

3

CONSIDERACIONES SOBRE LAS TÉCNICAS EXPERIMENTALES EMPLEADAS

3.1 CONDUCTIVIDAD

En general, la CMC se encuentra por el cambio de pendiente de la **conductividad específica**, κ , en función de la concentración, C , o por el punto de cambio brusco de **conductividad equivalente**, Λ , con \sqrt{C} .

La **conductividad equivalente diferencial** Λ_d permite detectar mejor la desviación de la linealidad de las curvas de conductividad específica en soluciones de surfactantes, y se define como:

$$\Lambda_d = 1000 \frac{d\kappa}{dc} \quad (3.1)$$

La conductividad equivalente diferencial ya ha sido descrita por Hartley [1] en 1936 para discutir la conductividad de soluciones de jabones. Sin embargo, luego cayó en desuso, quizá por requerir datos muy buenos de conductividad específica. El uso actual de métodos numéricos y computadoras facilita obtener resultados confiables. Se muestran datos experimentales en la Figura 3.1, computados con la fórmula

$$\Lambda_d = 1000 \frac{(\kappa - \kappa')}{(C - C')} \quad (3.2)$$

donde C y C' son dos concentraciones a las cuales las conductividades específicas son κ y κ' , graficándose cada valor de Λ_d en función de $C_{prom} = (C - C')/2$.

La posición del punto de inflexión a tangente vertical indica la CMC. La caída gradual de Δ_d en la zona de la CMC, se explica por el tamaño finito de las micelas establecido por el modelo de acción de masas.

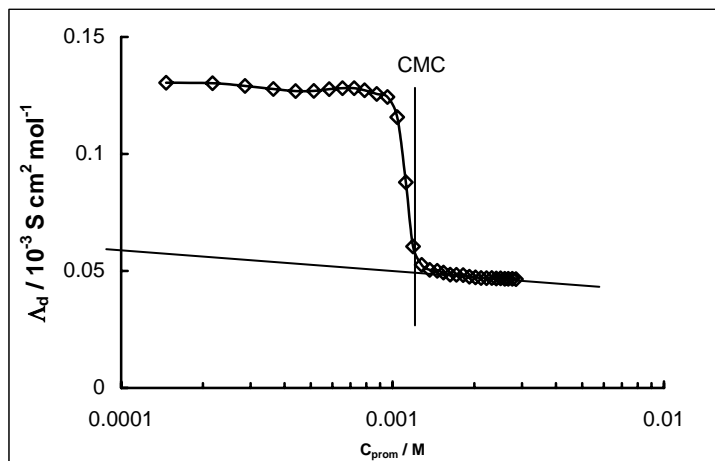


Figura 3.1 Gráfico de conductividad diferencial para una mezcla de bromuro de deciltrimetilamonio – bromuro de hexadeciltrimetilamonio, con $\alpha_{\text{C10TAB}} = 0.25$, a 25 °C (datos de esta tesis).

3.1.1 EL CAMBIO DE ESTRUCTURA MICELAR

El cambio de estructura micelar, ya sea a cilindros o discos, o a mesofases, puede en muchos casos ser detectada por mediciones de conductividad.

Mysels y Mysels [1] presentaron los resultados en forma parecida, como $\Delta\kappa = \kappa - (A + BC)$ vs C . Después de la CMC, $\Delta\kappa$ puede ser positivo o negativo. La detección del cambio de estructura de micelas esféricas a cilíndricas o discoidales (lo que se suele llamar “segunda CMC”), mediante un quiebre en las curvas de conductividad específica-concentración también fue utilizado por Miura y Kodama [3], y se hace más notable si se grafica $\Delta\kappa = \kappa - \kappa_{\text{extrap}}$, donde κ es la conductividad específica por encima del segundo quiebre, y κ_{extrap} la que correspondería a esa misma concentración por extrapolación de la dependencia de κ con C entre la CMC y el segundo quiebre.

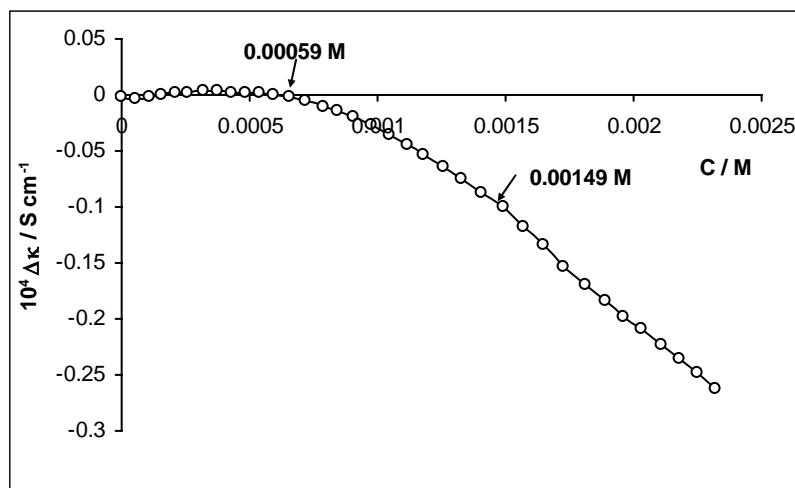


Figura 3.2 Determinación de la segunda CMC para una mezcla de oleato de sodio – linoleato de sodio, con $\alpha_{\text{NaOL}} = 0.65$, datos de esta tesis, a 25 °C.

3.1.2 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS MICELARES MEDIANTE MEDICIONES DE CONDUCTIVIDAD.

Desde hace bastante tiempo se han planteado modelos que permiten hallar varias propiedades de las micelas sobre la base de mediciones de conductividad. En general, las propiedades que se desean obtener son el número de agregación, N , la relación $m/N = B$ donde m el número de contraiones micelizados, o el grado de ionización micelar $\alpha = 1 - B$, y la constante de equilibrio de formación de micelas.

3.1.2.1 Cálculo del grado de ionización micelar por conductividad

Un método fue propuesto por Evans [4] en el cual α está relacionado con el número de agregación micelar N y el de contraiones micelizados m , a través de la relación:

$$1000 \left(\frac{d\kappa}{dC} \right)_2 = \frac{(N-m)^2}{N^{4/3}} \left[1000 \left(\frac{d\kappa}{dC} \right)_1 - \Lambda_x \right] + \alpha \Lambda_x \quad (3.3)$$

Los subíndices 1 y 2 se refieren a las pendientes de la gráfica de conductividad específica en función de C antes y después de la CMC, respectivamente. Λ_x es la conductividad equivalente del contraión. En este método se usa un valor arbitrario de N para calcular α . Afortunadamente, α es muy insensible al valor elegido de N . Por ejemplo, para CTAB, los valores de $N = 40, 60$ y 80 dieron los valores de α de $0,22, 0,21$ y $0,20$, respectivamente.

3.2 ELECTRODOS SELECTIVOS PARA IONES

Se dice que un electrodo determinado es selectivo para un dado ión i , cuando su potencial está dado por la ecuación de Nernst:

$$E = E^0 \pm \frac{RT}{z_i F} \ln a_i = E^0 \pm \frac{2.303RT}{z_i F} \log a_i \quad (3.4)$$

donde el signo (+) se usa convencionalmente si i es un catión y el (-) si es un anión. La actividad del ión es a_i y z_i es su número de cargas [5]. El intervalo sobre el cual el electrodo proporciona una respuesta nernstiana al ión i está limitado en la práctica, aún en ausencia de otros iones interfirientes, a los cuales también responde el electrodo.

Todos los electrodos selectivos involucran un proceso de intercambio iónico en el mecanismo de determinación del potencial.

Si la pendiente no es $RT/z_i F$, se dice que la respuesta no es nernstiana (a veces se dice que la respuesta es "*subnernstiana*", si la pendiente es menor que el valor mencionado). A 25 °C, con $z_i = 1$, el coeficiente $2,303RT/z_i F = 59.12$ mV.

Se denomina "*ión primario*" a aquél para el cual se ha construido el electrodo, aunque a veces no sea este ión el que provea la respuesta mayor. Por ejemplo, el electrodo de Na^+ es más sensible a iones H^+ y Ag^+ que al Na^+ .

3.2.1 ELECTRODOS SELECTIVOS PARA LOS CONTRAIONES

3.2.1.1 Electrodo de vidrio

En la actualidad, de acuerdo con Eisenman [6], los electrodos de vidrio son los preferidos para los iones H^+ , Na^+ , Ag^+ y Li^+ , debido a su alta especificidad y a sus excelentes características de estabilidad, pudiéndose emplear sin problemas en presencia de sustancias tensioactivas. La respuesta del electrodo es relativamente indiferente al tipo de anión presente, a menos que ataque al vidrio o reaccione con el catión.

Todos los electrodos de vidrio deben ser acondicionados durante un tiempo sumergiéndolos en agua o en una solución reguladora diluída, aún cuando después puedan utilizarse en medios parcialmente no acuosos.

Algunos electrodos de vidrio, especialmente los de medición de pH, vienen armados con su electrodo de referencia, de modo que no es necesario utilizar uno separado. Se denominan "*electrodos combinados*".

3.2.1.2 Electrodo de estado sólido

Los sensores no vítreos de estado sólido cuentan con una membrana de conducción iónica en lugar de la membrana de vidrio. Pueden ser de dos tipos: homogéneo y heterogéneo. Los electrodos homogéneos se pueden construir con un monocristal o con pellas comprimidas de precipitados. Los electrodos de Br^- y Cl^- son de este tipo.

En la Figura 3.3 puede verse un ejemplo de las curvas de E vs. C_T para bromuro de dodeciltrimetilamonio. El cambio de electrodo interno de referencia sólo corre la curva E - pC hacia arriba o hacia abajo, pero no altera los resultados, pudiendo entonces usarse un electrodo de Ag/AgCl , calomel o aún uno de platino.

