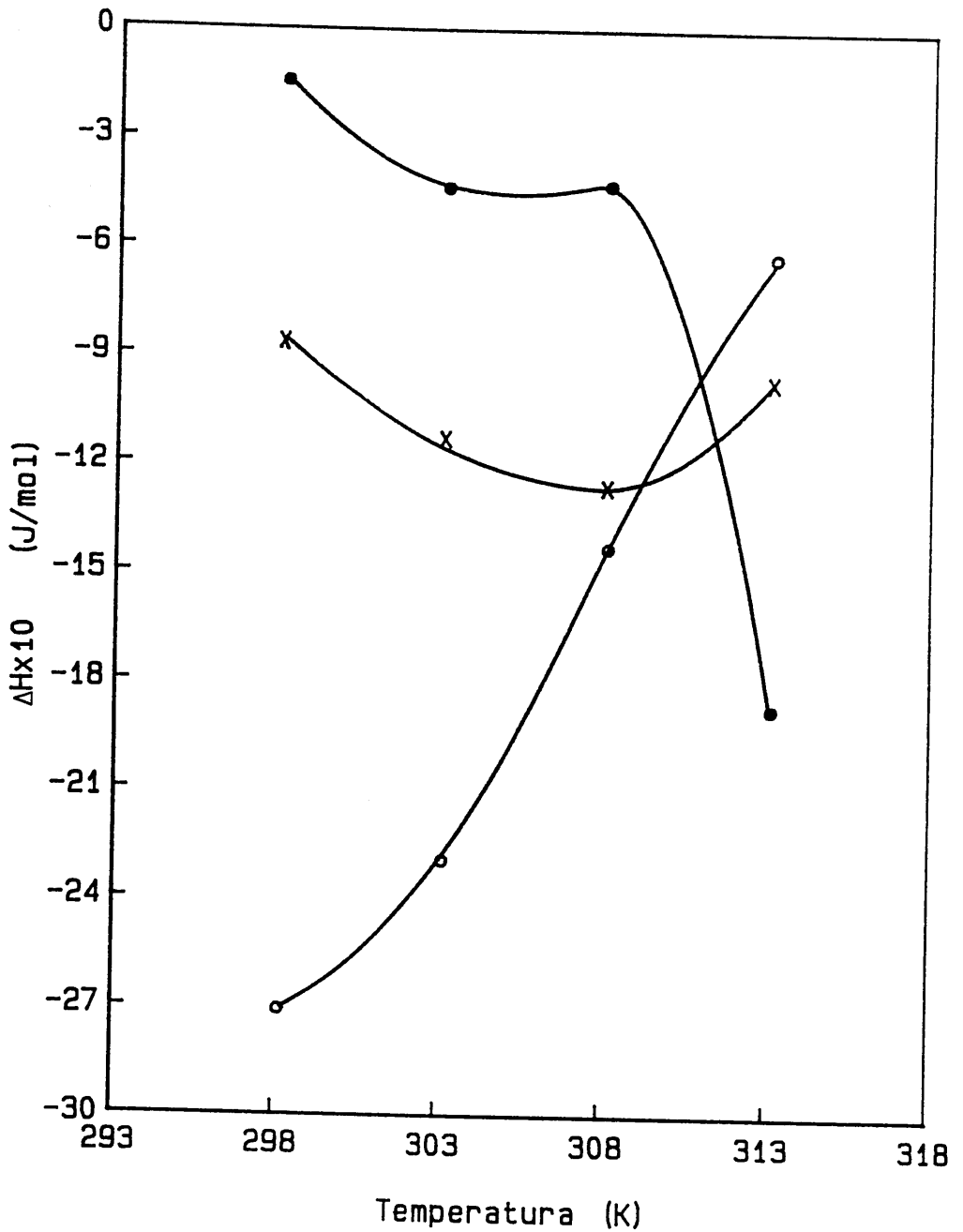


Fig. 4.17. Cambio de entalpía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

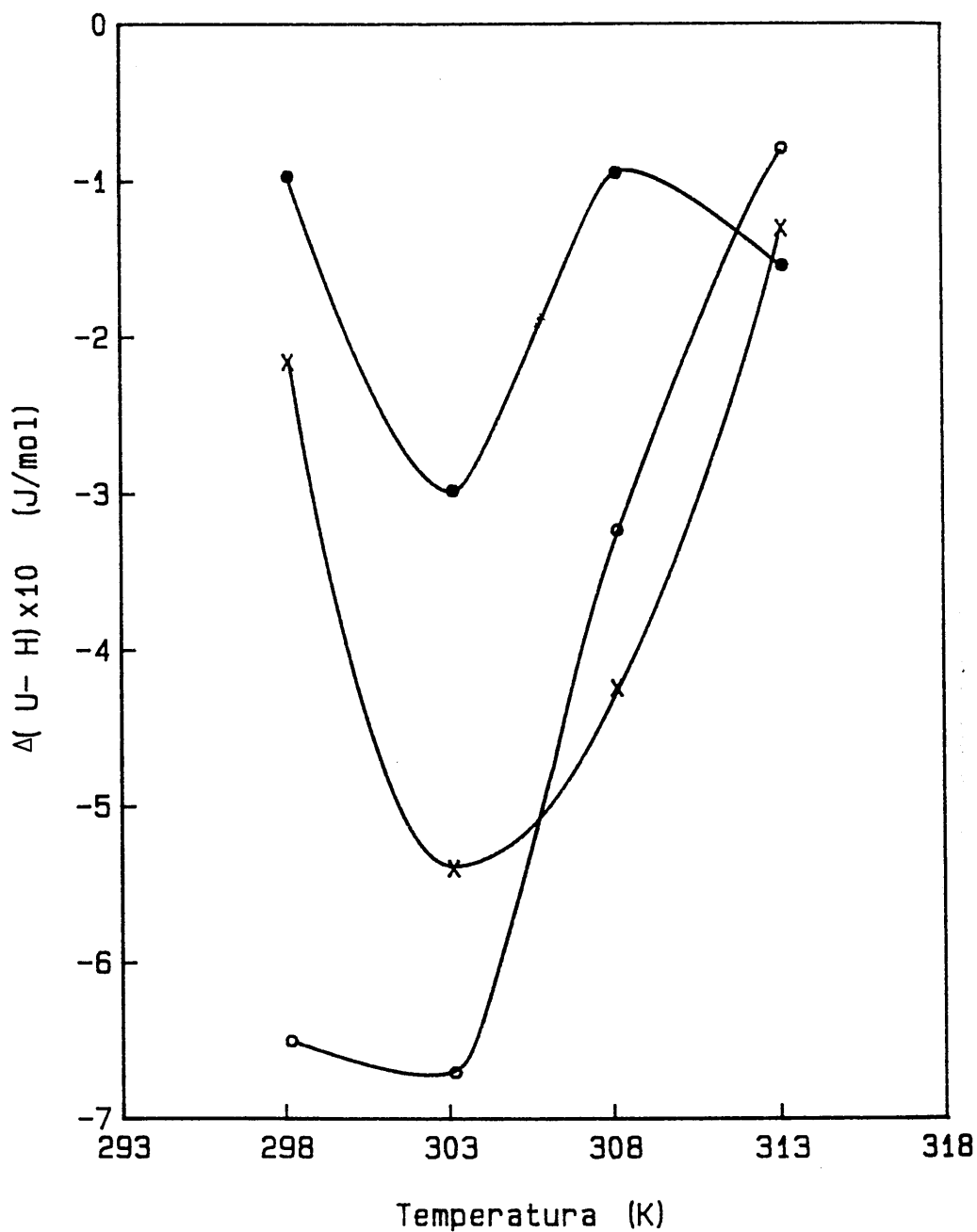


Fig. 4.18. Diferencia entre los cambios de energía y entalpía molares parciales en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido queneodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

