

Tesis presentada para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas

SISTEMAS AUTOENSAMBLADOS DE SURFACTANTES GÉMINI: SÍNTESIS CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES

Erica Marcela Pachón Gómez

Instituto de Investigaciones en Fisicoquímica de Córdoba

Facultad de Ciencias Químicas

Universidad Nacional de Córdoba

2018



FCQ
Facultad de
Ciencias Químicas



Universidad
Nacional
de Córdoba

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Directora

Dra. Mariana A. Fernández

Comisión de Tesis

Dra. Rita Hoyos de Rossi

Dra. Gladys Granero

Dra. Natalia Wilke

Evaluador Externo

Dr. Rubén Darío Falcone



Universidad
Nacional
de Córdoba

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Agradecimientos

Una vez terminada la Tesis, quisiera dar las gracias a todas las personas que me han ayudado de una u otra manera en el desarrollo de este proyecto.

En primer lugar, agradecerle a Rita, por darme la oportunidad de hacer parte de este grupo de investigación, por sus sugerencias, confianza y apoyo.

A mi directora Mariana, no solo por ofrecerme sus valiosos conocimientos y experiencia profesional, sino también por su comprensión y paciencia en cada una de las fases de la investigación, sin lo cual no hubiera sido posible lograr este objetivo.

De igual manera agradecerle a Elba, Alejandro, Laura, Raquel y Alicia por sus valiosas sugerencias y aportes durante el desarrollo de este trabajo.

Agradecerle a Marisa, Laura (Lizi), Bonetto por su apoyo, ánimo y cariño desde el día en que me conocieron.

A si mismo agradecerles a los chicos del Laboratorio (004,005,006 y 009) por haberme aguantando todo este tiempo.

A todos los chicos del departamento de Orgánica, por hacer de mi lugar de trabajo, un sitio tan agradable donde me siento entre amigos. Especialmente, muchas gracias con todo mi cariño, a la Manu, Juampi, Cari, Nacho, Dani, Silvi, Adrian, Willbert, Guada, Cata, Andre, Lili y la Flor, por los agradables momentos que hemos compartido cada día, por todas las risas y ratos de relajación.

A la Naty, por su confianza y sobre todo su amistad. Gracias por estar siempre dispuesta a ayudarme, por transmitirme una pequeña parte de todos tus conocimientos del mundo de la química, y muy especialmente por tu paciencia en escucharme e intentar resolver mis dudas y dificultades durante todo este tiempo. Quisiera también agradecerte por todos los buenos momentos que hemos compartido dentro y fuera del laboratorio.

De manera muy especial a la Luci, por su amistad, confianza y compañerismo durante todo este tiempo que hemos compartido tanto dentro como fuera del laboratorio. Gracias por estar siempre dispuesta a escucharme y apoyarme en los buenos y malos momentos, y por hacerme parte de tu familia. Gracias por hacerme sentir muy afortunada por tener una amiga tan valiosa como vos.

A el Fer por su amistad, y por hacerme sentir bien desde el primer día que llegue al laboratorio, por enseñarme y guiarme durante todo este proceso.

Al Ale Fraca gracias por tu alegría, y por todas tus enseñanzas que me diste en este corto tiempo que nos conocemos.

A Raul y Diana (La Flaca), gracias por todos los viajes y buenos momentos que hemos compartido durante todos estos años, por hacerme compañía en este país.

A mis amigas del alma Liliana, Angelica, Diana (Tin), Diana (Gorda) y Sandra por conservar nuestra amistad a través del tiempo y la distancia. Gracias por hacerme sentir muy afortunada por tener amigas como ustedes.

A Dalmira, muchas gracias por acogerme como una sobrina más, por los viajes y buenos momentos que hemos compartido, por hacerme compañía y sacarme de casa principalmente en esos momentos que me sentía sola.

A mi familia, por apoyándome en cada momento de mi vida.

A mi hermano Camilo, por su compañerismo y constante apoyo. Gracias por estar siempre presente en mi vida, aún en la distancia, y por ser una persona tan especial y alegre. Además de ser hermanos, somos grandes amigos.

A mis padres, Carlos y Anita, por tantas cosas que sería imposible expresar en estas pocas palabras. Les doy las gracias por haber confiado siempre en mí, por apoyarme en todas mis elecciones y por estar siempre a mi lado para todo lo que he necesitado. Son un ejemplo que seguiré siempre en mi vida y estoy orgullosa de tener unos padres como ustedes. Muchas gracias por disponer un momento de su vida delante de la computadora haciéndome compañía y diciéndome palabras de ánimo, cariño y mucho amor. Muchas gracias por todo. Los quiero mucho.

A todo mi eterno agradecimiento.

RESUMEN DE ECUACIONES

$$1.1 \quad P = \frac{\nu}{a \times l_{max}}$$

$$2.1 \quad I/I_0 = \exp(-[Q]/[M])$$

$$2.2 \quad [M] = \frac{[S] - [\text{Monómero libre}]}{N}$$

$$2.3 \quad \ln(I_0/I) = \frac{[Q]N}{[S] - CMC}$$

$$2.4 \quad D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$$

$$2.5 \quad I' = I'_0 \exp - (\gamma_N \delta_p G)^2 D \left(\Delta_D - \frac{\delta_p}{3} \right)$$

$$4.1 \quad k_{obs} = \frac{k_W + k_M K([Surf]_T - CMC)}{1 + K([Surf]_T - CMC)}$$

$$4.2 \quad \frac{1}{k_{obs}} = \frac{1 - KCMC}{k_W} + \frac{K}{k_W} [Surf]_T$$

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Glosario

$\Delta\delta$: Diferencias entre corrimientos químicos

δ_p : Duración del pulso en experimentos de DOSY

τ : Período de la secuencia spin-eco

γ : Tensión Superficial

η : Viscosidad del medio

Δ_D : Tiempo de difusión en experimentos DOSY

λ_{em} : Longitud de onda de emisión de fluorescencia

λ_{exc} : Longitud de onda de excitación

γ_{min} : Tension superficial minima

ACN: Acetonitrilo

B_0 : Campo Magnético de RMN

Brij-35: Polioxietilen (23) Lauril Éter

CMC: Concentración micelar crítica

CPB: Bromuro de cetilpiridinio

D: Coeficiente de difusión

DLS: Dispersión dinámica de luz

DOSY: *Diffusion Orden Spectroscopy*

DS: Decanoato de Sodio

E. Coli: Escherichia Coli

EMM: Efectos de Medio Micelar

EPR: Resonancia paramagnética de electrones

EtOH: Etanol

FT-IR: Espectroscopia de Infrarrojo

G: Fuerza de gradiente en experimentos de DOSY

-
- I: Intensidad fluorescencia en presencia de quencher
- I': Intensidad de señal observada por DOSY en presencia de Gradiente
- I'₀: Intensidad de señal observada por DOSY en ausencia de Gradiente
- I₀: Intensidad de fluorescencia en ausencia de quencher
- K: Constante de asociación sustrato-micela
- k_B: Constante de Boltzmann
- k_M: Constante de velocidad de pseudo- primer orden en medio micelar
- k_{obs}: Constante de velocidad observada
- k_w: Constante de velocidad de pseudo- primer orden en agua
- LS: Laurato de Sodio
- N: Número de agregación
- Neo: Neocuproina
- PGSE: *Pulsed Field Gradient "Spin-Eco"*, Gradiente del campo pulsado Spin-Eco
- PNPP: p-nitrofenol picolinato
- Pyr: Pireno
- Q: quencher. Molécula que disminuye la fluorescencia de una sonda.
- r: Radio hidrodinámico
- RMN- ¹³C: Resonancia Magnética Nuclear de carbono
- RMN- ¹H: Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno
- RMN: Resonancia Magnética Nuclear
- S. Aureus: Staphylococcus Aureus
- SAXS: Dispersión de rayos X de ángulo pequeño
- SDDC: Ácido 3,3 – Disulfanedil bis (2-decamino propanoico)
- SDLC: Ácido 3,3 – Disulfanedil bis (2-dodecamino propanoico)
- SDS: Dodecil Sulfato de Sodio
-

T: Temperatura

TEM: Microscopia electrónica de transmisión

TFAF: Trifluoroacetato de Fenilo

T_k: Temperatura de Krafft

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

UV: Ultravioleta

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ÍNDICE GENERAL

OBJETIVOS	1
-----------	---

CAPÍTULO 1

1.1.	SURFACTANTES	3
1.1.1.	Clasificación de los surfactantes	4
1.1.2.	Clasificación de los surfactantes derivados de aminoácidos	8
1.2.	AGREGACIÓN DE LOS SURFACTANTES	10
1.2.1.	Aspectos geométricos de la agregación de surfactantes	12
1.3.	APLICACIONES DE LOS SURFACTANTES EN LA CIENCIA Y EN LA INDUSTRIA	16
1.4.	METALOSURFACTANTES	18
1.4.1.	Metalosurfactantes como catalizadores	19
1.5.	SURFACTANTES ANTIMICROBIANOS	20
1.6.	REFERENCIAS	22

CAPÍTULO 2

2.1.	INTRODUCCIÓN	28
2.1.1.	Determinación de la Concentración Micelar Crítica por la medición de Tensión Superficial	31
2.1.2.	Determinación del Número de Agregación	33
2.1.3.	Radio Hidrodinámico	34
2.2.	OBJETIVO	38
2.3.	RESULTADOS	38
2.3.1.	Síntesis de Surfactantes Gémini	38
2.3.2.	Caracterización Espectroscópica de los surfactantes gémini sintetizados.	39
2.3.2.1.	Espectros de absorción en el Infrarrojo (IR)	39
2.3.2.2.	Espectro de resonancia magnética nuclear (RMN)	41
2.3.2.3.	Espectro de masas de alta resolución	43
2.3.3.	Estudio de la agregación de los surfactantes Gémini	45
2.3.3.1.	Concentración micelar crítica (CMC)	45

2.3.3.2.	Número de agregación (N)	48
2.3.3.3.	Determinación del tamaño y morfología de los agregados de los surfactantes gémini	50
2.3.3.4.	Determinación de pKa de los surfactantes gémini	52
2.4.	CONCLUSIONES	55
2.5.	REFERENCIAS	56

CAPÍTULO 3

3.1.	INTRODUCCIÓN	59
3.2.	OBJETIVO	61
3.3.	RESULTADOS	61
3.3.1.	Estudio de la interacción de los surfactantes gémini con iones metálicos	61
3.3.1.1.	Interacción de los surfactantes gémini con sales de cobre	61
3.3.1.2.	Determinación del tamaño y morfología de los agregados formados en soluciones SDDC: CuSO ₄	67
3.3.2.	Caracterización del cobre en los complejos SDDC: CuSO ₄	75
3.3.2.1.	Resonancia paramagnética electrónica (EPR)	76
3.3.2.2.	Pruebas de identificación del cobre	76
3.3.3.	Espectro de Infrarrojo del complejo SDDC: CuSO ₄	78
3.3.4.	Interacción del surfactante gémini SDDC con sales de plata y hierro	80
3.3.4.1.	Determinación de la morfología de los agregados formados en soluciones de SDDC con AgNO ₃ y FeCl ₃	81
3.3.5.	Medidas de CMC de los complejos SDDC: metales	82
3.4.	CONCLUSIONES	86
3.5.	REFERENCIAS	87

Capítulo 4

4.1.	INTRODUCCIÓN	90
4.2.	OBJETIVO	95
4.3.	RESULTADOS	95
4.3.1.	Oxidación del Fenol con el complejo de SDDC: CuSO ₄ .	95
4.3.2.	Hidrólisis de Trifluoroacetato de fenilo (TFAF)	96

4.3.2.1.	Cálculo de constantes de Asociación Sustrato-Micela	99
4.3.3.	Actividad antimicrobiana de los surfactantes gémuni	102
4.4.	CONCLUSIONES	109
4.5.	REFERENCIAS	110

Capítulo 5

5. 1.	MATERIALES	113
5.1.1.	Solventes	113
5.1.2.	Reactivos y medios de cultivo	113
5.1.3.	Cepas de Bacterias	113
5.2.	EQUIPAMIENTO	114
5.3.	METODOLOGÍAS	115
5.3.1.	Síntesis y purificación de surfactantes Gémuni	115
5.3.2.	Espectros de infrarrojo	116
5.3.3.	Elucidación Estructural por Resonancia Magnética Nuclear	116
5.3.4.	Determinación de la CMC de los surfactantes gémuni	117
5.3.5.	Determinación del Número de Agregación	117
5.3.6.	Determinación del Radio Hidrodinámico	118
5.3.7.	Preparación de las soluciones de SDDC: Sales metálicas	118
5.3.8.	Determinación de Cu ⁺ por espectrofometría UV- Visible	119
5.3.9.	Determinación de la CMC de los metalosurfactantes	119
5.3.10.	Experimentos de oxidación del fenol	120
5.3.11.	Síntesis y purificación de Trifluoroacetato de fenilo (TFAF)	120
5.3.12.	Hidrólisis de TFAF	121
5.3.13.	Preparación de las muestras para ensayos antimicrobianos	121
5.4.	REFERENCIAS	123

Capítulo 6

Conclusión General	124
--------------------	-----

Anexos

A.1	Espectros de IR- FT para los surfactantes gémuni	127
A.2	Espectros de RMN de ^1H y ^{13}C para los surfactantes gémuni.	128-129
A.3	Variación de la tensión superficial en función del logaritmo de la concentración de surfactante, para el SDDC y para el SDLC a los diferentes pH.	130
A.4	Gráfico de $\ln(I_0/I)$ en función de la concentración de Quencher (Q), para el surfactante gémuni. [SDDC]	131-133
A.5	Gráfico de $\ln(I_0/I)$ en función de la concentración de Quencher (Q), para el surfactante gémuni. [SDLC]	134-136
A.6	Gráfico del pH en función de la concentración de ácido [HCl], para el surfactante gémuni SDLC a diferentes concentraciones	137
A.7	Gráfico del pH en función de la concentración de ácido [HCl], para el surfactante gémuni SDDC a diferentes concentraciones	138-139
A.8	Variación de la tensión superficial en función del logaritmo de la concentración de los metalosurfactantes, para el SDDC: CuSO_4 (100:1, 10:1, 2:1 y 1:1)	140
A.9	Variación de la tensión superficial en función del logaritmo de la concentración de los metalosurfactantes, para el SDDC: AgNO_3 (100:1 y 10:1) y SDDC: FeCl_3 (100:1 y 10:1).	141
A.10	Constantes de velocidad observada para la hidrólisis del TFAF en función de la concentración total del surfactante gémuni SDDC.	142
A.11	Constantes de velocidad observada para la hidrólisis del TFAF en función de la concentración total del complejo SDDC: CuSO_4 a (10:1) y (100:1)	142
A.12	Inversa de la constante de velocidad observada para la hidrólisis de TFAF en función de la concentración total de SDDC.	143
A.13	Inversa de la constante de velocidad observada para la hidrólisis de TFAF en función de la concentración total del complejo SDDC: CuSO_4 a (10:1) y (100:1)	143

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1.	Representación de una molécula de surfactante	3
Figura 1.2.	Clasificación de los Surfactantes, según la naturaleza iónica de la cabeza polar y ejemplos.	5
Figura 1.3.	Representación esquemática de los diversos tipos de surfactantes.	7
Figura 1.4.	Fórmula general de los α -aminoácidos	8
Figura 1.5.	Estructura de los surfactantes derivados de aminoácidos: (1) Lineales, (2) De doble cadena, (3) Diméricos o Gémini, (4) Glicerolípidos.	9
Figura 1.6.	Representación esquemática de una micela esférica.	11
Figura 1.7.	Diagrama de fase para un sistema de surfactante- agua binario en la zona de concentración cercano a la CMC.	12
Figura 1.8.	El parámetro de empaquetamiento relaciona el área del grupo cabeza, la longitud extendida y el volumen de la parte hidrofóbica de la molécula de surfactante en un número adimensional como se expresa en la ecuación 1.1	13
Figura 1.9	Relación entre el parámetro de empaquetamiento y la morfología del agregado.	14
Figura 1.10.	Representación de las aplicaciones de los surfactantes y sus agregados.	17
Figura 1.11.	Comportamiento de un surfactante en presencia y ausencia de un ion metálico.	18

CAPÍTULO 2

Figura 2.1.	Representación esquemática de los cambios en diferentes propiedades físicas de los surfactantes a la CMC.	30
Figura 2.2.	Gráfico teórico de tensión superficial en función de la concentración de surfactante.	31
Figura 2.3.	a) Secuencia de pulsos PGSE, G es la amplitud del gradiente pulsado, δ su duración, y Δ la separación entre los bordes principales de los gradientes pulsados. También se muestra el efecto de la ausencia (b) y presencia (c) de difusión en el desplazamiento de fase y la intensidad de la	36

	señal en un experimento PGSE. En la secuencia que se muestra en a), el tiempo de difusión esta dado por $\Delta\delta/3$.	
Figura2.4.	Esquema de Síntesis de SDDC y SDLC.	38
Figura.2.5.	Grupos funcionales que dan origen a las principales señales en el IR.	39
Figura 2.6.	Espectros de IR del SDLC, Cloruro láurico y L-cistina.	40
Figura 2.7.	Espectro de RMN ^1H de (A) L-cistina y (B) Cloruro láurico y (C) SDLC (400 MHz en D_2O).	41
Figura 2.8.	Espectro de RMN ^{13}C de: A) SDLC y B) L-cistina (100 MHz en D_2O)	42
Figura 2.9	Espectro de masas de los surfactantes gémini: A) SDLC y B) SDDC.	44
Figura 2.10.	Gráfico de los valores de tensión superficial en función de la concentración total de surfactante SDDC.	46
Figura 2.11.	Gráfico de $\ln(I_0/I)$ en función de la concentración de quencher para el SDDC a pH 9,15, $T = (30,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. $[\text{Pyr}] = 0,002 \text{ mM}$, $[\text{SDDC}] = 5 \text{ mM}$. $\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$. $\lambda_{\text{em}} = 392 \text{ nm}$.	48
Figura 2.12.	Espectro de DOSY ^1H de SDDC. $T=25^\circ\text{C}$.	51
Figura 2.13.	Curva potenciométrica del SDDC a 0,7mM.	53

CAPÍTULO 3

Figura 3.1.	Soluciones de: A) SDLC: CuSO_4 (1:1) a 40°C , B) SDLC: CuSO_4 (1:1) a 25°C , C) SDLC: CuSO_4 (10:1) a 40°C , D) SDLC: CuSO_4 (100:1) a 40°C , E) SDLC: CuSO_4 (10:1) a 25°C , F) SDLC: CuSO_4 (100:1) a 25°C , $[\text{SDLC}] = 0,3 \text{ mM}$	62
Figura 3.2.	Soluciones de: A) SDDC: CuSO_4 (1:1), B) L-Cistina: Decanoato de sodio: CuSO_4 (1:2:1), C) L-Cistina: CuSO_4 (1:1), D) CuSO_4 y E) Decanoato de sodio: CuSO_4 (2:1) a pH 7,00.	64
Figura 3.3.	Espectros UV-Visible de SDDC con CuSO_4 a distintos pH, $[\text{SDDC}] = 3\text{mM}$.	65
Figura 3.4.	Espectro de RMN ^1H de: A) SDDC y B) SDDC: CuSO_4 (1:1) en pH 7,00 en D_2O .	66
Figura 3.5.	Micrografía TEM de SDDC: CuSO_4 (1:1) a pH 7,00, $[\text{SDDC}] = 3\text{mM}$, sin filtrar.	68
Figura 3.6.	Micrografías TEM de SDDC: CuSO_4 (1:1) a pH 7,00: A) 0 días, B) 7 días y C) 14 días, $[\text{SDDC}] = 3\text{Mm}$, sin filtrar.	68
Figura 3.7.	Micrografías TEM de: A) SDDC: CuSO_4 (10:1) y B) SDDC: CuSO_4 (100:1) a pH 7,00, $[\text{SDDC}] = 3\text{mM}$, sin filtrar.	69

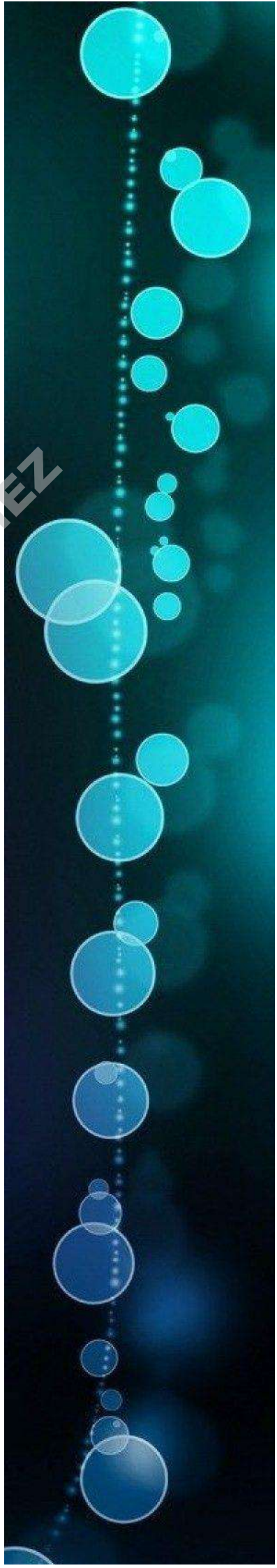
Figura 3.8.	Micrografía TEM de SDDC: CuSO ₄ por debajo de la CMC del surfactante, [SDDC] = 0,06 mM, sin filtrar.	70
Figura 3.9.	Micrografía de TEM de: A) SDDC.CuSO ₄ (1:1) filtrada y B) SDDC: CuSO ₄ (1:1) solido, a pH 7,00. [SDDC] = 3mM.	70
Figura 3.10.	Micrografías TEM de la solución de SDDC: CuCl (1:1) a pH 7,00, [SDDC] 3Mm, sin filtrar.	71
Figura 3.11.	Curvas de SAXS para SDDC: CuSO ₄ a diferentes relaciones molares. La curva negra es típica de un agregado pequeño (micela) como lo sugiere la meseta a bajo q. La curva azul es típica de una pila de bicapas agregadas (pendiente final no nula en el nivel bajo de q) y con presencia de dos picos de Bragg.	72
Figura 3.12.	Curvas de SAXS para SDDC: CuSO ₄ en diferentes relaciones molares.	73
Figura 3.13.	Ajuste de los datos de SDDC en ausencia CuSO ₄ (o) datos experimentales (—) ajuste al agregado micelar.	74
Figura 3.14.	Ajuste de la señal de SAXS (pico de difracción de primer orden) correspondiente a la fase laminar. A partir de la posición del pico se obtiene el distanciamiento lamelar. A partir de un ancho total a mitad de altura máxima (FWHM) se calcula una longitud de coherencia de 7,3 lamelas a partir de la ecuación de Scherrer. (—) datos experimentales, (—) ajuste.	75
Figura 3.15.	Estructura del complejo formado entre Cu ⁺ y Neo.	77
Figura 3.16.	Espectros de absorbancia UV-Visible de: A) SDDC: CuSO ₄ (1:1)-Neo, B) CuCl- Neo y C) CuSO ₄ -Neo, a pH 7,00. En todos los casos la concentración de cobre fue de 3mM	77
Figura 3.17.	Oxidación de la Cistina.	78
Figura 3.18.	Espectro de Infrarrojo de: A) SDDC, B) SDDC: CuSO ₄ , (1:1) y C) Ácido Cistéico.	79
Figura 3.19.	Micrografía TEM de: A) SDDC: AgNO ₃ (10:1) y B) SDDC: AgNO ₃ (100:1); a pH 7,00, [SDDC] = 3mM.	81
Figura 3.20.	Micrografía de TEM de SDDC: AgNO ₃ (10:1) por debajo de la CMC, a pH 7,00, [SDDC] =0,06 mM, sin filtrar.	82
Figura 3.21.	Micrografía TEM de SDDC: FeCl ₃ (100:1); a pH 7,00, [SDDC] = 3mM, sin filtrar	82
Figura 3.22.	Gráfico de tensión superficial en función de la concentración del SDDC en el complejo con el metal. SDDC: CuSO ₄ (100:1), pH 7,00 T= (30,0 ± 0,1) °C	83
Figura 3.23.	Gráfico de CMC en función de la concentración CuSO ₄ , [SDDC] = 3mM	84

CAPÍTULO 4

Figura 4.1.	Estructura de trifluoroacetato de fenilo (1) y el estado de transición de su reacción de hidrólisis (2)	92
Figura 4.2.	Efecto de la concentración de los surfactantes sobre la constante de velocidad observada. [TFAF] =0,1 mM; T= (30,0 ± 0,1) °C; pH 7,00.	98
Figura 4.3.	Inversa de la constante de velocidad observada para la hidrólisis de TFAF, en función de la concentración del surfactante SDDC.	101
Figura 4.4.	Comparación del % de Inhibición en el crecimiento de una bacteria Gram positiva (<i>S. aureus</i>) a diferentes concentraciones de SDDC y SDDC: sales metálicas y ampicilina.	104
Figura 4.5.	Comparación del % de Inhibición en el crecimiento de una bacteria Gram negativa (<i>E. coli</i>) a diferentes concentraciones de SDDC y SDDC: sales metálicas y ampicilina.	105

Objetivos

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ



ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

En la actualidad se estudian distintas clases de surfactantes para ser utilizados en áreas de alta tecnología como la microelectrónica y la biotecnología, entre otras. Para ello se hace necesario diseñar surfactantes novedosos y con las propiedades adecuadas. Un tipo de surfactantes muy interesantes son los gémini, que constan de dos colas hidrofóbicas unidas por un espaciador entre los grupos polares. Su estructura molecular les confiere propiedades fisicoquímicas particulares comparadas con los correspondientes surfactantes monoméricos. Normalmente presentan menores valores de concentración micelar crítica y morfologías inusuales en los agregados que forman, con respecto a los surfactantes convencionales. Estas propiedades pueden ser aprovechadas en potenciales aplicaciones.

Un desafío adicional que se presenta en la síntesis de estos sistemas anfifílicos es usar materias primas renovables tales como aminoácidos, glúcidos y derivados de aceites vegetales, para preparar surfactantes biocompatibles que garanticen condiciones suaves de reacción, biodegradabilidad, eficiencia y actividad multifuncional. Los surfactantes basados en aminoácidos constituyen una clase importante de bio-moléculas con muchas posibilidades de aplicación.

En este trabajo se propuso sintetizar surfactantes gémini derivados del aminoácido cisteína y ácidos grasos con diferentes largos de cadenas y caracterizar sus agregados tanto sólo como coordinados con metales. Además, se evaluaron posibles aplicaciones, como su utilización como agentes antimicrobianos y como catalizadores, cuando los surfactantes gémini están acomplejados con los metales. Es por ello que se plantearon los siguientes objetivos.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo de este trabajo es realizar un aporte al conocimiento general de sistemas microheterogéneos formados por surfactantes diméricos o gémini compatibles con el medio ambiente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ⌘ Sintetizar surfactantes gémuni derivados de fuentes naturales y renovables (aminoácidos y ácidos grasos) y determinar sus propiedades de agregación.

- ⌘ Evaluar el efecto de la adición de diferentes iones metálicos sobre las propiedades de los agregados.

- ⌘ Evaluar posibles aplicaciones de los sistemas anfífilicos formados por surfactantes gémuni y sales metálicas como catalizadores de reacciones de compuestos orgánicos poco solubles en agua.

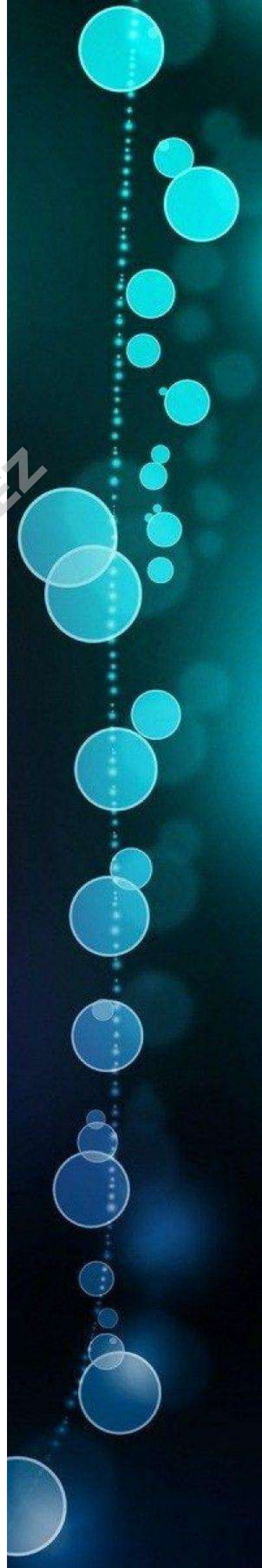
- ⌘ Determinar la capacidad de los surfactantes gémuni y sus sales metálicas para actuar como agentes antimicrobianos.

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Capítulo 1

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Introducción.



ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ÍNDICE

1.1. SURFACTANTES.....	3
1.1.1. Clasificación de los surfactantes	4
1.1.2. Clasificación de los surfactantes derivados de aminoácidos	8
1.2. AGREGACIÓN DE LOS SURFACTANTES	10
1.2.1. Aspectos geométricos de la agregación de surfactantes	12
1.3. APLICACIONES DE LOS SURFACTANTES EN LA CIENCIA Y EN LA INDUSTRIA.....	16
1.4. METALOSURFACTANTES	18
1.4.1. Metalosurfactantes como catalizadores.....	19
1.5. SURFACTANTES ANTIMICROBIANOS	20
1.6. REFERENCIAS	22

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

INTRODUCCIÓN

1.1. SURFACTANTES

Los surfactantes constituyen la más amplia gama de productos químicos utilizados a nivel industrial como agentes de limpieza (jabones y detergentes), así como en la preparación de cosméticos, fármacos, productos alimentarios y en procesos industriales, cromatografía, análisis de suelos, catálisis, etc. Su amplio uso es debido a su notable influencia en las propiedades de superficie e interface.¹ En la actualidad se estudian distintas clases de surfactantes para ser utilizados en áreas de alta tecnología como la microelectrónica y la biotecnología, entre otras.²

Los surfactantes, también denominados tensioactivos, son moléculas anfifílicas; la palabra recoge el significado de las raíces griegas *anfi* que significa doble y *filos* que significa atracción o afinidad. Estas moléculas poseen un grupo hidrofílico (atracción al agua) unido a un grupo hidrofóbico (repulsión al agua). Así, en general, la estructura química de una molécula tensioactiva tiene una zona polar, denominada hidrófila (cabeza polar), y una zona apolar o de polaridad débil, denominada hidrófoba (cola hidrofóbica).³ En la figura 1.1 se representa una molécula de surfactante, con su cola hidrofóbica, en el lado izquierdo, y la cabeza polar en el derecho.

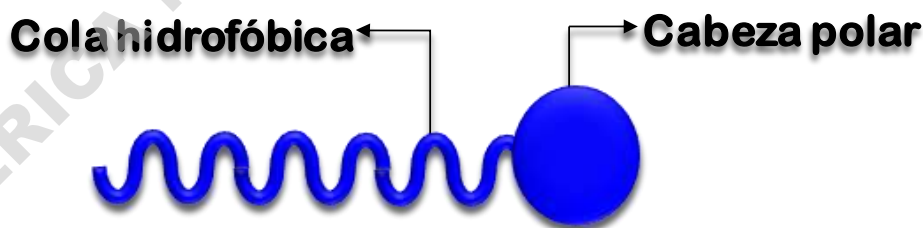


Figura 1.1. Representación esquemática de una molécula de surfactante.

El grupo polar suele ser de menor longitud que el grupo apolar, aunque más voluminoso, por lo que se le llama grupo cabeza. El grupo apolar está formado por una cadena hidrocarbonada, aunque dada la versatilidad de la química del carbono podemos encontrar cadenas insaturadas, ramificadas o que contengan otros átomos distintos del carbono o del hidrógeno.

1.1.1. Clasificación de los surfactantes

De acuerdo a la naturaleza de la cabeza polar que los forma, los tensioactivos se clasifican en las siguientes familias:³

- *Surfactantes Aniónicos*: compuestos que poseen uno o varios grupos funcionales que son solubles en agua y que tienen carga negativa; como por ejemplo sulfonatos, sulfatos, carboxilatos etc., y contraiones positivos, como por ejemplo el Na⁺. Éstos son una clase de surfactantes ampliamente utilizados en aplicaciones industriales. (figura 1.2 a)
- *Surfactantes Catiónicos*: Compuestos que poseen un grupo funcional en la molécula cargado positivamente, y para mantener la neutralidad eléctrica, éste está asociado a un anión (Br⁻, Cl⁻, SO₄²⁻, etc.). Tienen dos propiedades importantes: son fácilmente adsorbidos en las interfases sólido/líquido y se comportan como buenos agentes antimicrobianos. (figura 1.2 b)
- *Surfactantes Anfóteros (o Zwitteriónicos)*: estos surfactantes dan lugar tanto a disociaciones aniónicas como catiónicas en función del pH de la solución y pueden poseer las propiedades solubilizantes de los aniónicos y las desinfectantes de los catiónicos. Productos sintéticos como las betaínas entre las que encontramos la *N*-dodecildimetilaminobetaína, se utilizan ampliamente en sectores donde es primordial una elevada biocompatibilidad y baja toxicidad. (figura 1.2 c)
- *Surfactantes No-Iónicos*: compuestos que no tienen carga y por lo tanto no se disocian en disolución acuosa. Su solubilidad en medio acuoso se debe a la presencia de grupos funcionales, como el grupo hidroxilo, -OH, capaz de formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua. En esta familia se agrupan los alcoholes grasos etoxilados y los alquil poliglucósidos. (figura 1.2 d)

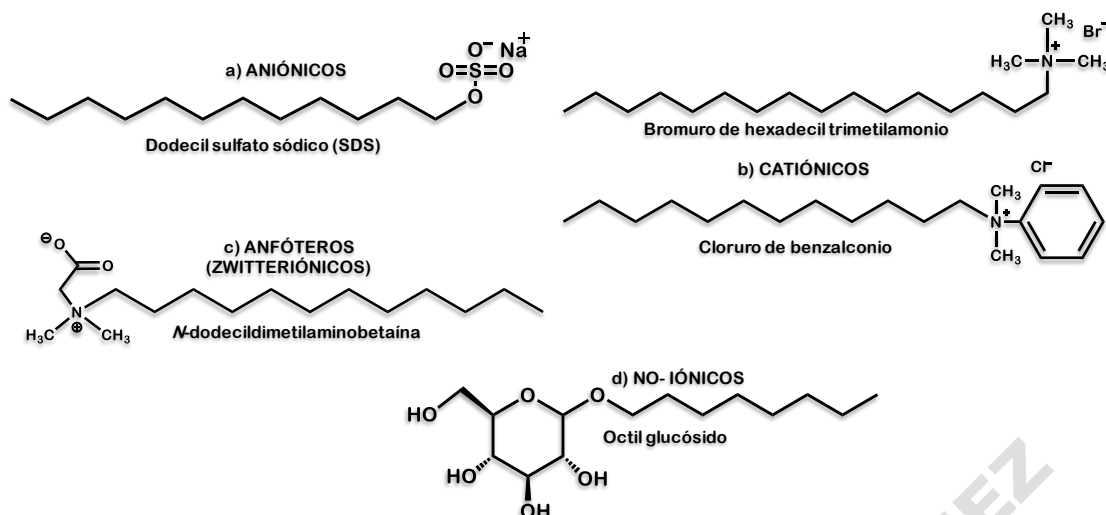


Figura 1.2. Clasificación de los Surfactantes según la naturaleza iónica de la cabeza polar y algunos ejemplos.

Una clasificación complementaria está surgiendo a la luz del desarrollo de nuevos surfactantes que poseen más de un grupo polar y más de una cola hidrofóbica. Dependiendo de la cantidad de colas hidrofóbicas y de su disposición geométrica, se clasifican en cuatro grupos de surfactantes⁴ y se representan en la figura 1.3.

- **Surfactantes Convencionales:** Presentan una estructura clásica compuesta de un grupo iónico o polar y una cola hidrofóbica.
- **Surfactantes Bolaform:** Compuestos por dos cabezas hidrofílicas unidas por una o varias cadenas hidrofóbicas. Cuando estas moléculas se disuelven en medios acuosos, se auto organizan en vesículas de una sola capa.⁵⁻⁹
- **Surfactantes Gémini:** estos surfactantes están constituidos por dos colas hidrofóbicas y dos grupos iónicos unidos por un espaciador (rígido o flexible). El interés en estas moléculas se debe a sus propiedades inusuales de superficie y volumen. Éstas incluyen muy alta actividad superficial,¹⁰ notables cambios de viscosidad del medio,¹¹ y formación de estructuras micelares inusuales en comparación con los surfactantes convencionales; por otra parte son moléculas versátiles para muchas aplicaciones,¹² como potenciales vehículos para el transporte de moléculas bioactivas.¹³⁻¹⁵

La primera síntesis de los surfactantes gémmini fue publicada en 1971 por Bunton y colaboradores¹⁶, quienes los denominaron *detergentes dicatiónicos* y los utilizaron como catalizadores de ciertas reacciones de sustitución nucleófila. Éstos fueron renombrados sucesivamente como surfactantes bis-amonio cuaternarios,¹⁷ surfactantes diméricos,¹⁸ o surfactantes siameses. En 1991 Menger y colaboradores,^{13,19,20} le asignaron el término “Gémmini” a una serie de bis-tensioactivos sintetizados, que presentaban un espaciador rígido, como el benceno; el término se extendió a otros bis surfactantes o tensioactivos de doble cola. Por otra parte, estos autores evaluaron el efecto de una cabeza heterocíclica y un espaciador acetilénico sobre las propiedades de agregación de los gémmini. En 1996 Song y Rosen,²¹ informaron sobre el comportamiento de micelización y pre-micelización de una serie de surfactantes bis-catiónicos con espaciadores hidrofílicos o hidrofóbicos rígidos y flexibles, observando una mayor tendencia a la agregación para un surfactante con espaciador hidrofílico flexible que para los surfactantes gémmini con espaciador hidrofóbico rígido.

Algunas características estructurales de los surfactantes gémmini²² son las siguientes:

- a. Todos los surfactantes gémmini poseen al menos dos cadenas hidrofóbicas y dos grupos iónicos o polares.
- b. El puente puede ser corto (dos grupos metileno) o largo (12 grupos metileno); rígido (benceno) o flexible (cadena de metilenos); polar (poliéter) o no polar (alifático, aromático), y mantiene unidas a las cabezas polares y los átomos de carbono de la cadena hidrocarbonada próximos a ellas.
- c. El grupo polar puede ser positivo (amonio), negativo (fosfato, sulfato, carboxilato), no iónico (poliéter, azúcar) o zwitteriónico.¹⁷ La mayor parte de los surfactantes gémmini son moléculas simétricas, es decir, con los grupos polares iguales y están unidos a los mismos grupos no polares. También se han sintetizado surfactantes gémmini con distintos grupos polares²² y con cadenas hidrocarbonadas diferentes.²³

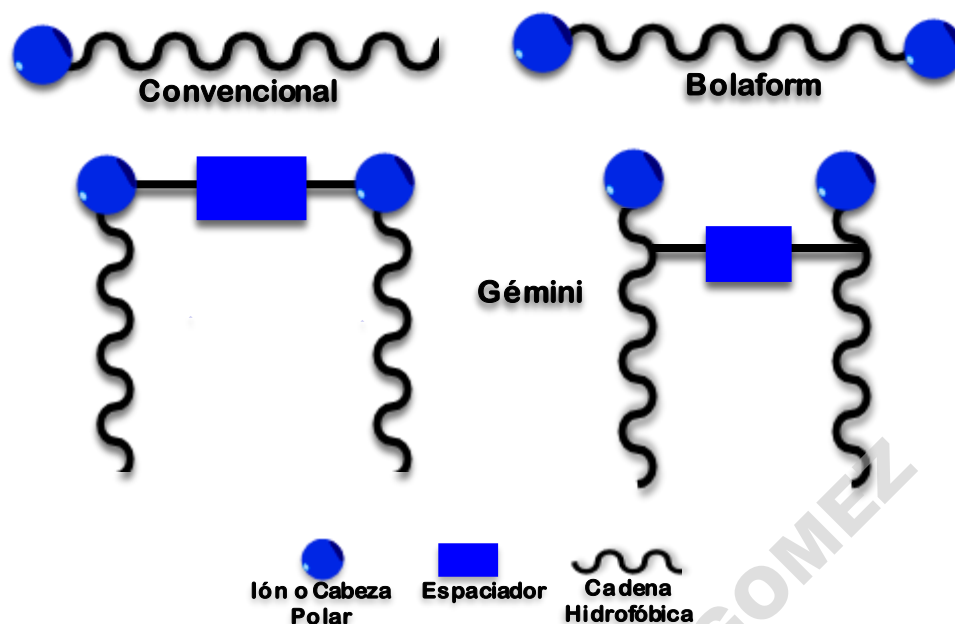


Figura 1.3. Representación esquemática de los diversos tipos de surfactantes en función de su estructura molecular.

Actualmente, los surfactantes bolaform y gémini muestran una mayor importancia debido a sus notables propiedades de superficie, excelente biodegradabilidad y favorables reportes como antimicrobianos.²⁴

Teniendo en cuenta que los surfactantes, según su composición, pueden afectar negativamente al medio ambiente, cada vez es más importante sintetizar compuestos con una alta biodegradabilidad y biocompatibilidad, y que paralelamente, posean una alta eficiencia.²⁴⁻²⁶ Por tal motivo, los aminoácidos actualmente son considerados importantes materias primas para la preparación de surfactantes, ya que presentan notables propiedades biocompatibles y una gran variedad de funcionalidades químicas, dando lugar a nuevos tensioactivos que sean quirales, solubles en agua, no tóxicos si se administran por vía oral, no irritantes, biodegradables y con un impacto acuático mínimo. Todas estas propiedades garantizan su desarrollo comercial en el sector alimentario y cosmético, destacando su capacidad para aplicaciones bioquímicas.²⁷

1.1.2. Clasificación de los surfactantes derivados de aminoácidos

Los α -aminoácidos son las unidades básicas de las proteínas, las cuales están constituidas por aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos. Los 20 aminoácidos que se encuentran en las proteínas constituyen una gran variedad de sustancias químicas versátiles, y su fórmula general se representa en la figura 1.4. Todos los aminoácidos que forman las proteínas tienen una estructura semejante, diferenciándose sólo en el grupo R de la cadena lateral.²⁸ Estas cadenas laterales tienen una amplia diversidad química y estructural. Sobre la base de la naturaleza iónica de R, los aminoácidos naturales se pueden clasificar en aminoácidos neutros, con una cadena lateral no iónica que puede ser débilmente hidrofílica, hidrofóbica o aromática (serina, prolina, alanina, leucina y fenilalanina), aminoácidos ácidos, que son altamente polares y casi siempre se cargan negativamente a pH fisiológico (ácido glutámico, ácido aspártico), y aminoácidos básicos, cuyas cadenas laterales se cargan positivamente a pH fisiológico (lisina, arginina). Por lo general, se considera que los aminoácidos que contienen azufre (es decir, cisteína/ cistina) son no polares e hidrofóbicos. Por otra parte, con la excepción de la glicina, son compuestos con una fuerte actividad óptica.²⁹

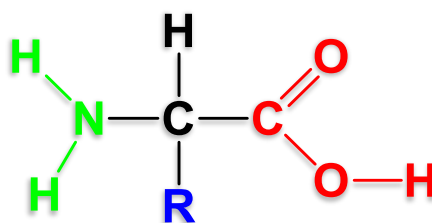


Figura 1.4. Fórmula general de los α -aminoácidos

La característica común de los α -aminoácidos es la presencia de las funcionalidades ácido carboxílico y amina, y de hecho, la mayor parte de la información bioquímica descrita se centra en la reactividad, transformación y derivatización de estos grupos.^{30,31} En la literatura se informan usos y transformaciones de los aminoácidos, que son extremadamente diversas. Por lo

general, la mayoría de los estudios se centran en la nutrición, en la medicina o el impacto sobre la función fisiológica.^{29,32} Sin embargo, los aminoácidos son también excelentes materias primas para la preparación química de surfactantes. Los mismos constituyen una clase importante de surfactantes biomoleculares naturales de gran interés para los químicos y físicos, así como, para los biólogos, con un número impredecible de aplicaciones básicas e industriales.^{24,31,33-36} La combinación de aminoácidos polares en la región hidrofílica, y de cadenas hidrocarbonadas de longitudes variables (de 8 a 16 átomos de carbono), para formar compuestos con estructuras anfifílicas, ha dado lugar a moléculas con elevada capacidad tensioactiva.^{24,37} La amplia diversidad de surfactantes con aminoácidos o péptidos, y la variedad de residuos grasos presentes en su estructura, explica su multiplicidad estructural y sus diferentes propiedades fisicoquímicas y biológicas.^{38,39} Los principales tipos de estructuras de surfactantes derivados de aminoácidos están representados en la figura 1.5.

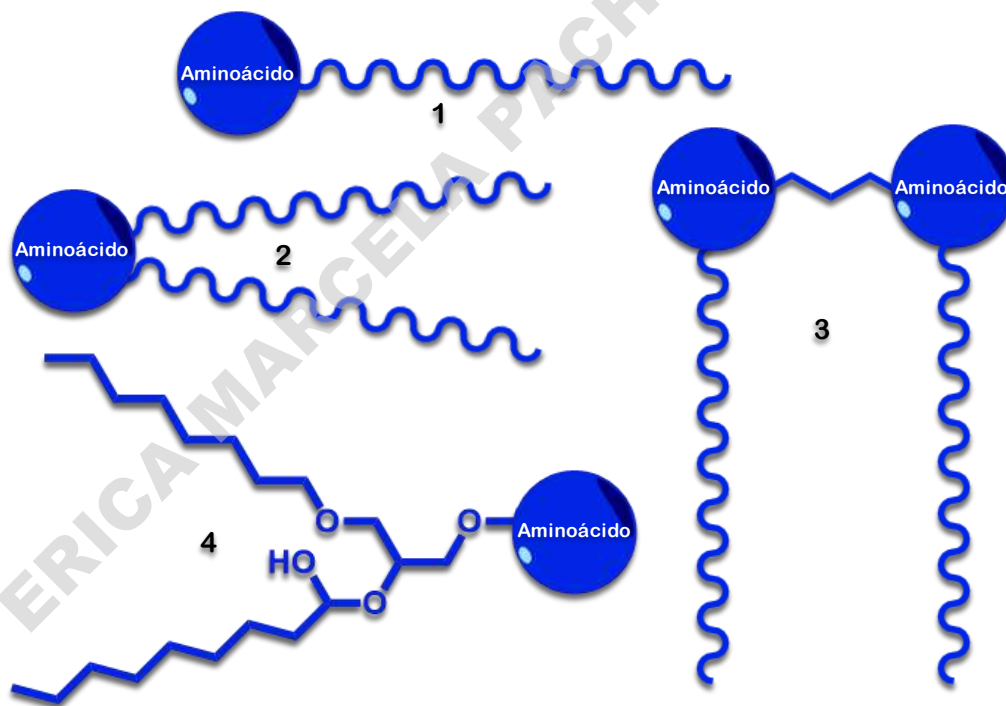


Figura 1.5. Estructura de los surfactantes derivados de aminoácidos: (1) Lineales, (2) De doble cadena, (3) Diméricos o Gémini, (4) Glicerolípidos.

En función del tipo de aminoácido, cada uno de estos surfactantes a su vez se puede clasificar en surfactantes aniónicos, catiónicos, anfóteros y no iónicos.

1.2. AGREGACIÓN DE LOS SURFACTANTES

Desde principio del siglo XX hasta el presente, el proceso de asociación reversible de moléculas anfifílicas, ha despertado un amplio interés por sus aplicaciones prácticas, lo que ha sido objeto de numerosas investigaciones. Uno de los primeros científicos que estudio este fenómeno fue McBain,⁴⁰ quien constató el hecho de que las moléculas de tensioactivo disueltas en agua podían agregarse de un modo reversible, dando el nombre de micela a estos agregados (figura 1.6). Sin embargo, no será hasta la década de los años treinta cuando Hartley⁴¹ establece las características estructurales básicas de las micelas formadas por moléculas de tensioactivos.

Las numerosas investigaciones llevadas a cabo han puesto de manifiesto que los tensioactivos sintéticos pueden dar origen a micelas globulares o alargadas.⁴²⁻⁴⁵ Independientemente de la forma de las micelas, éstas consisten en un núcleo formado por los grupos hidrófobos, conteniendo una pequeña cantidad de agua, y rodeado de una corteza constituida por los grupos hidrófilos que se extienden hacia el medio acuoso. Las cadenas hidrocarbonadas, relativamente rígidas y que constituyen el grupo hidrófobo en la mayoría de los tensioactivos, pueden llenar de forma uniforme el espacio más o menos esférico o cilíndrico correspondiente al núcleo de las micelas. Las micelas más comunes corresponden a las que tienen forma esférica, y un número de asociación generalmente comprendido entre 50 y 100 moléculas de surfactante.

Por otra parte, la micelización se describe como la consecuencia de la saturación superficial de las moléculas de surfactantes adsorbidos; cuando se incrementa la concentración del surfactante en el agua, las moléculas del surfactante se adsorben en la interfase agua-aire (generalmente conocida como “superficie”). A una cierta concentración, el exceso de surfactante forma estos agregados llamados “micelas”.^{3,45}



Figura 1.6. Representación esquemática de una micela esférica.