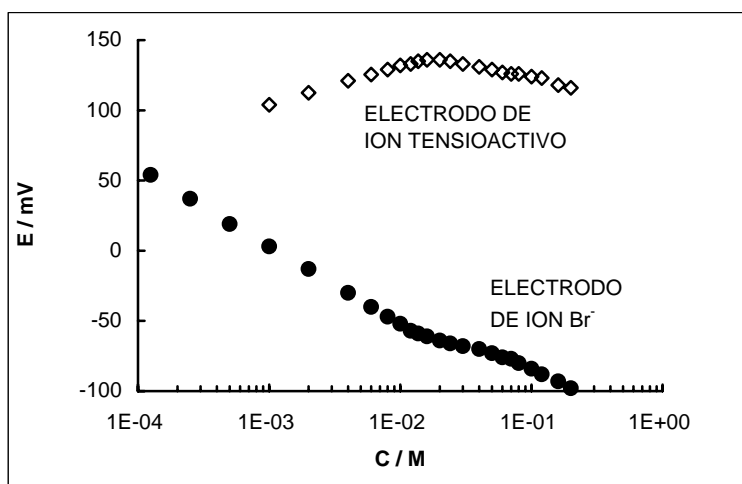


Figura 3.3 Potenciales referidos al electrodo saturado de calomel, del electrodo específico de iones dodeciltrimetilamonio y del de iones bromuro. Obsérvese que la pendiente pre-CMC para el ión tensioactivo es sublineal. Datos propios.

3.2.1.3 Electrodo de membrana de PVC

Las composiciones portadoras de intercambio iónico que dan selectividad a los electrodos, pueden ser usadas ya sea en membranas líquidas o en matrices de PVC.

El trabajo con membranas líquidas [7, 8] y de membranas sólidas [9] estableció un decrecimiento en actividad del monómero encima de la CMC, confirmando así la observación de Birch y Clarke [10, 11, 12], en contraste con la suposición habitual de que la actividad del monómero por encima de la CMC es constante [13]. Debe notarse sin embargo que la actividad

media del surfactante encima de la CMC es aproximadamente constante en muchos sistemas. La Figura 3.4 ilustra esto, usando bromuro de dodeciltrimetilamonio, con datos de actividad hallados usando electrodos selectivos para DTA^+ y Br^- .

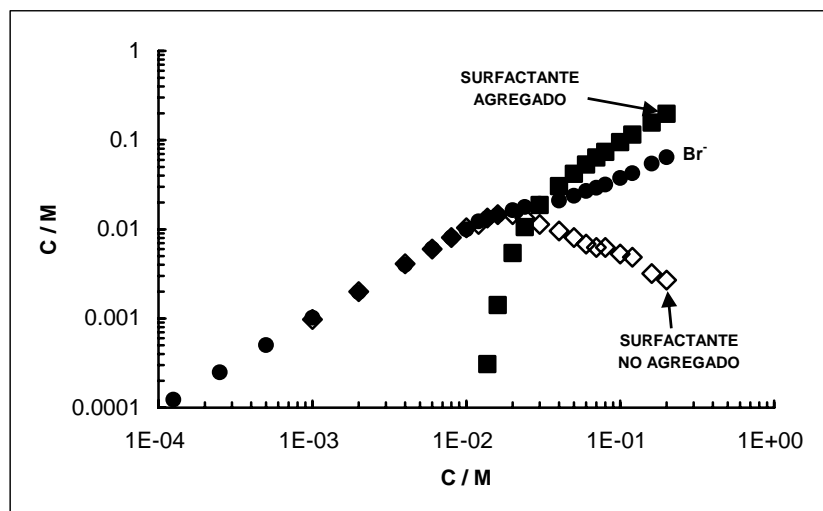


Figura 3.4 Comparación de concentraciones no miceladas de dodeciltrimetilamonio, Br^- y surfactante micelado en soluciones de DTAB en función de la concentración total de surfactante. Datos propios.

3.2.2 PREPARACIÓN DE ELECTRODOS SURFACTANTE-SELECTIVOS

Todos los electrodos selectivos de surfactantes utilizados con mayor éxito han sido de la variedad de membrana líquida, o como una película líquida inmovilizada en una matriz plástica.

En el electrodo de membrana inmovilizada en PVC, el intercambiador iónico líquido es incluido íntegramente en una matriz de PVC para formar una película fácilmente plegable, que es usada como la membrana electródica. La matriz de PVC debe ser plastificada usando un solvente líquido mediador, tal como fosfatos orgánicos o ésteres de ácidos dicarboxílicos.

Frecuentemente el líquido usado para el intercambiador iónico posee propiedades plastificantes. Si no es así, entonces se le puede agregar un líquido plastificante, si la capa de PVC debe ser estable y homogénea. Una vez hecha la hoja de membrana se la deja secar y luego se corta una pieza que se pega a un tubo de PVC usando solución 80:20 de tetrahidrofurano:PVC [13, 14]. Más adelante se proporcionan detalles experimentales.

3.2.2.1 Preparación de los portadores

Las sales de intercambio usadas exitosamente para electrodos surfactante-selectivos son complejos de surfactantes catiónicos grandes con surfactantes aniónicos y pueden ser preparados con variables grados de facilidad por mezclado directo.

-**Sales cristalinas:** se disuelven en la mínima cantidad de agua caliente (60 °C) masas equivalentes de los dos surfactantes para formar un complejo 1:1. Se puede agregar etanol en pequeñas cantidades a la solución para incrementar la solubilidad de algunos surfactantes catiónicos. Las dos soluciones son entonces mezcladas y dejadas enfriar. Cuando los complejos insolubles precipitan se filtran y lavan con agua destilada. El complejo es entonces recrystalizado en una mezcla de etanol-agua hasta que el test a la llama del precipitado no de Na^+ .

3.2.2.2 Fabricación de la membrana de PVC

Para preparar la membrana selectiva al ión RTA^+ se disolvió 0.3 g del soporte preparado con cantidades equimoleculares de C10TAB y SDS (precipitado que se lavó, filtró y se dejó secar), y 0.3 g de PVC en 0.06 g de dibutilftalato (plastificador) y 10 ml de tetrahidrofurano (THF). La solución se colocó en una caja de Petri de 25cm de diámetro donde permaneció hasta la evaporación completa del THF. La membrana flexible resultante se cortó y adhirió a un tubo de PVC del tamaño adecuado.

3.2.2.3 Electrodo de referencia interna

En este caso, se emplea una solución de llenado conteniendo iones a los cuales dan respuesta termodinámicamente reversible tanto la membrana como el electrodo de referencia interna. En la práctica, puesto que el electrodo de referencia interna más conveniente es el de Ag^+/AgX , la solución interna contendrá los iones determinados y haluro, usualmente en niveles 0,1 a 0,01 M, aunque a veces es 0,001 M, como en el caso de muchos electrodos selectivos para iones surfactantes. Es conveniente agregar un exceso de haluro de plata, para evitar que con el cambio de temperatura se pueda disolver el revestimiento de haluro de plata del alambre interno del electrodo.

3.2.2.4 Armado del electrodo

Es conveniente construir el cuerpo del electrodo con un material químicamente inerte y fácilmente asequible en forma de tubos de diámetro apropiado.

Se pega o asegura la membrana a un extremo del cuerpo del electrodo de vidrio o plástico. Se deja secar unas dos horas y luego se llena con una solución interna de referencia (1 mM de NaBr y 1 mM de RTAB). Finalmente se asegura al otro extremo del tubo el tapón o sellador con el electrodo interno, que debe sumergirse en la solución interna. solución interna de referencia (0.001M NaBr + 0.001M RTAB) agregándose además unos cristales de AgCl.

3.2.3 INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Debido a que los electrodos responden solamente a los iones sueltos en solución, la actividad del contraión X, tal como se mide en el electrodo, es:

$$a_x = \gamma_x \left[\frac{Z_p}{Z_x} C_p + \frac{\alpha n C_M}{Z_x} + C_X^{es} \right] = \gamma_x C_x \quad (3.4)$$

donde γ_x , Z_x y C_x son el coeficiente de actividad, la carga y la concentración del contraión, Z_p y C_p la carga y la concentración del ión tensoactivo libre, n el número de agregación micelar, C_M la concentración de micelas y α la carga efectiva por molécula micelizada. C_X^{es} es la concentración del contraión proveniente de un electrolito soporte, si ha sido agregado al sistema. Notar que:

$$nC_M = C_T - C_p \quad (3.5)$$

Con C_T la concentración total de surfactante. En la Ecuación 3.4, la primera parte entre corchetes corresponde a los contraiones originados en la sal tensoactiva no micelizada, la segunda son los iones originados en la ionización micelar y la tercera, los provenientes de un electrolito soporte agregado, si lo hay.

En general, la potenciometría proporciona un gráfico del tipo de la Figura 3.5. Para un dado valor de $pC_T = -\log C_T$, por intersección de la curva experimental con la vertical a pC_T , se encuentra el punto A, donde se traza la horizontal, que corta a la continuación de la curva pre-CMC en B, y de allí la vertical nuevamente, que da pC^*_{libre} , de donde podría deducirse la concentración libre de ión estudiado. El asterisco indica que la interpretación no es tan fácil. Lo que se detecta es la actividad del ión, no su concentración.

