



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO

Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales

Departamento de Química

Tesis para acceder al título de Doctor en Ciencias Químicas

**LAS TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS COMO UNA NUEVA
HERRAMIENTA EN EL ESTUDIO DE SISTEMAS ORGANIZADOS**

Qca. Airam Katiza Cobo Solis

Directora: Dra. Patricia G. Molina

Co-director: Dr. N. Mariano Correa

Río Cuarto, Córdoba, Argentina

Febrero de 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO

Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales

Departamento de Química

Qca. Airam Katiza Cobo Solis Firma..... Aclaración.....

Dra. Patricia G. Molina Firma..... Aclaración.....

Dr. N. Mariano Correa Firma..... Aclaración.....

COMISIÓN ASESORA Y JURADO

Dra. Claudia Rosana Rivarola Departamento de Química. *Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales* Universidad Nacional De Río Cuarto

Firma..... Aclaración.....

Dra. Marcela Beatriz Moressi Departamento de Química. *Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales* Universidad Nacional De Río Cuarto

Firma..... Aclaración.....

Dr. Alejandro Manuel Granados Instituto de Investigaciones en Físico-Química de Córdoba. Universidad Nacional De Córdoba

Firma..... Aclaración.....

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:.....

Calificación:.....

A mis padres, Luz Elena y Álvaro

A mi abuela Silvia

Sin ustedes nada hubiera sido posible

Agradecimientos

A mis padres Luz Elena y Álvaro, por apoyarme y guiarme todos los días, por el amor que me han dado y por siempre confiar en mí. A mi abuela Silvia, por ayudarme siempre, ser mi ejemplo y sobre todo por cuidar siempre de mis hermanos y de mí. A mi tía Ernestina, por estar siempre para nosotros. A mis hermanos Juan y John, gracias por la compañía y por las locuras compartidas. A Jorge, por el amor, la compañía, la paciencia y el apoyo constante.

A mis directores Patricia y Mariano, por contribuir en mi formación profesional y por el tiempo dedicado a lo largo de estos años. Quiero agradecerle especialmente a mi directora Patricia, la paciencia, los consejos, el tiempo dedicado y el buen trato en estos años de trabajo. A todos los miembros del GSO, a los que siguen y a los que ya no están, gracias por su ayuda, compañerismo durante estos años de tesis. A la Dra. Silber y al Dr. Leonides Sereno, gracias por sus grandes contribuciones a lo largo de estos años. Un privilegio contar con su ayuda permanente y desinteresada.

A los integrantes del Jurado de Tesis, Claudia, Marcela y Alejandro, por sus aportes, consejos y por el tiempo durante estos años de tesis.

A mi familia Argentina, Jessica, Male y Cristian, por la compañía, la ayuda, los consejos, las cenas y por hacer estos cinco años en Río Cuarto más agradables.

A mis amigos de la vida, a los que fui conociendo a lo largo de estos años fuera de casa y aquellos que siempre han estado ahí para mí. Quiero agradecerles por cada gesto, abrazo, palabra de aliento y a los que están en la distancia gracias por siempre estar. Jennifer, Laura, Lili, Stefania, María, Derly, Antonela, Rocio, Daniel y Jessi O.

A los amigos que me dejó el doctorado, Agustina, Dani M., Ale Luna, Estefanía B. y Clau S. Muchas gracias por los momentos compartidos durante la tesis y por siempre darme una mano cuando lo necesité.

A mis compañeros y amigos del “Súper Gran Becario”, a los que están y a los que estuvieron, por la compañía y por los buenos momentos que se pasan allí.

A CONICET por otorgarme la beca de posgrado, sin la cual no hubiera sido posible la realización de mi doctorado.

A la Universidad Nacional de Río Cuarto, y todos los integrantes del departamento de Química de la Facultad de Ciencias Exactas, Físico Químicas y Naturales que han contribuido de alguna manera a mi formación.

A la Universidad de Coimbra, por brindarme el apoyo financiero para una pasantía académica realizada en Portugal. Agradezco al Dr. Alberto Canelas Pais, Dra. Carla Vitorino, Dra. Sandra Nunes y Dra. Tânia F. Cova, por su cálido trato durante mi estadía en ese país.

A la República Argentina y sus habitantes, por ser ellos los que me permitieron acceder a una educación pública, gratuita y de calidad.

Finalmente quiero agradecer a las personas que de alguna u otra forma contribuyeron al desarrollo de esta tesis y me ayudaron a llegar a esta instancia.

A todos, muchas gracias

Resumen

Las técnicas electroquímicas permiten obtener información termodinámica, cinética y analítica de un sistema. Estas técnicas presentan una respuesta rápida, además de una alta selectividad y sensibilidad. Es por ello que en este trabajo de tesis se propone estudiar las propiedades fisicoquímicas de diferentes solutos de comportamiento electroquímico conocido en distintos sistemas organizados (micelas inversas y vesículas), con el fin de profundizar el estudio de sus interacciones. Inicialmente, se estudió el comportamiento electroquímico de hidroquinona (H_2Q) en micelas inversas (MIs) de 1,4-bis (2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio (AOT). Considerando el uso de estos sistemas como nanoreactores, las propiedades del agua confinada en estos agregados son de gran interés y han sido ampliamente estudiadas, generando un debate acerca de la estructura del agua presente en el interior de las MIs. La molécula H_2Q , cuyo mecanismo redox es dependiente del pH del medio, permitió estudiar si el microentorno cuando H_2Q esta encapsulada en la MIs es similar o no al pH de preparación de las soluciones, permitiendo monitorear esta propiedad en el agua confinada en el interior de la MIs. Los estudios realizados en MIs de AOT mostraron: Primero, que la variación de las concentraciones de AOT no afecta la descarga electroquímica de H_2Q y la misma no presenta un proceso de reparto. Segundo, H_2Q en presencia de MIs no presenta procesos de asociación que afecte su comportamiento electroquímico al estar confinada. Tercero, el aumento del W_0 provocó una variación del potencial de media onda. Esto posiblemente se deba a que H_2Q dentro de MIs se encuentra monitoreando los cambios asociados al confinamiento del agua. Se obtuvieron los parámetros característicos de la transferencia de carga para H_2Q en agua pura y en MIs de AOT. Basado en los resultados obtenidos, se podría concluir que H_2Q se encuentra cerca de la interfaz interactuando a través de puente hidrógeno con la cabeza polar del surfactante.

Por otro lado, se estudió el comportamiento del 1-naftol (Nf) a diferentes valores de pH mediante espectroscopía de absorción, voltametría cíclica y voltametría de onda cuadrada (VOC). Se calculó la constante de partición (K_p) del Nf a pH=6.40 y pH=10.75 en vesículas unilamelares (VGU) de BHD-AOT. El coeficiente de difusión de las VGU de BHD-AOT se determinó haciendo uso de VOC y dispersión dinámica de luz, obteniéndose una buena concordancia entre ambas técnicas. También se estudió el comportamiento del Nf en VGU de BHD-AOT por espectroscopía de emisión. Los resultados muestran que la bicapa de las VGU de BHD-AOT estabilizan la especie neutra en el estado excitado aún en medio básico. Estos resultados muestran que cuando el AOT forma parte de una bicapa, la cabeza polar interactúa fuertemente a través de puente de hidrógeno con el Nf , lo cual permitió hallar la constante de equilibrio en el estado excitado en VGU de BHD-AOT. Estos resultados podrían tener un gran impacto en las reacciones químicas que se producen dentro de las VGU de BHD-AOT. Con los resultados obtenidos previamente para el Nf a pH 10.75, se determinó por primera vez el coeficiente de permeabilidad del sustrato 1-naftilfosfato (1-NP) en VGU de BHD-AOT por medio de una reacción enzimática que ocurre en el interior de las mismas entre el sustrato 1-NP y la fosfatasa alcalina (AP). Se realizó el estudio de la cinética enzimática en VGU de BHD-AOT mediante VOC.

A través de un modelo matemático, se determinó el coeficiente de permeabilidad del sustrato siguiendo la aparición del producto de la reacción enzimática en el tiempo y el tiempo que tarda el sustrato en atravesar la bicapa de las vesículas. Para finalizar se determinó el valor de la permeabilidad por espectroscopía de absorción a través del mismo modelo matemático, encontrándose una buena concordancia entre ambas técnicas; demostrando, así, que las técnicas electroquímicas son una herramienta poderosa para la caracterización de sistemas organizados.

Abstract

Electrochemical techniques allow obtaining thermodynamic, kinetic and analytical information of a system. These techniques present a rapid response, in addition to high selectivity and sensitivity. That is why in this thesis we propose to study the physicochemical properties of different solutes of known electrochemical behavior in different organized systems (reverse micelles and vesicles), in order to deepen the study of their interactions. Initially, the electrochemical behavior of hydroquinone (H_2Q) in reverse micelles (MIs) of sodium 1,4-bis (2-ethylhexyl) sulfosuccinate (AOT) was studied. Considering the use of these systems as nanoreactors, the properties of the water confined in these aggregates are of great interest and have been widely studied, generating a debate about the structure of the water present in the interior of the MIs. The molecule H_2Q , whose redox mechanism is dependent on the pH of the medium, allowed us to study whether the microenvironment when H_2Q is encapsulated in the MIs is similar or not to the pH of preparation of the solutions, allowing to monitor this property in the water confined inside the MIs. The studies conducted in MIs of AOT showed: first, that the variation of the concentrations of AOT does not affect the electrochemical oxidation process of H_2Q and it does not present a distribution process; second, H_2Q in the presence of MIs does not present association processes that affect its electrochemical behavior when confined; and, third, the increase in W_0 caused a variation of the half-wave potential. This is possibly due to the fact that H_2Q within MIs is monitoring the changes associated with the confinement of the water. The characteristic parameters of the charge transfer for H_2Q in pure water and in MIs of AOT were obtained. Based on the results obtained, it could be concluded that H_2Q is near the interface interacting, through a hydrogen bond, with the polar head of the surfactant.

On the other hand, the behavior of 1-naphthol (Nf) at different pH values was studied by absorption spectroscopy, cyclic voltammetry, and square wave voltammetry (SWV). The partition coefficient (K_p) of Nf was calculated at pH = 6.40 and pH = 10.75 in unilamellar vesicles (LUV) of BHD-AOT. The diffusion coefficient of the LUV of BHD-AOT was determined using SWV and Dynamic Light Scattering, obtaining a good agreement between both techniques. The behavior of Nf in LUV of BHD-AOT was also studied by emission spectroscopy. The results show that the bilayer of the LUV of BHD-AOT stabilizes the neutral species in the excited state even in basic media. These results show that when the AOT is part of a bilayer, the polar head interacts strongly through a hydrogen bond with the Nf , which allowed finding the equilibrium constant in the excited state for LUV of BHD-AOT. These results could have a great impact on the chemical reactions that occur within the LUV of BHD-AOT. With the results obtained previously for the Nf at pH 10.75, the coefficient of permeability of the substrate 1-naphthylphosphate (1-NP) in LUV of BHD-AOT was determined, for the first time, by means of an enzymatic reaction that occurs inside the vesicles, between substrate 1-NP and alkaline phosphatase (AP).

The study of the enzymatic kinetics in LUV of BHD-AOT was carried out by SWV. Through a mathematical model, the coefficient of permeability of the substrate was determined following the appearance in time of the product of the enzymatic reaction, and the time it takes the substrate to cross the bilayer of the vesicles.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE CONTENIDO	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xv
ÍNDICE DE ESQUEMAS	xv
ÍNDICE DE FIGURAS	xvii
SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	xxiii
OBJETIVOS	1
CAPÍTULO I:	5
I. Introducción	5
I.1. Sistemas organizados: Generalidades	5
I.2. Surfactantes: Generalidades	6
I.2.1. Surfactante aniónico AOT: Antecedentes	10
I.2.2. Surfactantes catiónicos: Antecedentes	11
I.2.3. Parámetro de empaquetamiento	13
I.3. Micelas inversas (MIs): Generalidades	15
I.3.1. Micelas inversas de AOT: Antecedentes	18
I.3.2. Modelo de las pseudofases	20
I.3.3. Solubilización y localización de solutos en MIs	21
I.4. Vesículas: Generalidades	23
I.4.1. Vesículas catiónicas: Generalidades	25
CAPÍTULO II:	31
II. Fundamentos teóricos y técnicas utilizadas	31
II.1. Dispersión dinámica de luz (Dynamic Light Scattering-DLS)	31
II.2. Espectroscopía de absorción y de emisión	32
II.3. Técnicas electroquímicas	34

Índice de contenido

II.3.1. Fundamento teórico.....	34
II.3.2. Técnicas potencioestáticas	44
II.4. Moléculas pruebas	71
II.4.1. Hidroquinona (H ₂ Q)	72
II.4.2. Naftol (<i>Nf</i>)	73
Capítulo III:.....	79
III. Metodología experimental.....	79
III.1. Reactivos, materiales y equipos.....	79
III.1.1. Reactivos para los estudios electroquímicos de H ₂ Q en MIs de AOT.....	79
III.1.2. Reactivos para los estudios espectroscópicos y electroquímicos de <i>Nf</i> en VGU de BHD-AOT	79
III.1.3. Técnicas, materiales y equipos.....	80
III.2. Síntesis del surfactante catiónico BHD-AOT	81
III.3. Procedimientos	82
III.3.1. Preparación de las soluciones acuosas de hidroquinona (H ₂ Q)	82
III.3.2. Preparación de soluciones de hidroquinona (H ₂ Q) en micelas de AOT/ <i>n</i> -heptano	82
III.3.3. Preparación de soluciones de hidroquinona (H ₂ Q) en micelas de AOT/ <i>n</i> -heptano/soluciones reguladoras	83
III.3.4. Preparación de soluciones de 1-naftol y 1-naftolato en LiClO ₄ 0.05 M	83
III.3.5. Preparación de soluciones de 1-naftol y 1-naftolato en VGU de BHD-AOT .	83
III.3.6. Preparación de soluciones de 1-naftolato encapsulado en VGU de BHD-AOT	84
III.3.7. Procedimiento experimental para el estudio de la cinética del 1-NP catalizado por la enzima AP en VGU de BHD-AOT	84
CAPÍTULO IV:	89
IV. Resultados y discusión	89
IV.1. Micelas inversas	89

Índice de contenido

IV.1.1.	Comportamiento electroquímico de H ₂ Q en agua por voltametría lineal ..	89
IV.1.2.	Estudio electroquímico de H ₂ Q en micelas inversas de AOT	92
IV.1.3.	Caracterización de la transferencia de carga	97
IV.2.	Vesículas grandes unilamelares de BHD-AOT	104
IV.2.1.	Estudio del <i>Nf</i> en solución acuosa de LiClO ₄	104
IV.2.2.	Estudio en vesículas grandes unilamelares de BHD-AOT	114
IV.3.	Aplicación de las técnicas electroquímicas: la VOC como una herramienta para la determinación del coeficiente de permeabilidad de solutos electroactivos a través de la bicapa de las VGU.	132
IV.3.1.	Determinación de los parámetros cinéticos de la reacción enzimática de 1-naftilfosfato de sodio (1-NP) con la enzima fosfatasa alcalina (AP) por espectroscopía de absorción.	133
IV.3.2.	Determinación de permeabilidad del 1-NP a través de la reacción enzimática con AP en el interior de las VGU de BHD-AOT	144
CAPÍTULO V:	161
V. Conclusiones generales	161
Referencias bibliográficas	167
Producción científica	179

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Energías medias de diferentes interacciones intermoleculares.....	6
Tabla 2. Clasificación de surfactantes según su estructura química.....	8
Tabla 3. Datos del ajuste de los diferentes voltogramas lineales para H ₂ Q en MIs y en agua pura con la ecuación (76).....	100
Tabla 4. Valores de constante de partición (K_p) por espectroscopía de absorción.	119
Tabla 5. Valores de constante aparente en el estado excitado (K_2) y de la Nf^{-*} a diferente pH.	125
Tabla 6. Valores de constante de partición (K_p) VGU de BHD-AOT por VOC.....	131
Tabla 7. Valores de los coeficiente de difusión de VGU de BHD-AOT (D_{Nfu}) obtenidas mediante VOC y DLS.	132
Tabla 8. Resumen de los parámetros cinéticos experimentales de la hidrólisis de 1-NP catalizada por AP en medio homogéneo.	140

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Diagrama de emisión de 1-naftol en solución acuosa.....	74
Esquema 2. Electrooxidación general de fenoles, extraído de referencia. ¹⁴⁶	75
Esquema 3. Representación de la interacción de puente de hidrógeno entre H ₂ Q y la interfaz de las MIs.	102
Esquema 4. Diagrama de emisión de 1-naftol en VGU de BHD-AOT.....	121
Esquema 5. Representación de la interacción de puente de hidrógeno entre el Nf y la bicapa de las vesículas.	122

Figura 1. Estructura del dodecilsulfato de sodio (SDS) en la que se demarcan sus diferentes regiones.....	7
Figura 2. Representación de la estructura de diferentes sistemas organizados formados en agua o en solventes polares: (A) vesículas, (B) micelas y (C) bicapas.	10
Figura 3. Estructura del 1,4-bis (2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio (AOT).....	11
Figura 4. Representación esquemática de los sistemas cataniónicos.	11
Figura 5. Estructura del 1,4-bis-(2-etil-hexil) sulfosuccinato de bencil-hexadecil-dimetilamonio (BHD-AOT).	13
Figura 6. Representación esquemática de los factores que definen el parámetro de empaquetamiento crítico (P_c): volumen (V), longitud máxima de la cola hidrocarbonada (l_c) y área superficial óptima de la cabeza polar del surfactante (a_0). Adaptado de Ref. ¹⁵	14
Figura 7. Representación esquemática de la funcionalidad entre el parámetro de empaquetamiento crítico (P_c) y la estructura supramolecular generada según el solvente. Adaptado de Ref. ³⁸	14
Figura 8. Representación esquemática de una micela inversa. (a) corazón polar, (b) interfaz micelar, (c) fase orgánica no polar externa.....	16
Figura 9. Modelos de pseudofases para la asociación de solutos en MIs: (A) modelo de dos pseudofases, (B) modelo de tres pseudofases, (C) modelo de cuatro pseudofases. En este último, el soluto puede estar en la fase orgánica, en la laguna acuosa, en el lado externo (\blacktriangle) o interno (\blacksquare) de la interfaz. Adaptado de Ref. ¹⁷	21
Figura 10. Representación esquemática de posibles sitios de solubilización de solutos en MIs. Adaptado de Ref. ¹¹⁷	22
Figura 11. Representación esquemática de una bicapa, vesícula esférica y corte transversal de una vesícula donde; I) región interna acuosa, II) interfaz (bicapa), III) región externa acuosa.	23
Figura 12. Clasificación de las vesículas según su estructura y tamaño. Adaptado de la referencia. ¹²⁰	25
Figura 13. Representación esquemática del cambio en la geometría molecular en la formación de surfactantes cataniónicos. Adaptado de la referencia. ¹²⁷	26
Figura 14. Diagrama de Jablonski.....	33
Figura 15. Sistema electroquímico y variables A) fuente de Potencial; B) microamperímetro; C) electrodos; D) solución electrolítica.	35
Figura 16. Perfil de concentración de una especie en las proximidades de un electrodo...	39

Figura 17. Perfil de concentración de una especie en las proximidades de un electrodo en función del tiempo.....	40
Figura 18. Celda electroquímica de tres electrodos A: fuente de Potencial; B: microamperímetro; ET: electrodo de trabajo; ER: electrodo de referencia; CE: contra electrodo; D: Solución electrolítica.....	43
Figura 19. Representación de la A) oxidación (parte alta de la figura) B) reducción (parte baja de la figura); de un sustrato R susceptible de ambas reacciones.....	44
Figura 20. Pulso de potencial en el tiempo (A) y respuesta en corriente bajo el mismo intervalo (B).	46
Figura 21. A) saltos de potencial en el tiempo, B) respuesta en corriente en el tiempo, C) perfil de corriente en función del potencial tomado a un tiempo τ	49
Figura 22. Representación de la respuesta $i-t$ para un salto de potencial suficientemente anódico.	49
Figura 23. Barrido de potencial en la técnica de voltametría lineal.....	51
Figura 24. Voltametría lineal. El potencial está referido al $E_{1/2}$ del sistema.....	52
Figura 25. Barrido de potencial en la técnica de voltametría cíclica.	54
Figura 26. Voltagrama cíclico típico de una reacción reversible.....	55
Figura 27. Curvas i vs E para distintas velocidades de barrido pequeñas.....	56
Figura 28. Tipos de transporte de masa en ultramicroelectrodos. A) Lineal semiinfinita B) Radial.	57
Figura 29. Ilustración de un circuito RC en solución.....	62
Figura 30. Representación esquemática de la función de perturbación en términos de potencial en función del tiempo de la onda cuadrada. Donde t_i = tiempo de reposo, t_p = es el tiempo de pulso, τ = periodo, E_i = potencial de reposo, ΔE_s = salto de potencial, ΔE_{sw} = amplitud de potencial, puntos 1 y 2 pulso final de ida y vuelta. ¹³⁵	64
Figura 31. Voltagrama de onda cuadrada para una especie reversible R/O en ausencia de O en el seno de la solución, donde $\Delta\psi$ es la corriente diferencial neta, ψ_1 la corriente directa (de ida) y ψ_2 la corriente inversa (de vuelta).	64
Figura 32. Voltagrama de onda cuadrada para una especie R con complicaciones de tipo EQ, donde $\Delta\psi$ es la corriente diferencial neta, ψ_1 la corriente directa (de ida) y ψ_2 la corriente inversa (de vuelta).....	68
Figura 33. Mecanismo de electrooxidación global de H_2Q , condicionado por una constante k_f y k_b . Extraído de la ref. ¹⁵²	73
Figura 34. Mecanismo de electrooxidación de H_2Q . Extraído de la ref. ¹⁵²	73

Figura 35. Esquema de la reacción del surfactante BHD-AOT.	81
Figura 36. Voltagrama lineal de H ₂ Q en agua. [H ₂ Q]=8x10 ⁻³ M, v=0.010 V s ⁻¹ , electrodo de trabajo UME disco de Pt.....	90
Figura 37. Voltagramas lineales de H ₂ Q a diferentes valores de pH. [H ₂ Q]=8x10 ⁻³ M, v=0.010 V s ⁻¹ , electrodo de trabajo UME disco de Pt.	91
Figura 38. Diagrama E _{1/2} vs pH de H ₂ Q. [H ₂ Q]=8x10 ⁻³ M, v=0.010 V s ⁻¹ , electrodo de trabajo UME disco de Pt. (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales.....	91
Figura 39. Voltagramas lineales de H ₂ Q en MIs de AOT a W ₀ = 10. [H ₂ Q]=1x10 ⁻² M, v=0.010 V s ⁻¹ , electrodo de trabajo UME disco de Pt.	93
Figura 40. Voltagramas lineales de H ₂ Q en MIs de AOT variando la [H ₂ Q]. W ₀ = 20, v=0.010 V s ⁻¹ , electrodo de trabajo UME disco de Pt.	93
Figura 41. Dependencia i _L vs la concentración de H ₂ Q. v=0.010 V s ⁻¹ , electrodo de trabajo UME disco de Pt. (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales.	94
Figura 42. Voltagramas lineales de H ₂ Q en MIs de AOT variando el W ₀ . [AOT]=0.10 M [H ₂ Q]=1x10 ⁻² M, v=0.010 V s ⁻¹ , electrodo de trabajo UME disco de Pt.	95
Figura 43. Dependencia del E _{1/2} de H ₂ Q en MIs de AOT Sobre el W ₀ . [AOT]=0.10 M [H ₂ Q]=1x10 ⁻² M, v=0.010 V s ⁻¹ , electrodo de trabajo UME disco de Pt.	95
Figura 44. Voltagramas lineales de (○) H ₂ Q en solución acuosa a diferentes valores de pH ([H ₂ Q]=8x10 ⁻³ M) y (—) H ₂ Q en MIs de AOT variando el W ₀ . [AOT]=0.10 M [H ₂ Q]=1x10 ⁻² M. v=0.010 V s ⁻¹ , Electrodo de trabajo UME disco de Pt.	96
Figura 45. Voltagrama lineal de H ₂ Q 8.0 x10 ⁻³ M en solución acuosa. V=0.01 V s ⁻¹ , (—) datos experimentales (○) ajuste realizado con la ecuación (76).	98
Figura 46. Voltagramas lineales de H ₂ Q en MIs de AOT/ <i>n</i> -heptano. [H ₂ Q]=1.0 x10 ⁻² M, V=0.01 V s ⁻¹ , A) W ₀ =10, B) W ₀ =14, C) W ₀ =16, D) W ₀ =20, E) W ₀ =25, F) W ₀ =27. (—) datos experimentales (○) ajuste realizado con la ecuación (76).	99
Figura 47. Voltagramas lineales de H ₂ Q en MIs de AOT a W ₀ = 20 a diferentes valores de pH. [H ₂ Q]=1x10 ⁻² M, v=0.010 V s ⁻¹ , electrodo de trabajo UME disco de Pt.	101
Figura 48. Dependencia del W ₀ vs pH en MIs de AOT (●) puntos experimentales (—) línea de guía.	102
Figura 49. Espectro de absorción del <i>Nf</i> (λ _{Abs} =290 nm); [<i>Nf</i>]=1.0x10 ⁻⁴ M en [LiClO ₄]=0.05 M, pH=6.40.	105
Figura 50. Espectro de absorción del <i>Nf</i> - (λ _{Abs} =332 nm); [<i>Nf</i> -]=1.0x10 ⁻⁴ M en [LiClO ₄]=0.05 M, pH=10.75.	105

- Figura 51.** Ley de Lambert y Beer a λ_{Abs} 290 nm del Nf a pH=6.40 (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales..... 106
- Figura 52.** Ley de Lambert y Beer a λ_{Abs} 332 nm del Nf^- a pH=10.75 (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales..... 106
- Figura 53.** Espectros de absorción del Nf a diferente pH; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M..... 107
- Figura 54.** Dependencia del pH sobre el $\log (A_3-A_{\lambda 332})/(A_{\lambda 290}-A_3)$; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M. (-) Ajuste lineal. Datos experimentales (●)..... 109
- Figura 55.** Dependencia la concentración de Nf y Nf^- con el pH, $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M..... 110
- Figura 56.** Espectros de emisión del Nf y Nf^- ($\lambda_{\text{Exc}}=300\text{nm}$) $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $\text{LiClO}_4=0.05\text{M}$. pH a) 10.75 b) 6.40 111
- Figura 57.** Voltagramas cíclicos del $[Nf]=2.0 \times 10^{-3}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M a diferentes valores de pH a 0.50 V s^{-1} 112
- Figura 58.** Voltagramas de onda cuadrada del $[Nf]=2.0 \times 10^{-3}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M a diferentes valores de pH, $E_s = 5 \text{ mV}$, $E_{\text{sw}} = 25 \text{ mV}$ y $f = 20\text{Hz}$ 113
- Figura 59.** Espectros de absorción del Nf a diferente pH; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M en $[\text{BHD-AOT}]=2.0 \text{ mg mL}^{-1}$ 114
- Figura 60.** Dependencia del pH sobre el $\log (A_3-A_{\lambda 332})/(A_{\lambda 290}-A_3)$; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M en VGU de BHD-AOT. (-) Ajuste lineal. Datos experimentales (●)... 115
- Figura 61.** Espectros de absorción del Nf ($\lambda_{\text{Abs}}=290 \text{ nm}$) a diferentes concentraciones de BHD-AOT; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M, pH=6.40. 116
- Figura 62.** Espectros de absorción del Nf^- ($\lambda_{\text{Abs}}=332 \text{ nm}$) a diferentes concentraciones de BHD-AOT; $[Nf^-]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M, pH=10.75..... 116
- Figura 63.** Dependencia de $A_T/[Nf]$ sobre la concentración de BHD-AOT; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M, $\lambda_{\text{Abs}}=290 \text{ nm}$, pH=6.40. (-) Ajuste no lineal. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación (112). 118
- Figura 64.** Dependencia de $A_T/[Nf^-]$ sobre la concentración de BHD-AOT; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M, $\lambda_{\text{Abs}}=332 \text{ nm}$, pH=10.75. (-) Ajuste no lineal. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación (112). 118
- Figura 65.** Espectros de emisión del Nf ($\lambda_{\text{Exc}}=300 \text{ nm}$) a diferentes concentraciones de BHD-AOT; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M, pH=6.40. 119

- Figura 66.** Espectros de emisión del *Nf* ($\lambda_{\text{Exc}}=300$ nm) a diferentes concentraciones de BHD-AOT; [*Nf*]= 1.0×10^{-4} M en [LiClO_4]=0.05 M, pH: A) 8.24, B) 9.41, C) 10.05, D) 10.75. 120
- Figura 67.** Espectro de emisión del *Nf* ($\lambda_{\text{Exc}}=300$ nm); [AOT]= 2.25×10^{-3} M; [*Nf*]= 1.0×10^{-4} M en [LiClO_4]=0.05 M, pH=10.75 121
- Figura 68.** Dependencia de la intensidad de fluorescencia sobre la concentración de BHD-AOT; [*Nf*]= 1.0×10^{-4} M en [LiClO_4]=0.05 M. $\lambda_{\text{Exi}}=300$ nm (-) Ajuste lineal. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación (119). A) 6.40, B) 8.24, C) 9.41, D) 10.05, E) 10.75. 124
- Figura 69.** Dependencia $-\log K_2$ sobre el pH [*Nf*]= 1.0×10^{-4} M en [LiClO_4]=0.05 M. $\lambda_{\text{Exi}}=300$ nm, (-) Ajuste lineal. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste lineal de los datos 125
- Figura 70.** Dependencia de las pendiente sobre la $[\text{H}^+]^2$ [*Nf*]= 1.0×10^{-4} M en [LiClO_4]=0.05 M. $\lambda_{\text{Exi}}=300$ nm, (-) Ajuste lineal. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste lineal de los datos..... 126
- Figura 71.** Voltagramas de onda cuadrada del *Nf* a diferentes concentraciones de BHD-AOT, [*Nf*]= 2.0×10^{-3} M, $\Delta E_s=5$ mV, $\Delta E_{\text{SW}}=25$ mV, $f=20$ Hz en [LiClO_4]=0.05 M, pH=6.40..... 127
- Figura 72.** Voltagramas de onda cuadrada del *Nf*⁻ a diferentes concentraciones de BHD-AOT, [*Nf*]= 2.0×10^{-3} M, $\Delta E_s=5$ mV, $\Delta E_{\text{SW}}=25$ mV, $f=20$ Hz en [LiClO_4]=0.05 M, pH=10.75..... 127
- Figura 73.** Dependencia de la corriente neta total sobre la concentración de BHD-AOT; [*Nf*]= 2.0×10^{-3} M en [LiClO_4]=0.05 M, pH=6.40. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación (126). . 130
- Figura 74.** Dependencia de la corriente neta total sobre la concentración de BHD-AOT; [*Nf*]= 2.0×10^{-3} M en [LiClO_4]=0.05 M, pH=10.75. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación (126). . 130
- Figura 75.** Hidrólisis del 1-naftilfosfato de sodio catalizada por la enzima fosfatasa alcalina. 133
- Figura 76.** Representación de velocidad de reacción vs concentración de sustrato (Cinética enzimática. Modelo de *Michaelis y Menten*). Gráfico adaptado de la referencia.¹⁷⁰ 134
- Figura 77.** Espectros de absorción de la hidrólisis del 1-NP catalizado por AP en [LiClO_4]=0.05 M; [1-NP]= 7.5×10^{-5} M; [AP]= 1.0×10^{-7} M; a pH 10.75..... 139
- Figura 78.** Dependencia de la relación v_0 con la [1-NP] en [LiClO_4]=0.05 a pH 10.75, donde v_0 son velocidades iniciales de las diferentes cinéticas realizadas, (●) datos experimentales, (—) ajuste no lineal de los datos experimentales empleando la ecuación (142). 140
- Figura 79.** Cinética enzimática del 1-NP monitoreada por VOC $\Delta E_s=5$ mV, $\Delta E_{\text{SW}}=25$ mV, $f=20$ Hz en [LiClO_4]=0.05 M, pH=10.75. [1-NP]= 1.95×10^{-3} M, [Ez]= 1×10^{-7} M. 141

- Figura 80.** Voltagramas de onda cuadrada para diferentes concentraciones de Nf^- $\Delta E_s=5$ mV, $\Delta E_{sw}=25$ mV, $f=20$ Hz en $[LiClO_4]=0.05$ M, pH=10.75..... 142
- Figura 81.** Variación de la i_n con la concentración de Nf^- en $[LiClO_4]=0.05$ M, pH=10.75. 143
- Figura 82.** Hidrólisis de 1-naftilfosfato de sodio catalizada por la enzima fosfatasa alcalina en el interior de VGU de BHD-AOT. 144
- Figura 83.** Voltagramas de onda cuadrada del Nf^- en BHD-AOT, $[Nf^-]=2.0 \times 10^{-3}$ M, $\Delta E_s=5$ mV, $\Delta E_{sw}=25$ mV, $f=20$ Hz en $[LiClO_4]=0.05$ M, pH=10.75..... 145
- Figura 84.** Cinética enzimática del 1-NP en VGU de BHD-AOT monitoreada por VOC $\Delta E_s=5$ mV, $\Delta E_{sw}=25$ mV, $f=20$ Hz en $[LiClO_4]=0.05$ M, pH=10.75. $[BHD-AOT]=2.0$ mg mL⁻¹ $[1-NP]=1.00 \times 10^{-3}$ M, $[E_z]=1.00 \times 10^{-7}$ M..... 146
- Figura 85.** Cinética enzimática del 1-NP en VGU de BHD-AOT monitoreada por VOC $\Delta E_s=5$ mV, $\Delta E_{sw}=25$ mV, $f=20$ Hz en $[LiClO_4]=0.05$ M, pH=10.75. $[BHD-AOT]=2.0$ mg mL⁻¹; $[E_z]=1.0 \times 10^{-7}$ M. a) $[1-NP]=7.45 \times 10^{-4}$ M, b) $[1-NP]=1.95 \times 10^{-3}$ M c) $[1-NP]=4.95 \times 10^{-3}$ M. 147
- Figura 86.** Variación de i_T en el tiempo para cinéticas monitoreadas por VOC con diferentes $[1-NP]$: (a) 7.45×10^{-4} M, (b) 1.00×10^{-3} M, (c) 1.95×10^{-3} M y (d) 4.95×10^{-3} M. $E_s=5$ mV, $E_{sw}=25$ mV y $f=20$ Hz, $[E_z]=1.00 \times 10^{-7}$ M, $[BHD-AOT]=2.0$ mg mL⁻¹, pH=10.75. 148
- Figura 87.** Variación de $C_f(t)$, en el tiempo para cinéticas monitoreadas por VOC con diferentes $[1-NP]$: (a) 7.45×10^{-4} M, (b) 1.00×10^{-3} M, (c) 1.95×10^{-3} M y (d) 4.95×10^{-3} M. $E_s=5$ mV, $E_{sw}=25$ mV y $f=20$ Hz, $[E_z]=1.00 \times 10^{-7}$ M, $[BHD-AOT]=2.00$ mg mL⁻¹, pH=10.75..... 150
- Figura 88.** Variación de la relación $\log(1 - C_f(t)/C_{tot})$ en el tiempo para cinéticas monitoreadas por VOC $E_s=5$ mV, $E_{sw}=25$ mV y $f=20$ Hz, $[E_z]=1.0 \times 10^{-7}$ M, $[BHD-AOT]=2.0$ mg mL⁻¹, pH=10.75. (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales..... 154
- Figura 89.** Espectro de absorción obtenidos durante la hidrólisis del 1-NP catalizada por AP a lo largo del tiempo en $[LiClO_4]=0.05$ M; $[AOT-BHD]=1.0$ mg mL⁻¹, $[1-NP]=2.50 \times 10^{-5}$ M; $[AP]=1.0 \times 10^{-7}$ M; pH=10.75..... 155
- Figura 90.** Ley de Lambert y Beer a $\lambda_{Abs}=332$ nm del Nf^- ; $b=1.0$ cm; $[BHD-AOT]=1.0$ mg mL⁻¹; pH=10.75; (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales..... 156
- Figura 91.** Variación de la relación $\log(1 - C_f(t)/C_{tot})$ para cinéticas monitoreadas por espectroscopía de absorción a $\lambda_{abs}=332$ nm, $[E_z]=1.0 \times 10^{-7}$ M, $[BHD-AOT]=1.0$ mg mL⁻¹, pH=10.75. (●) puntos experimentales (—) ajuste no lineal de los datos experimentales. 156

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

A

A: Área del electrodo
 α : Coeficiente de transferencia
a: Constante con los términos electroquímicos de la especie libre
 a_0 : Área óptima disponible de la cabeza polar
AOT: 1,4-bis (2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio
AP: Fosfatasa alcalina
 $A_{\lambda 332}$: Absorbancia a λ del 1-naftolato
 $A_{\lambda 290}$: Absorbancia a λ del 1-naftol
 A_3 : Absorbancia total
 A_7^λ : Absorbancia a λ de la molécula prueba libre
 A_u^λ : Absorbancia a λ de la molécula prueba unida al sistema organizado
 A_7^λ : Absorbancia total a λ de la molécula prueba

B

B: Constante electroquímica
b: Constante con los términos electroquímicos de la especie unida
BHDC: Cloruro de bencil-n-hexadecildimetilamonio
BHD-AOT: 1,4-bis-(2-etil-hexil) sulfosuccinato de bencil-hexadecil dimetilamonio

C

C: Concentración
 $C_d(t)$: Concentraciones del soluto dentro
CE: Contra electrodo
 $C_f(0)$: Concentraciones del soluto afuera a $t=0$
 $C_f(t)$: Concentraciones del soluto afuera
 $\delta C_f(t)$: Variación de concentración del sustrato en la región acuosa externa en el tiempo
 C_o : Concentración de la especie oxidada
 C_R : Concentración de la especie reducida
 C_R^0 : Concentración de la especie reducida en el seno de solución
 C_{T1} : Concentración de 1-naftolato
 C_{T2} : Concentración de 1-naftol
 C_T : Concentración total de naftol y naftolato
 C_{tot} : Concentración del soluto al tiempo total de la reacción

D

D: Coeficiente de difusión
De: Constante dieléctrica
 D_{Nfl} : Coeficiente de difusión del naftol en agua
 D_{Nfu} : Coeficiente de difusión del naftol unido a las vesículas

DLS: Dinamic light scattering
DMF: Dimetil formamida
DMPC: dimiristoilfosfatidilcolina
Do: Coeficiente de difusión de la especie oxidada
DOPC: 1,2-di-oleoil-*sn*-glicerol-3-fosfatidilcolina
DPPC: Dipalmitoilfosfatidilcolina
DR: Coeficiente de difusión de la especie reducida
 ΔE : Diferencia de potencial de celda
 $\Delta E_{(ET-sln)}$: Diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo y la solución
 $\Delta E_{(sln-CE)}$: Diferencia de potencial entre la solución y el contra electrodo
 $\Delta E_{(sln-ER)}$: Diferencia de potencial entre la solución y el electrodo de referencia
 ΔE_S : Salto de potencial
 ΔE_{sw} : Amplitud de potencial

E

E: Potencial
 $E_{1/2}$: Potencial de media onda
 $E_{P/2}$: Potencial de pico de media onda
 E_A : Potencial anódico
ECS: Electrodo de calomel saturado
 E_f^0 : Potencial formal
EG: Etilenglicol
 E_i : Potencial inicial
 E_P : Potencial de pico
ER: Electrodo de referencia
 $[E_z]$: Concentración de enzima
 $[E_z]_T$: Concentración de enzima total
 $[E_zS_t]$: Concentración del complejo enzima sustrato
 ϵ : Coeficiente de absortividad molar

ϵ_l : Coeficiente de absortividad molar de la especie libre
 ϵ_u : Coeficiente de absortividad molar de la especie unida a la vesícula

F

F: Constante de Faraday
 f : Frecuencia
FA: Formamida
FT-IR: Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier

G

$G(\tau)$: Función de autocorrelación
GY: Propilenglicol

H

H₂Q: Hidroquinona
HC: Ioduro de trans-4-[4-(dimetilamino)-etil]-1-metilpiridinio
HOMO: Orbital molecular ocupado de más energía

I

i : Corriente
 $I(t)$: Intensidad de luz dispersada en el tiempo
 I_0 : Intensidad de luz incidente
 i_a : Corriente anódica
 i_c : Corriente catódica

i_L : Corriente límite
 i_{pnl} : Corriente pico neta de la especie libre
 i_{pnu} : Corriente pico neta de la especie unida a la vesícula
 i_{pn} : Corriente de pico neta
 i_r : Corriente de reducción
 i_T : Corriente total

K

k^0 : Constante de transferencia heterogénea
 k : Constante de velocidad
 K_1 : Constante de acidez en el estado excitado
 K_2 : Constante aparente del estado excitado
 $K_{afinidad}$: Constante de afinidad
 k_b : Constante de reacción inversa
 k_{cat} : Constante de velocidad catalítica
 k_f : Constante de reacción directa
 K_M : Constante de Michaelis – Menten
 k_{obs} : Constante observada
 K_p : Constante de reparto

L

λ : Longitud de onda
 λ_{Abs} : Longitud de onda de absorción
 λ_{Emi} : Longitud de onda de emisión
 λ_{Exc} : Longitud de onda de excitación
L: Espesor de la bicapa
 l_e : Longitud máxima de las colas hidrocarbonadas extendidas de un surfactante
LIs: Líquidos iónicos

LUMO: Orbital molecular no ocupado de más baja energía

M

MIs: Micelas inversas

N

n: Número de electrones
 η : Viscosidad del solvente
 N_A : Número de Avogadro
 N_f : 1-Naftol
 N_f^- : 1-Naftolato
 $[N_f]_l$: Concentración naftol en la región acuosa
 $*N_f$: Naftol en la región acuosa excitado
 $[N_f]_u$: Concentración naftol unido a la bicapa de la vesícula
 $*N_f_u$: Naftol unido a la bicapa de la vesícula excitado
 $*N_f^-_l$: Naftolato en la región acuosa excitado
 $[N_f^-]_l$: Concentración naftolato en la región acuosa
 $[N_f^-]_u$: Concentración naftolato unido a la bicapa de la vesícula
 $*N_f^-_u$: Naftolato unido a la bicapa de la vesícula excitado
NMR: Resonancia magnética nuclear
 N_f : Naftol en la región acuosa
 N_f_u : Naftol unido a la bicapa de la vesícula

O

O: Especie oxidada
O.V.V: Vesículas Oligovesiculares

P

P: Coeficiente de permeabilidad
P_c: Parámetro de empaquetamiento crítico
pI: Punto isoeléctrico
pKa: -log de la constante de acidez (*K_a*)
Pr: Producto de la reacción enzimática
PRODAN: 6-propionil-2-(*N,N*-dimetil)-aminonaftaleno
Pt: Platino
Puente de H: Interacción por puente de hidrógeno

Q

Q: Carga: integral de la corriente en el tiempo
q: Vector de onda

R

R: Especie reducida
r: Radio
R_b: Radio externo de la bicapa
R_H: Radio hidrodinámico

S

S: Espesor de la bicapa
S₀: Estado electrónico fundamental singlete
S₁: Primer estado electrónico singlete excitado
S₂: Segundo estado electrónico singlete excitado
SANS: Dispersión de Neutrones a Bajo Ángulo (*Small Angle Neutron Scattering*)
SDS: Dodecilsulfato de sodio
SHE: Electrodo estándar de hidrógeno
SLS: Dispersión de luz estática
St: Sustrato

T

θ: Ángulo de dispersión
t: Tiempo
τ: Tiempo que tarda el sustrato en atravesar la bicapa
T₁: Primer estado electrónico triplete excitado
τ_p: Tiempo de pulso

U

UMEs: Ultramicro electrodo

Símbolos y abreviaturas

V

v_0 : Velocidad inicial
VC: Voltametría cíclica
 V_d : Volumen de la región acuosa interna
 V_f : Volumen de la región acuosa externa
VGM: Vesícula grandes multilamelares
VGU: Vesícula grandes unilamelares
VL: Voltametría lineal
 v_{max} : Velocidad máxima
VOC: Voltametría de onda cuadrada
VPM: Vesícula pequeñas multilamelares
VPU: Vesícula pequeñas unilamelares
 V_{tot} : Volumen total
V: Volumen de la región hidrofóbica del surf

W

W: Término empírico relacionado con el instrumental
W₀: Relación molar [agua]/[surfactante]
W_s: Relación molar [Solvente]/[surfactante]

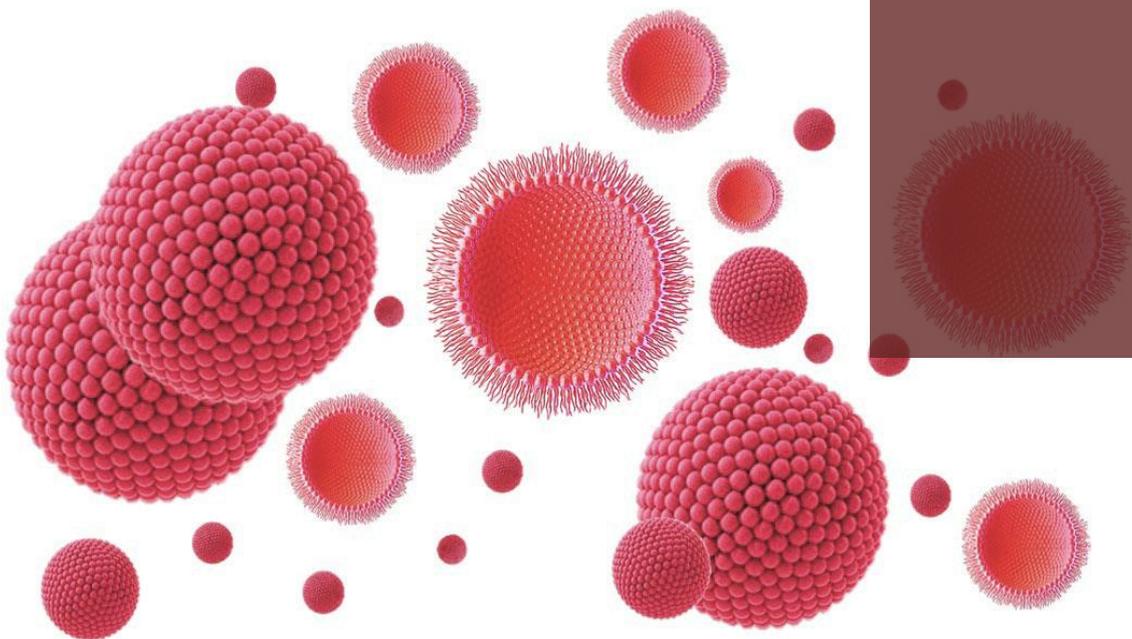
X

X(E): Función corriente en voltametría cíclica

Y

Y: Cuadrado de la media de la intensidad de la luz dispersada

Objetivos



OBJETIVOS**Objetivo general**

Estudiar las propiedades fisicoquímicas de diferentes solutos de comportamiento electroquímico conocido en distintos sistemas organizados, profundizando el estudio de sus interacciones, mediante el empleo de técnicas electroquímicas. De esta manera, se pretende caracterizar nuevos medios organizados explorando, al mismo tiempo, diferentes propiedades interfaciales. Así, será posible entender las múltiples funciones que las diferentes interfaces presentan para poder así, en un futuro, utilizar los nuevos sistemas organizados como medios de reacción y catálisis favorables al ambiente. Estudiando también su posible uso en enzimología micelar, en transporte de medicamentos y moléculas con actividad biológica.

Objetivos específicos*Micelas Inversas de AOT*

- ✓ Estudiar el comportamiento electroquímico de hidroquinona (H₂Q) en soluciones reguladoras de diferentes valores de pH, mediante la técnica de voltametría lineal (VL).
- ✓ Estudiar el comportamiento electroquímico de H₂Q en micelas inversas (MIs) de AOT/*n*-heptano a través de VL
- ✓ Caracterizar la transferencia de carga de H₂Q en solución acuosa y en MIs de AOT/*n*-heptano

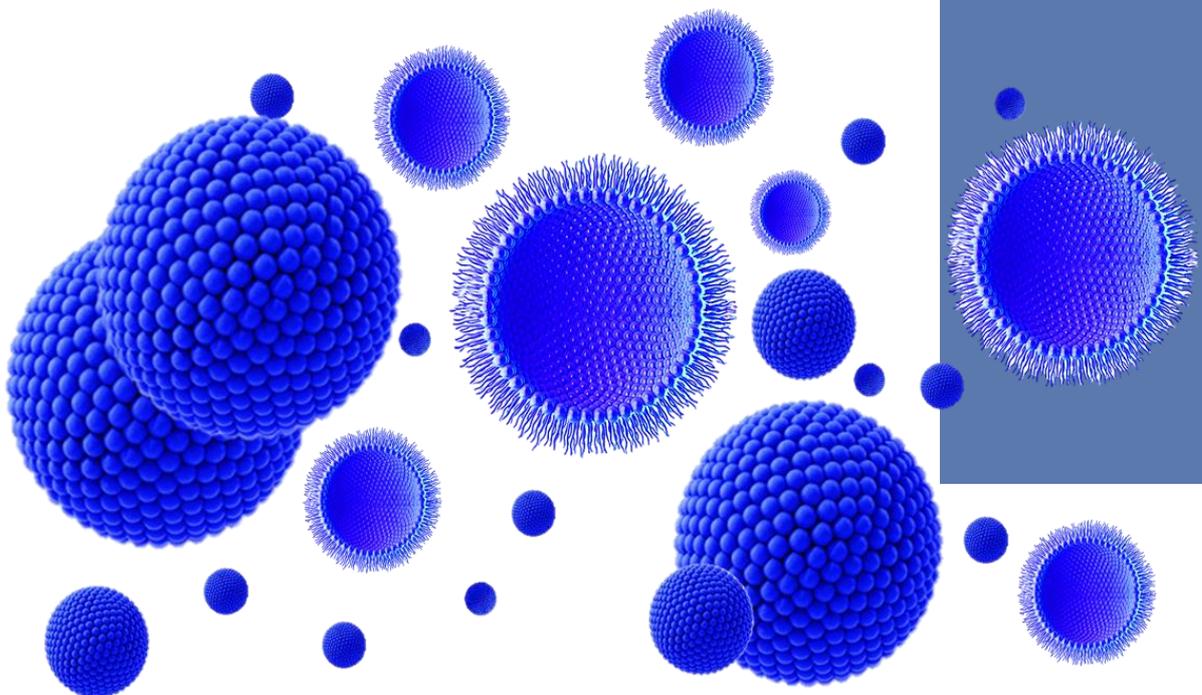
Vesículas grandes unilamelares de BHD-AOT

- ✓ Estudiar el comportamiento del 1-naftol (*Nf*) en soluciones acuosas a diferentes valores de pH mediante espectroscopía de absorción y emisión.

-
- ✓ Estudiar el comportamiento electroquímico del Nf en soluciones acuosas a diferentes valores de pH a través de voltametría cíclica (VC) y voltametría de onda cuadrada (VOC).
 - ✓ Estudiar el comportamiento del 1-naftol (Nf) y 1-naftolato (Nf^-) en vesículas grandes unilamelares (VGU) de 1,4-bis-(2-etil-hexil) sulfosuccinato de bencil-hexadecil-dimetilamonio (BHD-AOT) mediante espectroscopía de absorción y emisión.
 - ✓ Estudiar el comportamiento electroquímico del Nf y Nf^- en VGU de BHD-AOT por VOC.
 - ✓ Proponer un modelo matemático para calcular la constante de equilibrio del Nf en el estado excitado en VGU de BHD-AOT.
 - ✓ Determinar el coeficiente de permeabilidad del 1-naftilfosfato de sodio (1-NP) en VGU de BHD-AOT, a partir de la reacción enzimática de este sustrato con la enzima fosfatasa alcalina (AP), mediante la técnica de VOC y por espectroscopía de absorción.

CAPÍTULO I

Introducción



CAPÍTULO I:

I. Introducción

En este primer capítulo se desarrollan algunos conceptos y fundamentos concernientes a los estudios realizados en este trabajo de tesis. A continuación, se describen los aspectos más importantes de los sistemas organizados, en particular micelas inversas de AOT y vesículas catiónicas de BHD-AOT.

I.1. Sistemas organizados: Generalidades

Los sistemas organizados son autoensamblados de moléculas anfifílicas que exhiben determinadas propiedades características. Estos sistemas constituyen un grupo de agregados, dentro de los que se encuentran micelas directas, micelas inversas y vesículas, que presentan una amplia aplicabilidad en diversos campos. Por ejemplo, es conocido el uso de estos sistemas en la industria de colorantes, detergentes, cosméticos y medicamentos.^{1,2} Si bien estos sistemas parecen diferir notablemente unos de otros, presentan en común lo referente a la orientación, agregación y formación de estructuras entre las moléculas que los forman.³ Generalmente estos sistemas se forman por la asociación de moléculas en un medio fluido, que en la mayoría de los casos es agua.^{4,5} Las soluciones que contienen sistemas organizados se conocen como “microheterogéneas” ya que a simple vista presentan una sola fase, pero a escalas microscópicas poseen dos o más, las cuales se conocen como “pseudofases” y por lo tanto algunas de sus propiedades no son uniformes en el seno de la solución. Estas soluciones microheterogéneas son ópticamente transparentes (en el caso de micelas), isotrópicas y termodinámicamente estables.⁶ A diferencia de las micelas directas e inversas, las vesículas son soluciones microheterogéneas opalescentes, esta característica dificulta su estudio por técnicas espectroscópicas. Dadas las características que presentan estos sistemas, son ampliamente utilizados en catálisis química, hidrólisis enzimática, electrosíntesis orgánica, síntesis de nanopartículas y como vehículos en el transporte de fármacos.^{7,8} En campos como la nanomedicina, las vesículas son utilizadas para estudiar y comprender fenómenos de estructuras altamente complejas como lo son las membranas biológicas, ya que las mismas presentan similitudes estructurales.

Estos sistemas supramoleculares están compuestos por moléculas de carácter anfifílico llamados surfactantes, del inglés *surfactant* (*surface active agent*), donde estas moléculas o iones, se mantienen unidos por interacciones no covalentes, tales como las electrostáticas, puentes de hidrógeno (puente de H), fuerzas de dispersión y efectos solvofóbicos.⁹ Estas interacciones son las responsables y ejercen el control en los diversos procesos, físicos o químicos, que tienen lugar en estos sistemas.⁹ A continuación se muestra (Tabla 1) un resumen de las energías medias en orden decreciente en magnitud para las distintas interacciones intermoleculares que pueden presentarse en los sistemas organizados.

Tabla 1. Energías medias de diferentes interacciones intermoleculares.

Interacción	Energía (kJ/mol)
Ion-Ion	250
Ion-Dipolo	125
Puente de Hidrógeno	60
Catión-$e^- \pi$	40
Dipolo-Dipolo	30
$e^- \pi$-$e^- \pi$	25
Van der Waals	<5 depende del área superficial
Hidrofóbica	Depende de la interacción solvente-solvente

*Adaptado de referencia.⁹

Continuamente se están desarrollando nuevos sistemas para distintas aplicaciones específicas, como por ejemplo nanotecnología, o para satisfacer la demanda de sistemas organizados no agresivos para el ambiente que sean biodegradables y no irritantes.¹⁰ Por esta razón comprender las interacciones es importante, ya que teniendo el conocimiento y el control de posibles atracciones y/o repulsiones entre solutos en diferentes medios, se puede lograr el diseño de futuros sistemas con fines específicos.

I.2. Surfactantes: Generalidades

Los surfactantes son moléculas que poseen características y propiedades anfifílicas, las mismas presentan dos grupos que difieren marcadamente en cuanto a su capacidad en solubilizarse en diferentes solventes. La Figura 1, muestra a manera de ejemplo la estructura del surfactante dodecilsulfato de sodio (SDS) con sus regiones demarcadas, una región polar y otra no polar. La región polar, está constituida habitualmente por grupos con carga eléctrica

neta, tales como carboxilatos o sulfonatos, etc, o puede presentar grupos de polióxido de etileno, como en el caso de los surfactantes no iónicos. La región no polar suele ser una cadena hidrocarbonada simple o ramificada (8 a 18 átomos de carbono).⁶ Estas regiones se denominan comúnmente como cabeza polar y cola respectivamente.³ Si el solvente utilizado es agua, entonces las regiones se denominan hidrofílicas e hidrofóbicas, respectivamente.

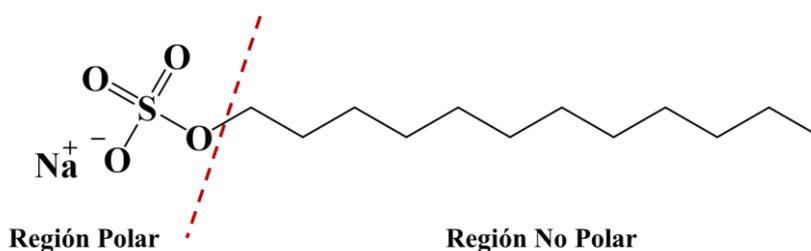


Figura 1. Estructura del dodecilsulfato de sodio (SDS) en la que se demarcan sus diferentes regiones.

Para satisfacer el balance de las interacciones polares y no polares, un surfactante debe poseer un grupo no polar netamente más grande que su contraparte iónica, ya que las interacciones que presenta un grupo polar iónico con su entorno son diez veces más intensas que las interacciones no polares de una molécula anfifílica.⁶ De acuerdo a las características de las regiones polares y no polares, existen diferentes tipos de surfactantes. Los mismos se clasifican según el tipo de grupo polar en: ^{11,12}

Surfactantes aniónicos: el grupo polar lleva una carga negativa, por ej. carboxilatos, sulfonatos, etc., con contraiones Na⁺, K⁺, etc.

