



**Efecto de los surfactantes en
la formación de complejos de inclusión**

Tesis

Para obtener el grado de:
Doctor en Ciencias (Química)

Presenta:
Q. Julio Cesar Alva Ensastegui

Asesora:
Dra. María Teresa Ramírez Silva

Sinodales



Dr. Mario Alberto Romero Romo
Departamento de Materiales,
UAM-Azacapozalco
Presidente



Dr. Juan Marcos Esparza Schulz
Departamento de Química,
UAM - Iztapalapa
Secretario



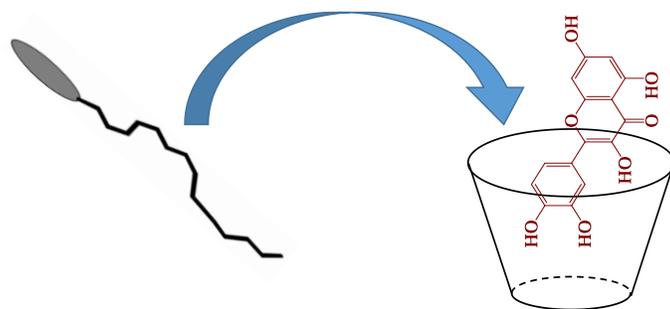
Dra. Gabriela Roa Morales
Ciencias Ambientales Facultad de
Química, UAMEX
Vocal



Dra. Silvia Corona Avendaño
Departamento de Materiales,
UAM - Azcapozalco
Vocal



Dr. Carlos Andrés Galán Vidal
Centro de Investigaciones Químicas,
Instituto de Ciencias Básicas e
Ingeniería, UAEH
Vocal



A mis padres, hermanos, sobrinas y Naye.

El presente trabajo de tesis doctoral fue realizado en los laboratorios R 105 y 107 del área de Química Analítica de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, bajo la dirección de la Dra. María Teresa Ramírez Silva.

Esta tesis fue soportada económicamente por:

Una beca otorgada por el CONACyT (286109).

El proyecto 237327 soportado por el CONACyT.

Parte de este trabajo de investigación generó un artículo científico:

J.C. Alva-Ensastegui, M. Palomar-Pardavé, M. Romero-Romo, M.T. Ramírez-Silva. *Quercetin spectrofluorometric quantification in aqueous media using different surfactants as fluorescence promoters*. RSC Advances 2018 8 10980-10986.

Los trabajos listados a continuación fueron presentados en diversos eventos académicos y son parte de los resultados generados:

1. XXVII Congreso Nacional de Química Analítica que se llevó en la Universidad Autónoma de Puebla, presentando un trabajo en la modalidad de cartel de nombre "*Caracterización de quercetina con SDS a pH ácido*" del 23 al 27 de junio del 2014.
2. XXX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Electroquímica 8th Meeting of the Mexican Section ECS que se llevó en la Universidad Veracruzana, presentando un trabajo en la modalidad de cartel de nombre "*Cálculo del valor de CMC del SDS, CTAB, y Triton-X usando electroquímica y espectrofotometría UV-Vis*" del 07 al 12 de junio del 2015.
3. XXXI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Electroquímica 8th Meeting of the Mexican Section ECS que se llevó en la Universidad Autónoma de Nuevo León, presentando un trabajo en la modalidad de cartel de nombre "*Cálculo del valor de CMC del SDS a pH 4 en iones ClO_4^- 0.1 M a tres valores de concentración de βCD diferentes*" del 30 de mayo al 3 de junio del 2016.

4. XXIX Congreso Nacional de Química Analítica de la Asociación Mexicana de Química Analítica que se llevó en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, presentando un trabajo en la modalidad de cartel de nombre *“Cálculo de la constante de unión entre la beta ciclodextrina y quercetina en presencia de micelas de SDS por medio de fluorescencia”* del 28 de junio al 1 de julio del 2016.

5. XXX Congreso Nacional de Química Analítica de la Asociación Mexicana de Química Analítica que se llevó en la Universidad de Guanajuato, presentando un trabajo en la modalidad oral de nombre *“Cálculo del valor de CMC del SDS, CTAB y TRITON X-100 en agua con espectrofotometría UV-Vis usando a la quercetina como molécula de referencia”* del 20 al 24 de junio del 2017.

AGRADECIMIENTOS

Una meta más que no estaba en mis planes originales, pero que me llena de felicidad haberla realizado.

Quiero agradecer principalmente a mis padres Andrea (mamá Ceci) y Paciano (terror) por siempre apoyarme de manera incondicional, económica y moral, siempre alentándome y aconsejándome de tal manera que alcance y descubra nuevas metas, a ustedes les debo todo lo bueno que soy, ojalá y ustedes se sientan orgullosos de mí, como yo lo he estado siempre de ustedes. Además, quiero agradecer también a mis hermanos Yazmin, Fabiola y Beto por siempre estar conmigo y especialmente y a mis sobrinas, Amairani, Valeria, Arleth y Denise por sus preguntas esporádicas y curiosas, además de que, en la época de hacer tarea, ustedes eran mi compañía haciendo la suya, espero que yo sea un ejemplo que seguir para ustedes.

A Naye (pancri) por su apoyo, compañía, comprensión, alegría, amor y que me sonsacó durante casi cuatro años en los que curse el posgrado (fueron los mejores), pero sobre todo su paciencia, ya que siempre estabas esperándome para comer; *la cara de distraído que casi siempre tenía era porque intentaba imaginar lo que ocurría a una escala molecular en el sistema con el que trabajaba.*

A Juan Carlos con el que compartí algún tiempo en la licenciatura, mis primeros meses en el posgrado y al cual lo considero un buen amigo, aunque ya no conviví más con él al final del posgrado; Gloria, Marlene, Jennifer, Yuriko y especialmente a Jorge Guerra, que me hicieron amena y divertida mi estancia en el laboratorio de Química Analítica; a Alexander, Luis Soriano, Luis Zarate, Alfredito, Armin (los infieles), Miriam, Lulu, Ericka, Gaby (las weee...) por esos días de parranda, locuras y diversión; a Mariana, Crystal, Fernando, Karina, Vicky, Selene, Alan, Julio Vega por hacer mis últimos días de permanencia en el laboratorio de Analítica los mejores momentos y por su insaciable sed de la buena, ya que esos momentos me desestresaba y me la pasaba muy bien con ustedes; a los amigos de Naye que pasaron a ser también mis amigos: Toño, Vianey, Mario, Yaz, Ale, Veda, Julio, Vane, Pepe y Elías, esos viajes y fiestas eran muy buenas y creo que seguirán;

a mis compañeritos de inglés: Lalo, Alondra, Christian, Arturo, Gaby, Abi, Mary y al teacher Francisco, me hacen asistir y estudiar los sábados con mucha alegría y me hacen pasar muy buenos ratos; también a todos mis amigos que se me olvidaron mencionar, compañeros y profesores que fui conociendo a lo largo del tiempo que permanecí en la UAM-I.

A mi asesora de Licenciatura y Posgrado la Dra. Tere Ramírez, por compartir su conocimiento conmigo cuando lleve clases con ella, ya que su forma de enseñanza fue distinta a la de otros profesores, también le agradezco por sus consejos, apoyo, experiencia, la invitación a congresos e infinita paciencia (siempre con una sonrisa por la mañana) pero siempre exigente en todo momento. Inolvidables las pláticas con ella, ya que una discusión de algunos resultados muy por la mañana se convertía en una lluvia de ideas (donde su imaginación se iba), la creación de nuevas hipótesis, el diseño experimental de dichas hipótesis que culminaban con la elaboración de muchos experimentos (reflejadas en muchas horas, literal, muchas horas), que inferían con la frase “se cumplió lo que me dijo, jajaja... ☺”. Espero al final de este proyecto haber adquirido un poco de esa experiencia para poder predecir lo que ocurre en la naturaleza.

A la Dra. Gabriela Roa de la UAEM y al Dr. Mario Romo de la UAM-A por formar parte de la mesa de seguimiento de mi proyecto. También, le agradezco a la Dra. Gaby por ayudarnos con el análisis de nuestras muestras con microscopia de fuerza atómica y tener mucha paciencia cuando la llenaba de mensajes de whatsapp al preguntarle sobre mis muestras. De la misma manera le agradezco a su alumno de maestría Miguel Reyes por el apoyo y orientación cuando lleve mis muestras y por los *tacos de tacos*.

A mi amiga Gaby Romero del área de catálisis de la UAM-I, por ayudarnos con los experimentos de *infrarrojo*.

Agradezco al Dr. Armando Domínguez Ortiz por ser mi tutor en mis primeros años de posgrado y ser un buen profesor para mí, además, también le agradezco a él y a su alumno Isaac del área de química de superficies de la UAM-I, que nos hicieron el favor de prestar su *tensiómetro*.

Al Dr. Andrés Hernández Arana y a su alumno y amigo Armín del área de biofísicoquímica de la UAM-I, que nos hicieron el favor de prestar su equipo de *DLS*.

Al Dr. Manuel Palomar de la UAM-A, por su apoyo en la revisión de la propuesta de artículo y sus muchas ideas en la mejora del proyecto.

Al Dr. Ricardo López Medina de la UAM-A, por ayudarnos con los experimentos de *espectroscopía Raman*, por su paciencia y su disponibilidad, le agradecemos mucho Dr.

A la Dra. Patricia Castillo de la UAM-I, por apoyarnos con los experimentos de *microscopia de barrido electrónico*.

A la Dra. Ana María Soto de la UAM-I, por facilitarnos el equipo para los análisis de *espectroscopia de fluorescencia*.

A la M. en C. Melina Tapia responsable del Laboratorio de Microscopía de Fuerza Atómica de la UAEM que nos apoyó en el análisis de las muestras por AFM y por su amable atención.

Al Dr. Alberto Rojas por prestarnos su equipo de fluorescencia que se encuentra en el mismo laboratorio donde realice mi investigación de la UAM-I y también porque cuando tenía algunas dudas y acudía a él, siempre me respondía y me daba una excelente explicación.

A los doctores: Gabi Roa, Silvia Corona, Mario Romero, Carlos Galán y Marcos Esparza por formar parte de la mesa de jurado para mi examen de grado, les agradezco las críticas hacia este trabajo de investigación, me ayudaron a mejorar muchísimo la presentación de este trabajo, especialmente disfrute esa larga plática con la Dra. Silvia y el Dr. Carlos Galán (el transcurso del tiempo fue imperceptible). Al Dr. Mario por el apoyo con el abstract y sus consejos.

A la UAM-I le debo mi formación académica.

Al CONACYT por la beca de doctorado otorgada.

*Julio Cesar Alva Ensastegui
UAM-Iztapalapa
Área de Química Analítica
Mayo 2018*

Índice

Índice

Abreviaturas	i
Resumen	vii
Abstract.....	x
Introducción General.....	xiii
Hipótesis.....	xix
Objetivos	xxi
Reactivos e Instrumentación	xxiii
Capítulo 1. Caracterización de los surfactantes en agua	2
1.1 Introducción	2
1.2. Metodología	5
1.3 Determinación de CMC del SDS, CTAB y TX100.....	6
1.3.1 Espectrofotometría UV-Vis sin Q.....	6
1.3.2 Espectrofotometría UV-Vis con Q.....	8
1.3.3 Fluorescencia	13
1.4 Determinación de la constante de unión del complejo quercetina-micela formada por el SDS, CTAB y TX100	17
1.4.1 Complejo quercetina-micela (surfactante)	18
1.4.2 Estabilidad de la Q	21
1.4.2.1 En medio micelar	22
1.5 Tamaño de las micelas formadas por el SDS, CTAB y TX100	24
1.6 Conclusiones C1	28
Capítulo 2. Caracterización de los surfactantes en percloratos pH 4.6.....	29
2.1 Introducción	30
2.2. Metodología	31
2.3 Optimización del medio.....	32

2.4 Determinación de valores de CMC	33
2.4.1 SDS	33
2.4.1.1 Tensión superficial.....	33
2.4.1.2 Espectrofotometría UV-Vis.....	35
2.4.1.3 Fluorescencia	37
2.4.2 CTAB	39
2.4.2.1 Espectroscopía UV-Vis	39
2.4.2.2 Fluorescencia	41
2.4.3 TX100	42
2.4.3.1 Espectroscopía UV-Vis	42
2.4.3.2 Fluorescencia	43
2.5 Determinación de la constante de unión del complejo quercetina-micela.....	44
2.5.1 Metodología propuesta en este trabajo de investigación	44
2.5.2 Quercetina-micela (SDS)	47
2.5.2.1 A cuatro valores de pH	47
2.5.2.1.1 pH 1.3	47
2.5.2.1.2 pH 3.1	48
2.5.2.1.3 pH 4.7	49
2.5.2.1.4 pH 5.8	50
2.5.3 Quercetina-micela (CTAB)	51
2.5.4 Quercetina-micela (TX100).....	52
2.6 Tamaño de la micela	53
2.6.1 Micela (SDS).....	54
2.6.2 Micela (CTAB).....	56
2.6.3 Micela (TX100).....	57
2.7 Conclusiones C2	60
Capítulo 3. Caracterización del complejo de inclusión Quercetina-βCD.....	61
3.1 Introducción	62
3.1.1 Ciclodextrina	62
3.1.2 Propiedades físicas y químicas de la CD	63

3.1.3 Solubilidad de la β CD.....	64
3.1.4 Complejo de inclusión y aplicaciones.....	65
3.2. Metodología	66
3.3 Estabilidad de la Q en presencia de βCD	67
3.4 Determinación de la constante de inclusión del complejo quercetina-βCD	68
3.4.1 En solución.....	68
3.4.1.1 Fluorescencia	68
3.4.1.2 Método computacional (SQUAD).....	69
3.4.1.2.1 Espectrofotometría UV-Vis.....	69
3.4.1.2.2 Fluorescencia	73
3.4.1.2.2.1 Excitación	73
3.4.1.2.2.2 Emisión	75
3.4.1.3 Voltamperometría Cíclica	78
3.4.2 En la superficie.....	82
3.4.2.1 Polimerización del EPCM con β CD	82
3.4.2.2 Voltamperometría cíclica	84
3.4.2.3 Imágenes de AFM de la polimerización de β CD sobre el EPC.....	87
3.5 Tamaños de asociaciones moleculares formadas por βCD.....	88
3.6 Conclusiones C3	90

Capítulo 4. Determinación de la CMC y tamaño de las micelas en presencia de la βCD.....	91
4.1 Introducción	92
4.2 Metodología	93
4.3 Determinación de la CMC en presencia de βCD	94
4.3.1 CMC del SDS.....	95
4.3.1.1 Tensión superficial.....	95
4.3.1.1.1 Zona micelar	95
4.3.1.1.2 Zona pre-micelar.....	98
4.3.1.2 Fluorescencia	102
4.3.1.2.1 Efecto de la β CD sobre el complejo quercetina-micela (SDS).....	108

4.3.1.3 Espectrofotometría UV-Vis.....	109
4.3.1.3.1 Demostración de la NO formación del complejo ternario usando SDS.....	110
4.3.2 Tamaño de la micela de SDS en presencia de β CD.....	114
4.3.3 CMC del CTAB.....	117
4.3.3.1 Espectrofotometría UV-Vis.....	117
4.3.3.2 Fluorescencia.....	121
4.3.3.3 Demostración de la NO formación del complejo ternario usando CTAB.....	124
4.3.4 Tamaño de la micela de CTAB en presencia de β CD.....	125
4.3.5 CMC del TX100.....	127
4.3.5.1 Espectrofotometría UV-Vis.....	127
4.3.5.2 Fluorescencia.....	129
4.3.6 Tamaño de la micela de TX100 en presencia de β CD.....	132
4.4 Conclusiones C4.....	135

Capítulo 5. Determinación de la constante de unión del complejo Quercetina-Micela en presencia de βCD.....	136
5.1 Introducción.....	137
5.2 Metodología.....	138
5.3. Determinación de la constante de unión del complejo micelar quercetina-micela en presencia de βCD.....	138
5.3.1 Quercetina-micela (SDS).....	138
5.3.2 Quercetina-micela (CTAB).....	142
5.3.3 Quercetina-micela(TX100).....	146
5.4 Conclusiones C5.....	151

Capítulo 6. Determinación de la constante de inclusión del complejo βCD-Surfactante.....	152
6.1 Introducción.....	153
6.2 Metodología.....	154
6.3. Cálculo de la constante de inclusión del complejo βCD-Surfactante.....	154
6.3.1 Introducción.....	154

6.3.2 β CD-SDS	155
6.3.3 β CD-CTAB	157
6.3.4 β CD-TX100	159
6.4 Conclusiones C6	164
Conclusiones generales	165
Perspectivas.....	168
Apéndices.....	170
<i>Apéndice 1. Desarrollo algebraico para obtener la ecuación propuesta por Marques para el cálculo de la constante de inclusión</i>	<i>171</i>
<i>Apéndice 2. Cuantificación espectrofotométrica de la quercetina en medio acuoso usando diferentes surfactantes como promotores de la fluorescencia</i>	<i>176</i>
<i>Apéndice 3. Espectros IR de: Q, SDS, CTAB y βCD</i>	<i>191</i>
<i>Apéndice 4. Espectros Raman de: Q, SDS, CTAB, TX100 y βCD</i>	<i>199</i>
<i>Apéndice 5. Desarrollo algebraico de la ecuación para la determinación de la constante inclusión propuesta en este trabajo a partir de la ecuación de Marques</i>	<i>205</i>
<i>Apéndice 6. Desarrollo algebraico de la ecuación propuesta por Runhua Lu y colaboradores para el cálculo de la constante de inclusión del complejo CD-Surfactante</i>	<i>212</i>
Referencias	216
Artículo publicado.....	237

Abreviaturas

Abreviatura	Definición
2D	Visualización en dos dimensiones
2HP β CD	(2-Hidroxipropil)- β ciclodextrina
3D	Visualización en tres dimensiones
$\alpha(1\rightarrow4)$	Enlace entre monómeros que forman a la ciclodextrina del carbono "1" de un monómero con el carbono "4" de otro monómero, con orientación hacia debajo de un plano imaginario de un monómero
α CD	Alfa Ciclodextrina (estructura cíclica formada por 6 monómeros de α -D-glucosa)
β CD	Beta Ciclodextrina (estructura cíclica formada por 7 monómeros de α -D-glucosa)
β CD-CTAB	Complejo de inclusión formado por la beta ciclodextrina y monómeros del surfactante CTAB
β CD-SDS	Complejo de inclusión formado por la beta ciclodextrina y monómeros del surfactante SDS
β CD-Surfactante	Complejo de inclusión formado por la beta ciclodextrina y monómeros de algún surfactante
β CD-TX100	Complejo de inclusión formado por la beta ciclodextrina y monómeros del surfactante TX100
γ CD	Gamma Ciclodextrina (estructura cíclica formada por 8 monómeros de α -D-glucosa)
$\lambda_{\text{exit.}}$	Longitud de onda de excitación
$\lambda_{\text{em.}}$	Longitud de onda de emisión
ϵ	Coefficiente de absorptividad molar
A	Absorbancia

AFM	Por sus siglas en inglés de <i>Atomic Force Microscopy</i> , que significa microscopía de fuerza atómica
C2	Carbono número 2 de la α -D-glucosa que conforma a la ciclodextrina
C3	Carbono número 3 de la α -D-glucosa que conforma a la ciclodextrina
C6	Carbono número 6 de la α -D-glucosa que conforma a la ciclodextrina
CD	Ciclodextrina
CD-molécula	Complejo de inclusión formado por alguna ciclodextrina y alguna molécula de interés
CI	Complejo de inclusión
CM	Complejo Micelar
CMC	Concentración Micelar Crítica
CMC _{CTAB}	Concentración Micelar Crítica del CTAB
CMC _{SDS}	Concentración Micelar Crítica del SDS
CMC _{Surfactante}	Concentración Micelar Crítica de algún surfactante
CMC _{TX100}	Concentración Micelar Crítica del TX100
Complejo	Es una entidad que se encuentra formada por una asociación que involucra a dos o más componentes unidos por un enlace químico que normalmente es un poco más débil que un enlace covalente típico.
CS	Complejo Supramolecular
CTAB	Por sus siglas en inglés de <i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide</i> , que se refiere al surfactante bromuro de hexadeciltrimetilamonio o bromuro de cetiltrimetilamonio

DED	Desviación Estándar de los Datos obtenidos con el programa computacional SQUAD
DLS	Por sus siglas en inglés de <i>Dynamic Light Scattering</i> , que significa dispersión de luz dinámica
EPC	Electrodo de Pasta de Carbón
EPCM	Electrodo de Paste de Carbón Modificado
i	Intensidad de corriente eléctrica
IF	Intensidad de Fluorescencia o Intensidad Fluorescente
IR	Infrarrojo
K	Constante de equilibrio
Ka	Constante de equilibrio de acidez o simplemente llamada constante de acidez (<i>en la teoría de ácido-base de Brönsted</i>)
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
Log β	Logaritmo base 10 de la constante de formación global
M	Molar
M ^{CTAB}	Micela formada con monómeros de CTAB
MI	Molécula de interés
Molécula-M ^{Surfactante}	Complejo formado por una molécula de interés y la micela de algún surfactante
Molécula- β CD	Complejo formado por una molécula de interés y la beta ciclodextrina
Molécula-CD	Complejo formado por una molécula de interés y cualquier tipo de cildodextrina
M ^{SDS}	Micela formada con monómeros de SDS
M ^{Surfactante}	Micela formada con algún surfactante

M^{TX100}	Micela formada con monómeros de TX100
OMS	Organización Mundial de la Salud
PDI	Polidispersidad, es un parámetro entre 0 y 1 usado en la técnica de DLS
pH	Es el $-\log[H^+]$ y es una escala que nos indica que tan ácida o básica es una solución, generalmente la escala va de 0 a 14, pero se conoce que esta escala tiene un intervalo más amplio.
pK	Es el logaritmo base 10 negativo de la constante de equilibrio, K
pKa	Es el logaritmo base 10 negativo de la constante de acidez, K_a , (en la teoría de ácido-base de Brönsted)
Q	Quercetina
Q- β CD	Complejo de inclusión formado por quercetina y la beta ciclodextrina
Q- M^{CTAB}	Complejo formado por quercetina y la micela de CTAB
Q- M^{SDS}	Complejo formado por quercetina y la micela de CTAB
Q- $M^{Surfactante}$	Complejo formado por quercetina y la micela de algún surfactante
Q- M^{TX100}	Complejo formado por quercetina y la micela de TX100
R^2	Coefficiente de correlación cuadrado, obtenido de una regresión lineal
SDS	Por sus siglas en inglés de <i>Sodium Dodecyl sulfate</i> que se refiere al surfactante dodecil sulfato de sodio
SEM	Por sus siglas en inglés de <i>Scanning Electron Microscopy</i> , que significan microscopía electrónica de barrido

TS	Tensión Superficial
TX100	Surfactante t-octilfenoxipolietoxietanol, también conocido como Tritón X-100
U	Suma de mínimos cuadrados obtenido con el programa computacional SQUAD
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
VC	Voltamperometría Cíclica
Vis	Visible
x^λ	Fracción del complejo

Resumen

Resumen

En este trabajo de tesis doctoral, se describen los resultados de las interacciones debidas a la formación de un complejo de inclusión en presencia de tres surfactantes: dodecilsulfato de sodio, SDS, bromuro de hexadeciltrimetilamonio, CTAB, y tritón X-100, TX100. El complejo de inclusión fue formado a partir de beta ciclodextrina, β CD, que actuó como anfitrión de la quercetina, Q, que actuó como huésped.

La finalidad de esta investigación es dilucidar el mecanismo correcto cuándo un complejo de inclusión, como el mencionado anteriormente, se hace interaccionar con alguno de los surfactantes antes mencionados, ya que, se encuentran investigaciones que reportan dos casos posibles: el primer caso propone que, el surfactante rompe dicho complejo para dar lugar a un nuevo complejo, β CD-Surfactante, dejando libre a la molécula de Q, que antes estaba incluida en la β CD y el segundo caso propone que, el complejo de inclusión interaccionará con el surfactante para formar un complejo ternario.

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación corroboran el primer caso, donde el surfactante rompe el complejo de inclusión Q- β CD para formar un nuevo complejo de inclusión, β CD-Surfactante, dejando libre a la Q. Además, si la concentración del surfactante es menor que la concentración de la β CD se tendrá también formado el complejo Q- β CD, pero, cuando la concentración de surfactante es mayor que la concentración de β CD, se tendrá formado también el complejo formado por la Q con las micelas del surfactante, $Q-M^{\text{Surfactante}}$.

Cabe resaltar que, en ambos casos cuando la concentración del surfactante es menor o mayor a la concentración de la β CD, se formará el complejo β CD-Surfactante, en el cual, la parte hidrofóbica del surfactante (cola) estará dentro de la cavidad de la β CD y al ser más larga la cola del surfactante que la altura de la β CD, una parte de esta permanecerá fuera de la cavidad de la β CD, por lo tanto, este nuevo complejo formado se adsorberá en la superficie de la solución como lo hace el surfactante solo.

Como consecuencia de estas interacciones, el valor de la concentración micelar crítica, CMC, (concentración del surfactante necesaria para que se forme la micela) se ve afectada, debido a que, conforme se aumente la concentración de la β CD el valor de la CMC también aumentará. Otra consecuencia debido a estas interacciones es evidenciada en el tamaño de la micela de surfactante, debido a que este parámetro disminuye con el aumento de la concentración de la β CD, esto es debido a que las

micelas se caracterizan por estar formadas por medio de enlaces débiles, los cuales pueden ser fácilmente maleables. Estos resultados pueden ser aplicables a otras moléculas de bajo peso molecular diferentes a la Q, como pueden ser: fármacos, flavonoides, taninos, neurotransmisores, etc., debido a que la competitividad que se da entre la formación de un complejo de inclusión β CD-Surfactante es mucho mayor que la formación de algún complejo molécula- β CD, donde la molécula a usar debe ser orgánica y de bajo peso molecular como las que se mencionaron anteriormente, para que puedan ser aplicados dichos criterios.

Los resultados de esta investigación podrían tener aplicaciones en el área de la farmacéutica, ya que, una vez formado el complejo molécula- β CD, se podría liberar a la molécula de interés de manera controlada al agregar algún surfactante.

En el *capítulo 1* se muestra la caracterización de los tres surfactantes y las interacciones con la Q, usando como disolvente agua, con la finalidad de comparar los parámetros determinados, como: CMC, constante de unión y tamaño de la micela con los reportados en la literatura, además, se propuso un método indirecto para el cálculo de la CMC. En el *capítulo 2* se muestra el mismo análisis que en el capítulo anterior, pero en este caso se usó como disolvente ClO_4^- pH 4, obteniendo como resultado una disminución en el valor de CMC del SDS, además, se propone una ecuación para el cálculo de la constante de complejos supramoleculares con estequiometría diferente a la 1:1. En el *capítulo 3* se muestra la caracterización del complejo Q- β CD, obteniendo la formación de dos complejos de inclusión con estequiometrías 1:1 y 1:3 (el segundo complejo no se ha reportado hasta el momento). En el *capítulo 4* se muestra la determinación del valor de CMC de cada surfactante en presencia de la β CD, demostrando que el valor de CMC de cada surfactante aumenta con el incremento de la concentración de β CD, debido a que, el surfactante forma un complejo de inclusión β CD-Surfactante, además, el tamaño de la micela formada por el SDS y TX100 reducen su tamaño debido a la presencia de estos nuevos complejos formados. Después, en el *capítulo 5* se muestra el cálculo del valor de la constante de unión del complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$ en presencia del complejo β CD-Surfactante, dando un valor mayor cuando se usó el CTAB y TX100. Finalmente, en el *capítulo 6* se determinan las constantes de unión de los complejos β CD-Surfactante, dando como resultados, valores más grandes comparados con el valor obtenido para el complejo Q- β CD (capítulo 3), demostrando que efectivamente la β CD tiene mayor afinidad por el surfactante que por la Q.

Abstract

Abstract

This doctoral thesis research work describes the results of the interactions observed during formation of an inclusion complex in the presence of three surfactants, namely: sodium dodecyl sulphate, SDS, hexadecyltrimethylammonium bromide, CTAB, and Triton X-100, TX100. The inclusion complex was formed from beta cyclodextrin, β CD, that acted as host of quercetin, Q, which in turn was the guest.

The aim of this research work was to elucidate the mechanism under which an inclusion complex, like the one stated above, is made to interact with any of the surfactants above; the literature reports two possible cases: the first proposes that the surfactant breaks the complex only to give way to another one, β CD-Surfactant, thus liberating the Q molecule, that had been included in the β CD. The second case proposes that the inclusion complex will interact with the surfactant to give rise to a ternary complex and that, depending on the concentration of the surfactant used, there will form pre-micellar structures (monomers, dimers, trimers, and others) or micelles adhered to this inclusion complex.

The results obtained in this research corroborate the first case, where the surfactant ruptures the Q- β CD inclusion complex to form a new inclusion complex, β CD-Surfactant, thereby setting the Q free. If the surfactant concentration is smaller than the β CD concentration, the Q- β CD complex will be formed also, but conversely, the arising complex will be that of Q with the surfactant micelles, Q-MSurfactant.

For either case it is worthy of mention that a smaller or greater surfactant concentration than that of the β CD, a β CD-Surfactant complex will form, in which the hydrophobic part of the surfactant (the tail) will be located partly within the β CD cavity, and since it is longer than the β CD, another part of it will protrude from the said cavity; thus, this new complex formed will adsorb on the solution surface.

Consequently, from these interactions, the value of the critical micellar concentration, CMC, (the surfactant concentration needed to form the micelle) is affected because its value will increase with increasing β CD concentration. Another consequence derived from the interactions mentioned is shown by the surfactant micelle size, since this parameter diminishes with increasing β CD concentration. This is so because the micelles typically exhibit weak bonds, can be readily malleable. These results can be applicable to other molecules having lower molecular weight different to that of Q, namely: pharmaceuticals, flavonoids,

tannins, neurotransmitters, and others due to competitiveness arising between formation of a β CD-Surfactant inclusion complex, that is much greater than that of formation of a molecule- β CD complex, where the molecule must be organic with a low molecular weight, as stated above, in order to apply the criteria mentioned.

The results of this research can certainly be applied in pharmaceuticals, since once the molecule- β CD complex has been formed, it can release the molecule of interest in a controlled fashion upon addition of some surfactant.

In Chapter 1 the three surfactants are characterized together with their interactions with Q, in water as solvent, in order to compare the parameters determined, namely: CMC, binding constant and micelle size with those reported in the literature; also, an indirect method was proposed to estimate the CMC. Chapter 2 proceeded to do the same analyses as before, although using now ClO_4^- at pH 4 as solvent, which diminished the CMC in SDS; further, an equation was proposed to estimate the supramolecular complexes constant having a stoichiometry different from 1:1. Chapter 3 presents the Q- β CD complex characterization that leads to formation of two inclusion complexes with stoichiometries 1:1 and 1:3 (the second complex has not been reported yet). Chapter 4 shows the assessment of the CMC value of each surfactant in the presence of β CD, thus demonstrating that the CMC value for each surfactant augments with increasing β CD concentration, because the surfactant forms a β CD-Surfactant inclusion complex, apart from the fact that the size of the micelles formed by SDS and TX100 is reduced due to the presence of these new complexes formed. Chapter 5 shows the estimation of the Q-MSurfactante binding complex constant in the presence of the β CD-Surfactant complex, which displayed a greater value than when CTAB and TX100 were used. Finally, Chapter 6 shows the determination of the β CD-Surfactant complex binding constant that rendered greater values compared to those obtained from the Q- β CD complex, thus clarifying that the β CD displays greater affinity for the surfactant than for the Q.

Introducción General

Introducción general

Los radicales libres son especies químicas que contienen un electrón desapareado que les confiere una alta inestabilidad química y reactividad oxidante ante otras especies químicas con las que tengan contacto, ocasionando que estas nuevas especies químicas sean convertidas en radicales libres, iniciándose así, un ciclo destructivo. Dichos radicales libres atacan preferentemente moléculas que contienen dentro de su estructura, dobles enlaces carbono-carbono o anillos de carbono, como, por ejemplo: aminoácidos, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos que componen a las macromoléculas de la célula, alterando negativamente la función y estructura de la misma, además, distintos factores potencializan el proceso de oxidación, como, por ejemplo: la contaminación, la mala alimentación, el consumo de bebidas alcohólicas, el tabaco, el estrés, la inactividad física, etc., detonando en un conjunto de procesos o enfermedades que deterioran nuestra calidad de vida ¹⁻³. Los polifenoles ayudan a combatir estos problemas, pero debido a la estructura química que presentan algunos de ellos, son inestables y poco solubles, por lo cual, dificulta su estudio en fase acuosa. La formación de complejos polifenol-arreglos moleculares (complejos supramoleculares) resuelven las deficiencias en sus propiedades de los polifenoles, además de que, este tipo de complejos ya han sido ampliamente estudiados ^{4 y 5}.

Un complejo supramolecular puede estar formado por dos entes: un anfitrión (que actúa como receptor) y un huésped, donde el tipo de fuerza que las une son de fuerza débil, tipo fuerzas de Van der Waals ^{4 y 5}, donde el huésped posee ciertas características que pueden ser mejoradas o adquirir características de las cuales carece. En la literatura se encuentran arreglos moleculares usados como anfitriones en química supramolecular, como son los surfactantes y las ciclodextrinas, estos arreglos tienen aplicaciones tan versátiles que incursionan en las industrias de alimentos, limpieza, automotriz, farmacéutica ⁶⁻⁸ y en la investigación ⁹⁻²⁰.

El complejo supramolecular que se decide estudiar es el formado por la quercetina (imagen I.1) con beta ciclodextrina, Q- β CD, en presencia de algún surfactante, debido a que estos compuestos han sido ampliamente estudiados en el grupo de trabajo de la Dra. Tere Ramírez. Este trabajo fue realizado con la finalidad de explicar lo que ocurre con las interacciones entre estos tres tipos de compuestos, ya que, existen dos hipótesis que explican las interacciones implicadas entre estos tres tipos de compuestos y hasta el momento de la realización de esta investigación, no existe una explicación clara y profunda.

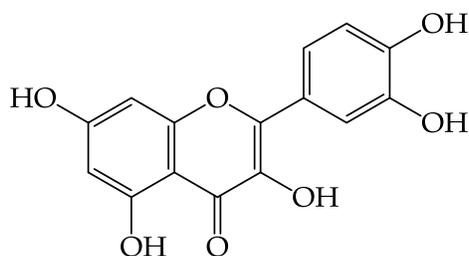


Imagen I.1 Estructura química de la quercetina.

Los surfactantes (por su contracción de su traducción en inglés de *surface active agents*) o también conocidos como detergentes o tensoactivos, son compuestos orgánicos anfifílicos ⁷ imagen I.2(a), que están caracterizados por adsorberse en superficies e interfaces reduciendo la tensión superficial de las fases cuando están presentes a bajas concentraciones en un sistema ⁸, seguido de esto, cuando la tensión superficial llega a un valor mínimo o crítico, dichos compuestos se asocian entre ellos mismos hasta formar estructuras bien ordenadas y definidas, llamadas *micelas* (de tamaño coloidal); la forma estructural de la micela cambiará al aumentar la concentración del surfactante (donde la primera estructura es una esfera, imagen I.3) ⁷.

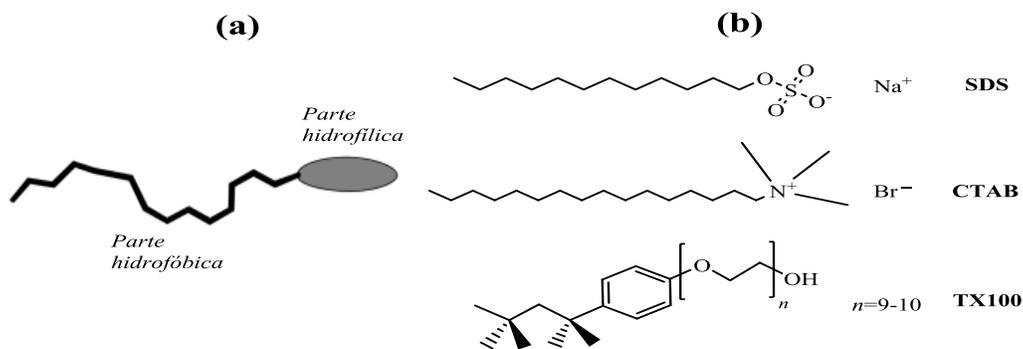


Imagen I.2 Representación general de un surfactante, indicando sus extremos hidrofílico e hidrofóbico (a) y estructuras químicas de tres surfactantes SDS, CTAB y TX100 (b).

Los surfactantes se clasifican dependiendo de la carga eléctrica que contenga la parte hidrofílica en solución (cuando ya ha perdido el ion como protón, sodio, bromuro o algún otro), puede ser denominado como aniónico, catiónico, neutro o zwitterión como por ejemplo el dodecil sulfato de sodio, SDS, hexadeciltrimetil amonio, CTAB,

y el Triton X-100, TX100 imagen I.2(b) ⁷, además del geminisurfactante donde el monómero está constituido de una cabeza (parte hidrofílica) y dos colas (partes hidrofóbicas) ⁸. La disolución del surfactante es más compleja que para otros materiales porque involucra la formación de uno o más concentrados de fases cristalinas de alta viscosidad ²¹, esta facilita la disolución de otros compuestos ²². Una forma de conocer cuándo se tiene formada la micela, $M^{\text{Surfactante}}$, es calcular el valor de CMC, esto se observa cuando se da un cambio brusco al graficar la respuesta de una propiedad física en función de la concentración del surfactante y el valor donde se da el cambio, se conoce como CMC ⁷, además de que la formación de la $M^{\text{Surfactante}}$ depende de las características del sistema donde se lleve a cabo ^{7 y 8}.

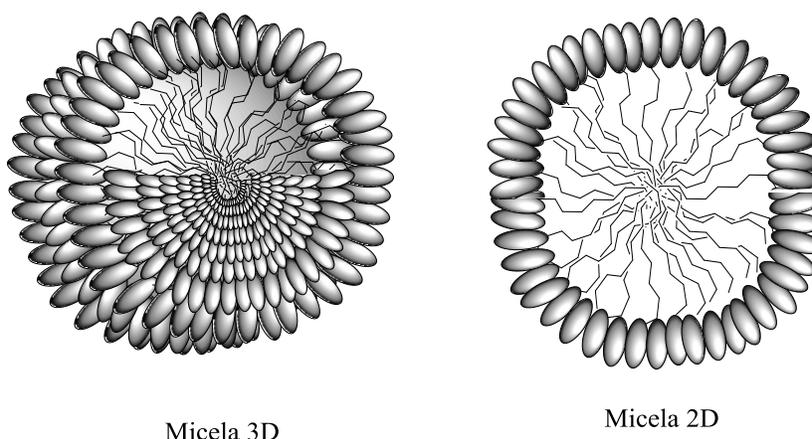


Imagen I.3 Representación estructural de una micela de un surfactante en solución acuosa en 3D y 2D haciendo alusión a una esfera.

Como se mencionó antes, los surfactantes (en forma de $M^{\text{Surfactante}}$) forman complejos con una variedad de moléculas con el fin de mejorar sus propiedades, así también lo hace la ciclodextrina, CD, además de que es usada para modificar la superficie de electrodos, con la finalidad de hacerlos más selectivos en estudios electroquímicos ²³⁻²⁹. La CD es la unión de monómeros de *D*-(+)-glucopiranosos unidos por un enlace $\alpha(1\rightarrow4)$, que forman una estructura de anillo bien definida (representada mejor como un cono truncado invertido) con su interior hidrofóbico y su exterior hidrofílico formado de seis, siete u ocho unidades de glucosa llamadas α , β y γ -CD respectivamente, siendo estas las más conocidas, aunque existen otros tipos más de CD's ³⁰⁻³², en la imagen I.4 se muestra la estructura de la β CD. Debido a que la CD

posee en su interior un ambiente hidrofóbico, puede actuar como una molécula anfitriona de moléculas orgánicas de bajo peso molecular como lo hacen las $M^{\text{Surfactante}}$.

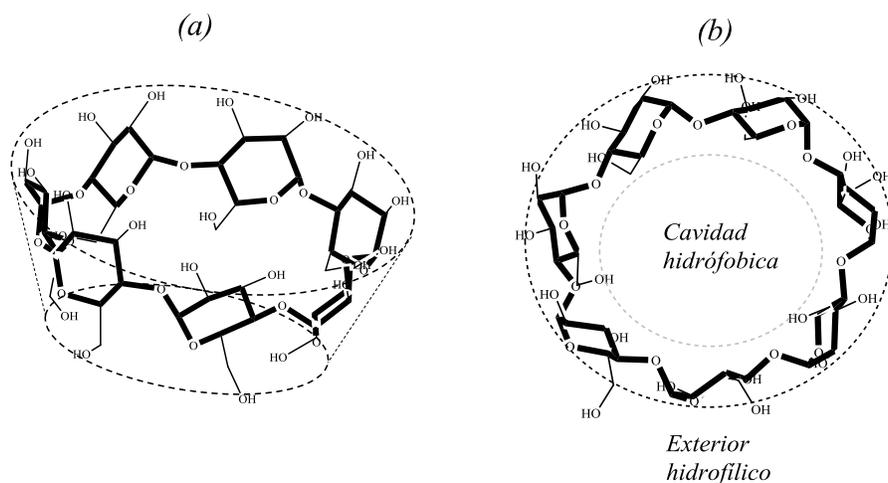


Imagen I.4 Representación estructural de la β CD, vista lateral (a) y vista superior (b), haciendo alusión a un cono invertido truncado.

Ya que se conoce que la formación de complejos micelares (Molécula- $M^{\text{Surfactante}}$) y de complejos de inclusión (Molécula-CD) han dado buenos resultados, será interesante estudiar la formación del complejo de inclusión en presencia de un surfactante, para analizar si las nuevas interacciones intermoleculares mejoran aún más las propiedades de polifenoles antes mencionados o de alguna otra molécula de interés y también se pretende saber en este trabajo, si la dilucidación de su correcto mecanismo, puede dar origen a una aplicación en la farmacéutica como anteriormente se había especulado.

El jurado que conforma la mesa de evaluación y que revisará este trabajo (esperando que este trabajo no sea uno más para la UAM-I y cumpla con los objetivos establecidos, ya que, el esfuerzo que eh dedicado fue muchísimo) y además, del lector que se interese en el mismo, profundicen en este escrito, encontrará gráficos en color: negro o gris, azul, verde y naranja, correspondientes a resultados: que no involucran a los surfactantes, con SDS, con CTAB y con TX100 respectivamente, con la finalidad de evitar alguna confusión y adquirir una mejor comprensión de los resultados presentados, además, se tratará de representar con *imágenes* en medida

de lo posible, las interacciones o los mecanismos que conlleven a los resultados mostrados, con la finalidad de que el tema sea comprensible y esperando que no sea tan engorroso y confuso.

Hipótesis

Hipótesis

Los surfactantes rompen el complejo de inclusión Q- β CD, para dar origen a un nuevo complejo de inclusión, β CD-Surfactante. Ya que los disolventes polares ejercen un efecto de repulsión sobre la parte hidrofóbica del surfactante, esta molécula busca formas de evitar esa repulsión, por lo cual entra en la cavidad de la β CD.

Objetivos

Objetivo general

Caracterizar fisicoquímicamente el complejo de inclusión Q- β CD en presencia de un surfactante y analizar los cambios ocasionados en el proceso de micelización.

Objetivos particulares

- Calcular los valores de CMC de los surfactantes SDS, CTAB y TX100 a diferentes concentraciones de β CD usando como disolvente agua y ClO_4^- , por medio del uso de distintas técnicas.
- Analizar la estabilidad de la Q en presencia de: SDS, CTAB, TX100 y β CD.
- Calcular los valores de constante de unión del complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$ a diferentes concentraciones de β CD usando como disolvente agua y ClO_4^- .
- Calcular el valor de la constante de inclusión del complejo Q- β CD en un medio de ClO_4^- 0.1 M pH 4 y en la superficie de un EPC.
- Medir el tamaño de las micelas formadas por: SDS, CTAB y TX100 a diferentes concentraciones de β CD usando como disolventes agua y ClO_4^- .
- Calcular los valores de constante de inclusión del complejo β CD-Surfactante en un medio de ClO_4^- 0.1 M pH 4.
- Proponer un mecanismo adecuado que represente lo que indican los resultados obtenidos cuando se trabajan con estos tres tipos de compuestos.

Reactivos e Instrumentación

Reactivos

Las sustancias usadas fueron de grado reactivo: Q, SDS, CTAB, TX100, rutina, morina, L-ácido ascórbico, (+)-catequina hidratada, (-)-epicatequina (Sigma-Aldrich), β CD (SAFC), ácido perclórico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, metanol (J. T. Baker), NaOH (MACRON), agua desionizada, soluciones buffer (Radiometer Analytical), carbón grafito en polvo natural con 99.9995 % de pureza grado microcristal (Alfa Aesar), aceite mineral (Mineral 0.1 Mineral oil).

Se prepararon soluciones madres de cada surfactante usando como disolvente agua y de Q en metanol, estas soluciones eran preparadas cada vez que se experimentaba. De estas soluciones stocks se tomaron alícuotas para obtener las concentraciones deseadas para cada sistema. Todas las soluciones preparadas fueron protegidas de la luz en medida de lo posible.

Instrumentación

El agua desionizada se obtuvo de un Millipore Milli-Q con 18 M Ω de resistividad.

Se usó un pH-metro de la marca PHM210 ESTÁNDAR PH METER para la medición de pH de los distintos sistemas.

Para disolver las sustancias se usó un baño ultrasónico 8891 Cole-Parmer, set sonic min.

Se mantuvo constante la temperatura con un recirculador Grant W14 y se protegió de la luz en medida de lo posible.

Para los análisis de **espectrofotometría UV-Vis** se usó un espectrofotómetro UV-Vis Lamda 20 que emplea el software WinLab, las celdas usadas fueron de cuarzo de un centímetro de longitud de paso óptico.

Para los análisis de **luminiscencia** se usó la técnica de fluorescencia, empleando un fluorómetro Perkin Elmer LS50 Luminiscence Spectrometer que emplea el software Winlab, las celdas usadas fueron celdas de cuarzo de un centímetro de longitud de paso óptico.

Para los análisis de **tensión superficial** fue usado un tensiómetro de la marca Kruss modelo K12, los experimentos se realizaron en una celda de vidrio usando un anillo de platino. El anillo de platino se limpió y secó después de cada medición.

Para los análisis de **dispersión de la luz dinámica**, DLS, (por sus siglas en inglés), se usó un equipo de dispersión dinámica de la luz (ZetaSizer Nano de la marca Malvern Instruments) para determinar tamaños de partícula con un haz luz de 633 nm a 25 °C en agua. El agua usada fue filtrada con papel filtro y las muestras se depositaron en viales las cuales fueron centrifugadas a 13,000 revoluciones por minuto por cinco minutos antes de la medición.

Para los análisis de **electroquímica**, se realizaron usando un potenciostato Epsilon, una celda electroquímica termostatada de vidrio de tres electrodos, un electrodo de platino en espiral como electrodo auxiliar, un electrodo de Ag/AgCl saturado como electrodo de referencia y un electrodo de pasta de carbón (EPC) como electrodo de trabajo. Para la obtención de las respuestas electroquímicas se usó un EPC preparado a partir de polvo de Grafito y acetite mineral en relación 1:1 en peso.

Para los análisis de **microscopía AFM**, se tomaron con un microscopio de fuerza atómica modelo MFP-3D Origin, ASYLUM RESEARCH, con un rango de barrido XY de 90 μm a = 1 μm y de 10 μm en Z.

Para los resultados de **espectroscopía IR**, se usó un espectrofotómetro FTIR Sjimatzu IR con módulo ATR marca Perkin Elmer, en un intervalo de 4000 a 350 cm^{-1} a una resolución de 7 cm^{-1} .

Para los análisis por **espectroscopía Raman**, se usó un microscopio con focal Raman InVia para análisis de espectro Raman, Leica DM2700 microscopio de luz reflejada, objetivos X5, X20, X50, Iluminador Renishaw Reflex, Detector de reducción profunda 1" CCD (1024 x 256 pixels). Enfriamiento Peltier, sin agua o nitrógeno líquido requerido, Rango de detección de 400 nm – 1100 nm, Filtro Rayleigh controlado por Encoder, Láser 50 mW 532 nm, enfriado por aire, Filtro Rayleigh de reflexión de línea para 532nm con montaje cinématico y magnético, Láser de diodo NIR de alto poder, 300 mW 785 nm, enfriado por aire, Montaje externo en el plato base del láser con 785 nm set de filtros Rayleigh.

Capítulo 1. Caracterización de los surfactantes en agua

Aprendo no para saber, sino para ignorar menos.

- Sor Juana Inés de la Cruz*

*Jose Luis Cordoba Frunz. Recopilación de Frases Célebres. Edicionddd Privadas de Cultura, Adolfo Prieto 1357, C. P. 03100, (2012).

1.1 Introducción

En este primer capítulo del trabajo, se realiza la caracterización de tres surfactantes en agua: SDS, CTAB y TX100, imagen 1.1, con la finalidad de calcular tres parámetros propios de los surfactantes y su interacción con la quercetina, Q, para así, compararlos con los valores ya reportados en la literatura, los cuales son: CMC, constante de unión del complejo $Q-M^{\text{Surfactante}}$ y tamaño de la $M^{\text{Surfactante}}$. Enseguida, se proporciona una breve descripción sobre los surfactantes usados.

La palabra surfactante es una abreviación de las palabras en inglés *surface active agent*, también definida como tensioactivo o tensoactivo. Este compuesto posee un carácter anfifílico, esto quiere decir que su estructura química está conformada de una parte hidrofílica (soluble en agua) y otra parte hidrofóbica (insoluble en agua) mejor definidos como cabeza y cola respectivamente, imagen 1.1(a) ³³⁻³⁶. Estos compuestos son clasificados de acuerdo con la carga eléctrica que posea su extremo hidrofílico, como: aniónico, catiónico y neutro, por ejemplo, el SDS, CTAB y TX100 respectivamente, imagen 1.1(b). Estos compuestos tienen la característica de adsorberse en superficies e interfaces con la finalidad de reducir la energía libre interfacial por unidad de área, que representa la cantidad de trabajo necesaria para expandir a la interface ^{34 y 36}.

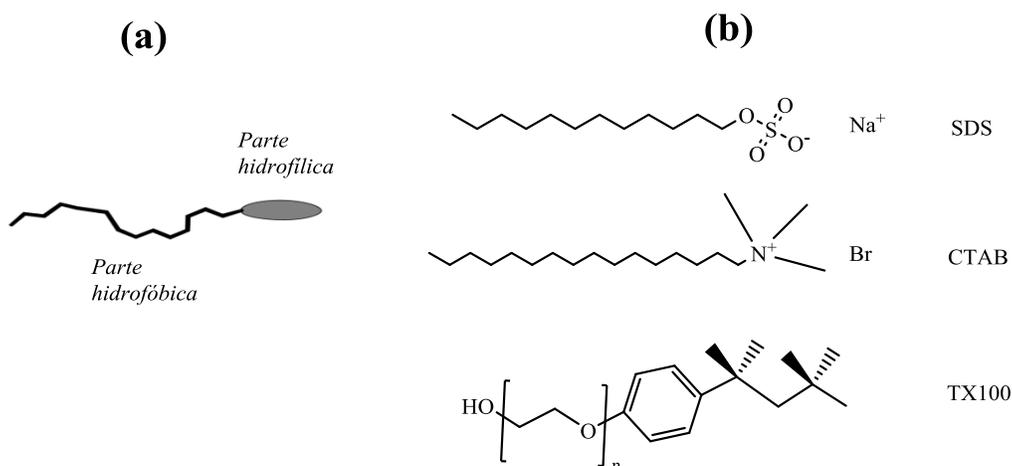


Imagen 1.1 Representación general de una molécula de surfactante (a) y estructura química del SDS, CTAB y TX100 (b).

La tendencia a acumularse en las interfaces, es una propiedad fundamental de los surfactantes, que propicia, seguido de esto (ya que se ha reducido la energía libre interfacial a un valor mínimo o crítico), una asociación entre estas moléculas de

surfactante para formar dímeros, trímeros, y llegar a arreglos de un cierto número de monómeros, por medio de interacciones hidrofóbicas dando como resultado la unión entre las colas de los surfactantes en un medio polar y entre las cabezas en un medio no polar (ver imagen 1.2 parte superior), formando una estructura ordenada y bien definida, llamada *micela*, la cual puede estar conformada de 10 a 100 monómeros en agua. En la imagen 1.2 se muestran las diferentes estructuras de las micelas, donde en la parte superior se muestran dos estructuras esféricas, las cuales, son las primeras formas estructurales de la micela, donde dependiendo de las características del sistema, la micela formada será la *micela esférica* (formada en un medio polar) o la *micela esférica inversa* (formada en un medio no polar) y conforme se aumente la concentración del surfactante en el sistema, la micela cambiará de forma, para dar lugar a estructuras mucho más complejas como las que se muestran en la parte inferior de la misma imagen.

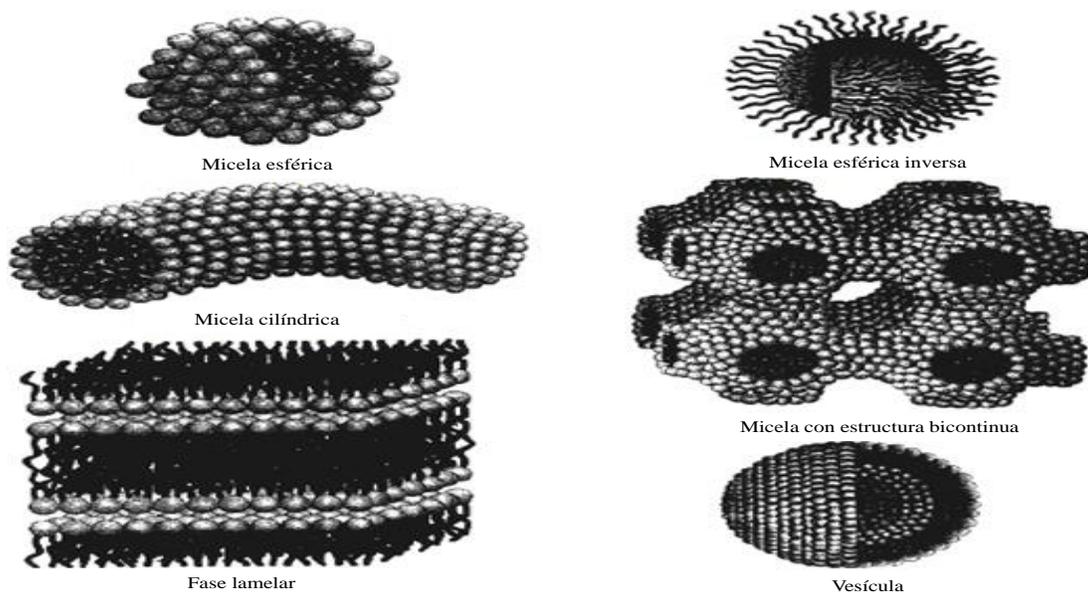


Imagen 1.2 Distintas formas estructurales de la micela (imagen tomada del libro de *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*³³ con la finalidad de ilustrar).

Cualquier arreglo molecular formado por surfactantes, es capaz de retener e interactuar con otras moléculas con la finalidad de protegerlas al formar el complejo micelar, CM (que es un tipo de complejo supramolecular, CS). La forma en que interaccionan la micela con una molécula de interés depende del ambiente que conforma el sistema, ya que, si se tiene un sistema con carácter polar, se tendrán micelas esféricas (a concentraciones un poco por arriba de su primer valor de $CMC_{\text{Surfactante}}$), donde las colas del surfactante estarán dentro de la esfera formando

una zona no polar, y la molécula de interés podrá permanecer dentro de la micela esférica (ver imagen 1.4), debido a que estas moléculas de interés poseen carácter no polar parcial o totalmente, por ejemplo: flavonoides, taninos, antioxidantes, fármacos, etc. y por ende son poco solubles en estos tipos de sistemas ³³⁻³⁶.

Un parámetro importante en el proceso de micelización, es el valor de concentración micelar crítica, CMC, que es un valor de concentración del surfactante que indica que por encima de dicho valor ya se tendrán formadas las micelas, el cual se puede obtener, cuando al medir alguna propiedad física en función de la concentración del surfactante se observa un cambio brusco como se muestra en la imagen 1.3 ³³⁻³⁶.

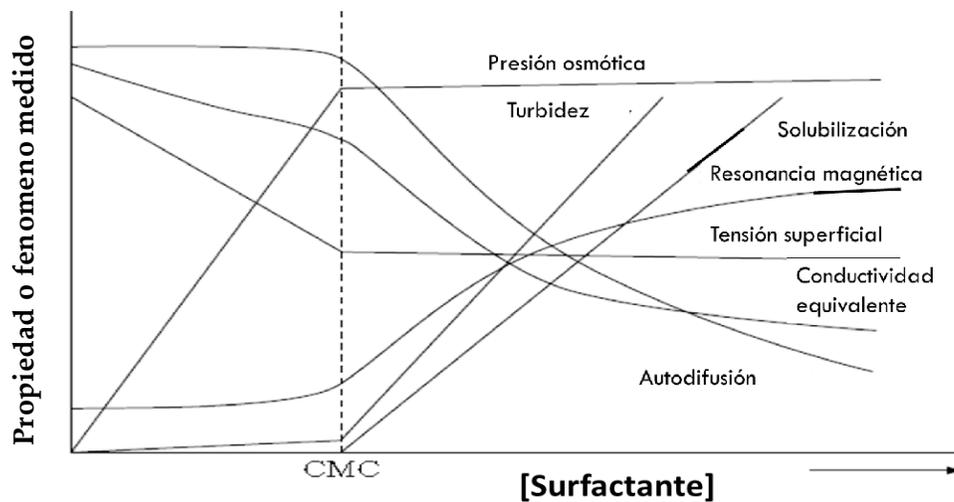


Imagen 1.3 Relación de propiedad o fenómeno medido en función de concentración de un surfactante donde se indica el valor de CMC.

En esta primera parte del trabajo se calcularán los valores de CMC del SDS, CTAB y TX100 en agua por medio de distintas técnicas, con la finalidad de cotejar dichos valores, ya que cuando se trabaja con este tipo de compuestos, este parámetro se debe conocer correctamente.

1.2. Metodología

Se prepararon soluciones madres de los surfactantes: SDS, CTAB y TX100 disueltas en agua cada una. También, se preparó una solución concentrada de quercetina disuelta en metanol. De estas soluciones concentradas se tomaron alícuotas para agregarlas a los distintos sistemas y así obtener las concentraciones deseadas. En los sistemas donde se empleó SDS y TX100 se mantuvo constante la temperatura a 25 °C y a 28 °C para los sistemas donde se usó CTAB.

Para la determinación de la CMC, tres sistemas fueron preparados con un volumen de 5 mL cada uno. A cada uno de los sistemas, alícuotas de la solución madre de uno de los surfactantes fueron añadidas y su respectivo espectro de absorción fue medido después de cada adición. Nuevamente se preparan tres sistemas con las mismas características antes descritas, pero con la diferencia que ahora se tendrá una concentración de Q de 5×10^{-5} M en cada sistema; a cada uno de los sistemas, alícuotas de la solución madre de uno de los surfactantes fueron añadidas y su respectivo espectro de absorción fue medido después de cada adición

Para la determinación del valor de CMC de cada surfactante y la constante de unión del complejo $Q-M^{\text{Surfactante}}$, fueron preparados tres sistemas de volumen de 5 mL de agua y concentración de Q de 6×10^{-5} M cada uno. A cada uno de los sistemas, alícuotas de la solución madre de uno de los surfactantes fueron añadidas y su espectro de emisión fue medido después de cada adición usando ($\lambda_{\text{exit.}}$ de 350 nm).

Para la estabilidad de la Q fueron preparados siete sistemas con un volumen de 5 mL y concentración de Q de 6×10^{-5} M cada uno. La evolución de un sistema fue analizada, midiendo su espectro de absorción cada minuto den un intervalo de 28 minutos. Después, a dos sistemas se le agregó alícuotas de la solución madre de uno de los surfactantes, para obtener una concentración por debajo y por encima de su respectivo valor de CMC midiendo su espectro de absorción cada dos minutos aproximadamente en un intervalo de 20 minutos.

Para medir el tamaño de la micela, se prepararon seis sistemas usando como disolvente agua, dos sistemas contenían concentración diferente del mismo surfactante: el primer y segundo sistema 9.0 y 36.8 mM de SDS, el tercer y cuarto sistema 1.5 y 3.9 mM de CTAB y el quinto y sexto sistema 2.0 y 2.9 mM de TX100. Después, las muestras se depositaron en viales, las cuales fueron centrifugadas a 13,000 revoluciones por minuto por cinco minutos antes de la medición.

1.3 Determinación de CMC del SDS, CTAB y TX100

1.3.1 Espectrofotometría UV-Vis sin Q

En la figura 1.1 se muestran los espectros de absorción del SDS, CTAB y TX100 en agua, donde, a cada sistema se le realizaron adiciones de una solución madre de estos surfactantes, midiendo su espectro de absorción después de cada adición en un intervalo de longitud de onda de 200 a 800 nm. El SDS y el CTAB absorben en un pequeño intervalo del ultravioleta, UV, cerca de 200 nm, dificultando el cálculo de CMC, debido a que no presentan alguna tendencia a medir o a seguir; en el caso del TX100, este compuesto sí absorbe en el UV cerca de 280 nm con una tendencia a seguir, debido a que su estructura química posee un anillo aromático (ver figura 1.1(c)), pero ya que el SDS y CTAB no absorben, se genera una metodología para poder calcular el valor de CMC de estos tres surfactantes midiendo la misma propiedad.

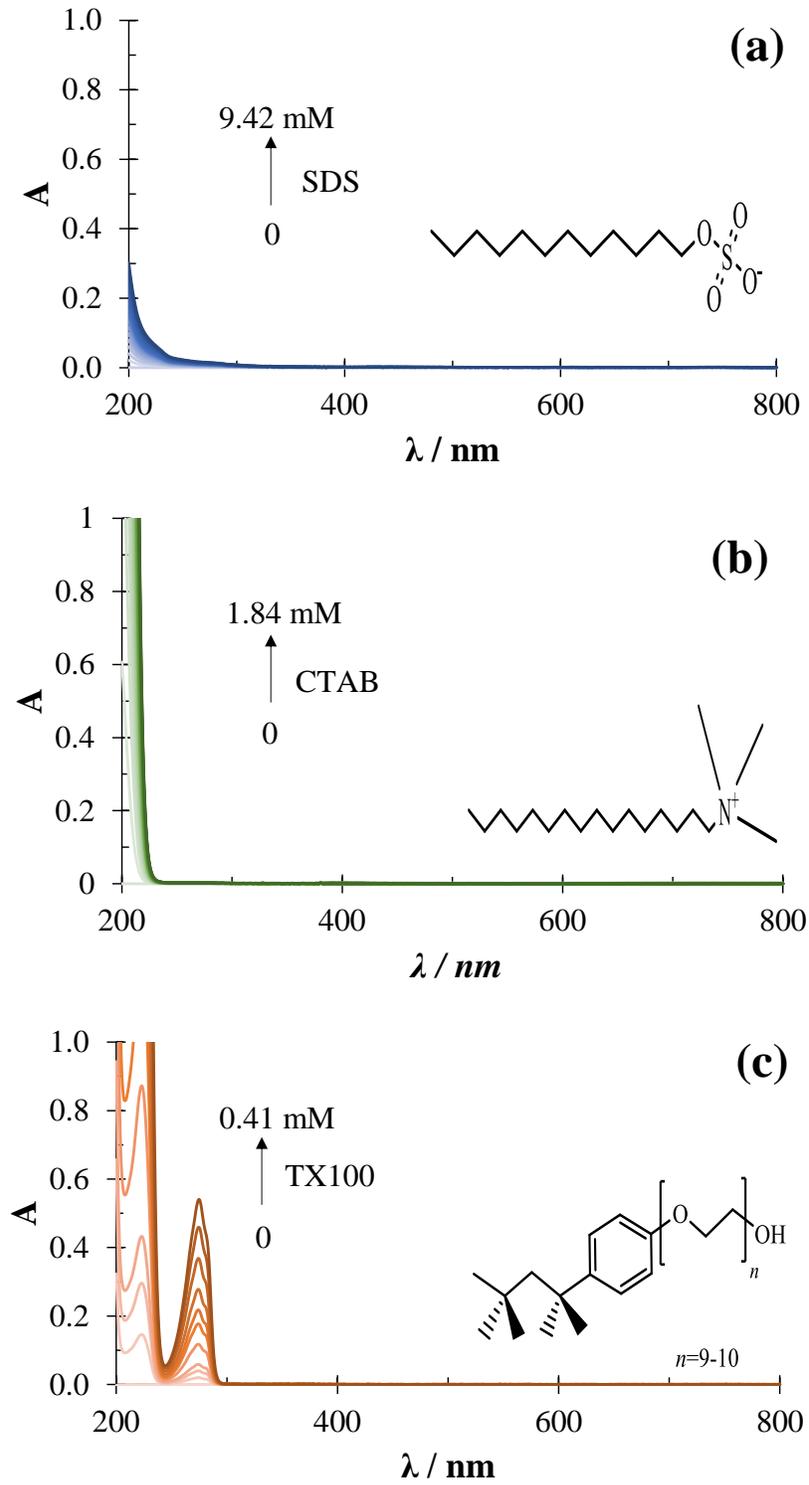


Figura 1.1 Familias de espectros de absorción en agua del SDS (a), CTAB (b) y TX100 (c).

1.3.2 Espectrofotometría UV-Vis con Q

Debido al problema antes mencionado se propone una metodología alternativa para el cálculo de CMC, el cual consiste en agregar una molécula que sí absorba en el intervalo del UV-Vis y analizar los cambios que genere la presencia del surfactante en su espectro de comportamiento. Se decide usar a la Q como molécula de referencia, ya que, esta molécula ha sido estudiado en el área de trabajo donde fue realizado este trabajo de investigación, debido a sus bondades que posee como por ejemplo sus actividades antioxidantes, además, es de los más abundantes en nuestra dieta diaria ³⁷⁻⁴⁸. En la figura 1.2 se muestra el espectro de absorción de la Q donde predomina su primera forma desprotonada, la cual presenta dos bandas, la banda I a 365 y la banda II a 253 nm, además se presenta la estructura química correspondiente a cada transición electrónica ²⁰³⁻²⁰⁷.