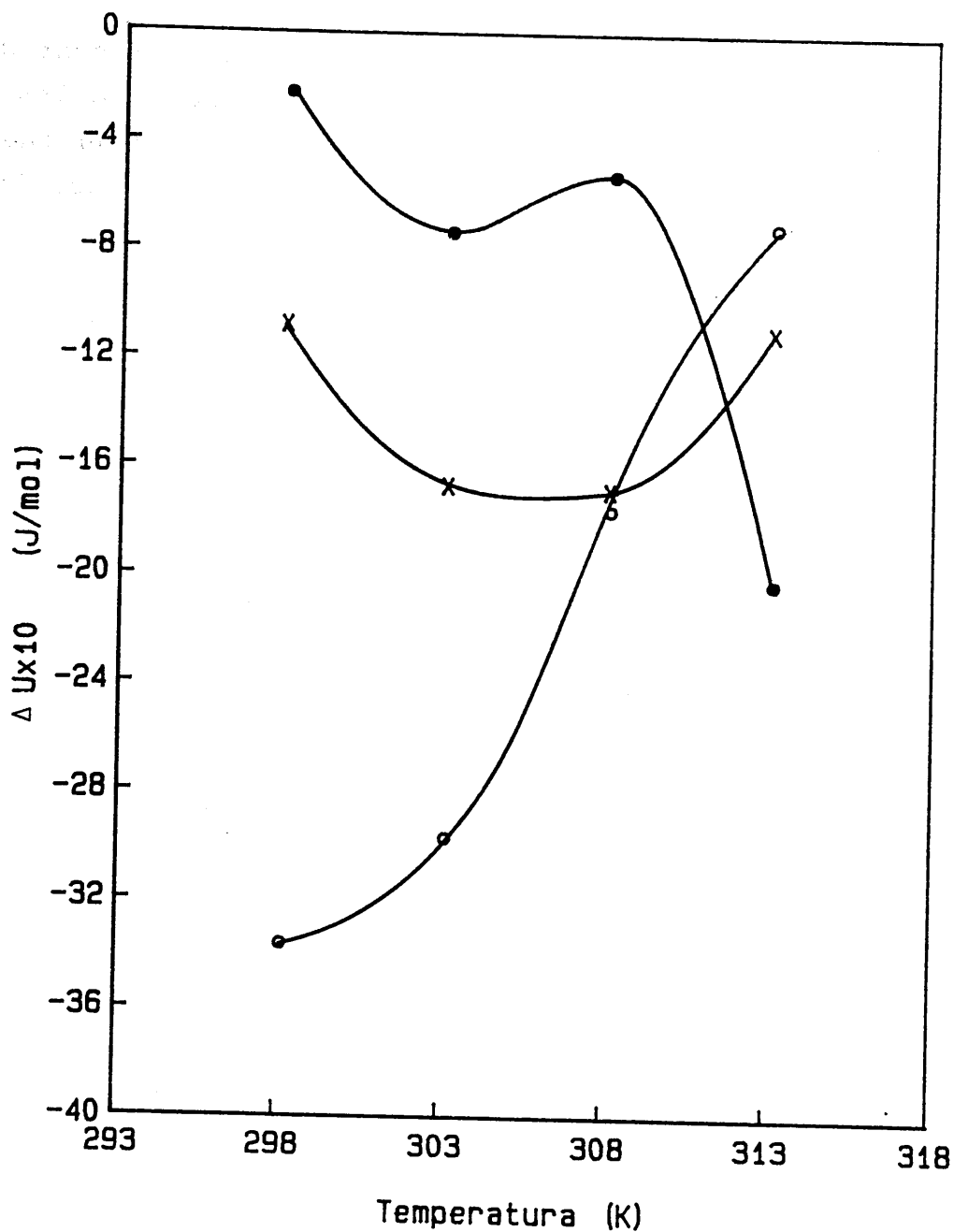


Fig. 4.19. Cambio de energía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido quenodeoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

puesta en juego debido a la ordenación molecular es la dominante en el balance energético total presentado en esta figura. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en el 2º capítulo, los cuales ya manifestaban que el ácido quenodeoxicólico y la lecitina presentan mayores interacciones a temperaturas inferiores a 40°C.

3.4. CAMBIO DE FASE EN MONOCAPAS FORMADAS POR L- α -FOSFATIDILCOLINA Y ACIDO DEOXICOLICO.

Cuando las monocapas que sufren la transición LE-LC están constituidas por lecitina y ácido deoxicólico, los cambios de entropía y entalpía molares parciales asociados a dicha transición están representados en las figuras 4.20 y 4.21 respectivamente, en función de la temperatura.

Para este sistema, solamente presentan transición principal las películas monomoleculares con un porcentaje alto de lecitina (hasta un 50% de lecitina y a las tres primeras temperaturas), el resto se encuentran en estado LE para todo el intervalo de compresión.

En estas figuras observamos para la fracción molar 50% de lecitina-50% de ácido deoxicólico, que tanto el cambio de entropía como el de entalpía aumentan progresivamente (en valor absoluto) con la temperatura, a diferencia del comportamiento presentado por estos cambios para la misma fracción de ácido quenodeoxicólico. La explicación de esta diferencia reside en que las películas de ácido deoxicólico están más condensadas que las de ácido quenodeoxicólico, y este hecho permite que la interacción entre moléculas de lecitina y ácido deoxicólico sea mayor que entre las de lecitina y ácido quenodeoxicólico y por tanto, la energía debida a la configuración molecular cambia más durante la transición que en el caso de que las interacciones sean más débiles. Este resultado, lógicamente está reflejado en la forma de las isotermas experimentales, para