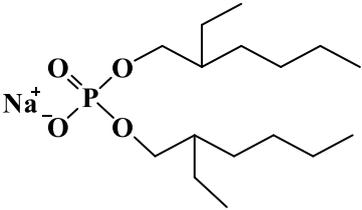
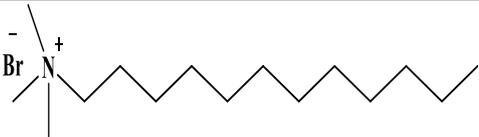
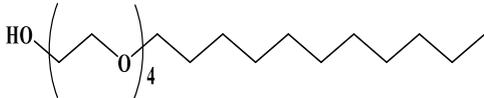
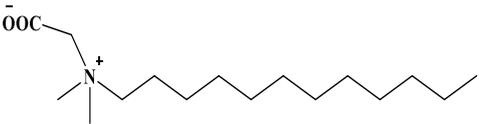
Surfactantes catiónicos: el grupo hidrofílico tiene una carga positiva, como por ejemplo sales de amonio o amonio cuaternario y contraiones Cl⁻, Br⁻, etc.

Surfactantes zwitteriónicos: ambas cargas positiva y negativa, están presentes en el grupo, como por ej. aminoácidos de cadena larga, sulfobetáínas, etc.

Surfactantes no iónicos: contienen una cadena polar sin cargas netas y una cola no polar, como por ejemplo mono glicéridos de un ácido graso, polioxietilalquifenoles, etc.

En la Tabla 2, se muestran algunos ejemplos de las estructuras más características de cada grupo de surfactantes, de acuerdo a la clasificación mencionada anteriormente, y sus aplicaciones en la vida cotidiana según el tipo de surfactante.⁶

Tabla 2. Clasificación de surfactantes según su estructura química.

TIPO DE SURFACTANTE	USOS	ESTRUCTURA
<p>ANIÓNICOS</p> <p>Presentan un anión anfífilo y un catión como contraión.</p>	Emulsificadores de cremas, ungüentos, detergentes de lavaplatos, desengrasante	 <p>NaDEHP (bis (2-etilhexil) fosfato de sodio)</p>
<p>CATIÓNICOS</p> <p>Presentan un catión anfífilo y un anión como contraión.</p>	Acondicionadores de cabellos, desinfectantes, antiestáticos, suavizantes de ropa.	 <p>CTAB (Bromuro de cetiltrimetil amonio)</p>
<p>NO IÓNICOS</p> <p>Contiene una cadena polar sin cargas netas y una cola no polar.</p>	Cosméticos, champú, detergentes.	 <p>Brij 30 (Polietilenglicol dodecil eter)</p>
<p>ZWITERIÓNICOS</p> <p>Presentan una carga positiva y otra negativa en la misma molécula.</p>	Champú suave, productos de baño no irritantes.	 <p>DDAA(Dodecil dimetilamonio acetato(n-dodecilbetaína))</p>

En la actualidad, se desarrolla la búsqueda de nuevos surfactantes que reúnan determinadas propiedades. Estas nuevas estructuras pueden exhibir interacciones sinérgicas, mejoras en los procesos de adsorción, absorción y biodegradabilidad. Algunos ejemplos novedosos de moléculas anfífilas son los surfactantes catiónicos (mezcla equimolar de surfactantes catiónico y aniónico, sin contraión inorgánico)¹³ y los surfactantes geminis (dos colas y dos cabezas).¹²

Los surfactantes al exhibir distintas polaridades, pueden comportarse de manera única al disolverse en distintos medios. Por ejemplo, cuando un surfactante a bajas concentraciones es disuelto en agua como solvente, los mismos presentan la capacidad de adsorberse o localizarse en la interfaz aire/agua.^{6,14} Este proceso es termodinámicamente favorable, ya que las moléculas de surfactante presentan una energía libre menor en relación a la fase neta. Por lo tanto, la acumulación de surfactante en la interfaz es un proceso espontáneo, y resulta en la disminución significativa de la tensión superficial.¹⁴ Los surfactantes se diferencian de los tensoactivos en general, por la capacidad de formar monocapas orientadas en la interfaz, aire/agua o aceite/agua. Además de generar autoensamblados como micelas y vesículas en la fase neta.⁶ Otras propiedades que presentan los surfactantes son emulsificación, dispersión, humectación, formación de espuma y detergencia.¹⁵

La minimización de las interacciones desfavorables, o maximización de las favorables entre el surfactante y el medio en donde se encuentra disperso, favorece tanto la aparición de estados interfaciales como la asociación con otras moléculas de características similares.^{6,15} Al disolver el surfactante en agua, su región no polar distorsiona la estructura del solvente, por ruptura de puentes de H y por la estructuración de moléculas de agua en sus vecindades. Como resultado de esta perturbación energética, las moléculas de surfactante son expeditas hacia la interfaz. Los grupos no polares se orientan hacia el aire constituyendo una monocapa, que minimiza el contacto con las moléculas del agua. Dicha orientación reduce las diferencias entre las fases en contacto (aire/agua), generando una disminución de la tensión superficial.¹⁴ El proceso de adsorción ocurre hasta cierta concentración de surfactante, luego la interfaz se satura y nuevos mecanismos toman protagonismo con el fin de minimizar la energía del sistema.¹⁴ Así, comienzan a efectuarse procesos de agregación, tales como la cristalización y precipitación, o la formación de diferentes estructuras organizadas como micelas, bicapas o vesículas, entre otras, representadas a continuación esquemáticamente en la Figura 2. En el caso de las micelas formadas en agua, la fuerza que controla su formación es el efecto hidrofóbico.

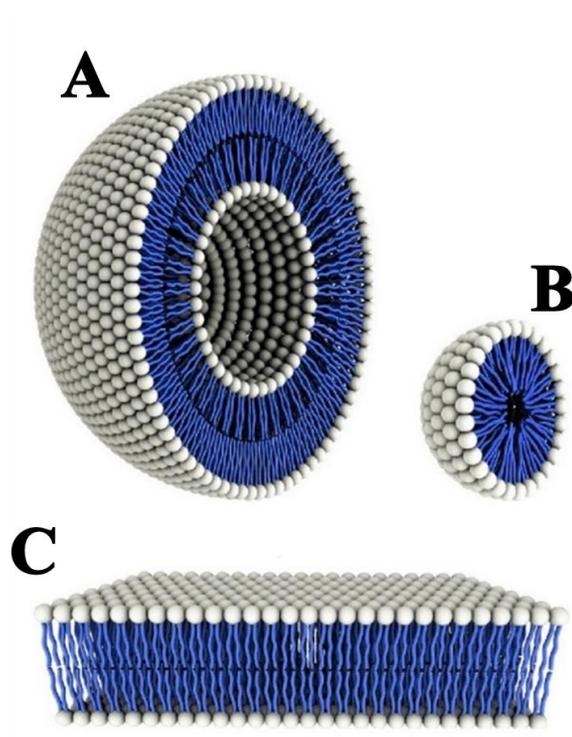


Figura 2. Representación de la estructura de diferentes sistemas organizados formados en agua o en solventes polares: (A) vesículas, (B) micelas y (C) bicapas.

I.2.1. Surfactante aniónico AOT: Antecedentes

El 1,4-bis (2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio (AOT), es un surfactante aniónico capaz de formar MIs estables en un gran número de solventes.^{12,16-17} El mismo, cuya estructura molecular se muestra en la Figura 3, presenta dos cadenas de hidrocarburo ramificadas en la región no polar y un grupo sulfonato y su contraión Na^+ , en la región polar. Su estructura molecular, le otorga, gran solubilidad a temperatura ambiente en una gran variedad de solventes no polares.^{16,17} Además, debido a sus dos cadenas hidrocarbonadas ramificadas, AOT posee una elevada relación entre el volumen de la región no polar y el área superficial de su cabeza polar, requisito característico y fundamental para la formación de micelas inversas (MIs), sin necesitar el uso de cosurfactantes, hecho que lo hace más atractivo todavía para la formación de micelas.

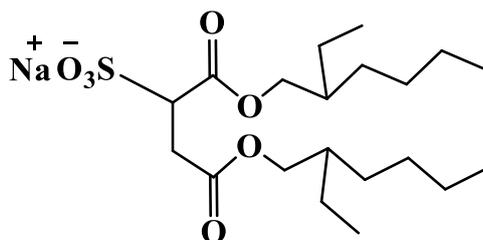


Figura 3. Estructura del 1,4-bis (2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio (AOT).

El AOT, es utilizado en un gran número de aplicaciones. Este surfactante no es tóxico, esto le permite ser utilizado en preparaciones biológicas y farmacológicas.¹⁸ Además, es utilizado como aditivo alimentario, emulsionante, dispersante, humectante y laxante.¹⁸

I.2.2. Surfactantes catiónicos: Antecedentes

Los surfactantes catiónicos, son el resultado de la mezcla de un surfactante aniónico y un surfactante catiónico.^{19,20,21} Los mismos se clasifican en dos categorías: La primera denominada *mezclas catiónicas* y la segunda categoría llamada *los “verdaderos” surfactantes catiónicos*. Las *mezclas catiónicas* son el resultado de la mezcla de un surfactante catiónico y uno aniónico, conservando la sal inorgánica formada por sus contraiones.^{19,22,23} Los “verdaderos” surfactantes catiónicos, son sales complejas del tipo $C_m^+C_n^-$, que resultan de la mezcla equimolar de un surfactante catiónico ($C_m^+X^-$) y un surfactante aniónico ($C_n^-Y^+$), eliminando la sal inorgánica (X^-Y^+) proveniente de sus contraiones.¹³ A continuación en la Figura 4 se muestra la representación esquemática de los sistemas catiónicos.

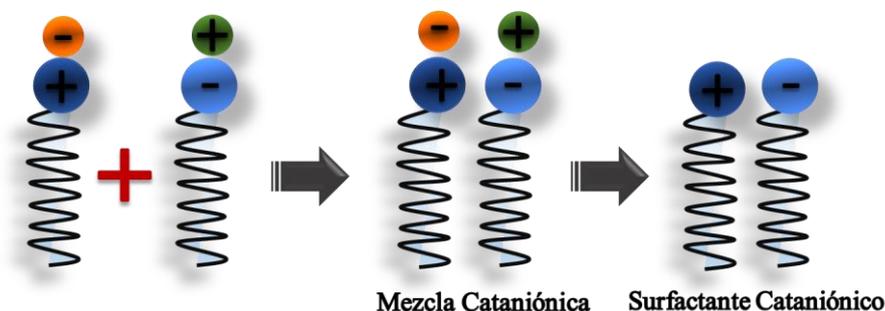


Figura 4. Representación esquemática de los sistemas catiónicos.

La mayoría de los estudios realizados con surfactantes catiónicos han sido para aquellos formados a partir de una neutralización ácido – base en medio acuoso, donde el surfactante

catiónico tienen como contraión un grupo hidroxilo (OH^-) y el surfactante aniónico tiene como contraión un protón (H^+).^{24,25} Este trabajo de tesis se enfocará en el estudio de surfactantes catiónicos formados a partir de la mezcla de surfactantes iónicos que tienen como contraión un metal o un halógeno. En la actualidad existen diferentes métodos de síntesis de surfactantes catiónicos como: *método de intercambio de iones*, *método de neutralización*, *método de precipitación* y *método de extracción*. En general los métodos de formación o síntesis de los surfactantes catiónicos tienen como fin, evitar y eliminar alguna impureza proveniente del exceso de uno de los surfactantes iónicos predecesores o de la sal inorgánica formada por los contraiones originales.²⁶

En este trabajo, se realizó la síntesis del surfactante catiónico por el *método de extracción*, el cual consiste en disolver por separado el surfactante aniónico y el catiónico en un solvente orgánico donde ninguno de los surfactantes forme micelas. Luego de tener los surfactantes solubilizados completamente se mezclan ambas soluciones, con el fin de obtener la mezcla catiónica y la sal precipitada de sus contraiones. Finalmente para eliminar dicha sal, se realizan extracciones utilizando un solvente adecuado, y terminada la extracción se evapora el solvente orgánico para obtener el surfactante catiónico puro.²⁶ Cabe aclarar que el uso de cada uno de los métodos de síntesis depende en gran medida de las características químicas de cada uno de los surfactantes originales.^{27,28} En los últimos años ha llamado mucho la atención el uso de estos surfactantes, pues los sistemas organizados formados por ellos, presentan características únicas y diferentes, a las que presentan los surfactantes que los componen.^{19,24,28}

Los surfactantes catiónicos, han mostrado la capacidad de formar distintos sistemas organizados como: micelas inversas²⁹⁻³¹ micelas elipsoidales³², agregados icosaédricos huecos³², vesículas uni y multilamelares^{33,34,35} y recientemente vesículas inversas.²¹ En general se conoce muy poco de las propiedades fisicoquímicas de estos sistemas organizados. En nuestro grupo de investigación se sintetizó el surfactante catiónico 1,4-bis-(2-etil-hexil) sulfosuccinato de bencil-hexadecil-dimetilamonio (BHD-AOT) (Figura 5), el cual tiene la capacidad de formar vesículas unilamelares de manera espontánea sin aplicar tratamientos físicos al sistema.³¹ Dado que es un sistema nuevo, el estudio de sus

propiedades es importante, ya que permitirá entender mejor este tipo de sistemas y ampliar las posibilidades de su de aplicación.

Hasta el momento se describieron las principales características de los surfactantes AOT y del BHD-AOT, empleados en la presente investigación.

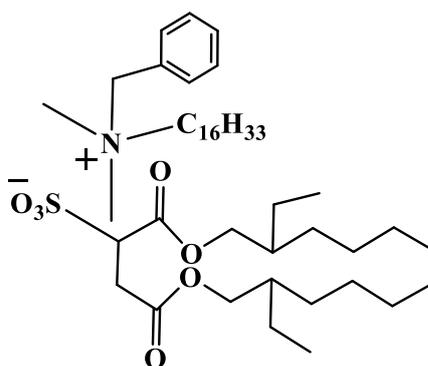


Figura 5. Estructura del 1,4-bis-(2-etil-hexil) sulfosuccinato de bencil-hexadecil-dimetilamonio (BHD-AOT).

I.2.3. Parámetro de empaquetamiento

En el proceso de micelización, la geometría molecular obtiene un rol importante y permite entender cómo se pueden empaquetar los surfactantes para dar origen a distintas estructuras supramoleculares. Las ideas básicas de cómo la geometría molecular del surfactante influye en la forma y tamaño de los agregados fueron planteadas por Israelachvili,³⁶ Mitchell y Ninham.³⁷ Los autores definieron el parámetro de empaquetamiento crítico (P_c) o factor de forma, de acuerdo a la siguiente relación:

$$P_c = \frac{V}{a_0 l_c} \quad (1)$$

donde V es el volumen de la región hidrofóbica del surfactante, a_0 es el área óptima disponible de la cabeza polar y l_c es la longitud máxima de las colas hidrocarbonadas extendidas de un surfactante.⁶ En la Figura 6, se muestra la representación esquemática de los factores que definen el P_c . En esencia, P_c es una relación geométrica entre el área de la parte hidrofóbica (V/l_c) y de la parte hidrofílica (a_0) del surfactante. En el caso de las MIs, cuanto mayor sea la parte hidrofóbica, más favorecida es su formación. Caso contrario ocurre

cuando el área hidrofílica es más grande, donde resulta favorecida la formación de micelas directas en agua.

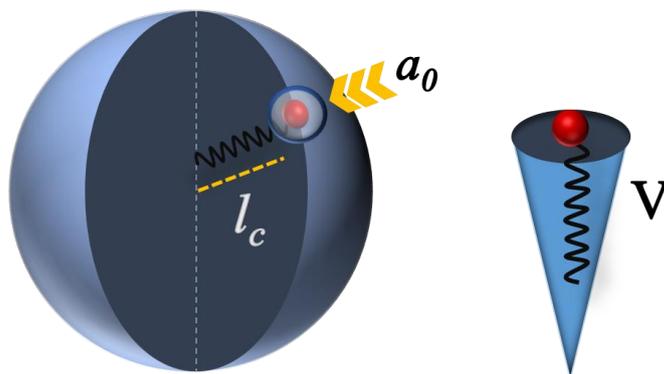


Figura 6. Representación esquemática de los factores que definen el parámetro de empaquetamiento crítico (P_c): volumen (V), longitud máxima de la cola hidrofocarbonada (l_c) y área superficial óptima de la cabeza polar del surfactante (a_0). Adaptado de Ref.¹⁵

Los valores de P_c determinarán el tipo de estructura que se formará en un caso determinado. En la Figura 7, se muestran los distintos sistemas supramoleculares que pueden obtenerse de acuerdo al valor de P_c y la fase dispersante utilizada. Si se utiliza agua como fase dispersante y $P_c < 1/3$, se obtienen micelas esféricas. Para valores entre $1/3 < P_c < 1/2$, se obtienen micelas cilíndricas. Si el valor de $P_c \approx 1$, se forman fases lamelares (bicapas). Por el contrario, para valores de $P_c > 1$ y utilizando como fase dispersante solventes orgánicos no polares, se obtienen MIs.

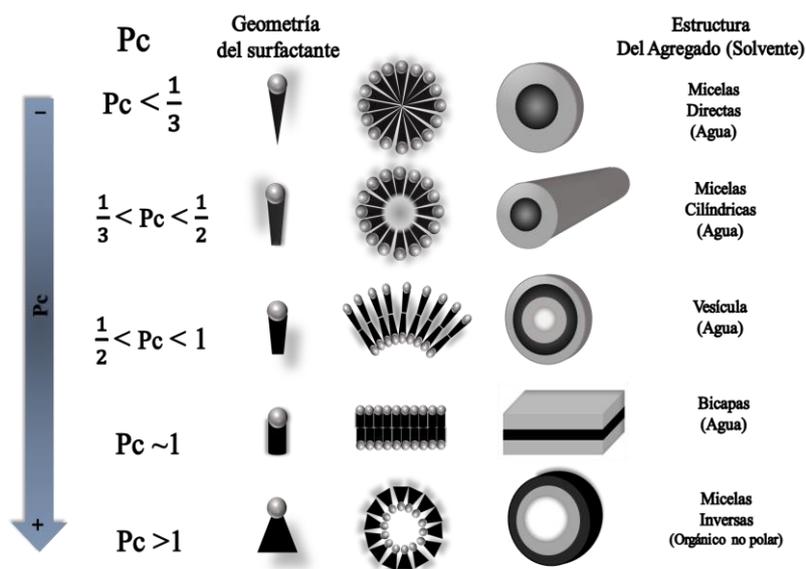


Figura 7. Representación esquemática de la funcionalidad entre el parámetro de empaquetamiento crítico (P_c) y la estructura supramolecular generada según el solvente. Adaptado de Ref.³⁸

Para la formación de MIs, se ha demostrado³⁸ que el tamaño del agregado está relacionado con el P_c y otras variables. Específicamente, se observó una relación inversa entre dicho parámetro y el tamaño micelar.^{39,40} En este sentido, las distintas interacciones que modifican los valores de V , a_0 y l_c , tendrán influencia sobre P_c y, por lo tanto, sobre el tamaño micelar. El área óptima a_0 , es gobernada por interacciones electrostáticas y de hidratación de las cabezas de los surfactantes. Si el número de moléculas de agua que hidratan dichas cabezas aumenta, el valor de a_0 también lo hace, disminuyendo P_c y aumentando el tamaño micelar.^{41,38,42,85} Por otro lado, el volumen (V) de la cadena hidrocarbonada puede verse modificado, entre otras cosas, por la penetración de las moléculas de la fase no-polar externa en la interfaz micelar.^{15,44} Cuando esta resulta favorecida, el parámetro V aumenta, incrementando P_c y disminuyendo el tamaño micelar.⁴⁴

A continuación, se describirán los aspectos generales de micelas inversas (MIs), uno de los sistemas de estudio en este trabajo de tesis.

I.3. Micelas inversas (MIs): Generalidades

La asociación de surfactantes en solventes orgánicos no polares es consecuencia predominantemente de interacciones dipolo-dipolo y de par iónico entre las moléculas anfifílicas. Este proceso es totalmente diferente al que ocurre en la formación de micelas directas en agua, donde el fenómeno de micelización se da a través de las repulsiones electrostáticas junto con interacciones hidrofóbicas. Esto hace que el proceso de agregación de los surfactantes en solventes orgánicos sea más complejo que en agua, y dependa de factores como el tipo de surfactante, la concentración, su estructura molecular, el contraión, la temperatura y las propiedades del solvente en el que se encuentre disperso.^{45-47,48,49} Cuando un surfactante se agrega para formar MIs, su región polar o cabeza polar se ubica en el interior de la estructura mientras que la región no polar o colas hidrocarbonadas se extienden hacia el solvente orgánico no polar, como se muestra en la Figura 8.⁴⁶ El tamaño de las MIs es nanométrico y depende de tres factores: el solvente polar encapsulado,^{41,50} el solvente no polar de la fase externa y el surfactante utilizado.^{44,-17} Según lo descrito anteriormente en una MIs se pueden diferenciar tres regiones con entornos particulares como se muestra en la representación esquemática de la Figura 8. Se puede apreciar una región

polar interna, o también conocida como corazón polar, una interfaz micelar y una fase orgánica no polar externa.^{17,51}

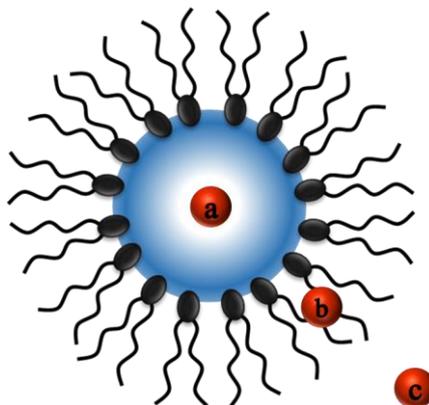


Figura 8. Representación esquemática de una micela inversa. (a) corazón polar, (b) interfaz micelar, (c) fase orgánica no polar externa.

A continuación, se describirán las características más relevantes que presentan estas tres regiones:

I. Corazón polar: Esta región está constituida por moléculas de solventes polares como agua, etilenglicol (EG), propilenglicol (GY), formamida (FA), dimetilformamida (DMF),^{16,52} líquidos iónicos (LIs)⁵³, entre otros. Estos solventes encapsulados presentan propiedades estructurales y dinámicas diferentes a las observadas en el solvente puro.^{16,54,55} Esto es debido no solo al confinamiento ejercido por la estructura supramolecular, sino a la modificación de las distintas interacciones que puede sufrir el solvente encapsulado con su microentorno producto de la presencia de la interfaz micelar. Un caso concreto se presenta en las MIs acuosas. Se conoce que el agua encapsulada difiere del agua pura ya que, presenta movilidad traslacional y rotacional restringida,^{56,57} mayor viscosidad,⁵⁸ estructura de puente de H “rota” y menor constante dieléctrica (De).⁵⁸⁻⁶¹ Además, se asume que las moléculas de agua adoptan dos o más estructuras distintas en el corazón polar, dependiendo del tamaño micelar. El modelo postulado más simple contempla solo dos estructuras diferentes denominadas “agua unida” y “agua libre”.⁶² El “agua unida” corresponde a las moléculas del solvente unidas a las cabezas polares del surfactante, para la cual los efectos del confinamiento son más significativos. Por otro lado, la estructura del “agua libre”, corresponde a las moléculas que se encuentran en la región central del corazón polar, alejadas de la interfaz. En este caso, los efectos del confinamiento son menores y las propiedades del agua son semejantes a las del agua pura.⁶²

II. Interfaz micelar: Esta región está definida por la cabeza polar del surfactante con sus contraiones y las cadenas hidrocarbonadas del surfactante. En esta región se pueden encontrar tanto moléculas de soluto polar confinado, como moléculas de solvente no polar externo. Se caracteriza por ser intrínsecamente no homogénea y sus propiedades le otorgan características únicas a los sistemas micelares. Por ejemplo, la fluidez de la interfaz determina la velocidad de intercambio de los solutos incorporados en el interior de MIs durante las colisiones que sufren estos agregados, este proceso es fundamental si se piensa utilizar dichos sistemas como nanoreactores químicos.^{63,64} Además, esta fluidez depende del empaquetamiento y estructura del surfactante, como de los solventes polares y no polares usados, los cuales juegan un rol importante en las interacciones entre diferentes agregados.

III. Fase orgánica no polar externa: Esta región está constituida por solventes orgánicos no polares. Los mismos pueden ser compuestos alifáticos (*n*-hexano, *n*-octano, *n*-decano, entre otros), o aromáticos (benceno, tolueno, clorobenceno, entre otros).^{44,65} Dependiendo de su naturaleza y del volumen molecular, el solvente externo en algunos casos juega un papel importante en las propiedades del sistema. Un ejemplo concreto sería el benceno, el cual presenta un volumen molar pequeño, que le permite penetrar en la interfaz micelar y tener influencia directa con las propiedades del agregado.^{44,66,67} En los últimos años, dada la alta toxicidad de estos compuestos, se han investigado sistemas organizados no agresivos para el ambiente (biodegradables y no irritantes). Para ello, se usan los denominados solventes orgánicos biocompatibles, como los de origen vegetal y especialmente ésteres derivados de ácidos grasos como lo son el oleato de etilo, linoleato de metilo, miristato de isopropilo y laurato de metilo.^{54,68,69}

Las MIs incorporan cantidades grandes de agua en muchos solventes no polares, como los hidrocarburos,^{4,16} facilitando la solubilización de diferentes solutos polares. El contenido acuoso en MIs se puede variar experimentalmente al cambiar la relación molar de agua a surfactante, el cual se define como W_0 :

$$W_0 = \frac{[H_2O]}{[Surfactante]} \quad (2)$$

donde, $[H_2O]$ y $[Surfactante]$ son las concentraciones molares del agua y el surfactante respectivamente. Cuando el solvente polar es distinto de agua, el parámetro W_0 se denomina

W_s , y la relación molar para ese solvente específico se expresa como [Solvente polar]/[Surfactante]. El tamaño de las MIs le otorga a estos agregados diferentes propiedades, a su vez éste controla factores como la concentración de los reactivos y la ubicación de solutos dentro de las MIs, otorgándoles así propiedades de gran interés en diferentes campos de la ciencia.^{4,37,47,55,57,63,64}

Las MIs han sido caracterizadas por diferentes técnicas. Para la caracterización de su tamaño y morfología se han utilizado dispersión de luz estática (SLS) y dinámica (DLS),^{72,73} dispersión de rayos-X a bajo ángulo (SAXS) y dispersión de neutrones a bajo ángulo (SANS).^{72,73,74,75} Para los estudios del comportamiento de solutos confinados y de descripción de la interfaz micelar, las técnicas más utilizadas son: espectroscopía de absorción y emisión en estado estacionario y resulta en el tiempo, conductimetría, espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) y resonancia magnética nuclear (NMR). Otras técnicas utilizadas que complementan el estudio de los sistemas organizados son las técnicas de simulación computacional,^{76,67} las espectroscopías vibracionales resueltas en el tiempo^{77,78} y las técnicas electroquímicas.^{79,80} Las MIs han sido aplicadas en muchos campos de la ciencia, como por ejemplo en biomedicina para estudiar la liberación controlada de medicamentos, en catálisis química, debido a su propiedades interfaciales provocan cambios en los mecanismos de reacción⁸¹⁻⁸³ y además son utilizados con frecuencia como nanoreactores para la síntesis de nanoestructuras y nuevos materiales.^{17,16,46,84,85}

I.3.1. Micelas inversas de AOT: Antecedentes

Las MIs de AOT han sido ampliamente estudiadas en los últimos años^{16,17,50,60,69,74,75,86-89} Se ha demostrado que las mismas son capaces de solubilizar grandes cantidades de agua, dependiendo del solvente no polar, la temperatura, etc. Un ejemplo de esto son las MIs de AOT en benceno las cuales alcanzan $W_0=12$,¹⁷ mientras que en heptano estas mismas llegan a W_0 cercano a 60.⁹⁰

Estos sistemas se han caracterizado por diversas técnicas instrumentales. Se ha determinado su tamaño y morfología principalmente utilizando dispersión de luz estática (SLS) y dinámica (DLS),^{72,73} dispersión de rayos-X a bajo ángulo (SAXS) y dispersión de

neutrones a bajo ángulo (SANS).^{72,73} Se ha demostrado que estos agregados son relativamente monodispersos en solución y presentan una morfología esférica en bajas concentraciones de surfactante en muchos solventes orgánicos.^{72,73} Otras técnicas utilizadas para la caracterización incluyen espectroscopía UV-visible,⁹¹⁻⁹⁴ espectroscopía de fluorescencia,^{50,92,95,96} espectroscopía infrarroja,^{60,97} resonancia magnética nuclear,^{44,60,97,98} y técnicas electroquímicas,⁷⁹ entre otras. Dado el uso de estos sistemas para ser utilizados como nanoreactores, las propiedades del agua confinada en estos agregados han sido ampliamente estudiadas, generando debate acerca de la estructura del agua en el interior de las MIs, ya que el agua encapsulada podría adoptar dos o más estructuras diferentes.¹⁷ Además se demostró que estas propiedades venían asociadas al tamaño de las MIs, ya que MIs pequeñas tenían un ambiente más rígido, mientras que sistemas más grandes tenían propiedades más fluidas cercanas al agua pura.

A pesar de ello, aún no existe una caracterización experimental directa de la estructura molecular del agua interfacial.⁶² Otros autores⁹⁹ han propuesto que el agua en el interior presenta una estructura uniforme que sólo es afectada por la concentración general de iones y no por efectos del microentorno donde se encuentre. En cualquiera de los casos, las características del agua encapsulada en las MIs depende de los valores de W_0 y de los grupos polares de la cabeza del surfactante.^{59,60,100-103} Cuando el contenido acuoso es bajo, todas las moléculas de agua interaccionan con las cabezas polares del surfactante y sus contraiones, en estas condiciones se dice que no es posible precisar una laguna acuosa con límites definidos.^{59,60,100-103}

En el caso de las MIs de AOT, se ha demostrado que el agua confinada se encuentra altamente estructurada hasta $W_0=10$, es decir que las moléculas de agua se encuentran interaccionando con los grupos polares y contraiones del surfactante. A medida que se aumenta el contenido acuoso se empieza a generar agua “libre”. En situaciones intermedias, es decir entre $10 < W_0 < 20$, tendremos tanto agua “unida” como “libre”. Por último, cuando el contenido acuoso presenta $W_0 > 20$, el agua “libre” es la que predomina.^{59,60,100-103} Sin embargo, aún a W_0 mayores, el agua encapsulada nunca iguala las propiedades del agua pura.^{104,105} Todas estas propiedades hacen que las MIs de AOT sean un sistema que ofrece diferentes ventajas dependiendo del grado de hidratación.

En particular, es interesante conocer qué sucede con la concentración de H^+ en el interior micelar. Se han realizado estudios del comportamiento espectroscópico de diferentes fenoles (2-acetilfenol, 4-acetilfenol, y p-nitrofenol) en MIs de agua/AOT/heptano a diferentes valores de W_0 , en condiciones neutras y básicas.¹⁰⁶ Los resultados muestran que la especie más estable es la forma no ionizada de los fenoles. Esto probablemente se deba a la fuerte interacción de puente de hidrógeno del AOT con los fenoles, ya que indistintamente de la $[H^+]$ en el medio acuoso, la especie presente es la no ionizada.¹⁰⁶ Este trabajo y otras evidencias¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ han demostrado que la definición clásica de pH difícilmente se puede aplicar en MIs de AOT. Por todo lo anterior, las MIs de AOT ofrecen ambientes únicos, por lo que han sido ampliamente usadas en catálisis química, enzimología micelar, síntesis de nanoestructuras, entre otras.¹¹⁰⁻¹¹²

A continuación, se describirán aspectos fundamentales como son, el modelo general de las pseudofases, solubilización y localización de solutos en MIs, los cuales permitirán una mejor comprensión de los resultados.

I.3.2. Modelo de las pseudofases

En los sistemas microheterogéneos un soluto puede estar localizado en diferentes microentornos dificultando, en algunas ocasiones la interpretación de su comportamiento. La aproximación más sencilla para estudiar la localización de una molécula es considerar al sistema formado únicamente por dos fases. El solvente no polar circundante y el microagregado. Esta sencilla aproximación es denominada con el nombre de modelo de las dos pseudofases.¹⁷ Así, el soluto puede estar localizado en dos sitios posibles: el solvente orgánico externo y/o el sistema micelar, tal como se muestra en la Figura 9, caso A.^{113,114}

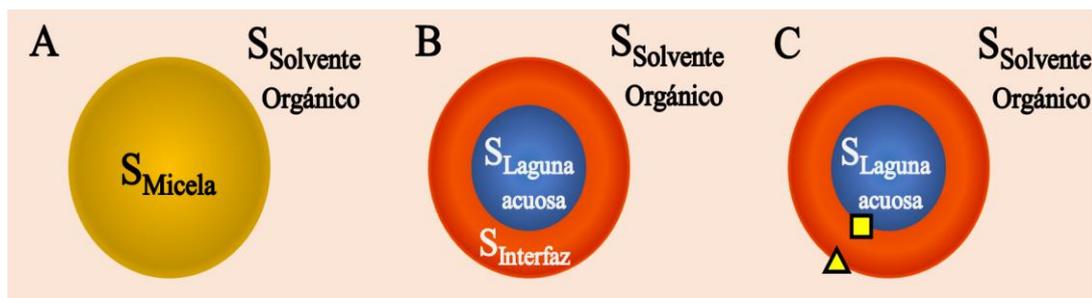


Figura 9. Modelos de pseudofases para la asociación de solutos en MIs: (A) modelo de dos pseudofases, (B) modelo de tres pseudofases, (C) modelo de cuatro pseudofases. En este último, el soluto puede estar en la fase orgánica, en la laguna acuosa, en el lado externo (\blacktriangle) o interno (\blacksquare) de la interfaz. Adaptado de Ref.¹⁷

El modelo considera que las propiedades de los sistemas micelares son independientes de la concentración de surfactante empleada y sólo dependen del parámetro W_0 . Consideraciones energéticas simples permiten concluir que solutos pequeños, muy polares, podrían estar preferentemente asociados al interior micelar; mientras que solutos menos polares o anfipáticos podrían estar principalmente localizados en la interfaz como se muestra en la Figura 9, caso B. Sin embargo, debe tenerse presente que la distinción entre interfaz e interior micelar es meramente arbitraria y los solutos solubilizados pueden estar distribuidos sobre todo el volumen intercambiando continuamente sus posiciones.^{113,114} En presencia de diferentes tipos de agua (agua “unida” y/o agua “libre”), el modelo puede extenderse y considerar hasta cuatro diferentes localizaciones como lo muestra la Figura 9, caso C: la fase externa neta, la interfaz fase externa neta/MIs, el interior de la interfaz micelar y el corazón polar.

I.3.3. Solubilización y localización de solutos en MIs

El uso de moléculas pruebas (solutos) para caracterizar el microentorno de los sistemas organizados, es de gran utilidad para la comprensión de los fenómenos que ocurren dentro de estos sistemas.^{31,106,115,116} En las micelas el uso de moléculas pruebas puede dar información muy valiosa en cuanto a flexibilidad, capacidad donora y aceptora de puente de H, propiedades relacionadas a su hidratación, entre otras.⁶⁶ La determinación de la localización exacta de un soluto en MIs es muy importante para poder explicar sus propiedades y las del entorno que lo rodea. Estas propiedades dependen del medio que lo rodea,¹⁷ por lo que la polaridad monitoreada por el mismo depende del sitio donde éste se solubiliza.

A continuación, en la Figura 10 se muestra de manera esquemática las posibles localizaciones de solutos en MIs.

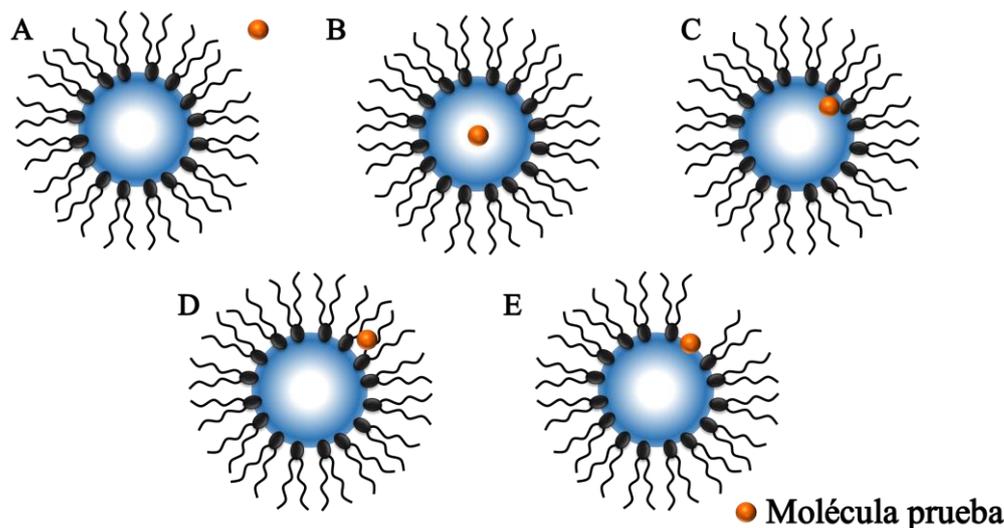


Figura 10. Representación esquemática de posibles sitios de solubilización de solutos en MIs. Adaptado de Ref.¹¹⁷

Para moléculas únicamente solubles en el solvente no polar externo (caso A), el soluto se mantendrá en la fase dispersante y por lo tanto, no afectará la estructura de las MIs. Las propiedades físicas y químicas del soluto medidas en el sistema micelar, deberían ser similares a las encontradas en soluciones homogéneas.¹¹⁸ Para moléculas localizadas en el corazón polar (caso B), se espera que las propiedades físicas y químicas sean similares a las obtenidas en el solvente polar, aunque no exactamente iguales. Para moléculas ubicadas cerca de la interfaz del lado del solvente polar (caso C), se espera que el soluto pueda monitorear propiedades de la interfaz micelar. Las propiedades de dicha zona (polaridad, viscosidad, entre otras) son particularmente interesantes de estudiar. Aquellas moléculas localizadas en la parte externa de la interfaz micelar (caso D), pueden monitorear propiedades de la interfaz micelar diferentes a la del caso C, ya que la mismas se encuentra del lado del solvente no polar interactuando con las cabezas polares o las colas hidrocarbonadas de los surfactantes.¹¹⁸ Finalmente, los solutos que conforman parte de la interfaz (caso E) actúan como cosurfactantes pudiendo ocasionar, en algunas circunstancias, un aumento en σ_0 modificando además las propiedades interfaciales.^{118,119}

I.4. Vesículas: Generalidades

Otro tipo de sistema organizado estudiado en la presente tesis son las vesículas. Las vesículas son sistemas formados por el autoensamblado de moléculas anfifílicas, como por ejemplo, fosfolípidos o surfactantes sintéticos. Cuando moléculas anfifílicas son disueltas en agua, forman espontáneamente una bicapa, la cual queda completamente cerrada al suministrar energía al sistema.¹²⁰ Esto da origen a un sistema esférico, cerrado y selectivamente permeable, que atrapa parte del solvente en el que se encuentran disperso a través de una bicapa, donde la región polar (cabezas polares) se orienta hacia la región acuosa del sistema, mientras que los fragmentos no polares (cola o cadena hidrocarbonada) se orientan hacia el interior de la bicapa, debido a interacciones no específicas de los surfactantes (Figura 11).

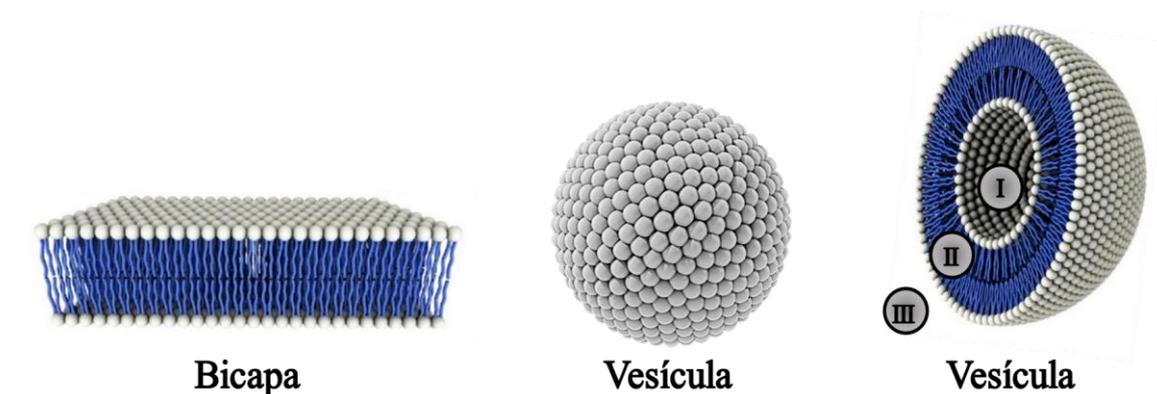


Figura 11. Representación esquemática de una bicapa, vesícula esférica y corte transversal de una vesícula donde; I) región interna acuosa, II) interfaz (bicapa), III) región externa acuosa.

Las vesículas se pueden clasificar según su estructura o tamaño. Según su estructura estas se clasifican en unilamelares (una única bicapa) o multilamelares (múltiples bicapas), y según su tamaño se clasifican de la siguiente manera:

Vesículas grandes multilamelares (VGM): Sus tamaños oscilan entre 100 y 1000 nm, generalmente formadas por cinco o más bicapas concéntricas.¹²⁰

Vesículas pequeñas multilamelares (VPM): Sus tamaños oscilan entre 50 y 250 nm. Se encuentran en el límite de menor tamaño posible. Este límite varía con la fuerza iónica del medio y con la composición del surfactante. La distribución del surfactante en estos sistemas organizados es de 1/3 en la parte interna y 2/3 en la monocapa externa por razones geométricas.¹²⁰

Vesículas grandes unilamelares (VGU): Presentan tamaños comprendidos entre los 50 y 500 nm. La distribución del surfactante es equitativa, por lo tanto la mitad de las moléculas se distribuyen en cada monocapa.¹²⁰

Vesículas pequeñas unilamelares (VPU): Su tamaño es establecido como el menor posible, según lo permita la naturaleza del surfactante y del medio donde se formen.

Vesículas Oligovesiculares (OVV): Son estructuras que presentan un grupo de vesículas pequeñas incorporadas en una vesícula más grande.¹²⁰

En la Figura 12 se muestra de manera esquemática su clasificación según su estructura y tamaño. Las mismas pueden modificarse aplicando cambios de temperatura y presión al sistema, además de usar fuerzas mecánicas, eléctricas y magnéticas.¹²¹

Las propiedades fisicoquímicas que poseen las vesículas dependen del tamaño, la geometría y la flexibilidad que les otorga el medio en el que se encuentren dispersas. Dentro de estas propiedades se destacan la actividad osmótica, la permeabilidad de la membrana y la solubilidad e interacciones con solutos lipofílicos.¹²¹

La importancia de estudiar estos sistemas radica en su similitud con sistemas biológicos. Las vesículas han sido utilizadas para determinar propiedades celulares como las mencionadas anteriormente, dado que son sistemas estructuralmente sencillos, lo cual permite su aplicación en diferentes campos de la ciencia.¹²⁰⁻¹²²

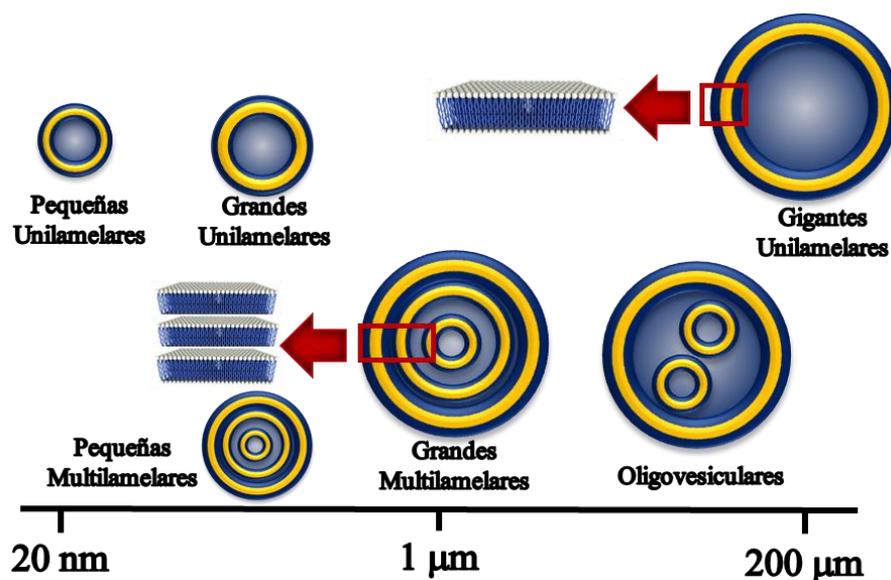


Figura 12. Clasificación de las vesículas según su estructura y tamaño. Adaptado de la referencia.¹²⁰

Los surfactantes catiónicos (surfactantes sintéticos), los cuales fueron descritos previamente, presentan una serie de propiedades muy interesantes para futuras aplicaciones, una de esas propiedades es la formación de vesículas denominadas vesículas catiónicas. A continuación, se describen algunos antecedentes referidos a estudios realizados en este tipo de sistemas.

I.4.1. Vesículas catiónicas: Generalidades

En los últimos años se ha estudiado la formación de vesículas catiónicas en medio acuoso.^{120,123} La gran mayoría de ellas son multilamelares y son estables en largos periodos de tiempo.^{123,124,125,126,127} La formación de vesículas catiónicas de manera espontánea puede ocurrir a partir de mezclas catiónicas de surfactantes o surfactantes catiónicos, lo cual ofrece una ventaja respecto a la formación de vesículas constituidas por fosfolípidos donde se requiere suministrar energía al sistema.¹²⁰ En las vesículas catiónicas la formación se da a través de la interacción electrostática entre las cabezas polares con carga opuesta.²¹ Esta interacción lleva a una reducción efectiva del área de la cabeza polar y le confiere una alta actividad superficial al par iónico formado por los surfactantes de carga opuesta.^{21,126} Como se muestra en la Figura 13, el surfactante catiónico formado, tiende a comportarse como una molécula anfifílica de dos colas, que favorece la formación de bicapas y por consiguiente la formación de vesículas en soluciones acuosas diluidas.¹²⁶

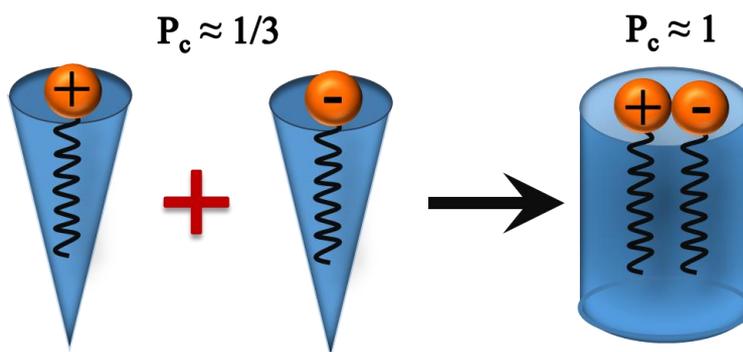


Figura 13. Representación esquemática del cambio en la geometría molecular en la formación de surfactantes catiónicos. Adaptado de la referencia.¹²⁷

La caracterización de estos sistemas, es importante porque sus propiedades se pueden modificar en tamaño, composición química, medio, etc, lo cual amplía el intervalo de aplicación de los mismos.^{31,116,128,129, 130} Un ejemplo de ellos es la aplicación de vesículas catiónicas en la liberación controlada de fármacos y nutrientes, por lo que la correcta caracterización de las mismas, es muy importante.

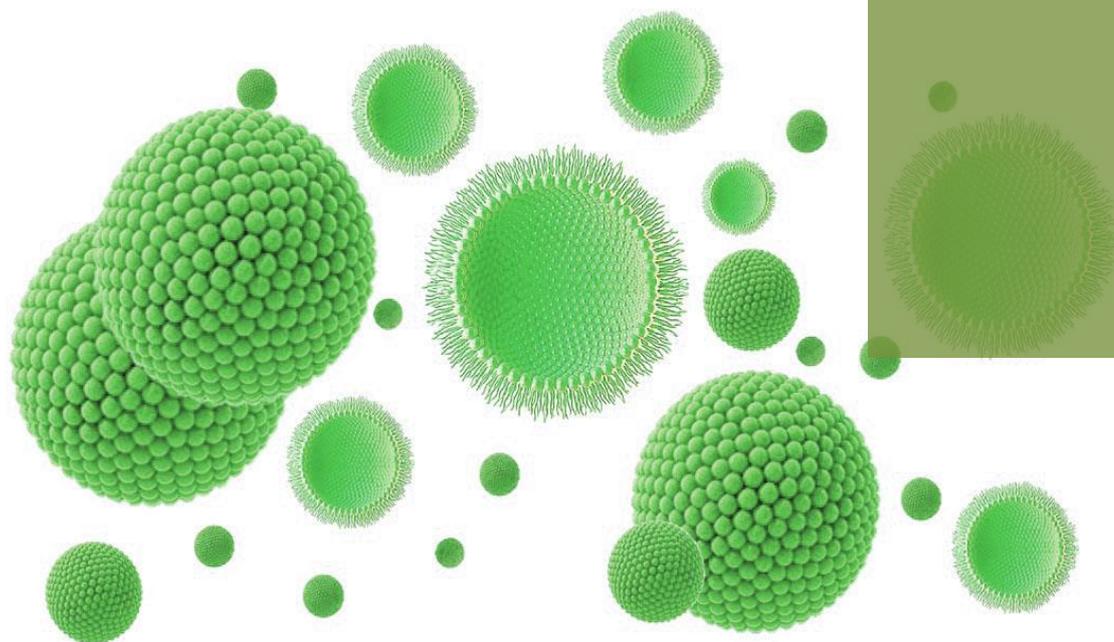
En nuestro grupo de investigación, se han realizado estudios con vesículas catiónicas formadas usando el surfactante catiónico BHD-AOT (Figura 5). Las mismas son unilamelares y se forman espontáneamente sin aplicar energía al sistema, como lo requieren otros sistemas tradicionales.³¹ Las propiedades de la bicapa de las vesículas de BHD-AOT se investigaron por espectroscopía de emisión utilizando como moléculas pruebas el Ioduro de trans-4-[4-(dimetilamino)-etil]-1-metilpiridinio (HC) y el 6-propionil-2-(N, N dimetil) aminonaftaleno (PRODAN). Además, el sistema formado se comparó con las vesículas tradicionales hechas con fosfolípidos.

Los resultados por espectroscopia de emisión utilizando la molécula prueba HC, mostraron que HC detecta un ambiente ligeramente más viscoso en BHD-AOT que en las vesículas de 1,2-di-oleoil-*sn*-glicerol-3-fosfatidilcolina (DOPC). Esto posiblemente se deba a que la bicapa compuesta por ambos grupos anfifílicos, el AOT y el BHDC, hacen que la bicapa sea más rígida. Esta rigidez puede sugerir que la penetración de agua en la bicapa de BHD-AOT es menor. Además, HC detecta un ambiente menos polar y más dador de electrones que en las vesículas DOPC. Por otro lado, los estudios de espectroscopía usando PRODAN muestran que, el mismo está ubicado en una región de la bicapa donde existe una única especie. Por el contrario, en la vesícula DOPC, PRODAN experimenta un proceso de

partición, probablemente porque la bicapa es más fluida. Estos resultados sugieren que las vesículas de BHD-AOT, presentan una bicapa completamente diferente a las DOPC, con baja polaridad, alta viscosidad y mayor capacidad de donar de electrones. Estas propiedades le confieren a las vesículas de BHD-AOT, la posibilidad de ser usadas como nanotransportadores en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria ya que, permiten la incorporación tanto de moléculas iónicas como no iónicas.^{31,116,125}

CAPÍTULO II

Fundamentos Teóricos y Técnicas utilizadas



CAPÍTULO II:**II. Fundamentos teóricos y técnicas utilizadas**

En este capítulo, se explican los fundamentos teóricos generales de las técnicas experimentales utilizadas en esta tesis. Se utilizaron técnicas espectroscópicas (espectroscopía de absorción y emisión), dispersión de luz (DLS) y técnicas electroquímicas como: voltametría de onda cuadrada (VOC), voltametría cíclica (CV) y voltametría lineal (VL). Se mostrarán, además, los antecedentes referidos al uso de las técnicas electroquímicas en el estudio de sistemas organizados.

II.1. Dispersión dinámica de luz (Dynamic Light Scattering-DLS)

Esta técnica está basada en la dispersión de luz y puede ser utilizada para la caracterización fisicoquímica de los diferentes sistemas organizados estudiados (micelas inversas y vesículas). Esta técnica determina propiedades tales como: radio de giro, radio hidrodinámico (que es el radio de una esfera rígida que difunde con la misma velocidad que la partícula en estudio), el coeficiente de difusión, etc. El equipo monitorea la intensidad de luz difractada de una muestra en el tiempo (del orden de los microsegundos), de forma tal que permita asociar los cambios de difracción con el movimiento browniano del soluto (dispersión dinámica de luz) y por consiguiente de su coeficiente de difusión (D), a su vez relacionado con el tamaño y forma de las partículas en solución. El valor D puede ser calculado empleando una función de autocorrelación $G(\tau)$, que es la transformada de Fourier del espectro de energía de la luz dispersada (ecuación 3).^{131,132}

$$G(\tau) = [I(t) \times I(t + \tau)] \quad (3)$$

donde, $I(t)$ es la intensidad de luz dispersada en el tiempo t y τ_p el tiempo de espera entre dos lecturas consecutivas que normalmente es de pocos microsegundos. El coeficiente de difusión translacional está relacionado con $G(\tau)$ mediante la ecuación (4):

$$G(\tau) = Y(1 + We^{-2q^2D\tau_p}) \quad (4)$$

donde, Y corresponde al cuadrado de la media de la intensidad de la luz dispersada, W es el término empírico relacionado con el instrumental, q el vector de onda, determinado por la ecuación (5):

$$q = \frac{4\pi\eta}{\lambda} \text{sen} \frac{\theta}{2} \quad (5)$$

donde, η es el índice de refracción de la solución y θ , el ángulo de observación de la luz dispersada. Para determinar D de la ecuación (6) es necesario calcular la constante de decaimiento exponencial.

$$D = \frac{1}{2q^2\tau_p} \quad (6)$$

Finalmente, el radio hidrodinámico, R_H , de las partículas en solución puede ser calculado reemplazando el coeficiente de difusión, D , en la ecuación de Stokes-Einstein (ecuación 7) suponiendo que las partículas que dispersan la luz son esféricas. Donde k_B es la constante de Boltzman, T es la temperatura en grados Kelvin (K), η es la viscosidad del solvente.^{131,132}

$$R_H = \frac{k_B T}{6\eta\pi D} \quad (7)$$

II.2. Espectroscopía de absorción y de emisión

Los procesos donde ocurre absorción y emisión de luz por parte de una molécula pueden ser ilustrados mediante un diagrama de Jablonski.^{133,134} En la Figura 14 se muestra el diagrama típico del mismo, donde se observan los estados electrónicos S_0 , S_1 y S_2 para los singlete y T_1 , para el triplete. A temperatura ambiente, la energía térmica no es suficiente para poblar significativamente los estados vibracionales superiores del estado fundamental, por lo tanto, la absorción generalmente ocurre desde los niveles con energía vibracional más baja. Normalmente las moléculas son excitadas desde el estado electrónico S_0 a algún nivel rotacional de un estado vibracional de un estado electrónico singlete superior (S_1 , S_2) en un tiempo de 10^{-15} s. Esto es mucho más rápido que el reordenamiento de los núcleos, es decir, cumple con el principio de Franck-Condon, donde la transición electrónica más probable, es

aquella que no presenta cambios en la posición de los núcleos de la entidad molecular y de sus alrededores.¹³⁴

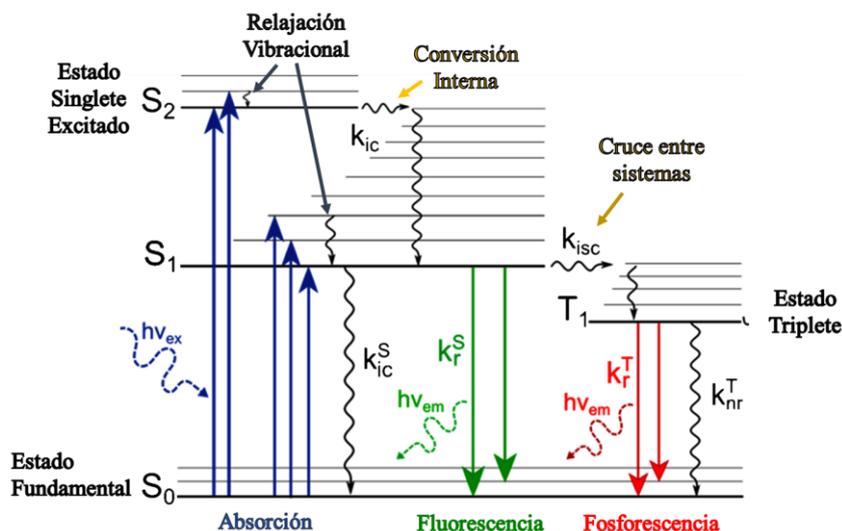


Figura 14. Diagrama de Jablonski.