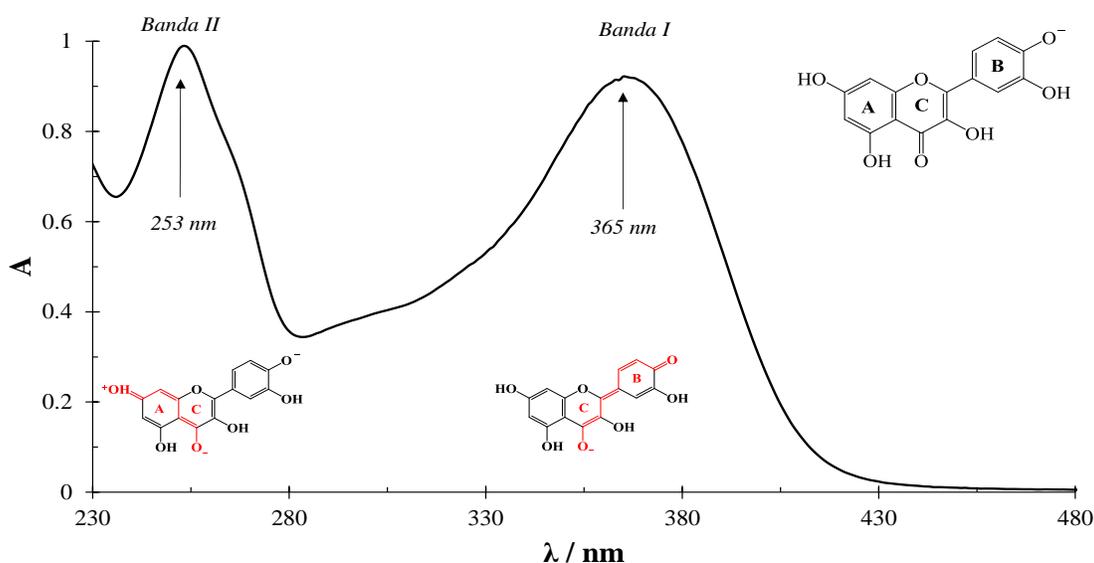


Figura 1.2 Espectro de absorción de la 5.6×10^{-5} M de Q en agua.

La estructura de la Q contiene grupos hidroxilo que se pueden desprotonar ⁴⁹⁻⁵⁰. En la figura 1.3 se presenta el diagrama de distribución de especies químicas de la Q en medio acuoso, donde, además se muestran las distintas estructuras correspondientes a su orden de desprotonación ⁵⁰. Al valor de pH de 7, la especie predominante de la Q es la que posee una carga negativa en el anillo B, esto podría favorecer la interacción con el surfactante CTAB.

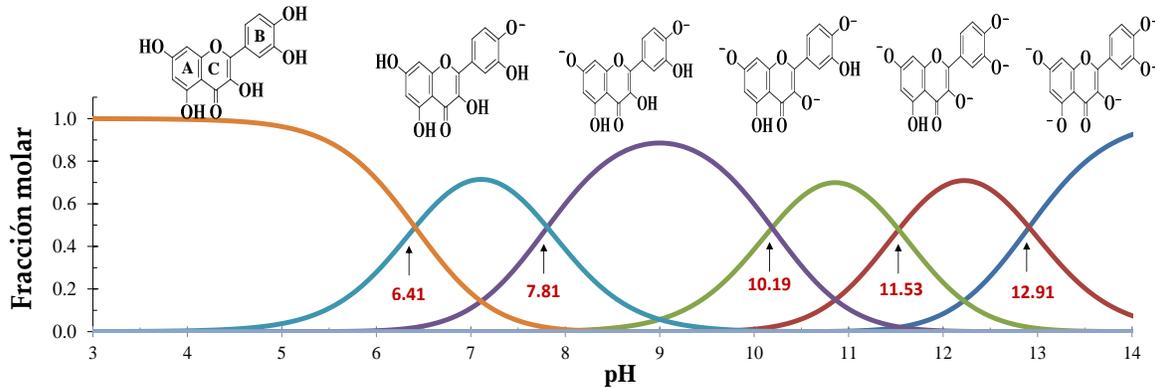


Figura 1.3 Diagrama de distribución de especies químicas del sistema Q en medio acuoso.

Ahora que se conocen los valores de pKa de la Q, se procede a analizar los cambios producidos en el espectro de la Q debido a la presencia del SDS, CTAB y TX100, usando como disolvente agua y la técnica de Espectrofotometría UV-Vis. Los intervalos de concentración de cada surfactante usados para la determinación de los valores de CMC, contemplan los valores reportados en la literatura los cuales se muestran en la tabla 1. El espectro de la Q cambia conforme se añade el surfactante al sistema como se esperaba (conforme se aumenta la concentración del surfactante, el color de los espectros se oscurecen) y cambia de manera distinta con cada uno de los surfactantes, figura 1.4, teniendo en común disminuciones en la absorbancia al agregar cada surfactante hasta llegar a un mínimo de absorbancia, después de esto se observa un aumento en la propiedad medida, también se obtuvieron desplazamientos batocrómicos para ambas bandas, lo que indica que se da una interacción entre las micelas formadas y la molécula de Q. En el caso del TX100, se observa que, a bajas concentraciones de TX100, la banda II aparte de disminuir la absorbancia y después aumentarla, tiene un desplazamiento batocrómico en comparación con la banda I que solo disminuye su intensidad de A (ver figura 1.4(e-h)), esto es debido a que el TX100 absorbe cerca de 280 nm como se mostró en la figura 1.1 (c), por lo que hay un aumento pronunciado a esa longitud de onda, debido a esto se sugiere que la A debida solo a la Q, solo disminuye en su valor de A al agregar el TX100, por lo que al ya tener formada a la M^{TX100} la Q entrará dentro de su cavidad hidrófoba.

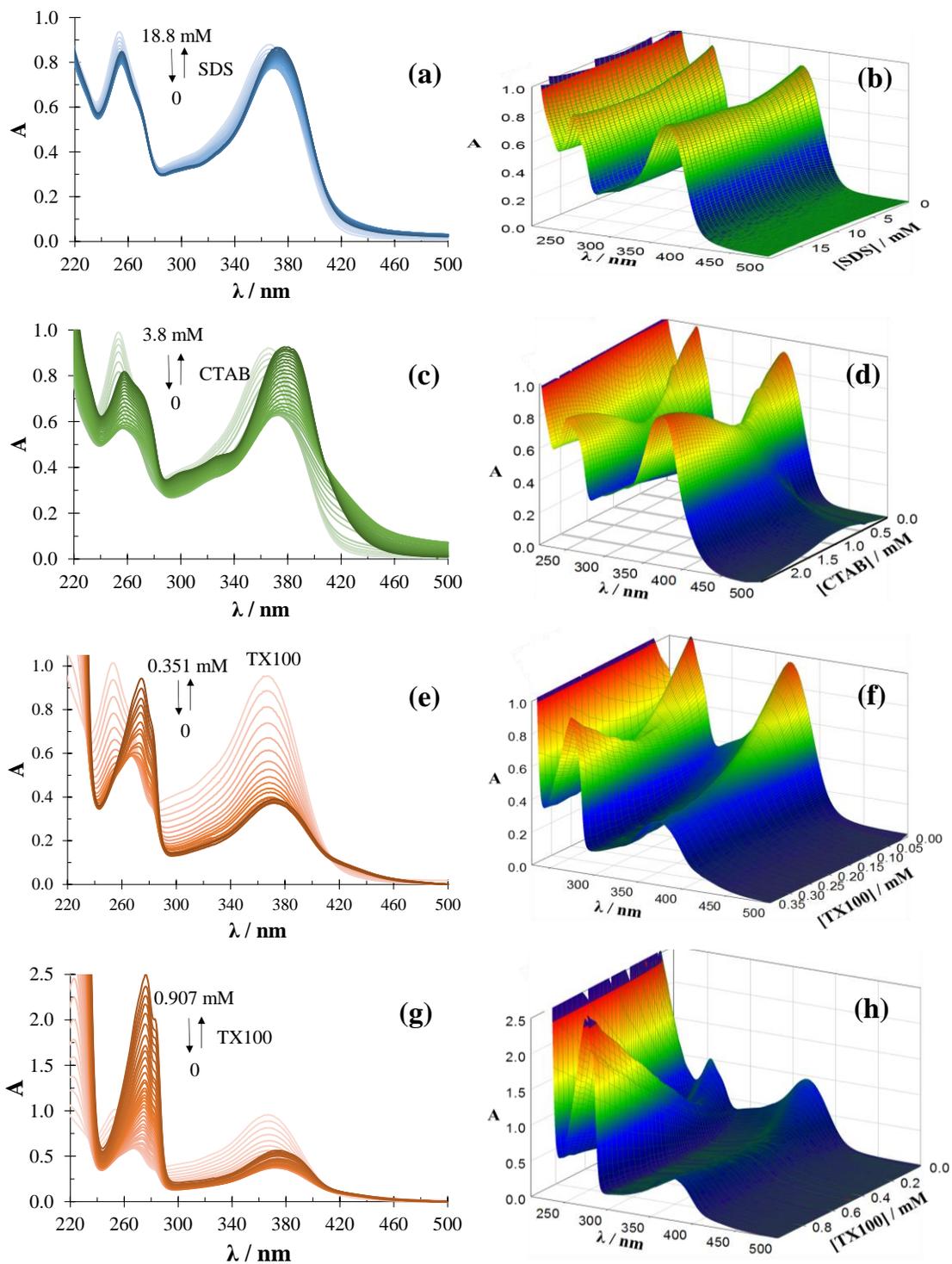


Figura 1.4 Espectros de absorción en 2D y 3D de tres sistemas diferentes que contienen una concentración fija de 5×10^{-5} M Q a los cuales se les adicionan distintas cantidades de un surfactante: [0.0, 18.8] mM SDS (a-b), [0.0, 3.8] mM CTAB (c-d), [0.000, 0.351] mM TX100 (e-f) y [0.000, 0.907] mM TX100, usando como disolvente agua.

Los espectros que se ven más afectados son los que contienen CTAB, figura 1.4(c y d), por lo que se podría suponer que, la Q y el CTAB interactúan de una manera diferente en comparación con el SDS y TX100, esto es debido a la carga eléctrica negativa de la Q y la carga positiva del CTAB favorecen dicha interacción y esto se ve reflejado en los cambios en los espectros de absorción.

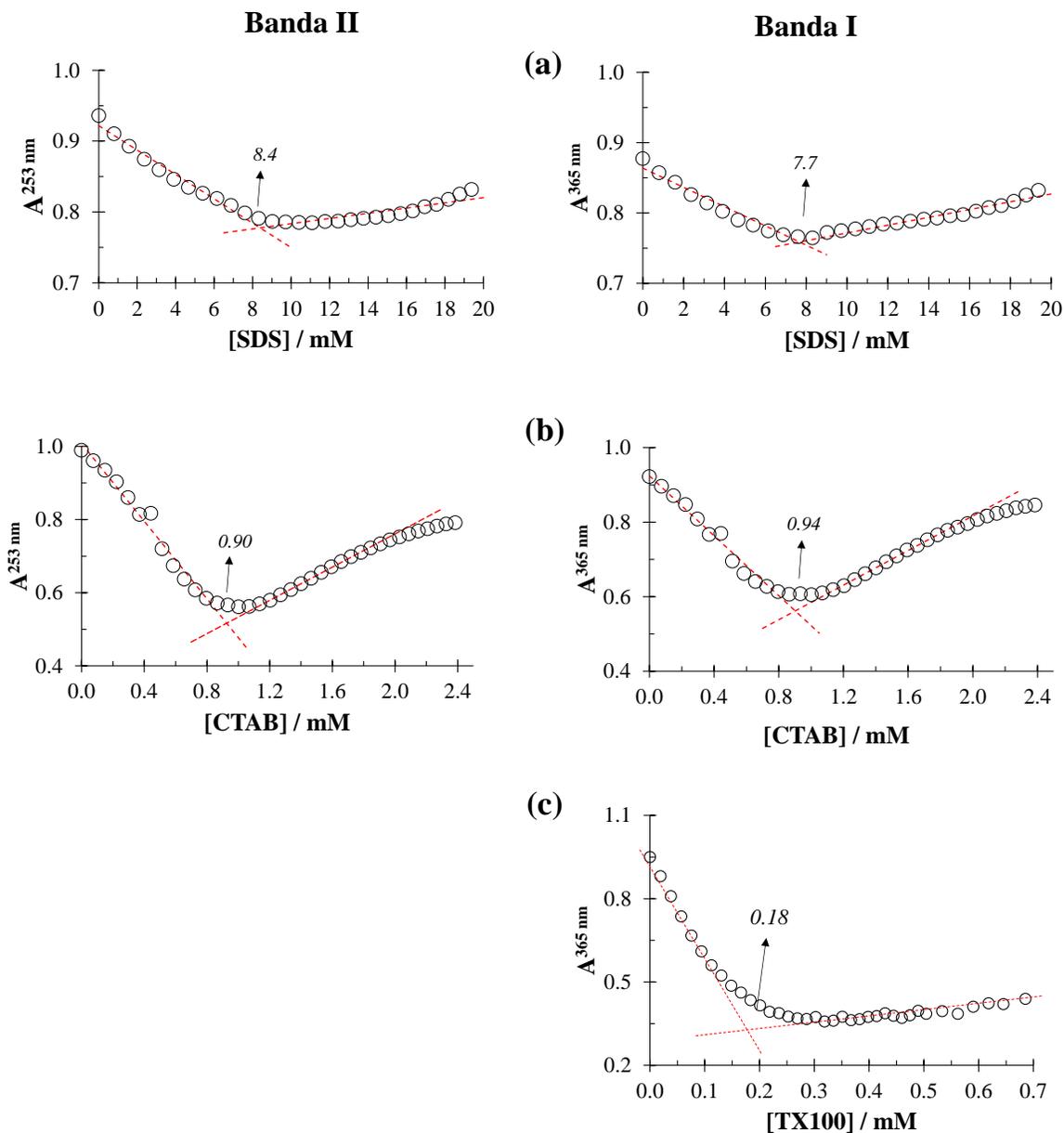


Figura 1.5 Relaciones de A en función de la concentración del surfactante para la banda I y II de los tres sistemas mostrados en la figura 1.4 del SDS (a), CTAB (b) y TX100 (c).

Se analizan las relaciones de A en función de la concentración de cada uno de los surfactantes para ambas bandas, figura 1.5, señalando el cambio brusco con la intersección de dos pendientes en color rojo línea punteada que indica el valor de CMC para cada gráfico; para el caso del TX100 solo se muestra el análisis a 365 nm debido a que la absorbancia a 253 nm se incrementa rápidamente a concentraciones de bajas de TX100 (ver figura 1.4(g y h)).

En la tabla 1.1 se muestra la comparación de los valores CMC calculados con Espectrofotometría UV-Vis y los reportados en la literatura, donde los valores calculados y los reportados concuerdan, con la excepción del TX100 que tiene un amplio intervalo de concentración reportado como CMC, esto puede ser debido a que su consistencia es viscosa y dificulta su manejo. Por lo que, se infiere que el valor de CMC de cualquier surfactante puede ser calculado por Espectrofotometría UV-Vis siguiendo los cambios en el espectro de comportamiento de una molécula que absorba en el intervalo de ultravioleta o visible.

Tabla 1.1 Comparación de valores de CMC de tres surfactantes calculados por espectrofotometría UV-Vis en agua.

Técnica	CMC / mM				
	SDS		CTAB		TX100
	<i>Banda II</i>	<i>Banda I</i>	<i>Banda II</i>	<i>Banda I</i>	<i>Banda I</i>
Espectrofotometría UV-Vis	8.4 ± 0.6	7.7 ± 0.6	0.90 ± 0.03	0.94 ± 0.03	0.18 ± 0.03
Literatura		8.3 ³³		0.92 ³³	
		8.2 ³⁴		0.98 ³⁴	0.2 - 0.9*
		8.1 ³⁵		0.92 ³⁵	

*Intervalo de concentración de CMC del TX100 reportada por Sigma-Aldrich® (indicada en el envase).

El método indirecto propuesto para el cálculo de CMC de estos tres surfactantes es adecuado, además de que la molécula de Q no afecta el valor de dicho parámetro.

Ya que se conocen los valores de CMC para cada surfactante, se puede inferir que a concentraciones mayores de dichos valores, ya se tienen formadas las micelas (zona micelar) y a concentraciones menores de dicho valor se tienen distintas asociaciones del surfactante como pueden ser dímeros, trímeros, tetrámeros, etc. (zona pre-micelar), teniendo en consideración que la mayor parte de las moléculas del surfactante en este último intervalo de concentración se encuentran adsorbidas en la

superficie (interface agua-aire). Ahora se procede a analizar las dos zonas de cada uno de los surfactantes, con la finalidad de conocer de qué forma interactúan con la molécula de Q. En la figura 1.6 se muestran los cambios en la longitud de onda de los máximos de absorción al aumentar la concentración del surfactante (λ_0 es la longitud de onda del máximo de absorción en ausencia del surfactante *lado izquierdo* y cuando ya se ha formado la micela *lado derecho* y λ es la longitud de onda del máximo de absorción cuando se agrega al surfactante), con la finalidad de cuantificar los nanómetros que se desplaza cada banda y hacia qué dirección lo hace. Valores positivos de esta diferencia de longitudes de onda representan desplazamientos batocrómicos y desplazamientos negativos representan desplazamientos hipsocrómicos, es importante resaltar que los ejes de las concentraciones de cada uno de los surfactantes (eje x) de la izquierda (zona pre-micelar) se cortan a una concentración menor al valor de CMC e inician después de dicho valor en el lado derecho (zona micelar), dependiendo del tipo de surfactante, ya que se tienen dos zonas donde los surfactantes están presentes de distinta forma. En la zona micelar no se tienen cambios mayores a 1 nm (considerando que esta es su resolución) en la diferencia de la longitud de onda del máximos de absorción (gráficos de la derecha), por lo que se considera que la micela tiene una estructura bien definida, la cual interactúa con la totalidad de la molécula de Q. Para el caso de la zona pre-micelar, se dan cambios de 2 y 3 nm en los máximos de absorción para los tres surfactantes (gráficos de la izquierda) para las bandas que se presentan en aproximadamente 253 nm, pero se tiene un cambio de hasta 6 nm para la banda que se presenta a 365 nm para el sistema que contiene al CTAB, debido a esto, las estructuras pre-micelares que se van formando interactúan con la molécula de Q, ocasionando que la diferencia en cargas eléctricas entre el surfactante y la Q favorezca su interacción. Se sugiere que los anillos B y C de la Q interactúan con la parte hidrofílica del CTAB preferentemente, por lo que se tiene una mayor diferencia del máximo de absorción a 365 nm.

1.3.3 Fluorescencia

Usando la técnica de fluorescencia (midiendo el espectro de emisión) se puede corroborar, que las micelas formadas con cada uno de estos surfactantes interactúan con la Q, para dar origen a un CM. La Q no flúorese por sí sola, pero debido a las interacciones con otras moléculas o con arreglos moleculares como la $M^{\text{Surfactante}}$ provocan que lo haga, debido a que con dicha unión la Q pierde movilidad y se hace más rígida, provocando el fenómeno de la fluorescencia en esta molécula

⁵¹, imagen 1.4, específicamente el grupo que tiene movilidad o rotación es el catecol de la estructura de este flavonoide, la cual se inhibe cuando la Q interacciona con la micela de algún surfactante, ya que entra dentro de esta estructura en forma de esfera. En la figura 1.7 se tienen tres familias de espectros de emisión de la Q que aumentan su intensidad fluorescente, IF, debido a la adición de un surfactante.

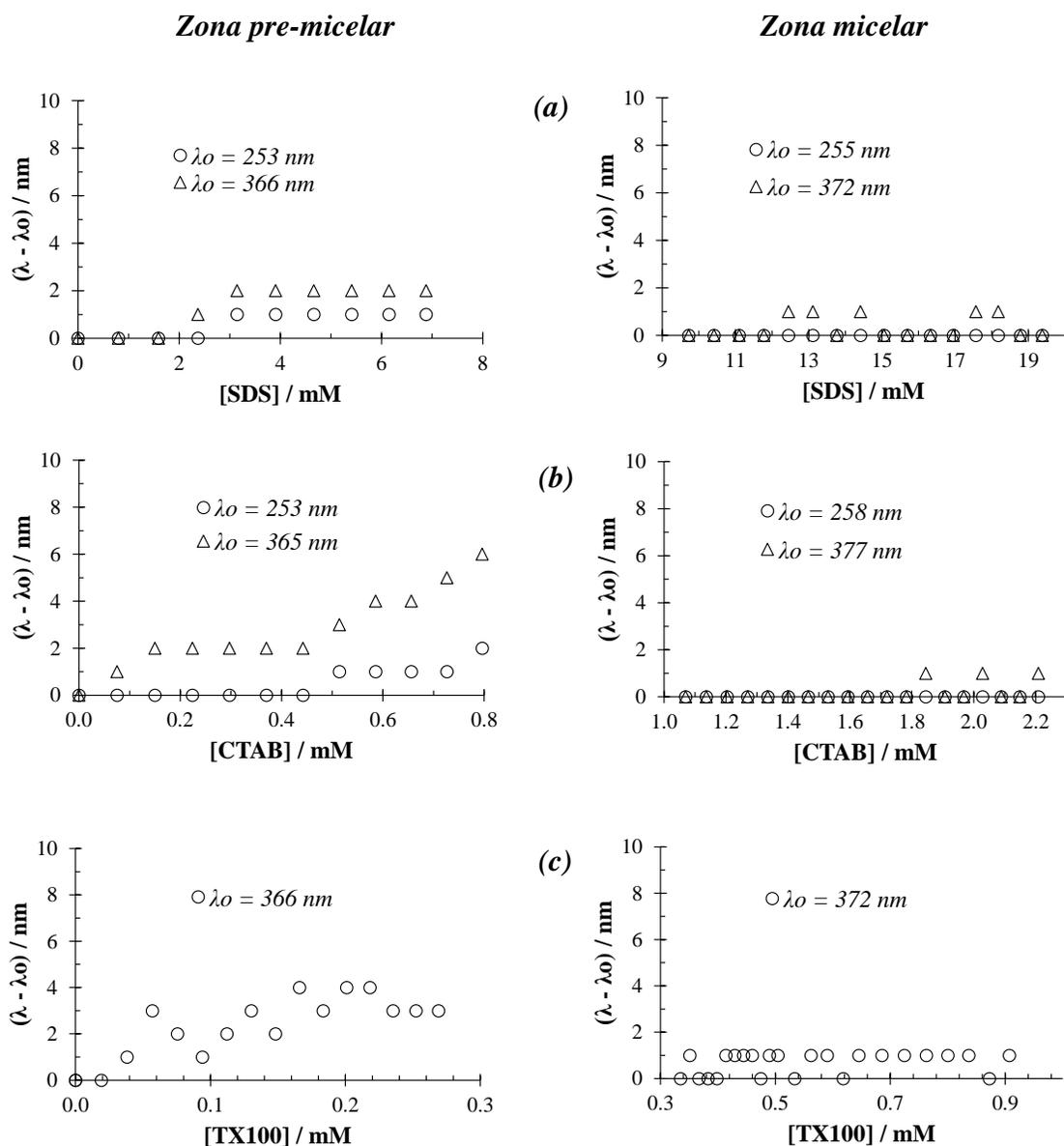


Figura 1.6 Relaciones de $(\lambda - \lambda_0)$ en función de la concentración del SDS (a), CTAB (b) y TX100 (c), a concentraciones menores (lado izquierdo) y mayores (lado derecho) de su CMC respectivamente.

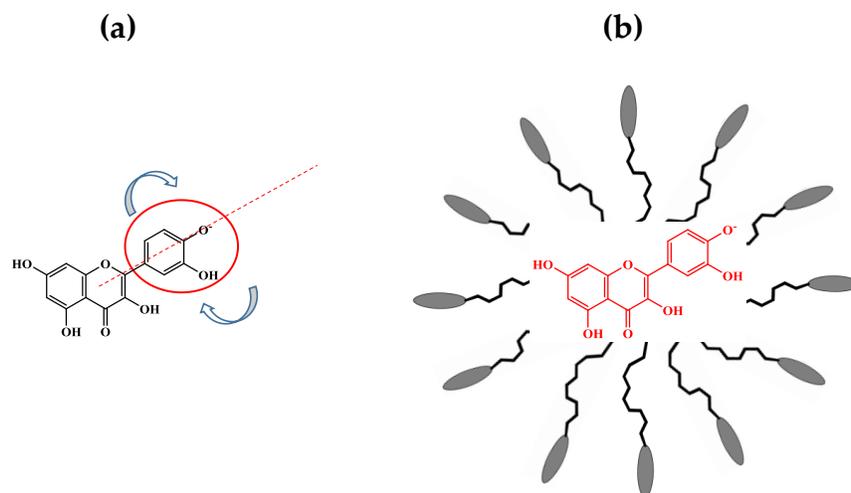


Imagen 1.4 Representación de la rotación del grupo catecol de la Q (a) y la inhibición de esta rotación debido a la formación del complejo micelar Q-M^{Surfactante} (b).

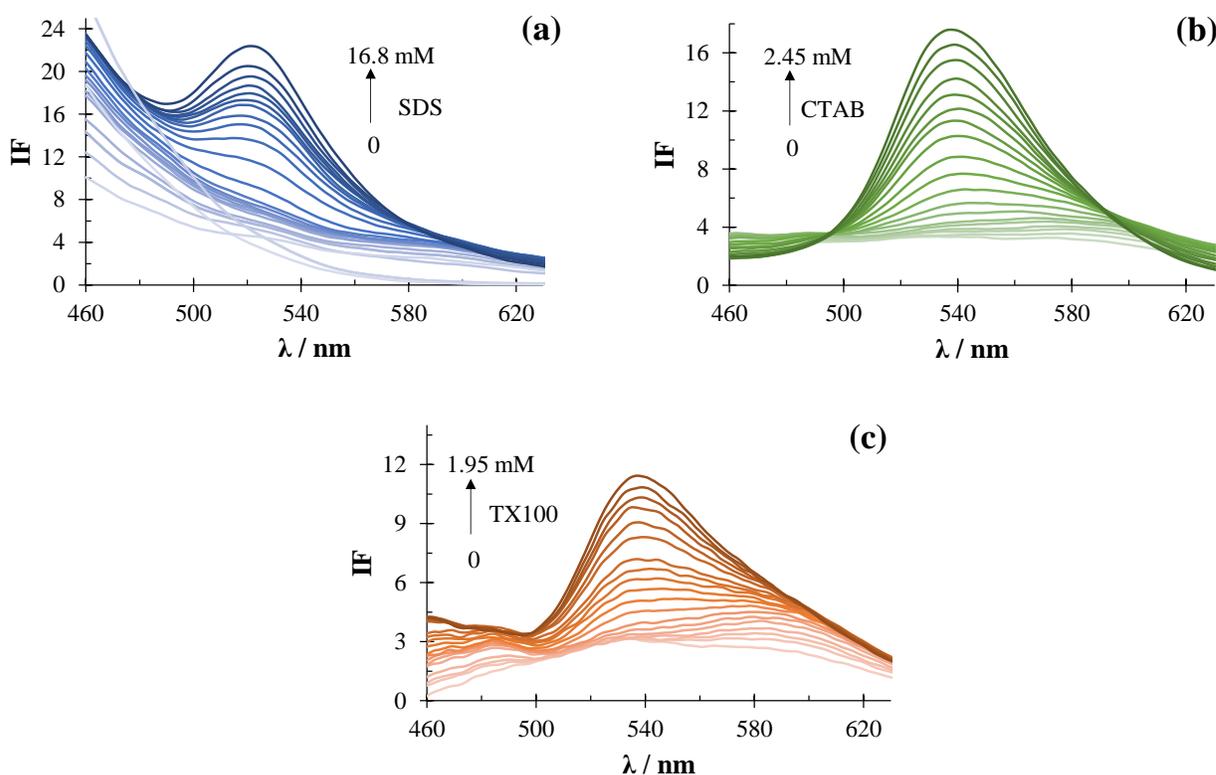


Figura 1.7 Familias de espectros de fluorescencia de emisión de la Q 6×10^{-5} M que cambian al aumentar la concentración de cada surfactante: [0, 16.8] mM para SDS (a), [0, 2.45] mM para CTAB (b) y [0, 1.95] mM para TX100 (c). Usando como disolvente agua y una $\lambda_{\text{exit.}}$ de 350 nm.

En la figura 1.8 se tienen las relaciones de IF en función de la concentración de cada uno de estos tres surfactantes, donde se tiene que, conforme se aumenta la concentración de cada surfactante, la intensidad de fluorescencia también aumenta, pero con una mayor IF cuando se sobrepasa una cierta concentración para cada uno de los surfactantes, el cual coincide con su correspondiente valor de CMC que se calculó anteriormente con la técnica de Espectrofotometría UV-Vis, dichos resultados se muestran en la tabla 2, por lo que las estructuras pre-micelares y las micelas de cada surfactante efectivamente interactúan con la Q, pero la micela proporciona una mayor rigidez a este polifenol. Ahora que se sabe que se forman los CM con cada uno de los surfactantes usados en este trabajo de investigación, se calculan las constantes de unión.

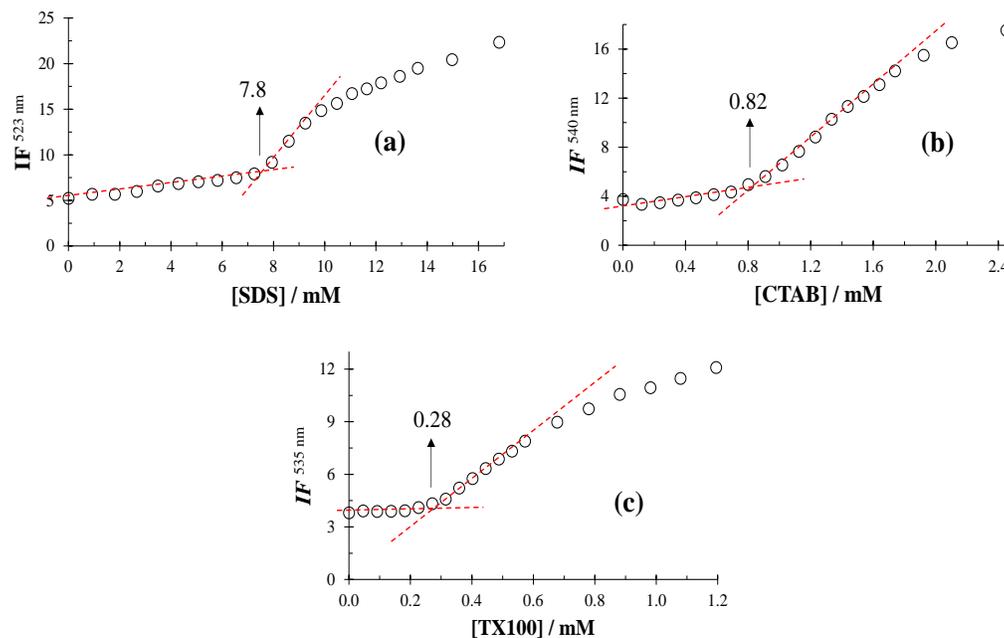


Figura 1.8 Relación de intensidad de fluorescencia en función de la concentración de: SDS (a), CTAB (b) y TX100 (c). Las gráficas se construyeron con los datos de la Figura 1.10 (a).

Ahora se puede hacer uso de cualquiera de estas dos técnicas para calcular el valor de CMC, lo que facilita el estudio de estos compuestos, ya que comúnmente se calcula este parámetro con la técnica de tensión superficial.

Tabla 1.2 Valores de CMC de tres surfactantes medidos por fluorescencia usando como disolvente agua.

CMC / mM		
SDS	CTAB	TX100
7.8 ± 0.5	0.82 ± 0.02	0.28 ± 0.01

1.4 Determinación de la constante de unión del complejo quercetina-micela formada por el SDS, CTAB y TX100

Marques en su tesis de doctorado propone una ecuación para calcular la constante de un CI, ecuación 1.1, ⁵² y María de la Guardia y colaboradores modifican dicha ecuación para que sea aplicable a CM, ecuación 1.3, ⁵³.



$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} + \frac{\left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1}}{\gamma K[\beta CD]} \quad (1.1)$$

Donde I es la intensidad de fluorescencia que se mide cuando se agrega la βCD , I_0 es la intensidad en ausencia de la βCD , I_C es la intensidad máxima obtenida del complejo de inclusión, γ es el cociente del coeficiente de extinción molar en la longitud de onda de excitación en presencia (ϵ_p) y en ausencia (ϵ_0) del surfactante (cuando el coeficiente no varía en el medio micelar $\gamma = 1$) y K es la constante de inclusión. Al graficar $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\left(\frac{1}{[\beta CD]}\right)$, se obtiene una relación lineal, donde al dividir la ordenada al origen entre la pendiente se tiene el valor de la constante de inclusión como lo muestra la ecuación 1.2.

$$b/m = \frac{\left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1}}{\left(\left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} / K\right)} = K \quad (1.2)$$

Para el caso de complejos micelares, María de la Guardia propone sustituir $[\beta\text{CD}]$ por $([\text{Surf.}]-\text{CMC})$, que es la concentración del surfactante total menos el valor de CMC del surfactante en cuestión, ecuación 1.3.

$$Q + M^{\text{Surfactante}} \leftrightarrow Q - M^{\text{Surfactante}} \quad \text{Complejo micelar}$$

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} + \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} / \gamma K([\text{Surf.}] - \text{CMC}) \quad (1.3)$$

La constante de unión se calcula de la misma forma que se mostró en la ecuación 1.2, (en el Apéndice 1 se muestra el desarrollo algebraico).

1.4.1 Complejo quercetina-micela (surfactante)

En la figura 1.9 se muestra el gráfico de $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\left(\frac{1}{[\text{Surfactante}] - \text{CMC}}\right)$ para calcular el valor de la K del CM formado entre la Q y la $M^{\text{Surfactante}}$, empleando las ecuaciones 1.3. Para el cálculo de la incertidumbre de K (ecuación 1.2), se considera la dependencia de la pendiente con la ordenada al origen (covarianza) ⁵⁴ y los valores de CMC usados fueron tomados de la tabla 1.1 correspondientes a la banda I. En la tabla 1.3 se muestran los valores obtenidos de la regresión lineal para cada uno de los surfactantes, donde se obtiene un valor de Log K. También se puede observar que el coeficiente de correlación para el caso del SDS es el más bajo en comparación con los otros dos surfactantes, por lo cual se podría considerar que no es adecuado aproximarlos a una línea recta, considerando que, el equilibrio a partir del cual se propone la formación del CI y CM tienen una estequiometría 1:1, por lo tanto se puede pensar que se tiene una estequiometría distinta y como consecuencia sería conveniente modificar la ecuación 1.1 y 1.3 para que sea aplicable a otros sistemas.

Tabla 1.3 Parámetros obtenidos de la regresión lineal usando la ecuación 1.3 para el cálculo de la constante de unión del complejo Q-M^{Surfactante}.

Surfactante	b	m x 10 ⁵ /M	R ²	Log (K / M ⁻¹)
SDS	0.2823 ± 0.0087	47.08 ± 2.86	0.9819	2.78 ± 0.04
CTAB	0.1376 ± 0.0061	18.73 ± 0.35	0.9975	2.87 ± 0.02
TX100	0.1262 ± 0.0112	19.79 ± 0.55	0.9947	2.80 ± 0.04

En la tabla 1.4 se muestra una comparación de valores de Log K para la formación del complejo Q-M^{Surfactante} de valores reportados en la literatura con los obtenidos en este trabajo de investigación. Los valores que reportan Weiya Liu y colaborador²⁰³²⁰⁸ son bastante grandes en comparación con los obtenidos en este trabajo, además, ellos obtienen un valor de log K a cada concentración de Q y debido a que este parámetro debe ser una constante, dicha información adquiere poca veracidad. Además, y como se mostrará en los capítulos siguientes, el valor de Log K del complejo βCD-Surfactante es menor que los valores reportados por Weiya Liu y colaborador, esto quiere decir que la competitividad de la βCD por la Q es mayor, en comparación con la competitividad del surfactante por la Q como se mostrará más adelante (para los casos donde se empleó al SDS y CTAB), debido a estos criterios los valores calculados en este trabajo son aceptables.

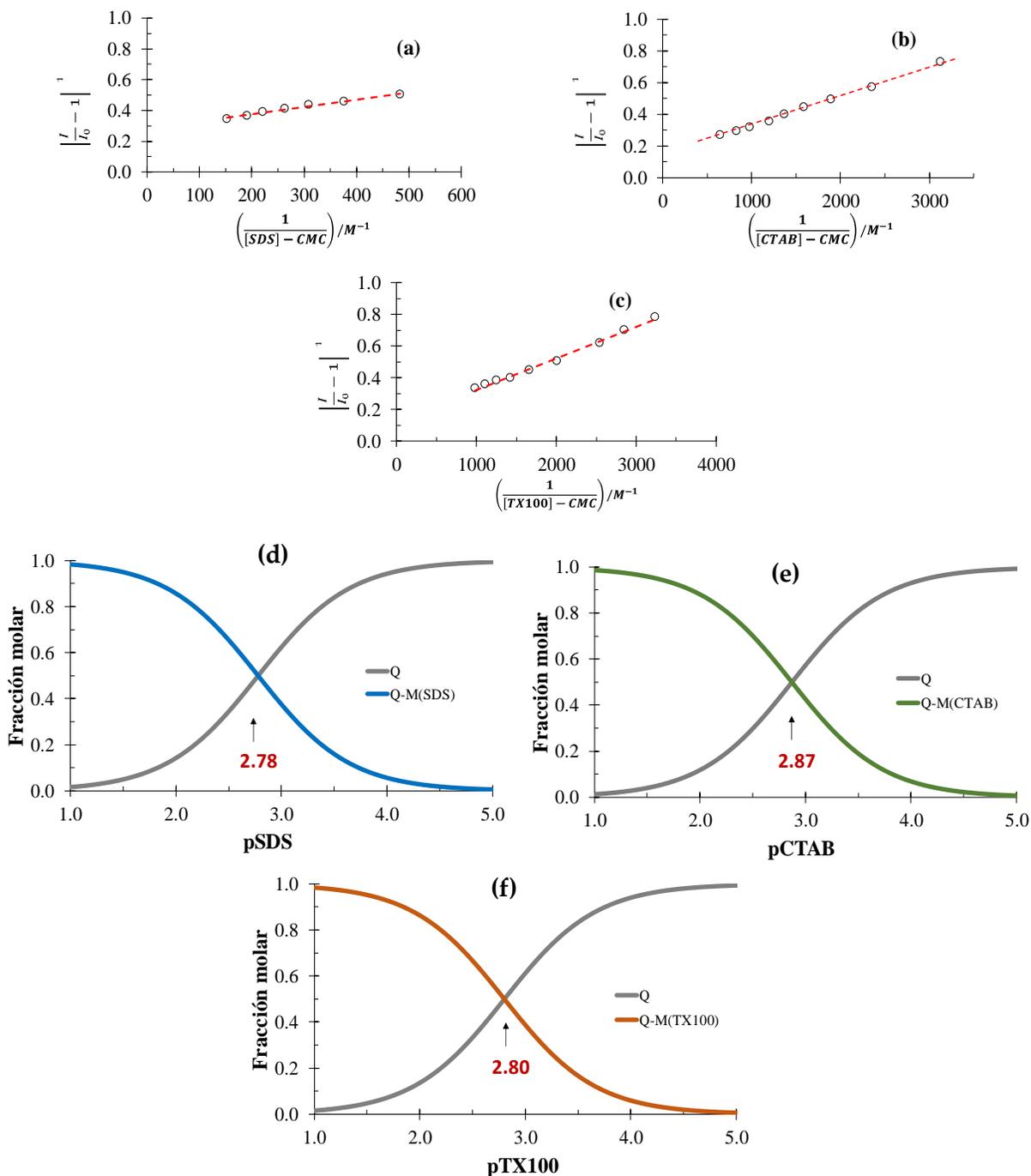


Figura 1.9 Relaciones de $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\left(\frac{1}{[Surfactante] - CMC}\right)$ para el SDS (a), CTAB (b) y TX100 (c) (las gráficas se construyeron con los datos de la figura 1.7 y usando la ecuación 1.3). Diagramas de distribución de la Q en función de la p(Surfactante): SDS (d), CTAB (e) y TX100 (f).

Tabla 1.4 Comparación de valores de log K para la formación del complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$.

Log K / M^{-1}			Ref.
M^{SDS}	M^{CTAB}	M^{TX100}	
3.75	4.83	-	203 *
-	-	3.45	208 *
2.78 ± 0.04	2.87 ± 0.02	2.80 ± 0.04	Este trabajo

*Los valores reportados fueron realizados en medio acuoso, usando los resultados obtenidos de los espectros de emisión.

1.4.2 Estabilidad de la Q

Una pregunta obvia considerando que usamos la técnica de espectrofotometría UV-Vis para analizar a la Q y además, de que ya se ha demostrado la formación del complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$, es, ¿los cambios que se observan en las familias de espectros mostradas en la figura 1.4 podrían ser debidos a la estabilidad de la Q?, acto seguido, se procede a analizar la estabilidad de esta molécula. En la figura 1.10 se presenta una familia de espectros de absorción de la Q que cambian al paso de 40 minutos en donde no se observan desplazamientos hipsocrómicos o batocrómicos característicos de la formación de un complejo, sólo se observan desplazamientos hipocrómicos (disminución de la A) al paso del tiempo; en las relaciones de A medidas en función del tiempo medidas a dos longitudes de onda, figura 1.10 (b) y (c), se tiene que se ha reducido al 50% la A al paso de 25 minutos, lo que demuestra su baja estabilidad en condiciones normales de laboratorio como son la exposición de la luz de lámparas y presencia de oxígeno.

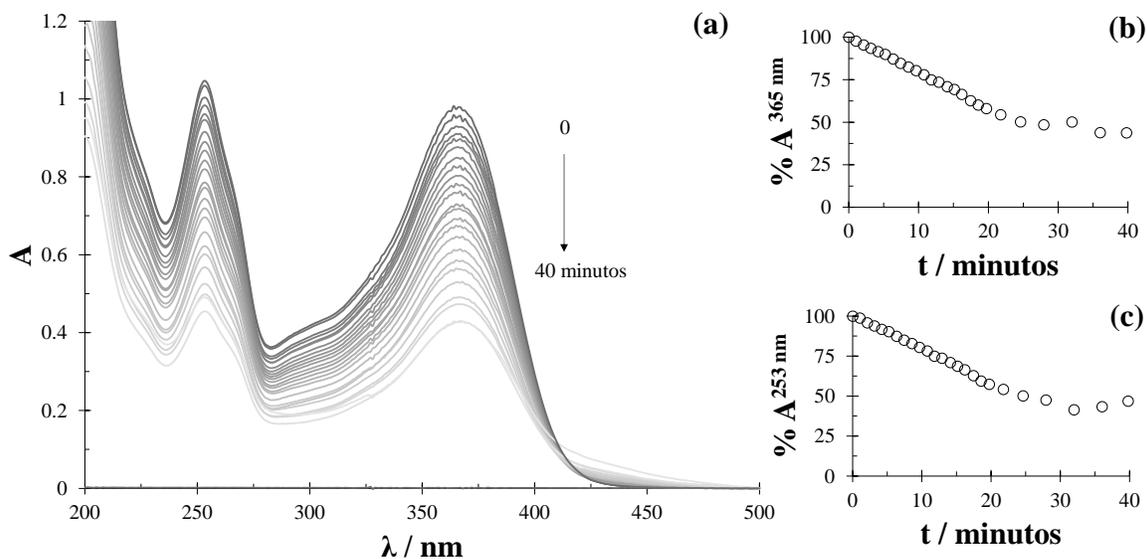


Figura 1.10 Familia de espectros de absorción de la Q 6.2×10^{-5} M que cambian al paso de 40 minutos (a) y relaciones de %A en función del tiempo a 365 (b) y 253 nm (c), usando un sistema de agua pH 7 (estudio realizado bajo condiciones normales de laboratorio como: exposición de la luz de lámparas y presencia de oxígeno).

1.4.2.1 En medio micelar

Se sabe que la formación del CM confiere mejoras en las propiedades de distintas moléculas ⁷²⁻⁷⁵, por lo tanto, se analiza la estabilidad de la Q en presencia de los tres surfactantes usados en medio acuoso. En la figura 1.11 se muestra la relación del %A en función del tiempo, donde se muestra que, cuando está presente cualquiera de los tres surfactantes usados a una concentración por encima de su respectivo valor de CMC, se mantiene constante el %A, debido a que la formación del complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$ confiere estabilidad a la Q.

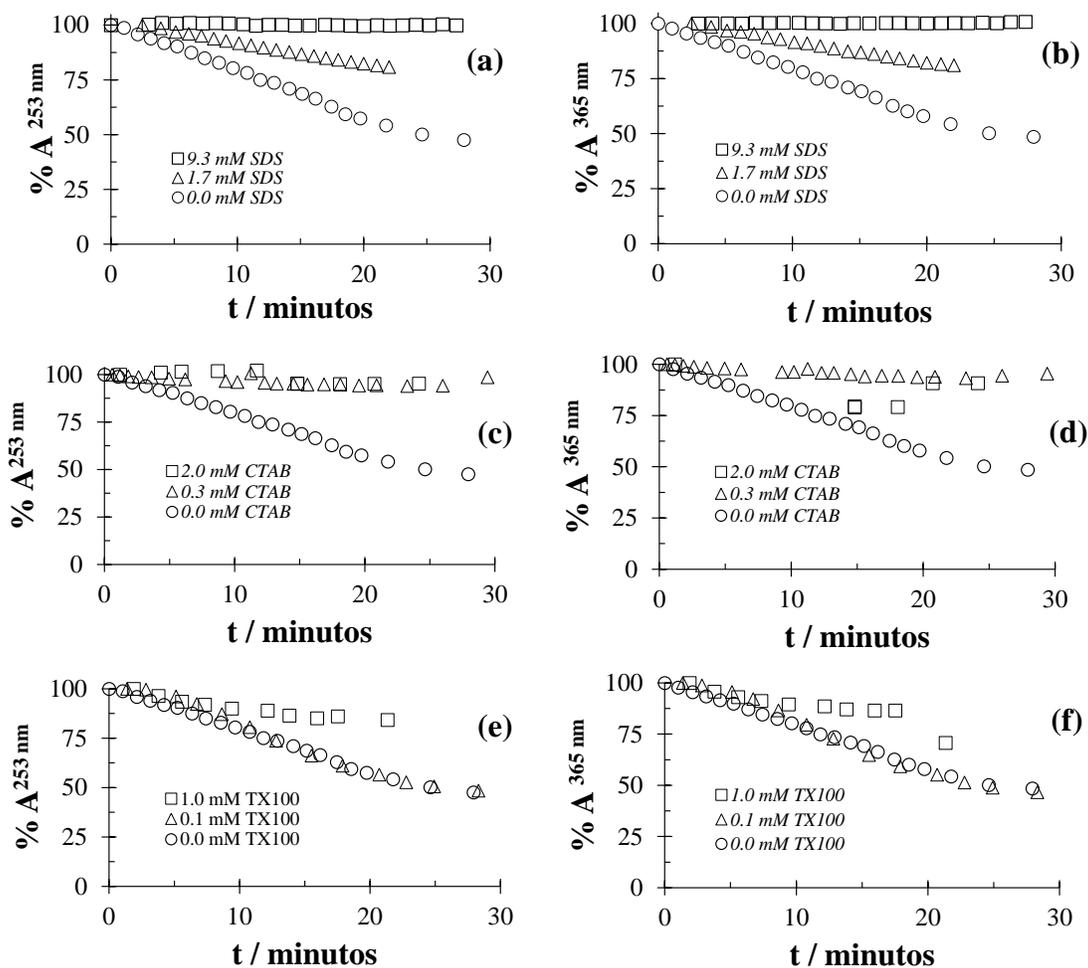


Figura 1.11 Relaciones %A en función del tiempo, en un sistema que contiene Q 6×10^{-5} M a 253 y 365 nm a tres concentraciones distintas de: SDS (a y b), CTAB (c y d) y TX100 (e y f), usando como disolvente agua pH 7. El estudio se realizó bajo condiciones normales de laboratorio como exposición de la luz de lámparas y presencia de oxígeno.

Ahora que se ha demostrado que, debido a la formación del complejo $Q-M^{\text{Surfactante}}$ se le confiere estabilidad a la Q y la característica de emitir radiación electromagnética a este polifenol, se desarrolla una metodología para la cuantificación de la Q en medios micelares y se demuestra el efecto de algunos interferentes (Apéndice 2). Enseguida se procede a calcular el diámetro de la micela formada por el SDS, CTAB y TX100, para obtener más información acerca de las micelas.

1.5 Tamaño de las micelas formadas por el SDS, CTAB y TX100

Con la técnica de *dispersión dinámica de la luz* (DLS por sus siglas en inglés) se puede calcular el diámetro hidrodinámico de arreglos moleculares como el de la $M^{\text{Surfactante}}$, así como, en el área de biofísicoquímica es usada para medir el tamaño de proteínas.

En la figura 1.12 se muestran dos relaciones por cada surfactante, estas relaciones son porcentajes de la intensidad y del volumen en función del tamaño (diámetro hidrodinámico, imagen 1.5 (a)) de los arreglos moleculares formadas por cada surfactante, usando concentraciones un poco mayores a su correspondiente valor de CMC (ver tabla 1.1). En la primera relación se obtiene el diámetro hidrodinámico de todas las partículas presentes, por ejemplo para el caso del SDS (ver figura 1.12(a)) se tienen dos tamaños de partículas a 4.884 ± 1.072 y 97.87 ± 21.47 nm, y finalmente en la segunda relación se tiene el porcentaje de estas dos partículas, que en el caso del SDS, la partícula con el tamaño más pequeño es la que está presente en mucho mayor cantidad (ver figura 1.12 (b)), haciendo despreciable la cantidad del arreglo molecular más grande, por lo que se puede concluir que la M^{SDS} se forma (partícula con el menor tamaño) y además se une entre ellas mismas para dar aglomerados con un tamaño más grande (partícula con el mayor tamaño). Se encuentran reportados valores del diámetro de la micela de SDS de 3.5 a 3.68 nm⁵⁵ y 3.86 a 4.28 nm⁵⁶, los cuales son cercanos al valor que se calculó. Para el caso del CTAB se obtuvieron dos tamaños de partículas distintos a los del SDS, tabla 1.5, donde la partícula con el tamaño menor está presente en mayor cantidad como en el caso del SDS (ver figura 1.12 (c y d)) y para el caso del TX100 se obtuvieron dos tamaños de partículas más grandes que en el SDS y CTAB, con la partícula pequeña presente en mayor cantidad (ver figura 1.12 (e y f)). Es relevante mencionar que los tamaños de partícula tienen asociados desviaciones estándar grandes, lo cual proporciona un amplio intervalo de diámetro de micela.

Para los tres sistemas que se analizaron en la figura 1.12, la concentración de cada surfactante está un poco por arriba de su respectivo valor de CMC sin llegar al doble de este valor, estando seguros de que ya se tienen formadas las micelas con estructuras esféricas, a excepción del TX100 debido a que como el fabricante reporta un intervalo para la CMC entre 0.2 y 0.9 mM se decide fijar la concentración en 2.0 mM para estar seguro que se tengan formadas las M^{TX100} . Los tamaños de las $M^{\text{Surfactante}}$ dependen del tipo de surfactante, donde se esperaría que las M^{CTAB} y M^{TX100} fueran las de mayor tamaño, debido a que tienen una parte hidrofóbica (cola) de mayor longitud en comparación con la M^{SDS} y sin embargo, la M^{CTAB} es la más pequeña, esto puede deberse a que la parte hidrofóbica no está completamente recta

dentro de cada micela, sino más bien, está interaccionando con otros carbonos de la misma cola (esta doblada), originando que la M^{CTAB} se forme con un tamaño menor, como se muestra en la imagen 1.5 (b). Todos los compuestos usados en este trabajo a excepción de los interferentes mostrados en el Apéndice 2, fueron analizados por espectrofotometría IR y Raman, con la finalidad de descartar algún error en la identidad de los reactivos (Apéndice 3 y 4), demostrando así, que todos los compuestos usados son correctos.

Tabla 1.5 Diámetro hidrodinámico de arreglos moleculares en sistemas micelares, usando como disolvente agua.

Surfactante	CMC / mM	[Surf.] _{Fija} / mM	Diámetro / nm	
			1°	2°
SDS	7.7 ± 0.6	9.0	4.884 ± 1.072	97.87 ± 21.47
CTAB	0.94 ± 0.03	1.5	2.124 ± 0.441	473.5 ± 198.8
TX100	0.18 ± 0.03	2.0	11.50 ± 4.13	461.1 ± 237.4

En la tabla 1.6 se muestra una comparación de diámetros de las $M^{\text{Surfactante}}$, entre valores encontrados en la literatura con los obtenidos en la literatura, dando valores muy cercanos para las M^{SDS} y M^{TX100} , mientras que para el caso de la M^{CTAB} no se tienen valores reportados.

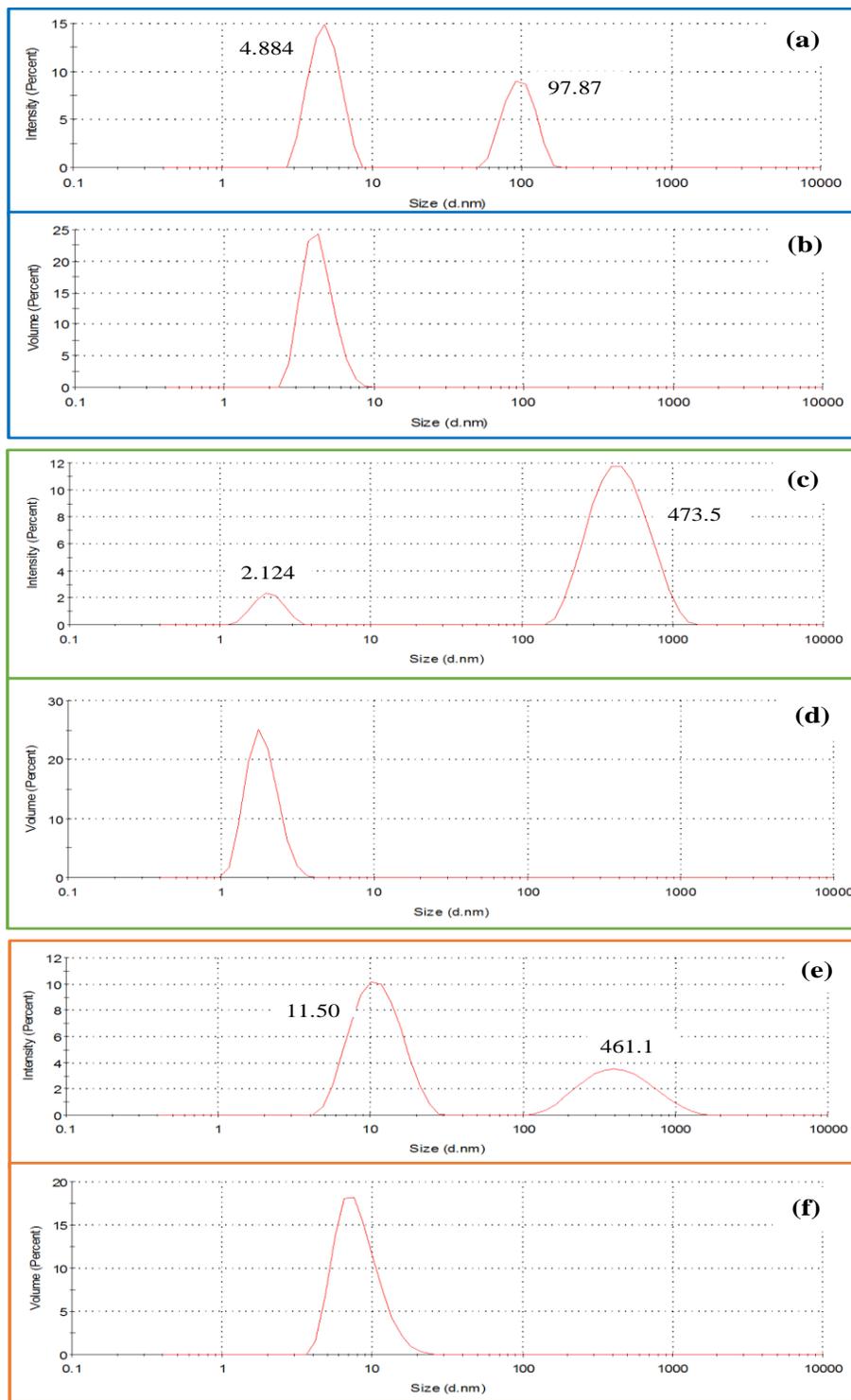


Figura 1.12 Relaciones de porcentajes de intensidad y volumen en función del tamaño (diámetro hidrodinámico) de la micela a concentraciones fijas de: 9.0 mM de SDS (a y b), 1.5 mM de CTAB (c y d) y 2.0 mM de TX100 (e y f), usando como disolvente agua.

Tabla 1.6 Comparación de diámetros hidrodinámicos de las $M^{\text{Surfactante}}$ reportados en la literatura con los determinados en este trabajo.

Diámetro hidrodinámico / nm			Ref.
M^{SDS}	M^{CTAB}	M^{TX100}	
3.5 – 3.68	-	-	55
3.86 – 4.28	-	-	56
-	-	7.84	209
-	-	8.6 y 8.8	210
4.884 ± 1.072	2.124 ± 0.441	11.50 ± 4.13	Este trabajo

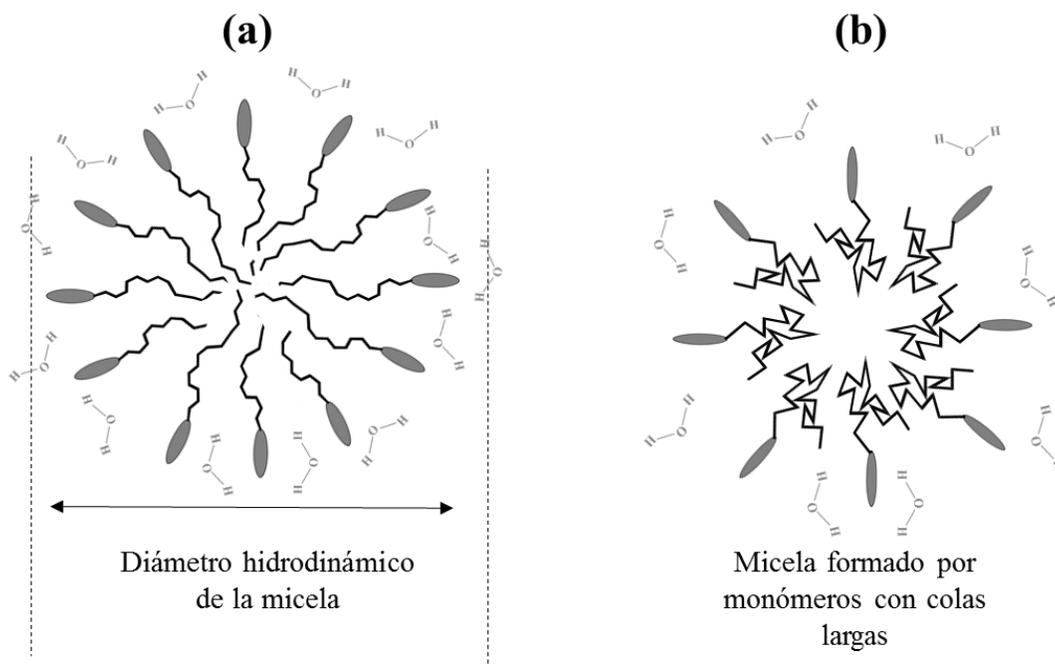


Imagen 1.5 Diámetro hidrodinámico de una micela (a) y micela formada por monómeros con colas largas (b).

1.6 Conclusiones C1

El método indirecto para la determinación del valor de CMC propuesto en este trabajo de investigación, es adecuado, ya que, los valores obtenidos concuerdan con los reportados en la literatura. Los valores de $\log K$ determinados en este trabajo poseen mayor veracidad en comparación con los encontrados en la literatura, además, de que el complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$ no ha sido extensamente estudiado. Los tamaños de las M^{SDS} y M^{TX100} concuerdan con los encontrados en la literatura, además, se determinó el tamaño de la M^{CTAB} que no se ha reportado aún.

Capítulo 2. Caracterización de los surfactantes en percloratos pH 4.6

*Para el principiante, lo mejor es aceptar la teoría del éter,
al menos como una hipótesis de trabajo. Incluso si los
desarrollos futuros demuestran las ideas relativistas
y que no existe el éter, es probable que el cambio
no implique grandes reajustes en lo que se refiere
a las explicaciones de los fenómenos ordinarios.*

-A. A. Knowlton. Physics for College Students (1928) *

* Jose Luis Cordoba Frunz. Recopilación de Frases Célebres. Ediciones Privadas de Cultura, Adolfo Prieto 1357, C. P. 03100, (2012).

2.1 Introducción

En este capítulo se caracterizarán a los tres surfactantes y sus interacciones con la Q de la misma manera que se analizó en el capítulo anterior, pero ahora, usando como disolvente iones percloratos a pH 4.6 en lugar de solo agua, esto con la finalidad de que la especie neutra de la Q predomine (ver figura 1.3) y no se favorezcan las interacciones debido a la diferencia en la carga eléctrica. Además, se usan a los percloratos, ya que, no forman complejos con otros compuestos ⁸² y las concentraciones de este electrolito es 0.1 M para los sistemas donde se emplean al SDS y TX100, y 0.0001 M para los sistemas donde se emplee al CTAB, debido a que la M^{CTAB} solo se forma en disolventes con fuerza iónica baja. El valor de pH se ajustó a valores de 4.6 o valores muy cercanos de este.

La formación de micelas depende de las características del sistema tales como: la concentración del surfactante, la presencia de otras moléculas con las que esté en contacto, el valor de pH, la longitud del grupo hidrófobo del tensoactivo, el disolvente, la temperatura, etc. ⁷⁰⁻⁷³, estos factores definirán toda la identidad de la $M^{Surfactante}$ como son: el número de monómeros que la conforman, la concentración de tensoactivos a la cual se llevará a cabo dicha formación, la forma estructural del arreglo, la posición de los monómeros, etc., siendo una esfera la primera estructura o la forma más probable de mínima energía (ver imagen 1.2 parte superior) que cambiará a estructuras más complejas al aumentar la concentración del surfactante ⁷²⁻⁷⁶ (ver imagen 1.2 parte central e inferior).

Una de las aplicaciones de estos surfactantes es a nivel farmacéutico, debido a varias ventajas que ofrecen, como son: mejoras en la solubilización, capacidad de incorporar un amplio rango de moléculas de principios activos con mejoramiento de la biodisponibilidad, ser de fácil preparación (dependiendo del surfactante y del sistema) y contar con una excelente estabilidad ⁷⁷, imagen 2.1.

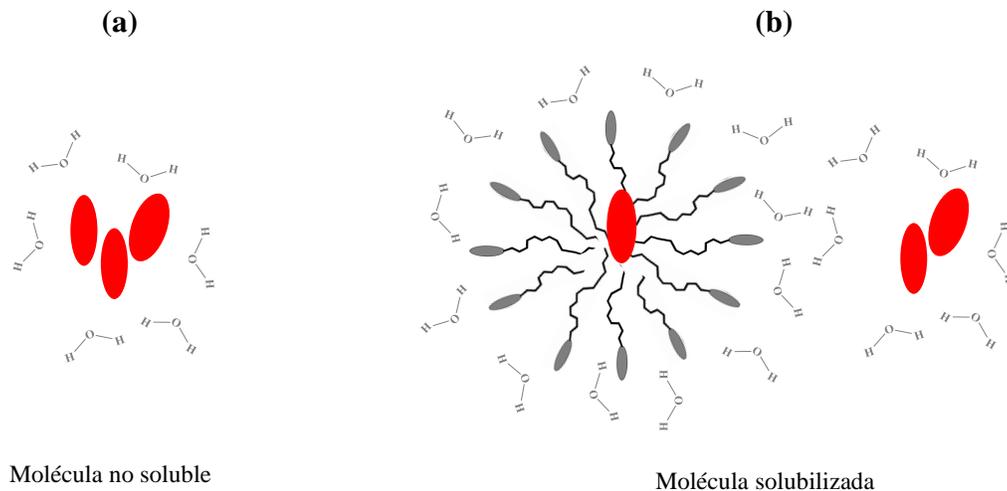


Imagen 2.1 Representación de: moléculas no solubles en color rojo (a) y de una molécula solubilizada debido a la formación de un CM.

Estos sistemas son comúnmente de interés para el científico farmacéutico, por su considerable potencial de actuar como vehículos de liberación de drogas que incorporan una amplia variedad de moléculas activas ^{77 78}. Por tanto, la solubilización micelar es una poderosa alternativa para disolver drogas hidrofóbicas en ambientes acuosos y tiene su aplicación principalmente en la farmacia ^{79 y 80}.

La utilización de micelas como transportador de drogas debido a la formación del CM presenta ventajas comparada contra otras alternativas como son los polímeros solubles y liposomas, ya que, los sistemas micelares pueden solubilizar drogas pobremente solubles y así incrementar su biodisponibilidad. Estos sistemas pueden permanecer en el cuerpo (en la sangre) por un tiempo lo suficiente necesario para permanecer acumulados en el área requerida debido a sus tamaños ⁷⁹.

2.2. Metodología

Se prepararon soluciones madres de los surfactantes: SDS, CTAB y TX100 disueltas en agua cada una. También, se preparó una solución concentrada de quercetina disuelta en metanol. De estas soluciones concentradas se tomaron alícuotas para agregarlas a los distintos sistemas y así obtener las concentraciones deseadas.

Se prepararon dos soluciones de concentraciones 0.1 y 0.0001 M de ClO_4^- (a partir del ácido), a las cuales se les agregó suficiente NaOH para ajustar el pH a

aproximadamente 4.6. Estas soluciones fueron usadas como disolvente. En los sistemas donde se empleó SDS y TX100 se mantuvo constante la temperatura a 25 °C y a 28 °C para los sistemas donde se usó CTAB.

Para la determinación de la CMC del SDS, cuatro sistemas fueron preparados con un volumen de 5 mL de ClO_4^- 0.1 M a pH de aproximadamente 4.7 cada uno. A cada uno de los sistemas, alícuotas de la solución madre del SDS fueron añadidas y su respectiva propiedad fue medida después de cada adición. Para la determinación de la CMC del CTAB y TX100, dos sistemas fueron preparados para cada surfactante con un volumen de 5 mL de ClO_4^- 0.0001 y 0.1 M a pH de aproximadamente 4.7 respectivamente. A cada uno de los sistemas, alícuotas de la solución madre del surfactante fueron añadidas y su respectiva propiedad fue medida después de cada adición.

Para la determinación de la constante de unión del complejo $\text{Q-M}^{\text{Surfactante}}$, seis sistemas fueron preparados con un volumen de 5 mL de ClO_4^- 0.1 M y concentración de Q de 6×10^{-5} M cada uno. A cada uno de los sistemas, alícuotas de la solución madre de uno de los surfactantes fueron añadidas y su espectro de emisión fue medido después de cada adición usando ($\lambda_{\text{exit.}}$ de 350 nm). Para los sistemas que se les añadió CTAB, la concentración del disolvente usado fue 0.0001 M.