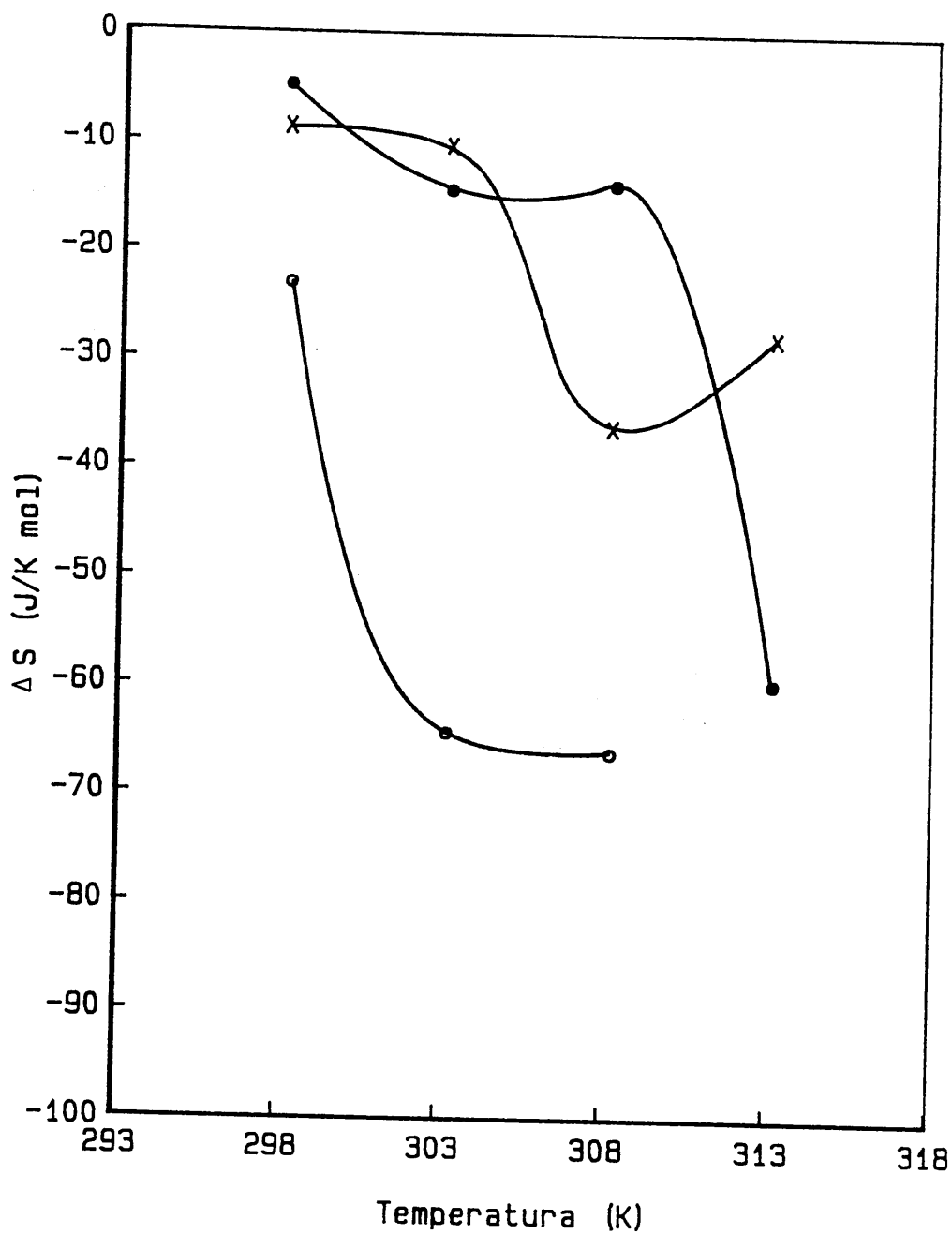


Fig. 4.20. Cambio de entropía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

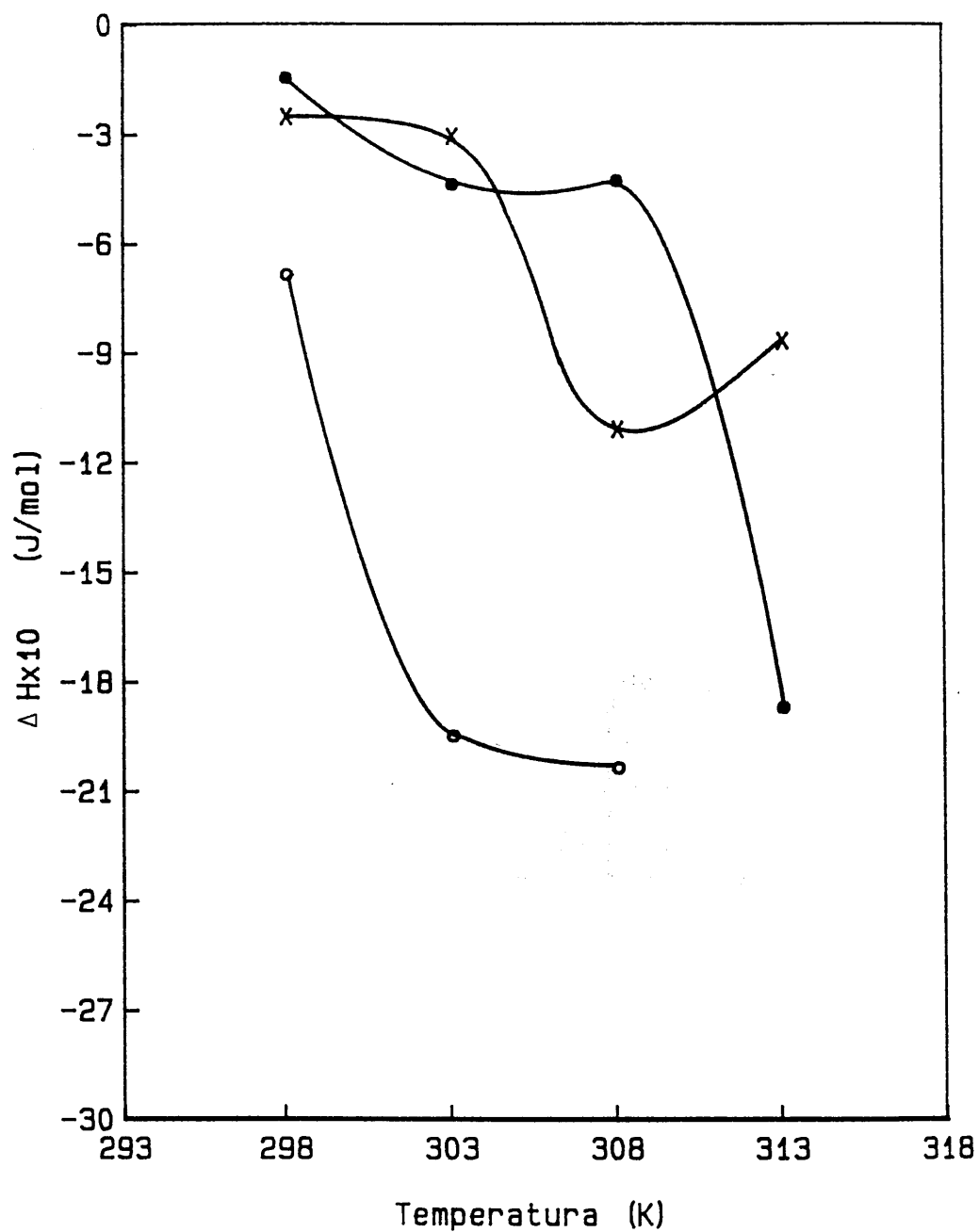


Fig. 4.21. Cambio de entalpía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

las cuales, a diferencia de lo que ocurre para el caso del ácido quenodoxicólico, el factor determinante con la temperatura es el valor de la presión superficial de transición, disminuyendo muy poco con ella el valor de $(a^c - a^e)$.

Los cambios de entropía y entalpía con la temperatura para la transición LE-LC en monocapas con 75% de lecitina y 25% de ácido deoxicólico no presentan un comportamiento exactamente intermedio a los observados en los casos de las fracciones 50 y 100% de lecitina, ya que a 40°C experimentan una disminución debido a que a esta temperatura las monocapas de ácido deoxicólico están más extendidas, son por tanto más parecidas en comportamiento a las de lecitina y las moléculas de ambos componentes interaccionarán menos, hecho que ya vimos reflejado en la figura 2.121 (capítulo II) donde se observa que a 40°C desaparecen las desviaciones de la linealidad propuesta para las curvas área/molécula-fracción molar.

En la figura 4.22 representamos las diferencias entre los cambios de energía y entalpía molares parciales en función de la temperatura para el sistema lecitina-ácido deoxicólico. En ella observamos que el máximo de energía debida a la tensión superficial se mantiene a 30°C para los casos de 50 y 100% de lecitina, mientras que para la fracción 75% de lecitina este máximo se desplaza a la temperatura de 35°C. La explicación viene dada en los mismos términos que antes, tan solo que ahora, las contribuciones positivas de la presión superficial de transición y de las áreas/molécula se dan a esta temperatura.

También para este sistema se cumple que el comportamiento del cambio de energía libre molar con la temperatura no difiere cualitativamente del presentado por el cambio de entalpía como se comprueba observando las figuras 4.23 y 4.21 respectivamente. Esto nos permite concluir que de la energía total puesta en juego durante la transición LE-LC que sufren las monocapas formadas por lecitina y ácido