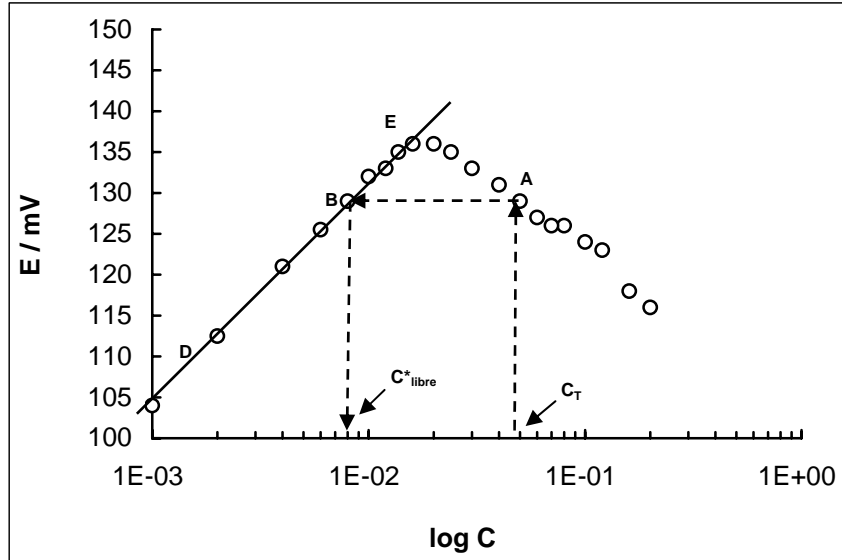


Figura 3.5 Gráfico potenciométrico en soluciones de anfifilos. Electrodo de DTA⁺, mezcla DDAB:DTAB 5:95. Datos de nuestro laboratorio.

Lo que se debe hacer es tomar la zona DE, y representar el potencial E en función de la actividad del ión i considerado. Para ello, se puede calcular γ_i con alguna fórmula apropiada, como la de Davies [15] (a 25 °C):

$$\log \gamma_i = z_i^2 \left[-\frac{0.5091\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} + 0.12I \right] \quad (3.6)$$

donde I es la fuerza iónica:

$$I = 0.5(z_X^2 C_X + z_P^2 C_P) \quad (3-7)$$

Con la ecuación de la recta y los valores de E que corresponden a cada valor de C_T (por encima de la CMC), se obtienen los correspondientes valores de actividad del ión i (a_i), en equilibrio con las micelas.

Para convertir el valor de a_i hallado en C_i , debe conocerse la fuerza iónica, a fin de aplicar la ecuación de Davies, calcular γ_i y de allí $C_i = a_i/\gamma_i$. Sin embargo, todo lo que se tiene encima de la CMC son valores de a_X y a_P . Puede aplicarse un método de aproximaciones sucesivas [16]. Primero, se toma una fuerza iónica provisoria. Para un dado C_T , se tiene un valor de a_X y otro de a_P . Con ellos se calcula: $I^* = 0.5(z_X^2 a_X + z_P^2 a_P)$

Luego se aplica la ecuación de Davies, calculando un coeficiente de actividad provisorio γ_i^*X y otro γ^*P , con los que se calculan concentraciones provisorias C^*X y C^*P . Con éstas se recalcula I y se repite el proceso, hasta que un par de valores C_X y C_P no difieran del par del paso anterior en más de un cierto porcentaje (por ejemplo 0.1 %). En ese momento se detienen las iteraciones y se toman como verdaderos esos valores.

Las suposiciones habitualmente aceptadas al trabajar con electrodos ión selectivos son que éstos son solamente sensibles a los iones no micelizados, incluyendo a los contraiones que están fuera de la capa de Stern micelar, y que las micelas no contribuyen a la fuerza iónica en forma apreciable de modo que se las puede despreciar al calcular los coeficientes de actividad de los iones en la solución intermicelar [16, 17].

3.3 REDUCCIÓN DE LA TENSIÓN SUPERFICIAL E INTERFACIAL

Una de las funciones más importantes de los agentes tensioactivos es la reducción de la tensión superficial e interfásial, σ . Depende directamente del reemplazo de moléculas del solvente en la interfaz por moléculas del anfifilo, y consecuentemente, depende de la concentración en exceso del anfifilo en la superficie o interfaz, de acuerdo con la ecuación de Gibbs.

$$d\sigma = - \sum \Gamma_i d\mu_i \quad (3.8)$$

donde Γ_i es el exceso superficial (moles /unidad de área) de la especie i y μ_i su potencial químico en el seno de la solución. Las moléculas en la superficie del líquido tienen energías potenciales mayores que las que tienen las moléculas en el interior del líquido.

Para un sistema que se encuentra en estado de equilibrio termodinámico, el potencial químico de cualquier componente, incluyendo la sustancia adsorbida, es igual en todas las fases en contacto y en la capa superficial. Considerando la magnitud μ como potencial químico de la sustancia disuelta en el volumen de la solución se puede escribir:

$$d\mu = RT d \ln (a) \quad (3.9)$$

donde a es la actividad del material adsorbible en el interior de la solución, que en ciertos casos puede aproximarse a su concentración (baja concentración o material no iónico). Cuando son varias las especies adsorbibles:

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \frac{d\sigma}{d \ln(\prod_i a_i)} \quad (3.10)$$

Sea el exceso superficial:

$$\Gamma = \delta(C^{(s)} - C) \quad (3.11)$$

donde $C^{(s)}$ es la concentración en la superficie, C la misma en el seno de la solución y δ el espesor de la interfaz, la ecuación de Gibbs puede escribirse también en la siguiente forma:

$$-\frac{d\sigma}{dC} = RT\delta \frac{[C^s - C]}{C} \quad (3.12)$$

Puesto que sólo las moléculas de surfactante no micelizadas son tensioactivas, una forma eficiente de determinar la concentración micelar crítica con cualquier tipo de surfactante es la medición de la tensión superficial de sus soluciones a distintas concentraciones. La representación habitual es de σ en función del logaritmo de la concentración del surfactante.

De las diversas formas de medir la tensión superficial, en esta Tesis se utilizó la del anillo.

3.3.1 MÉTODO DEL ANILLO.

En este método se determina la fuerza necesaria para separar un anillo de la superficie, suspendiendo el anillo del brazo de una balanza, o utilizando un sistema de hilo de torsión (tensiómetro Du Noüy). La fuerza para despegarlo está relacionada con la tensión superficial o interfacial.

El procedimiento es medir la tensión superficial de soluciones de concentración creciente de surfactante dejando un tiempo para equilibrar la superficie con el interior de la solución, tiempo que es mayor cuanto más diluida es la solución. Una vez que varias mediciones sucesivas dan el mismo valor dentro de 0,1 mN/m, se grafica el valor promedio de dichas mediciones en función del logaritmo de la concentración, como se muestra en la Figura 3.6. La CMC se

determina como el punto en que la tensión superficial se hace casi independiente de la concentración.

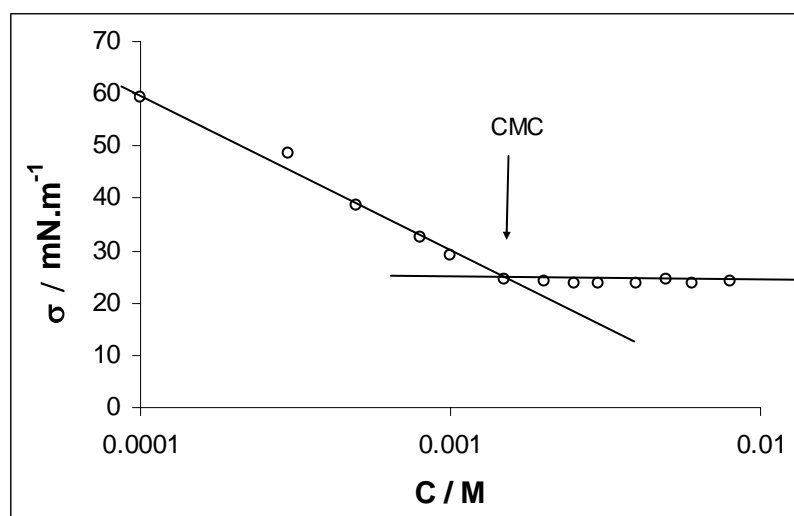


Figura 3.6 Tensión superficial de soluciones de una mezcla de SUD-DTAB para la proporción $\alpha_{\text{SUD}}=0.2$, a 25 °C, mostrando el quiebre en la CMC. Datos de esta tesis.

3.4 SOLUBILIZACIÓN MICELAR

La solubilización en sistemas micelares está íntimamente asociada con la naturaleza de las micelas y la estructura y propiedades de las especies solubilizadas.

La solubilización es un término acuñado por McBain para describir algunas propiedades peculiares como solventes de las soluciones micelares. Un fenómeno estrechamente relacionado es la distribución de especies disueltas entre la solución intermicelar y las micelas. Puesto que las micelas se forman por la autoasociación de los monómeros [18-22], la solubilización puede ser discutida en términos de asociación de las especies solubilizadas (solubilizado) con los monómeros, o comicelización.

La palabra solubilización también se usa frecuentemente para describir los efectos de aditivos distintos de los que forman micelas [23, 24] o los efectos de los agentes tensioactivos sobre moléculas insolubles o proteínas. Nos limitaremos a la solubilización de moléculas pequeñas en soluciones acuosas de anfífilos micelares. Hay disponibles muchas monografías sobre el tema [23-28].

La naturaleza de la solubilización en soluciones micelares y los efectos de las especies solubilizadas sobre el equilibrio monómero - micela dependen de la naturaleza de las interacciones de las especies solubilizadas con los monómeros y micelas [23, 24, 26, 29].

La velocidad de cambio de solubilidad con la concentración del agente tensioactivo crece desde un valor aproximadamente cero a un valor aproximadamente constante, alto, en un estrecho rango de concentraciones alrededor de la CMC.

El efecto de la presencia de un solubilizado sobre la CMC de un determinado anfifilo es de interés para la comprensión de las interacciones del solubilizado con las micelas, y para una importante aplicación de la solubilización, es decir, en un método para la determinación de la CMC [29]. Aunque muchos estudios han indicado que los solubilizados bajan la CMC [29], la composición de las micelas en tales sistemas ha sido estudiada en muy pocos casos.

3.4.1 SOLUBILIZACIÓN DE COLORANTES HIDROINSOLUBLES EN SISTEMAS MICELARES ACUOSOS

En el caso de usar colorantes liposolubles que no sean solubles en agua para determinar la CMC, tales como Sudan III o Sudan Negro B, la cantidad solubilizada es proporcional al volumen de micelas. Debido además a su alto volumen molecular, por efecto de la presión de Laplace, su solubilidad en micelas es baja.