Luego, las mismas relajan al nivel vibracional más bajo de S_1 . Este proceso que es no radiativo (no emite luz y la energía se pierde como calor) es llamado *conversión interna* y generalmente ocurre en 10^{-12} s o menos. Debido a que el tiempo en que la mayoría de las moléculas permanece en estado excitado es cercano a 10^{-8} s, la conversión interna se completa generalmente previa a la emisión.^{133,134} Por lo tanto, la emisión de fluorescencia generalmente proviene desde un estado excitado equilibrado térmicamente, es decir, del estado vibracional de energía más baja de S_1 . El retorno al estado fundamental típicamente ocurre hacia un nivel vibracional de energía superior de dicho estado, luego rápidamente (10^{-12} s) se alcanza el equilibrio térmico. Una consecuencia interesante de la emisión a altos niveles vibracionales del estado fundamental, es que el espectro de emisión es generalmente la imagen especular del espectro de absorción de la transición $S_0 \rightarrow S_1$.^{133,134} Además de emitir radiación, las moléculas en el estado S_1 pueden cambiar de spin electrónico al primer estado triplete T_1 , a través de un proceso conocido con el nombre de cruce de sistemas. El fluoróforo pasa al nivel vibracional más alto del T_1 y posteriormente ocurre la conversión interna, conduciendo al fluoróforo al nivel vibracional más bajo del T_1 . Desde T_1 se observa emisión de luz a través de un proceso poco probable de ocurrir en solución, llamado fosforescencia. La transición de T_1 a S_0 es prohibida por spin y como resultado, las constantes de velocidad para la emisión del triplete son varios órdenes de magnitud más pequeñas que para aquellas de fluorescencia.^{133,134}

II.3. Técnicas electroquímicas

II.3.1. Fundamento teórico

Las técnicas electroquímicas, son aquellas referidas al estudio fisicoquímico de sistemas donde la base de los procesos son reacciones de óxido-reducción (redox). Estos procesos se pueden dar de manera espontánea (celdas galvánicas) o aplicando una perturbación, ya sea de corriente o potencial al sistema (celdas electrolíticas). En las celdas electrolíticas la principal característica es que por la interfaz fluye una corriente eléctrica producida ya sea por iones (aniones o cationes) o electrones al aplicar un potencial, estas transformaciones físicas y químicas, se dan entre una fase líquida (solución redox) y otra fase la cual es un metal o un semiconductor. A la interfaz entre el metal/solución se le llama electrodo. Esta transferencia de electrones puede ser: homogénea, entre las sustancias disueltas en el seno de la fase líquida, o heterogénea, entre la interfaz electrodo solución.

Las celdas electrolíticas están constituidas al menos por dos electrodos, un cátodo donde ocurre la reducción y un ánodo donde se generan los procesos de oxidación. Para el tipo de celdas utilizadas para medidas electroquímicas se utilizan en general tres electrodos. Un electrodo de trabajo, el cual generalmente es de un material inerte (Pt, Pd, Au o Carbono vítreo o grafito), y en el cual ocurren los fenómenos electroquímicos de interés. Un contra electrodo, en el cual sucede la reacción opuesta a la que ocurre en el electrodo de trabajo, y el cual no controla los fenómenos de interés, ya que este se polariza poco debido a que su área debe ser 200 veces mayor que la del electrodo de trabajo. Y un electrodo de referencia, el cual asegura que cualquier perturbación o medida de potencial que se realice en el electrodo de trabajo, este basado en un potencial estable y conocido. En el caso de las celdas electrolíticas, se debe tener en cuenta el potencial de la celda y el potencial de transformación de las especies.¹³⁵

En la Figura 15, se ilustra un sistema electroquímico, con sus respectivas variables, por lo general, estos sistemas están acoplados a una fuente de potencial eléctrico, el cual aplica una perturbación necesaria para la transformación de las especies. Este sistema también cuenta con un lector de corriente (microamperímetro), el cual recolecta la señal cuantificable. Además de electrodos mencionados anteriormente, están sumergidos en una

solución que contiene la sustancia a analizar, y un electrolito soporte, el cual es una sustancia inerte que controla los fenómenos de migración.



Figura 15. Sistema electroquímico y variables A) fuente de Potencial; B) microamperímetro; C) electrodos; D) solución electrolítica.

Un sistema electroquímico se puede representar, mediante una reacción de oxidación, como se muestra en la ecuación (8), donde R es la especie reducida y O la especie oxidada.



De acuerdo a la ley de *Faraday* se establece que la cantidad de materia transformada en un proceso redox, es directamente proporcional a la cantidad de electrones intercambiados en el proceso según lo describe la ecuación (9).¹³⁵



Esto permite determinar el número de moles de sustrato transformado por unidad de carga eléctrica. Donde a , b y n_r representan los coeficientes estequiométricos del sustrato, producto y número de electrones respectivamente, los cuales están comprometidos en la reacción de oxidación.

Para determinar el número de electrones comprometidos en la reacción se realiza, el cociente entre el número de electrones necesarios para la reacción y el coeficiente estequiométrico del sustrato, como se muestra en la ecuación (10).

$$n = \frac{n_r}{a} \quad (10)$$

donde, n es el número de moles de electrones por mol de sustrato. Si se multiplica n electrones mol⁻¹ por N mol de sustrato, se obtiene:

$$n \times N = \left[\frac{\text{electrones}}{\text{mol}} \times \text{mol} \right] = \text{electrones} \quad (11)$$

Como la carga asociada con 1 mol de electrones es una constante, se tiene:

$$1 \text{ Faraday } (F) = N_A \cdot e = 96484.6 \text{ Coulombios} \quad (12)$$

donde, N_A = número de Avogadro; e , la carga del electrón = 1.602×10^{-19} coulombios

Luego:

$$Q = n \cdot F \cdot N = n N 96484.6 C \quad (13)$$

Esta expresión es conocida como Ley de *Faraday*, donde Q está expresada en coulombios. Otra manera de obtenerla es a través de la integral de la corriente en función del tiempo según la ecuación (14).¹³⁵

$$Q = \int_0^t i dt. \quad (14)$$

Ley de Nernst

Esta ley determina los valores del potencial del electrodo, en el cual ocurre la reacción electroquímica en función de la concentración de las especies oxidadas y reducidas en el

equilibrio. Suponiendo el equilibrio redox (ecuación (8)), donde R es la especie reducida y O la especie oxidada, se establece según *Nernst*, lo siguiente:

$$E = E_f^0 - \frac{RT}{nF} \ln C_O/C_R \quad (15)$$

donde, E_f^0 es el potencial formal de la cupla, n es el número de electrones intercambiados por la cupla. C_O y C_R , son las concentraciones de las especies oxidadas y reducidas. A 25°C, $RT/F = 0.02569$ Voltios. Si la ecuación (15) se expresa en logaritmo decimal $2.303 RT/F = 0.0591$ V. Donde E_f^0 , se describe según la ecuación:

$$E_f^0 = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \gamma_O^0/\gamma_R^0 \quad (16)$$

donde, (γ_O^0/γ_R^0) es el cociente de los coeficientes de actividad (γ) de las especies oxidadas y reducidas. Teniendo presente que esta descripción hace referencia a fenómenos de superficie, las concentraciones referidas en la ecuación (15), son las de la superficie del electrodo. Para que se cumpla lo anterior, la cinética de transferencia de carga del electrodo debe ser tan rápida que haga de la transferencia de masa el factor limitante de la reacción.

II.3.1.1. Variables del electrodo

Como se mencionó en la Sección (II.3.1), la transferencia de electrones se da en la interfaz electrodo-solución, la cual relaciona directamente fenómenos faradaicos, capacitivos y resistivos, los cuales están presentes en el proceso, por lo que el material, el área y la geometría del electrodo son variables a tener en consideración.

II.3.1.2. Variables de transporte de masa

Modos de transferencia de masa

Los modos de transferencia de masa son diferentes procesos generales por los cuales, la especie electroactiva llega a la superficie del electrodo, los modos más comunes son:

Difusión: Movimiento de la especie (cargada o neutra) bajo la influencia de un gradiente de concentración, este fenómeno es descrito mediante las leyes de *Fick*.

Migración: Movimiento de partículas cargadas bajo la influencia de un campo eléctrico (o bien un gradiente de potencial eléctrico).

Convección: Es el transporte hidrodinámico producido por el movimiento de la solución por convección natural, causada por el gradiente de densidad.

Convección forzada: Es el transporte hidrodinámico producido por el movimiento de la solución por agitación, por ejemplo: con electrodo de disco rotatorio.

Dado que, la transferencia de masa se puede llevar a cabo de manera conjunta por todos los métodos, implica que la solución matemática de la misma sea muy compleja al involucrar todos los tipos de transporte, por lo tanto, se busca siempre eliminar o minimizar las contribuciones por migración y convección, dejando solo la contribución en términos de la difusión. De esta manera, la migración del analito se minimiza adicionando a la solución un exceso de electrolito inerte (cerca de 100 veces más concentrado que el analito, llamado electrolito soporte). Dicho electrolito, al aplicar un campo eléctrico tendrá una migración tal, que hará despreciable la migración del analito. Por otra parte, el transporte por convección puede ser minimizado realizando medidas exentas de agitación. En el caso de convección natural, se procura realizar los experimentos en tiempos cortos evitando la formación de gradientes de densidades.¹³⁵

Leyes de difusión:

Cuando un sistema termodinámico origina el movimiento de partículas a través de un gradiente de concentraciones (difusión), produce un flujo desde una concentración elevada hacia concentraciones bajas, con el fin de lograr una situación de equilibrio de concentración constante. La descripción matemática de la transferencia de masa se da a través de las leyes de *Fick*, las cuales se aplican a procesos electroquímicos, que ocurren en la interfaz electrodo/solución.

Primera ley de Fick:

Como se muestra en la Figura 16, el electrodo representa una superficie plana y uniforme, donde se toma una coordenada (x), la cual representa la distancia entre el electrodo y la solución. Suponiendo que $x=0$, representa la superficie del electrodo y $x=\infty$, el seno de la solución. Si se supone que hay un gradiente de concentración donde el seno de la solución hacia la superficie del electrodo ($x=0$). La primera ley de *Fick* establece que el flujo $J_R(x,t)$ es proporcional al gradiente de concentración de la especie en consideración.

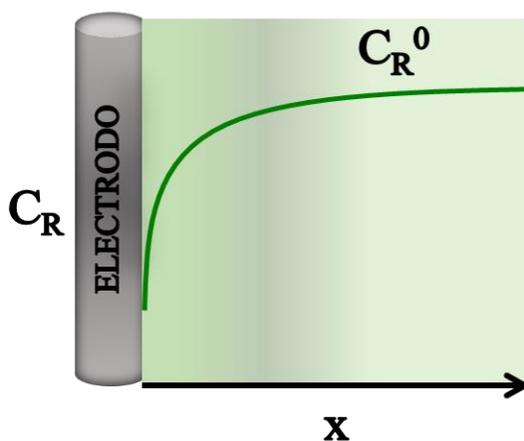


Figura 16. Perfil de concentración de una especie en las proximidades de un electrodo.

donde, C_R es la concentración de una especie en estado reducido sobre la superficie del electrodo, C_R^0 la concentración respectiva en el seno de la solución, (x) la distancia al electrodo y la línea representa valores arbitrarios de la concentración, de la especie respecto a la distancia del electrodo y el tiempo. La primera ley de *Fick* establece que el flujo $J_R(x,t)$, es proporcional al gradiente de concentración de la especie en consideración, como se describe a continuación:

$$J_R(x,t) = -D_R \frac{\partial C_R(x,t)}{\partial x} \quad (17)$$

donde $\partial C_R(x,t)/\partial x$ es el gradiente de concentración de la especie a la distancia x y al tiempo t , D_R es el coeficiente de difusión en $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ cuyo significado más próximo es el de una velocidad específica. El signo menos, nos dice que el flujo es opuesto al gradiente.⁴¹

Segunda ley de Fick

La segunda ley de *Fick* relaciona los cambios de concentración con el tiempo y los cambios del flujo con la distancia. La Figura 17 muestra los cambios de los perfiles de C_R a diferentes tiempos (t_i), con la distancia al electrodo.

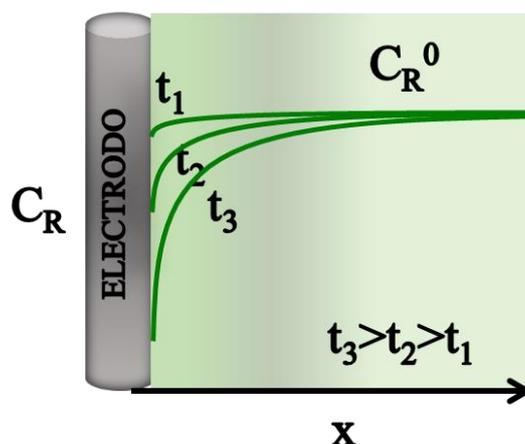


Figura 17. Perfil de concentración de una especie en las proximidades de un electrodo en función del tiempo.

donde, C_R es la concentración de una especie en estado reducido, (x) la distancia al electrodo y las líneas representan valores arbitrarios de la concentración de la especie a diferentes tiempos respecto de la distancia al electrodo.

$$\frac{\partial C_R(x,t)}{\partial t} = D_R \frac{\partial^2 C_R(x,t)}{\partial x^2} \quad (18)$$

La solución de las ecuaciones (17) y (18), bajo las condiciones experimentales que operan en la celda electroquímica, permite conocer cómo son las concentraciones de la especies electroactivas en las proximidades del electrodo a un tiempo determinado ($C_R(x,t) = f(x,t)$).

La descripción matemática de la concentración de las especies en función de la distancia al electrodo a un tiempo determinado, permite determinar otros aspectos cuantitativos del sistema como: el potencial del electrodo, (puesto que éste está dado en función de la concentración de las especies en equilibrio) y los valores de corriente (siendo ésta de acuerdo a la ley de *Faraday*, proporcional a la concentración de la especie electroactiva).⁴¹

II.3.1.3. Variables de la solución

Las técnicas electroquímicas presentan variaciones de acuerdo a la solución que se utilice y a la concentración de la especie electroactiva, la cual puede variar de acuerdo a la sensibilidad y selectividad de la técnica. Otras variables dentro de la solución son las especies interferentes, ya sean propias de la solución o aportadas por el electrolito soporte.

II.3.1.4. Variables externas

Las variables externas pueden aportar cambios en los parámetros cinéticos y termodinámicos del sistema, como la temperatura y la presión. Otra de las variables externas es el tiempo, el cual puede afectar el comportamiento cinético del analito. Como se mencionó anteriormente, a tiempos largos en un experimento electroquímico se puede generar transferencia de masa por convección natural.

II.3.1.5. Variables eléctricas

Las variables electroquímicas determinan cómo es aplicada la perturbación y que respuesta se obtiene, esto depende de la técnica que se utilice. Por ejemplo, en las técnicas potencioestáticas se tiene control sobre el potencial (perturbación) y se obtienen señales en corriente y/o carga (ecuación 14), en las técnicas galvanostáticas, el control se obtiene sobre la corriente y las respuestas se dan en términos de potencial (E). Es importante que al emplear cualquier técnica se tenga control sobre el potencial aplicado o registrado, debido a que está relacionado con los parámetros del sistema evaluado. Todo sistema debe tener un potencial de celda o valor de fuerza electromotriz (*f.e.m*), el cual está limitado por los potenciales que poseen las fases del sistema (electrodos y solución); de acuerdo a esto el potencial de celda, se describe como se muestra en la ecuación (19):

$$\Delta E = \Delta E_{(ET-Sln)} + \Delta E_{(Sln-CE)} \quad (19)$$

donde, ΔE es la diferencia de potencial de la celda, $\Delta E_{(ET-Sln)}$ es la diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo y la solución y $\Delta E_{(Sln-CE)}$ es la diferencia de potencial entre la solución y el contra electrodo. Bajo estos términos, las condiciones analíticas que permiten determinar un valor de potencial para un sustrato puesto en solución, exigen el

conocimiento y control de las demás variables. De esa manera, el electrodo de trabajo (electrodo polarizable) debe soportar diferencias de potencial sin sufrir cambios en su estado de oxidación. Además su área efectiva debe ser inferior al contra electrodo, haciendo que la densidad de corriente expresada como corriente por unidad de área ($i/\text{área}$) resultante del proceso redox, sea referida a al electrodo de trabajo.¹³⁵

Cuando se emplea un electrodo de referencia para conocer el potencial del electrodo de trabajo, éste debe poseer un potencial redox conocido y controlable, éste generalmente está formado por una especie que se oxide y reduzca (cupla) bajo pequeños cambios de potencial, siendo el electrodo normalizado de hidrógeno (NHE), que por convención se establece como potencial cero. Estas interfaces se conocen como electrodos idealmente no-polarizables. No obstante, el uso experimental del NHE es un poco complejo y puede representar incompatibilidades con la naturaleza de la solución a utilizar. Debido a esto son usados como alternativa los electrodos de calomel saturado (ECS) compuesto por la cupla ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$) y pseudo-referencia como Ag/AgCl .¹³⁵

II.3.1.6. Celda de tres electrodos

Para un sistema de tres electrodos, las técnicas usadas pueden ser potencioestáticas o galvánicas. Se perturba el sistema con el fin de generar un fenómeno redox en la superficie del electrodo, y se genera un gradiente de concentración tanto en el electrodo de trabajo como en el contra electrodo, produciendo fenómenos faradaicos. La aplicación de una diferencia de potencial entre ambos electrodos genera una caída de potencial óhmico por la resistencia de la solución. La adición de electrolito soporte minimiza este efecto.

En la Figura 18, se representa una celda de tres electrodos, donde se observa un electrodo de trabajo, donde ocurre la reacción redox del analito de estudio, un electrodo de referencia, el cual está conectado al electrodo de trabajo por un potenciómetro y una fuente de poder externa, la cual aplica una diferencia de potencial entre estos dos electrodos. Además, presenta un contra electrodo, en el cual ocurre la otra hemi reacción opuesta a la que ocurre en el electrodo de trabajo. En este último (circuito de polarización) se registra la corriente (carga por unidad de tiempo) resultante del fenómeno redox.

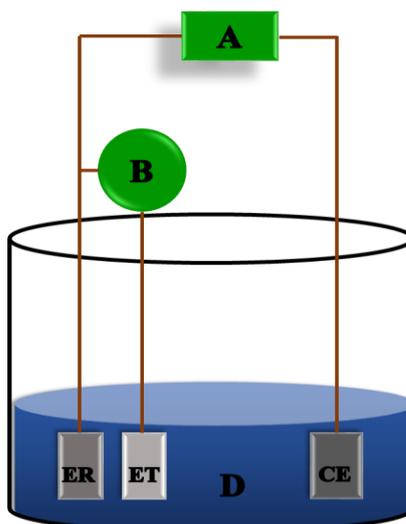


Figura 18. Celda electroquímica de tres electrodos A: fuente de Potencial; B: microamperímetro; ET: electrodo de trabajo; ER: electrodo de referencia; CE: contra electrodo; D: Solución electrolítica.

En el circuito potenciométrico, la expresión matemática que describe la diferencia de potencial del sistema está dada por la ecuación (20).

$$\Delta E = \Delta E_{(ET-Sln)} + \Delta E_{(Sln-ER)} \quad (20)$$

donde ΔE , es la diferencia de potencial de la celda. $\Delta E_{(ET-Sln)}$, es la diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo (al cual se refieren los fenómenos de oxidación/reducción) y la solución, y $\Delta E_{(Sln-ER)}$ representa la diferencia de potencial entre la solución y el electrodo de referencia.¹³⁵

La Figura 19 representa en el costado izquierdo las condiciones iniciales del sistema y en su costado derecho se ilustra la perturbación aplicada en el electrodo en términos de potencial, el cual modifica el nivel energético del mismo, a potenciales anódicos (A) y catódicos (B) suficientes para extraer un electrón de su orbital de alta energía ocupado (HOMO) o para donarle un electrón al orbital desocupado de baja energía (LUMO) del analito (sustrato R) puesto en solución.¹³⁵ Cuando el sistema se encuentra en ausencia de corriente (reposo), el potencial recibe el nombre de potencial de equilibrio, cuyo valor puede ser diferente de cero. Cuando se aplica una diferencia de potencial más positiva, que el potencial de reposo (Figura 19A), se induce al analito a ceder electrones y por consiguiente a sufrir su oxidación (el electrodo de trabajo toma electrones de la solución). Caso contrario ocurre cuando la diferencia de potencial se lleva hacia valores más negativos (Figura 19B),

el electrodo de trabajo se enriquece con electrones disponibles para ser tomados por el analito en solución y efectuar en éste su reducción.

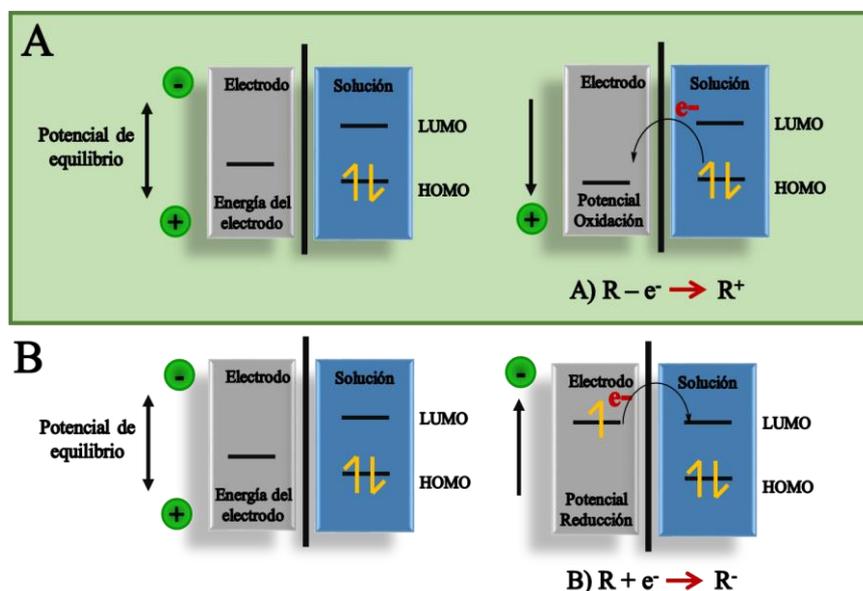


Figura 19. Representación de la A) oxidación (parte alta de la figura) B) reducción (parte baja de la figura); de un sustrato R susceptible de ambas reacciones.

II.3.2. Técnicas potenciostáticas

El principio de las técnicas potenciostáticas consiste en la perturbación del sistema en términos de potencial constante bajo una función conocida en el tiempo $E=f(t)$. Para estas técnicas el uso de un potenciostato es ideal, pues este equipo permite efectuar dicha perturbación y coleccionar la señal en términos de corriente. Y aquellos donde la función del potencial es tal que cambia con el tiempo, se les denomina técnicas potenciodinámicas. La elección del potencial y duración en el tiempo, depende del fin cualitativo y cuantitativo que se desee.¹³⁵

Aspectos cuantitativos de procesos redox

Como se mencionó anteriormente un sistema electroquímico consta de muchas variables, para realizar un estudio electroquímico, es necesario estudiar cuidadosamente y realizar un seguimiento cuantitativo, esto implica un conocimiento detallado de cada fenómeno que permita su descripción matemática.

Determinación de la corriente

Considerando como fenómeno de interés, que toda especie que llegue a la superficie del electrodo se oxida o reduzca, se puede decir que el flujo en la superficie del electrodo es el responsable de la corriente conducida por el electrodo de acuerdo a la ley de Faraday; por el circuito eléctrico circularán un número equivalente de coulombios por segundo. El valor del flujo debe ser multiplicado por el área del electrodo (A), para que dé cuenta de todo el fenómeno en la superficie. Por otra parte, la corriente será proporcional al número de electrones intercambiados.¹³⁵

$$i = nFAJ_r(x = 0, t) = nFAD_r \left[\frac{\partial C_r(x,t)}{\partial x} \right]_{x=0} \quad (21)$$

Determinación del potencial

De tener bien definida la concentración en función del tiempo y distancia al electrodo, el potencial del electrodo se calcula según la ecuación de *Nernst* (ecuación (22)).

$$E = E_f^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_O(x=0,t)}{C_R(x=0,t)} \quad (22)$$

donde C_O y C_R serán las concentraciones de las cuplas redox en estudio al tiempo t sobre la superficie del electrodo $x=0$. Las técnicas potencioestáticas, aplican una perturbación cuya función debe ser perfectamente conocida, tal que el sistema evolucione brindando una respuesta en corriente dependiente de las situaciones de contorno del sistema, es decir de la naturaleza de la especie electroactiva, la composición de la celda y la función de potencial aplicado constante.

Reacción reversible-simple en un electrodo

El desarrollo matemático que da lugar a los cálculos de transferencia de masa, potencial y corriente de un sistema, depende de la técnica empleada y las situaciones de contorno que describan el avance del mismo. De forma generalizada se supone una especie simple cuya reacción reversible es planteada por la ecuación (8), donde la perturbación del equilibrio se inducirá electroquímica de manera potencioestática. Para ello, se aplica un potencial en el tiempo como se muestra en la Figura 20A cuya respuesta de corriente en el tiempo está dada por la Figura 20B.

Partiendo desde un potencial E_0 de reposo en el cual no sucede ningún tipo de reacción, es decir, donde solo encontramos la especie R a un tiempo cero ($t=0$), se aplica una diferencia de potencial suficiente para desplazar el equilibrio (ecuación (8)) hacia la especie oxidada, el cual es mantenido en el tiempo y cuya respuesta en corriente refleja un incremento de i_0 (corriente de oxidación), que decae exponencialmente hasta obtener un valor constante como lo muestra la Figura 20B, seguidamente se invierte el potencial obteniendo una corriente de reducción (i_r).¹³⁵

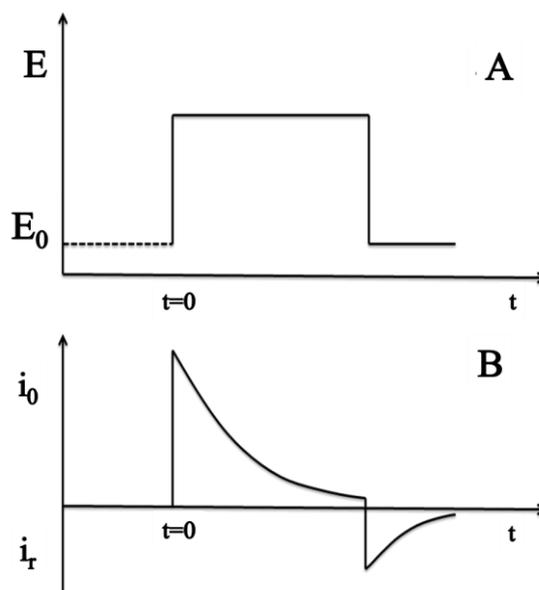


Figura 20. Pulso de potencial en el tiempo (A) y respuesta en corriente bajo el mismo intervalo (B).

II.3.2.1. Cronoamperometría

Se habla de cronoamperometría cuando se aplica en el tiempo, un salto de potencial (Figura 20A) y se muestrea la corriente en el tiempo (Figura 20B). Para esta técnica se puede plantear la solución matemática que permita cuantificar la difusión de R, inducida por la diferencia de potencial (perturbación), responsable de la respuesta en corriente (flujo de electrones) de la siguiente forma.

Las ecuaciones diferenciales para las especies serán:

$$\frac{\partial C_R(x,t)}{\partial t} = D_R \frac{\partial^2 C_R(x,t)}{\partial x^2} \quad (23)$$

$$\frac{\partial C_O(x,t)}{\partial t} = D_O \frac{\partial^2 C_O(x,t)}{\partial x^2} \quad (24)$$

Para la solución de estas ecuaciones se plantean las siguientes condiciones de contorno.

Condiciones iniciales:

a) $t=0$ aún no comenzó la electrólisis, luego para cualquier valor de x :

$$C_R(x, 0) = C_R^0 \quad (25)$$

$$C_O(x, 0) = 0 \quad (26)$$

b) Condiciones semiinfinitas ($x \rightarrow \infty$) y $t \neq 0$. La electrólisis ha comenzado y en el seno de solución se cumple:

$$\lim_{x \rightarrow \infty} C_R(x, t) \rightarrow C_R^0 \quad (27)$$

$$\lim_{x \rightarrow \infty} C_O(x, t) \rightarrow 0 \quad (28)$$

c) Condiciones sobre la superficie ($x=0$), donde se supone una transferencia de carga rápida, para $t \neq 0$

$$E = E_f^0 + \frac{RT}{nF} \ln \left[\frac{C_O(x,t)}{C_R(x,t)} \right]_{x=0} \quad (29)$$

Considerando a continuación la solución matemática del sistema. Como no hay acumulación de material en la superficie del electrodo, el flujo de R en un sentido es igual al de O en el otro.

$$J_R(x = 0, t) = -J_O(x = 0, t) \quad (30)$$

También se puede escribir como:

$$D_R \left[\frac{\partial C_R(x,t)}{\partial x} \right]_{x=0} + D_O \left[\frac{\partial C_O(x,t)}{\partial x} \right]_{x=0} = 0 \quad (31)$$

Como, desde el punto de vista molecular no hay grandes cambios en los coeficientes de difusión de una especie respecto a la otra, por lo tanto:

$$D_R = D_O = D \quad (32)$$

La solución de las ecuaciones diferenciales (23) y (24) se realiza utilizando métodos matemáticos apropiados tomando en cuenta las condiciones de contorno mencionadas. Aplicando la transformada de *Laplace* en la ecuación (31), se obtiene la ecuación (33).¹³⁵

$$i(t) = \frac{nFA\sqrt{D}C_R^0}{(1+\theta)\sqrt{\pi t}} \quad (33)$$

donde:

$$\theta = \frac{C_R(x=0,t)}{C_O(x=0,t)} = e^{-nF/RT(E-E_f^0)} \quad (34)$$

La ecuación (34) muestra que si $E \rightarrow \infty$, $\theta \rightarrow 0$. La ecuación (33) queda expresada según la ecuación (35), la cual es conocida como ecuación de *Cottrell*:

$$i(t) = \frac{nFAD^{1/2}C_R^0}{\sqrt{\pi t}} \quad (35)$$

Donde la corriente, llamada “límite”, implica que la $C_R(0, t) \rightarrow 0$. Esto significa que la conversión electroquímica ocurre a su máxima velocidad.¹³⁵ La Figura 21A, muestra diferentes perturbaciones en secuencia de un experimento electroquímico. En la Figura 21B, las respectivas señales de corrientes obtenidas y en la Figura 21C, el perfil i -E resultante para cinco saltos de potencial a un dado tiempo de muestreo (τ).¹³⁶

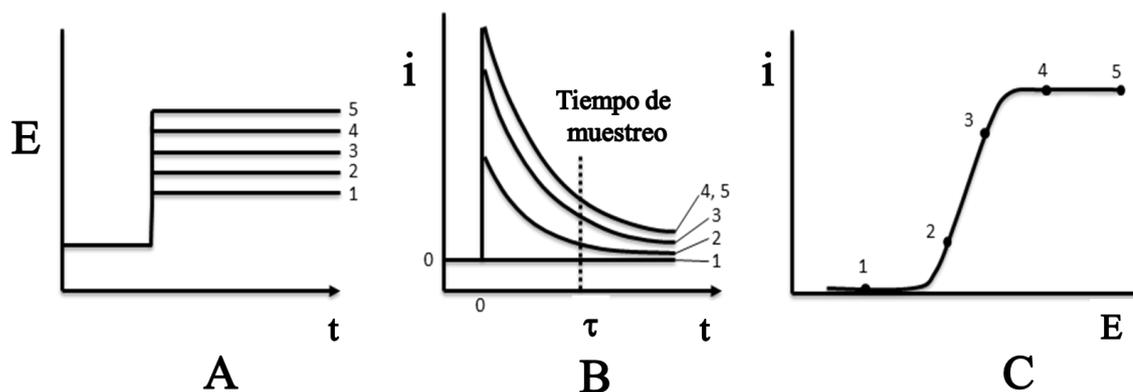


Figura 21. A) saltos de potencial en el tiempo, B) respuesta en corriente en el tiempo, C) perfil de corriente en función del potencial tomado a un tiempo τ .

La ecuación (35), tiene dos límites a los que no se puede acceder en forma experimental: a) para $t=0$, $i=\infty$, este límite nunca se alcanza por impedimentos instrumentales; b) para $t=\infty$, $i=0$, esta situación implica tiempos de electrólisis superiores al minuto, donde comienzan a tener importancia el transporte convectivo. Este aporta material al electrodo con lo que $i \neq 0$. La Figura 22, representa entre las líneas punteadas el intervalo en que se cumple la ecuación de *Cottrell*, a su vez está relacionada con el tiempo de muestreo (τ) ilustrado en la Figura 21B.¹³⁵ La Figura 21C, corresponde a la zona de control difusional absoluto, donde se muestra que se alcanza la meseta en la zona 4-5, debido al límite impuesto por la velocidad de transferencia de masa.

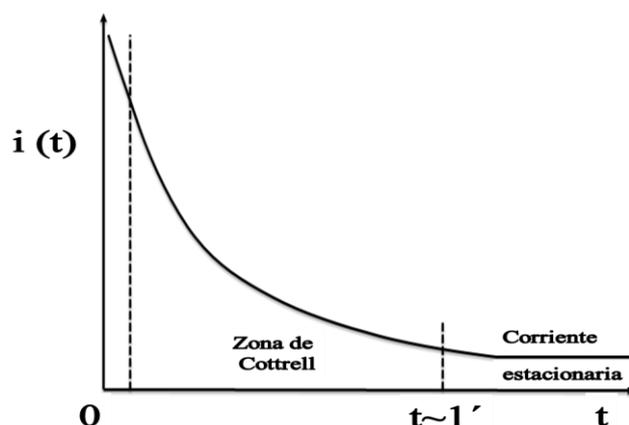


Figura 22. Representación de la respuesta $i-t$ para un salto de potencial suficientemente anódico.

La ecuación (33) expresada en función de la corriente límite queda:

$$i(t) = \frac{i_L(t)}{(1+\theta)} \quad (36)$$

Despejando θ y tomando logaritmos se obtiene la ecuación de *Nernst* representada en la Figura 21C, en términos de corriente.

$$E = E^0 + 2.303 \frac{RT}{nF} \text{Log} \frac{i(t)}{i_L(t) - i(t)} \quad (37)$$

Además, si se grafica E vs $\text{Log} \frac{i(t)}{i_L(t) - i(t)}$ se obtendrá una recta de pendiente $2.303 \frac{RT}{nF}$. Esta ecuación predice que cuando $i(t) = i_L(t)/2$, E es igual al potencial formal de la cupla (E_f^0). Se deduce que, para un sistema reversible simple el $E_f^0 \approx E_{1/2}$.

II.3.2.2. Voltametría lineal y cíclica

Voltametría lineal (VL)

Se trata de una técnica, donde el potencial se cambia en forma lineal con el tiempo. Dada la siguiente cupla redox reversible simple:



Donde el potencial aplicado será expresado según la siguiente ecuación:

$$E = E_i + vt \quad (39)$$

donde, E_i es el potencial inicial, t es el tiempo y $v = dE/dt$, es decir la velocidad de cambio de potencial. La representación de la ecuación (39) se muestra en la Figura 23.¹³⁵

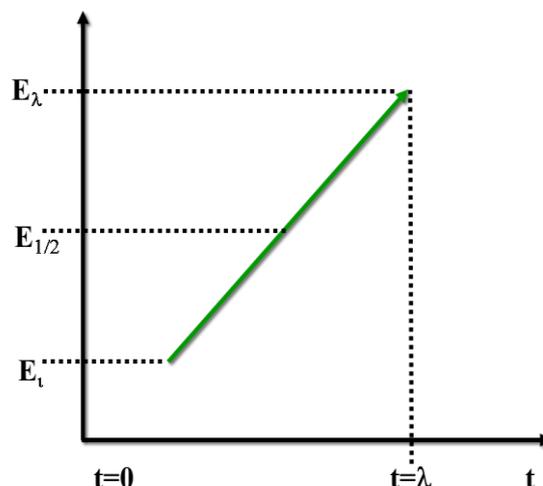


Figura 23. Barrido de potencial en la técnica de voltametría lineal.

Para obtener el valor de la función corriente en un sistema redox simple (ecuación (38)), se deben resolver las ecuaciones diferenciales (ecuaciones (23) y (24)) de las concentraciones usando las condiciones de contorno correspondientes (Sección II.3.2.1.). Las cuales relacionan los cambios de concentración con el tiempo y los cambios de flujo con la distancia al electrodo, x .¹³⁵ Donde $\partial^2 C_R(x,t)/\partial x^2$ o $\partial^2 C_O(x,t)/\partial x^2$ es el gradiente de concentración de la especie a la distancia x y al tiempo t , y D_R y D_O son los coeficientes de difusión en $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$.

Para $t \neq 0$, se cumplirá la ecuación de *Nernst*.¹³⁵ Como E está dado por la ecuación (39) para la voltametría lineal resulta:

$$E = E_i + vt = E_f^0 + \frac{RT}{nF} \text{Ln} \left[\frac{C_O(x,t)}{C_R(x,t)} \right]_{x=0} \quad (40)$$

donde, E_f^0 es el potencial formal de la cupla, y n es el número de electrones intercambiados por la cupla. A 25 °C, $RT/F=0.02569$ V. Si la ecuación (40) se expresa en logaritmo decimal, $2.303 RT/F= 0.0591$ V. C_O y C_R serán las concentraciones de la cupla en estudio al tiempo t .

De donde:

$$\theta = \left[\frac{C_O(x,t)}{C_R(x,t)} \right]_{x=0} = \exp \left[\frac{RT}{nF} (E_i + vt - E_f^0) \right] \quad (41)$$

Resolviendo las ecuaciones diferenciales (23) y (24), con la condición expresada en la ecuación (41), se obtiene como solución una función dependiente del potencial. Esta función permite calcular la corriente y es conocida como función corriente $X(E)$, la cual es una función adimensional. La corriente queda expresada según la ecuación (42) como:

$$i(t) = i(E) = (nF)^{\frac{3}{2}} AC_R \left[\frac{\pi D_R}{RT} \right]^{\frac{1}{2}} v^{1/2} X(E) \quad (42)$$

donde, A es el área del electrodo, v es la velocidad de barrido y $R = 8.314$ Julios $\text{mol}^{-1} \text{K}^{-1}$. La corriente i entonces queda expresada en Amperios (A). La función corriente ha sido calculada para cada potencial y aparece tabulada. Cualquier sistema simple (ecuación (38)), cuyo proceso sea de oxidación o de reducción, independiente del potencial de media onda ($E_{1/2}$), tiene por única solución la función $X(E)$.¹³⁵

Como un sistema electroquímico existe en el entorno del $E_{1/2}$, la función $X(E)$ está referida a este potencial, es decir que $X(E) = X(E - E_{1/2})$. Una gráfica de la variación de la función corriente con el potencial se muestra en Figura 24.

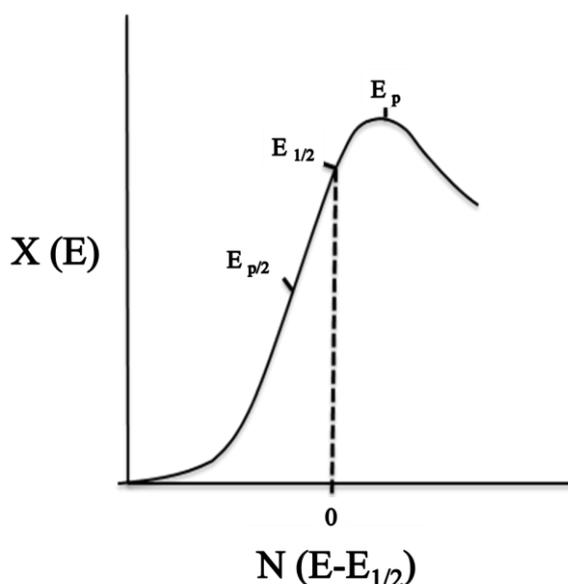


Figura 24. Voltametría lineal. El potencial está referido al $E_{1/2}$ del sistema.

Como se observa, la respuesta es en forma de pico, del que son destacables las siguientes características: en el potencial de pico (E_p), la $X(E)$ es máxima y $X(E)_{\max} = 0.4463$. La

corriente a ese potencial es la corriente de pico (i_p). Para 25°C esta última de acuerdo a la ecuación (42) tiene el valor dado por la ecuación (43).

$$i_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} D^{1/2} A v^{1/2} C \quad (43)$$

Por otro lado, el $E_{1/2}$ no coincide con el potencial de pico, sino que está desplazado algunos mV como lo describe la ecuación (44).

$$E_p = E_{1/2} \pm 1.109 \left[\frac{RT}{nF} \right] \quad (44)$$

Donde el signo (+) es para oxidación y el signo (-) para reducción. A 25°C, $RT/F \approx 25,7$ mV y para $n=1$, el $E_p - E_{1/2} \approx \pm 28,50$ mV. Otra característica importante es el potencial de medio pico $E_{p/2}$, que es el potencial a la mitad de la altura del pico y el cual está dado en mV y a 25°C.¹³⁵

$$E_{p/2} = E_{1/2} \pm 1.09 \frac{RT}{nF} = E_{1/2} \pm 28/n \quad (45)$$

El ancho de pico puede definirse como:

$$\Delta E = E_p - E_{p/2} = 2.3 \frac{RT}{nF} \quad (46)$$

Esta última ecuación predice que para 25°C $\Delta E \approx \frac{60}{n}$ mV es decir que si $n=1$ será de 60 mV. Para un proceso con transferencia sucesiva de dos electrones, $\Delta E \approx 30$ mV siendo así un pico más angosto. Los parámetros anteriores permiten caracterizar el sistema y las expresiones dadas son para un sistema simple o reversible (ecuación (38)). Sistemas más complicados cumplen con otras ecuaciones como lo veremos más adelante.

Voltametría cíclica (VC)

Se trata de una técnica, donde el potencial se cambia en forma lineal según funciones conocidas (ecuación (39)). Si luego de cierto tiempo ($t=\lambda$), se invierte el sentido del barrido de potencial se observará el proceso redox opuesto, dando lugar a la ecuación (47), que describe la función de potencial correspondiente a la voltametría cíclica.

$$E = E_i + 2\nu\lambda - \nu t \quad (47)$$

donde, λ es el tiempo en el que se realiza la inversión de barrido de potencial. La representación de las ecuaciones (39) y (47), se muestra en la Figura 25. Si el barrido de potencial se invierte a E_λ se aplica la ecuación (47) considerando un barrido inverso. Para resolver las ecuaciones diferenciales (23) y (24), se tendrá en cuenta, cuál era la situación de las variables en E_λ . La ecuación (41) se transforma ahora en la ecuación (48).

$$\theta = \left[\frac{C_O(x,t)}{C_R(x,t)} \right]_{x=0} = \exp \left[\frac{Rt}{nF} (E_i + 2\nu\lambda - E_f^0 - \nu t) \right] \quad (48)$$

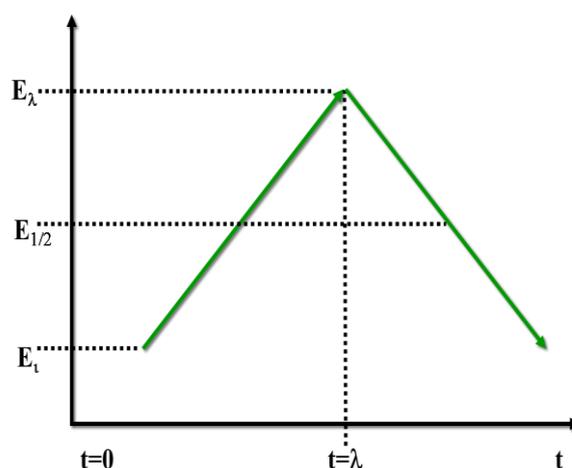


Figura 25. Barrido de potencial en la técnica de voltametría cíclica.

Como al invertir el barrido de potencial en la interfaz electrodo-solución existe la especie O formada en el barrido directo, ésta se reducirá según:



La respuesta en corriente mostrada en la Figura 26, forma un pico centrado también alrededor de $E_{1/2}$ del sistema. Este pico puede ser interpretado en forma cuantitativa, y de no presentarse complicaciones cinéticas posteriores a la transferencia de carga se cumple:

$$\frac{i_{p(inversa)}}{i_{p(directa)}} = 1 \quad (50)$$

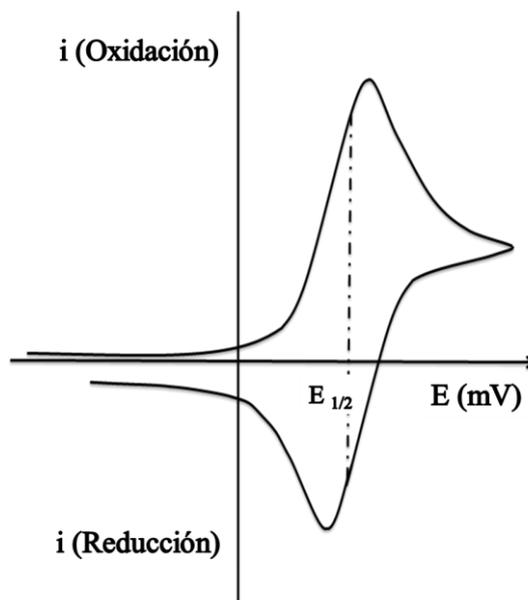


Figura 26. Voltograma cíclico típico de una reacción reversible.

El valor de $\Delta E_p = E_{p(\text{directo})} - E_{p(\text{inverso})}$ es uno de los parámetros usados como criterio de diagnóstico de la reversibilidad del proceso. Para un proceso simple:

$$\Delta E_p \approx 2.303 RT/nF \quad (51)$$

En sistemas más complejos, las respuestas electroquímicas difieren con respecto a la de un sistema simple, ya que hay reacciones químicas acopladas a la transferencia de carga. Para caracterizar estos sistemas se hace uso de los siguientes criterios de diagnóstico: las variaciones de E_p y de i_p ; según E_p vs. v ; $i_p/v_{1/2}$; C vs v ; i_p (inverso)/ i_p (directo); etc., que adoptan características propias según el mecanismo particular de que se trate.

II.3.2.3. Voltametría de estado estacionario

La voltametría de estado estacionario determina un estado en el que ninguna de las propiedades del sistema cambia con el tiempo. Cuando un sistema electroquímico se encuentra en estado estacionario, las densidades de flujo de O y de R y la corriente toman valores distintos de cero.¹³⁵ El típico voltograma en estado estacionario se muestra en la Figura 27, si la velocidad (v) con la que se cambia el potencial, es lo suficientemente pequeña. Por el contrario, si v no es lo suficientemente pequeña el sistema se encuentra alejado del estado estacionario y el voltograma adquiere la forma mostrada en la Figura 24.¹³⁵

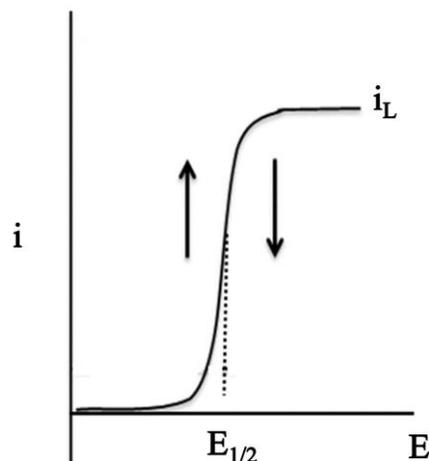


Figura 27. Curvas i vs E para distintas velocidades de barrido pequeñas.

En la Figura 27 se observa que el voltograma alcanza una corriente máxima y constante a un dado potencial. La transferencia está gobernada por la difusión de la especie electroactiva desde el seno de la solución, y todo lo que llega al electrodo se oxida. A esta corriente se le denomina corriente límite (i_L) cuyo valor no depende ni del tiempo ni del potencial, solo depende de la concentración en el seno de la solución (C_R^0), de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$i_L = nAFD_R C_R^0 \quad (52)$$

Donde n , A , F , D_R y C_R^0 , ya fueron descriptos previamente. A partir de la ecuación (52) y reemplazando en la ecuación de *Nernst*,¹³⁵ se obtiene la ecuación (53), que se conoce como curva de polarización estacionaria, que relaciona el potencial con i_L .

$$E = E_f^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{D_O}{D_R} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{i}{(i_L - i)} = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{i}{(i_L - i)} \quad (53)$$

Si se considera que $D_O \approx D_R$, de acuerdo a la ecuación (53), $E_{1/2} \approx E_f^0$. De esta forma se puede calcular el potencial formal del sistema. De la ecuación (53), se deduce que, para un sistema reversible simple (ecuación (38)) en condiciones de estado estacionario, un gráfico de E vs $\ln\left(\frac{i}{(i_L - i)}\right)$ es lineal con una pendiente igual a RT/nF y una ordenada al origen igual al potencial formal o potencial de media onda ($E_{1/2}$).

Utilizando electrodos de áreas pequeñas como los UMEs y velocidades de barrido bajas, hacen que la i en función de E adopte la forma de una curva en estado estacionario, alcanzando una meseta (corriente límite) como se muestra en la Figura 27, esto se debe a que existen diferencias en el transporte de masa entre un UME y un electrodo convencional¹³⁵ como describiremos a continuación.

II.3.2.4. Voltametría lineal utilizando ultramicroelectrodo

Los ultramicroelectrodos (UMEs) son electrodos con dimensiones pequeñas entre 0.1 μm a 50 μm de radio, donde sus propiedades dependen de su tamaño. El transporte de masa para un UME, a diferencia de los electrodos de tamaño convencional, tiene dos contribuciones, una lineal semiinfinita y otra radial, como se muestra en la Figura 28, las cuales se deben tener en cuenta para resolver la ecuación de densidad de corriente.

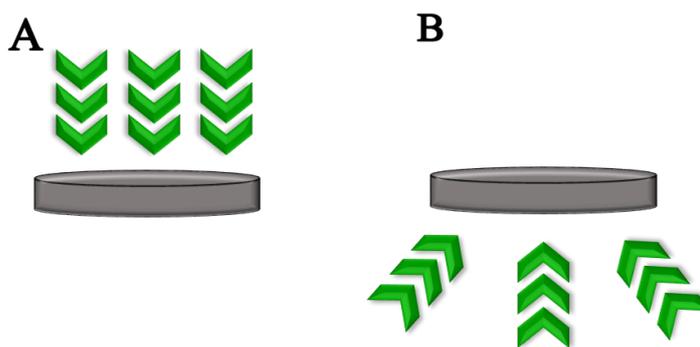


Figura 28. Tipos de transporte de masa en ultramicroelectrodos. A) Lineal semiinfinita B) Radial.

En el modelo de difusión lineal semiinfinita, la difusión hacia el electrodo se da de manera perpendicular al plano del electrodo, y en la difusión radial, la densidad de corriente para un UME está dada por la ecuación (54) que contiene dos términos.

$$I_d = \frac{nFD_R C_R}{r} + \frac{nFD_R^{1/2} C_R}{\pi^{1/2} t^{1/2}} \quad (54)$$

donde, n , F , D_R , C_R y t ya fueron definidos previamente y r es el radio del electrodo. El primer término de la ecuación describe la difusión radial mientras que el segundo describe la difusión lineal semiinfinita (también conocido como ecuación de *Cottrell*).¹³⁵ Cuando los tiempos son cortos (velocidades superiores a 50 mV s^{-1}), el segundo término prevalecerá sobre el primero, mientras que a tiempos largos (velocidades menores o iguales que 10 mV s^{-1}) el término radial tendrá más relevancia y los voltagramas serán iguales a los del estado estacionario (Figura 27).

En estas condiciones, la derivada de la concentración con respecto al tiempo es cero. Por lo tanto, cuando la especie O está ausente a $t=0$, la ecuación (55) puede ser aproximada por la ecuación (56).

$$\frac{i}{nFA} = D_R \left[\frac{\partial C_R(r_0, t)}{\partial r} \right] \quad (55)$$

$$\frac{i}{nFA} = \frac{D_R [C_R^0 - C_R(r_0)]}{\delta} \quad (56)$$

donde, C_R^0 y $C_R(r_0)$ son las concentraciones de la especie R en el seno de la solución y en la superficie del electrodo, respectivamente, y δ es el espesor de la capa de difusión. Esta aproximación es conocida como la aproximación de *Nernst*. Por motivos de simplicidad, se considera que la superficie del UME es una esfera.

Para describir la curva voltamétrica en forma completa es necesario dar una expresión para $C_R(r_0)$ y δ . Para el sistema reversible con R y O presentes en solución, la relación de las concentraciones superficiales de R y O está vinculada al potencial aplicado a través de la ecuación de *Nernst* que se muestra a continuación:

$$\frac{C_R(r_0)}{C_O(r_0)} = \exp\left[\frac{nF}{RT} (E - E_f^0)\right] \quad (57)$$

Cuando el potencial aplicado E , es mucho más positivo que E_f^0 , $C_R(r_0) = 0$, se alcanza la máxima corriente (toda la especie R que difunde y llega a la superficie es oxidada). La i para este potencial se denomina corriente límite, i_L y se define según:

$$i_L = anr_0FD_R C_R^0 \quad (58)$$

donde, a es igual a 2π para una semiesfera, 4π para una esfera y 4 para un disco. De este modo, a partir de las ecuaciones (56) y (58), se puede demostrar que:

$$\frac{i_L}{nFA} = \frac{D_R C_R^0}{\delta} = \frac{D_R C_R^0}{r_0} \quad (59)$$

Considerando que $D_R = D_0$ y que a $t = 0$, $C_0^0 = 0$, se puede demostrar que $C_0(r_0) = C_R^0 - C_R(r_0)$. Así, sustituyendo el valor de δ por r_0 y el de $C_R(r_0)$ en la ecuación (56) y

reagrupando términos, se obtiene la siguiente expresión para la curva voltamétrica completa para un electrodo esférico en condiciones de estado estacionario:

$$\frac{i}{nFA} = \frac{D_R C_R^0}{r_0 \{1 + \exp\left[\frac{-nF}{RT}(E - E_f^0)\right]\}} \quad (60)$$

El análisis presentado es extrapolable a otras geometrías de UME, tal como el disco, que es el más frecuentemente usado. Si se expresa la corriente como una función de E e i_L , de acuerdo a la ecuación de (53) se obtiene:

$$i = \frac{i_L \exp\left[\frac{nF}{RT}(E - E_f^0)\right]}{1 + \exp\left[\frac{nF}{RT}(E - E_f^0)\right]} \quad (61)$$

Las situaciones de contorno que dieron lugar a estas ecuaciones están dadas para un sistema reversible simple, no obstante, existen sistemas redox que presentan dificultades en la transferencia de electrones. En estos casos los parámetros de corriente y potencial se expresan en función de constantes de transferencia (parámetros cinéticos). Supongamos el siguiente sistema redox.