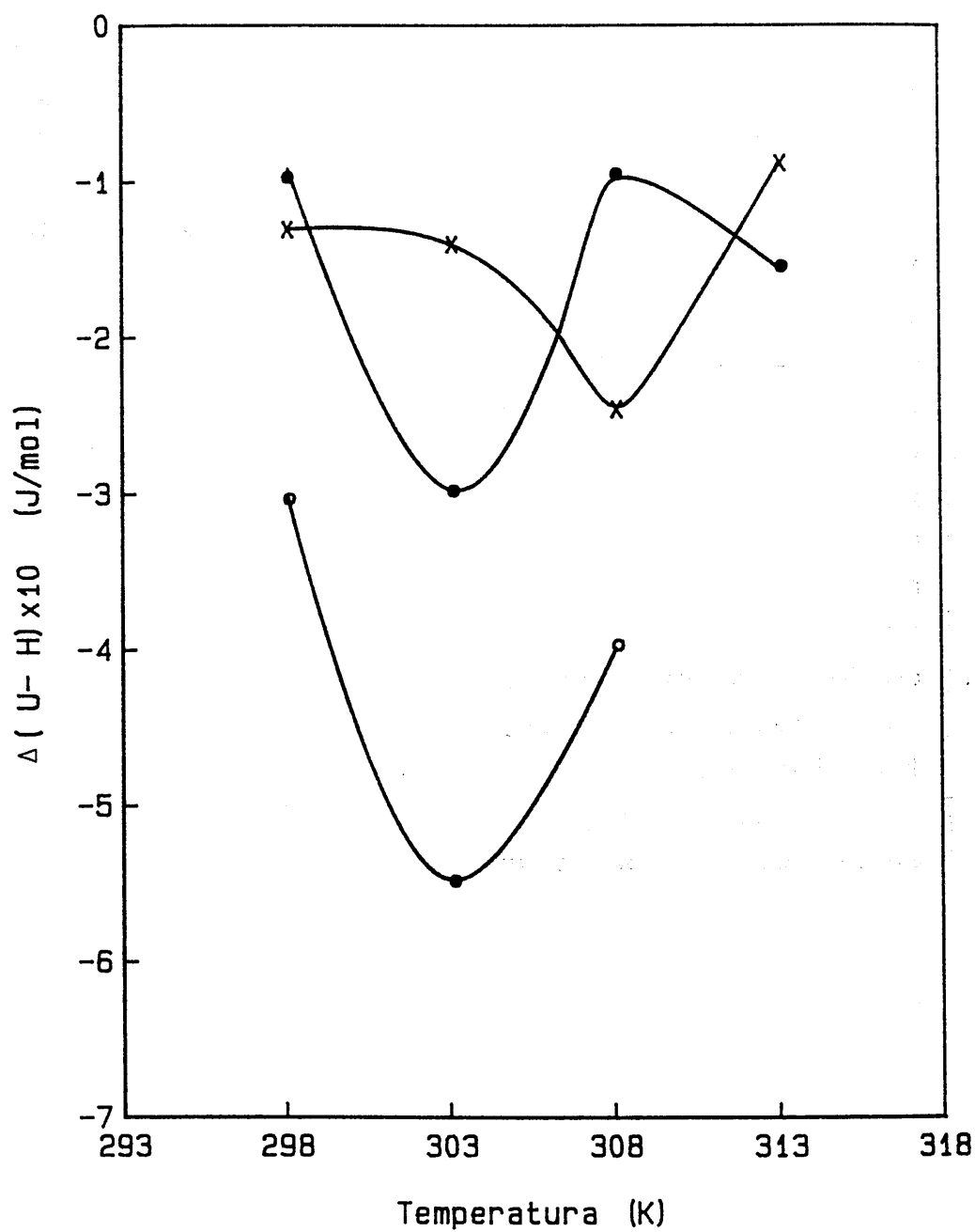


Fig. 4.22. Diferencia entre los cambios de energía y entalpía molares parciales en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

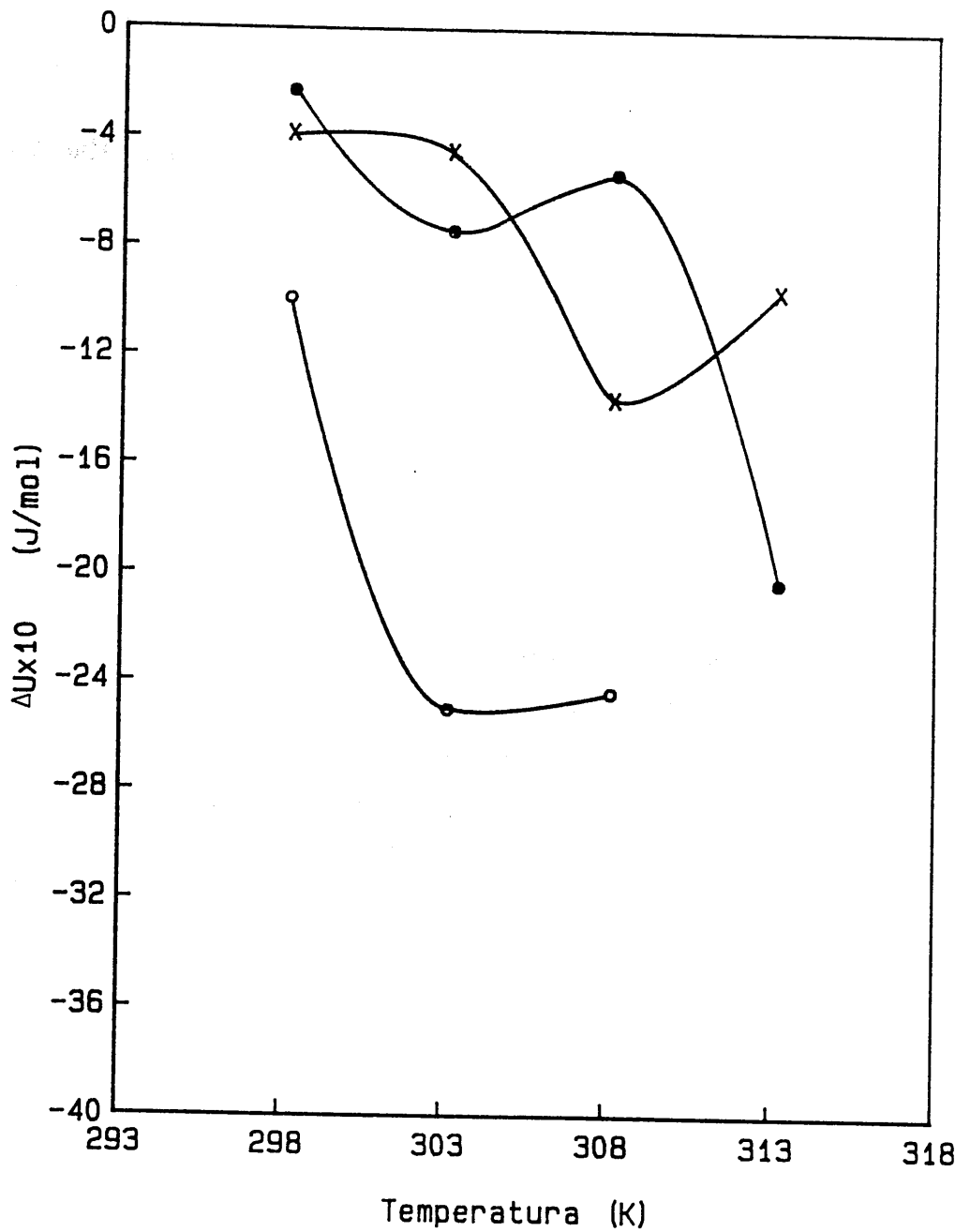


Fig. 4.23. Cambio de energía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido deoxicólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

deoxicólico, es dominante la que se manifiesta por efecto de ordenación molecular.

3.5. CAMBIO DE FASE EN MONOCAPAS FORMADAS POR L- α -FOSFATIDILCOLINA Y ACIDO COLICO.

Las variaciones de los cambios de entropía y entalpía molares parciales en función de la temperatura pueden observarse en las figuras 4.24 y 4.25 respectivamente, donde ahora la transición LE-LC la sufren monocapas formadas por diferentes proporciones de lecitina y ácido cólico.

Excepto las películas monomoleculares formadas por ácido cólico, el resto exhiben esta transición en todo el intervalo de temperaturas estudiado.

En primer lugar observamos que estos cambios presentan un máximo relativo entre 30 y 35°C cuando las composiciones de la monocapa son 50 y 75% de ácido cólico y a 35°C cuando la película está constituida por 25% de ácido cólico y 75% de lecitina. Este comportamiento es semejante al observado para el sistema ácido deoxicólico-lecitina, ya que estos componentes, al igual que los objeto de estudio en este apartado, interaccionan entre sí en películas monomoleculares, debido a la diferencia de comportamiento que presentan estos componentes individualmente.