Así mismo, los cambios en la temperatura, el pH, la concentración del surfactante, aditivos en la fase líquida y los grupos estructurales en el tensioactivo pueden causar cambios en el tamaño y el número de agregación de las micelas.⁴⁶ La formación de estos agregados no sólo tiene lugar en medio acuoso, sino también, en otros disolventes polares y no polares.⁴⁷ Las micelas comienzan a formarse en disoluciones acuosas de surfactantes a concentraciones mayores que la Concentración Micelar Crítica (CMC). Esta CMC no es una concentración única, sino un intervalo de concentraciones. También es necesario que se alcance la Temperatura Micelar Crítica (TMC), que es la temperatura a la que la solubilidad es igual a la CMC, por lo que, por debajo de esta temperatura no se pueden obtener micelas.

Por otra parte, la solubilidad de los surfactantes iónicos muestra un fuerte aumento a cierta temperatura, denominada punto o temperatura de Krafft. Generalmente la TMC y el punto de Krafft coinciden. El punto de Krafft es considerado como la temperatura a la cual el surfactante hidratado, las micelas y una solución saturada de moléculas de surfactante no asociado, están en equilibrio. Por debajo del punto de Krafft, el surfactante existe en forma monomérica, con una solubilidad limitada, mientras que por encima, el tensioactivo está en equilibrio como micelas y monómeros^{1,34} como se puede observar en la figura 1.7. En general un surfactante puede mostrar actividad superficial cuando se usa a una temperatura por encima de su punto de Krafft.^{47,48}

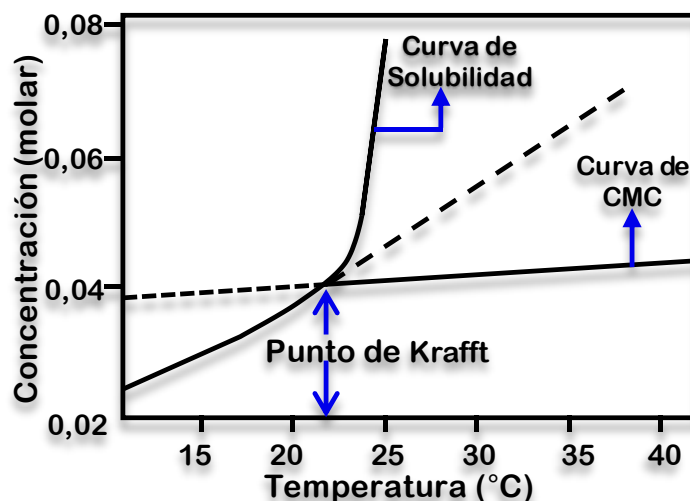


Figura 1.7. Diagrama de fase para un sistema binario de surfactante- agua en la zona de concentración cercana a la CMC.

El punto de Krafft puede variar por pequeños cambios en la estructura química del surfactante. En general, aumenta con la longitud de las cadenas alquílicas, y depende del grupo cabeza y de los contraiones. La adición de sal aumenta el punto de Krafft mientras que otros cosolutos lo disminuyen.⁴⁹

Los surfactantes no iónicos no presentan punto de Krafft. En cambio, la solubilidad de estos surfactantes disminuye con el aumento de la temperatura, y éstos pueden comenzar a perder sus propiedades de actividad superficial por encima de una temperatura de transición denominada punto de turbidez. Por encima del punto de turbidez la solución puede separarse en dos fases: una rica en surfactante y otra en agua.⁵⁰

1.2.1. Aspectos geométricos de la agregación de surfactantes

La asociación de moléculas anfifílicas en agua está dirigida por el efecto hidrofóbico. Como resultado de esta interacción las moléculas comienzan a agregarse en disolución acuosa cuando su concentración alcanza la CMC. La morfología de los agregados está determinada por la combinación de los siguientes términos de energía libre: una contribución favorable, resultado de la interacción atractiva entre las cadenas hidrofóbicas de las moléculas, una

contribución negativa que tiene en cuenta la interacción entre las cabezas, resultado de la repulsión electrostática, la hidratación, y el impedimento estérico y, finalmente, un término de empaquetamiento, que requiere la exclusión del agua y los grupos polares del interior hidrofóbico, ampliando así las posibles geometrías de los agregados.⁵⁰

Por lo tanto, las micelas esféricas no son la única estructura que puede formarse cuando los surfactantes se asocian. Israelachvili y colaboradores⁵¹ desarrollaron un modelo sencillo que explica la morfología de los agregados considerando las posibilidades de empaquetamiento geométrico de las moléculas del surfactante.^{51,52} Estos autores introdujeron el concepto de parámetro de empaquetamiento (P), figura 1.8, y lo definieron como la relación entre el volumen de la cadena hidrofóbica del surfactante, (v), y el producto entre el área ocupada por la cabeza polar, (a), y la longitud de la cadena hidrofóbica del tensioactivo, (l_{max}), ecuación 1.1:

$$P = \frac{v}{a \times l_{max}} \quad 1.1$$

Esta relación proporciona una caracterización geométrica sencilla de la molécula de surfactante. El análisis de las distintas formas geométricas de los agregados conduce a las reglas que se observan en la figura 1.9.

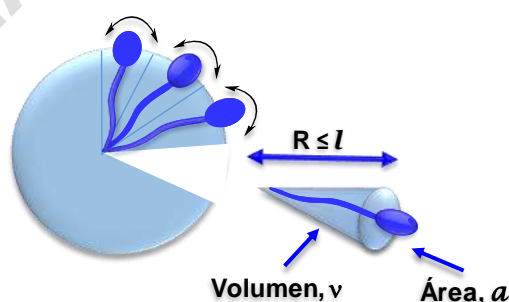


Figura 1.8. El parámetro de empaquetamiento relaciona el área del grupo cabeza, la longitud extendida menor al radio (R) de la micela y el volumen de la parte hidrofóbica de la molécula de surfactante en un número adimensional, como se expresa en la ecuación 1.1.

El valor de P es un indicador del tipo de estructura que las moléculas de tensioactivo tienden a formar en el proceso de agregación. Así, si la forma de la

molécula es cónica tendrá valores de P próximos a 0,33, y tenderá a formar micelas esféricas. Si la forma es parecida a la de un cono truncado, el valor de P estará entre 0,33 y 0,5 y se formarán preferentemente micelas cilíndricas. Cuando los valores de P se encuentran entre 0,5 y 1 se forman estructuras en forma de vesícula. Si la molécula es cilíndrica, el valor de P es próximo a 1, y el agregado más favorable es una bicapa. Por último, si la molécula de surfactante tiene forma de cono truncado con la parte hidrófoba más voluminosa que la hidrófila, el valor de P es superior a 1 y podrían formarse micelas o estructuras inversas. (figura 1.9). El balance hidrófilo-lipófilo puede ser modificado por factores externos como la temperatura, o la presencia de aditivos (sales, alcoholes etc.).

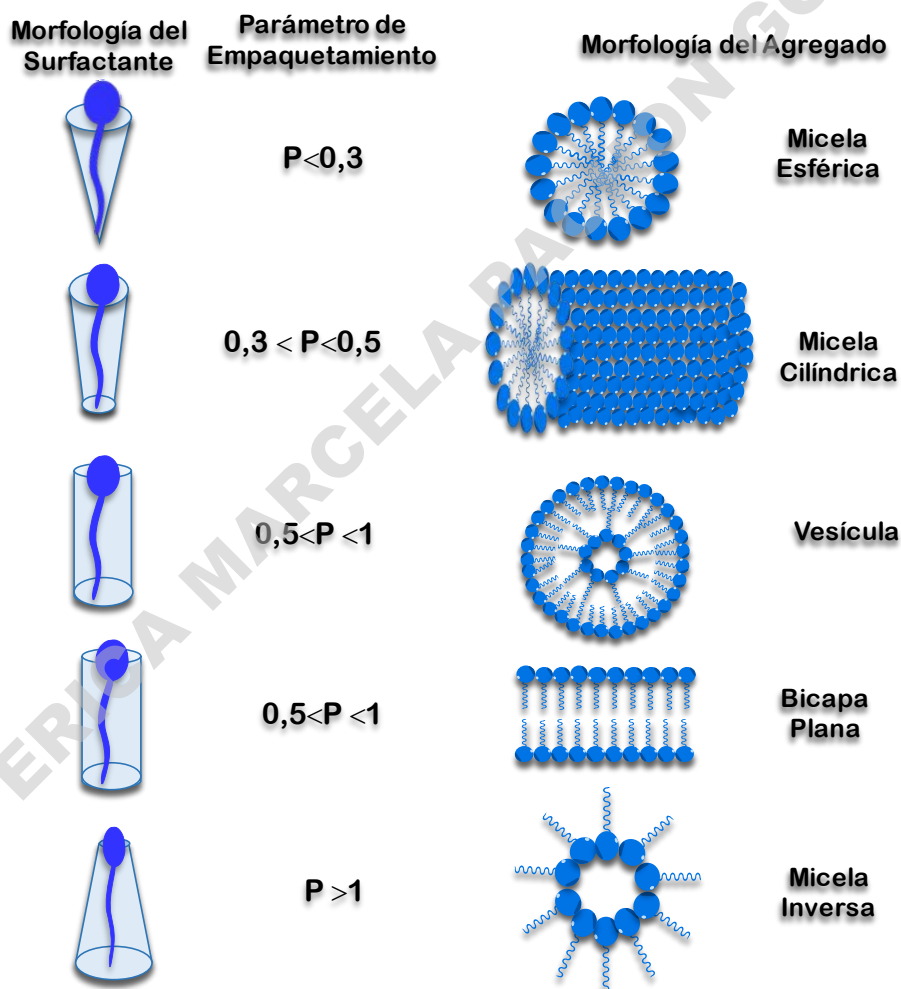


Figura 1.9. Relación entre el parámetro de empaquetamiento (P) y la morfología del agregado.⁵³

Las estructuras representadas en la figura 1.9 constituyen estructuras autoensambladas con un grado de orden.

Los materiales anfílicos que no pueden empaquetarse fácilmente en estructuras ordenadas y cerradas, como micelas simples, son exactamente los que producen unidades más grandes, como vesículas y bicapas. Dichos materiales poseen grupos cabeza relativamente pequeños o, como es más común, sus grupos hidrofóbicos son demasiado voluminosos para ser empaquetados de la manera adecuada para la formación de micelas. Esta situación es particularmente común para las moléculas que tienen más de una cadena hidrocarbonada, o cadenas muy ramificadas, o unidades estructurales que producen geometrías moleculares incompatibles con un empaquetado de estructuras altamente curvadas.^{54,55}

Aunque las bicapas son una opción termodinámicamente favorable para la asociación de algunos surfactantes voluminosos en solución acuosa, bajo ciertas condiciones es más favorable formar sistemas bicapas cerradas, dando lugar a la existencia de membranas y vesículas. Tal situación se origina a partir de dos causas básicas: (1) incluso las bicapas planares grandes, muy extendidas poseen bordes a lo largo, en los cuales la parte hidrofóbica de la estructura debe ser expuesta a un medio acuoso, dando como resultado una situación energética desfavorable; y (2) la formación de una estructura infinitamente extendida es desfavorable desde un punto de vista entrópico.^{56,57}

La formación de vesículas esféricas cerradas, entonces, evita estos dos inconvenientes: el efecto de borde es eliminado por la formación de un sistema cerrado, y la formación de estructuras de tamaño finito supera gran parte de la barrera entrópica. Mientras la curvatura de la vesícula sea suficientemente suave para permitir que las moléculas empaquetadas se mantengan cerca de su área de superficie óptima, las vesículas representarán estructuras viables para la asociación de surfactantes y materiales relacionados.

1.3. APLICACIONES DE LOS SURFACTANTES EN LA CIENCIA Y EN LA INDUSTRIA

Las aplicaciones de los surfactantes están relacionadas con las propiedades físico-químicas de éstos; en la ciencia y la industria hay una gran versatilidad de aplicaciones, desde los procesos de producción primaria, como la recuperación y purificación de materias primas en las industrias mineras y petroleras, hasta la producción de productos farmacéuticos,^{58,59} vehículos para liberación controlada de fármacos,^{58,60} anticorrosivos,⁶⁰ agentes de limpieza,⁶¹ en alimentación, pinturas,⁶⁰ en síntesis de nanopartículas⁶²⁻⁶⁴ y remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos.^{65,66} En la figura 1.10 se pueden ver algunas de las áreas principales de alto impacto para la aplicación de los surfactantes. A medida que aumentan las demandas económicas, ecológicas y de rendimiento de aditivos de productos y procesos como son los surfactantes, parece obvio que nuestra necesidad de comprender las relaciones entre las estructuras químicas de estos materiales y sus manifestaciones fisicoquímicas en circunstancias particulares, adquieren mayor importancia.

ERICA MARCELA PACHECO GOMEZ

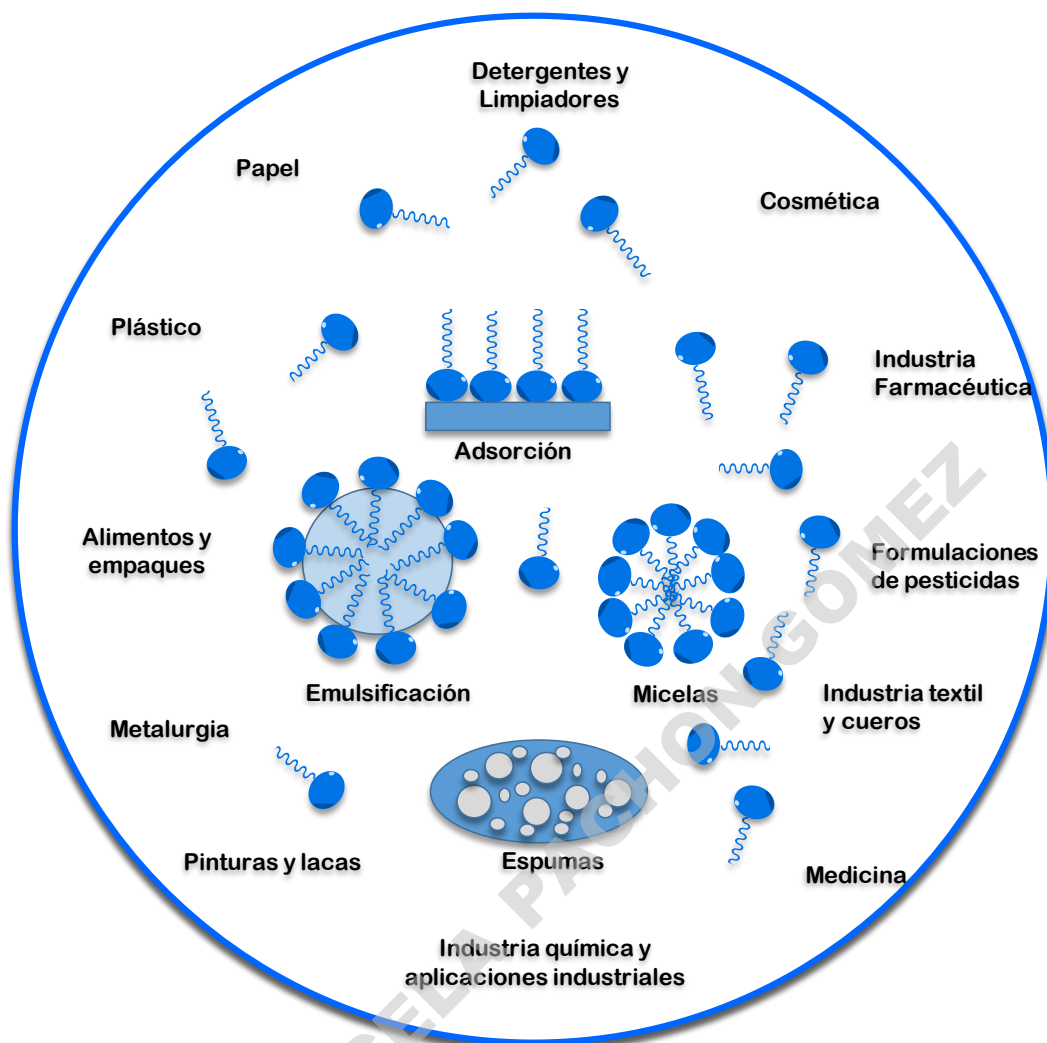


Figura 1.10. Representación esquemática de las aplicaciones de los surfactantes y sus agregados.⁵³

Las propiedades y aplicaciones de los tensioactivos están determinadas por el equilibrio entre las partes hidrofóbicas e hidrofílicas de las moléculas. Las propiedades deseadas varían significativamente para muchas de las aplicaciones indicadas en la figura 1.10. Por esa razón, características tales como la solubilidad, la capacidad de disminuir la tensión superficial, la CMC, el poder de desinfección, el control de humectación y la capacidad de formar espuma pueden hacer que un surfactante determinado funcione de manera excelente en algunas aplicaciones y no tan bien en otras.

1.4. METALOSURFACTANTES

La síntesis de nuevos tensioactivos con propiedades fisicoquímicas particulares se ha convertido en uno de los campos más prometedores en el ámbito de las ciencias coloidales y de la superficie.^{67,68} Los surfactantes metálicos forman parte de esta clase de anfífilos. Al igual que los tensioactivos convencionales, consisten en una parte hidrofóbica y otra hidrofílica y un ion metálico de transición. Estos surfactantes muestran propiedades características de los tensioactivos tradicionales, tales como una CMC bien definida. Sin embargo, la coordinación del ion metálico con el surfactante puede cambiar la carga iónica o la geometría molecular del tensioactivo y por lo tanto, inducir cambios en la morfología de los agregados,⁶⁹ como se puede observar en la figura 1.11.

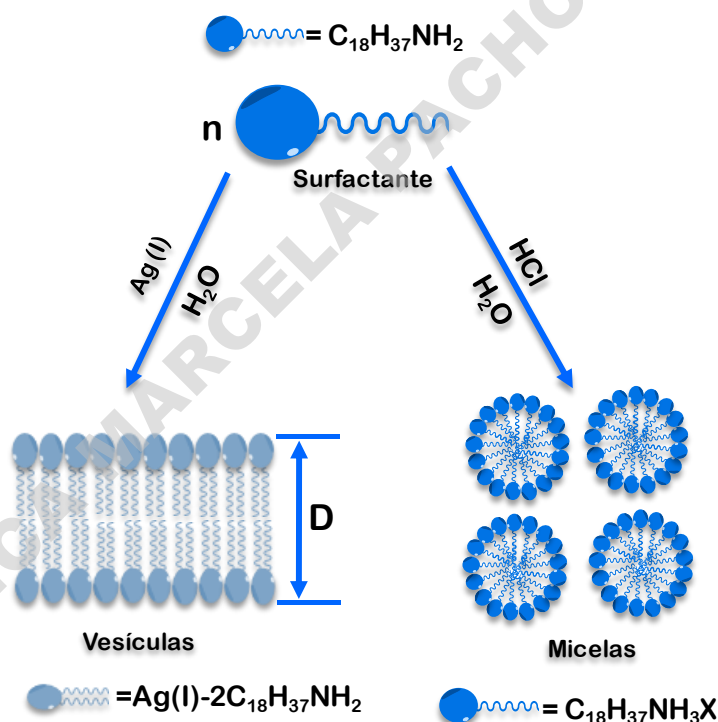


Figura 1.11. Comportamiento de un surfactante en presencia y ausencia de un ion metálico.⁶⁹

Las metalomicelas han sido ampliamente investigadas como un paso indiscutible hacia sistemas más versátiles que pueden imitar las metaloenzimas hidrolíticas que se encuentran en la naturaleza.⁷⁰⁻⁷² La mayoría de las metalomicelas hasta ahora estudiadas, resultan buenos modelos

metaloenzimáticos, ya que al igual que las metaloenzimas, están formadas por una cabeza polar que quela iones metálicos y luego una parte o porción lipofílica. De gran interés son los modelos micelares de metaloenzimas hidrolíticas que son capaces de promover la fragmentación de ésteres fosfóricos y carboxílicos o amidas. Entre estos sistemas supramoleculares, se ha puesto mucha atención a los modelos que contienen imidazol, porque el residuo de imidazol de la histidina es bien reconocido como sitio activo de muchas enzimas.^{73,74} Por otra parte, la imitación de la estereoselectividad obtenida por enzimas ha demostrado ser mucho más desafiante. En los últimos años, se han dado algunos ejemplos de hidrólisis enantioselectiva y el uso de las metalomicelas como modelos para las metaloenzimas hidrolíticas.⁷⁵

Aunque se trata de un campo relativamente reciente, incluso en esta breve escala de tiempo, se han descrito muchas otras aplicaciones de los metalosurfactantes en el campo de la catálisis, y también son bastante eficaces como agentes antihelmínticos,^{76,77} antiparasitarios⁷⁸ y antimicrobianos.^{79,80}

1.4.1. Metalosurfactantes como catalizadores

La catálisis metalomicelar es un proceso, por el cual el surfactante tiene un mayor efecto sobre la velocidad de una reacción en presencia que en ausencia de iones metálicos.

Por otra parte, las micelas formadas por surfactantes con grupos cabeza específicos, que pueden formar complejos con iones metálicos a través de una interacción de unión electrovalente, pueden causar incrementos en la velocidad de reacción debido a que estas micelas con iones metálicos se convierten en “Metalomicelas” funcionales inducidas.⁸¹

La idea de investigar los metaloagregados se basa en imitar la acción de las metaloenzimas, como la carboxipeptidasa A que contiene Zn^{+2} ,⁸² y se fundamenta en los conocidos efectos catalíticos de los cationes metálicos en las reacciones de clivaje hidrolítico.^{83,84} Se sabe que estos efectos incluyen: (a) la catálisis por ácidos de Lewis; (b) la neutralización de las cargas; (c) la activación

de las funciones de los nucleófilos o las moléculas de agua coordinadas al disminuir sustancialmente su pKa y, por lo tanto, la catálisis nucleófila.

En la literatura se han descrito varias aplicaciones de los metalosurfactantes como catalizadores,⁸⁵ por ejemplo Liu y colaboradores⁸⁶ sintetizaron un surfactante que acomplejaron con sales metálicas (La(III), Cu (II), Co (II) y Zn (II)). Estos complejos fueron utilizados como imitadores de metaloenzimas hidrolíticas para catalizar la hidrólisis de fosfodiésteres, y se propuso el modelo cinético del complejo ternario para la catálisis metalomicelar.

1.5. SURFACTANTES ANTIMICROBIANOS

Los surfactantes poseen restos tanto hidrófilos como hidrófobos, y la estructura anfifílica les confiere propiedades únicas para ser utilizados como agentes humectantes, solubilizantes, emulsionantes, etc.⁸⁷⁻⁸⁹ Se ha encontrado que los tensioactivos presentan una amplia gama de aplicaciones biomédicas,⁹⁰⁻⁹⁴ y especialmente han sido utilizados como agentes antibacterianos.⁹²⁻⁹⁶

Actualmente, se han diseñado diversos surfactantes para desarrollar agentes antimicrobianos altamente eficientes con una baja concentración inhibitoria mínima (IMC),⁹⁶⁻⁹⁹ y por lo tanto, reducir así la exposición de las bacterias a los tensioactivos y evitar el desarrollo potencial de resistencia bacteriana.¹⁰⁰⁻¹⁰³ Puesto que los microorganismos han ido ganando resistencia a los antibióticos convencionales, las investigaciones se están centrando en la búsqueda de nuevas clases de tensioactivos como antibióticos, ya que los nuevos surfactantes en muchos casos muestran un perfil de baja toxicidad y una buena actividad antimicrobiana.²⁴

La actividad antimicrobiana de los surfactantes se ve influenciada no sólo por las propiedades químicas de los mismos, sino también por la manera en que el microorganismo específico ha crecido antes y durante su tratamiento. Por otra parte, es necesario el desarrollo de nuevos agentes antibacterianos y antifúngicos con una arquitectura novedosa, que puedan disminuir la resistencia microbiana sin causar daño en las células del huésped.¹⁰³

Los surfactantes interactúan con diversos componentes celulares, en particular proteínas y lípidos, y por consiguiente causan efectos perjudiciales en el crecimiento y la viabilidad de las células microbianas.¹⁰⁴ Los surfactantes también inducen la autodestrucción celular en bacterias Gram Positivas¹⁰⁵⁻¹⁰⁸ e inhiben la respiración celular en Gram Negativas.^{109,110} Estas condiciones pueden modificar el metabolismo energético y la estructura celular y, por lo tanto, afectar profundamente la sensibilidad bacteriana a los surfactantes.^{104,110,111}

Hoy en día, existe una necesidad urgente de desarrollar nuevos agentes antimicrobianos con una menor tendencia a la resistencia bacteriana; por eso los surfactantes basados en aminoácidos están siendo explorados como alternativas prometedoras a los agentes antimicrobianos convencionales. Estructuralmente, estos compuestos pueden ser considerados como análogos de lipopéptidos nativos, ya que son anfífilos compuestos por uno o dos aminoácidos unidos a una fracción hidrófoba.²⁴

En la literatura hay reportes de la utilización de surfactantes gémuni como agentes antimicrobianos; por ejemplo Hoque y colaboradores⁹² sintetizaron surfactantes gémuni catiónicos con enlaces amidas y variando el espaciador. Evaluaron la actividad antimicrobiana de estos compuestos frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, encontrando que estos tensioactivos presentaban una fuerte interacción con la superficie celular bacteriana, causando la desintegración de la membrana celular. Otro ejemplo es el de Shaban y colaboradores,¹¹² que sintetizaron surfactantes catiónicos variando el largo de la cadena y evaluaron su efecto antimicrobiano frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, encontrando una alta inhibición antimicrobiana, en comparación con un antibiótico comercial (Eritromicina).

En general, los surfactantes pueden considerarse como compuestos fácilmente biodegradables, y una de las principales ventajas de los surfactantes conteniendo aminoácidos, es su doble funcionalidad: poseen las propiedades típicas de modificación de la actividad superficial (formando agregados moleculares como micelas o vesículas y reduciendo así la tensión superficial), pero también pueden actuar como agentes antimicrobianos en muchos casos.

1.6. REFERENCIAS

- (1) *Surfactants: Fundamentals and Applications in the Petroleum Industry*, L. L. Schramm Ed., Cambridge University Press, Cambridge, **2000**.
- (2) A. Singh, J. D. Van Hamme and O. P. Ward, *Biotechnol. Adv.*, **2007**, 25, 99–121.
- (3) *Handbook of Detergents, Part A: Properties*; G., Broze, Ed.; Surfactant Science Series; Marcel Dekker: New York, **1999**; Vol. 82.
- (4) M. C. Murguía, L. M. Machuca, M. C. Lurá, M. I. Cabrera and R. J. Grau, *J. Surfactants Deterg.*, **2008**, 11, 223–230.
- (5) B. Schuur, A. Wagenaar, A. Heeres and E. H. J. Heeres, *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 1147–1153.
- (6) M. M. Dardir, D. E. Mohamed, A. B. Farag, A. M. Ramdan and M. M. Fayad, *Egypt. J. Pet.*, **2017**, 26, 67–77.
- (7) N. Aydogan and N. L. Abbott, *J. Colloid Interface Sci.*, **2001**, 242, 411–418.
- (8) M. Berchel, L. Lemiègre, S. Trépout, O. Lambert, J. Jeftić and T. Benvegnu, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 7419–7422.
- (9) S. Landsmann, M. Luka and S. Polarz, *Nat. Commun.*, **2012**, 3, 1–6.
- (10) T. Chakraborty, I. Chakraborty and S. Ghosh, *Arab. J. Chem.*, **2011**, 4, 265–270.
- (11) F. Kern, F. Lequeux, R. Zana and S. J. Candau, *Langmuir*, **1994**, 10, 1714–1723.
- (12) C. M. C. Faustino, A. R. T. Calado and L. Garcia-Rio, *J. Colloid Interface Sci.*, **2012**, 367, 286–292.
- (13) F. M. Menger and C. A. Littau, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 1451–1452.
- (14) R. Zana, *Langmuir*, **2002**, 97, 205–253.
- (15) C. M. Phan, C. V. Nguyen, H. Nakahara, O. Shibata and T. V. Nguyen, *Langmuir*, **2016**, 32, 12842–12847.
- (16) C. A. Bunton, L. B. Robinson, J. Schaak and M. F. Stam, *J. Org. Chem.*, **1971**, 36, 2346–2350.
- (17) A. V. Peresyphkin and F. M. Menger, *Org. Lett.*, **1999**, 1, 1347–1350.
- (18) R. Zana, M. Benrraou and R. Rueff, *Langmuir*, **1991**, 7, 1072–1075.
- (19) F. M. Menger and C. Littau, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 10083–10090.
- (20) F. M. Menger and J. S. Keiper, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 30, 1906–1920.
- (21) L. D. Song and M. J. Rosen, *Langmuir*, **1996**, 12, 1149–1153.
- (22) E.-O. Alami and K. Holmberg, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2003**, 100, 13–46.
- (23) R. Oda, S. J. Candau and I. Huc, *Chem. Commun.*, **1997**, 2105–2106.
- (25) A. Pinazo, M. A. Manresa, A. M. Marques, M. Bustelo, M. J. Espuny and L. Pérez, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2016**, 228, 17–39.

-
- (24) M. R. Infante, L. Pérez, A. Pinazo, P. Clapés, M. C. Morán, M. Angelet, M. T. García and M. P. Vinardell, *Comptes Rendus Chim.*, **2004**, 7, 583–592.
- (26) S. M. Shaban, I. Aiad, H. Y. Moustafa and A. Hamed, *J. Mol. Liq.*, **2015**, 212, 907–914.
- (27) L. Pérez, A. Pinazo, R. Pons and M.R. Infante, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2014**, 205, 134-155.
- (28) P. J. Lea and R. A. Azevedo, in *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, Elsevier, **2017**, pp. 56–66.
- (29) R. Bordes and K. Holmberg, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2015**, 222, 79–91.
- (30) V. Hahn, A. Mikolasch, K. Manda, D. Gördes, K. Thurow and F. Schauer, *J. Mol. Catal. B Enzym.*, **2009**, 60, 76–81.
- (31) A. Pinazo, R. Pons, L. Pérez and M. R. Infante, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2011**, 50, 4805–4817.
- (32) M. Friedman and C. E. Levin, *Amino Acids*, **2012**, 42, 1553–1582.
- (33) M. Takehara, *Colloids Surf.*, **1989**, 38, 149–167.
- (34) *Protein-based surfactants: synthesis, physicochemical properties, and applications*; I.A. Nnanna and J. Xia, Eds.; Surfactant Science Series; M. Dekker. New York, **2001**.
- (35) G. O. Reznik, P. Vishwanath, M. A. Pynn, J. M. Sitnik, J. J. Todd, J. Wu, Y. Jiang, B. G. Keenan, A. B. Castle, R. F. Haskell, T. F. Smith, P. Somasundaran and K. A. Jarrell, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2010**, 86, 1387–1397.
- (36) R. Vijay, S. Angayarkanny and G. Baskar, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **2008**, 317, 643–649.
- (37) P. Foley, A. Kermanshahi Pour, E. S. Beach and J. B. Zimmerman. *Chem Soc Rev* **2012**, 41, 1499-1518.
- (38) M. R. Infante, A. Pinazo and J. Seguer. *Colloids Surf A: Physicochem. Eng. Asp.* **1997**, 123, 49-70.
- (39) D. R. Perinelli, L. Casettari, M. Cespi, F. Fini, D. K. W. Man, G. Giorgioni, S. Canala, J. K. W. Lam, G. Bonacucina and G. F. Palmieri, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **2016**, 492, 38–46.
- (40) J. W. McBain. *Trans. Faraday Soc.* **1913**, 9, 93.
- (41) G. S. Hartley; B. Collie and C.S. Samis. *Trans. Faraday Soc.* **1936**, 32, 795.
- (42) Tartar, H. V. *J. Colloid Sci.* **1959**, 14, 115.
- (43) N. A. Alarfaj and M. F. El-Tohamy, *Luminescence*, **2015**, 30, 3–11.
- (44) N. Rehman, A. Khan, I. Bibi and M. Siddiq, *Chin. J. Polym. Sci.*, **2012**, 30, 217–226.
- (45) A. Shah, S. Shahzad, A. Munir, M. N. Nadagouda, G. S. Khan, D. F. Shams, D. D. Dionysiou and U. A. Rana, *Chem. Rev.*, **2016**, 116, 6042–6074.
- (46) Rosen, M. J. *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 3a. ed.; Wiley-Interscience, Hoboken, **2004**.
-

-
- (47) T. F. Tadros, Ed., *Applied Surfactants: Principles and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
- (48) *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, 2. ed., with corrections.; Holmberg, K., Ed.; Wiley, New Jersey. **2007**.
- (49) N. A. Malik and A. Ali, *J. Mol. Liq.*, **2016**, 213, 213–220.
- (50) H. Wennerström and D.F. Evans, *The Colloidal Domain: Where Physics, Chemistry, Biology, and Technology Meet*, Wiley-VCH. New York, **1999**.
- (51) J. N. Israelachvili, D. J. Mitchell and B. W. J. Ninham. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* **1976**, 72, 1525-1568.
- (52) T. Tadros, Ed., *Encyclopedia of Colloid and Interface Science*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, **2013**.
- (53) D. Myers. *Surfactant Science and Technology*, 3a ed.; J. Wiley, New Jersey, **2006**.
- (54) R. Dutta, S. Ghosh, P. Banerjee, S. Kundu and N. Sarkar, *J. Colloid Interface Sci.*, **2017**, 490, 762–773.
- (55) S. Haldar and K. Karmakar, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **2017**, 516, 394–404.
- (56) J. Lv, W. Qiao and Z. Li, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **2016**, 146, 523–531.
- (57) D. Myers, Ed., *Surfaces, Interfaces, and Colloids: Principles and Applications*, Wiley-VCH, New York, 2 Ed., **1999**.
- (58) L. Tao and K. E. Uhrich, *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, 298, 102-110.
- (59) L. Tao, J. W. Chan and K. E. Uhrich, *J. Bioact. Compat. Polym.*, **2016**, 31, 227–241.
- (60) X. Wang, H. Yang and F. Wang, *Corros. Sci.* **2010**, 52, 1268-1276.
- (61) D. Chakrabarty, P. Hazra, A. Chakraborty and N. Sarkar, *Chem. Phys. Lett.* **2004**, 392, 340-347.
- (62) F. Xu, Q. Zhang and Z. Gao, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **2013**, 417, 201–210.
- (63) N. Negm, A. Abd-Elaal, D. E. Mohamed, A. El-Faragy and S. Mohamed, *J. Ind. Eng. Chem.*, **2015**, 21, 1051–1057.
- (64) S. M. Shaban, *J. Mol. Liq.*, **2016**, 216, 137–145.
- (65) P. Weschayanwivat, O. Kunanupap, J.F. Scamehorn, *Chemosphere* **2008**, 72, 1043-1048.
- (66) L. Zhu, L. Wang and Y. Xu, *Appl. Clay Sci.*, **2017**, 146, 35–42.
- (67) T. Owen and A. Butler, *Coord. Chem. Rev.*, **2011**, 255, 678–687.
- (68) S. K. Mehta, R. Kaur and G. R. Chaudhary, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **2012**, 403, 103–109.
- (69) N. A. J. M. Sommerdijk, K. J. Booy, A. M. A. Pistorius, M. C. Feiters, R. J. M. Nolte and B. Zwanenburg, *Langmuir*, **1999**, 15, 7008–7013.
- (70) A. Badarau and M. I. Page, *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.*, **2008**, 13, 919–928.
-

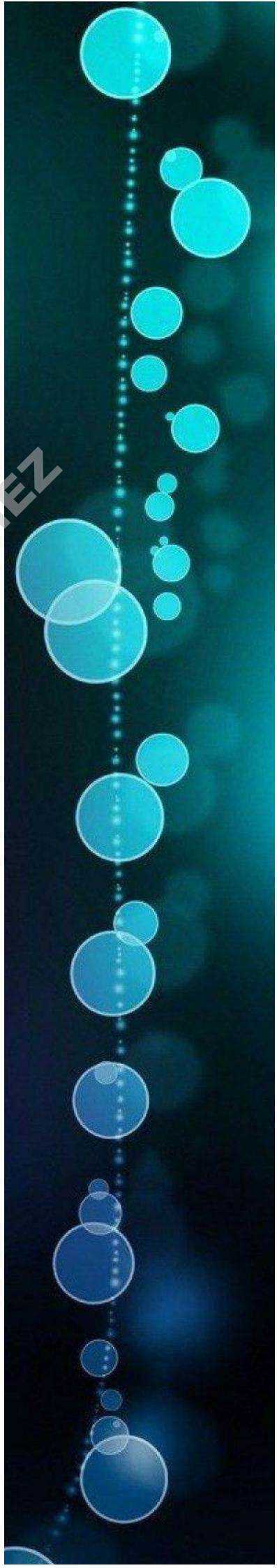
- (71) L. A. Abriata, L. J. González, L. I. Llarrull, P. E. Tomatis, W. K. Myers, A. L. Costello, D. L. Tierney and A. J. Vila, *Biochemistry (Mosc.)*, **2008**, 47, 8590–8599.
- (72) C. Bebrone, *Biochem. Pharmacol.*, **2007**, 74, 1686–1701.
- (73) J-S. You, X-Q. Yu, X-Y. Su, T. Wang, Q-X. Xiang, M. Yang and R-G. Xie, *J. Mol. Catal. Chem.* **2003**, 202, 17-22.
- (74) F. Mancin, L. Prins, P. Pengo, L. Pasquato, P. Tecilla and P. Scrimin, *Molecules* **2016**, 21, 1-18.
- (75) S. Bhattacharya and N. Kumari, *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253, 2133-2149.
- (76) G. W. Walker, R. J. Geue, A. M. Sargeson and C. A. Behm, *Dalton Trans.*, **2003**, 2992–3001.
- (77) K. Santhakumar, N. Kumaraguru, M. N. Arumugham and S. Arunachalam, *Polyhedron*, **2006**, 25, 1507–1513.
- (78) C. A. Behm, P. F. L. Boreham, I. I. Creaser, B. Korybutdaszkiewicz, D. J. Maddalena, A. M. Sargeson and G. M. Snowdon, *Aust. J. Chem.*, **1995**, 48, 1009–1030.
- (79) G. Kaur, P. Singh, S. K. Mehta, S. Kumar, N. Dilbaghi and G. R. Chaudhary, *Appl. Surf. Sci.*, **2017**, 404, 254–262.
- (80) S. M. Tawfik and H. H. Hefni, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2016**, 82, 562–572.
- (81) J. H. Fendler and E. J. Fendler, *Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems*, Academic Press, New York, **1975**.
- (82) D. W. Christianson and W. N. Lipscomb, *Acc. Chem. Res.*, **1989**, 22, 62–69.
- (83) E. L. Hegg, J. N. Burstyn, *Coord. Chem. Rev.* **1998**, 173, 133-165.
- (84) J. Ni, M. Kanai, In *Site-Selective Catalysis*; Kawabata, T., Ed.; Springer International Publishing: Cham, **2015**; Vol. 372, pp 103–123.
- (85) M. Akbarzadeh, Z. Moosavi-Movahedi, A. Shockravi, R. Jafari, K. Nazari, N. Sheibani and A. A. Moosavi-Movahedi, *J. Mol. Catal. Chem.*, **2016**, 424, 181–193.
- (86) Y. Liu, X-G. Meng, J-M. Li, X-M. Li, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* **2013**, 436, 839-845.
- (87) Y.-Y. Luk and N. L. Abbott, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2002**, 7, 267–275.
- (88) L. Shi, C. Miller, K. D. Caldwell and P. Valint, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **1999**, 15, 303–312.
- (89) D. Kitamoto, T. Morita, T. Fukuoka, M. Konishi and T. Imura, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **2009**, 14, 315–328.
- (90) C. McGregor, C. Perrin, M. Monck, P. Camilleri and A. J. Kirby, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 6215–6220.
- (91) P. Camilleri, A. Kremer, A. J. Edwards, K. H. Jennings, O. Jenkins, I. Marshall, W. Neville, S.Q. Rice, R. J. Smith, M. J. Wilkinson, C. McGregor and A. J. Kirby, *Chem. Commun.* **2000**, 14, 1253-1254.

- (92) J. Hoque, P. Akkapeddi, V. Yarlagadda, D. S. S. M Uppu, P. Kumar and J. Haldar, *Langmuir* **2012**, 28, 12225-12234.
- (93) C. Ghosh, G. B. Manjunath, P. Akkapeddi, V. Yarlagadda, J. Hoque, D. S. S. M. Uppu, M. M. Konai and J. Haldar, *J. Med. Chem.*, **2014**, 57, 1428–1436.
- (94) S. Zhang, S. Ding, J. Yu, X. Chen, Q. Lei and W. Fang, *Langmuir*, **2015**, 31, 12161–12169.
- (95) K. Nakata, T. Tsuchido and Y. Matsumura, *J. Appl. Microbiol.*, **2011**, 110, 568–579.
- (96) J. Hoque, M. M. Konai, S. Samaddar, S. Gonuguntala, G. B. Manjunath, C. Ghosh and J. Haldar, *Chem Commun*, **2015**, 51, 13670–13673.
- (97) B. Findlay, G. G. Zhanel and F. Schweizer, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2010**, 54, 4049–4058.
- (98) J. Haldar, P. Kondaiah, S. Bhattacharya, *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 3823-3831.
- (99) C. Zhou, D. Wang, M. Cao, Y. Chen, Z. Liu, C. Wu, H. Xu, S. Wang and Y. Wang, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, 8, 30811–30823.
- (100) W. Lee, Z.-H. Li, S. Vakulenko and S. Mobashery, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 128–132.
- (101) W. A. Velema, J. P. van der Berg, M. J. Hansen, W. Szymanski, A. J. M. Driessen and B. L. Feringa, *Nat. Chem.*, **2013**, 5, 924–928.
- (102) H. Bai, H. Yuan, C. Nie, B. Wang, F. Lv, L. Liu and S. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, 54, 13208–13213.
- (103) S. Ishikawa, Y. Matsumura, K. Katoh-Kubo and T. Tsuchido, *J. Appl. Microbiol.*, **2002**, 93, 302–309.
- (104) *Russell, Hugo & Ayliffes's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*, 5th Ed.; A. P. Fraise and A. D. Russell, Eds.; Wiley-Blackwell, Chichester, **2013**.
- (105) T. Tsuchido, A. Svarachorn, H. Soga and M. Takano, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, 34, 781-785.
- (106) T. Tsuchido, T. Hiraoka, M. Takano and I. Shibasaki, *J. Bacteriol.* **1985**, 162, 42-46.
- (107) L. A. Bjergbaek, J. A. J. Haagensen, S. Molin and P. Roslev, *J. Appl. Microbiol.*, **2008**, 105, 1310–1317.
- (108) A. Hošťacká, V. Majtán and D. Hybenová, *Folia Microbiol. (Praha)*, **1995**, 40, 283–287.
- (109) D. A. Salick, J. K. Kretsinger, D. J. Pochan and J.P. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 14793-14799.
- (110) J. A. Castillo, *J. Antimicrob. Chemother.* **2006**, 57, 691-698.
- (111) J. Coronel-León, A. Pinazo, L. Pérez, M. J. Espuny, A. M. Marques and A. Manresa, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **2017**, 149, 38–47.
- (112) S. M. Shaban, I. Aiad, M. M. El-Sukkary, E. A. Soliman and M. Y. El-Awady, *J. Ind. Eng. Chem.* **2014**, 20, 4194-4201.

Capítulo 2

*Síntesis y caracterización de los
agregados Gémini.*

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ



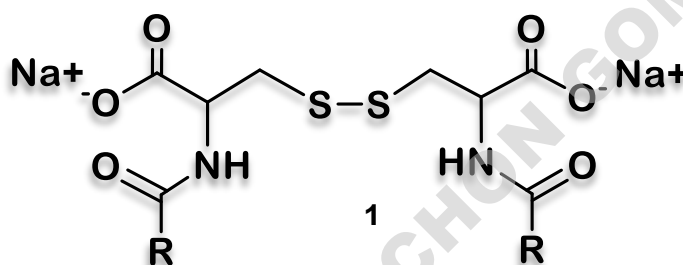
ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ÍNDICE

2.1. INTRODUCCIÓN.....	28
2.1.1. Determinación de la Concentración Micelar Crítica por la medición de Tensión Superficial.....	31
2.1.2. Determinación del Número de Agregación	33
2.1.3. Radio Hidrodinámico.....	34
2.2. OBJETIVO	38
2.3. RESULTADOS	38
2.3.1. Síntesis de Surfactantes Gémini.....	38
2.3.2. Caracterización Espectroscópica de los surfactantes gémini	39
2.3.2.1. Espectros de absorción en el Infrarrojo (IR)	39
2.3.2.2. Espectro de resonancia magnética nuclear (RMN)	41
2.3.2.3. Espectro de masas de alta resolución	43
2.3.3. Estudio de la agregación de los surfactantes Gémini	45
2.3.3.1. Concentración micelar crítica (CMC)	45
2.3.3.2. Número de agregación (N)	48
2.3.3.3. Determinación del tamaño y morfología de los agregados de los surfactantes gémini	50
2.3.3.4. Determinación de pKa de los surfactantes gémini.....	52
2.4. CONCLUSIONES	55
2.5. REFERENCIAS	56

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

En este capítulo se describirá la síntesis de compuestos con dos colas hidrofóbicas (**1**) utilizando como grupo espaciador el aminoácido cistina (dímero de la cisteína). Estas síntesis han sido llevadas a cabo a partir del aminoácido en presencia de la concentración adecuada del cloruro de ácido correspondiente para obtener la diamida. Para ello se utilizaron dos cloruros de ácido con distinto largo de cadena (10 y 12 átomos de carbono).



R: $-(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ con $n= 8$ y 10

Los productos obtenidos se purificaron por recristalización y se caracterizaron utilizando diferentes técnicas (espectroscopía de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C y espectrometría de masas).

Los agregados de estos surfactantes derivados de cistina con n igual a 8 y 10 han sido caracterizados determinando las concentraciones micelares críticas (CMC) y los números de agregación de estos sistemas, así como el tamaño y la morfología de los agregados.

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

2.1. INTRODUCCIÓN

Los surfactantes basados en α ó β aminoácidos pueden derivar de aminoácidos ácidos, básicos o neutros. Como materiales de partida se han utilizado aminoácidos tales como ácido glutámico, glicina, alanina, arginina, cisteína, ácido aspártico, serina, leucina, prolina e hidrolizados de proteínas, en síntesis de surfactantes basados en aminoácidos para ser usados tanto comercial como experimentalmente.¹ En la actualidad, este tipo de surfactantes se utilizan comercialmente en numerosas áreas, como son: los cosméticos (pasta de dientes, limpiadores de heridas, cuidado personal, champús, baños de burbujas y aerosoles), como agentes en la recuperación de petróleo, y como agentes reductores en la inhibición de la corrosión.² Además, se ha demostrado que los ésteres y amidas de aminoácidos tienen excelentes propiedades emulsionantes y fuertes propiedades antimicrobianas, lo que los convierte en una alternativa atractiva como aditivos alimentarios.³

En los últimos años ha crecido el interés por los surfactantes gémuni basados en aminoácidos, debido a sus excelentes propiedades en comparación con las de los surfactantes monoméricos convencionales.⁴⁻⁶ Las diferencias más notables de los surfactantes Gémuni son las menores concentraciones micelares críticas (CMC) y la mayor eficiencia en la disminución de la tensión superficial del agua que los correspondientes surfactantes monoméricos. Los surfactantes Gémuni más ampliamente estudiados son los compuestos de amonio cuaternario dicatiónicos, que se denominan $C_m-C_s-C_m$, donde m y s representan el número de átomos de carbono de la cadena de alquilo lateral y el espaciador de metileno, respectivamente.^{5,7,8} Muchos estudios han explorado la relación entre la estructura del surfactante y las propiedades micelares,⁹⁻¹³ con el objetivo de centrarse en la longitud del espaciador o su flexibilidad e hidrofobicidad. Aunque hay algunos trabajos sobre la síntesis de surfactantes Gémuni que contienen enlaces disulfuro, las investigaciones sobre este grupo funcional introducido en el espaciador es todavía poco frecuente.^{14,15}

Es bien conocido que las propiedades fisicoquímicas de los surfactantes en la superficie difieren de aquellas moléculas más pequeñas o no anfipáticas en un aspecto importante, las propiedades varían notablemente por encima y por debajo de una concentración específica de tensioactivo,¹⁶ indicando la formación de agregados, (véase la figura 2.1). En esta figura se presentan varias propiedades físicas (turbidez, solubilidad, auto-difusión, tensión superficial) en función de la concentración del surfactante. A bajas concentraciones, las propiedades son las que corresponden al monómero y en general se mantienen constantes. Una excepción es la tensión superficial, que disminuye rápidamente con el aumento de la concentración de tensioactivos. Sin embargo, muchas propiedades muestran un cambio abrupto a una concentración particular que concuerda con el hecho de que, por encima de esta concentración, los iones en la superficie o moléculas en solución se asocian para formar unidades más grandes. Estas unidades asociadas se denominan micelas (estructuras autoensambladas), y los primeros agregados formados son generalmente de forma casi esférica.¹⁷

En general, para determinar la CMC se evalúa cómo cambia una propiedad físico-química del sistema o de alguna molécula que se agregue al mismo (conocida como molécula prueba o sonda) con la concentración.¹⁸ El valor de la CMC es el parámetro más utilizado para caracterizar un surfactante, ya que por encima de ella es donde se encuentran la mayoría de las propiedades más útiles en las aplicaciones de los detergentes.