La ecuación (62) muestra de manera directa una reacción de oxidación de la especie R a O (proceso anódico) condicionada por una constante k_f . De forma inversa muestra una reacción de reducción de la especie O a R (proceso catódico) condicionada por una k_b . Ahora, si se considera que el equilibrio de la reacción se da en la superficie de un electrodo, las velocidades en sentido directo e inverso del sistema estarían dadas por:

$$v_f = k_f C_{R(0,t)} = \frac{i_a}{nFA} \quad (63)$$

$$v_b = k_b C_{O(0,t)} = \frac{i_c}{nFA} \quad (64)$$

donde, A es el área del electrodo y tanto i_c como i_a son las corrientes catódica y anódica respectivamente. Luego, la reacción neta estaría dada por:

$$v_{net} = v_f - v_b = k_f C_{R(0,t)} - k_b C_{O(0,t)} = \frac{i}{nFA} \quad (65)$$

$$i = i_a - i_c = nFA[k_f C_{R(0,t)} - k_b C_{O(0,t)}] \quad (66)$$

Basados en la ecuación general de *Arrhenius* (ecuación (67)).

$$k = A e^{-E_A/RT} \quad (67)$$

Donde se argumenta que para que los reactivos se conviertan en productos (constante cinética, k) deben pasar por una energía de activación (E_A) de acuerdo a un factor de frecuencia (A); las constantes cinéticas pueden ser representadas como una función del potencial aplicado sobre un electrodo, si se considera a éste como la perturbación requerida para lograr la energía de activación.

$$k_f = k^0 \text{Exp}[-\alpha f(E - E_f^0)] \quad (68)$$

$$k_b = k^0 \text{Exp}[(1 - \alpha)f(E - E_f^0)] \quad (69)$$

donde, k^0 es llamada constante de transferencia para el sistema redox al potencial formal (E_f^0), donde para estos casos en particular, el E_f^0 ya no equivale al $E_{1/2}$, porque el mismo contiene en su expresión la constante y el coeficiente de transferencia de carga (α), el cual es específico del sistema, antes y después de aplicar una diferencia de potencial, y $f = nF/RT$. El sentido físico de k^0 se comprende como la facilidad cinética (transferencia de electrones) de un sistema redox y sus valores pueden estar comprendidos entre 1 y 10 cm s^{-1} . De esta manera valores de k^0 menores que 1 significan velocidades lentas de reacciones redox, mientras que valores aproximados a 10 significan velocidades rápidas.¹³⁵

El término α puede adquirir valores adimensionales entre 0 y 1. Dependiendo del valor de α , el intercambio de electrones del sistema redox se verá favorecido en uno o en ambos sentidos de la reacción en términos de potencial. De esta manera cuando $\alpha \approx 0.5$, tanto la oxidación como reducción del sistema ocurrirán a un potencial simétrico respecto al potencial de reposo (la reacción será favorable en ambos sentidos). Cuando $\alpha < 0.5$, la oxidación se dará a potenciales más cercanos al potencial de reposo mientras que la reducción a potenciales más lejanos (la oxidación ocurre a potenciales positivos y la

reducción a potenciales negativos respecto el potencial de reposo). Y cuando $\alpha > 0.5$ sucede lo opuesto, es decir la reducción ocurre a potenciales más cercanos al potencial de reposo que la oxidación.¹³⁵

Si reemplazamos las ecuaciones (68) y (69) en la ecuación (66) obtenemos una descripción matemática entre corriente y potencial. Esta ecuación es llamada de *Butler-Volmer*.

$$i = FAK^0 \left[C_{R(0,t)} e^{-\alpha f(E-E_F^0)} - C_{O(0,t)} e^{(1-\alpha)f(E-E_F^0)} \right] \quad (70)$$

Cuando el electrodo es pequeño, como por ejemplo un disco UME y la perturbación se hace a tiempos largos, la expresión de corriente límite, i_L , (corriente total) está dada en la ecuación (52). En estas condiciones la corriente toma en cuenta las concentraciones de las especies redox en la superficie del electrodo esto es para $C_{R(x=0)}$ y $C_{O(x=0)}$ tenemos que:

$$C_{R(0)} = \frac{i_L - i}{4nFD_R r_0} \quad (71)$$

$$C_{O(0)} = \frac{i}{4nFD_O r_0} \quad (72)$$

Reemplazando las ecuaciones (68), (69), (71), (72) en (66), obtenemos una expresión de tipo *Butler-Volmer*.

$$i = nFAK^0 \left\{ [e^{(1-\alpha)f\Delta E}] \left(\frac{i_L - i}{4nFD_R r_0} \right) - [e^{(-\alpha)f\Delta E}] \frac{i}{4nFD_O r_0} \right\} \quad (73)$$

donde, $\Delta E = (E - E_f^0)$

Sustituyendo el área del electrodo $A = \pi r_0^2$, realizando simplificaciones y reordenando se obtiene:

$$\frac{4D_R i}{\pi r_0 k^0} = \left\{ [e^{(1-\alpha)f\Delta E}] (i_L - i) - [e^{(-\alpha)f\Delta E}] \frac{D_R}{D_O} i \right\} \quad (74)$$

Dividiendo en ambos lados de la ecuación (74) por $Exp((1-\alpha)f\Delta E)$ y despejando queda:

$$\frac{i_L}{i} = \frac{4D_R}{\pi r_0 k^0} [e^{(\alpha-1)f\Delta E}] + \frac{D_R}{D_0} [e^{(-f\Delta E)}] + 1 \quad (75)$$

Reordenando esta expresión se llega:

$$\frac{i}{i_L} = \frac{1}{\frac{4D_R}{\pi r_0 k^0} [e^{(\alpha-1)f\Delta E}] + \frac{D_R}{D_0} [e^{(-f\Delta E)}] + 1} \quad (76)$$

Finalmente, la ecuación (76) proporciona una descripción completa de la corriente de un sistema redox (ecuación (62)) como una función del potencial aplicado y de las complicaciones cinéticas que condicionen su transferencia de electrones empleando un UME de disco. Cabe aclarar que cuando el equilibrio de la reacción planteada por la ecuación (62), es condicionada por ambas constantes cinéticas se habla de un sistema cuasi reversible y si por el contrario la reacción se da en un solo sentido al sistema se le llama irreversible.

Una de las características más atractivas por la que son empleados los UME en voltametría, es por su capacidad de usarse como electrodo de trabajo en medios con baja conductividad. Lo cual hace posible realizar voltametría en medios resistivos como son los solventes orgánicos no polares.^{79,80,135}

En principio uno de los factores que intervienen en los perfiles de $i - E$ de un voltagrama es la resistencia no compensada impuesta por la solución existente entre los electrodos de trabajo y referencia de una celda electroquímica. Esto se debe a que los potenciales aplicados para cada sistema deben ser suficientes para que transcurra la reacción redox del mismo, y al potencial necesario para vencer el circuito RC (resistencia capacitor) presente entre el electrodo y la solución como se ilustra en la Figura 29.

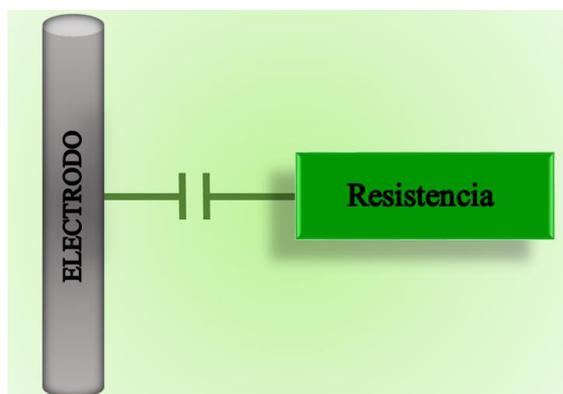


Figura 29. Ilustración de un circuito RC en solución.

El potencial aplicado estaría dado por:

$$E_{aplicado} = E_{redox} + E_{Sl_n} = E_{redox} + iR_s \quad (77)$$

donde, E_{redox} y E_{Sl_n} son los potenciales necesarios para que transcurra la reacción redox y para vencer el circuito RC respectivamente, “ i ” es la corriente que pasa a través del circuito RC y R_s es la resistencia de la solución (o resistencia no compensada). De esta forma, sistemas electroquímicos que posean un valor de varios mV en el producto de iR_s , podrían causar desde corrimientos engañosos en los potenciales del sistema hasta el impedimento redox del mismo. Para minimizar los efectos del circuito RC en las celdas electroquímicas que emplean electrodos de tamaño convencional (de área del orden de 10^{-2} cm²), donde se pueden registrar corrientes del orden de los mA (10^{-3} A), suele agregarse un exceso de electrolito soporte que disminuya la resistencia de la solución a unos pocos ohms (Ω) con lo cual el producto $iR_s < 1$ mV. Sin embargo, cuando se intentan analizar sistemas electroquímicos disueltos en solventes no polares, donde la R_s es del orden de los $K\Omega$, la adición de un electrolito soporte, no disminuye la resistencia de la solución, ya que éste al no poder disociarse no es buen conductor eléctrico (además son limitados los electrolitos que se pueden emplear en solventes orgánicos). Por lo anterior, la forma más adecuada de poder realizar voltametría en medios resistivos es mediante la disminución “ i ” en el producto iR_s , lo cual se logra mediante la reducción del área del electrodo. Es por esto que cuando se emplean UMEs, los cuales tienen áreas del orden de 10^{-8} cm², es posible realizar voltametría en medios resistivos, debido a que las “ i ” correspondientes son del orden de los nA (10^{-9} A), con lo cual el producto $iR_s < 1$ mV a pesar de que la resistencia del medio sea del orden de los $K\Omega$.¹³⁵

II.3.2.5. Voltametría de onda cuadrada (VOC)

La voltametría de onda cuadrada es una técnica compleja que presenta mayor sensibilidad y rapidez, comparándola con técnicas de barrido como la voltametría cíclica o lineal. La VOC empezó a adquirir importancia cuando aparece en el mercado instrumentos comandados por computadoras. Esta técnica consiste en aplicar sobre el electrodo de trabajo una modulación de potencial en forma de onda cuadrada, combinando su amplitud (ΔE_{sw}) con un incremento de la onda (ΔE_s), que se aplica con una frecuencia determinada (f).¹³⁵

En la Figura 30, se representa la función de perturbación del potencial, característica de la técnica VOC; donde E_i es el potencial inicial donde no ocurren fenómenos redox, ΔE_{sw}

es la amplitud de la onda, ΔE_s es el salto de potencial, t_i el tiempo de espera a E_i , t_p el tiempo de pulso y τ el periodo luego de un ciclo.

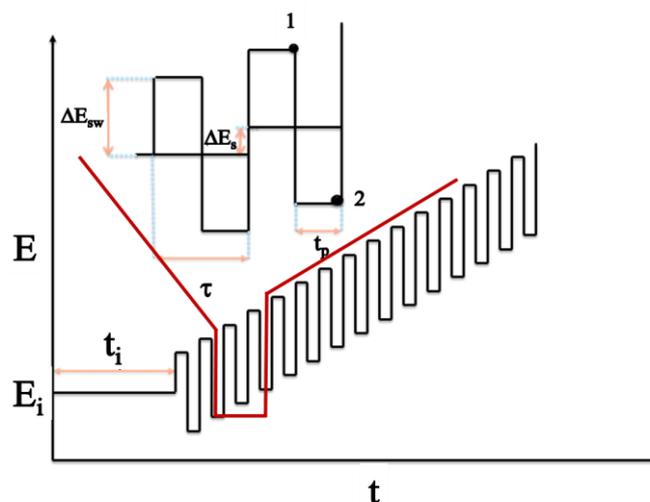


Figura 30. Representación esquemática de la función de perturbación en términos de potencial en función del tiempo de la onda cuadrada. Donde t_i = tiempo de reposo, t_p = es el tiempo de pulso, τ = periodo, E_i = potencial de reposo, ΔE_s = salto de potencial, ΔE_{sw} = amplitud de potencial, puntos 1 y 2 pulso final de ida y vuelta.¹³⁵

La voltametría de onda cuadrada es una técnica de pulso. Su perturbación consta de saltos de potencial realizados en el tiempo, que permiten obtener su respuesta en corriente como lo muestra la Figura 31.

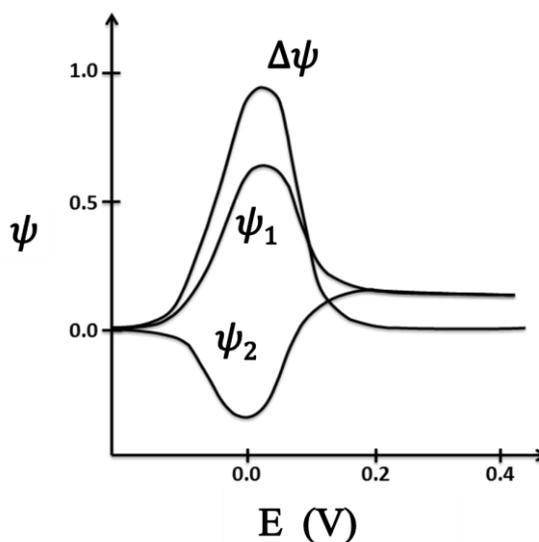


Figura 31. Voltagrama de onda cuadrada para una especie reversible R/O en ausencia de O en el seno de la solución, donde $\Delta\psi$ es la corriente diferencial neta, ψ_1 la corriente directa (de ida) y ψ_2 la corriente inversa (de vuelta).

En la VOC la corriente (ψ) es muestreada justo antes de invertir el potencial como lo muestran los puntos 1 y 2 al final del pulso de ida y vuelta respectivamente en la Figura 30, lo que permite un registro diferencial de las corrientes de ida (ψ_1) y vuelta (ψ_2) (ecuación 78), llamado corriente neta ($\Delta\psi$).

$$\Delta\psi = \psi_1 - \psi_2 \quad (78)$$

En la Figura 31, se muestran los tres registros de corriente teórica adimensional que se obtienen en un experimento de voltametría de onda cuadrada para una especie reversible del tipo presente en la ecuación (38), donde su magnitud respectiva está normalizada en función de una escala de potencial normalizado respecto al $E_{1/2}$, el valor de ésta es proporcional a la concentración de la especie. Esta corriente tiene importancia desde el punto de vista electroanalítico ya que, suprime la corriente de blanco (capacitiva) y la hace muy sensible, debido a que la corriente neta ($\Delta\psi$), es calculada restando la corriente inversa de la corriente directa ¹³⁵

En la VOC la velocidad con que se realiza la perturbación, es representada por la frecuencia, calculada como la inversa del periodo, como se muestra a continuación:

$$f = \frac{1}{\tau} \quad (79)$$

y

$$t_p = \frac{1}{2} \tau \quad (80)$$

Entendiendo la velocidad como el cambio de potencial (ΔE_s) en el tiempo, esta es definida como:

$$v = \frac{dE}{dt} = \frac{\Delta E_s}{\tau} = f \Delta E_s \quad (81)$$

Es conveniente considerar la perturbación como una serie de hemi-ciclos con índice m , comenzando del primer pulso directo con $m=1$.

$$E_m = E_i - \left[\text{Int} \left(\frac{m+1}{2} \right) - 1 \right] \Delta E_S + (-1)^m \Delta E_{SW} \quad (82)$$

Para $m \geq 1$, donde $\text{Int} \left(\frac{m+1}{2} \right)$ denota el truncamiento de la relación al número entero más alto. El balance *Nernstiano* en la superficie puede ser expresado para cada hemi-ciclo como:¹³⁵

$$\theta_m = \frac{C_O(0,t)}{C_R(0,t)} = \exp \left[\frac{nF}{RT} (E_m - E^0) \right] \quad (83)$$

La solución puede ser obtenida analíticamente. La corriente muestreada para el m -ésimo hemi-ciclo es:

$$i_m = \frac{nFAD_R^{1/2} C_R^*}{\pi^{1/2} t_p^{1/2}} \sum_{i=1}^m \frac{Q_{i-1} - Q_i}{(m-i+1)^{1/2}} \quad (84)$$

donde:

$$Q_i = \frac{\xi \theta_i}{1 + \xi \theta_i} \quad (i > 0), \quad Q_0 = 0 \quad (85)$$

$$\xi = \left(\frac{D_O}{D_R} \right)^{1/2} \quad (86)$$

Los valores impares de m corresponden a las corrientes muestreadas en los hemi-ciclos directos (ida) y los valores pares de m denotan las corrientes inversas (vuelta). El factor que precede a la sumatoria en la ecuación (84) es la corriente de *Cottrell* para un tiempo igual a t_p denominada aquí i_n .¹³⁵

$$i_n = \frac{nFAD_R^{1/2} C_R^*}{\pi^{1/2} t_p^{1/2}} \quad (87)$$

Se define la corriente adimensional muestreada ψ_m para el m -ésimo ciclo como:

$$\psi_m = \frac{i_m}{i_n} = \sum_{i=1}^m \frac{Q_{i-1} - Q_i}{(m-i+1)^{1/2}} \quad (88)$$

La diferencia de corriente adimensional $\Delta\psi_m$ esta dada por la sustracción.

$$\Delta\psi_m = \frac{\Delta i_m}{i_n} = \psi_m - \psi_{m+1} \quad (89)$$

Tomando inicialmente m como impar y donde m cubre solamente valores impares. El voltograma de corriente neta alcanza un pico cuando:

$$E_{P=E_{1/2}} = E^0 + (RT/nF) \ln \left(\frac{D_R}{D_O} \right)^{1/2} \quad (90)$$

y tiene una corriente adimensional, $\Delta\psi_p$, que depende de n , ΔE_S y ΔE_{SW} . Por lo tanto:

$$\Delta i_p = \frac{nFAD_R^{1/2}C_R^*}{\pi^{1/2}t_p^{1/2}} \Delta\psi_p \quad (91)$$

De esta forma la respuesta de corriente de pico neta experimental se describe en términos de una función corriente normalizada (ψ).

$$i_{pn} = \frac{nFAD_R^{1/2}C_R^*}{(\pi t_p)^{1/2}} \psi = BC_R^* \quad (92)$$

Donde ψ es la función corriente normalizada, que está relacionada con la forma cualitativa de la onda voltamétrica y es función de $(\Delta E_{SW}, \Delta E_S)$.

Asociando las ecuaciones (79) y (80), despejando t_p y reemplazando en la ecuación (92) la corriente de pico experimental puede expresarse como:

$$i_{pn} = \frac{2nFAD_R^{1/2}C_R^*f^{1/2}}{\pi^{1/2}} \psi \quad (93)$$

De esa forma ($i_{pn} \propto (t_p)^{-1/2}$) o ($i_{pn} \propto f^{1/2}$).¹³⁵

II.3.2.6. Voltametría de onda cuadrada para procesos de electrodo con reacciones químicas homogéneas acopladas

Cuando un sistema, presenta un mecanismo EQ (electroquímico-químico), estos comprometen la reversibilidad del sistema, con lo cual, en la VOC, podría visualizarse la corriente directa y no la corriente inversa. Por lo tanto, la contribución de la corriente neta, es semejante a la contribución de la corriente directa (Figura 32).

En términos generales la cantidad ψ es simple en concepto, pero matemáticamente compleja y típica de cada sustancia en particular. Afortunadamente, existen distintas técnicas aritméticas que permiten calcular esta función, a tal punto que han sido detalladas para distintos sistemas electroquímicos. En general los ψ_1 y ψ_2 se utilizan para el estudio de mecanismos cinéticos, mientras que $\Delta\psi$ es utilizada para determinaciones cuantitativas de la especie de interés.¹³⁵

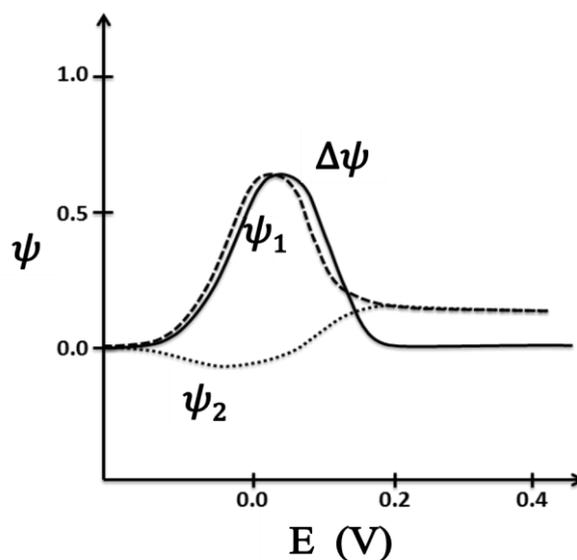


Figura 32. Voltagrama de onda cuadrada para una especie R con complicaciones de tipo EQ, donde $\Delta\psi$ es la corriente diferencial neta, ψ_1 la corriente directa (de ida) y ψ_2 la corriente inversa (de vuelta).

II.3.2.7. Electroquímica en MIs: Antecedentes

Los estudios en MIs por técnicas electroquímicas utilizando electrodos de tamaño convencional son difíciles de realizar, esto es debido al medio altamente resistivo que

presentan las MIs, ya que las mismas están formadas en solventes apolares.¹³⁷ Además, la adición de un electrolito soporte no favorece significativamente la conductividad del sistema, debido a que los mismos generalmente no se disocian en los solventes orgánicos. Por lo tanto, el uso de ultramicroelectrodos (UMEs), es una estrategia apropiada para realizar los estudios en MIs, ya que el uso de los mismos, reduce la influencia de la resistencia del medio en la señal electroquímica. Para estudiar los sistemas organizados mediante las técnicas electroquímicas es necesario el uso de moléculas electroactivas como moléculas pruebas. Las mismas, tienen como finalidad explicar sus propiedades y las del entorno que las rodea, mediante su comportamiento redox.^{79,80}

Estudios previos han sido realizados por nuestro grupo de investigación en micelas inversas de AOT y BHDC, utilizando $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ como molécula prueba. Los estudios en MIs de AOT muestran detalladamente el comportamiento electroquímico de la cupla redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a $W_0 = 10$ mediante la técnica de voltametría lineal (VL). Los resultados obtenidos variando la concentración de AOT muestran una respuesta anómala del valor de la corriente límite (i_L), ya que, al no cambiar la concentración de la molécula electroactiva se esperaría que la i_L fuera constante, pero los resultados muestran que la i_L aumenta con la concentración de AOT. Este comportamiento pudo ser explicado considerando que los iones $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ con los contraiones de K^+ , forman pares iónicos en el interior micelar, lo cual impide su descarga electroquímica y dicha asociación depende del contenido de agua en el interior micelar. Este proceso de asociación es favorecido cuando el número de ocupación de la molécula prueba es mayor a dos, debido a la baja disponibilidad del agua para la solvatación de los iones. A medida que el contenido de agua aumenta la solvatación de los iones es mayor y reduce el grado de asociación, ya que los iones $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ libres migran al corazón polar donde la respuesta electroquímica es cercana a la obtenida en agua pura. Considerando que las MIs son sistemas monodispersos y que $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ se distribuye en las mismas según la distribución de Poisson, se propuso un modelo para explicar los resultados experimentales. Este modelo permitió determinar la concentración real de especie electroactiva (no asociada con contraiones K^+), el coeficiente de difusión micelar y el radio hidrodinámico de las micelas.⁷⁹

Por otro lado, también se realizó el estudio en MIs de BHDC con $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ como molécula prueba variando la composición del solvente externo (benceno: *n*-heptano) y la de

surfactante, pero dejando constante el W_0 y la concentración de molécula prueba. Los resultados obtenidos por técnicas de DLS y electroquímicas muestran que el sistema, agua/BHDC/benceno: *n*-heptano aumenta en tamaño con el aumento de la concentración de BHDC. Este comportamiento fue inesperado ya que para los sistemas agua/BHDC/benceno el tamaño de los agregados es independiente de la concentración del surfactante. Este comportamiento obedece al cambio de solvente externo pues la mezcla benceno: *n*-heptano tiende a facilitar la asociación de las MIs para dar lugar a la formación de clústers, y se establece un equilibrio entre las MIs libres y los clústers. Con los datos obtenidos por DLS y técnicas electroquímicas se propuso un modelo matemático, con el cual se determinó el número de agregación de las MIs, el número de MIs que forman los clústers y la constante de transferencia de electrones heterogénea.⁸⁰ Con estos estudios se ha demostrado que las técnicas electroquímicas presentan como una alternativa muy interesante para investigar MIs, ya que dichos resultados no pudieron ser explicados por otras técnicas como las espectroscópicas.

II.3.2.8. Electroquímica en vesículas: Antecedentes

A diferencia de las micelas directas e inversas, las vesículas son soluciones microheterogéneas opalescentes, lo cual dificulta su caracterización por técnicas espectroscópicas. Debido a esto, las técnicas electroquímicas se proponen como una alternativa para la caracterización de estos sistemas. Cabe destacar que a diferencia de las MIs, las vesículas se encuentran dispersas en solución acuosa, por lo tanto, en estos sistemas se utilizan para su caracterización electrodos de tamaño convencional ya que, es posible la adición de electrolito soporte. En nuestro grupo de investigación se han realizado varios trabajos donde se proponen las técnicas electroquímicas como una técnica nueva en el estudio de la caracterización de vesículas.^{121,138}

Estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación, en vesículas grandes unilamelares (VGU) de DOPC, utilizando PRODAN como molécula prueba, permitieron, mediante el empleo de la técnica de voltametría cíclica (CV), estudiar el comportamiento redox de PRODAN. Estos estudios permitieron observar que la bicapa incorpora el monómero electroactivo de PRODAN, mientras que las especies agregadas quedan en la fase externa acuosa. Se planteó un modelo electroquímico que permitió determinar la constante de reparto (K_p) entre el agua y la interfaz de la bicapa de DOPC y compararla con

el obtenido por espectrofotometría. Además, se determinó el coeficiente de difusión de la vesícula y se comparó con el obtenido por la técnica de dispersión dinámica de luz, con resultados similares.¹²¹

Por otro lado, se estudió el comportamiento del 1-naftol en agua y en VGU de DOPC por las técnicas de voltametría de onda cuadrada y voltametría cíclica. En VGU de DOPC, el comportamiento redox de 1-naftol muestra que la molécula se somete a un proceso de partición entre dos pseudofases, el agua y la bicapa. La respuesta electroquímica del 1-naftol permitió proponer un modelo para explicar los resultados experimentales electroquímicos. Se determinó el valor de la constante de partición (K_p) entre las pseudofases y el coeficiente de difusión para las VGU de DOPC. Los resultados obtenidos en trabajos previos muestran que las técnicas electroquímicas son una alternativa a las técnicas convencionales comúnmente utilizadas para la caracterización de estos sistemas.¹³⁸

II.4. Moléculas pruebas

El uso de moléculas pruebas para caracterizar el microentorno de los sistemas organizados, es de gran utilidad para la comprensión de los fenómenos que ocurren dentro de estos sistemas.¹³⁹ Su localización e interacción con el microentorno que las rodea son importantes en la comprensión de muchos fenómenos que suceden en el interior de los agregados. La validez de la información obtenida depende principalmente de tres factores:^{140,141} i) la ubicación precisa de la molécula prueba, la cual debe ser conocida para lograr exactitud en la información obtenida; ii) la concentración de la misma, en lo posible mínima para evitar la perturbación del sistema a estudiar y iii) la sensibilidad de la molécula a cambios producidos en las propiedades del microentorno. En MIs las moléculas pruebas, pueden dar información muy valiosa en cuanto a su flexibilidad, su capacidad donora o aceptora de puente de H, propiedades relacionadas a su hidratación, etc. En las vesículas, las moléculas pruebas se utilizan para comprender las propiedades que presentan las bicapas como por ejemplo permeabilidad, carga superficial, micropolaridad, microviscosidad, o como modelo en el estudio de la incorporación de distintos tipos de compuestos en la bicapa.²⁶

En este trabajo, se propone utilizar las técnicas electroquímicas como una herramienta para caracterizar los sistemas organizados, por lo que el uso de moléculas electroactivas como moléculas pruebas es necesario. En este trabajo de tesis se propone utilizar como molécula prueba en micelas inversas de AOT/*n*-heptano la hidroquinona (H₂Q). La misma es una molécula electroactiva y su potencial de oxidación depende del valor de pH, de allí el interés de estudiarla en MIs de AOT. Estos estudios podrían brindar información acerca de la concentración de H⁺ en el interior micelar. Otra molécula prueba que se propone para estudiar las VGU de BHD-AOT es el naftol (*Nf*). Éste presenta emisión de fluorescencia y además es susceptible a ser oxidado, propiedades que permitirán su caracterización tanto por técnicas espectroscópicas como electroquímicas.

A continuación, se describen los aspectos más importantes de las dos moléculas pruebas utilizadas en este trabajo de tesis.

II.4.1. Hidroquinona (H₂Q)

La hidroquinona (H₂Q) es un compuesto fenólico cuyos *pKa* son 9.84 (H₂Q) y 11.40 (QH⁻).¹⁴²⁻¹⁴⁴ Esta molécula se encuentra ampliamente presente en la naturaleza y es importante por el rol biológico que juega en el ciclo de la vida de los organismos vivos.¹⁴⁵ La H₂Q presenta el típico mecanismo de electrooxidación de fenoles, donde están involucradas sucesivas transferencias de protones y electrones. Además, se ha demostrado que el predominio en dichas transferencias depende de cada especie y es función de un número de variables experimentales como el pH del medio, el potencial, el material del electrodo y el solvente.¹⁴⁶ Dada la importancia de H₂Q en sistemas biológicos durante muchos años se ha estudiado su comportamiento electroquímico,^{142, 143, 144-151, 152-156} donde se ha discutido ampliamente acerca de la reacción de oxidación de esta molécula. Se sabe que globalmente dicha reacción implica un intercambio de dos electrones y dos protones como se muestra en la Figura 33.

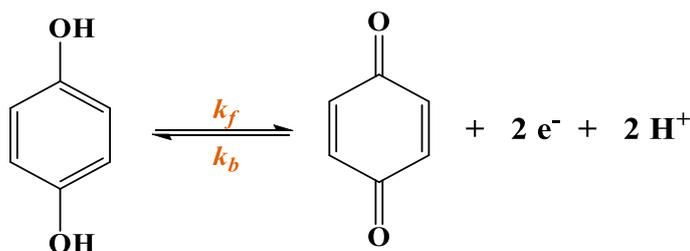


Figura 33. Mecanismo de electrooxidación global de H_2Q , condicionado por una constante k_f y k_b . Extraído de la ref.¹⁵²

La oxidación electroquímica fue estudiada desde 1904, pero fue sólo hasta 1952 donde se determinó su mecanismo de reacción, utilizando un electrodo de platino.¹⁵² Vetter concluyó que dos reacciones diferentes y consecutivas de transferencia de electrones ocurren en una amplia región de pH.¹⁴² En la Figura 34 se muestra el mecanismo de electrooxidación propuesto para un intervalo de pH entre 0 y 10. Donde H_2Q primero pierde un electrón, para formar el radical catión que rápidamente pierde un protón, éste sufre una segunda oxidación seguida de una transferencia de protones, por lo que el mecanismo propuesto para H_2Q es un EQEQ (Electroquímico, químico, electroquímico, químico). Estos estudios electroquímicos fueron corroborados por Ritchie, M. I. *et al.*, el cual propuso que el mecanismo de oxidación por debajo de pH 10 en soluciones reguladoras consiste en la transferencia de dos electrones y dos protones.¹⁵⁶ Al graficar los potenciales de media onda ($E_{1/2}$) en función de pH, observaron una dependencia lineal, con una pendiente de 60 mV/por unidad de pH.^{136,156}

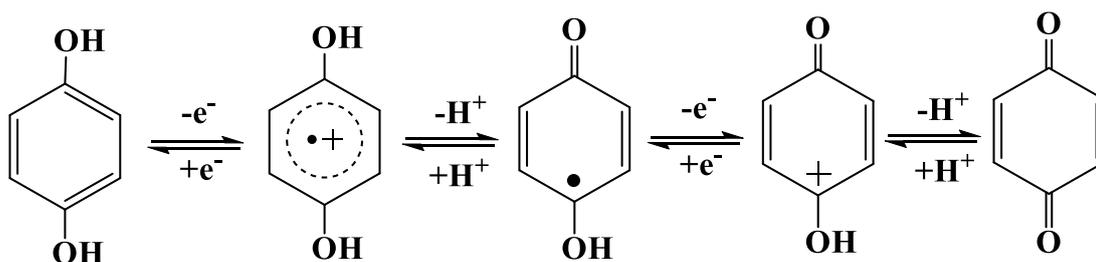
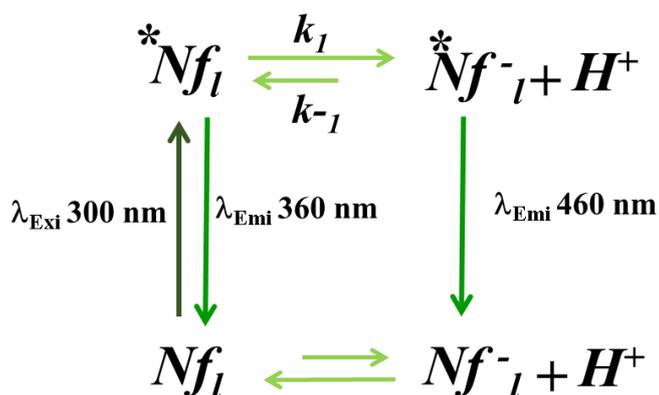


Figura 34. Mecanismo de electrooxidación de H_2Q . Extraído de la ref.¹⁵²

II.4.2. Naftol (*Nf*)

En este trabajo se utilizó como molécula prueba el 1-naftol (*Nf*) cuyo pK_a en agua es 9.36.^{157,158} Esta molécula presenta propiedades de emisión de fluorescencia y además es susceptible a ser oxidada, estas características permitieron su estudio tanto por técnicas espectroscópicas como electroquímicas. Se ha estudiado que los compuestos hidroxí -

aromáticos como el *Nf* son fuertemente ácidos en su estado excitado. El *Nf* en agua a un $\lambda_{\text{Exc}}=300$ nm absorbe luz, luego en el estado excitado transfiere rápidamente protones (pK_a 0.5) y emite preferentemente desde la especie deprotonada, el naftolato (Nf^-). La cinética de los procesos de emisión y de transferencia de protones en el estado excitado del *Nf* han sido ampliamente estudiados.¹⁵⁷⁻¹⁶⁰ En el Esquema 1 se muestra el diagrama de emisión del *Nf* en solución acuosa. De acuerdo a lo mostrado en este esquema en dicho medio a cualquier pH, debido a que el pK_a es pequeño, sólo se observa la emisión desde la especie deprotonada $*Nf^-$ a un λ_{Emi} a 460 nm.¹⁵⁷



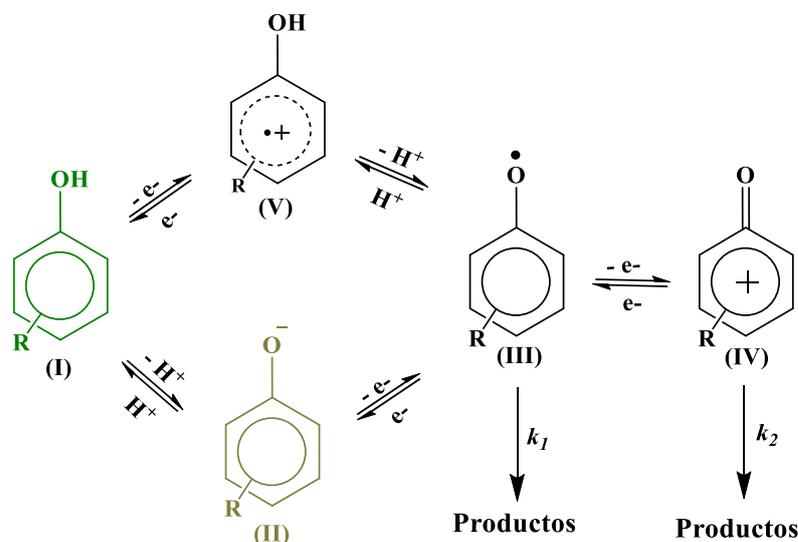
Esquema 1. Diagrama de emisión de 1-naftol en solución acuosa.

Mishra y Mohapatra,¹⁶⁰ han estudiado el comportamiento del 1-naftol en vesículas formadas por fosfolípidos como el dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) y dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC). Su estudio demostró que cuando el *Nf* se encuentra en presencia de vesículas, éste se distribuye en dos ambientes distintos. Lo cual permitió observar la emisión de las especies $*Nf$ a un λ_{Emi} a 360 nm y del $*Nf^-$ a un λ_{Emi} a 460 nm. Con el monitoreo en las bandas de emisión del $*Nf$ y el $*Nf^-$, estudiaron los cambios fisicoquímicos en las membranas de las vesículas de DMPC y DPPC.

En nuestro grupo de investigación se estudió el comportamiento del *Nf* en vesículas de DOPC, por espectroscopía de emisión y técnicas electroquímicas, y se observó un comportamiento muy similar al encontrado por Mishra y Mohapatra,¹⁶⁰ ya que en presencia de las vesículas de DOPC la banda de emisión del $*Nf$ a $\lambda_{\text{Emi}}=360$ nm es observada, además a medida que se aumentaba la concentración de fosfolípido las bandas de emisión a $\lambda_{\text{Emi}}=360$ nm y a $\lambda_{\text{Emi}}=460$ nm, aumentaban en intensidad, esto se atribuyó a que el *Nf* presenta

un proceso de reparto entre la fase acuosa y la bicapa de las vesículas de DOPC. Estos resultados permitieron determinar por primera vez, la constante de reparto del Nf en vesículas de DOPC por emisión y compararlos con los resultados obtenidos por técnicas electroquímicas.¹³⁸

Por otro lado, Nf es una molécula electroactiva que cumple con el mecanismo de electrooxidación propuesto para fenoles como se muestra en el esquema 2. Este mecanismo puede ocurrir desde su especie neutra o desde su especie deprotonada de acuerdo al pH del medio.^{136,146}



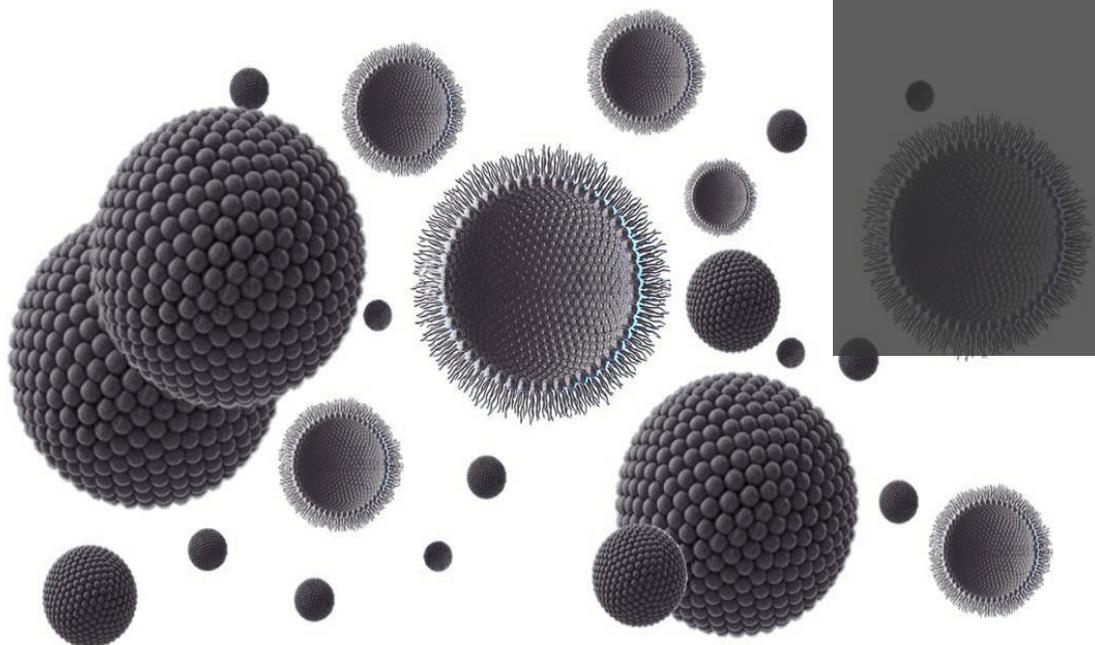
Esquema 2. Mecanismo de oxidación general de fenoles, extraído de referencia.¹⁴⁶

El mecanismo de oxidación más simple del fenol es desde su ion fenolato (II), el cual pierde un electrón pasando a radical fenol (III), este puede reaccionar para formar productos o puede sufrir una segunda oxidación y pasar a ion fenoxonio (IV), por pérdida de un electrón, esta segunda oxidación se da de acuerdo a la estabilidad del ión radical. El otro mecanismo que puede seguir el fenol es desde su estructura neutra (I), la cual por pérdida de un electrón puede oxidarse y formar el radical catiónico (V), esta es una especie fuertemente ácida, ya que sus valores de pK_a están entre 2 y 0,^{136,146} debido a esto el radical catiónico se deprotona rápidamente para formar el fenol radical (III), que de acuerdo a su estabilidad, se oxida a ion fenoxonio (IV) o forma productos. Estos productos formados a través de los diferentes mecanismos carecen de actividad electroquímica (capacidad para oxidarse o reducirse) en los intervalos de potencial cercanos a los que dieron su origen. Por ejemplo, el radical fenol oxidado, en la mayoría de los casos es irreversible esto se da debido a la

competencia cinética entre la formación de productos, la velocidad y magnitud del potencial de reducción. Debido a estas reacciones químicas complejas en los mecanismos de oxidación de los fenoles, se puede decir que los potenciales de pico E_p , no solo dependen del pH del medio, sino también de la concentración de la especie electroactiva.¹³⁶

CAPÍTULO III

Metodología Experimental



CAPÍTULO III:

III. Metodología experimental

III.1. Reactivos, materiales y equipos

III.1.1. Reactivos para los estudios electroquímicos de H₂Q en MIs de AOT

El solvente *n*-heptano, de calidad HPLC con un 99.9% de pureza, se obtuvo de *Merck*®. La hidroquinona (H₂Q), con una pureza de 99% se obtuvo de *Sigma-Aldrich*. El surfactante, NaAOT se obtuvo de *Sigma-Aldrich* (pureza >99%). Las soluciones reguladoras acuosas a diferentes valores de pH se obtuvieron de *Merck*® y el K₄[Fe(CN)₆] con una pureza de 99%, se obtuvo de *Mallinckridt*. El pH se ajustó con NaOH y HCl de *Sigma-Aldrich* (pureza > 99%).

III.1.2. Reactivos para los estudios espectroscópicos y electroquímicos de *Nf* en VGU de BHD-AOT

Las soluciones stock fueron preparadas utilizando cloroformo de calidad HPLC con un 99.9% de pureza de *Sintorgan*. La molécula prueba 1-naftol (*Nf*) con un 99% de pureza se obtuvo de *Sigma-Aldrich*. Los surfactantes utilizados fueron el 1,4-bis (2-etil-hexil) sulfosuccinato de sodio (NaAOT) y el cloruro de bencil-dimetil-*n*-hexadecilamonio (BHDC) de *Sigma-Aldrich* (pureza >99%). Para la síntesis del surfactante BHD-AOT, se utilizó como solvente diclorometano de calidad HPLC con un 99.9% de pureza de *Sintorgan*. Se utilizó la enzima fosfatasa alcalina (AP) y el sustrato 1-naftilfosfato de sodio (1-NP) de *Sigma-Aldrich* (pureza >99%). Como electrolito soporte se usó, LiClO₄ con una pureza de 99% de *Mallinckrodt* y *Fluka*. El pH se ajustó con NaOH de *Sigma-Aldrich* (pureza > 99%).

Para todas las experiencias los surfactantes se guardaron bajo vacío sobre P₂O₅ para minimizar la presencia de agua. Se utilizó agua ultrapura obtenida de un equipo *Labonco 90901-01*. Para todas las experiencias se empleó material de vidrio volumétrico tipo A.

III.1.3. Técnicas, materiales y equipos

Los voltogramas lineales, se realizaron en un potenciostato AUTOLAB PGSTAT30, controlado por GPES 4.8, se trabajó en un intervalo de potencial entre -0.2 y 1.2 V, a una velocidad de barrido de 0.010 V s^{-1} . Los electrodos utilizados fueron: un ultramicroelectrodo (UME) de disco de platino (Pt) de radio $1.40 \times 10^{-5} \text{ cm}$, como electrodo de trabajo, un electrodo de referencia Ag/AgCl y un electrodo de Pt de gran área como contraelectrodo. Antes de cada experiencia en MIs el electrodo de trabajo fue pulido, lavado y posteriormente se registraron VL en una solución de $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ de concentración conocida hasta la obtención de superficies con áreas reproducibles. El electrodo de referencia Ag/AgCl, se midió periódicamente contra un electrodo de calomel saturado para verificar su correcto funcionamiento.

Los voltogramas de onda cuadrada y cíclica, fueron tomados con un potenciostato AUTOLAB PGSTAT30, controlado por GPES 4.8, utilizando una celda de tres electrodos. Los parámetros utilizados en los VOC fueron: amplitud de potencial (ΔE_{sw}) de 0.025 V, un incremento de potencial (ΔE_s) de 0.005 V y una frecuencia (f) de 20 Hz. El electrodo de trabajo fue, un disco de platino (Pt) (área = 0.126 cm^2), el cual fue pulido y lavado de tal forma que se obtuvieron superficies con áreas reproducibles. Se empleó como electrodo de referencia Ag/AgCl, como contra electrodo uno de Pt de gran área y como electrolito soporte una solución 0.05 M de LiClO_4 . Para la voltametría cíclica se trabajó en un intervalo de potencial entre 0.0 y 1.2 V, a una velocidad de barrido de 0.50 V s^{-1} , los electrodos utilizados fueron los mismos que se utilizaron para VOC, al igual que el electrolito soporte.

Las experiencias por espectroscopía de absorción se realizaron en un equipo *Shimadzu* 2401, con una celda de paso óptico de 1.0 cm. Para las experiencias de absorción realizadas en vesículas se acopló una celda de reflectancia difusa (esfera integradora) que permitió eliminar el efecto de dispersión de la luz causado por la turbidez de las soluciones. Las experiencias de emisión fueron realizadas en un equipo *Spex Fluoromax* con una celda de paso óptico de 1 cm. El diámetro de las vesículas, fue obtenido en un equipo de dispersión dinámica de luz (*light Scattering Malvern 4700*), equipado con un láser de ion Argón ($\lambda=488\text{nm}$). Todas las medidas fueron realizadas a un ángulo de dispersión de 90° . Para realizar las medidas de las soluciones vesiculares, primero se filtró 5 veces la solución de

LiClO₄ (0.05M), utilizando filtros *Varian Nylon-66* de tamaño de poro 0.46 μm (*Sigma-Aldrich*) con el fin de eliminar cualquier partícula que causara error en la medición, previamente filtrada la solución de LiClO₄, se colocó en una celda de cuarzo con paso óptico de 1 cm y se adicionó aproximadamente 10 μL de solución vesicular. Se realizaron 30 medidas y se informó el resultado que presentara el menor índice de polidispersidad. Los valores de pH fueron medidos con pH-metro *Radiometer PHM64* calibrado con soluciones amortiguadoras. Todos los experimentos se realizaron a 25.0 ± 0,1 °C y los cálculos y análisis de los resultados fueron realizados con OriginPro 8.0.

III.2. Síntesis del surfactante catiónico BHD-AOT

La síntesis del surfactante catiónico 1,4-bis (2-etil-hexil) sulfosuccinato de bencil-dimetil-n-hexadecilamonio, BHD-AOT (Figura 35), se realizó por el método de extracción.²⁷ Se prepararon soluciones en dicloroetano del surfactante aniónico AOT y del catiónico BHDC (solvente en el que ninguno de los dos surfactantes forma micelas inversas), las soluciones se mezclaron y se dejó la mezcla en agitación por tres días a temperatura ambiente. La agitación ayuda a la formación del surfactante catiónico ya que durante este proceso aparece un precipitado blanco, debido a la formación de cloruro de sodio, que proviene de los contraiones de los respectivos surfactantes, con lo cual en el nuevo surfactante, el AOT termina siendo el contraión del BHD y viceversa.

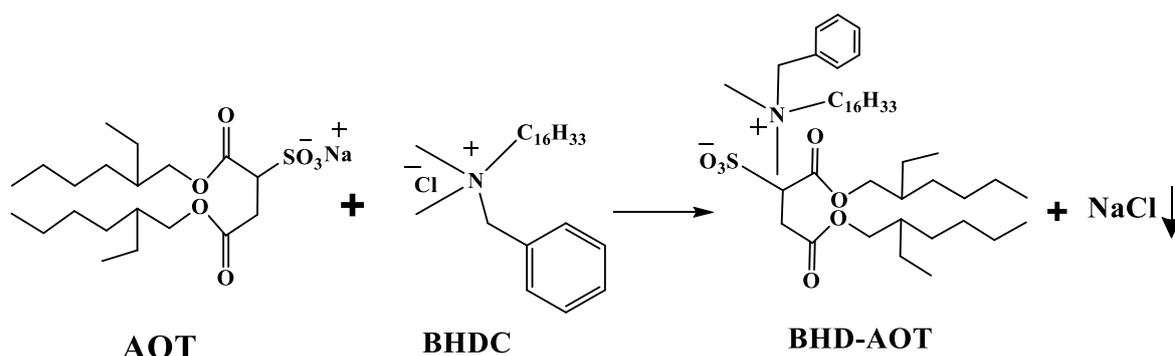


Figura 35. Esquema de la reacción del surfactante BHD-AOT.

Para eliminar el cloruro de sodio se dejó decantar la solución durante tres días en frío. Luego se separó la sal formada del surfactante y posteriormente se purificó. Esta purificación se realizó pasando el BHD-AOT a una ampolla de decantación, donde se realizaron varias extracciones con agua, manteniendo una relación 1:100 con la fase orgánica. Una vez

terminadas las extracciones, se evapora el dicloroetano utilizando presión reducida, obteniéndose un líquido transparente, altamente viscoso, el cual se seca al vacío, durante varios días, hasta registrar peso constante, teniendo un rendimiento promedio del 88%.^{31,125}

III.3. Procedimientos

III.3.1. Preparación de las soluciones acuosas de hidroquinona (H₂Q)

Se preparó una solución stock 0.55 M de H₂Q en H₂O. Se transfirió a un matraz la cantidad apropiada de la solución para obtener una concentración de H₂Q aproximadamente 8.0×10^{-3} M, en soluciones reguladoras a diferentes valores de pH en un intervalo de 1.0 a 7.0.

III.3.2. Preparación de soluciones de hidroquinona (H₂Q) en micelas de AOT/ *n*-heptano

Las soluciones micelares de AOT/*n*-heptano, fueron preparadas por pesada y dilución volumétrica. Se preparó una solución stock 0.55 M de H₂Q en H₂O y se adicionó un dado volumen de esta solución a la mezcla AOT/*n*-heptano, para obtener una concentración 1.0×10^{-2} M de H₂Q dejando el sistema en un $W_0=10$.

Para los estudios del comportamiento electroquímico de H₂Q en MIs de AOT, se realizaron tres experiencias: En la primera, se prepararon soluciones a diferentes concentraciones de AOT y se dejó fijo el W_0 ($W_0=10$) y la concentración de H₂Q (1.0×10^{-2} M). En la segunda, se prepararon soluciones a diferentes concentraciones de H₂Q y se dejó fija la concentración de AOT (0.1 M) y el W_0 ($W_0=20$). En la tercera experiencia se prepararon diferentes soluciones con una concentración fija de AOT (0.1 M) y de H₂Q (1.0×10^{-2} M) y se varió el W_0 . Para la variación del W_0 , se adicionó agua con una micropipeta calibrada y el contenido de agua en el sistema se expresó según la ecuación (2), como la relación molar entre el agua y la concentración de surfactante.

III.3.3. Preparación de soluciones de hidroquinona (H₂Q) en micelas de AOT/ *n*-heptano/soluciones reguladoras

Las soluciones micelares de AOT en *n*-heptano, fueron preparadas por pesada y dilución volumétrica. Se preparó una solución stock 0.55 M de H₂Q en soluciones reguladoras a diferentes valores de pH (1.60-12.14) y se adicionó un dado volumen de esta solución a la mezcla AOT/*n*-heptano, para obtener una concentración 1.0×10^{-2} M de H₂Q y H₂O hasta alcanzar un $W_0=20$.

III.3.4. Preparación de soluciones de 1-naftol y 1-naftolato en LiClO₄ 0.05 M

Se preparó una solución stock de *Nf* 0.01 M en cloroformo. Se transfirió a un matraz la cantidad apropiada de la solución para obtener una concentración de *Nf* aproximadamente 1.0×10^{-4} M y 2.0×10^{-3} M. El cloroformo fue evaporado con nitrógeno gaseoso, luego se enrasó con una solución acuosa de LiClO₄ 0.05 M. Las soluciones de *Nf*⁻ se prepararon siguiendo el mismo procedimiento y se modificó el pH con NaOH 0.5 M.

III.3.5. Preparación de soluciones de 1-naftol y 1-naftolato en VGU de BHD-AOT

Las soluciones de BHD-AOT se prepararon en una solución de LiClO₄ 0.05 M, por pesada y dilución. Para encapsular el *Nf* dentro de las VGU de BHD-AOT, se preparó una solución de *Nf* 2.0×10^{-3} M, para las técnicas electroquímicas y de 1.0×10^{-4} M para las experiencias por espectroscopía de absorción y de emisión, como se explicó anteriormente (Sección III.3.4). Luego se pesó la cantidad suficiente de BHD-AOT para obtener una concentración final de 2.0 mg mL^{-1} y se adicionó la solución de LiClO₄ (0.05 M) con *Nf* (1.0×10^{-4} M / 2.0×10^{-3} M) para formar la solución de vesículas, la cual se agitó manualmente hasta obtener una solución opalescente. A diferencia de las soluciones de vesículas unilamelares formadas por fosfolípidos, las vesículas de BHD-AOT se forman espontáneamente sin aplicar tratamientos físicos al sistema.³¹ Las diferentes concentraciones de BHD-AOT se prepararon a partir de la solución de BHD-AOT de 2.0 mg mL^{-1} , diluyendo con la solución de LiClO₄ (0.05 M) y *Nf*. Las soluciones de *Nf*⁻ se realizaron siguiendo el mismo procedimiento y se modificó el pH con NaOH 0.5 M.

III.3.6. Preparación de soluciones de 1-naftolato encapsulado en VGU de BHD-AOT

Para preparar las soluciones Nf^- encapsulado en VGU de BHD-AOT, se preparó una solución de Nf 2.0×10^{-3} M, como se explicó anteriormente (Sección III.3.4). Luego se pesó la cantidad suficiente de BHD-AOT para obtener una concentración final de 2.0 mg mL^{-1} y se adicionó la solución de LiClO_4 (0.05 M) a pH 10.75 con Nf 2.0×10^{-3} M, previamente preparada y se agitó manualmente hasta obtener una solución opalescente. Una vez formadas las VGU de BHD-AOT, se elimina el Nf^- presente en la fase acuosa externa. Para llevar a cabo esto, se realizó una separación a través de una columna de exclusión de tamaño, cuya fase estacionaria está compuesta por un polímero entrecruzado de dextranos (Sephadex G50) y como fase móvil una solución de LiClO_4 (0.05 M) a pH 10.75. Para realizar la separación se incorporan 2.0 mL de la solución vesicular en la columna y se van recolectando inmediatamente las fracciones en viales de 2.0 mL. A cada una de las fracciones se les midió la turbidez por espectroscopía U.V, entre las longitudes de onda de 200 y 300 nm. Con los resultados obtenidos por U.V se determinó que la fracción número cuatro presenta mayor concentración de vesículas (mayor turbidez). Con la fracción número cuatro se realizaron los voltagramas de onda cuadrada en el tiempo, con el fin de determinar la cantidad de Nf^- encapsulado en VGU.

III.3.7. Procedimiento experimental para el estudio de la cinética del 1-NP catalizado por la enzima AP en VGU de BHD-AOT

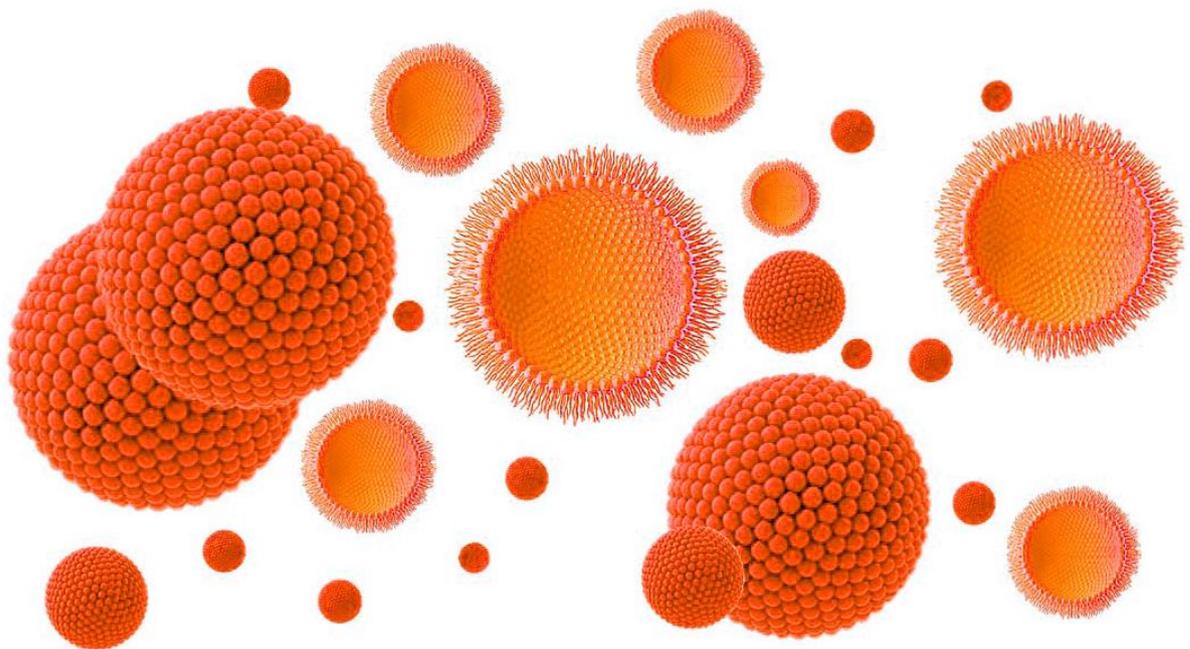
Para el estudio cinético de la reacción entre el sustrato 1-naftilfosfato de sodio (1-NP) y la fosfatasa alcalina (AP) en VGU de BHD-AOT, se preparó una solución stock 4.0×10^{-5} M de AP, en LiClO_4 0.05 M a pH 10.75. Se transfirió a un matraz la cantidad apropiada de la solución de AP para obtener una concentración de 1.0×10^{-7} M. Luego se pesó la cantidad suficiente de BHD-AOT para obtener una concentración final de 2.0 mg mL^{-1} , a la cual se le adicionó la solución de LiClO_4 con la enzima AP (1.0×10^{-7} M) y se agitó manualmente hasta obtener una solución opalescente. Después de formar las vesículas, se debe eliminar la enzima que no fue encapsulada en el interior de las VGU. Para ello se realiza el procedimiento de separación a través de una columna de exclusión de tamaño, cuya fase estacionaria está compuesta por un polímero entrecruzado de dextranos (Sephadex G50) y como fase móvil una solución de LiClO_4 (0.05 M) a pH 10.75. Para realizar la separación, se incorporan 2.0 mL de la solución vesicular en la columna y se van recolectando

inmediatamente las fracciones en viales de 2.0 mL. A cada una de las fracciones se les midió la turbidez por espectroscopía U.V, entre las longitudes de onda de 200 y 300 nm. Con los resultados obtenidos por U.V se determinó que la fracción número cuatro presenta mayor concentración de vesículas (mayor turbidez). A la fracción número cuatro se le adicionó la cantidad apropiada de solución stock de 1-NP (0.01 M) para obtener concentraciones entre 7.45×10^{-4} M - 4.95×10^{-3} M. Una vez adicionada la cantidad apropiada de solución de 1-NP sobre la fracción número cuatro, se realizaron los voltagramas de onda cuadrada entre 0.0 V y 0.5 V con una ΔE_{sw} de 0.025 V, un ΔE_s de 0.005 V, a una f de 20 Hz por 60 minutos, cada 3 minutos aproximadamente. Cada voltograma se realizó en las mismas condiciones y el electrodo de Pt, se pulió y lavó para cada medida con el fin de mantener limpia la superficie electroactiva del electrodo.