En el caso que nos ocupa, el ácido cólico es el ácido biliar que forma monocapas en estado más condensado y, por tanto ejerce un efecto condensante sobre las moléculas de lecitina cuando están presentes junto a él en películas monomoleculares. A temperaturas relativamente altas, 40°C, la transición LE-LC para estos sistemas tiene lugar a presiones superficiales también altas, por lo que el efecto condensante disminuye extraordinariamente, ya que a estos valores las películas están bastante más condensadas y los estados LE y LC se encuentran muy cercanos (Fig. 4.24), lo

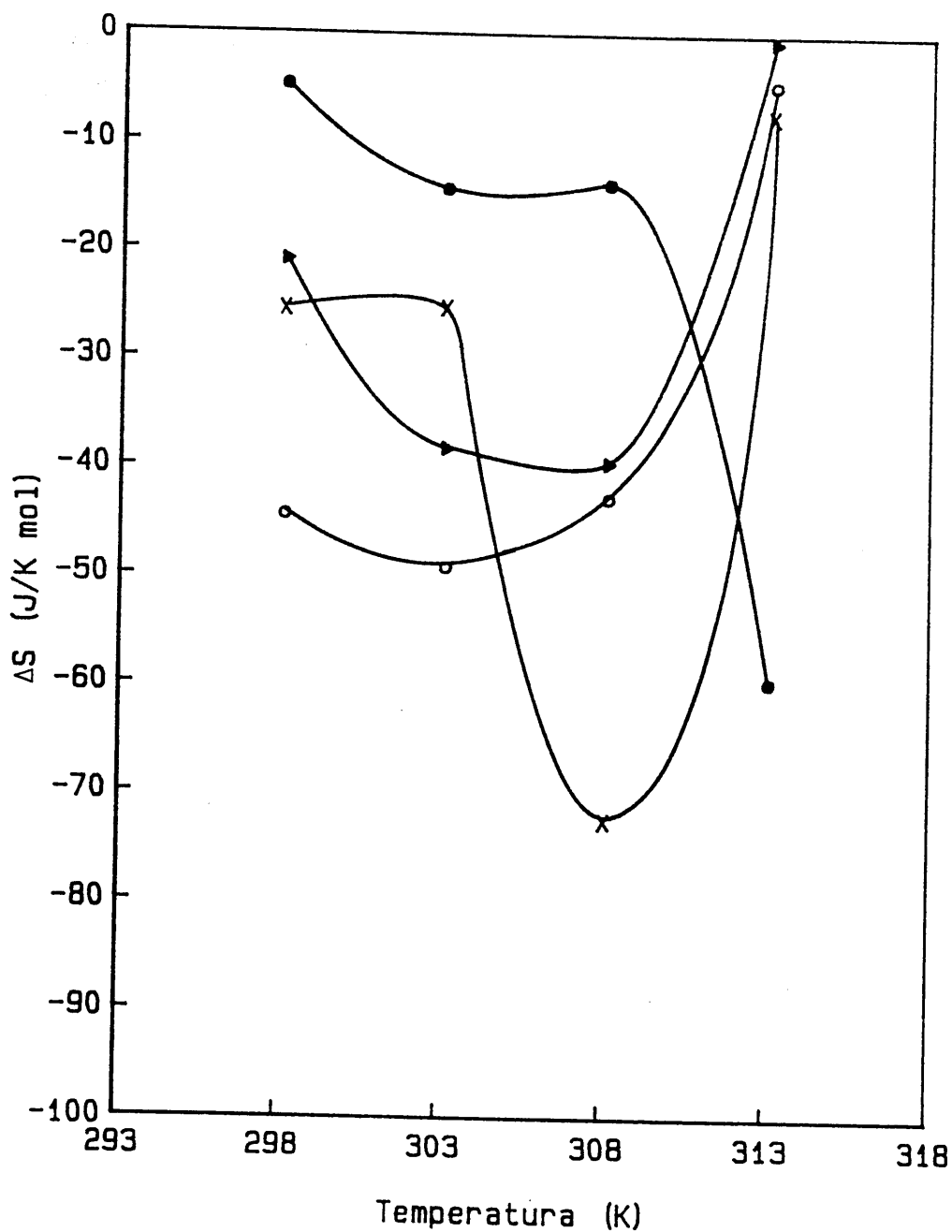


Fig. 4.24. Cambio de entropía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

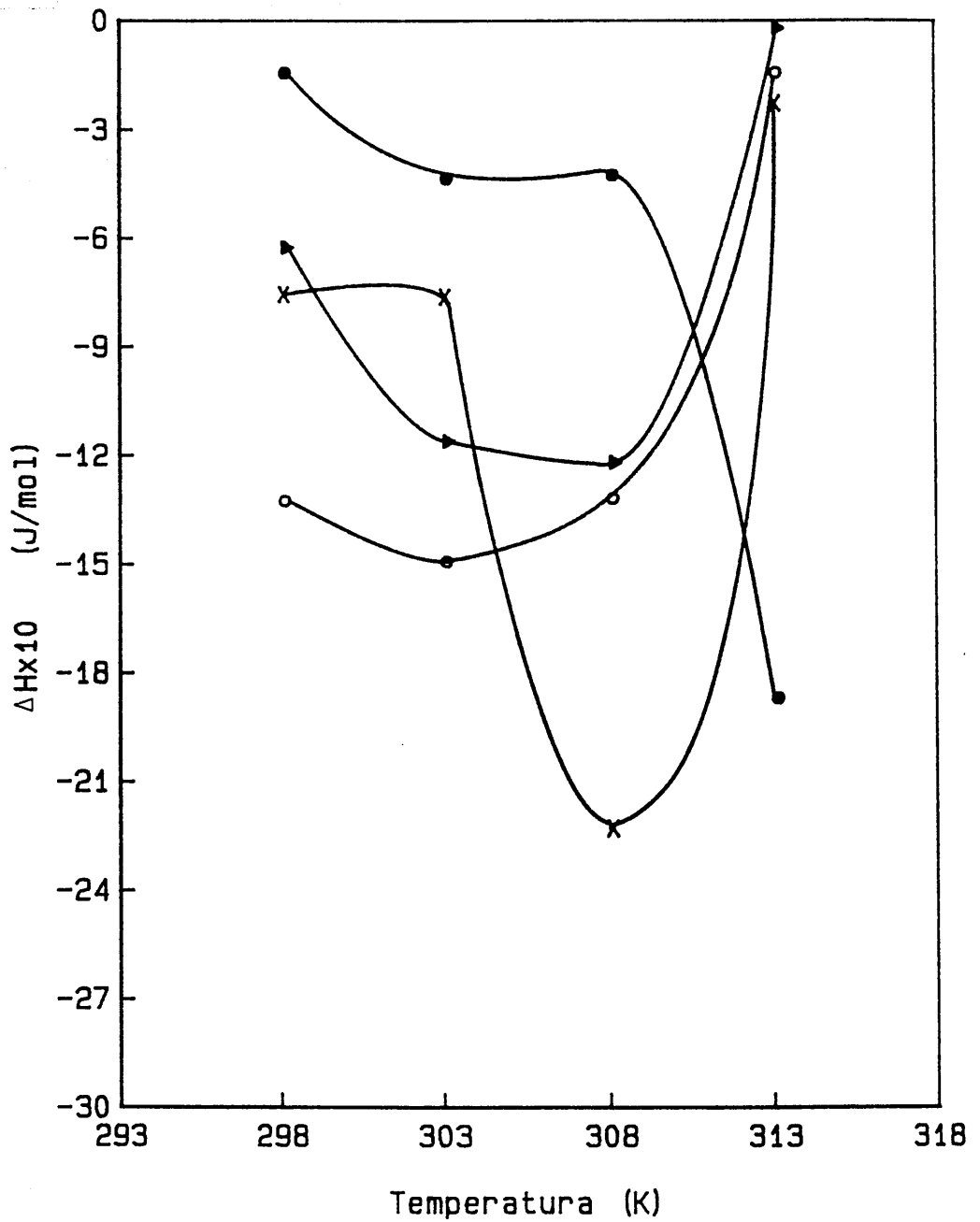


Fig. 4.25. Cambio de entalpía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

que provoca que las interacciones entre las moléculas de ácido cólico y lecitina a la temperatura de 40°C disminuyan considerablemente (Fig. 4.25). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en el estudio de la miscibilidad de estos compuestos (ver figura 2.153 del capítulo II).