Para medir el tamaño de la micela, se prepararon cuatro sistemas usando como disolvente ClO_4^- a 0.1 M y dos sistemas de ClO_4^- a 0.0001M, los seis sistemas con un pH de aproximadamente de 4.7. Los cuatro sistemas con concentración de ClO_4^- más alta, se les añadió surfactante para obtener: 0.6 y 2.5 mM de SDS, 0.1 y 1.0 mM TX100 y en los dos sistemas con concentración de ClO_4^- más baja, se les añadió surfactante para obtener: 0.34 y 1.5 mM de CTAB. Después, las muestras se depositaron en viales, las cuales fueron centrifugadas a 13,000 revoluciones por minuto por cinco minutos antes de la medición.

2.3 Optimización del medio

Después de que se han analizado a los surfactantes en agua en el capítulo 1 y se demostró la formación del complejo $\text{Q-M}^{\text{Surfactante}}$, se procede optimizar las condiciones de trabajo para el análisis de la formación de este complejo. Se encuentra reportado en la literatura un valor de pKa de 1.9 en medio acuoso para el SDS ⁸¹, figura 2.1, por lo cual, a dos unidades por arriba de 1.9 en la escala de pH, la especie aniónica predominará en el sistema con casi un 100 % de predominio. A valores de

pH menores de 4.6, se tendrá el 100 % de la especie de Q en su forma neutra, ya que, tiene su primer valor de pKa de 6.41 ⁸⁴ (ver figura 1.3), además, las moléculas de CTAB y TX100 a valores de alrededor de pH de 4 tendrán cargas negativas y neutras respectivamente, por lo tanto, se decide realizar los estudios a un valor de pH de 4.6 usando a los iones ClO₄⁻, debido a que este anión no forma complejos con otras especies químicas ⁸². Las concentraciones de este electrolito serán de 0.1 M para el SDS y TX100 y 0.0001 M para el CTAB. Cabe señalar que en este trabajo y considerando que el valor de pH será de 4.6 aproximadamente, se referirá el anión “dodecilsulfato” como “SDS” por simplicidad.

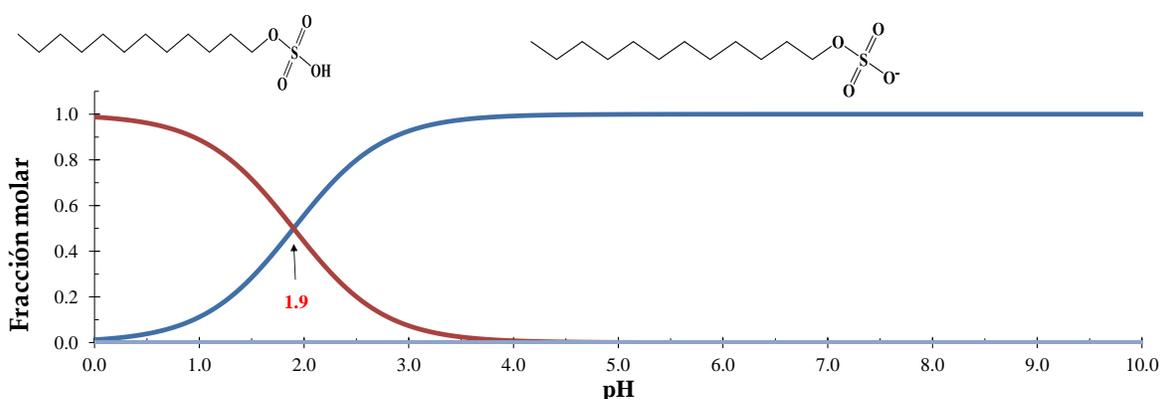


Figura 2.1 Diagrama de distribución de especies químicas del sistema SDS en medio acuoso.

2.4 Determinación de valores de CMC

2.4.1 SDS

2.4.1.1 Tensión superficial

La CMC comúnmente se calcula con tensión superficial, TS, ya que es una propiedad física característica de los surfactantes. En la figura 2.2 se tienen dos gráficos de TS en función de la concentración de SDS donde se mide el valor de CMC del SDS solo y del SDS con Q que es la concentración a partir de la cual se tiene una TS constante, dando un valor de 1.3 ± 0.1 mM de SDS, que es casi ocho veces menor del valor de CMC_{SDS} en agua, por lo que se favorece la formación micelar al agregar un electrolito al sistema y también se corrobora que la presencia de pequeñas cantidades de Q no afecta dicho valor como se había concluido anteriormente En la misma figura se

presenta un cambio a 0.4 mM de SDS debido a la asociación de monómeros del tensoactivo (hemimicela).

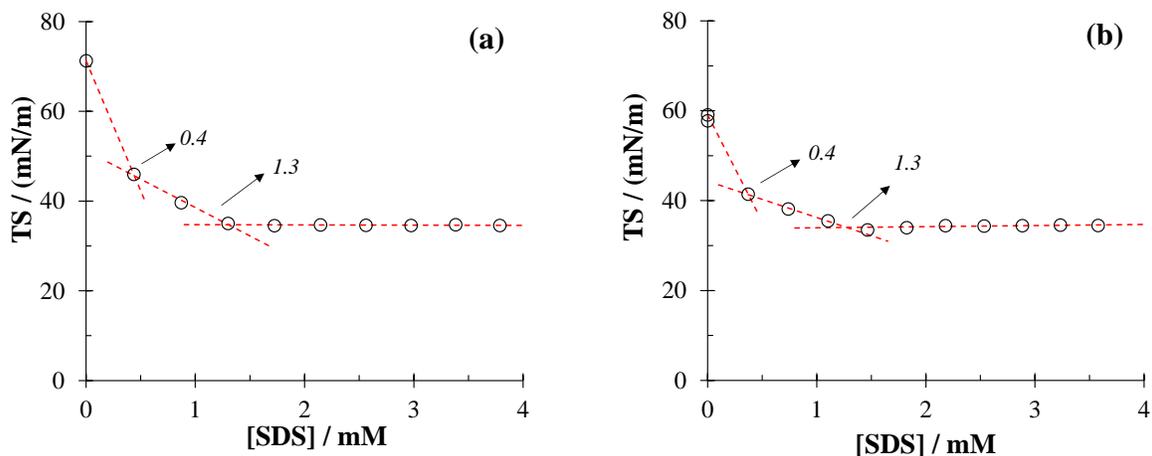


Figura 2.2 Relaciones de TS en función de la concentración del SDS sin Q (a) y con Q 6×10^{-5} M (b) en un sistema de ClO_4^- 0.1 M pH 4.7.

La TS superficial disminuye al agregar al surfactante, originado por la adsorción de las moléculas del surfactante en la interfase líquido-aire (superficie del líquido) como se muestra en la imagen 2.2(b) y (c). Estas moléculas del surfactante son forzadas a desplazarse a este sitio del sistema, debido a que, en el seno de la solución, las moléculas de agua ejercen un efecto de repulsión sobre la parte hidrofóbica del surfactante (cola) causado por su diferencia en polaridad y debido a que en la superficie del líquido se tiene un cambio de fase, el surfactante es adsorbido en la superficie con la parte hidrofílica dentro del líquido y la parte hidrofóbica fuera del mismo. Si la concentración del surfactante es aumentada, más moléculas de este surfactante serán adsorbidas en la superficie, hasta que se tenga un valor de TS constante, como el que se muestra en la figura 2.2 que es de 1.3 mM, después de este valor, los monómeros se asociarán entre ellos mismo en el seno de la solución por medio de interacciones hidrofóbicas (entre las colas) para formar una estructura esférica (sólo después del primer valor de CMC, ya que a concentraciones mayores la forma estructural cambia) a la cual se le llama micela, imagen 2.2(c), además, entre el inciso (b) y el inciso (c) de la misma figura, se forman pequeños agregados de los surfactantes en el seno de la solución, sin formar una estructuras bien definidas a las cuales se les llama *hemimicelas*.

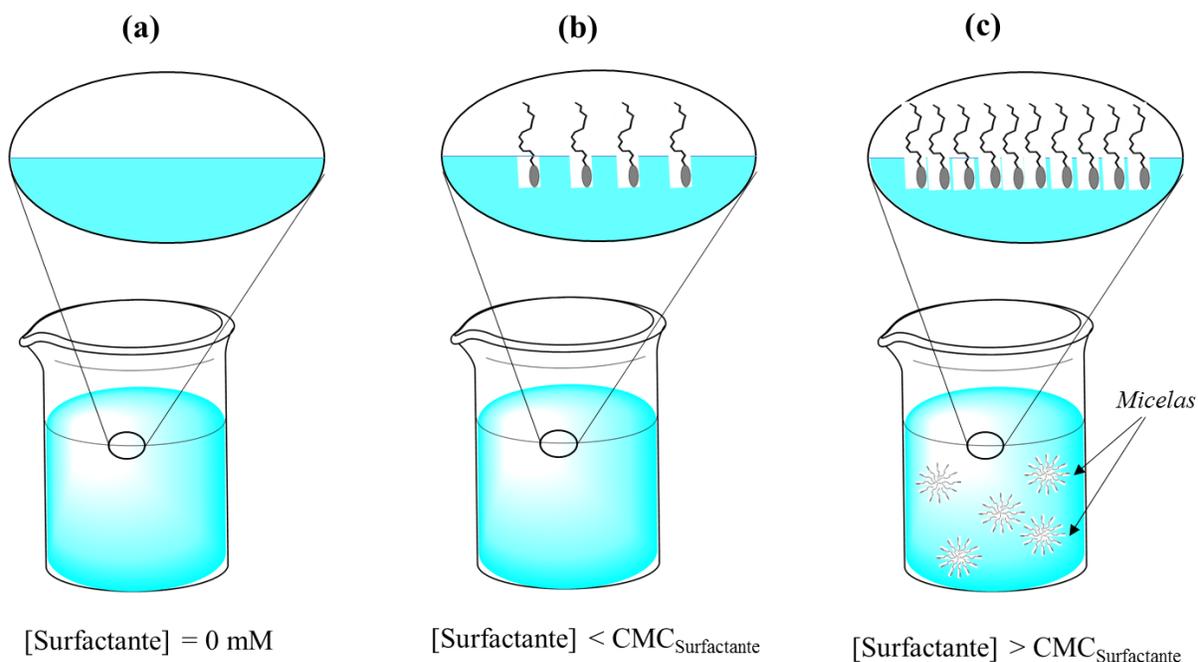


Imagen 2.2 Representación de la adsorción de las moléculas de un surfactante en la interfase líquido-aire a tres valores de concentración del surfactante: 0 mM (a), menor a su $\text{CMC}_{\text{Surfactante}}$ (b) y mayor a su $\text{CMC}_{\text{Surfactante}}$ (c).

2.4.1.2 Espectrofotometría UV-Vis

Como se demostró anteriormente, la espectrofotometría UV-Vis es adecuada para calcular el valor de CMC de un surfactante usando a la Q como molécula de referencia, como se propuso en el capítulo anterior.

El espectro de absorción de la Q cambia cuando se agrega SDS en un sistema de ClO_4^- 0.1 M pH 4.2, figura 2.3, disminuyendo su absorción a un cincuenta por ciento por la presencia del SDS además provoca un pequeño desplazamiento batocrómico, lo que indica que se está llevando la formación del CM formado por Q- M^{SDS} y además, la reducción de la A puede deberse a que la molécula de Q entra al interior de la M^{SDS} limitando la absorción de este polifenol. En las relaciones de A en función de la concentración de SDS, figura 2.3(b) y (c), se da un cambio obvio en 2.32 ± 0.06 y 2.39 ± 0.07 mM a 365 y 253 nm respectivamente señalado por la intersección de dos líneas punteadas en color rojo, pero a concentraciones más bajas se lleva un pequeño cambio señalado con un círculo en color rojo.

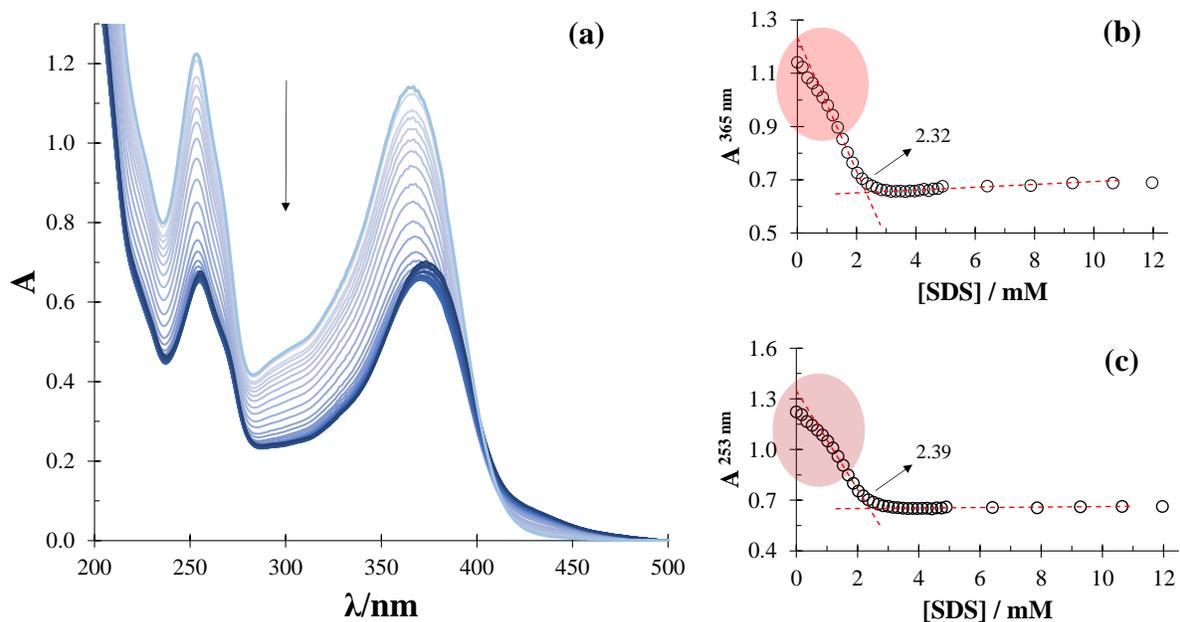


Figura 2.3 Familia de espectros de absorción de Q 6.3×10^{-5} M que cambian al añadir el SDS (a) y relaciones de A en función de la concentración del SDS a 365 (b) y 253 nm (c) en un sistema ClO_4^- 0.1 M a pH 4.2.

En las figuras 2.4 (a) y (b) se señalan los cambios que se dan a 1.1 ± 0.2 y 1.1 ± 0.1 mM marcados en color rojo en la figura 2.3 (b) y (c) a 253 y 365 nm respectivamente, lo que concuerda con los valores antes obtenidos con la técnica de TS y los cambios que se dan a 2.32 ± 0.06 y 2.39 ± 0.07 mM podrían ser considerados como cambios estructurales de la M^{SDS} que cambian de una forma esférica a otra forma estructural como las mostradas en la imagen 1.2.

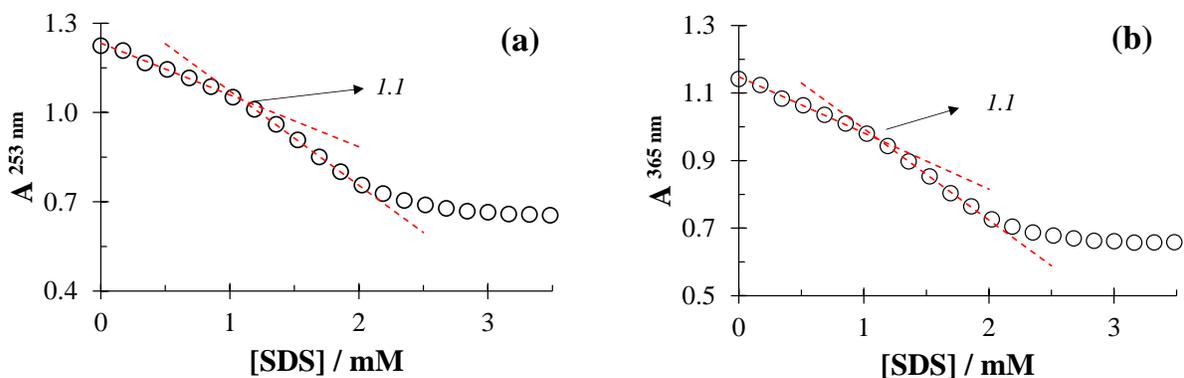


Figura 2.4 Relaciones de absorbancia en función de la concentración del SDS a 253 y 365 nm construida con los datos de la figura 2.5.

Después del valor de CMC mostrado en la figura 2.4, se tiene una mayor disminución de la A, reforzando la idea de que la Q entra dentro de la M^{SDS} y debido a esto, la Q absorbe menos, aunque los monómeros de SDS también evitan la absorción de la molécula de flavonoide.

2.4.1.3 Fluorescencia

De la fluorescencia se pueden obtener espectros de excitación y emisión, donde los primeros son análogos a los espectros de absorción en el intervalo electromagnético UV-Vis (pero no son equivalentes), debido a que el fenómeno que ocurre es la promoción electrónica entre niveles de energía, debido a esto, se usarán solo los datos correspondientes a la emisión, con el fin de obtener más información del CM además de la CMC.

Cuando se agrega SDS al sistema la IF crece con un aumento pronunciado a partir de 1.39 ± 0.07 mM, figura 2.5, debido a que las M^{SDS} se forman y estas interaccionan con la molécula de Q para formar el complejo $Q-M^{\text{SDS}}$ como se mostró en el capítulo anterior. El aumento de la IF es debido a que se restringe la movilidad de la Q (la Q se hace más rígida) debido a la formación de este complejo supramolecular, evitando que toda la energía que se disipaba por medio de movimientos vibracionales cuando la Q estaba libre, ahora se emitirá una mayor energía (como radiación electromagnética) que absorbió la Q y que no perdió en la etapa de la relajación (efecto de la rigidez estructural)⁸⁴, además el segundo cambio que se tiene a 3.1 mM

sugiere un cambio estructural de la M^{SDS} como se observó en la figura 2.3(b) y (c) y que no se puede detectar con TS.

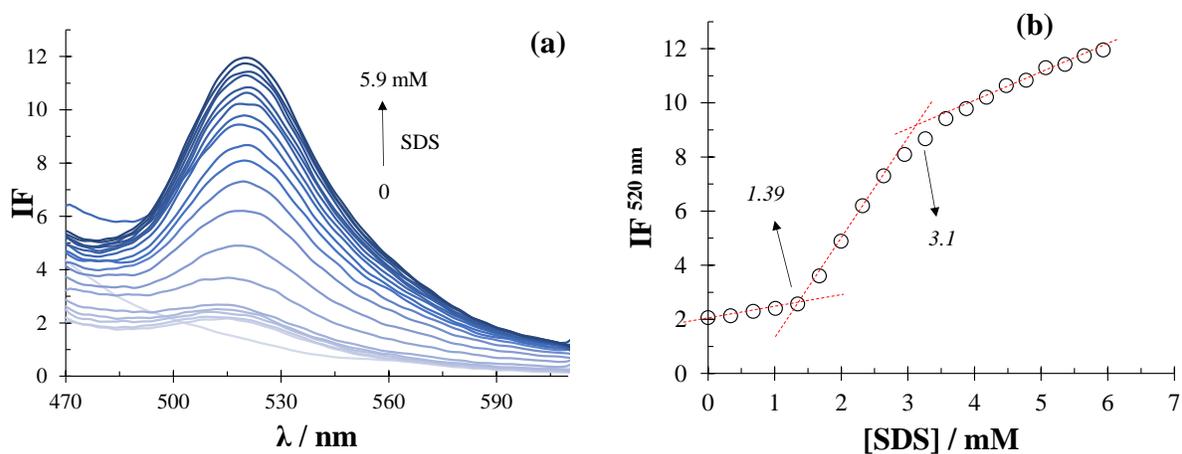


Figura 2.5 Espectros de emisión ($\lambda_{\text{exit.}} 350 \text{ nm}$) de $Q 6 \times 10^{-5} \text{ M}$ que cambian cuando se agrega SDS (a) y relación de IF en función de concentración de SDS medidos a 520 nm (b) en un sistema de ClO_4^- de 0.1 M a pH 4.7.

En la tabla 2.1 se comparan los valores de CMC_{SDS} determinados por distintas técnicas. Los resultados sugieren que la presencia de una molécula tipo flavonoide a bajas concentraciones no afecta la formación de las M^{SDS} , además, se puede calcular la CMC siguiendo los cambios que sufre una molécula en específico debido a la presencia del SDS que se analiza, también, se obtiene un segundo cambio a concentraciones más altas de la primera que puede sugerir cambios en la estructura de la M^{SDS} . Como se concluyó en el capítulo anterior, se obtienen mejores resultados y mucho más evidentes cuando se emplea la técnica de fluorescencia y ahora también la técnica que mide TS.

Tabla 2.1 Comparación de valores de CMC_{SDS} determinados por distintas técnicas en ClO₄⁻ 0.1 M.

Técnica o propiedad medida	pH	CMC / mM
Tensión superficial	4.7	1.3 ± 0.1
Espectrofotometría UV-Vis*	<i>Banda I</i>	1.1 ± 0.2
	<i>Banda II</i>	1.1 ± 0.1
Fluorescencia*	4.7	1.4 ± 0.1
Tensión superficial*	4.7	1.3 ± 0.1

*Se usó Q en una concentración aproximada de 60 μM.

Hasta el momento se han utilizado distintas técnicas para el cálculo de la CMC, de las cuales las técnicas espectroscópicas dan más información acerca de la estructura de la M^{Surfactante} y, además, con la fluorescencia se puede calcular el valor de la constante de unión del complejo Q-M^{Surfactante}. Después de lo anterior, se concluye en usar a la espectrofotometría UV-Vis y a la fluorescencia para el cálculo de la CMC del CTAB y TX100.

2.4.2 CTAB

2.4.2.1 Espectroscopía UV-Vis

Ahora se muestra el cálculo del valor de la CMC_{CTAB} en un medio con concentración más baja en comparación con la concentración del medio que se usó cuando se empleó al surfactante SDS, debido a que el CTAB es menos soluble. En la figura 2.6(a) se muestra una familia de espectros de absorción de la Q que cambian al agregar CTAB al sistema, los espectros inician con el color verde más claro (espectro de la Q sola) y conforme se agrega el CTAB al sistema, los espectros cambian a un color verde oscuro. Cuando se usa el CTAB el espectro de absorción de la Q cambia más en comparación cuando se usa el SDS y además ambas bandas se ven afectadas, adicional a esto, el espectro de la Q sufre desplazamientos batocrómicos e hipocrómicos al aumentar la concentración de este surfactante hasta llegar a un valor de A mínimo medido a 365 y 253 nm, después de esto se observa un desplazamiento hipercrómico al seguir aumentando la concentración del CTAB, estos cambios son característicos de la formación del complejo Q-M^{CTAB}. En el inciso (b) de la misma figura se muestran las relaciones de la A en función de la concentración del CTAB a 365 y 253 nm de las cuales se obtienen los valores de CMC, tabla 2.2, los dos cambios

que se muestran en cada banda se presentan a la misma concentración de la otra banda, lo que podría sugerir que se tienen dos valores de CMC, aunque después del segundo cambio se da un aumento de A y ya no se tienen desplazamientos batocrómicos, como si la micela ya estuviera formada e interaccionará con la Q , por lo que aumenta la A .

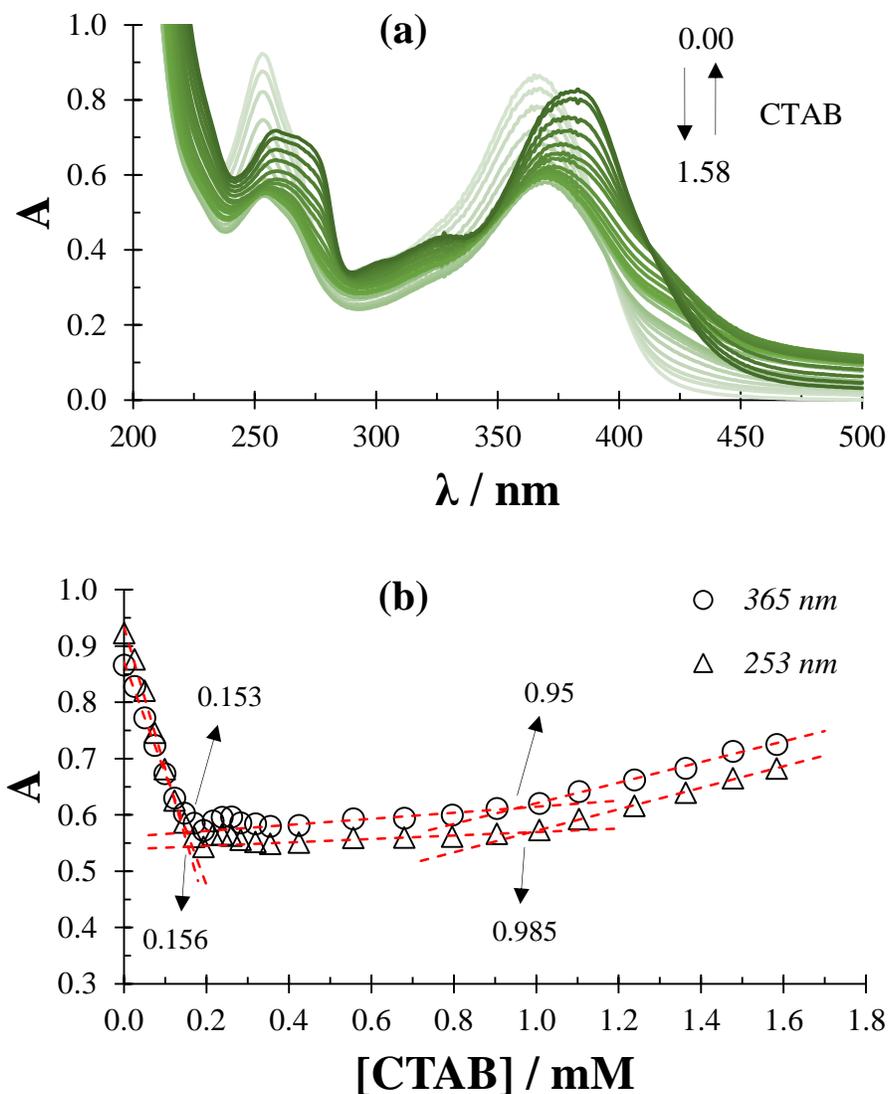


Figura 2.6 Familia de espectros de la Q 6.0×10^{-5} M que cambian al agregar CTAB al sistema en un intervalo de $[0.00, 1.58]$ mM (a) y relación de A en función de la concentración de CTAB a 365 y 253 nm (b), usando como disolvente ClO_4^- 0.0001 M pH 4.5 a 28 °C.

Como se observó en la figura anterior, conocer el valor correcto de la CMC con esta técnica puede convertirse en un trabajo algo difícil o confuso, ya que se deben considerar los desplazamientos batocrómicos.

2.4.2.2 Fluorescencia

Ahora se emplea la técnica de fluorescencia para el cálculo de CMC. En la figura 2.7 (a) se muestran los espectros de emisión de la Q que cambian cuando se agrega este surfactante, donde conforme se aumenta la concentración del CTAB, la IF aumenta (los espectros mostrados en color verde van cambiando de un color claro a un color oscuro), en el inciso (b) de la misma figura se tiene un aumento considerable en IF a partir de 0.80 ± 0.10 mM, esto es debido a que a este valor de concentración del surfactante se forma la M^{CTAB} y esta interacciona con la Q (haciéndola más rígida) de la misma forma como sucedió y se mostró al usar al SDS.

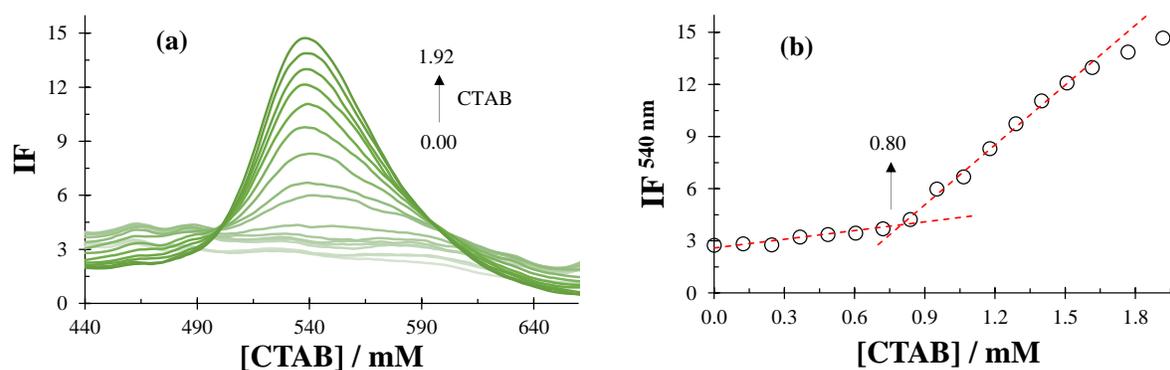


Figura 2.7 Familia de espectros de emisión de la Q 6×10^{-5} M que cambian al agregar CTAB al sistema en un intervalo de [0.00, 1.92] mM (a) y relación de IF a 540 nm en función de la concentración de CTAB (b), usando como disolvente ClO_4^- 0.0001 M pH 4.5 a 28 °C con una λ_{exit} de 350 nm.

Tabla 2.2 Comparación de valores de CMC_{CTAB} calculados por dos técnicas en ClO_4^- 0.0001 M.

Técnica o propiedad medida	pH	CMC / mM
Espectrofotometría UV-Vis*	Banda II	0.98 ± 0.05
	Banda I	0.95 ± 0.11
Fluorescencia*	4.5	0.80 ± 0.10

*Se usó Q en una concentración aproximada de 60 μM .

Como se había inferido anteriormente, el valor de la CMC está cercano a 0.9 mM que es el mismo valor de CMC cuando se usa como disolvente agua, esto puede ser debido a que la concentración de los aniones ClO_4^- es muy baja y debido a esto no hay variación en el valor.

2.4.3 TX100

2.4.3.1 Espectroscopía UV-Vis

Ahora se mide el valor de la CMC_{TX100} con la técnica de espectrofotometría UV-Vis de la misma manera como se hizo con el SDS y CTAB, en este caso el valor se muestra en la tabla 2.3, solo analizando la primera banda que aparece a 370 nm, el cual coincide con el intervalo que reporta el fabricante, figura 2.8. Solo se analiza la banda que aparece a 370 nm debido a que la banda que aparece a 270 nm es debida a la absorción del mismo surfactante como se mencionó en el capítulo 1.

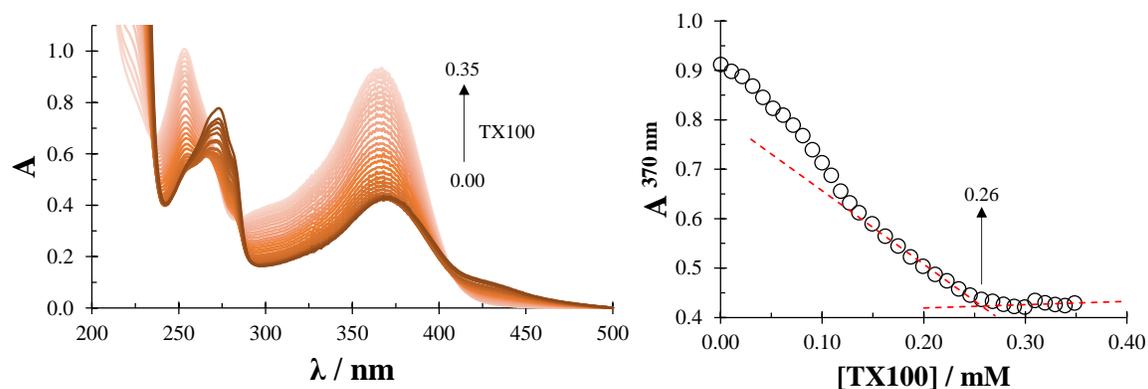


Figura 2.8 Familia de espectros de la Q 6×10^{-5} M que cambian al agregar TX100 al sistema en un intervalo de [0.00, 0.35] mM (a) y relación de A en función de la concentración de TX100 a 370 nm (b), usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4.7.

2.4.3.2 Fluorescencia

Cuando este valor es analizado por fluorescencia, el valor correspondiente es 0.59 ± 0.05 , figura 2.9. Para el cálculo del valor de CMC de este surfactante los valores no coinciden entre ellos mismo, esto puede ser debido a que su consistencia es viscosa y por ello el fabricante reporta un amplio rango de concentración de CMC el cual considera un intervalo que va de 0.2 a 0.9 mM, por lo que en este caso tampoco se modifica el valor de CMC en comparación que cuando se usa como disolvente agua al igual que ocurrió con el CTAB.

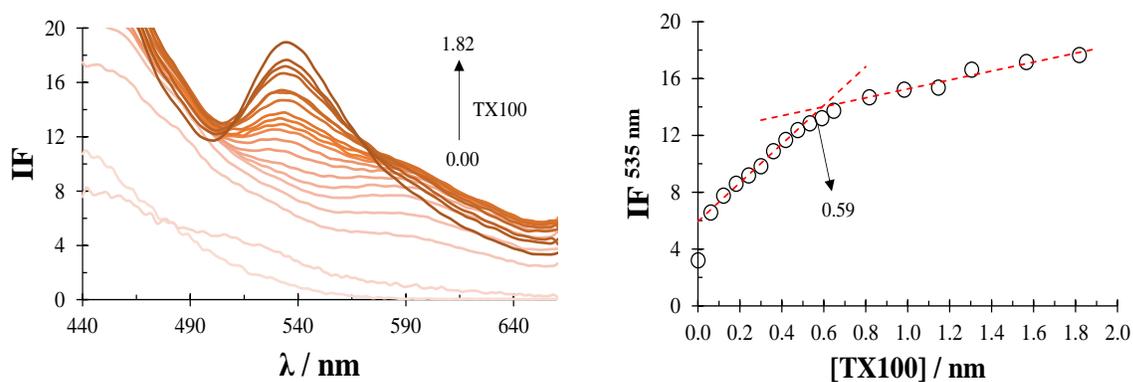


Figura 2.9 Familia de espectros de emisión de la Q 6×10^{-5} M que cambian al agregar TX100 al sistema en un intervalo de [0.00, 1.82] mM (a) y relación de intensidad a 535 nm en función de la concentración de TX100 (b), usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4.7 con una λ_{exit} de 350 nm.

Tabla 2.3 Comparación de valores de CMC_{TX100} calculados por dos técnicas en un medio de ClO_4^- 0.1 M.

Técnica o propiedad medida	pH	CMC / mM
Espectrofotometría UV-Vis*	<i>Banda II</i>	-
	<i>Banda I</i>	0.26 ± 0.03
Fluorescencia*	4.7	0.59 ± 0.05

*Se usó Q en una concentración aproximada de 60 μM .

Ahora, se muestran los valores de CMC de los tres surfactantes medidos con la técnica de fluorescencia a diferentes valores de concentración de iones ClO_4^- , tabla 2.4. El valor de CMC correspondiente al SDS determinado en percloratos disminuye su valor a casi ocho veces en comparación con el determinado en agua, mientras que para valores de CMC del CTAB y TX100 se obtuvieron valores similares a los determinados en agua o al reportado por el fabricante. El uso de fluorescencia para el cálculo del valor de CMC es más adecuado comparado con la técnica de espectrofotometría UV-Vis, ya que, se da un aumento considerable en la IF cuando se forma el complejo $Q-M^{Surfactante}$.

Tabla 2.4 Valores de CMC calculados por fluorescencia del SDS, CTAB y TX100 en ClO_4^- .

Surfactante	$[ClO_4^-] / M$	pH	CMC / mM
SDS	0.1	4.7	1.39 ± 0.07
CTAB	0.0001	4.5	0.80 ± 0.10
TX100	0.1	4.7	0.59 ± 0.05

2.5 Determinación de la constante de unión del complejo quercetina-micela

2.5.1 Metodología propuesta en este trabajo de investigación

En este trabajo se propone un equilibrio distinto al de estequiometría 1:1 como el que se mostró en el capítulo 1 en la sección 1.4 y es el de estequiometría 1: n , donde n es la fracción de CD que estará acomplejada con un solo sustrato aplicado a CI.



De esta manera se obtendrá un valor de n que corresponderá a la relación de número de moléculas de CD entre moléculas de sustrato como se da en la siguiente relación.

$$n = \frac{\text{Número de moléculas de CD}}{\text{Número de moléculas de sustrato}} \quad (2.1)$$

Por lo tanto, se tendrá una nueva ecuación de acción de masas, ecuación 2.2, eliminando el término de γ , para tener una relación análoga a la ecuación 1.1, ecuación 2.3 (el desarrollo algebraico se muestra en el Apéndice 5).

$$K = \frac{[S:CD_n]_{eq}}{[S]_{eq}[CD]_{eq}^n} \quad (2.2)$$

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} + \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} / K[CD]^n \quad (2.3)$$

Ahora podemos graficar de la misma manera $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ vs $\frac{1}{[CD]^n}$ a diferentes valores de n , donde la n con mejor valor de R^2 será redondeado al entero más próximo menor o mayor a este valor obtenido, figura 2.10 (caso hipotético), y se empleará para calcular el valor de la K y además, esa n será nuestro valor de estequiometría sugerido, ya que la relación propuesta por Marques⁵² y María de la Guardia⁵³ se aproxima a una relación lineal y la formación de complejos no siempre tiene relaciones 1:1.

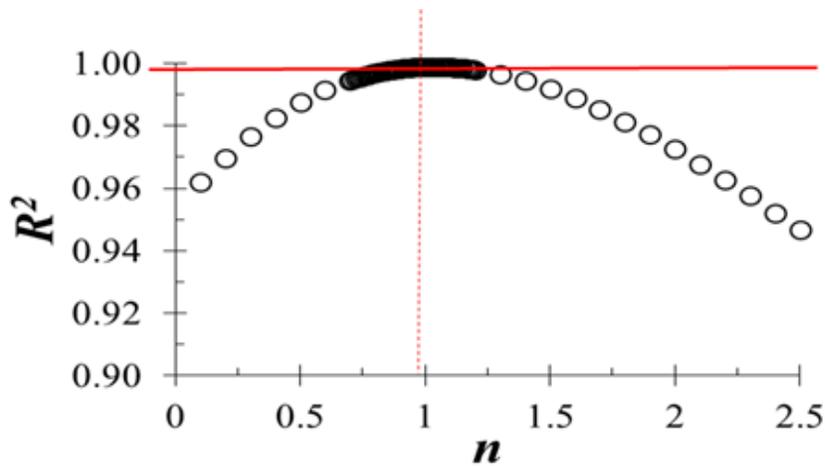


Figura 2.10 Relación de R^2 en función de n (los valores de n fueron sustituidos en la ecuación 2.3, obteniendo un valor de R^2 para cada uno).

Como en el caso de la figura 2.10, el valor de n con el mayor coeficiente de correlación es uno, que corresponde a una relación estequiométrica de $n = 1 = 1/1$ el cual es un entero y ya no hay necesidad de redondearlo y así el complejo estará formado por un sustrato y una CD, además, es importante resaltar que el valor elegido de n es el que se emplea en la ecuación 2.3, pero dicho valor no es el único, debido que hay un pequeño conjunto de valores máximos en R^2 que pueden ser considerados aceptables y tienen un valor próximo entre ellos (círculos que coinciden con la línea sólida roja de la figura 2.10).

La ecuación 2.3 también es empleada para CM, con la diferencia de que en la ecuación 2.3, se sustituye la concentración de la CD y se coloca la diferencia de la concentración del surfactante menos su valor de CMC, para convertirse en la ecuación 2.4, análogo a la ecuación 1.3.

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} + \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} / K * ([Surf.] - CMC)^n \quad (2.4)$$

Además, el valor de n del CM formado corresponde al número de $M^{\text{Surfactante}}$ que se unirán a la Q.

2.5.2 Quercetina-micela (SDS)

2.5.2.1 A cuatro valores de pH

Como se mencionó anteriormente, el SDS tiene un protón ácido con un valor de pKa de 1.9⁸¹, desconociendo si el porcentaje de protonación del SDS afecte la formación del complejo Q-M^{SDS}, por lo tanto, se calcula la constante de unión a cuatro valores diferentes de pH.

2.5.2.1.1 pH 1.3

En la figura 2.11 se presentan los resultados a pH 1.3, donde se tiene un porcentaje de moléculas del SDS protonadas de 80 % y un 20 % de aniones dodecil sulfato (ver figura 2.1), en el cual se muestra un pequeño aumento en la IF debida a la presencia de SDS menor que el mostrado en la figura 2.17 por lo que se podría pensar que el complejo no se está formando o solo una pequeña cantidad de M^{SDS} forman al complejo (las moléculas que están en su forma aniónica), y cuando se gráfica R² en función de n se tiene un valor de cero con mayor valor de R², por lo que se considera que efectivamente no existe la formación del complejo a este valor de pH y como consecuencia tampoco se puede calcular un valor de K del complejo, ya que calcular este valor como lo hace M. de la Guardia implicaría un error, no tanto en los cálculos porque sí se puede obtener un valor, si no en lo conceptual.

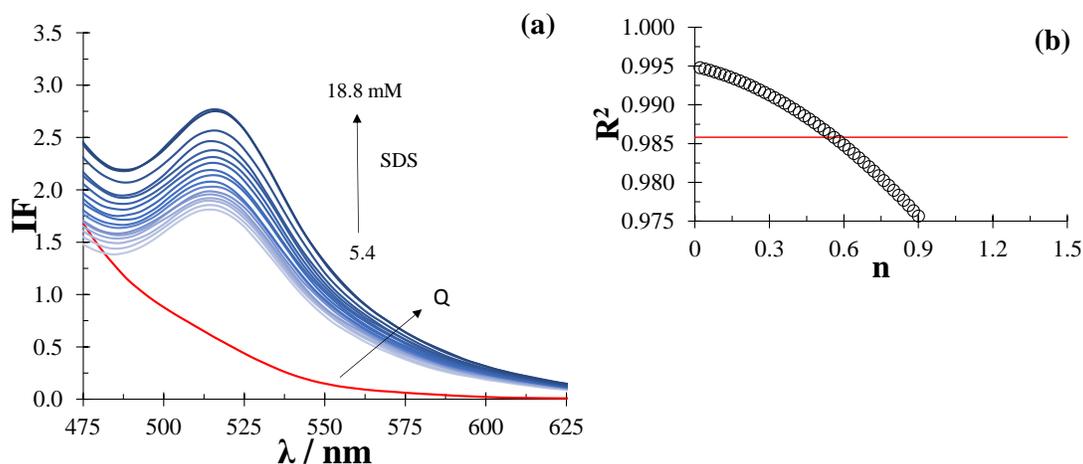


Figura 2.11 Familia de espectros de fluorescencia de emisión de la Q 6×10^{-5} M que cambian al agregar SDS (a), relación de R² en función del parámetro n a 517 nm (b) en un sistema de ClO₄⁻ 0.1 M pH de 1.3 (λ_{exit} 350 nm).

2.5.2.1.2 pH 3.1

Cuando el valor de pH cambia a 3.1 se tiene un 94 % de las moléculas de SDS desprotonadas que es diferente al caso anterior, ya que ahora se tiene una mayor cantidad de moléculas con carga negativa, figura 2.12. Se tiene un aumento de la IF a este valor de pH, mayor al caso anterior y comparable al mostrado en la figura 2.5, por lo que se da la formación del CM.

Enseguida se muestra la ecuación 2.5 correspondiente a la regresión lineal presentada en la figura 2.18(c) con un $R^2 = 0.986$.

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = (0.065 \pm 0.001) + \left(\frac{(2.118 \pm 0.077) \times 10^{-4}}{K}\right) * \frac{1}{([SDS] - CMC)^1} \quad (2.5)$$

Dando un valor de $\text{Log } K$ de 2.49 ± 0.02 a este valor de pH, calculado con un valor de n de uno, por lo cual bajo estas condiciones de trabajo es factible la formación del complejo.

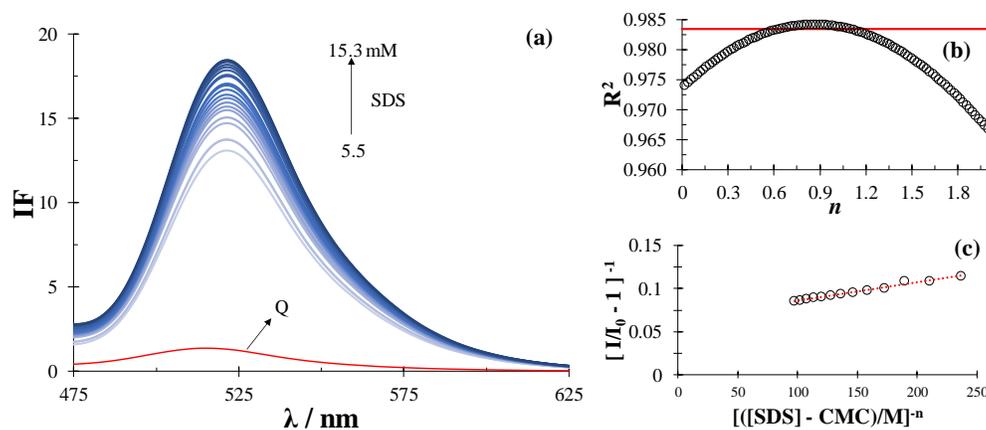


Figura 2.12 Familia de espectros de emisión de la Q 6×10^{-5} M que cambian al agregar SDS (a), relación del R^2 en función del parámetro n (b) y relación de $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\frac{1}{([SDS] - CMC)^n}$ con una $n = 1.0$ medidos a 520 nm (c) en un sistema de ClO_4^- 0.1 M pH de 3.1 ($\lambda_{\text{exit}} 350$ nm).

2.5.2.1.3 pH 4.7

Ahora se muestra los resultados de la K del mismo complejo bajo las condiciones del sistema que nos interesan en este trabajo, esto se calculó con concentraciones mayores al valor de CMC, que se calcularon antes y los datos fueron tomados de la figura 2.5. En la figura 2.13(a) se muestra el cálculo del parámetro n , donde el valor redondearlo nos da uno. En la ecuación 2.6 se muestra la correspondiente regresión lineal presentada en la figura 2.13(b) con un $R^2 = 0.996$.

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = (0.123 \pm 0.004) + \left(\frac{(35.7 \pm 0.6) \times 10^{-5}}{K}\right) * \frac{1}{([SDS] - CMC)^1} \quad (2.6)$$

El valor de $\text{Log } K$ es 2.54 ± 0.02 , el cual es mayor al que se calculó anteriormente a pH 3.1 y estadísticamente igual que el de 5.8, este valor puede ser un poco mayor debido a que las M^{SDS} a este valor de pH están completamente cargadas negativamente y las moléculas de Q están en su forma neutra, por lo que no hay ninguna repulsión por diferencia de carga eléctrica como en el caso antes mostrado a pH de 5.8, ya que, a este valor de pH un porcentaje de todas las moléculas de Q poseen carga eléctrica negativa y debido a esto, no se favorece totalmente la unión de la Q. En el capítulo 1 se mostró también el cálculo de este valor en agua donde se obtuvo un valor más grande que los mostrados anteriormente, por lo que, la diferencia en las cargas eléctricas no afecta la unión de la Q y la M^{SDS} .

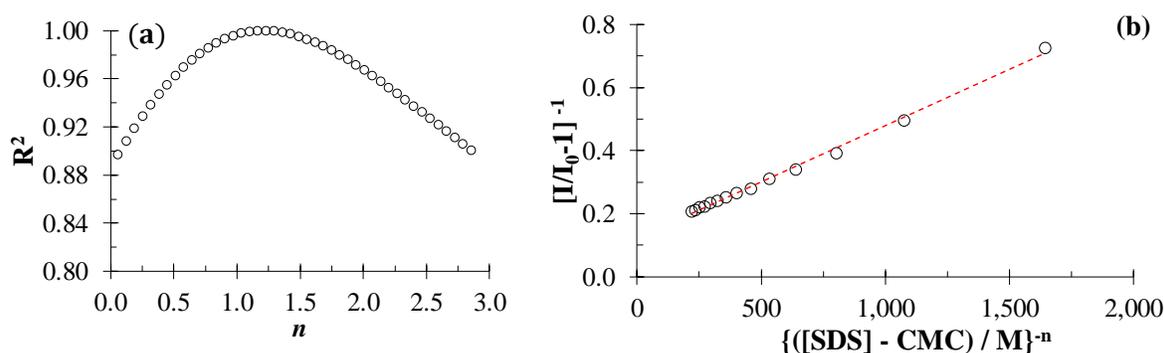


Figura 2.13 Relación del R^2 en función del parámetro n (a) y relación de $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\frac{1}{([SDS] - CMC)^n}$ con una $n = 1.0$ medidos a 520 nm (b) en un sistema de ClO_4^- 0.1 M pH de 4.7 ($\lambda_{\text{exit}} 350 \text{ nm}$), construida con los datos de la figura 2.5.

2.5.2.1.4 pH 5.8

Finalmente, cuando se cambia el valor de pH a 5.8 se tiene el 100 % de las moléculas del surfactante desprotonadas, o sea, que cuando se forme la micela, el exterior de cada una de ellas tendrá carga negativa en su totalidad y además, la Q tiene su primer valor de pKa en 6.41, por lo que se tiene también un porcentaje de 20 % de las moléculas de Q que no tienen un protón (ver figura 1.3) en su estructura figura 2.14.

Enseguida se muestra la ecuación 2.7 correspondiente a la regresión lineal presentada en la figura 2.14(c) con un $R^2 = 0.999$.

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = (0.0652 \pm 0.0003) + \left(\frac{(1.969 \pm 0.017) \times 10^{-4}}{K}\right) * \frac{1}{([SDS] - CMC)^1} \quad (2.7)$$

Dando un valor de $\text{Log } K$ de 2.52 ± 0.01 a este valor de pH, calculado con un valor de n de uno, por lo cual bajo estas condiciones de trabajo es factible la formación del complejo debido a que los monómeros poseen carga eléctrica. También se debe de considerar que cuando se forman las M^{SDS} tendrán cargas negativas en su exterior las cuales ejercer un efecto de repulsión con las moléculas de Q que tienen también cargas negativas.

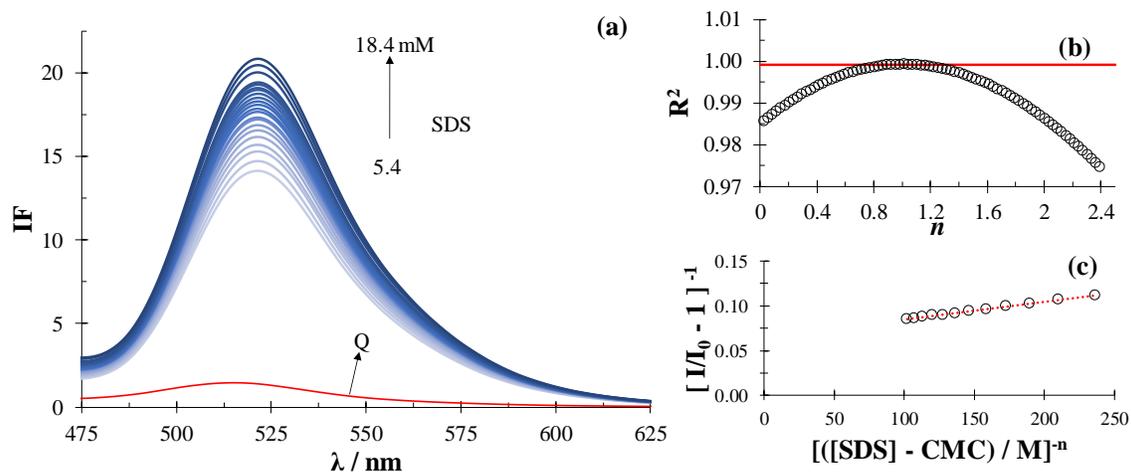


Figura 2.14 Familia de espectros de emisión de la Q 6×10^{-5} M que cambian al agregar SDS (a), relación del R^2 en función del parámetro n (b) y relación de $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\frac{1}{([SDS] - CMC)^n}$ con una $n = 1.0$ medidos a 520 nm (c) en un sistema de ClO_4^- 0.1 M pH de 5.8 (λ_{exit} 350 nm).

Tabla 2.5 Comparación de valores de log K del complejo Q-M^{SDS} a cuatro valores de pH, usando como disolvente ClO₄⁻ 0.1 M

pH	Porcentaje del surfactante (%)		Q-M ^{SDS}		
	*SDH	**SD ⁻	$n = \frac{\#M}{\#Q}$	Log (K /M ⁻¹)	R ²
1.3	80	20	0.0	-	0.995
3.1	6	94	1.0	2.49 ± 0.02	0.986
4.7	0	100	1.0	2.54 ± 0.02	0.996
***5.8	0	100	1.0	2.52 ± 0.01	0.999

*El SDH es el dodecilsulfato ácido.

**El SD⁻ es el anión dodecilsulfato.

***A este valor de pH se tiene un 20 % de moléculas de Q sin un protón y el 80 % en su forma neutra.

En la tabla 2.5 se muestra una comparación de valores de $\log K$ determinados a diferentes valores de pH, dando resultados favorables cuando la especie aniónica del SDS predomina, ya que cuando la molécula del SDS protonada (SDH) preomina como el sistema mostrado a pH 1.3, el complejo Q-M^{SDS} no es formado. La formación de los complejos Q-M^{CTAB} y Q-M^{TX100} no fueron analizados a pH distinto, debido a que el CTAB y TX100 no poseen constantes de acidez.

2.5.3 Quercetina-micela (CTAB)

Para el cálculo de la K se usará el valor de CMC_{CTAB} mostrado en la tabla 2.4. Para el sistema donde se tiene CTAB se obtuvo un valor de n de 1.30, el cual se redondea a su entero más próximo para dar un valor de uno. Enseguida se muestra la ecuación 2.8 correspondiente a la regresión lineal presentada en la figura 2.15 con un con R² = 0.997.

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = (0.118 \pm 0.002) + \left(\frac{(13.5 \pm 0.2) \times 10^{-5}}{K}\right) * \frac{1}{([CTAB] - CMC)^1} \quad (2.8)$$

Dando un valor de Log K de 2.94 ± 0.02 , el cual es mayor al sistema donde se empleó SDS, además, el complejo Q-M^{CTAB} tendrá una estequiometría 1:1 similar al complejo formado por el SDS.

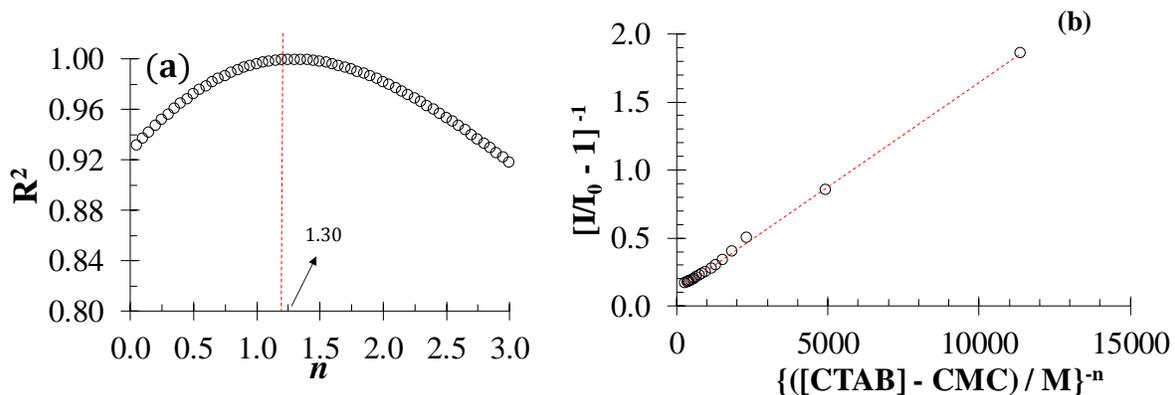


Figura 2.15 Relación del R^2 en función del parámetro n (a) y relación de $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\frac{1}{([CTAB] - CMC)^n}$ con una $n = 1.0$ medidos a 540 nm (b) usando como disolvente ClO_4^- 0.0001 M pH 4.5 a 28 °C con una λ_{exit} de 350 nm, construida con los datos de la figura 2.13.

2.5.4 Quercetina-micela (TX100)

Para el cálculo de la K se usará el valor de CMC_{TX100} mostrado en la tabla 2.4. Finalmente, para el TX100 se usaron los resultados de la figura 2.9, donde se obtuvo un valor de n de 0.23 el cual al redondearlo al entero más cercano da un valor de cero, figura 2.16, para este caso no se puede calcular el valor de K , como sucedió en el caso del sistema que contenía SDS a pH 1.3, infiriendo que el complejo $Q-M^{TX100}$ no se forma bajo estas condiciones de trabajo diferente a lo que ocurrió cuando se empleó agua como disolvente. Por lo que el aumento que se observa en la figura 2.9 puede ser debido a la interacción de la Q con monómeros de TX100.

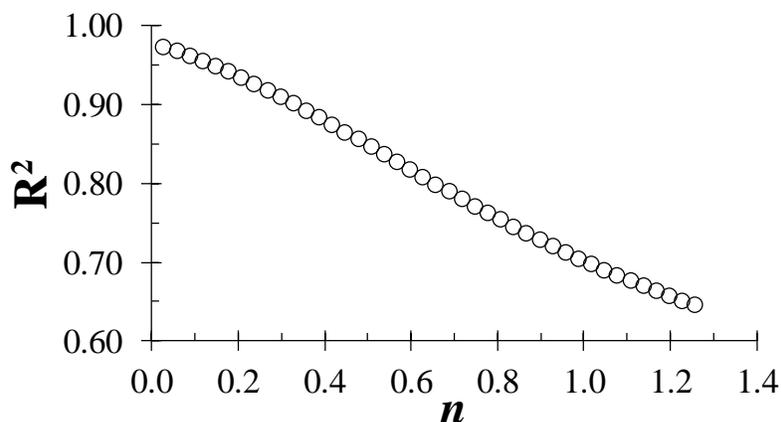


Figura 2.16 Relación del R^2 en función del parámetro n en un sistema de ClO_4^- 0.1 M pH de 4.7 (λ_{exit} 350 nm) construida con los datos de la Figura 2.15.

Los valores de $\log K$ de los complejos micelares formados en percloratos se muestran en la tabla 2.6.

Tabla 2.6 Valores de $\log K$ del complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$.

Surfactante	$[\text{ClO}_4^-] / \text{M}$	pH	R^2	Log (K / M^{-1})
M^{SDS}	0.1	4.7	0.996	2.54 ± 0.02
M^{CTAB}	0.0001	4.5	0.997	2.94 ± 0.02
M^{TX100}	0.1	4.7	-	-

La comparación de los valores de $\log K$ medidos en agua con los determinados en percloratos da: un menor valor para el caso donde el SDS fue usado, un mayor valor para el CTAB y la no formación del complejo cuando el TX100 fue empleado, tabla 2.7, por lo que se puede inferir que la carga de la Q influye sobre la formación de cada complejo micelar.

2.6 Tamaño de la micela

Se midió el tamaño de las micelas formadas en un medio de ClO_4^- a pH 4.6 con la técnica DLS, ya que los valores de CMC calculados en agua son diferentes a los calculados en este medio, por lo que esta parte del análisis nos ayudará a reforzar y comprobar que efectivamente tenemos a las micelas de estos surfactantes formadas.

Tabla 2.7 Comparación de valores de log K para la formación del complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$ en agua y en percloratos.

Log K / M ⁻¹			Disolvente
M ^{SDS}	M ^{CTAB}	M ^{TX100}	
2.78 ± 0.04	2.87 ± 0.02	2.80 ± 0.04	Agua
2.54 ± 0.02	2.94 ± 0.02	-	ClO ₄ ⁻ a pH ~ 4-7 *

*Las concentraciones de los percloratos para usada para el SDS y TX100 fue de 0.1 M y para el CTAB fue de 0.0001 M

2.6.1 Micela (SDS)

Se midió el tamaño (diámetro hidrodinámico) de las partículas presentes en dos sistemas que contienen concentraciones diferentes de SDS, figura 2.17, en el primer sistema se tiene una concentración de 0.6 mM que es menor a su valor de CMC (CMC_{SDS} de 1.3 ± 0.1 mM) y en el segundo sistema se tiene una concentración de 2.5 mM de SDS donde ya se han formado las M^{SDS}. En el inciso (a) de la misma figura, no se obtiene ningún tamaño de partícula, por lo que estos surfactantes no se asocian entre ellos mismos, pero en el inciso (c), donde se tiene una concentración mayor al valor de CMC, se tienen tres valores de diámetros de las partícula presentes de: 4,958 ± 639, 153.7 ± 127.0 y 4.984 ± 1.097 nm, donde el valor más pequeño coincide con el medido en agua (ver figura 1.12(a)), por lo que, este valor corresponde al de la M^{SDS} y además, en el inciso (d) se muestra el porcentaje en volumen de los tres tamaños de partícula, que es una comparación en cantidad entre los tres tamaños de partícula presentes, como en el caso donde ya se tienen las micelas de SDS, la partícula con diámetro hidrodinámico de 4.984 nm es la que está presente en mayor cantidad comparada con las otras dos.

De este estudio se puede inferir que, en el segundo sistema (figura 2.17 (c) y (d)) se tienen formadas las M^{SDS} y, además, estos arreglos moleculares se aglomeran entre ellos mismas para dar tamaños de partícula más grande. El tamaño de la M^{SDS} no cambia con el cambio de disolvente.

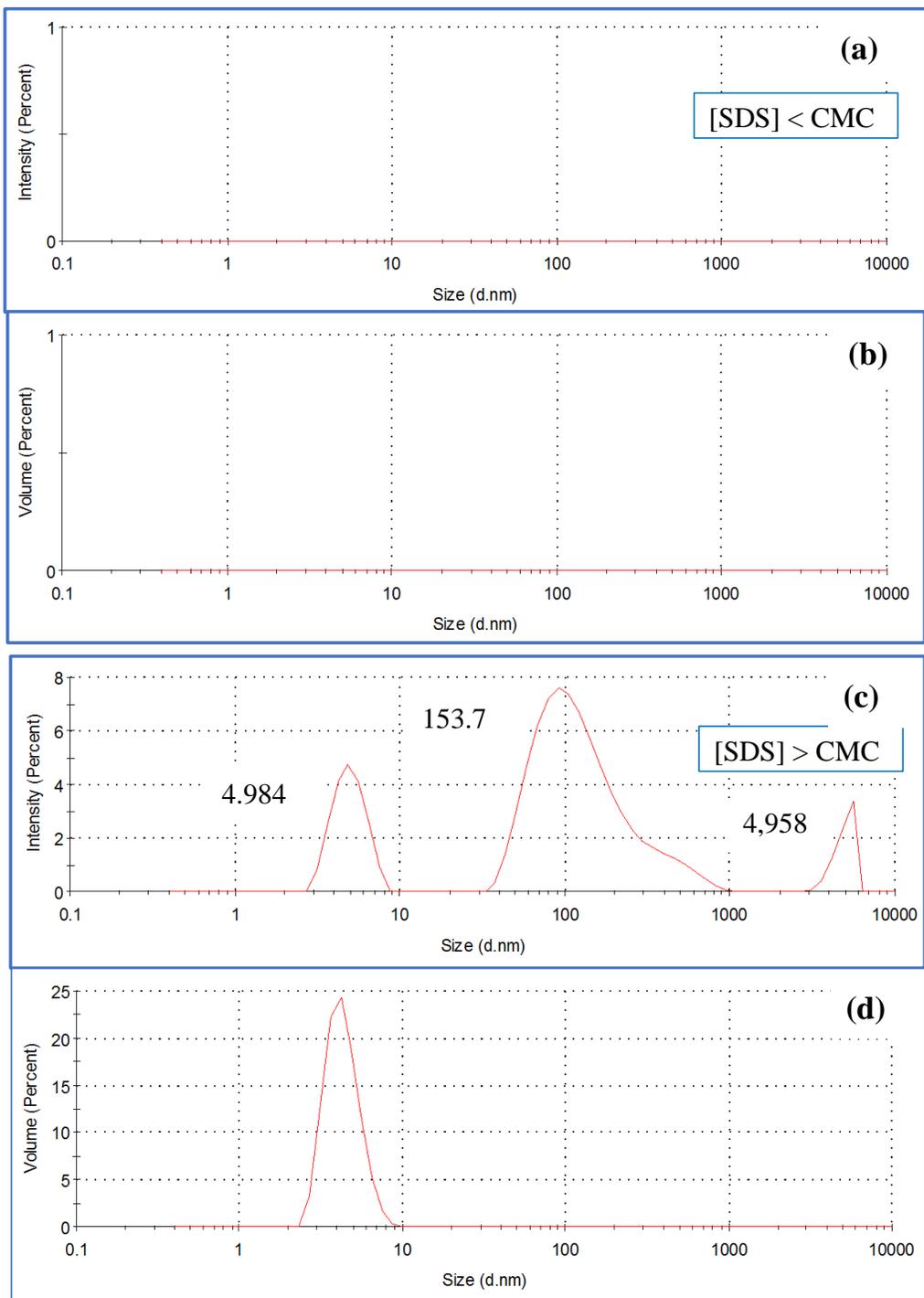


Figura 2.17 Relaciones de porcentajes de intensidad y volumen en función del tamaño (diámetro) obtenidos por DLS en sistemas que contienen: 0.6 mM de SDS (a y b) y 2.5 mM de SDS (c y d), usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4.4.