Para los estudios por espectroscopía de absorción se siguió el mismo procedimiento, pero se diluyó a la mitad la concentración final de la solución de VGU de BHD-AOT (1.0 mg mL^{-1}). Luego de eliminar la enzima que no fue encapsulada en el interior de las VGU, a la fracción número cuatro se le adicionó la cantidad apropiada de solución stock de 1-NP (0.01 M) para obtener una concentración de 2.50×10^{-5} M. Una vez adicionada la cantidad apropiada de solución de 1-NP sobre la fracción número cuatro, se realizaron espectros de absorción en el tiempo, siguiendo la banda de absorción del Nf^- a $\lambda_{Abs}=332 \text{ nm}$.

CAPÍTULO IV

Resultados y Discusión



CAPÍTULO IV:

IV. Resultados y discusión

En este trabajo de tesis se estudiaron dos sistemas organizados, MIs de AOT/*n*-heptano y vesículas de BHD-AOT, ambos sistemas con propiedades fisicoquímicas diferentes. Los resultados que se muestran a continuación se encuentran divididos en dos secciones. En la primera sección, se muestran los estudios concernientes al estudio electroquímico de H₂Q en MIs de AOT y los estudios de la caracterización de la transferencia de carga de H₂Q en MIs. En la segunda sección, se muestran los estudios electroquímicos y espectroscópicos del *Nf* en VGU de BHD-AOT y la determinación del coeficiente de permeabilidad del 1-NP en este sistema. Todos estos estudios se realizaron para caracterizar sistemas organizados por métodos electroquímicos como una alternativa a las técnicas convencionales de caracterización de los mismos.

IV.1. Micelas inversas

En esta primera parte del trabajo de tesis se muestran los resultados concernientes al estudio en MIs de AOT/*n*-heptano, utilizando como molécula prueba H₂Q. Primero se muestran los resultados de H₂Q en agua a diferentes valores de pH, con el fin de corroborar el comportamiento electroquímico de H₂Q en los intervalos de pH propuestos para su estudio en MIs. Con los resultados obtenidos se prosigue con el estudio electroquímico de H₂Q en MIs de AOT/*n*-heptano. Finalmente, se realiza la caracterización de la transferencia de carga de H₂Q en MIs.

IV.1.1. Comportamiento electroquímico de H₂Q en agua por voltametría lineal

A continuación, se muestran los estudios de H₂Q en agua con la variación del pH del medio mediante la técnica de voltametría lineal (VL), usando un ultramicroelectrodo (UME) de disco de Pt. La Figura 36, muestra el gráfico correspondiente a la VL para H₂Q en agua pura con un UME de Pt, en ausencia de electrolito soporte. Como se observa el voltograma presenta un perfil en condiciones de estado estacionario. De dicho voltograma se obtiene el potencial de media onda ($E_{1/2}$), cuyo valor es aproximadamente de 0.34 V y el coeficiente

de difusión de H_2Q en agua (D_{H_2Q}) cuyo valor fue $1.74 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, para un radio de $1.40 \times 10^{-5} \text{ cm}$, una concentración de $H_2Q = 8 \times 10^{-3} \text{ M}$ y una $i_L = 1.49 \times 10^{-9} \text{ A}$, el cual fue calculado empleando la ecuación (58).

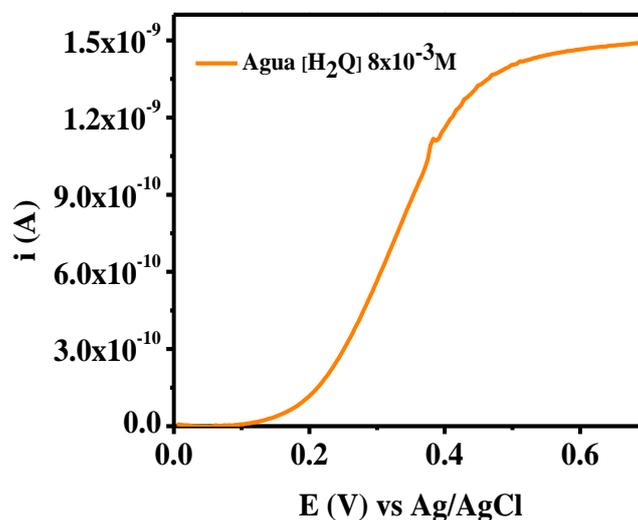


Figura 36. Voltagrama lineal de H_2Q en agua. $[H_2Q] = 8 \times 10^{-3} \text{ M}$, $v = 0.010 \text{ V s}^{-1}$, electrodo de trabajo UME disco de Pt.

Dada la dependencia de la transferencia de carga de H_2Q con los cambios de pH del medio, se estudia el comportamiento electroquímico de H_2Q en soluciones reguladoras a diferentes valores de pH, por VL. Este estudio se realizó con el fin de determinar los valores del $E_{1/2}$ para cada valor de pH y compararlos con estudios previos informados en la bibliografía.^{136,156} En la Figura 37 se muestran algunos gráficos correspondientes a la VL de H_2Q , en un intervalo de pH entre 1.0 y 7.0. Como se observa a medida que aumenta el valor del pH en las soluciones, el valor del $E_{1/2}$ se va desplazando a menores potenciales y las i_L aumentan. Estos cambios en los valores de $E_{1/2}$ y las i_L están relacionados con el complejo mecanismo de electrooxidación de H_2Q , el cual ha sido ampliamente estudiado.¹⁴²

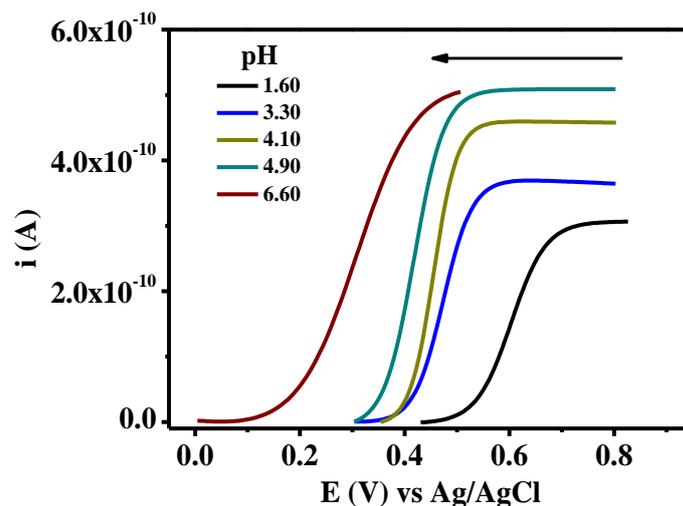


Figura 37. Voltagramas lineales de H_2Q a diferentes valores de pH. $[H_2Q]=8 \times 10^{-3}$ M, $v=0.010$ V s^{-1} , electrodo de trabajo UME disco de Pt.

En la Figura 38, se muestran los valores del $E_{1/2}$ obtenidos experimentalmente en función del pH del medio. Se observa claramente como los valores del $E_{1/2}$ exhiben una fuerte dependencia con el pH. Con el fin de corroborar el mecanismo global de oxidación mostrado en la Figura 33, se realizó un ajuste lineal a los datos experimentales, del cual se obtuvo un valor de pendiente de -0.061 ± 0.001 V por unidad de pH. Este valor confirma que en este intervalo de pH, H_2Q presenta una transferencia de dos electrones y dos protones, lo cual concuerda con lo obtenido por otros autores.^{142,156}

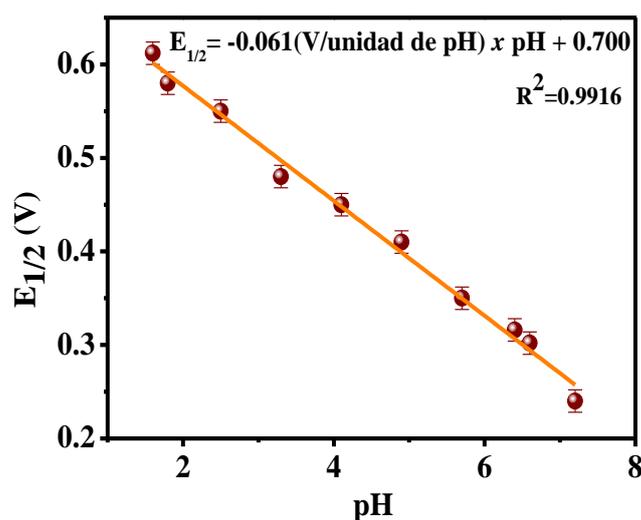


Figura 38. Diagrama $E_{1/2}$ vs pH de H_2Q . $[H_2Q]=8 \times 10^{-3}$ M, $v=0.010$ V s^{-1} , electrodo de trabajo UME disco de Pt. (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales.

Con los resultados, en solución acuosa en los intervalos de pH propuestos, se prosigue con el estudio en micelas inversas de AOT/*n*-heptano, los cuales se describen y discuten a continuación.

IV.1.2. Estudio electroquímico de H₂Q en micelas inversas de AOT

Para el estudio del comportamiento electroquímico de H₂Q en MIs de AOT/*n*-heptano se realizan tres estudios diferentes. En el primer estudio se varía la concentración de surfactante y se trabaja a W_0 y concentración de H₂Q constante. Para el segundo estudio se varía la concentración de H₂Q y se trabaja a concentración de surfactante y el W_0 constante. Para el tercero, se varía el W_0 y se trabaja a concentración de surfactante y H₂Q constante. Estos estudios se realizan con el fin de observar el cambio en el comportamiento electroquímico de H₂Q, cuando se encuentra confinada en las MIs.

El primer estudio realizado, fue la variación de la concentración de AOT, con el fin de estudiar el comportamiento de H₂Q al aumentar la concentración de MIs. Este estudio se lleva a cabo para corroborar la posibilidad de un reparto de H₂Q en presencia de las MIs y en consecuencia, poder inferir un posible sitio de localización de la misma. En la Figura 39, se muestran los gráficos correspondientes a los voltogramas lineales a diferentes concentraciones de surfactante a $W_0=10$. Se observa que el valor del $E_{1/2}$ es aproximadamente 0.53 V y prácticamente no hay variación en los valores de las i_L obtenidas para todas las concentraciones de AOT. Estos resultados podrían indicar que el aumento en la concentración de MIs no afecta la descarga electroquímica de H₂Q y la misma en presencia de las MIs no presenta un proceso de reparto; ya que si la misma estuviera dentro y fuera de la MIs, se deberían considerar dos coeficientes de difusión en la ecuación (58), lo cual resultaría en un cambio en las i_L .

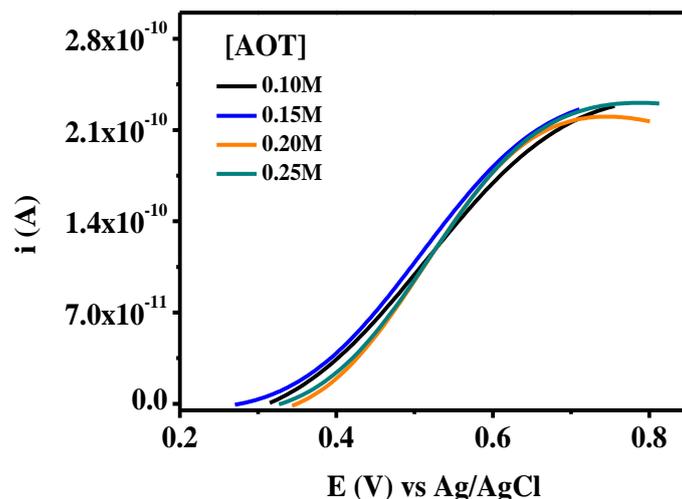


Figura 39. Voltagramas lineales de H_2Q en MIs de AOT a $W_0=10$. $[H_2Q]=1 \times 10^{-2}$ M, $v=0.010$ V s^{-1} , electrodo de trabajo UME disco de Pt.

El segundo estudio realizado, fue la variación de la concentración de H_2Q . Estos estudios se realizan con el fin de determinar si H_2Q , en presencia de las MIs, presenta procesos de asociación debido al confinamiento, que afectan la descarga electroquímica de la misma. En la Figura 40, se muestran los gráficos correspondientes a los voltagramas lineales para diferentes concentraciones de H_2Q a $W_0=20$. Se observa que el valor del $E_{1/2}$ es aproximadamente el mismo. Además, los valores de las i_L obtenidas incrementan con el aumento de las concentraciones de H_2Q .

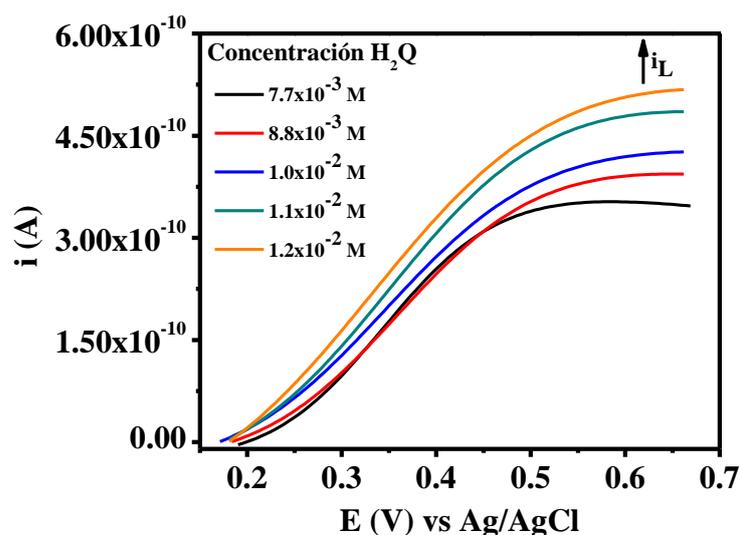


Figura 40. Voltagramas lineales de H_2Q en MIs de AOT variando la $[H_2Q]$. $W_0=20$, $v=0.010$ V s^{-1} , electrodo de trabajo UME disco de Pt.

En la Figura 41, se muestran los valores de la i_L obtenidas experimentalmente en función de la concentración de H_2Q . Se observa que los valores de i_L son directamente proporcionales a la concentración de H_2Q . Estos resultados indicarían que cuando H_2Q se encuentra confinada dentro de las MIs no sufre ningún proceso de asociación consigo misma en el intervalo de concentraciones estudiadas, como sí sucede con otras moléculas electroactivas confinadas en sistemas organizados.⁷⁹ Es decir, todas las moléculas de H_2Q dentro de las MIs son electroactivas.

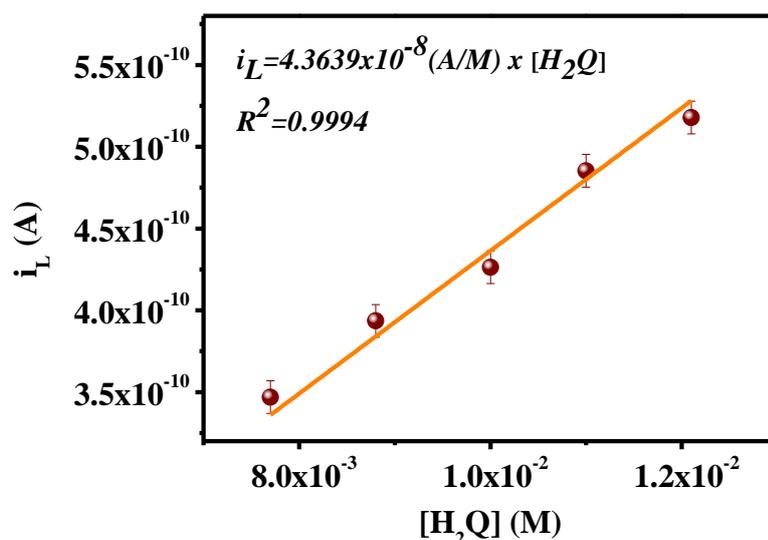


Figura 41. Dependencia i_L vs la concentración de H_2Q . $v=0.010 \text{ V s}^{-1}$, electrodo de trabajo UME disco de Pt. (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales.

Debido a que se ha demostrado que las MIs de AOT presentan diferentes propiedades dependiendo del contenido acuoso,^{59,60,100–103} se realiza el tercer estudio en MIs variando el W_0 a una concentración constante de AOT y de H_2Q . En la Figura 42, se muestran algunos gráficos correspondientes a la descarga H_2Q para diferentes valores de W_0 y $[H_2Q]$ constante. Estos datos muestran que el agregado de agua dentro de las MIs afecta el comportamiento electroquímico de la misma, ya que el valor del $E_{1/2}$ y la i_L cambian a medida que se aumenta la cantidad de agua dentro de las MIs.

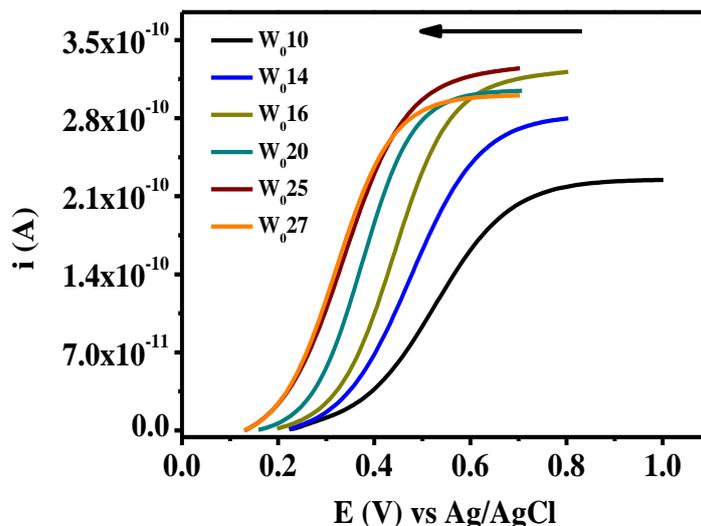


Figura 42. Voltagramas lineales de H_2Q en MIs de AOT variando el W_0 . $[AOT]=0.10$ M $[H_2Q]=1 \times 10^{-2}$ M, $v=0.010$ V s^{-1} , electrodo de trabajo UME disco de Pt.

En la Figura 43, se muestran los valores experimentales del $E_{1/2}$ para cada W_0 . Se puede observar que el valor del $E_{1/2}$ va disminuyendo con el agregado de agua. A $W_0=10$ el valor del $E_{1/2}$ es de 0.53 V y a $W_0=25$ y 27, el $E_{1/2}$ es 0.35 V. Estos últimos potenciales son muy cercanos al que se obtiene en agua pura, cuyo valor fue de aproximadamente 0.34 V.

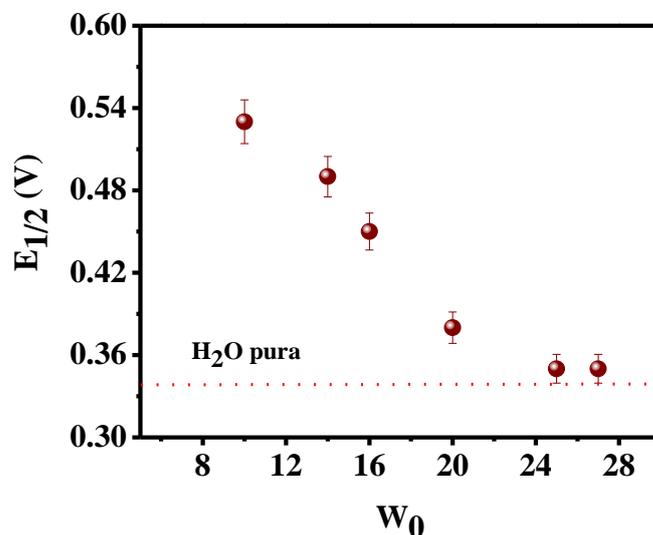


Figura 43. Dependencia del $E_{1/2}$ de H_2Q en MIs de AOT Sobre el W_0 . $[AOT]=0.10$ M $[H_2Q]=1 \times 10^{-2}$ M, $v=0.010$ V s^{-1} , electrodo de trabajo UME disco de Pt.

Por lo tanto, los estudios realizados para H_2Q en MIs de AOT, muestran: Primero, que la concentración de AOT, no afecta el comportamiento electroquímico de H_2Q y la misma en presencia de las MIs no presenta un proceso de reparto. Segundo, H_2Q no sufre ningún

proceso de asociación en presencia de las MIs y todas las moléculas confinadas de H₂Q son electroactivas. Tercero, el mecanismo de electrooxidación de H₂Q se ve afectado con el agregado de agua en las MIs (variación del W₀).

Con el fin de comprender y analizar el comportamiento de H₂Q en presencia de las MIs variando el W₀, se graficaron los voltagramas lineales para las soluciones reguladoras a diferentes valores de pH y para las MIs a diferentes W₀. En la Figura 44, se muestran algunos voltagramas lineales experimentales obtenidos, de los cuales se evidencian tres aspectos: primero, que las pendientes de los voltagramas en las MIs presentan un cambio con respecto a los voltagramas lineales en soluciones reguladoras acuosas. Segundo, se observa una tendencia creciente de la i_L tanto en MIs a mayor W₀, como en soluciones reguladoras a mayor pH. Tercero, a medida que se aumenta el W₀, los valores del $E_{1/2}$ se hacen menos positivos en los voltagramas lineales registrados en las MIs. Por último, cabe resaltar que las i_L correspondientes a los voltagramas lineales registrados en MIs son menores que en las obtenidas en medio acuoso. Esto se debería a que los coeficientes de difusión en el primer caso son menores porque H₂Q difunde hacia el electrodo dentro de la MIs. Analizar todos estos aspectos podría brindar información para caracterizar la descarga de H₂Q en las MIs.

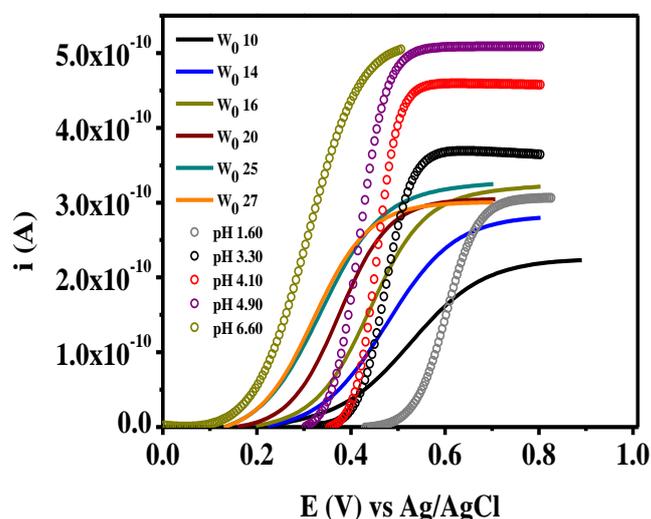


Figura 44. Voltagramas lineales de (○) H₂Q en solución acuosa a diferentes valores de pH ([H₂Q]= 8×10^{-3} M) y (—) H₂Q en MIs de AOT variando el W₀. [AOT]=0.10 M [H₂Q]= 1×10^{-2} M. $v=0.010$ V s⁻¹, Electrodo de trabajo UME disco de Pt.

IV.1.3. Caracterización de la transferencia de carga

Las técnicas electroquímicas han sido utilizadas para estudiar y comprender los procesos de transferencia de electrones en muchos sistemas, por lo que son de gran ayuda para comprender el comportamiento electroquímico de H₂Q dentro de las MIs de AOT. Como se discutió anteriormente, H₂Q presenta un mecanismo de electrooxidación complejo que depende del valor del pH del medio.¹⁴⁶ Los voltagramas lineales experimentales obtenidos obedecen al mecanismo global de reacción expresado en la Figura 33, donde H₂Q transfiere dos electrones y dos protones. Este mecanismo fue corroborado previamente con los estudios realizados a diferentes valores de pH en solución acuosa.

Como se discutió anteriormente, en la Figura 44 se muestran dos aspectos muy importantes del comportamiento de H₂Q en presencia de las MIs. Primero, un cambio en la pendiente de los voltagramas lineales con respecto a los voltagramas en solución acuosa. El segundo aspecto, el desplazamiento del valor del $E_{1/2}$ con el aumento de agua dentro de las MIs. Estos resultados muestran que las MIs de AOT tienen un efecto termodinámico y cinético sobre la transferencia de electrones de H₂Q cuando se aumenta el W_0 . El efecto termodinámico se evidencia con el desplazamiento de los potenciales a valores menores con el aumento del W_0 (Figura 43), lo cual implica que el sistema necesita menos energía para que la transferencia ocurra, es decir que es más favorable termodinámicamente. En cuanto al efecto cinético se evidencia en un cambio en las pendientes de los voltagramas en presencia de las MIs, este cambio predice cuán rápida es esa transferencia electrónica con el aumento del W_0 . Estos cambios en los perfiles de corriente en función del potencial pueden ser aproximados a un comportamiento cuasi reversible para la reacción global de transferencia de carga (Figura 33) y podrían ser descritos a través de la ecuación (76). La determinación de las constantes de transferencia (k^0) los potenciales formales (E_f^0) y los coeficientes de transferencia de carga (α) aparentes, serán determinados para el mecanismo global de reacción a través del análisis de los voltagramas lineales para cada W_0 en MIs y en agua pura.

A cada voltagrama normalizado con respecto a la i_L en MIs variando el W_0 se le realiza un ajuste no lineal con la ecuación (76), este ajuste también se le realizó al voltagrama en agua pura con el fin de comparar y analizar el efecto de las MIs sobre la descarga de H₂Q.

En la Figura 45, se muestra el voltagrama lineal normalizado de H₂Q en agua pura, donde se observa la comparación de los datos experimentales, con el ajuste no lineal correspondiente, empleando la ecuación (76) para un sistema cuasi reversible. El ajuste muestra una buena concordancia entre los datos experimentales y el ajuste no lineal. Este ajuste permitió determinar los valores aparentes de E_f^0 , k^0 y α , para H₂Q en agua pura.

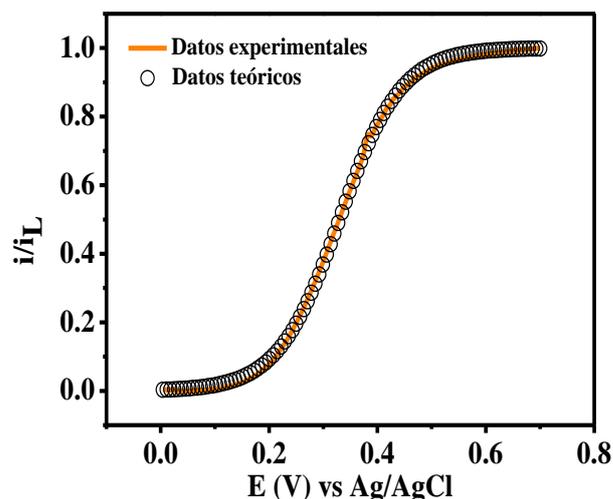


Figura 45. Voltagrama lineal de H₂Q 8.0×10^{-3} M en solución acuosa. $V=0.01 \text{ V s}^{-1}$, (—) datos experimentales (○) ajuste realizado con la ecuación (76).

Se normalizó cada voltagrama de H₂Q en MIs de AOT a diferentes W_0 y se le realiza un ajuste no lineal con la ecuación (76). La Figura 46 muestra los voltagramas lineales normalizados para cada W_0 con su correspondiente ajuste no lineal, los cuales muestran una excelente concordancia. En este caso como H₂Q difunde junto con la micela, el valor del coeficiente de difusión en la ecuación (76) será el de la MIs a un dado W_0 , este valor fue determinado previamente por técnicas electroquímicas por Molina, P.G. *et al.*⁷⁹ Se realizaron los ajustes y se determinaron los valores aparentes del E_f^0 , k^0 y α para H₂Q en MIs de AOT a diferentes W_0 para la reacción global.

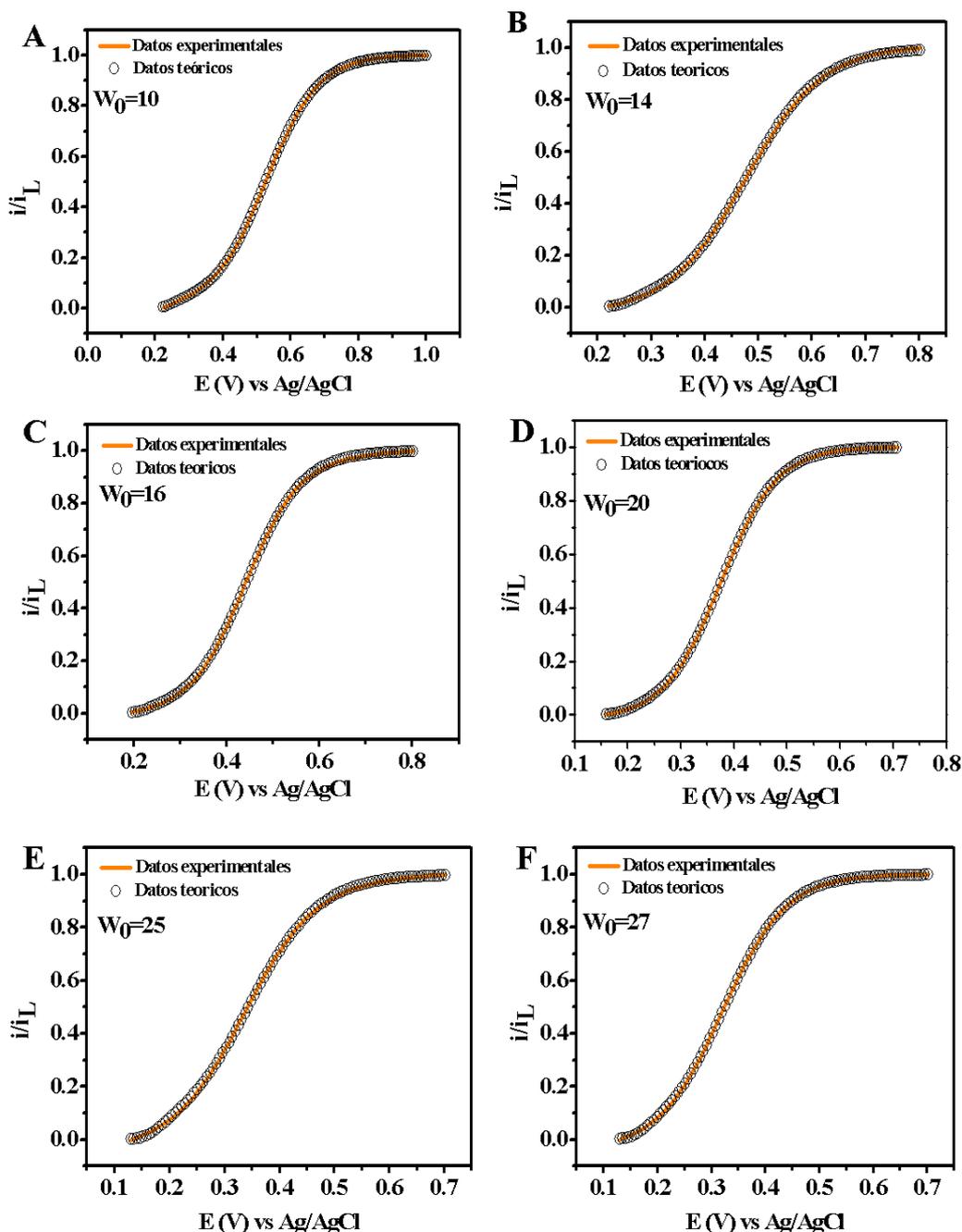


Figura 46. Voltagramas lineales de H_2Q en MIs de AOT/*n*-heptano. $[\text{H}_2\text{Q}]=1.0 \times 10^{-2} \text{ M}$, $V=0.01 \text{ V s}^{-1}$, A) $W_0=10$, B) $W_0=14$, C) $W_0=16$, D) $W_0=20$, E) $W_0=25$, F) $W_0=27$. (—) datos experimentales (○) ajuste realizado con la ecuación (76).

En la Tabla 3, se resumen los parámetros obtenidos del ajuste para H_2Q en agua pura y en MIs de AOT. Como se observa, el valor del E_f^0 disminuye con el aumento del W_0 , lo que sugiere que el entorno de H_2Q cambia al aumentar el W_0 . Además, se observa que el valor del E_f^0 para los $W_0 > 25$ son muy cercanos al E_f^0 de H_2Q en agua pura. Esto indica que H_2Q a $W_0 > 25$ necesita menos energía para su descarga. Otro de los cambios observados es la

disminución de la constante de transferencia (k^0) aparente en MIs. Estos valores del orden de $10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ indican que la transferencia de electrones de H_2Q se ve dificultada cuando se encuentra confinada, ya que estos valores son menores al obtenido en agua pura donde la molécula difunde sola hacia el electrodo. En cuanto al coeficiente de transferencia α los valores para todas las experiencias fueron mayores a 0.5, lo cual indica que la reacción se ve favorecida en un solo sentido, esto posiblemente se deba al complejo mecanismo de electrooxidación de la misma.¹⁴⁶

Tabla 3. Datos del ajuste de los diferentes voltagramas lineales para H_2Q en MIs y en agua pura con la ecuación (76).

W_0	E_f^0 (V)	k^0 (cm s^{-1})	α
10	0.299	0.005	0.80
14	0.297	0.008	0.75
16	0.289	0.010	0.75
20	0.253	0.009	0.75
25	0.209	0.010	0.75
27	0.205	0.009	0.75
H_2O	0.197	0.224	0.75

Con los datos obtenidos se determinó que el agregado de agua a la MIs, genera un desplazamiento en el valor del E_f^0 , lo cual es un comportamiento observado para H_2Q cuando se modifica el valor de pH del medio. Por lo tanto, estos resultados podrían indicar que, posiblemente, H_2Q dentro de MIs se encuentra monitoreando los cambios asociados al confinamiento del agua, ya que los valores del E_f^0 aparente a $W_0 > 20$ presentan valores similares al obtenido en agua pura. Estudios previos realizados en MIs de AOT con diferentes fenoles pueden ayudar a resolver la incógnita en cuanto a cuál es la ubicación de H_2Q dentro de las MIs, ya que estos estudios demostraron que la especie más estable dentro de las MIs es la forma no ionizada de los fenoles.¹⁰⁶ Según los autores, esto se debe a la fuerte interacción de puente de hidrógeno del AOT con los fenoles, que indistintamente de la $[\text{H}^+]$ en el medio acuoso la especie presente encontrada es la no ionizada.¹⁰⁶

Para tratar de dilucidar esto en nuestro sistema, se realiza una experiencia a $W_0 = 20$, donde se varía la concentración de H^+ dentro de MIs con soluciones reguladoras. Se trabajó a pH aparente bajo (1.60) y alto (12.15) y se realizaron los respectivos voltagramas lineales. En la Figura 47, se observan los voltagramas lineales a los pH aparentes de 1.60, 12.14, y en

agua pura. Como se puede observar, la fuerte modificación del pH aparente dentro de la micela no se traduce en un marcado desplazamiento del valor del $E_{1/2}$ en los voltagramas. Es sabido que H_2Q en medio ácido se descarga a potenciales por encima de 0.5 V y en medio básico por debajo de los 0.1 V.¹⁴² En este caso, como puede observarse en la Figura 47, tanto en medio básico como en medio ácido, H_2Q se descarga alrededor de 0.35 V.

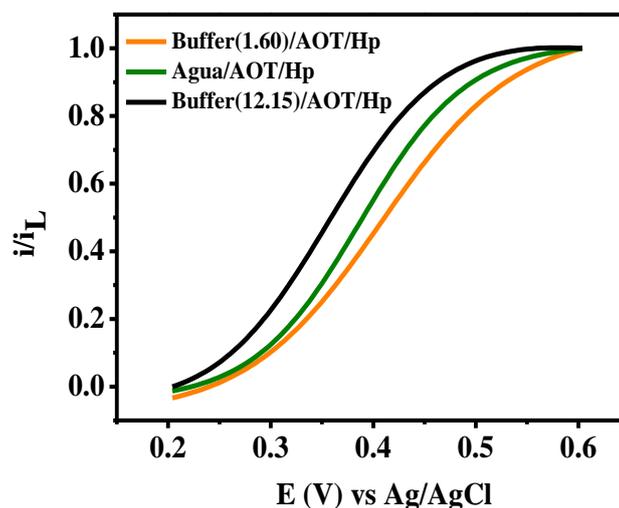


Figura 47. Voltagramas lineales de H_2Q en MIs de AOT a $W_0=20$ a diferentes valores de pH. $[H_2Q]=1 \times 10^{-2}$ M, $v=0.010$ V s^{-1} , electrodo de trabajo UME disco de Pt.

Esta nueva evidencia da información de la posible ubicación de la molécula. Con todos los resultados obtenidos en el desarrollo de todas las experiencias se podría argumentar que la misma se encuentra cerca a la interfaz de la MIs por las siguientes razones: a $W_0=10$ donde se sabe que el agua confinada se encuentra en su mayoría como agua “unida”, el valor del $E_{1/2}$ es de 0.53 V. En medio homogéneo este valor de potencial corresponde a un valor de pH muy bajo, por lo tanto, esto indicaría que H_2Q se encuentra cerca de la interfaz y la misma es ácida y hay una fuerte interacción a través de puente de hidrógeno de H_2Q con la interfaz.¹⁰⁶

Para interpretar la relación entre el W_0 y el pH del medio en MIs, se graficaron los valores aparentes de pH para cada W_0 como se muestra en la Figura 48. Para construir este gráfico, se utilizó la ecuación de la recta (Figura 38) que relaciona el $E_{1/2}$ con el pH en solución acuosa. Luego se reemplazaron los valores obtenidos del $E_{1/2}$ para cada W_0 (Figura 43) en dicha ecuación, con el fin de determinar el valor correspondiente de pH para cada valor de W_0 . En la Figura 48, se observa que a $W_0=10$, el valor de pH sería aproximadamente 2.75,

este valor indicaría que H_2Q se estaría comportando como si estuviera en un medio ácido. Por lo tanto, H_2Q debería estar ubicada en la interfaz e interactuando a través de puente de hidrógeno con el surfactante como se muestra en el Esquema 3. Esto le proporciona a H_2Q , una interfaz rica en protones y por lo tanto a este valor de W_0 , la molécula parecería que se encuentra monitoreando un pH correspondiente aun medio ácido.^{88,89,93,106,161–163} Otro cambio que se observa en la Figura 48, es que a medida que aumenta el W_0 , el valor del pH aumenta y el medio se hace menos ácido, esto posiblemente se deba a que las moléculas de agua “libre” empiezan a aumentar dentro de la laguna acuosa de la micela, otorgándole a la misma un valor aparente de $pH=5.85$ cuando la micela presenta valores de W_0 mayores a 25.

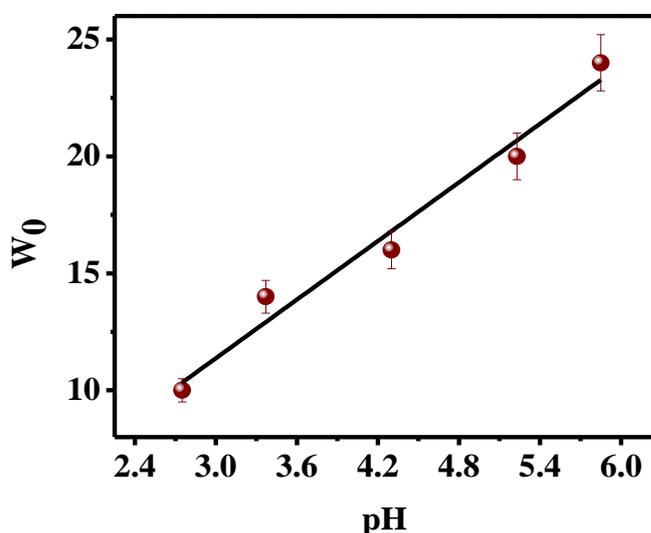
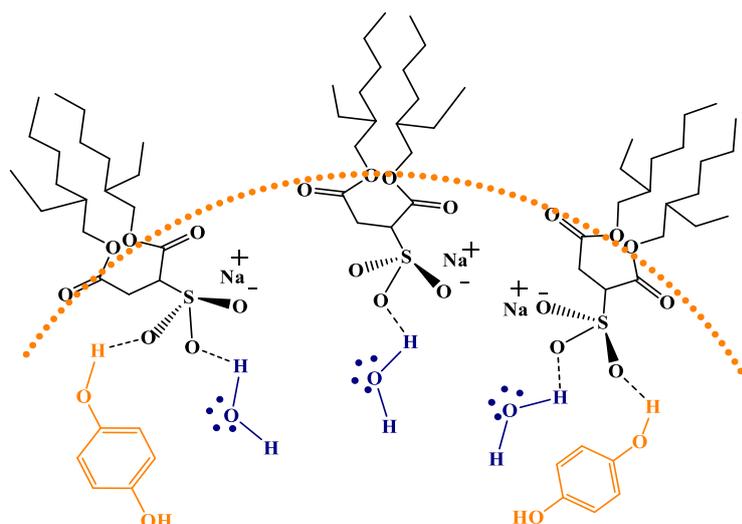


Figura 48. Dependencia del W_0 vs pH en MIs de AOT (●) puntos experimentales (—) línea de guía.



Esquema 3. Representación de la interacción de puente de hidrógeno entre H_2Q y la interfaz de las MIs.

Por lo tanto, los cambios que se observan en los valores del $E_{1/2}$ al aumentar el W_0 se deben posiblemente a que H_2Q dentro de las MIs se encuentra monitoreando los cambios asociados al confinamiento del agua.

Estos resultados son de gran interés ya que brindan información respecto al microentorno que ven las moléculas pruebas cuando están confinadas a un dado W_0 y que son de mucha importancia en reacciones de catálisis química, enzimología micelar o síntesis de nanoestructuras.

IV.2. Vesículas grandes unilamelares de BHD-AOT

En esta sección se muestran los resultados correspondientes al estudio en vesículas grandes unilamelares (VGU) de BHD-AOT, utilizando *Nf*, como molécula prueba. En primera instancia se estudia el comportamiento del *Nf* por espectroscopía de absorción, emisión, voltimetría de onda cuadrada (VOC) y por voltimetría cíclica (VC), a diferentes valores de pH en medio homogéneo, con el fin de determinar por un lado, las especies presentes a cada valor de pH y por el otro, su comportamiento espectroscópico y electroquímico. Posteriormente se prosigue con el estudio del *Nf* en VGU de BHD-AOT por técnicas electroquímicas y por espectroscopía de absorción con el fin de determinar la constante de reparto del *Nf* y el coeficiente de difusión de la vesícula. Además, se muestran los estudios del *Nf* en VGU de BHD-AOT por espectroscopía de emisión para obtener la constante de equilibrio ácido-base del *Nf* en el estado excitado. Finalmente, se muestran los estudios de la determinación de la permeabilidad del 1-naftil fosfato de sodio (1-NP) a través de la reacción enzimática con la enzima fosfatasa alcalina (AP) en el interior de las VGU de BHD-AOT.

IV.2.1. Estudio del *Nf* en solución acuosa de LiClO₄

IV.2.1.1. Estudio del comportamiento del *Nf* y *Nf*⁻ en solución acuosa de LiClO₄ por espectroscopía de absorción

Se estudió el comportamiento espectroscópico del *Nf* y *Nf*⁻, a los fines de caracterizar estas moléculas prueba en medio homogéneo, ya que este medio será utilizado posteriormente en la preparación de las vesículas. En la Figuras 49 y 50 se muestran los espectros de absorción del *Nf* y *Nf*⁻ obtenidos en solución acuosa de LiClO₄ 0.05 M, los cuales muestran el máximo de absorción para el *Nf* en λ_{\max} 290 nm y del *Nf*⁻ en λ_{\max} 332 nm.

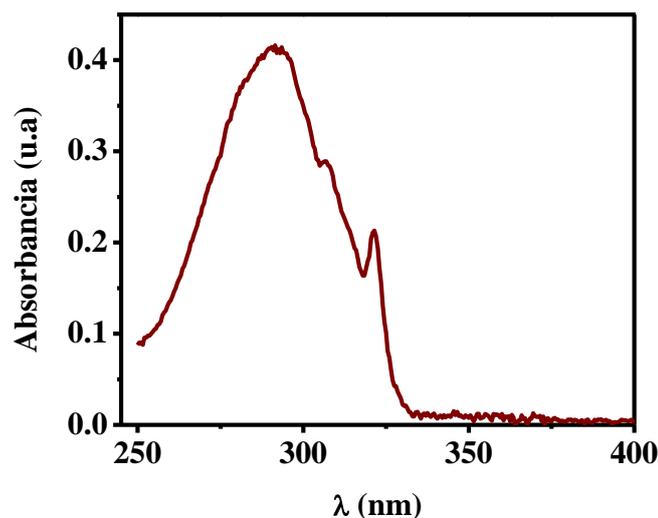


Figura 49. Espectro de absorción del *Nf* ($\lambda_{\text{Abs}}=290$ nm); [*Nf*]= 1.0×10^{-4} M en [LiClO_4]=0.05 M, pH=6.40.

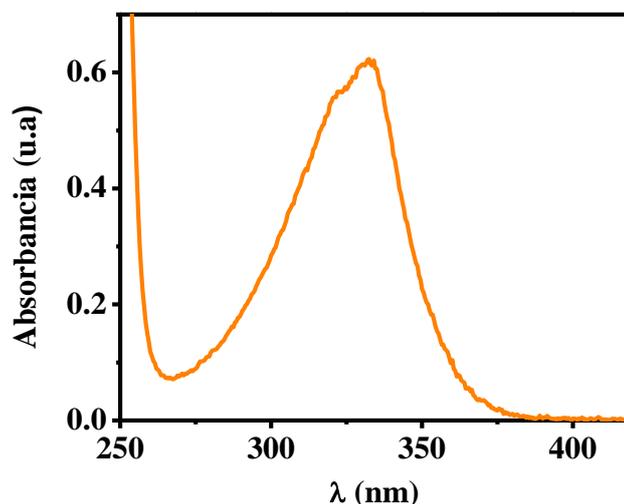


Figura 50. Espectro de absorción del *Nf*⁻ ($\lambda_{\text{Abs}}=332$ nm); [*Nf*⁻]= 1.0×10^{-4} M en [LiClO_4]=0.05 M, pH=10.75.

En las Figuras 51 y 52 se muestran los gráficos correspondientes a la variación de la absorbancia en función de la concentración de *Nf* y el *Nf*⁻ realizados con el fin de obtener el coeficiente de absortividad molar (ϵ_l) para cada especie en solución acuosa de LiClO_4 0.05 M. De la regresión lineal de los datos experimentales se obtiene el valor del ϵ_l con un valor de $4233.22 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para el *Nf* y $6350.90 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para el *Nf*⁻.

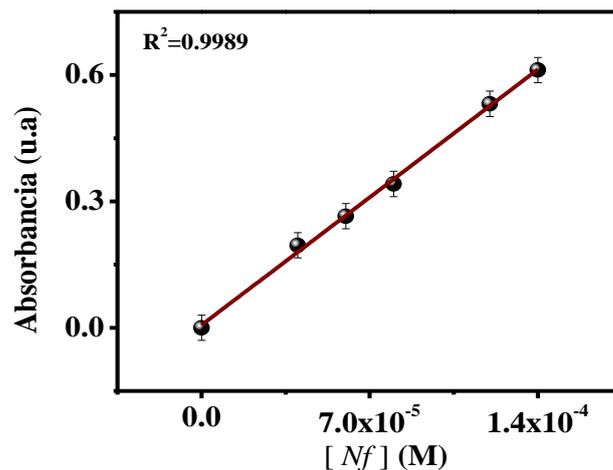


Figura 51. Ley de Lambert y Beer a λ_{Abs} 290 nm del Nf a pH=6.40 (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales.

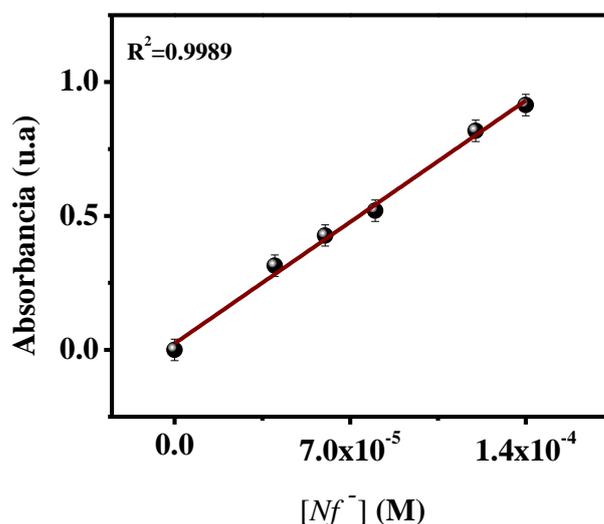


Figura 52. Ley de Lambert y Beer a λ_{Abs} 332 nm del Nf^- a pH=10.75 (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales.

IV.2.1.2. Determinación del diagrama de distribución de especies del Nf en solución acuosa de $LiClO_4$ a diferentes valores de pH por espectroscopía de absorción

A continuación, se presentan los resultados del estudio del equilibrio ácido-base del Nf obtenido variando el pH del medio. Para ello, se determinó experimentalmente el valor del pKa del Nf en $LiClO_4$ 0.05 M, por espectroscopía de absorción, con el fin de corroborar si el valor del pKa del Nf en presencia de la sal de $LiClO_4$ era diferente al obtenido en ausencia de la sal.^{157,158,160} Para determinar el pKa por espectrofotometría se necesitan los espectros del Nf a diferentes valores de pH (Figura 53) según las siguientes condiciones: un espectro

cuyo pH sea tal que la forma disociada del *Nf* sea la especie predominante (pH 11.46), un segundo espectro en que la especie predominante sea la forma no disociada (pH 2.84) y otro espectro a valores de pH intermedio, de manera tal que ambas formas se encuentren presentes y en equilibrio.

En la Figura 53, se muestran los espectros de absorción del *Nf* (1×10^{-4} M) obtenidos variando el pH, los cuales permitieron determinar el valor del pK_a , a través de los valores de absorbancia a cada pH.

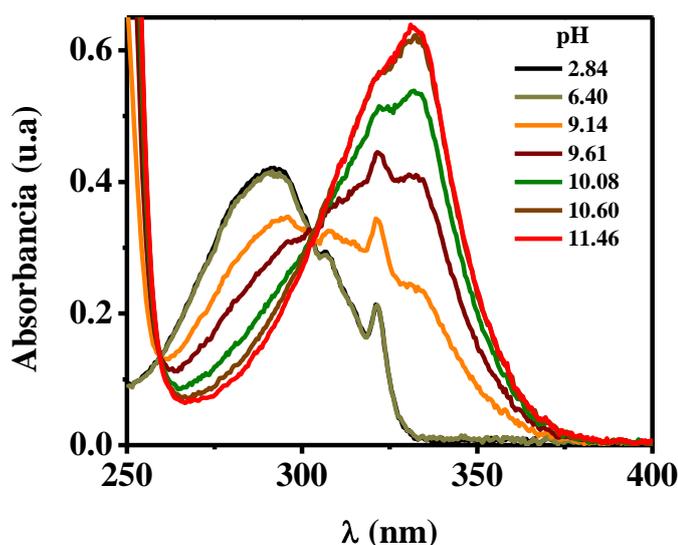
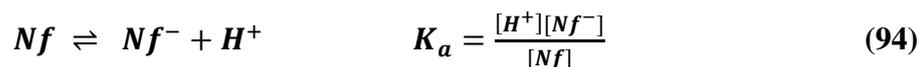


Figura 53. Espectros de absorción del *Nf* a diferente pH; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[LiClO_4]=0.05$ M.

Como se observa en la Figura 53, a valores de pH por debajo de 6.40, solo se presenta una banda de absorción a λ_{Abs} 290 nm, la cual corresponde a la especie neutra del naftol (*Nf*). A valores de pH entre 9.0 y 10.0 se observó que la banda de absorción a λ_{Abs} 290 nm empieza a disminuir en intensidad y empieza a aparecer una segunda banda a λ_{Abs} 332 nm que corresponde al naftolato (Nf^-). Cuando se aumentó el pH por encima de 10.50 se observó que la banda a λ_{Abs} 290 nm desaparece y solo se observó la banda de absorción a λ_{Abs} 332 nm, donde la especie presente es el Nf^- . Estos resultados indican que la concentración total se distribuye solamente entre el *Nf* y el Nf^- . A través de los espectros a diferentes valores de pH se determina el valor del pK_a , donde el equilibrio ácido-base para el *Nf* se puede expresar según la siguiente ecuación:



Aplicando la función $-\log$ a la ecuación (94) se obtiene:

$$-\log K_a = -\log [H^+] - \log \frac{[Nf^-]}{[Nf]} \quad (95)$$

Renombrando términos la expresión se expresa como:

$$pK_a = pH - \log \frac{[Nf^-]}{[Nf]} \quad (96)$$

Aplicando la ley de *Lamber -Beer* para cada una de condiciones se tiene que:

$$(\text{pH} = 11.46) \quad A_{\lambda 332} = \epsilon_{332}[Nf^-] = \epsilon_{332}C_{T1} \quad (97)$$

$$(\text{pH} = 2.84) \quad A_{\lambda 290} = \epsilon_{290}[Nf] = \epsilon_{290}C_{T2} \quad (98)$$

$$(\text{pH} = 9.14) \quad A_3 = \epsilon_{332}[Nf^-] + \epsilon_{290}[Nf] \quad (99)$$

donde, C_{T1} y C_{T2} son la concentración de Nf^- y Nf respectivamente. Luego reemplazando en la ecuación (99) los valores de la ecuación (97, 98) se obtiene la ecuación (100).

$$A_3 = \frac{A_{\lambda 332}}{C_{T1}} [Nf^-] + \frac{A_{\lambda 290}}{C_{T2}} [Nf] \quad (100)$$

A un pH intermedio, se expresa la concentración de Nf y Nf^- como se muestra en la ecuación (101) donde X , es la fracción de sustancia protonada y C_T es la suma de la concentración de Nf y Nf^- .

$$X = \frac{[Nf]}{C_T} \quad (1 - X) = \frac{[Nf^-]}{C_T} \quad (101)$$

Reemplazando los valores de la ecuación (101), en la ecuación (100), se obtiene la ecuación (102).

$$A_3 = A_{\lambda 290}X + A_{\lambda 332}(1 - X) \quad (102)$$

Despejando X de la ecuación (102), se obtiene la ecuación (103)

$$X = \frac{(A_3 - A_{\lambda 332})}{(A_{\lambda 290} - A_{\lambda 332})} \quad (103)$$

Utilizando la ecuación (103), y sabiendo que la relación del Nf/Nf^- , se expresa según la ecuación (104), se obtienen las ecuaciones (105, 106), que relacionan el pH con la absorbancia.

$$\frac{[Nf]}{[Nf^-]} = \frac{X}{(1-X)} \quad (104)$$

$$pH = pK_a - \log \frac{X}{(1-X)} \quad (105)$$

$$pH = pK_a - \log \frac{(A_3 - A_{\lambda 332})}{(A_{\lambda 290} - A_3)} \quad (106)$$

En la Figura 54, se muestran los valores experimentales de pH vs el $\log \frac{(A_3 - A_{\lambda 332})}{(A_{\lambda 290} - A_3)}$, a los cuales se les realizó un ajuste lineal para obtener un valor del pK_a de 9.27 en $LiClO_4$ 0.05 M. Este valor de pK_a es similar al reportado en bibliografía para el Nf en solución acuosa.^{157,158,160}

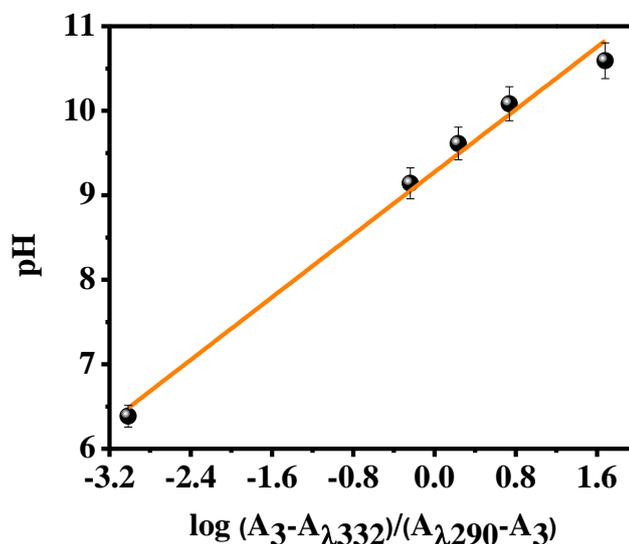


Figura 54. Dependencia del pH sobre el $\log \frac{(A_3 - A_{\lambda 332})}{(A_{\lambda 290} - A_3)}$; $[Nf] = 1.0 \times 10^{-4} M$ en $[LiClO_4] = 0.05 M$. (-) Ajuste lineal. Datos experimentales (•).

En la Figura 55, se muestra el diagrama de distribución de especies del Nf y Nf^- , este diagrama se realiza con el valor del pK_a que se determinó anteriormente y utilizando la ecuación (96), esto con el fin de saber cuál especie está presente a un dado pH.

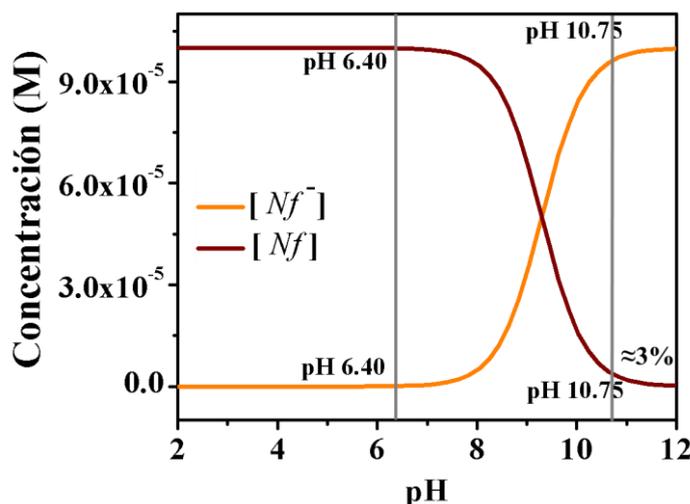


Figura 55. Dependencia la concentración de Nf y Nf^- con el pH, $[Nf]=1.0 \times 10^{-4} M$ en $[LiClO_4]=0.05 M$.