Una buena teoría acerca de la solubilización requiere un conocimiento detallado de las fuerzas intermoleculares en sistemas interfaciales y la estructura micelas, que generalmente no está disponible. Pueden considerarse, sin embargo, algunos factores importantes, como la presión de Laplace dentro de las micelas debido a su interfaz curvada [30-32] y la distribución de las especies solubilizadas entre estados "disuelto" y "adsorbido" en el modelo de dos estados [30]. Para una micela esférica, la presión de Laplace está dada por $2\sigma/r$, donde σ es la tensión interfacial y r el radio. Cuando la micela se transforma en cilíndrica, la presión de Laplace se transforma en σ/r , siendo r el radio del cilindro, lo cual aumenta la capacidad solubilizante de las micelas. En consecuencia, el gráfico de absorbancia en función de concentración del surfactante tendrá una zona de absorbancia prácticamente nula, con un quiebre hacia arriba cuando se forman micelas, y otro quiebre con un aumento de absorbancia cuando las micelas se hacen no esféricas. Adicionalmente, un muy ligero incremento de absorbancia antes del primer quiebre indica la formación de agregados premicelares con ligera capacidad solubilizante. El Sudan III se suele usar para este ensayo, pero tiene el inconveniente de tener un grupo fenólico, lo que lo hace ligeramente hidrosoluble en medios muy alcalinos. En ese caso, se usa Sudan Negro B, que si bien es menos soluble en las micelas, es insoluble en medio básico.

El procedimiento consiste en preparar una batería de tubos con soluciones de concentración creciente de surfactante, agregar a cada tubo cristallitos de colorante

hidroinsoluble, y dejarlos varios días bien tapados, con agitación periódica. Luego se extrae el sobrenadante y se le mide la absorbancia (A) a una longitud de onda correspondiente a un máximo del espectro visible del colorante. Luego se grafica A en función de la concentración del surfactante, detectando los cambios de régimen de absorción como puede observarse en la Figura 3.7.

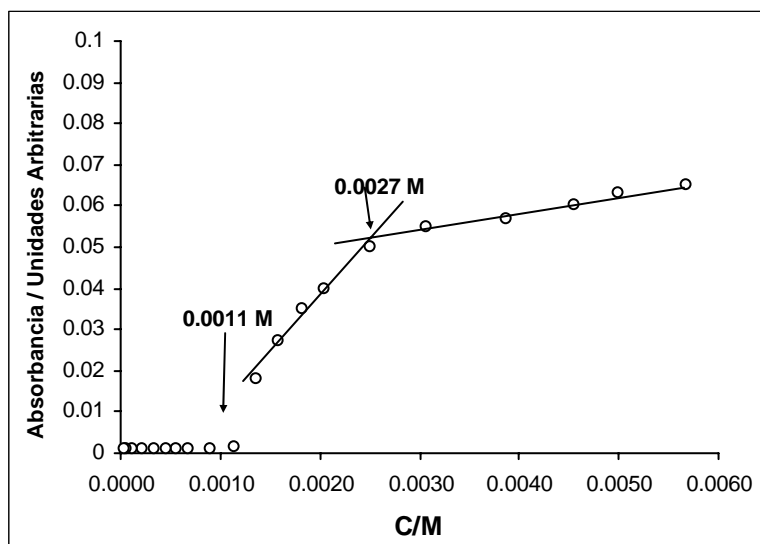


Figura 3.7 Absorción de Sudan negro B en función de la concentración total, para la mezcla de oleato de sodio – linoleato de sodio, $\alpha=0.5$. El primer quiebre muestra la CMC y el segundo un cambio de estructura. Datos de esta Tesis.

3.5 CAMBIO DE COLOR Y FLUORESCENCIA DE RODAMINA 6G

Este método fue popular en el período de 1947-1955, habiendo sido olvidado en la actualidad por su imprecisión, pero es aún útil para demostrar la presencia o ausencia de micelas y obtener una CMC aproximada, en especial, si hay varios puntos críticos determinados por otras técnicas tales como conductividad, y hay que determinar cuál corresponde a la formación de micelas, es decir, a la CMC.

El colorante catiónico, Rodamina 6G, fue estudiado por Lewschin [33]. El cambio de color se acompaña con variaciones de fluorescencia. Con surfactantes aniónicos, la solución encima de la CMC es naranja y altamente fluorescente, mientras que debajo de la CMC es roja y casi sin fluorescencia. También se observan cambios con algunos surfactantes catiónicos. El efecto del cambio de pH superficial en las micelas puede también ser razón del cambio de color. En la Figura 3.8 se puede ver un ejemplo de cambio de color por agregado de Rodamina 6 G.

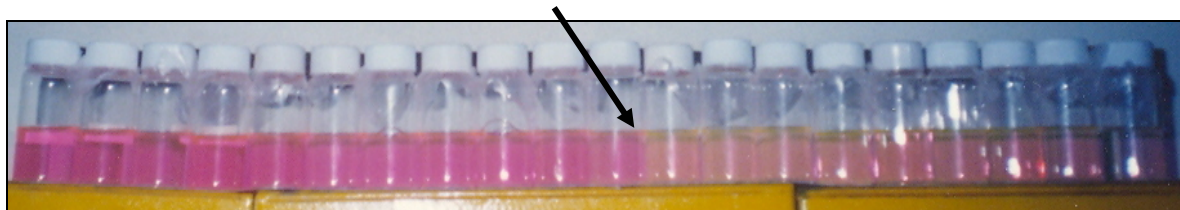


Figura 3.8 Determinación de la CMC de una mezcla 1:1 de ácido n-dodecano fosfónico/ hidróxido de dodeciltrimetilamonio en agua mediante el cambio de color y fluorescencia de rodamina 6G. La flecha indica la transición entre soluciones micelares y monoméricas. [Foto de nuestro laboratorio].

3.6 EFECTO DE LA SOLUBILIZACIÓN SOBRE EL TAMAÑO MICELAR – SOLUBILIZACION DE PIRENO

Puesto que para determinar el tamaño micelar de algunos de los sistemas estudiados en esta tesis se utilizó el método de fluorescencia de pireno solubilizado en las micelas, es conveniente hacer un análisis de cómo este material puede haber afectado a la propiedad medida, es decir, el número de agregación micelar.

Cuando se revisan datos de distribución de tamaños micelares y modelos de autoasociación [20-22], se encuentra que en ausencia de solubilizado hay una distribución estrecha de tamaños o una amplia. Si n_w y n_n representan el promedio en peso y en número del número de agregación, respectivamente, muchos sistemas que muestran distribuciones estrechas tienen un índice de polidispersidad, n_w/n_n , menor que 1,05, siendo el valor para una monodispersidad estricta la unidad. Estas micelas también pueden ser descritas como micelas "pequeñas", con un número de agregación hasta aproximadamente el doble del necesario para producir una micela esférica con el radio equivalente a la longitud de la molécula anfifílica estirada, como máximo. Las micelas mayores que esto presentan una distribución más amplia, con $n_w/n_n \geq 2$. Estas micelas "grandes" son cilíndricas [34-38].

Se ha presentado un modelo general de asociación que explica la transición de micelas esféricas a varillas [20]. En el caso de anfifilos iónicos esta transición puede ser favorecida por el agregado de electrolitos [37, 39] y también con el aumento de la concentración del anfifilo [41, 41].

El efecto del solubilizado sobre el número de agregación micelar ha sido estudiado en muchos casos [24, 42, 43]. En general, se halló que la solubilización incrementa el número de agregación promedio del anfifilo en las micelas, junto con su tamaño.

Los complejos efectos de la solubilización sobre el tamaño micelar no parecen ser manejables por una teoría cuantitativa en el presente tiempo, aunque algunas consideraciones cualitativas, que se presentarán más adelante, parecen racionalizar muchas de estas observaciones [44]. El primer punto importante es que para procesos relativamente simples de solubilización, se espera que las micelas grandes deban ser más estables que las más chicas, debido a que las primeras pueden interactuar con un mayor número de moléculas solubilizadas. Este tratamiento fue usado por Mysels [45] para examinar el simple caso de micelas "marcadas", es decir, micelas que contienen trazas de indicadores, presentes en una concentración tan baja que es despreciable la concentración de micelas que contengan más de una molécula de colorante (Que es el caso de la técnica de determinación del número de agregación micelar mediante fluorescencia de pireno). Suponiendo que la solubilidad es ideal, mostró que la distribución de micelas marcadas es llevada hacia las micelas grandes, y que el valor de n_n de las micelas marcadas es igual al de n_w de las no marcadas. Una extensión de este argumento provee una rápida explicación del incremento en n usualmente hallado en presencia de solubilizados [44], y es generalmente válido.

Un segundo punto está relacionado con la distribución de la especie solubilizada dentro de las micelas. Solubilizados tales como ciclohexano parecen estar asociados primariamente con el núcleo hidrocarbonado [30, 43]. Estos solubilizados pueden entonces producir un hinchamiento de las micelas y un incremento del radio de las micelas esféricas o elipsoidales. En el caso de solubilizados aromáticos u otros más polares, la mayor parte de las moléculas solubilizadas, hasta fracciones molares moderadas en las micelas, permanecen en la región interfásica [30, 43]. Como resultado, el espesor de las micelas crecerá menos que en el caso de hidrocarburos alifáticos o alicíclicos, y las micelas pueden hacerse más delgadas, especialmente si son varillares [43]. Los solubilizados polares entonces reducen la densidad de grupos polares de anfifílico en la superficie micelar mucho más que los no polares. Ha sido argumentado que la transición esfera-varilla en sistemas micelares primariamente sufre la oposición de las interacciones entre grupos polares para micelas no cargadas y los efectos de carga para las iónicas, debido a la comparativamente grande densidad superficial de grupos polares en micelas de forma cilíndrica [20]. Los solubilizados polares son entonces los que más favorecen la transición de esferas a varillas [44].