2.6.2 Micela (CTAB)

Ahora, se analizan dos sistemas que contienen concentraciones diferentes de CTAB, por abajo y por encima de su respectivo valor de CMC. En la figura 2.18 (a) y (b) se muestran los resultados correspondientes al sistema donde se tiene una

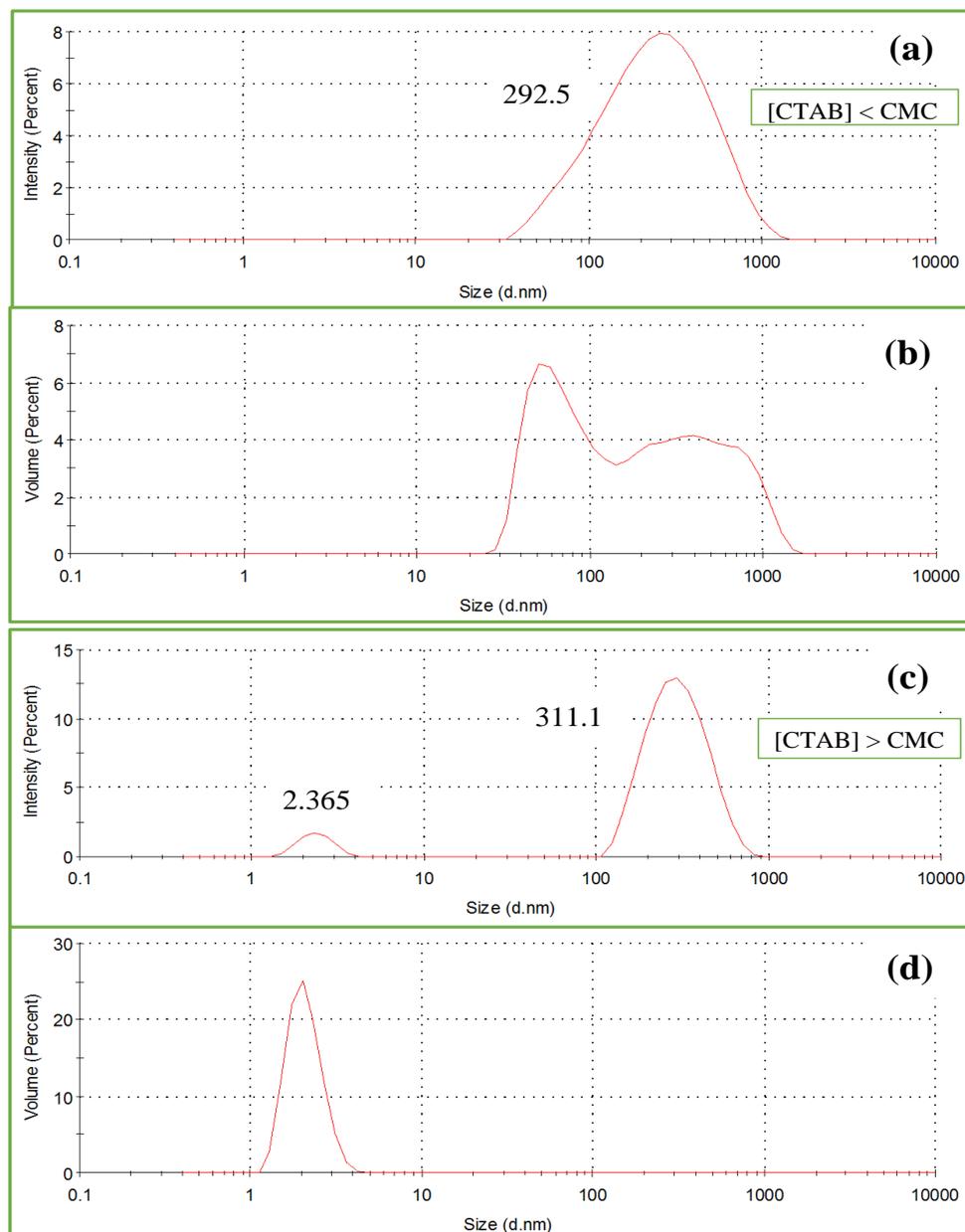


Figura 2.18 Relaciones de porcentajes de intensidad y volumen en función del diámetro obtenidos por DLS de 0.34 mM de CTAB (a y b) y 1.5 mM de CTAB (c y d), usando como disolvente ClO_4^- 0.0001 M pH 4.7.

concentración de CTAB menor a su CMC ($CMC_{CTAB} 0.80 \pm 0.10$ mM), donde se tiene un tamaño de partícula de 292.5 ± 200.8 nm, la cual es la única presente en el sistema (ver inciso (b)).

Cuando se tiene una concentración mayor a su CMC, se tienen dos tamaños de partícula de: 2.365 ± 0.492 y 311.1 ± 121.5 nm, donde la partícula con tamaño más pequeño es el que está presente en mayor cantidad que el otro, figura 2.18 (c) y (d), por lo que la micela de CTAB tiene un diámetro hidrodinámico de 2.365 ± 0.521 nm que es similar al calculado en agua (capítulo 1) y que de igual forma que antes la M^{CTAB} tiene un tamaño menor que la M^{SDS} , considerando que la longitud de la molécula de CTAB es más larga que la del SDS, por lo que se infiere que los monómeros de CTAB que forman a la micela al tener una cola más larga en comparación con la de SDS, su cola se dobla o se contrae reduciendo su tamaño (ver capítulo 1).

En la literatura se tiene reportada la longitud del CTAB que es de 21.83 \AA que es igual a 2.183 nm ⁸⁹ el cual es casi el valor que se obtiene como el diámetro de la M^{CTAB} . Antes de la realización de estos experimentos se tenía como hipótesis que, el radio de una micela esférica de cualquier surfactante coincidía con la longitud de una molécula de surfactante, por lo que ahora se descarta esa hipótesis.

2.6.3 Micela (TX100)

Finalmente, se midió el diámetro de la M^{TX100} , considerando su valor de CMC de TX100 ($CMC_{TX100} = 0.59 \pm 0.05$ mM). En la figura 2.19 (a) y (b) se muestran los resultados cuando se tiene una concentración menor al valor de la CMC, dando un valor de 297.1 ± 119.6 nm y cuando se tiene una concentración mayor al de la CMC se tienen tres tamaños de partícula de 8.397 ± 4.326 , 216.7 ± 87.5 y $4,626 \pm 822$ nm (ver figura 2.19 (c)).

El tamaño de partícula más pequeño es el que está presente en mayor cantidad, que corresponde al diámetro de la M^{TX100} (ver figura 2.19 (d)) y en este caso el tamaño de la M^{TX100} , sí es más grande que el de la M^{SDS} , que es coherente, ya que este surfactante tiene una mucho mayor longitud en su extremo hidrofóbico en comparación con el SDS y CTAB, tabla 2.8 e imagen 2.3.

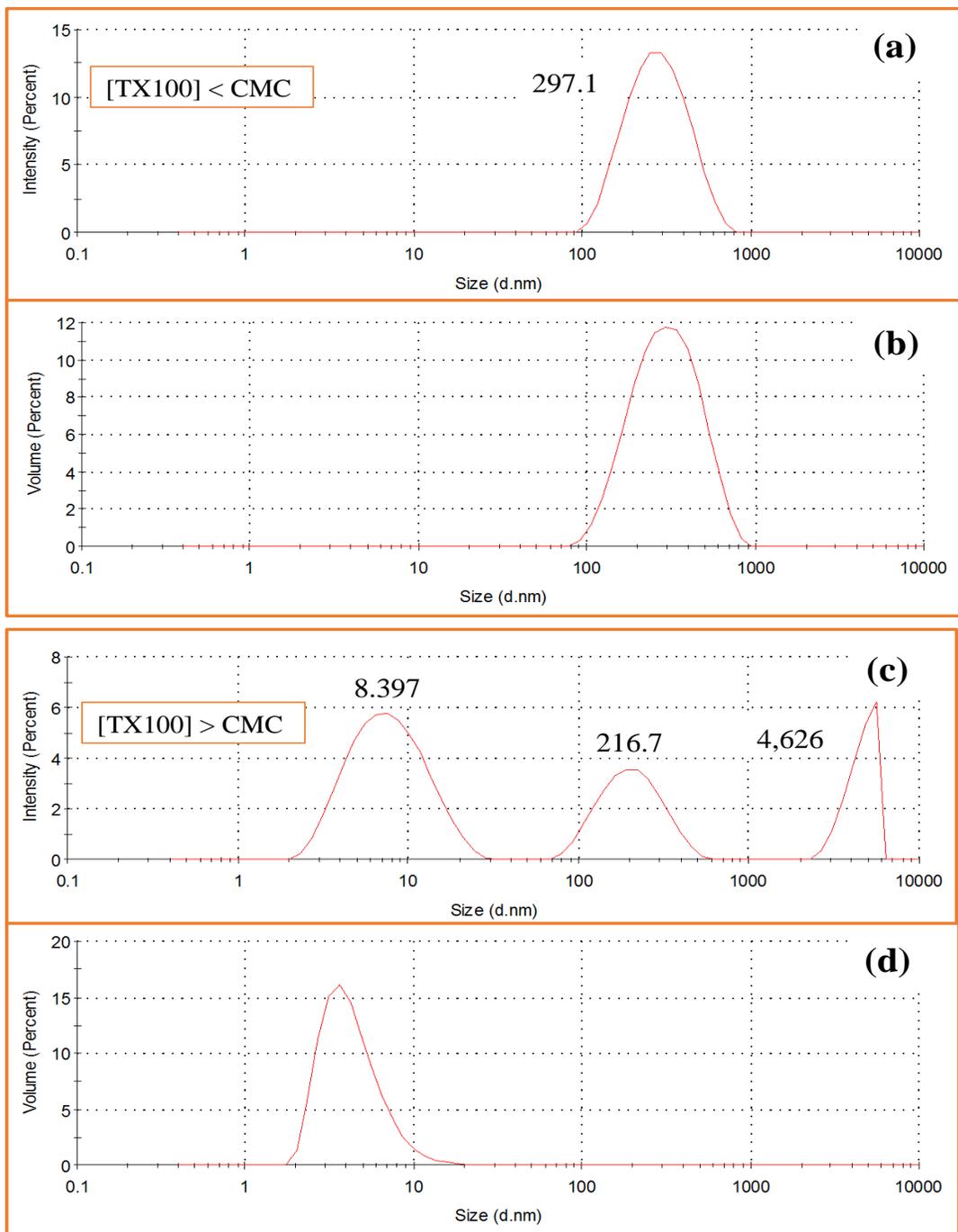


Figura 2.19 Relaciones de porcentajes de intensidad y volumen en función del diámetro obtenidos por DLS de 0.1 mM de TX100 (a y b) y 1.0 mM de TX100 (c y d), usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4.4.

Tabla 2.8 Tamaños de las micelas de SDS, CTAB y TX100

Surfactante	[Surfactante] / mM	[ClO ₄ ⁻] / M	pH	Diámetro / nm
SDS	2.5	0.1	4.4	4.984 ± 1.097
CTAB	1.5	0.0001	4.7	2.365 ± 0.492
TX100	1.0	0.1	4.4	8.397 ± 4.326

El tamaño de las M^{Surfactante} formadas por el SDS y CTAB no modifican su tamaño al formarse en agua y en percloratos, pero para el caso de la M^{TX100} formada en agua y en ClO₄⁻ 0.1 pH 4.4, los tamaños varían un poco más de dos nanómetros, pero de acuerdo con su desviación estándar, los valores coinciden entre ellos, tabla 2.9.

Tabla 2.9 Comparación de tamaños de las micelas de SDS, CTAB y TX100 formadas en agua y en percloratos.

Diámetro / nm			Disolvente
M ^{SDS}	M ^{CTAB}	M ^{TX100}	
4.884 ± 1.072	2.124 ± 0.441	11.50 ± 4.13	Agua
4.984 ± 1.097	2.365 ± 0.492	8.397 ± 4.326	ClO ₄ ⁻ a pH ~ 4-4 *

*Las concentraciones de los percloratos para usada para el SDS y TX100 fue de 0.1 M y para el CTAB fue de 0.0001 M

Los diámetros de las micelas formadas con cada uno de los surfactantes, según su longitud de su parte hidrofóbica, deberían corresponder al siguiente orden de forma decreciente: TX100, CTAB y SDS, pero los resultados experimentales corresponden a un orden: TX100, SDS y CTAB, esto debido a que, entre los extremos hidrofóbicos se contraen y se doblan como en el caso de las grasas, imagen 2.3.

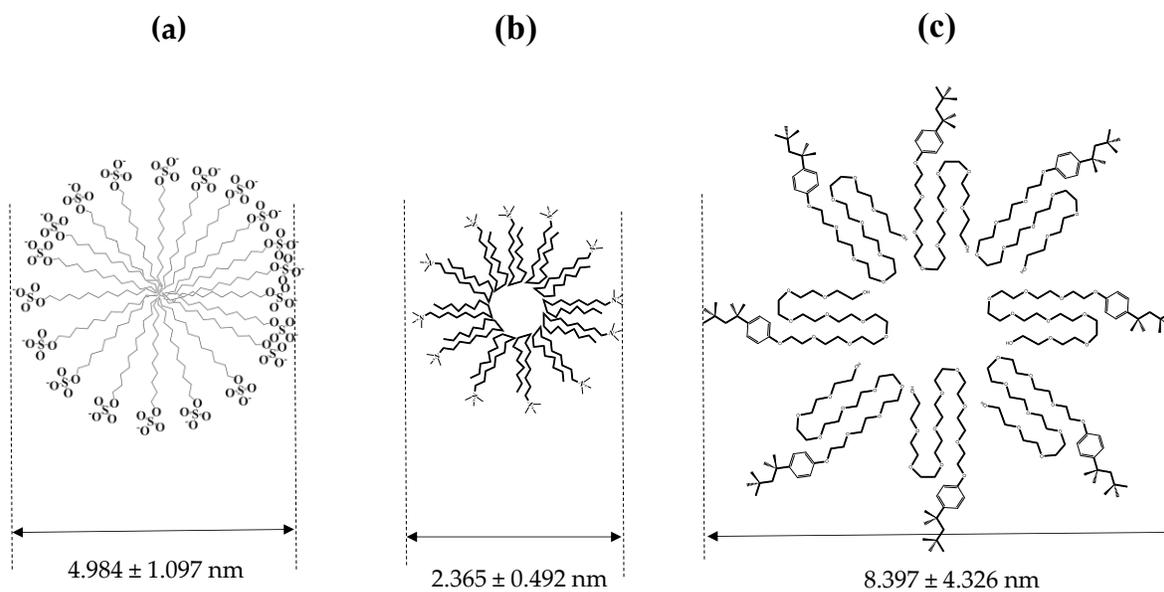


Imagen 2.3 Diámetros de las micelas formadas por monómeros de SDS (a), CTAB (b) y TX100 (c), usando las concentraciones mostradas en la tabla 2.8.

2.7 Conclusiones C2

El valor de la CMC del SDS determinado en agua disminuye casi una novena parte cuando se usa percloratos, además, el complejo $Q-M^{SDS}$ requiere que el SDS esté en su forma aniónica para su formación, del mismo modo que la carga eléctrica de la Q influye sobre la formación del complejo $Q-M^{Surfactante}$. La metodología propuesta en este trabajo de investigación para la determinación de la constante de unión del complejo $Q-M^{Surfactante}$, hasta el momento no muestra cambios significativos comparada con la propuesta por María de la Guardia, pero debido a que el análisis propuesto es más exigente, los sistemas siguientes serán tratados bajo la metodología aquí expuesta. Finalmente, el cambio de disolvente no afecta el tamaño de las micelas formadas por el SDS, CTAB y TX100.

Capítulo 3. Caracterización del complejo de inclusión Quercetina- β CD

*¿Para qué repetir errores
cuando hay tantos nuevos por cometer?*

- B. Russell*

* Jose Luis Cordoba Frunz. Recopilación de Frases Célebres. Ediciones Privadas de Cultura, Adolfo Prieto 1357, C. P. 03100, (2012).

3.1 Introducción

3.1.1 Ciclodextrina

Hasta el momento se han analizado al SDS, CTAB y TX100 y sus interacciones con la Q, usando como disolvente agua y ClO_4^- pH 4.6. En este capítulo se iniciará con el análisis del complejo de inclusión Q- β CD en ausencia de los surfactantes en un medio de ClO_4^- 0.1 M pH 4.6. La determinación de la constante de unión se realiza empleando a la espectrofotometría y fluorescencia como técnicas de análisis y los resultados obtenidos son refinados con el programa computacional SQUAD para determinar sus correspondientes constantes de formación globales, además, también es usada una técnica electroquímica para la determinación de este parámetro. Debido a las características que poseen las CD's, estos compuestos pueden formar también complejos en la superficie, por lo cual, se determina su valor usando una técnica electroquímica para la determinación de este parámetro.

La ciclodextrina, CD, es un oligómero cíclico de α -D-glucosa, imagen 3.1, unidos por enlace glicosídico $\alpha(1\rightarrow4)$, que forman una estructura de anillo bien definida (representada mejor como un cono truncado invertido) con su interior hidrofóbico y su exterior hidrofílico debido a la presencia de los grupos hidroxilos, imagen 3.2, formado de seis, siete u ocho unidades de glucosa llamadas α , β y γ -CD o también llamadas como ciclohexamilosa o ciclomaltohexaosa, cicloheptamilosa o ciclomaltoheptaosa y ciclooctamilosa o ciclomaltoheptaosa respectivamente, siendo estas las más conocidas, aunque existen otros tipos más de CD, las cuales se forman por la acción de ciertas enzimas en el estómago¹⁰⁰⁻¹⁰².

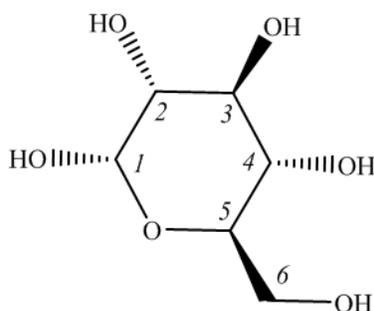


Imagen 3.1 Estructura de la molécula de α -D-glucosa con numeración.

Estas CD's son producidas por la degradación del almidón por la enzima glucanotransferasa, estas CD's fueron descubiertos primero por Villier en 1891 de la

digestión de *Bacillus amylobacter* del almidón de la papa, estos compuestos eran conocidos anteriormente como la celulosina ¹⁰³.

La CD con menos de seis unidades de glucosa están demasiadas tensas para existir y con más de ocho unidades son muy solubles y difíciles de aislar y apenas estudiadas hasta la fecha, aunque la α , β y γ -CD son consideradas como moléculas nativas, se les han hecho modificaciones para mejorar algunas de sus propiedades en específico ¹⁰⁰.

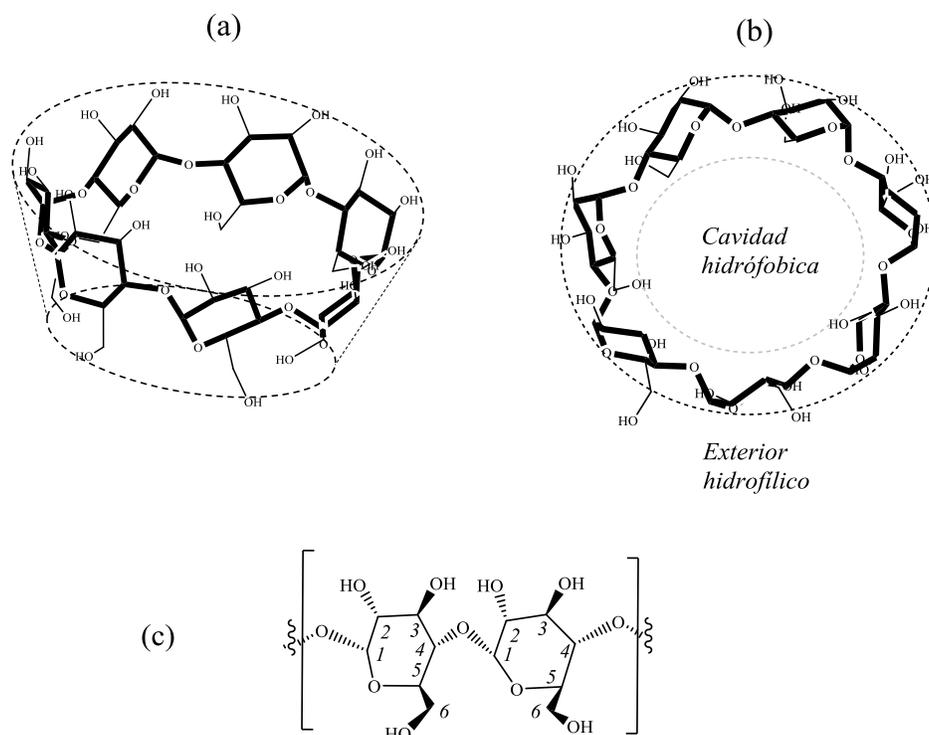


Imagen 3.2 Representación de la β CD vista lateral haciendo alusión a un cono truncado invertido (a), vista superior (b) y tipo de enlace entre dos unidades de la CD (vista de afuera hacia adentro de la CD).

3.1.2 Propiedades físicas y químicas de la CD

Debido al carácter anfifílico y la forma de cono truncado que posee la CD, este compuesto representa una nueva generación de oligosacáridos con gran importancia en la actualidad, debido a su uso y habilidad para formar complejos de inclusión con diferentes clases de moléculas llamadas huésped. La molécula huésped que interactúa con la CD, adquiere beneficios en sus propiedades como, por ejemplo: solubilidad, estabilidad, además, se protege contra el fenómeno de la

oxidación. Dichas moléculas huésped generalmente son especies de bajo peso molecular como, por ejemplo: antioxidantes, fármacos, neurotransmisores o alguna otra molécula de interés, por lo que su campo de aplicación puede ser extenso. Los valores de pKa del carbono C2 y C3 de las CD son muy cercanos como en el caso de β CD que tiene un valor de pKa 13.5 ± 0.2 a 22.5°C ¹⁰⁴, ocasionando que la especie neutra de la CD predomine en casi toda la escala de pH.

En la tabla 3.1 se muestran algunas de las propiedades más importantes de las CD nativas, donde se tiene que conforme se aumente el número de unidades de glucosa, aumenta el diámetro de la cavidad, además de que su primer valor de pKa es casi el mismo valor en los tres casos, algo importante a resaltar es que la β CD es menos soluble en comparación con las otras dos, además de que es menos costosa.

Tabla 3.1 Propiedades de las CD's nativas ¹⁰¹.

Propiedad	Ciclodextrina		
	α CD	β CD	γ CD
Número de unidades de glucosa	6	7	8
Fórmula empírica (anhidra)	$\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_{30}$	$\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{35}$	$\text{C}_{48}\text{H}_{80}\text{O}_{40}$
Masa molar (g/mol) (anhidra)	972.85	1,134.99	1,297.14
Altura de la CD (Å)	8	8	8
Longitud de la cavidad (Å)	~5.2	~6.6	8.4
Capacidad calorífica (sólido anhidro) ($\text{J}^*\text{mol}^{-1}*\text{K}^{-1}$)	1,153	1,342	1,568
Capacidad calorífica (dilución infinita) ($\text{J}^*\text{mol}^{-1}*\text{K}^{-1}$)	1,431	1,783	2,070
pKa (25°)	12.33	12.20	12.08
α_D , grados	+150.5	+162.0	+177.4
ΔH° ionización ($\text{kcal}^*\text{mol}^{-1}$)	8.36	9.98	11.22
ΔS° ionización ($\text{cal}^*\text{mol}^{-1}*\text{K}^{-1}$)	-28.3	-22.4	-17.6
Solubilidad en agua a 25 °C ($\text{mol}^*\text{L}^{-1}$)	0.1211	0.0163	0.168
ΔH° solución ($\text{kcal}^*\text{mol}^{-1}$)	7.67	8.31	7.73
ΔS° solución ($\text{cal}^*\text{mol}^{-1}*\text{K}^{-1}$)	13.8	11.7	14.7

3.1.3 Solubilidad de la β CD

En la imagen 3.2(a) se muestra que los carbonos C2 y C3 de cada glucosa, están en la parte superior de la CD donde se hace alusión al cono truncado invertido y en la parte inferior se encuentran los C6 de cada glucosa. La baja solubilidad de la β CD se

asocia a su termodinámica en solución, ya que, sus ΔH° y ΔS° son menos favorables, otros autores lo asocian a su simetría ya que la β CD tiene siete unidades ¹⁰⁴, pero la alta solubilidad de la CD de nueve unidades no concuerda, pero otros autores lo asocian a los hidrógenos del exterior de la CD los cuales son los responsables, por lo que la alquilación de esta, mejora dicha propiedad y este fenómeno ha constituido una motivación para llevar a cabo tales modificaciones ^{100 y 103}, con las cuales se han tenido buenos resultados.

3.1.4 Complejo de inclusión y aplicaciones

La CD en una solución acuosa, tiene su cavidad ligeramente apolar la cual está ocupada por moléculas de agua que están energicamente desfavorecidas (interacción polar-apolar) y, por lo tanto, pueden ser fácilmente sustituidas por "moléculas huésped" apropiadas que son menos polares que el agua ¹⁰¹. En la imagen 3.3 se muestra una representación esquemática de la formación del CI entre una molécula mostrada en color rojo que actúa como "huésped" y la β CD que actúa como "anfitrión" en solución acuosa. La "fuerza motriz" de la formación del complejo, es la sustitución de las moléculas de agua de alta energía por una molécula "huésped" apropiada; una o varias CD's pueden contener una molécula invitada, aunque, lo más común es que la formación del complejo de inclusión (también conocida como encapsulación molecular) contenga una relación estequiométrica 1:1 ¹⁰⁰⁻¹⁰³.

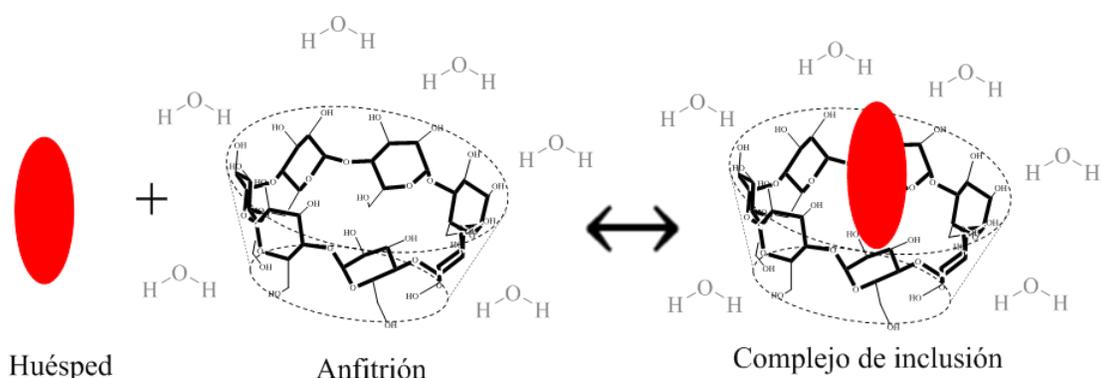


Imagen 3.3 Representación esquemática de un complejo de inclusión, en color rojo se muestra una molécula huésped y la β CD como anfitrión.

El interés principal en las CD's radica en su capacidad para formar CI con varios compuestos, debido a que la hidrofobicidad de la cavidad permite que la CD se asocie con moléculas orgánicas no polares o porción de moléculas orgánicas para

formar el CI. Una o dos moléculas invitadas pueden ser atrapadas por una, dos o tres CD's. Las CD's tienen aplicaciones en las industrias farmacéutica, alimentaria, petrolera, papelera, cosmética, textil, química analítica, agricultura, artículos de aseo, protección del ambiente, fermentación, etc. ^{103 y 107-109} y también forman complejos con compuestos inorgánicos y gases nobles y también muestran discriminación entre posiciones de isómeros, grupos funcionales y enantiómeros ^{101, 103, 110 Y 111}.

Un punto importante que no se puede dejar de mencionar es que, estos compuestos no son tóxicos, ya que no son absorbidos en el tracto gastrointestinal y casi son metabolizados por la microflora del colon, por lo tanto, proporcionan beneficios de salud a las personas ¹⁰³.

3.2. Metodología

Se preparó una solución concentrada de quercetina disuelta en metanol. De esta solución concentrada se tomaron alícuotas para agregarlas a los distintos sistemas y así obtener las concentraciones deseadas. Para obtener la concentración de la β CD requerida, se pesó la masa de la β CD y se agregó directamente al sistema, para los casos donde se requirió una concentración más baja, se preparó una solución menos concentrada de β CD y de este sistema se tomaron alícuotas la cuales fueron transferida al sistema en cuestión.

Se preparó una solución de concentración 0.1 M de ClO_4^- (a partir del ácido), a la cual se les agregó suficiente NaOH para ajustar el pH a aproximadamente 4.7. Esta solución fue usada como disolvente.

Para la estabilidad de la Q fueron preparados dos sistemas con un volumen de 5 mL de ClO_4^- 0.1 M a pH 4.2 y concentración de Q de 6×10^{-5} M cada uno. A los sistemas se les agrego β CD para obtener concentraciones de 4.3 y 8.2 mM. La evolución de cada sistema fue analizada, midiendo su espectro de absorción cada minuto, iniciando el análisis después de 12 minutos de haber preparado los sistemas.

Para la determinación de la constante de inclusión en solución del complejo Q- β CD, cuatro sistemas fueron preparados con un volumen de 5 mL de ClO_4^- 0.1 M a pH 4.7 y concentración de Q de 6×10^{-5} M cada uno. A uno de los sistemas, se les agregó distintas cantidades de β CD y su espectro de emisión fue medido después de cada adición de β CD ($\lambda_{\text{exit.}}$ de 350 nm). El proceso fue repetido para los sistemas restantes, y el espectro de absorción, los espectros de excitación (λ_{em} de 600 nm) y emisión ($\lambda_{\text{exit.}}$

de 350 nm) y el voltamperograma cíclico fue medido después de cada adición para los sistemas 2, 3 y 4 respectivamente.

Para la polimerización de β CD sobre el EPC, un sistema fue preparado con un volumen de 5 mL de ClO_4^- 1.0 M a pH 1 y concentración de β CD de 8.08 mM. El EPC se sumergió en el sistema preparado y se barrió el potencial en un intervalo de -0.68 a 1.30 V, a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 mV/s, sensibilidad de 1.0 mA, la polimerización está formada por 30 ciclos.

Para la determinación de la constante de inclusión en superficial del complejo Q- β CD, un sistema fue preparado con un volumen de 5 mL de ClO_4^- 0.1 M a pH 4.8. Al sistema preparado, alícuotas de la solución madre de Q fueron añadidas y su respectivo voltamperograma cíclico fue medido después de cada adición usando al EPCM con β CD antes preparado.

Para la medición del tamaño de las asociaciones de β CD, tres sistemas fueron preparados usando como disolvente ClO_4^- a pH 4.7. A uno de los sistemas, se les agregó distintas cantidades de β CD para obtener concentraciones de: 1.9, 8.0 y 14.0 mM. Después, las muestras se depositaron en viales, las cuales fueron centrifugadas a 13,000 revoluciones por minuto por cinco minutos antes de la medición.

3.3 Estabilidad de la Q en presencia de β CD

En el capítulo 1 y 2 se usó a la Q como molécula de referencia para el cálculo de la CMC de los surfactantes empleando técnicas espectroscópicas y, además, se demostró que la presencia de los surfactantes mejora la estabilidad de este flavonoide. Ahora, se analiza la estabilidad de la Q en presencia de β CD y se obtiene que a concentraciones mayores de 4.3 mM de este arreglo molecular la Q se estabiliza bajo condiciones normales de laboratorio como luz de las lámparas, oxígeno etc., para ambas bandas, este estudio se realizó con Espectrofotometría UV-Vis figura 3.1.

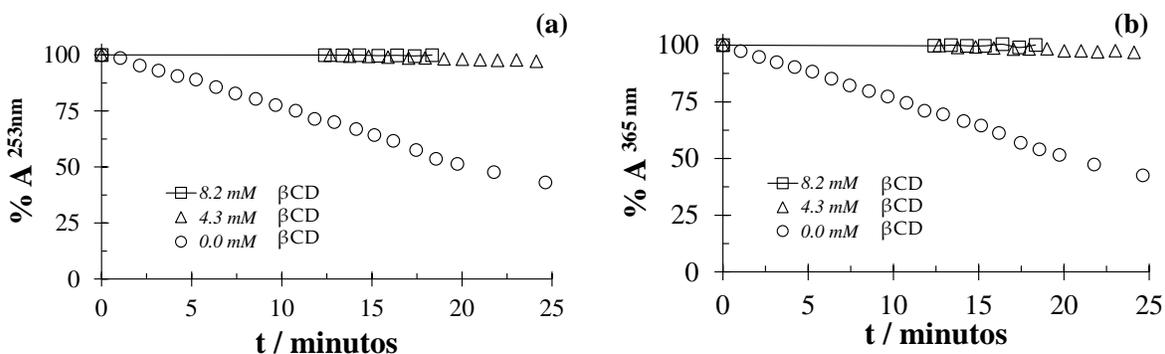


Figura 3.1 Relación de %A de la Q 6.17×10^{-5} M en presencia de 0.0, 4.3 y 8.2 mM de β CD medidas a 253 (a) y 365 nm (b) en un sistema de ClO_4^- 0.1 M a pH 4.2

Esto quiere decir que la mejora en la estabilidad de la Q es debida a que esta molécula interacciona con la β CD, dando origen a la formación del complejo de inclusión, a partir de cantidades pequeñas, como se había indicado en la introducción.

3.4 Determinación de la constante de inclusión del complejo quercetina- β CD

3.4.1 En solución

3.4.1.1 Fluorescencia

Ahora que se sabe que el CI se forma, lo siguiente es calcular el valor de la constante de inclusión, por lo que se usa la *ecuación modificada propuesta en este trabajo* mostrada en el capítulo 2 y explicada a detalle en el Apéndice 5 (ecuación 2.3), que emplea la técnica de fluorescencia. En la figura 3.2 se muestran los espectros de emisión de la Q que cambian debido a que se añade β CD en el sistema, lo que indica que la Q sí forma un complejo con la β CD, esto se puede deducir, ya que, se observa un aumento en la IF, debido a que la molécula de Q se hace más rígida, aunque cabe resaltar que cuando se formaba el CM entre la Q- M^{SDS} el aumento de la intensidad era mayor, esto es debido que la M^{SDS} hace más rígida a la Q en comparación con la β CD, además de que el grupo catecol que es el responsable de la fluorescencia, tal vez queda por afuera de la cavidad de la β CD.

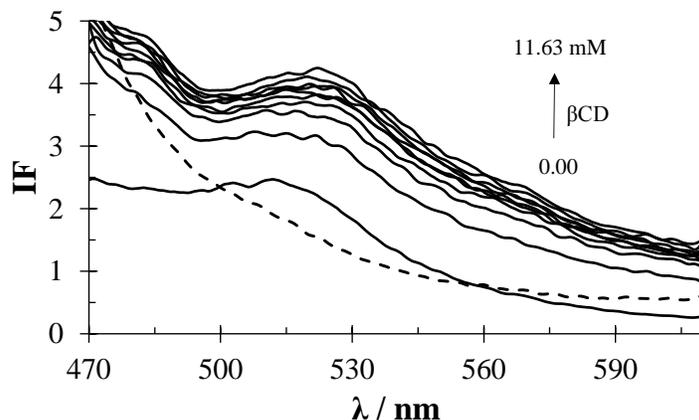


Figura 3.2 Familia de espectros de emisión de la Q 6.05×10^{-5} M que cambian al agregar β CD en un sistema de ClO_4^- 0.1 M pH de 4.7, indicando al blanco como la línea punteada ($\lambda_{\text{exit.}}$ 350 nm).

En la figura 3.3 se muestran la relación de R^2 en función de n y la relación para obtener el valor de K del complejo Q- β CD, dando un valor para n de 1.3 el cual es redondeado a uno. En la ecuación 3.1 se muestra la correspondiente regresión lineal presentada en la figura 3.3 (b) con un $R^2 = 0.990$.

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1 \right]^{-1} = (0.853 \pm 0.022) + \left(\frac{(1.695 \pm 0.069) \times 10^{-3}}{K} \right) * \frac{1}{[\beta CD]^1} \quad (3.1)$$

Dando un valor de $\text{Log } K$ de 2.70 ± 0.03 , este valor obtenido es igual al que se obtuvo para el complejo Q- M^{SDS} pH 4.7.

3.4.1.2 Método computacional (SQUAD)

3.4.1.2.1 Espectrofotometría UV-Vis

Otra forma de calcular la constante de inclusión es usando el programa computacional SQUAD ¹¹², el cual se alimenta de los espectros experimentales obtenidos de Espectrofotometría UV-Vis. En la figura 3.4 (a) se muestran espectros de β CD los cuales absorben en un intervalo de 200 a 350 nm con A máxima de 0.1 a

una concentración de 12.11 y en el inciso (b) de la misma figura se tiene una familia de espectros de la Q que cambian cuando se agrega β CD al sistema, además, se señalan con dos círculos en color rojo dos puntos isobésticos, que indica que existen al menos equilibrio entre la Q y la β CD.

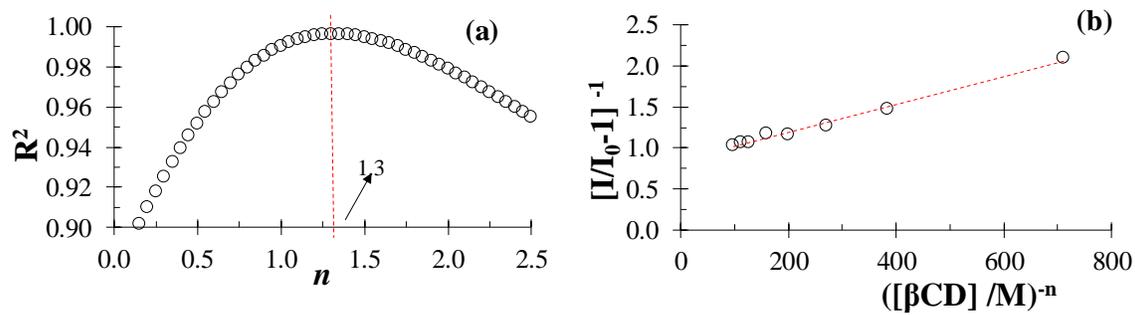


Figura 3.3 Relación del R^2 en función del parámetro n (a) y relación de $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $[\beta\text{CD}]^{-n}$ con una $n = 1.0$, medidos a 526.5 nm (b) en un sistema de ClO_4^- 0.1 M pH de 4.7 ($\lambda_{\text{exit.}} = 350$ nm).

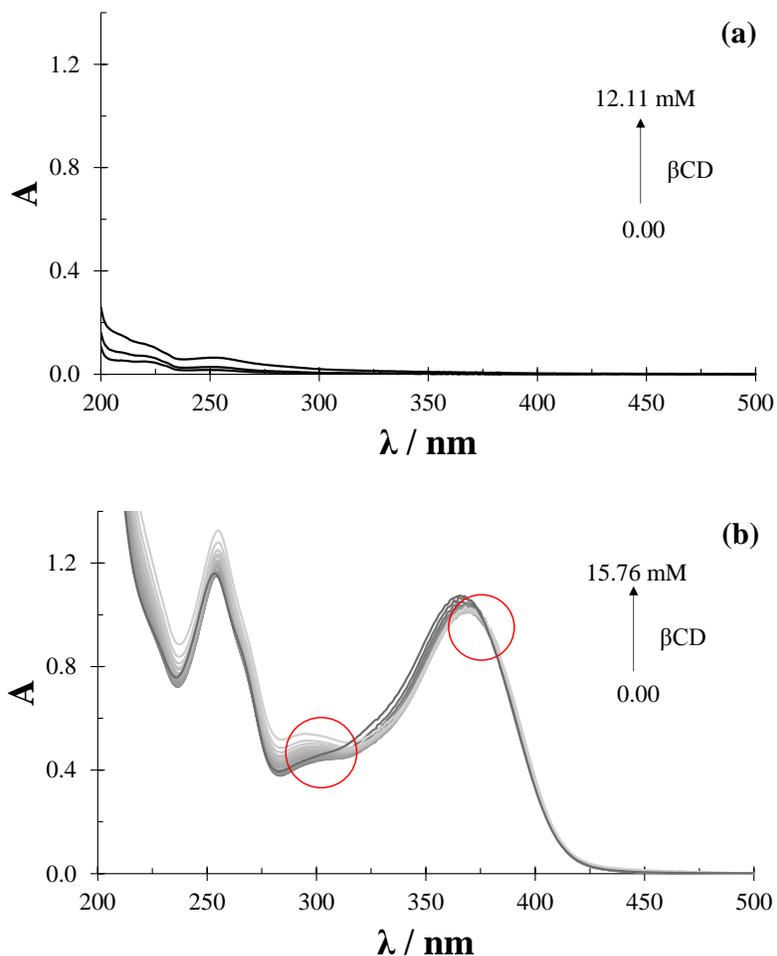


Figura 3.4 Familia de espectros de absorción de la β CD [0.00, 12.11] (a) y de la Q 6×10^{-5} M que cambian cuando se agrega β CD en un intervalo de 0 a 15.76 mM (b) en un sistema de iones ClO_4^- 0.1 M pH 4.7.

Las constantes de formación global obtenidas con SQUAD dan como resultado la formación de dos complejos:



Con una desviación estándar de los datos de 2.8059×10^{-3} y U de 8.1720×10^{-3} , en la figura 3.5 (a) se muestran la relación de los coeficientes de absorptividad obtenidos por SQUAD en función de la longitud de onda de los tres compuestos que contienen

a la Q y la comparación de los espectros de absorción experimentales con los correspondientes construidos con SQUAD figura 3.5 (b). En la figura 3.5 (a) se muestra un buen ajuste para cada uno de los espectros que contienen a la Q y la comparación de espectros de absorción experimentales con los ajustados a través de SQUAD a tres valores de $p\beta\text{CD}$, los cuales, concuerdan con los valores obtenidos, por lo tanto, se consideran confiables los valores mostrados en $R1$ y $R2$.

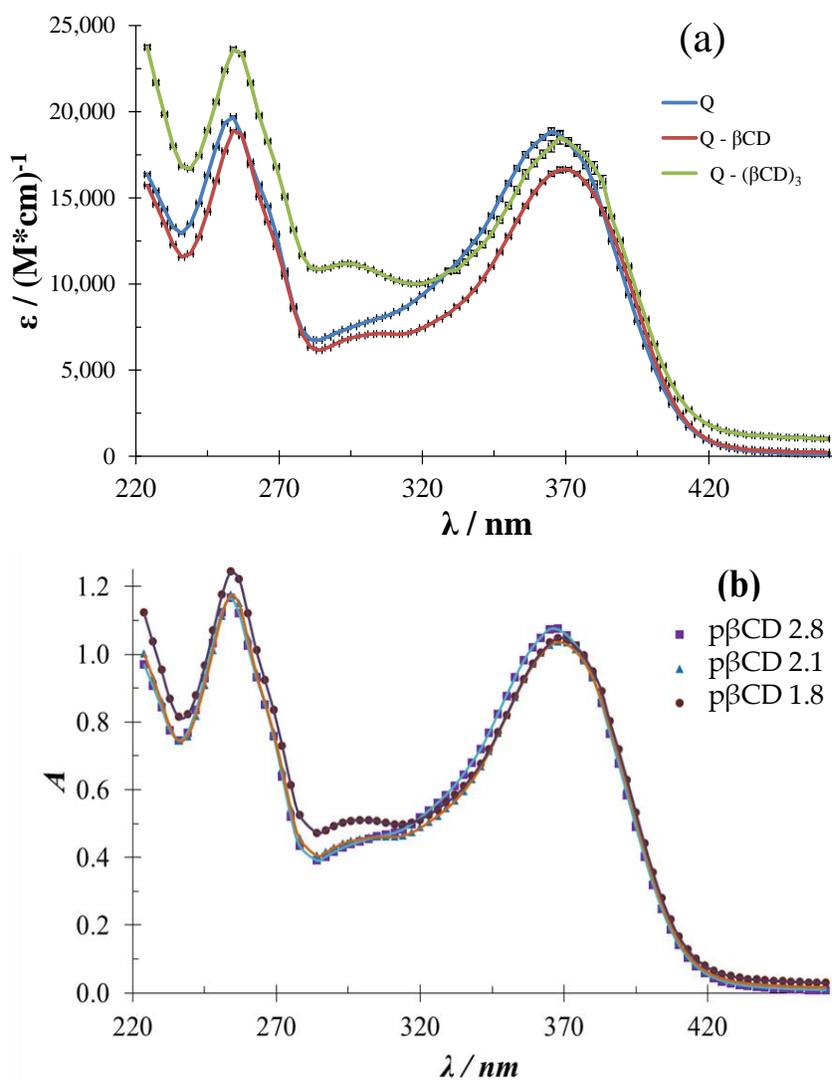


Figura 3.5 Variación de los coeficientes de absortividad molar en función de la longitud de onda calculados con SQUAD para las especies de Q (a) y comparación de los espectros de absorción experimentales de 6×10^{-5} M de Q (marcadores) a pH 4.7 para tres valores de $p\beta\text{CD}$: (\square) 2.8, (Δ) 2.1 y (\circ) 1.8 cada uno con su espectro de absorción ajustado (línea continua) obtenido a través de SQUAD. (b)

En este trabajo se obtuvo la formación de un segundo complejo supramolecular, *reacción R2*, el cual no se encuentra reportado en otros trabajos. Dicho complejo podría considerarse poco probable de formarse debido a que una molécula de Q podría entrar perfectamente en la cavidad de una β CD, pero debido al tipo de estudio que se realizó, se consideran confiables la formación de estos complejos, ya que se analizó un amplio rango de longitudes de onda y se probaron distintas estequiometrías.

3.4.1.2.2 Fluorescencia

3.4.1.2.2.1 Excitación

Ya que la fluorescencia es una técnica espectroscópica con la cual se puede analizar el complejo de inclusión, se alimenta SQUAD con los espectros de excitación experimentales, figura 3.6, en la cual, se tiene un incremento en la IF debido a la interacción de la Q con la β CD, en esta figura se muestra un amplio intervalo de longitudes de onda con la finalidad de poder visualizar si, este espectro es comparable al obtenido por espectrofotometría UV-Vis, dando como resultado que ambos espectros no son comparables, tal vez debido a que en excitación haya otros fenómenos involucrados.

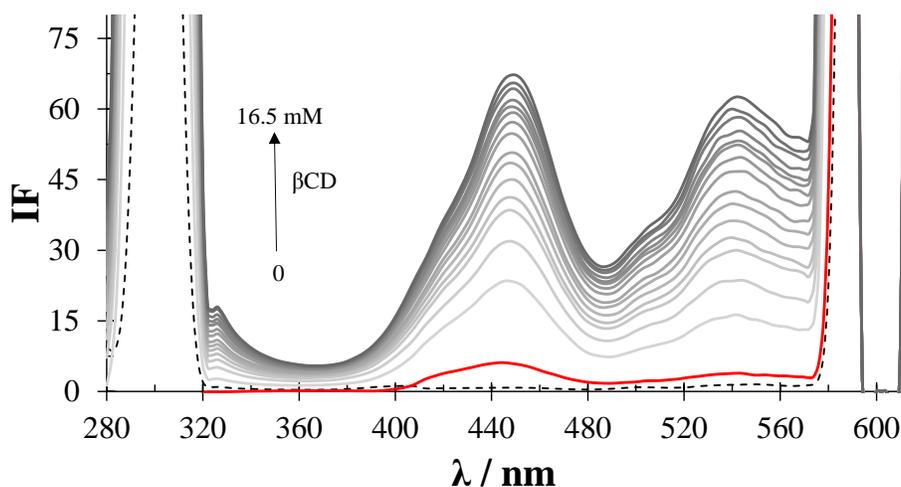


Figura 3.6 Espectros de excitación ($\lambda_{em}=600$ nm) de la Q 6×10^{-5} M que cambian cuando se agrega β CD, en un sistema de iones ClO_4^- 0.1 M pH 4.7 (espectro en color rojo es el blanco).

Las constantes de formación global obtenidas con SQUAD dan como resultado la formación de dos complejos al igual que con el caso anterior y de igual manera con

la misma estequiometría, estos valores de $\log \beta$ que se muestran enseguida son muy cercanos a los calculados con la otra técnica:

	<i>Log β</i>	
$Q + \beta CD \leftrightarrow Q - \beta CD$	2.93 ± 0.01	(R3)
$Q + 3 \beta CD \leftrightarrow Q - \beta CD_3$	6.76 ± 0.02	(R4)

Con una desviación estándar de los datos de 3.6737×10^{-1} y U de 1.5521×10^2 , donde el valor correspondiente a desviación estándar de los datos y U son mayores a los obtenidos con espectrofotometría UV-Vis, debido a que se obtienen IF más grandes en comparación con las unidades de absorbancia.

En la figura 3.7 (a) se muestra un buen ajuste para cada uno de los espectros que contienen a la Q y la comparación de espectros de excitación experimentales con los ajustados a través de SQUAD a tres valores de $p\beta CD$ concuerda con los valores obtenidos, por lo tanto, se consideran confiables también estos valores calculados a partir de los espectros de excitación. Cabe resaltar que en el caso de espectrofotometría UV-Vis se obtienen los coeficientes de absorptividad, pero para fluorescencia se obtiene una constante de proporcionalidad, la cual, posee unidades de M^{-1} .

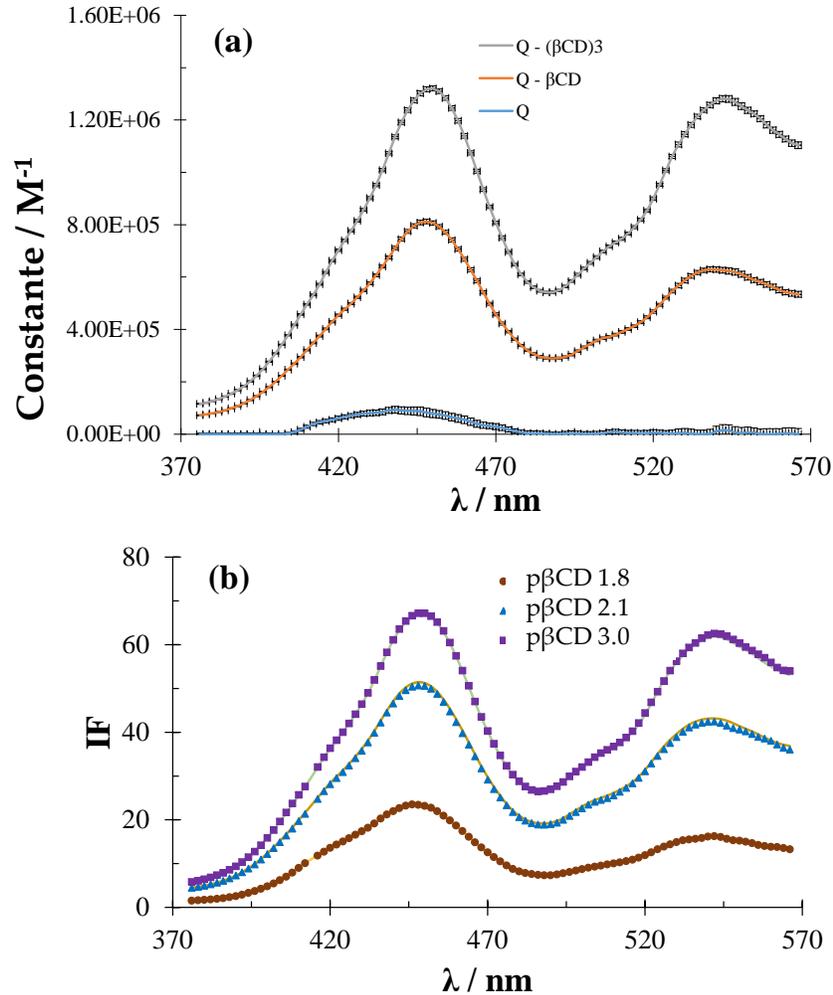


Figura 3.7 Variación de los coeficientes calculados con fluorescencia en función de la longitud de onda calculados con SQUAD para las especies de Q (a) y comparación de los espectros de excitación experimentales de 6×10^{-5} M de Q (marcadores) a pH 4.7 para tres valores de $\text{p}\beta\text{CD}$: (\square) 3.0, (Δ) 2.1 y (\circ) 1.8 cada uno con su espectro de excitación ajustado (línea continua) obtenido a través de SQUAD (b).

La reacción R4 sigue apareciendo cuando se analiza el sistema con SQUAD, lo que corrobora que este complejo sí se forma.

3.4.1.2.2.2 Emisión

Ahora, se muestran los espectros de emisión de Q cuando se agrega βCD en el sistema, figura 3.8, los cuales muestran un aumento en la IF, lo que significa que el CI sí se forma como se mostró anteriormente. Se alimenta de igual forma SQUAD con los espectros de emisión dando como resultado dos equilibrios donde el

segundo equilibrio tiene una estequiometría 1:2 como se muestra en las reacciones R5 y R6.

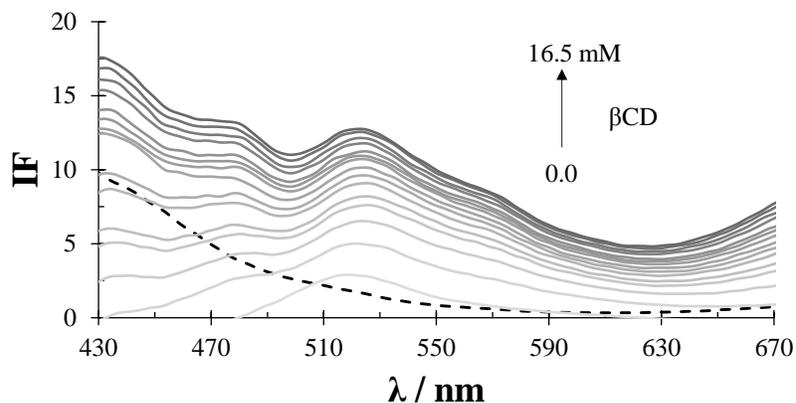


Figura 3.8 Espectros de emisión ($\lambda_{\text{exit.}} = 360 \text{ nm}$) de la Q $6 \times 10^{-5} \text{ M}$ que cambian cuando se agrega βCD , en un sistema de iones ClO_4^- 0.1 M pH 4.7 (línea punteada corresponde al blanco).

Las constantes de formación global obtenidas con SQUAD correspondientes a la figura 3.9, dan como resultado.



Con una desviación estándar de los datos de 5.60×10^{-2} y U de 2.48 siendo diferente la estequiometría del segundo complejo a lo que se había obtenido anteriormente en excitación y en espectrofotometría UV-Vis. Pero también, se obtuvieron buenos resultados cuando se corrió SQUAD con una relación estequiometría para el segundo complejo de 1:3, dando como resultado las siguientes reacciones correspondientes a la figura 3.10.

	$Log \beta$	
$Q + \beta CD \leftrightarrow Q - \beta CD$	2.58 ± 0.02	(R7)
$Q + 3 \beta CD \leftrightarrow Q - \beta CD_3$	6.12 ± 0.04	(R8)

Con una desviación estándar de los datos de 6.38×10^{-2} y U de 3.217, en la figura 3.10 (a) se muestra un buen ajuste para cada uno de los espectros que contienen a la Q y la comparación de espectros de emisión experimental con los ajustados a través de SQUAD a tres valores de $p\beta CD$ concuerda con los valores obtenidos, como se dio en la figura 3.9 también.

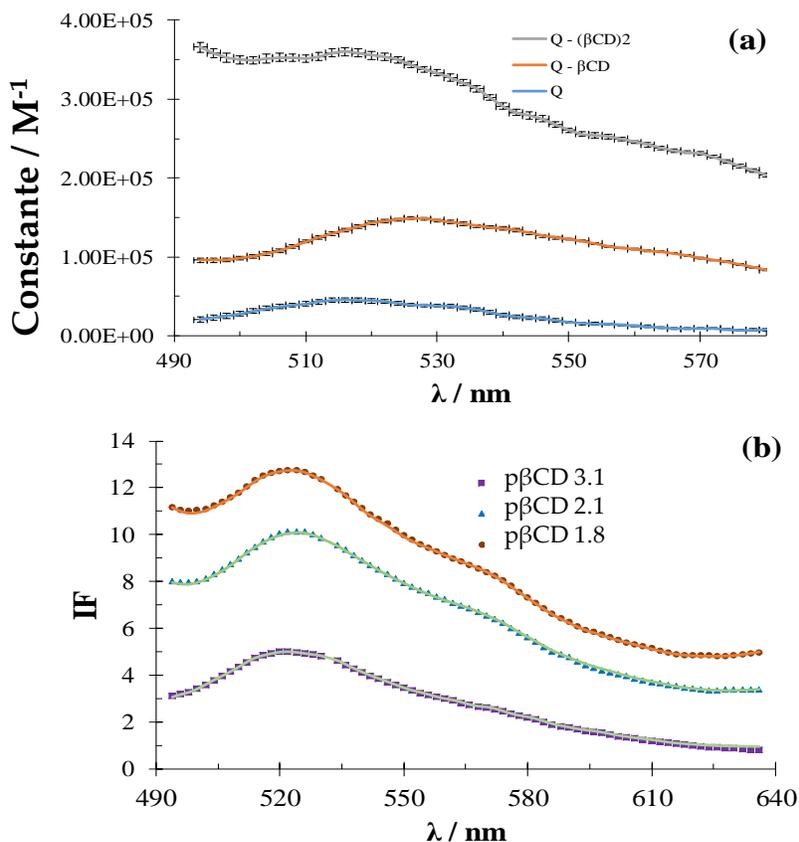


Figura 3.9 Variación de los coeficientes calculados con fluorescencia en función de la longitud de onda calculados con SQUAD para las especies de Q (a) y comparación de los espectros de excitación experimental de 6×10^{-5} M de Q (marcadores) a pH 4.7 para tres valores de $p\beta CD$: (\square) 3.1, (Δ) 2.1 y (\circ) 1.8 cada uno con su espectro de emisión ajustado (línea continua) obtenido a través de SQUAD (b).

Ambas estequiometrías correspondientes para el segundo complejo 1:2 y 1:3, pueden ser consideradas como correctas, aunque de acuerdo con los resultados anteriores, la estequiometria 1:3 es la que coincide con los datos anteriores.

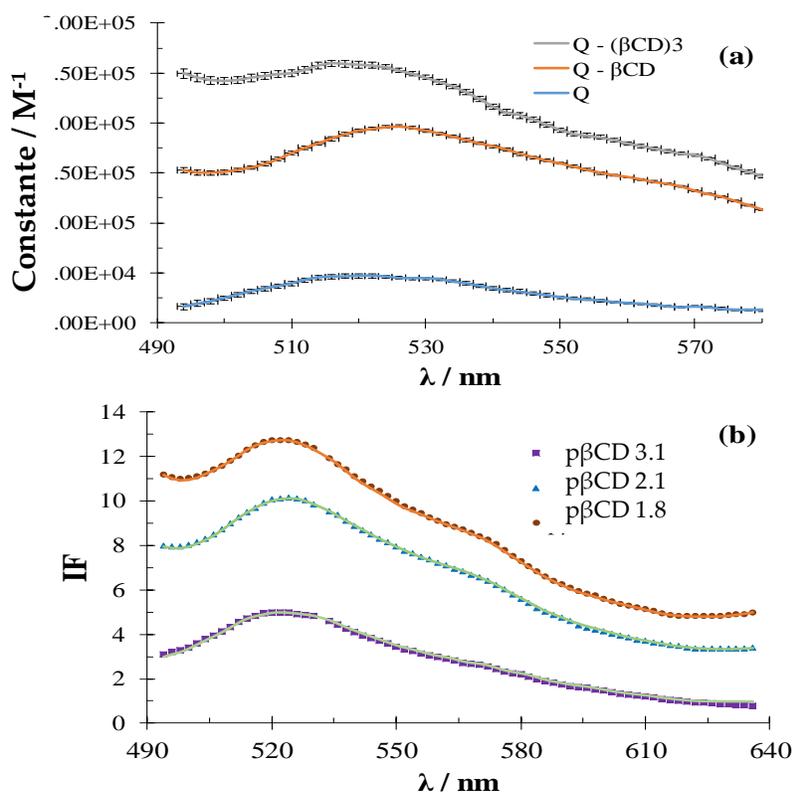


Figura 3.10 Variación de los coeficientes calculados con fluorescencia en función de la longitud de onda calculados con SQUAD para las especies de Q (a) y comparación de los espectros de excitación experimentales de 6×10^{-5} M de Q (marcadores) a pH 4.7 para tres valores de pβCD: (□) 3.1, (Δ) 2.1 y (○) 1.8 cada uno con su espectro de emisión ajustado (línea continua) obtenido a través de SQUAD (b).

3.4.1.3 Voltamperometría Cíclica

Ahora se usa una técnica electroquímica para el cálculo de la constante de inclusión en solución del CI a un valor de pH de 4.3. En la figura 3.11 se muestra una familia de voltamperogramas de la Q que cambia al agregar βCD al sistema, para cada voltamperograma se observa durante el barrido de potencial en dirección positiva

(bajo el convenio de la IUPAC) un pico de oxidación alrededor de 0.35 V y al invertir el barrido de potencial se observa el pico de reducción, alrededor de 0.25 V mostrando un decremento en la corriente de pico de oxidación al aumentar la concentración de β CD. El grupo catecol de la Q es fácilmente oxidada a una quinona, por lo que se observa un pico de oxidación a aproximadamente 0.35 V en la figura 3.11(a) con intensidad de corriente eléctrica más grande, después, cuando la β CD es agregada, un decremento en la intensidad de corriente eléctrica es observado, esto puede ser debido a que el grupo catecol de la Q entra dentro de la cavidad de la β CD evitando la oxidación de la Q.

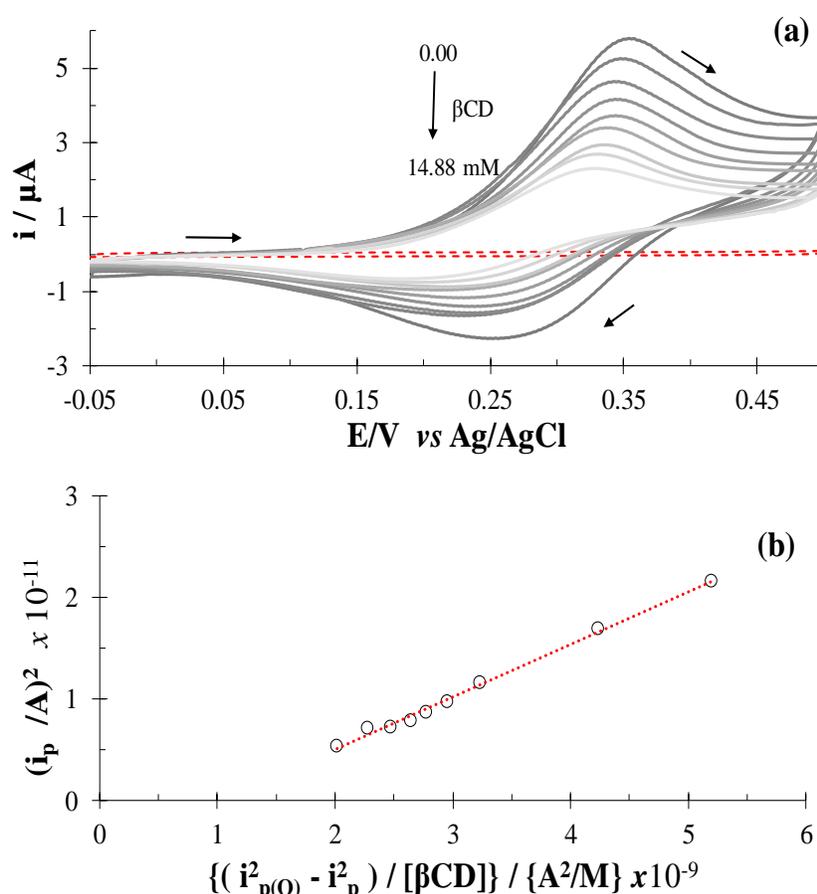


Figura 3.11 Voltamperogramas de la Q 6×10^{-5} M que cambian al agregar β CD [0, 14.88] mM en un intervalo de potencial de -0.05 a 0.50 V (a) y relación de i_p^2 en función de $(i_{p(Q)}^2 - i_p^2)/[\beta\text{CD}]$ de la parte anódica (b). Usando un EPC en un sistema de ClO_4^- 0.1 M pH 4.3 a una velocidad de potencial de 0.1 V/s y sensibilidad de 10 μA .

Gao y colaboradores ¹¹³ proponen calcular la constante de inclusión a partir de la siguiente ecuación.

$$i_p^2 = \frac{K_d}{[\beta CD]} (i_{p(Q)}^2 - i_p^2) + i_{(Q-\beta CD)}^2 \quad (3. 2)$$

Donde $[\beta CD]$ es la concentración de βCD , i_p es la corriente de pico medida, $i_{p(Q)}$ es la corriente de pico de Q libre (para $[\beta CD] = 0$), $i_{(Q-\beta CD)}$ es la corriente de pico del complejo Q- β (para $[\beta CD] > 0$) y K_d es la constante de disociación. Al graficar i_p^2 en función de $\frac{(i_{p(Q)}^2 - i_p^2)}{[\beta CD]}$ se obtiene la constante de disociación y para conocer el valor de $\log \beta$ y poder compararlo con los valores antes obtenidos, se calcula el valor de $-\log K_d$, ya que son equivalentes. El valor de $-\log K_d$ es 2.29 ± 0.01 con un R^2 de 0.994. Ahora, se comparan los valores de $\log \beta$ obtenidos por las distintas técnicas, tabla 3.2. En la literatura, se encuentran reportados valores para este complejo de 2.60 ¹¹⁴ y 2.63 ¹¹⁵, que concuerdan con el valor obtenido por espectrofotometría UV-Vis usando SQUAD y se aproxima al valor calculado por fluorescencia usando la ecuación modificada propuesta en este trabajo y al valor obtenido por SQUAD cuando se introdujeron los datos de emisión con estequiometría 1:1 y 1:3. Otros autores reportan valores de 3.01 ¹¹⁶ y 3.52 ¹¹⁷ que se aproximan a los resultados obtenidos por excitación y por emisión con estequiometría 1:1 y 1:2 con SQUAD. Tommasini y colaboradores reportan la formación de complejos entre flavonoides con estructura similar a la Q (hesperetina y naringenina) con la βCD , dando valores de $\log \beta$ 2.37 y 2.55 a 25 °C respectivamente ¹¹⁸, que se aproximan al valor obtenido por VC. Por lo que se infiere, que el valor $\log K$ obtenido para la formación del complejo Q- βCD está alrededor de 2.6.

Cabe resaltar que, en este trabajo de investigación se obtuvo la formación de un segundo complejo diferente al de estequiometría 1:1, el cual no se encuentra reportado en otros trabajos. Dicho complejo podría considerarse poco probable de formarse debido a que una molécula de Q podría entrar perfectamente en la cavidad de una βCD y donde dos de ellas cubrirían en su totalidad a la Q, pero debido al tipo de estudio que se realizó, se consideran confiables los valores correspondientes a la formación de estos complejos 1:3, ya que, se analizó en un amplio rango de longitudes de onda y se probaron distintas estequiometrias; en la imagen 3.4 se muestran representaciones de cómo se daría la formación de estos complejos, tal vez debido a su oxidación.

Tabla 3.2 Valores de $\log \beta$ calculados por distintas técnicas para la formación del complejo de inclusión Q- β CD en solución.