Se pudo establecer según el diagrama (Figura 55), que a pH de 6.40, solo está presente el Nf y a medida que se aumenta el pH entre 8.0 y 10.0 las dos especies el Nf y Nf^- se encuentran presentes. Conforme el pH aumenta, se observa que la presencia de la especie neutra disminuye y a pH 10.75 la presencia del Nf es apenas un 3%. De acuerdo a lo anterior, en las medidas realizadas a pH 10.75 la especie que predomina es el Nf^- .

A fin de complementar la caracterización espectroscópica del Nf , se continúa con el estudio por espectroscopía de emisión en solución acuosa de $LiClO_4$.

IV.2.1.3. Estudio del Comportamiento del Nf en solución acuosa de $LiClO_4$ por espectroscopía de emisión

El Nf presenta un pK_a de 9.27 en el estado fundamental y según bibliografía un pK_a de 0.5 en el estado excitado.^{157,160,164} Los estudios por espectroscopía de emisión se realizaron a pH de 6.40 donde el Nf se encuentra en el estado fundamental como molécula neutra y a un pH de 10.75 donde la especie predominante es la deprotonada (Nf^-). En la Figura 56, se muestran los espectros de emisión del Nf y Nf^- en $LiClO_4$

(0.05 M). Se observa en ambos espectros que a un λ_{Emi} de 460 nm es la especie deprotonada excitada ($*Nf^-$) la que emite y no la especie neutra excitada ($*Nf$) a λ_{Emi} 360 nm. Esto se debe a que en el estado excitado el pK_a es 0.5, mientras que en el estado fundamental es de 9.27. Este valor de pK_a del estado excitado produce que la emisión del $*Nf$ sea extremadamente baja y la emisión ocurra casi exclusivamente desde el $*Nf^-$ a λ_{Emi} 460 nm. Con estos resultados se puede inferir que a cualquier pH en solución acuosa la especie presente en el estado excitado es el $*Nf^-$.^{157,160}

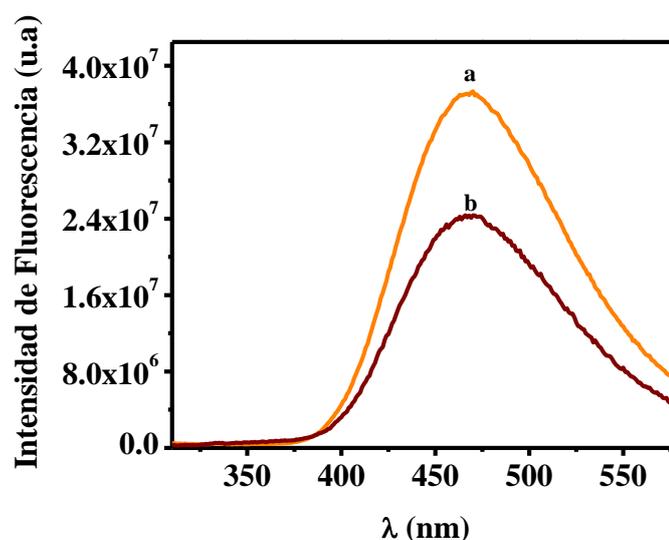


Figura 56. Espectros de emisión del Nf y Nf^- ($\lambda_{\text{Exc}}=300\text{nm}$) [Nf]= $1.0 \times 10^{-4}\text{M}$ en $\text{LiClO}_4=0.05\text{M}$. pH a) 10.75 b) 6.40

Hasta el momento se ha descrito el comportamiento del Nf en solución acuosa de LiClO_4 , por técnicas espectroscópicas y se determinó el valor del pK_a por espectroscopia de absorción para las condiciones experimentales propuestas. A continuación, se muestran los estudios por técnicas electroquímicas en solución acuosa con el fin de estudiar el comportamiento electroquímico del Nf en este medio.

IV.2.1.4. Estudio del Comportamiento electroquímico del Nf en solución acuosa de LiClO_4 a diferentes valores de pH por VC y VOC

Los estudios llevados a cabo por VC y VOC se realizaron según las condiciones descritas en la sección III.3.4. En la Figura 57, se muestran los voltagramas cíclicos del Nf ($2.0 \times 10^{-3}\text{M}$) en LiClO_4 0.05 M variando el pH del medio con una velocidad de barrido de

0.50 V s^{-1} . Como se observa, cada voltograma presenta diferentes valores de potenciales de pico de oxidación, ya que se conoce que el *Nf* presenta un mecanismo de electrooxidación como el que se muestra en el Esquema 2 (Página 75) correspondiente a un fenol, donde la oxidación del mismo puede ocurrir desde su especie neutra o desde su especie deprotonada de acuerdo al pH del medio.^{136,146}

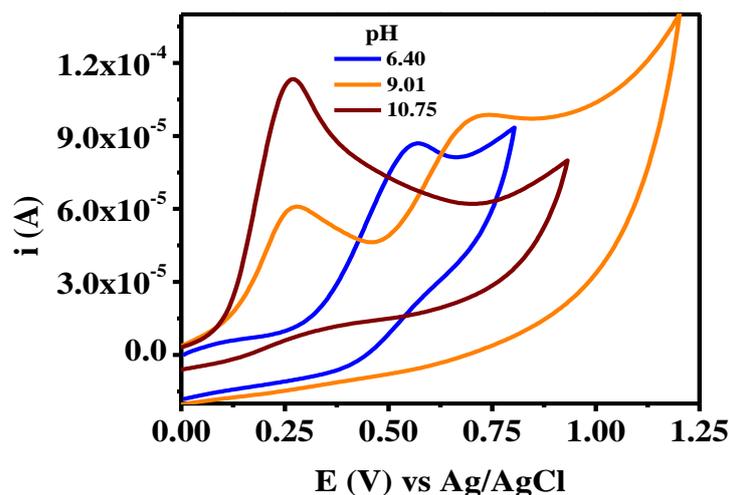


Figura 57. Voltagramas cíclicos del $[Nf]=2.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ en $[\text{LiClO}_4]=0.05 \text{ M}$ a diferentes valores de pH a 0.50 V s^{-1}

En la Figura 57, a pH 6.40 se observa un pico de oxidación aproximadamente cercano a 0.50 V correspondiente a la oxidación de la especie neutra. A este valor de pH se espera que el *Nf* pierda un electrón y se oxide para formar el radical catiónico, el cual es una especie fuertemente ácida, que se deprotona rápidamente para formar el fenol radical y generar productos.¹⁴⁶ A pH 10.75, donde la especie predominante es el Nf^- (Figura 57), se observa en el voltograma cíclico, un solo pico de oxidación a 0.25 V aproximadamente. A este valor de pH la especie deprotonada, el Nf^- , se oxida al radical fenol y reacciona para formar productos.¹⁴⁶ En el voltograma a pH 9.01 se observan dos picos de oxidación, un pico a 0.25 V aproximadamente, el cual corresponde al Nf^- y otro a 0.65 V que corresponde al *Nf*. A este valor de pH, el cual es cercano al pK_a del *Nf*, se muestran las dos especies presentes en el equilibrio. Con estos resultados y los obtenidos por espectroscopia de absorción se observa, que a pH 6.40 prácticamente no hay presencia del Nf^- y a pH 10.75 la especie que predomina es el Nf^- , como se muestra en el diagrama de distribución de especies (Figura 55). Otra información que se obtiene de analizar los voltagramas a diferentes valores de pH, es que cuando se invierte el barrido de potencial en los intervalos de potencial estudiado para

cada pH, no se observa la señal de reducción del correspondientes, lo que indicaría que ambas especies presentan un mecanismo de oxidación complejo y experimentan reacciones químicas acopladas a la transferencia de carga, que dan como resultado productos no electroactivos en el intervalo de potencial estudiado. A continuación, se muestran los resultados obtenidos realizando el mismo estudio pero utilizando la técnica de VOC (Figura 58) para corroborar lo encontrado por VC.

En la Figura 58 se muestran los voltagramas de onda cuadrada del Nf a diferentes valores de pH en LiClO_4 . A pH 6.40, se observó una señal de oxidación a un potencial de pico (E_p) de 0.50 V aproximadamente, que corresponde a la especie neutra (Nf), y a pH 10.75, el voltagrama presenta una señal de oxidación a un E_p de 0.25 V, que corresponde al Nf^- . Por último a pH 9.01 se observan dos señales de oxidación, la primera con un valor de E_p de 0.20 V, y la segunda con un valor de E_p de 0.60 V aproximadamente.

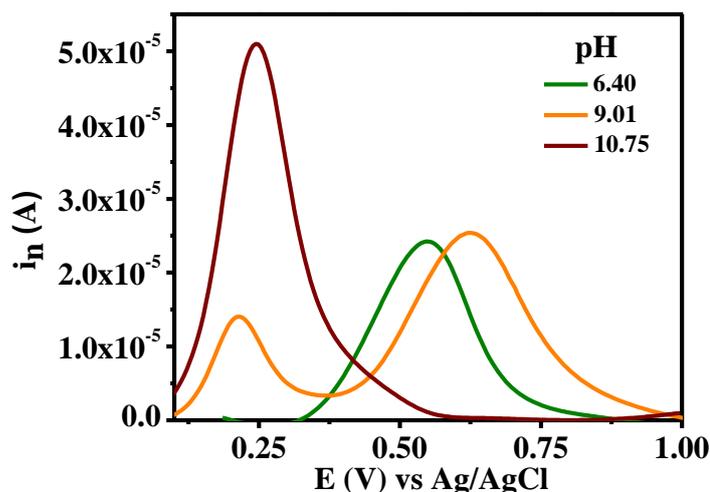


Figura 58. Voltagramas de onda cuadrada del $[Nf]=2.0 \times 10^{-3}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M a diferentes valores de pH, $E_s = 5$ mV, $E_{sw} = 25$ mV y $f = 20$ Hz.

Estos resultados por VOC concuerdan con los obtenidos por VC (Figura 57), ya que de acuerdo a la especie que se encuentre en solución, la misma presentará una señal de oxidación a un dado potencial. Dado que la VOC, es una técnica electroquímica que presenta mayor sensibilidad y rapidez, será la técnica utilizada en los estudios posteriores.

IV.2.2. Estudio en vesículas grandes unilamelares de BHD-AOT

IV.2.2.1. Determinación del pK_a en VGU de BHD-AOT

Este estudio se realiza en presencia de las vesículas de BHD-AOT, con el fin de corroborar que la presencia del surfactante no afecta el valor del pK_a del Nf . En la Figura 59, se muestran los espectros de absorción del Nf (1×10^{-4} M) variando el valor de pH del medio en la vesículas. Al igual que en medio homogéneo, estos resultados indican que la concentración total se distribuye solamente entre el Nf y el Nf^- . Para determinar el valor del pK_a , se utilizaron los valores de absorbancia a cada pH, en VGU de BHD-AOT y las ecuaciones descritas en la Sección IV.2.1.2.

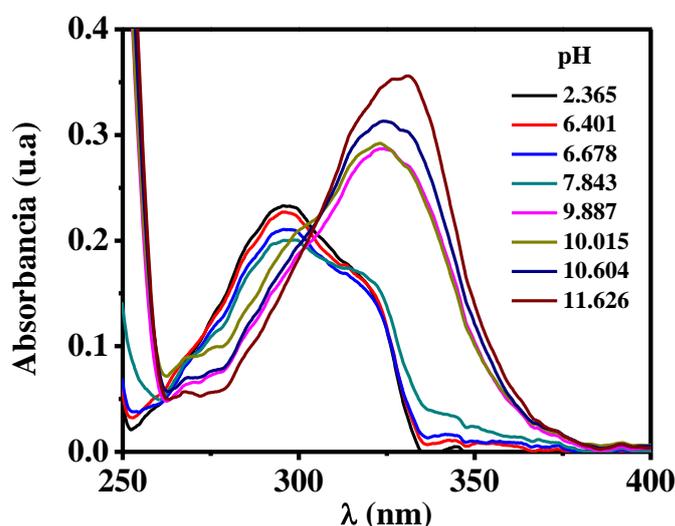


Figura 59. Espectros de absorción del Nf a diferente pH; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[LiClO_4]=0.05$ M en $[BHD-AOT]=2.0$ mg mL $^{-1}$.

En la Figura 60, se muestran los valores experimentales de pH vs el $\log \frac{(A_3 - A_{\lambda 332})}{(A_{\lambda 290} - A_3)}$, a los cuales se les realizó un ajuste lineal para obtener un valor de pK_a de 9.26 en VGU de BHD-AOT. Este valor de pK_a es similar al obtenido en medio homogéneo y al reportado en bibliografía para el Nf .^{157,158,160} Por lo tanto la presencia del $LiClO_4$ y del surfactante BHD-AOT no afectan el valor del pK_a del Nf en este medio.

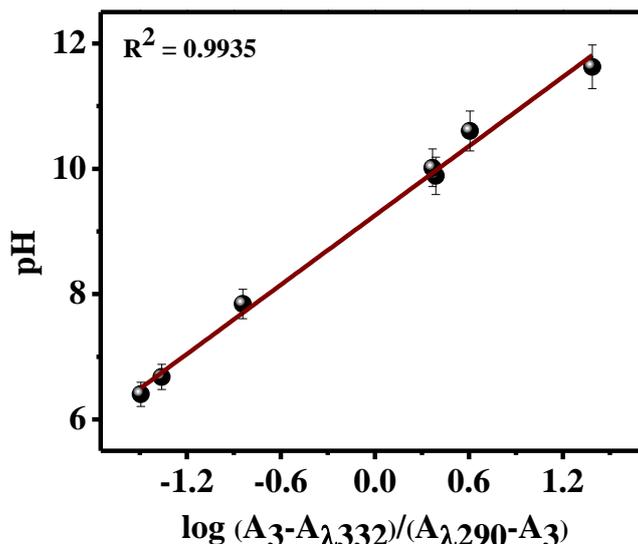


Figura 60. Dependencia del pH sobre el $\log (A_3 - A_{\lambda 332}) / (A_{\lambda 290} - A_3)$; $[Nf] = 1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4] = 0.05$ M en VGU de BHD-AOT. (-) Ajuste lineal. Datos experimentales (●).

A continuación, se muestran los estudios por espectroscopia de absorción del Nf en VGU de BHD-AOT, variando la concentración del surfactante.

IV.2.2.1. Determinación de la constante de reparto (K_p) del Nf y Nf^- en VGU de BHD-AOT por espectroscopia de absorción

Los experimentos por espectroscopia de absorción del Nf y Nf^- en las vesículas de BHD-AOT, se realizan empleando una concentración constante de molécula prueba ($[Nf] = 1 \times 10^{-4}$ M) en LiClO_4 0.05 M y variando la concentración de BHD-AOT, entre 0.0 y 2.0 mg mL^{-1} . Para los estudios de las soluciones de Nf^- se ajusta el pH con una solución de NaOH 0.5 M y se varía la concentración de BHD-AOT entre 0.0 y 1.09 mg mL^{-1} . En las Figuras 61 y 62, se muestran los espectros de absorción del Nf y Nf^- , en los cuales se observa que a medida que se aumenta la concentración de BHD-AOT, disminuye la absorbancia. Estos resultados sugieren que el Nf y Nf^- , presenta un proceso de partición entre la bicapa lipídica de la vesícula y la fase acuosa externa.

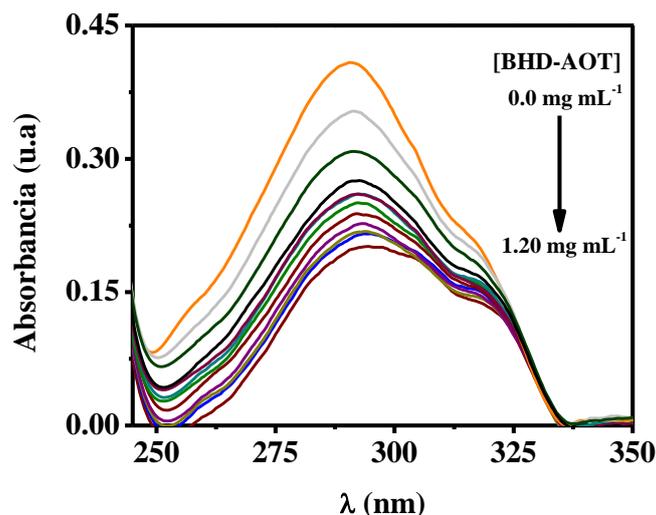


Figura 61. Espectros de absorción del Nf ($\lambda_{Abs}=290$ nm) a diferentes concentraciones de BHD-AOT; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[LiClO_4]=0.05$ M, pH=6.40.

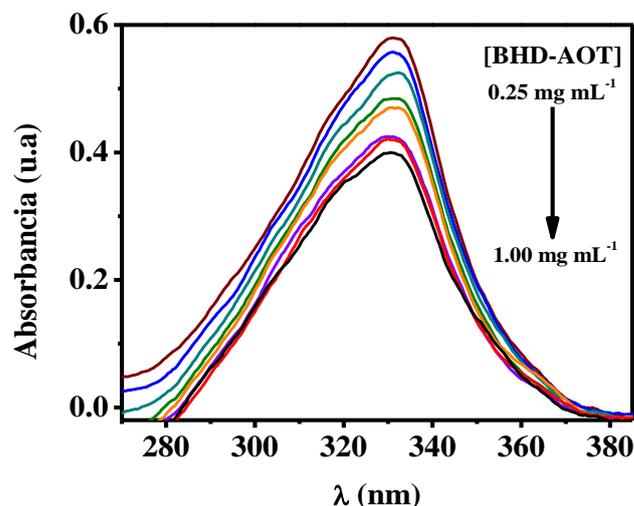
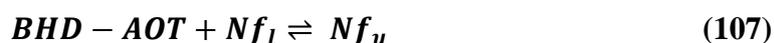


Figura 62. Espectros de absorción del Nf^- ($\lambda_{Abs}=332$ nm) a diferentes concentraciones de BHD-AOT; $[Nf^-]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[LiClO_4]=0.05$ M, pH=10.75.

Con los resultados experimentales se calcula la constante de partición K_p a partir de los cambios de absorbancia del Nf y Nf^- .¹⁷ Para explicar estos resultados se utilizó el modelo de la pseudofase.^{17,113,114} El cual plantea la distribución del Nf entre la bicapa y la fase acuosa externa mediante la siguiente ecuación:



donde, $BHD - AOT$ representa el surfactante utilizado para preparar las vesículas, Nf_l representa el Nf en el solvente externo y Nf_u representa el Nf unido a las vesículas.

De esta manera se expresa la constante de reparto (K_p) según la ecuación (108):

$$K_p = \frac{[Nf]_u}{[Nf]_l[BHD-AOT]} \quad (108)$$

El balance de masa para el naftol queda expresado, según la ecuación (109)

$$[Nf]_T = [Nf]_u + [Nf]_l \quad (109)$$

donde; $[Nf]_T$ corresponde a la concentración analítica total del naftol.

Se plantea la determinación de la K_p por espectroscopía de absorción, donde la absorbancia total, para una misma longitud de onda, queda expresada según la ley de *Lambert y Beer* (ecuación 110).

$$A_T^\lambda = A_l^\lambda + A_u^\lambda \quad (110)$$

donde, A_l^λ ($A_l^\lambda = \varepsilon_l b [Nf]_l$) corresponde a la absorbancia del Nf o Nf^- en solución acuosa de $LiClO_4$ y A_u^λ ($A_u^\lambda = \varepsilon_u b [Nf]_u$), es la absorbancia del Nf o Nf^- unido a la vesícula. Los términos $\varepsilon_l b [Nf]_l$ y $\varepsilon_u b [Nf]_u$ corresponden a los coeficientes de absorptividad molar y a la concentración del Nf o Nf^- en el solvente y en la vesícula respectivamente, b es el paso óptico de la celda utilizada (1.0 cm). Reemplazando en la ecuación (110), se obtiene detalladamente la ecuación (111).

$$A_T^\lambda = \varepsilon_l b [Nf]_l + \varepsilon_u b [Nf]_u \quad (111)$$

Utilizando las ecuaciones (108), (109) y (111), se obtiene la ecuación (112), en la cual se asume que el paso óptico es 1.0 cm y donde la $[Nf]_T \ll [BHD-AOT]$, ya que a mayores concentraciones del Nf el sistema vesicular puede ser perturbado por la presencia de la molécula.

$$A_T^\lambda = \frac{[Nf]_T (\varepsilon_l + \varepsilon_u K_p [BHD-AOT])}{1 + K_p [BHD-AOT]} \quad (112)$$

En las Figuras 63 y 64, se graficó $A_T^\lambda/[Nf]$ vs $[BHD - AOT]$ para cada pH. Utilizando la ecuación (112), se realizó un ajuste no lineal sobre los datos experimentales. Como previamente se conocen los valores de ε_l , (Sección IV.2.1.1) para cada pH, y estimando el valor de ε_u , se determina el valor de K_p .

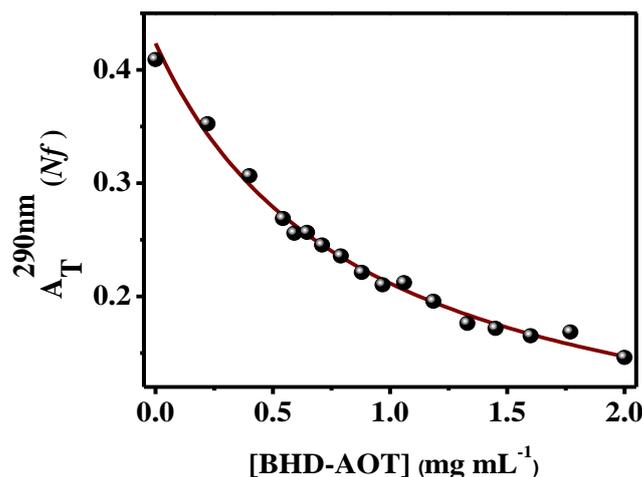


Figura 63. Dependencia de $A_T/[Nf]$ sobre la concentración de BHD-AOT; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M, $\lambda_{\text{Abs}}=290$ nm, pH=6.40. (—) Ajuste no lineal. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación (112).

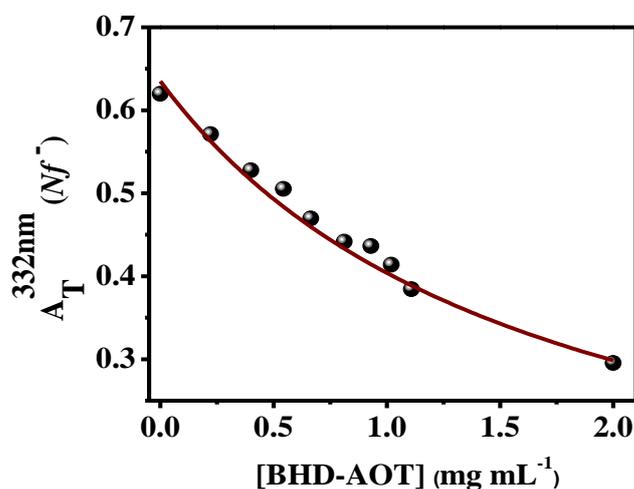


Figura 64. Dependencia de $A_T/[Nf^-]$ sobre la concentración de BHD-AOT; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M, $\lambda_{\text{Abs}}=332$ nm, pH=10.75. (—) Ajuste no lineal. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación (112).

A continuación, se muestra en la Tabla 4 los valores de K_p obtenidos por espectroscopía de absorción para los dos valores de pH estudiado.

Tabla 4. Valores de constante de partición (K_p) por espectroscopía de absorción.

pH	Técnica	K_p (mL mg ⁻¹)	R ²
6.40	Espectroscopía de Absorción	1.20±0.2	0.99
10.75	Espectroscopía de Absorción	0.70±0.1	0.99

Como se observa en la Tabla 4 el valor de K_p para la especie cargada es menor, debido probablemente a la carga negativa del Nf^- , la cual le otorga al mismo más afinidad hacia la fase acuosa y no hacia la bicapa de las vesículas de BHD-AOT.

IV.2.2.2. Estudio del comportamiento del Nf en VGU de BHD-AOT por espectroscopía de emisión

Para los estudios por emisión se trabaja a una concentración fija de molécula prueba de 1.0×10^{-4} M de Nf , a diferentes valores de pH y se varía la concentración de BHD-AOT entre 0 y 2.0 mg mL^{-1} . La Figura 65 muestra los espectros de emisión del Nf a pH 6.40 variando la concentración de BHD-AOT. Como se observa en los espectros, cuando el Nf es excitado ($\lambda_{Exc}=300\text{nm}$) en presencia de las vesículas de BHD-AOT, el mismo puede emitir desde naftol excitado ($*Nf$ $\lambda_{Emi}=355\text{nm}$) y desde el naftolato excitado ($*Nf^-$ $\lambda_{Emi}=460\text{nm}$), contrario a lo observado en medio acuoso, donde sólo se observa la emisión desde $*Nf^-$ a λ_{Emi} 460 nm (Figura 56). Además, se observa que a medida que aumenta la concentración de surfactante, la banda de emisión del $*Nf^-$ disminuye en intensidad y aumenta la del $*Nf$. Otro aspecto que se observó en los espectros de emisión del Nf en vesículas de BHD-AOT, es la presencia de un punto isoemisivo aproximadamente a $\lambda_{Emi}=427\text{nm}$.

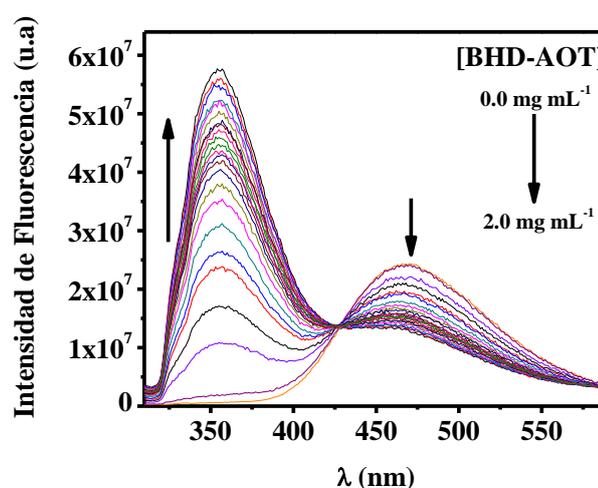


Figura 65. Espectros de emisión del Nf ($\lambda_{Exc}=300 \text{ nm}$) a diferentes concentraciones de BHD-AOT; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05 \text{ M}$, pH=6.40.

Estos resultados muestran que, en medios confinados como el de las vesículas, se puede ver la emisión del $*Nf$ a $\lambda_{Emi}=355\text{nm}$, lo cual como se mencionó, no ocurre en solución acuosa. Además, la presencia del punto isoemisivo alrededor de $\lambda_{Emi}=427\text{ nm}$, indica que el Nf presenta un equilibrio en el estado excitado en presencia de las vesículas de BHD-AOT. Del mismo modo se realiza la experiencia a diferentes valores de pH. En la Figura 66, se muestran los espectros de emisión del Nf a diferentes valores de pH, variando la concentración de surfactante. Se observa que, para todos los valores de pH estudiados, la banda de emisión del $*Nf$ a λ_{Emi} 355 nm aumenta en intensidad cuando disminuye la banda de emisión del $*Nf^-$ a λ_{Emi} 460 nm, además de la presencia de un punto isoemisivo alrededor de $\lambda_{Emi}=427\text{ nm}$.

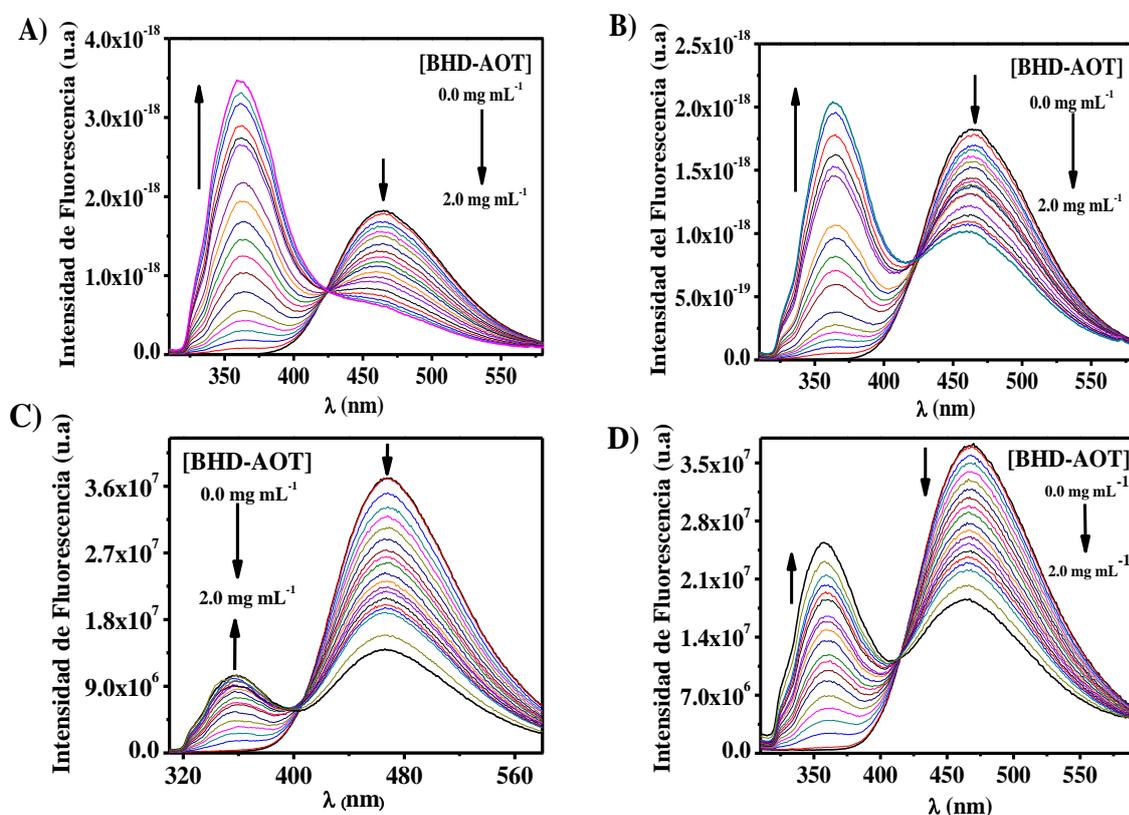
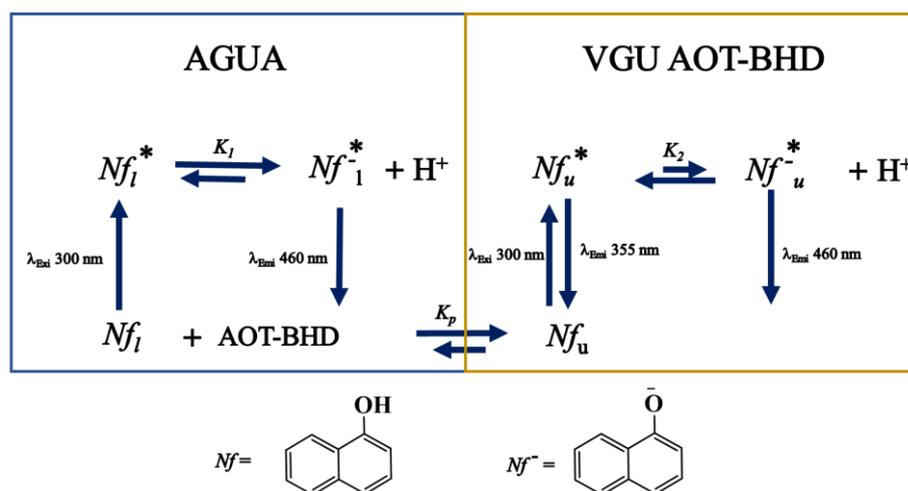


Figura 66. Espectros de emisión del Nf ($\lambda_{Exc}=300\text{ nm}$) a diferentes concentraciones de BHD-AOT; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}\text{ M}$ en $[\text{LiClO}_4]=0.05\text{ M}$, pH: A) 8.24, B) 9.41, C) 10.05, D) 10.75.

Estos resultados mostraron que en presencia del sistema BHD-AOT, se establece un equilibrio en el estado excitado para todos los valores de pH estudiados. Dicho equilibrio en presencia de las vesículas, está desplazado a la formación de la especie neutra ($*Nf$), como se representa en el Esquema 4 (a la derecha).



Esquema 4. Diagrama de los estados electrónicos de emisión del Nf en VGU de BHD-AOT.

Con los resultados obtenidos para cada pH, se cree que posiblemente este comportamiento se deba a la interacción del Nf a través de puente de hidrogeno con el grupo sulfonato del AOT presente en la vesícula.¹⁰⁶ Para comprobar esto se preparó una solución de 2.25×10^{-3} M (concentración de AOT presente en las vesículas) a pH 10.75. La Figura 67 muestra que la emisión del Nf^- se produce desde la especie deprotonada ($*Nf^-$) a λ_{Emi} 460 nm, como sucede en solución acuosa.

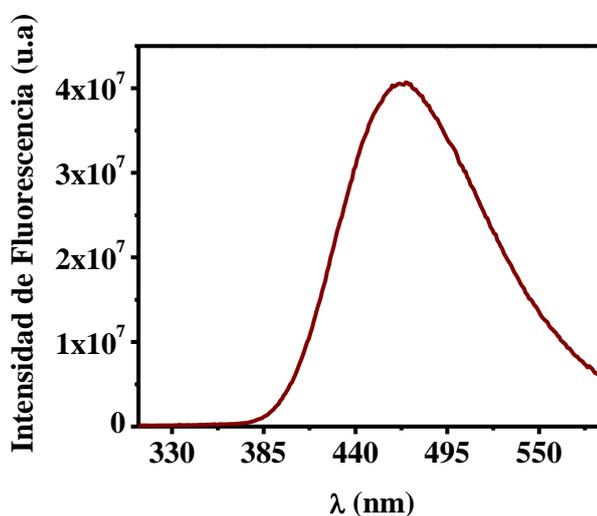
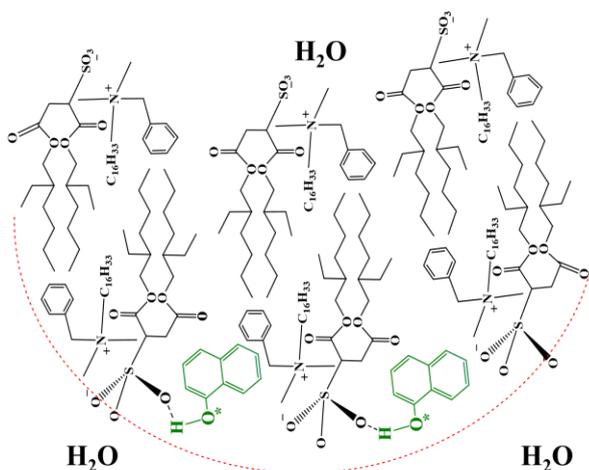


Figura 67. Espectro de emisión del Nf ($\lambda_{Exc}=300$ nm); $[AOT]=2.25 \times 10^{-3}$ M; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[LiClO_4]=0.05$ M, pH=10.75

Esto último nos sugiere que cuando el AOT forma parte de una bicapa, la cabeza polar del surfactante interacciona fuertemente a través de puente de hidrógeno con el naftol como

se muestra en el Esquema 5, favoreciendo que la especie neutra (**Nf*) se establezca aún en medio básico.^{89,106,157,159,160}



Esquema 5. Representación de la interacción de puente de hidrógeno entre el *Nf* y la bicapa de las vesículas.

Con estos resultados se propuso determinar la constante de equilibrio del *Nf* en el estado excitado cuando se encuentra en presencia de VGU de BHD-AOT, para ello se propone el siguiente modelo matemático.

IV.2.2.2.1. Modelo matemático para calcular la constante de equilibrio del *Nf* en el estado excitado en VGU de BHD-AOT

Para determinar la constante de equilibrio aparente (K_2) del *Nf* en el estado excitado en VGU de BHD-AOT, se asumió que el valor de K_2 es pequeño, ya que el valor de la constante en el estado excitado en agua pura es $K_1=0.31$.^{157,160} Según los resultados obtenidos por los espectros de emisión es posible detectar la emisión de la especie neutra (**Nf*), en presencia de las VGU de BHD-AOT a λ_{Emi} 355 nm, además que el equilibrio en el estado excitado en presencia de las vesículas se ve desplazado hacia el **Nf* para todos los valores de pH. Por lo anterior, se asume que la concentración de **Nf*⁻ unido (Nf_u^{-*}) es mucho menor que la concentración de **Nf* unido (Nf_u^*):

$$[Nf^{-*}]_u \ll [Nf^*]_u \quad (113)$$

Por lo tanto, la concentración de $[Nf^{-*}]_u$ es insignificante comparada con la concentración de $[Nf^*]_u$, por lo tanto, se asume que la concentración de $[Nf]_u$ será igual a la $[Nf^*]_u$:

$$[Nf]_u \approx [Nf^*]_u \quad (114)$$

El equilibrio para el estado excitado (Esquema 4, parte derecha) puede ser expresado según:



Utilizando las ecuaciones (113) y (115), se obtiene K_2 :

$$K_2 = \frac{[Nf^{-*}]_u [H^+]}{[Nf^*]_u} = \frac{x^2}{[Nf^*]_u} \quad (116)$$

donde, x es la $[Nf^{-*}]_u$ y $[H^+]$, presentes en el equilibrio (ecuación (115)). Luego, para determinar la K_2 se debe tener en cuenta la K_p , determinada previamente por espectroscopía de absorción, donde su equilibrio se describe en el esquema 4. Remplazando en la ecuación (116), la ecuación (108) y la ecuación (109) se obtiene:

$$[Nf^*]_u = K_p \left([Nf]_T - \frac{x^2}{K_2} \right) \times [BHD - AOT] \quad (117)$$

Para λ_{Emi} 355 nm la intensidad de emisión puede ser expresada como se muestra en la ecuación (118).

$$I = 2.303 I_0 \varepsilon \Phi [Nf^*]_u \quad (118)$$

donde, I_0 es la intensidad de luz incidente, Φ es el rendimiento cuántico de fluorescencia y ε es el coeficiente de absortividad molar del $[Nf^*]_u$. Remplazando la ecuación (117) en la ecuación (118), se obtiene la ecuación (119).

$$I = 2.303 I_0 \varepsilon \Phi K_p \left([Nf]_T - \frac{x^2}{K_2} \right) \times [BHD - AOT] \quad (119)$$

En la Figura 68 se observan los datos experimentales obtenidos de la intensidad de emisión a λ_{Emi} 355 nm para cada concentración molar de surfactante a los diferentes valores de pH. Realizando un ajuste lineal con la ecuación (119) a los datos experimentales, se puede obtener el valor de K_2 y de x , el cual corresponde a la $[Nf^{-*}]_u$ para cada pH.

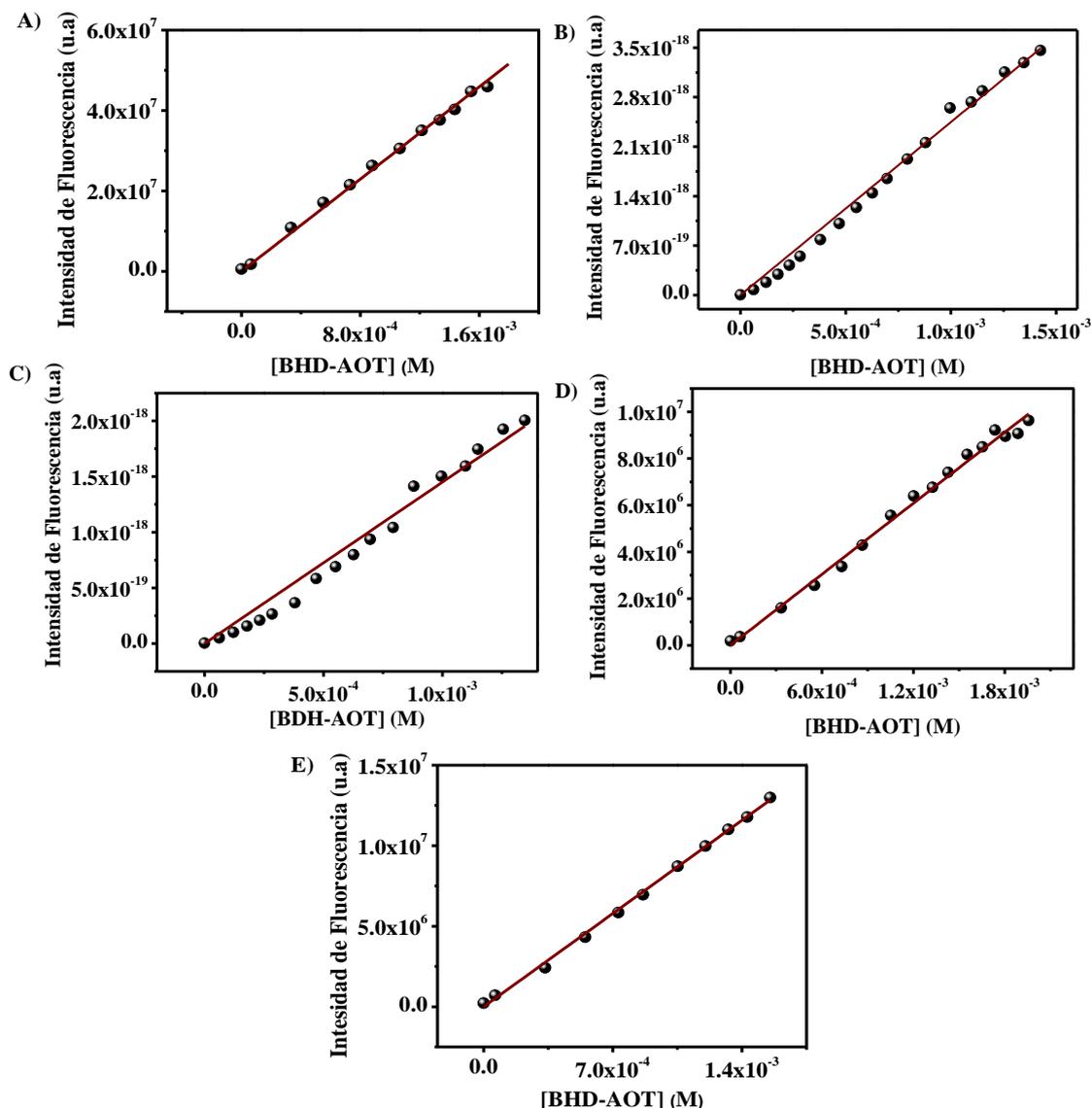


Figura 68. Dependencia de la intensidad de fluorescencia sobre la concentración de BHD-AOT; $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M. $\lambda_{\text{Exi}}=300$ nm (—) Ajuste lineal. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación (119). A) 6.40, B) 8.24, C) 9.41, D) 10.05, E) 10.75.

En la Tabla 5 se muestran los valores de K_2 y de la $[Nf^{-*}]$ para cada pH. Los resultados muestran que la bicapa estabiliza la especie neutra aún a valores altos de pH como se muestra en el Esquema 5, debido a la fuerte interacción de puente de hidrógeno entre la cabeza polar del surfactante y el Nf .

Tabla 5. Valores de constante aparente en el estado excitado (K_2) y de la $[Nf^{-*}]$ a diferente pH.

pH	$[Nf^{-*}]$ (M)	K_2 (M^{-1})	R^2
6.40	$(5.64 \pm 0.01) \times 10^{-8}$	$(4.03 \pm 0.10) \times 10^{-11}$	0.998
8.24	$(6.01 \pm 0.20) \times 10^{-8}$	$(1.45 \pm 0.20) \times 10^{-10}$	0.997
9.41	$(1.79 \pm 0.20) \times 10^{-8}$	$(3.23 \pm 0.20) \times 10^{-10}$	0.997
10.05	$(2.33 \pm 0.10) \times 10^{-7}$	$(5.50 \pm 0.10) \times 10^{-10}$	0.997
10.75	$(2.80 \pm 0.10) \times 10^{-7}$	$(7.85 \pm 0.10) \times 10^{-10}$	0.999

Con los resultados de todas las experiencias, se graficó el $-\log K_2$ en función del pH. En la Figura 69, se muestra la dependencia de $-\log K_2$ con el pH, se puede observar que los valores de K_2 se comportan linealmente con el pH.

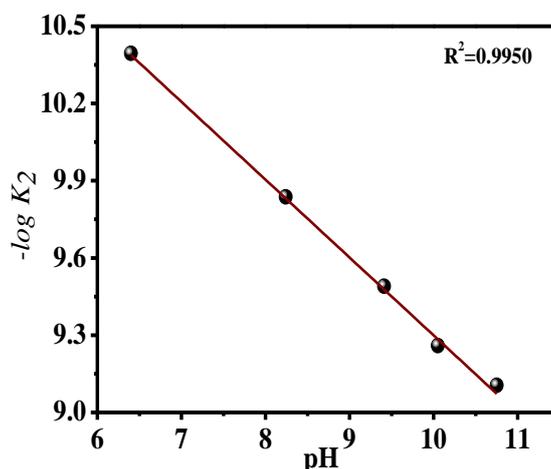


Figura 69. Dependencia $-\log K_2$ sobre el pH $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[LiClO_4]=0.05$ M. $\lambda_{\text{Exi}}=300$ nm, (-) Ajuste lineal. Datos experimentales (●) y la línea continua (—) corresponde al ajuste lineal de los datos

Se continúa con la determinación de la constante de equilibrio en el estado excitado independiente del pH (K_2). Para ello, se reordena la ecuación (119) y se despeja el valor de K_2 independiente del pH de la siguiente manera:

$$\frac{\text{Ordenada}}{\text{Pendiente}} = [Nf]_T \times K_2 \quad (120)$$

Para la determinación de K_2 , se determinaron los valores de las pendientes de la Figura 68, para los valores de pH 6.40, 10.05 y 10.75. Estos valores de pendiente se graficaron en función de la $[H^+]^2$ como se muestra en la Figura 70.

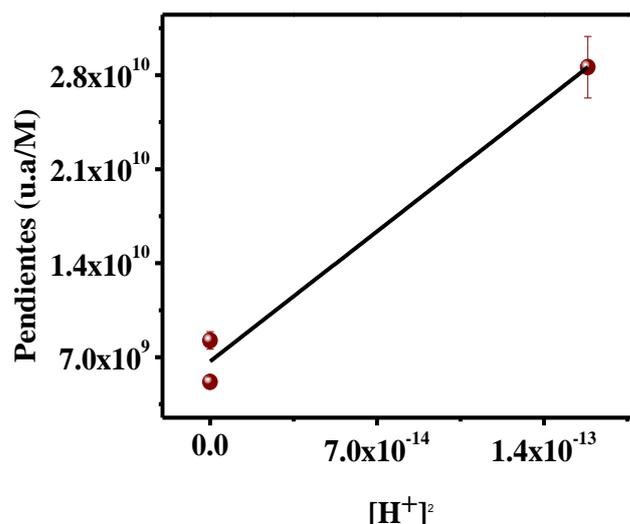


Figura 70. Dependencia de las pendiente sobre la $[H^+]^2$ $[Nf]=1.0 \times 10^{-4}$ M en $[LiClO_4]=0.05$ M. $\lambda_{Exi}=300$ nm, (-) Ajuste lineal. Datos experimentales (●) y la línea continua (-) corresponde al ajuste lineal de los datos

Del ajuste lineal de los datos experimentales se obtuvo el valor de la pendiente y de la ordenada del origen, esos valores se reemplazaron en la ecuación (120) y sabiendo la $[Nf]_T$, se determina el valor de K_2 independiente del pH cuyo valor es de $(4.85 \pm 0.50) \times 10^{-10} \text{ M}^{-1}$ y como se puede observar, los valores de las constantes en la bicapa son mucho más pequeños que los obtenidos en agua pura ($K_1 = 0.31$)^{157,159} razón por la cual se observan las emisiones de ambas especies excitadas cuando el Nf se encuentra en VGU de BHD-AOT.

Hasta el momento se han realizado estudios espectroscópicos del Nf en las vesículas de BHD-AOT. Como el objetivo de este trabajo de tesis es demostrar que las técnicas electroquímicas son una alternativa a las técnicas convencionales de estudio para este tipo de sistemas, a continuación, se mostraran resultados en VGU de BHD-AOT por la técnica de VOC.

IV.2.2.3. Estudios electroquímicos del Nf y Nf^- en VGU de BHD-AOT por voltametría de onda cuadrada (VOC)

Se estudió el comportamiento electroquímico del Nf y Nf^- en las vesículas de BHD-AOT por la técnica de VOC. Todas las experiencias se realizaron en solución acuosa de $LiClO_4$ 0.05 M, con una concentración constante de Nf de 2.0×10^{-3} M. Para las soluciones de Nf^- se modificó el pH con una solución de NaOH 0.5 M. En la Figura 71, se muestran

los voltagramas de onda cuadrada del Nf , variando la concentración de BHD-AOT entre 0.0 y 2.0 mg mL^{-1} . Como se puede observar, a medida que se aumenta la concentración de BHD-AOT la corriente de pico neta disminuye, además parecería que el mecanismo de oxidación del Nf en agua (Sección IV.2.1.4) y en VGU de BHD-AOT es el mismo, ya que tanto en agua como en las vesículas aparece la señal de oxidación a un $E_p = 0.5$ V. En la Figura 72, se observan los voltagramas de onda cuadrada del Nf^- , variando la concentración de BHD-AOT, y se puede observar que a este valor de pH se presenta el mismo comportamiento electroquímico del Nf^- tanto en agua como en VGU de BHD-AOT, ya que en ambos aparece la señal de oxidación a un $E_p = 0.25$ V.

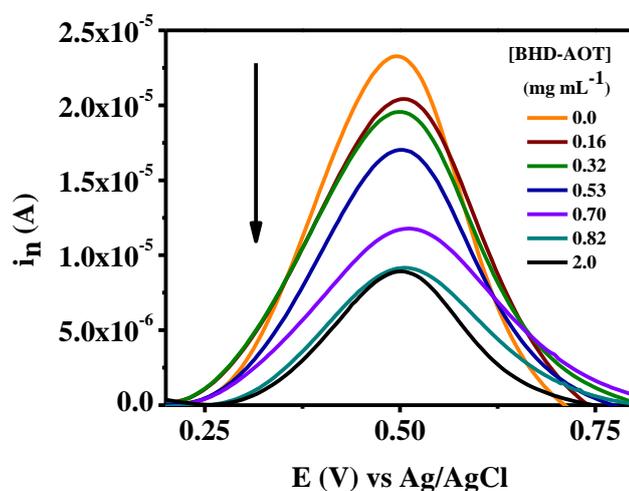


Figura 71. Voltagramas de onda cuadrada del Nf a diferentes concentraciones de BHD-AOT, $[Nf]=2.0 \times 10^{-3} \text{M}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $\Delta E_{sw} = 25 \text{ mV}$, $f = 20 \text{ Hz}$ en $[\text{LiClO}_4] = 0.05 \text{ M}$, $\text{pH} = 6.40$.

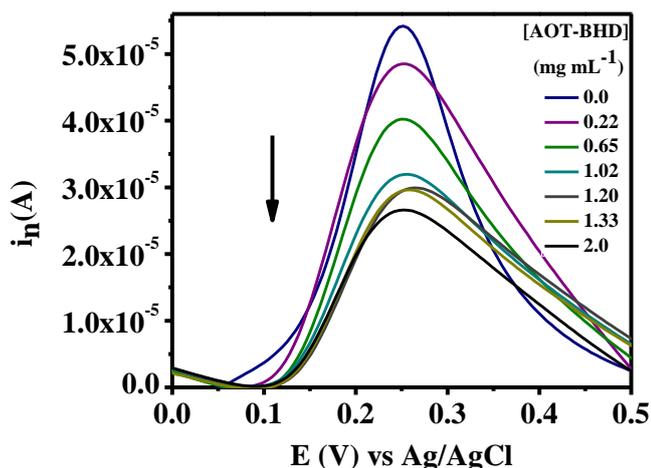


Figura 72. Voltagramas de onda cuadrada del Nf^- a diferentes concentraciones de BHD-AOT, $[Nf]=2.0 \times 10^{-3} \text{M}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, $\Delta E_{sw} = 25 \text{ mV}$, $f = 20 \text{ Hz}$ en $[\text{LiClO}_4] = 0.05 \text{ M}$, $\text{pH} = 10.75$.

La disminución de la corriente de pico neta con la concentración de vesículas de BHD-AOT indicaría que la molécula electroactiva presenta un proceso de partición, es decir, se establece un equilibrio del Nf dentro y fuera de las vesículas (ecuación 107). Como consecuencia, el valor de la corriente de pico neta (ecuación 92) disminuye, ya que el coeficiente de difusión del Nf incorporado en la bicapa es inferior al coeficiente de difusión de Nf en agua. Para explicar estos resultados se utiliza el modelo de la pseudofase.^{17,113,114} El cual plantea la distribución del Nf entre la bicapa y la fase acuosa externa mediante la ecuación (107). Se propone un modelo matemático para la determinación de la K_p por VOC.

IV.2.2.3.1. Modelo electroquímico para calcular la constante de reparto K_p del Nf y Nf^- por voltametría de onda cuadrada (VOC)

Para determinar la K_p de las moléculas electroactivas Nf y Nf^- por VOC, se propone un modelo basado en las siguientes suposiciones:

- El equilibrio de reparto de la molécula prueba (Nf o Nf^-) es acorde al modelo de la pseudofase donde se sugiere que la molécula puede encontrarse entre la bicapa de la vesícula y la región externa acuosa según la ecuación (107) y su K_p se define por la ecuación (108).
- La molécula prueba (Nf o Nf^-), es electroactiva tanto en la bicapa, como en la región externa acuosa.
- Tanto la molécula prueba unida como la libre presentan el mismo comportamiento electroquímico, es decir, se oxida al mismo potencial.
- La corriente de pico neta de la molécula prueba en agua (i_{pnl}) está definida por la ecuación (121).

$$i_{pnl} = a[Nf]_l \quad (121)$$

donde:

$$a = nFA \left(\frac{D_{Nf_l}}{\pi t_p} \right)^{1/2} \psi \quad (122)$$

donde, D_{Nf_l} es el coeficiente de difusión del Nf o Nf^- en agua, ψ es la función corriente de la VOC y t_p es el tiempo de pulso equivalente a $t_p=1/2 f$, donde f es la frecuencia de VOC.¹³⁵ De igual manera se expresa la corriente de pico neta del Nf o Nf^- en VGU como:

$$i_{pnu} = b[Nf]_u \quad (123)$$

Como el mecanismo de oxidación-reducción del Nf o Nf^- en VGU es igual que en agua, el coeficiente b , contiene el mismo valor de la función corriente ψ , quedando expresado así:

$$b = nFA \left(\frac{D_{Nf_u}}{\pi t_p} \right)^{1/2} \psi \quad (124)$$

donde, D_{Nf_u} es el coeficiente de difusión de la vesícula, ya que la especie electroactiva difunde con la misma. Los demás términos ya fueron definidos anteriormente. Como la molécula prueba se encuentra distribuida entre la vesícula $[Nf]_u$, y la fase acuosa $[Nf]_l$, el pico de corriente total (i_T) tiene dos contribuciones como se muestra en la ecuación (125), ya que tanto el $[Nf]_l$ como el $[Nf]_u$, presentan el mismo comportamiento electroquímico a un mismo potencial.

$$i_T = a[Nf]_l + b[Nf]_u \quad (125)$$

donde, la concentración total del Nf se expresa según en la ecuación (109). Combinando las ecuaciones (108) y (109) y reemplazando en la ecuación (125), se obtiene la ecuación (126):

$$i_T = [Nf]_t \left[\frac{a+bK_p[BHD-AOT]}{1+K_p[BHD-AOT]} \right] \quad (126)$$

Con la ecuación (126), se obtiene la corriente total (i_T) como una función de la concentración de surfactante. En las Figuras 73 y 74, se grafican los datos de corriente total frente a la concentración de surfactante a pH 6.40 y pH 10.75, respectivamente. Mediante el empleo de un ajuste no lineal de la ecuación (126), se puede obtener los valores de K_p y los coeficientes a y b para ambos valores de pH, es decir para Nf y Nf^- .

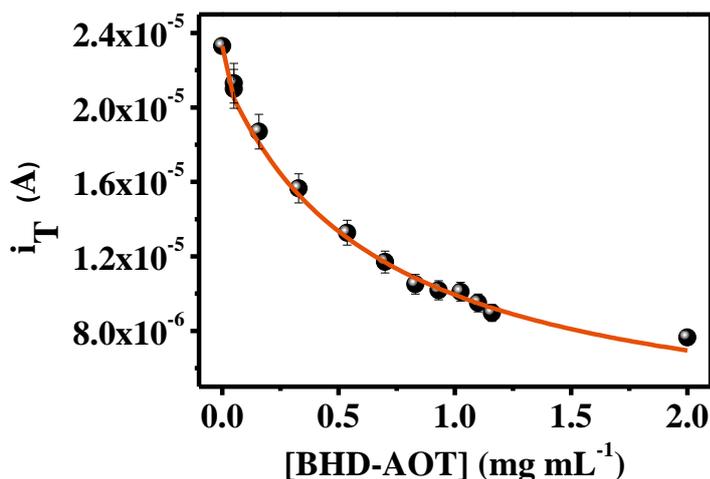


Figura 73. Dependencia de la corriente neta total sobre la concentración de BHD-AOT; [Nf]= 2.0×10^{-3} M en $[\text{LiClO}_4]=0.05\text{M}$, pH= 6.40. Datos experimentales (\bullet) y la línea continua (—) corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación (126).