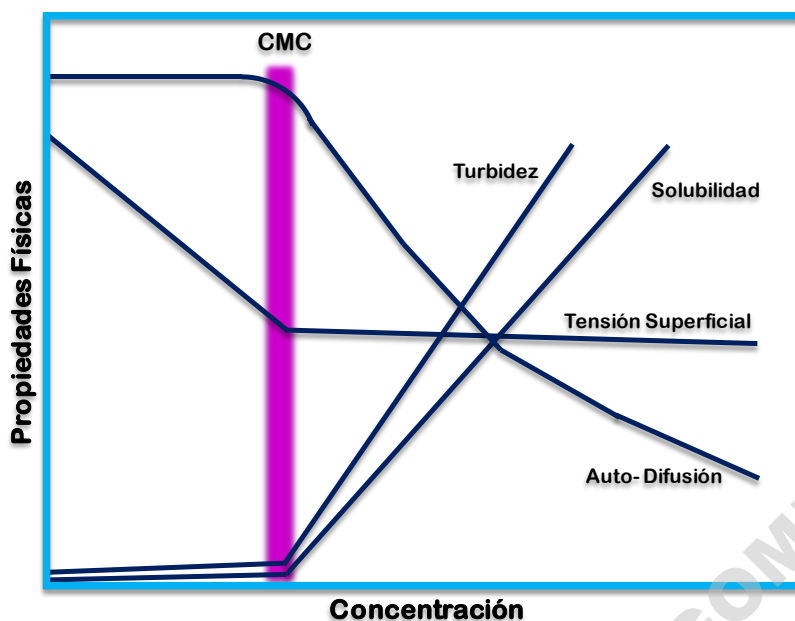


Figura 2.1. Representación esquemática de los cambios en diferentes propiedades físicas de los surfactantes en función de la concentración, para determinar la CMC. Adaptado de referencia ¹⁹

La determinación de la CMC para los sistemas estudiados en este trabajo se realizó mediante medidas de tensión superficial γ , y, además, se realizaron determinaciones de tamaño y número de agregación de los sistemas. El tamaño de las micelas se determinó por su radio hidrodinámico, a partir de medidas de difusión. En los últimos años se ha estudiado la difusión no sólo de agregados sino también de otros sistemas supramoleculares mediante RMN de Alta Resolución, particularmente mediante la técnica de DOSY (*Diffusion Ordered Spectroscopy*).²⁰

Por otro lado, la determinación del número de agregación de un sistema micelar se puede realizar mediante medidas de atenuación (*quenching*) de Fluorescencia.^{21,22}

A continuación, se procederá a detallar cada una de las técnicas mencionadas, describiendo las sondas y condiciones utilizadas durante este trabajo de tesis.

2.1.1. Determinación de la Concentración Micelar Crítica por la medición de Tensión Superficial

Dado que la tensión superficial, γ , de un líquido está determinada por la energía de las moléculas en la región interfacial, el desplazamiento de las moléculas superficiales por el soluto adsorbido afectará directamente al valor medido. Es conocido que los surfactantes pueden cambiar significativamente las propiedades de interfase y su adhesión a la interfase produce una disminución de la tensión superficial.¹⁶ Esto se debe principalmente a que, las moléculas del surfactante al adsorberse en la superficie, reducen las interacciones entre las moléculas de agua, por lo que se necesita menos energía para romper la superficie. Mientras más moléculas de surfactante se adsorben en la superficie, menor es el valor de γ . Una vez que la concentración de surfactante supera la CMC del mismo, todas las moléculas que se agreguen ya no se adsorben en la superficie, sino que se incorporan a los agregados que se van formando. Este comportamiento se ve reflejado en el hecho que γ permanece prácticamente constante, y en su valor mínimo. El valor de la CMC se determina a partir de la intersección de las dos rectas que se definen en el gráfico de γ en función del logaritmo de la concentración de surfactante, figura 2.2.¹⁶

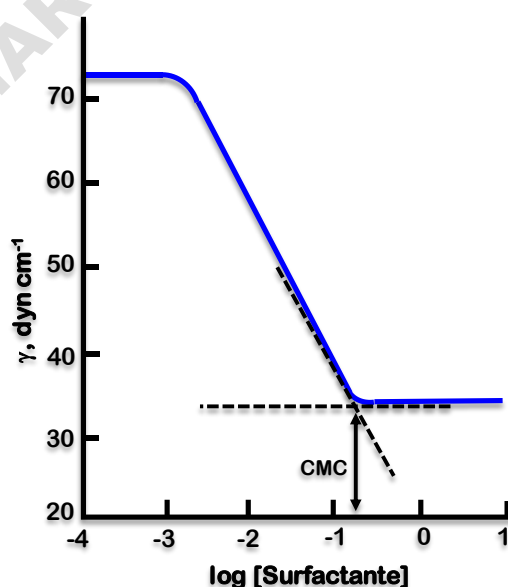


Figura 2.2. Gráfico teórico de tensión superficial en función de la concentración de surfactante.¹⁶

Para establecer el rendimiento de los surfactantes en la disminución de la tensión superficial de una solución, es necesario considerar dos aspectos del proceso: (1) la concentración del surfactante en la fase acuosa, requerida para producir una reducción de tensión superficial dada y (2) la máxima reducción de la tensión superficial que puede obtenerse, independientemente de la concentración de surfactante presente. Estos dos efectos pueden definirse de manera convencional de la siguiente manera: la “*eficiencia*” del surfactante es la concentración que se requiere para lograr una reducción de tensión superficial, por ejemplo, de 20 mN m^{-1} , y su “*eficacia*” es la reducción máxima de γ que puede obtenerse mediante la adición de cualquier surfactante (γ_{\min}).

Por otro lado, la determinación de la *eficacia* es quizás un poco menos arbitraria debido a que no se elige un valor γ sino que se considera el γ_{\min} . Dicho valor va a estar determinado por uno de dos factores: (1) el límite de solubilidad o la temperatura de Krafft (T_k) del compuesto, y (2) la CMC. En ambos casos, se alcanza la máxima cantidad posible de surfactante adsorbido en la superficie, a la máxima concentración de surfactante libre en la fase acuosa. Este valor puede determinarse gráficamente, ya que corresponde a la porción del gráfico donde γ se mantiene constante o, lo que es equivalente, la pendiente es nula.¹⁸

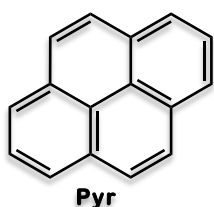
A menudo se observa que la *eficacia* y la *eficiencia* de los surfactantes no son paralelas; de hecho, se observa comúnmente que los surfactantes que originan una reducción significativa de la tensión superficial a concentraciones bajas (es decir, son más eficientes) son menos eficaces. Esto se debe a la compleja relación entre la adsorción en la interfase y la formación de micelas en la solución.¹⁶

La *eficiencia* de los tensioactivos está relacionada con el grado de adsorción a la superficie en función de la concentración del surfactante. A una concentración muy por debajo de donde la micelización se convierte en un elemento determinante, la *eficiencia* puede estar estructuralmente relacionada con la hidrofobicidad de la cola del surfactante y la naturaleza de la cabeza polar. Mientras que el papel de la estructura molecular en la determinación de la *eficacia* del tensioactivo es principalmente termodinámico, su papel en la *eficacia*

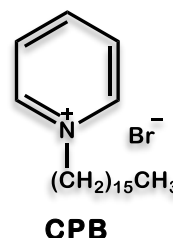
esta mas directamente relacionado con el tamaño de las partes hidrofóbicas e hidrofílicas de las moléculas de absorción.

2.1.2. Determinación del Número de Agregación

El número de agregación de un surfactante (**M**) es el número promedio de moléculas que constituyen un agregado. Debido a que el tamaño de la micela es muy sensible a factores internos (tipo de cabeza polar, estructura hidrofóbica, etc.) y factores externos (temperatura, pH, etc.), los valores determinados siempre son aproximados. Según los casos, los



valores pueden oscilar entre 5 - 20, para micelas muy pequeñas, hasta varios cientos para micelas muy grandes.^{23,24} Existen varias técnicas para la determinación del número de agregación, entre



ellas se puede mencionar la atenuación o *quenching* de fluorescencia, que fue empleada en este trabajo, utilizando como sonda pireno (**Pyr**), y como “*quencher*” bromuro de cetilpiridinio (**CPB**).

Este método se basa en la desactivación de la fluorescencia de una sonda luminiscente mediante un atenuador hidrofóbico, y el posterior registro de la intensidad de emisión de la sonda fluorescente totalmente incorporada en las micelas, a la cual se le agrega una concentración conocida de “*quencher*”, Q, el cual debe ser seleccionado de modo que sólo se encuentre en la fase micelar y no en el agua, de manera que éste se distribuya al azar en las micelas disponibles. La molécula luminiscente o fluoróforo (sonda fluorescente) que también se asociará con las micelas, se va a particionar en micelas con y sin Q. Si la sonda sólo fluoresce en ausencia del “*quencher*”, entonces el cociente de intensidades se puede expresar como en la ecuación 2.1:²¹

$$I/I_0 = \exp(-[Q]/[M])$$

2.1

Donde I es la Intensidad fluorescencia en presencia de quencher e I_0 es la Intensidad de fluorescencia en ausencia de quencher.

Por otro lado, la concentración de micelas, $[M]$, puede expresarse como en la ecuación 2.2.

$$[M] = \frac{[S] - [\text{Monómero libre}]}{N} \quad 2.2$$

Donde $[S]$ es la concentración total de surfactante, $[\text{Monómero libre}]$ puede aproximarse a la CMC y N es el número de agregación. Combinando las ecuaciones 2.1 y 2.2 y reordenando se obtiene la ecuación 2.3

$$\ln(I_0/I) = \frac{[Q]N}{[S] - CMC} \quad 2.3$$

Así graficando $\ln(I_0/I)$ en función de la concentración de “quencher”, a una concentración de surfactante y fluoróforo constante, se obtiene una recta de cuya pendiente se puede calcular N .

2.1.3. Radio Hidrodinámico

El tamaño de las micelas se puede caracterizar mediante medidas de radio hidrodinámico, r . Si se consideran las micelas como esferas hidrodinámicamente equivalentes, el radio hidrodinámico se puede determinar a partir del coeficiente de difusión (D), utilizando la ecuación de Stokes-Einstein (ecuación 2.4):²⁵

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} \quad 2.4$$

Donde k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura absoluta, r es el radio hidrodinámico y η es la viscosidad del medio (en este caso agua ya que la concentración de surfactante no afecta la viscosidad del medio).

Esto demuestra que el coeficiente de difusión está inversamente relacionado con el tamaño (radio) de la especie difusora (esfera), como se podría esperar; es decir, las moléculas o complejos más grandes tenderán a presentar coeficientes de difusión más pequeños.

La autodifusión surge del movimiento aleatorio de las moléculas (o sus complejos) impulsado por la energía térmica del sistema y puede caracterizarse cuantitativamente por el denominado coeficiente de difusión, (D).²⁰ Es posible que la caracterización de las velocidades de difusión de moléculas o de sus complejos se relacione intuitivamente, entre otras cosas, con su tamaño y forma, por lo tanto, proporciona una visión diferente, y a menudo complementaria, de las estructuras moleculares y su comportamiento en solución.

También se pueden utilizar diferentes velocidades de desplazamiento como base para la separación de los espectros de mezclas de compuestos en solución, este procedimiento que a menudo se realiza con una de las técnicas espectroscópicas más modernas y utilizadas para esto es RMN- PGSE (Pulsed Field Gradient Spin- Echo) dentro de las cuales se encuentra la técnica de DOSY (*Diffusion Ordered Spectroscopy*).^{26,27}

En la figura 2.3 a se encuentra representada la secuencia de pulsos utilizada en los experimentos. En dicha secuencia se aplican, al igual que una secuencia básica, dos pulsos: primero uno de 90° y luego uno de 180° (figura 2.3 a). Si sólo se aplicarían dichos pulsos, ocurriría un completo reenfoque de la señal debido a que el campo local que censa el núcleo en ambos pulsos sería el mismo, y solo se vería atenuado por la relajación transversal. Sin embargo, luego de cada pulso se aplica un gradiente de campo en la misma dirección que el campo magnético B_0 (en el eje z en general) con el que se marca la molécula en función de su posición en el espacio. Así, para que exista completo reenfoque la molécula debería permanecer en la misma posición durante los dos pulsos de gradiente, lo cual no ocurre debido a que difunde. La atenuación que se observa en este caso es proporcional a la distancia que recorrió la molécula durante el tiempo de difusión (ΔD), y dicha distancia a su vez depende del coeficiente de difusión. Este efecto se representa en la figura 2.3 b y c. Mientras más lejos se desplace la

molécula, más atenuada resultará su señal debido a que la diferencia en el campo local será mayor.²⁸

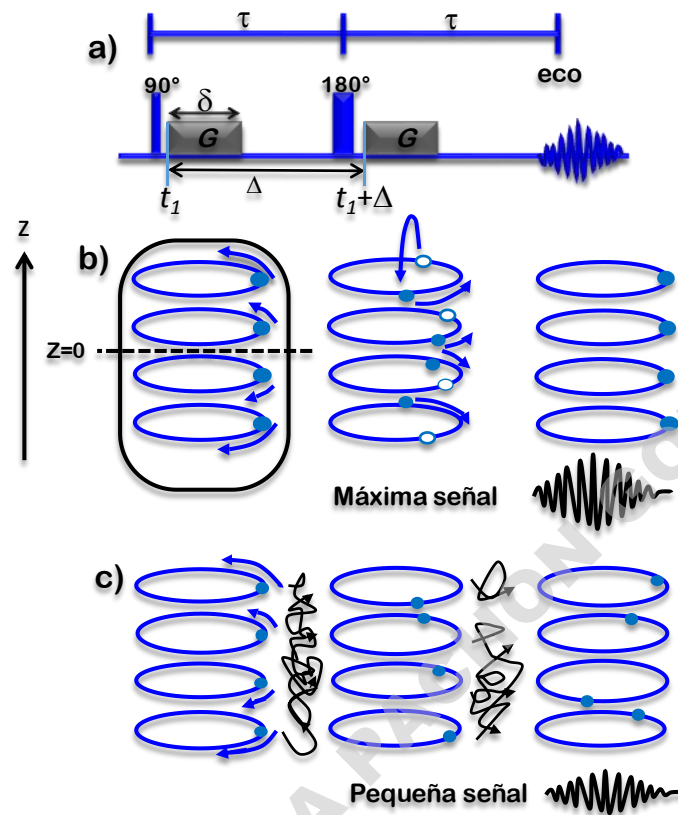


Figura 2.3. a) Secuencia de pulsos PGSE, G es la amplitud del gradiente pulsado, δ su duración, y Δ la separación entre los bordes principales de los gradientes pulsados. También se muestra el efecto de la ausencia (b) y presencia (c) de difusión en el desplazamiento de fase y la intensidad de la señal en un experimento PGSE.²⁹

Para caracterizar las velocidades de difusión, se pueden modificar, o bien los tiempos de difusión y duración de pulso (Δ_D y δ_p respectivamente), o la fuerza del gradiente G . En la práctica se buscan los tiempos óptimos a G fijo y una vez encontrados estos tiempos se los mantiene constantes y se varía sólo G .³⁰ La intensidad observada para una dada señal se expresa como la ecuación 2.5:

$$I' = I'_0 \exp - (\gamma_N \delta_p G)^2 D \left(\Delta_D - \frac{\delta_p}{3} \right)$$

2.5

Donde I'_0 es la intensidad en ausencia de gradiente, γ_N es la constante giromagnética del núcleo (que se encuentra tabulada), D es el coeficiente de auto-difusión y δ_p y Δ_D son los tiempos previamente mencionados. Así, una vez realizado el experimento se grafica I' en función de G y se ajustan los valores experimentales con la ecuación 2.5 para determinar D . Luego se utiliza el valor del coeficiente de auto-difusión así determinado en la ecuación 2.4 para determinar el tamaño de los agregados.

Con esta técnica se obtienen espectros “pseudo” -2D con un eje representando los corrimientos químicos y el otro los coeficientes de difusión. Así, moléculas con diferentes D , es decir de diferente tamaño, van a aparecer en diferentes zonas del espectro.

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

2.2. OBJETIVO

- ⌘ Sintetizar surfactantes gémuni derivados de fuentes naturales y renovables (aminoácidos y ácidos grasos) y determinar sus propiedades de agregación.

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Síntesis de Surfactantes Gémuni

Se realizó la síntesis de los surfactantes gémuni derivados del aminoácido cisteína y de ácidos grasos de diferente largo de cadena (10 y 12) carbonos. Las síntesis se llevaron a cabo siguiendo el procedimiento descrito en la literatura,¹⁵ a partir de cistina (dímero de la cisteína) y de los correspondientes cloruros de ácidos, como se observa en la figura 2.4. Para encontrar las mejores condiciones de reacción se realizaron algunas variaciones en las mismas, las cuales se muestran en la tabla 2.1. Las condiciones donde se obtuvo el mejor rendimiento (92% para SDLC y 90% para SDDC) (detallado en el capítulo 5) se encuentran resaltadas en negrita y corresponden a una relación cloruro/ cistina de 3:1, temperatura de 13°C y tiempo de reacción de 48 horas.

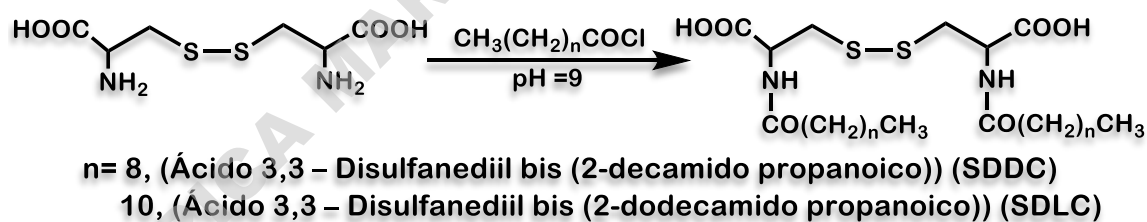


Figura 2.4. Esquema de síntesis de SDDC y SDLC

Tala. 2.1. Variaciones de condiciones de síntesis del surfactante gémuni SDLC.

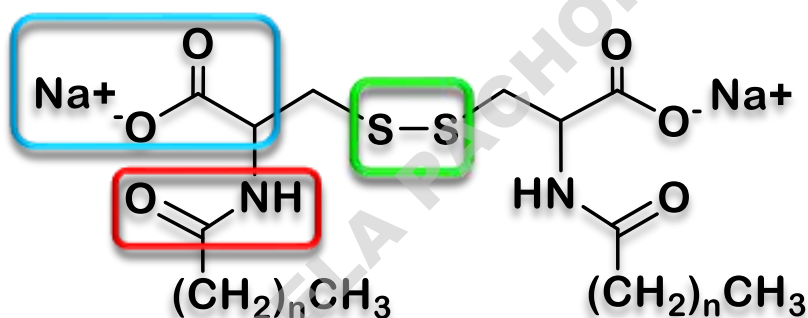
N°	T (°C)	Cloruro/Cisteína	T (horas)	Rendimiento
1	14°C	3:1	5	35%
2	T. Ambiente	3:1	5	0%
3	13°C	4:1	72	68%
4	13°C	3:1	48	92%

2.3.2. Caracterización Espectroscópica de los surfactantes gémini

Los surfactantes gémini sintetizados fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas como IR, RMN- ^1H y ^{13}C y por espectrometría de masas de alta resolución.

2.3.2.1. Espectros de absorción en el Infrarrojo (IR)

La estructura del producto de síntesis se representa en la figura 2.5, donde se destacan los grupos funcionales, que generan las principales señales.



$n = 8$, (Ácido 3,3 – Disulfanediil bis (2-decamido propanoico)) (SDDC)
 $n = 10$, (Ácido 3,3 – Disulfanediil bis (2-dodecamido propanoico)) (SDLC)

Figura. 2.5. Grupos funcionales que dan origen a las principales señales en el IR

El cuadrado rojo señala el enlace amida, que se presenta únicamente en el producto, el cuadrado azul envuelve al grupo carboxilato y por último el cuadrado verde envuelve el puente disulfuro. Estos dos últimos grupos están presentes tanto en el producto de la síntesis como en la cistina.

En la figura 2.6 se muestran los espectros de IR de Cloruro láurico, L-cistina y del surfactante SDLC, mostrando las variaciones en las señales observadas en el producto de la síntesis.

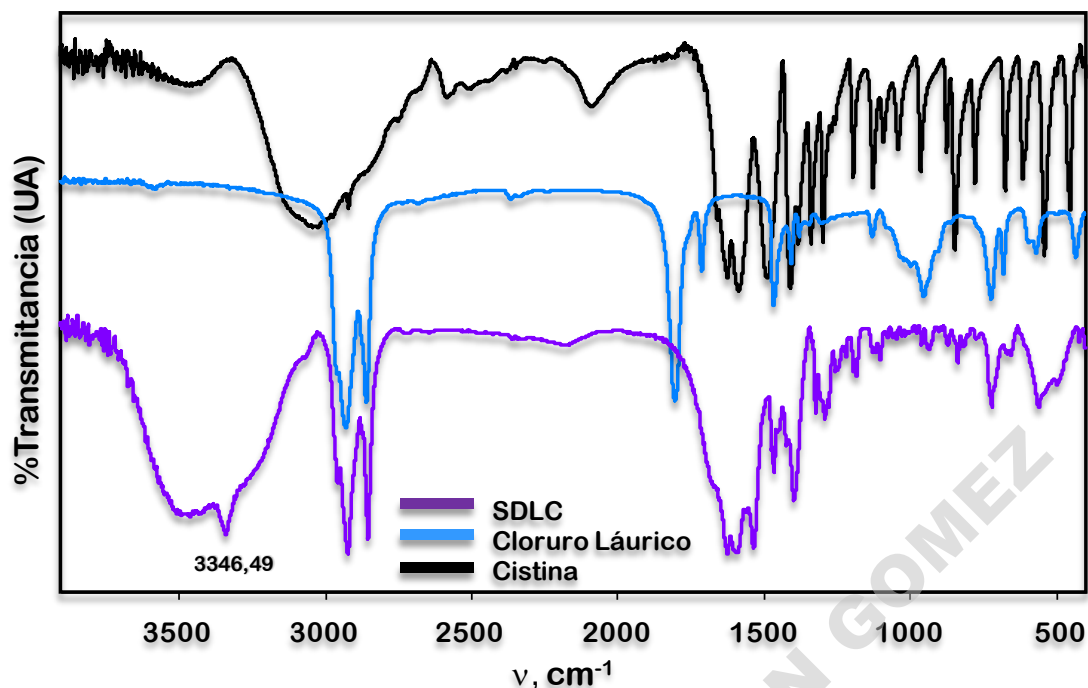


Figura 2.6. Espectros de IR del SDLC, Cloruro láurico y L-cistina

La presencia del producto está evidenciada por la presencia de una señal correspondiente al enlace amida de tipo secundario. En el espectro morado en la figura 2.6, se observa una banda a $3346,49 \text{ cm}^{-1}$ que corresponde a la vibración del enlace N-H para una amida secundaria.

Por otra parte, se encuentran las bandas correspondientes a la cadena alquílica en la región de $3000\text{-}2750 \text{ cm}^{-1}$ que aparecen en los espectros morado (SDLC) y celeste (Cloruro láurico). Además, pueden observarse dos bandas a $1588,49 \text{ cm}^{-1}$ y $1343,46 \text{ cm}^{-1}$, que corresponden al alargamiento asimétrico del carbonilo del resto carboxilato (similar a lo encontrado en la cistina); igualmente, encontramos dos bandas a $1621,04 \text{ cm}^{-1}$ y $1528,25 \text{ cm}^{-1}$, una de ellas corresponde a la vibración del alargamiento simétrico del carbonilo de la amida y la otra corresponde a la flexión N-H y el alargamiento C-N del grupo NHC=O .

El estiramiento del enlace S-S debería aparecer entre $500\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$, pero el equipo no tiene definición en esta zona, por eso dicha banda no se observa claramente en esa región.

En el espectro de SDLC, la banda correspondiente a la vibración del enlace N-H para una amina primaria que aparece a 3200 cm^{-1} no está presente. (todas las señales se encuentran detalladas en el anexo A.1)

Estos hechos indicarían que la reacción entre la L-cistina y los correspondientes cloruros de ácido fue exitosa.

El espectro IR para el otro compuesto sintetizado, SDDC, es muy similar (ver anexo A.1 figura A1).

2.3.2.2. Espectro de resonancia magnética nuclear (RMN)

Los productos de síntesis fueron analizados por RMN ^1H y ^{13}C , y además contrastados con los datos de literatura.¹⁵

En la figura 2.7 se muestran los espectros de RMN del Cloruro láurico, la L-cistina y el surfactante SDLC, donde se asignan las señales obtenidas a la estructura del surfactante gemini.

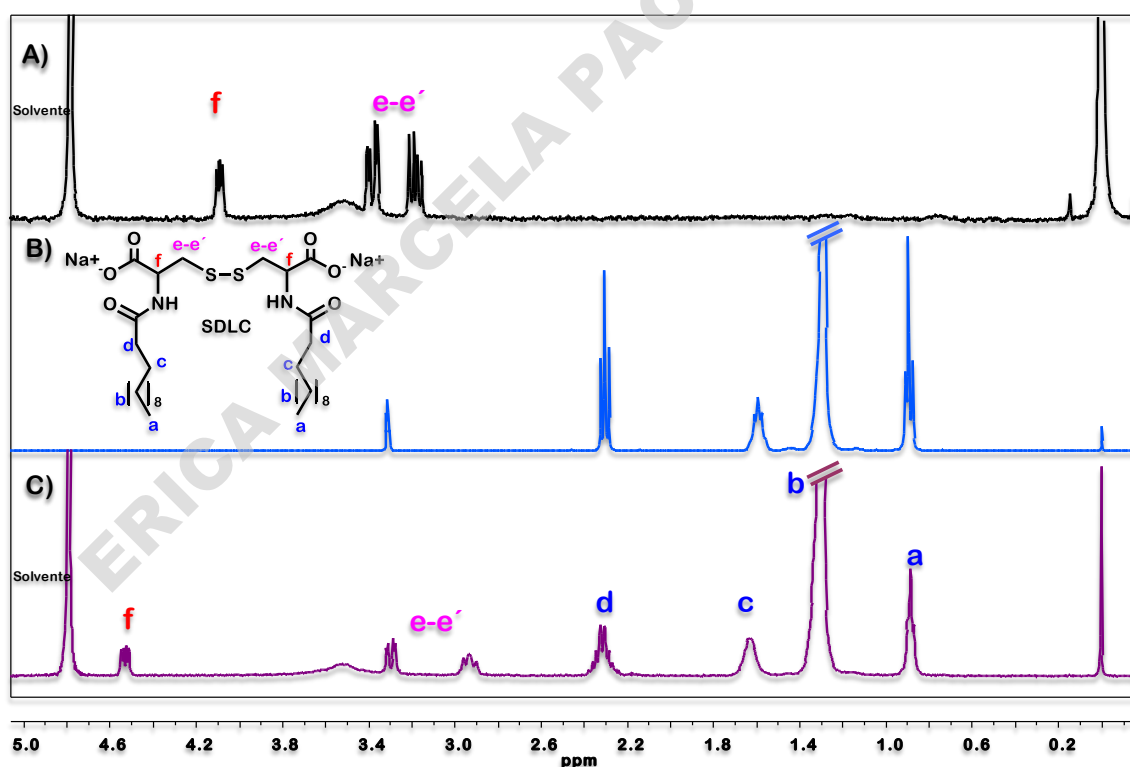


Figura 2.7. Espectro de RMN ^1H de (A) L-cistina, (B) Cloruro láurico y (C) SDLC (400 MHz en D_2O)

Cada protón no equivalente fue asignado con una letra minúscula impresa.

La diferencia entre los espectros de la L- cistina, el Cloruro láurico y el SDLC son apreciables. En el espectro de SDLC se observan señales que evidencian la formación del enlace amida como el multiplete a 4,52 ppm producido por el protón *f* (figura 2.7), que está corrido con respecto a la cistina alrededor de 0,44 ppm a campos más bajos, y el corrimiento de los protones *e-e'*, a 2,93 ppm y 3,30 ppm que corresponden a los protones diasterotópicos unidos al puente disulfuro. Además, en el espectro del SDLC no se observan señales de cistina. Por otro lado se observan las señales correspondientes a la incorporación de la cadena alquílica entre 0,88 ppm hasta 2,32 ppm.

El espectro de SDDC es similar al que analizamos para este surfactante gémuni (ver anexo A.1 figura A2).

En la figura 2.8 se muestran los espectros de RMN ^{13}C del SDLC y L-cistina, donde se asignan las señales obtenidas a la estructura del surfactante gémuni. Cada carbono equivalente fue asignado con una letra minúscula impresa.

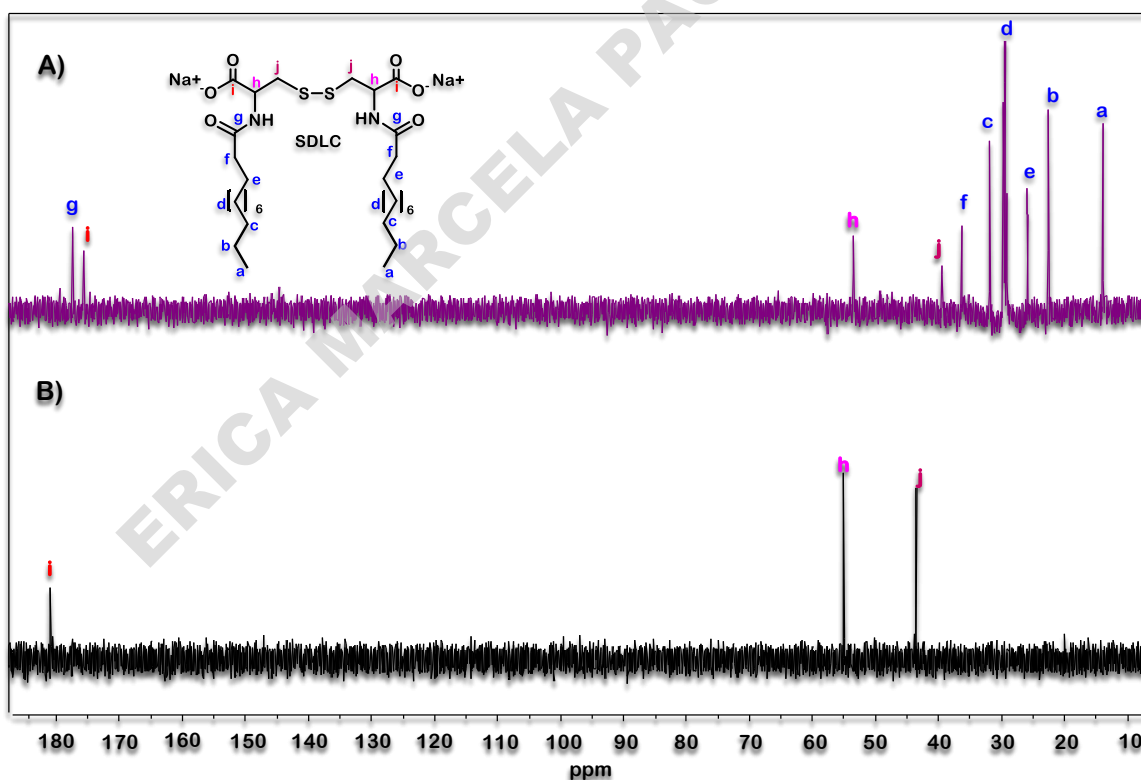


Figura 2.8. Espectro de RMN ^{13}C de: A) SDLC y B) L-cistina
(100 MHz en D_2O)

Las diferencias entre los espectros son apreciables. En el espectro de SDLC se observan las señales del carbono de los carbonilos del grupo amida **g** y del carboxilato **i**. Los carbonos de la cadena alquílica **a**, **b**, **c**, **d**, **e** y **f** están ausentes en la cistina (figura 2.8), y, por otro lado, el carbono unido al enlace amida **h**, presenta un leve corrimiento con respecto al producto de partida.

Además, se observa un corrimiento de 3,86 ppm a campos más altos en el carbono **j** unido al puente disulfuro con respecto al espectro de la L-cistina (figura 2.8).

El espectro de SDDC es similar al de SDLC (ver anexos A.1 figura A 2).

2.3.2.3. Espectro de masas de alta resolución

Debido a que las muestras (SDDC y SDLC) son térmicamente inestables y no son volátiles, se utilizó un método de ionización por desorción, que proporciona espectros simples por la escasa fragmentación y que consisten a menudo solo en el ion molecular +1 protón.

El espectro de masas de un compuesto puro proporciona diversos tipos de datos que son útiles para su identificación. Uno de ellos es el peso molecular (figura 2.9).

Como se observa en el espectro (A) para SDLC, el pico de mayor intensidad, ion $m/z = 671,3101$, corresponde a la sumatoria de la masa molecular del surfactante (SDLC) más un Na^+ ; el pico cuyo valor se encuentra subrayado corresponde al ion $m/z = 649,3282$ que indica el ion molecular del surfactante gémini SDLC + 1 protón. En el espectro (B), el ion $m/z = 593,397$, que corresponde al ion molecular +1 protón para el surfactante gémini SDDC, es el ion de mayor intensidad.

La espectrometría de masas de alta resolución permitió identificar los productos de síntesis que corresponden a los surfactantes gémini propuestos.

El análisis de los productos por las diferentes técnicas utilizadas, nos indica que las muestras se encuentran puras, y de esta manera se corrobora que el método de purificación (descrito en el capítulo 5) resultó eficiente.

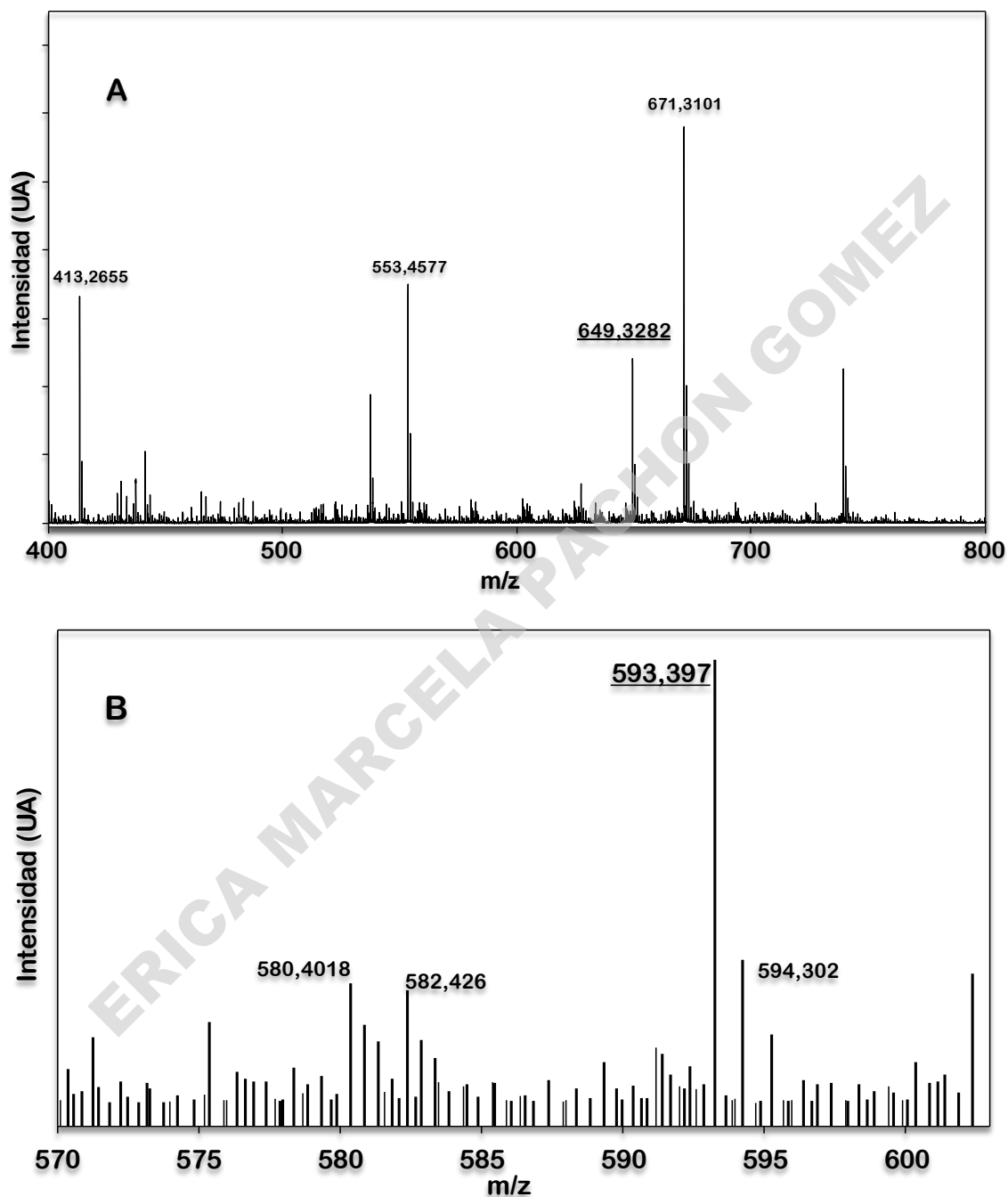


Figura 2.9. Espectro de masas de los surfactantes gémini:

A) SDLC y B) SDDC

2.3.3. Estudio de la agregación de los surfactantes Gémini

2.3.3.1. Concentración micelar crítica (CMC)

La CMC de los surfactantes sintetizados se determinó por tensión superficial. Las medidas de tensión superficial se realizaron a diferentes pHs, para evaluar el efecto de las distintas especies iónicas del surfactante sobre la agregación. Las medidas se llevaron a cabo a diferentes temperaturas para ambos surfactantes de manera de estar en ambos casos a mayor temperatura que sus respectivas temperaturas de Kraft.¹⁵

En la tabla 2.2 se muestran los valores determinados a diferentes pH y en la figura 2.10 puede verse el cambio de la tensión superficial versus el logaritmo de la concentración del SDDC a pH 9 (anexos A.2 figura A 3).

Tabla.2.2 Valores de CMC (10^{-4} M) y de γ_{\min} , determinados para el SDLC y SDDC a diferentes pH.^a

SURFACTANTE	pH 7		pH 9		pH 12	
	CMC, 10^{-4} M	γ_{\min} (mN/m)	CMC, 10^{-4} M	γ_{\min} (mN/m)	CMC, 10^{-4} M	γ_{\min} (mN/m)
SDDC (30°C)^b	2,8 ± 0,3	44,31	3,5 ± 0,3	44,46	3,0 ± 0,1	43,97
SDLC (40°C)^b	0,09 ± 0,01	40,96	0,06 ± 0,02	41,10	0,09 ± 0,02	41,90

^a γ_{\min} se define como el valor mínimo de adición de cualquier surfactante.

^b El valor entre paréntesis corresponde a la temperatura de trabajo.

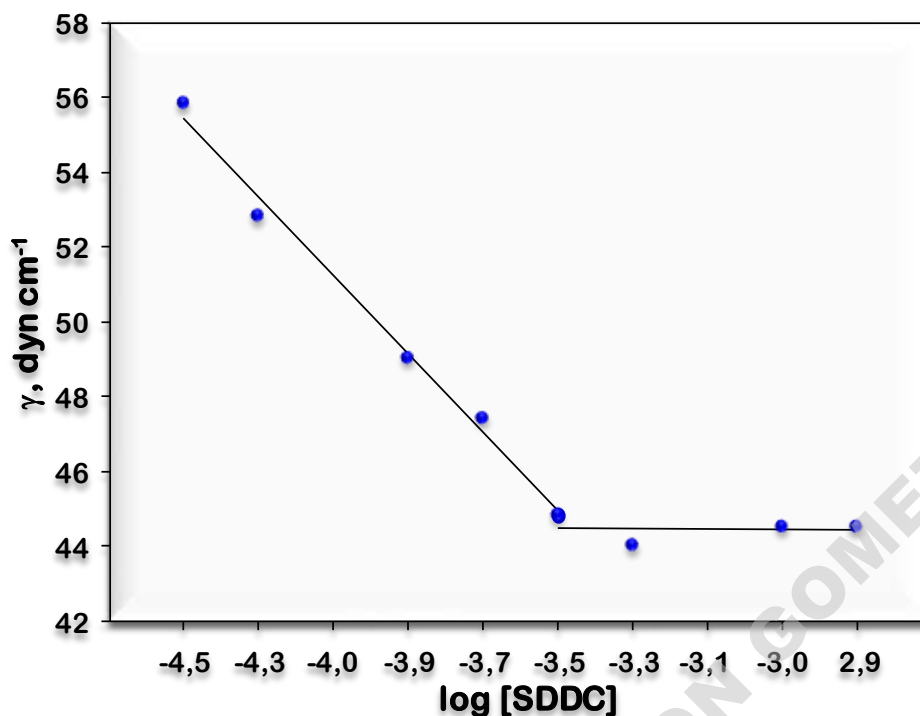


Figura 2.10. Gráfico de los valores de tensión superficial en función de la concentración total de surfactante SDDC, T = (30,0 ± 0,1) °C, pH 9.

De la tabla 2.2 se observa que la CMC del surfactante de cadena más larga es menor que la de SDDC. Un incremento de dos carbonos en la cadena alquílica produce una disminución de más de 30 veces en la CMC, además una disminución del γ_{\min} de 3,36 indicando que el SDLC es más eficiente.³¹ A modo de comparación con sistemas de una sola cadena hidrofóbica se midieron las CMC de los ácidos grasos con 10 y 12 átomos de cadena; decanoato de sodio (DS) y laurato de sodio (LS) respectivamente, donde se observó una disminución de solo 7,78 veces en la CMC, teniendo en cuenta que estos surfactantes presentan la misma diferencia de dos carbonos en la cadena alquílica.

Por otra parte, las CMC de los surfactantes gémuni son considerablemente más bajas que las de los ácidos grasos correspondientes. En el caso del gémuni de 10 carbonos, la disminución de la CMC es de 194 veces con respecto al ácido graso de igual cadena; en tanto que, con el SDLC, la CMC es 1550 veces menor a la de laurato de sodio, estos valores comparativos se pueden observar en la tabla 2.3. Es evidente que la presencia de 2 cadenas hidrocarbonadas en el surfactante gémuni le confiere una mayor capacidad de agregación que a un compuesto de una sola cadena del mismo largo.³²

Tabla 2.3. Valores comparativos de CMC de surfactantes gémini y ácidos grasos

SURFACTANTE	CMC, 10^{-4} M
Decanoato de Sodio ^a	680 ± 26
SDDC ^a	3,5 ± 0,3
Laurato de Sodio ^b	87 ± 23
SDLC ^b	0,06 ± 0,02

^aT= (30,0 ± 0,1) °C ; Buffer Bórax pH=9,0.

^bT= (40,0 ± 0,1) °C ; Buffer Bórax pH= 9,0.

Por otro lado, se ha descrito que los surfactantes sintetizados a base de aminoácidos presentan una disminución en la CMC con respecto a los surfactantes convencionales, por la alta tendencia de estas moléculas de ser adsorbidas en la interfase aire-agua.³³ Así mismo, se describe que los enlaces amida presentes en un surfactante, tienen el potencial de interactuar fuertemente mediante la asociación por puente hidrógeno, lo cual favorece la formación de micelas disminuyendo así la CMC.

Faustino y colaboradores,³² sintetizaron surfactantes gémini y monoméricos a base de un aminoácido (Cistina), encontrando en el caso de los gémini, que la superficie ocupada por molécula de tensioactivo es mucho menor que en el caso de los surfactantes monoméricos, lo que indicaría que éstos se agrupan más estrechamente en la interfase debido a las interacciones hidrofóbicas que resultan del espaciador que une a las cabezas polares.

2.3.3.2. Número de agregación (N)

El número de agregación de las micelas se determinó mediante “*quenching*” o atenuación de fluorescencia de pireno (**Pyr**). Para ello las intensidades de fluorescencia de **Pyr**, en ausencia y presencia de “*quencher*” (I_0 e I respectivamente) se ajustaron a la ecuación 2.3.

Así, graficando $\ln(I_0/I)$ en función de la concentración de *quencher*, a concentración de surfactante y fluoróforo constante, se obtiene una recta de cuya pendiente se puede obtener N , como se puede observar en la figura 2.11.

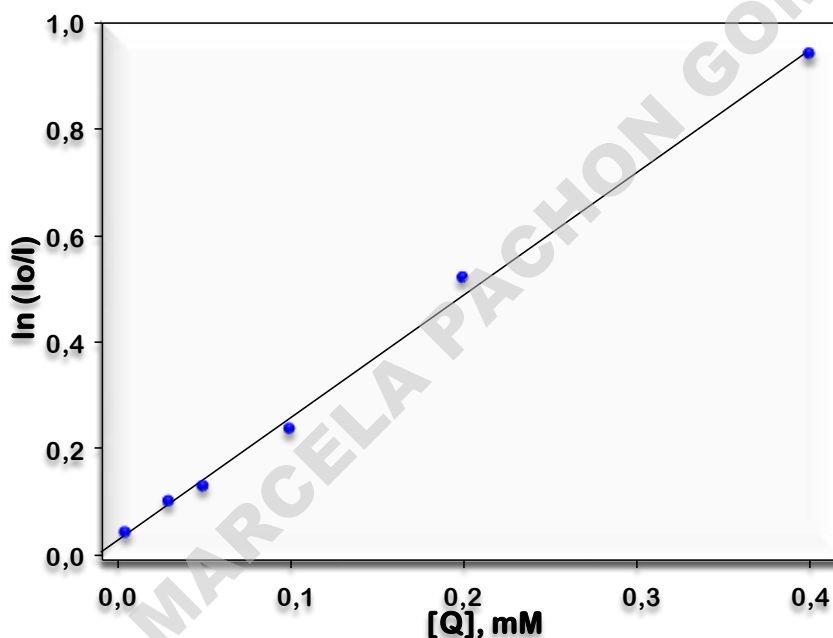


Figura 2.11. Gráfico de $\ln(I_0/I)$ en función de la concentración de *quencher* para el SDDC a pH 9,15, $T = (30,0 \pm 0,1)$ °C. $[\text{Pyr}] = 0,002$ mM, $[\text{SDDC}] = 5$ mM.

$$\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm. } \lambda_{\text{em}} = 392 \text{ nm.}$$

Es conocido que **Pyr** es una sonda muy sensible a pequeños cambios en el microambiente,^{34,35} por lo que es capaz de interactuar con agregados micelares. Las micelas ejercen un efecto protector separando la sonda y el *quencher* y, por ende, disminuyendo el efecto atenuador del bromuro de cetilpiridinio (**CPB**).²¹

Los valores de N obtenidos a partir de la porción lineal del gráfico se detallan en la tabla 2.4. Estos valores corresponden a los agregados de los surfactantes gémini (SDDC y SDLC) a diferentes pH.

En la tabla 2.4 puede verse que los números de agregación promedio del SDDC y SDLC obtenidos a diferentes pH se encuentran dentro de los valores observados para otros sistemas micelares formados por surfactantes aniónicos monoméricos, los cuales suelen variar entre 5 y 130 para micelas esféricas.^{16,24,36}

Tabla 2.4. Números de agregación promedio y radios hidrodinámicos obtenidos para SDDC y SDLC a diferentes pH.

Surfactante	N^a			r (nm) ^b
	pH 7	pH 9	pH 12	pH 7
SDDC (30°C) ^c	23 ± 1	22,9 ± 0,5	20,0 ± 0,9	2,42
SDLC (40°C) ^c	13,7 ± 0,3	13,3 ± 0,7	12,8 ± 0,7	---

^a Obtenidos mediante atenuación de fluorescencia de pireno, los valores informados son promedio de 3 determinaciones.

^b Determinado mediante medidas de DOSY ¹H.

^c Temperatura de trabajo en cada caso.

Los valores de N obtenidos para los dos surfactantes gémini disminuyen con el aumento de la longitud de la cadena hidrocarbonada, esto indicaría que las interacciones hidrofóbicas son más fuertes para los tensioactivos con cadenas más largas.³⁷ Por otra parte, hay que considerar el incremento de la temperatura, que podría generar un cambio en la entalpia de micelización favoreciendo a la misma, por lo cual N sería menor para el SDLC.³⁸

Los números de agregación encontrados para el SDDC y SDLC son considerablemente más pequeños cuando se comparan con tensioactivos aniónicos comerciales, como por ejemplo el Dodecil sulfato de sodio, para el cual N es 62. Por otra parte, se observa que los valores de N son independientes de la composición del buffer y del pH de la solución.^{39,40}

2.3.3.3. Determinación del tamaño y morfología de los agregados de los surfactantes gémmini

El tamaño de las micelas de SDDC se determinó mediante medidas de RMN de DOSY. Como ya se mencionó, esta técnica permite determinar el radio hidrodinámico a partir del coeficiente de difusión del agregado. Para ello se modificaron los tiempos de difusión y duración del pulso (Δ_D y δ_p).³⁰ En los experimentos realizados en una dimensión con dos fuerzas de gradiente, se buscaron los tiempos óptimos para poder obtener un 95% de fuerza de gradiente, una señal con una intensidad del 5% respecto a la señal a bajo G. Cuando se logró encontrar los mejores tiempos, éstos se mantuvieron constantes y sólo se varió G para desarrollar los experimentos de dos dimensiones.²⁰ En la figura 2.12, se muestra el espectro en dos dimensiones del SDDC, obtenido mediante DOSY. En una de estas dimensiones se representan los corrimientos químicos para la molécula en estudio (la correspondiente asignación se realiza en la sección experimental), mientras que la otra dimensión corresponde a los coeficientes de difusión.