Puesto que las micelas en forma de varilla pueden crecer en longitud produciendo micelas muy grandes [20, 46], se producen grandes incrementos de viscosidad, los cuales han sido observados para bromuro de hexadecil trimetilamonio a alta concentración [47] y para

cloruro de hexadecil piridinio a alta concentración en presencia de NaCl [43]. El primer sistema está cercano a la transición esfera- varilla [40, 43], y probablemente también lo esté el segundo.

Cuando la concentración de solubilizado aromático en la micela es muy alta, algunos argumentos basados en la actividad superficial de especies aromáticas disueltas en micelas [3] indican que la distribución del solubilizado se hace más favorable para la región hidrocarbonada en vez de la interfásial. Es probable, entonces, que las condiciones que favorecen la estabilización de micelas varillares en lugar de las esféricas se hacen menos significativas, y el sistema cambia nuevamente de forma que predominan las micelas esféricas hinchadas. Esto es consistente con la reducción observada de viscosidades [43, 47] y el decrecimiento del número de agregación [43].

3.7 FLUORESCENCIA – DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE AGREGACIÓN

Las sondas fluorescentes se pueden usar para proporcionar información a cerca de la microviscosidad y micropolaridad de los agregados micelares [48] o, simplemente, para la determinación de la CMC y del número de agregación micelar. Estos estudios se basan en el encapsulamiento del fluoróforo dentro de la micela.

3.7.1 EL PROCESO DE DESACTIVACIÓN (QUENCHING) DE FLUORESCENCIA. TEORÍA DEL QUENCHING ESTÁTICO.

Algunos mecanismos por los cuales la intensidad de fluorescencia de una molécula decrece se denominan quenching o procesos de desactivación. Hay dos que se pueden destacar. El primero es el *quenching dinámico* o por colisión, en el cual una molécula presente en el seno de la disolución (quencher) interacciona con el fluoróforo cuando éste está en el estado excitado [49]. Las moléculas no se alteran químicamente durante el proceso; el fluoróforo vuelve al estado fundamental sin emisión de un fotón. En el caso del *quenching estático*, el fluoróforo forma un complejo con el quencher. Cuando el complejo absorbe luz, éste regresa al estado fundamental sin emitir un fotón. [49].

El quenching también tiene su aplicación en la caracterización de micelas, pudiéndose determinar el número de agregación micelar, N [50-52]. En el proceso de quenching de un

fluoróforo como el pireno dentro de una micela no sólo ocurren procesos termodinámicos de equilibrio entre la sonda y la micela, sino también cinéticos (absorción y emisión de luz por parte de la sonda, formación de excímeros¹, etc.) [53].

El espectro de emisión de fluorescencia del fluoróforo, en disolución micelar, depende por un lado del quencher, ya que una mayor cantidad de quencher hace al proceso más efectivo, y por otro, de la polaridad del medio. Además de esto, la posibilidad de que se formen excímeros cuando existe más de una sonda por agregado, hace que el espectro también dependa del número de fluoróforos que hay por micela, n ($n = [Q]_{micela} / [micela]$). Esto hace necesario conocer la función de distribución del quencher en las micelas. La función de distribución que mejor se ajusta a los datos experimentales es la de Poisson (siempre que la concentración de quencher sea la centésima parte de la concentración de micelas). La aceptación del modelo, supone que:

-Las micelas y las sondas están en equilibrio.

-La forma de las micelas no varía con el tiempo teniendo en cuenta que los procesos de excitación y emisión de fluorescencia son mucho más rápidos que los procesos y equilibrios que originan cambios en las estructuras micelares.

-Las micelas se consideran como agregados de tamaño definido.

Como la distribución del amortiguador de fluorescencia es aleatoria se puede determinar la cantidad de moléculas de éste por micela utilizando la teoría de probabilidades. Si “q” amortiguadores de fluorescencia se sitúan arbitrariamente en “m” micelas, la distribución de las moléculas de quencher en las micelas sigue una distribución de Poisson (si “q” y “m” son grandes). Tal distribución significa que la probabilidad de encontrar un número “n” moléculas de amortiguador de fluorescencia en una micela seleccionada aleatoriamente viene dado por [54]:

$$P_n = \langle q \rangle^n \exp(-\langle q \rangle) / n! \quad (3.13)$$

Dónde “ $\langle q \rangle$ ”, es la probabilidad global de que la micela contenga al menos una molécula de amortiguador de fluorescencia,

¹ Un excímero es una castellanización de *excimer*, una abreviatura de “*excited dimer*” es una molécula dímica o heterodímica de vida corta formada por dos especies, una de las cuales esté en un estado electrónico excitado. Muchos de estos dímeros no se forman si ambos componentes están en el estado fundamental. La vida de un excímero es muy corta, del orden de los nanosegundos.

$$\langle q \rangle = q/m \quad (3.14)$$

Macroscópicamente,

$$\langle q \rangle = [Q]/[M] \quad (3.15)$$

donde $[Q]$ es la concentración total de amortiguador de fluorescencia y $[M]$ es la concentración media de micela.

La probabilidad de que la micela no contenga ningún amortiguador de fluorescencia, que es cuando emite fluorescencia, se obtiene aplicando la Ecuación 3.15 para $n = 0$, cuyo resultado es:

$$P_0 = \exp(-\langle q \rangle) = \exp(-[Q]/[M]) \quad (3.16)$$

Esta probabilidad es igual a la relación de intensidades de emisión I/I_0 . Teniendo en cuenta, por tanto, que las sondas en el sistema micelar cumplen la función de distribución de Poisson, se puede llegar a la Ecuación 3.17:

$$\ln I = \ln I_0 - \frac{[Q]}{[micelas]} = \ln I_0 - \frac{N[Q]}{[S]_{tot} - CMC} \quad (3.17)$$

donde I y I_0 son las intensidades de fluorescencia medidas en presencia y ausencia de quencher, respectivamente; $[Q]$ es la concentración de quencher en la micela; $[micelas]$ es la concentración de micelas presentes en la disolución; N es el número de agregación; $[S]_{tot}$ es la concentración total de tensioactivo; y CMC es su concentración micelar crítica.

Si determinamos el quenching de fluorescencia en micelas de una mezcla, la ecuación anterior no varía:

$$\ln I = \ln I_0 - \frac{[Q]}{[micelas\ mezcladas]} = \ln I_0 - \frac{N[Q]}{[S]_{tot}^{mic}} \quad (3.18)$$

teniendo en cuenta que $[S]_{tot}^{mic} = ([S]_{tot} - CMC)$ es la concentración de tensioactivo total dentro de la mezcla de micelas.

La medida de la fluorescencia requiere condiciones óptimas:

- i. La concentración de sonda fluorescente debe ser del orden de $\sim 10^{-6}$ M ya que una concentración demasiado elevado podría saturar al aparato (la

intensidad de fluorescencia que llegaría al detector sobrepasaría su límite máximo). En esta Tesis las medidas se realizaron con concentraciones de pireno comprendidas entre $1 \cdot 10^{-6}$ y $2 \cdot 10^{-6}$ M.

- ii. Teniendo en cuenta que [micelas mezcladas] es la concentración de micelas mixtas presentes en la disolución, la relación [Pireno]/[micelas mezcladas] no debe ser superior al 1,0%. Con esto se garantiza una distribución de Poisson de tal manera que la probabilidad de que haya más de una sonda por micela sea despreciable. En esta Tesis se mantuvo una relación de $\sim 0,75\%$.
- iii. La relación [Q]/[micelas mezcladas] no debe ser superior al 90%, para así garantizar igualmente una distribución de Poisson. En este trabajo los valores de concentración de quencher en la cubeta fueron variando desde 0 hasta $\sim 23 \cdot 10^{-5}$ M, y en ningún momento se sobrepasó el límite establecido.

Conocido el número de agregación del sistema mezclado, N , y si se conoce la fracción molar de cada componente en las micelas X_i , puede calcularse el número de moléculas del componente i en las micelas como $N_i = NX_i$. Por otro lado, también puede estimarse el número de agregación que deberían tener idealmente las micelas mezcladas como [55]:

$$1/N_{ideal} = \sum X_i / N_i \quad (3.19)$$

3.8 MEDICIONES DE TURBIDEZ

En el estudio de la formación de agregados supramicelares cuando se separa el coacervato detectado en esta Tesis, se empleó como técnica de detección de los mismos la medición de la turbidez de las soluciones, haciendo uso de la característica de que las micelas son demasiado pequeñas para producir una turbidez apreciable en un espectrofotómetro común, mientras que los agregados supramicelares si lo hacen. En consecuencia se prepararon soluciones con la misma concentración total de surfactante pero con diversas proporciones de los componentes, y se les midió la absorbancia a una longitud de onda fija del visible, con lo que se detectó la aparición de agregados mayores que las micelas. Cuando el estudio se hace a una proporción fija de tensioactivo mezclado pero variando la concentración, puede detectarse la CAC (Concentración de agregación crítica) a la cual se forman los agregados supramicelares .

3.9 POTENCIAL ZETA

La electroforesis es la forma en que se mide v_0 y en consecuencia el potencial ζ , y es el movimiento de las partículas de la fase dispersa por acción de un campo eléctrico exterior, que transcurre en la mayoría de los casos en un líquido inmóvil.

La relación de velocidad de desplazamiento, v_0 , para una superficie plana se describe por la Ecuación de Helmholtz - von Smoluchowski:

$$v_0 = -\frac{\varepsilon\varepsilon_0\zeta E}{\eta} \quad (3.20)$$

donde ε y ε_0 son la constante dieléctrica y la permitividad del vacío, η la viscosidad del medio, E la intensidad del campo eléctrico y ζ el **potencial electrocinético o potencial ζ (potencial zeta)**.

El potencial electrocinético (potencial zeta) puede considerarse como el potencial de cierto plano llamado **límite de deslizamiento**, que se encuentra dentro de los márgenes de la parte difusa de la doble capa en una partícula cargada que se mueve en un medio de dispersión por efecto de un campo eléctrico. El límite de deslizamiento separa la parte inmóvil de la fase líquida de la parte en que se efectúa el desplazamiento.