Técnica		Estequiometría Q : β CD	Log β	
Fluorescencia		1:1	2.70 \pm 0.03	
SQUAD	Espectrofotometría		1:1 1:3	2.64 \pm 0.05 6.05 \pm 0.04
	Fluorescencia	<i>Excitación</i>	1:1 1:3	2.93 \pm 0.01 6.76 \pm 0.02
			<i>Emisión</i>	1:1 1:2
				1:1 1:3
		Voltamperometría Cíclica		1:1
	Estudio de solubilidad de fase ¹¹⁴		1:1	2.60 *
Método enzimático a pH 4.5 (buffer acetatos 0.1 M) ¹¹⁵		1:1	2.63 *	
Estudio de fase de solubilidad a pH 3 (buffer de fosfatos 0.05 M) ¹¹⁶		1:1	3.01 *	
Estudio de fase de solubilidad (solución acuosa) ¹¹⁷		1:1	3.52 *	
Estudio de fase de solubilidad del complejo heptarina- β CD y naringerina- β CD (solución acuosa) ¹¹⁸		1:1	2.37 * y 2.55 *	

*Los valores mostrados son a 25 °C.

Hasta este momento, se podría considerar que la ecuación propuesta originalmente por Marques en su tesis de doctorado ⁵² y María de la Guardia y colaboradores ⁵³ (ver capítulo 1) no tiene ninguna diferencia a la que se propone en este trabajo, pero no todos los sistemas tendrán estequiometrías 1:1, por lo que se seguirá usando la metodología propuesta para el cálculo de constantes de unión.

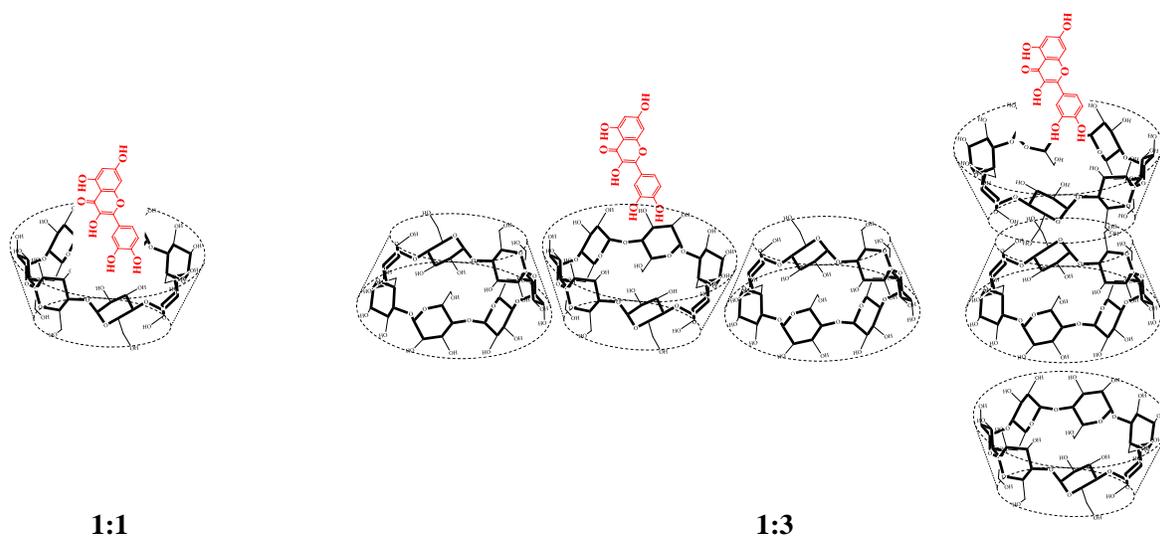


Imagen 3.4 Representaciones probables de la formación de los complejos de inclusión formados por la Q con la β CD con estequiometría 1:1 y 1:3

3.4.2 En la superficie

3.4.2.1 Polimerización del EPCM con β CD

Las CD poseen usos tan versátiles en industrias, farmacia etc.¹¹⁹ y tienen la cualidad de adsorberse en la superficie de un electrodo de pasta de carbón, EPC, para crear electrodos de pasta de carbón modificados, EPCM con β CD¹²⁰, usando como medio electrolítico ClO_4^- . En la figura 3.12 se tiene la polimerización de la β CD sobre la superficie de un EPC en un sistema de ClO_4^- 1 M, donde se realizaron 30 ciclos para una óptima polimerización¹²¹. La polimerización mostrada exhibe procesos de redox, por lo que se favorece la adsorción de la β CD sobre la superficie del EPC, debido a la vinculación de los grupos OH primarios de la β CD con la superficie del EPC. Se ha informado en la literatura que cuando un potencial aplicado es suficientemente anódico, es posible oxidar parcialmente la β CD, no solo provocar la polarización de la molécula generando radicales de la especie que pueden adherirse a la superficie del EPC (figura 3.12 escenario 1), como lo explica Roa y colaboradores¹²⁰. La formación de oligómeros ocurre de manera que se pueden precipitar sobre el EPC, formando una película electroactiva, puede ser considerado que ocurre de la siguiente manera: como β CD se puede oxidar y los grupos OH primarios del CD son más susceptibles a la oxidación, esto da lugar a la formación de un aldehído y/o ácido carboxílico. Además, los radicales de la especie formadas por estimulación electroquímica durante la aplicación de potenciales de oxidación en ciclos sucesivos,

pueden reaccionar con otra molécula de CD y formar un dímero con posterior liberación de agua, debido a la repetición del proceso durante n ciclos 120.

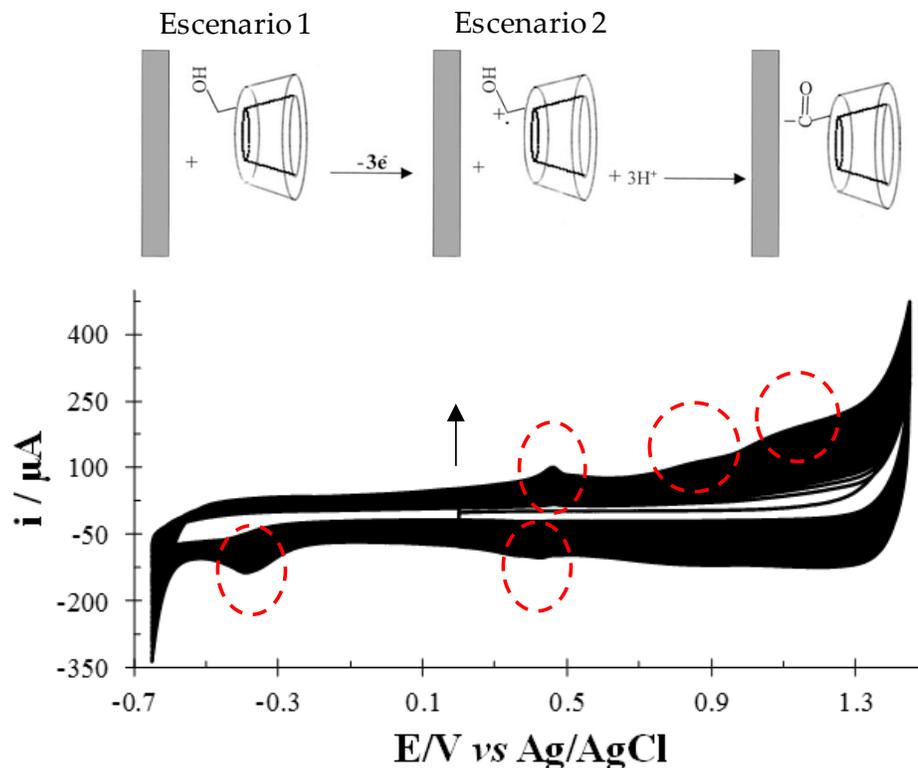


Figura 3.12 Perfil de polimerización β CD 8.80 mM en un sistema de iones ClO_4^- 1.0 M pH 1.0 a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 mV/s, sensibilidad de 1.0 mA y 30 ciclos y proceso de oxidación de la β CD sobre el EPC ¹²⁰.

El perfil del EPC y del EPCM con β CD son distintos, teniendo una mayor corriente capacitiva al usar el EPCM, por lo que en la interface del electrodo se tiene el polímero de β CD formado figura 3.13.

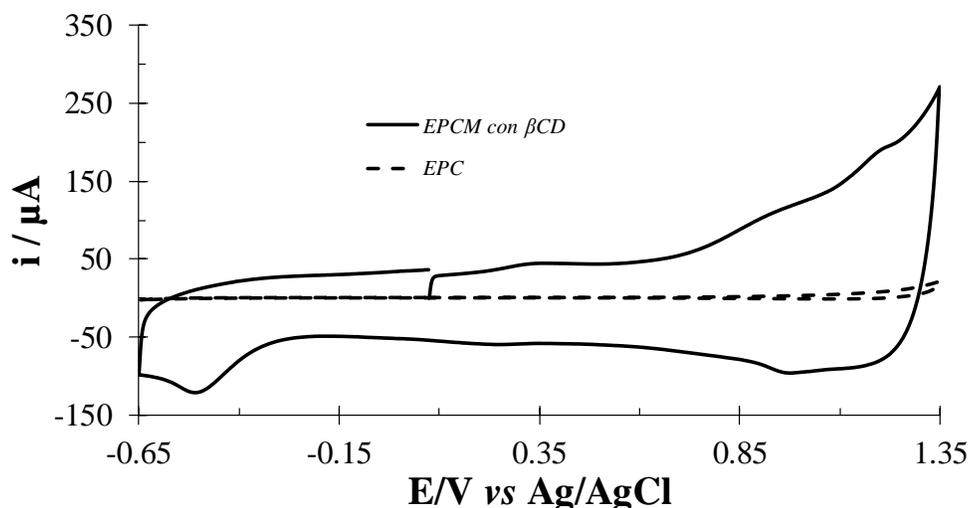


Figura 3.13 Perfil del blanco de un sistema de iones ClO_4^- 0.1 M ajustado a pH 4.8 a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 V/s, sensibilidad de 1.0 mA usando al EPC y al EPCM con βCD .

3.4.2.2 Voltamperometría cíclica

Ahora que, se formó el polímero de βCD en la superficie del EPC, se procede a calcular la constante de inclusión superficial usando la siguiente ecuación propuesta por Roa y otros ¹²².

$$\frac{i_{sat} - i_n}{i_{sat}} = 1 - K_{inc}^{sup} [Q] \quad (3.3)$$

Donde i_{sat} es la corriente eléctrica del pico anódico límite (cuando la corriente no cambia con el aumento de la concentración de la Q), i_n es la corriente de pico anódico de la alícuota de Q añadida, K_{inc}^{sup} es la constante termodinámica de la formación del complejo de inclusión superficial y $[Q]$ es la concentración de Q en solución acuosa. Al graficar $\frac{i_{sat} - i_n}{i_{sat}}$ en función de $[Q]$ se obtiene una línea recta con ordenada al origen de uno y con la pendiente igual a la constante de inclusión superficial.

La figura 3.14 muestran los voltamperogramas de la Q a varias concentraciones de la misma usando el EPCM con βCD , en él se observa como aumenta la intensidad de corriente eléctrica conforme se aumenta la concentración de la Q, debido a que las moléculas de Q entran en la cavidad de las βCD que se encuentran adsorbidas en el EPC, imagen 3.5, además el pico de oxidación se desplaza a potenciales más positivos y el pico de reducción se desplaza a potenciales más negativos, se puede ver que los voltamperogramas que están a mayor concentración de Q se traslapan,

esto es debido a que, cuando las moléculas de Q llegan a la superficie del EPCM con β CD, entran dentro de la cavidad de la β CD, oxidándose y reduciéndose dentro de la misma y debido a la forma que presenta el voltamperograma, se podría decir que la Q se queda adsorbida en la superficie, por lo que se da un traslape de voltamperogramas a concentraciones de Q altas.

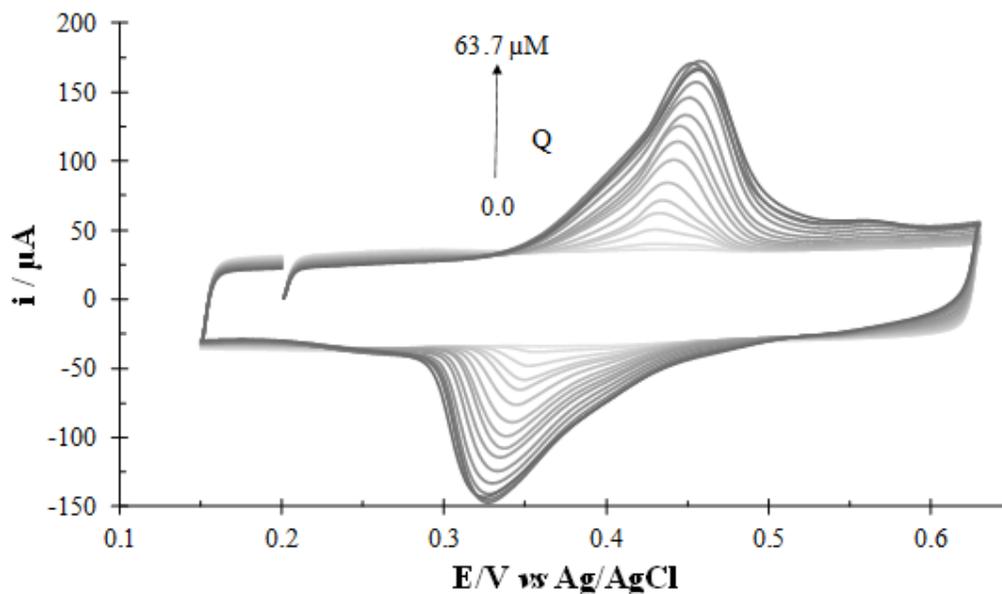


Figura 3.14 Voltamperogramas de la Q a diferentes concentraciones de Q en un sistema de iones ClO_4^- 0.1 M ajustado a pH 4.8 a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 V/s, sensibilidad de 1.0 mA usando el EPCM con β CD.

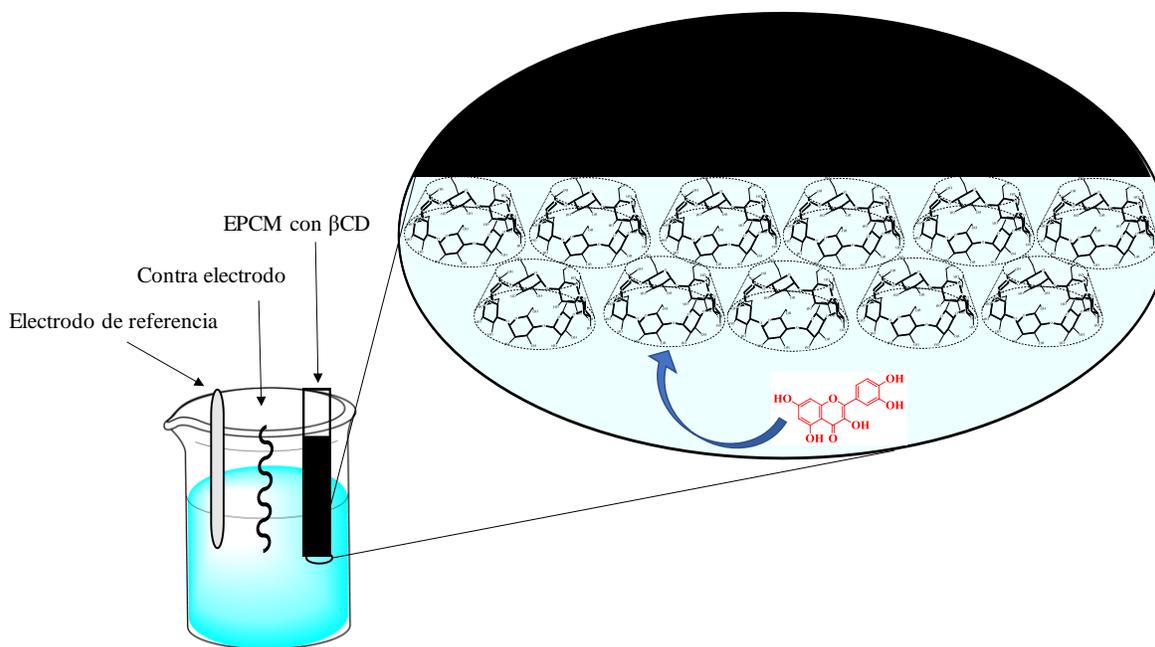


Imagen 3.5 Representación de la formación del complejo de inclusión superficial Q-βCD calculado en la figura 3.14.

En la figura 3.15 (a) se tiene la relación de i en función de la concentración de la Q, usando el EPCM con βCD (se usaron los resultados de la figura 3.14), donde se tiene que a un valor de $111 \mu\text{A}$ se llega a la saturación de Q a una concentración de aproximadamente de $55 \mu\text{M}$ en la superficie y en la figura 3.15 (b) se tiene la relación de $\frac{i_{sat}-i_n}{i_{sat}}$ en función de la [Q] siguiendo la ecuación 3.3, donde se observa que la extrapolación de los puntos obtenidos experimentalmente hacia el eje y coincide con un valor de uno como se muestra en la ecuación 3.3 y una pendiente negativa, por lo que tiene concordancia con la ecuación mencionada, en la ecuación 3.4 se muestra la correspondiente regresión lineal presentada en la figura 3.3 (b) con un $R^2 = 0.991$.

$$\frac{i_{sat}-i_n}{i_{sat}} = (1.01 \pm 0.02) - (21,281 \pm 684) * [Q] \quad (3.4)$$

Dando un valor mayor a los que se calcularon en solución de $\text{Log } K$ de 4.33 ± 0.01 , debido a que, bajo esta metodología, se fuerza a que lleguen las moléculas de Q a la superficie.

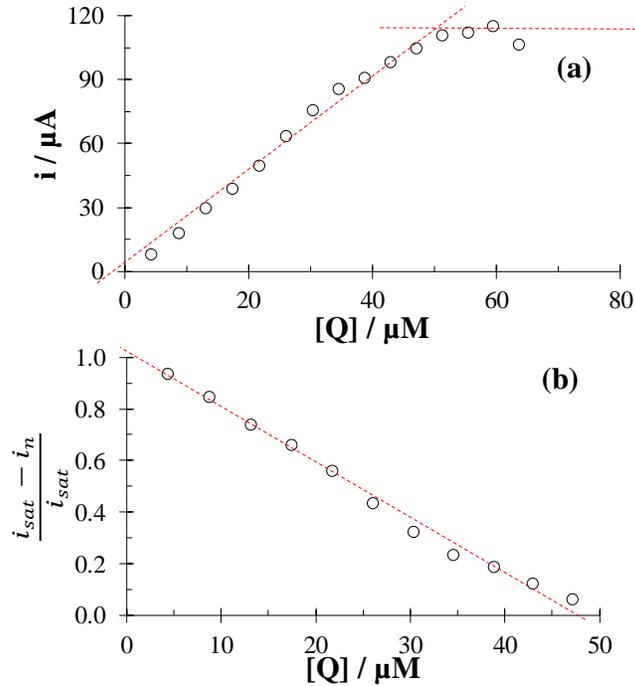


Figura 3.15 Relaciones de i en función de la $[Q]$ usando un EPCM con βCD (a) y de $\frac{i_{sat} - i_n}{i_{sat}}$ en función de $[Q]$ (b) usando los resultados de la figura 3.14 y la ecuación 3.3.

Este valor de $\log K$ es mayor a los anteriores debido a que aquí se forzó a que llegue la especie electroactiva (Q) a la superficie debido a que manipulamos el potencial impuesto.

3.4.2.3 Imágenes de AFM de la polimerización de βCD sobre el EPC

En la figura 3.12 se mostró la polimerización de la βCD sobre la superficie de un EPC, mostrando la adsorción de la βCD debida a la oxidación de estos monómeros en la superficie del electrodo. En la figura 3.16 se muestran las imágenes de AFM de otra polimerización de βCD sobre un EPC, en el inciso (a) se muestra el voltamperograma donde se muestra como aumenta la corriente capacitiva al aumentar el número de ciclos y en los incisos consecutivos se muestran las imágenes AFM de las superficies del EPC desnudo y cuándo ya se ha formado el polímero de βCD a dos escalas. En estas dos últimas imágenes, se puede ver la formación del polímero, y en la última se pueden observar formas parecidas a pequeños cilindros, los cuales han sido mostrados en otro trabajo ¹²³.

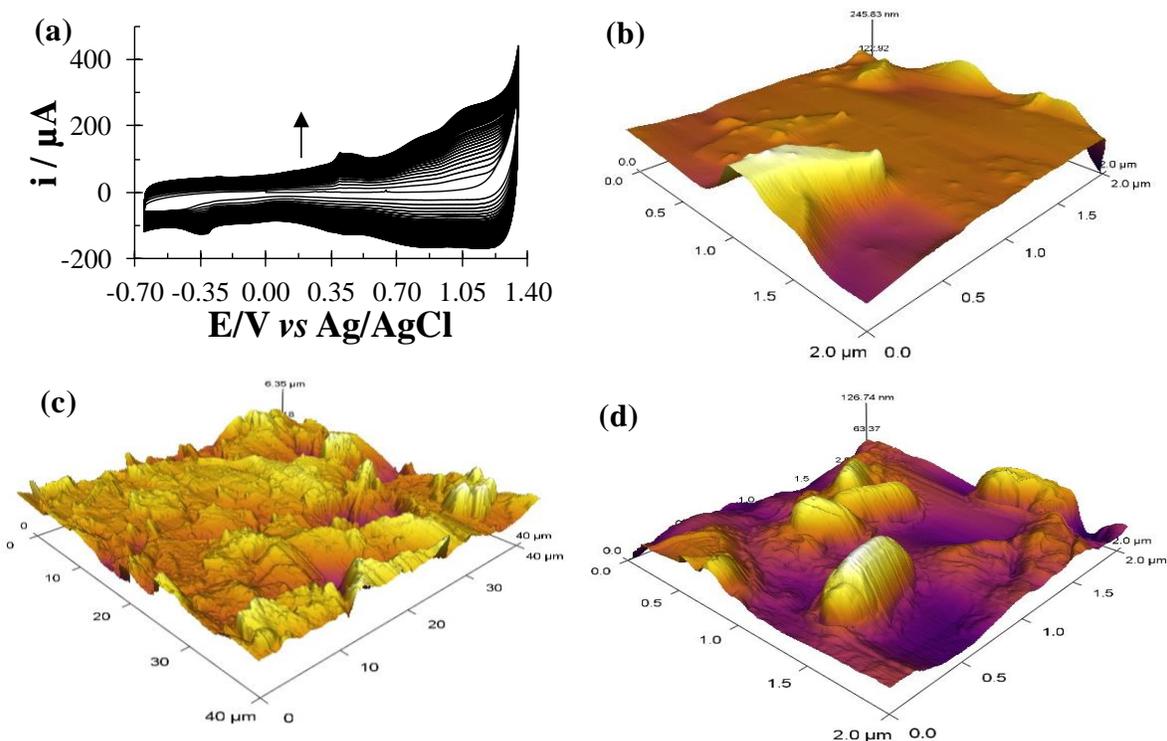


Figura 3.16 Voltamperograma cíclico de 8.0 mM (30 ciclos) sobre la superficie del EPC (a) e imágenes AFM de: EPC desnudo (b) y de la polimerización de βCD a 40x40 μm (c) y 2.0x2.0 μm (d). El disolvente usado para el inciso fue ClO_4^- 1.0 M pH 1.0.

3.5 Tamaños de asociaciones moleculares formadas por βCD

En los capítulos anteriores se usó la técnica de DLS para determinar el tamaño de las micelas, dando como resultado el diámetro de estas asociaciones de surfactante y además estas micelas se aglomeran entre ellas mismas para dar estructuras mucho más grandes, pero en menor cantidad que las mismas micelas. Ahora, se analizan tres concentraciones de 1.9, 8.0 y 14.0 mM de βCD por DLS, figura 3.18, donde se tienen dos tamaños de partícula por cada concentración a excepción de 8.0 mM que solo dio un tamaño de partícula, tabla 3.2. Los tamaños de partícula más pequeños presentes en las concentraciones de 1.9 y 14.0 mM son muy cercanos, al igual lo son los tamaños más grandes presentes en las concentraciones de 8.0 y 14.0 mM los cuales están muy cercanos a 600 nm o 0.6 μm . El tamaño de partícula más pequeño podría ser la de dos o tres βCD unidas, ya que esta molécula tiene un diámetro de la cavidad de 0.60 a 0.65 nm y 0.79 nm de altura¹⁰⁰⁻¹⁰² y los tamaños más grandes son asociaciones de la misma βCD , aunque partículas más pequeñas son las que están presentes en mayor cantidad.

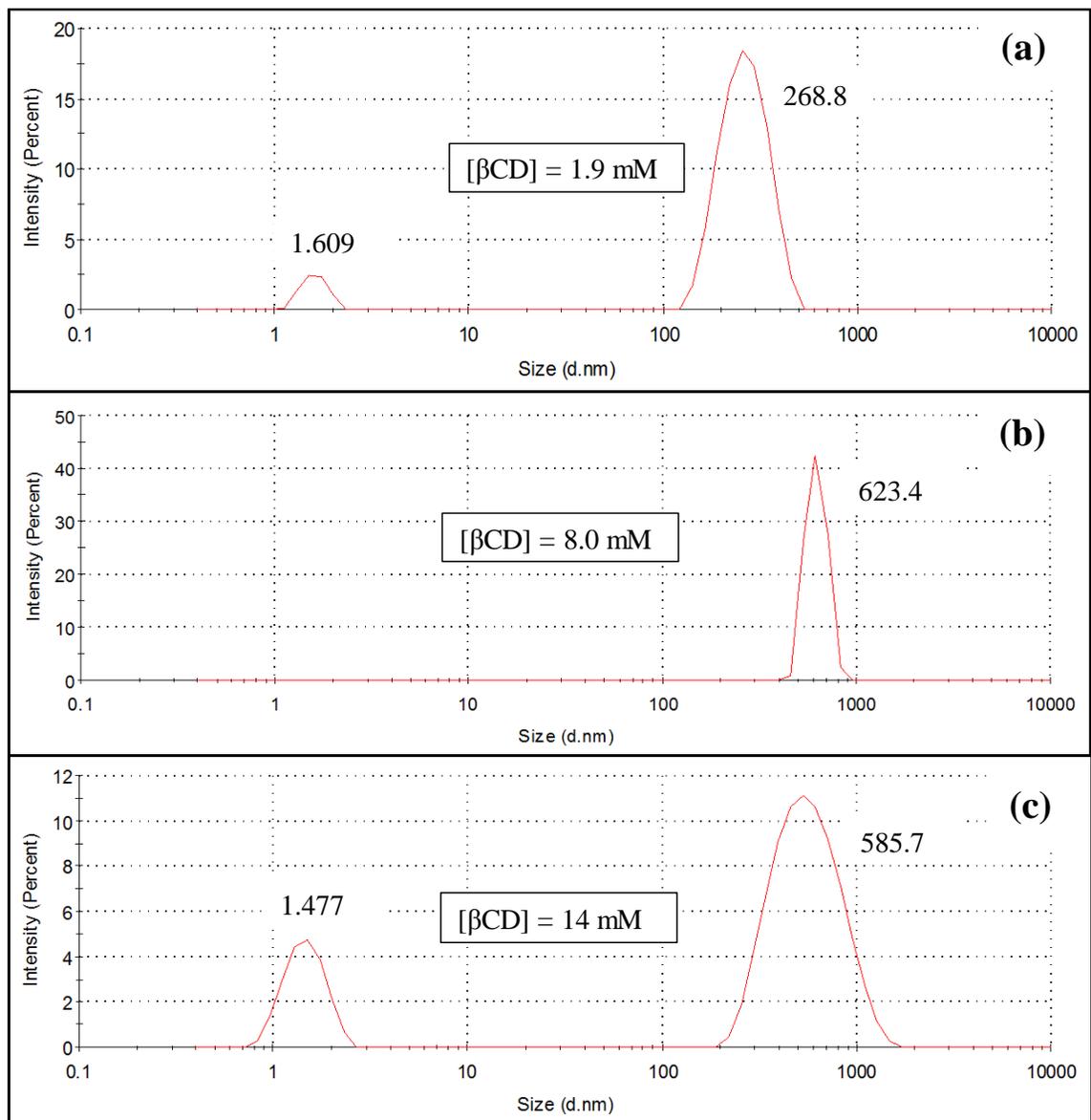


Figura 3.17 Relaciones de porcentaje de intensidad en función del tamaño (diámetro hidrodinámico) de 1.9 mM (a), 8.0 mM (b) y 14 mM de β CD (c). Usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4.7.

Cuando se usa una concentración de 8.0 mM de β CD, nos da un tamaño de partícula de aproximadamente 620 nm o 0.62 μm el cual corresponde al mostrado en la figura 3.16 (d) cuando se analizó por AFM, lo que quiere decir que estos aglomerados de β CD que se forman en la solución se adsorben en las superficies, aunque cabe señalar que el equipo de DLS al medir algún tamaño de partícula lo asemeja a una esfera¹²⁴ y no a la forma correcta que se tenga, pero en este caso midió la longitud de este

arreglo, además, la β CD forma arreglos moleculares más grandes como los que se muestran en la figura 3.17 (c) y (d), los cuales son de tamaños mucho más grandes que el equipo de DLS no es capaz de detectar.

Tabla 3.3 Diámetro de partículas en sistemas con β CD, usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4.7.

$[\beta\text{CD}]_{\text{fija}} / \text{mM}$	Diámetro / nm	
	1°	2°
1.9	1.609 ± 0.235	268.8 ± 71.8
8.0	-	623.4 ± 75.5
14.0	1.477 ± 0.337	585.7 ± 230.1

3.6 Conclusiones C3

Se demostró que la formación del complejo Q- β CD confiere estabilidad a la Q al igual que los surfactantes.

Se propone la formación del complejo Q- βCD_3 , corroborado por distintas técnicas cuando el análisis se realizó con el método computacional de SQUAD, en la literatura no se encuentran algún valor reportado para este complejo. Además, se demostró que la β CD forma arreglos moleculares, los cuales podrían interactuar con la Q para la formación del complejo Q- βCD_3 .

Capítulo 4. Determinación de la CMC y tamaño de las micelas en presencia de la β CD

*Aunque ellos sean cien y yo sólo uno
no significa que tengan razón.*

-Albert Einstein *

* Jose Luis Cordoba Frunz. Recopilación de Frases Célebres. Ediciones Privadas de Cultura, Adolfo Prieto 1357, C. P. 03100, (2012).

4.1 Introducción

En los capítulos predecesores, se determinaron las concentraciones necesarias para que se formen las micelas, se demostró la formación del complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$ y se cuantificó el diámetro de la $M^{\text{Surfactante}}$ esférica usado al SDS, CTAB y TX100. Más adelante, se demostró también la formación del complejo Q- β CD en solución y en superficie. En este capítulo se determinará el valor de CMC y el tamaño de la $M^{\text{Surfactante}}$ en presencia de β CD, ya que, como hipótesis de este capítulo se tiene que la β CD afectará a estos dos parámetros a medir, debido a que se ha demostrado extensamente la interacción de la β CD con los surfactantes ¹³⁴⁻¹⁴⁴. Se inicia con una breve descripción de la química supramolecular, debido a que es la encargada de interacciones débiles entre arreglos moleculares complejos.

El término de *química supramolecular* fue introducido en 1978 por Jean-Marie Lehn y fue definido como “la química más allá de la molécula”, lo que implica que esta disciplina de la química se ocupa de interacciones intermoleculares y ensamblajes moleculares que, no están basados en enlaces covalentes, como por ejemplo los complejos formados por: CD's y surfactantes ¹³³.

Se encuentran trabajos donde, se ha estudiado la formación de complejos de inclusión formados entre la CD y monómeros de surfactantes, donde se evidencia que dichos complejos sí se forman, y lo hacen con una estequiometría de 1:1 y 2:1 ¹³⁴⁻¹⁴⁴. Cuando se trabaja con sistemas donde se tienen tres compuestos como: β CD, surfactante y una molécula de interés, MI, la interpretación de las nuevas interacciones ya no es trivial. Algunos autores han analizado y reportado los resultados de estos sistemas, donde se comparan los complejos formados por la MI con la CD y la MI con un surfactante ^{145 y 146}, otros han analizado las interacciones generadas con los tres compuestos en el mismo sistema, dando como conclusión la formación de complejos ternarios y obviando las interacciones entre la CD y el surfactante en cuestión ¹⁴⁷⁻¹⁵² y algunos otros reportan, que no se forman complejos ternarios, debido a que, si se tiene el complejo de inclusión formado entre la CD y la MI, la presencia del surfactante romperá dicho complejo, para dar origen al complejo binario formado entre la CD y el surfactante con estequiometría 1:1 y 2:1 ^{153 y 154}.

Es importante conocer adecuadamente el mecanismo o mecanismos que conllevan a la formación de complejos que, involucra a estos tres compuestos para así entender e interpretar correctamente lo que sucede en el sistema. En el capítulo 1 y 2 se comprobó que se puede medir el valor de CMC de los surfactantes con distintas técnicas, ya sea, midiendo alguna propiedad del surfactante (método directo) o los

cambios originados en la propiedad de una molécula de referencia debido a la presencia de algún surfactante (método indirecto), por lo que se calculará el valor de CMC de tres surfactantes en presencia de la β CD y de Q.

4.2 Metodología

Se prepararon soluciones madres de los surfactantes: SDS, CTAB y TX100 disueltas en agua cada una; se preparó una solución concentrada de quercetina disuelta en metanol; para obtener la concentración de la β CD requerida, se pesó la masa de la β CD y se agregó directamente al sistema. De las soluciones concentradas se tomaron alícuotas para agregarlas a los distintos sistemas y así obtener las concentraciones deseadas.

Se prepararon dos soluciones de concentraciones 0.1 y 0.0001 M de ClO_4^- (a partir del ácido), a las cuales se les agregó suficiente NaOH para ajustar el pH a aproximadamente 4.6. Estas soluciones fueron usadas como disolvente. En los sistemas donde se empleó SDS y TX100 se mantuvo constante la temperatura a 25 °C y a 28 °C para los sistemas donde se usó CTAB.

Para la determinación de la CMC del SDS, seis sistemas fueron preparados con un volumen de 20 mL de ClO_4^- 0.1 M a pH de aproximadamente 4.2 M, concentración de Q de 6×10^{-5} M y concentraciones de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 mM de β CD. A cada uno de los sistemas, alícuotas de la solución madre del SDS fueron añadidas y su respectiva tensión superficial fue medida después de cada adición hasta tener un valor de tensión superficial constante.

Para la determinación de la CMC de los surfactantes con fluorescencia, seis sistemas fueron preparados con un volumen de 5 mL de ClO_4^- 0.1 M, concentración de Q de 6×10^{-5} M y concentraciones de: 0.0, 1.9, 3.8, 5.9, 7.3 y 10.0 mM de β CD. A cada uno de los sistemas, alícuotas de la solución concentrada de uno de los surfactantes fueron agregadas y el respectivo espectro de emisión fue medido después de cada adición. El mismo procedimiento fue repetido dos veces, en la primera repetición se prepararon cuatro sistemas con concentraciones de β CD de 0.0, 1.9, 5.9 y 7.7 mM, el surfactante añadido fue el CTAB y el disolvente usado fue ClO_4^- 0.0001 M pH 4. Para la segunda repetición se prepararon cuatro sistemas con concentraciones de 0.0, 2.0, 6.0 y 10.0 mM de β CD respectivamente, el surfactante añadido fue el TX100 el disolvente empleado fue el mismo que para el SDS.

También dos sistemas fueron preparados con 20 mL de ClO_4^- 0.1 M pH 4, 1.0 mM de SDS y solo uno de ellos contenía una concentración de 6×10^{-5} M de Q, a cada sistema se le agregó β CD hasta obtener un valor de TS de aproximadamente 65 mN/m. Un sistema más fue preparado, que contenía como disolvente ClO_4^- 0.1 pH 4, concentración de Q 6×10^{-5} M y 9.34 mM de SDS, a este sistema se le añadió β CD en un intervalo de [0, 12.1] mM midiendo su respectivo espectro de emisión después de cada adición.

Para el cálculo de CMC de los surfactantes con espectrofotometría UV-Vis, se prepararon tres sistemas que contenían como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4, con una concentración de 5.7×10^{-5} M de Q y una concentración diferente de β CD: 0.0, 4.0 y 7.8 mM. A cada uno de los sistemas, alícuotas de la solución concentrada de SDS fueron agregadas y el respectivo espectro de emisión fue medido después de cada adición. El mismo procedimiento fue repetido dos veces, en la primera repetición se prepararon cuatro sistemas con concentraciones de β CD: 0.0, 2.0, 4.7 y 6.6 mM y el surfactante añadido fue el CTAB el disolvente usado fue ClO_4^- 0.0001 M pH 4. Para la segunda repetición se prepararon cuatro sistemas con concentraciones de 0.0, 2.0, 6.0 y 9.0 mM de β CD respectivamente y el surfactante añadido fue el TX100 el disolvente empleado fue el mismo que para el SDS. Un sistema más fue preparado que contenía como disolvente ClO_4^- 0.1 pH 4, una concentración de Q 6×10^{-5} M y 8.26 mM de SDS, a este sistema se le añadió β CD en un intervalo de [0, 19.9] mM midiendo su respectivo espectro de absorción después de cada adición.

Para la medición del tamaño de la micela, se prepararon tres sistemas que contenían como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4 y concentraciones de SDS y β CD diferentes: 2.5 y 0.0, 4.5 y 2.0, y 9.0 y 8.0 mM de SDS y β CD respectivamente. El mismo procedimiento fue repetido dos veces, en la primera repetición se prepararon dos sistemas con concentraciones diferentes: 2.0 y 0.0, y 3.0 y 2.0 mM de CTAB y β CD respectivamente el disolvente usado fue ClO_4^- 0.0001 M pH 4; para la segunda repetición se prepararon dos sistemas con concentraciones diferentes: 1.0 y 0.0, y 3.0 y 2.0 mM de TX100 y β CD respectivamente y el disolvente empleado fue el mismo que para el SDS.

4.3 Determinación de la CMC en presencia de β CD

Sabemos que la presencia de la Q en bajas concentraciones no afecta el valor de la CMC, pero se desconoce que sucede con dicho valor en presencia de otro arreglo molecular como la β CD.

4.3.1 CMC del SDS

4.3.1.1 Tensión superficial

4.3.1.1.1 Zona micelar

La técnica *tensión superficial*, TS, es usada para el cálculo de la CMC de los surfactantes, ya que es una técnica que mide la energía necesaria para aumentar una superficie por unidad de área o la fuerza necesaria para aumentar la longitud de una superficie, debido a que el surfactante se adsorbe en las interfaces, ocasionando la reducción de esta energía o fuerza. En la figura 4.1 se tiene una relación de la TS en función de la concentración de SDS en un sistema de iones ClO_4^- 0.1 M ajustado a pH 4.682, cuanto más surfactante se agrega al sistema, el valor de TS disminuye hasta llegar a un valor constante, el valor de concentración de SDS a partir del cual la tensión superficial permanece constante se le conoce como CMC, en este caso el valor de CMC es 1.3 ± 0.1 mM de SDS, como se mostró en el capítulo 2 (la desviación estándar mostrada en el valor reportado se obtuvo de la propagación de incertidumbres de las regresiones lineales de cada línea).

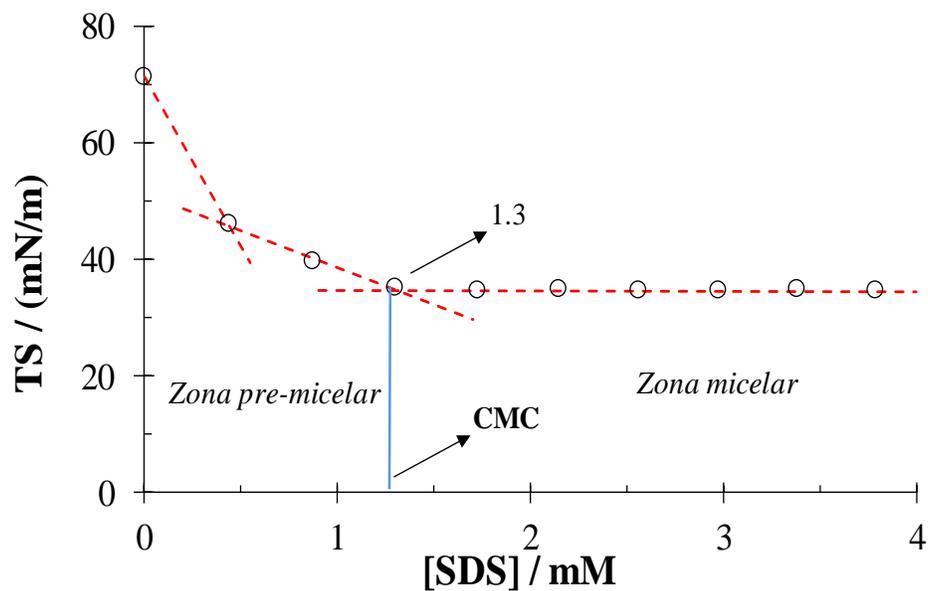


Figura 4.1 TS en función de la concentración del SDS en un sistema de iones ClO_4^- 0.1 pH ajustado a 4.7.

El valor de TS disminuye debido a que las moléculas del surfactante se desplazan a la superficie de la solución (interface solución-aire), antes del valor de CMC, disminuyendo la fuerza necesaria para romper una película de 1 cm, conforme más moléculas se desplacen a este sitio, menor será la TS, debido a que la estructura del surfactante consta de dos partes con carácter polar (cabeza) y no polar (cola), donde la cola sufre repulsión por las moléculas de agua ocasionando la expulsión del tensoactivo. El intervalo de concentración que está antes de la CMC se le conoce como *zona pre-micelar* y la zona que está después de la CMC se le conoce como *zona micelar*, en esta última zona, ya se han formado las $M^{\text{Surfactante}}$ ¹⁵⁵⁻¹⁵⁸. En la zona pre-micelar que se muestra en la figura 4.1, se tiene un cambio en aproximadamente 0.4 mM de SDS, el cual puede ser debido a que los monómeros del surfactante se comienzan a asociar para formar dímeros, trímeros, etc. (hemimicelas).

En la figura 4.2(a) se tiene la relación de TS en función de la concentración del SDS de seis sistemas que contienen, Q y β CD con concentraciones diferentes en cada uno, en un medio de ClO_4^- 0.1 M a pH 4.682, a este valor de pH la Q estará completamente protonada ¹⁵⁹ y el SDS estará completamente desprotonado ¹⁶⁰. La presencia de β CD aumenta el valor de la CMC, tabla 4.1, debido a que la CD forma complejos de inclusión con el surfactante. En la figura 4.2(b) se tiene la relación del cociente de la concentración de β CD y CMC en función de la concentración de β CD, donde se puede observar que, al aumentar la concentración de la CD, el cociente se aproxima a uno, lo que implica que el complejo de inclusión formado por la CD y los monómeros de SDS tendría una estequiometría 1:1 al tener concentraciones mayores a 6 mM de β CD (antes de la formación de la $M^{\text{Surfactante}}$).

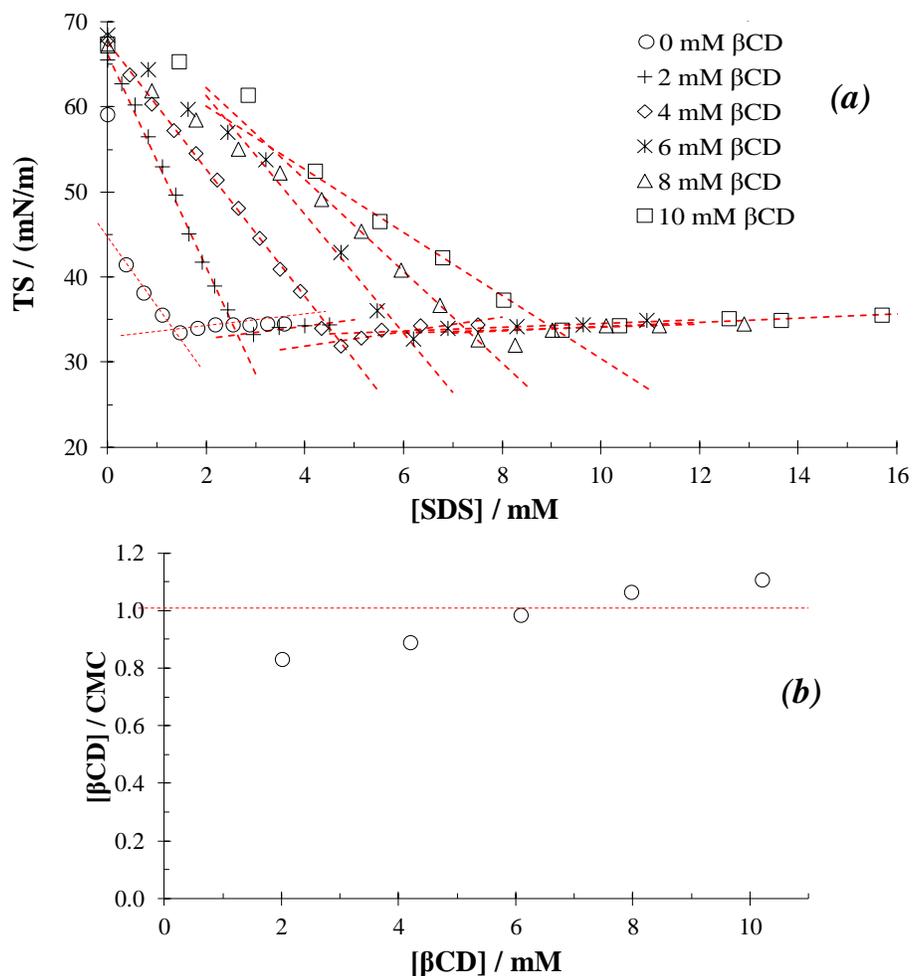


Figura 4.2 Relación de TS en función de la concentración del SDS, en seis sistemas contienen Q 6×10^{-5} M y 0, 2, 4, 6, 8 y 10 mM de β CD respectivamente (a) y relación del cociente de la concentración de β CD y CMC en función de la concentración de β CD (b), usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M a pH 4.

Tabla 4.1 Valores de CMC_{SDS} en presencia de β CD calculados con TS.

$[\beta\text{CD}] / \text{mM}$	$\text{CMC}_{\text{SDS}} / \text{mM}$	$[\beta\text{CD}] / \text{CMC}_{\text{SDS}}$	$[Q] / \mu\text{M}$
0	1.24	0.00	60
2	2.63	0.76	60
4	4.69	0.85	60
6	5.97	1.01	60
8	7.31	1.09	60
10	9.05	1.10	60

El complejo de inclusión formado por β CD-SDS que se forma antes de la micela, se desplaza hacia la superficie reduciendo la TS, debido a que la longitud de la cola es mayor a la longitud de la cavidad de la β CD y una parte de esta, quedará fuera de la cavidad. Por lo cual, se entiende que los complejos de inclusión, no intervienen en la formación de la $M^{\text{Surfactante}}$ y tal vez, la $M^{\text{Surfactante}}$ solo estará formada por monómeros de SDS como se muestra en la imagen 4.1.

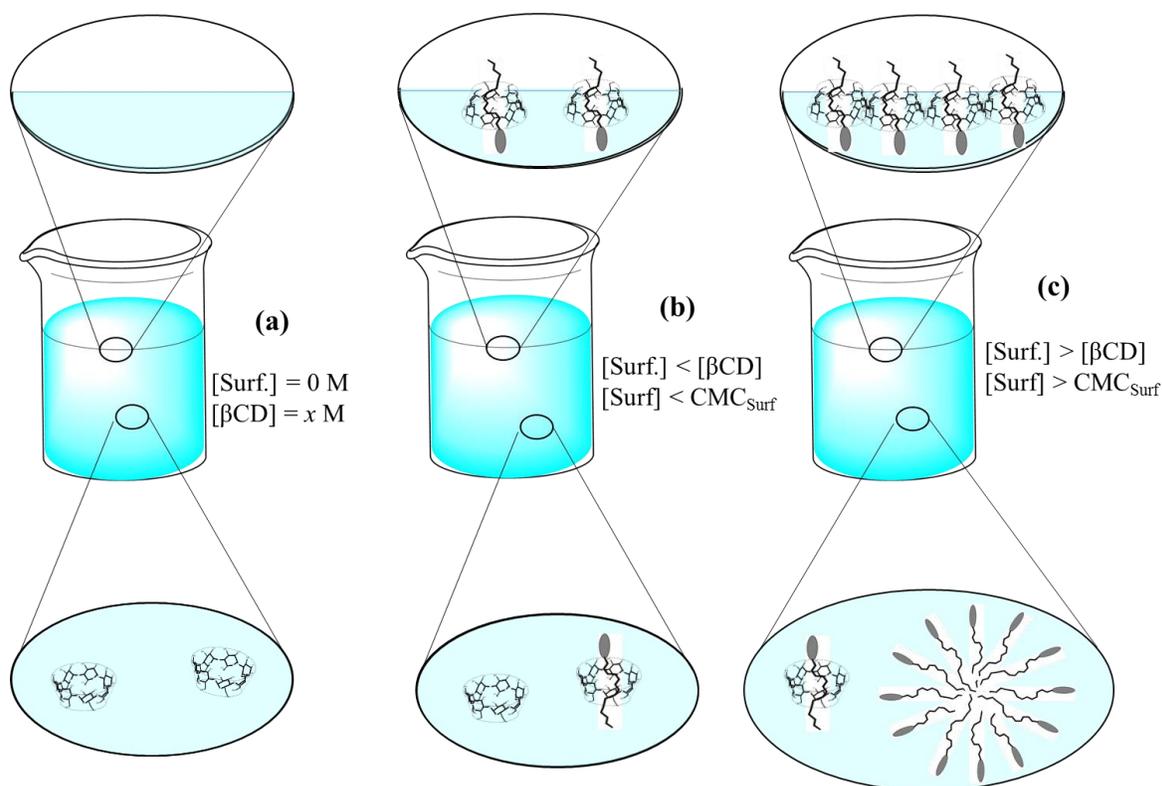


Imagen 4.1 Representación de la adsorción de las moléculas de un surfactante en la interfase líquido-aire, bajo condiciones de concentraciones diferentes de β CD y surfactante: $[\text{Surfactante}] = 0 \text{ M}$ y $[\beta\text{CD}] = x \text{ M}$ (a), $[\text{Surfactante}] < [\beta\text{CD}]$ y $[\text{Surfactante}] < \text{CMC}_{\text{Surfactante}}$ (b) y $[\text{Surfactante}] > [\beta\text{CD}]$ y $[\text{Surfactante}] > \text{CMC}_{\text{Surfactante}}$ (c).

4.3.1.1.2 Zona pre-micelar

Como se mencionó anteriormente y se indica en la figura 4.1, en la zona pre-micelar se da un cambio debido a la asociación de monómeros del surfactante, que es la formación de la hemimicela. En la figura 4.3 se analiza la zona pre-micelar de los

seis sistemas antes mostrados, pero en ausencia de Q, dando un cambio diferente a cada valor de β CD mostrado como la intersección de dos líneas punteadas en color rojo. En ausencia de la β CD, la TS se reduce rápidamente (antes del primer cambio de pendiente) y después del cambio señalado, la TS se reduce más lentamente, debido a que, la molécula del surfactante les cuesta más desplazarse a la superficie en comparación a lo que ocurrió antes del primer cambio y por ello se comienzan a asociarse entre ellas mismas. Pero ocurre lo contrario cuando se tiene β CD en el sistema, la TS se reduce lentamente antes del primer cambio en cada sistema (como si a las moléculas les costará llegar a la superficie) por lo que la TS no disminuye rápidamente, debido a que se forma el CI entre la β CD y los monómeros del surfactante, y debido a que la cavidad de la β CD es hidrofóbica e igual que la cola del surfactante, la cola entrará a la cavidad de la β CD y al estar presente en mayor cantidad la β CD, el complejo de inclusión estará formado por más de una β CD con un surfactante (de esta manera la cola del surfactante evita la repulsión causada por las moléculas polares), y su relación estequiométrica cambia a 1:1 (ver figura 4.2 (b)) antes de que se forma la micela.

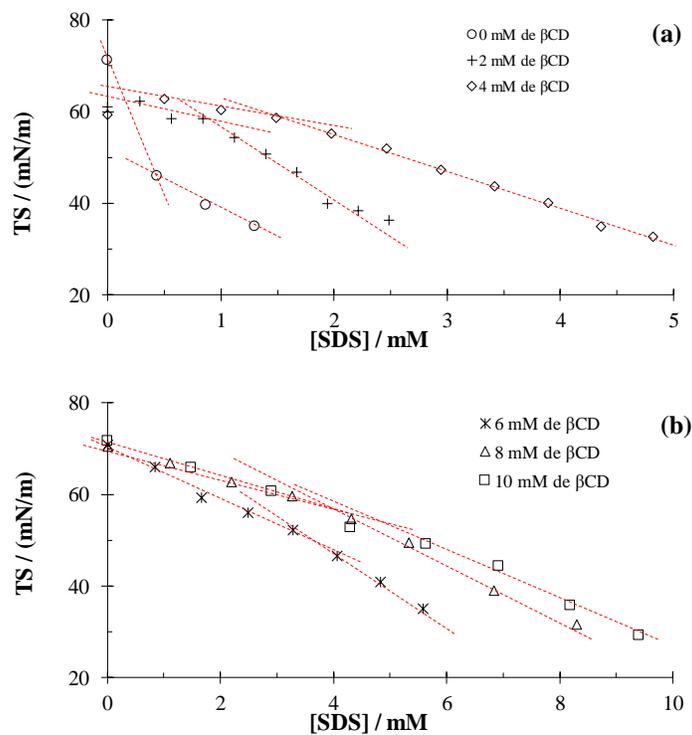


Figura 4.3 TS en función de la concentración del SDS a 0, 2, 4 (a) 6, 8 y 10 mM de β CD (b) de la zona *pre-micelar*, en un sistema de iones ClO_4^- 0.1 pH 4.7.

En la imagen 4.2 se muestra una representación del cambio de estequiometría del complejo β CD-SDS. Cuando se tiene una concentración baja del surfactante (lado izquierdo de la figura), la cola entrara en las cavidades de más de una β CD, por lo que ya no habra una repulsión hidrofóbica entre la cola y las moléculas polares del disolvente, por lo que la TS no disminuye como cuando, no se tiene a la β CD (ver figura 4.3), pero conforme se aumente la concentración del SDS, la estequiometría cambiará hasta obtener una relación 1:1 antes de que se forme la M^{SDS} , si esto ocurre, una parte de la cola del surfactante quedará fuera de la cavidad de la β CD ocasionando repulsiones hidrofóbicas en esta parte de la molécula del surfactante (lado derecho de la figura), por lo cual este complejo con estequiometría 1:1 se desplazará a la superficie de la solución ocasionando una reducción en la TS del sistema.

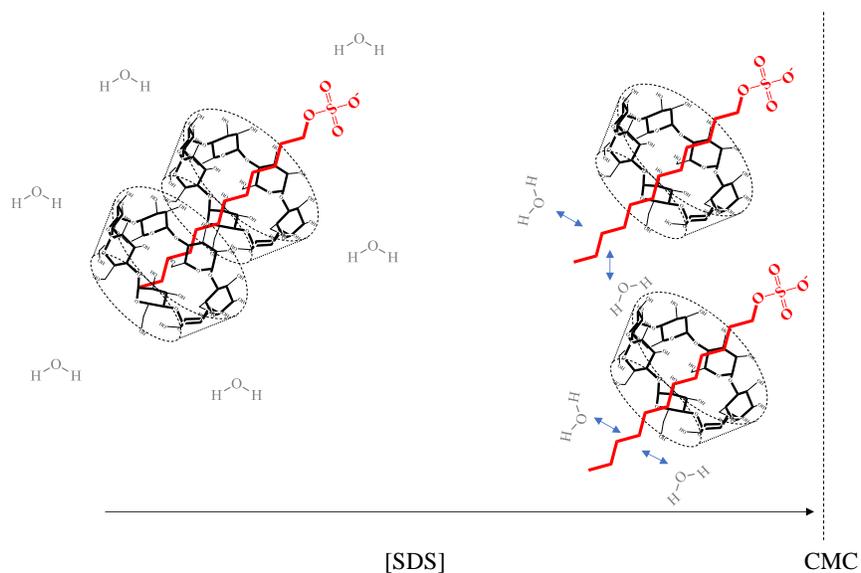


Imagen 4.2 Representación del cambio de estequiometría del complejo β CD-SDS al aumentar la concentración de SDS en la zona pre-micelar.

En la figura 4.4(a) y (b) se muestra con un círculo en negro la TS debida solo al disolvente usado, el cual desciende al agregar al SDS (circulo vacío con menor valor de TS) y conforme se aumenta la concentración de β CD la TS aumenta, hasta regresar un valor próximo al original, esto ocurre debido a que al agregar SDS las moléculas de surfactante se desplazan a la superficie (se adsorben en la interface a causa de la repulsión ocasionado por las moléculas polares del agua) y al agregar

β CD al sistema, estas moléculas introducen en sus cavidades las colas del SDS, por lo que la TS aumenta (la β CD retira las moléculas del surfactante que se encuentran en la superficie). En estas mismas gráficas se muestra también un cambio de pendiente a 1.37 y 1.44 mM que son próximos en ambos casos a 1 mM de SDS, por lo que la estequiometría estaría dada por 1:1, mostrando un aumento en la TS. Después de dicho cambio de pendiente se tiene un aumento en la TS continuo hasta llegar al valor de TS original, por lo que complejo de inclusión formado por la β CD-SDS cambiará de una estequiometría 1:1 a 2:1, 3:1 y 4:1, dependiendo de la longitud de la cola del surfactante.

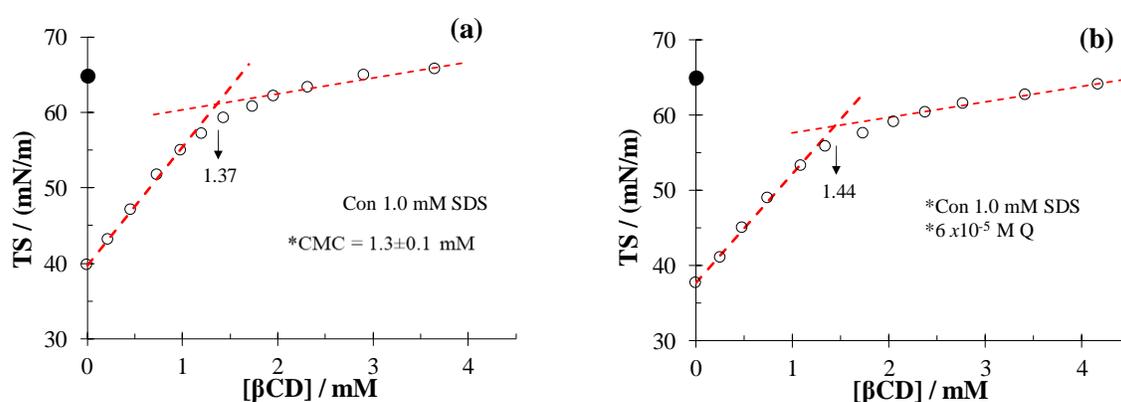


Figura 4.4 TS en función de la concentración de β CD con una concentración fija de 1 mM de SDS (a) y además con 6×10^{-5} M de Q (b) en un sistema de iones ClO_4^- 0.1 pH ajustado a 4.7, el círculo en negro representa la TS del disolvente.

En la imagen 4.3 se realiza el procedimiento contrario a lo mostrado en la imagen 4.2, donde se tiene una concentración fija de SDS menor al valor de su CMC y se añade β CD. Antes de agregar a la β CD, teniendo una concentración fija de SDS se tiene un valor de TS bajo (ver figura 4.4) debido a que los surfactantes se encuentran adsorbidos en la superficie del sistema. Cuando se agrega β CD al sistema, este arreglo molecular forma un CI con el SDS de la forma que se explicó anteriormente, por lo que, la cola del surfactante ya no sienta la misma repulsión hidrofóbica como la que sentía en ausencia de la β CD ocasionando que la TS aumente y cuando, la concentración de β CD es mayor a la concentración del surfactante, el CI estará formado por más de una β CD unida a un monómero de SDS como se muestra en el lado derecho de la misma imagen 4.3, por lo que la TS regresa a su valor original (ver figura 4.4).

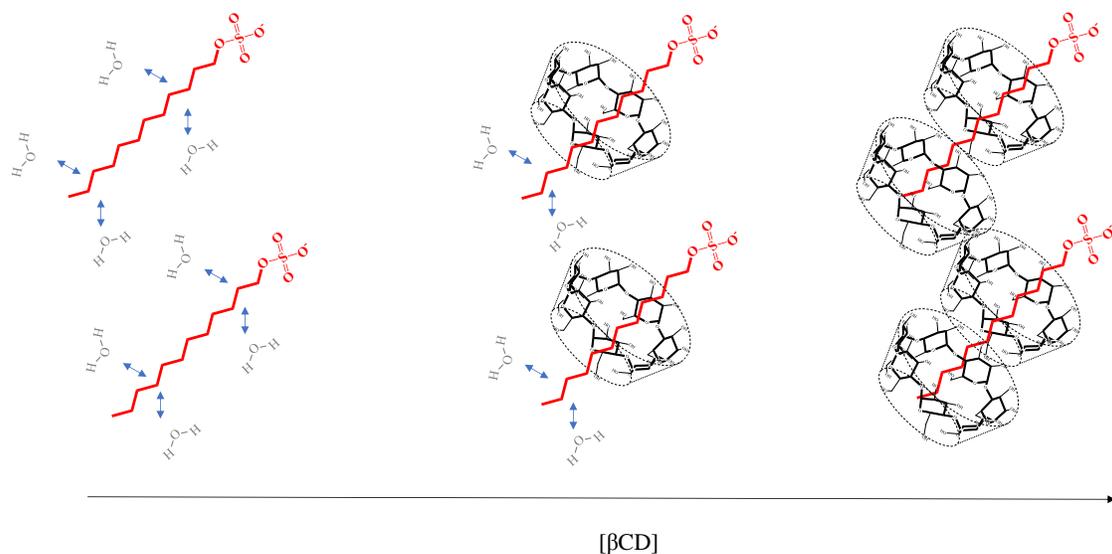


Imagen 4.3 Representaciones estructurales de la formación del CI entre la β CD y los monómeros de SDS al aumentar la concentración de β CD, dentro de la zona pre-micelar.

4.3.1.2 Fluorescencia

Como la presencia de la Q no afecta el valor de la CMC, se usa otra técnica espectroscópica para analizar el efecto que tiene la presencia de la β CD en el valor de CMC. En la figura 4.5 se tienen los espectros de emisión de la Q que aumentan su IF cuando se agrega SDS al sistema, en el inciso (b) de la misma figura se tiene la relación de la propiedad medida en función de la concentración del surfactante, donde el primer cambio se atribuye al valor de CMC que en este caso es de 1.39 ± 0.07 mM (ver capítulo 2), a concentraciones mayores se tiene un segundo cambio, que podría ser atribuido a un segundo valor de CMC debido a un cambio estructural de la micela, además, cabe señalar que antes del valor de la CMC la IF aumenta poco, comparado a cuando ya se pasó el valor de CMC, donde la IF aumenta considerablemente, esto es debido a que, cuando ya se tiene formada la M^{SDS} , se compleja con la Q y esto hace a que se restrinja la movilidad de la Q haciéndola más rígida¹⁶¹, por lo cual fluoresce. Como en este punto nos interesa la zona pre-micelar y el primer valor de CMC, acotaremos el intervalo de concentración.

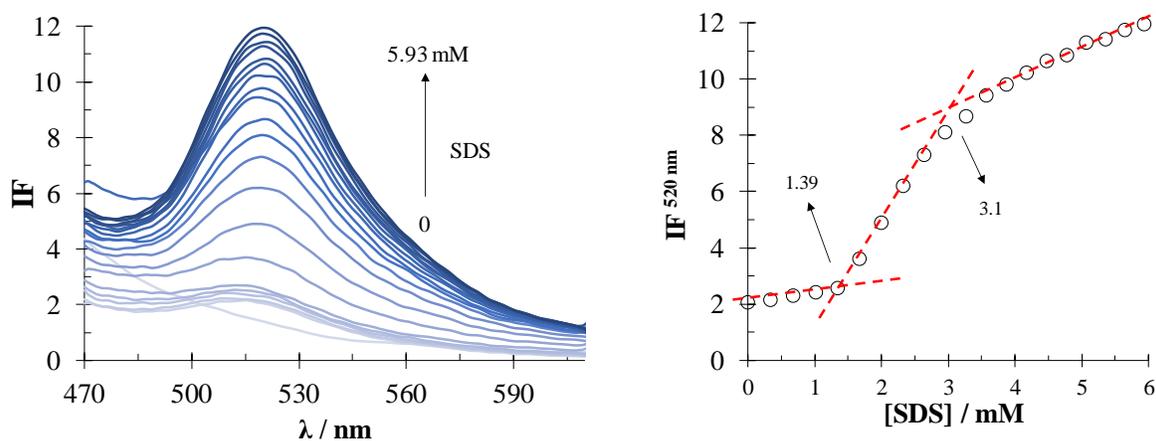


Figura 4.5 Familia de espectros de emisión ($\lambda_{\text{exit.}} 350 \text{ nm}$) de la Q $6 \times 10^{-5} \text{ M}$ que cambian al agregar SDS (a) y relación de IF en función de concentración de SDS medidas a 520 nm (b), en un sistema de iones ClO_4^- 0.1 pH 4.7.