En el análisis del espectro de DOSY del SDDC (figura 2.12) podemos observar que las señales del surfactante se correlacionan con un solo valor de coeficiente de difusión, lo cual indica que este surfactante forma un solo tipo de agregado.⁴¹ Todos los experimentos se realizaron a concentraciones mayores a la CMC.

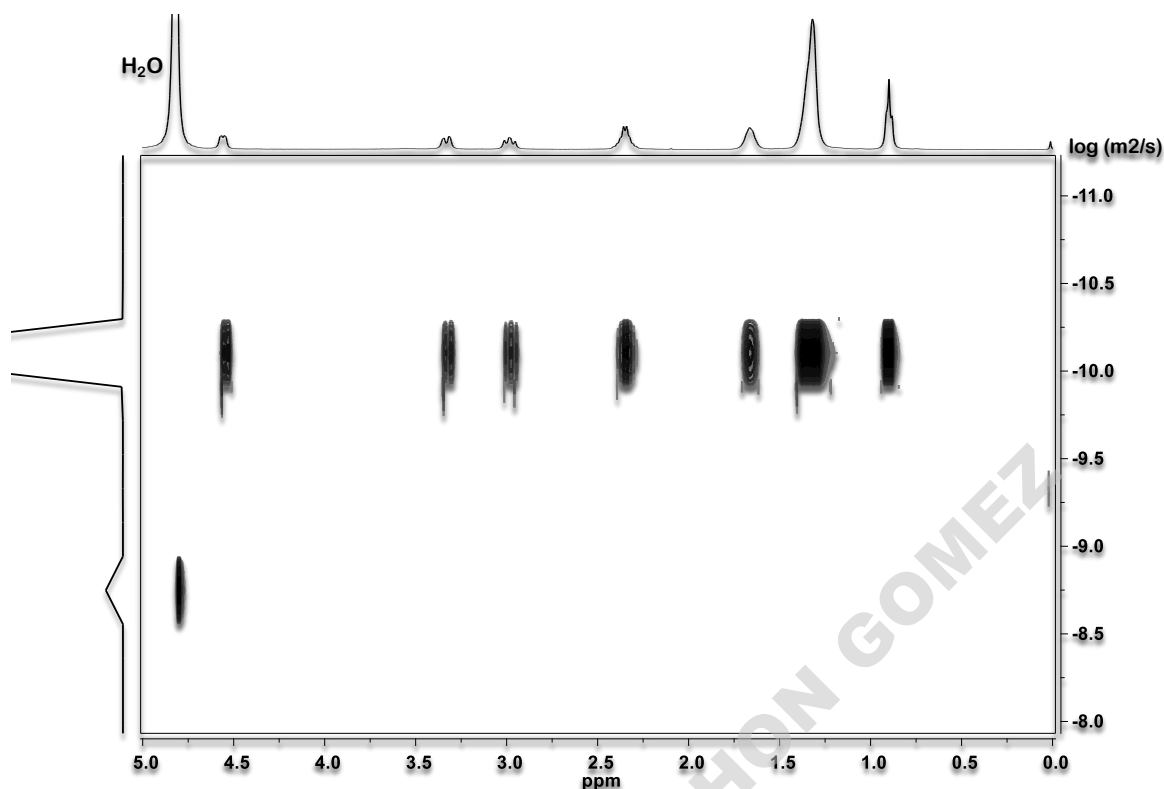


Figura 2.12. Espectro de DOSY ^1H de SDDC. $T= 25^\circ\text{C}$.

Mediante el ajuste de los datos usando la ecuación 2.5, se pudo determinar el valor de D , el cual se relaciona con el radio hidrodinámico (r) mediante la ecuación de Stokes- Einstein (ecuación 2.4). Es importante destacar que para poder utilizar la ecuación 2.4 se debe asumir que el agregado es esférico, por ello el radio hidrodinámico que se determinó es aproximado. El valor obtenido de radio hidrodinámico para el SDDC está informado en la tabla 2.4, mientras que para el SDLC no se pudo determinar debido a que no fue posible controlar la temperatura a 40°C en el equipo.

Por otra parte, se trató de medir el tamaño de los agregados por dispersión dinámica de luz (DLS), tanto para el SDDC como para el SDLC a los diferentes pHs (7, 9 y 12). En ningún caso pudo determinarse el tamaño de los agregados de los surfactantes gemini ya que la intensidad reportada por el equipo era muy baja. Esto puede deberse, o bien a que el tamaño de los agregados es menor a 10 nm (límite inferior del equipo), o bien a una similitud del índice de refracción de la cabeza polar de los surfactantes con el del agua⁴².

Por otra parte, se intentó determinar la morfología de los agregados mediante mediciones de microscopía electrónica de transmisión (TEM) por tinción negativa, a concentraciones por encima de la CMC de ambos surfactantes gémuni, pero con estos estudios tampoco fue posible observar claramente la morfología y el tamaño de los agregados de los surfactantes gémuni sintetizados ya que el equipo presenta dificultades en las mediciones menores de 5 nm.

En el capítulo 3 se informarán más detalles de la morfología y el tamaño de estos agregados obtenidas por medidas de SAXS.

2.3.3.4. Determinación de pKa de los surfactantes gémuni.

Se determinó el pKa de los surfactantes gémuni sintetizados. Se realizaron titulaciones ácido-base, para identificar el punto de inflexión, variando la concentración de los surfactantes y calculando los valores de pKa. En las tablas 2.5 y 2.6 se muestran los diferentes pKa para SDDC Y SDLC respectivamente y en la figura 2.13 se presenta la curva de titulación para una concentración de 0,7 mM de SDDC (las demás curvas se encuentran en el anexo A.3, figuras A6 y A7).

Tabla 2.5. Valores de pKa obtenidos para el SDDC, T (30,0±0,1) °C.

[SDDC], mM	pKa 2	pKa 1
0,03	6,98 ± 0,01	
0,70	6,88 ± 0,01	
0,85	7,21 ± 0,01	
1,00	6,49 ± 0,03	2,48 ± 0,01
1,50	8,34 ± 0,01	2,4 ± 0,1
2,00	8,20± 0,01	2,42 ± 0,01
3,00	8,19 ± 0,01	4,49 ± 0,01
5,00	8,34 ± 0,01	a
7,00	8,16 ± 0,02	a
10,00	8,57 ± 0,01	a

^aA pH~6 la solución precipitó sin posterior disolución del sólido.

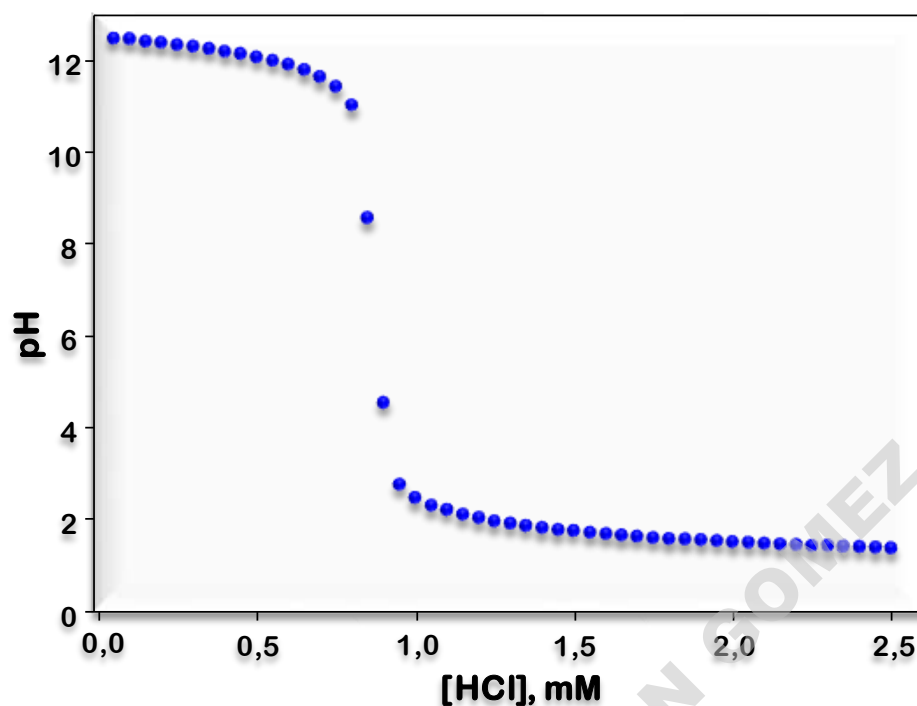


Figura 2.13. Titulación potenciométrica del SDDC a una concentración de 0,7 mM, T (30,0±0,1) °C.

Tabla 2.6. Valores de pKa obtenidos para el SDLC, T (40,0±0,1) °C.

[SDLC], mM	pKa
0,0005	7,13 ± 0,01
0,0100	6,77 ± 0,03
0,0300	6,99 ± 0,01
0,0500	7,13 ± 0,01
1,5000	8,72 ± 0,01

En la figura 2.13 podemos observar la protonación de los grupos carboxilatos a medida que disminuye el pH, observándose un pKa de 6,88. Estos resultados son diferentes a los obtenidos en la determinación del pKa de la L-cistina, donde el pKa₁ es 5,17 y el pKa₂ es 10,59. Las diferencias podrían deberse a que en el

interior del agregado se reducen las repulsiones iónicas y se promueve la unión intramolecular en la interfase.⁴³

Por otra parte, se observó que el grado de ionización micelar no es demasiado afectado por el pH en las condiciones que estudiamos. Además, a concentraciones altas de ambos surfactantes se observó la aparición de un precipitado alrededor de pH 6, lo que impide determinar por esta técnica el segundo pKa. Este valor probablemente sea cercano al pH en el cual se observó la aparición de precipitado.

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

2.4. CONCLUSIONES

Como ya se ha mencionado, los surfactantes gémini están compuestos por unidades monoméricas unidas por un espaciador. Dada la importancia de la función que desempeñan estos tensioactivos en muchas aplicaciones, se han sintetizado exitosamente surfactantes gémini a base de aminoácidos, constituyendo una nueva clase de surfactantes que presentan un comportamiento distinto a los surfactantes de única cadena.

En este trabajo se logró sintetizar exitosamente surfactantes gémini con dos diferentes largos de cadena, llevando a cabo la caracterización de sus agregados por varias técnicas, que nos permitió determinar sus propiedades de agregación. Se observó que las propiedades superficiales y termodinámicas de estos surfactantes se ven influenciadas por la longitud de la cadena alquílica y que son significativamente diferentes a los de derivados de ácido con una sola cadena.

Se encontró una gran eficiencia en la disminución de la CMC por parte de los surfactantes sintetizados ya que esta propiedad presenta un marcado descenso en comparación con los ácidos grasos del mismo largo de cadena; esto se puede atribuir directamente al aumento del número de grupos hidrocarbonados en la molécula debido a la segunda cola y también a la cercanía de las cadenas debido al espaciador. Por otra parte, se observó que, al aumentar la longitud de la cadena hidrofóbica, los valores de CMC disminuyen indicando que los surfactantes geminales se empaquetan más estrechamente en la interfase, debido a las fuertes interacciones entre las cadenas.

En cuanto a los números de agregación de estos surfactantes gémini, se observó que son muy pequeños en comparación con los tensioactivos convencionales y además que el aumento de la longitud de la cadena produce un descenso de ***N***.

2.5. REFERENCIAS

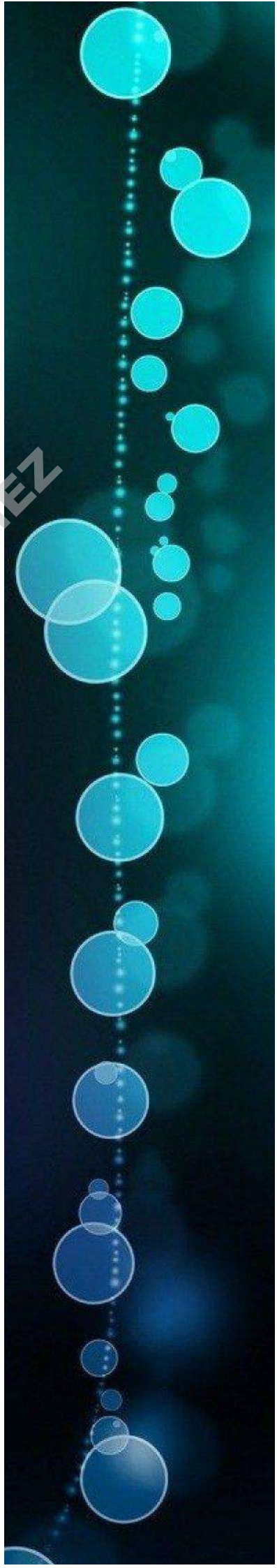
- (1) *Protein- Based Surfactants: Synthesis, Physicochemical Properties, and Applications*; I. A. Nnanna and J. Xia, Eds.; Surfactant Science Series; Dekker: New York, **2001**; Vol. 101.
- (2) Y. Zhun, M. Free, R. Woollam and W. Durnie, *Prog. Mater. Sci.*, **2017**, 90, 159–223.
- (3) *Biobased Surfactants and Detergents: Synthesis, Properties, and Applications*; D. G. Hayes, D. Kitamoto, D. K. Y. Solaiman and R. D. Ashby, Eds.; AOCs Press. New York, **2010**.
- (4) F. M. Menger and J. S. Keiper, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 30, 1906–1920.
- (5) R. Zana, *Langmuir*, **2002**, 97, 205–253.
- (6) L. Pérez, A. Pinazo, R. Pons and M. R. Infante, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2014**, 205, 134–155.
- (7) M. C. Morán, A. Pinazo, L. Pérez, P. Clapés, M. Angelet, M. T. García, M. P. Vinardell and M. R. Infante, *Green Chem*, **2004**, 6, 233–240.
- (8) M. R. Infante, L. Pérez, A. Pinazo, P. Clapés, M. C. Morán, M. Angelet, M. T. García and M. P. Vinardell, *Comptes Rendus Chim.*, **2004**, 7, 583–592.
- (9) D. Danino, Y. Talmon and R. Zana, *Langmuir*, **1995**, 11, 1448–1456.
- (10) B. Róøeycka-Roszak, E. Fisticaro and A. Ghiozzi, *J. Colloid Interface Sci.*, **1996**, 184, 209–215.
- (11) L. Grosmaire, M. Chorro, C. Chorro, S. Partyka and R. Zana, *J Colloid Interface Sci*, **2002**, 246, 175–181.
- (12) Y. Li, P. Li, J. Wang, Y. Wang, H. Yan and R. K. Thomas, *Langmuir*, **2005**, 21, 6703–6706.
- (13) J. E. Klijn, M. C. A. Stuart, M. Scarzello, A. Wagenaar and J. B. F. N. Engberts, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 21694–21700.
- (14) Y. Okahata and T. Seki, *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 8065–8070.
- (15) H. Fan, F. Han, Z. Liu, L. Qin, Z. Li, D. Liang, F. Ke, J. Huang and H. Fu, *J. Colloid Interface Sci.*, **2008**, 321, 227–234.
- (16) *Surfaces, Interfaces, and Colloids Principles and Applications*, 2 Edt.; K.-L. Drew Myers, Ed.; Wiley-VCH: New York, **2002**.
- (17) F. M. Menger and L. Shi, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 6672–6673.
- (18) *Surfactant Science and Technology*, D. Myers, Eds.; 2 Edt.; Wiley-Interscience: New York, **2006**.
- (19) *Dynamics of Surfactant Self-Assemblies: Micelles, Microemulsions, Vesicles and Lyotropic Phases*; R. Zana, Ed; Surfactant Science Series; New York, **2005**.
- (20) M. Hologne, A. Gaubert, C. Sanglar, C. Bordes and H. Casabianca, *Comptes Rendus Chim.*, **2015**, 18, 187–192.
- (21) N. J. Turro and A. Yekta, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, 5951–5952.
- (22) Y. Zhang, J. Cao and L. Ding, *J. Photochem. Photobiol. Chem.*, **2017**, 333, 56–62.
- (23) *Micelles: Theoretical and Applied Aspects*, Y. Moroi, Ed., Springer, Boston, **1992**.
- (24) M. F. Torres, R. H. de Rossi and M. A. Fernández, *J. Surfactants Deterg.*, **2013**, 16, 903–912.
- (25) G. Palazzo and D. Berti, *Diffusion and Aggregation*; Elsevier Academic Press, Amsterdam, **2014**.

- (26) M. Foroozandeh, L. Castañar, L. G. Martins, D. Sinnaeve, G. D. Poggetto, C. F. Tormena, R. W. Adams, G. A. Morris and M. Nilsson, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2016**, 55, 15579–15582.
- (27) *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*, T. D. W. Claridge, Ed., Elsevier, Amsterdam, **2009**.
- (28) T. D. W. Claridge, *Diffusion NMR Spectroscopy*, Elsevier, Oxford, **2016**, pp. 381–419.
- (29) Y. Cohen, L. Avram and L. Frish, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44, 520–554.
- (30) O. Assemat, M.-A. Coutouly, R. Hajjar and M.-A. Delsuc, *Comptes Rendus Chim.*, **2010**, 13, 412–415.
- (31) M. Stjerndahl and K. Holmberg, *J. Colloid Interface Sci.*, **2005**, 291, 570–576.
- (32) C. M. C. Faustino, A. R. T. Calado and L. Garcia-Rio, *J. Colloid Interface Sci.*, **2010**, 351, 472–477.
- (33) D. R. Perinelli, L. Casettari, M. Cespi, F. Fini, D. K. W. Man, G. Giorgioni, S. Canala, J. K. W. Lam, G. Bonacucina and G. F. Palmieri, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **2016**, 492, 38–46.
- (34) L. Piñeiro, M. Novo and W. Al-Soufi, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2015**, 215, 1–12.
- (35) P. J. Tummino and A. Gafni, *J Biophys*, **1993**, 64, 1580–1587.
- (36) M. J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 3. ed., Wiley-Interscience, New York, **2004**.
- (37) D. Xu, X. Ni, C. Zhang, J. Mao and C. Song, *J. Mol. Liq.*, **2017**, 240, 542–548.
- (38) Y. Wang, Y. Han, X. Huang, M. Cao and Y. Wang, *J. Colloid Interface Sci.*, **2008**, 319, 534–541.
- (39) C. M. C. Faustino, A. R. T. Calado and L. Garcia-Rio, *Biomacromolecules*, **2009**, 10, 2508–2514.
- (40) M. Vasilescu, D. Angelescu, M. Almgren and A. Valstar, *Langmuir*, **1999**, 15, 2635–2643.
- (41) S. Floquet., S. Brun., J. F. Lemonnier, M. A. Henry, M.-A. Delsuc, Y. Prigetn, E. Cadot and F. Taulelle, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 17254–17259.
- (42) *Mixed Surfactant Systems*, P. M. Holland and D. N. Rubingh, Eds., 1 Edt., American Chemical Society, New York **1992**.
- (43) S. Roy and J. Dey, *Langmuir*, **2005**, 21, 10362–10369.

Capítulo 3

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

*Efecto de la adición de metales en
la agregación de surfactantes
Gémini.*



ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ÍNDICE

3.1. INTRODUCCIÓN	59
3.2. OBJETIVO.....	61
3.3. RESULTADOS	61
3.3.1. Estudio de la interacción de los surfactantes gémuni con iones metálicos	61
3.3.1.1. Interacción de los surfactantes gémuni con sales de cobre	61
3.3.1.2. Determinación del tamaño y morfología de los agregados formados en soluciones SDDC: CuSO_4	67
3.3.2. Caracterización del cobre en los complejos SDDC: CuSO_4	75
3.3.2.1. Resonancia paramagnética electrónica (EPR).....	76
3.3.2.2. Pruebas de identificación del cobre.....	76
3.3.3. Espectro de Infrarrojo del complejo SDDC: CuSO_4	78
3.3.4. Interacción del surfactante gémuni SDDC con sales de plata y hierro	80
3.3.4.1. Determinación de la morfología de los agregados formados en soluciones de SDDC con AgNO_3 y FeCl_3	81
3.3.5. Medidas de CMC de los complejos SDDC: metales	82
3.4. CONCLUSIONES.....	86
3.5. REFERENCIAS.....	87

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Los compuestos anfifílicos tienen la capacidad de disminuir la tensión superficial en las interfaces y formar arreglos autoorganizados, tales como micelas o vesículas, en solución acuosa. Muchos sistemas anfifílicos pueden además coordinar iones metálicos. En muchos casos, la coordinación de un metal puede cambiar la geometría del agregado o su carga electrostática y por lo tanto puede inducir una modificación en la morfología del agregado (por ejemplo, de micela a vesícula)

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

3.1. INTRODUCCIÓN

Es conocido que muchos sistemas anfifílicos pueden coordinarse con iones metálicos y en muchos casos, esta coordinación induce cambios en la geometría del surfactante y/o en la carga electrostática, provocando de esta manera una alteración en la morfología del agregado.¹ Por ejemplo, octadecilamina es un surfactante catiónico de una sola cadena, que forma micelas en condiciones ácidas. Sin embargo, cuando es sonicado en presencia de un pequeño porcentaje de iones Ag^+ , el surfactante forma vesículas.² Huang y colaboradores encontraron que un surfactante gémuni dicarboxílico en solución acuosa formaba agregados micelares de variados tamaños pero en presencia de una pequeña concentración de Cu(II) (en relación a la concentración del surfactante) se observaron vesículas, atribuidas a la coordinación del Cu(II) por los grupos carboxilato de varias moléculas de surfactante.³

La asociación de sistemas anfifílicos con metales produce en ciertos casos asociaciones interesantes para diversas aplicaciones; en la naturaleza se encuentran muchas metaloenzimas hidrolíticas, y la comprensión de su relación estructura/función motiva el diseño y síntesis de nuevos complejos metálicos que miniaturicen e imiten los sitios activos de una enzima hidrolítica.⁴

Por otra parte, también existe interés en evaluar los llamados “metalosurfactantes” respecto a su empleo en distintas aplicaciones como: plantillas de materiales mesoporosos,⁵ superficies redox activas ultrafinas,⁶ marcadores de membranas fosfolipídicas,⁷ compuestos antimicrobianos,⁸ fotofísica interfacial y catálisis tanto homogénea como heterogénea.⁹ Varios grupos han explorado también el uso de las metalomicelas como nanoreactores para catalizar reacciones químicas.¹⁰

Es muy interesante además estudiar el cambio que suelen experimentar estos metalosurfactantes tras la coordinación con el metal. En el caso de que ocurran cambios en la morfología del agregado la transición está fuertemente influenciada por la geometría molecular del surfactante (es decir, la relación entre el grupo cabeza y el área o volumen de la cola) con la carga electrostática.¹¹ Específicamente, un catión metálico puede unir múltiples grupos cabeza de

tensioactivos; esto puede hacer que las cabezas del tensioactivo se acerquen o se separen, dependiendo de la estructura química del surfactante. Por lo tanto, el sistema puede presentar diferentes comportamientos de fase dependiendo del metal y de la ubicación de éste (el metal puede concentrarse en torno al grupo polar de la cabeza, en la cola o como contraión).¹²

Por otra parte, se han hecho muchos intentos para controlar el tamaño y la morfología de las vesículas, modificando las condiciones experimentales, tales como la composición del tensioactivo, la fuerza iónica, la temperatura, los valores de pH, etc.¹³ También al cambiar el tipo de ion metálico, se pueden ver afectadas diversas propiedades tales como estabilidad, concentración micelar crítica y forma de agregación del surfactante.¹⁴

Como ya se ha mencionado en el capítulo 1, muchos metalosurfactantes han sido aplicados como catalizadores de reacciones de hidrólisis. Es conocido que el Cu (II) cataliza reacciones de hidrólisis de ésteres en agua.¹⁵ Por ejemplo, Liu y colaboradores evaluaron la hidrólisis del bis (*p*-nitrofenil) fosfato, en presencia de metalomicelas con Cu(II), Zn(II), Co(II) y La(II), encontrando que los sistemas metalomicelares pueden catalizar eficazmente la hidrólisis del fosfodiéster regulando el centro activo y su microambiente.¹⁶

Esto nos llevó a estudiar complejos Cu(II) con los surfactantes gémini sintetizados con la idea de aplicarlos posteriormente como catalizadores y también como antimicrobianos (ver capítulo 1).

3.2. OBJETIVO

- ⌘ Evaluar el efecto de la adición de diferentes iones metálicos sobre las propiedades de los agregados de surfactantes gémuni.

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Estudio de la interacción de los surfactantes gémuni con iones metálicos

3.3.1.1. Interacción de los surfactantes gémuni con sales de cobre

Inicialmente se evaluó la interacción de los surfactantes SDLC y SDDC con CuSO_4 dado el interés que el Cu(II) tiene, como ya se mencionó.

El trabajar con soluciones de CuSO_4 en agua presenta el inconveniente de que esta sal es insoluble a pH mayores que 6, por lo cual la forma de preparar las soluciones del surfactante gémuni con la sal metálica no es la convencional (que consiste en disolver el sólido con el solvente). Por este motivo las mismas se prepararon a partir de una solución del surfactante al pH deseado, y ésta última se utilizó para disolver la sal metálica. La disolución fue asistida por sonicado, para obtener una solución coloidal. Se prepararon soluciones a diferentes relaciones molares (1:1, 2:1, 10:1 y 100:1) de Surfactante: CuSO_4 . En las primeras tres relaciones molares las soluciones presentaron coloración verde.

Cuando se mezcló la solución de SDLC con el CuSO_4 , a una relación molar (1:1) y a 40°C , se observó una solución homogénea y de color verde, pero luego de tomar temperatura ambiente la solución se solidificó en una especie de gel. Lo mismo ocurrió a las relaciones molares 10:1 y 100:1 (Surfactante: CuSO_4), como se puede observar en la figura 3.1, pero en estos casos se produjo una separación de fases. Lamentablemente con estas soluciones no se pudo trabajar ya que las mismas no son estables con el cambio de temperatura, esto se debe probablemente a que el surfactante tiene una temperatura de Krafft superior a

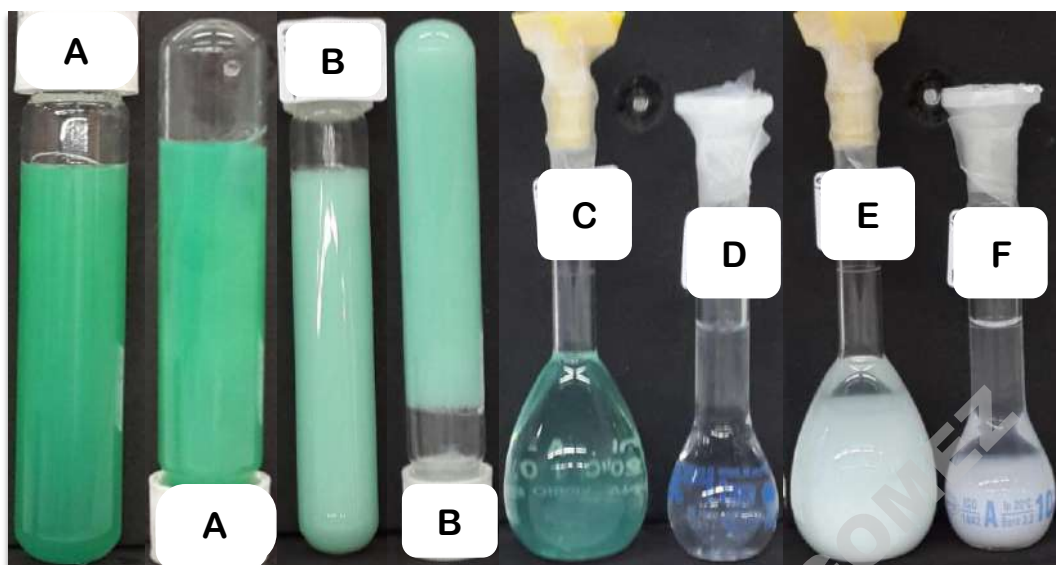
30°C.¹⁷

Figura 3.1. Soluciones de: A) SDLC: CuSO₄ (1:1) a 40°C, B) SDLC: CuSO₄ (1:1) a 25°C, C) SDLC: CuSO₄ (10:1) a 40°C, D) SDLC: CuSO₄ (100:1) a 40°C, E) SDLC: CuSO₄ (10:1) a 25°C, F) SDLC: CuSO₄ (100:1) a 25°C, [SDLC] = 0,3 mM

En las soluciones de SDDC con Cu²⁺ se observaron resultados muy interesantes y es posible trabajar con las mismas, ya que el sistema se mantiene como solución estable a temperatura ambiente. Con estas mezclas fue posible preparar soluciones a diferentes pH (5,00, 7,00 y 12,00), y con diferentes relaciones estequiométricas 1:1, 2:1, 10:1 y 100:1 de SDDC: CuSO₄.

Si bien es conocido que el CuSO₄ no es estable a un pH superior a 6,¹⁸ la mezcla SDDC: CuSO₄ (1:1), a pH 7,00, se mantuvo en el tiempo, permaneciendo estable por al menos 1 mes. Lo mismo se observa a este pH con las soluciones a diferentes relaciones molares. De manera semejante a lo observado en las mezclas SDLC: CuSO₄, las soluciones de esta sal metálica con SDDC presentan coloración verde.

Como ya fue mencionado, el CuSO₄ no es soluble a pH alcalinos, en cambio si lo es a pH ácidos, en tanto que el surfactante es insoluble a pH ácidos (capítulo 2). Por estos motivos, se preparó una solución de CuSO₄ a pH 5,00, y la misma se utilizó para disolver el SDDC, observando una solución coloidal de color verde oscuro, que también resultó estable por al menos 1 mes. Esto estaría indicando

que el sulfato de cobre en esas condiciones es capaz de mantener al surfactante en solución, a pesar de que éste normalmente se precipita a pH ácidos. Estas observaciones sugieren que el surfactante gémuni forma un complejo bastante fuerte con el cobre, de manera que ambos integrantes del mismo permanecen disueltos en solución acuosa, aún en condiciones donde normalmente precipitarían.

Para obtener información acerca de qué parte de la estructura del surfactante gémuni estaría involucrada en la formación del complejo con el cobre, se prepararon soluciones de CuSO_4 con L-cistina (cabeza polar del surfactante), con decanoato de sodio, correspondiente a la cadena hidrocarbonada del surfactante (cola hidrofóbica), y utilizando las mismas proporciones de cada una de estas partes a las presentes en el gémuni (Tabla 3.1 y figura 3.2).

Tabla 3.1. Resultado de la interacción de CuSO_4 con diferentes ligandos.^a

	Componentes	Relaciones estequiométricas	Observaciones
A	SDDC: CuSO_4	1:1	Coloide verde
B	L-cistina: Decanoato de sodio: CuSO_4	1:2:1	Precipitado azul
C	L-cistina: CuSO_4	1:1	Precipitado celeste
D	CuSO_4	-----	Precipitado
E	Decanoato de sodio: CuSO_4	2:1	Precipitado liviano turquesa

^aEl solvente en todos los casos fue buffer pH 7,00, T =25°C

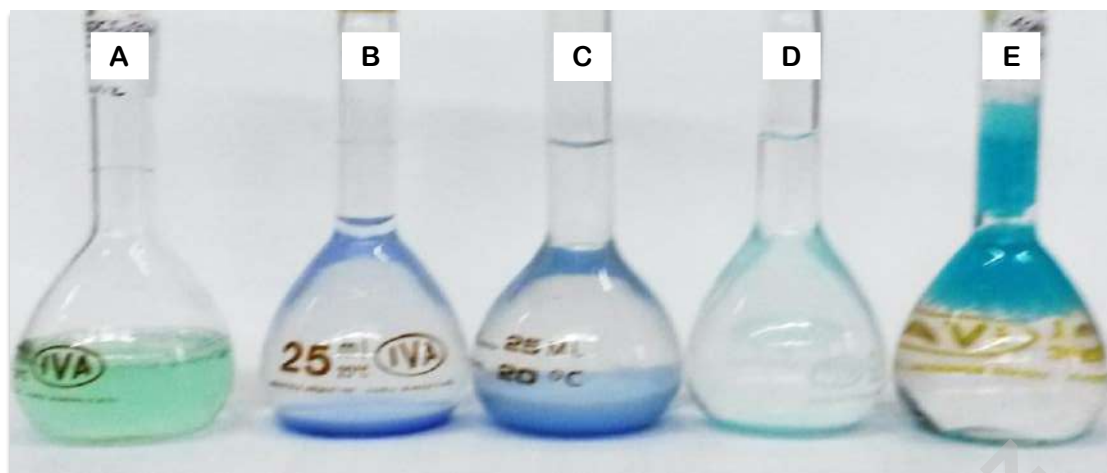


Figura 3.2. Soluciones de: A) SDDC: CuSO_4 (1:1), B) L-Cistina: Decanoato de sodio: CuSO_4 (1:2:1), C) L-Cistina: CuSO_4 (1:1), D) CuSO_4 y E) Decanoato de sodio: CuSO_4 (2:1) a pH 7,00

En el matraz D de la figura. 3.2. se puede observar el precipitado correspondiente a una solución de CuSO_4 en agua a pH 7. La mezcla de L-cistina con CuSO_4 tampoco es estable, observándose la formación de un precipitado esponjoso de color celeste (matraz B, figura 3.2.). En presencia de decanoato de sodio, el CuSO_4 también se separa de la solución, quedando como un sólido liviano que flota por encima de la solución (matraz E en la figura 3.2). Finalmente, el SDDC con el CuSO_4 forman una solución muy estable con un cambio de color de celeste a verde con respecto al CuSO_4 o a las otras soluciones mencionadas (matraz A en la figura 3.2).

Con estos resultados se puede concluir que lo que mantiene en solución al CuSO_4 a este pH, es la interacción del surfactante total con el ion metálico, y no es sólo la interacción de las cabezas polares o las colas hidrofóbicas.

De igual manera, se realizaron experimentos de la interacción del SDDC con otras sales de cobre, como CuCl_2 y CuCl , para evaluar si presentaban el mismo comportamiento que el CuSO_4 . En ambos casos, con cada una de las sales metálicas, se observaron soluciones estables de la misma coloración que en presencia del CuSO_4 , sin distinguir ninguna diferencia.

Las soluciones de SDDC: CuSO_4 (1:1), a pH 7,00, fueron analizadas utilizando diferentes técnicas: espectrofotometría UV-Visible, resonancia magnética nuclear

(RMN), dispersión dinámica de luz (DLS), microscopía de transmisión electrónica (TEM), espectroscopia de infrarrojo (FT-IR), dispersión de rayos X de ángulo pequeño (SAXS) y resonancia paramagnética de electrones (EPR).

Se realizaron espectros UV-Visible de las soluciones de SDDC: CuSO₄ (1:1) a diferentes pH (5,00, 7,00 y 12,00), y se compararon con el espectro del surfactante en ausencia del metal, como se muestra en la figura 3.3.

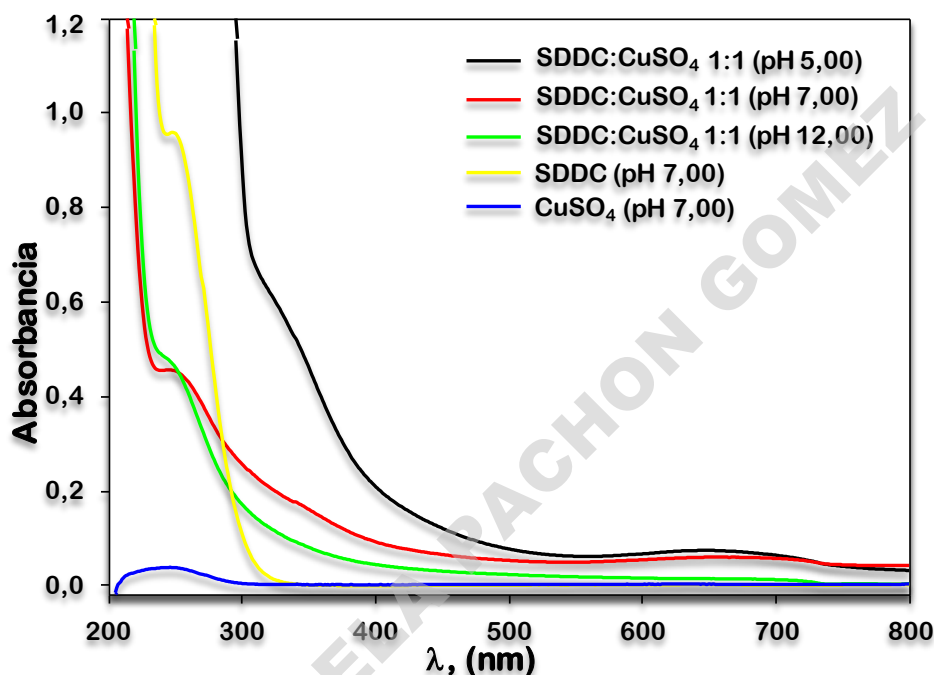


Figura 3.3. Espectros UV-Visible de SDDC con CuSO₄ a distintos pH, [SDDC] = 3 mM

El espectro de una solución filtrada de CuSO₄ a pH 7,00 no presenta ninguna banda dado que, a este pH, el Cu²⁺ es muy poco soluble y precipita.

En el espectro UV-Visible del surfactante gémíni a pH 7,00, sólo se observa la aparición de un hombro alrededor de 250 nm, característico del SDDC. En presencia de CuSO₄, y en una relación estequiométrica de (1:1), a los pHs de 7,00 y 12,00 sólo se observó la disminución de la banda en forma de hombro del SDDC. Por otro lado, en el espectro a pH 5,00 se observó un pico ancho alrededor de los 650 nm de poca intensidad, que se puede atribuir al CuSO₄.¹⁹ No pudo obtenerse mayor información de estos espectros.

Se realizó el espectro de resonancia magnética nuclear de protones del complejo SDDC: CuSO₄ (1:1) a pH 7,00, para determinar si existía alguna

variación en las señales del complejo con respecto al surfactante puro (figura 3.4).

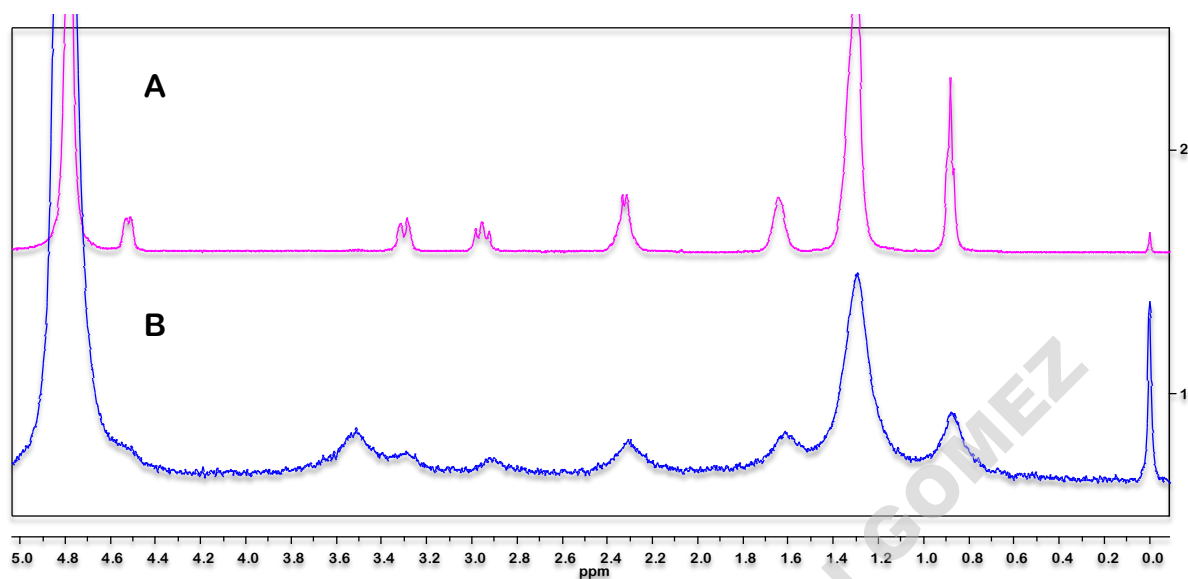


Figura 3.4. Espectro de RMN ^1H de: A) SDDC y B) SDDC: CuSO_4 (1:1) a pH 7,00 en D_2O

Como se observa en la figura 3.4, el espectro del complejo presenta señales anchas y distorsionadas debido probablemente, por un lado a la presencia del metal en la solución, como lo describen Roberts y Jardetzky,²⁰ que plantean que la formación de complejos entre los aminoácidos y iones metálicos genera un ensanchamiento de las señales, debido a que el electrón no acoplado de un metal produce grandes campos magnéticos locales en todos los núcleos cercanos. De tal manera, la presencia del cobre en la solución influye en la homogeneidad local de la muestra, y esto afecta el ancho medio (por acortamiento de los tiempos de relajación T_1 y T_2) y la resolución de las señales. Por otro lado, la formación del agregado en la solución también produce el ensanchamiento de las líneas del espectro, esto es explicado por Villeneuve y colaboradores,²¹ quienes describieron que el ensanchamiento de las señales se puede deber también a la curvatura de las vesículas multilamelares y la polidispersidad del tamaño vesicular. A pesar de todo esto, fue posible establecer el corrimiento químico de estas señales.

Si bien no se observaron cambios muy marcados en el corrimiento químico de las señales en el complejo SDDC: CuSO_4 con respecto al surfactante puro, se aprecia una ligera distorsión en la región correspondiente a los protones de los

carbonos directamente unidos a los azufres del puente disulfuro del amino ácido. Esto podría estar indicando que esta región se ve en cierta manera afectada por la presencia del metal.

3.3.1.2. Determinación del tamaño y morfología de los agregados formados en soluciones SDDC: CuSO₄

El SDDC forma micelas en soluciones acuosas como ya fue descrito en el capítulo 2. Dichos agregados no pudieron ser evaluados por DLS como ya se mencionó (capítulo 2). Las soluciones de SDDC: CuSO₄ fueron analizadas por esta técnica para evaluar las posibles diferencias con las soluciones del surfactante gémini solo.

Para aplicar esta metodología las muestras deben ser cuidadosamente filtradas. La coloración de las soluciones del complejo surfactante: metal se perdió luego del filtrado, quedando un sólido muy ligero en la membrana de nylon utilizada para realizar la filtración (0,45µm), obteniéndose soluciones totalmente transparentes e incoloras.

Los resultados de estas medidas presentaron mucha dispersión y poca reproducibilidad, debido a que las señales eran de muy baja intensidad. Por este motivo no fue posible determinar el tamaño de los agregados del surfactante gémini en presencia de CuSO₄ por esta metodología.

Por otro lado, se realizaron medidas de TEM de las mismas muestras. En el caso de la muestra sin filtrar, se observó la presencia de agregados de tamaño considerable, pero con mucha dispersión en tamaños (figura 3.5). Como ya se mencionó, en las soluciones de SDDC, en ausencia del metal, no se pudieron observar señales atribuibles a los agregados por esta técnica, aunque las muestras se sometieron a tinción negativa con acetato de uranilo al 0,5 %. Las medidas de las soluciones de SDDC, en presencia del metal, en cambio, se llevaron a cabo sin necesidad de tinción, dado que las muestras presentaron una señal debido a la presencia del cobre (figura 3.5).

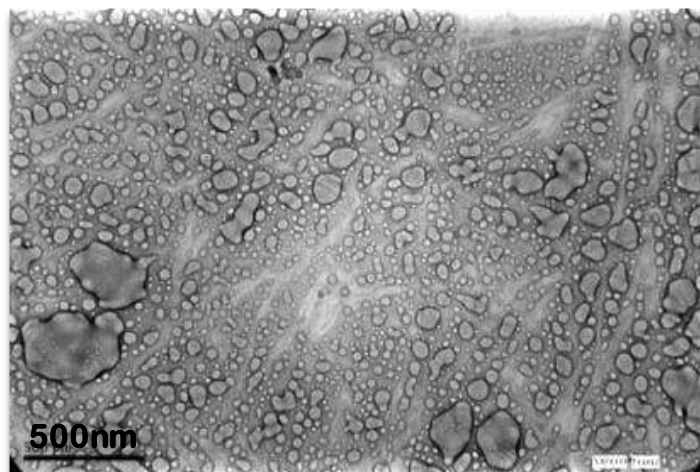


Figura 3.5. Micrografía TEM de SDDC: CuSO_4 (1:1) a pH 7,00, [SDDC] = 3 mM, sin filtrar.

Además, se evaluaron las mismas soluciones en función del tiempo para conocer durante cuánto tiempo persistían los agregados formados (figura 3.6)

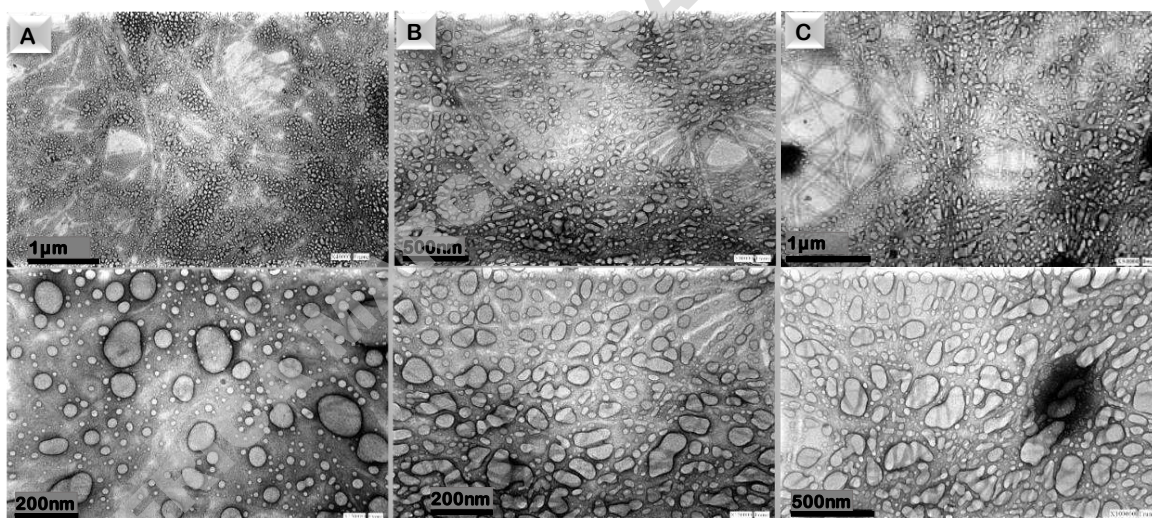


Figura 3.6. Micrografías TEM de SDDC: CuSO_4 (1:1) a pH 7,00: A) 0 días, B) 7 días y C) 14 días, [SDDC] = 3 mM, sin filtrar.

En la figura 3.6, la imagen superior en cada caso corresponde a una imagen panorámica, mientras que la inferior es una ampliación de ésta. La morfología de los agregados es de tipo esférico, con vesículas de diferentes tamaños, y que se conservan en el tiempo.

Se evaluaron las soluciones de SDDC: CuSO_4 a otras relaciones estequiométricas (10:1 y 100:1), para analizar si con una menor cantidad de cobre, estos agregados persistían (figura 3.7).

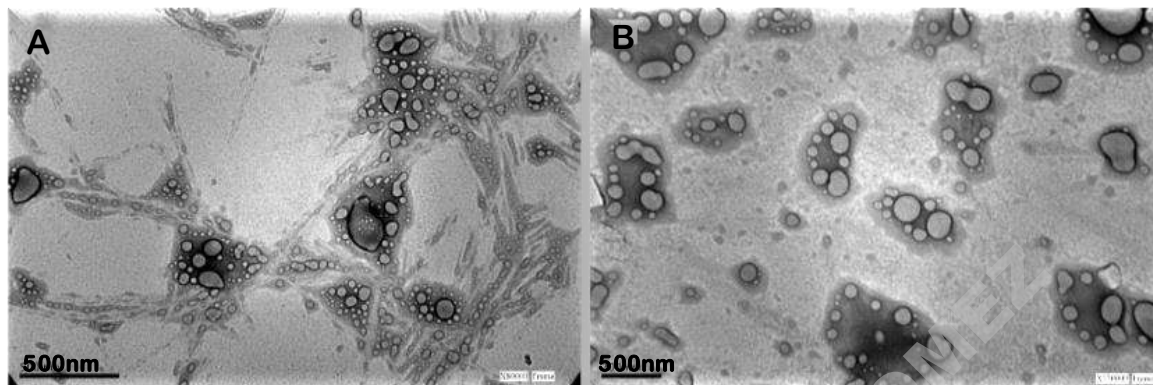


Figura 3.7. Micrografías TEM de: A) SDDC: CuSO_4 (10:1) y B) SDDC: CuSO_4 (100:1) a pH 7,00, [SDDC] = 3 mM, sin filtrar.