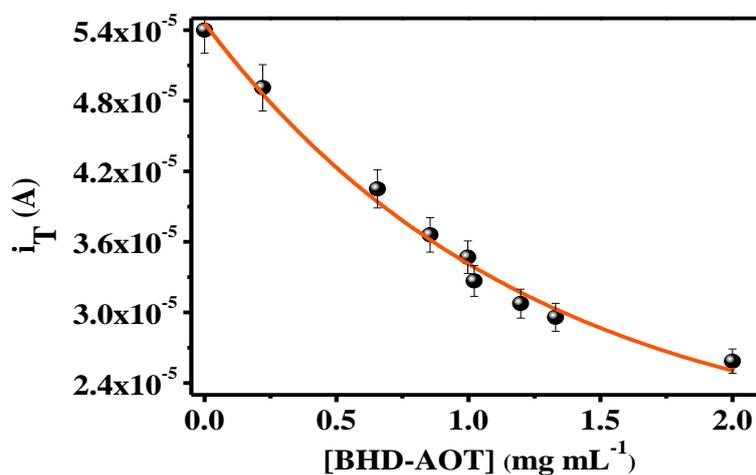


Figura 74. Dependencia de la corriente neta total sobre la concentración de BHD-AOT; [Nf]= 2.0×10^{-3} M en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ M, pH= 10.75. Datos experimentales (\bullet) y la línea continua (—) corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación (126).

Este modelo también permite determinar el coeficiente de difusión de las vesículas (D_{Nf_u}). Realizando el cociente entre las ecuaciones (122) y (124), simplificando términos

comunes y considerando que la función corriente (ψ) del comportamiento electroquímico del Nf o Nf^- es el mismo tanto en la bicapa como en la región externa acuosa, se obtiene la ecuación (127).

$$\frac{a}{b} = \frac{(D_{Nf_l})^{1/2}}{(D_{Nf_u})^{1/2}} \quad (127)$$

Donde los términos a , b y K_p se determinaron a través del ajuste no lineal de los datos experimentales, empleando la ecuación (126) y el coeficiente de difusión del Nf en agua ($D_{Nf_l} = 2.17 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$) fue obtenido de la bibliografía.^{138,165} Estos valores se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Valores de constante de partición (K_p) VGU de BHD-AOT por VOC.

pH	a	b	K_p (mL mg ⁻¹)	R ²
6.40	10.97 ± 0.05	1.07 ± 0.04	1.55 ± 0.03	0.99
10.00	29.02 ± 0.02	2.84 ± 0.02	0.84 ± 0.01	0.99

Como se observa en la Tabla 6 el valor de K_p para la especie cargada es menor, debido probablemente a la carga negativa del Nf^- , la cual le otorga al mismo más afinidad hacia la fase acuosa y no hacia la bicapa de las vesículas de BHD-AOT. Los resultados obtenidos por técnicas electroquímicas presentan muy buena concordancia con los obtenidos previamente por espectroscopía de absorción, si se tienen en cuenta los errores experimentales (ver Tabla 4).

Remplazando los valores de a , b y D_{Nf_l} en la ecuación (127), se determinó el coeficiente de difusión de las vesículas (D_{Nf_u}) para cada valor de pH propuesto. En la Tabla 7, se resumen los valores de los coeficientes de difusión de las vesículas de BHD-AOT. Para comparar los resultados obtenidos por VOC, se determinó el coeficiente de difusión de las vesículas de forma independiente por la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS), y como se observa en la Tabla 7, los valores obtenidos por VOC y por DLS son comparables considerando los errores experimentales de ambas técnicas.

Tabla 7. Valores de los coeficiente de difusión de VGU de BHD-AOT (D_{Nfu}) obtenidas mediante VOC y DLS.

pH	Técnica	D_{Nfu} ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)
6.40	Voltametría de onda cuadrada	$(2.06 \pm 0.03) \times 10^{-7}$
10.75	Voltametría de onda cuadrada	$(2.08 \pm 0.03) \times 10^{-7}$
6.40	DLS	$(2.3 \pm 0.3) \times 10^{-7}$
10.75	DLS	$(2.3 \pm 0.3) \times 10^{-7}$

Todos estos resultados demuestran que las técnicas electroquímicas pueden ser una muy buena alternativa para caracterizar estos sistemas.

IV.3. Aplicación de las técnicas electroquímicas: la VOC como una herramienta para la determinación del coeficiente de permeabilidad de solutos electroactivos a través de la bicapa de las VGU

Para determinar el coeficiente de permeabilidad de solutos a través de la bicapa de las vesículas por VOC, se encapsula una enzima en el interior de las vesículas y se adiciona su correspondiente sustrato enzimático en la región acuosa externa de las vesículas. Con este diseño experimental se busca generar un gradiente de concentración, que favorezca la permeabilidad tanto del sustrato hacia el interior de las vesículas, como del producto de reacción (solutos) hacia la región acuosa externa. De acuerdo con lo anterior, la determinación de la permeabilidad podría seguirse tanto para el sustrato enzimático como para el producto de la reacción, según sus correspondientes propiedades fisicoquímicas. En este caso se realizó la reacción enzimática entre el sustrato 1-naftilfosfato de sodio (1-NP), catalizado por la enzima fosfatasa alcalina (AP) encapsulada en las VGU de BHD-AOT. Dado que, tanto el sustrato como la enzima no son electroactivos, se realizó el seguimiento de la reacción en el tiempo para el producto de la reacción el 1-naftolato (Nf^-) por VOC. Luego se utilizó un modelo matemático,¹⁴¹ para la determinación del coeficiente de permeabilidad para vesículas esféricas monodispersas. A continuación, se muestran los resultados obtenidos para la reacción enzimática mencionada, tanto en solución de LiClO_4 a pH 10.75 como en VGU de BHD-AOT.

IV.3.1. Determinación de los parámetros cinéticos de la reacción enzimática de 1-naftilfosfato de sodio (1-NP) con la enzima fosfatasa alcalina (AP) por espectroscopía de absorción

La hidrólisis enzimática entre el sustrato 1-naftilfosfato de sodio (1-NP) con la enzima fosfatasa alcalina (AP) puede ser representada por la siguiente reacción (Figura 75):

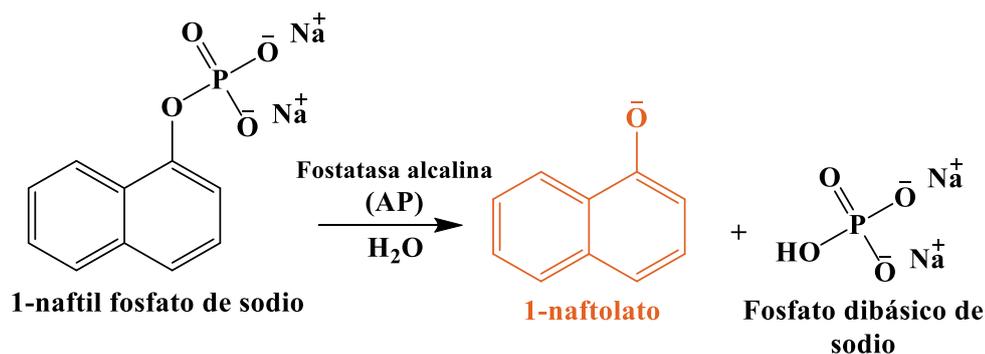


Figura 75. Hidrólisis del 1-naftilfosfato de sodio catalizada por la enzima fosfatasa alcalina.

La determinación de los parámetros cinéticos de la reacción enzimática entre el sustrato 1-NP con la enzima AP, se realizó por el *Modelo cinético de Michaelis-Menten*.^{166 167 168-167}

La cinética enzimática estudia la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas (E_z) y su variación frente a cambios de parámetros experimentales. Estos estudios proporcionan información directa acerca del mecanismo catalítico de la reacción y de la especificidad de la enzima. La velocidad de una reacción catalizada por una enzima puede medirse con relativa facilidad, ya que en muchos casos no es necesario purificar o aislar la enzima. La velocidad de reacción puede determinarse midiendo la aparición de los productos (P_r) o la desaparición de los reactivos o sustrato (S_i). Al seguir la velocidad de aparición del producto (o de desaparición del sustrato) en función del tiempo se obtiene la llamada curva de avance de la reacción o la cinética de la reacción. Para estudiar la cinética enzimática, se mide el efecto de la concentración inicial de sustrato sobre la velocidad inicial de la reacción, manteniendo la cantidad de enzima constante.¹⁶⁹

Las reacciones catalizadas por enzimas exhiben saturación por el sustrato (S_t), una característica que solo presentan los catalizadores biológicos. La velocidad de las reacciones enzimáticas, es decir, el aumento de la concentración de producto (P_r) o la disminución de la concentración del sustrato (S_t) con el tiempo, es una función no lineal de la concentración del S_t . A medida que aumenta la concentración de S_t la velocidad de la reacción alcanza un límite (velocidad máxima, $v_{m\acute{a}x}$) independiente de la concentración de S_t . La velocidad de las reacciones catalizadas por muchas enzimas muestra una dependencia hiperbólica con la concentración de S_t (Figura 76). El efecto de la saturación de S_t se produce para todas las enzimas aunque no todas originan curvas de velocidad hiperbólicas.¹⁶⁹

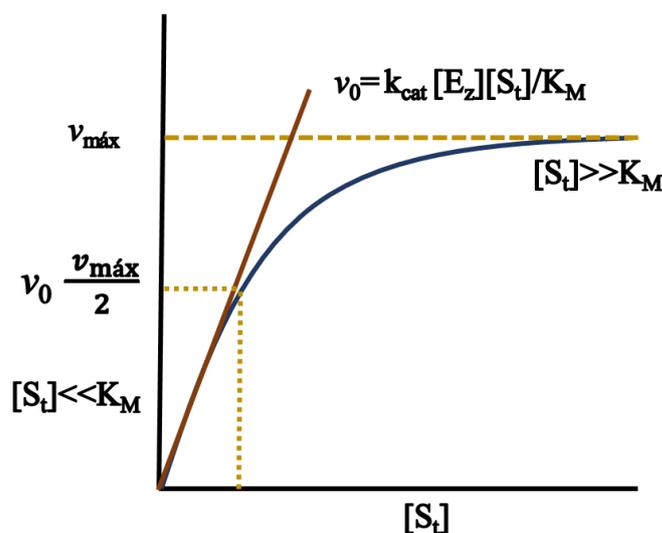
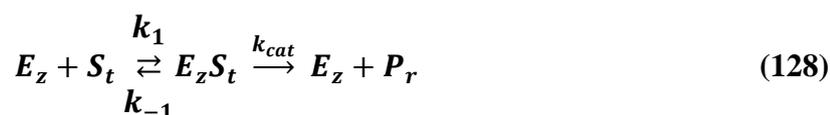


Figura 76. Representación de velocidad de reacción vs concentración de sustrato (Cinética enzimática. Modelo de *Michaelis y Menten*). Gráfico adaptado de la referencia.¹⁷⁰

Para explicar la relación observada entre la velocidad inicial (v_0) y la concentración inicial de sustrato ($[S_t]_0$) *Michaelis y Menten* desarrollaron una ecuación de velocidad que explica el comportamiento cinético de las enzimas (Figura 76). Propusieron que las reacciones catalizadas enzimáticamente ocurren en dos etapas mostradas en la ecuación 128, donde en la primera etapa se forma el complejo enzima-sustrato (E_zS_t) y en la segunda, el complejo (E_zS_t) da lugar a la formación del P_r , liberando la enzima (E_z):



la velocidad inicial (v_0) está dada por:

$$v_0 = \frac{d[P_T]}{dt} = - \frac{d[S_t]}{dt} \quad (129)$$

La concentración de sustrato libre será prácticamente la concentración inicial, debido a que la concentración total de enzima ($[E_z]_T$) es muy pequeña. Por ende, la concentración de sustrato $[S_t]$, es mucho mayor que la $[E_z]$, de tal manera que la cantidad de sustrato unido a la enzima en cualquier momento es muy pequeña, por lo tanto:

$$[S_t]_0 = [S_t] + [E_z S_t] \quad (130)$$

donde, $[E_z S_t]$ es la concentración del complejo enzima-sustrato la cual, se puede despreciar de la ecuación 130. La concentración total de enzima $[E_z]_T$ está dada por la siguiente ecuación:

$$[E_z]_T = [E_z] + [E_z S_t] \quad (131)$$

La velocidad de la transformación de sustrato en producto está limitada por la constante de velocidad k_{cat} , según la ecuación 128, por lo tanto, la expresión de la velocidad se define como:

$$v_0 = k_{cat} [E_z S_t] \quad (132)$$

Aplicando la aproximación del estado estacionario para el complejo ($E_z S_t$) y considerando que la concentración de enzima es muy pequeña y la concentración de sustrato muy grande, entonces se llega a una concentración de complejo enzima-sustrato que es constante para toda la reacción como se muestra en la Figura 76. Por lo que la velocidad de formación va a ser igual a la velocidad de descomposición:

$$k_1[E_z][S_t] = k_{-1}[E_z S_t] + k_{cat}[E_z S_t] = [E_z S_t](k_{-1} + k_{cat}) \quad (133)$$

$$[E_z S_t] = \frac{k_1[E_z][S_t]}{(k_{-1} + k_{cat})} = \frac{[E_z][S_t]}{\left(\frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1}\right)} \quad (134)$$

A la relación entre constantes se la denomina constante de *Michaelis – Menten* (K_M)

$$K_M = \left(\frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1} \right) \quad (135)$$

En lugar de expresar la cinética en función de la enzima libre, se reemplaza en función del complejo enzima-sustrato:

$$[E_z] = [E_z]_T - [E_z S_t] \quad (136)$$

$$[E_z S_t] = \frac{([E_z]_T - [E_z S_t])[S_t]}{K_M} = \frac{[E_z]_T [S_t] - [E_z S_t][S_t]}{K_M} \quad (137)$$

$$[E_z S_t] K_M = [E_z]_T [S_t] - [E_z S_t][S_t] \quad (138)$$

$$[E_z S_t]([S_t] + K_M) = [E_z]_T [S_t] \quad (139)$$

$$[E_z S_t] = \frac{[E_z]_T [S_t]}{(K_M + [S_t])} \quad (140)$$

$$v_0 = k_{cat} [E_z S_t] = k_{cat} \frac{[E_z]_T [S_t]}{(K_M + [S_t])} \quad (141)$$

Para cualquier reacción enzimática, $[E_z]_T$, k_{cat} y K_M son constantes. Dependiendo de la $[S_t]$ empleada, es posible explicar matemáticamente las tres regiones de la curva de la Figura 76, de la siguiente manera:¹⁷⁰

1) A concentraciones de sustrato pequeñas ($[S_t] \ll K_M$), los sitios activos de la enzima se encuentran casi vacíos, por lo tanto $K_M + [S_t] \approx K_M$ y $v_0 = (k_{cat}/K_M) [E_z]_T [S_t]$. Como los términos entre paréntesis son constantes, pueden englobarse en una nueva constante, k_{obs} de forma que la expresión queda reducida a $v_0 = k_{obs} [E_z]_T [S_t]$, con lo cual, la reacción es un proceso cinético de segundo orden (Figura 76). De esta manera, k_{obs} es denominada eficiencia catalítica de la enzima.

2) A concentraciones de sustrato elevadas ($[S_t] \gg K_M$), los sitios activos de la enzima se encuentran ocupados, por lo tanto $K_M + [S_t] \approx [S_t]$ y $v_0 = k_{cat} / [E_z]_T$. La velocidad de

reacción es independiente de la concentración del sustrato y por ende, la reacción es un proceso cinético de orden cero. Si consideramos que toda la enzima está formando complejo enzima-sustrato, entonces $[E_zS_t] = [E_z]_T$, por lo tanto, $k_{cat} [E_z]_T = v_{max}$ y la ecuación de *Michaelis-Menten* es: $v_0 = v_{max}$, que es la velocidad que se alcanzaría cuando toda la enzima disponible se encuentra unida al sustrato. Es lo que ocurre en la fase final de la Figura 76, que tiende asintóticamente a v_{max} .

3) El tramo intermedio, en el que la $[S_t] \approx K_M$, correspondiente a una cinética de orden mixto y se ajusta a la ecuación de *Michaelis*.¹⁷⁰

La interacción de la enzima con su sustrato es caracterizada por K_M , aunque no depende de sus concentraciones. El valor de K_M va desde 10^{-1} hasta 10^{-7} M y tiene unidad de concentración.¹⁷⁰ Se puede calcular gráficamente su valor de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$v_0 = \frac{v_{max}}{2} = \frac{v_{max}[S_t]}{K_M + [S_t]} \quad (142)$$

y por lo tanto:

$$K_M = [S_t] \quad (143)$$

donde, $[S_t]$ es la concentración de sustrato que hace que v_0 sea igual a $\frac{1}{2} v_{max}$. Se suele además, relacionar con otras constantes: si k_{cat} es mucho menor que k_{-1} , k_{cat} es despreciable en el numerador de la ecuación (134).¹⁷⁰

$$K_M = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{1}{K_{afinidad}} \quad (144)$$

En el caso que $k_{cat} \ll k_{-1}$, K_M es una medida inversa de la afinidad de la enzima por el sustrato. Al aumentar K_M , $K_{afinidad}$ baja. Así, si K_M es grande, el complejo (E_zS_t), es inestable, pues predomina la tendencia a destruirlo (poca afinidad hacia el sustrato); y si K_M es pequeña, el complejo (E_zS_t) es estable, ya que predomina la tendencia a formarlo (gran afinidad hacia el sustrato).¹⁷⁰

La capacidad de la enzima para llevar a cabo la transformación está representada por k_{cat} . Esta constante recibe también el nombre de número de recambios (turnover number), es decir, la cantidad máxima de moléculas transformadas por unidad de tiempo (sustrato o producto) por molécula de enzima o por número de sitios activos. Siempre en condiciones de saturación de manera que la cantidad de sustrato no sea limitante, k_{cat} se mide en s^{-1} . El número de recambios se calcula fácilmente:¹⁷⁰

$$k_{cat} = \frac{V_{max}}{[E_z]_T} \quad (145)$$

Se comienza realizando el estudio de la reacción en $LiClO_4$ 0.05 M a pH 10.75 por espectroscopía de absorción con el fin de determinar los parámetros cinéticos de la reacción enzimática en este medio. Se preparan diferentes soluciones de fosfatasa alcalina (AP), cada solución con una concentración de 1.0×10^{-7} M, en $LiClO_4$ 0.05 M a pH 10.75. A cada solución de AP se le adiciona una concentración diferente de 1-naftil fosfato (1-NP), entre 7.0×10^{-6} M y 1.25×10^{-4} M. A cada una de las soluciones se le realiza el seguimiento de la reacción de hidrólisis en el tiempo, por medio de espectros de absorción, a través del registro de la disminución de absorbancia del sustrato 1-NP a λ_{Abs} 285 nm y la aparición de la banda del producto el Nf^- a λ_{Abs} 332 nm. En la Figura 77 se muestran los espectros de absorción de la reacción enzimática entre la AP (1.0×10^{-7} M) con el sustrato 1-NP (7.5×10^{-5} M). Se puede observar que a medida que transcurre el tiempo, la banda de absorción del 1-NP a λ_{Abs} 285 nm disminuye, y empieza aparecer la banda a λ_{Abs} 332 nm la cual corresponde al producto de la reacción el Nf^- . Además, se observa la presencia de un punto isobéptico en aproximadamente 300 nm, que sugiere que la reacción se da sin acumulación de intermediarios.

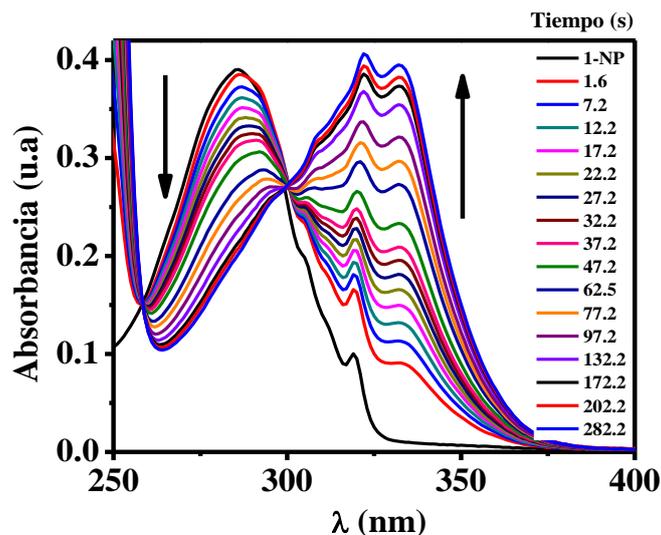


Figura 77. Espectros de absorción de la hidrólisis del 1-NP catalizado por AP en $[\text{LiClO}_4]=0.05 \text{ M}$; $[\text{1-NP}]=7.5 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{AP}]=1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$; a pH 10.75.

Para determinar los parámetros cinéticos (k_{cat} , K_M y v_{max}) de la reacción de hidrólisis entre el 1-NP, catalizada por la enzima AP en LiClO_4 0.05 M, se toman los valores de absorbancia del producto (Nf^-) a λ_{Abs} 332 nm en el tiempo para cada una de las soluciones. Los valores de las absorbancias fueron divididos por el valor del ϵ del Nf^- ($6350.90 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), obteniéndose la concentración del Nf^- en función del tiempo. Graficando estos valores en función del tiempo, se obtienen las velocidades iniciales v_0 para cada cinética. En la Figura 78, se muestra el grafico de las velocidades iniciales para cada concentración de 1-NP, y sobre los puntos experimentales se realizó un ajuste no lineal con la ecuación (142), el cual permitió hallar la K_M y la v_{max} . Con los parámetros cinéticos ya determinados en el ajuste y aplicando la ecuación (145), se puede determinar la k_{cat} .

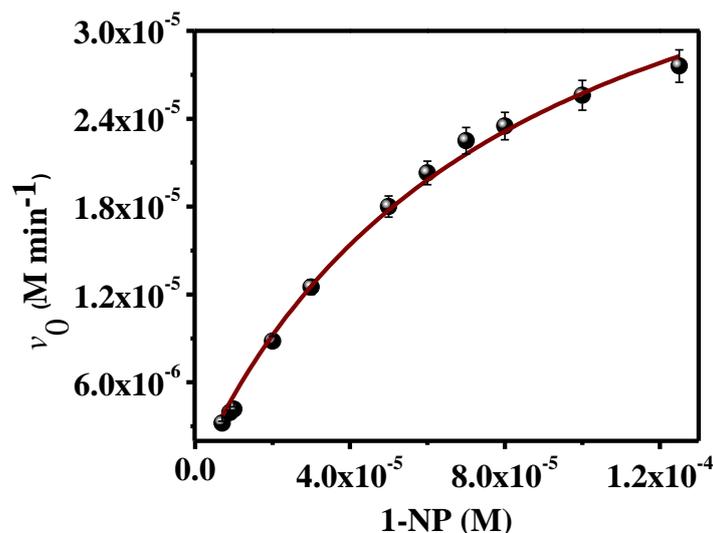


Figura 78. Dependencia de la relación v_0 con la $[1\text{-NP}]$ en $[\text{LiClO}_4]=0.05$ a pH 10.75, donde v_0 son velocidades iniciales de las diferentes cinéticas realizadas, (\bullet) datos experimentales, (—) ajuste no lineal de los datos experimentales empleando la ecuación (142).

En la Tabla 8, se muestran los parámetros cinéticos de la reacción enzimática entre el 1-NP y la enzima AP en LiClO_4 0.05 M a pH 10.75. Los valores de los parámetros cinéticos muestran que la solución de LiClO_4 0.05 M a pH 10.75, es un medio apropiado para la reacción enzimática ya que no se produce la inactivación de la enzima y en principio permitiría realizar los estudios de permeabilidad del 1-NP a través de las bicapas de las VGU de BHD-AOT por VOC.

Tabla 8. Resumen de los parámetros cinéticos experimentales de la hidrólisis de 1-NP catalizada por AP en medio homogéneo.

Medio	K_M (M)	k_{cat} (s^{-1})	v_{max} ($M \text{ min}^{-1}$)	k_{cat}/K_M ($M^{-1}s^{-1}$)
LiClO_4 pH 10.75	$(8.13 \pm 0.272) \times 10^{-5}$	7.76 ± 0.08	$(4.66 \pm 0.08) \times 10^{-5}$	95449 ± 0.29

IV.3.1.1. Respuesta electroquímica de la reacción enzimática en solución acuosa de LiClO_4 a pH 10.75 por VOC

Se procedió a continuación a realizar el estudio de la cinética enzimática en solución de LiClO_4 a pH 10.75 por VOC, siguiendo la respuesta electroquímica del Nf^- . La Figura 79, muestra algunos voltogramas de onda cuadrada de la reacción enzimática en LiClO_4 0.05 M, para una concentración de sustrato 1-NP de 1.95×10^{-3} M, catalizado por la enzima AP en el

tiempo. Estos resultados muestran un aumento de la corriente de pico neta (i_{pn}) con el tiempo. A esta concentración de sustrato, la formación del producto es casi inmediata, ya que se observa una corriente de oxidación a un E_p de 0.25 V a 0.2 min, que corresponde a la señal de oxidación del producto de la reacción, el Nf^- . La reacción se monitorea en el tiempo por 35 minutos, como puede observarse a partir de los 30 min, no se observa cambios significativos en la corriente. Por lo tanto, estos resultados demuestran que es posible determinar el producto de la reacción enzimática por VOC.

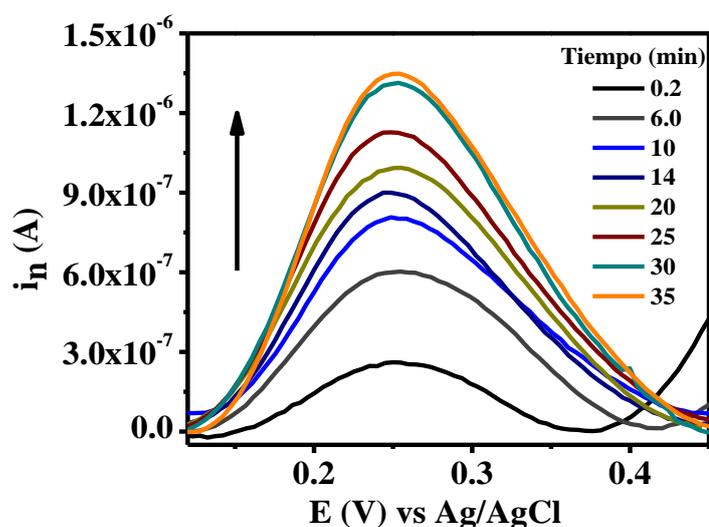


Figura 79. Cinética enzimática del 1-NP monitoreada por VOC $\Delta E_s = 5$ mV, $\Delta E_{sw} = 25$ mV, $f = 20$ Hz en $[\text{LiClO}_4] = 0.05$ M, $\text{pH} = 10.75$. $[\text{1-NP}] = 1.95 \times 10^{-3}$ M, $[\text{Ez}] = 1 \times 10^{-7}$ M.

IV.3.1.1.1. Respuesta electroquímica para distintas concentraciones de Nf^- en solución acuosa de LiClO_4 a pH 10.75 por VOC

A continuación, se muestran los resultados obtenidos por VOC para distintas concentraciones de Nf^- con el fin de obtener el parámetro B de la ecuación (92), el cual será utilizado más adelante en la determinación de la concentración del producto de la reacción enzimática dentro de las VGU de BHD-AOT.

Estos estudios se llevan a cabo bajo las mismas condiciones experimentales que los estudios realizados en VGU de BHD-AOT. En la Figura 80, se muestran algunos voltogramas de onda cuadrada para diferentes concentraciones de Nf^- .

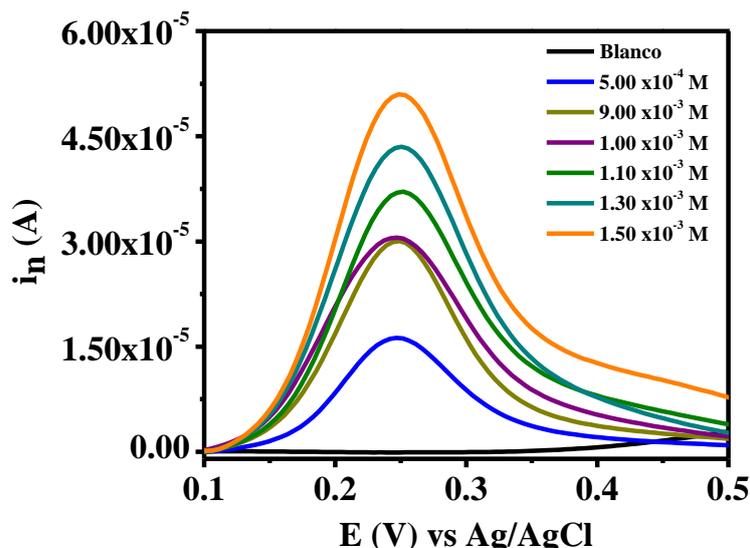


Figura 80. Voltagramas de onda cuadrada para diferentes concentraciones de Nf^- $\Delta E_s = 5$ mV, $\Delta E_{sw} = 25$ mV, $f = 20$ Hz en $[LiClO_4] = 0.05$ M, pH=10.75.

Con las corrientes de pico netas (i_{pn}) de la VOC obtenidas en los voltagramas (Figura 80), y sabiendo que i_{pn} es proporcional a la concentración de Nf^- , se realiza un gráfico de i_{pn} vs $[Nf^-]$ como se muestra en la Figura 81. Reordenando la ecuación (92) se obtiene la ecuación (146):

$$i_{pn} = \frac{nFAD_R^{\frac{1}{2}}C_{Nf}^*}{(\pi t_p)^{\frac{1}{2}}} \psi = BC_R^* * D_{Nf^-}^{1/2} \quad (146)$$

donde $D_{Nf^-}^{1/2}$ es el coeficiente de difusión del Nf^- en medio acuoso, cuyo valor fue determinado previamente $(2.17 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s})^{138}$, n es el número de electrones intercambiados, F es la constante de Faraday, A es el área del electrodo, t_p el tiempo de pulso, y ψ es la función corriente de la onda cuadrada en este medio.

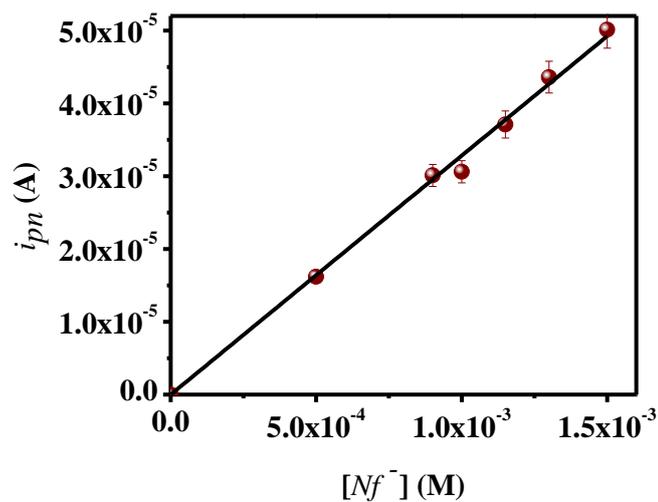


Figura 81. Variación de la i_n con la concentración de Nf^{-} en $[LiClO_4]= 0.05$ M, $pH=10.75$.

Se realiza un ajuste lineal a los datos experimentales y se determina el valor de la constante B de 7075.98 A cm^2 mol^{-1} según la ecuación (146).

IV.3.2. Determinación de permeabilidad del 1-NP a través de la reacción enzimática con AP en el interior de las VGU de BHD-AOT

Como se mencionó anteriormente para determinar la permeabilidad del 1-NP a través de la bicapa de las VGU de BHD-AOT, se realiza la reacción enzimática entre el 1-NP y la enzima AP en el interior de las vesículas como se representa en la Figura 82. Se detecta a través de VOC el producto de la reacción, Nf^- , generado en el interior de las VGU, ya que tanto el sustrato, como la enzima y las vesículas no son electroactivas. Para ello se comienza realizando estudios electroquímicos de Nf^- encapsulado en VGU BHD-AOT.

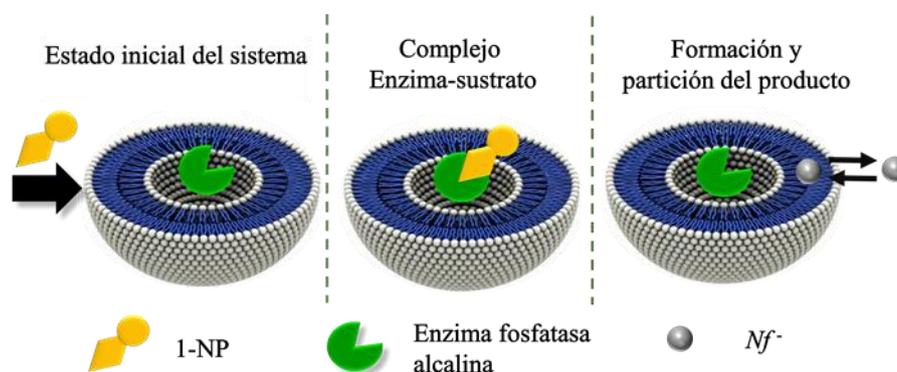


Figura 82. Hidrólisis de 1-naftilfosfato de sodio catalizada por la enzima fosfatasa alcalina en el interior de VGU de BHD-AOT.

IV.3.2.1. Estudio electroquímico del Nf^- encapsulado en VGU de BHD-AOT en $LiClO_4$ 0.05 M a pH 10.75

Como se discutió previamente el Nf^- es una molécula electroactiva cuyo potencial de oxidación se encuentra en 0.25 V a pH=10.75, y en presencia de las VGU de BHD-AOT esta molécula sufre un proceso de reparto entre la fase acuosa y la bicapa de las vesículas. Como el objetivo es generar la reacción en el interior de la vesícula, se necesita saber si el Nf^- difunde rápidamente del interior al exterior de la vesícula, para poder ser detectado electroquímicamente. Para ello, se encapsula el Nf^- en las vesículas de BHD-AOT, luego se elimina el Nf^- que se encuentra en la fase acuosa externa de las vesículas (Sección III.3.6), pasando la solución por una columna de Sephadex G50. A la fracción separada se le realizaron voltagramas a diferentes tiempos. En la Figura 83, se muestran los voltagramas de onda cuadrada obtenidos en el tiempo para la fracción de mayor concentración de vesículas separadas. Como se puede observar no hay señal de oxidación a un E_p de 0.25 V, durante 35 minutos.

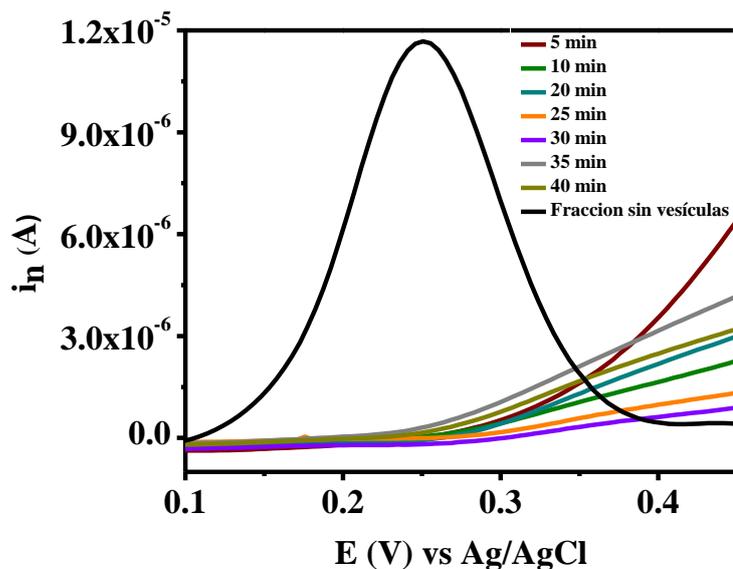


Figura 83. Voltagramas de onda cuadrada del Nf^- en BHD-AOT, $[Nf^-]=2,0 \times 10^{-3}$ M, $\Delta E_s=5$ mV, $\Delta E_{sw}=25$ mV, $f=20$ Hz en $[LiClO_4]=0.05$ M, $pH=10.75$.

Esto indica que, posiblemente el Nf^- en el interior de las vesículas difunde rápidamente a la fase acuosa externa a medida que se va separando por la columna. Para corroborar dicha hipótesis, a la misma fracción con la que se venía realizando el estudio en el tiempo, se le adiciona un exceso de sal ($LiClO_4$) con el fin de romper las vesículas y determinar si había algo de Nf^- encapsulado. En la Figura 83, en el voltograma realizado a los 40 minutos para las vesículas rotas, no se observa señal de oxidación a un E_p de 0.25 V, lo cual indica que no ha quedado Nf^- encapsulado, o está en una concentración por debajo de la mínima detectable por esta técnica. Por otro lado, se toma la última fracción de la columna obtenida en la separación inicial (sin turbidez), y se le realiza un voltograma de onda cuadrada. En la Figura 83, se muestra el voltograma de onda cuadrada para la fracción sin vesículas, ésta presenta una señal de oxidación con un E_p de 0.25 V confirmando la presencia del Nf^- fuera de las VGU de BHD-AOT. Estos resultados muestran que el Nf^- difunde rápidamente hacia la fase acuosa externa de las VGU de BHD-AOT y el producto de la reacción, por lo tanto, podrá ser detectado inmediatamente por VOC a medida que va siendo generado en el interior de la vesícula durante la reacción enzimática.

IV.3.2.2. Cinética enzimática en VGU de BHD-AOT por VOC

La reacción enzimática se realizó dentro de las VGU de BHD-AOT a pH 10.75, como se describe en la Sección III.3.7. Para que la reacción se lleve a cabo, el sustrato 1-NP debe atravesar la bicapa de las vesículas encontrarse con la enzima en el interior, reaccionar y el producto de la reacción, el Nf^- , debe difundir para ser detectado electroquímicamente.

En la Figura 84, se muestran los voltagramas de onda cuadrada, de la reacción enzimática entre el 1-NP (1.00×10^{-3} M) y la enzima AP (1.0×10^{-7} M) dentro de las VGU de BHD-AOT en el tiempo. Como se observa, la reacción no ocurre inmediatamente como sucede en medio homogéneo, ya que la señal de oxidación empieza a ser visible pasados los 6 min de reacción. Esto se debe a que el 1-NP adicionado en el exterior de la fase acuosa de las vesículas tiene que permear la bicapa y encontrarse con la enzima en el interior acuoso de las VGU de BHD-AOT para formar el Nf^- , el cual una vez formado debe difundir para ser detectado por el electrodo.

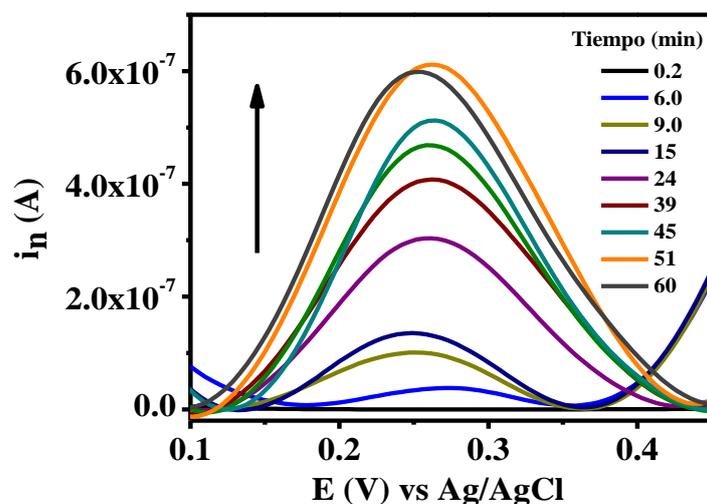


Figura 84. Cinética enzimática del 1-NP en VGU de BHD-AOT monitoreada por VOC $\Delta E_s = 5$ mV, $\Delta E_{sw} = 25$ mV, $f = 20$ Hz en $[LiClO_4] = 0.05$ M, pH=10.75. $[BHD-AOT] = 2.0$ mg mL⁻¹ $[1-NP] = 1.00 \times 10^{-3}$ M, $[E_z] = 1.00 \times 10^{-7}$ M.

La figura 85 muestra los voltagramas correspondientes al mismo experimento con tres concentraciones diferentes de 1-NP.

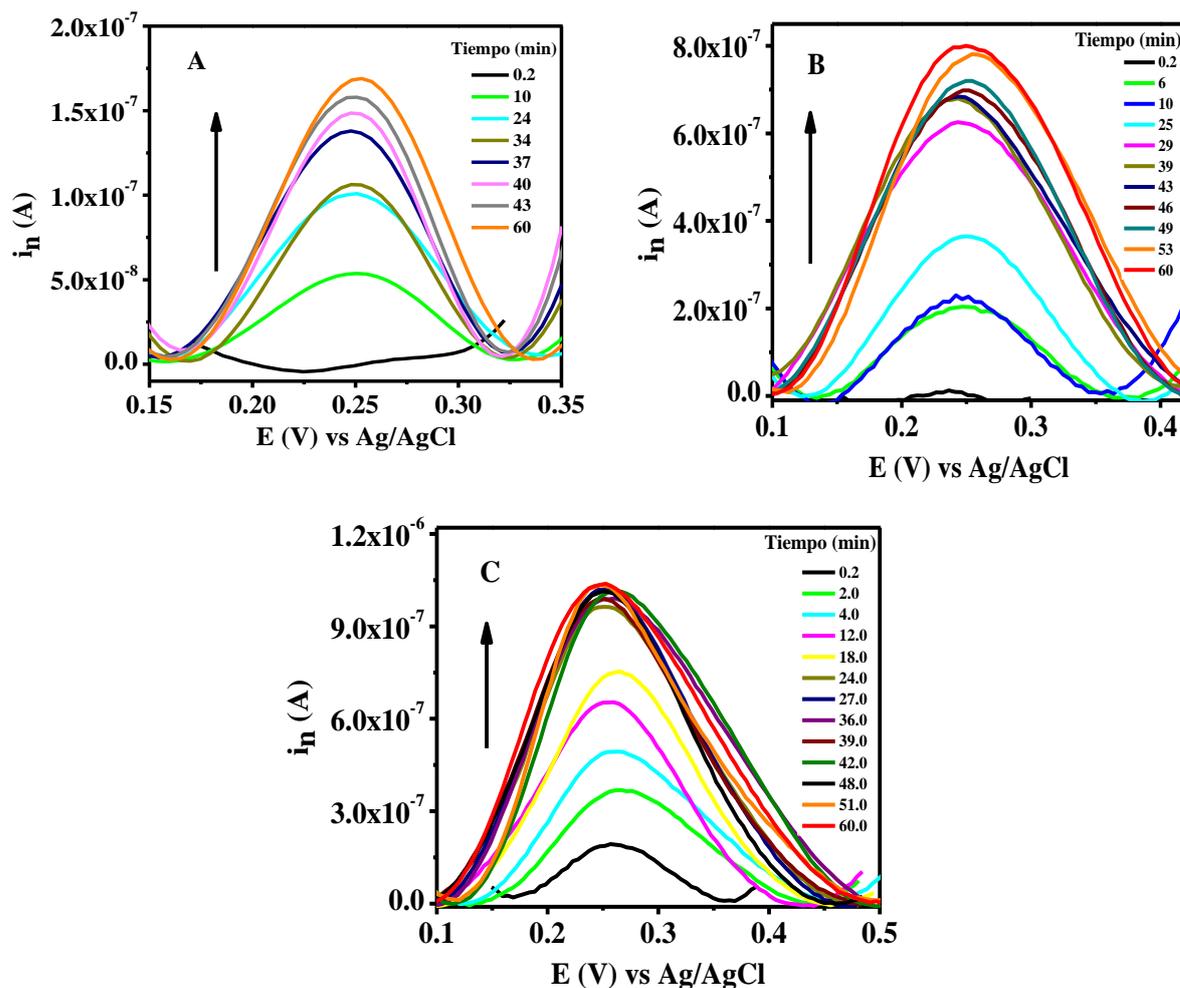


Figura 85. Cinética enzimática del 1-NP en VGU de BHD-AOT monitoreada por VOC $\Delta E_s = 5$ mV, $\Delta E_{sw} = 25$ mV, $f = 20$ Hz en $[\text{LiClO}_4] = 0.05$ M, $\text{pH} = 10.75$. $[\text{BHD-AOT}] = 2.0$ mg mL⁻¹; $[E_z] = 1.0 \times 10^{-7}$ M. a) $[1\text{-NP}] = 7.45 \times 10^{-4}$ M, b) $[1\text{-NP}] = 1.95 \times 10^{-3}$ M c) $[1\text{-NP}] = 4.95 \times 10^{-3}$ M.

Como se observa en las Figuras 84 y 85, es posible realizar la cinética enzimática dentro de las VGU de BHD-AOT y, aún más importante, es posible detectar el producto de la reacción enzimática, el Nf^- , por VOC. El Nf^- generado en el interior de la vesícula, difunde rápidamente hacia el exterior y se reparte entre la fase acuosa y la bicapa de la vesícula. Por lo tanto, la i_T será la contribución del Nf^- unido a la bicapa y el Nf^- en la fase acuosa externa. En la Figura 86 se muestra la variación del valor de la i_T en el tiempo para cada cinética monitoreada por VOC. Estos resultados muestran un aumento de la i_T con el tiempo y con la concentración de sustrato (1-NP) para las cuatro cinéticas estudiadas.

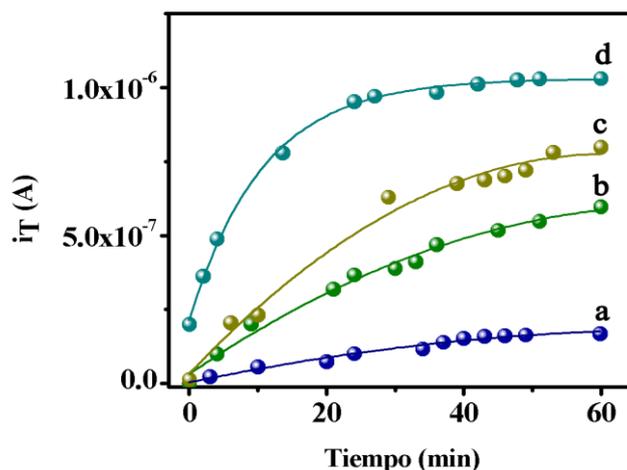


Figura 86. Variación de i_T en el tiempo para cinéticas monitoreadas por VOC con diferentes [1-NP]: (a) 7.45×10^{-4} M, (b) 1.00×10^{-3} M, (c) 1.95×10^{-3} M y (d) 4.95×10^{-3} M. $E_s = 5$ mV, $E_{sw} = 25$ mV y $f = 20$ Hz, $[Ez] = 1.00 \times 10^{-7}$ M, $[BHD-AOT] = 2.0$ mg mL $^{-1}$, pH=10.75.

Con los resultados obtenidos para las diferentes concentraciones de 1-NP, se determinará el coeficiente de permeabilidad del mismo a través de las bicapas de las VGU de BHD-AOT, bajo la suposición de que el tiempo de retardo en aparecer el producto detectado, el cual difunde inmediatamente, es debido al tiempo en que el 1-NP necesita para atravesar la bicapa. Para la determinación de la permeabilidad, es importante seguir en el tiempo el aumento de la $[Nf^-]$ generado en el interior de la VGU.

Hasta el momento con la VOC, y teniendo en cuenta que el sustrato, la enzima y las vesículas no se descargan sobre la superficie del electrodo en el intervalo de potencial estudiado, se determina de manera indirecta la concentración del Nf^- generado en el interior de las vesículas, midiendo la i_T de la VOC que es proporcional a la concentración de Nf^- como se muestra en la ecuación (146). Sin embargo, la i_T no solo es proporcional a la concentración de la especie electroactiva, si no también depende de otros factores como el coeficiente de difusión del Nf^- , el parámetro B determinado previamente (Sección IV.3.1.1.1) y del proceso de reparto del Nf^- . Para obtener los valores de la concentración de Nf^- generada enzimáticamente, se usará un modelo matemático.

IV.3.2.2.1. Determinación de la $[Nf^-]$ generado enzimáticamente en las VGU de BHD-AOT por VOC

Se sabe que la i_{pn} es proporcional a la $[Nf^-]$ (ecuación (146)) y además que el Nf^- en presencia de las VGU de BHD-AOT presenta un proceso de reparto entre la bicapa y la fase acuosa externa. El Nf^- muestra el mismo comportamiento electroquímico tanto cuando está unido a la bicapa como en la fase acuosa externa, es decir se descargan al mismo potencial. De tal manera que la i_T será la contribución de ambas corrientes y se expresa según la ecuación (147).

$$i_T = B(D_{Nf_l}^{1/2}[Nf^-]_l + D_{Nf_u}^{1/2}[Nf^-]_u) \quad (147)$$

donde, $D_{Nf_l}^{1/2}$ y $D_{Nf_u}^{1/2}$ son los coeficientes de difusión del Nf^- libre y unido a la bicapa respectivamente, donde ambos ya fueron determinados en la Sección IV.2.2.3. Como las medidas se realizaron en el mismo medio, y en las mismas condiciones, suponiendo que el mecanismo de oxidación es el mismo dentro y fuera de las VGU, B es una constante. Ésta contiene los términos de la ecuación de corriente la cual fue determinada en la Sección IV.3.1.1.1. Debido a que el Nf^- sufre un proceso de reparto como se mencionó anteriormente, la concentración libre de Nf^- usando la ecuación (108) queda expresada como:

$$[Nf^-]_l[BHD - AOT] * K_p = [Nf^-]_u \quad (148)$$

Remplazando la $[Nf^-]_u$ en la ecuación (147), se obtiene la i_T en función de la $[Nf^-]_l$ como se muestra en la ecuación (149).

$$i_T = B * \left(D_{Nf_l}^{1/2}[Nf^-]_l + D_{Nf_u}^{1/2}[Nf^-]_l[BHD - AOT] * K_p \right) \quad (149)$$

Remplazando los valores del D_{Nf_l} ($2.17 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), D_{Nf_u} ($2.06 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), K_p (0.84 mg mL^{-1}), y la constante B ($7075.98 \text{ A cm}^2 \text{ s}^{1/2} \text{ mol}^{-1}$) se obtiene el valor de la i_T en función de la $[Nf^-]_l$, como se muestra en la ecuación (150).

$$i_T = 8.02 [Nf^-]_l \quad (150)$$

Sabiendo que la concentración de Nf^- total está dada por la ecuación (151):

$$[Nf^-]_T = [Nf^-]_u + [Nf^-]_l \quad (151)$$

Relacionando las ecuaciones (148), (150) y (151) se obtiene que la concentración de Nf^- total en función de i_T es:

$$[Nf^-]_T = 71.08 i_T \quad (152)$$

En la Figura 87 se muestra el valor de la concentración de Nf^- generada en el tiempo para cada cinética, calculada reemplazando el valor de la i_T de cada voltograma de la Figura 86 usando la ecuación (152).

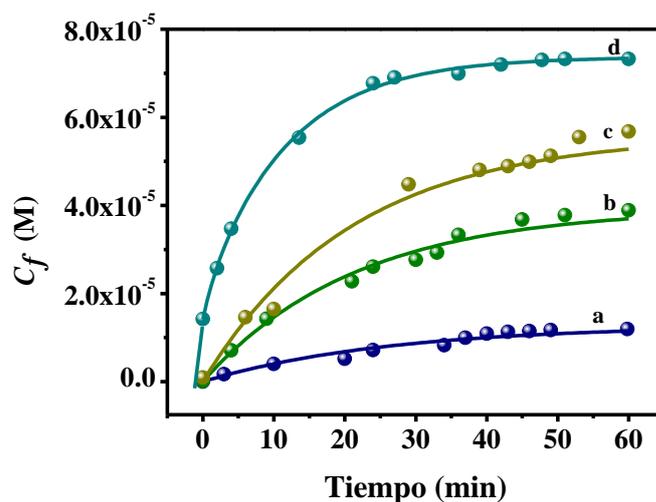


Figura 87. Variación de $C_f(t)$, en el tiempo para cinéticas monitoreadas por VOC con diferentes [1-NP]: (a) 7.45×10^{-4} M, (b) 1.00×10^{-3} M, (c) 1.95×10^{-3} M y (d) 4.95×10^{-3} M. $E_s = 5$ mV, $E_{sw} = 25$ mV y $f = 20$ Hz, $[Ez] = 1.00 \times 10^{-7}$ M, $[BHD-AOT] = 2.00$ mg mL $^{-1}$, pH=10.75.

IV.3.2.2.2. Determinación de la permeabilidad del 1-NP

Durante más de 30 años, la estimación de la permeabilidad de la bicapa a diferentes tipos de solutos ha sido de gran interés para los biofísicos, especialmente para las membranas a base de fosfolípidos. Una de las razones de tal interés es que las vesículas son considerados como sistemas potenciales para el suministro de fármacos, por ejemplo, han sido utilizadas como agentes para la transferencia de genes,^{171,172} como agentes de diagnóstico por imagen

para detectar tumores,¹⁷³⁻¹⁷⁵ o como agentes cosméticos para la entrega de medicamentos para la piel.^{141,176-178}

Para determinar la permeabilidad de un soluto a través de una reacción enzimática que transcurre en el interior de las vesículas se deben cumplir las siguientes condiciones: i) las vesículas deben ser estables. ii) la enzima debe de ser estable en el interior de las vesículas. iii) la enzima debe ser retenida en el interior de las vesículas (no debe permear hacia la región acuosa externa), y iv) el sustrato enzimático, el cual se encuentra en la región acuosa externa, debe permear la vesícula hacia la región acuosa interna para reaccionar con la enzima.¹⁴¹

Faure, C. *et al.*,¹⁴¹ han propuesto el siguiente modelo matemático para la determinación de la permeabilidad de un soluto a través de una bicapa por medio de una reacción enzimática. Dicho modelo propone representar el proceso de permeación como se muestra en la ecuación (153), dicha ecuación es una modificación a las ecuaciones diferenciales propuesta por Hamilton, R.T *et al.*¹⁷⁹ Para ello, Faure considera que las concentraciones del soluto pueden estar presentes tanto dentro como fuera de una vesícula unilamelar.

$$V_f \delta C_f(t) = \frac{SP}{2} [C_d(t) - C_f(t)] \delta t \quad (153)$$

donde, $C_d(t)$ y $C_f(t)$ corresponden a las concentraciones del soluto dentro y fuera de las vesículas en función del tiempo y V_f es el volumen de la región acuosa externa de las vesículas. S denota la suma del área superficial dentro y fuera de la bicapa de las vesículas unilamelares y P es la permeabilidad del sustrato a través de la bicapa expresada en cm s^{-1} . $\delta C_f(t)$ se considera la variación de concentración del sustrato en la región acuosa externa en el tiempo, el cual cambia debido al paso del soluto a través del espesor de la bicapa de las vesículas, y se describe según la ecuación (153).¹⁴¹ Por lo tanto el balance de masa del soluto se expresa según la ecuación (154):

$$C_{tot} V_{tot} = V_d C_d(t) + V_f C_f(t) \quad (154)$$

Considerando que el volumen interno en las vesículas (V_d) es mucho menor que el volumen de la región acuosa externa ($V_d \ll V_f$), el volumen total (V_{tot}) será igual al volumen

de la región acuosa externa de las vesículas (V_f). Por lo anterior, la ecuación (154) se expresa como una función de $C_d(t)$ según la ecuación (155):

$$C_d(t) = \frac{V_f}{V_d} [C_{tot} - C_f(t)] \quad (155)$$

Reemplazando (155) en (154), simplificando términos y expresando la ecuación resultante como una ecuación diferencial tenemos:¹⁴¹

$$\frac{d[C_f(t)/C_{tot}]}{dt} = \frac{SP}{2V_d} \left[1 - \frac{C_f(t)}{C_{tot}} \right] \quad (156)$$

La solución de la ecuación diferencial (156) es una función exponencial según se muestra en la ecuación (157):¹⁴¹

$$C_f(t) = C_{tot} + [C_f(0) - C_{tot}] \exp[-t/\tau] \quad (157)$$

donde, $C_f(0)$ es la concentración del soluto en la fase acuosa externa a tiempo cero, y el término τ , se considera el tiempo que tarda el soluto en cruzar la bicapa de las vesículas, el cual se describe según la siguiente ecuación:¹⁴¹

$$\tau = \frac{2V_d}{SP} \quad (158)$$

Donde el término τ contiene el término P (ecuación (158)), que es la permeabilidad expresada en cm s^{-1} , y el resto de los términos ya fueron definidos previamente. El término τ puede determinarse experimentalmente midiendo la variación de la concentración del soluto en el tiempo de acuerdo con la ecuación (157). La relación entre el volumen interno de las vesículas (V_d) y el área superficial de las vesículas (S), se describe según la ecuación (159), considerando que las vesículas tienen una geometría esférica, donde R_b es el radio externo de la bicapa y L el espesor de la bicapa.

$$\frac{V_d}{S} = \frac{1}{3} \frac{[R_b - L]^3}{(R_b^2 + [R_b - L]^2)} \quad (159)$$

Dadas las dimensiones de las vesículas donde el $L \ll R_b$ se puede simplificar la ecuación (159) como:

$$\frac{V_d}{S} = \frac{R_b}{6} \quad (160)$$

Reemplazando (160) en (158), se llega a la ecuación (161):

$$\tau = \frac{R_b}{3P} \quad (161)$$

Donde el término τ contiene el término P , que es la permeabilidad la cual será determinada utilizando la ecuación (157) a partir de la obtención experimental de τ .