El aumento de la concentración del electrolito produce una reducción del espesor de la atmósfera difusa de los contraiones, lo que produce una disminución del potencial ζ .

3.10 DIFUSIÓN DE LUZ ELECTROFORÉTICA

Esta es una técnica desarrollada para el estudio de la movilidad electroforética de macromoléculas, micelas y partículas coloidales. La difusión de luz láser puede ser usada para medir el coeficiente de autodifusión de partículas coloidales pequeñas midiendo el ensanchamiento Doppler de la frecuencia de la luz dispersada debido a la velocidad de los centros de difusión. Si se coloca un campo eléctrico a ángulo recto de la luz incidente y en el plano definido por el haz incidente y el de observación, el ensanchamiento de la línea no es afectado pero la frecuencia central de la luz dispersada es corrida en una cantidad determinada por la movilidad electroforética.

Las ventajas del método sobre otros métodos electroforéticos son su velocidad muy alta (miles de veces más rápido) y una alta resolución.

El método fue sugerido por Flygare y la teoría y algunos resultados preliminares fueron presentados por Ware y Flygare [56], que luego presentaron algunas mediciones mejoradas [57]. La teoría fue revisada por Ware [58], y Uzguiris [59] da una detallada descripción del aparato.

3.11 MICROSCOPIA ELECTRONICA - TINCIÓN DE AGREGADOS

La técnica de tinción de agregados mediante acetato de uranilo (*negative uranyl stainig*) consiste en tratar la solución de surfactante con acetato de uranilo aprovechando la afinidad que este catión tiene por la superficie de las micelas.

El ión uranilo (UO_2^{2+}) tiene una ligera preferencia para acomplejarse con ligandos con nitrógeno [60, 61], por lo cual se lo ha utilizado para fijar las estructuras en solución de agregados de surfactantes conteniendo nitrógeno. Muchas veces se aduce que la morfología de los agregados acuosos no se puede conservar en la platina de observación del microscopio electrónico bajo alto vacío. Sin embargo, se ha probado para numerosas muestras biológicas que los agentes de tinción negativa pueden fijar la morfología de los agregados. La morfología observada con esta técnica es consistente con los observados con la técnica de las réplicas de congelamiento y fractura (*freeze-fracture*) de los mismos agregados como puede observarse en la Figura 3.9. La muestra de congelamiento-fractura se prepara por congelamiento instantáneo de la muestra acuosa y la morfología original debería ser conservada. Kunitake et al. [62] mostraron que todos los tipos de agregados que aparecen en sistemas que contienen surfactantes catiónicos (micelas, micelas cilíndricas, vesículas, cristales líquidos laminares y hexagonales) pueden ser visualizados con la técnica de tinción de agregados, en la Figura 3.10 se muestran algunos ejemplos. Como la técnica de tinción negativa con acetato de uranilo es mucho más sencilla que la de congelamiento- fractura, y exige equipamiento menos sofisticado, la usamos en esta Tesis, aprovechando el amable apoyo del Laboratorio de Radioisótopos del Departamento de Química para la manipulación del acetato de uranilo (por razones legales).

La técnica conste en mezclar un mililitro de solución de surfactante con un mililitro de solución acuosa 2 % de acetato de uranilo, sonicando a continuación la muestra luego por 20 s. Luego se incuba en una mezcla de agua y hielo por 30 minutos y se aplica sobre una retícula para

microscopía electrónica cubierta de carbono. La muestra es entonces secada al vacío y observada en el microscopio electrónico de transmisión [63, 64]

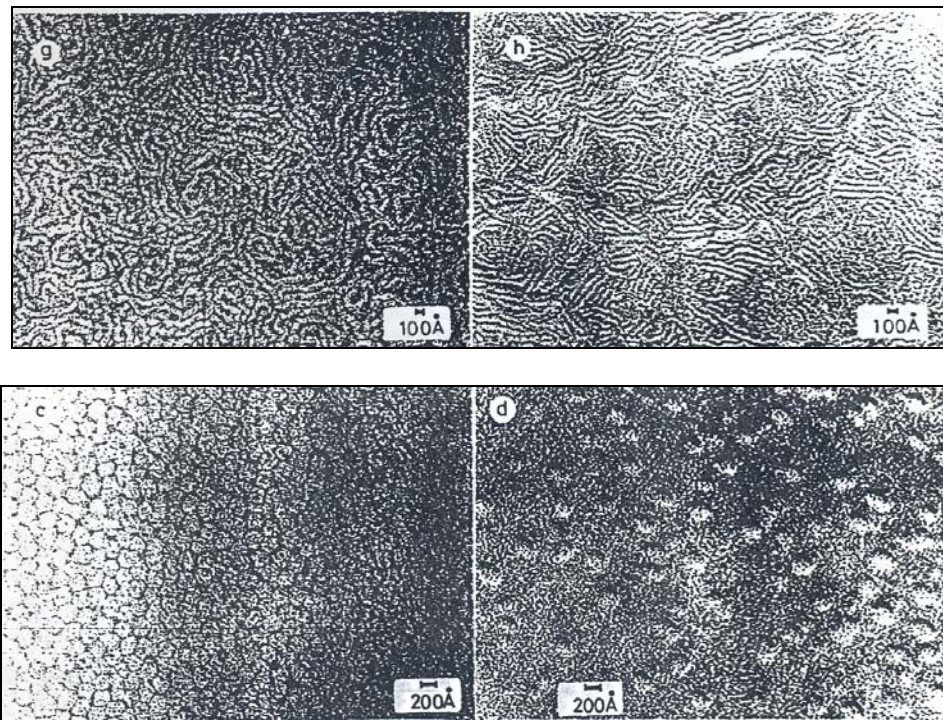


Figura 3.9 Comparación entre imágenes electrónicas de muestras tratadas con tinción de acetato de uranilo (**izquierda**) y por congelamiento-fractura (**derecha**), **arriba**: micelas cilíndricas desordenadas, **abajo**: micelas globulares. [62].

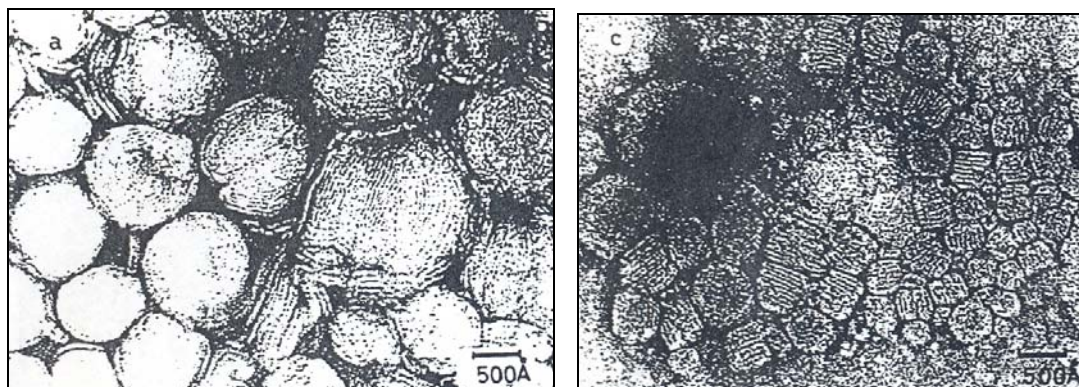


Figura 3.10 Otros tipos de estructuras observadas por el método de tinción con acetato de uranilo. Izquierda: vesículas multilamelares y cristal líquido laminar, derecha: dominios de cristal líquido laminar. [62]

3.12 MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA DE SISTEMAS CON ANFIFILOS

Un material **ópticamente isotrópico** es aquél en el cual el índice de refracción (o la velocidad de fase de la onda electromagnética) es la misma en todas las direcciones. Esto se

consigue en cristales cúbicos como el de NaCl o en sustancias amorfas (no cristalinas) tales como agua o vidrio no tensionado.

Generalmente, los cristales son anisotrópicos, lo que significa que la velocidad de la radiación electromagnética en su interior depende de la orientación del haz con respecto a la estructura del cristal (birrefringencia).

Las propiedades ópticas de las mesofases han sido estudiadas principalmente por las técnicas combinadas de platina de temperatura controlada y microscopía de luz polarizada. Éstas permiten someter a las sustancias bajo observación microscópica a las temperaturas a las cuales son estables las distintas mesofases, y determinar los puntos de transición. Mediante el uso del equipo de polarización pueden determinarse la dirección de las radiaciones "rápida" y "lenta" y el signo de la birrefringencia de la muestra en cualquier textura que se presente. El equipo también permite detectar y medir rotaciones ópticas.

Los cristales birrefringentes *uniaxiales* contienen un único eje de simetría (como los de los sistemas trigonal, hexagonal y tetragonal), que es una dirección conocida como *eje óptico*, y presentan *dos índices de refracción principales* en cualquier dirección que no sea el eje óptico.

Los cristales de los sistemas monoclinico, ortorrómbico y triclinico poseen dos direcciones, que para los propósitos prácticos pueden ser vistos como correspondientes al eje óptico de los cristales uniaxiales, y por consiguiente se los llama *cristales biaxiales*.

Cuando la luz polarizada en el plano por el polarizador incide en una muestra anisótropa, se descompone en dos haces polarizados perpendicularmente entre si, y viajando a diferente velocidad. Si tal sustancia es rotada girando la platina, se hace oscura o se *extingue*, en cuatro posiciones a intervalos de 90°, y entre esas posiciones de oscuridad el cristal (líquido o no) es iluminado, siendo más brillante a 45° de la posición de extinción. La sección se extingue cuando las direcciones de vibración en él son paralelas a los planos de vibración de los polaroides, puesto que en tales posiciones, la luz proveniente del polarizador pasa al analizador como si no hubiera muestra en la platina.

Los colores mostrados entre las posiciones de extinción son conocidas como *colores de interferencia o de polarización*. Los colores de interferencia son producidos cuando se usa luz blanca, cuando los componentes del haz lento y rápido, provenientes de un material birrefringente, se interfieren en el analizador debido a una diferencia de fase. Cuando se usa luz monocromática de longitud de onda λ , un desfase de $n\lambda$ (con n entero) causa oscuridad.