En estos casos también se observaron agregados con un amplio rango de distribución de tamaños. En principio, se pensó que estos agregados corresponderían a vesículas, sin embargo, para corroborar esta hipótesis se trabajó con una solución de SDDC: CuSO_4 (1:1) por debajo de la CMC del surfactante (0,28 mM). Como puede observarse en la figura 3.8, la presencia de los agregados sigue presente, lo que está indicando que no se trata de micelas y esto, confirma la formación de vesículas. Dado que el SDDC en solución acuosa forma micelas, se puede inferir de estos resultados que la presencia del cobre en la solución induce un cambio de morfología de los agregados, observándose una transición desde micela a vesícula. Resultados similares fueron reportados por Zhou y colaboradores que evaluaron el comportamiento de agregación de un surfactante zwitteriónico (3- aminopropilmetil- trisiloxano), que en agua forma micelas, pero cuando interacciona con Cu^{2+} , forma vesículas.²²

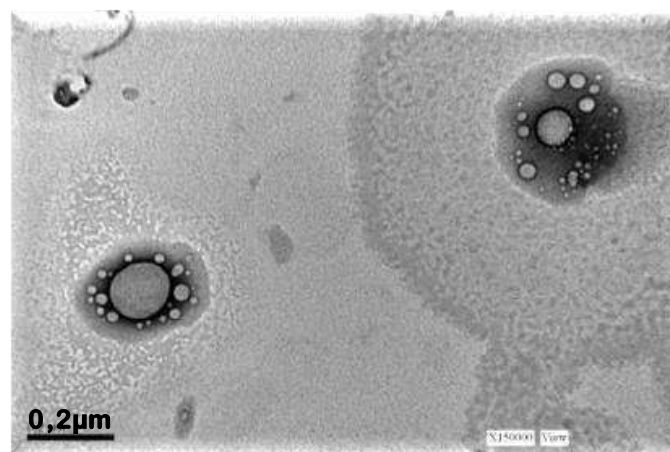


Figura 3.8. Micrografía TEM de SDDC: CuSO₄ por debajo de la CMC del surfactante, [SDDC] = 0,06 mM, sin filtrar.

Por otro lado, como se mencionó anteriormente, para llevar a cabo las medidas de DLS fue necesario filtrar las soluciones de SDDC: CuSO₄. Luego de la filtración éstas quedaban completamente transparentes. En estas condiciones, no quedaba claro si aún había restos de Cu²⁺ que pudieran asistir a la formación de las vesículas. A una de estas soluciones filtradas se le realizaron medidas de TEM (figura 3.9 A), observándose la presencia de agregados, pero en menor proporción, si se compara con la misma solución de SDDC: CuSO₄ sin filtrar (figura 3.5). Por otra parte, se analizó el sólido obtenido de la filtración (figura 3.9 B), y allí también se observó la existencia de agregados en mayor proporción.

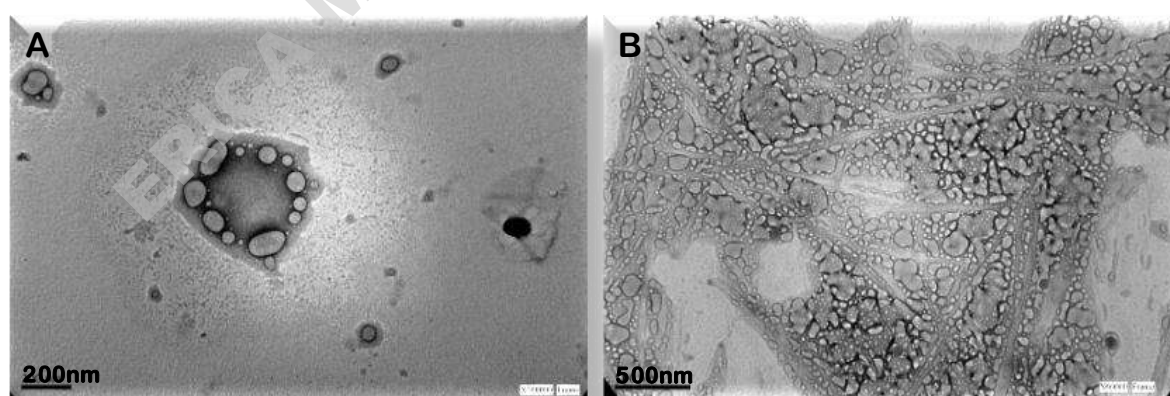


Figura 3.9. Micrografía de TEM de: A) SDDC.CuSO₄ (1:1) filtrada y B) SDDC: CuSO₄ (1:1) sólido, a pH 7,00. [SDDC] = 3 mM.

Una observación, experimental relevante fue que las soluciones de los surfactantes gémuni, en presencia de CuSO_4 , presentaban una coloración verde, perdiendo el color celeste característico del Cu^{2+} . Una posibilidad que explica este cambio podría estar relacionada con la coordinación del Cu^{2+} con algún átomo en particular, por ejemplo, el azufre. Es conocido que cuando el Cu^{2+} se coordina con los halógenos, estos complejos suelen presentar coloración verdosa,²³ y algo similar podría estar ocurriendo en este caso. Otra posible causa de este cambio, podría ser la reducción del Cu^{2+} a Cu^+ , con el consiguiente cambio de color. Por tal motivo se preparó una solución de SDDC con CuCl del modo habitual (descrito en el capítulo 5) encontrándose que la misma también presentaba coloración verde. Se evaluó la morfología de los agregados formados en esta solución (figura 3.10).

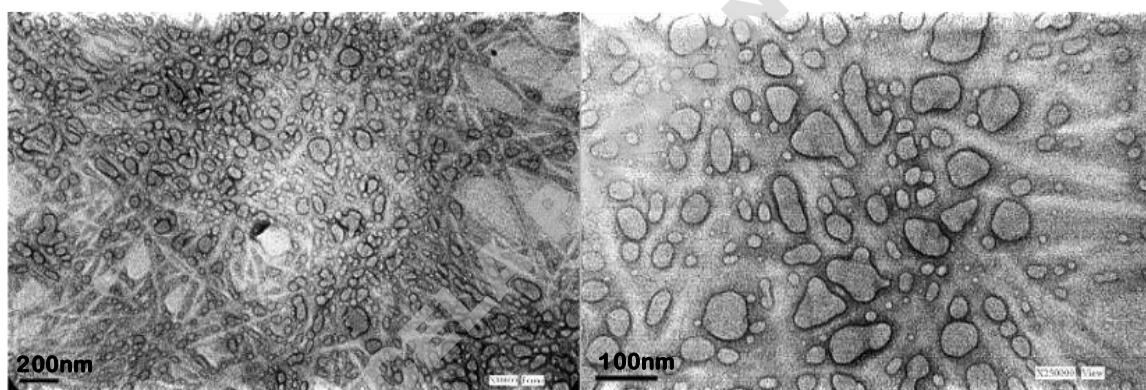


Figura 3.10. Micrografías TEM de la solución de SDDC: CuCl (1:1) a pH 7,00, $[\text{SDDC}] = 3 \text{ mM}$, sin filtrar.

Las imágenes (figura 3.10) muestran la formación de agregados similares a los observados previamente en los complejos SDDC: CuSO_4 , vesículas con tamaños polidispersos, que van aproximadamente desde 10 nm a 200 nm. Algunos de los agregados más grandes podrían resultar de la fusión de las vesículas más pequeñas.³

Las soluciones formadas por SDDC: CuSO_4 , a las diferentes relaciones molares, fueron estudiadas por dispersión de rayos X de ángulo pequeño (SAXS) para tener más información acerca del tamaño y la forma de los agregados.

Estas medidas fueron realizadas en la línea SAXS-1 del Laboratorio Nacional

de Luz Sincrotrón de Campinas, San Pablo, Brasil, por el Doctor Rafael Oliveira del CIQUIBIC (Centro de Investigaciones en Química Biológica de Córdoba), con quien realizamos un trabajo en colaboración.

En la figura 3.11 se muestran las curvas de SAXS del SDDC a distintas concentraciones de CuSO_4 , y a concentración constante de SDDC (8 mM), por encima de su CMC (0,28 mM), a pH 7,00 y a 30°C. Las curvas de dispersión varían desde una curva típica para la conformación micelar (con una meseta a valores bajos de q (vectores de dispersión o scattering) y una protuberancia a valores más altos, curva negra), pasando por estados intermedios (curva roja y verde), hasta una curva típica (azul) para un agregado laminar, con una pendiente definida a bajo q . Además, en esta última curva se observan dos picos de Bragg evidentes a $2,02 \text{ nm}^{-1}$ (primer orden) y a $4,04 \text{ nm}^{-1}$ (segundo orden), indicados por flechas en la figura 3.11. Ambos guardan una relación 1 a 2 indicando una serie laminar (unidimensional) de bicapas.

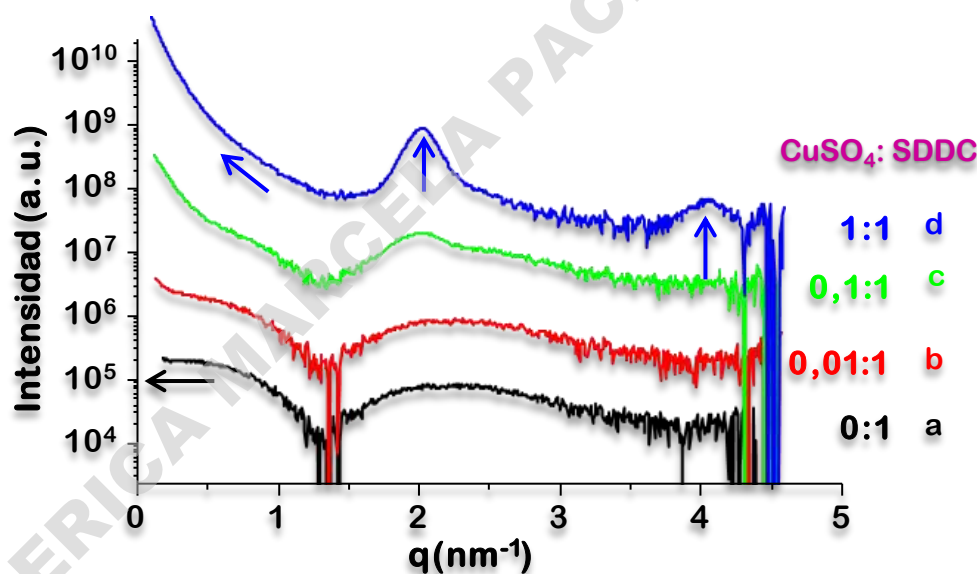


Figura 3.11. Curvas de SAXS para SDDC: CuSO_4 a diferentes relaciones molares. La curva negra es típica de un agregado pequeño (micela) como lo sugiere la meseta a bajo q . La curva azul es típica de una pila de bicapas agregadas (pendiente final no nula en el nivel bajo de q) y con presencia de dos picos de Bragg.

La representación log-log de los mismos datos experimentales (figura 3.12) da una mejor visión del decaimiento exponencial de la Intensidad a la altura de bajo

q , indicando claramente la formación de una bicapa correspondiente a una morfología vesicular (traza azul). La curva verde muestra un decaimiento más cercano al de un agregado vesicular, en tanto que las líneas negra y roja no decaen, sino que son mesetas a bajo q , indicando agregados micelares.

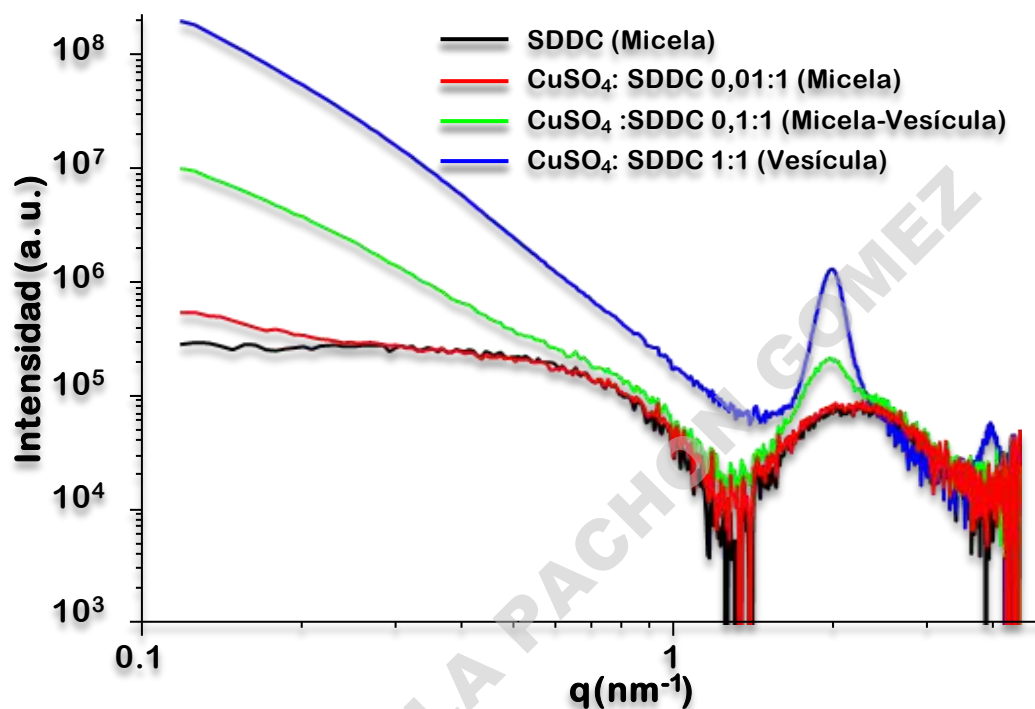


Figura 3.12. Curvas de SAXS para SDDC: CuSO₄ en diferentes relaciones molares

La curva correspondiente al SDDC en ausencia de Cu (trazo negro en la figura 3.12) ajusta muy bien a un modelo de micela de núcleo elíptico triaxial (figura 3.13). A partir del ajuste con el programa SASfit,²⁴ se obtienen los siguientes valores para los tres ejes del agregado elíptico: a :1,23 nm, b :1,70 nm y c : 2,11 nm. A partir de los mismos es posible calcular el diámetro mínimo y máximo de la elipse como 2,9 y 4,7 nm, respectivamente. Estos valores son del mismo orden que el obtenido mediante medidas de RMN-DOSY asumiendo una micela esférica (radio hidrodinámico 2,42 nm, tabla 2.4).

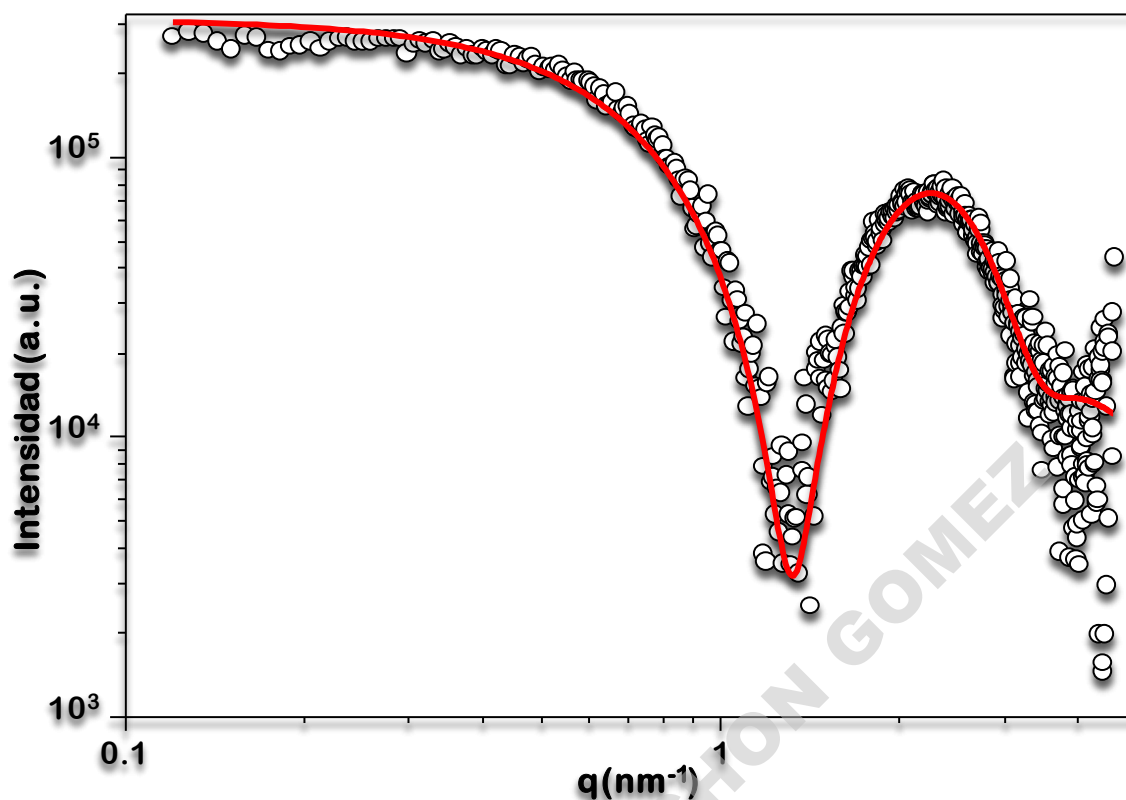


Figura 3.13. Ajuste de los datos de SDDC en ausencia de CuSO_4 : (o) datos experimentales, (—) ajuste al agregado micelar.²⁴

A partir del ajuste de una parte de la señal de SAXS correspondiente a la fase lamelar (trazo verde, figura 3.12), puede obtenerse el número de bicapas promedio que conforman la vesícula. El ajuste arroja una periodicidad de 3,11 nm, y un número de 7,3 bicapas apiladas promedio. Dicho ajuste se muestra en la figura 3.14.

Por lo tanto, se puede concluir que a partir de la interacción de SDDC con CuSO_4 se obtienen vesículas multilamelares.

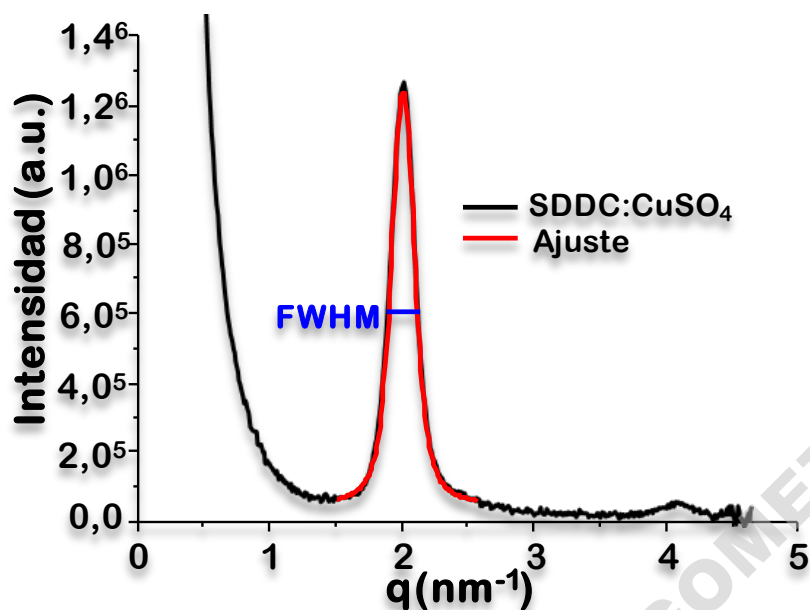


Figura 3.14. Ajuste de la señal de SAXS (pico de difracción de primer orden) correspondiente a la fase laminar. A partir de la posición del pico se obtiene el distanciamiento lamelar. A partir del ancho total a mitad de altura máxima (FWHM) se calcula una longitud de coherencia de 7,3 lamelas a partir de la ecuación de Scherrer.²⁵ (—) datos experimentales, (—) ajuste.

3.3.2. Caracterización del cobre en los complejos SDDC: CuSO₄

Como ya se mencionó, el cambio de coloración observado en las mezclas de SDDC: CuSO₄, desde celeste a verde, podía deberse simplemente a una coordinación particular del Cu (II) con el azufre, por ejemplo, o a la ocurrencia de una reacción de reducción del metal en presencia del surfactante, desde Cu (II) a Cu (I). Para develar este punto se realizaron algunos estudios tendientes a determinar el estado de oxidación final del cobre en las muestras con surfactante.

3.3.2.1. Resonancia paramagnética electrónica (EPR).

Las medidas de EPR se realizaron para conocer si en los complejos preparados a partir de SDDC: CuSO₄, existía Cu (I) o Cu (II), debido a la coloración verde observada en dichas soluciones.

Se realizaron las mediciones de resonancia paramagnética electrónica (EPR) de soluciones de SDDC: CuSO₄, a diferentes relaciones molares (1:1,10:1 y 100:1), y a temperatura ambiente. Estas medidas fueron gentilmente llevadas a cabo por la Dra. Ana María Gennaro del IFIS Litoral (Instituto de Física del Litoral de la Universidad Nacional del Litoral). En los espectros de EPR no se encontró ninguna señal característica de Cu(II). Los espectros deberían haberse visto como espectros anisotrópicos característicos de centro de cobre (II) con cuatro líneas hiperfinas bien resueltas.²⁶ La ausencia de estas señales estaría indicando que en las soluciones no hay Cu(II) y está presente solo Cu(I), ya que éste es diamagnético y por lo tanto no presenta señal de EPR.²⁶⁻²⁸

Estos resultados estarían confirmando que en estos sistemas el cobre (II) sufre una reducción, lo que implica entonces que el surfactante debe estar sufriendo una oxidación en el medio.

3.3.2.2. Pruebas de identificación del cobre

Otro análisis que se llevó a cabo para confirmar la reducción del cobre (II) en las soluciones, fue utilizar un sensor molecular, Neocuproína,²⁹⁻³¹ el cual es específico para identificar la presencia de cobre(I).

Es bien conocido que la Neocuproína (Neo) forma un complejo muy estable con Cu⁺ ([Cu(Neo)₂]⁺), figura 3.15, que absorbe fuertemente a 450 nm, haciendo que este complejo sea fácilmente detectable a niveles tan bajos como 0,03 µg de cobre.³⁰ Por lo tanto, se realizaron los espectros de absorción UV-Visible del complejo SDDC: CuSO₄ (1:1), y soluciones de CuCl y CuSO₄ a iguales concentraciones de cobre, en presencia de Neo figura 3.16

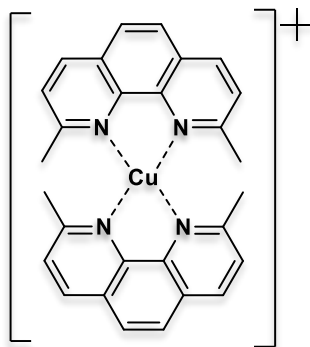


Figura 3.15. Estructura del complejo formado entre Cu^+ y Neo.

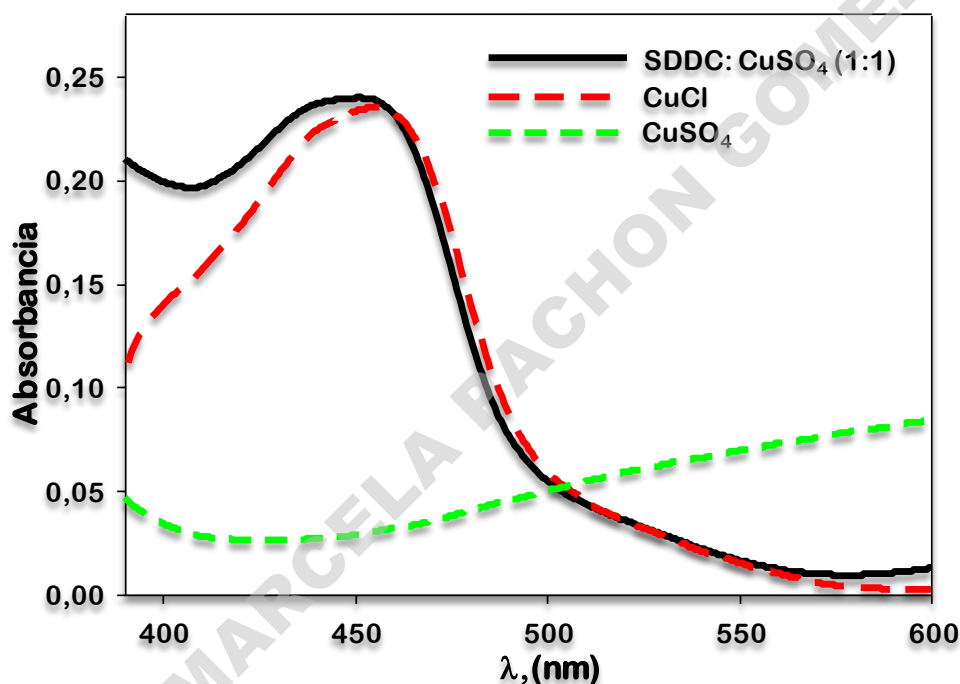


Figura 3.16. Espectros de absorción UV-Visible de: A) SDDC: CuSO_4 (1:1)-Neo, B) CuCl -Neo y C) CuSO_4 -Neo, a pH 7,00. En todos los casos la concentración de cobre fue de 3 mM.

El espectro del complejo Neocuproína CuCl , presenta su máximo de absorbancia a ≈ 450 nm como está descrito en la literatura.²⁹ La solución de Neo- CuSO_4 no presenta dicha banda, lo cual era predecible dada la ausencia de Cu (I), mientras que el espectro de la solución Neo-SDDC- CuSO_4 sí la presenta, con longitud de onda máxima a 450 nm.

Estos resultados confirman las observaciones de EPR, indicando que en este complejo (SDDC: CuSO_4) ocurre una reacción de óxido-reducción, que implica la

reducción del cobre, y debería estar acompañada por la oxidación del surfactante.

Por tal motivo, a continuación, se describen los estudios de caracterización del surfactante dentro del complejo para tratar de establecer en qué parte del surfactante se está produciendo la oxidación.

3.3.3. Espectro de Infrarrojo del complejo SDDC: CuSO_4

En la literatura se describe la mineralización del S orgánico, donde las proteínas, los péptidos y otros compuestos azufrados orgánicos son en primera instancia depolimerizados hasta su estado de aminoácido (cisteína, cistina y metionina). En un paso posterior, la mineralización de S de los aminoácidos puede darse por reducción a SH_2 u oxidación a SO_4^{2-} . La bioquímica de estos procesos no está bien definida, y algunos autores proponen algunas posibilidades³² como : (figura 3.17).

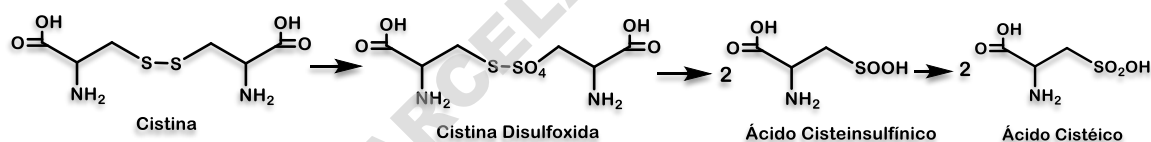


Figura 3.17. Oxidación de la Cistina.

Considerando que en presencia de Cu^{2+} , la cistina puede oxidarse a alguno de estos intermediarios (Cistina disulfoxida o Ácido cisteinsulfínico), o a ácido cistéico, se procedió a analizar el espectro de IR de una mezcla SDDC: CuSO_4 (1:1), y el mismo se comparó con los espectros del surfactante SDDC y del ácido cistéico, como se puede observar en la figura 3.18.

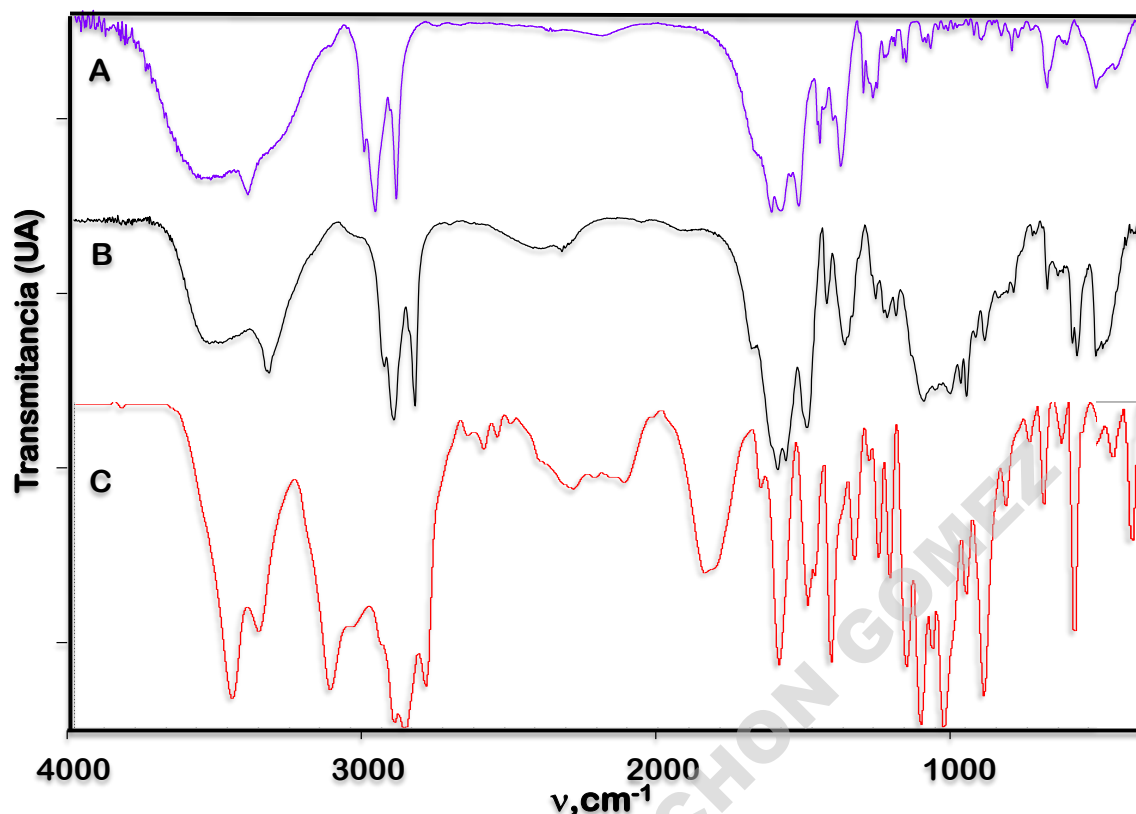


Figura 3.18. Espectro de Infrarrojo de: A) SDDC, B) SDDC: CuSO₄, (1:1) y C) Ácido Cistérico.³³

La comparación de estos espectros arroja los siguientes datos: en la región entre 1250 y 1030 cm⁻¹ se observaron señales semejantes en el ácido cistérico y en el metalosurfactante SDDC: CuSO₄, que podrían deberse a estiramientos R-SO₃⁻ y R-SO₂-OH, en tanto que dichas señales no se encuentran en el surfactante SDDC. En la región entre 870-600 cm⁻¹ se deberían encontrar señales correspondientes a S-O que se pudieron observar a 650 cm⁻¹ en el ácido cistérico y en el complejo SDDC: CuSO₄, en tanto que en el SDDC no se observa una banda de esas características.

Por otro lado, en la región entre 3000 - 2750 cm⁻¹, prácticamente no se observan diferencias entre SDDC y SDDC: CuSO₄, lo cual estaría indicando que la cadena alquílica no presenta cambios por la formación del complejo. Otra de las regiones que no se ve afectada es la comprendida entre los 4000 - 3000 cm⁻¹, indicando que el enlace amida tampoco se ve perjudicado por la formación del complejo. En la región entre 1700 - 1300 cm⁻¹, prácticamente no se distinguen cambios en las señales correspondientes a los estiramientos del enlace C-O del

anión carboxilato y de la deformación del enlace N-H del grupo amida, de igual manera no observaron cambios en el alargamiento del C=O del grupo NHC=O del SDDC y el complejo con cobre.

A partir del análisis de estos experimentos puede concluirse que el surfactante SDDC, al interactuar con el CuSO_4 , sufre una oxidación, de manera tal que se estaría produciendo la ruptura del puente disulfuro y a su vez se está formando una especie monomérica.

La figura 3.4 muestra el espectro de RMN del SDDC: CuSO_4 donde no se observaron diferencias muy considerables con respecto al del surfactante solo, solo una ligera modificación de los protones unidos a los carbonos vecinos de los grupos S del puente disulfuro, pero a partir de esos resultados no es posible establecer otras conclusiones.

3.3.4. Interacción del surfactante gémini SDDC con sales de plata y hierro

Se estudió la interacción del SDDC con otras sales metálicas como: ZnCl_2 , NiSO_4 , NiCl_2 , CoCl_2 , FeCl_3 y AgNO_3 , para evaluar si se producía algún tipo de agregado similar al formado con cobre con estos iones metálicos.

Con las sales de Zn^{2+} , Ni^{2+} y Co^{2+} no se obtuvieron soluciones, ya que en todos los casos se observó precipitado, aún a muy baja concentración de la sal.

En las mezclas SDDC: AgNO_3 y SDDC: FeCl_3 se obtuvieron soluciones estables a baja concentración de sal.

La forma de preparar las soluciones de SDDC con FeCl_3 y AgNO_3 , consistió en preparar una solución del surfactante al pH 7, y utilizarla para disolver la sal metálica. La disolución fue asistida por sonicado, para obtener una solución coloidal. Se obtuvieron soluciones estables en las siguientes proporciones: 10:1 y 100:1 de surfactante: sal metálica. Las soluciones con igual contenido de metal, con respecto al surfactante, presentaron precipitado.

3.3.4.1. Determinación de la morfología de los agregados formados en soluciones de SDDC con AgNO_3 y FeCl_3

Se realizaron medidas de TEM de las muestras de SDDC en presencia Ag^+ , a dos relaciones molares (10:1 y 100:1), observándose la presencia de agregados de tamaño considerable, pero con mucha dispersión en los mismos (figura 3.19). Como se mencionó anteriormente, en las soluciones de SDDC, en ausencia del metal, no se pudieron observar señales atribuibles a los agregados por esta técnica (capítulo 2), aunque las muestras se sometieron a tinción negativa con acetato de uranilo al 0,5 %. Las medidas de las soluciones de SDDC, en presencia de los metales, en cambio, se llevaron a cabo sin necesidad de tinción, dado que las muestras presentaron señal debido al metal.

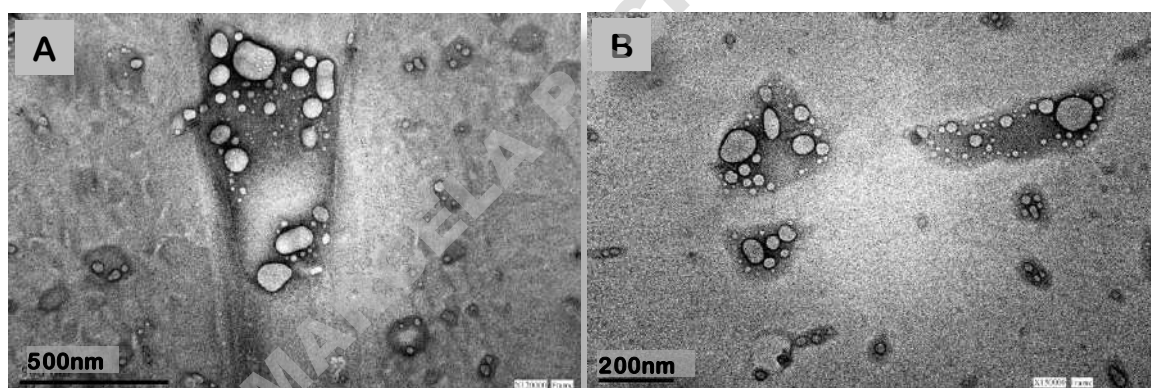


Figura 3.19. Micrografía TEM de: A) SDDC: AgNO_3 (10:1) y B) SDDC: AgNO_3 (100:1); a pH 7,00, [SDDC] = 3 mM, sin filtrar.

De igual manera a lo realizado en presencia CuSO_4 , se preparó una solución de SDDC: AgNO_3 (10:1), por debajo de la CMC del surfactante, para confirmar si el tipo de agregado formado era una vesícula. Como se desprende de la figura 3.20, se siguen observando agregados atribuibles a vesículas.

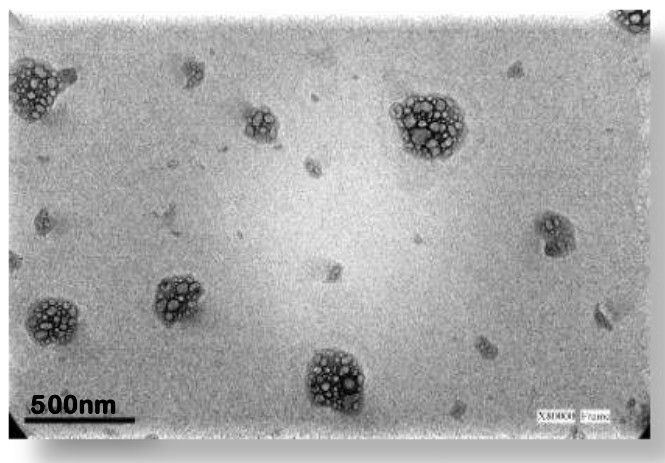


Figura 3.20. Micrografía de TEM de SDDC: AgNO₃ (10:1) por debajo de la CMC, a pH 7,00, [SDDC] = 0,06 mM, sin filtrar.

Resultados muy similares a los descritos con Ag⁺ se encontraron para las soluciones de SDDC: FeCl₃ (100:1), observándose también la formación de agregados vesiculares (figura 3.21).

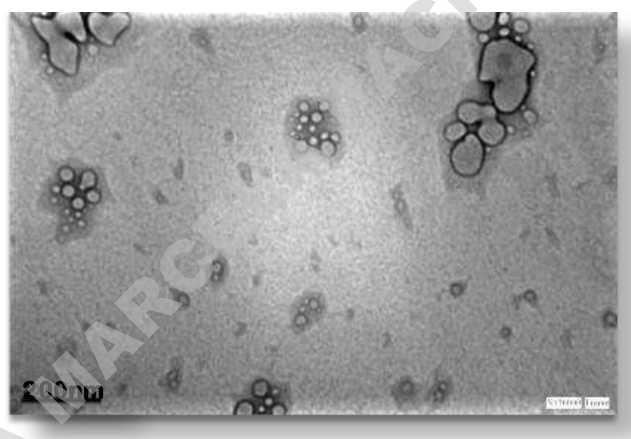


Figura 3.21. Micrografía TEM de SDDC: FeCl₃ (100:1); a pH 7,00, [SDDC] = 3 mM, sin filtrar.

3.3.5. Medidas de CMC de los complejos SDDC: metales

Los valores de CMC de los complejos SDDC: metales se determinaron por medidas de tensión superficial. Las mismas se realizaron a pH 7,00, para evaluar si existía alguna diferencia en este parámetro entre los agregados formados en las mezclas con metales y los agregados formados por el SDDC.

En la tabla 3.2 se muestran los valores de CMC determinados para los metalosurfactantes, y en la figura 3.22 se muestran los resultados obtenidos para el complejo SDDC: CuSO₄ (100:1) (anexo A.4), donde puede observarse el punto de quiebre de las medidas de tensión superficial desde donde se obtuvo el valor de CMC.

Tabla 3.2. Valores de CMC determinados para los metalosurfactantes.^a

Relación SDDC- Sales Metálicas	Concentración en el quiebre, 10 ⁻⁴ M			
	SDDC	SDDC: CuSO ₄	SDDC: AgNO ₃	SDDC: FeCl ₃
1:0	2,8 ± 0,3			
100:1		3,6 ± 0,3	2,8 ± 0,3	2,6 ± 0,2
10:1		4,2 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,2
2:1		6,6 ± 0,9		
1:1		10,0 ± 0,7		

^aDeterminadas por medidas de tensión superficial, pH 7,00, T= (30,0 ± 0,1) °C

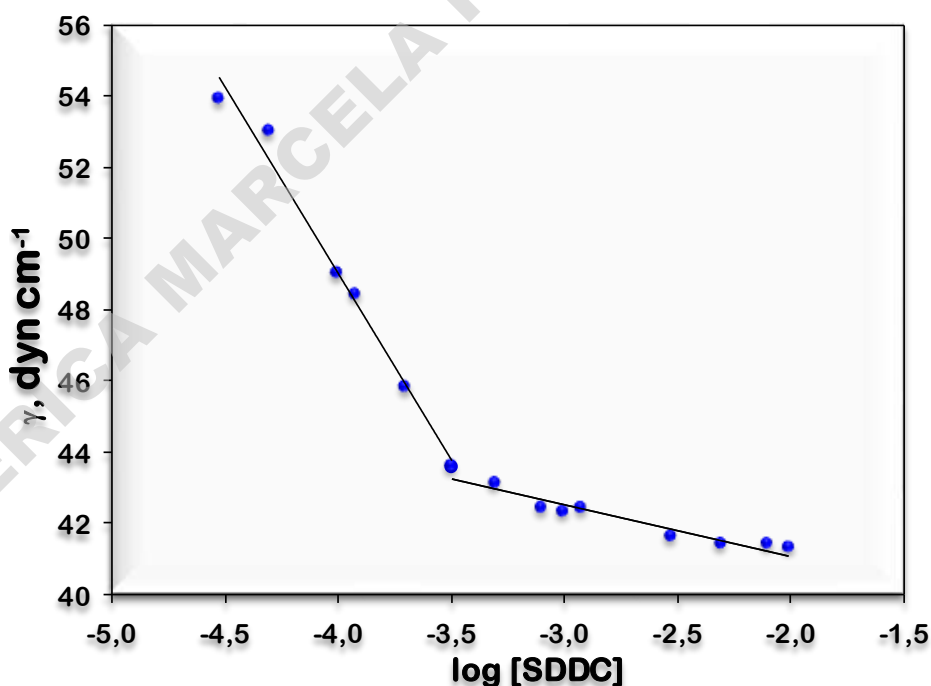


Figura 3.22. Gráfico de tensión superficial en función de la concentración del surfactante SDDC en el complejo con el metal.
SDDC: CuSO₄ (100:1), pH 7,00 T= (30,0 ± 0,1) °C

En la comparación entre los valores de CMC (tabla 3.2) para el SDDC y los complejos del surfactante con Ag^+ y Fe^{3+} , no se observaron cambios significativos. Era esperable que la interacción de un ion metálico con el surfactante aumentara las propiedades de adsorción y agregación por el fortalecimiento de las interacciones hidrofóbicas inter o intramoleculares, como ha sido observado en otros casos,³⁴ y por esto se generara una disminución en la CMC del complejo. Sin embargo, esto no se observó en los sistemas estudiados.

En el caso del complejo SDDC: CuSO_4 en cambio, se produjo un aumento en el valor de la CMC, que podría deberse a que la interacción del SDDC con la sal metálica produce la oxidación del puente disulfuro con la consecuente ruptura de éste, generando el monómero correspondiente, como ya se mencionó, para lo cual es razonable encontrar un valor de CMC mayor. En la medida en que la concentración de CuSO_4 aumenta, hay mayor cantidad de monómero que se forma y como consecuencia aumenta la CMC (figura 3.23)

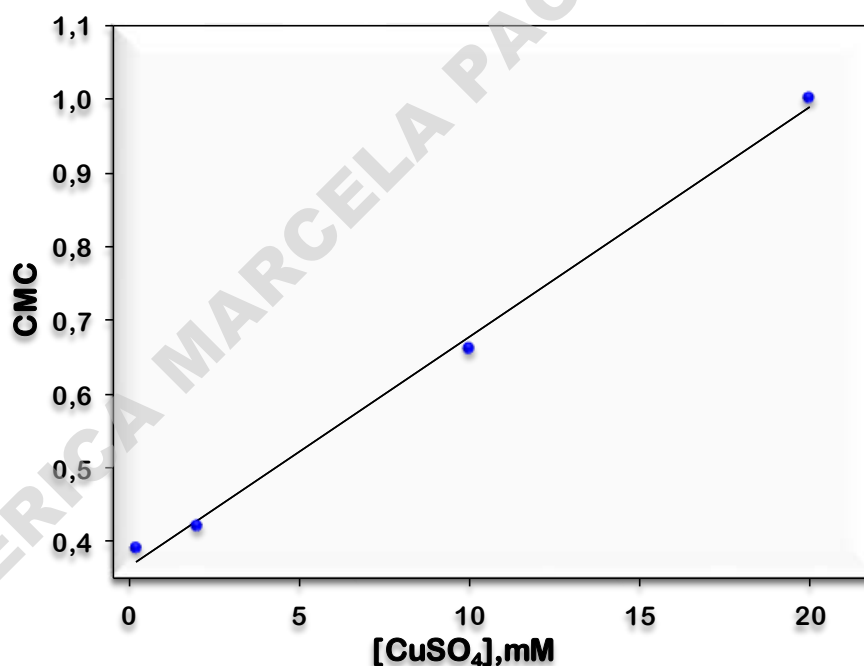


Figura 3.23. Gráfico de CMC en función de la concentración de CuSO_4 ,
[SDDC] = 3 mM

Los cambios en los valores de CMC, en estas soluciones (SDDC: CuSO_4), pueden deberse entonces a la presencia de una mezcla de surfactante gémini y el surfactante oxidado, debido a que la concentración de sal de cobre en todos

los casos es insuficiente para producir la oxidación completa del surfactante dimérico. En los complejos de SDDC con plata y hierro, no hay evidencias de esta reacción redox. En el caso de las mezclas SDDC: AgNO₃ se realizaron seguimientos por espectroscopia de fluorescencia para determinar si Ag⁺ presentaba reducción y en ese caso, deberían haberse observado clústers de Ag⁰, los cuales presentan señales de fluorescencia.³⁵ Sin embargo, no se encontraron cambios en estos espectros. Por otra parte, con el Fe³⁺ no hubo indicios de oxidación del surfactante.

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

3.4. CONCLUSIONES.

Como se mencionó al inicio de este capítulo, muchos sistemas anfifílicos pueden coordinarse con iones metálicos, y esta coordinación puede generar cambios en las propiedades de los agregados.

En la mezcla de SDDC: CuSO₄ aquí estudiada se produjeron dos resultados muy interesantes: por un lado, es posible utilizar este complejo en solución en un amplio intervalo de pH; tanto a pH= 5, donde se consiguió mantener disuelto al surfactante por la presencia del Cu²⁺, como a pH= 7 donde se pudo mantener disuelto al cobre, permaneciendo estas soluciones estables durante al menos 1 mes. Similares resultados fueron obtenidos con Ag⁺ y Fe³⁺.

Por otra parte, en todas las soluciones estudiadas, se observó un cambio en la morfología de los agregados, pasando desde micelas a vesículas en presencia de las sales metálicas.

En el estudio de los agregados formados con Fe³⁺ y Ag⁺ no se evidenció ninguna diferencia con respecto a la CMC de SDDC, lo cual podría atribuirse a que la concentración de la sal metálica es menor que la del surfactante y queda detergente libre formando micelas. En el caso del cobre, en tanto, se observó un cambio en el valor de esta CMC, que es proporcional a la cantidad de cobre agregado. Este comportamiento, junto al cambio de color observado en las soluciones de CuSO₄ en presencia de SDDC, que son verdes, a diferencia del CuSO₄ en agua, que es celeste, es indicativo de que ocurre una reacción química en este sistema.

Esta evidencia, junto a los datos obtenidos por espectrofotometría UV-Visible en presencia de Neocuproína, y a los resultados de EPR, confirmaron la presencia de Cu (I) en dichas soluciones. Los resultados indican que en este complejo ocurre una reacción de óxido-reducción, que implica la reducción del cobre y estaría acompañada por la oxidación del surfactante. Los experimentos confirmaron que parte del surfactante se modificó, oxidándose probablemente a un derivado de ácido cistéico, lo que implica la ruptura del puente disulfuro de la cisteína en el gémini.

3.5. REFERENCIAS

- (1) T. Owen and A. Butler, *Coord. Chem. Rev.*, **2011**, 255, 678–687.
- (2) X. Luo, W. Miao, S. Wu and Y. Liang, *Langmuir*, **2002**, 18, 9611–9612.
- (3) X. Huang, M. Cao, J. Wang and Y. Wang, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 19479–19486.
- (4) L. A. Abriata, L. J. González, L. I. Llarrull, P. E. Tomatis, W. K. Myers, A. L. Costello, D. L. Tierney and A. J. Vila, *Biochemistry (Mosc.)*, **2008**, 47, 8590–8599.
- (5) K. E. Amos, N. J. Brooks, N. C. King, S. Xie, J. Canales-Vázquez, M. J. Danks, H. B. Jervis, W. Zhou, J. M. Seddon and D. W. Bruce, *J. Mater. Chem.*, **2008**, 18, 5282–5292.
- (6) S. Joy, P. Pal, T. K. Mondal, G. B. Talapatra and S. Goswami, *Chem. - Eur. J.*, **2012**, 18, 1761–1771.
- (7) A. Mechler, B. D. Stringer, M. S. H. Mubin, E. H. Doeven, N. W. Phillips, J. Rudd-Schmidt and C. F. Hogan, *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.*, **2014**, 1838, 2939–2946.
- (8) I. A. Aiad, A. M. Badawi, M. M. El-Sukkary, A. A. El-Sawy and A. I. Adawy, *J. Surf. Deterg.*, **2012**, 15, 223–234.
- (9) B. H. Lipshutz and S. Ghorai, *Org. Lett.*, **2009**, 11, 705–708.
- (10) S. K. Mehta, R. Kaur and G. R. Chaudhary, *Colloids Surf.A: Physicochem. Eng. Asp.*, **2012**, 403, 103–109.
- (11) E. Parera, M. Marin-Garcia, R. Pons, F. Comelles, J. Suades and R. Barnadas-Rodriguez, *Organometallics*, **2016**, 35, 484–493.
- (12) Q. Zha, Q. Xie, Y. Hu, J. Han, L. Ge and R. Guo, *Colloid Polym. Sci.*, **2016**, 294, 841–849.
- (13) P. C. Griffiths, I. A. Fallis, T. Chuenpratoom and R. Watanesk, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2006**, 122, 107–117.
- (14) P. Garg, G. Kaur and G. R. Chaudhary, *RSC Adv*, **2016**, 6, 108573–108582.
- (15) S. Bhattacharya and N. Kumari, *Coord. Chem. Rev.*, **2009**, 253, 2133–2149.
- (16) Y. Liu, X.-G. Meng, J.-M. Li and X.-H. Li, *Colloids Surf.A: Physicochem. Eng. Asp.*, **2013**, 436, 839–845.
- (17) H. Fan, F. Han, Z. Liu, L. Qin, Z. Li, D. Liang, F. Ke, J. Huang and H. Fu, *J. Colloid Interface Sci.*, **2008**, 321, 227–234.
- (18) F. Burriel M., F. Lucena C., S. Arribas J. and J. Hernandez M, *Química Analítica Cualitativa*, Paraninfo Thomson Learning, Madrid, **1996**.
- (19) J. A. Creighton and D. G. Eadon, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1991**, 87, 3881–3891.
- (20) G. C. K. Roberts and O. Jardetzky, *Adv. Protein Chem.*, **1970**, 24, 447–545.
- (21) M. Villeneuve, R. Ootsu, M. Ishiwata and H. Nakahara, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 17830–17839.
- (22) X. Zhou, J. Xue, G. Wang and T. Lei, *J. Dispers. Sci. Technol.*, **2013**, 34, 32–36.
- (23) H. Kamimura, H. Ushio, S. Matsuno and T. Hamada, *Theory of Copper Oxide Superconductors*, Springer Science & Business Media, Berlin, **2005**.
- (24) SASfit: small angle scattering (SAS) data analysis software for fitting simple form factors and structure factors, <https://kur.web.psi.ch/sans1/SANSSoft/sasfit.html>, (accessed March 26, 2018).
- (25) D. Grubb, N. S. Murthy and O. Francescangeli, *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, **2016**, 54, 308–318.