En la figura 4.20 donde representamos la diferencia en los cambios de energía y entalpía molares parciales en función de la temperatura, observamos un comportamiento sensiblemente distinto al que ya vimos para esta función en los restantes casos de monocapas mixtas con lecitina y ácidos biliares, ya que la energía puesta en juego debido a la tensión superficial de dichas monocapas no es máxima a 30°C como venía sucediendo hasta ahora, y prácticamente los valores máximos de esta energía se dan a 25°C, lo que nos indica que el término $a^c - a^e$ es el dominante también a esta temperatura por lo que podemos decir que para la transición LE-LC que sufren estas monocapas, las diferencias $a^c - a^e$ varían bastante con la temperatura.

Sin embargo, en la figura 4.27 observamos que los cambios de energía molar parcial para esta transición en función de la temperatura presentan el mismo comportamiento cualitativo que los cambios de entalpía molar parcial, es decir, vemos de nuevo y esta vez de forma más clara (las curvas $\Delta U - \Delta H$ en función de la temperatura son muy distintas a las que presentan estas funciones por separado) que la energía debida a la tensión superficial no es dominante frente a la energía puesta en juego por la diferente orientación molecular en las monocapas constituídas por ácido cólico y lecitina.

Resumiendo, todos los cambios de entropía, entalpía y energía molares parciales evaluados para la transición LE-LC que tiene lugar en monocapas mixtas formadas por lecitina y un ácido biliar presentan valores negativos, lo que nos permite explicar esta transición por variaciones entrópicas como venimos haciendo a lo largo de esta Memoria y, conside-

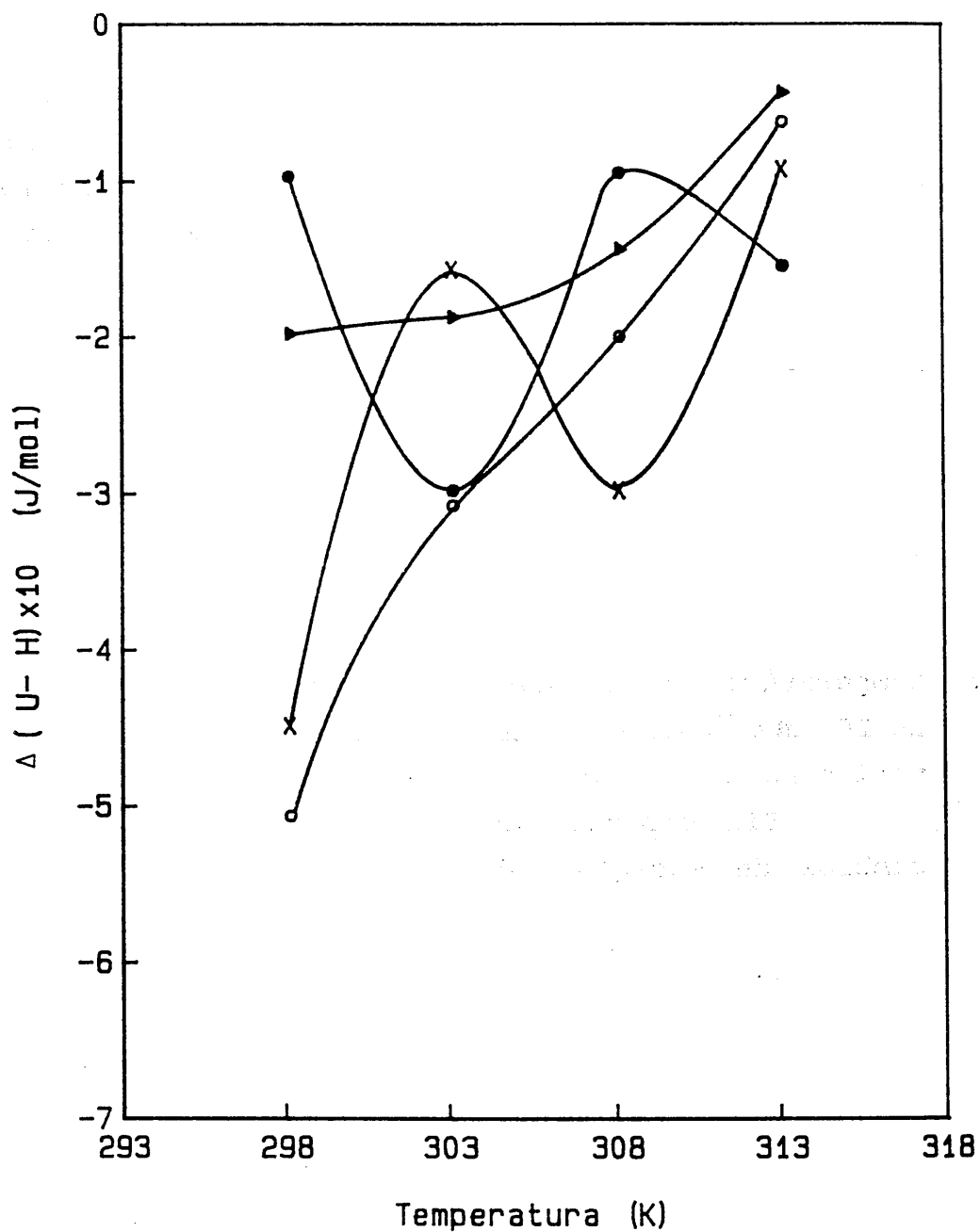


Fig. 4.26. Diferencia entre los cambios de energía y entalpía molares parciales en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