La permeabilidad en nuestro sistema, se determinó por medio de una modificación del modelo matemático propuesto por Faure, C. *et al.*¹⁴¹. Se realizaron cuatro cinéticas enzimáticas utilizando el sustrato 1-NP y la enzima AP encapsulada. Se varió la concentración de sustrato 1-NP (7.45×10^{-4} M - 4.95×10^{-3} M), con una concentración constante de enzima AP (1.0×10^{-7} M) para detectar por VOC el producto de la reacción (Nf^-). De acuerdo con la Figura 82, el sustrato 1-NP incorporado en la fase externa acuosa debe atravesar la bicapa para reaccionar con la enzima y producir el Nf^- , especie cuya concentración es determinada en el tiempo. Por lo tanto, el retardo en la aparición del producto (Nf^-) sólo se debe al tiempo que tarda el 1-NP en atravesar la bicapa para reaccionar con la enzima, ya que el Nf^- generado en el interior de la VGU difunde rápidamente hacia la fase externa acuosa y se reparte. Como a tiempo cero no hay Nf^- en la fase acuosa externa de la VGU, $C_f(0)=0$, por lo tanto, la ecuación (157) queda expresada como:

$$C_f(t) = C_{tot} - C_{tot} \exp[-t/\tau] \quad (162)$$

donde $C_f(t)$, es la concentración del Nf^- , en la fase acuosa externa en el tiempo, C_{tot} es la concentración del Nf^- al tiempo total de la reacción, t es tiempo de reacción. Para las condiciones experimentales propuestas, τ representa el retardo en la aparición de la señal, es decir, el tiempo que tarda el sustrato 1-NP en atravesar la bicapa para reaccionar con la enzima.

Debido a que τ debe ser independiente de la concentración de sustrato (1-NP), la ecuación (162) se dividió con respecto a $C_{tot}(t)$ para cada [1-NP], quedando expresada de la siguiente manera:

$$\frac{C_f(t)}{C_{tot}} = 1 - \exp(-t/\tau) \quad (163)$$

Aplicando \log , a ambos lados de la ecuación (163), y reordenando términos, se obtiene:

$$\log(1 - C_f(t)/C_{tot}) = -t/\tau \quad (164)$$

En la Figura 88, se muestra la variación de los valores experimentales, mostrados en la Figura 87, del \log de la relación $(1 - C_f(t)/C_{tot})$ en función del tiempo para las diferentes [1-NP] por VOC. Estos resultados muestran que los puntos experimentales convergen en una sola recta, demostrando que τ es independiente de la concentración de sustrato (1-NP). Estos datos se ajustaron con la ecuación (164) utilizando un método de regresión no lineal y se obtuvo un valor de $\tau = 19.21 \pm 0.39$ min. Este valor se utilizó en la ecuación (161) y se determina la permeabilidad del sistema obteniéndose un valor de $P = (1.00 \pm 0.15) \times 10^{-9}$ cm s^{-1} . Debido a que no se conocen datos de P para este nuevo sistema, y a efectos comparativos, se realizaron estudios con otra técnica independiente como la espectroscopía de absorción.

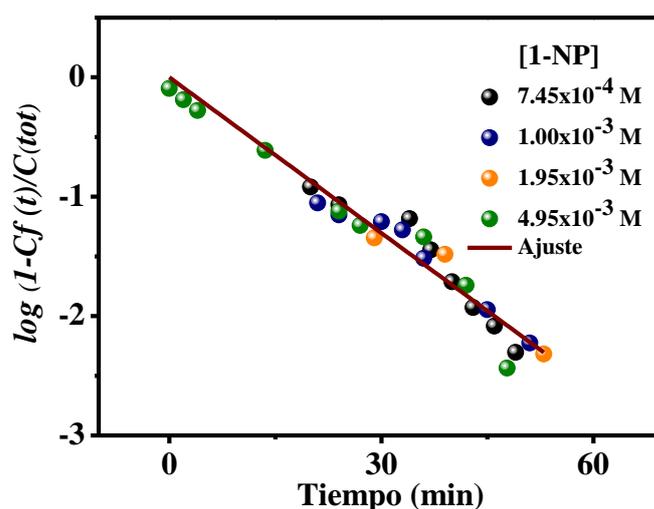


Figura 88. Variación de la relación $\log(1 - C_f(t)/C_{tot})$ en el tiempo para cinéticas monitoreadas por VOC $E_s = 5$ mV, $E_{sw} = 25$ mV y $f = 20$ Hz, $[Ez] = 1.0 \times 10^{-7}$ M, $[BHD-AOT] = 2.0$ mg mL^{-1} , $pH = 10.75$. (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales.

IV.3.2.2.3. Determinación de la permeabilidad del 1-NP en VGU de BHD-AOT por espectroscopía de absorción

La determinación del coeficiente de permeabilidad del sustrato 1-NP por espectroscopía de absorción, se realizó detectando el producto de la reacción enzimática (Nf^-) y midiendo su concentración en el tiempo. Cabe aclarar que este estudio se realizó a una concentración más diluida de vesículas y de sustrato 1-NP, debido a la dispersión que genera este tipo de sistema por espectroscopia de absorción. En la Figura 89, se muestran los espectros de absorción obtenidos durante la hidrólisis del 1-NP (2.50×10^{-5} M) en vesículas de BHD-AOT en función del tiempo a pH 10.75. Se observa que la absorbancia a $\lambda_{\text{abs}} = 332$ nm del Nf^- aumenta con el tiempo.

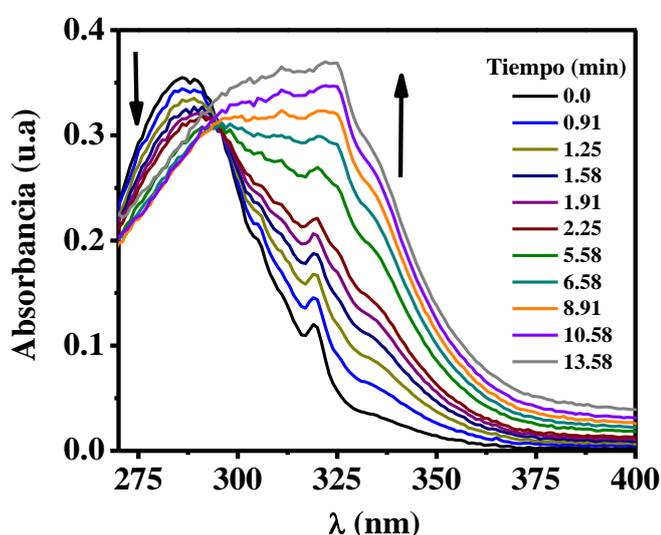


Figura 89. Espectro de absorción obtenidos durante la hidrólisis del 1-NP catalizada por AP a lo largo del tiempo en $[\text{LiClO}_4] = 0.05$ M; $[\text{AOT} - \text{BHD}] = 1.0$ mg mL $^{-1}$, $[\text{1-NP}] = 2.50 \times 10^{-5}$ M; $[\text{AP}] = 1.0 \times 10^{-7}$ M; pH=10.75.

Para la determinación de la concentración del Nf^- en la hidrólisis enzimática, fue necesario encontrar el coeficiente de absorción molar en estas condiciones experimentales. Para ello se realizó una curva de calibración a diferentes concentraciones de Nf^- en VGU de BHD-AOT a pH 10.75. En la Figura 90, se muestra la variación de la absorbancia en función de la concentración de Nf^- . Los datos experimentales se ajustaron con un método de regresión lineal, del cual se obtuvo de la pendiente el valor del coeficiente de absorción molar ($\epsilon = 9485 \pm 193$ cm $^{-1}$ M $^{-1}$) del Nf^- .

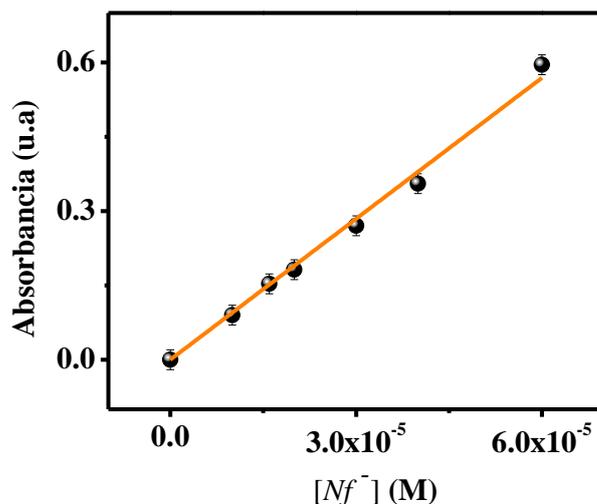


Figura 90. Ley de Lambert y Beer a $\lambda_{\text{Abs}} = 332 \text{ nm}$ del Nf^- ; $b = 1.0 \text{ cm}$; $[\text{BHD-AOT}] = 1.0 \text{ mg mL}^{-1}$; $\text{pH} = 10.75$; (●) puntos experimentales (—) ajuste lineal de los datos experimentales.

A partir del coeficiente de absortividad molar y utilizando la ley de Lambert y Beer, se determinaron las concentraciones de Nf^- en función del tiempo ($C_f(t)$) para la hidrólisis enzimática. La Figura 91, muestra la variación de los valores experimentales del \log de la relación $(1 - C_f(t)/C_{\text{tot}})$ en función del tiempo para una dada $[1\text{-NP}]$.

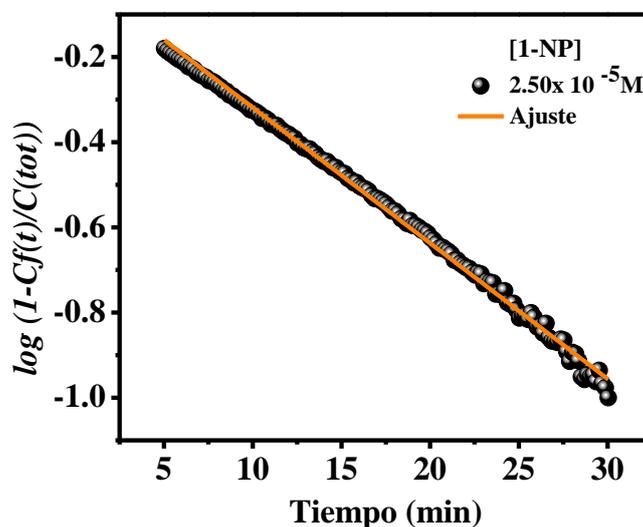
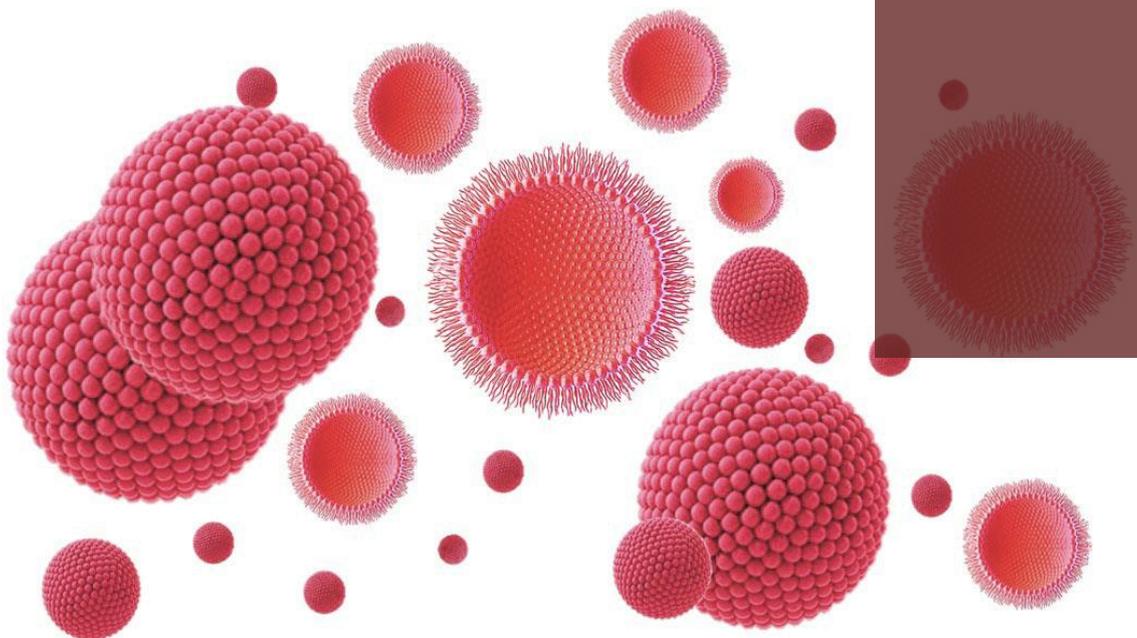


Figura 91. Variación de la relación $\log(1 - C_f(t)/C_{\text{tot}})$ para cinéticas monitoreadas por espectroscopía de absorción a $\lambda_{\text{abs}} = 332 \text{ nm}$, $[\text{Ez}] = 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$, $[\text{BHD-AOT}] = 1.0 \text{ mg mL}^{-1}$, $\text{pH} = 10.75$. (●) puntos experimentales (—) ajuste no lineal de los datos experimentales.

Los datos experimentales se ajustaron con la ecuación (164) utilizando un método de regresión no lineal. Del ajuste de los datos experimentales se obtuvo el valor de $\tau = 13.2 \pm 0.9$ min. A partir de este valor de τ y utilizando la ecuación (161) con $R_b = 40$ nm, se obtiene el valor de $P = (2.0 \pm 0.5) \times 10^{-9}$ cm s⁻¹. Este valor de P obtenido mediante espectroscopía de absorción es comparable al obtenido mediante técnicas electroquímicas ($P = (1.00 \pm 0.15) \times 10^{-9}$ cm s⁻¹) si se tienen en cuenta los errores experimentales. El valor obtenido del coeficiente de permeabilidad del 1-NP por VOC y por espectroscopía de absorción a través de la bicapa en las VGU de BHD-AOT, es un poco mayor que el obtenido para otro tipo de vesículas como VGU de DOPC (6.0×10^{-10} cm s⁻¹).¹⁶⁵

CAPÍTULO V

Conclusiones generales



CAPÍTULO V:**V. Conclusiones generales**

Las técnicas electroquímicas son una herramienta poderosa para la caracterización de sistemas organizados. Se caracterizaron MIs de AOT y VGU de BHD-AOT, de manera tal que se pudieron estudiar diferentes medios organizados, explorando al mismo tiempo diferentes propiedades interfaciales mediante el empleo de técnicas electroquímicas y espectroscópicas.

Se estudió el comportamiento electroquímico de H₂Q por VL a diferentes valores de pH en soluciones reguladoras acuosas. Se determinó que bajo las condiciones estudiadas H₂Q presenta una transferencia de dos electrones y dos protones en el intervalo de pH entre 1.0 y 7.0, en concordancia con los datos bibliográficos.

Se estudió el comportamiento electroquímico de H₂Q por VL en MIs de AOT/*n*-heptano. Se observó que la variación de las concentraciones de AOT no afectan la descarga de H₂Q en el electrodo, ya que los valores del $E_{1/2}$ y i_L no cambian con el aumento de la concentración de MIs. Además, que H₂Q no presenta un proceso de reparto. Por otro lado, se determinó que H₂Q no presenta ningún proceso de asociación con ella misma en las MIs. Finalmente, se observó que la variación del valor del W_0 en las MIs, genera cambios en el valor del $E_{1/2}$ a medida que aumenta el W_0 . Esto posiblemente se deba a que H₂Q dentro de MIs se encuentra monitoreando los cambios asociados al confinamiento del agua.

Se obtuvieron los parámetros aparentes de transferencia de carga para H₂Q en agua pura y en MIs de AOT. Se observó que el valor del E_f^0 aparente disminuye con el agregado de agua, lo que sugiere que el entorno de H₂Q cambia al aumentar el W_0 . En el caso de la k^0 aparente los valores en MIs son del orden de 10^{-3} cm s⁻¹, estos valores indican que a H₂Q se le dificulta la transferencia de electrones cuando se encuentra confinada, ya que estos valores son menores al obtenido en agua pura. En cuanto a α , los valores para todas las experiencias fueron mayores a 0.5, este valor indica que la reacción se ve favorecida en un solo sentido, esto posiblemente se deba al complejo mecanismo de electrooxidación de H₂Q. Con los

resultados en todas las experiencias se podría concluir que H₂Q se encuentra cerca de la interfaz, interaccionando a través de puente hidrógeno con la cabeza polar del surfactante.

Los resultados obtenidos en MIs brindan información importante respecto al microentorno que ven las moléculas pruebas cuando están confinadas a un dado W₀. Además estos resultados podrían ser de interés en el estudio de reacciones de catálisis química, enzimología micelar o síntesis de nanoestructuras.

Se estudió el comportamiento del *Nf* a diferentes valores de pH en solución acuosa de LiClO₄ 0.05 M, por espectroscopía de absorción, VC y VOC. Se determinó la especie predominante en cada valor de pH y por medio de la espectroscopía de absorción se corroboró el valor del *pKa* del *Nf* en solución acuosa y en VGU de BHD-AOT en LiClO₄. Finalmente, se estudió el comportamiento del *Nf*, por espectroscopía de emisión. Con los resultados obtenidos por esta técnica se puede inferir que a cualquier pH en solución acuosa la especie predominante en el estado excitado es el **Nf*⁻.^{160,157,158}

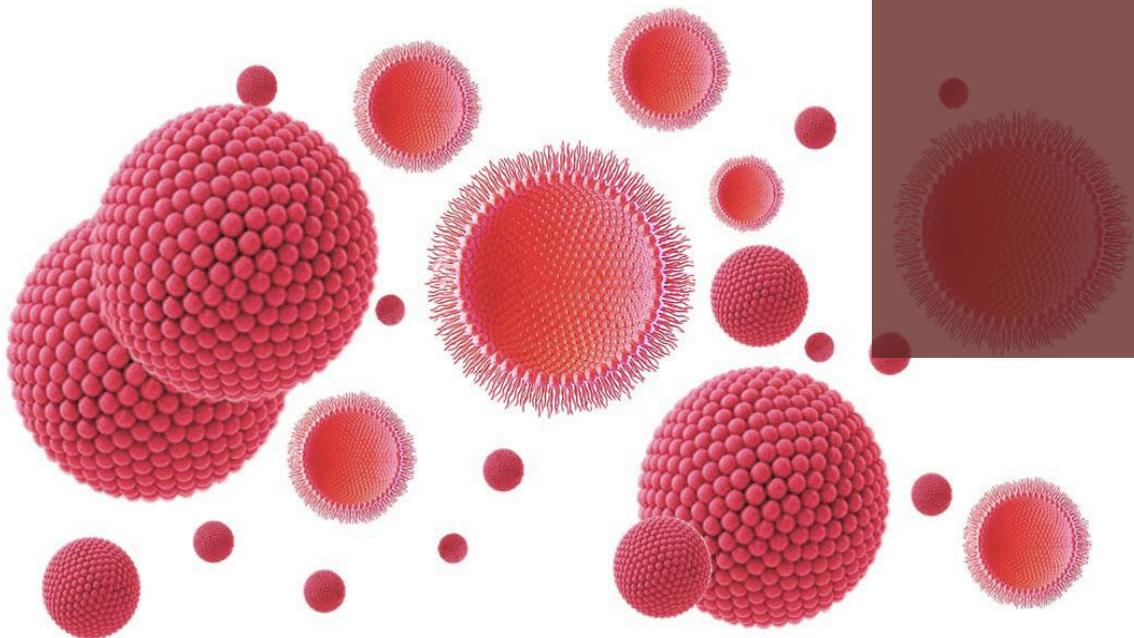
Los estudios del *Nf* en VGU, permitieron calcular la K_p (constante de partición) y el *D_{Nfu}* (coeficiente de difusión) de VGU de BHD-AOT por VOC y por espectroscopía de absorción obteniéndose una buena concordancia entre ambas técnicas. Además, la VOC arroja un valor de *D_{Nfu}* cercano al obtenido por DLS. A pH 6.40 el *Nf* se encuentra como molécula neutra lo que facilita su incorporación en la bicapa de la vesícula, caso contrario a pH 10.75, donde el *Nf*⁻ al ser una especie cargada prefiere estar en la solución acuosa, por lo que su K_p es menor.

Se estudió el comportamiento de *Nf* en VGU de BHD-AOT por espectroscopía de emisión a diferentes valores de pH, estos resultados mostraron que la bicapa de las VGU de BHD-AOT estabilizan la especie neutra en el estado excitado (*Nf**) aún a pH básico. Estos resultados muestran que cuando el AOT forma parte de una bicapa, la cabeza polar interactúa fuertemente a través de puente de hidrógeno con el *Nf*. Estos resultados permitieron hallar el valor de la constante de equilibrio en el estado excitado en VGU de BHD-AOT.

Los estudios enzimáticos muestran que la reacción a pH 10.75 en solución acuosa de LiClO_4 0.05 M, es un medio apropiado que favorece la actividad enzimática y que la reacción se da sin acumulación de intermediarios. Se realizaron estudios encapsulando el Nf^- en el interior de las vesículas a pH 10.75. Estos resultados muestran que el Nf^- difunde rápidamente hacia la fase acuosa externa de las VGU de BHD-AOT y el producto de la reacción puede ser detectado inmediatamente por VOC a medida que va siendo generado en el interior de la vesícula durante la reacción enzimática. Se estudió la reacción enzimática entre el 1-NP y la enzima AP dentro de las VGU de BHD-AOT, detectando el producto de la reacción, el Nf^- , por VOC y por espectroscopía de absorción. Aplicando un modelo matemático fue posible determinar por primera vez el coeficiente de permeabilidad del sustrato 1-NP en VGU de BHD-AOT por dos técnicas independientes.

Los resultados obtenidos en VGU de BHD-AOT mostraron que se puede estudiar una cinética enzimática por técnicas electroquímicas. Característica que a futuro puede emplearse en el desarrollo de biosensores para detectar enzimáticamente analitos que se ubiquen en la bicapa o en el interior acuosa de estas VGU.

Referencias bibliográficas



Referencias bibliográficas

- (1) Schwuger, M.-J.; Stickdorn, K.; Schomaecker, R. *Chem. Rev.* 1995, 95 (4), 849–864.
- (2) McLintire, G. L.; Dorsey, J. G. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 1990, 21 (4), 257–278.
- (3) MacRitchie, F. *Chemistry at Interfaces*; Academic Press, I., Ed.; 1990.
- (4) de Moraes, M. L.; Caseli, L. *Supramolecular Systems*; Elsevier Inc., 2017.
- (5) Rico-Lattes, I.; Perez, E.; Franceschi-Messant, S.; Lattes, A. *Comptes Rendus Chim.* 2011, 14 (7–8), 700–715.
- (6) Myers, D. *Surfactant Science and Technology*, 3rd Ed.; John Wiley and Sons, Ed.; 2006.
- (7) Gaucher, G.; Satturwar, P.; Jones, M.-C.; Furtos, A.; Leroux, J.-C. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2010, 76 (2), 147–158.
- (8) Barenholz, Y. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2001, 6 (1), 66–77.
- (9) Steed, J. W., Turner, D. R., Wallace, K. J. *Core Concepts in Supramolecular Chemistry and Nanochemistry*; John Wiley & Sons, Ed.; 2007.
- (10) Tharwat Tadros, F., Tadros, T. F. *Applied Surfactants: Principles and Applications*; Wiley-VCH, Ed.; 2005.
- (11) Mehta, S. K., Bhasin, K. K., Chauhan, R., Dham, S. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2005, 255, 153.
- (12) Menger, F.M, Keiper, J. K. *Angew.Chem. Int. Ed.* 2000, 39, 1906.
- (13) Silva, B.F.B., Marques, E.F., Olsson, U., Pons, R., . *Langmuir* 2010, 26, 3058–3066.
- (14) Rosen, M. J., Kunjappu, J. T. *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 4th ed.; John Wiley & Sons, Ed.; 2012.
- (15) Cosgrove, T. *Colloid Science Principles, methods and applications.*, 2nd ed.; John Wiley & Sons, Ed.; 2010.
- (16) Correa, N. M.; Silber, J. J.; Riter, R. E.; Levinger, N. E. *Chem. Rev.* 2012, 112, 4569–4602.
- (17) Silber, J. J.; Biasutti, A.; Abuinb, E.; Lissib, E. *Adv. Colloid Interface Sci.* 1999, 86, 189–252.
- (18) El-Laithy, H. M. *AAPS PharmSciTech* 2003, 4, 80–89.
- (19) Tah, B.; Pal, P.; Mahato, M.; Talapatra, G. B. *J. Phys. Chem. B* 2011, 115 (26), 8493–8499.
- (20) Ju, H.; Jiang, Y.; Geng, T.; Wang, Y. *J. Mol. Liq.* 2018, 264, 306–313.
- (21) Abecassis, B., Testard, F., Arleth, L., Hansen, S., Grillo, I. . *Z. T. Langmuir* 2007,

23, 9983–9989.

- (22) Zemb, T., Dubois, M. *Aust. J. Chem.* 2003, *56*, 971.
- (23) Zemb, T., Carriere, D., Glinel, K., Hartmann, M., Meister, A., Vautrin, Cl., Delorme, N., Fery, A. Dubois, M. *Colloids Surf. A.* 2007, *303*, 37.
- (24) Jiang, Y.; Geng, T.; Li, Q.; Li, G.; Ju, H. *J. Mol. Liq.* 2014, *199*, 1–6.
- (25) Li, H., Hao, J., Wu, Z. *J. Phys. Chem. B.* 2008, *112*, 3705–3710.
- (26) Khan, A., Marques, E. *Specialist Surfactant*; London., E. B. A. and P., Ed.; 1997.
- (27) Hongguang. L., Jingcheng. H., Z. W. . *J. Phys. Chem. B.* 2008, *112*, 10497–10508.
- (28) Li, H.; Wiczorek, S. A.; Xin, X.; Kalwarczyk, T.; Ziebacz, N.; Szymborski, T.; Holyst, R.; Hao, J.; Gorecka, E.; Pocięcha, D. *Langmuir* 2010, *26* (1), 34–40.
- (29) Villa, C. C., Silber, J. J., Falcone, R. D., Correa, N. M. *Métodos Appl Fluoresc* 2017, <https://doi.org/10.1088/2050-6120/aa7b64>.
- (30) Villa, C. C.; Silber, J. J.; Correa, N. M.; Falcone, R. D. *ChemPhysChem* 2014, *15* (14), 3097–3109.
- (31) Villa, C. C.; Moyano, F.; Ceolin, M.; Silber, J. J.; Falcone, R. D.; Correa, N. M. *Chem. - A Eur. J.* 2012, *18* (49), 15598–15601.
- (32) Kanoje, B.; Jangir, A.; Patel, D.; Ray, D.; Aswal, V.; Pal, H.; Parikh, J.; Kuperkar, K. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2018, *555*, 227–236.
- (33) Hao, J., Hoffmann. H., H. K. *Langmuir* 2001, *17*, 4151–4160.
- (34) Li, H., Jia, X., Li, Y., Shi, X., H. J. *J. Phys. Chem. B.* 2006, *110*, 68–74.
- (35) Li, H., H. J. *J. Phys. Chem. B.* 2007, *111* (2007), 7719–7724.
- (36) Israelachvili, J. N. *Intermolecular and surface forces*; Academic Press, Ed.; 2011.
- (37) Mitchell, D. J., Ninham, B. W. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2 Mol. Chem. Phys.* 1981, *77*, 601–629.
- (38) Maitra, A. *J. Phys. Chem.* 1984, *88*, 5122–5125.
- (39) Li, Q., Li, T., Wu, J. *J. Colloid Interface Sci.* 2001, *239*, 522–527.
- (40) Evans, D. F., Ninham, B. W. *J. Phys. Chem.* 1986, *90*, 226–234.
- (41) Falcone, R. D.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2009, *11*, 11096–11100.
- (42) Gangamallaiah, V., Dutt, G. B. *J. Chem. Phys.* 2011, *134*, 1–6.
- (43) Durantini, A. M., Falcone, R. D., Silber, J. J., Correa, N. M. *J. Phys. Chem. B* 2013, *117*, 3818–3828.
- (44) Agazzi, F. M.; Falcone, R. D.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *J. Phys. Chem. B* 2011,

115 (42), 12076–12084.

- (45) Carvalho, C. M. L.; Cabral, J. M. S. *Biochimie* 2000, 82 (11), 1063–1085.
- (46) Sarkar, S.; Choudhury, P.; Dinda, S.; Das, P. K. *Langmuir* 2018, 34, acs.langmuir.8b00259.
- (47) Hassan, P. A.; Verma, G.; Ganguly, R. *Soft materials-properties and applications*; Elsevier Inc., 2012.
- (48) Fendler, J. H. *Membrane Mimetic Chemistry*; Wiley-Interscience, Ed.; 1982.
- (49) Pileni, M.-P. *Structure and Reactivity in Reversed Micelles*; Elsevier, Ed.; 1989.
- (50) Durantini, A. M.; Darío Falcone, R.; Silber, J. J.; Mariano Correa, N. *J. Phys. Chem. B* 2013, 117 (14), 3818–3828.
- (51) De, T. K., Maitra, A. *Adv. Colloid Interface Sci.* 1995, 59, 95–193.
- (52) Yen, H.-Y., Huang, M.-J., Chen, I.-C. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2016, 318, 33–41.
- (53) Falcone, R. D.; Correa, N. M.; Silber, J. J. *In Ionic Liquid-Based Surfactant Science*; John Wiley & Sons, I. H., Ed.; NJ, 2015.
- (54) Odella, E.; Falcone, R. D.; Ceolín, M.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *J. Phys. Chem. B* 2018, 122, 4366–4375.
- (55) Bardhan, S.; Kundu, K.; Kar, B.; Chakraborty, G.; Ghosh, D.; Sarkar, D.; Das, S.; Senapati, S.; Saha, S. K.; Paul, B. K. *RSC Adv.* 2016, 6 (60), 55104–55116.
- (56) Nandi, N., Bhattacharyya, K., Bagchi, B. *Chem. Rev.* 2000, 100, 2013–2046.
- (57) Bhattacharyya, K. *Acc. Chem. Res.* 2002, 36, 95–101.
- (58) Fayer, M. D.; Levinger, N. E. *Annu. Rev. Anal. Chem.* 2010, 3 (1), 89–107.
- (59) Park, S.; Moilanen, D. E.; Fayer, M. D. *J. Phys. Chem. B* 2008, 112 (17), 5279–5290.
- (60) D.E. Moilanen, E.E. Fenn, D. Wong, M. D. F. *J. Phys. Chem. B* 113 2009, 8560–8568.
- (61) Dokter, A. M.; Woutersen, S.; Bakker, H. J. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2006, 103 (42), 15355–15358.
- (62) Faeder, J., Ladanyi, B. M. *J. Phys. Chem. B* 2000, 104, 1033–1046.
- (63) Ganguli, A. K.; Ganguly, A.; Vaidya, S. *Chem. Soc. Rev.* 2010, 39 (2), 474–485.
- (64) Solanki, J. N.; Murthy, Z. V. P. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2011, 50 (22), 12311–12323.
- (65) Salabat, A., Eastoe, J., Mutch, K. J., Tabor, R. F. *J. Colloid Interface Sci.* 2008, 318, 244–251.

-
- (66) Agazzi, F. M.; Rodriguez, J.; Falcone, R. D.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *Langmuir* 2013, 29 (11), 3556–3566.
- (67) Agazzi, F. M.; Correa, N. M.; Rodriguez, J. *Langmuir* 2014, 30 (32), 9643–9653.
- (68) Girardi, V. R.; Silber, J. J.; Correa, N. M.; Falcone, R. D. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2014, 457, 354–362.
- (69) Girardi, V. R.; Silber, J. J.; Falcone, R. D.; Correa, N. M. *ChemPhysChem* 2018, 19 (6), 759–765.
- (70) Dergunov, S. A.; Khabiyev, A. T.; Shmakov, S. N.; Kim, M. D.; Ehterami, N.; Weiss, M. C.; Birman, V. B.; Pinkhassik, E. *ACS Nano* 2016, 10, 11397–11406.
- (71) Liu, Y.; Chen, Y.; Yao, Y.; Luo, K.; Zhang, S.; Gu, Z. *Langmuir* 2017, 33 (21), 5275–5282.
- (72) Zhang, X., Chen, Y., Liu, J., Zhao, C., Zhang, H. *J. Phys. Chem. B* 2012, 116, 3723–3734.
- (73) Sharifi, S., Amirkhani, M., Asla, J. M., Mohammadi, M. R. *Soft Nanosci. Lett.* 2012, 2, 8–12.
- (74) Almásy, L.; Turmine, M.; Perera, A. *J. Phys. Chem. B* 2008, 112 (8), 2382–2387.
- (75) Riley, J. K.; Richards, J. J.; Wagner, N. J.; Butler, P. D. *Soft Matter* 2018, 14 (26), 5344–5355.
- (76) Ladanyi, B. M. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2013, 18, 15–25.
- (77) Piletic, I. R., Moilanen, D. E., Spry, D. B., Levinger, N. E., Fayer, M. D. *J. Phys. Chem. A* 2006, 110, 4985–4999.
- (78) Moilanen, D. E., Levinger, N. E., Spry, D. B., Fayer, M. D. *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129, 14311–14318.
- (79) Molina, P. G.; Silber, J. J.; Correa, N. M.; Sereno, L. *J. Phys. Chem. C* 2007, 111 (11), 4269–4276.
- (80) Florez Tabares, J.S., Correa, N. M.; Silber, J. J.; Sereno, L. E.; Patricia, G. *Soft Matter* 2015.
- (81) Phukon, A., Ray, S., Sahu, K. *Langmuir* 2016, 32, 10659–10667.
- (82) Lawler, C., Fayer, M. D. *J. Phys. Chem. B* 2015, 119, 6024–6034.
- (83) Phukon, A., Barman, N., Sahu, K. *Langmuir* 2015, 31, 12587–12596.
- (84) Correa, N. M.; Durantini, E. N.; Silber, J. J. *J. Org. Chem.* 2000, 65 (20), 6427–6433.
- (85) Correa, N. M.; Zorzan, D. H.; D’Anteo, L.; Lasta, E.; Chiarini, M.; Cerichelli, G. *J.*
-

Org. Chem. 2004, 69 (24), 8231–8238.

(86) Durantini, A. M.; Falcone, R. D.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *J. Phys. Chem. B* 2011, 115 (19), 5894–5902.

(87) Falcone, R. D.; Correa, N. M.; Biasutti, M. A.; Silber, J. J. *J. Colloid Interface Sci.* 2006, 296 (1), 356–364.

(88) Zingaretti, L.; Correa, N. M.; Boscatto, L.; Chiachiera, S. M.; Durantini, E. N.; Bertolotti, S. G. 2000, 512–513.

(89) Correa, N. M.; Durantini, E. N.; Silber, J. J. *J. Colloid Interface Sci.* 2001, 240 (2), 573–580.

(90) Blach, D.; Correa, N. M.; Silber, J. J.; Falcone, R. D. *J. Colloid Interface Sci.* 2011, 355 (1), 124–130.

(91) Correa, N. M.; Durantini, E. N.; Silber, J. J. 2006, No. November, 805–812.

(92) Quintana, S. S.; Falcone, R. D.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *ChemPhysChem* 2012, 13 (1), 115–123.

(93) Silva, O. F.; Silber, J. J.; De Rossi, R. H.; Correa, N. M.; Fernández, M. a. *J. Phys. Chem. B* 2007, 111 (36), 10703–10712.

(94) Falcone, R. D.; Correa, N. M.; Silber, J. J. *Langmuir* 2009, 25 (18), 10426–10429.

(95) Moyano, F.; Quintana, S. S.; Falcone, R. D.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *J. Phys. Chem. B* 2009, 113 (13), 4284–4292.

(96) Quintana, S. S.; Moyano, F.; Falcone, R. D.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *J. Phys. Chem. B* 2009, 113 (19), 6718–6724.

(97) Falcone, R. D.; Biasutti, M. A.; Correa, N. M.; Silber, J. J.; Lissi, E.; Abuin, E. *Langmuir* 2004, 20 (14), 5732–5737.

(98) Gutierrez, J. a.; Falcone, R. D.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *J. Phys. Chem. A* 2010, 114 (27), 7326–7330.

(99) Novaki, L. P., El Seoud, O. A. *J. Colloid Interface Sci.* 1998, 202, 391–398.

(100) Moilanen, D. E.; Fenn, E. E.; Wong, D.; Fayer, M. D. *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131 (11), 8318–8328.

(101) Piletic, I. R.; Moilanen, D. E.; Spry, D. B.; Levinger, N. E.; Payer, M. D. *J. Phys. Chem. A* 2006, 110 (15), 4985–4999.

(102) Chalovich, J. M.; Eisenberg, E. *Magn Reson Imaging* 2013, 31 (3), 477–479.

(103) Moilanen, D. E.; Fenn, E. E.; Wong, D.; Fayer, M. D. *J. Chem. Phys.* 2009, 131 (1), 1–9.

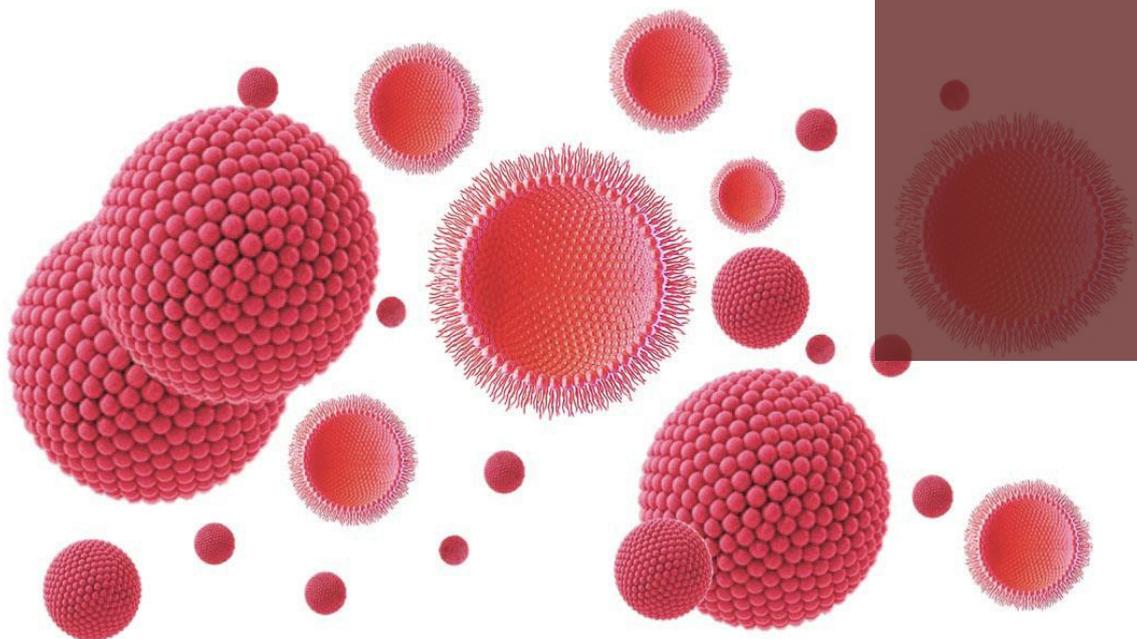
-
- (104) Bharat, B., Roden, J. M., Sedgwick, M., Correa, N. M., Crans, D. C., Levinger, N. E. . *J. Am. Chem. Soc.* 2006, *128*, 12758–12765.
- (105) El Seoud, O. A., Correa, N. M., Novaki, L. P. *Langmuir* 2001, *17*, 1847–1852.
- (106) Silva, O. F.; Fernández, M. a.; Silber, J. J.; De Rossi, R. H.; Correa, N. M. *ChemPhysChem* 2012, *13* (1), 124–130.
- (107) Mukherjee, P., Gupta, S., Rafiq, S., Yadav, R., Jain, V. K., Raval, J., Sen, P. *Langmuir* 2016, *32*, 1693–1699.
- (108) Hasegawa, M. *Langmuir* 2001, *17*, 1426–1431.
- (109) El Seoud, O. A. *Adv. Colloid Interface Sci.* 1989, *30*, 1–30.
- (110) Ibrahim, R. M., Markom, M., Abdullah, H., Firdausi, K. *Mater. Today Proc.* 2016, *3*, 479–484.
- (111) Mandal, S., De, S. *Mater. Chem. Phys.* 2016, *183*, 410–421.
- (112) Solanki, J. N., Murthy, Z. V. P. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2011, *50*, 12311–12323.
- (113) Encinas, M. V; Lissi, E. A. *Chem. Phys. Lett.* 1986, *132*, 545–548.
- (114) Lissi, E. A., Engel, D. *Langmuir* 1992, *8*, 452–455.
- (115) Cobo Solis, A. K.; Mariano Correa, N.; Molina, P. G. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016, *18* (23), 15645–15653.
- (116) Villa, C. C.; Correa, N. M.; Silber, J. J.; Moyano, F.; Falcone, R. D. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015, *17* (26), 17112–17121.
- (117) Saroja, G., Samanta, A. *Chem. Phys. Lett.* 1995, *246*, 506–512.
- (118) Pileni, M. P., Zemb, T., Petit, C. *Chem. Phys. Lett.* 1985, *118*, 414–420.
- (119) Luisi, P. L., Giomini, M., Pileni, M. P., Robinson, B. H. *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Biomembr.* 1988, *947*, 209–246.
- (120) Segota, S., T. D. *Adv. Colloid Interface Science.* 2006, *121*, 51.
- (121) Moyano, F.; Molina, P. G.; Silber, J. J.; Sereno, L.; Correa, N. M. *ChemPhysChem* 2010, *11* (1), 236–244.
- (122) Monnard, P. A., Deamer, D. E. *Anat. Rec.* 2002, 268.
- (123) Yu. W-Y., Yang. Y-M., C. C.-H. *Langmuir* 2005, *21*, 6185–6193.
- (124) Andreozzi, P., Funari, S.S., La Mesa, C., Mariani, P., Ortore, M.G., Sinibaldi, R., Spinozzi, F. *J Phys Chem B.* 2010, *114*, 8056.
- (125) Villa, C. C. EN LA BÚSQUEDA DE SISTEMAS ORGANIZADOS INTELIGENTES PARA SER UTILIZADOS COMO “NANOREACTORES”., Universidad Nacional de Río Cuarto, 2014.
-

- (126) Lioi, S.B., Xiang Wang W., Islam, M.R., Danoffd. E.J., E. S. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2009, *11*, 9315–9325.
- (127) Huang, J. B., Zhu, B. Y., Mao, M., He, P., Wang, J., He, X. *Colloid Polym. Sci.* 1999, *277*, 354–360.
- (128) Banerjee, C.; Mandal, S.; Ghosh, S.; Kuchlyan, J.; Kundu, N.; Sarkar, N. *J. Phys. Chem. B* 2013, *117* (14), 3927–3934.
- (129) Tah, B.; Pal, P.; Talapatra, G. B. *J. Lumin.* 2014, *145*, 81–87.
- (130) Li, W.; Luo, T.; Yang, Y.; Tan, X.; Liu, L. *Langmuir* 2015, *31* (18), 5141–5146.
- (131) Hassan, P. a, Rana, S., Verma, G. *Langmuir* 2015, *31*, 3–12.
- (132) Berne, J. B., Pecora, R. *Dynamic Light Scattering with applications to chemistry biologyn and physics*, Ed 1st.; Sons, J. W. &, Ed.; 2000.
- (133) Turro, N.J., Ramamurthy, V., Scaiano, J. C. *Principles of Molecular Photochemistry*; University Science Books. California, 2009.
- (134) Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd ed.; Springer: New York, 2006.
- (135) Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *ELECTROCHEMICAL METHODS. Fundamentals and Applications*, Second Edi.; John Wiley & Sons, I., Ed.; 2001.
- (136) Bailey, S. I.; Ritchie, I. M.; Hewgill, F. R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1983, 645–652.
- (137) Charlton, I. D., Doherty, A. P. *Electrochem. Comm.* . 1999, *1*, 176–179.
- (138) Tabares, J. S. F.; Blas, M. L.; Sereno, L. E.; Silber, J. J.; Correa, N. M.; Molina, P. *G. Electrochim. Acta* 2011, *56* (27), 10231–10237.
- (139) Moyano, F.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *J. Colloid Interface Sci.* 2008, *317* (1), 332–345.
- (140) Luna, M. A.; Silber, J. J.; Sereno, L.; Correa, N. M.; Moyano, F. *RSC Adv.* 2016, *6* (67), 62594–62601.
- (141) Faure, C.; Nallet, F.; Roux, D.; Milner, S. T.; Gauffre, F.; Olea, D.; Lambert, O. *Biophys. J.* 2006, *91* (12), 4340–4349.
- (142) Laviron, E. *J. Electroanal. Chem.* 1984, *164*, 213–227.
- (143) Shengli, S.; Junping, L.; Qi, L.; Fangru, N.; Jia, F.; Shulian, X. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2018, *165* (June), 411–422.
- (144) Yin, H.; Zhang, Q.; Zhou, Y.; Ma, Q.; Liu, T.; Zhu, L.; Ai, S. *Electrochim. Acta* 2011, *56* (6), 2748–2753.

-
- (145) He, K.; Wang, X.; Meng, X.; Zheng, H.; Suye, S. *Sensors Actuators B. Chem.* 2014, *193*, 212–219.
- (146) Lund, H., Hammerich, O. *Organic Electrochemistry*, fourth Edi.; 1991.
- (147) White, J. H., Soriaga, M. P., Hubbard, A. T. *J. Electroanal. Chem.* 1985, *185*, 331–338.
- (148) Song, D.; Xia, J.; Zhang, F.; Bi, S.; Xiang, W.; Wang, Z.; Xia, L.; Xia, Y.; Li, Y.; Xia, L. *Sensors Actuators B. Chem.* 2015, *206*, 111–118.
- (149) Gao, Zuo-ning, Peng, J. *Anal Bioanal Chem* 2006, *384*, 1525–1532.
- (150) Koshy, V. J.; Swayambunathan, Y.; Periasamy, N. *J. Electroanal. Chem.* 1980, *127*, 23–25.
- (151) Kawagoe, K. T.; Garris, P. A.; Wightman, R. M. *J. Electroanal. Chem.* 1993, *359*, 193–207.
- (152) Renneberg, R., Scheller, F., Kadish, K. M., Dryhurst, G. *BIOLOGICAL ELECTROCHEMISTRY*; Press, A., Ed.; 1982; Vol. I.
- (153) Gattrell, M. Kirk, D. W. *Electrochem. Soc.* 1993, *140* (6), 1534–1540.
- (154) Ghanem, M. A. *Electrochem. commun.* 2007, *9*, 2501–2506.
- (155) Eggins, B. R.; Chamberst, J. Q. *J. Electrochem. Soc.* 1970, *117*, 186–192.
- (156) Bailey, S. I., Ritchie, I. M. *Electrochim. Acta* 1984, *30*, 3–12.
- (157) Swain, J.; Mishra, J.; Singh, A.; Mishra, A. K. *New J. Chem.* 2017, *41* (16), 8270–8278.
- (158) Yan, X.; Hu, X.; Chen, T.; Zhang, S.; Zhou, M. *J. Phys. Chem. Solids* 2017, *107*, 50–54.
- (159) Mohapatra, M.; Mishra, A. K. *J. Phys. Chem. B* 2011, *115* (33), 9962–9970.
- (160) Mohapatra, M.; Mishra, A. K. *J. Phys. Chem. B* 2010, *114* (46), 14934–14940.
- (161) Correa, N. M.; Durantini, E. N.; Silber, J. J. *J. Colloid Interface Sci.* 2001, *240* (2), 573–580.
- (162) Novaira, M.; Moyano, F.; Biasutti, M. A.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *Langmuir* 2008, *24* (9), 4637–4646.
- (163) Zingaretti, L.; Correa, N. M.; Boscatto, L.; Chiacchiera, S. M.; Durantini, E. N.; Bertolotti, S. G.; Rivarola, C. R.; Silber, J. J. *J. Colloid Interface Sci.* 2005, *286* (1), 245–252.
- (164) Solntsev, K. M.; Al-Ainain, S. A.; IL'Ichev, Y. V.; Kuzmin, M. G. *J. Phys. Chem. A* 2004, *108* (40), 8212–8222.
-

-
- (165) Florez, J. S. CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS ORGANIZADOS MEDIANTE EL EMPLEO DE TECNICAS ELECTROQUIMICAS, Universidad Nacional de Río Cuarto, 2015.
- (166) Palmer, T.; Bonner, P. L.; Palmer, T.; Bonner, P. L. *Enzymes* 2011, 189–221.
- (167) Schomburg, D., Schomburg, I., Chang, A. *Springer Handbook of Enzymes*, 2nd ed.; Springer, Ed.; 2005.
- (168) Voet, D., V. J. G. *Biochemistry*, 3er editio.; John Wiley & Sons, Ed.; 2004.
- (169) Schwender, J. *Plant Metabolic Networks*, Schwender, Springer S.; Schwender, J., Ed.; New York, 2009.
- (170) Raymond, C. *Physical Chemistry for the Chemical and Biological Sciences*, 3rd ed.; University Science Books, 2005.
- (171) Pinnapireddy, S. R.; Duse, L.; Strehlow, B.; Schäfer, J.; Bakowsky, U. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 2017, 158, 93–101.
- (172) György, B.; Maguire, C. A. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomedicine Nanobiotechnology* 2018, 10 (3), 1–13.
- (173) Chen, Q.; Liang, C.; Sun, X.; Chen, J.; Yang, Z.; Zhao, H.; Feng, L.; Liu, Z. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2017, 114 (21), 5343–5348.
- (174) Yue, C.; Yang, Y.; Song, J.; Alfranca, G.; Zhang, C.; Zhang, Q.; Yin, T.; Pan, F.; De La Fuente, J. M.; Cui, D. *Nanoscale* 2017, 9 (31), 11103–11118.
- (175) Alshaer, W.; Hillaireau, H.; Vergnaud, J.; Ismail, S.; Fattal, E. *Bioconjug. Chem.* 2015, 26 (7), 1307–1313.
- (176) Alavi, M.; Karimi, N.; Safaei, M. *Adv. Pharm. Bull.* 2017, 7 (1), 3–9.
- (177) Yamazaki, N.; Yamakawa, S.; Sugimoto, T.; Yoshizaki, Y.; Teranishi, R.; Hayashi, T.; Kotaka, A.; Shinde, C.; Kumei, T.; Sumida, Y.; Shimizu, T.; Ohashi, Y.; Yuba, E.; Harada, A.; Kono, K. *J. Liposome Res.* 2017, 0 (0), 1–10.
- (178) Cristiano, M. C.; Cilurzo, F.; Carafa, M.; Paolino, D. *Innovative vesicles for dermal and transdermal drug delivery*; Elsevier Inc., 2018.
- (179) Hamilton, R. T.; Kaler, E. W. *J. Phys. Chem.* 1990, 94 (6), 2560–2566.

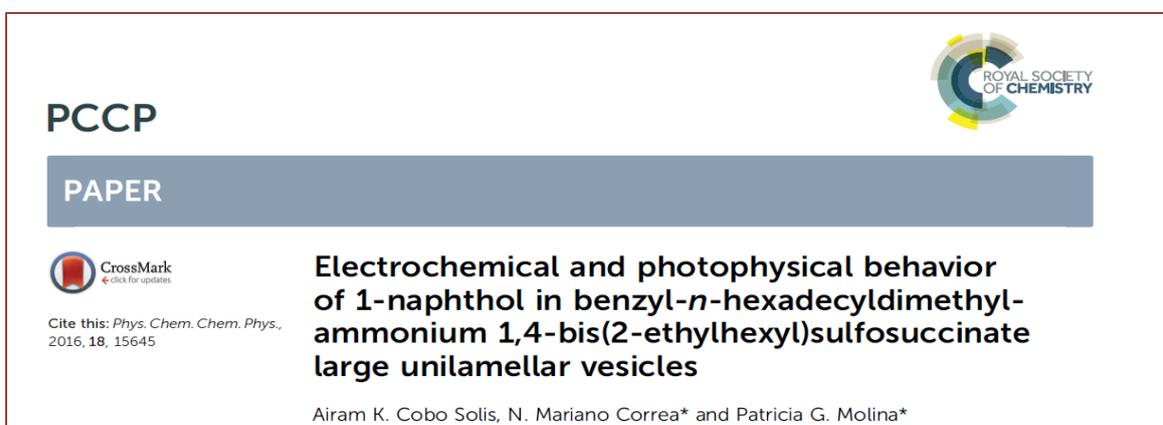
Producción científica



Producción científica

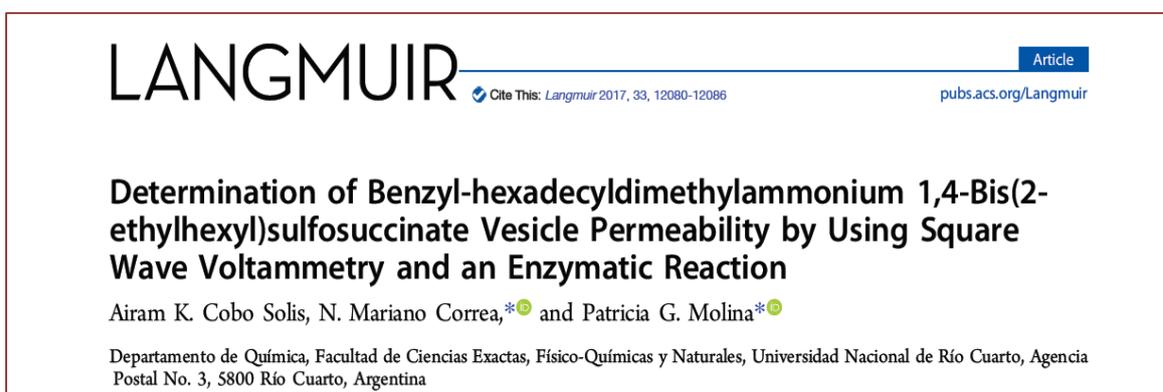
Publicaciones en revistas internacionales con referato

➤ Airam K. Cobo Solis, N. Mariano Correa and Patricia G. Molina, *Electrochemical and Photophysical Behavior of 1-Naphthol in Benzyl-*n*-hexadecyldimethylammonium 1,4-bis (2-ethylhexyl) Sulfosuccinate Large Unilamellar Vesicles*, 2016. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18, 15645.



The image shows the cover of a paper from the journal PCCP (Physical Chemistry Chemical Physics). The cover features the PCCP logo, the Royal Society of Chemistry logo, and the text 'PAPER'. The title of the paper is 'Electrochemical and photophysical behavior of 1-naphthol in benzyl-*n*-hexadecyldimethylammonium 1,4-bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinate large unilamellar vesicles'. The authors are Airam K. Cobo Solis, N. Mariano Correa* and Patricia G. Molina*. A CrossMark logo is also present.

➤ Airam K. Cobo Solis, N. Mariano Correa and Patricia G. Molina, *Determination of Benzyl- hexadecyldimethylammonium 1,4-bis (2-ethylhexyl) Sulfosuccinate Vesicles Permeability by Using Square Wave Voltammetry and an Enzymatic Reaction*. 2017, *Langmuir*, 33, 12080.



The image shows the cover of an article from the journal Langmuir. The cover features the Langmuir logo, the text 'Article', and the URL 'pubs.acs.org/Langmuir'. The title of the article is 'Determination of Benzyl-hexadecyldimethylammonium 1,4-Bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinate Vesicle Permeability by Using Square Wave Voltammetry and an Enzymatic Reaction'. The authors are Airam K. Cobo Solis, N. Mariano Correa,* and Patricia G. Molina*. The journal information is 'Cite This: Langmuir 2017, 33, 12080-12086'.

Presentaciones en Congresos

- *Estudio de la distribución del 1-naftol en vesículas grandes unilamelares de BHD-AOT por voltametría de onda cuadrada.* Póster. Airam K. Cobo, N. Mariano Correa, Patricia G. Molina, **IX Simposio Colombiano de Catálisis**, Septiembre, 2015. Cali, Valle del Cauca, Colombia.
- *Estudio del comportamiento del 1-naftol en vesículas unilaminares de BHD-AOT por voltametría de onda cuadrada (VOC) y espectroscopía de emisión.* Póster. Airam K. Cobo, J. Sebastián Florez, Cristian C. Villa, N. Mariano. Correa, Patricia G. Molina. **XIX Congreso Argentino De Fisicoquímica y Química Inorgánica**. Abril, 2015. Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- *Determinación de la permeabilidad del 1-naftil fosfato en vesículas de BHD-AOT por medio de la reacción enzimática en el interior vesicular con fosfatasa alcalina encapsulada.* Póster. Airam K. Cobo, N. Mariano. Correa, Patricia G. Molina, **XX Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica**. Mayo, 2017. Villa Carlos Paz, Cordoba, Argentina.
- *Hidroquinona como sensor de pH en micelas inversas de AOT/heptano por voltametría lineal.* Póster. Airam K. Cobo, N. Mariano. Correa, Patricia G. Molina. **IX Congreso Argentino de Química Analítica**. Noviembre, 2017. Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- *Estudio in vitro de permeación de piroxicam incorporado en gel de nanopartículas lipídicas utilizando voltametría de onda cuadrada.* Póster. Jessica. Otarola, Airam K. Cobo, Patricia G. Molina, Mariano. Garrido, N. Mariano. Correa. **IX Congreso Argentino de Química Analítica**. Noviembre, 2017. Río Cuarto, Córdoba, Argentina.