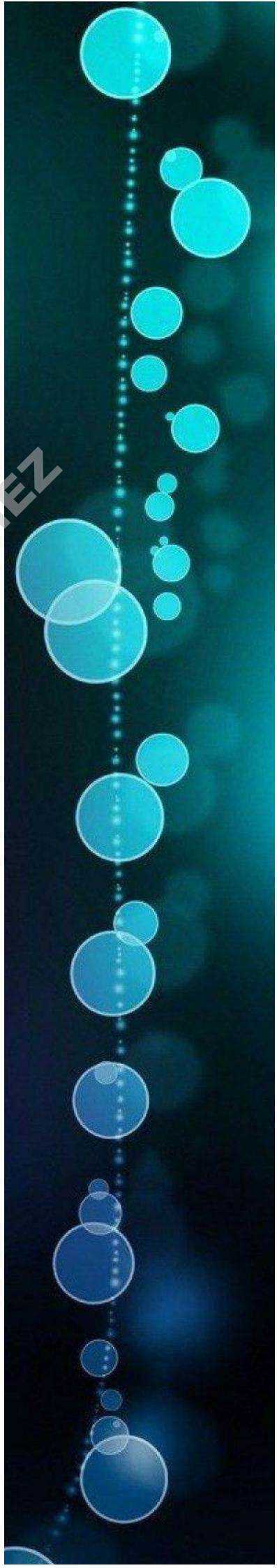
- (26) M. Łabanowska, E. Bidzińska, A. Para and M. Kurdziel, *Carbohydr. Polym.*, **2012**, 87, 2605–2613.
- (27) B. Kozlevčar, *Croat. Chem. Acta*, **2008**, 81, 369–379.
- (28) C. N. Verani, R. Shanmugam, F. R. Xavier, M. M. Allard and K. K. Kpogo, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 15296.
- (29) N. L. Pacioni, V. Filippenko, N. Presseau and J. C. Scaiano, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 5832.
- (30) G. F. Smith and W. H. McCurdy Jr, *Anal. Chem.*, **1952**, 24, 371–373.
- (31) S. Goldstein and G. Czapski, *Inorg. Chem.*, **1985**, 24, 1087–1092.
- (32) H. W. Fassbender and E. Bomemisza, *Química de Suelos con Énfasis en Suelos de América Latina.*, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), *Costa Rica*, **1987**.
- (33) AIST:Spectral Database for Organic Compounds, SDBS, http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_top.cgi, (accessed December 14, **2017**).
- (34) S. M. Tawfik and H. H. Hefni, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2016**, 82, 562–572.
- (35) H. Xu and K. S. Suslick, *ACS Nano*, **2010**, 4, 3209–3214.

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Capítulo 4

*Aplicaciones de surfactantes
gémuni y sus complejos con sales
metálicas.*

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ



ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ÍNDICE

4.1. INTRODUCCIÓN.....	90
4.2. OBJETIVOS.....	95
4.3. RESULTADOS	95
4.3.1. Oxidación del Fenol con el complejo de SDDC: CuSO_4	95
4.3.2. Hidrólisis de Trifluoroacetato de fenilo (TFAF).....	96
4.3.2.1. Cálculo de constantes de Asociación Sustrato-Micela	99
4.3.3. Actividad antimicrobiana de los surfactantes gémuni	102
4.4. CONCLUSIONES	109
4.5. REFERENCIAS	110

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Los surfactantes son compuestos muy interesantes, tanto desde el punto de vista científico como por sus aplicaciones industriales. En la actualidad se ha generado una atención particular por evaluar los llamados metalosurfactantes, los cuales son utilizados como catalizadores de reacciones químicas, puesto que se estiman como mejores catalizadores metálicos en comparación con los convencionales. Por otro lado, es conocido que las micelas y agregados relacionados poseen la capacidad de aumentar la solubilidad de moléculas orgánicas en agua.

Ésta y otras propiedades han hecho que estos sistemas sean ampliamente utilizados como nano-reactores para llevar a cabo diferentes reacciones de compuestos insolubles en agua.

En este capítulo se describirán, por un lado, los resultados obtenidos en el estudio del efecto del SDDC, tanto sólo como en presencia de CuSO_4 , sobre reacciones de compuestos insolubles (fenol y trifluoroacetato de fenilo) y, por otro lado, su aplicación como antimicrobianos.

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

4.1. INTRODUCCIÓN

En las últimas cuatro décadas, el mundo de los agregados a partir de surfactantes ha atraído un gran interés por parte de los científicos. Por ejemplo, se han descubierto una gran variedad de morfologías para estos agregados además de las micelas y vesículas que son las más conocidas.

El uso de tensioactivos en condiciones micelares representa uno de los métodos más sencillos para lograr incrementos en la velocidad de reacciones de compuestos orgánicos insolubles en agua, ya que los surfactantes son en la mayoría de los casos, muy económicos. Como han señalado recientemente Sorrenti y colaboradores,¹ los entornos micelares no son sólo una versión de la catálisis homogénea, sino que las micelas se comportan en sí mismas como nanorreactores caracterizados por propiedades únicas.

La mayoría de los tensioactivos disponibles comercialmente se derivan de materias primas del petróleo. Durante los últimos años han surgido algunas clases de bio-surfactantes donde la molécula anfifílica presenta alguna actividad biológica.² Estos últimos se han sintetizado a partir de recursos naturales mediante la transformación de levaduras, bacterias o plantas y poseen biodegradabilidad y biocompatibilidad intrínseca.

Algunos ejemplos conocidos están basados en glicolípidos, lipopéptidos, fosfolípidos, ácidos grasos y lípidos neutros.³ La mayoría de las veces son aniónicos o neutros, con la parte hidrofóbica de la molécula basada en ácidos grasos de cadena larga, o ácidos grasos α -alquil- β -hidroxi, y la parte hidrofílica basada en carbohidratos, aminoácidos, péptidos cíclicos, fosfatos, ácidos carboxílicos o alcoholes.² Los bio-surfactantes, gracias a sus propiedades de autoensamblado, presentan aplicaciones interesantes relacionadas directamente con el medio ambiente,⁴ como la eliminación de metales pesados y contaminantes orgánicos, como por ejemplo, la eliminación de aceites de suelos contaminados, o para mejorar la biorremediación.⁵ Sin embargo, su aplicación como medio de reacción para transformaciones químicas, sigue siendo un tema no muy investigado. El objetivo es que en un futuro próximo sus propiedades

peculiares, en particular la presencia de varios bio-surfactantes enantioméricamente puros, estimulen el empleo de los mismos para aplicaciones catalíticas como medios alternativos más amigables con el medio ambiente.⁶

El uso de sistemas micelares convencionales como medios de reacción en cambio, ha sido ampliamente estudiado, debido a la capacidad que éstos poseen para modificar la selectividad de los productos.^{7,8} Las velocidades de reacción de estos sistemas dependen principalmente de dos factores^{7,9} (a) interacciones electrostáticas, que pueden modificar la energía del estado de transición o la concentración de los reactantes en las vecindades del sitio de reacción, (b) interacciones hidrofóbicas, que afectan el grado y lugar de solubilización del sustrato. Estos efectos se conocen como *Efectos de Medio Micelar* (EMM). El primero de ellos es quizás el más importante para reacciones bimoleculares¹⁰ debido a que, en general, las mismas ocurren en la interfase acuosa de la micela.⁹ Por otro lado, el segundo efecto está relacionado con la pérdida de entropía del reactante y tiene un rol fundamental en la catálisis enzimática. En ambos casos, la asociación del sustrato con la micela es esencial para que ocurra la catálisis.¹¹

Los sistemas micelares funcionalizados pueden convertirse en catalizadores mucho más eficaces para la hidrólisis de ésteres de carboxilato o fosfato si se desarrollan mediante la incorporación de iones metálicos de transición para dar un conjunto denominado metaloagregados.^{12,13} El empleo de los metaloagregados se basa en el modelo de acción de las metaloenzimas, como la carboxipeptidasa A que contiene Zn^{2+} , y se fundamentan en los conocidos efectos catalíticos que ejercen los cationes metálicos en las reacciones de clivaje hidrolítico.^{14,15} Se sabe que estos efectos implican: (a) catálisis por ácidos de Lewis; (b) neutralización de la carga; (c) activación de funciones nucleofílicas o de moléculas coordinadas de agua al reducir sustancialmente su pKa, y, por lo tanto, catálisis nucleofílica; (d) la asistencia en la salida del grupo saliente. Por otra parte, aunque se ha pasado por alto en gran medida, el papel más relevante del ion metálico es lo que probablemente se conoce como efecto de plantilla, es decir, la capacidad que tiene el ión de unirse a un ligando correctamente diseñado, o para asociarse también al sustrato, de manera que el reactivo y el sustrato se acerquen y de alguna manera estén organizados u orientados.¹⁶

Las reacciones de hidrólisis catalizadas por base, han sido ampliamente utilizadas como reacciones modelo para evaluar EMM en reacciones químicas, debido a su mecanismo bien conocido y relativamente simple (un esquema general de la reacción de hidrólisis de un éster derivado de fenol se presenta en el esquema 4.1).^{17,18} En nuestro laboratorio, hace varios años, se estudió la reacción de hidrólisis de ésteres derivados de trifluoroacetato de fenilo, TFAF (**1** en la figura 4.1),¹⁹ y el estado de transición de estas reacciones puede ser representado por la estructura **2**,²⁰ donde B es cualquier base, incluyendo agua.

Considerando ese estado de transición, la densidad de carga negativa en el resto orgánico aumenta en el mismo cuando se produce la reacción, por lo tanto, se esperan interacciones desfavorables con micelas aniónicas, pero el estado de transición no se debería ver considerablemente afectado por micelas no iónicas.

El estudio de la hidrólisis de trifluoroacetato de fenilo en agua ha sido llevado a cabo en presencia de los surfactantes Polioxietilen (23) Lauril éter (Brij-35), Dodecilsulfato de sodio (SDS) y ácido perfluorononanoico.²¹



Esquema 4.1. Reacción general de hidrólisis de un éster.

Ar= sustituyente aromático, R= sustituyente alquílico.

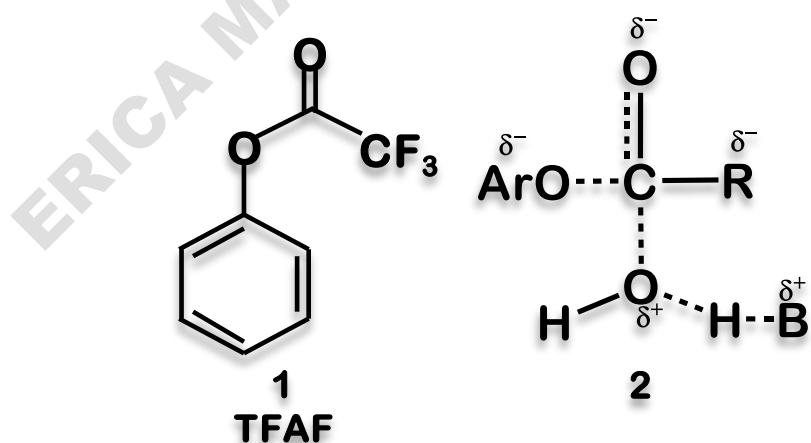


Figura 4.1. Estructura de trifluoroacetato de fenilo (**1**) y el estado de transición de su reacción de hidrólisis (**2**)

Una reacción de mucho interés ambiental es la oxidación del fenol. Se ha utilizado en su estudio la catálisis por enzimas desde los años ochenta. En 1983, Klibanov²² fue el primero en utilizar peroxidasa de rábano picante para eliminar los fenoles en aguas residuales. Desde entonces, ha habido muchos avances en el estudio de la oxidación catalítica del fenol y sus derivados, pero sigue siendo un tema de interés.

En la actualidad, existen áreas de investigación y aplicaciones con respecto a la reacción de oxidación del fenol. Por ejemplo, los polímeros de gran tamaño que se usan en síntesis de materiales industriales provienen de la oxidación catalítica del fenoles con peróxido²³⁻²⁵ El mismo proceso se utiliza para precipitar el contenido de fenoles tóxicos en las aguas residuales de las fábricas y proteger el medio ambiente.²⁶⁻²⁸ Así, el estudio de la oxidación catalítica del fenol atrae a muchos investigadores, por la importancia que tiene la resolución de este problema.

A su vez, la oxidación selectiva de compuestos aromáticos desempeña un papel vital en síntesis orgánica y en muchos sistemas biológicos.²⁹⁻³² Los fenoles y los alcoxiarenos se utilizan en la fabricación de resinas, plásticos, productos químicos refinados y productos farmacéuticos.^{33,34} Las transformaciones oxidativas de anillos aromáticos activados y ricos en electrones ofrecen un acceso efectivo a quinonas sustituidas, que sirven como bloques de construcción versátiles en la síntesis de una amplia gama de compuestos biológicamente activos.^{33,35} Hasta hace poco tiempo, oxidantes inorgánicos no amigables con el medio ambiente, y a menudo muy tóxicos y cancerígenos, como el dicromato y el permanganato, se empleaban tradicionalmente para lograr la oxifuncionalización de compuestos aromáticos.^{30,36} La oxidación estequiométrica de fenoles con compuestos metálicos y no metálicos también fue estudiada por Yamamura.³⁰

Mientras tanto, la creciente atención hacia la sostenibilidad económica y ambiental está impulsando a la comunidad científica a desarrollar procesos químicos que ayuden a eliminar el uso de reactivos nocivos y disminuir la generación de residuos. Por lo tanto, la oxidación selectiva de fenoles y otros compuestos aromáticos utilizando oxidantes amigables con el medio ambiente y catalizadores reciclables eficientes es un reto que se presenta para la síntesis orgánica.

Los tensioactivos poseen restos tanto hidrófilos como hidrófobos, y la estructura anfifílica les confiere funciones únicas como agentes humectantes, solubilizantes, emulsionantes,^{37,38} etc. Generalmente, los tensioactivos catiónicos presentan una amplia gama de aplicaciones biomédicas,³⁹⁻⁴¹ especialmente como agentes antibacterianos.³⁹ Hasta la fecha, varios tensioactivos catiónicos han sido diseñados para desarrollar un alto grado de inhibición de bacterias, principalmente mediante la focalización y desintegración de membranas celulares bacterianas a través de interacciones electrostáticas e hidrofóbicas.^{39,40} Se han diseñado varios tensioactivos catiónicos para desarrollar agentes antimicrobianos de alta eficiencia con baja concentración inhibitoria mínima⁴¹⁻⁴⁴ y así reducir la exposición de las bacterias a los surfactantes y frenar el desarrollo potencial de resistencia bacteriana.⁴⁵⁻⁴⁷ Se ha encontrado que la actividad antibacteriana de los tensioactivos aumenta con el aumento de la cantidad de cargas positivas y cadenas hidrofóbicas.

Por ejemplo, Zhu y colaboradores sintetizaron surfactantes gémmini catiónicos con espaciadores semirrígidos, evaluando las actividades antimicrobianas de estos surfactantes contra bacterias Gram positivas y Gram negativas; los resultados encontrados muestran que estos surfactantes presentan un excelente efecto antimicrobiano.⁴⁸ Por otro lado, Tawfik y Hefni sintetizaron surfactantes catiónicos y los acomplejaron con cobalto (I), cobre (II) y zinc (II) y evaluaron la actividad antimicrobiana, tanto de los surfactantes, como la de los metalosurfactantes contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, encontrando una buena actividad antimicrobiana con los complejos de surfactante-metal en comparación con el tensioactivo solo.⁴⁹

Dados estos antecedentes se evaluó la capacidad catalizadora de los surfactantes gémmini sintetizados, tanto sólo como en presencia de metales, así como su actividad como antimicrobianos.

4.2. OBJETIVOS

- ⌘ Evaluar posibles aplicaciones de los sistemas anfílicos formados por surfactantes gémini y sales metálicas como catalizadores de reacciones de compuestos orgánicos poco solubles en agua.
- ⌘ Determinar la capacidad de los surfactantes gémini y sus sales metálicas para actuar como agentes antimicrobianos.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Oxidación del Fenol con el complejo de SDDC: CuSO_4 .

Se estudió el efecto catalítico del complejo SDDC: CuSO_4 (10:1), sobre la oxidación del fenol con peróxido de hidrógeno. La reacción bajo estudio se muestra en el esquema 4.2. Cabe destacar que esta reacción en ausencia del catalizador es muy lenta, con tiempos de vida media de semanas.⁵⁰



Esquema 4.2. Reacción general de la oxidación del Fenol en presencia de catalizadores (surfactante y complejos metálicos)

Hay algunos ejemplos en la literatura en donde se utiliza Cu^{2+} como catalizador, pero es necesario además agregar ligandos adecuados para coordinar el Cu^{2+} y mantenerlo en solución.

La idea de este estudio fue aprovechar el sistema micelar para incrementar la solubilidad del fenol en agua teniendo en el medio el metal como catalizador, acompañado con el surfactante. De esta manera podría evitarse el uso de otro ligando.

Los resultados experimentales obtenidos no fueron buenos. Lamentablemente no se observó actividad catalítica. Se esperaba que las constantes de velocidad de la reacción de la oxidación del fenol fueron mayores en las soluciones de metalomicelas que en las soluciones de buffer o surfactantes solo, pero en ningún caso se obtuvieron aumentos de la velocidad para la reacción de oxidación. En la literatura se han descrito algunas metalomicelas aplicadas a la oxidación fenólica por H_2O_2 que mostraron una buena actividad catalítica, incluso similar a las enzimas naturales,³⁸ pero lamentablemente no fue éste el caso.

Esto se puede deber a que en el complejo SDDC: $CuSO_4$ se está generando una reacción de oxido-reducción como se mencionó en el capítulo anterior, en donde el cobre esta reducido. Por tal motivo la metalomicela no se estaría comportando como un catalizador que simulara la función de una peroxidasa con Cu^{2+} en la oxidación del fenol en presencia de peróxido de hidrógeno.

Los detalles experimentales respecto a la determinación de las constantes de velocidad observadas se informan en el capítulo 5.

4.3.2. Hidrólisis de Trifluoroacetato de fenilo (TFAF)

Como ya se mencionó, esta reacción ha sido estudiada en el grupo, en presencia de diferentes sistemas micelares.^{19,21} En todos los casos se observa inhibición de la reacción debido a que el sustrato se incorpora al sistema micelar y se solubiliza en la zona superficial de la micela, donde no se ve afectado por la naturaleza de los surfactantes y está menos disponible para el agua como nucleófilo.

La idea de este estudio fue encontrar un efecto catalítico sobre la reacción por la presencia de Cu^{2+} , que puede permanecer en solución coordinado con el surfactante SDDC.

Los resultados obtenidos para la hidrólisis de TFAF en presencia de SDDC y de los complejos de SDDC: $CuSO_4$ (100:1) y SDDC: $CuSO_4$ (10:1) se presentan

en la tabla 4.1 y figura 4.2. Las reacciones se siguieron por espectrofotometría UV-Visible midiendo la aparición del fenol a 272 nm.

Tabla. 4.1. Constantes de velocidad observadas (s^{-1}) para la hidrólisis de TFAF en presencia de SDDC y SDDC: $CuSO_4$.^a

k_{obs}, s^{-1}			
[Surfactante], mM	SDDC	SDDC: $CuSO_4$ (100-1)	SDDC: $CuSO_4$ (10:1)
---	$3,6 \pm 0,6$	$3,6 \pm 0,6$	$3,6 \pm 0,6$
0,1	$3,2 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,3$
0,3	$3,2 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,1$
0,7	$3,2 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,2$
1,0	$3,0 \pm 0,2$	$3,2 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,2$
2,0	$2,9 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,1$
3,0	$2,7 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,1$
5,0	$2,5 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,2$
7,5	$2,4 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,1$	
10,0	$2,3 \pm 0,2$	$2,0 \pm 0,1$	

^a[TFAF]= 0,1 mM; T= $(30,0 \pm 0,1)$ °C; pH 7,00, el solvente contiene ACN= 3,8%, $\lambda = 272$ nm.

Cada valor es el promedio de al menos 12 determinaciones, y los errores corresponden a los valores de desviación estándar.

Si bien el surfactante y los complejos utilizados presentan diferentes características, el comportamiento del TFAF es el mismo. En todos los medios y en todas las condiciones, a concentraciones por debajo de la CMC del surfactante y de los complejos, el valor de la constante de velocidad observada, k_{obs} , prácticamente no varía, y es muy parecido al obtenido en agua ($3,6 \pm 0,6$) s^{-1} , mientras que al superar la CMC del sistema se observa una leve disminución entre 1,2 y 1,8 veces. Como se mencionó en la introducción, existen varios factores que pueden modificar las reacciones en medios micelares respecto al agua.¹⁰

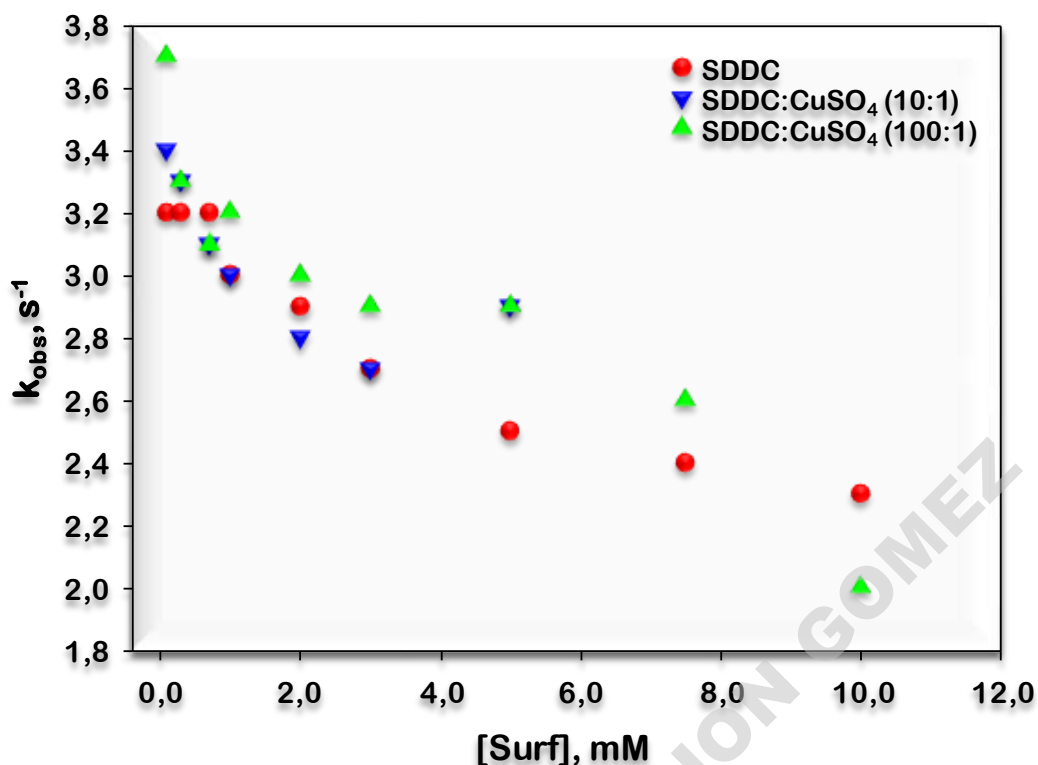


Figura 4.2. Efecto de la concentración de los surfactantes sobre la constante de velocidad observada. [TFAF] = 0,1 mM; T = (30,0 ± 0,1) °C; pH 7,00, el solvente contiene ACN = 3,8%; λ = 272 nm.

Un comportamiento similar al observado para TFAF, en presencia de surfactantes, ya había sido descrito por Menger y Portnoy en 1967, cuando estudiaron la hidrólisis de acetato de *p*-nitrofenilo, en presencia de surfactantes aniónicos y catiónicos.⁵¹ En este trabajo los autores encontraron inhibición en presencia del ácido láurico (aniónico), y del bromuro de dodeciltrimetilamonio (catiónico), y la explicaron considerando que el sustrato se incluye en la parte acuosa externa de la micela o directamente en la superficie micelar, lo cual genera disminución de las constantes de velocidad de la hidrólisis.

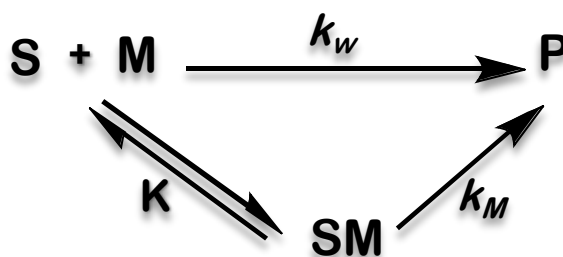
Más recientemente, TFAF en presencia de SDS y Brij-35,²¹ también mostró disminución en la constante de velocidad de hidrólisis al aumentar la concentración de los surfactantes. Dicha inhibición fue explicada en términos de desestabilización electrostática del estado de transición de la reacción y en una menor disponibilidad del sustrato asociado a la micela hacia el ataque del nucleófilo. En otro caso, Campos-Rey y colaboradores estudiaron la hidrólisis de

cloroformiato de *p*-nitrofenilo y 2,2-dicloropropionato de *p*-nitrofenilo en presencia de SDS y de cloruro de benzoilo en presencia Brij-35.⁵² En ese estudio se encontró también una disminución de la constante de velocidad al aumentar la concentración de surfactante.

Por otra parte, Qui y colaboradores estudiaron la hidrólisis de *p*-nitrofenil picolinato (PNPP) en micelas de surfactantes gémini (variando el largo del espaciador) y sistemas metalomicelares⁵³ en los cuales hay presente Cu(II) y Ni(II). A diferencia de lo observado en nuestro trabajo, estos autores comprobaron que los sistemas metalomicelares que contenían tensioactivos gémini, mostraron una mayor eficiencia para la hidrólisis del PNPP en comparación con los sistemas que contenían surfactantes convencionales; a su vez observaron que la actividad catalítica aumenta con la longitud del espaciador, debido a las diferentes estructuras de agregación micelar de los tensioactivos. Lamentablemente nuestros resultados no van en consonancia con lo observado por estos autores.

4.3.2.1. Cálculo de constantes de Asociación Sustrato-Micela

Los datos cinéticos pueden ser analizados utilizando el modelo de pseudofase desarrollado por Menger y Portnoy.⁵¹ El mismo considera el sistema dividido en dos regiones diferentes: una pseudofase micelar, y una acuosa, como se muestra en el esquema 4.3. El sustrato se distribuye entre ambas regiones y la hidrólisis puede ocurrir tanto desde el sustrato en medio acuoso, como desde el sustrato en el sistema micelar.



Esquema 4.3. Representación de la hidrólisis de un sustrato S en un sistema micelar.

En este esquema, S representa al sustrato, M a la micela, P son los productos, y K es la constante de asociación Sustrato-Micela, y k_w y k_M representan las constantes de velocidad de hidrólisis de pseudo-primer orden en el seno acuoso y en la micela, respectivamente. La constante de asociación, K, está expresada en términos de la concentración de surfactante micelizado ($[Surf_T] - CMC$). De esta manera, y siempre que la reacción sea de primer orden^{54,55} (o pseudo-primer orden), se puede derivar la ecuación 4.1 para la constante de velocidad observada en función de la concentración de surfactante.

$$k_{obs} = \frac{k_w + k_M K ([Surf]_T - CMC)}{1 + K ([Surf]_T - CMC)} \quad 4.1.$$

Cabe aclarar que para poder utilizar esta ecuación se han asumido una serie de aproximaciones:

- El sustrato no se acompleja con el monómero de surfactante.⁹
- El sustrato no perturba la micelización (esto es cierto cuando el sustrato está en muy baja concentración).
- La micelización ocurre exactamente a la CMC.

Los datos de la constante observada versus la concentración del surfactante (tabla 4.1) no se pudieron ajustar a la ecuación 4.1. Este hecho implica que el mecanismo planteado en el esquema 4.3 no corresponde al sistema estudiado. Si el segundo término del numerador se iguala a cero, lo cual implicaría que k_M es muy pequeño con respecto a k_w , la ecuación 4.1 puede reordenarse a la ecuación 4.2. Esto significaría que la contribución a la reacción de hidrólisis desde el sustrato asociado a la micela es mucho menor que la hidrólisis del sustrato en agua.

$$\frac{1}{k_{obs}} = \frac{1 - KCMC}{k_w} + \frac{K}{k_w} [Surf]_T \quad 4.2.$$

Graficando la inversa de la constante de velocidad observada en función de la concentración de surfactante, usando los valores de concentración que están por encima de la CMC, se define una recta, a partir de cuya pendiente se puede

obtener el valor de la constante de asociación. En la figura 4.3 se observa el gráfico representativo para la hidrólisis de TFAF en presencia SDDC, para las otras soluciones ver anexos A 5.

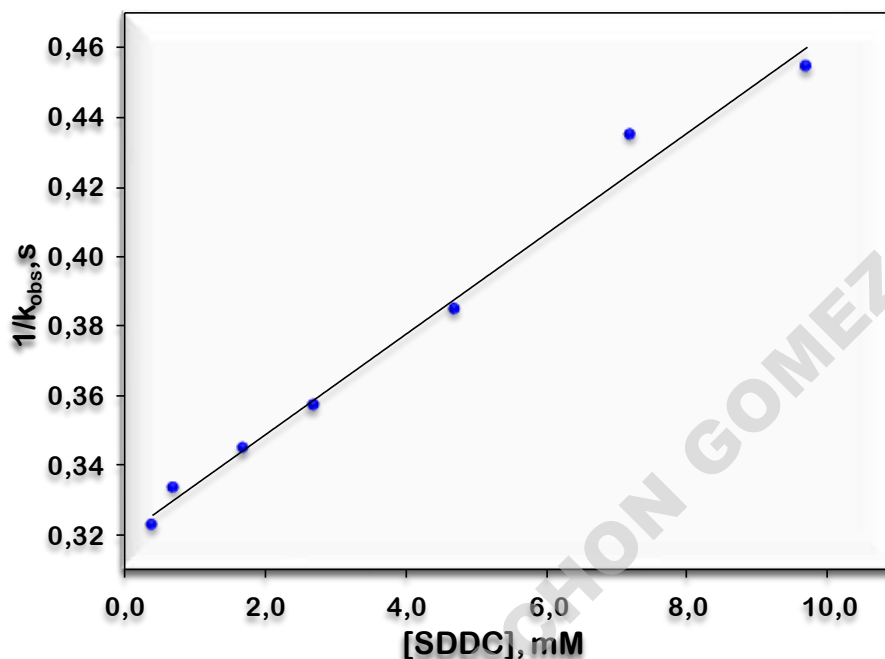


Figura 4.3. Inversa de la constante de velocidad observada para la hidrólisis de TFAF, en función de la concentración del surfactante SDDC.

Los datos de la constante de velocidad observada para la hidrólisis de TFAF, en presencia de las mezclas de SDDC: CuSO₄, también ajustaron a la ecuación 4.2, y a partir de los ajustes, se obtuvieron los valores de constantes de asociación entre el sustrato y los distintos agregados. Los mismos se informan en la tabla 4.2.

Tabla 4.2. Constantes de asociación (M⁻¹) entre el TFAF con distintos sistemas de tensioactivos estudiados, determinadas a partir de la ecuación 4.2

SURFACTANTE	K, M ⁻¹
SDDC	52 ± 3
SDDC: CuSO ₄ (10:1)	69 ± 2
SDDC: CuSO ₄ (100:1)	73 ± 5

Los valores de constantes de asociación de TFAF con el surfactante SDDC y los complejos fueron muy similares a los reportados en la literatura para el mismo sustrato, o para otros compuestos aromáticos, en presencia de diferentes surfactantes. Por ejemplo, Torres y colaboradores encontraron un valor de 65 M^{-1} para la asociación del trifluoroacetato de fenilo con dodecilsulfato de sodio (SDS).²¹ En otro ejemplo, Muñoz y colaboradores encontraron un valor 61 M^{-1} para la asociación de Cloruro de benzoilo, con SDS.⁵⁶

En la tabla 4.2 se puede observar que para las metalomicelas hay una cierta tendencia de aumento en la constante de asociación, a medida que disminuye la proporción de cobre en el complejo. Sin embargo este cambio no es relevante, la falta de diferencias cuando se modifica el medio de hidrólisis podría estar indicando que el sustrato (TFAF) se incorpora dentro de la micela y está menos disponible para el agua actuando como nucleófilo, como ha sido descrito con otros surfactantes.²¹

4.3.3. Actividad antimicrobiana de los surfactantes gémmini

Se estudió el efecto antimicrobiano de los surfactantes gémmini sintetizados, tanto solos, como en presencia de las sales metálicas. Este trabajo fue realizado en colaboración con la Dra. Mariana Núñez Fernández y el Lic. Martin Der Ohannesian del Centro de Química Aplicada (CEQUIMAP) de esta Facultad.

Se evaluó el efecto inhibitorio del surfactante gémmini SDLC, sobre el crecimiento de bacterias Gram positiva (*Staphylococcus aureus*) y Gram negativa (*Escherichia coli*). En la tabla 4.3 se presenta el efecto del surfactante SDLC sobre ambas bacterias encontrándose que a concentraciones de surfactante tan bajas como $5,4 \times 10^{-6} \text{ M}$ se produce un 71% de inhibición del crecimiento de *S. aureus*. Por otra parte, este surfactante no resulta adecuado para la inhibición en el crecimiento de *E. coli*. Este efecto de inhibición en bacterias Gram positivas probablemente se deba al largo de la cadena que facilita su incorporación en la membrana celular bacteriana en comparación con la membrana de una Gram

negativa. Por otro lado, la no inhibición de la *E. coli*, ya se ha reportado en otros estudios, donde observan la disminución de la penetración y perturbación de la membrana celular, generada por la interacción entre las cargas del surfactante y la membrana celular.⁵⁷

En las tablas 4.4 y 4.5 se muestran los resultados obtenidos en el estudio del efecto del surfactante SDDC, y de sus complejos metálicos, sobre el crecimiento de los dos microorganismos. Además, se han realizado similares experimentos utilizando un antimicrobiano comercial, ampicilina. Este compuesto es muy usado en infecciones en el torrente sanguíneo, tracto intestinal, tracto urinario, etc.⁵⁸

Por otro lado, se han realizado los correspondientes controles utilizando las sales metálicas en ausencia del surfactante. Las figuras 4.4 y 4.5 expresan estos resultados.

Tabla 4.3. Estudio de la Inhibición en el crecimiento de bacterias a diferentes concentraciones de SDLC.^a

Microorganismo	% Inhibición				
	[SDLC], 10 ⁻⁴ M				
	0,018	0,036	0,054	0,072	0,090
<i>Staphylococcus aureus</i> ^b	16	0,8	71	80	86
<i>Escherichia coli</i> ^c	No se observó efecto Inhibitorio				

^aT= 41°C, Tiempo= 24 horas pH= 7,00

^b[*S. aureus* ATCC 25923]_{Inicial} = 38.000 Unidades Formadoras Colonias (UFC),

^c[*E. coli* ATCC 25922]_{Inicial}= 33.000 Unidades Formadoras Colonias (UFC).

Tabla 4.4. % de Inhibición en el crecimiento de una bacteria Gram positiva a diferentes concentraciones de agentes antimicrobianos ^a

% Inhibición						
[Antimicrobiano], mM	<i>Staphylococcus aureus</i> ^b					
	SDDC	SDDC:CuSO ₄ (10:1)	SDDC:AgNO ₃ (10:1)	Ampicilina	CuSO ₄	AgNO ₃
0,01	0	0	0	41	0	0
0,06	0	0	0	60	0	0
0,12	4	46	64	71	0	0
0,18	95	95	96	83	0	0

^aT= 36°C, Tiempo= 24 horas y pH= 7,00,
^b[*S. aureus* ATCC 25923]_{inicial} = 5×10⁴ UFC/mL.

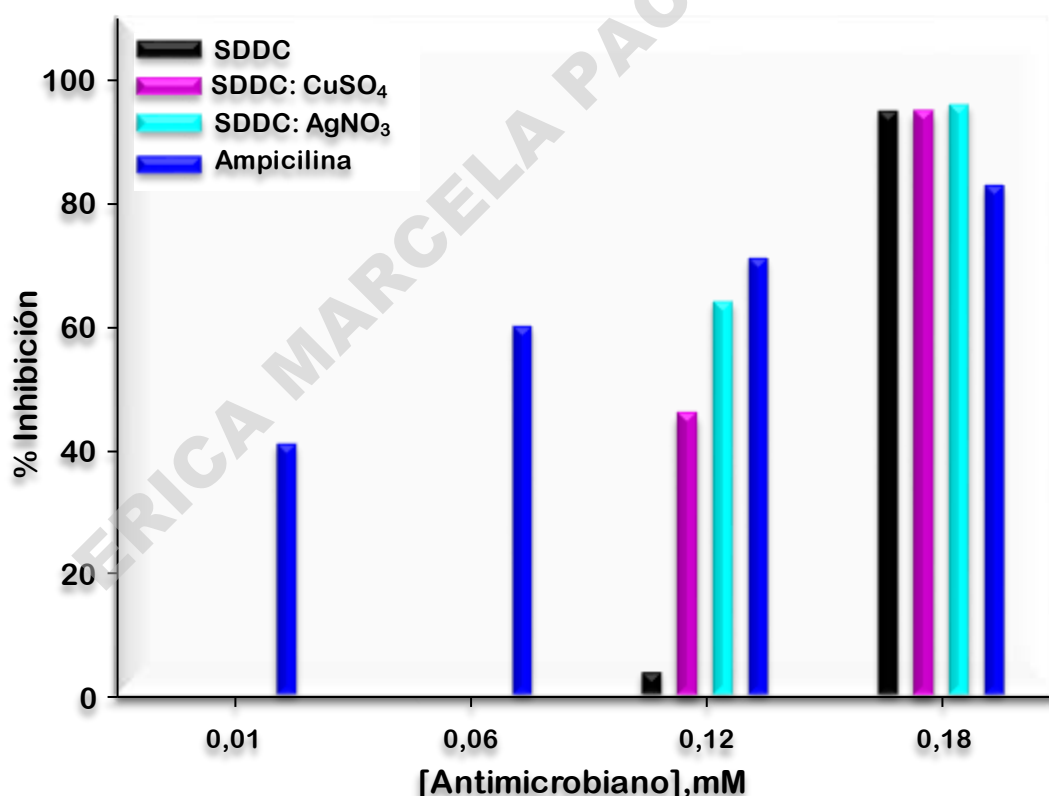


Figura 4.4. Comparación del % de Inhibición en el crecimiento de una bacteria Gram positiva (*S. aureus*) a diferentes concentraciones de SDDC, SDDC: sales metálicas y ampicilina.

Tabla 4.5. % de Inhibición en el crecimiento una bacteria Gram negativa a diferentes concentraciones de agentes antimicrobianos ^a

% Inhibición						
[Antimicrobiano], mM	<i>Escherichia coli</i> ^b					
	SDDC	SDDC:CuSO ₄ (10:1)	SDDC:AgNO ₃ (10:1)	Ampicilina	CuSO ₄	AgNO ₃
0,01	29	70	0	0	0	N.C*
0,06	88	83	89	80	0	N.C*
0,12	88	60	88	99	0	0
0,18	87	90	83	99	12	35

^aT= 36°C, Tiempo= 24 horas y pH 7,00

^b[*E.coli* ATCC 25922]_{inicial} = 5×10⁴ UFC/mL.

*N.C.= No Cuantificado

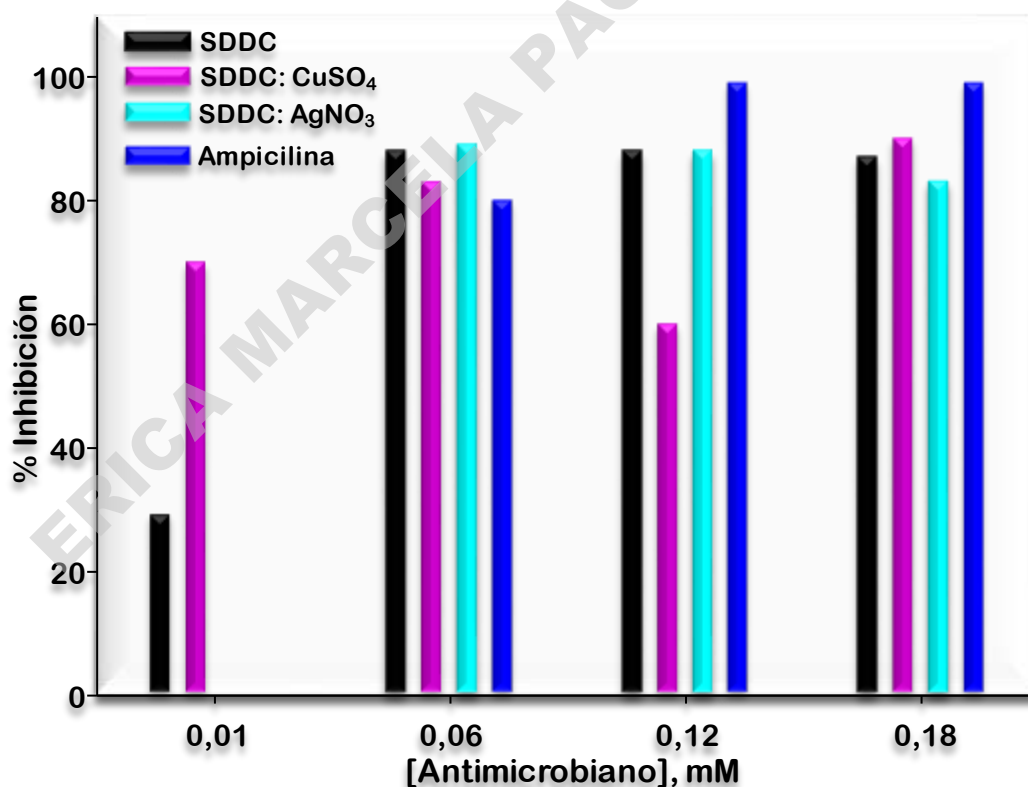


Figura 4.5. Comparación del % de Inhibición en el crecimiento de una bacteria Gram negativa (*E. coli*) a diferentes concentraciones de SDDC y SDDC: sales metálicas y ampicilina.

En las tablas 4.4 y 4.5, se puede apreciar la eficiencia de inhibición del surfactante gémmini SDDC tanto sólo, como en presencia de los iones metálicos, puesto que todos los sistemas reducen el crecimiento de ambas bacterias estudiadas.

El SDDC inhibe eficientemente el crecimiento de *S. aureus* a una concentración de 0,18 mM, mientras que, acompañado con sales de cobre y plata, se encuentra aproximadamente un % 50 de inhibición con una concentración de 0,12 mM. Si se comparan estos resultados con los obtenidos con un antimicrobiano convencional (ampicilina), el surfactante es más eficiente a concentraciones altas. Sin embargo, la ampicilina es mejor antimicrobiano a bajas concentraciones. Por otro lado, las sales metálicas no produjeron inhibición a ninguna de las concentraciones ensayadas.

En el caso de *E. coli*, el SDDC, tanto sólo como acompañado con los metales, se comporta de manera similar, pero inhibiendo alrededor de un 90 % del crecimiento bacteriano con una concentración tan baja como 0,06 mM. En este caso, la ampicilina tiene un comportamiento similar. Sin embargo, a una concentración, de 0,01mM, el SDDC produjo un 29% de inhibición, en tanto que acompañado con CuSO_4 , todavía se consigue un 70% de inhibición. La ampicilina y el complejo de SDDC con AgNO_3 no resultan efectivos a dicha concentración.

En la literatura se describe que la capacidad antibacteriana depende del balance hidrofílico- hidrofóbico de los anfífilos. En el caso de surfactantes catiónicos, las cabezas polares con carga positiva interactúan con la membrana celular bacteriana cargada negativamente, perturbándola mediante interacciones electrostáticas e hidrofóbicas, que conducen a la liberación de componentes citoplasmáticos, y por último generan la muerte celular.^{40,59}

Por otra parte, la mayor actividad antibacteriana explicada para los anfífilos diméricos catiónicos en comparación con la de sus homólogos monoméricos, se atribuye al mayor número de cargas positivas, así como a la mayor hidrofobicidad, lo que lleva a una mejor interacción con la superficie celular bacteriana. Existe una secuencia de fenómenos que ocurren con los microorganismos expuestos a los tensioactivos catiónicos como: (a) adsorción y

penetración del surfactante a la pared celular; (b) reacción con la membrana citoplasmática (lípidos o proteínas) seguida por la desorganización de la membrana; (c) filtración de materia intracelular de bajo peso molecular; (d) degradación de los ácidos proteicos y nucleicos; y (e) pérdida de la pared causada por la autólisis.⁴⁹

Sin embargo, nuestro análisis de la literatura indica que no hay reportes con surfactantes que posean carga aniónica con lo cual no se pueden establecer comparaciones con el sistema estudiado en este trabajo. Aquellos sistemas que presentan otro tipo de carga (zwitterionicos) muestran muy buenas perspectivas para ser utilizados como agentes antimicrobianos.⁶⁰

En el caso de metalosurfactantes, su buena actividad antibacteriana se explica por la liberación de algunos iones metálicos de los metaloagregados, que logran ser adsorbidos en la superficie de las bacterias, y pueden transportar una gran cantidad de cargas negativas por fuerzas electrostáticas, y así consiguen destruir el balance de carga de las bacterias, llevando a que las células se deformen seriamente hasta que las bacterias mueren por bacteriólisis.⁶¹ Además, los iones metálicos que penetran las bacterias a través de la membrana celular, interactúan con algunos grupos funcionales como el sulfhidrilo (SH), el amino (NH₂) y el grupo hidroxilo (OH), para cambiar la estructura y rendimiento de las proteínas y así generar la muerte en ausencia del metabolismo normal.⁶²

Una explicación posible para este aumento de la actividad tras la quelación es que, en el complejo quelado, la carga positiva del metal se comparte parcialmente con los átomos donantes presentes en los ligandos, y existe una deslocalización de electrones en todo el complejo. Esto, a su vez, puede aumentar el carácter lipofílico del quelato metálico y, por lo tanto, permitir impregnar las capas lipoides de la membrana bacteriana. Generalmente, se sugiere que los complejos quelados desactivan varias enzimas celulares y que juegan un papel indispensable en varias vías metabólicas de estos microorganismos.⁴⁹ En este trabajo los metalosurfactantes presentan buena actividad biocida en comparación con el surfactante gémini solo.

En la literatura se discute sobre la resistencia de las bacterias a una amplia gama de metales antimicrobianos, puesto que los metales tienen una larga

historia empírica en usos humanos, en la medicina y agricultura, a pesar de los efectos tóxicos en el huésped o las dudas sobre su eficiencia. Esta resistencia antimicrobiana a los iones metálicos, que se ha encontrado en microorganismos patógenos y no patógenos, ha estado presente desde mucho antes de que los microbiólogos se dieran cuenta de que éstos existían. Incluso ahora, los elementos genéticos de las bacterias que codifican la resistencia a iones metálicos parecen estar desempeñando un papel importante en el rechazo a múltiples medicamentos.⁶³ De hecho, los datos logrados en los ensayos antimicrobianos descritos en las tablas 4.4 y 4.5, donde no se observa efecto inhibitorio por parte de las sales metálicas en ausencia de surfactante, concuerda con lo descrito en la literatura.