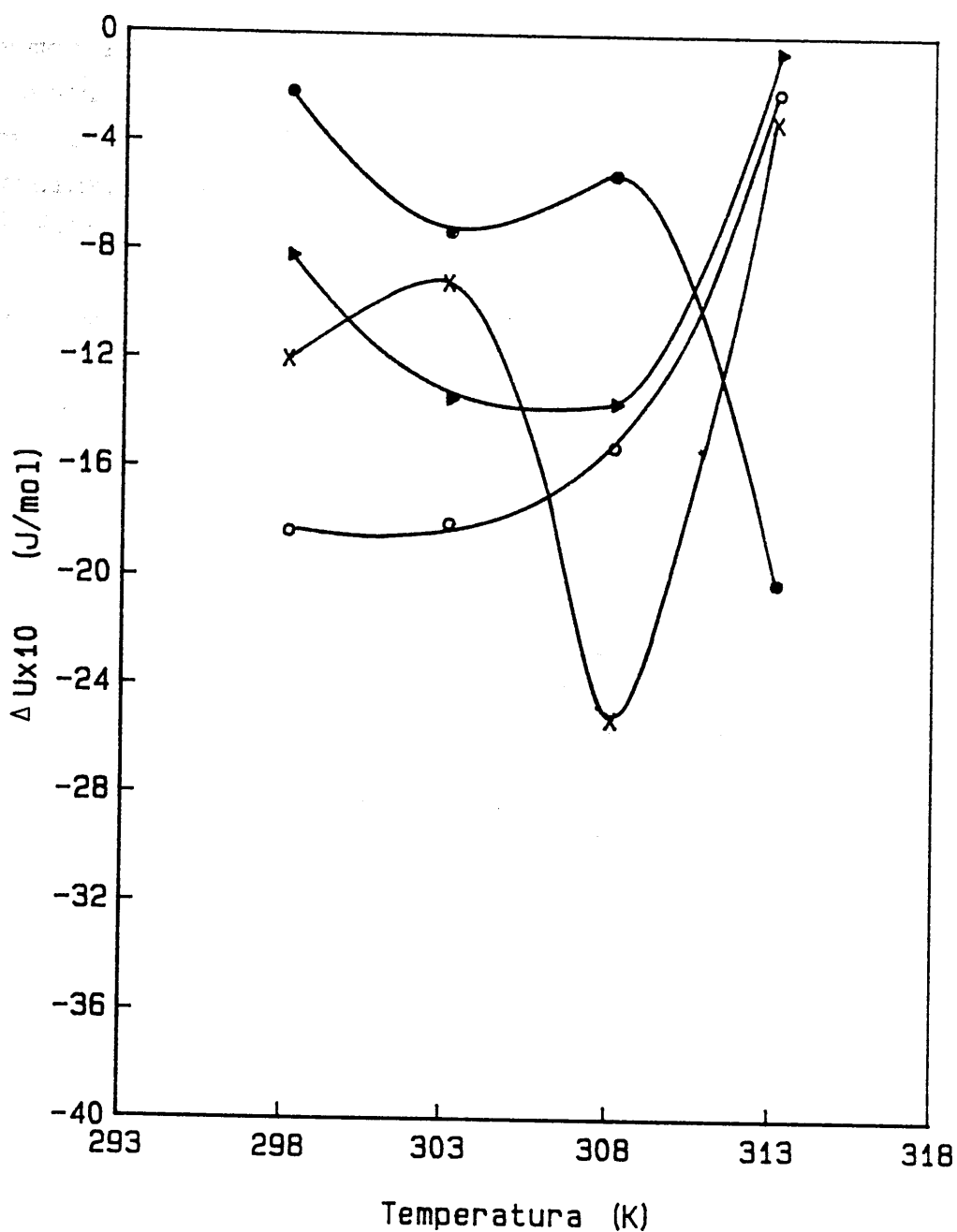


Fig. 4.27. Cambio de energía molar parcial en la transición LE-LC, que experimentan las monocapas formadas por ácido cólico y L- α -fosfatidilcolina a diferentes temperaturas y pH=6.00

rar la transición LE-LC como un proceso exotérmico. Las variaciones de entalpía molar parcial con la composición de la monocapa suponen la presencia de interacciones entre las moléculas de los componentes que la forman, sin embargo, el hecho de que la energía molar parcial disminuya con la concentración de uno de los componentes (siempre el más condensado) como ocurre en todos los casos, indica que la interacción entre las moléculas de ambos compuestos es más débil que las presentadas por las moléculas de los compuestos puros. Así mismo, destacamos para todos los casos que la energía debida a la ordenación molecular es dominante frente a la puesta en juego por la tensión superficial de las monocapas en el balance energético evaluado para la transición LE-LC.

Finalmente, los resultados expuestos en este capítulo están de acuerdo con el estudio sobre miscibilidad de los componentes realizado en el capítulo II, en el que la presencia de interacciones estaba justificada por el carácter de las monocapas que forman estos compuestos, y en este sentido comprobamos que el efecto condensante lo ejercen los componentes colesterol y ácido cólico (en este orden) sobre la lecitina, que el ácido litocólico y la lecitina se condensan mutuamente y, que la lecitina condensa a su vez a las moléculas de los ácidos deoxicólico y quenodeoxicólico (en este orden), lo que nos lleva a dar la siguiente secuencia de carácter condensado para todas las monocapas estudiadas en esta Memoria: colesterol > ácido cólico > ácido litocólico = lecitina > ácido deoxicólico > ácido quenodeoxicólico.

4. BIBLIOGRAFIA

BRUQUE, J.M.; CABRERIZO, M.; DELGADO, A.; GONZALEZ-CABALLERO, F. A device for the Automatic Determination of the Surface Tension of Surfactant Solutions. J.

- Phys. E: Sci. Instrum., 20, 924-926 (1987)
- CABRERIZO VILCHEZ, M.A. "Propiedades electrocinéticas y de adsorción de tensioactivos iónicos sobre celestina (SO_4Sr) y su aplicación a la flotación", Tesis, Granada (1986)
- MOTOMURA, K. Thermodynamics and Phase Transitions in Monolayers. J. Colloid Interf. Sci., 23, 313-318 (1967)
- MOTOMURA, K.; SHIBATA, A.; NAKAMURA, M.; MATUURA, R. Fatty Acid Monolayers in the Expanded State. II. The effect of Compression Velocities. J. Colloid Interf. Sci., 29(4), 623-628 (1969)
- MOTOMURA, K. Thermodynamics of Multicomponent Monolayers. I. General Formulation. J. Colloid Interf. Sci., 48(2), 307-318 (1974)
- MOTOMURA, K.; KEKITA, K.; MATUURA, R. Thermodynamics of Multicomponent Monolayers. II. Phase Transitions in Two-Component Monolayers. J. Colloid Interf. Sci., 48(2), 319-326 (1974)
- MOTOMURA, K.; TERAZONO, T.; MATUO, H.; MATUURA, R. Mixed Monolayers of Cholesterol with Fatty Acids. J. Colloid Interf. Sci., 57(1), 52-57 (1976)
- MOTOMURA, K.; YANO, T.; IKEMATSU, M.; MATUO, H.; MATUURA, R. Azeotropic Transformation in Mixed Monolayers of Ethyl Heptadecanoate and Tetradecanoic Acid. J. Colloid Interf. Sci., 69(2), 209-216 (1979)
- SHIBATA, O.; KANESHINA, S.; NAKAMURA, M. Monolayers of Double Long-Chain Salts. J. Colloid Interf. Sci.,

77(1), 182-188 (1980)

SHIBATA, O. Monolayers of Double Long-Chain Salts on the Concentrated Sodium Chloride Solution. J. Colloid Interf. Sci., 96(1), 182-191 (1983)

esta red de
datos que
se genera

El sistema de
los datos
se genera
dentro de
este sistema
de datos

El sistema de
datos que
se genera
dentro de
este sistema
de datos

CONCLUSIONES

10

10117. T. Kozlovskaya et al. Double long-chain Sauer in the
Aqueous Sodium Chloride Solution. J. Colloid
Interface Sci. 44(1), 101-104 (1973)

CONFIDENTIAL

En el trabajo realizado durante el desarrollo de esta Memoria, cabe destacar algunos resultados singulares y aportaciones de interés, que nos permiten extraer las siguientes conclusiones:

La forma de las isoterms experimentales obtenidas al comprimir monocapas formadas por colesterol, indica que las moléculas de este compuesto se encuentran orientadas verticalmente respecto a la superficie bajo cualquier condición experimental de las ensayadas, dado que el carácter de líquido condensado no se modifica ni con el pH ni con la temperatura.

Las monocapas formadas por L- α -fosfatidilcolina sufren un cambio de fase entre los estados líquido extendido y líquido condensado a las condiciones experimentales dadas. Un aumento del pH y de la temperatura se traduce en una mayor extensión de las películas, aunque el cambio de fase LE-LC no desaparece en ningún caso. En principio, era de esperar que las monocapas de lecitina se extendiesen a

medida que el pH se aleja del punto isoeléctrico, y no conforme aumenta el valor del pH. Este resultado es indicativo de la presencia de interacciones repulsivas de tipo electrostático, lo que nos permite concluir que la orientación de las moléculas de lecitina -en forma de "zwitterion"- es perpendicular respecto a la superficie.

Los resultados obtenidos al estudiar las distintas películas monomoleculares formadas por diferentes ácidos biliares, también informan de que dichas moléculas se disponen en las monocapas perpendiculares a la superficie con la parte polar dirigida hacia la subfase, ya que las diferencias de comportamiento observadas se deben únicamente a la presencia de diferente número de OH en la cadena hidrocarbonada y a la distinta posición de estos grupos en las moléculas, es decir, de nuevo, la forma de las isotermas registradas queda determinada por la presencia de interacciones electrostáticas.