En la figura 4.6 se muestran familias de espectros de emisión de la Q, cada sistema tiene concentraciones diferentes de βCD y se le añade a cada uno SDS. En cada familia de espectros de la figura 4.6, se muestran espectros donde el complejo formado hace que se dé un aumento de la IF, donde, conforme se aumenta la concentración de la βCD , también aumenta la cantidad de SDS necesaria para que se dé un aumento en la IF considerable, además, se muestra en color negro el espectro resultante del complejo Q- βCD , los cuales parecen tener una longitud de onda diferente a la del espectro con mayor fluorescencia en cada sistema como si se tratase de complejos diferentes, esto es debido a que, se tienen dos tipos de complejos, pero donde el primero se rompe para dar origen al segundo, que podría ser un complejo ternario o un complejo binario diferente al Q- βCD , como algunos autores reportan como se discutió en la introducción de este capítulo. *Las relaciones mostradas en la figura 4.6 presentan diferencias considerables entre las IF mostradas del lado derecho e izquierdo, debido a que el equipo fue diferente, pero no hay problema alguno, debido a que nos interesa el aumento considerable de IF.*

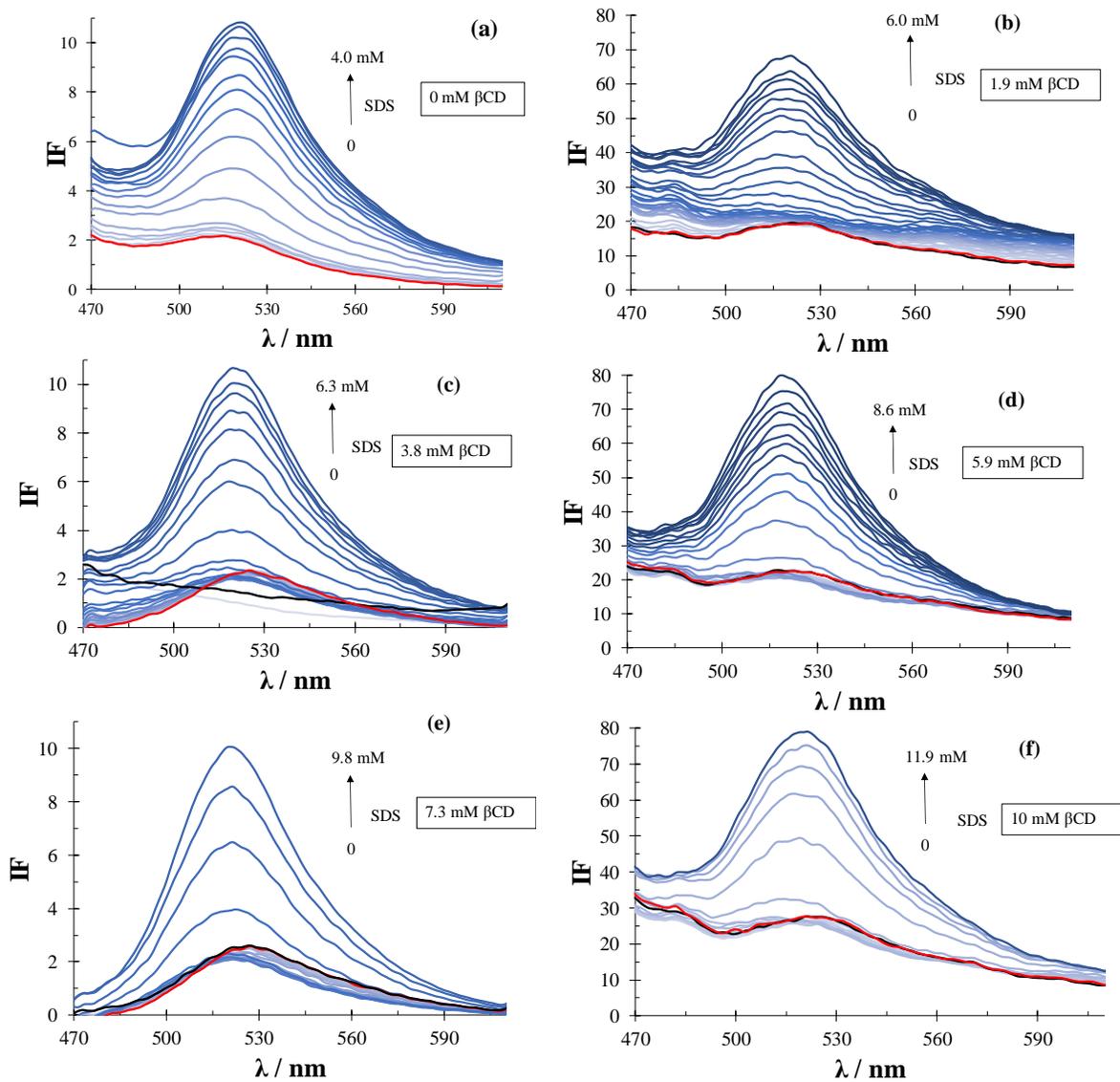


Figura 4.6 Familia de espectros de emisión de la Q 6×10^{-5} M (línea roja), con concentraciones fijas de β CD: 0 (a), 1.9 (b), 3.8 (c), 5.9 (d), 7.3 (e) y 10 mM (f), a cada sistema se añadió SDS, el espectro en color negro es el correspondiente al complejo Q- β CD en un sistema de iones ClO_4^- 0.1 pH 4.7, $\lambda_{\text{exit.}}=350$ nm.

En la figura 4.7(a) se tiene las relaciones de IF en función de la concentración del SDS a seis valores diferentes de concentración de β CD (ver figura 4.6), en otras palabras, se forma el CI de β CD-Q y se hace interactuar con el surfactante SDS.

Como se obtuvo en los análisis de TS, conforme se aumenta la cantidad de β CD, el valor de CMC aumenta también, tabla 4.2. En la misma figura se observa que,

cuando no se ha agregado el SDS, hay un pequeño aumento en la IF conforme se aumenta la concentración de β CD, esto es debido a que se forma el CI de Q- β CD. En los sistemas donde se tienen concentraciones de 3.8, 5.9, 7.3 y 10.0 mM β CD, se da una pequeña disminución en la IF cuando se añade SDS al sistema, en el intervalo

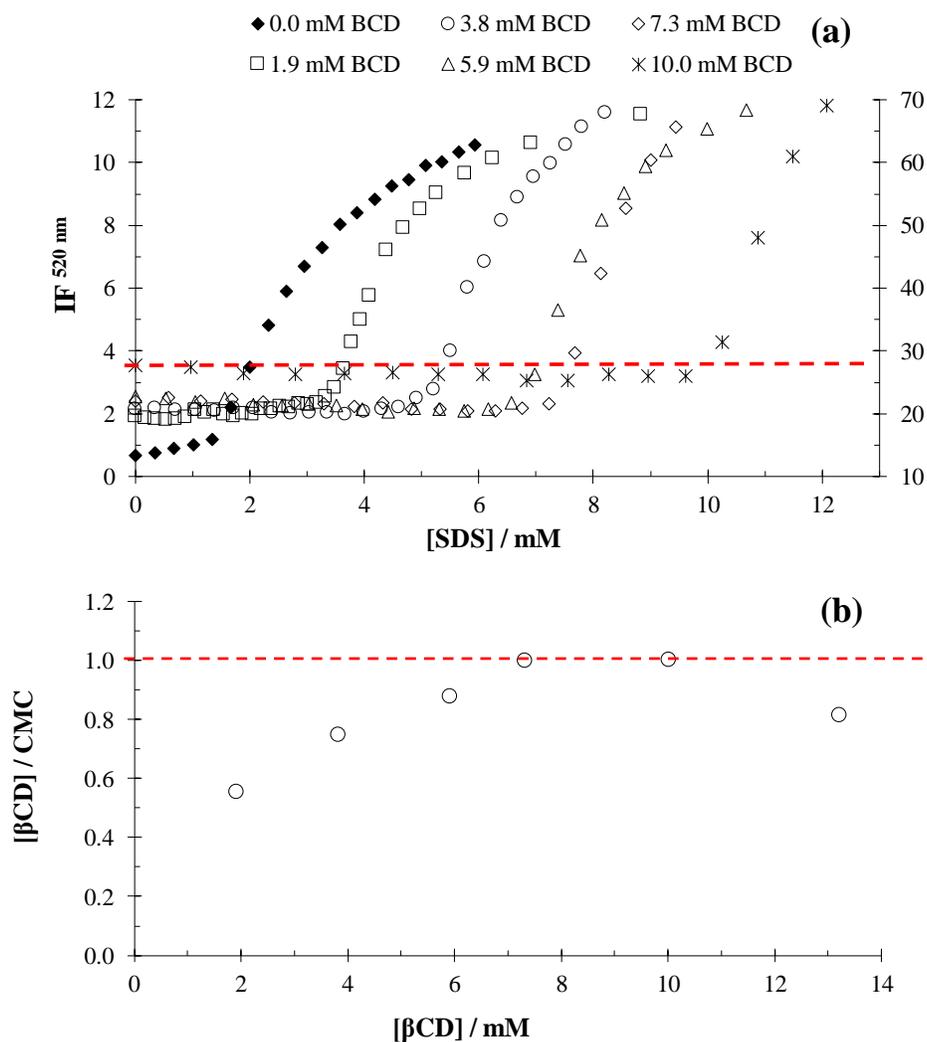


Figura 4.7 Relaciones de IF de la Q 6×10^{-5} M en función de la concentración del SDS en sistemas que contienen: 0.0, 1.9, 3.8, 5.9, 7.3 y 10.0 mM de β CD (las relaciones de 1.9, 5.9 y 10.0 mM de β CD corresponden al eje secundario de la derecha) (a) y relación del cociente de β CD/CMC en función de la concentración de β CD (b), los espectros usados son los de emisión ($\lambda_{\text{exit}} = 350$ nm) usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M ajustado a pH 4.7.

de concentración de 0 mM al valor de CMC_{SDS} para cada uno de estos sistemas (ver línea punteada de la figura 4.7(a)), esto es debido a que, se tiene formado el CI de Q- β CD y cuando se añade el SDS, los monómeros de este surfactante desplazan a la Q, que estaba ocupando la cavidad de la β CD, por lo que la Q quedará libre (pierde rigidez al no formar complejos) y como consecuencia la IF disminuirá un poco, imagen 4.4 escenario 1

Cuando se llega al valor de CMC, todas las β CD estarán complejadas con el SDS formando un nuevo CI β CD-SDS con estequiometría 1:1 como se mostró en las imágenes 4.2 y 4.3 (algunos CI estarán adsorbidos en la superficie y otros estarán en el seno de la solución), por lo tanto, el SDS que se añada a una concentración mayor a su nuevo valor de CMC, formarán a las M^{SDS} y estos arreglos moleculares interaccionarán con la Q formando el complejo Q- M^{SDS} por lo que se observa un aumento considerable en la IF después del nuevo valor de CMC, imagen 4.4 escenario 2.

Siguiendo esta hipótesis, las M^{SDS} solo estarán formadas por monómeros de SDS y no contendrán β CD o complejos β CD-SDS, ya que, la fuerza que origina que se formen a las micelas, es la repulsión hidrofóbica ocasionada por el disolvente sobre la cola del surfactante, bajo estas condiciones de trabajo, ya que, cuando se forma el complejo β CD-SDS se reduce la repulsión hidrofóbica y se evita la unión entre monómeros del surfactante, por lo que las *hemimicelas*, muy probablemente ya no se forman cuando está presente la β CD, debido a que se evita la asociación entre las moléculas de SDS, ya que la parte hidrofóbica del SDS al estar dentro de la cavidad de la CD no sentirá el mismo efecto de repulsión que cuando se tiene el SDS libre.

Parece ser que, cuando se tienen concentraciones menores a 6 mM de β CD en el sistema, se tendrán: complejos β CD-SDS, SDS y Q libres, donde el complejo y el SDS libre se adsorberán en la superficie de la solución antes de la formación de la micela, pero cuando la concentración de β CD es mayor a 6 mM, se tendrán a todos los SDS formando complejos con las CD's con estequiometría 1:1 (ver figura 4.7(b)), bajo la condición de que la concentración del SDS sea menor que su correspondiente valor de CMC.

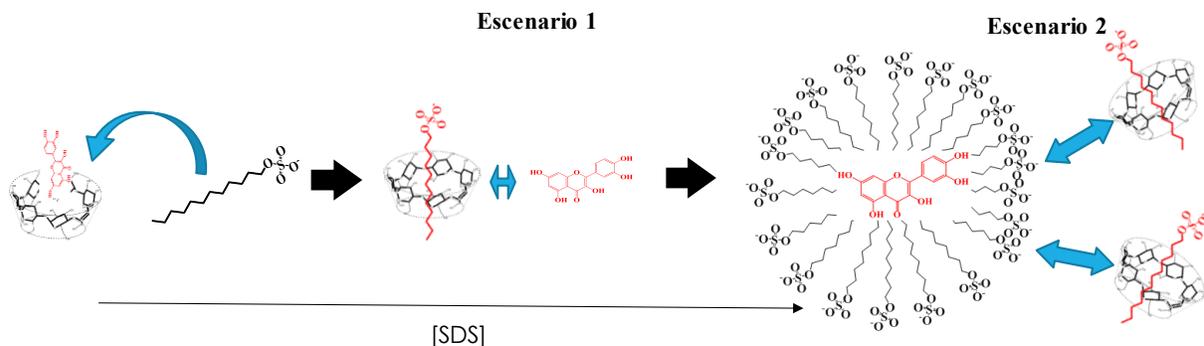


Imagen 4.4 Representación esquemática de efecto del SDS sobre el complejo de inclusión Q-βCD.

En la tabla 4.2 se muestran los valores del cociente de βCD con el valor de CMC calculados con fluorescencia, en donde se obtuvieron resultados similares a los obtenidos anteriormente con TS, a valores mayores de βCD este cociente se aproxima a uno.

Tabla 4.2 Valores de CMC_{SDS} en presencia de βCD calculados con fluorescencia.

$[\beta CD] / \text{mM}$	CMC_{SDS} / mM	$[\beta CD] / CMC_{SDS}$	$[Q] / \mu\text{M}$
0.0	1.39 ± 0.07	0.0	60
1.9	3.37 ± 0.03	0.6	57
3.8	5.00 ± 0.83	0.7	56
5.9	6.71 ± 0.39	0.9	56
7.3	7.23 ± 0.77	1.0	54
10.0	10.0 ± 1.4	1.0	60

Las preguntas correspondientes hasta el momento son: ¿la βCD realmente se inclina por el SDS y no por la Q? (*imagen 4.4-escenario 1*) y si se forma el complejo βCD-SDS, ¿este se unirá con la Q o con el complejo Q- M^{SDS} ? (*imagen 4.4-escenario 1 y 2*), por lo tanto, se analiza el efecto de la βCD en presencia del complejo micelar.

4.3.1.2.1 Efecto de la β CD sobre el complejo quercetina-micela (SDS)

En la figura 4.8 se muestra el espectro de emisión de la Q (color rojo) que aumenta su intensidad cuando se agrega el SDS (espectro en color azul oscuro con IF más alta) debido a que se forma el complejo $Q-M^{SDS}$, el cual disminuye en intensidad al agregar β CD al sistema, por lo que la β CD está interaccionando directamente con la M^{SDS} provocando la ruptura del complejo $Q-M^{SDS}$, debido a que se forman los complejos β CD-SDS, además, al agregar 9.5 mM de β CD se disminuye la IF hasta un valor mínimo, el cual es una cantidad equimolar a la que se tenía de SDS inicialmente, que fue de 9.34 mM, lo que refuerza la idea de que se forma el complejo β CD-SDS con estequiometría 1:1 al tener una concentración mayor a 6 mM de β CD (ver figura 4.7 (b)). En este punto se descarta una de las dos hipótesis que se presentaron en la introducción de este capítulo, la cual considera la formación de complejos ternarios ¹⁴⁷⁻¹⁵² y se infiere que realmente la β CD se inclina por el SDS y no por la Q como se mostró en la imagen 4.4 escenario 1.

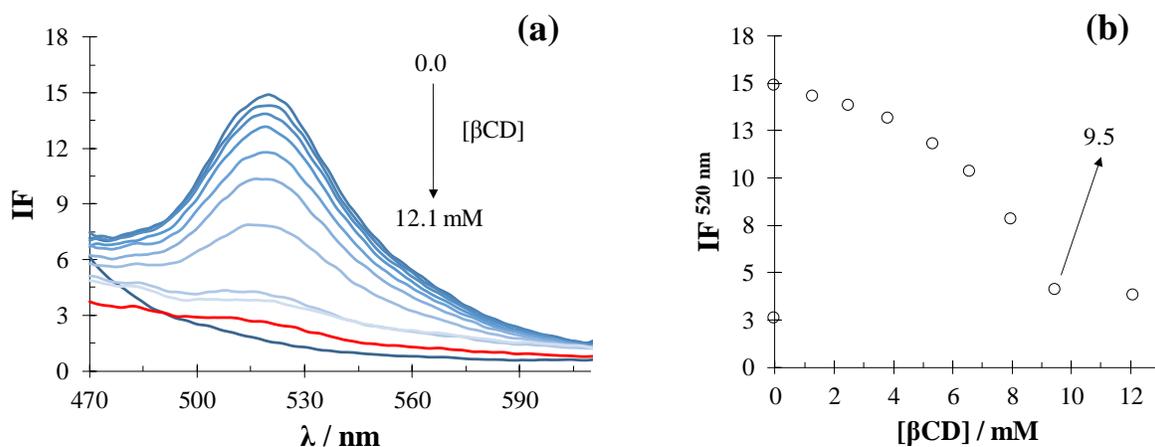


Figura 4.8 Familia de espectros de emisión de la Q 6×10^{-5} M (espectro en color rojo) con 9.34 mM de SDS (espectro en color azul oscuro con la IF más alta) que cambian al agregar de 0 a 12.1 mM de β CD (a) y relación de IF a 520 nm en función de la concentración de β CD (b), usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M a pH 4.7 ($\lambda_{\text{exit.}} = 350$ nm).

4.3.1.3 Espectrofotometría UV-Vis

Ahora se analiza si el complejo β CD-SDS se une a la Q (*imagen 4.4-escenario 1*). En la figura 4.9(a) se muestra el espectro de la Q (línea en color rojo) y espectros en color azul, los cuales se oscurecen cuando la concentración de SDS aumenta, estos espectros presentan desplazamientos hipocrómicos y batocrómicos para ambas bandas, siendo más evidente el desplazamiento hacia el rojo para la banda que aparece a 365 nm, esto es debido a se lleva a cabo la formación del complejo formado Q-M^{SDS} como se mostró anteriormente ($CMC_{SDS} = 1.3 \pm 0.1$ mM). En el inciso (b) y (c) de la misma figura se muestra sistemas como el mostrado en el inciso (a), con la diferencia de que en estos sistemas se tiene β CD en el sistema (espectro en color negro), los cuales representa al complejo de Q- β CD ($[SDS] = 0$ mM). En cada inciso se muestran dos relaciones de A en función de la concentración de SDS a 253 y 365 nm como insertos. En los insertos a 253 nm de los incisos (b) y (c) se muestra dos puntos a $[SDS] = 0$ mM, que tienen diferentes valores de A, el que tiene la menor A es el espectro en color rojo y el de mayor A es el espectro en color negro; cuando se tienen concentraciones equimolares de β CD y de SDS, su espectro correspondiente tendrá una A similar a la del espectro de la Q sola (líneas punteadas rojas).

Ahora se define la *fracción del complejo*, x^λ , ecuación 4.1.

$$x^\lambda = \frac{A^\lambda}{A^{\lambda}_{Complejo}} \quad (4.1)$$

Donde x^λ es la fracción de absorbancias a una longitud de onda, A^λ es la absorbancia A medida y $A^{\lambda}_{Complejo}$ es la A del complejo o la A máxima obtenida ($[SDS] = 0.0$ mM). En la figura 4.10 se muestran las relaciones de fracción del complejo en función de la concentración de SDS, de los tres sistemas a dos longitudes de onda, la relación que se muestra a 253 nm parece tener mayor definición en comparación con la que se muestra a 365 nm. El valor de CMC es el que se indica en la figura 4.10 (a) para cada sistema, tabla 4.3, en estos sistemas se calculó del valor de CMC con los cambios de pendiente y además *de los cambios en la longitud de onda*, por ejemplo, en el sistema que no tiene β CD, se tienen dos cambios de pendiente obvios que podrían ser considerados como valores de CMC, pero el primero coincide con valor de CMC calculado con las técnicas anteriores y además, después de este valor, se dan

desplazamientos batocrómicos, los cuales son asociados a la formación del complejo micelar.

Tabla 4.3 Valores de CMC_{SDS} en presencia de βCD calculados con espectrofotometría UV-Vis.

$[\beta CD] / \text{mM}$	CMC_{SDS} / mM	$[\beta CD] / CMC_{SDS}$	$[Q] / \mu\text{M}$
0.0	1.3 ± 0.1	0.00	57
4.0	5.3 ± 0.5	0.75	57
7.8	8.0 ± 0.6	0.98	57

Después, para el segundo sistema que contiene 4.0 mM de βCD , se tienen tres cambios de pendiente, en aproximadamente 2.0, 3.7 y 4.8 mM de SDS en los cuales se dan desplazamientos hipsocrómicos en un intervalo de concentración de SDS entre 2.0 y 3.7 mM (característicos de la ruptura de algún complejo formado), entre 3.7 y 4.8 mM la longitud de onda máxima se mantiene constante y después de 4.8 mM de SDS se dan nuevamente desplazamiento batocrómicos (característicos de la formación de algún complejo). Se puede concluir que la presencia del SDS afecta al complejo Q- βCD a tal grado que, rompe dicho complejo y después, se forma un complejo diferente al formado a concentraciones bajas de SDS, como se había inferido anteriormente.

Finalmente, en el sistema que contiene 7.8 mM de βCD se muestran dos cambios en 6.5 y 8.0 mM de SDS, con desplazamientos hipsocrómicos entre 6.5 y 8.0 mM de SDS y batocrómicos mayores a 8.0 mM de SDS, por lo cual este sería el valor de CMC.

4.3.1.3.1 Demostración de la NO formación del complejo ternario usando SDS

Ahora se hace un análisis inverso, el cual consiste en formar el complejo Q- M^{SDS} y agregar la βCD , con el fin de demostrar si el complejo βCD -SDS interacciona con la Q. En la figura 4.11 se muestra el espectro de la Q (línea en color rojo) y el espectro obtenido debido a la formación del complejo micelar Q- M^{SDS} (línea en color negro), el cual muestra desplazamientos batocrómicos para ambas bandas.

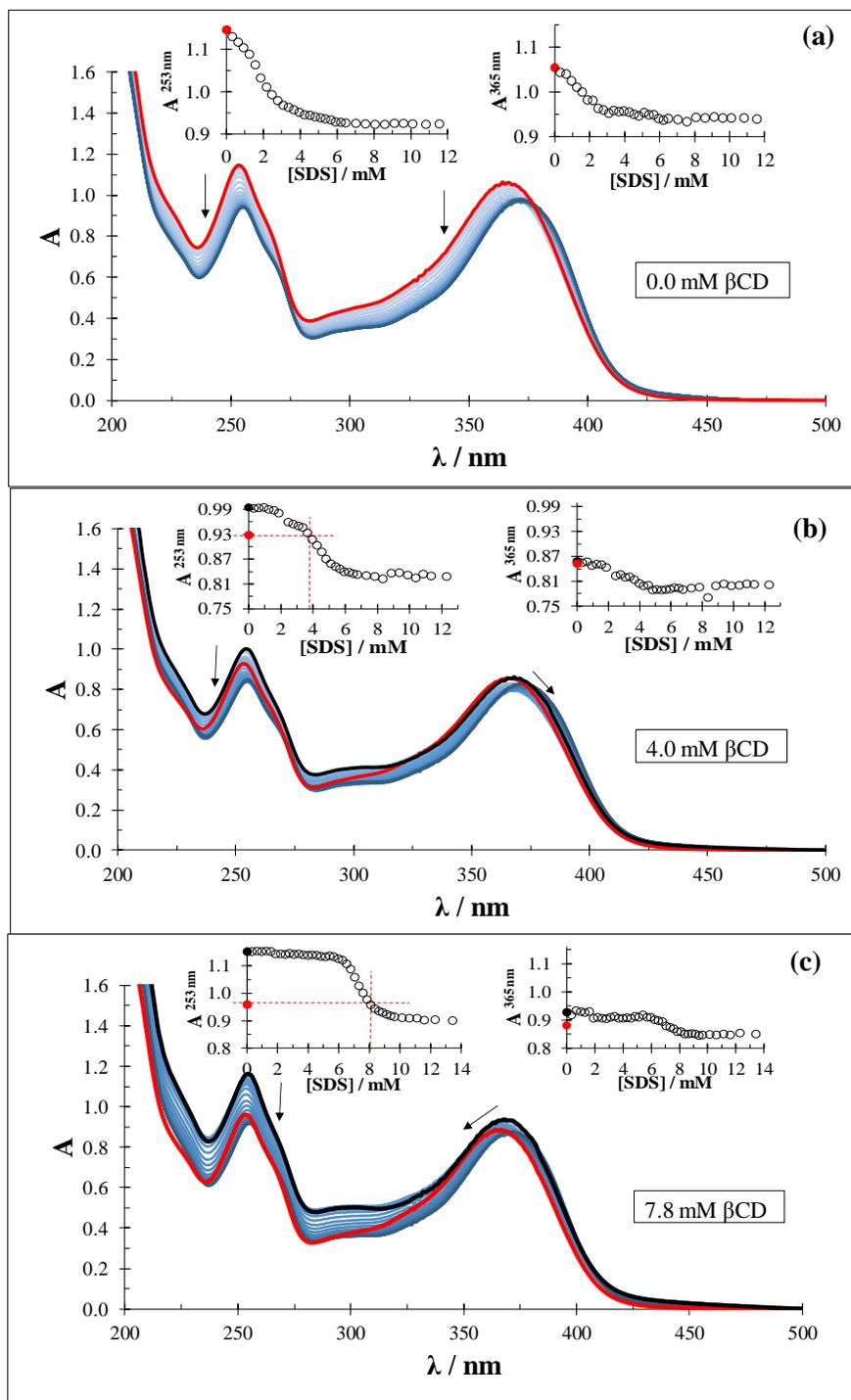


Figura 4.9 Familia de espectros de absorción de la Q $5.7 \times 10^{-5} \text{ M}$ (línea roja) con concentraciones fijas de 0.0 (a), 4.3 (b) y 8.4 mM de βCD (c) (línea en color negro del complejo βCD - Q) que cambian cuando se añade SDS al sistema y relaciones de A en función de la concentración de SDS a 253 y 365 nm mostradas como insertos, como disolvente se usó ClO_4^- 0.1 M a pH 4.3 M.

Ambas bandas cambian al agregar a la β CD, mostrando desplazamientos hipsocrómicos hasta llegar a las longitudes de onda de los máximos de absorción del espectro en color rojo, que indican que, el complejo formado por la Q y la M^{SDS} se rompe para formar el complejo de inclusión de β CD-SDS dejando libre a la Q, que concuerda con lo que se había obtenido con la técnica de fluorescencia.

Cabe señalar que el SDS no absorbe en el intervalo UV-Vis, caso contrario de la β CD que si lo hace (ver inserto de la figura 4.11(a)).

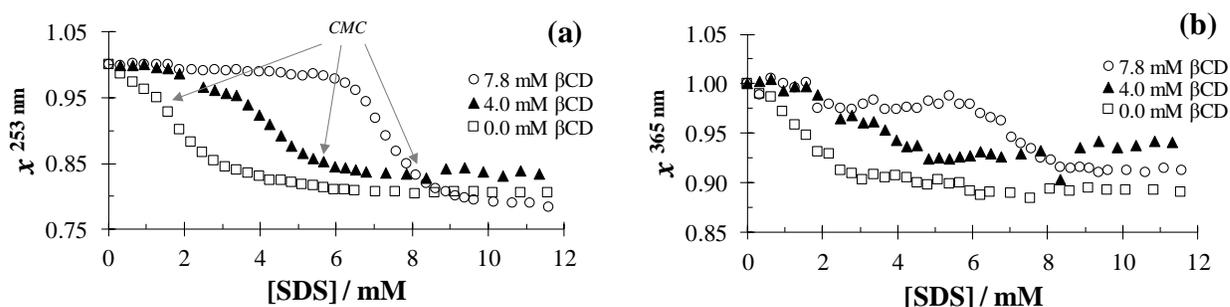


Figura 4.10 Relación de x^λ en función de la concentración de SDS a 253 (a) y 365 nm (b) a 0.0, 4.0 y 7.8 mM β CD, datos obtenidos de la figura 4.9.

Al comparar el espectro de la Q (línea en color rojo punteada) con el espectro de la Q más 8.26 mM de SDS más 8.08 mM de β CD (línea en color azul) al cual se le resta el espectro de la β CD sola ya que las absorbancias son aditivas (mostrado en el inserto) se traslapan, ver figura 4.11(b), por lo que los complejos β CD-SDS se forman con estequiometría 1:1 y estos no interactúan con la Q, por lo que no se da la formación del complejo ternario. Cuando la β CD está presente en exceso se acomplejará con la Q libre, por lo que se da un aumento en la absorbancia a 253 nm. Por tanto, cuando la $[\beta CD] > [SDS]$ se tendrán complejos de β CD-SDS y complejos β CD-Q, cuando la $[\beta CD] = [SDS]$ se tendrán complejos de β CD-SDS y Q libre y cuando la $[\beta CD] < [SDS]$ se tendrán formados complejos de β CD-SDS y complejos micelares Q- M^{SDS} , bajo la condición de que la $[\beta CD] > 6$ mM como se representa en la imagen 4.5.

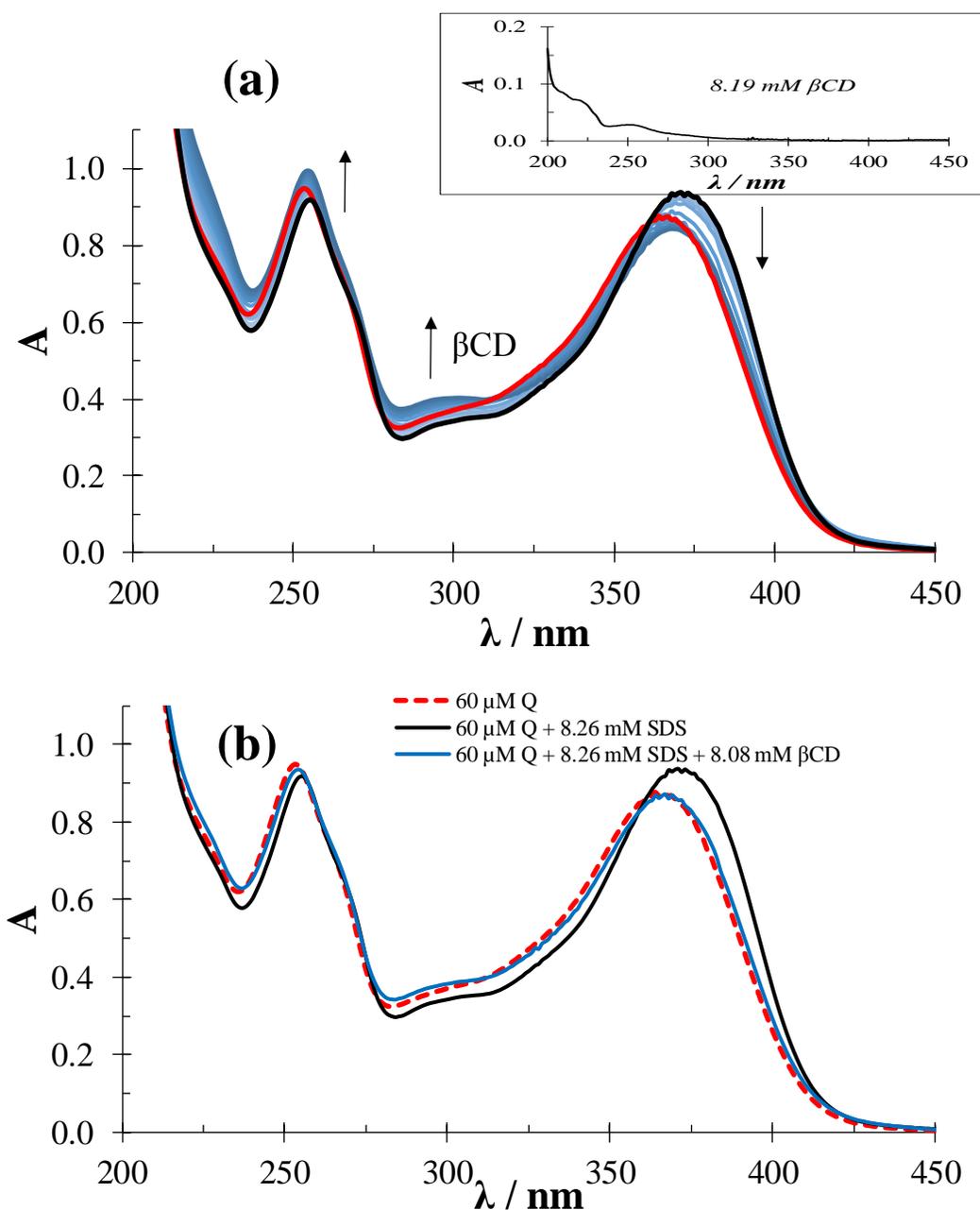


Figura 4.11 Familia de espectros de absorción de la Q 6×10^{-5} M (línea roja) más 8.26 mM de SDS (línea negra) donde se agrega β CD de 0 a 19.29 mM con un inserto del espectro de absorción de 8.19 mM β CD (a) y los espectros de la Q, Q + SDS y Q + SDS + 8.08 mM de β CD (línea azul) (b), usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M ajustado a pH 4.7.

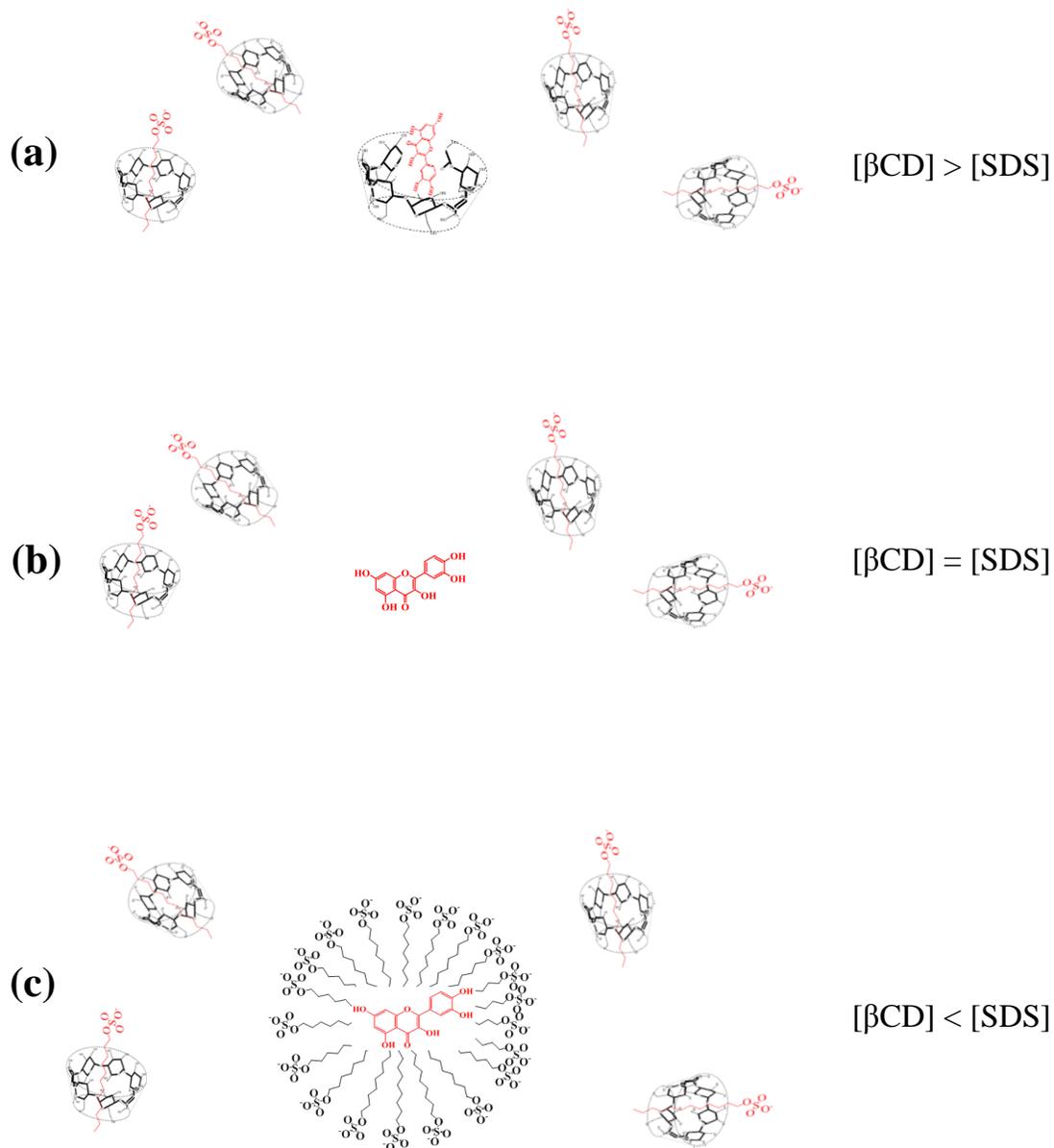


Imagen 4.5 Representaciones esquemáticas de la formación de complejos formados por la Q- β CD, β CD-SDS y Q- M^{SDS} cuando: $[\beta\text{CD}] > [\text{SDS}]$ (a), $[\beta\text{CD}] = [\text{SDS}]$ (b) y cuando $[\beta\text{CD}] < [\text{SDS}]$ (c). Para los tres casos se considera la condición de que la $6 < [\beta\text{CD}] < 10$ mM de β CD.

4.3.2 Tamaño de la micela de SDS en presencia de β CD

Ya que se conoce como se forman los complejos y en qué condiciones se forman, con la técnica de dispersión de la luz dinámica (DLS), se mide el tamaño de partícula de la M^{SDS} sola y en presencia de los complejos de inclusión β CD-SDS ($[\beta\text{CD}] < [\text{SDS}]$),

para analizar el efecto que tienen los complejos de inclusión sobre la M^{SDS} , bajo las mismas condiciones de trabajo (ver imagen 4.5 (c)). En la figura 4.12 se tienen relaciones de porcentaje de intensidad en función del tamaño de la M^{SDS} que está dado en nanómetros y representa el diámetro de la micela con su forma esférica; en los cuatro sistemas se tienen distintas cantidades de SDS y de β CD, considerando que el valor de CMC cambia para cada caso dando los tamaños de partícula mostrados en la tabla 4.4. En el primer sistema se tiene una concentración de 9.0 mM de SDS que está por arriba de su correspondiente valor de CMC que es de 8.0 mM usando como disolvente agua, por lo que solo se tienen de M^{SDS} , en este caso se tienen dos tamaños de partícula de 4.884 ± 1.072 y 97.87 ± 21.47 nm (figura 4.12 (a)), de los cuales el más pequeño está presente en mayor cantidad en comparación con el otro, en la literatura se encuentra reportado un valor de 3.5 - 3.68 nm¹⁶² y 3.5 - 4.0 nm¹⁶³ en agua, el cual concuerda con el calculado. En los tres sistemas restantes se usa como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4.682, en el primero de estos sistemas se tienen a una concentración de 2.5 mM de SDS que es mayor su valor correspondiente de CMC, en este caso se tienen micelas con un tamaño similar al que se obtuvo en el caso anterior, el cual es de, 4.984 ± 1.097 nm (figura 4.12 (b)) y es coherente con lo que se esperaba. Finalmente, en los dos últimos sistemas también se cumple la condición que la concentración de SDS que se tiene sea mayor a su correspondiente valor de CMC, ya que se tienen presentes 2.0 y 8.0 mM de β CD respectivamente, dando tamaños de la M^{SDS} de 2.911 ± 0.861 y 2.049 ± 0.322 nm respectivamente (figura 4.12 (c) y (d)), los cuales son menores a los obtenidos anteriormente en los diferentes medios, por lo que la presencia de los complejos β CD-SDS reduce el tamaño de la M^{SDS} , ya que, los monómeros que conforman a la M^{SDS} están unidos muy débilmente, pueden ser fácilmente maleables, forzando a que se compriman estas micelas, imagen 4.6, descartando totalmente la formación de algún complejo ternario como reportan algunos autores.

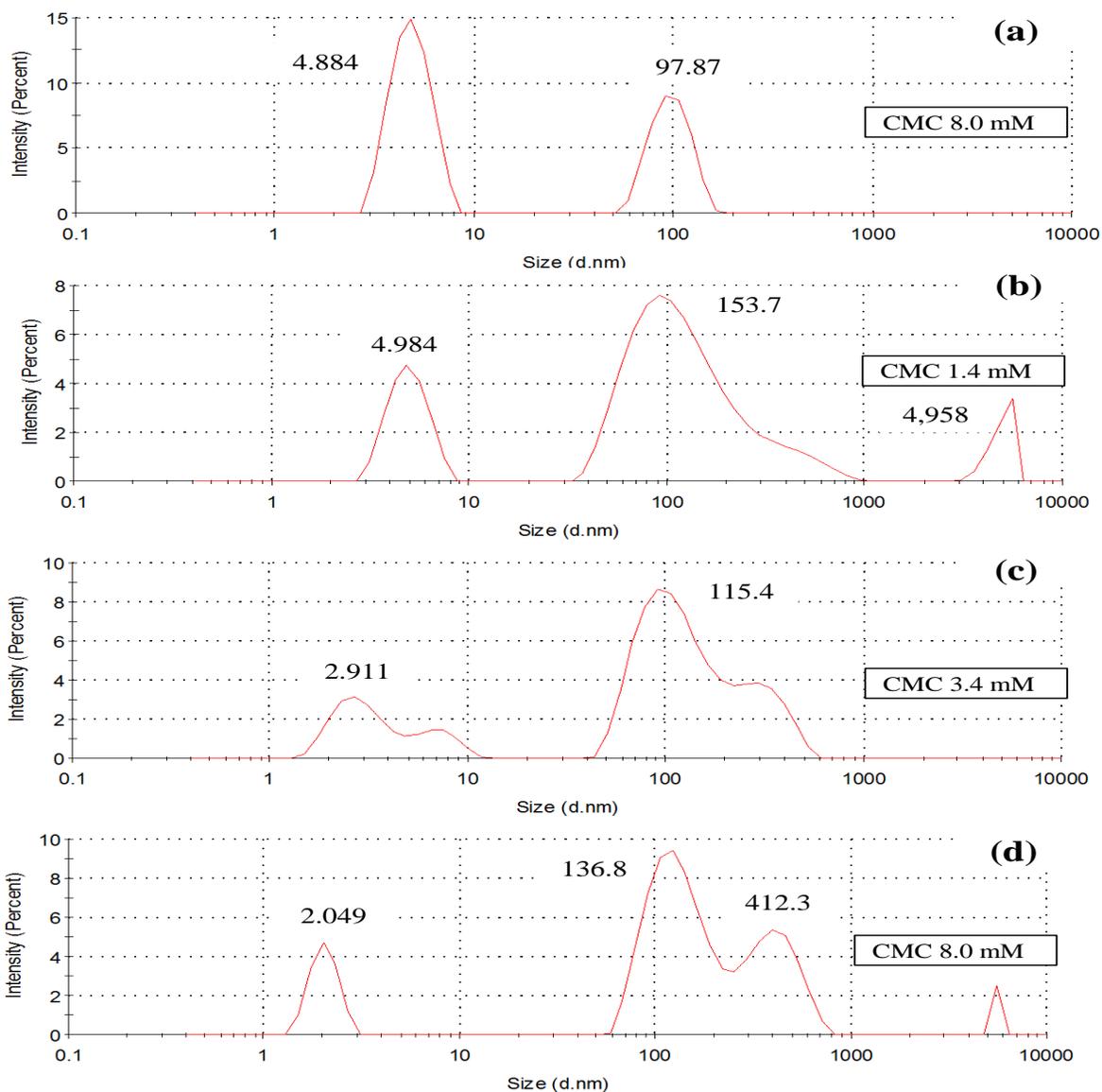


Figura 4.12 Relación de porcentaje de intensidad en función del tamaño de partícula de cuatro sistemas: 9.0 mM de SDS en agua (a), 2.5 mM de SDS (b), 4.5 mM de SDS más 2.0 mM de β CD (c) y 9.0 mM de SDS más 8.0 mM de β CD (d), usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M ajustado a pH 4.7 para los sistemas (b-d).

Tabla 4.4 Tamaños de partículas en sistemas micelares preparados con SDS en presencia de β CD.

[SDS] / mM	[β CD] / mM	CMC _{SDS} / mM	Tamaños / nm		
			1	2	3
*9.0	0.0	*8.0	4.884 ± 1.072	97.87 ± 21.47	-
2.5	0.0	1.4	4.984 ± 1.097	153.7 ± 127.0	4,958 ± 639
4.5	2.0	3.4	2.911 ± 0.861	115.4 ± 45.1	-
9.0	8.0	8.0	2.049 ± 0.322	136.8 ± 48.3	412.3 ± 114.4

* Se usó como disolvente agua desionizada, por lo que cambia su valor de CMC.

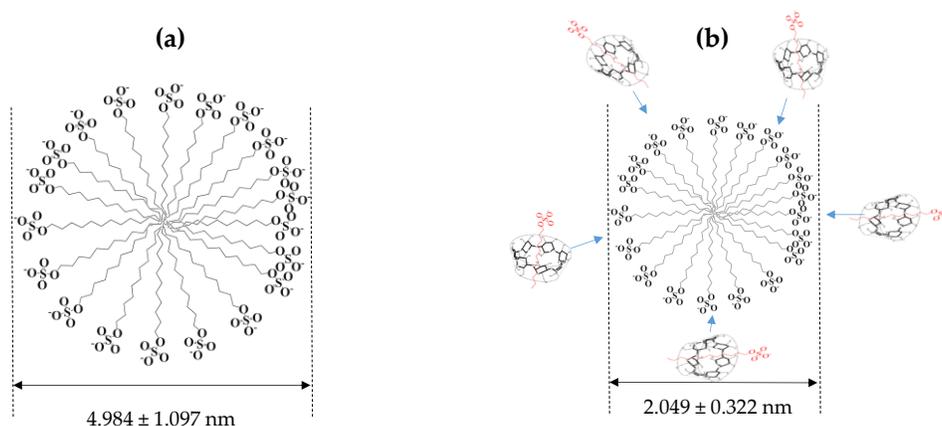


Imagen 4.6 Tamaño de la M^{SDS} sola (a) y en presencia de 8.0 mM β CD (b) medido por DLS en un medio de ClO₄⁻ 0.1 M pH 4.7.

Ahora que se ha calculado el valor de CMC_{SDS} en presencia de la β CD por distintas técnicas y en todas se obtuvieron resultados similares, se propone solo el uso de dos técnicas para el cálculo del valor de CMC del CTAB y TX100 en presencia de la β CD, además de, medir el tamaño de las micelas formadas por cada surfactante.

4.3.3 CMC del CTAB

4.3.3.1 Espectrofotometría UV-Vis

Se calcula el valor de CMC del CTAB en cuatro sistemas que contienen una concentración fija de Q y diferentes concentraciones de β CD, usando como disolvente un medio de 0.0001 M de ClO₄⁻ pH 4.489, ya que, a estas condiciones se

facilita el análisis del CTAB. En la figura 4.13 se muestran las cuatro familias de espectros de la Q que cambian cuando se agrega CTAB (los espectros se oscurecen con forme se aumenta la concentración del CTAB), cada sistema contiene una concentración diferente de β CD. En el primer sistema donde no se tiene la β CD, se muestra en color rojo el espectro de la Q que cambia drásticamente cuando se agrega CTAB al sistema como se mostró en el capítulo 1 y 2, disminuyendo su A para ambas bandas y después de que, ya se llega a un mínimo de A, que es cuando, ya se han formado las M^{CTAB} , se da, un aumento en la A dando un valor de CMC de 0.95 mM de CTAB, figura 4.13 (a), este valor es similar al que se obtuvo en agua.

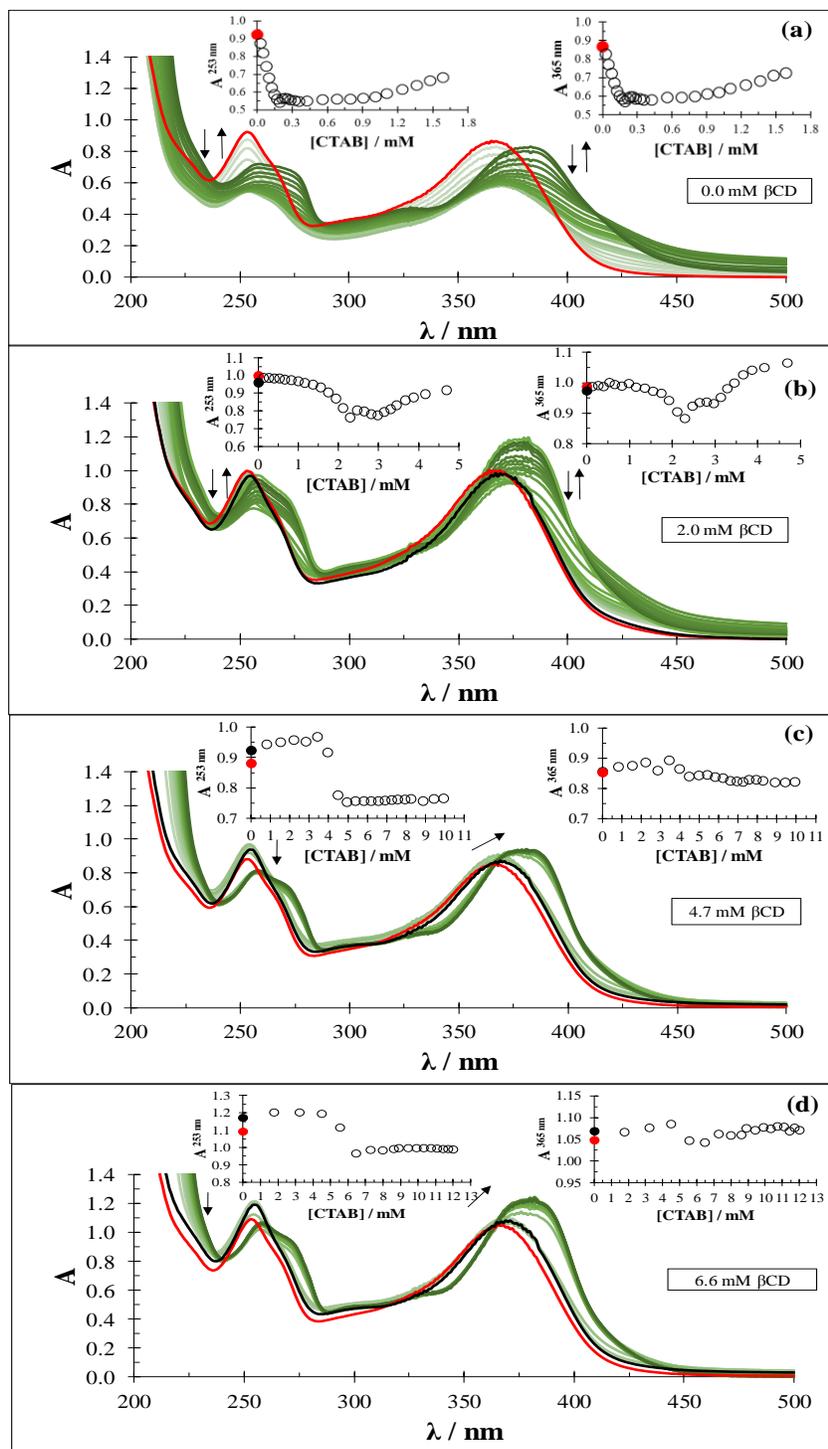


Figura 4.13 Familia de espectros de absorción de la Q 6.0×10^{-5} M (línea roja) con concentraciones fijas de 0.0 (a), 2.0 (b), 4.7 (c) y 6.6 mM de β CD (d) (línea negra del complejo β CD-Q) que cambian cuando se añade CTAB al sistema y relaciones de absorbancia en función de la concentración de CTAB a 253 y 365 nm mostradas como insertos, como disolvente usando ClO_4^- 0.0001 M a pH 4.5 M.

En los incisos siguientes de la misma figura, se muestran concentraciones fijas de β CD (espectro en color negro), el espectro cambia en comparación a cuando solo se tenía a la Q (espectro color rojo), debido a que, se lleva a cabo la formación del complejo Q- β CD, este complejo se rompe cuando se añade CTAB al sistema como sucedió cuando se usó al SDS, dando como resultado un aumento en el valor de la CMC_{CTAB} , tabla 4.5 y figura 4.13 (b-d).

En la figura 4.14 se muestran las relaciones de la fracción de A a 253 y 365 nm en función de la concentración del CTAB (ecuación 4.1), dando un mejor comportamiento los resultados que se analizaron a 253 nm, como ocurrió con el SDS, además el valor de la CMC para cada sistema coincide con el segundo cambio de pendiente a excepción del sistema que contiene 2.0 mM β CD, ya que, en este sistema el tercer cambio de pendiente coincide con el valor de CMC.

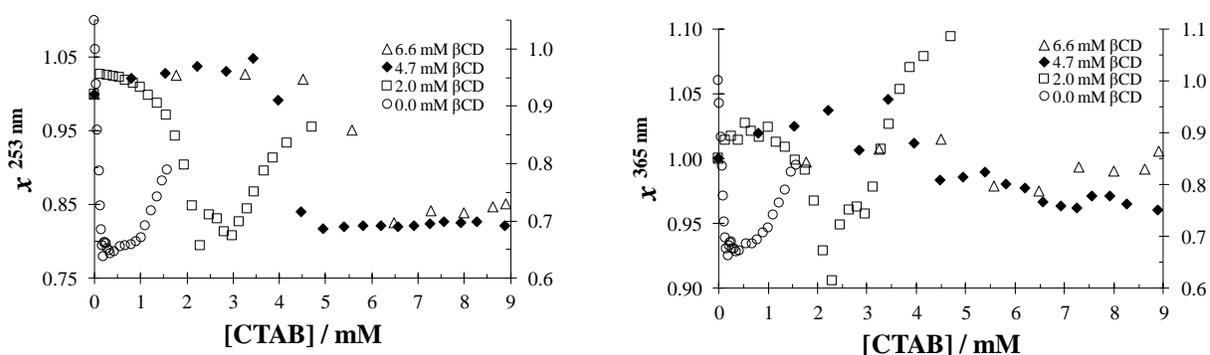


Figura 4.14 Relación de x^λ en función de la concentración de CTAB a 253 (a) y 365 nm (b) a 0.0 (eje secundario), 2.0, 4.7 y 6.6 mM β CD, datos obtenidos de la figura 4.13.

Tabla 4.5 Valores de CMC_{CTAB} en presencia de β CD calculados con espectrofotometría UV-Vis.

$[\beta CD] / \text{mM}$	CMC_{CTAB} / mM	$[\beta CD] / CMC_{CTAB}$	$[Q] / \mu\text{M}$
0.0	0.95	0.00	60
2.0	2.3	0.87	60
4.7	4.5	1.04	60
6.6	6.5	1.02	60

Estos resultados parecen tener el mismo comportamiento como los obtenidos con el SDS como, por ejemplo, el aumento de la β CD aumenta el valor de la CMC_{CTAB} debido a que el CTAB rompe el complejo Q- β CD, desplazando el CTAB a la Q dando origen al nuevo complejo β CD-CTAB. Además, el espectro del complejo formado entre la Q y la M^{CTAB} hace que a la banda que aparece en aproximadamente 253 nm se le forme un hombro del lado derecho.

4.3.3.2 Fluorescencia

Ahora, se hace uso de la técnica de fluorescencia para el cálculo de la CMC_{CTAB} en presencia de β CD, ya que, se concluyó anteriormente que esta técnica es más adecuada y sencilla para calcular este parámetro.

En la figura 4.15 (a) se muestra una familia de espectros de emisión de la Q que aumentan su IF cuando se agrega CTAB al sistema y el cambio en la IF es mayor cuando la concentración de este surfactante es superior a 0.8 ± 0.1 mM de CTAB, que es cuando, ya se han formado a las M^{CTAB} y estos arreglos moleculares interaccionan ocasionando este incremento en su intensidad.

Tabla 4.6 Valores de CMC_{CTAB} a cuatro valores diferentes de β CD calculados con fluorescencia.

$[\beta CD] / \text{mM}$	CMC_{CTAB} / mM	$[\beta CD] / CMC_{CTAB}$	$[Q] / \mu\text{M}$
0.0	0.8 ± 0.1	0.0	60
1.9	1.8 ± 0.1	1.06	57
5.0	4.2 ± 0.7	1.19	56
7.7	6.4 ± 1.1	1.20	56

En la figura 4.15 (b-c) se muestran las familias de espectros de emisión de la Q con concentraciones diferentes de β CD (espectro en color negro), como se obtuvo anteriormente con el SDS, el valor de CMC_{CTAB} aumenta con el incremento de la concentración de la β CD, tabla 4.6. El espectro en color negro representa la formación del complejo de inclusión Q- β CD, el cual tiene, una longitud de onda del máximo de emisión diferente a los mostrados consecutivamente en color verde, con intensidades más altas que el antes mencionado, esto es debido a que se tienen dos

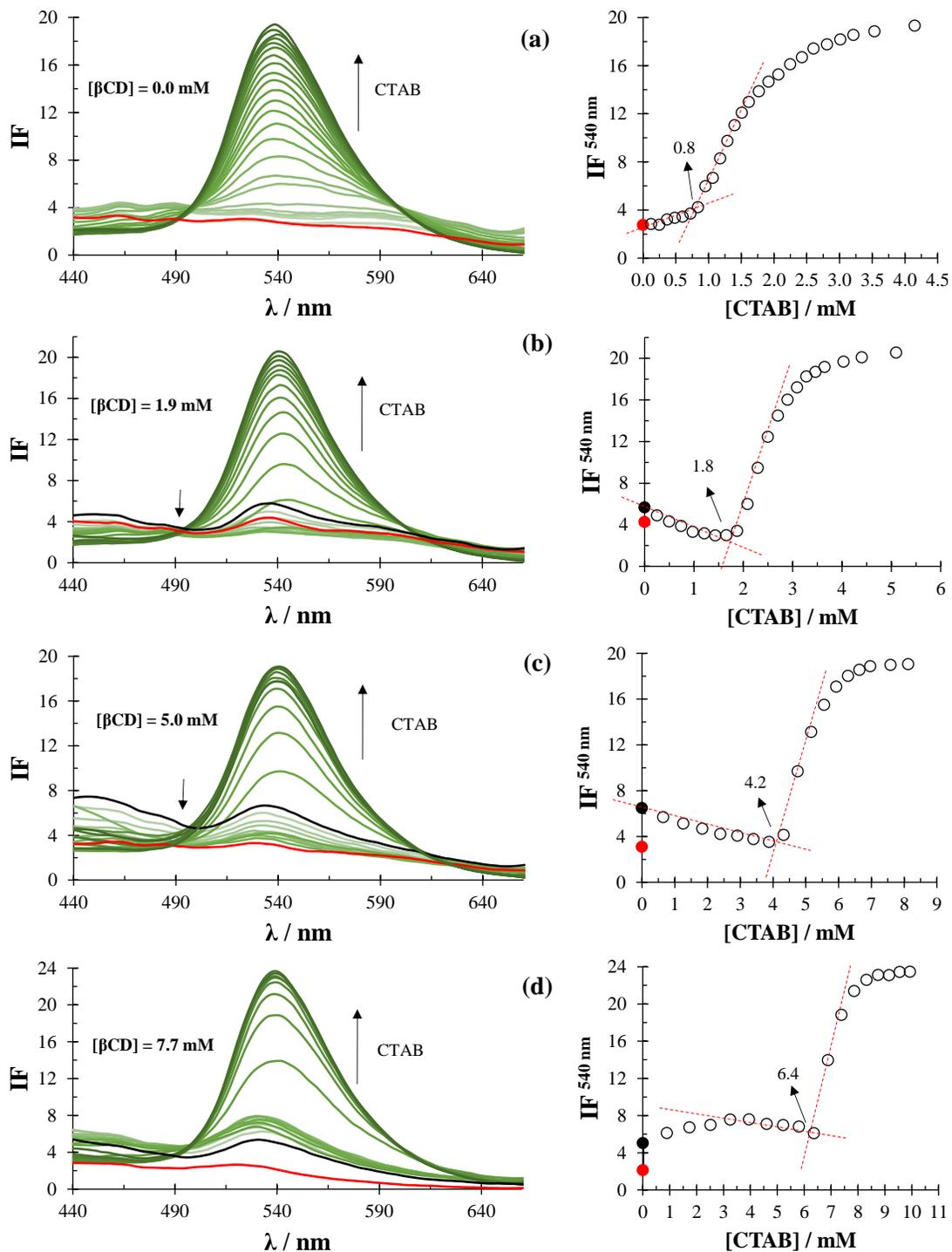


Figura 4.15 Familia de espectros de emisión de la Q 6.0×10^{-5} M que cambian al agregar CTAB conteniendo concentraciones fijas de β CD de 0.0 (a), 1.9 (b), 5.0 (c) y 7.7 mM (d) y relaciones de IF a 540 nm en función de concentración del CTAB, usando como disolvente ClO_4^- 0.0001 M pH 4.5 ($\lambda_{\text{exit.}} = 350$ nm).

complejos diferentes, y de acuerdo al orden en que se añadieron los compuestos al sistema, se forma en primer lugar el complejo Q- β CD y conforme se agrega el CTAB al sistema, los monómeros del surfactante desplazarán a todas las moléculas de Q dejándolas libres y formando un nuevo complejo de inclusión β CD-CTAB, por lo cual, se muestra una disminución en la IF antes del valor del valor de CMC_{CTAB} , imagen 4.7 escenario 1, (ver relaciones de los incisos (b-c) de la figura 4.15), esto se concluye, ya que se obtienen resultados similares a los mostrados anteriormente cuando en lugar del CTAB se utilizó al SDS.

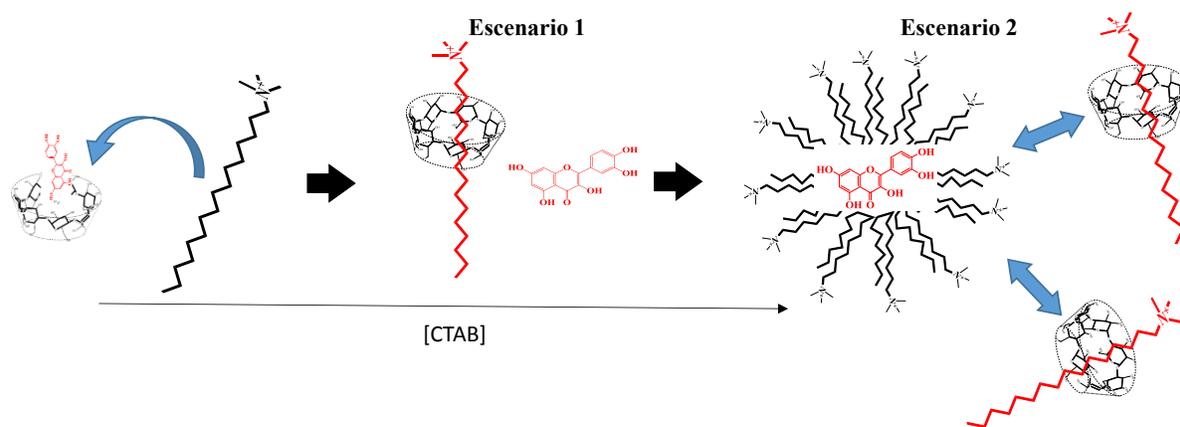


Imagen 4.7 Representación esquemática de efecto del CTAB sobre el complejo de inclusión Q- β CD, se muestra cómo se dobla la cola del CTAB cuando se forma a la micela.

El nuevo complejo de inclusión β CD-CTAB formado, se desplazará a la superficie de la solución reduciendo la TS hasta un valor mínimo, *en este punto ya se tendrán formados los nuevos complejos de inclusión β CD-CTAB con estequiometría 1:1 y se tendrán también las moléculas de Q libres*, entonces, cuando se agrega una mayor cantidad de CTAB ($[CTAB] > [\beta CD]$), estas moléculas ya no se desplazarán a la superficie de la solución ni se unirán tampoco a las βCD 's, ya que estas moléculas, ya están completamente ocupadas por otras moléculas de este mismo tensoactivo, si no, se asociarán entre ellas mismas por medio de sus colas para formar a la M^{CTAB} , ya que, de esta manera evitan la repulsión de las moléculas del disolvente sobre sus extremos hidrofóbicos y finalmente, estos arreglos moleculares interactúan con las moléculas de Q que se encuentran libres para formar el complejo Q- M^{CTAB} .

4.3.3.3 Demostración de la NO formación del complejo ternario usando CTAB

Ahora en la figura 4.16 se muestra la comparación de tres espectros de: Q sola, Q más 6.6 mM de β CD y Q más 6.6 mM de β CD más 5.7 mM de CTAB (al último espectro mencionado se le resto el espectro resultante de 5.6 mM de β CD mostrado como inserto). El máximo de la banda que se muestra a aproximadamente 250 nm del espectro de la Q parece coincidir con la banda del espectro de la mezcla de los tres compuestos como sucedió cuando se usó al SDS, por lo cual, la Q libre no interacciona con el complejo β CD-CTAB, pero parecen presentar una ligera desviación las bandas que se presentan a aproximadamente 370 nm, donde el espectro resultante del complejo Q- β CD parece no cambiar cuando se ha agregado este surfactante, esto podría ser debido a que, aún se tiene una interacción entre la Q y la β CD, pero la Q estaría interaccionando por medio de sus anillos C y B (ver figura 1.2).

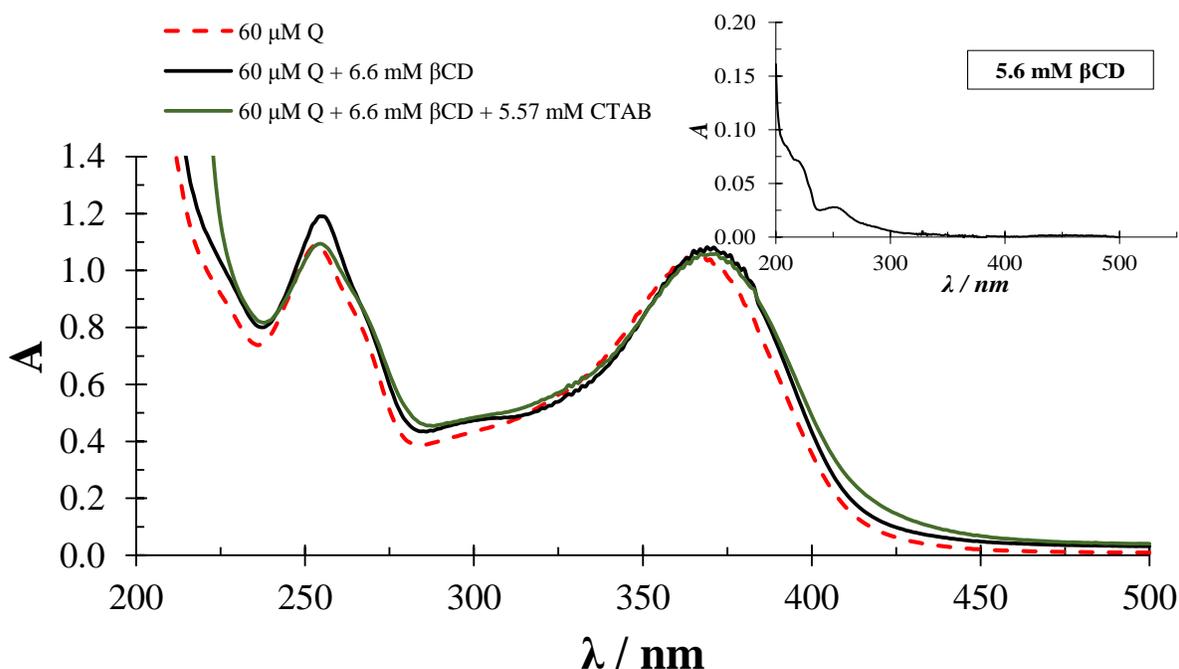


Figura 4.16 Espectros de absorción de la Q 6.0×10^{-5} M (línea punteada roja) más 6.6 mM de β CD (línea continua negra) más 5.57 mM de CTAB (línea continua verde al cual se le resto el espectro de 5.6 mM de β CD mostrado como inserto), como disolvente se usó ClO_4^- 0.0001 M a pH 4.5 M.