Kaur y colaboradores utilizaron tensioactivos metálicos con un núcleo a base de aminas como precursores para la fabricación de nanopartículas metálicas de Cobalto, Níquel y Cobre,⁶⁴ y realizaron ensayos de actividad antimicrobiana con los metalosurfactantes y las nanopartículas con tres tipos de microorganismos (Bacterias Gram negativas, Gram positivas y un hongo). Los resultados obtenidos fueron que los metalosurfactantes y sus correspondientes nanopartículas mostraron actividad antimicrobiana considerable. Estos resultados están en concordancia con los obtenidos en este trabajo. Sin embargo, en el trabajo de Kaur la actividad de las nanopartículas resultó más alta en comparación con los complejos de surfactante con metales.

4.4. CONCLUSIONES

Dado que el mecanismo de reacción del éster TFAF es bien conocido de estudios previos, en este trabajo se lo utilizó como sustrato modelo para poder estudiar el comportamiento de los surfactantes gémini y los metalosurfactantes como nano-reactores.

La hidrólisis de TFAF en presencia del surfactante gémini y los metalosurfactantes, se inhibe cuando el sustrato se incorpora al sistema micelar. Los resultados obtenidos respecto al comportamiento de este sustrato en los sistemas micelares estudiados estarían indicando que este sustrato se solubiliza en la zona superficial de la micela, donde no se ve tan afectado por la naturaleza del surfactante y los metalosurfactantes, por ello su comportamiento es similar en todos los sistemas evaluados.

Por otro lado, la contribución de la velocidad de hidrólisis de TFAF asociado a la micela a la constante global observada, es insignificante. Esto implica que cuando el sustrato se asocia con la micela, está menos disponible para que el agua actúe como nucleófilo. La similitud en el comportamiento de este sustrato en los tres sistemas micelares indica que, en todos los casos, el carbonilo del éster está protegido del ataque del agua.

En cuanto a las posibles aplicaciones de los surfactantes gémini, particularmente SDDC, tanto sólo como en presencia de sales metálicas, se demostró que presenta una buena actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, en comparación con un antimicrobiano comercial. Este hecho es alentador, debido a la alta resistencia que presentan estos microorganismos a muchos antimicrobianos convencionales, como ya se mencionó, y resulta una nueva alternativa para abordar este problema.

4.5. REFERENCIAS

- (1) A. Sorrenti, O. Illa and R. M. Ortuño, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42, 8200–8219.
- (2) J. Lu, X. Zhao and M. Yaseen, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **2007**, 12, 60–67.
- (3) *Protein-Based Surfactants: Synthesis, Physicochemical Properties, and Applications*, I. A. Nnanna and J. Xia, Eds., M. Dekker, New York, **2001**, vol. 101.
- (4) C. N. Mulligan, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **2009**, 14, 372–378.
- (5) D. Berti, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **2006**, 11, 74–78.
- (6) G. La Sorella, G. Strukul and A. Scarso, *Green Chem*, **2015**, 17, 644–683.
- (7) Y. L. Favaro and V. C. Reinsborough, *Can. J. Chem.*, **1994**, 72, 2443–2446.
- (8) A. S. Al-Ayed, M. Sajid Ali, H. A. Al-Lohedan, A. M. Al-Sulaim and Z. A. Issa, *J. Colloid Interface Sci.*, **2011**, 361, 205–211.
- (9) M. J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, Wiley-Interscience, New York, 3. ed., **2004**.
- (10) M. Ferrit, C. del Valle and F. Martínez, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2007**, 31, 211–220.
- (11) M. F. Torres, R. H. de Rossi and M. A. Fernández, *RSC Adv.*, **2014**, 4, 28606–28614.
- (12) F. M. Menger, L. H. Gan, E. Johnson and D. H. Durst, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 2800–2803.
- (13) A. M. Badawi and S. M. Ahmed, *J. Dispers. Sci. Technol.*, **2010**, 31, 577–582.
- (14) E. L. Hegg and J. N. Burstyn, *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, 173, 133–165.
- (15) B. Jityuti, A. Buranaprapuk and T. Liwporcharoenvong, *Inorg. Chem. Commun.*, **2015**, 55, 129–131.
- (16) F. Mancin, L. Prins, P. Pengo, L. Pasquato, P. Tecilla and P. Scrimin, *Molecules*, **2016**, 21, 1–18.
- (17) C. Bobicã, D. F. Anghel and A. Voicu, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **1995**, 105, 305–308.
- (18) I. Brandariz and E. Iglesias, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **2014**, 454, 180–188.
- (19) M. A. Fernández and R. H. de Rossi, *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 6000–6004.
- (20) M. A. Fernández and R. H. de Rossi, *Langmuir*, **2006**, 22, 6523–6530.
- (21) M. F. Torres, R. H. de Rossi and M. A. Fernández, *J. Phys. Org. Chem.*, **2016**, 29, 665–671.
- (22) A. M. Klibanov, T.-M. Tu and K. P. Scott, *Science*, **1983**, 221, 259–260.
- (23) A. M. Blinkovsky and J. S. Dordick, *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.*, **1993**, 31, 1839–1846.
- (24) S. Kobayashi and H. Higashimura, *Prog. Polym. Sci.*, **2003**, 28, 1015–1048.
- (25) Y. Han, L. Yuan, G. Li, L. Huang, T. Qin, F. Chu and C. Tang, *Polymer*, **2016**, 83, 92–100.
- (26) D. López-Molina, A. N. Hiner, J. Tudela, F. García-Cánovas and J. N. Rodríguez-López, *Enzyme Microb. Technol.*, **2003**, 33, 738–742.
- (27) J. Yu, K. E. Taylor, H. Zou, N. Biswas and J. K. Bewtra, *Environ. Sci. Technol.*, **1994**, 28, 2154–2160.
- (28) Y. Feng, K. Lu, S. Gao and L. Mao, *Env. Sci Process. Impacts*, **2017**, 19, 596–604.

- (29) *The Chemistry of the Quinonoid Compounds.*, S. Patai and Z. Rappoport, Eds, John Wiley & Sons, Chichester, **1988**.
- (30) *The Chemistry of Phenols.*, Z. Rappoport, Ed., John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, **2003**.
- (31) P. Zerón, M. Westphal, P. Comba, M. Flores-Álamo, A. C. Stueckl, C. Leal-Cervantes, V. M. Ugalde-Saldívar and L. Gasque, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2017**, 2017, 56–62.
- (32) Y. Qin and S. Luo, *Chem*, **2017**, 2, 461–462.
- (33) K. C. Nicolaou, J. S. Chen, D. J. Edmonds and A. A. Estrada, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, 48, 660–719.
- (34) *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, J. Wiley, Ed., Wiley-VCH, Michigan, **2002**.
- (35) A. D. Bolzán and M. S. Bianchi, *Rev. Mutat. Res.*, **2001**, 488, 25–37.
- (36) J. F. Lorenc, G. Lambeth and W. Scheffer, in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, Wiley-VCH, Weinheim, **1992**, vol. 2, pp. 203–233.
- (37) Y.-Y. Luk and N. L. Abbott, *Curr Opin Colloid Interface Sci*, **2002**, 7, 267–275.
- (38) D. Kitamoto, T. Morita, T. Fukuoka, M. Konishi and T. Imura, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **2009**, 14, 315–328.
- (39) K. Nakata, T. Tsuchido and Y. Matsumura, *J. Appl. Microbiol.*, **2011**, 110, 568–579.
- (40) J. Hoque, P. Akkapeddi, V. Yarlagadda, D. S. S. M. Uppu, P. Kumar and J. Haldar, *Langmuir*, **2012**, 28, 12225–12234.
- (41) C. Ghosh, G. B. Manjunath, P. Akkapeddi, V. Yarlagadda, J. Hoque, D. S. S. M. Uppu, M. M. Konai and J. Haldar, *J. Med. Chem.*, **2014**, 57, 1428–1436.
- (42) J. Hoque, M. M. Konai, S. Samaddar, S. Gonuguntala, G. B. Manjunath, C. Ghosh and J. Haldar, *Chem Commun*, **2015**, 51, 13670–13673.
- (43) B. Findlay, G. G. Zhanel and F. Schweizer, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2010**, 54, 4049–4058.
- (44) C. Zhou, D. Wang, M. Cao, Y. Chen, Z. Liu, C. Wu, H. Xu, S. Wang and Y. Wang, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, 8, 30811–30823.
- (45) W. Lee, Z.-H. Li, S. Vakulenko and S. Mobashery, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 128–132.
- (46) W. A. Velema, J. P. van der Berg, M. J. Hansen, W. Szymanski, A. J. M. Driessen and B. L. Feringa, *Nat. Chem.*, **2013**, 5, 924–928.
- (47) H. Bai, H. Yuan, C. Nie, B. Wang, F. Lv, L. Liu and S. Wang, *Angew. Chem. Int.*, **2015**, 54, 13208–13213.
- (48) H. Zhu, Z. Hu, X. Ma, J. Wang and D. Cao, *J. Surfactants Deterg.*, 2016, **19**, 265–274.
- (49) S. M. Tawfik and H. H. Hefni, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2016**, 82, 562–572.
- (50) X. Jia-Qing, X. Bin, X. Bin, H. Wei and Z. Xian-Cheng, *J. Dispers. Sci. Technol.*, **2006**, 27, 481–487.
- (51) F. M. Menger and C. E. Portnoy, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 4698–4703.
- (52) P. Campos-Rey, C. Cabaleiro-Lago and P. Hervés, *J. Phys. Chem. B*, **2010**, 114, 14004–14011.
- (53) L.-G. Qiu, X. Jiang, L.-N. Gu and G. Hu, *J. Mol. Catal. Chem.*, **2007**, 277, 15–20.
- (54) I. V. Berezin, K. Martinek and A. K. Yatsimirskii, *Russ. Chem. Rev.*, **1973**, 42, 787–802.
- (55) F. F. Al-Blewi, H. A. Al-Lohedan, M. Z. A. Rafiquee and Z. A. Issa, *J. Saudi Chem. Soc.*, **2014**, 18, 632–637.

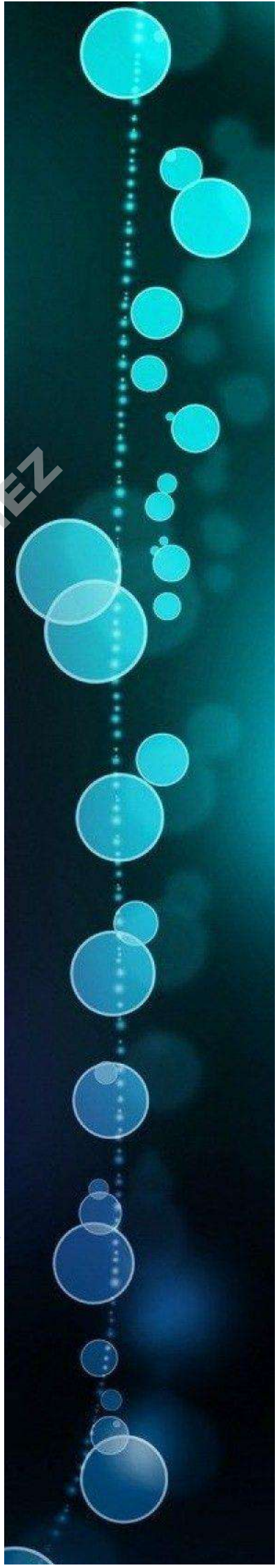
- (56) M. Muñoz, A. Rodríguez, M. Del Mar Graciani and M. Luisa Moya, *Int. J. Chem. Kinet.*, **2002**, 34, 445–451.
- (57) S. M. Shaban, I. Aiad, M. M. El-Sukkary, E. A. Soliman and M. Y. El-Awady, *J. Mol. Liq.*, **2015**, 207, 256–265.
- (58) S. Adnan, D. L. Paterson, J. Lipman and J. A. Roberts, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2013**, 42, 384–389.
- (59) M. Bustelo, A. Pinazo, M. A. Manresa, M. Mitjans, M. P. Vinardell and L. Pérez, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **2017**, 532, 501–509.
- (60) I. Aiad, M. Abo Riya, S. M. Tawfik and M. A. Abousehly, *Egypt. J. Pet.*, 2016, **25**, 299–307.
- (61) S. George, S. Pokhrel, T. Xia, B. Gilbert, Z. Ji, M. Schowalter, A. Rosenauer, R. Damoiseaux, K. A. Bradley, L. Mädler and A. E. Nel, *ACS Nano*, **2010**, 4, 15–29.
- (62) F. Zamani, M. Zendehtel, A. Mobinikhaledi and M. Azarkish, *Microporous Mesoporous Mater.*, **2015**, 212, 18–27.
- (63) J. L. Hobman and L. C. Crossman, *J. Med. Microbiol.*, **2014**, 64, 471–497.
- (64) G. Kaur, P. Singh, S. K. Mehta, S. Kumar, N. Dilbaghi and G. R. Chaudhary, *Appl. Surf. Sci.*, **2017**, 404, 254–262.

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Capítulo 5

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Sección Experimental



ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ÍNDICE

5. 1. MATERIALES	113
5.1.1. Solventes	113
5.1.2. Reactivos y medios de cultivos	113
5.1.3. Cepas de bacterias	113
5.2. EQUIPAMIENTO	114
5.3. METODOLOGÍAS	115
5.3.1. Síntesis y purificación de surfactantes Gémini	115
5.3.2. Espectros de infrarrojo	116
5.3.3. Elucidación Estructural por Resonancia Magnética Nuclear	116
5.3.4. Determinación de la CMC de los surfactantes gémini	117
5.3.5. Determinación del Número de Agregación	117
5.3.6. Determinación del Radio Hidrodinámico	118
5.3.7. Preparación de las soluciones de SDDC: Sales metálicas	118
5.3.8. Determinación de Cu^+ por espectrofotometría UV- Visible	119
5.3.9. Determinación de la CMC de los metalosurfactantes	119
5.3.10. Experimentos de oxidación del fenol	120
5.3.11. Síntesis y purificación de Trifluoroacetato de fenilo (TFAF)	120
5.3.12. Hidrólisis de TFAF	121
5.3.13. Preparación de las muestras para ensayos antimicrobianos	121
5.4. REFERENCIAS	123

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

5. 1. MATERIALES

5.1.1. Solventes

Las soluciones acuosas fueron realizadas con agua purificada en un equipo Milipore. La acetona, el etanol y el acetonitrilo utilizados fueron de grado pro-análisis (J. T. Baker). El D₂O (Central Nuclear de Embalse) fue aditivada con 0,05% de la sal sódica del ácido 3-(trimetilsilil)- propiónico – 2,2,3,3-d₄ (Sigma Aldrich) como estándar. Los buffers fueron preparados en el laboratorio: pH=7,00 (0,1 M fosfato de sodio monobásico y 0,1 M hidróxido de sodio); pH= 9,16 (0,02 M cloruro de sodio y 0,01 M borato de sodio decahidratado); pH= 12,00 (0,2 M cloruro de sodio y 0,2 M hidróxido de sodio).

5.1.2. Reactivos y medios de cultivos.

L-cistina, Cloruro de dodecanoilo, Cloruro de decanoilo, Decanoato de sodio, Dodecanoato de sodio (Sigma Aldrich), Hidróxido de sodio (Anhedra), Sulfato de cobre (Anhedra), Nitrato de plata (Anhedra), Cloruro de hierro (Strem Chem), Pireno (Sigma Aldrich 98%), Bromuro de cetilpiridinio **CPB** (Sigma Aldrich) fueron utilizados sin previa purificación. Los medios de cultivo fueron Infusión cerebro corazón, e Infusión agar cerebro corazón, fueron obtenidos de Britania.

5.1.3. Cepas de bacterias.

Las cepas utilizadas fueron:

Escherichia coli ATCC 25922

Staphylococcus aureus ATCC 25923

5.2. EQUIPAMIENTO

Las medidas de RMN se realizaron en un equipo *Bruker Avance II Av-400* (400,16 MHz para ^1H y 100,03 MHz para ^{13}C).

Las medidas de FT-IR se realizaron en un equipo *Nicolet 510P FT-IR Spectrometer*.

Los espectros de masa de alta resolución fueron obtenidos en el equipo *LC-MS Bruker Daltonics Micro Tof Qii*, en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICYTAC) de la Universidad Nacional de Córdoba.

Para las medidas de tensión superficial se utilizó un tensiómetro *Cole Parmer* modelo *Surface Tensiomat 21* equipado con un anillo de Pt-Ir y un baño termostático.

Las medidas de fluorescencia se realizaron en un espectrofluorímetro *Perkin Elmer LS 55*.

Para las medidas de espectrofotometría UV-Visible se utilizó un equipo *Shimadzu 2101 PC* de doble haz, equipado con celdas termostatzables.

Las reacciones de hidrólisis que eran muy rápidas como para ser medidas en un espectrofotómetro UV-Visible convencional se midieron en un equipo de flujo interrumpido *Applied Photophysics SF17MV*.

Para las destilaciones a presión reducida se utilizó un equipo de destilación de paso corto *Kügelrohr* marca *Buchi*.

Para mantener la temperatura constante se utilizó un baño termostático *Haake DC 10* y para agitar a temperatura controlada se utilizó un baño termostático con agitación marca *IKA C-Mag HS*.

El sonicado se realizó en un equipo marca *Testlab* modelo *tb02*.

El pHmetro utilizado fue de marca *Thermo Scientific* modelo *OrionStar A211* equipado con un electrodo combinado *Orion* sistema *Ross*; antes de utilizarlo fue calibrado a $(25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$ con buffers estándares a pH 4,014, 6,994 y 9,155.

Las medidas de dispersión dinámica de luz se midieron en dos equipos: el *Delsa™ Nano C* y el *Submicron Partide Sizer NIOCOMP™* con un ángulo de medida de 90° a una temperatura de 30°C

Las medidas de Microscopia electrónica de transmisión se realizaron en el equipo *TEM Jeol 1200 EX II*, del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Las medidas de SAXS se realizaron en la *Línea 1 (SAXS-1)*, del Laboratorio Nacional de Luz Sincrotrón de Campinas, San Pablo, Brasil.

5.3. METODOLOGÍAS

5.3.1. Síntesis y purificación de surfactantes Gemini

Los surfactantes gemini fueron sintetizados en el laboratorio siguiendo el método de literatura,¹ con algunas modificaciones.

Se solubilizaron 1 mmol de L-cistina y 2 mmol de NaOH en 25 mL de una mezcla de Acetona: Agua (2:1). Luego se agregaron 3 mmol de cloruro de ácido correspondiente (10 ó 12 carbonos) gota a gota. Para mantener la mezcla al pH adecuado (siempre por encima de pH= 8), se agregaron gotas de una solución de NaOH 10% P/V. El control del pH se realizó para asegurarse que los reactivos estuvieran solubles. La mezcla de reacción se mantuvo con agitación constante. A medida que se agregaba el cloruro de ácido se observó la formación de un precipitado blanco.

Las condiciones de reacción que dieron los mejores rendimientos fueron: la relación estequiométrica entre los reactivos de (3:1) Cloruro de ácido – L-Cistina, temperatura de reacción de 13°C y tiempo de reacción de 48 horas (tabla.2.1) Luego de transcurrido este tiempo, la reacción fue filtrada y el precipitado blanco obtenido fue recristalizado varias veces en una mezcla de etanol: agua (95:5). El rendimiento de reacción fue de 90% para el SDDC y de 92% para el SDLC, luego de la purificación, considerando como reactivo limitante la L-cistina.

5.3.2. Espectros de infrarrojo

Para realizar los espectros de infrarrojo, se prepararon pastillas de los surfactantes sólidos en KBr.

5.3.3. Elucidación Estructural por Resonancia Magnética Nuclear

Para estas medidas se prepararon 2 mL de solución de surfactante con una concentración de 2,8 mM utilizando como solvente D₂O, agregándole unas gotas de NaOD. Las señales se asignaron como se especifica en la tabla 5.1.

Tabla 5.1. Asignación de las señales de RMN de los surfactantes gémini.

Estructura		Señal (ppm)	Características de la señal
	a	0,88	3H, CH ₃
	b	1,30	16H, (CH ₂) ₈
	c	1,64	2H, COCH ₂ CH ₂
	d	2,31	2H, COCH ₂
	e	2,94	1H, SCH ₂
	e'	3,28	1H, SCH ₂
	f	4,52	2H, CHCOONa
	a	0,87	3H, CH ₃
	b	1,29	12H, (CH ₂) ₆
	c	1,62	2H, COCH ₂ CH ₂
	d	2,31	2H, COCH ₂
	e	2,92	1H, SCH ₂
	e'	3,28	1H, SCH ₂
	f	4,52	2H, CHCOONa

5.3.4. Determinación de la CMC de los surfactantes gémuni

Las soluciones de los surfactantes gémuni (SDDC y SDLC) se prepararon pesando una cantidad determinada de los diferentes surfactantes y disolviéndola en los buffers correspondientes (pH 7,00, 9,16 y 12,00) para preparar una solución concentrada. A partir de estas soluciones, se prepararon una serie de diluciones de manera de abarcar un amplio intervalo de concentraciones por encima y por debajo de la CMC. Se prepararon cerca de 10 soluciones para cada surfactante gémuni.

Para determinar la CMC mediante medidas de tensión superficial se utilizó el método de Du Noüy utilizando un anillo de Pt- Ir. Las soluciones se colocaron en un recipiente de vidrio termostatzado (30°C para SDDC y 40°C para SDLC) y se midió la tensión superficial de las mismas. Las medidas se realizaron por triplicado para verificar la reproducibilidad. El tiempo de espera entre una medida y otra dependió de la solución y para determinarlo fue necesario variarlo hasta observar que dos medidas consecutivas daban el mismo valor de tensión superficial dentro del error. Los resultados informados son el promedio de las tres medidas.

5.3.5. Determinación del Número de Agregación

Las soluciones se prepararon agregando un determinado volumen de una solución concentrada de pireno (**Pyr**) en metanol para tener una concentración final de **Pyr** 0,2 mM al correspondiente volumen de una solución madre de surfactante y llevando al volumen final con buffer. Las concentraciones finales de SDDC, SDLC y **Pyr** fueron 10 mM, 5 mM y 0,002 mM, respectivamente.

Para la solución de “quencher” (**CPB**) se preparó una solución concentrada (0,5 mM), disolviéndola en una solución de surfactante–**Pyr**. A partir de ésta se prepararon una serie de diluciones. Las soluciones se agitaron en un baño termostático durante 24 horas a 30°C para el SDDC y a 40°C para el SDLC

previo a la medición, para asegurar el correcto reparto de la sonda y el quencher dentro de las micelas. El porcentaje final de MeOH fue del 0,5%.

El ancho de rendija utilizado fue de 3 nm para la excitación y de 4 nm para la emisión. La longitud de onda de excitación se mantuvo en 350 nm y el espectro de emisión se obtuvo entre 350 y 500 nm. Se utilizó una cubeta de 1 cm de paso óptico.

5.3.6. Determinación del Radio Hidrodinámico

Las medidas se realizaron a 298 K operando a 400,16 MHz para ^1H . El estudio se llevó a cabo con una concentración de 9,8 mM de SDDC para obtener la mejor resolución posible. El solvente utilizado fue D_2O y como estándar se utilizó TSP (sal sódica del ácido 3-(trimetilsilil)- propiónico- 2,2,3,3- d_4). Se utilizó un δ_p de 1,1 ms y un Δ_D de 250 ms, la fuerza de gradiente (G) se varió entre 2 y 95 %.

5.3.7. Preparación de las soluciones de SDDC: Sales metálicas

Se preparó una solución concentrada de SDDC (3 mM) a pH 7,00 y ésta se utilizó para disolver la sal del catión metálico. La disolución se sonicó durante 3 horas, para lograr una solución coloidal.

De igual manera se prepararon las soluciones a las diferentes relaciones molares (1:1, 2:1, 10:1 y 100:1)

Estas soluciones fueron utilizadas en todas las medidas posteriores.

Las soluciones de SDLC: CuSO_4 se prepararon de la misma manera.

5.3.8. Determinación de Cu^+ por espectrofotometría UV-Visible

Para estas medidas se colocó en un matraz de 5 mL un volumen determinado de una solución de SDDC: $CuSO_4$ de manera que la concentración final de la solución fuese de 0,7 mM y un volumen adecuado de una solución de Neocuproína en EtOH de manera tal que la concentración final fuera de 3,2 mM. Las soluciones se prepararon inmediatamente antes de ser medidas. Luego se registró el espectro de absorción en función de la longitud de onda, usando una cubeta de cuarzo de 0,1 cm de paso óptico.

De igual manera se prepararon las soluciones de Neocuproína con $CuCl$ y $CuSO_4$.

5.3.9. Determinación de la CMC de los metalosurfactantes.

Se prepararon soluciones de SDDC: $CuSO_4$ a las diferentes composiciones en buffer pH= 7, y a partir de cada una de ellas, como se describió anteriormente, se preparó una serie de diluciones de diferentes concentraciones de manera de abarcar un amplio intervalo por encima y por debajo de cada CMC. Se prepararon cerca de 14 soluciones para cada complejo. Todas las soluciones fueron enrasadas con buffer pH 7,00.

Para determinar la CMC mediante medidas de tensión superficial se utilizó el método de Du Noüy utilizando un anillo de Pt- Ir. Las soluciones se colocaron en un recipiente de vidrio termostatzado (30°C) y se midió la tensión superficial de las mismas. Las medidas se realizaron por triplicado para verificar la reproducibilidad. El tiempo de espera entre una medida y otra dependió de cada solución, ya que a medida que se aumentaba la concentración del complejo la solución era más estable. Los resultados informados son el promedio de las tres medidas.

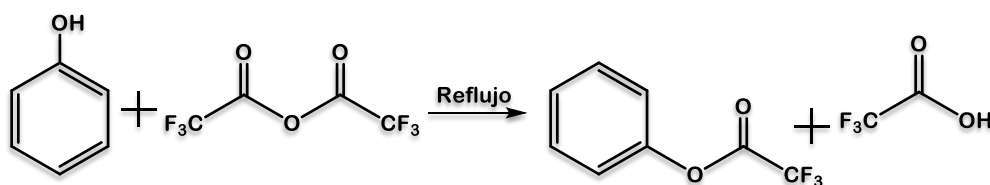
5.3.10. Experimentos de oxidación del fenol

Para estas medidas se colocó en un matraz de 100 mL un volumen tal de una solución de SDDC: CuSO₄ de manera que la concentración final de surfactante en la solución fuese 3 mM, un volumen de una solución concentrada de fenol de manera tal que fuera de 0,5 mM, más un volumen de H₂O₂ para dar una concentración final de 2 mM. Las soluciones se prepararon a pH 7,00 inmediatamente antes de ser medidas. Luego se registraron los espectros de absorción, usando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico, midiendo cada 5 min y observando la disminución de la banda correspondiente al fenol a λ 272 nm.

5.3.11. Síntesis y purificación de Trifluoroacetato de fenilo (TFAF)

El TFAF fue sintetizado en el laboratorio siguiendo el método puesto a punto previamente.²

La reacción de síntesis de TFAF se presenta en el esquema 5.1. Para la misma se colocaron 1,717 g de fenol en un balón y se calentó ligeramente hasta que el mismo se fundió. Luego se agregaron 6 mL de anhídrido trifluoroacético y se reflujo durante 40 minutos manteniendo el sistema libre de agua mediante una trampa de cloruro de calcio. Una vez transcurrido ese tiempo se obtuvo un líquido amarillo, el cual se destiló a presión reducida, atrapándose los restos de reactivos sin reaccionar y quedando como residuo el éster de interés. La pureza del éster se cuantificó hidrolizando una alícuota de concentración conocida y midiendo su absorbancia a la longitud de onda máxima del fenol. Siempre se trabajó con pureza mayor a 96%.



Esquema 5.1. Síntesis de TFAF

5.3.12. Hidrólisis de TFAF

Las reacciones de hidrólisis de TFAF fueron realizadas en el equipo de flujo interrumpido, evaluando la aparición del fenol a 272 nm. Se utilizaron jeringas de volúmenes desiguales para la inyección, con una relación de 25 entre ellas. En la jeringa de 2,5 mL se colocó la solución del surfactante o el metalosurfactante correspondiente mientras que en la jeringa de 0,1 mL se colocó una solución de TFAF en ACN de concentración tal que luego de la dilución se obtuviera [TFAF] = 0,1 mM. En todos los casos el porcentaje de ACN fue de 3,8%.

Cada una de las constantes de velocidad informadas corresponden al promedio de al menos 10 mediciones y los errores son desviaciones estándar del promedio.

5.3.13. Preparación de las muestras para ensayos antimicrobianos

Se preparó una suspensión de bacterias en solución fisiológica. Dicha suspensión debía tener una absorbancia entre 0,08 – 1 a una longitud de onda de 625 nm, para tener un número conocido de bacterias [$1,5 \times 10^8$ UFC/mL (unidades formadoras de colonia/mL)]. Una vez que se obtuvo la suspensión se realizó una dilución 1/10 y se sembraron 10 μ L en un eppendorf conteniendo 200 μ L del surfactante a la correspondiente concentración y 800 μ L del medio de cultivo (infusión cerebro y corazón).

Se preparó un eppendorf por cada concentración para cada uno de los surfactantes por cada bacteria (24 eppendorfs) y, además, un eppendorf por cada concentración de ampicilina por cada bacteria (8 eppendorf) conteniendo 200 μ L de ampicilina y 800 μ L de medio de cultivo en cada caso. Como controles en cada caso se prepararon un eppendorf con 1 mL de medio de cultivo (sin surfactante ni ampicilina) por cada bacteria (2 eppendorf). Estos son los controles negativos.

Con el inóculo de 10 μL anteriormente mencionado, se logró que en el eppendorf haya una cantidad determinada de bacterias (5×10^4 UFC/mL). Por otra parte, se sembró cada suspensión en una placa con agar (infusión cerebro y corazón) para conocer el número exacto de bacterias que se inocularon en cada eppendorf.

Todos los eppendorf se incubaron durante 24 horas a 37°C . Al cabo de ese tiempo se sembró el contenido de cada eppendorf en placas de Petri con agar y se incubaron 24 horas a 37°C . Luego se contó la cantidad de UFC de cada placa. Para obtener una cantidad de UFC que se pueda contar se hacen diluciones seriadas del contenido de cada eppendorf.

El número de UFC que creció en el control negativo se consideró como 100 % de crecimiento (0 % de inhibición). El número de UFC que creció en presencia de las distintas concentraciones de los surfactantes y la ampicilina se compararon contra el número de UFC del control negativo y así se obtuvo el % de inhibición.

5.4. REFERENCIAS.

- (1) H. Fan, F. Han, Z. Liu, L. Qin, Z. Li, D. Liang, F. Ke, J. Huang and H. Fu, *J. Colloid Interface Sci.*, **2008**, 321, 227–234.
- (2) M. A. Fernandez and R. H. de Rossi, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 7554–7559.

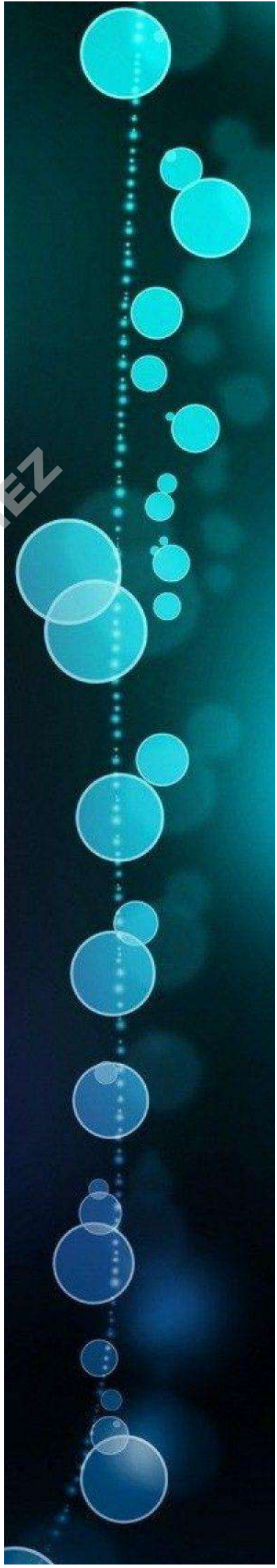
ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Capítulo 6

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Conclusiones Generales



ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

CONCLUSIONES GENERALES

En este trabajo de tesis se sintetizaron surfactantes gémmini de diferente largo de cadena (10 y 12 átomos de carbono), y se caracterizaron utilizando las diferentes técnicas disponibles. Además, se caracterizaron también sus agregados. Las CMC de estos surfactantes presentan una disminución de varios órdenes de magnitud en comparación con los ácidos grasos del mismo largo de cadena. Se observó además una disminución al aumentar la longitud de cadena hidrofóbica, lo cual es el comportamiento esperado para moléculas tensioactivas.

Además, se observó la formación de sistemas autoensamblados de los surfactantes gémmini con sales metálicas de Cu^{2+} , Ag^+ y Fe^{3+} . En estos sistemas se encontraron cambios en la morfología de los agregados desde micelas a vesículas cuando se incorporaron los metales. Se determinó también que los surfactantes gémmini sintetizados cuando se acomplejan con Cu^{2+} sufren una reacción de óxido reducción donde el metal se reduce y el surfactante se oxida a una especie monomérica derivada ácido cistéico.

Por otro lado, la inhibición obtenida en el estudio del efecto micelar de SDDC y sus complejos con cobre sobre la reactividad del trifluoroacetato de fenilo, indicaría que este sustrato se solubiliza en la zona superficial de los agregados, donde no se ve tan afectado por la naturaleza de los mismos. La falta de catálisis observada en las dos reacciones estudiadas que son sensibles a Cu(II) , confirma la reducción de Cu^{2+} a Cu^+ en presencia del surfactante gémmini, con la consecuente oxidación del detergente.

Por último, se comprobó la efectividad del SDDC, tanto sólo como con sales metálicas de Cu^{2+} y Ag^+ , como antimicrobiano. Se encontró que estos sistemas presentan buenas propiedades, ya que son capaces de inhibir el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas alrededor de un 90% a baja a concentración de surfactante. Esta actividad resulta comparable a la de un antimicrobiano comercial (ampicilina), para el cual ya hay reportes de resistencia por parte de los microorganismos.¹

La realización de este trabajo de Tesis Doctoral llevó a la obtención de surfactantes derivados de fuentes naturales y renovables, que por sus características presentan una importante potencialidad, tanto en su uso como agentes tensioactivos, así como en su utilización como antimicrobianos. Además, si bien los complejos metálicos estudiados no fueron eficientes como catalizadores en las reacciones estudiadas su estabilidad y la capacidad de formar geles en ciertas condiciones abre varias posibilidades para explorar su aplicación en esta área. Por lo tanto, los sistemas obtenidos resultan muy interesantes para futuras aplicaciones que se seguirán estudiando como proyecciones de este trabajo.

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

REFERENCIAS.

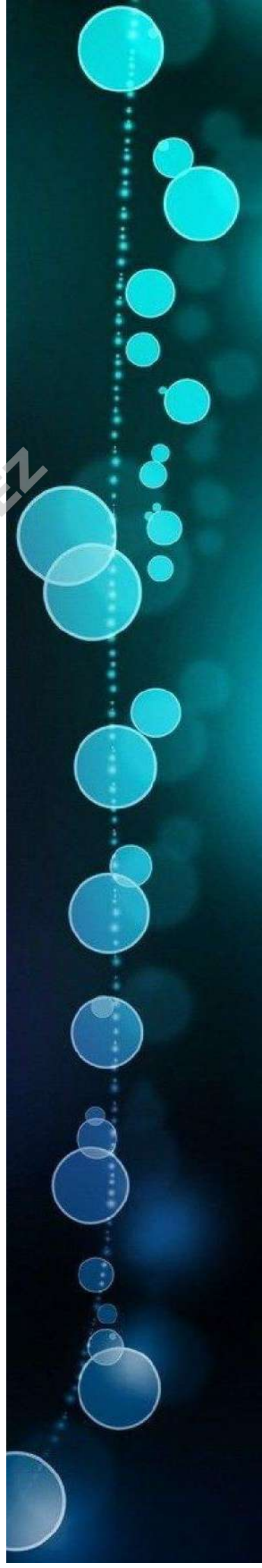
- (1) E. Tacconelli, F. Sifakis, S. Harbarth, R. Schrijver, M. van Mourik, A. Voss, M. Sharland, N. B. Rajendran, J. Rodríguez-Baño and J. Bielicki, *Lancet Infect. Dis.*, **2017**, 18, 99–106.

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

Anexos

ERICA MARCELA PACHON GOMEZ



ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

A. 1. Caracterización Espectroscópica de los surfactantes gémini sintetizados.

Figura A1. Espectros de IR- FT para los surfactantes gémini.

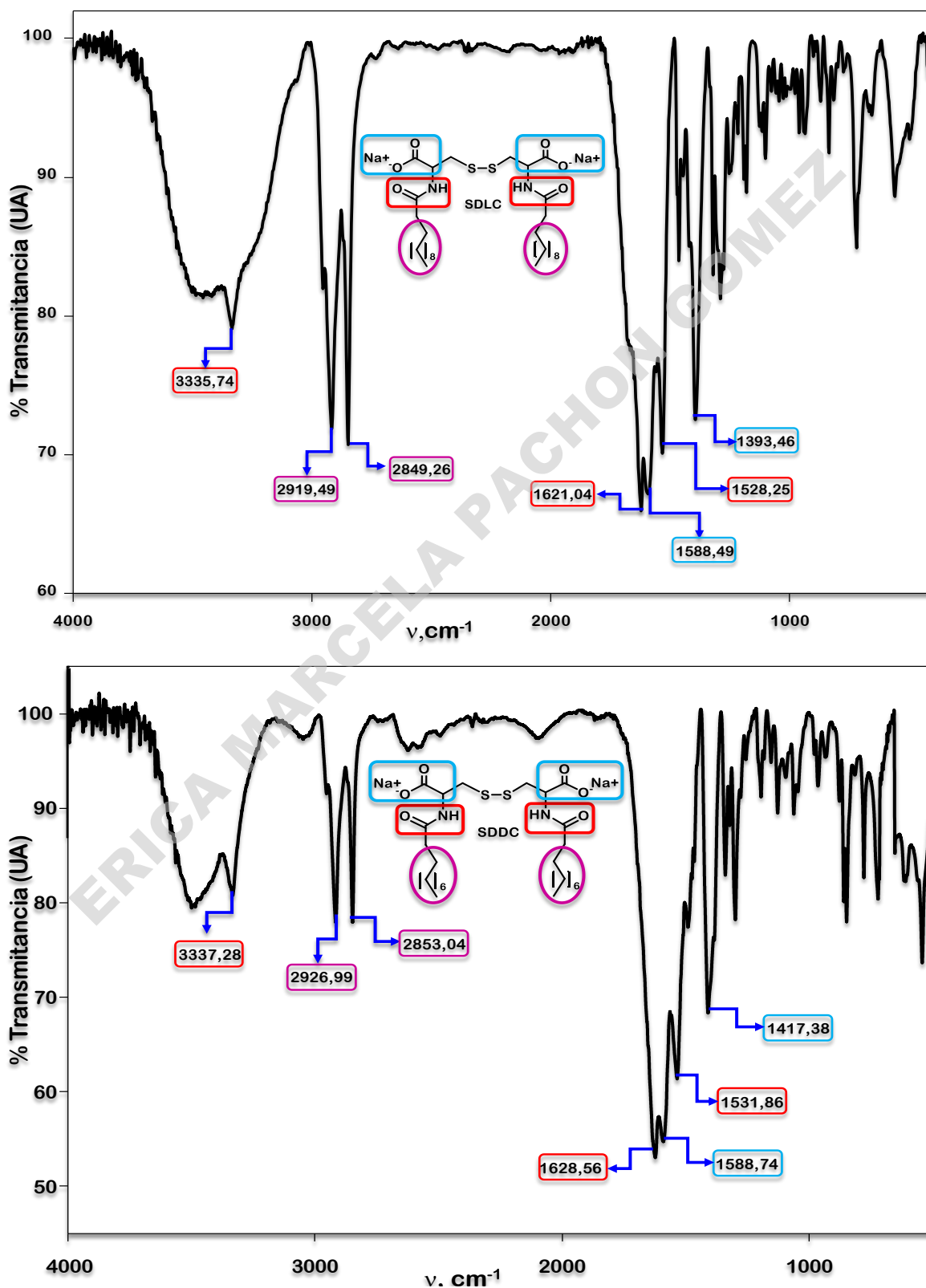
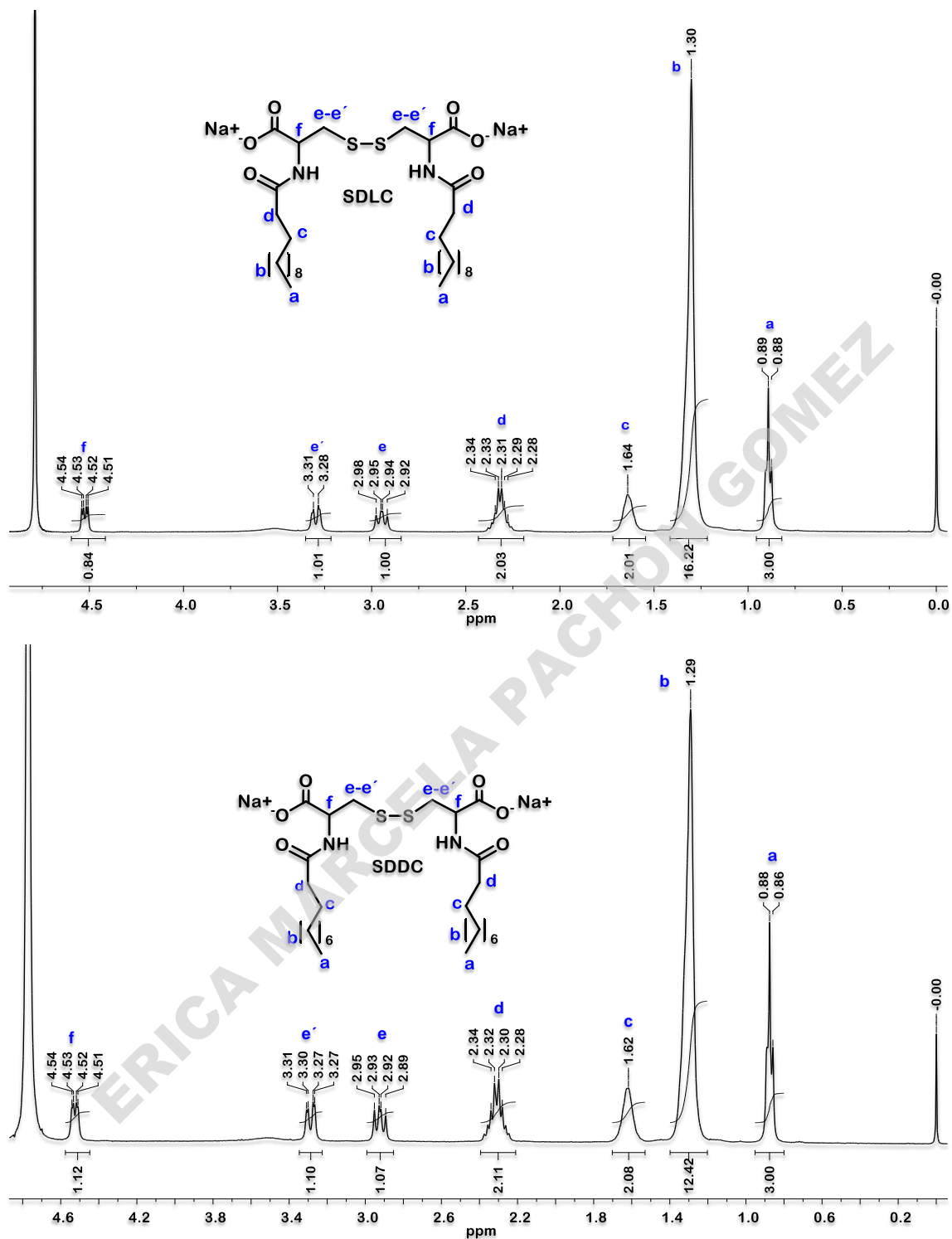
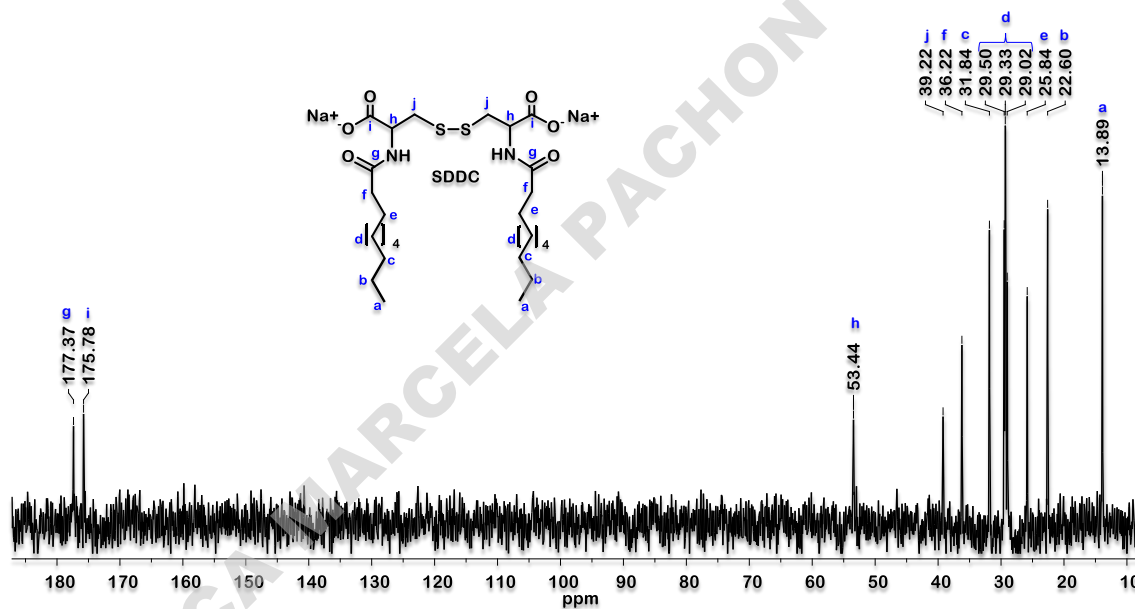
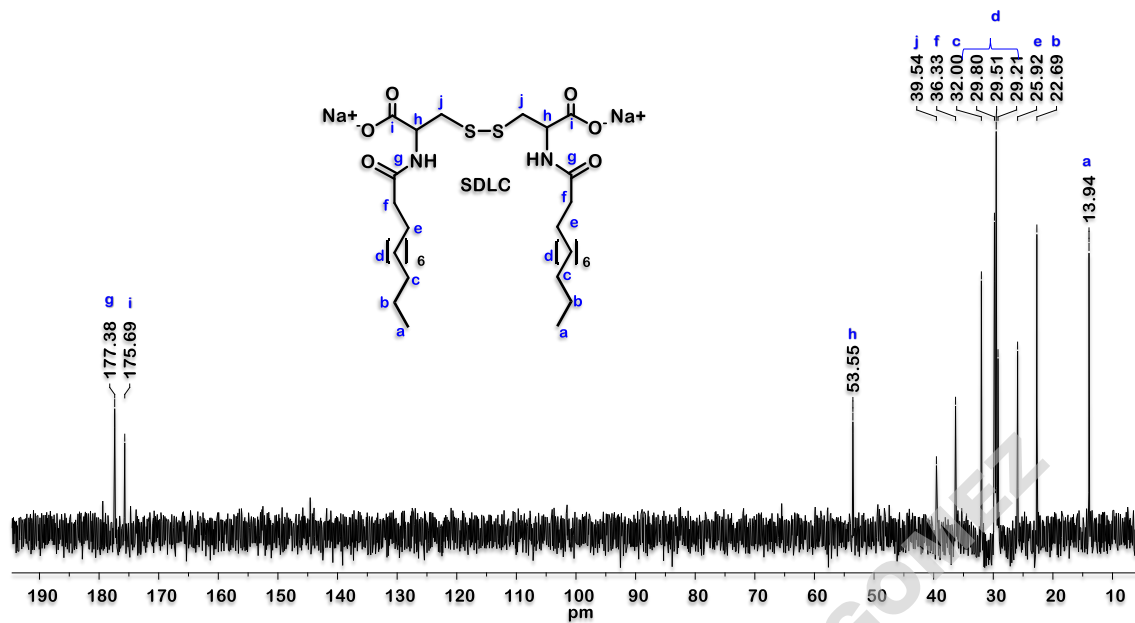


Figura A 2. Espectros de RMN de ^1H y ^{13}C para los surfactantes gémini.



A.2. Estudio de la agregación de los surfactantes gémini.

Figura A3. Variación de la tensión superficial en función del logaritmo de la concentración de surfactante, para el SDDC $T = (30,0 \pm 0,1) \text{ } ^\circ\text{C}$ y para el SDLC, $T = (40,0 \pm 0,1) \text{ } ^\circ\text{C}$ a los diferentes pH.