Por lo tanto, también podemos concluir que los distintos estados en los que se encuentran las monocapas de estos compuestos son debidos a diferentes inclinaciones de las moléculas dispuestas verticalmente respecto a la superficie y en ningún caso las moléculas se orientarán paralelas a la superficie, hecho que determina el que los estados observados sean líquido extendido y líquido condensado y nunca "gaseoso"

Estudiando el comportamiento de monocapas mixtas formadas por dos compuestos hemos tenido la posibilidad de caracterizar interacciones moleculares entre estos componentes. Cuando el estudio se realiza sobre películas monomoleculares constituídas por colesterol y L- α -fosfatidilcolina, la forma de las isotermas obtenidas a diferentes pHs y temperaturas es el resultado de un comportamiento también intermedio al que presentan las correspondientes a los componentes puros. En estos resultados se observa el efecto "condensante" ejercido por el colesterol sobre la lecitina,

más pronunciado a algunas proporciones, lo que nos permite postular dos interacciones fuertes a las mismas, que interpretadas según un modelo de empaquetamiento molecular, donde las interacciones hidrofóbicas entre cadenas hidrocarbonadas son predominantes, definirían dos estructuras con una molécula de colesterol y tres de lecitina y tres moléculas de colesterol y una de lecitina, respectivamente. Un posterior estudio a diferentes temperaturas indicó que la estructura formada por tres moléculas de colesterol y una de lecitina es más estable que la otra indicada, ya que el efecto condensante para la primera no se modifica apreciablemente con el aumento de la temperatura.

Al modificar el componente L- α -fosfatidilcolina por ácido litocólico en la monocapa mixta, no se observan proporciones definidas en las que puedan apreciarse la presencia de interacciones específicas. En general, estos dos componentes, ácido litocólico y colesterol, son miscibles en un intervalo amplio de pH y temperatura.

El estudio realizado sobre monocapas mixtas formadas por ácido litocólico y L- α -fosfatidilcolina, indica que este último componente ejerce un efecto "condensante" sobre el ácido biliar, aunque más débil que el ejercido por el colesterol por lo que las interacciones estimadas en este caso pensamos son de menor cuantía que cuando está presente el componente colesterol.

Para el resto de las monocapas mixtas estudiadas, donde se combinan alternativamente la presencia de colesterol o L- α -fosfatidilcolina con un ácido biliar (quenodeoxicólico, deoxicólico o cólico), observamos la existencia de determinadas interacciones susceptibles de modificación con las variables pH y temperatura. En general, podemos indicar que conforme es más acusado el carácter "condensado" de la película del ácido, éste interacciona menos con colesterol, no siendo estos resultados extensivos a las interacciones con lecitina, las cuales dependen de las condiciones experimentales y de las proporciones de ambos componentes

en la monocapa.

Uno de los aspectos más interesantes y complejo abordado en esta Memoria lo ha constituido la determinación de puntos definidos en las isothermas experimentales asociados a la presencia de cambios de fase en las monocapas. La determinación de las presiones superficiales correspondientes al inicio y final de la transición principal, y a una transición secundaria resulta difícil, debido a que las isothermas registradas experimentalmente no se corresponden de forma estricta con los modelos teóricos descritos para los distintos estados superficiales de las monocapas. Por este motivo estudiamos la forma de las isothermas experimentales y ensayamos distintos métodos de cálculo de las presiones superficiales de transición. Finalmente, estas vienen determinadas por dos puntos de inflexión en las curvas módulo de compresibilidad-área por molécula para el caso de que la monocapa sufra una transición principal, y por un solo punto de inflexión en estas curvas, si la monocapa experimenta una transición secundaria. La obtención de este método fue posible tras un riguroso estudio de las derivadas sucesivas de cada isoterma experimental.

La determinación de las presiones superficiales correspondientes a cambios de fase permite la construcción de los llamados diagramas de fase que definen los distintos límites de fase que exhiben las monocapas estudiadas a temperatura constante. La descripción de estos diagramas para diferentes mezclas de compuestos y a distintas temperaturas está detallada en el capítulo III de la Memoria. No obstante, como balance final de la comparación de estos diagramas podemos afirmar que para el caso de monocapas mixtas con colesterol, cuando están presentes los ácidos litocólico o cólico, es decir, cuando el ácido biliar forma películas monomoleculares más cercanas al estado condensado, el carácter de los mismos predomina en las películas mixtas

y así en el primer caso nos encontramos con cambios de fase de primer orden y en el segundo con estado líquido condensado. Cuando los ácidos son quenodeoxicólico o deoxicólico, que dan lugar a películas monomoleculares extendidas, el comportamiento de las monocapas mixtas es intermedio al que presentan las monocapas simples de ácido y colesterol, respectivamente, ya que estos ácidos son más susceptibles de condensación por el colesterol, y nos encontramos con situaciones intermedias que se modifican con la temperatura. Por el contrario, cuando las películas monomoleculares mixtas se constituyen por uno de estos ácidos biliares y por L- α -fosfatidilcolina en lugar de colesterol, las diferencias entre las distintas fases encontradas no son tan notables como en el caso anterior. En presencia de lecitina, la mayoría de las monocapas mixtas sufren un cambio de fase entre los estados líquido extendido y líquido condensado.

De los cambios de fase evaluados, el más interesante, sometido también a diversas controversias, es el que tiene lugar entre los estados líquido extendido (LE) y líquido condensado (LC). Los cambios de las variables termodinámicas entropía, entalpía y energía molares parciales que tienen lugar durante esta transición se determinaron siguiendo la Formulación propuesta por Motomura para los sistemas formados por L- α -fosfatidilcolina y un ácido biliar. Sus valores negativos nos permiten concluir que la transición LE-LC constituye un proceso exotérmico, y al mismo tiempo ésta puede explicarse por variaciones entrópicas, es decir, esta transición supone fundamentalmente una reordenación molecular en la monocapa. Las variaciones de la entalpía molar parcial con la composición de la monocapa supone la presencia de interacciones entre las moléculas de los componentes que la forman, sin embargo, el hecho de que la energía molar parcial disminuya con la concentración de uno de los componentes (siempre el más condensado) como ocurre en todos los casos, indica que la interacción entre

las moléculas de ambos componentes es más débil que las presentadas por las moléculas de los compuestos puros. Así mismo, destacamos para todos los casos que la energía debida a la ordenación molecular es dominante frente a la puesta en juego por la tensión superficial de las monocapas en el balance energético realizado para la transición LE-LC.

La comparación de estos resultados con los obtenidos en el estudio sobre la miscibilidad de los compuestos en monocapas mixtas nos lleva a dar la siguiente secuencia de carácter condensado para las monocapas de los compuestos estudiados en esta Memoria: colesterol > ácido cólico > ácido litocólico = lecitina > ácido deoxicólico > ácido quenodeoxicólico.

Finalmente queremos señalar que, durante el desarrollo de este trabajo se produjeron muchas ocasiones las cuales nos sugerían abordar el estudio sobre diversos aspectos de interés relacionados con la investigación genérica sobre monocapas, aún lejos de estar sistematizada. El temor a alejarnos de los objetivos planteados en esta Memoria los terminó excluyendo de la misma, aunque algunos de ellos ya son algo más que un proyecto.

En este sentido destacamos los que nos parecen más relevantes y atractivos para abordar en próximas investigaciones como son:

-un estudio comparativo de las isoterms obtenidas por compresión continua y discontinua (comprimiendo a un determinado valor de área molecular y obtención de un valor constante en el tiempo de presión superficial);

-un estudio de penetración de estas monocapas por compuestos tensioactivos en la subfase evaluando las posibles interacciones con estas películas a través de la presencia de histéresis en las isoterms experimentales;

-ensayo de diferentes ecuaciones de estado para las distintas fases delimitadas en nuestros diagramas que nos permitan la prediccción de cambios de fase en las monocapas

y comparación con los obtenidos a partir de las derivadas sucesivas de las isothermas, así como el cálculo de la temperatura crítica para estas transiciones;

-determinación de coeficientes termodinámicos y capacidades caloríficas de las películas monomoleculares;

-estudio de monocapas mixtas multicomponentes.

Así pues, entendemos que con el trabajo desarrollado en esta Memoria hemos establecido las bases para futuras investigaciones sobre películas superficiales.