4.3.4 Tamaño de la micela de CTAB en presencia de β CD

Se midió el tamaño de la micela formada por monómeros de CTAB, con la finalidad de analizar si la presencia del complejo formado por la β CD y el CTAB, afecta el tamaño de este arreglo molecular como se infirió cuando se usó al SDS. En la figura 4.17 (a) se muestran los tamaños de partícula para cada sistema y en la tabla 4.7 se muestran los valores de tamaños de partícula de dichos sistemas. Cuando se tiene una concentración de 2.0 mM de β CD, figura 4.17 (b), su valor de CMC_{CTAB} aumenta a 1.8 mM de CTAB, teniendo ya formados a los complejos de inclusión β CD-CTAB y a las M^{CTAB} dando un tamaño de la micela de 3.027 ± 0.707 nm el cual estadísticamente es igual al que se obtuvo cuando solo se tiene a las M^{CTAB} solas. En la literatura se reporta una longitud del CTAB de 2.283 nm ¹⁶⁴, que es similar al que se obtuvo como diámetro de esta micela en ausencia de la β CD, por lo tanto, la molécula de CTAB cuando forma a la micela, reduce su tamaño de una manera que la cola del CTAB quedara contraída o doblada, imagen 4.8.

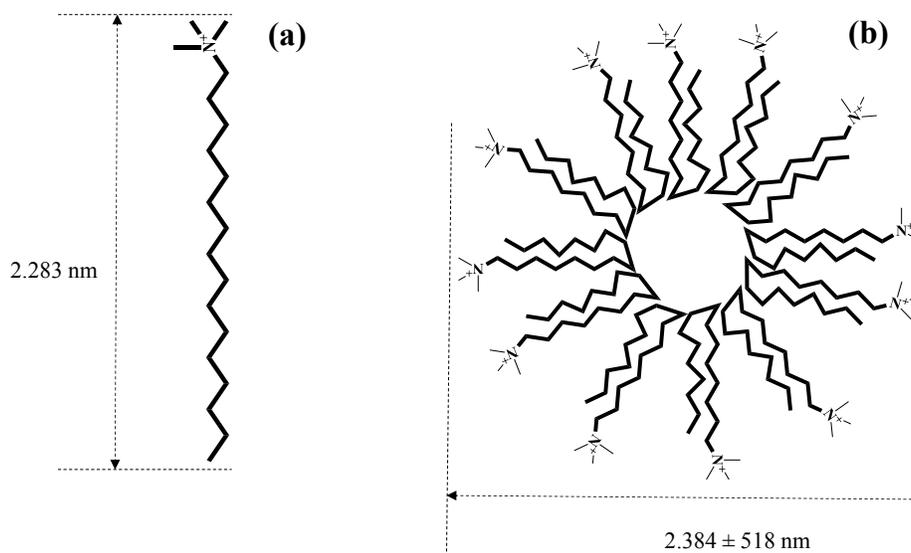


Imagen 4.8 Longitud de la molécula de CTAB ¹⁶⁴ (a) y diámetro de la micela formada por monómeros de CTAB.

Por lo tanto, cuando la $[CTAB] > [\beta CD]$ ($[\beta CD] = 2.0$ mM) se tendrán formados los complejos de inclusión β CD-CTAB con estequiometría 1:1 (ver tabla 4.6) y, además, las M^{CTAB} las cuales interaccionarán con la Q para dar la formación del complejo.

Tabla 4.7 Tamaños de partículas en sistemas micelares preparados con CTAB en presencia de β CD.

[CTAB] / mM	[β CD] / mM	*CMC _{CTAB} / mM	Tamaños / nm	
			1	2
2.0	0.0	0.8 \pm 0.1	2.384 \pm 0.518	311.5 \pm 107.5
3.0	2.0	1.8 \pm 0.1	3.027 \pm 0.707	358.2 \pm 149.0

* Valores de CMC calculados con fluorescencia

Por lo que el CTAB tiene el mismo efecto que el SDS, el cual es romper el complejo Q- β CD para dar origen al nuevo complejo β CD-CTAB y dependiendo de las concentraciones del surfactante o de la β CD, se tendrán otro tipo de complejos como se muestra en la imagen 4.9.

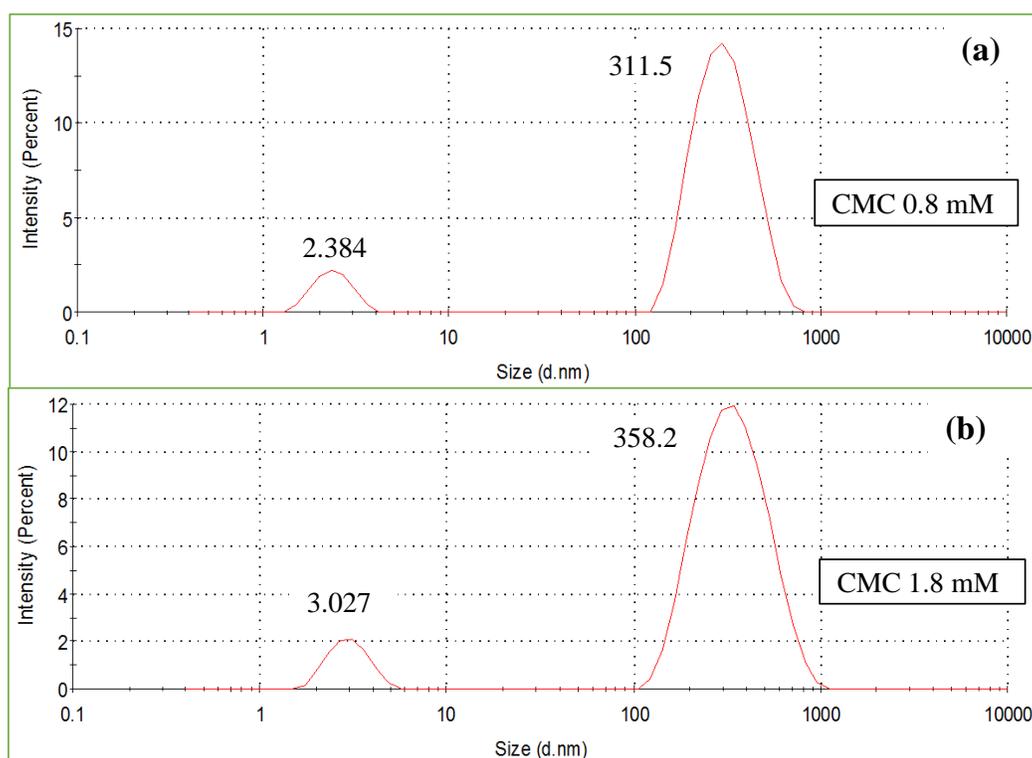


Figura 4.17 Relación de porcentaje de intensidad en función del tamaño de partícula de dos sistemas: 2.0 mM de CTAB (a) y 3.0 mM de CTAB más 2.0 mM de β CD (b), usando como disolvente ClO_4^- 0.0001 M ajustado a pH 4.5.

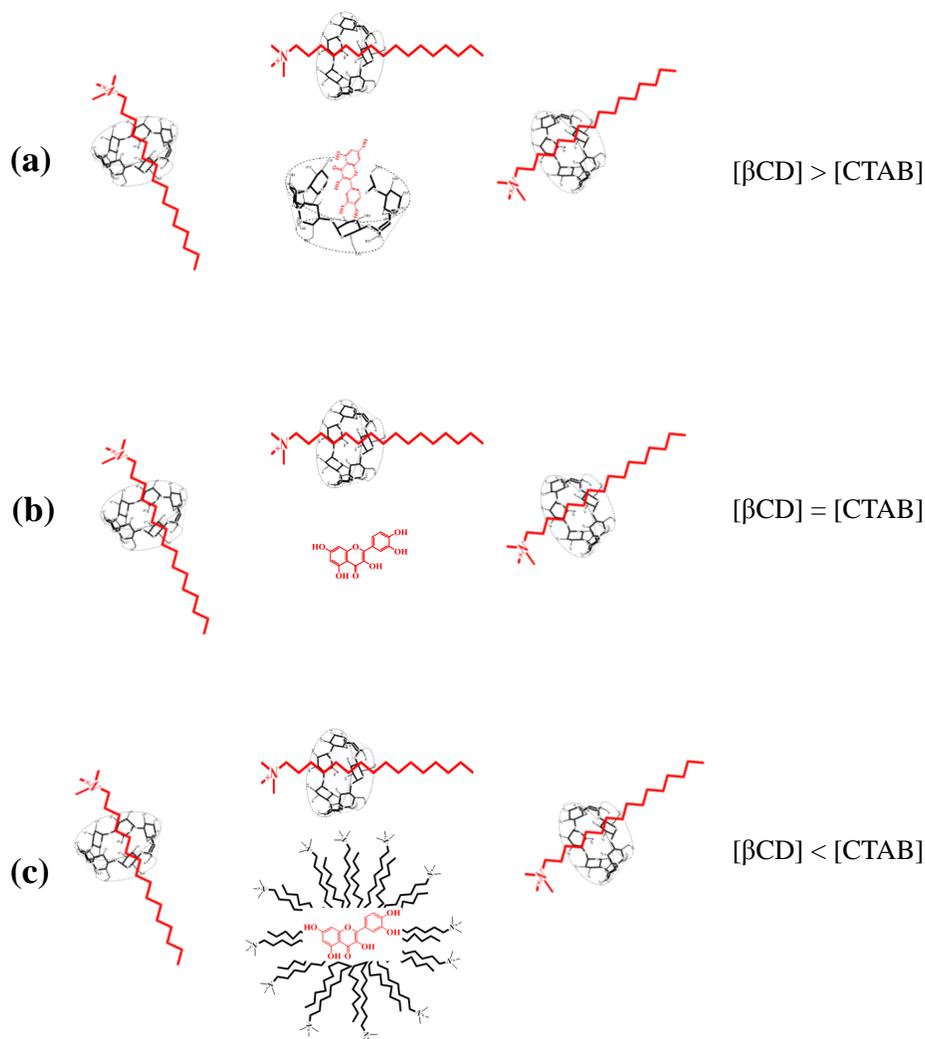


Imagen 4.9 Representaciones esquemáticas de la formación de complejos formados por la Q-βCD, βCD-CTAB y Q-M^{CTAB} cuando: $[\beta\text{CD}] > [\text{CTAB}]$ (a), $[\beta\text{CD}] = [\text{CTAB}]$ (b) y cuando $[\beta\text{CD}] < [\text{CTAB}]$ (c). Para los tres casos se considera la condición de que la $2.0 < [\beta\text{CD}] < 6.6$ mM de βCD.

4.3.5 CMC del TX100

4.3.5.1 Espectrofotometría UV-Vis

Ahora, se procede a analizar y calcular el valor de CMC del surfactante neutro que es el TX100. En la figura 4.18 se muestra una familia de espectros de la Q que cambian cuando se aumenta la concentración del TX100, como se mostró en el capítulo 1, este surfactante absorbe en aproximadamente 270 nm, por lo que calcular el valor de CMC analizando esta banda no es lo más indicado, ya que cuando se

usen concentraciones mayores, el espectro absorberá a valores mayores de 3 unidades en A (ver figura 1.4(g) y (h)), por lo que se prefiere solo analizar la banda I que aparece a 370 nm aproximadamente para el cálculo de este parámetro.

La banda de la Q con un máximo de absorción en aproximadamente 370 nm cambia ligeramente cuando se agrega β CD en el sistema, no siendo tan evidente en comparación cuando se usó el SDS y CTAB, por lo que no se puede obtener un valor de CMC de estos sistemas, figura 4.19, por lo que se usará la técnica de fluorescencia para el cálculo de CMC.

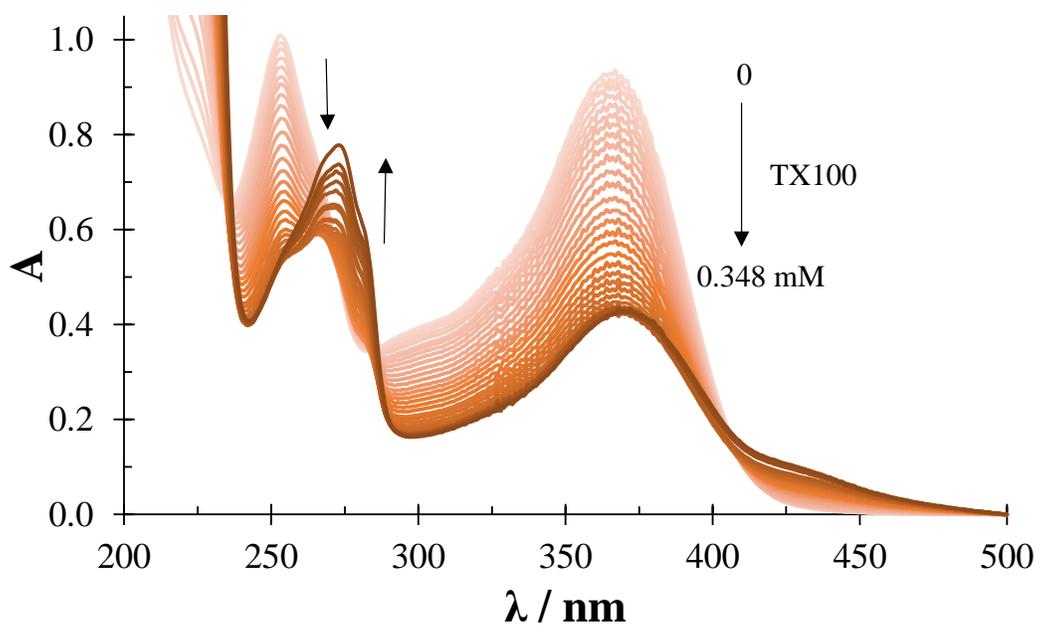


Figura 4.18 Familia de espectros de absorción de la Q 6.0×10^{-5} M que cambian al agregar TX100 de 0 a 0.348 mM, como disolvente usando ClO_4^- 0.1 M a pH 4.4 M.

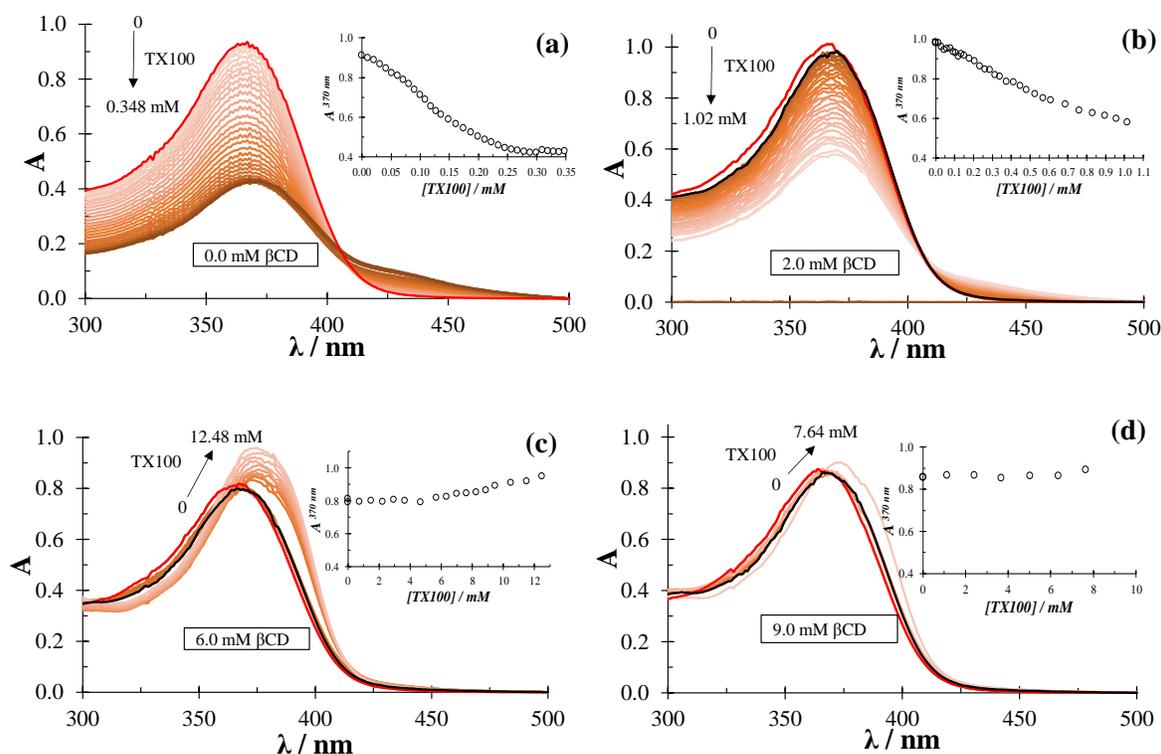


Figura 4.19 Familia de espectros de absorción de la Q 6.0×10^{-5} M (línea roja) con concentraciones fijas de 0.0 (a), 2.0 (b), 6.0 (c) y 9.0 mM de β CD (d) (línea negra del complejo β CD-Q) que cambian cuando se añade TX100 al sistema y relaciones de absorbancia en función de la concentración de TX100 a 370 nm mostrada como inserto, como disolvente se usó ClO_4^- 0.0001 M a pH 4.4 M.

4.3.5.2 Fluorescencia

Ahora, por fluorescencia se analizan estos sistemas con el objetivo de calcular su valor de $\text{CMC}_{\text{TX100}}$. En la figura 4.20 lado izquierdo, se muestran los espectros de emisión de la Q, los cuales tienen una concentración fija de β CD diferente para cada uno, en donde se aumentan la IF de la Q al agregar a la β CD y al TX100. El espectro en color negro representa la formación del complejo Q- β CD, el cual tiene una longitud de onda del máximo diferente al espectro en color rojo con IF más alta, esto concuerda con lo que se había obtenido anteriormente cuando se usó al SDS y CTAB, sobre la ruptura del complejo Q-Surfactante para dar origen a la formación del complejo Q- $\text{M}^{\text{Surfactante}}$, imagen 4.10 escenario 1. Con estos espectros de emisión obtenidos, se puede calcular el valor de la $\text{CMC}_{\text{TX100}}$, como se muestra en la figura 4.20 lado derecho, donde el primer cambio mostrado en las relaciones del lado derecho son los correspondientes a la formación de la micela, tabla 4.8.

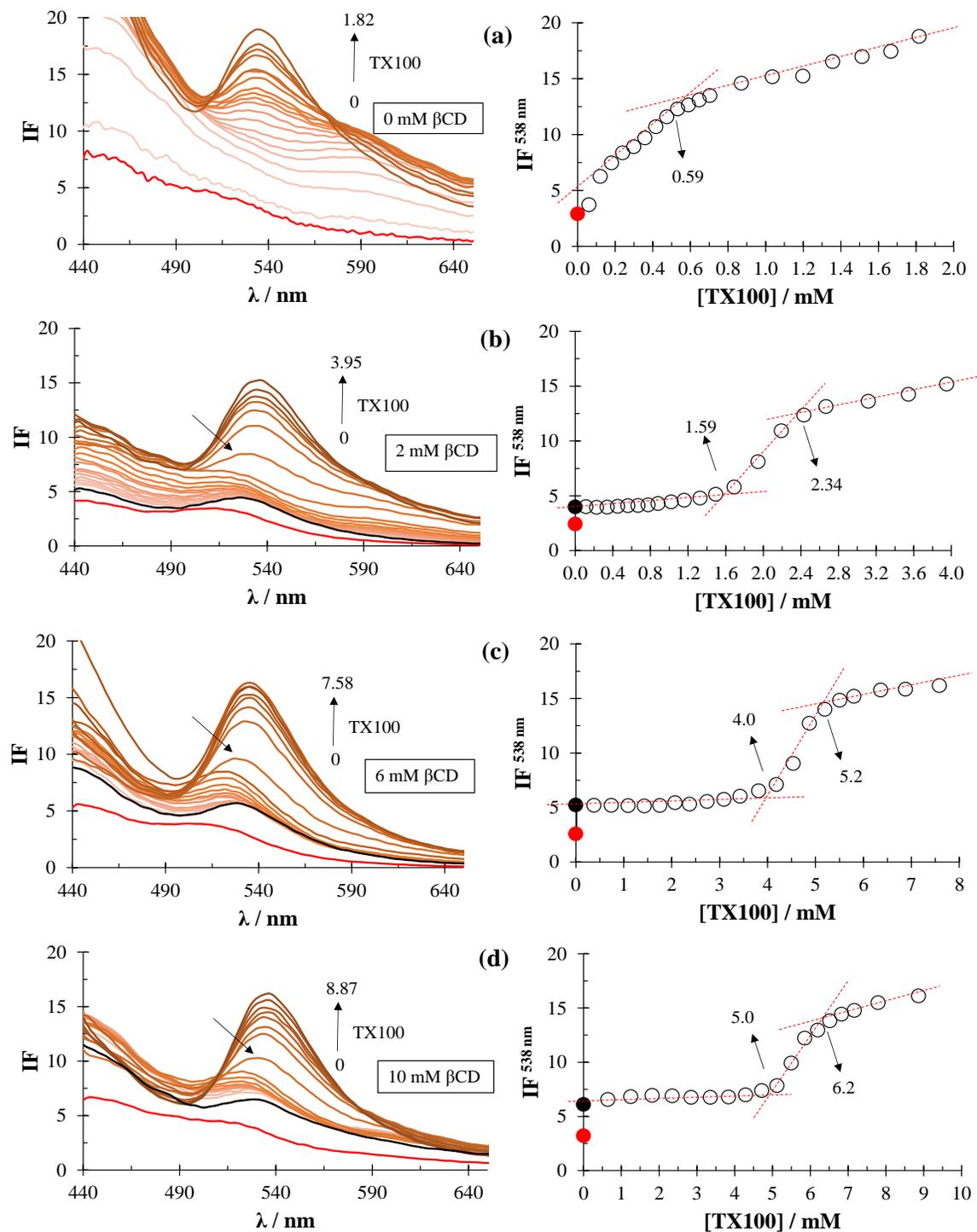


Figura 4.20 Familia de espectros de emisión de la Q 6×10^{-5} M que cambian al agregar TX100 y relaciones de intensidad fluorescente a 538 nm en función de concentración del TX100 a 0.0 (a), 2.0 (b), 6.0 (c) y 10.0 mM de β CD (d), usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4.4 ($\lambda_{\text{exit.}} = 350$ nm).

Tabla 4.8 Valores de CMC_{TX100} a cuatro valores diferentes de βCD calculados con fluorescencia.

$[\beta CD] / mM$	CMC_{TX100} / mM	$[\beta CD] / CMC_{TX100}$	$[Q] / \mu M$
0.0	0.59 ± 0.08	0.00	60
2.0	1.59 ± 0.17	1.26	60
6.0	4.0 ± 1.2	1.50	60
10.0	5.0 ± 0.3	2.00	60

Los espectros que se señalan con una flecha en color negro en la figura 4.20(b-d) lado derecho, son los correspondientes a la interacción entre la Q y la M^{TX100} , imagen 4.10 escenario 2, para cada caso se muestra un desplazamiento hacia una longitud de onda mayor cuando se tiene una concentración por arriba del valor de CMC mostrado en la tabla 4.8; los espectros consecutivos siguen desplazándose y aumentando la IF conforme se aumenta la concentración del TX100. En la tabla 4.8 se muestran las relaciones de la concentración de βCD entre el valor de CMC_{TX100} , dando como resultados una relación de dos cuando la concentración de βCD aumenta, esto nos da la información de que antes de que se forme la M^{TX100} , los complejos βCD -TX100 se forman con estequiometría 1.5:1 o 2:1, esto es coherente ya que la longitud de la cola del TX100 es mucho más larga que la de los surfactantes antes empleados.

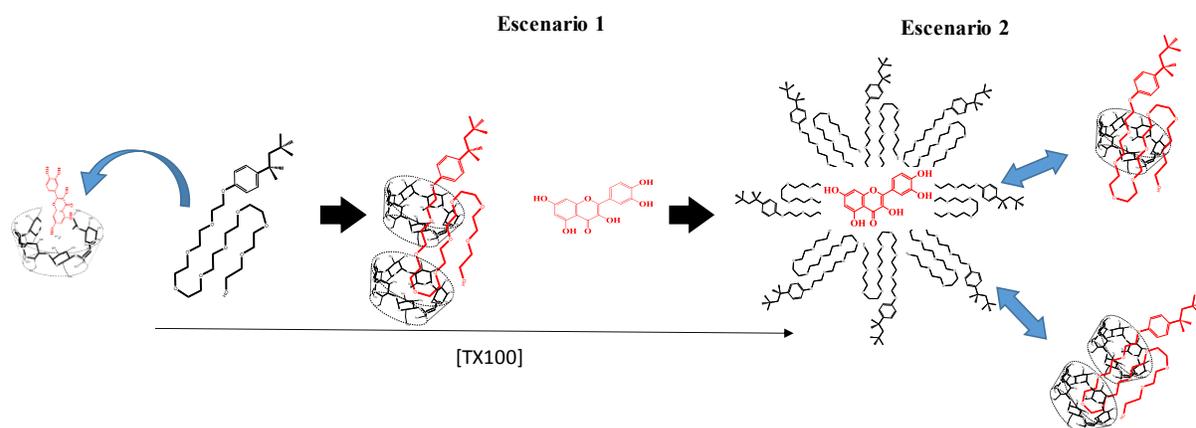


Imagen 4.10 Representación esquemática de efecto del TX100 sobre el complejo de inclusión Q- βCD .

4.3.6 Tamaño de la micela de TX100 en presencia de β CD

También, fue medido el tamaño de M^{TX100} en ausencia de la β CD, dando un valor de 8.63 ± 3.67 nm que es el menor valor de tamaño de la micela obtenido y bajo el criterio que se usó para los surfactantes antes empleados, el tamaño de partícula que está presente en mayor cantidad es el correspondiente a la micela, figura 4.21(a).

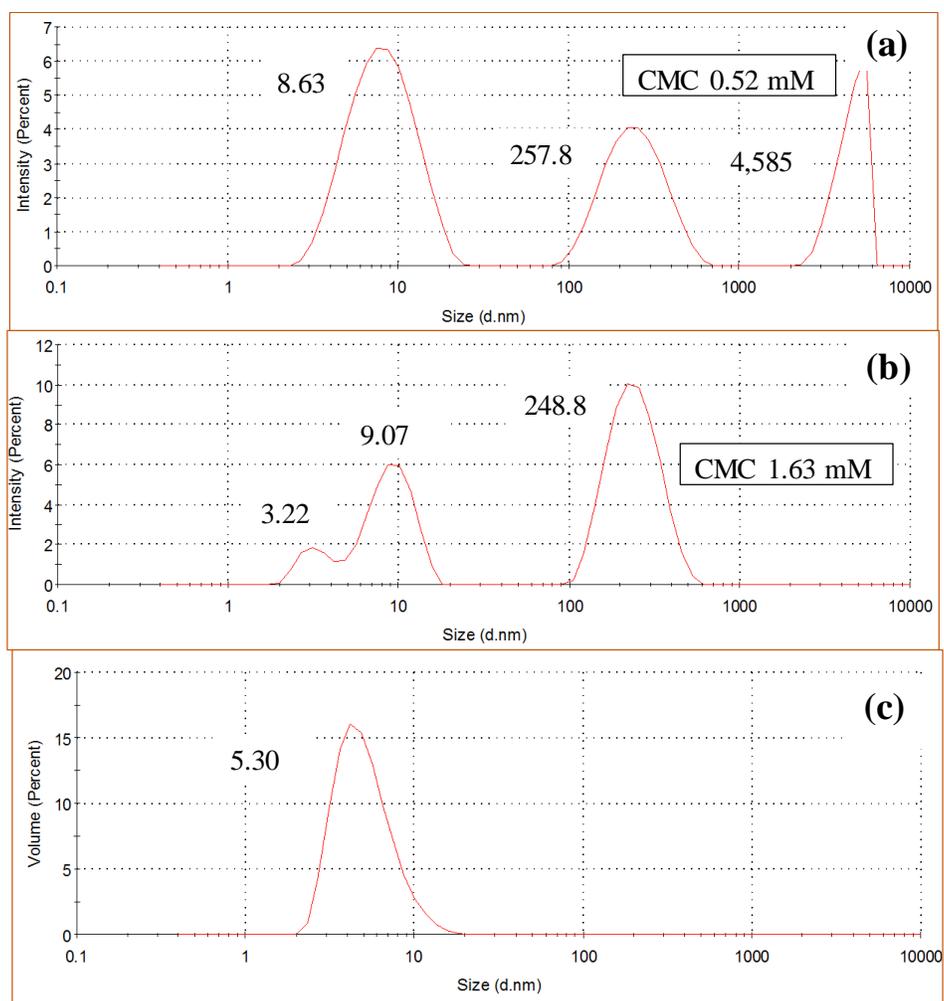


Figura 4.21 Relación de porcentaje de intensidad en función del tamaño de partícula de dos sistemas: 1.0 mM de TX100 (a) y 3.0 mM de TX100 más 2.0 mM de β CD (b) y su relación de porcentaje del volumen en función del tamaño del inciso “(b)” (c), usando como disolvente ClO_4^- 0.1 M pH 4.4.

Ahora, cuando está presente una cantidad de complejos de inclusión β CD-TX100, figura 4.21(b), un porcentaje de la micela disminuye su tamaño, tabla 4.9, por lo que se obtienen resultados similares a los anteriores, ahora analizando la relación del porcentaje de volumen en función del tamaño de este sistema, se tiene un mayor volumen de micelas con tamaño de 5.30 ± 2.21 nm, cuyo valor es menor al de la M^{TX100} sola.

Por lo tanto, la parte hidrofóbica del TX100 se contraerá en el interior de la micela y, además, la presencia de complejos β CD-TX100, reducirán el tamaño de la micela como se muestra en la imagen 4.11, como ocurrió con el SDS.

Tabla 4.9 Tamaños de partículas en sistemas micelares preparados con TX100 en presencia de β CD.

[TX100] / mM	[β CD] / mM	*CMC _{TX100} / mM	Diámetro / nm		
			1	2	3
1.0	0.0	0.8 ± 0.1	8.63 ± 3.67	257.8 ± 100.8	$4,585 \pm 842$
3.0	2.0	1.8 ± 0.1	3.22 ± 0.59	9.07 ± 2.70	248.8 ± 81.8

* Valores de CMC calculados con fluorescencia

En la figura 4.20(a) se mostró que el espectro de emisión correspondiente al complejo Q- β CD tiene diferente longitud de onda del máximo en comparación con el espectro en color rojo con intensidad más alta, por lo que el surfactante rompe al complejo Q- β CD como ocurrió con el SDS y con el CTAB.

También como ocurrió con el SDS y CTAB, dependiendo de la concentración del TX100 y de la β CD, se tendrán distintos complejos formados como se muestra en la imagen 4.12.

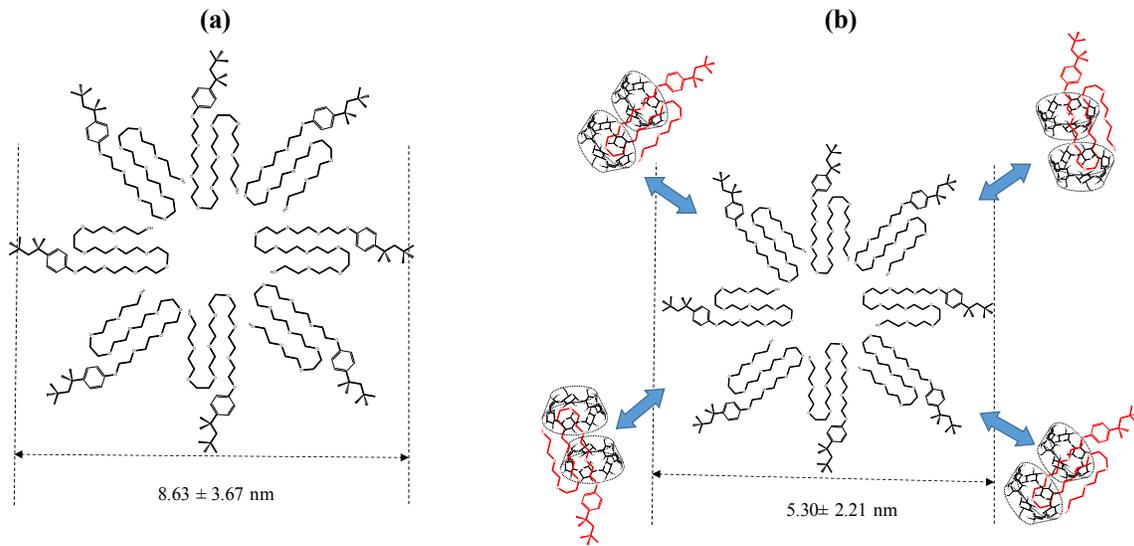


Imagen 4.11. Tamaño de la M^{TX100} sola (a) y en presencia de 2.0 mM β CD (b) medido por DLS en un medio de ClO_4^- 0.1 M pH 4.4 .

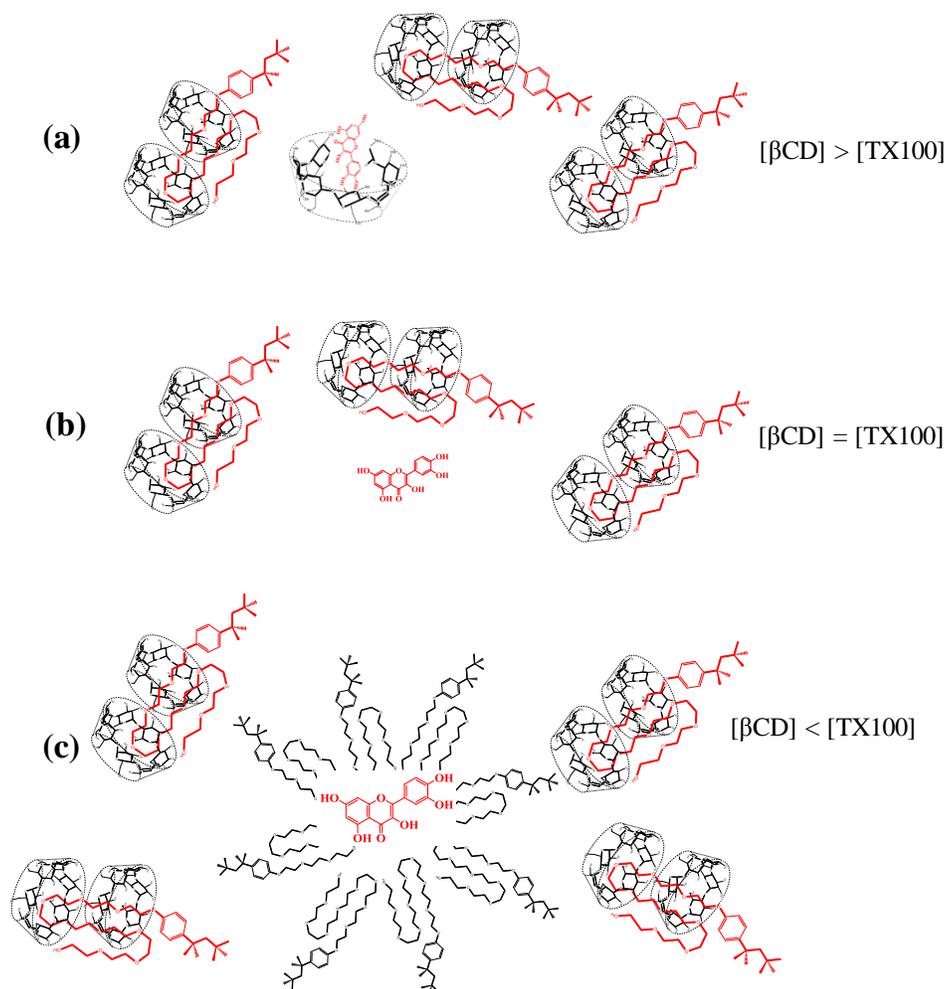


Imagen 4.12 Representaciones esquemáticas de la formación de complejos formados por la Q- β CD, β CD-CTAB y Q- M^{TX100} cuando: $[\beta\text{CD}] > [\text{TX100}]$ (a), $[\beta\text{CD}] = [\text{TX100}]$ (b) y cuando $[\beta\text{CD}] < [\text{TX100}]$ (c).

4.4 Conclusiones C4

El valor de CMC aumenta con el incremento de la concentración de la β CD. Cualquiera de estos surfactantes rompen el complejo Q- β CD, ocasionando la formación de un nuevo complejo β CD-Surfactante y dejando libre a la Q. Dependiendo la concentración del surfactante y de la β CD, se tendran distintos complejos formados. La $M^{\text{Surfactante}}$ reduce su tamaño en presencia de los complejos β CD-surfactante. Se descarta totalmente la formación de un complejo formado por compuestos de este tipo.

Capítulo 5. Determinación de la constante de unión del complejo Quercetina-Micela en presencia de β CD

*Un modelo es algo que creemos entender y creemos
que nos ayudará a entender lo algo que todavía no entendemos.*

-G. M. Weinberg *

* Jose Luis Cordoba Frunz. Recopilación de Frases Célebres. Ediciones Privadas de Cultura, Adolfo Prieto 1357, C. P. 03100, (2012).

5.1 Introducción

Como se mencionó en la introducción del capítulo 4, existen dos hipótesis que explican lo que ocurre cuando se tienen en el mismo sistema: Q, β CD y un surfactante (en este trabajo se emplearon al SDS, CTAB y TX100). La primera hipótesis indica que el surfactante romperá el complejo de inclusión Q- β CD, para dar origen a un nuevo complejo binario β CD-Surfactante con estequiometría 1:1 y 2:1 ^{165 y 166}, dependiendo del tipo de surfactante. La segunda hipótesis reportada en la literatura por varios autores la cual es la más reciente, propone la formación de complejos ternarios, descartando la interacción entre el surfactante y la β CD ¹⁶⁷⁻¹⁷². De acuerdo con los resultados mostrados en el capítulo 4, la segunda hipótesis es descartada, por lo que los valores de constantes de unión reportadas por T. Sanjoy Singh y colaboradores son erróneas.

Para el cálculo de la constante de unión de un complejo de inclusión Q- β CD se emplea la *ecuación 1.1* y para el complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$ se emplea la *ecuación 1.3*, ambas ecuaciones, se muestran en el capítulo 1. En el capítulo 2 se muestra una ecuación propuesta en este trabajo de investigación (Apéndice 5), que es una variante a las propuestas por Marques y María de la Guardia para el cálculo de la constante de unión de complejos supramoleculares, esto se propuso con la finalidad de determinar la constante de unión, y además, la estequiometría del complejo formado, con la diferencia del parámetro n que se introduce en este trabajo y representa el cociente del anfitrión entre el huésped, ecuación 2.3 y 2.4, por ejemplo, en este trabajo se usan como anfitrión a la β CD y a los surfactantes (en forma de micelas).

Hasta el momento, se ha concluido que cuando se tienen en el sistema: Q, β CD y algún surfactante, se formarán complejos entre estos compuestos, los cuales dependen de las concentraciones de la β CD y del surfactante en cuestión, por ejemplo, si la $[\beta\text{CD}] > [\text{Surfactante}]$ se tendrán dos tipos de complejos de inclusión: Q- β CD y β CD-Surfactante. Si la $[\beta\text{CD}] < [\text{Surfactante}]$ se tendrán los complejos: Q- $M^{\text{Surfactante}}$ y β CD-Surfactante. Bajo ninguna condición dichos complejos se unen para formar complejos ternarios.

En este capítulo se pretende calcular la constante de unión del complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$ en presencia de complejos β CD-Surfactante (bajo la condición de que $[\beta\text{CD}] < [\text{Surfactante}]$), ya que, en este caso, la micela cambia de tamaño y podría en algún caso modificar el valor de la constante del complejo micelar formado. El otro caso, cuando $[\beta\text{CD}] > [\text{Surfactante}]$ no se analizará por el momento, ya que, se ha generado

una nueva hipótesis bajo estas condiciones de trabajo, la cual descarta la interacción del complejo de inclusión β CD-Surfactante con el complejo Q- β CD, ya que el primer complejo mencionado estará adsorbido en la superficie del sistema y algunos otros estarán en la solución del sistema sin ejercer algún efecto sobre la formación del complejo Q- β CD, debido a esto no existirán algún efecto en el valor de la constante de inclusión del complejo Q- β CD, por lo que esta hipótesis pasa a formar parte de una nueva perspectiva.

5.2. Metodología

Se utilizaron los resultados de las figuras 4.6, 4.15 y 4.20 mostradas en el capítulo 4. Se hará uso de la ecuación 2.4 para el cálculo de la constante de unión de los complejos Q- $M^{\text{Surfactante}}$ en presencia de β CD usando los resultados de las figuras antes mencionadas.

5.3. Determinación de la constante de unión del complejo micelar quercetina-micela en presencia de β CD

5.3.1 Quercetina-micela (SDS)

Para el cálculo de las constantes de unión, se usará la ecuación 2.4 y los resultados obtenidos por fluorescencia mostrados en el capítulo 4. Aunque, con la diferencia de que ahora se tendrán presentes complejos de β CD-Surfactante, los cuales no intervienen en la formación del complejo micelar Q- M^{SDS} . Como se mencionó anteriormente en la introducción de este capítulo, solo se analizará el caso donde la $[\beta\text{CD}] < [\text{Surfactante}]$.

En la figura 5.1 se muestran las relaciones de R^2 en función del parámetro n construidas con los resultados mostrados en la figura 4.6 a seis concentraciones diferentes de β CD con la finalidad de obtener el mejor valor para n . Los resultados de los seis sistemas mostrados en la figura 5.1 dan como resultado un valor de uno, lo que representa que el complejo micelar Q- M^{SDS} tendrá una estequiometría 1:1 como se muestra en la imagen 5.1.

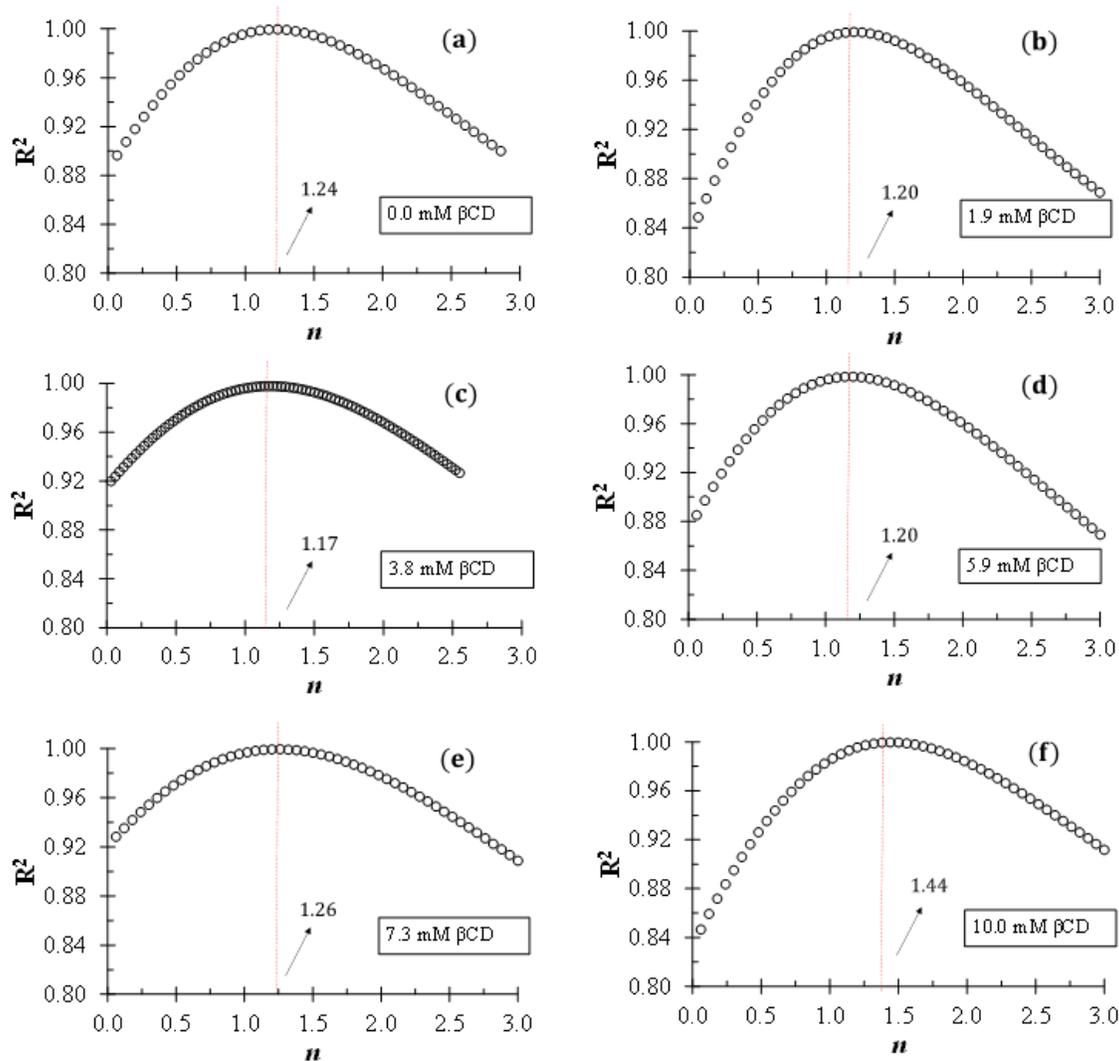


Figura 5.1 Relaciones de R^2 en función del parámetro n , usando al SDS y sistemas que contiene: 0.0 (a), 1.9 (b), 3.8 (c), 5.9 (d), 7.3 (e) y 10.0 mM de β CD (f) construidas con los resultados mostrados en la figura 4.6.

En la figura 5.2 se muestran las relaciones de $[I/I_0 - 1]^{-1}$ en función de $([SDS] - CMC)^{-n}$ para el cálculo de la K del complejo $Q-M^{SDS}$, en presencia de complejos β CD-SDS, dichos complejos no interaccionan con la M^{SDS} ni con la molécula de Q . Los resultados del cálculo del $\text{Log } K$ se muestran en la tabla 5.1 a concentraciones diferentes de β CD, dando como resultado dos valores mayores los cuales se señalan con color rojo ladrillo, cuyos valores son superiores a los demás y los cuales se consideran erróneos ya que, al tratarse de una constante, solo se tendría que obtener un solo valor o valores muy próximos entre ellos.

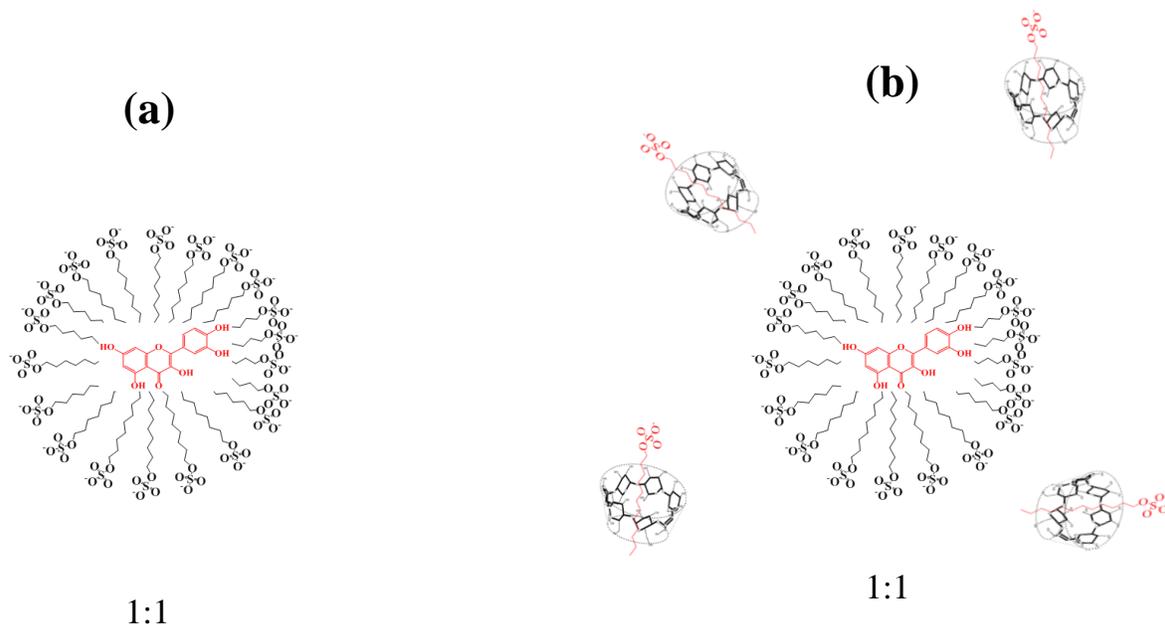


Imagen 5.1 Relación estequiométrica 1:1 del complejo micelar Q-M^{SDS} en ausencia (a) y en presencia de los complejos de inclusión β CD-SDS (b), bajo la condición $[\beta\text{CD}] < [\text{SDS}]$.

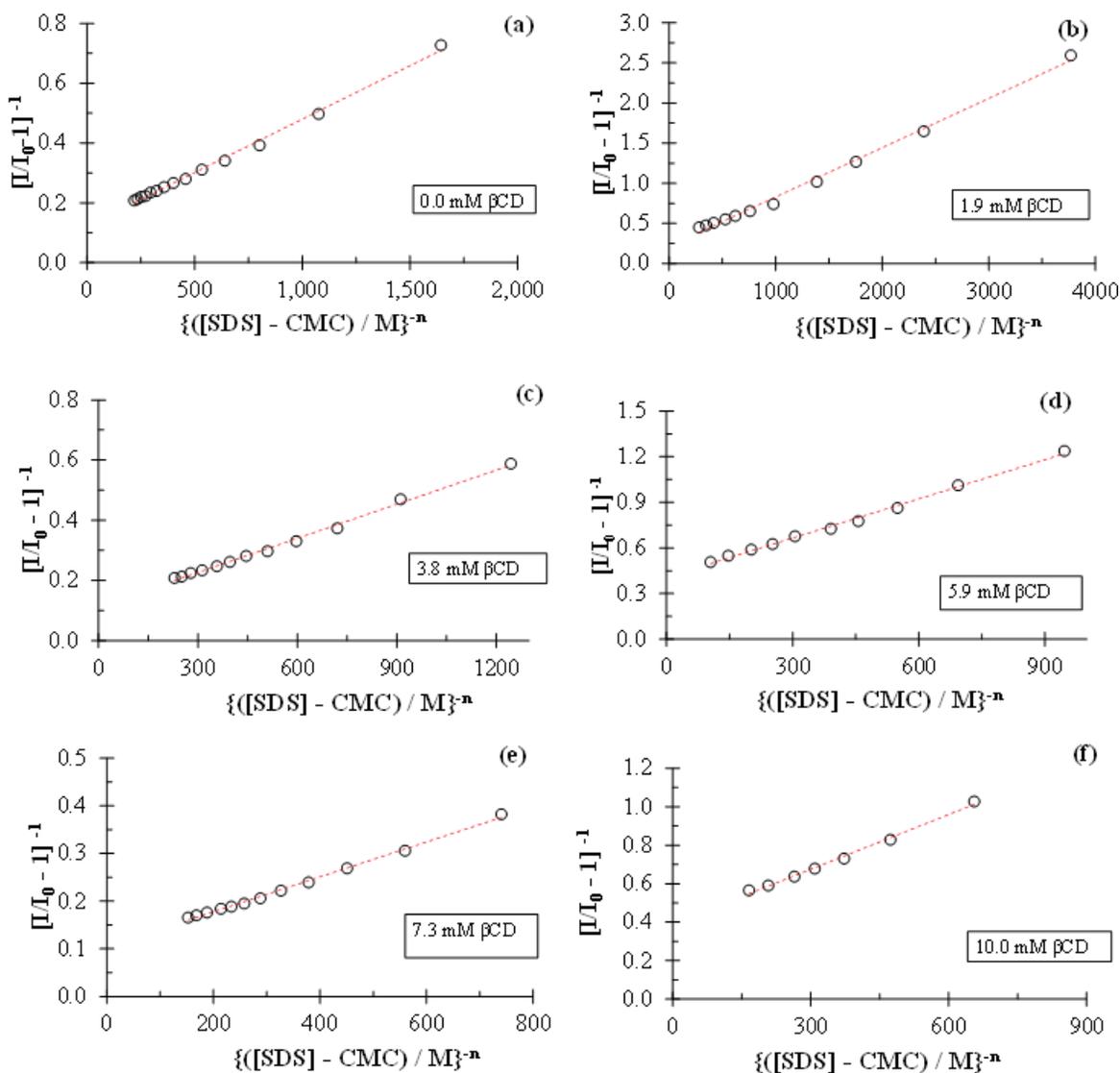


Figura 5.2 Relaciones de $[I/I_0 - 1]^{-1}$ en función de $([SDS] - CMC)^n$ de sistemas con 6×10^{-5} M de Q a concentraciones diferentes de β CD: 0.0 (a), 1.9 (b), 3.8 (c), 5.9 (d), 7.3 (e) y 10.0 (f) donde se varía la concentración de SDS, construidas con los resultados mostrados en la figura 4.6.

La presencia de los complejos de β CD-SDS, sí afecta el valor de la K de unión para la formación del complejo micelar Q- M^{SDS} , además de que estos complejos reducen el diámetro de la micela. La correcta interpretación de sistemas que contengan a estos tres compuestos, donde la Q puede ser intercambiada por alguna otra MI,

conlleva a dar una aplicación a estos sistemas como la liberación controlada de algún fármaco, además de las mejoras en sus propiedades químicas.

Tabla 5.1 Valores de CMC_{SDS} y Log K de la formación del complejo micelar Q- M^{SDS} a concentraciones diferentes de βCD .

$[\beta CD] /$ mM	$CMC_{SDS} /$ mM	b	$m \times 10^5 / M$	R^2	*Log (K/M ⁻¹)
0.0	1.39 ± 0.07	0.123 ± 0.004	35.7 ± 0.6	0.9962	2.54 ± 0.02
1.9	3.37 ± 0.03	0.21 ± 0.02	61.5 ± 1.5	0.9950	2.54 ± 0.05
3.8	5.00 ± 0.83	0.113 ± 0.005	37.8 ± 0.8	0.9960	2.48 ± 0.03
**5.9	6.71 ± 0.39	0.408 ± 0.009	85.7 ± 1.9	0.9959	2.68 ± 0.02
7.3	7.23 ± 0.77	0.104 ± 0.003	36.6 ± 0.7	0.9965	2.45 ± 0.02
**10.0	10.0 ± 1.4	0.39 ± 0.01	94.8 ± 3.2	0.9944	2.61 ± 0.03

*Para todos los casos se usó un valor de n de 1.

** Los valores en color rojo ladrillo se consideran poco aceptables.

5.3.2 Quercetina-micela (CTAB)

Ahora se calcula la constante de unión para la formación del complejo micelar Q- M^{CTAB} en presencia de la βCD , tomando los resultados de la figura 4.15 mostrada en el capítulo 4. En el capítulo 1 se mostró el cálculo de la K de unión del complejo micelar Q- M^{CTAB} en ausencia de la βCD dando como resultado la formación del complejo con estequiometría 1:1, imagen 5.2(a), este valor fue calculado con la ecuación propuesta por María de la Guardia¹²¹ y también con la ecuación propuesta en este trabajo (apéndice 4), figura 5.3(a), dando el mismo resultado. La estequiometría cambia cuando en el sistema se tiene a la βCD , dando como resultado la unión de una Q con dos M^{CTAB} , imagen 5.3(b-d). La ecuación propuesta por *De la Guardia* (ecuación 1.3) solo se ajusta a la formación de complejos con estequiometría 1:1, pero como se muestra en las figuras 5.3(b-d) (líneas solidas rojas) considerar esta relación estequiométrica ($n = 1$) tendrá un valor de R^2 menor a 0.96 y debido a que en la ecuación 1.3 se tiene una relación lineal, se debe usar la n con el mayor valor de R^2 (ecuación 2.4) que es el que se muestra en líneas punteadas en las figuras antes mencionadas (ver apéndice 4 para la mejor comprensión del parámetro n).

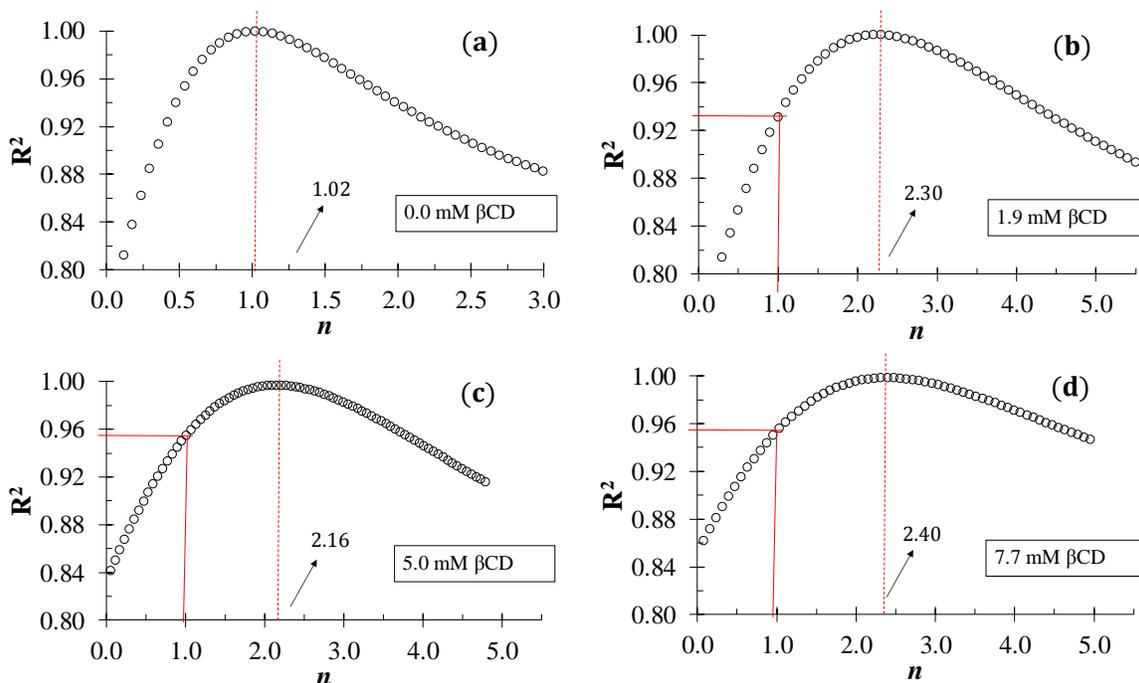


Figura 5.3 Relaciones de R^2 en función del parámetro n , usando al CTAB y sistemas que contiene: 0.0 (a), 1.9 (b), 5.0 (c) y 7.7 mM de β CD (d) construidas con los resultados mostrados en la figura 4.15.

Esto concuerda con lo que se había planteado anteriormente, ya que un complejo de inclusión o micelar no puede estar formado solamente por un huésped y un anfitrión, ya que depende de los compuestos que forman estos complejos. En la imagen 5.2(b) se muestra la representación del complejo micelar $Q-M^{CTAB}$ en presencia de complejos β CD-CTAB.

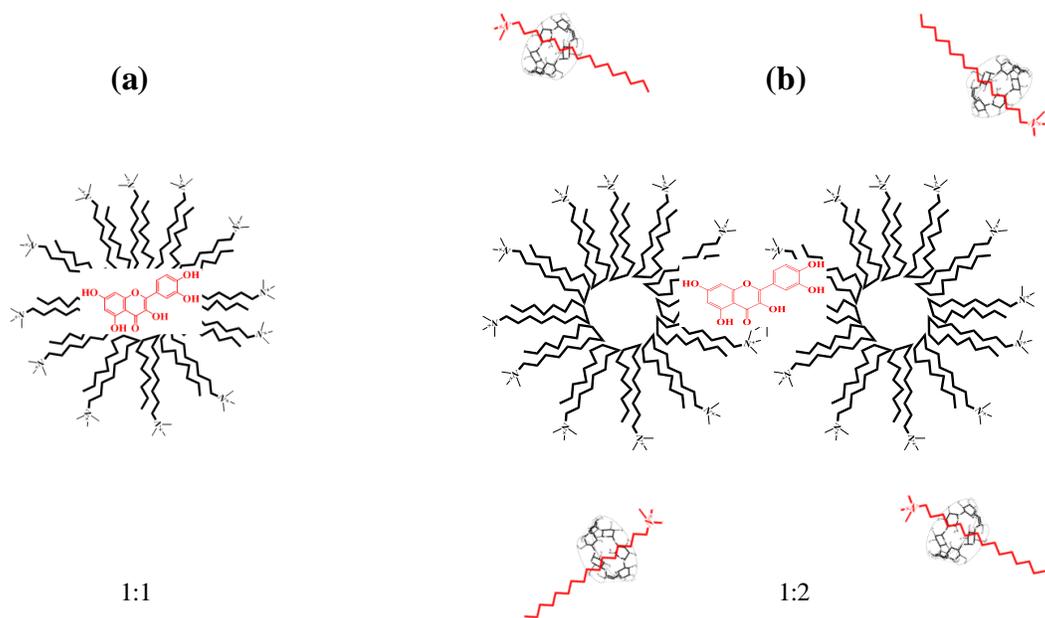


Imagen 5.2 Relación estequiométrica 1:1 del complejo micelar $Q-M^{CTAB}$, en ausencia (a) y 1:2 en presencia de los complejos de inclusión $\beta CD-CTAB$ (b), bajo la condición $[\beta CD] < [CTAB]$.

En la figura 5.4 se tienen las relaciones para el cálculo de la K de unión del complejo micelar, bajo la consideración de que el valor de n es uno cuando en ausencia de la βCD y de dos cuando se tiene a la βCD , los resultados correspondientes se muestran en la tabla 5.2. Se obtienen valores de $\log K$ para los sistemas que contienen a la βCD , donde el complejo que se evidencia que se forma es el $\beta CD-(CTAB)_2$, distinto a lo que se reporta en otros trabajos. En esta parte del trabajo se resalta la importancia de la interpretación correcta de las interacciones que ocurren en un sistema y, además la consideración de estequiometrías distintas a la 1:1, (ver sección 2.6).

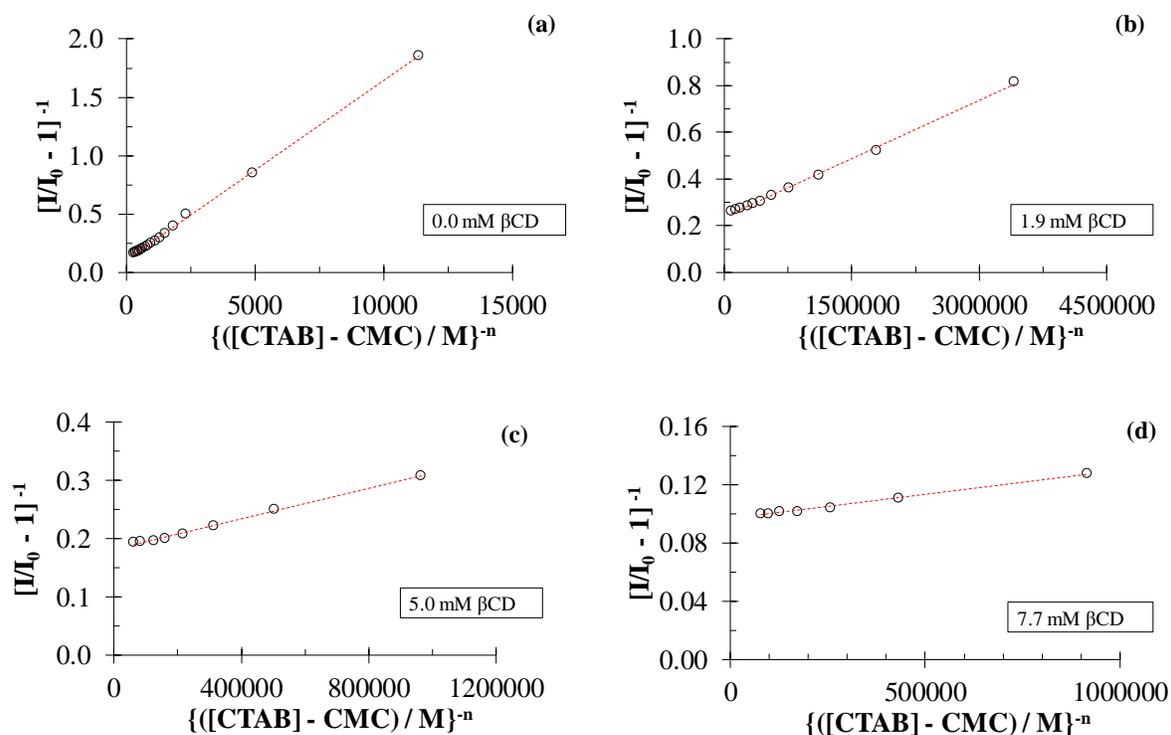


Figura 5.4 Relaciones de $[I/I_0 - 1]^{-1}$ en función de $\{[CTAB] - CMC\} / M^{-n}$ de sistemas con $6 \times 10^{-5} M$ de Q a concentraciones diferentes de βCD : 0.0 (a), 1.9 (b), 5.0 (c) y 7.7 mM (d) donde se varía la concentración de CTAB, construidas con los resultados mostrados en la figura 4.15.

Tabla 5.2 Valores de CMC_{CTAB} y $\text{Log } K$ de la formación del complejo micelar $Q-M^{CTAB}$ a concentraciones diferentes de βCD .

$[\beta CD] /$ mM	$CMC_{CTAB} /$ mM	b	m $\times 10^6 / M$	R ²	Log (K/M⁻¹)
*0.0	0.8 ± 0.1	0.118 ± 0.002	134.9 ± 2.4	0.9965	*** 2.94 ± 0.01
**1.9	1.8 ± 0.1	0.245 ± 0.001	0.153 ± 0.002	0.9989	6.205 ± 0.007
**5.0	4.2 ± 0.7	0.182 ± 0.001	0.131 ± 0.003	0.9958	6.143 ± 0.014
**7.7	6.4 ± 1.1	0.0966 ± 0.0004	0.033 ± 0.001	0.9947	6.460 ± 0.016

*Para estos casos se usó un valor de n de 1.

**Para estos casos se usó un valor de n de 2.

***Valor considerado como incorrecto.

5.3.3 Quercetina-micela(TX100)

Ahora toca el turno de analizar al complejo micelar Q-M^{TX100} en presencia de la β CD, tomando los resultados mostrados en la figura 4.20. La formación del complejo micelar Q-M^{TX100} en ausencia de la β CD, nos da un valor de n de cero, figura 5.5(a), por lo que no se tendría la formación del complejo, pero cuando se analiza la familia de espectros de emisión 4.20(a) se tiene un aumento en la IF, por lo que monómeros, dímeros, trímeros, etc. del TX100 interactúan con la Q haciéndola más rígida (estas moléculas de TX100 no forman aún a la M^{TX100}) por lo que se da un aumento en la IF, esto es inferido, debido a que cuando se tienen concentraciones bajas del TX100 (por abajo del valor de CMC), figura 4.20(a) lado derecho, se tiene ya un aumento de la IF, por lo que estas asociaciones de surfactante de TX100 vuelven rígida a la molécula de Q y cuando se lleva a cabo la formación de la M^{TX100}, esta arreglo molecular no interactúa directamente con la Q, si no solo las asociaciones de este surfactante.