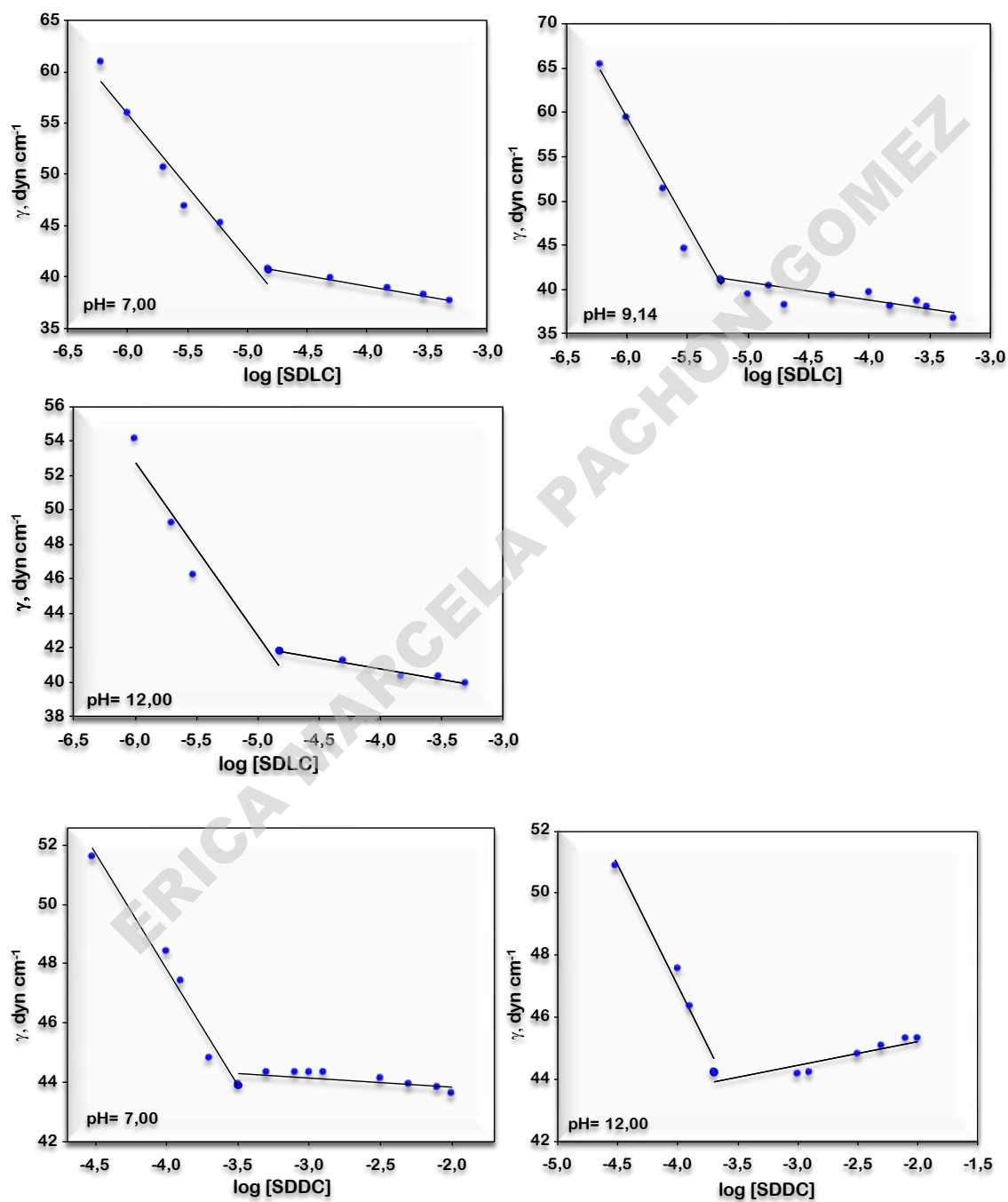
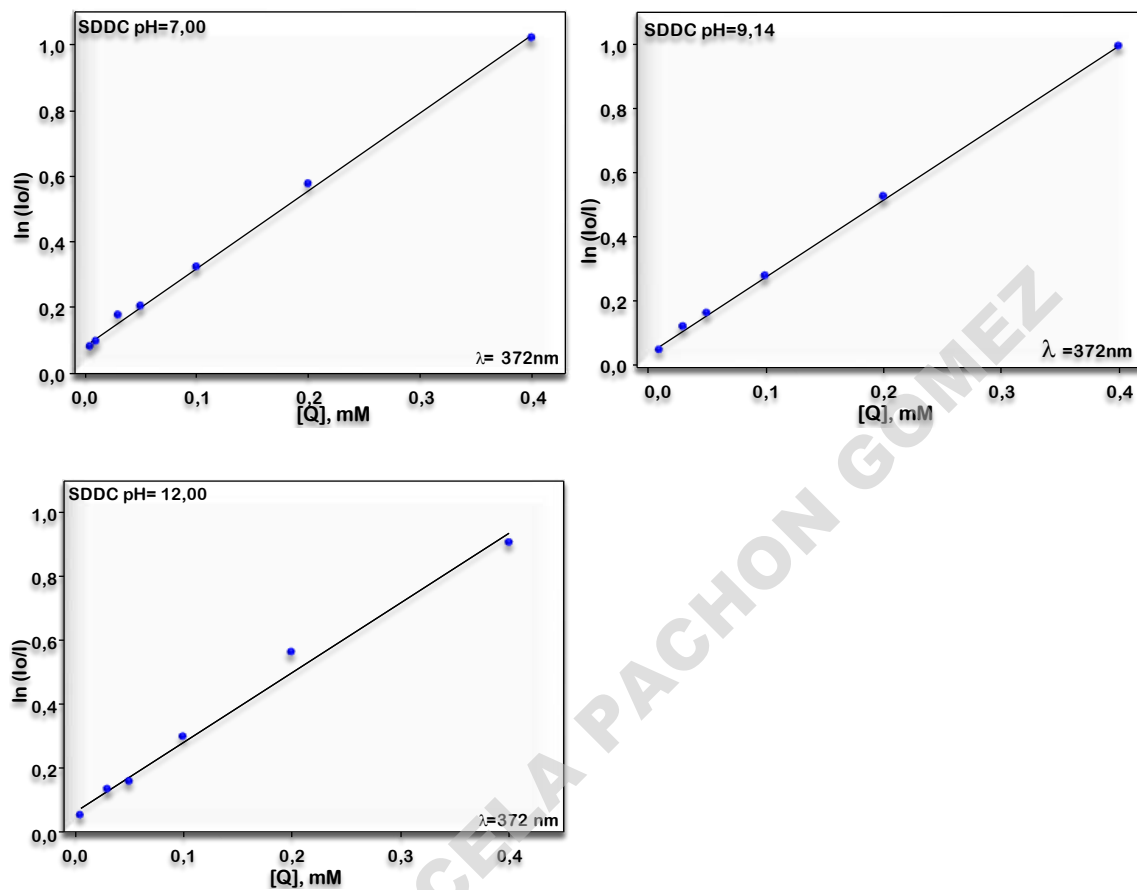
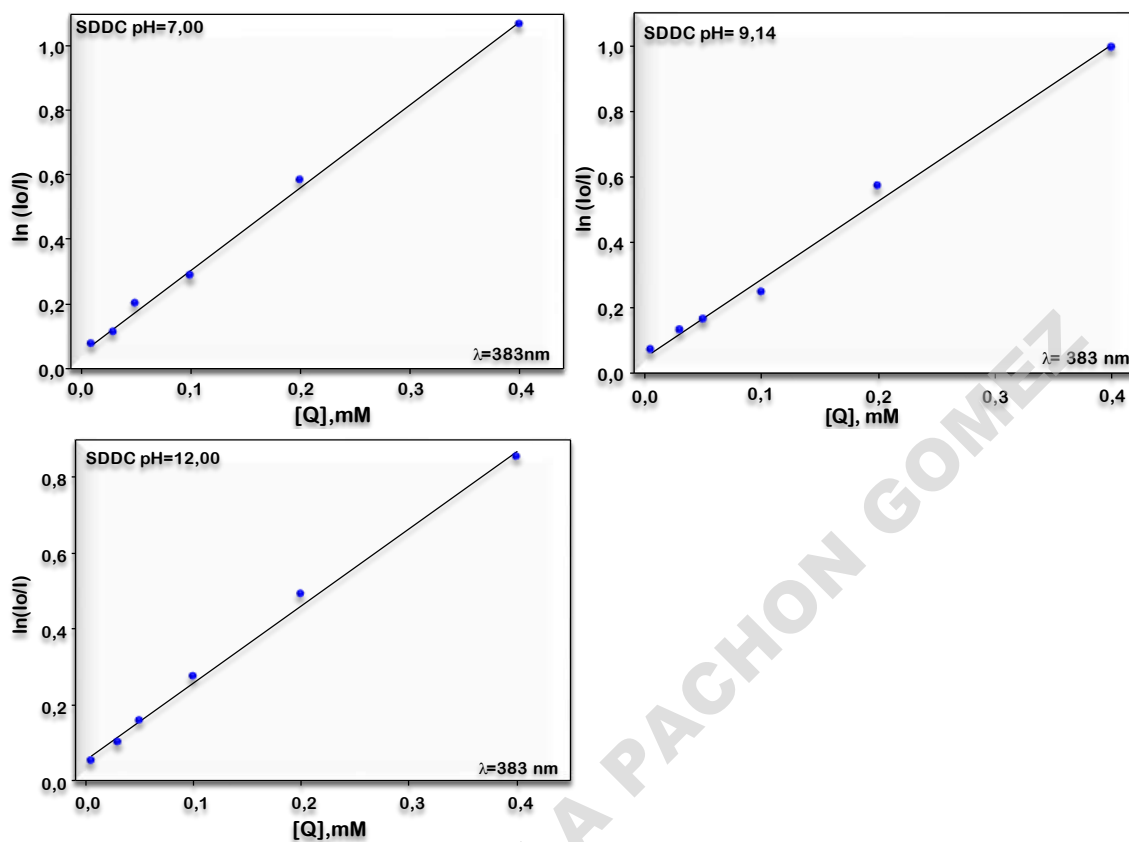


Figura A4. Gráfico de $\ln(I_0/I)$ en función de la concentración de Quencher (Q) CPB, para el surfactante gémuni. [SDDC] = 10 mM y [Pyr] = 0,02 mM. $T_{\text{SDDC}} = (30,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$, $\lambda_{\text{exc}} = 350\text{nm.}$, $\lambda_{\text{em}} = 372\text{nm}$



[SDDC] = 10 mM y [Pyr] = 0,02 mM. $T_{\text{SDDC}} = (30,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$, $\lambda_{\text{exc}} = 350\text{nm.}$, $\lambda_{\text{em}} = 383\text{nm}$



[SDDC] = 10 mM y [Pyr] = 0,02 mM. $T_{\text{SDDC}} = (30,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$, $\lambda_{\text{exc}} = 350\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 392\text{nm}$

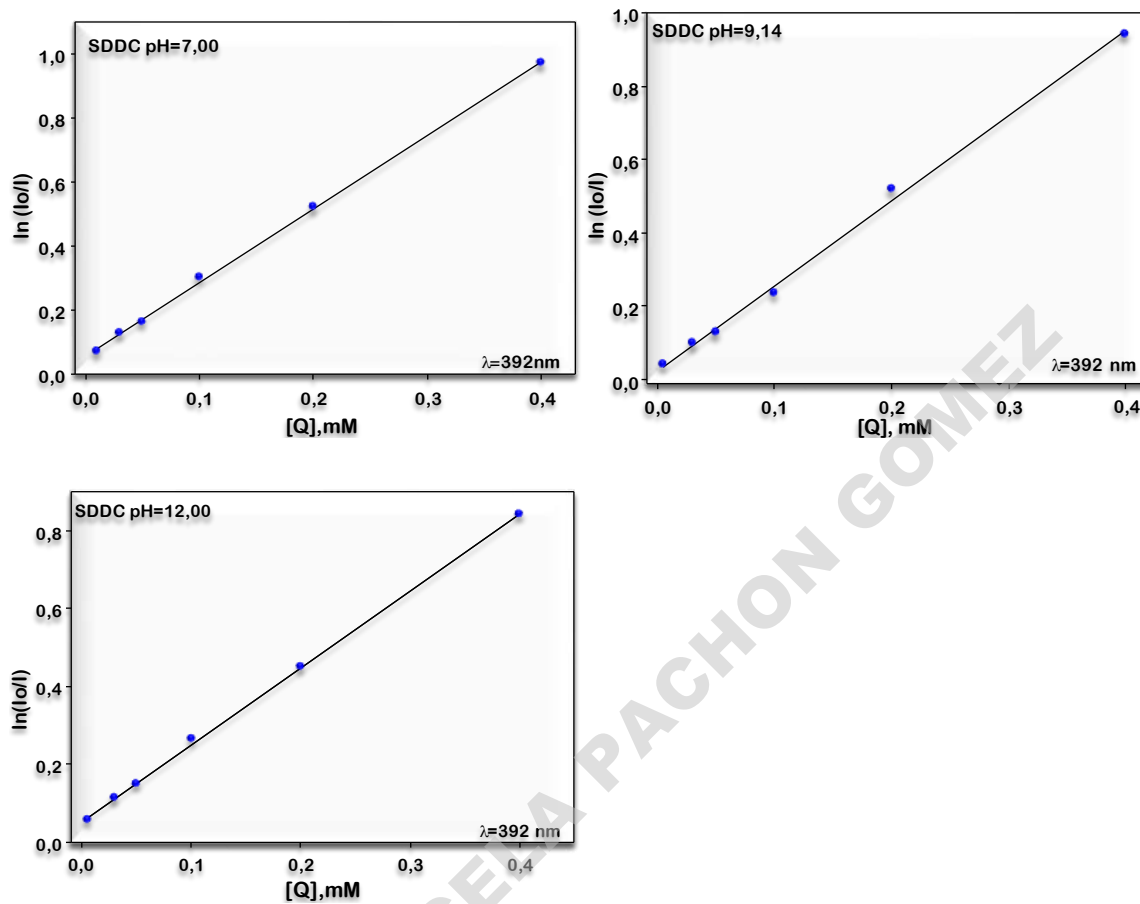
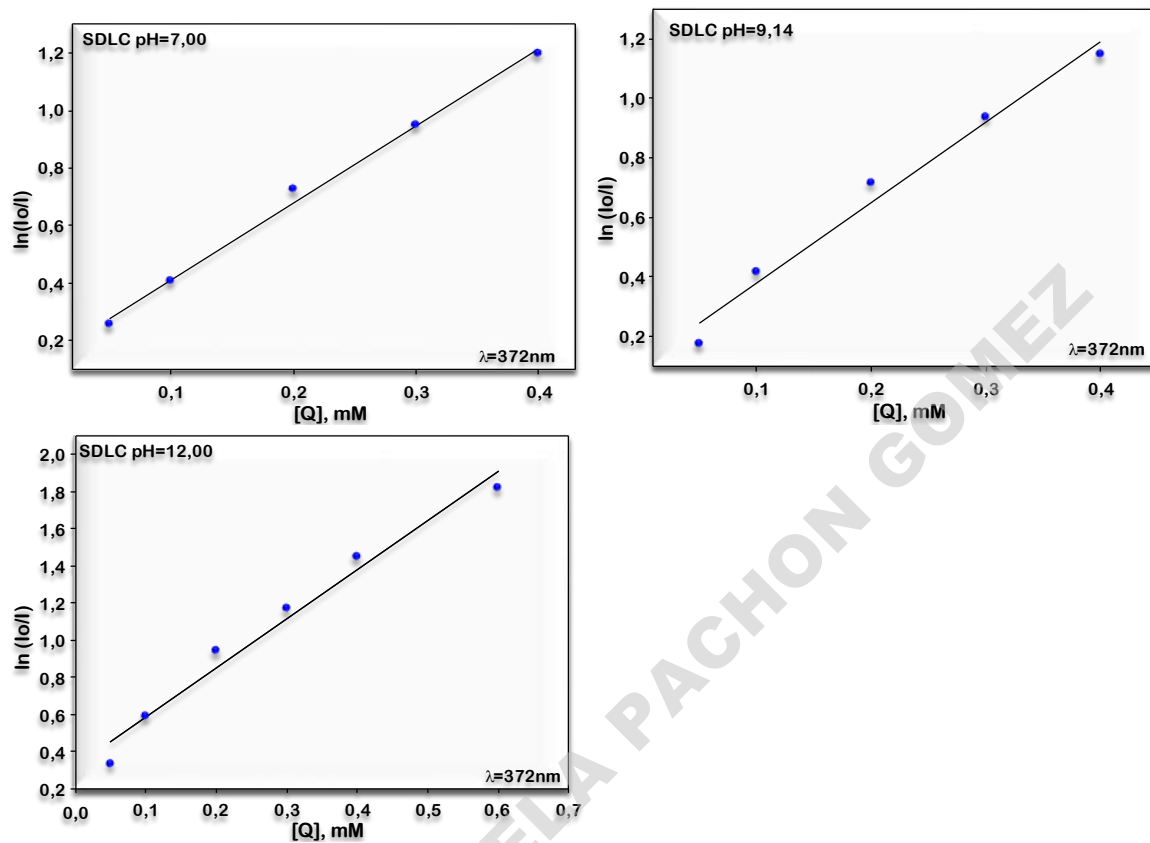
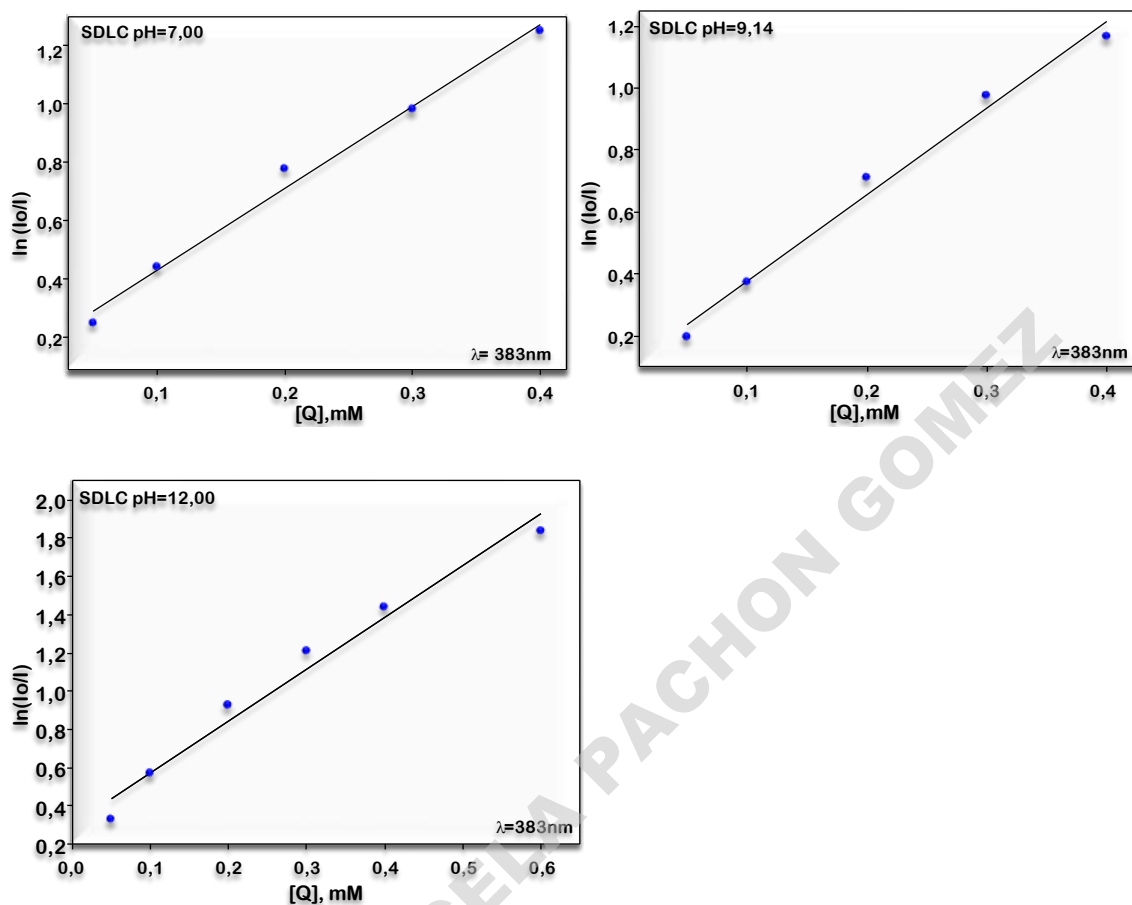


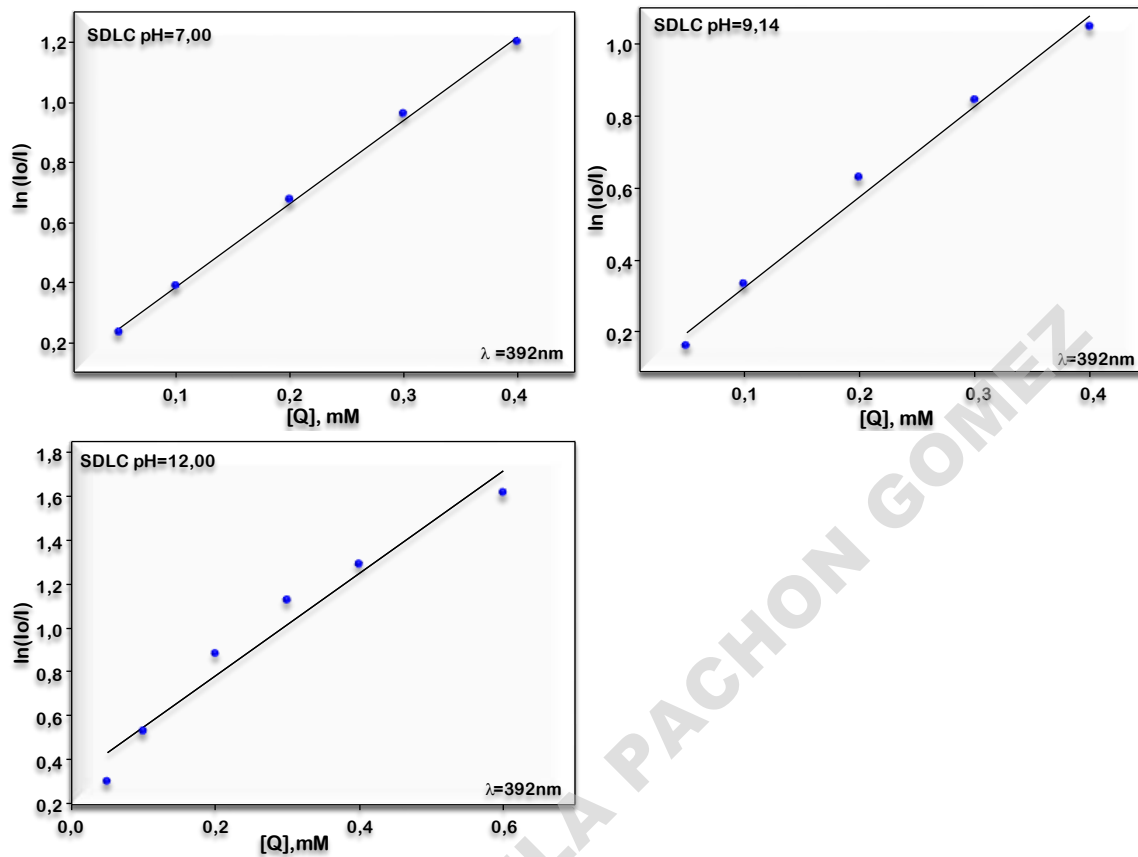
Figura A5. Gráfico de $\ln(I_0/I)$ en función de la concentración de Quencher (Q) CPB, para el surfactante gémini. [SDLC] = 5 mM y [Pyr] = 0,02 mM. $T_{SDLC} = (40,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$, $\lambda_{exc} = 350\text{nm}$, $\lambda_{em} = 372\text{nm}$



[SDLC] = 5 mM y [Pyr] = 0,02 mM. $T_{\text{SDLC}} = (40,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$, $\lambda_{\text{exc}} = 350\text{nm.}$, $\lambda_{\text{em}} = 383\text{nm}$



[SDLC] = 5 mM y [Pyr] = 0,02 mM. $T_{SDLC} = (40,0 \pm 0,1) \text{ }^{\circ}\text{C}$, $\lambda_{exc} = 350\text{nm.}$, $\lambda_{em} = 392\text{nm}$



ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

A.3. Determinación del pKa de los surfactantes gémini.

Figura A6. Gráfico del pH en función de la concentración de ácido [HCl], para el surfactante gémini SDLC a diferentes concentraciones y $T = 40,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

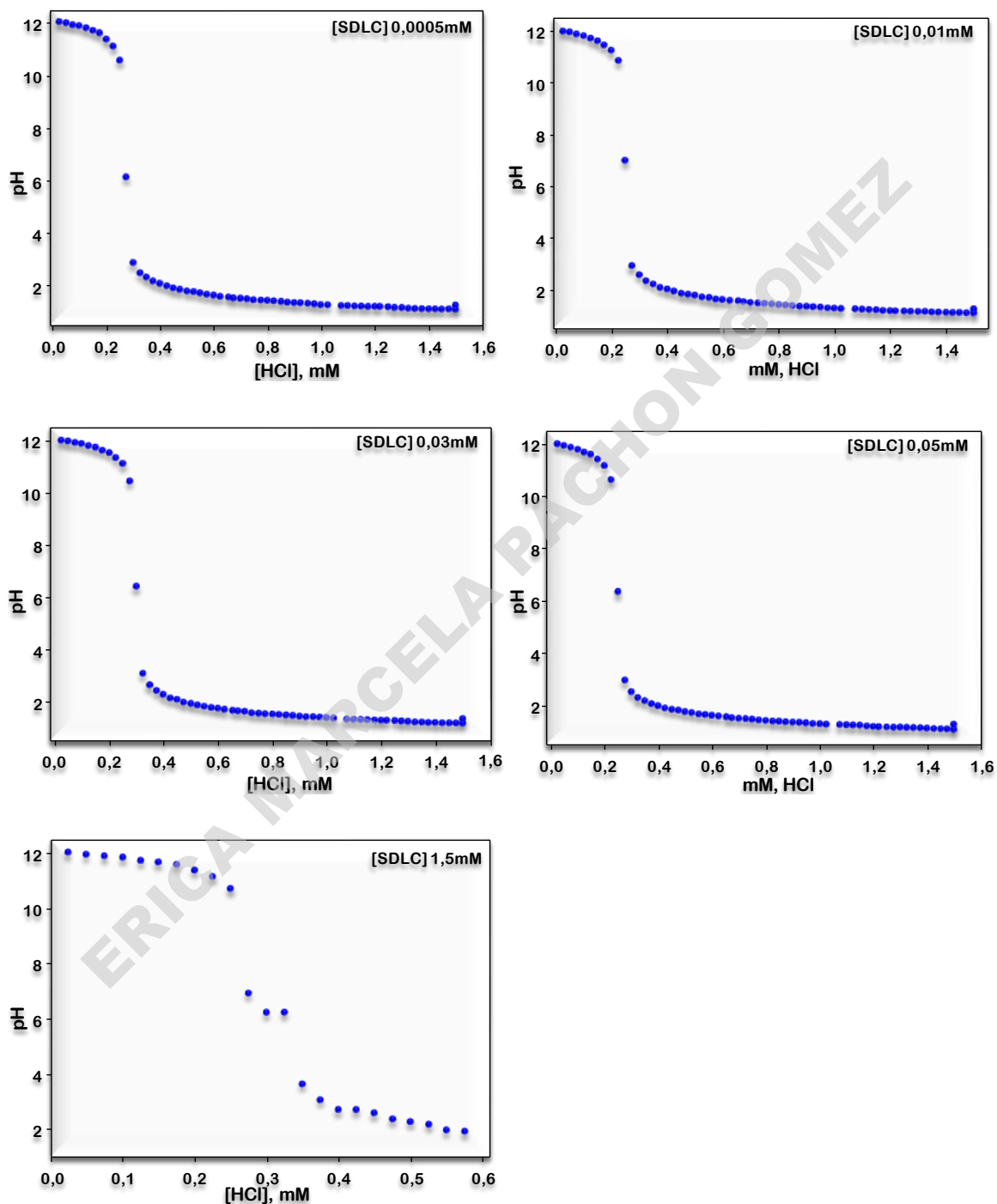
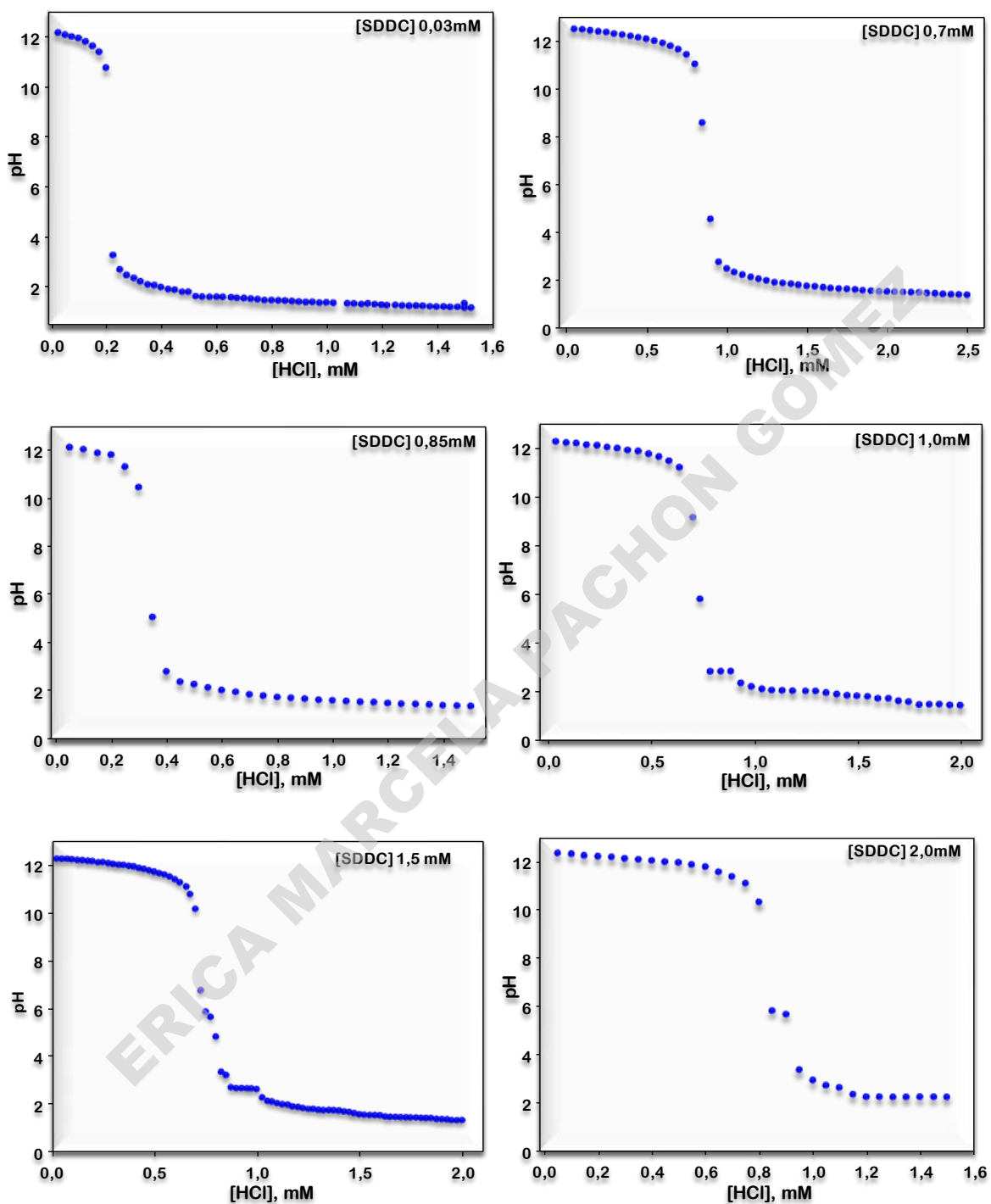
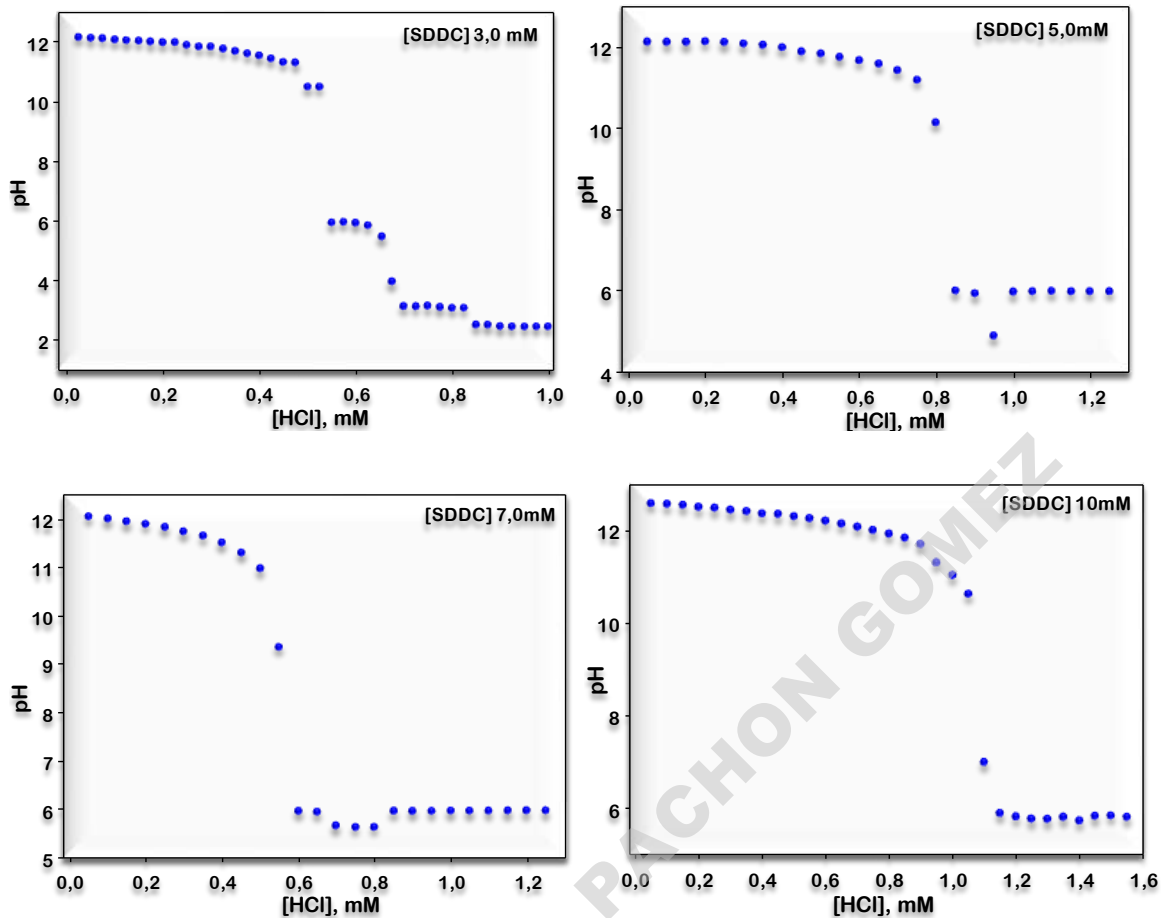


Figura A7. Gráfico del pH en función de la concentración de ácido [HCl], para el surfactante gémini SDDC a diferentes concentraciones y $T= 30,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$.





ERICA MARCELA PACHON GOMEZ

A.4. Determinación de la CMC de los Metalosurfactantes.

Figura A8. Variación de la tensión superficial en función del logaritmo de la concentración de los metalosurfactantes, para el SDDC: CuSO₄ (100:1, 10:1, 2:1 y 1:1) T= (30,0 ± 0,1) °C

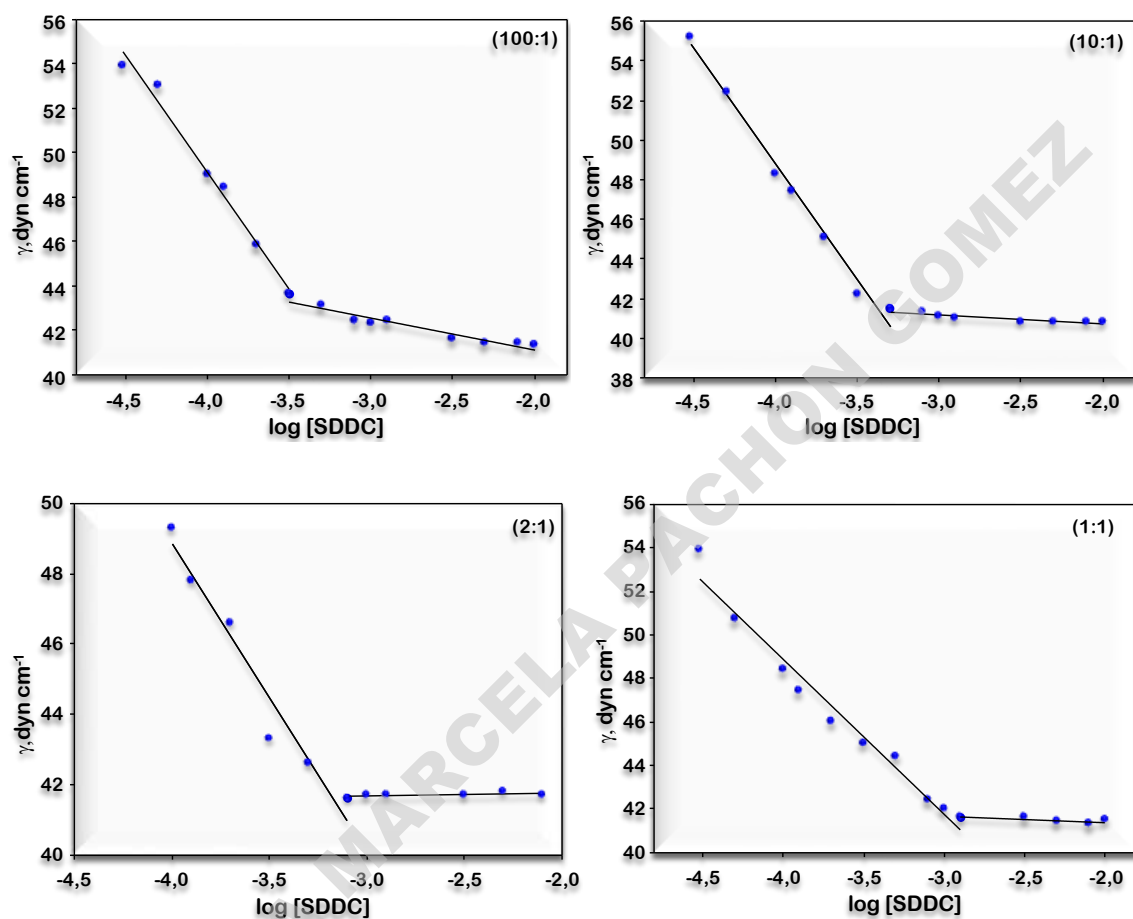
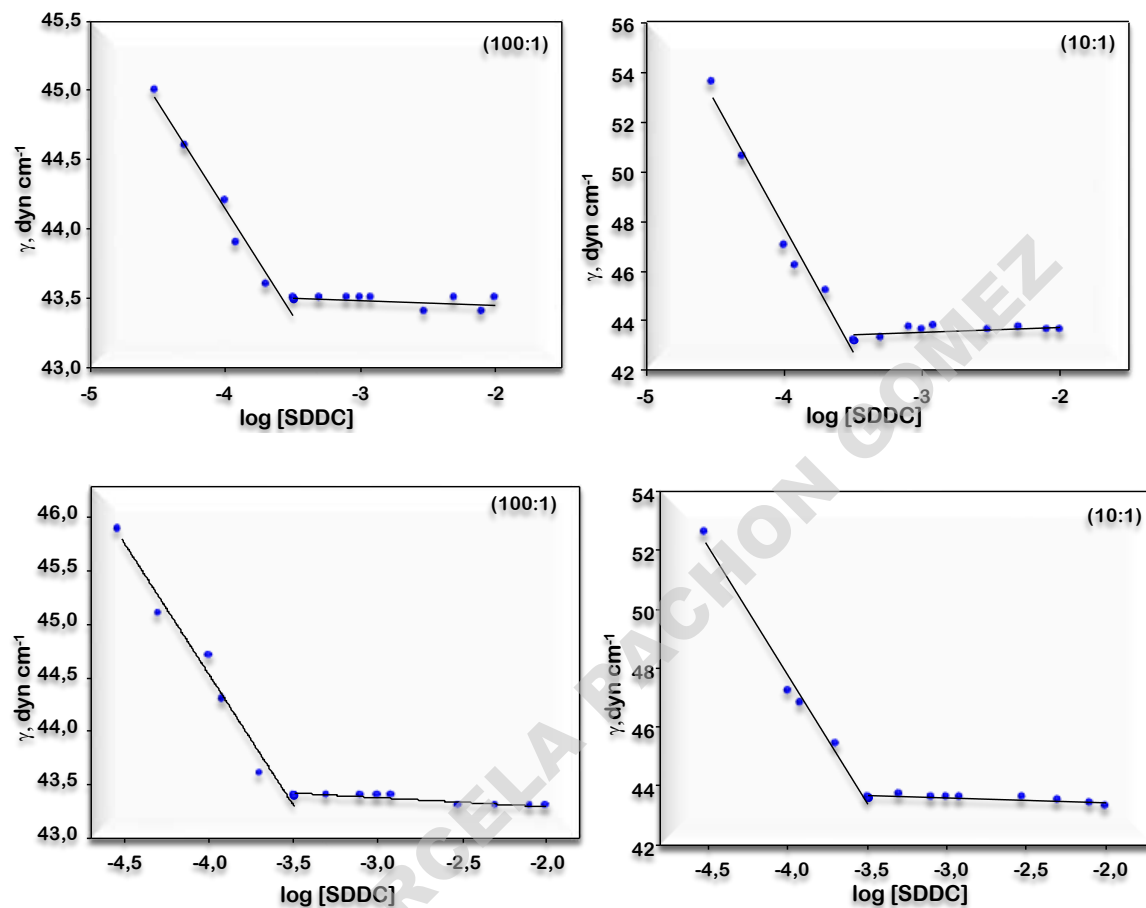


Figura A9. Variación de la tensión superficial en función del logaritmo de la concentración de los metalosurfactantes, para el SDDC: AgNO₃ (100:1 y 10:1) y SDDC: FeCl₃ (100:1 y 10:1). T= (30,0 ± 0,1) °C



A.5. Hidrolisis del Trifluoroacetato de fenilo (TFAF).

Figura A10. Constantes de velocidad observadas para la hidrólisis del TFAF en función de la concentración total del surfactante gémuni SDDC. [TFAF]= 2,6mM. $T = (30,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$ a dos longitudes de onda.

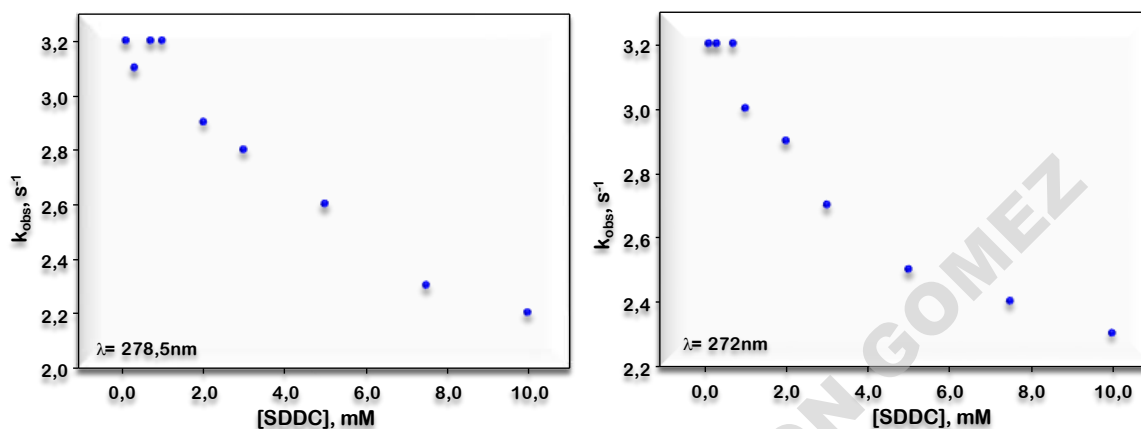


Figura A11. Constantes de velocidad observada para la hidrólisis del TFAF en función de la concentración total del complejo SDDC: CuSO₄ a (10:1) y (100:1). [TFAF]= 2,6mM. $T = (30,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$ a dos longitudes de onda.

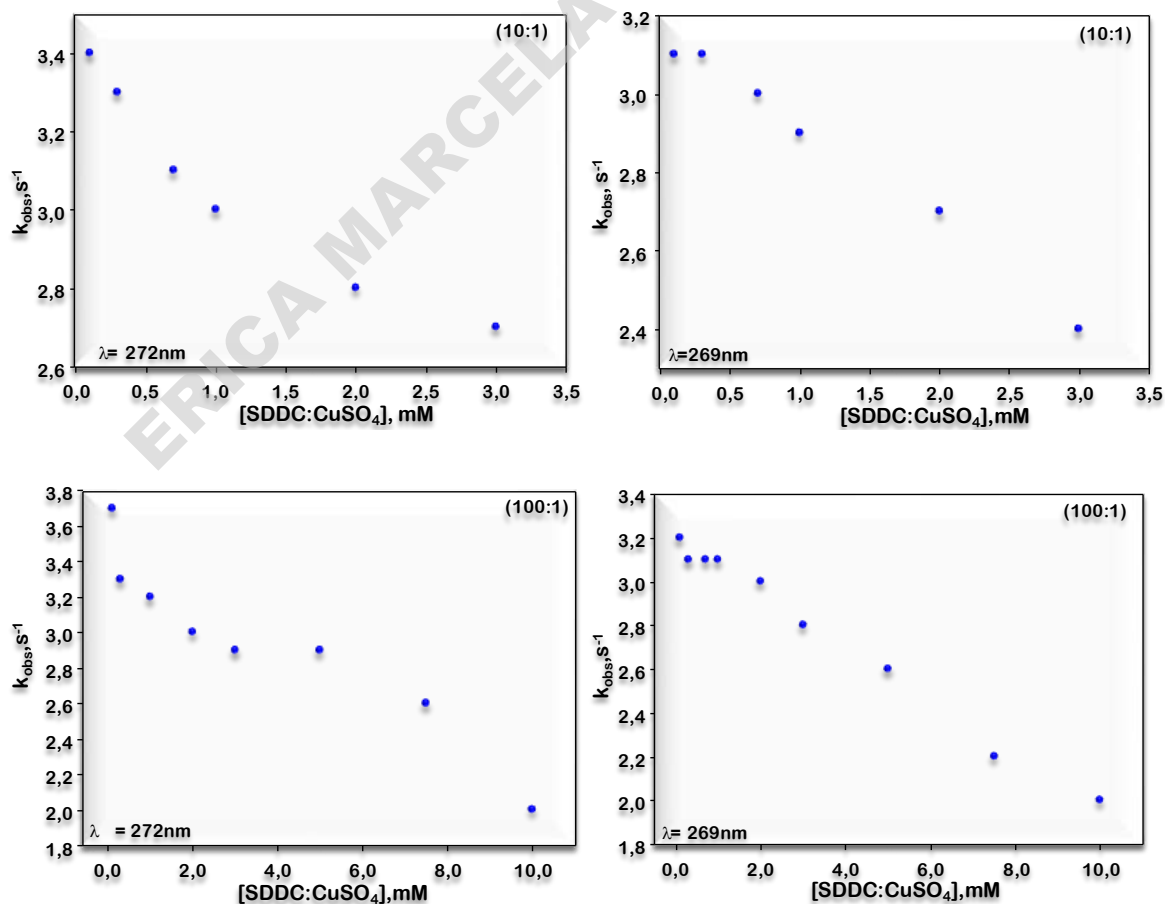


Figura A12. Inversa de la constante de velocidad observada para la hidrólisis de TFAF en función de la concentración total de SDDC. [TFAF]= 2,6mM. T= (30,0 ± 0,1) °C a dos longitudes de onda.

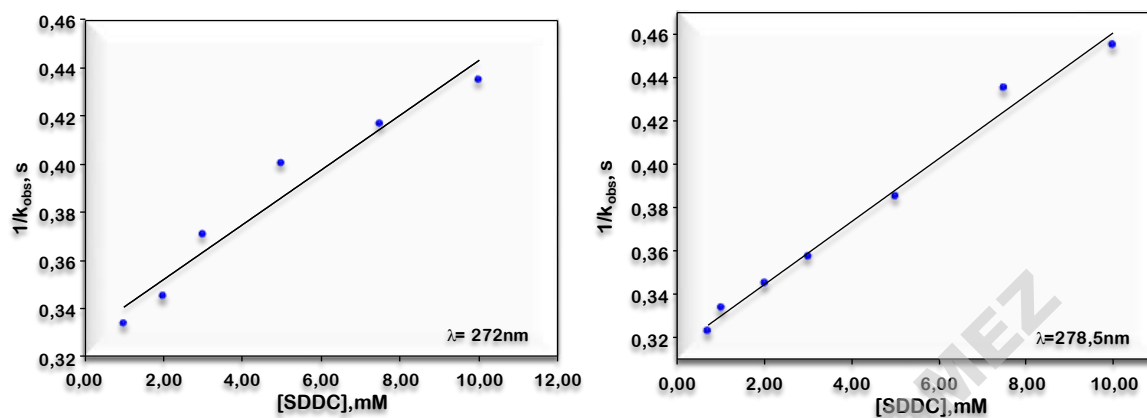


Figura A13. Inversa de la constante de velocidad observada para la hidrólisis de TFAF en función de la concentración total del complejo SDDC: CuSO₄ a (10:1) y (100:1) [TFAF]= 2,6mM. T= (30,0 ± 0,1) °C a dos longitudes de onda.