3.12.1 TEXTURAS OBSERVADAS

En la Tabla 3.1, se enlistan las texturas microscópicas observadas en las fases laminar, hexagonal y nemática. Permite determinar mediante una mirada superficial el tipo de texturas presentadas por cada tipo de mesofase, lo que es importante para propósitos de identificación.

Tabla 3.1

<u>Clasificación de texturas microscópicas observadas en las fases hexagonales y laminares de anfifilos</u>	
<u>Fase Laminar (G, L)</u>	<u>Fase Hexagonal (M, H)</u>
<p>Uniaxiales (específicamente planar)</p> <ul style="list-style-type: none"> Campo enteramente "isotrópico" En laminar homogénea. En laminar mas una fase isotrópica. Matriz planar para "vetas aceitosas", etc.* Porciones planares de gotículas. Centros de gotículas aplanadas* Mesetas en gotas en terracería. <p>Cónicas focales</p> <ul style="list-style-type: none"> Texturas unitarias. Unidades positivas* Unidades negativas* Unidades en abanico* <u>Texturas compuestas.</u> Mosaico [red de unidades positivas y negativas]* "Vetas oleosas"* Limites birrefringentes* Terracerías. Textura en abanico. Bastoncillos. <p>No geométricas (No hay)</p> <p>Figuras de mielina. Vesículas.</p>	<p>Axiales (raros)</p> <p>Cónicas Focales</p> <ul style="list-style-type: none"> Texturas Unitarias Unidades en abanico* <u>Texturas compuestas</u> "Vetas oleosas" Textura en abanico* Textura angular* Campos de extinción casi uniforme* Bastoncillos. <p>No geométricas</p> <ul style="list-style-type: none"> Simples, no estriadas* Estriadas Líneas de deslizamiento. Textura geométrica incipiente* <p style="text-align: center;"><u>Mesofases Nemáticas</u></p> <p>Figuras de Schlieren.</p> <p><u>Mesofase cúbica o viscoisotrópica.</u></p> <p>Isotrópico salvo bajo tensión o flujo.</p> <p>* Texturas comunes.</p>

A continuación se muestran algunas texturas típicas de mesofase hexagonal dado que fueron las encontradas en el desarrollo de la presente investigación.

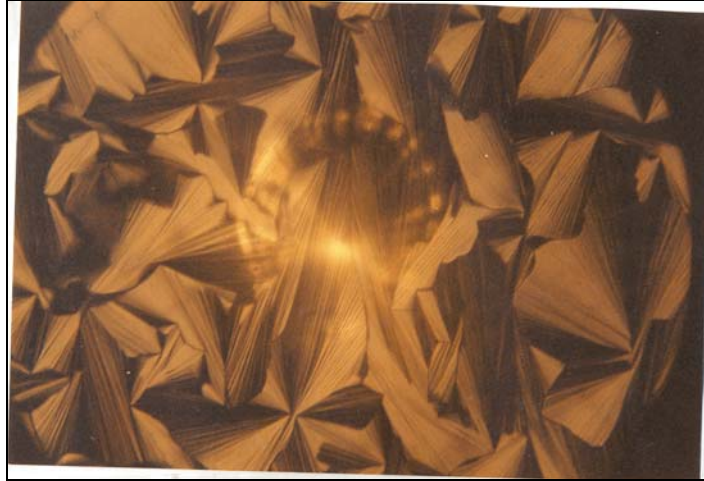


Figura 3.11 Mesofase hexagonal. Espectacular textura en abanico mostrando dominios con líneas verticales de disclinación. Bromuro de dodecil alil dimetilamonio. Polaroides cruzados [65].

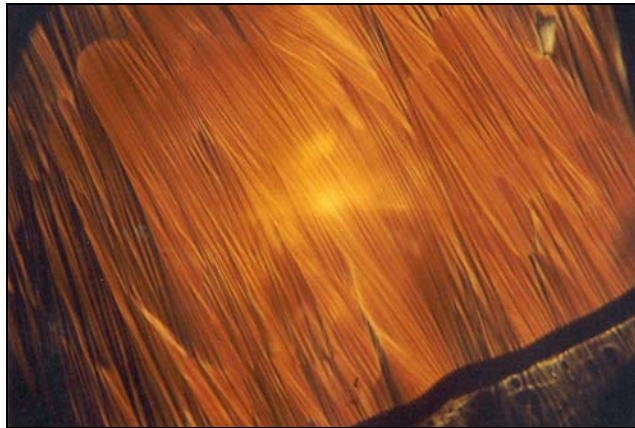


Figura 3.12 Mesofase hexagonal. Estructura estriada típica. Bromuro de dodecil alil dimetilamonio amonio-agua. Polaroides cruzados [65].



Figura 3.13 Mesofase hexagonal. Textura no geométrica con estriaciones, en muestra gruesa. Emulgente PV-15 40% en agua, 20 °C, polaroides cruzados [66].

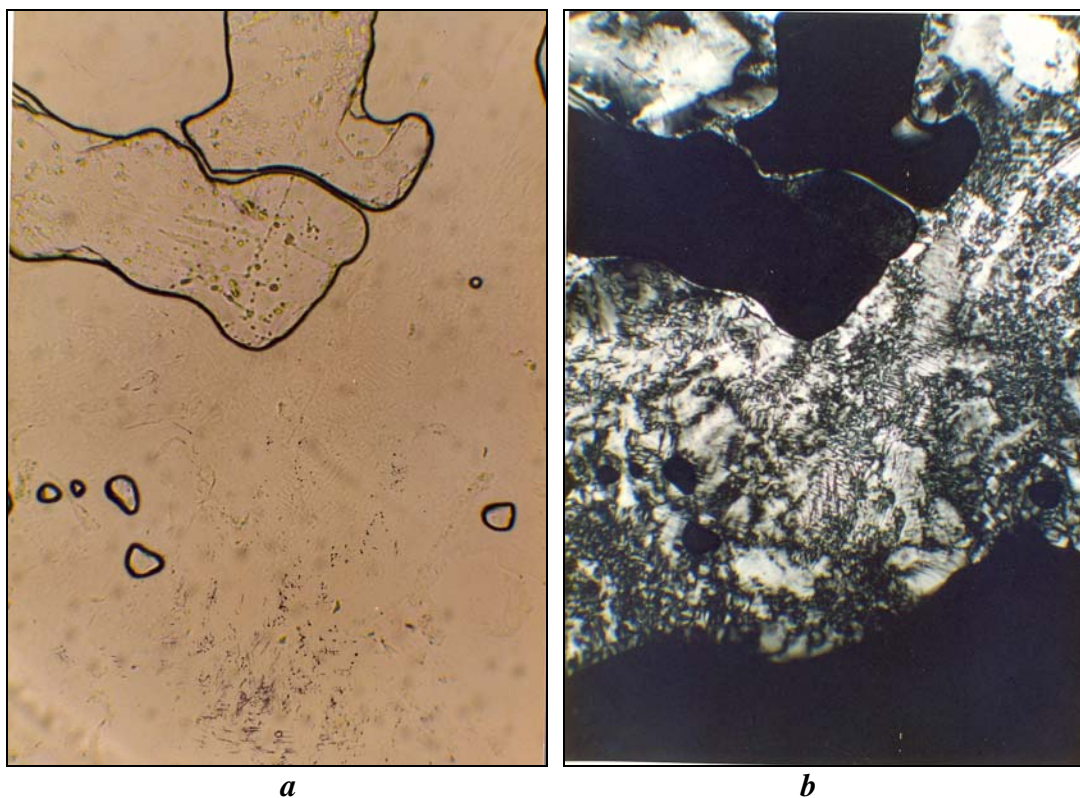


Figura 3.14 Mezcla de hidróxido de dodeciltrimetilamonio-ácido n-dodecano fosfónico 1:1 por dilución periférica con agua, **a**) sin luz polarizada, **b**) con polaroides cruzados. De arriba abajo; cristales, burbujas, mosaico con estriaciones de mesofase hexagonal, y solución isotrópica. Notar en a) la falta de contraste entre la solución isotrópica y la mesofase, indicando que es mesofase hexagonal [Fotos de nuestro laboratorio].

3.13 TÉCNICAS ESTADÍSTICAS EMPLEADAS

Si bien las técnicas estadísticas empleadas (cálculo de error, empleo de la distribución t de Student, ensayo de hipótesis, expansión del error) son las usuales y se pueden encontrar en cualquier texto de esta disciplina, en esta Tesis empleamos algunos procedimientos que no son muy comunes, esto es, el cálculo de promedios con datos muestrales heteroscedásticos², es decir, con distinto error, y el cálculo de regresión lineal con puntos de diferente error (tanto en x como en y). Para ello usamos el método de estimación lineal insesgada de varianza mínima, que proporciona la mejor estimación a partir de dichos datos, ya sea de la media, ya de la pendiente y la ordenada en el origen de las regresiones lineales, con un error inferior al del dato original con menor error. Esto se consigue dando a cada elemento muestral x_i un peso

² Un sistema es homoscedástico si los errores de todos los datos muestrales son iguales, lo que corresponde a las fórmulas usualmente usadas en estadística elemental, mientras que es heteroscedástico si los errores varían de un dato muestral a otro, lo que hace necesario tenerlos en cuenta para otorgar peso estadístico a la contribución de cada dato muestral al cálculo de los parámetros poblacionales y otra información de conjunto, como el cálculo de correlación.

estadístico $w_{xi} = 1/\sigma_{xi}^2$, donde σ_{xi}^2 es la varianza de dicho dato. Como estimación de la varianza poblacional se usó la varianza muestral: $\sigma_{xi}^2 \approx s_{xi}^2$, si estaba disponible (es decir, si x_i es el promedio de varios datos). En caso de que el error se hubiera estimado de la precisión y del equipo de medición (ya sea por una medida directa o por expansión del error cuando x_i es resultado de un cálculo a partir de diversas mediciones), se usó $\sigma_{xi}^2 \approx \Delta x_i^2$, donde Δx_i^2 es el error estimado para Δx_i . En el caso de regresión lineal, se tienen en cuenta los pesos estadísticos de ambas coordenadas, es decir, se usó también $w_{yi} = 1/\sigma_{yi}^2$. Las ecuaciones empleadas son [67]:

Promedio:

$$\langle x \rangle = \sum x_i w_i / \sum w_i \quad (3.21)$$

Varianza del promedio:

$$\sigma_{xi}^2 = \frac{1}{\sum w_i} \quad (3.22)$$

Para cuadrados mínimos lineales heteroscedásticos, se resuelve la ecuación de la suma de desvíos:

$$S = \sum w_i (y_i - a^* - x_i b^*) \quad (3.23)$$

donde a^* y b^* son las mejores estimaciones de las constantes a y b de la ecuación lineal $y = a + bx$, siendo (x_i, y_i) un par de datos experimentales. Se igualan a cero las derivadas de S con respecto a las dos variables:

$$\partial S / \partial a^* = 0 \quad \text{y} \quad \partial S / \partial b^* = 0 \quad (3.24)$$

Resolviendo el sistema de ecuaciones se obtienen a^* y b^* y con las ecuaciones normales de error (teniendo en cuenta los pesos estadísticos) se puede obtener $\sigma_{a^*}^2$ y $\sigma_{b^*}^2$ siguiendo los procedimientos usuales en regresión lineal. Notar que el procedimiento solo es modificado con respecto al homoscedástico por la inclusión de los pesos estadísticos.

3.14 BIBLIOGRAFÍA

1. Hartley G.S., "Aqueous Solutions of Paraffin.Chain Salts", Herman et Cie., Paris (1936)
 2. (a)Moroi, Y, and Matsuoka, K., *Bull. Chem. Soc. Japn.*, 67, 2057 (1994)- (b)E.K. Mysels y K.J. Mysels, *J. Colloid Sci.*, 20, 315 (1965)
 3. Miura M., Kodama M, *Bull Chem. Soc. Japn*, 45, 428 (1972)
 4. H.C. Evans, *J. Chem. Soc.*, Pt 1, 579 (1956).
 5. Bayley, P.L., "*Analysis with Ion-Selective Electrodes*", Heyden, 2nd Ed., London (1980).
 6. Eisenman,G. en "*Ion-Selective Electrodes*", Durst, R. A., Ed., cap. 1, NBS Spec. Pub.
 7. Anghel, D., Ciocan, N., *Colloid Polym. Sci.*, 254, 114 (1976).
 8. Cutler, S.G., Meares, P. y Hall, D.G., *J. Chem. Soc., Faraday Trans. I*, 74, 1758 (1978).
 9. Vikingstad, E., *J. Colloid Sci.*, 72, 68 (1979).
 10. Birch, B.J. y Clarke, D.E., *Anal. Chim. Acta*, 61, 159 (1972).
 11. Birch, B.J. y Clarke, D.E., *Anal. Chim. Acta*, 69, 473 (1974).
 12. Birch, B.J., Clarke, D.E., *Anal. Chim. Acta*, 67, 387 (1973).
 13. Moody, G.J., Thomas, J.D.R., *Ion Selective Electrode Rev.* 1, 3 (1979).
 14. Craggs, A., Moody, G.J., Thomas, J.D.R., *Analyst*, 95, 911 (1970).
 15. Davies, C.V., "*Ion Association*", Butterworths, London (1962).
 16. Schulz, P.C., *Coloids & Surfaces*, 34, 69 (1988/89).
 17. Sasaki, T., Hattori, M., Sasaki, J., Nukina, K., *Bull. Chem. Soc. Japan*, 48, 1397 (1975)
 18. Hartley,G.S.,"*Aqueous Solutions of Paraffin - Chain Salts*", Herrman , Paris (1936).
 19. Mukerjee,P.,*Adv. Colloid Interface Sci.*,1,241 (1967).
 20. Mukerjee,P.,en "*Micellization, Solubilization and Microemulsions*", K.L.Mittal, Ed.,v.1,p.171 , Plenum Press, N.Y. (1977).
 21. Mukerjee,P.,*J.Pharm. Sci.*,63,972 (1974).
 22. Mukerjee,P.,en "*Physical Chemistry: Enriching Topics from Colloid and Surface Science*", IUPAC, H. Van Olphen y K. J. Mysels,Eds.,p.135, Theorex, La Jolla, Calif. (1975).
 23. McBain,M.E.L. y Hutchinson,E., "*Solubilization and Related Phenomena* ", Academic Press, N.Y. (1955).
 24. Elworthy,P., Florence, A. y McFarlane,C.B.,"*Solubilization by Surface Active Agents and its Application in Chemistry and the Biological Sciences*", Chepman & Hall,Londres (1968).
-

25. Mukerjee,P., en "*Solution Chemistry of Surfactants*", K.L. Mittal, ed., Plenum,N.Y., v.1,p 153 (1979).
 26. Nakagawa,T, en "*Nonionic Surfactants*", M.J.Schick, ed.,M. Dekker, N.Y.,p.558 (1967).
 27. Shinoda,K, Ed. "*Solvent Properties of Surfactant Solutions*" ,M. Dekker,N.Y. (1967).
 28. Fendler,J.H. y Fendler,E., "*Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems*", Academic Press,N.Y. (1975).
 29. Mukerjee,P., y Mysels, K.J.,"*Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactant Systems*", NSRDS - NBS - 36, Superintendent of Documents,U.S. Printing Office,Washington, D.C. 20402 (1971).
 30. Mukerjee,P.,*Kolloid Z. u. Z. Polymere*, 236, 76 (1970).
 31. Mukerjee,P.,*Kolloid Z. u. Z. Polymere*, 236, 76 (1970).
 32. Mukerjee,P.,*Ber.Bunsenges. Phys. Chem.*,82, 931 (1978).
 33. W. L. Lewschin, *Acta Physicochim. U.R. S.S.*, 1, 685 (1934).
 34. Debye,P., y Anacker, E.W., *J. Phys. Colloid Chem.*,55,644 (1951).
 35. Tausk,R.J.M., Oudshoorn, C. y Overbeek,J.Th.G., *Biophys. Chem.*,2,53 (1974).
 36. Stigter,D., *J.Phys. Chem.* ,70,1323 (1966).
 37. Mazer,N.A., Benedek, G.B. y Carey, M.,*J.Phys. Chem.*, 80, 1075, (1976).
 38. Götz, K.G. y Heckmann, K., *J. Colloid Sci.*,13,266 (1958).
 39. Anacker,E.W. y Ghose,H.M., *J. Am. Chem. Soc.*,90,3161 (1968).
 40. Reiss-Husson,F. y Luzzatti,V.,*J. Phys. Chem.*,68,3504 (1964).
 41. Lindblom,G., Lindman, B. y Mandell,L., *J. Colloid Interface Sci.*, 35,519 (1971).
 42. Nakagawa,T., Kuriyama,K. e Inoue, H., *J. Colloid Sci.*, 15, 268 (1960).
 43. Smith,M.B. y Alexander, A.E.,*Proc. 2nd. Int. Congr. Surface Activity*, vol. 1,p.311 Butterworths, Londres (1957).
 44. Mukerjee,P.,*J. Phys. Chem.*,81,233 (1977).
 45. Mysels,K.J., *J.Colloid Interface Sci.*, 23,474 (1967).
 46. Mukerjee,P., *J.Phys. Chem.*, 76, 565 (1972).
 47. Eriksson,J.C. y Gillberg, G.,*Acta Chem Scand.*,20,2019 (1966)
 48. Junquera, E.; Aicart, E. *Langmuir*, 18, 9250, (2002)
 49. Skoog, Douglas; Holler, James; Nieman, Timothy; *Principios de Análisis Instrumental*,Mc Graw Hill, (2001).
 50. Junquera, E.; Romero, J. C.; Aicart, E. *Langmuir*, 17, 1826, (2001)
 51. Tachiya, M. *Journal of Chemical Physics*, 76, 340, (1982)
 52. Infelta, Pierre P.; Grätzel M. *Journal of Chemical Physics*, 70, 179, (1979)
-

53. Junquera, E.; Aicart, E. *Review Science Instruments*, 65, 2672, (1994)
 54. <http://www3.usal.es/~quimfis/> (28/05/2006)
 55. Bucci, C. Fagotti, V. de Giorgio, R. Piazza, *Langmuir* 7, 824, (1991)
 56. Ware BR, Flygare WH, *Chem. Phys. Lett.* 12, 81 (1971)
 57. Dalgleish DG, *J. Dairy Res.* 51, 425 (1984)
 58. Ware BR, *Adv. Colloid Interface Sci.* 4, 1, (1974)
 59. Uzigiris EE *Rev. Sci. Instrum.* 45, 117 (1974)
 60. Heyes S.J., *Lanthanides and Actinides-Lectures*, Hilary Term, Oxford, (1998)
 61. Carvin D., Islam S.A., Sternberg M.J.E., Blundell T.L., *Proceedings of the CCP4 Study Weekend*, Daresbury Lab., (1991)
 62. Kunitake T, Okahata Y, Shimomura M, Yasunami S-I, Takarabe K, *J. Am. Chem. Soc.*, 103,5401-5413, (1951)
 63. Kunitake T, Okahata Y, *J. Am. Chem. Soc.* 102, 549-553 (1980)
 64. Ottaviani M.F., Matteini P. Brustolon M., Turro N.J., Jockusch S., Tomalia D. A., *J. Phys. Chem. B*, 102, 6029, (1998)
 65. Soltero-Martínez, F.A., comunicación privada
 66. Heusch, R., *Progr. Colloid Polym. Sci.*, 65, 186 (1978).
 67. Mandel J., *The statistical analysis of experimental data*, Interscience (Wiley), New York 1964, p. 134 y siguientes.
-