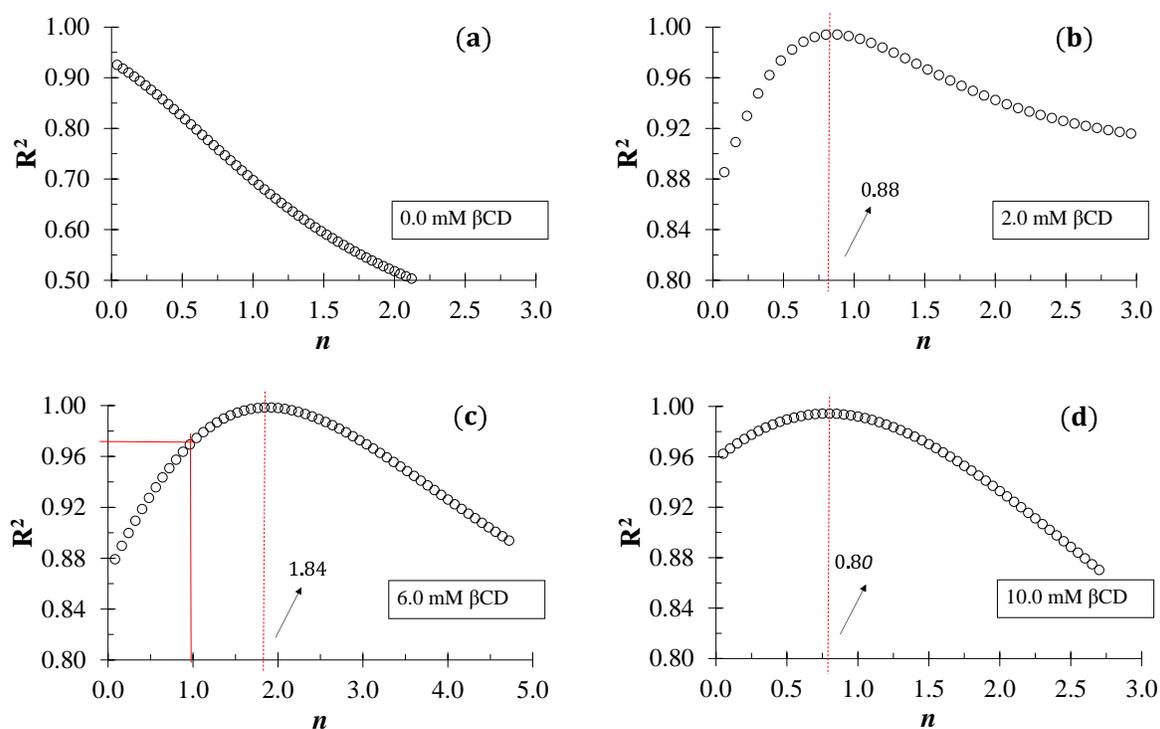


Figura 5.5 Relaciones de R^2 en función del parámetro n , usando al TX00 y sistemas que contiene: 0.0 (a), 2.0 (b), 6.0 (c) y 10.0 mM de β CD (d) construidas con los resultados mostrados en la figura 4.20.

En los sistemas que contienen β CD, figura 5.5(b-d), se tiene una relación estequiométrica de 1:1 cuando se tienen concentraciones de 2.0 y 10 mM de β CD y cambia a 1:2 cuando se tiene una concentración de 6.0 mM de β CD.

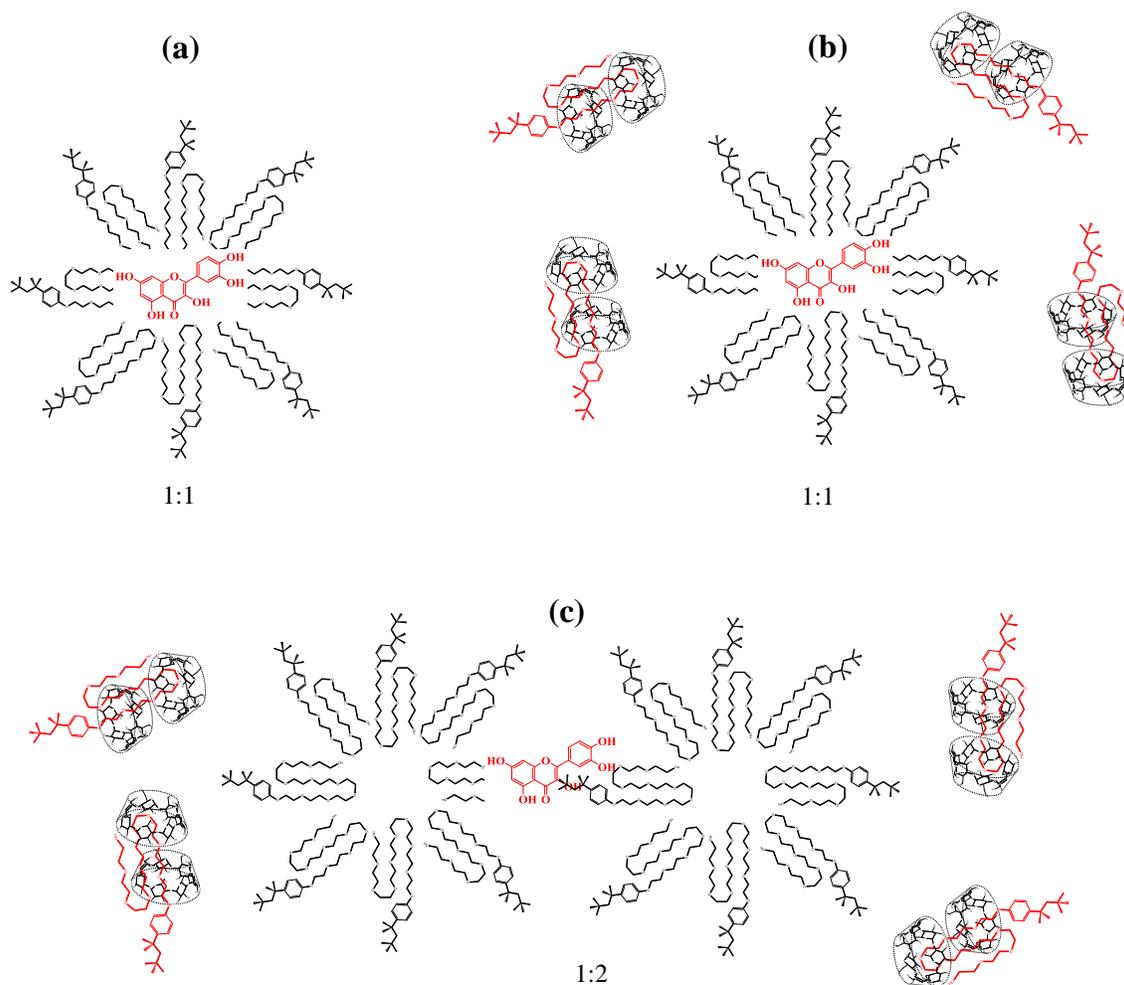


Imagen 5.3 Relación estequiométrica 1:1, del complejo micelar Q-M^{TX100} en ausencia (a) y 1:1 y 1:2 en presencia de los complejos de inclusión β CD-TX100 (b) y (C), bajo la condición $[\beta\text{CD}] < [\text{TX100}]$.

Los valores de $\log K$ se muestran en la tabla 5.3, dando un valor mayor cuando se tiene una concentración de 6 mM de β CD, por lo que solo se considera correcto la formación del complejo Q-M^{TX100} con estequiometría 1:1.

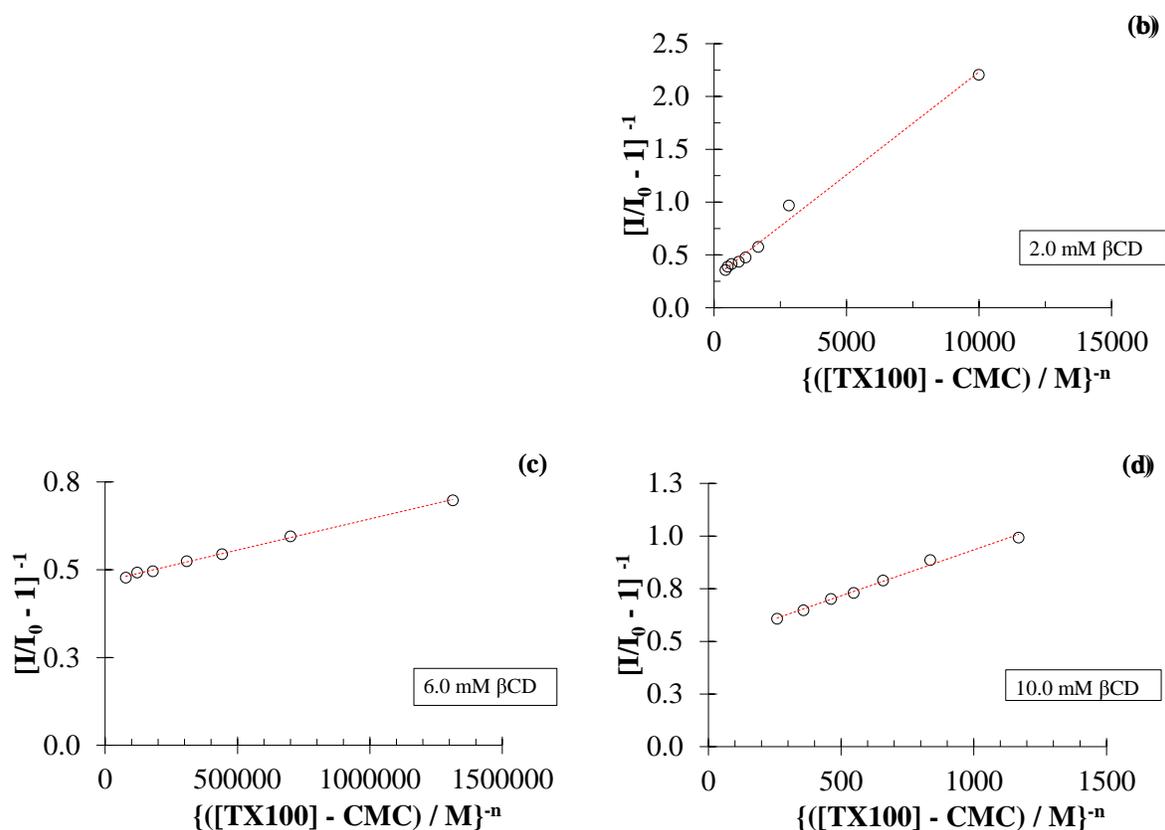


Figura 5.6 Relaciones de $[I/I_0 - 1]^{-1}$ en función de $([TX100] - CMC)^{-n}$ de sistemas con 6×10^{-5} M de Q a concentraciones diferentes de βCD : 0.0 (a), 2.0 (b), 6.0 (c) y 10.0 mM de βCD (d) construidas con los resultados mostrados en la figura 4.20.

Tabla 5.3 Valores de CMC_{TX100} y $\log K$ de la formación del complejo micelar Q- M^{TX100} a concentraciones diferentes de βCD .

$[\beta CD] /$ mM	$CMC_{TX100} /$ mM	b	m x 10⁵ / M	R²	Log (K/M⁻¹)
0.0	0.59 ± 0.08	-	-	-	-
*2.0	1.59 ± 0.17	0.29 ± 0.03	19.48 ± 0.71	0.9920	3.166 ± 0.052
**6.0	4.0 ± 1.2	0.468 ± 0.002	0.0177 ± 0.0003	0.9982	6.421 ± 0.010
*10.0	5.0 ± 0.3	0.50 ± 0.01	43.653 ± 1.753	0.9920	3.057 ± 0.027

*Para estos casos se usó un valor de n de 1.

**Para estos casos se usó un valor de n de 2.

***Valor considerado como incorrecto en color rojo ladrillo.

Por tanto, los diagramas de distribución de la Q en función de la pSurfactante, donde los surfactantes usados son: SDS, CTAB y TX100, en presencia de β CD (en forma de complejos de β CD-surfactante, los cuales no interfieren se unen a la Q ni a la $M^{\text{Surfactante}}$) se muestran en la figura 5.7. En estos diagramas de distribución de especies se tiene un mayor valor de Log K para el complejo Q- M^{CTAB} , por lo que se tiene una mayor facilidad para formar dicho complejo.

La formación del complejo Q- M^{CTAB} tiene, además, una relación estequiométrica a la 1:1 usando la ecuación propuesta en este trabajo (ecuación 2.3), la cual da una relación estequiométrica de 1:2 para la formación de este complejo la cual representa que la unión de una molécula de Q con dos M^{CTAB} ; esto puede deberse a que la M^{CTAB} es la más pequeña en comparación con la M^{SDS} y M^{TX100} , y debido a ese tamaño compacto, la Q puede unirse a más de una M^{CTAB} .

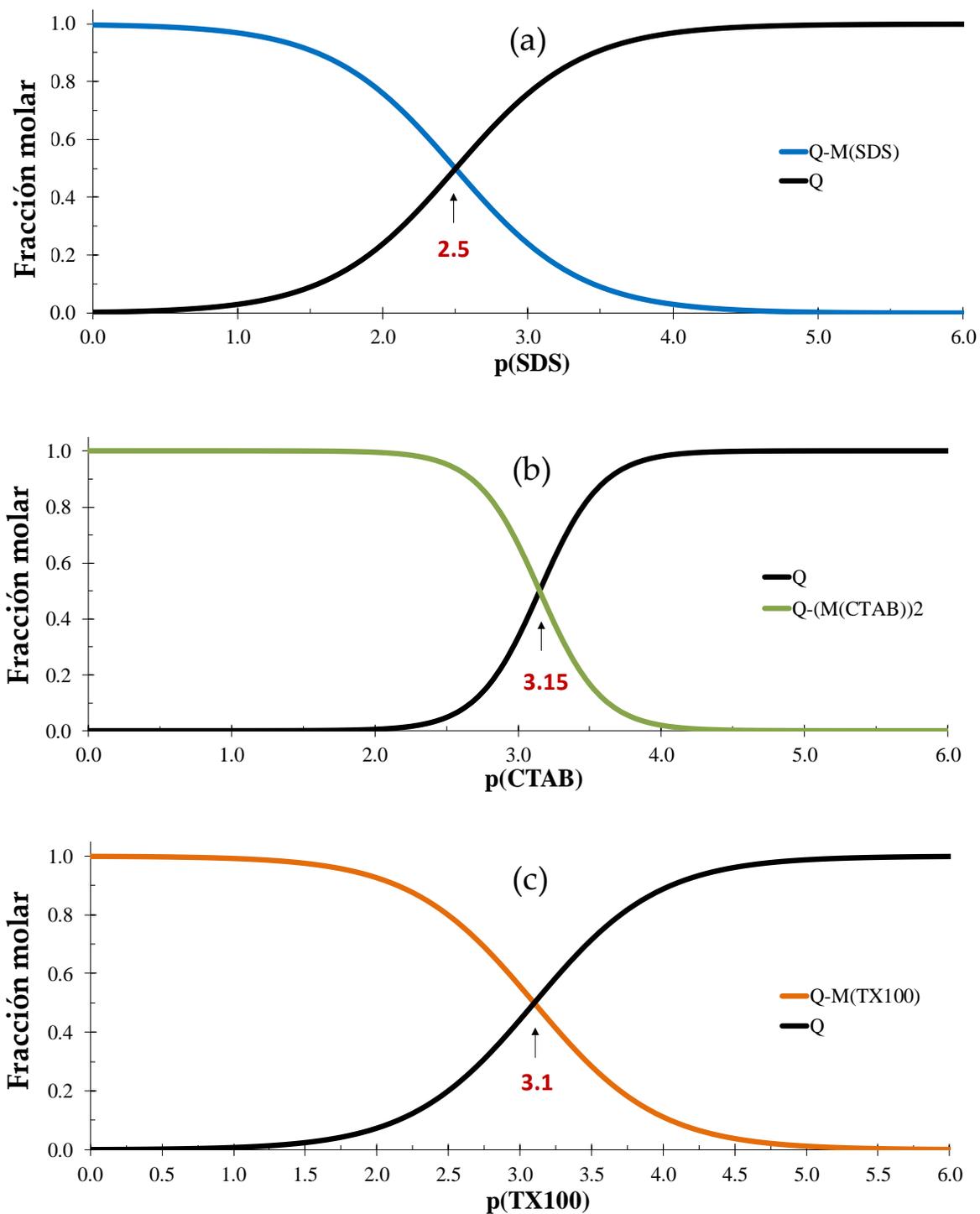


Figura 5.7 Diagramas de distribución de la Q en función de la pSurfactante: SDS (a), CTAB (b) y TX100 (c), en presencia de β CD (en forma de complejos β CD-Surfactante que no interaccionan con las $M^{\text{Surfactante}}$), medidos en ClO_4^- pH4.

5.4 Conclusiones C5

Se calcularon los valores de $\log K$ correspondientes a los complejos micelares Q- $M^{\text{Surfactante}}$, con valores más altos cuando está presente la βCD , además, se obtuvieron para el complejo Q- $M^{\text{Surfactante}}$ valores estequiométricos diferentes al 1:1 y para el caso del complejo Q- M^{TX100} se genera la formación del complejo, ya que en ausencia de la βCD no se lleva a cabo la formación del complejo.

Capítulo 6. Determinación de la constante de inclusión del complejo β CD-Surfactante

El éxito es ir de fallo en fallo sin perder el entusiasmo.

-Winston Churchill

6.1 Introducción

Finalmente, ya que se ha demostrado que en este tipo de sistemas y bajo cualquier condición de concentración del surfactante o de β CD, se lleva a cabo la formación del complejo β CD-Surfactante, además, la hipótesis hasta el momento es que la β CD se ve inclinado por el surfactante en comparación con la Q. Por tanto, se procede a calcular la constante de inclusión del complejo β CD-Surfactante para compararla con la constante del complejo Q-M^{Surfactante} y evidenciar que efectivamente la β CD es más afín al surfactante.

La β CD forma complejos de inclusión con una amplia variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos (anfitrión) en solución y en estado sólido con la finalidad de cambiar algunas de las propiedades físicas del anfitrión ¹⁷³⁻¹⁷⁵.

En la actualidad, se conoce que las CD's incorporan en sus cavidades la parte hidrofóbica de los surfactantes, sin importar la carga eléctrica que posee dicho compuesto en solución, ver imagen 6.1, caracterizados por tener una constante de unión grande para la formación de este complejo en comparación con la formación de complejos formados con otras moléculas orgánicas ¹⁷⁶⁻¹⁸⁶. Dichos estudios han sido realizados por medio de una variedad como son: calorimetría ¹⁸⁷⁻¹⁸⁹, conductimetría ¹⁹⁰⁻¹⁹⁴, espectroscopía ¹⁹⁵⁻¹⁹⁷, RMN ¹⁹⁸⁻²⁰⁰, tensión superficial ²⁰¹⁻²⁰². Los parámetros medidos son el valor de CMC que cambia con el aumento de la CD y el valor de la constante de inclusión del complejo CD-Surfactante; Runhua Lu y colaboradores ^{6.29} proponen un método numérico basado en medidas de tensión superficial para el cálculo de la constante de inclusión el cual es sencillo y fácil de emplear en comparación con otros métodos encontrados en la literatura.

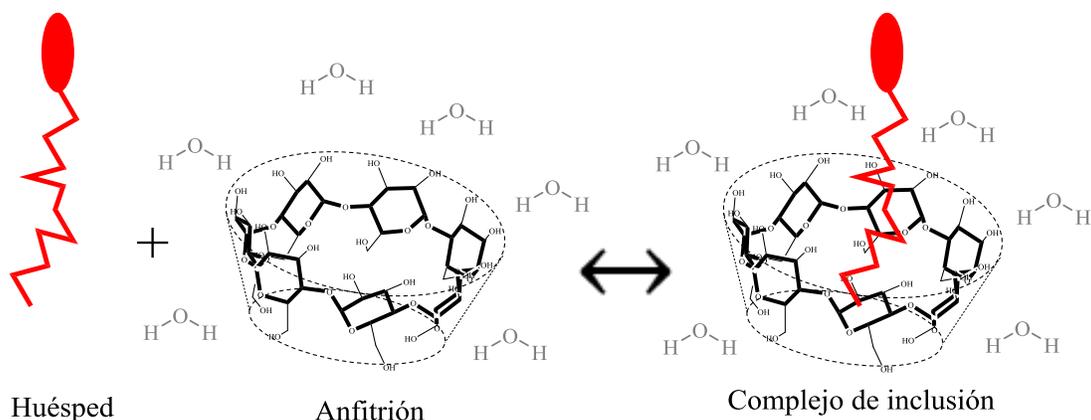


Imagen 6.1. Representación de la formación del complejo de inclusión surfactante- β CD.

6.2 Metodología

Se emplean los resultados de TS mostrados en el capítulo 4 para el cálculo del valor de CMC de los surfactantes en presencia de β CD.

6.3. Cálculo de la constante de inclusión del complejo β CD-Surfactante

6.3.1 Introducción

Para el cálculo de la constantes de inclusión del complejo β CD-Surfactante se emplea la ecuación propuesta por Runhua Lu y colaboradores ²⁰¹, partiendo de la siguiente relación.



Donde la CD es la ciclodextrina libre, T es el surfactante (tensoactivo) libre y $CD-T$ es el complejo de inclusión. Por lo tanto, la ecuación de acción de masas estará expresado de la siguiente manera.

$$K = \frac{[CD - T]}{[CD][T]} \quad (6.1)$$

$$CD_0 = [CD] + [CD - T] \quad (6.1)$$

$$T_0 = [T] + [CD - T] \quad (6.3)$$

El subíndice de las ecuaciones 6.2 y 6.3 representan las concentraciones totales. Sustituyendo las ecuaciones 6.2 y 6.3 en la ecuación 6.1, se tiene.

$$K = \frac{T_0 - [T]}{(CD_0 - T_0 + [T])[T]} \quad (6.4)$$

$$\frac{1}{K} = \frac{(CD_0 - T_0 + [T])[T]}{T_0 - [T]} = \frac{CD_0 - T_0 + [T]}{T_0/[T] - 1} \quad (6.5)$$

$$T_0 - [T] = \frac{1}{K} \left(1 - \frac{T_0}{[T]} \right) + CD_0 \quad (6.6)$$

De la ecuación 6.6, se puede obtener la constante de inclusión de un complejo con estequiometría 1:1, ya que $T_0 - [T]$ varía linealmente con la $(1 - T_0/[T])$, la pendiente es igual a $1/K$ y la ordenada al origen es CD_0 , a partir de las medidas de TS. Los valores de $[T]$ y T_0 se obtienen de las relaciones de TS *vs* [Surfactante] en ausencia y en presencia de la β CD respectivamente (para una mejor comprensión de esta ecuación revisar la referencia 201 y el Apéndice 6).

6.3.2 β CD-SDS

Para el cálculo de las constantes de inclusión del complejo β CD-SDS, se emplea la ecuación 6.6, de las medidas obtenidas por TS mostradas en el capítulo 4. En la figura 6.1 se muestran las relaciones de $T_0 - [T]$ en función de $1 - T_0/T$ de cinco sistemas con concentraciones diferentes de β CD. En la tabla 6.1 se muestran los resultados de estas regresiones lineales para el cálculo de la constante de inclusión, dando un valor mayor cuando la concentración de β CD es 2 mM, por lo que se descarta el primer valor mostrado en la tabla 6.1. Junquera y colaboradores proponen valores de $\log K$ de 2.70¹⁸⁴, Benkö y colaboradores 4.30¹⁸⁹, Satake y colaboradores 3.05 (con la α CD)

¹⁹⁰ y 3.56 (con la β CD) ¹⁹¹, Palepu y colaboradores 3.14 a 3.86 ¹⁹² y Dharmawardana y colaboradores 3.92 ²⁰², dando una concordancia con los valores reportados en este trabajo por lo que se consideran aceptables.

Todo el análisis mostrado en este capítulo es usando concentraciones menores del surfactante a su correspondiente valor de CMC.

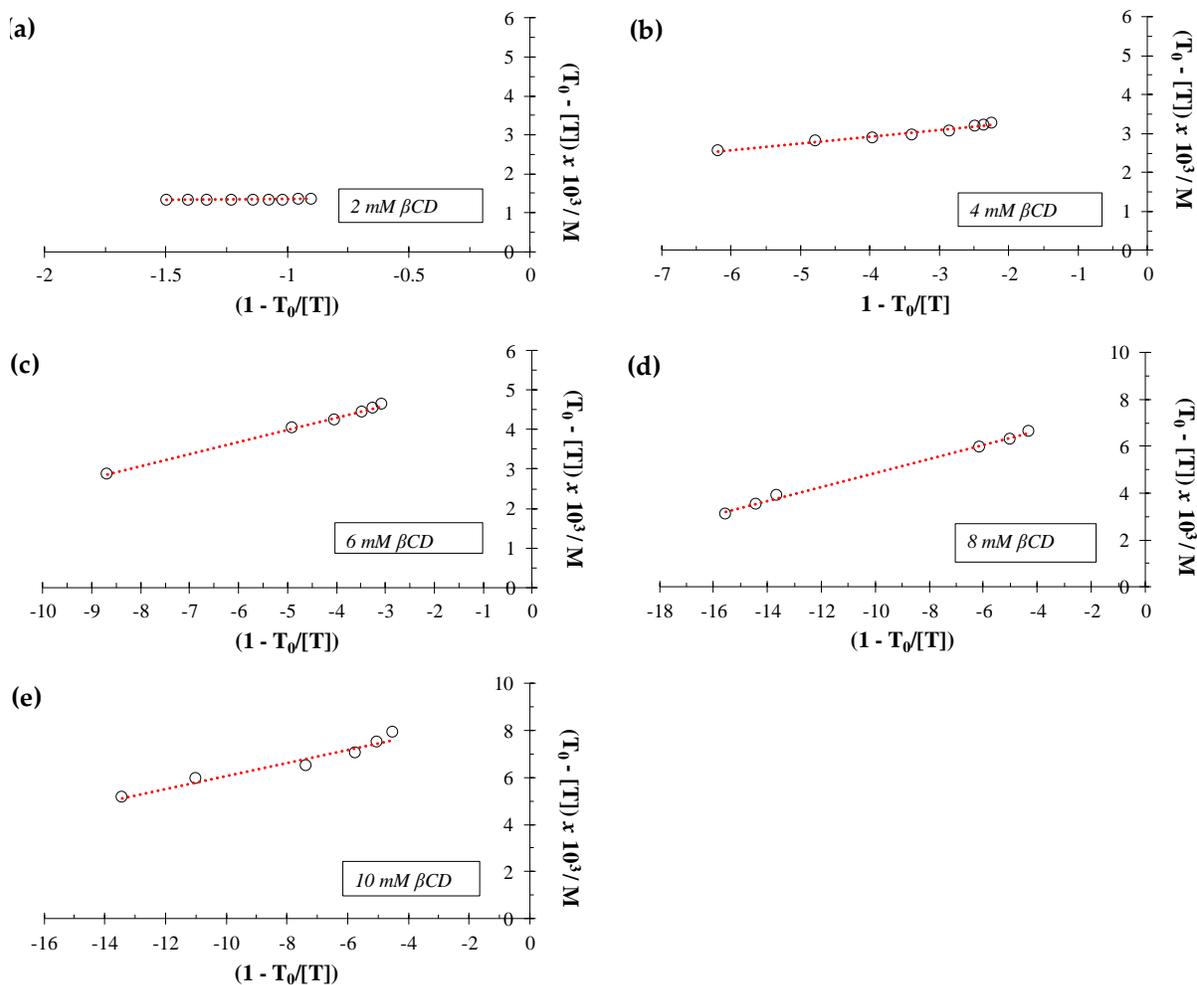


Figura 6.1 Relación de $T_0 - [T]$ en función de $1 - T_0/T$, construida con los valores de la figura 4.2(b) usando al SDS.

Tabla 6.1 Valores de la constante de inclusión del complejo β CD-SDS con relación molar 1:1 a concentraciones diferentes de β CD.

$[\beta\text{CD}] / \text{mM}$	$\text{CMC}_{\text{SDS}} / \text{mM}$	$b \times 10^4 / \text{M}$	$m \times 10^5 / \text{M}$	R^2	$*\text{Log} (\text{K}/\text{M}^{-1})$
2	2.63	13.822 ± 0.024	3.63 ± 0.20	0.9757	4.440 ± 0.024
4	4.69	36.16 ± 0.45	17.35 ± 1.19	0.9682	3.761 ± 0.030
6	5.97	55.22 ± 0.41	30.64 ± 0.82	0.9964	3.514 ± 0.012
8	7.31	78.73 ± 0.88	30.04 ± 0.81	0.9964	3.522 ± 0.012
10	9.05	88.35 ± 2.61	27.67 ± 3.07	0.9412	3.558 ± 0.048

Log K considerado incorrecto en color rojo ladrillo.

6.3.3 β CD-CTAB

Se muestra una relación de TS en función de la concentración del CTAB para el cálculo del valor de CMC a estas concentraciones de β CD, figura 6.2(a). Las relaciones de $T_0 - [T]$ en función de $1 - T_0/T$ para el cálculo de las constantes de inclusión del complejo β CD-CTAB se muestran en la figura 6.2(b y c). Los dos valores de Log de K para este complejo es menor que para la formación del complejo β CD-CTAB, y de los cuales son un poco diferentes entre estos.

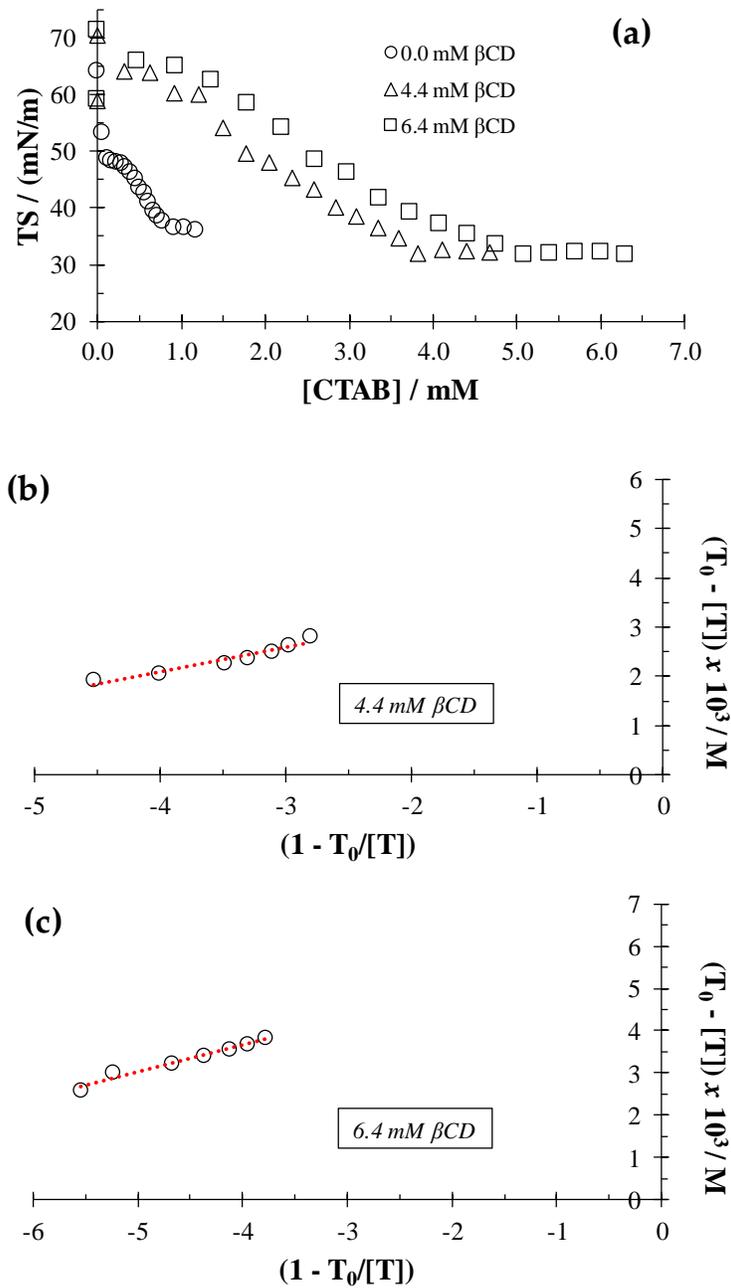


Figura 6.2 Relación de TS en función de la concentración de CTAB a concentraciones diferentes de β CD (a) y relaciones de $T_0 - [T]$ en función de $1 - T_0/T$ teniendo concentraciones fijas de β CD: 4.4 y 6.4 mM.

Mwakibete reporta un valor de 4.83 ¹⁸⁵, Bagheri reporta 4.81 ¹⁸⁷ y Okubo reporta 3.35 ¹⁹⁴, donde el valor reportado por Okubo es cercano al que se obtuvo en este trabajo. Como se puede dar cuenta el lector, los valores de log K encontrados en la literatura cambian demasiado, pero en todos los casos mostrados hasta el momento, los valores de log K para la formación del complejo β CD-Surfactante es mayor que el valor para la formación del complejo Q- β CD, por lo que la hipótesis que se mostró en los capítulos 5 y 6 se aceptan, las cuales decían que el surfactante rompe el complejo Q- β CD para dar origen a la formación del complejo β CD-Surfactante.

Tabla 6.2 Valores de la constante de inclusión del complejo β CD-CTAB con relación molar 1:1 a concentraciones diferentes de β CD.

$[\beta\text{CD}] / \text{mM}$	$\text{CMC}_{\text{CTAB}} / \text{mM}$	$b \times 10^4 / \text{M}$	$m \times 10^5 / \text{M}$	R^2	*Log (K/M ⁻¹)
4.4	3.8	40.99 ± 2.00	49.93 ± 5.70	0.9265	3.302 ± 0.050
6.4	5.1	62.44 ± 2.36	64.37 ± 5.18	0.9624	3.191 ± 0.035

6.3.4 β CD-TX100

Se muestra una relación de TS en función de la concentración del TX100 para el cálculo del valor de CMC a estas concentraciones diferentes de β CD, figura 6.3(a y b). Las relaciones de $T_0 - [T]$ en función de $1 - T_0/T$ para el cálculo de las constantes de inclusión del complejo β CD-TX100 se muestran en la figura 6.3(c y d). Los valores de Log de K son mayores a los de los complejos antes mostrados, por lo que el TX100 muestra una mayor fuerza para llevar a cabo la formación del complejo y además los dos valores de Log de K a dos concentraciones diferentes estadísticamente son iguales. En la literatura se encuentra un valor de Log K de 5.26 para la formación de este complejo reportado por Du y colaboradores ¹⁹⁶, el cual es grande al igual que se reporta en este trabajo, aunque entre ellos no coinciden.

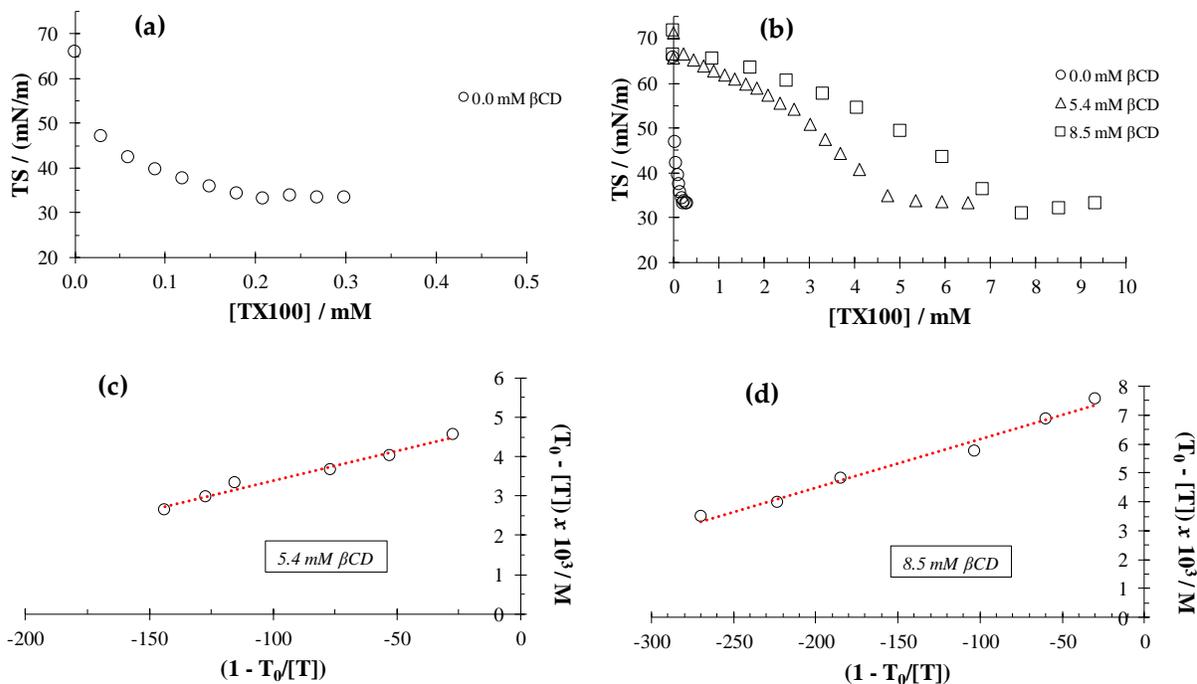


Figura 6.3 Relación de TS en función de la concentración de TX100 en ausencia (a) y a tres concentraciones diferentes de β CD (b) y relaciones de $T_0 - [T]$ en función de $1 - T_0/T$ teniendo concentraciones fijas de β CD: 5.4 y 8.5 mM.

Como se mostró en el capítulo 4 (ver tabla 4.8), la relación estequiométrica para la formación del complejo β CD-TX100 tiene una relación estequiométrica de 1.5:1 o 2:1.

Tabla 6.3 Valores de la constante de inclusión del complejo β CD-TX100 con relación molar 1:1 a concentraciones diferentes de β CD.

$[\beta\text{CD}] / \text{mM}$	$\text{CMC}_{\text{TX100}} / \text{mM}$	$b \times 10^4 / \text{M}$	$m \times 10^5 / \text{M}$	R^2	$*\text{Log} (\text{K}/\text{M}^{-1})$
5.4	4.8	49.08 ± 1.22	1.52 ± 0.12	0.9683	4.820 ± 0.035
8.5	7.6	78.32 ± 1.90	1.67 ± 0.11	0.9780	4.777 ± 0.029

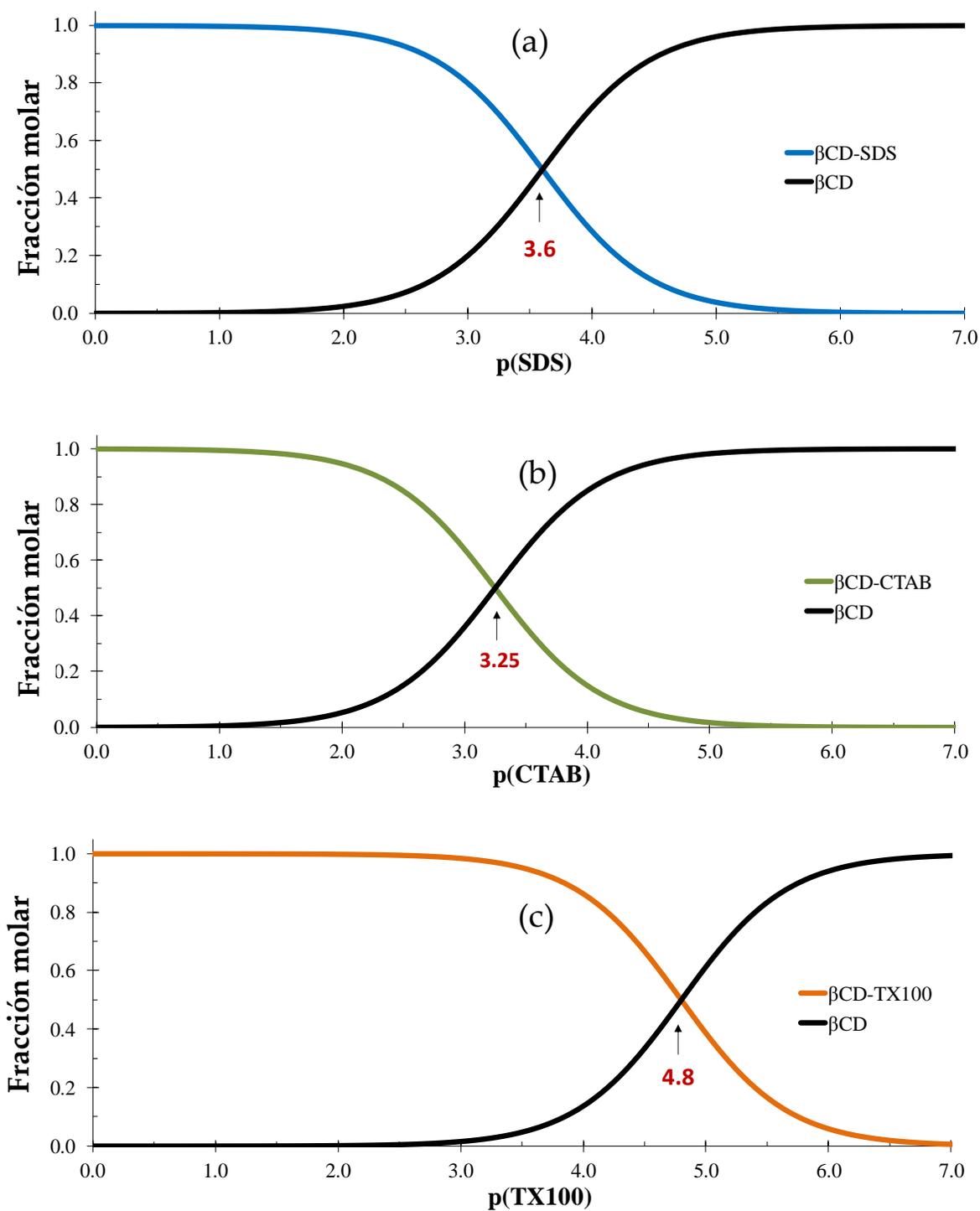


Figura 6.4 Diagramas de distribución especies químicas de la β CD en función de la pSurfactante: SDS (a), CTAB (b) y TX100 (c), medidos en ClO_4^- pH4.

En la figura 6.4 se muestran los diagramas de distribución de especies químicas de la β CD en función de $p(\text{Surfactante})$, donde el complejo β CD-TX100 tiene el mayor valor de $\log K$, después seguiría el complejo β CD-SDS y finalmente β CD-CTAB. El complejo tiene el mayor valor de $\log K$, aunque se debe de considerar que la relación estequiométrica podría estar dada por una relación de 1.5:1 (3:2) o 2:1 (ver tabla 4.8). En el resumen (ver página vii) de este trabajo de investigación se tocó el tema de la competitividad en la formación de complejos supramoleculares, ya que la formación de los complejos β CD-Surfactante, se lleva a cabo a concentraciones menores de surfactante que, la formación del complejo $Q-M^{\text{Surfactante}}$ (ver figuras 5.7 y 6.4), por lo que se puede inferir que, *la formación del complejo β CD-Surfactante se llevará a cabo con mayor prioridad que la formación de otro complejo e incluso que la formación de la $M^{\text{Surfactante}}$* , figura 6.5.

También de acuerdo con todos los resultados mostrados en este trabajo, se descartan los valores de $\log K$ reportados en la literatura para la formación del complejo $Q-M^{\text{Surfactante}}$ mostrados en la tabla 1.4^{203, 208}, debido a que dichos valores son superiores a los correspondientes de los complejos β CD-Surfactante, ver figura 65).

En la figura 6.6 se esquematiza de manera general las conclusiones del efecto de los surfactantes en la formación del complejo de inclusión, iniciando con la interacción entre uno de los surfactantes y el complejo $Q-\beta$ CD para dar como productos de dicha interacción a un nuevo complejo de inclusión β CD-Surfactante conforme se aumenta la concentración del surfactante (escenario 1), hasta superar su correspondiente valor de CMC, ya que, después de la CMC ya se tendrán formadas a las $M^{\text{Surfactante}}$ las cuales formarán el complejo $Q-M^{\text{Surfactante}}$ para tener finalmente la formación de dos complejos: β CD-Surfactante y $Q-M^{\text{Surfactante}}$ (escenario 2). Bajo ninguna condición se lleva a cabo la formación de complejos ternarios en los escenarios 1 y 2.

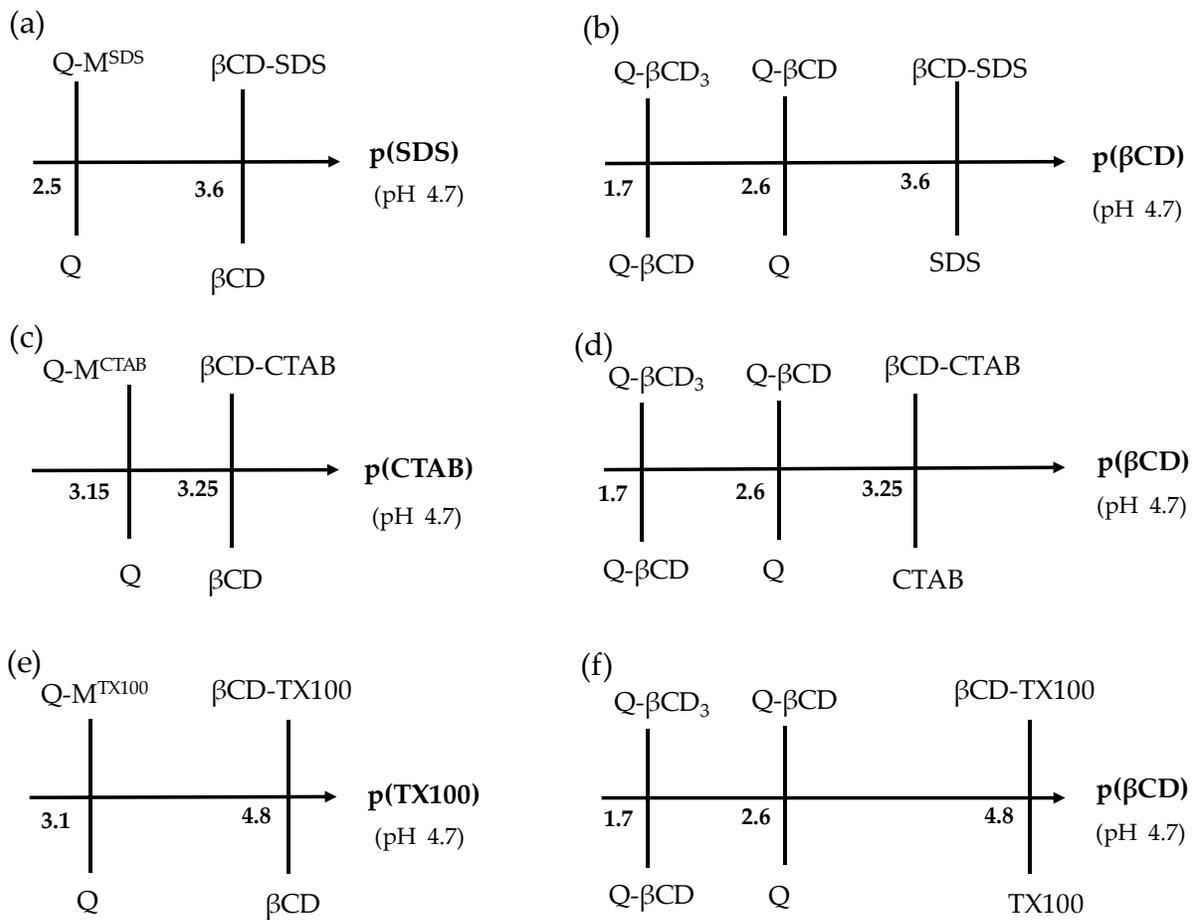


Figura 6.5 Escalas de predicción de reacciones en escalas de $p(\text{Surfactante})$ y $p(\beta\text{CD})$ para el: SDS (a) y (b), CTAB (c) y (d) y TX100 (e) y (f) medidas a pH de alrededor de 4.7.

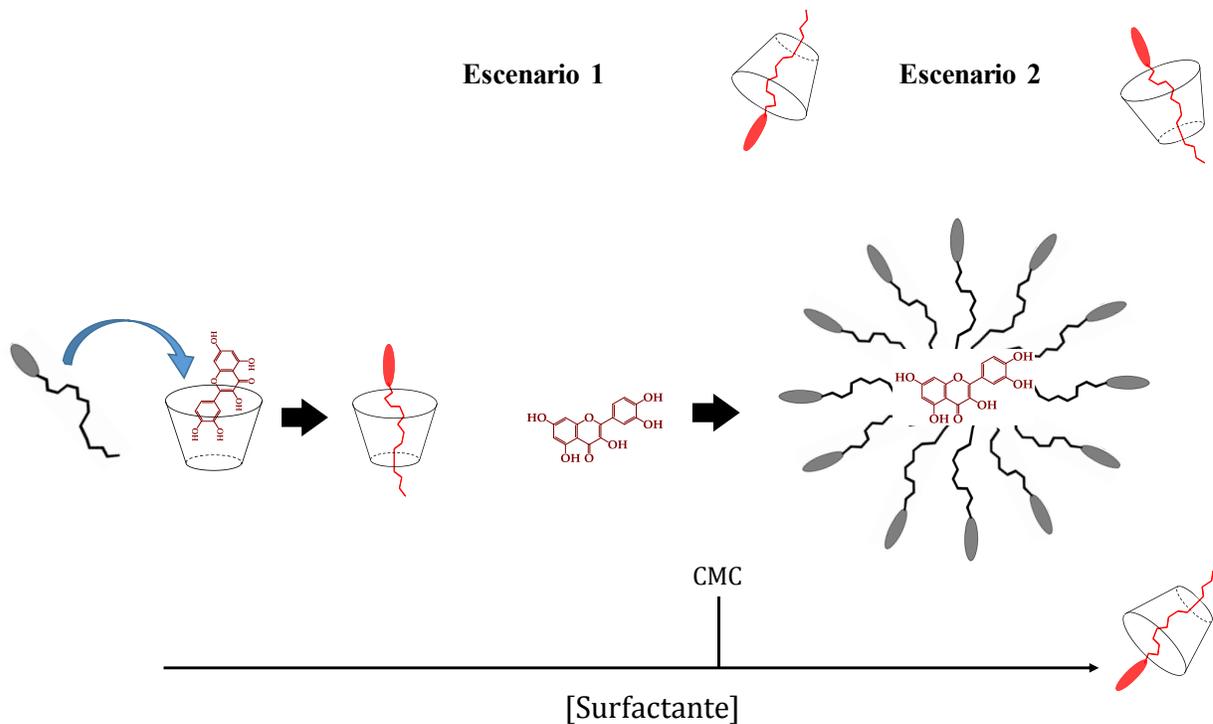


Figura 6.6 Representación general del efecto de uno de los surfactantes sobre el complejo Q-βCD, cuando la concentración del surfactante es aumentada (de izquierda a derecha).

6.4 Conclusiones C6

La formación del complejo de inclusión βCD-Surfactante, se lleva a cabo como se había especulado en capítulos anteriores y se forma con constantes del orden de más de 3 en la escala de pK. Se demuestra la experimentalmente que la βCD se inclina por el surfactante en comparación con la Q.

Conclusiones generales

Conclusiones generales

- Valores de constantes de unión correspondientes al complejo $Q-M^{\text{Surfactante}}$ fueron calculados en agua y en ClO_4^- pH 4.7. Los valores reportados en este trabajo correspondientes al agua, tienen mayor veracidad que los reportados por otros autores, debido a que fueron comparados con los complejos $\beta\text{CD-Surfactante}$, de esta manera fue analizada la competitividad entre Q y βCD .
- Los tamaños de las $M^{\text{Surfactante}}$ no cambian de tamaño cuando se cambia el disolvente, además, se reporta el diámetro de la M^{CTAB} , ya que no se encuentra reportado en la literatura, y se explica su posible arreglo en medio acuoso.
- Medios micelares ayudan a la cuantificación de moléculas orgánicas de bajo peso molecular que no emiten por si solas, debido a la formación de complejos micelares.
- Se favorece la formación del complejo micelar $Q-M^{\text{CTAB}}$ en comparación con los otros complejos, $Q-M^{\text{SDS}}$ y $Q-M^{\text{TX100}}$.
- La longitud de la parte hidrofóbica de un surfactante no equivale al radio de la $M^{\text{Surfactante}}$ (considerando una estructura esférica).
- Se obtuvo la formación del complejo de inclusión $Q-\beta\text{CD}$ con estequiometría 1:1 con una constante comparable a las que se reportan en la literatura y, además, la formación de un segundo complejo con estequiometría 1:3, el cual no se encuentra reportado en la literatura.
- La presencia de cualquiera de estos surfactantes presentado aquí rompe la formación del complejo de inclusión $Q-\beta\text{CD}$, para formar el complejo $\beta\text{CD-Surfactante}$ y dejar libre a la Q (bajo la condición $[\beta\text{CD}] > [\text{Surfactante}]$).
- Dependiendo de la concentración de βCD y del surfactante en un sistema, se llevará a cabo la formación de la $M^{\text{Surfactante}}$ o no.
- La formación del complejo $\beta\text{CD-Surfactante}$ se llevará a cabo con mayor prioridad que la formación de otro complejo e incluso que la formación de la $M^{\text{Surfactante}}$.
- La presencia del complejo $\beta\text{CD-Surfactante}$ reduce el tamaño de la $M^{\text{Surfactante}}$.
- La estequiometría del complejo $Q-M^{\text{CTAB}}$ cambia de 1:1 a 1:2 en ausencia y sin βCD .

- Sistemas complejos como el mostrado, podrían tener aplicaciones en el área de la farmacéutica en la liberación controlada de fármacos.
- No se lleva a cabo la formación de un complejo ternario, entre: Q, surfactante y β CD.

Perspectivas

Perspectivas

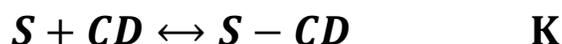
- Calcular las constantes de inclusión del complejo Q- β CD en presencia de complejos β CD-Surfactante (cuando la concentración de β CD es mayor a la concentración del surfactante).
- Reemplazar la β CD por la 2HP β CD, ya que esta es más soluble y se podrían usar concentraciones más altas de este compuesto, además tiene un menor daño al organismo (reducción de nefrotoxicidad).
- Analizar este tipo de sistemas en diferentes valores de pH, con la finalidad de caracterizar el efecto de la carga de una molécula orgánica de interés en la formación de los complejos supramoleculares.
- Debido a que se puede liberar a la Q de manera controlada, podría analizarse a otras moléculas diferentes a esta, para darle una aplicación en particular.
- Analizar a los sistemas micelares en presencia de la β CD, para proponer una metodología para el cálculo del número de monómeros que forman a la micela.
- Construir una metodología para la liberación controlada de fármacos usando a la β CD y cualquiera de estos surfactantes aquí usados.

Apéndices

Apéndice 1. Desarrollo algebraico para obtener la ecuación propuesta por marques para el cálculo de la constante de inclusión

Se realiza un desarrollo algebraico para obtener la ecuación que propone Marques y colaboradores en su tesis doctoral para el cálculo de la constante de un complejo de inclusión entre un sustrato y una ciclodextrina y que después fue modificada para que fuera empleada a complejos micelares por María de la Guardia y colaboradores.

Se parte de un equilibrio entre un sustrato, S , y una ciclodextrina, CD , con estequiometria 1:1 representada con la siguiente ecuación.



Donde $S-CD$ es el complejo supramolecular formado por un S y una CD , por lo tanto, la ecuación de acción de masas estará dada por la siguiente relación.

$$K = \frac{[S - CD]_{eq}}{[S]_{eq}[CD]_{eq}} \quad (A1.1)$$

$$K = \frac{[S - CD]_{eq}}{([S]_T - [S - CD]_{eq})([CD]_T - [S - CD]_{eq})} \quad (A1.2)$$

Sí se considera que la $[S]$ está en menor cantidad y la $[CD]$ está en mayor cantidad; casi todo el S formará el complejo, por lo tanto, podremos hacer una aproximación de $[CD]_T \gg [S-CD]_{eq}$, para dar.

$$K = \frac{[S - CD]_{eq}}{([S]_T - [S - CD]_{eq})([CD]_T - [S - CD]_{eq})} \quad (A1.3)$$

$$K = \frac{[S - CD]_{eq}}{([S]_T - [S - CD]_{eq})[CD]_T} \quad (A1.4)$$

Ahora, haciendo uso de la técnica de fluorescencia midiendo los espectros de emisión, se mide la intensidad de fluorescencia del S al agregar CD , esta intensidad se deberá al sustrato no acomplexado y al acomplexado, considerando que la CD no fluoresce sola.

$$I = I_0 \left(\frac{[S]_{eq}}{[S]_T} \right) + I_c \left(\frac{[CD:S]_{eq}}{[S]_T} \right) \quad (A1.5)$$

Donde I_0 y I_c son las intensidades del S sin CD y del Complejo formado respectivamente.

La concentración total del S se define como:

$$[S]_T = [S]_{eq} + [S - CD]_{eq} \quad (A1.6)$$

Si despejamos la concentración que está al equilibrio tenemos.

$$[S]_{eq} = [S]_T - [S - CD]_{eq} \quad (A1.7)$$

Sustituyendo la *ecuación A1.7* en la *A1.5* se tiene.

$$I = I_0 \left(\frac{[S]_T - [S - CD]_{eq}}{[S]_T} \right) + I_c \left(\frac{[S - CD]_{eq}}{[S]_T} \right) \quad (A1.8)$$

Separando el primer término de la suma se tiene.

$$I = I_0 \left(\frac{[S]_T}{[S]_T} \right) - I_0 \left(\frac{[S - CD]_{eq}}{[S]_T} \right) + I_c \left(\frac{[S - CD]_{eq}}{[S]_T} \right) \quad (A1.9)$$

Se factoriza $\frac{[S - CD]_{eq}}{[S]_T}$ de la *ecuación A1.9* y se obtiene.

$$I = I_0 + \frac{[S - CD]_{eq}}{[S]_T} (I_c - I_0) \quad (A1.10)$$

Rearreglando la *ecuación A1.10*, se tiene.

$$I - I_0 = \frac{[S - CD]_{eq}}{[S]_T} (I_c - I_0) \quad (A1.11)$$

$$\frac{(I - I_0)}{(I_c - I_0)} = \frac{[S - CD]_{eq}}{[S]_T} \quad (A1.12)$$

$$\frac{(I_c - I_0)}{(I - I_0)} = \frac{[S]_T}{[S - CD]_{eq}} \quad (A1.13)$$

Se retoma la ecuación de acción de masas A1.4 y se obtiene el inverso.

$$\frac{1}{K} = \frac{[CD]_T([S]_T - [S - CD]_{eq})}{[S - CD]_{eq}} = \frac{[CD]_T[S]_T - [CD]_T[S - CD]_{eq}}{[S - CD]_{eq}} \quad (A1.14)$$

$$\frac{1}{K} = \frac{[CD]_T[S]_T}{[S - CD]_{eq}} - [CD]_T = [CD]_T \left(\frac{[S]_T}{[S - CD]_{eq}} - 1 \right) \quad (A1.15)$$

Sustituyendo la ecuación A1.13 en la ecuación A1.15 se tiene.

$$\frac{1}{K} = [CD]_T \left(\frac{(I_c - I_0)}{(I - I_0)} - 1 \right) \quad (A1.16)$$

$$\frac{1}{K[CD]_T} = \frac{(I_c - I_0)}{(I - I_0)} - 1 \quad (A1.17)$$

$$\frac{1}{K[CD]_T} + 1 = \frac{(I_c - I_0)}{(I - I_0)} = (I_c - I_0) \left(\frac{1}{I - I_0} \right) \quad (A1.18)$$

Despejando $\frac{1}{(I - I_0)}$.

$$\left(\frac{1}{I_c - I_0} \right) \left(\frac{1}{K[CD]_T} + 1 \right) = \left(\frac{1}{I - I_0} \right) \quad (A1.19)$$

Ahora se puede escribir de forma diferente $\frac{1}{I_c - I_0}$ y $\frac{1}{I - I_0}$, como sigue.

$$* \frac{1}{(I_c - I_0)} = \frac{\left(\frac{1}{I_0} \right)}{\left(\frac{1}{I_0} \right) (I_c - I_0)} = \frac{\left(\frac{1}{I_0} \right)}{\left(\frac{I_c}{I_0} - 1 \right)} = \left(\frac{1}{I_0} \right) \left[\frac{I_c}{I_0} - 1 \right]^{-1} \quad (A1.20)$$

$$* \frac{1}{(I - I_0)} = \frac{\left(\frac{1}{I_0} \right)}{\left(\frac{1}{I_0} \right) (I - I_0)} = \frac{\left(\frac{1}{I_0} \right)}{\left(\frac{I}{I_0} - 1 \right)} = \left(\frac{1}{I_0} \right) \left[\frac{I}{I_0} - 1 \right]^{-1} \quad (A1.21)$$

Sustituyendo las ecuaciones A1.20 y A1.21 en la ecuación A1.19 se tiene.

$$\left(\frac{I}{I_0}\right) \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} \left(\frac{1}{K[CD]_T} + 1\right) = \left(\frac{I}{I_0}\right) \left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} \quad (A1.22)$$

$$\left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} \left(\frac{1}{K[CD]_T} + 1\right) = \left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} \quad (A1.23)$$

$$\left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} \left(\frac{1}{K[CD]_T}\right) + \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} \quad (A1.24)$$

Arreglando el orden de la ecuación A1.24, se obtiene.

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} + \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} \left(\frac{1}{K[CD]_T}\right) \quad (A1.25)$$

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} + \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} / K[CD]_T \quad (A1.26)$$

Ahora si se compara la siguiente ecuación propuesta por Marques, donde I_C y $[CD]_T$ son equivalentes a I_M y $C_{\beta-CD}$ respectivamente.

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I_M}{I_0} - 1\right]^{-1} + \left[\frac{I_M}{I_0} - 1\right]^{-1} / \gamma K C_{\beta-CD}$$

Se tiene ligeras diferencias como el termino γ que no se sabe de dónde se origina, pero en la práctica este valor es considerado como uno y no es necesario conocerlo para para el cálculo de la K , además de que I_M en la ecuación de Marques se refiere a la intensidad máxima obtenida y I_C es la intensidad debida al complejo formado y finalmente $[CD]_T$ es equivalente a $C_{\beta-CD}$.

Cálculo de la K usando la ecuación A1.26

Si se gráfica $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\frac{1}{[CD]}$ tenemos una línea recta con una ordenada al origen $\left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1}$ y con pendiente de $\left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} / K$, como la siguiente figura.

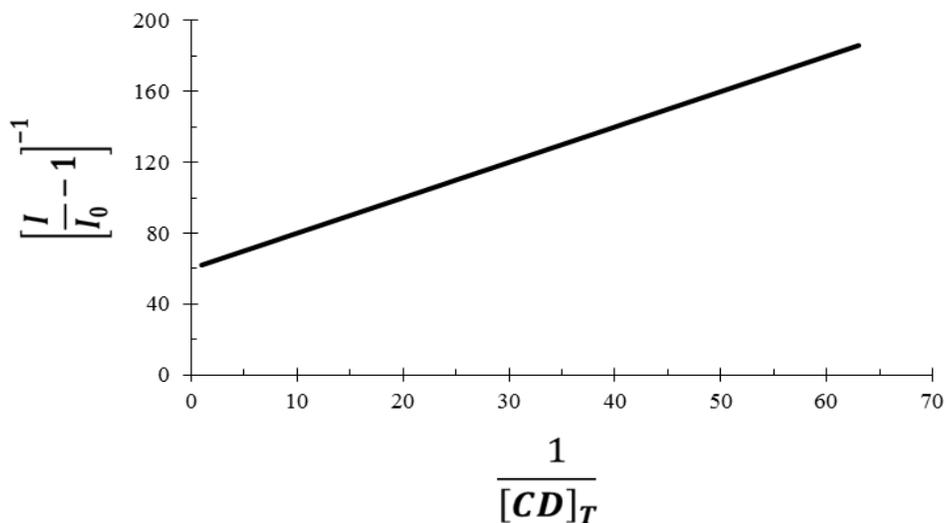


Figura A1.1 Relación de $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\frac{1}{[CD]}$ empleando la ecuación A1.26.

Si se divide la ordenada al origen entre la pendiente se obtiene la K

$$\frac{b}{m} = \frac{\left[\frac{I_{\infty}}{I_0} - 1\right]^{-1}}{\left[\frac{I_{\infty}}{I_0} - 1\right]^{-1} / K} = K \quad (\text{A1.27})$$

Referencias del apéndice 1

*Marques, J. C. *Ph.D. thesis, University of Malaga, Spain, 1988.*

*M. Guardia, E. Perris-Cardells, J. Sancenón, J. L. Carrión, *Fluorimetric Determination of Binding Constants between Micelles and Chemical Systems, Microchemical Journal 44 (1991) 193-200.*

Apéndice 2. Cuantificación espectrofotométrica de la quercetina en medio acuoso usando diferentes surfactantes como promotores de la fluorescencia

En química es esencial la necesidad de mediciones precisas de una o varias sustancias químicas presentes en una muestra, ya que, puede ayudar en la determinación de sus propiedades específicas, además, es muy importante un sistema uniforme para expresar los resultados de las mediciones. La Q es comúnmente encontrada en frutas y vegetales, aunque en particular, en manzanas y cebollas donde está presente en niveles más altos. Este polifenol en los últimos años ha sido considerado importante, debido a su capacidad antioxidante, además de que exhibe también otras importantes propiedades, como, por ejemplo: antiinflamatoria, antiaterogénica y anticancerígena. Además, como la cafeína, la Q es neuroactiva y tiene estatus GRAS (siglas en inglés que se refiere a que generalmente se reconoce como segura) y no se han encontrado aún efectos dañinos en dosis de unos pocos gramos al día en humanos ni en animales. En la literatura se encuentra una variedad de métodos para la cuantificación de la Q, con el inconveniente de que dichos métodos emplean materiales y reactivos costosos y además, el tratamiento de las muestras que contienen a la Q requieren tiempos largos para su análisis. La estabilidad de la Q y de otros flavonoides, como: morina, kanferol y micerina son dependientes del pH y del tiempo ⁵⁰, así, si estos flavonoides no son estabilizados durante los tiempos de medición sus concentraciones cambian. La concentración de la Q cambia en los pocos minutos, en condiciones normales de laboratorio, como, por ejemplo, la exposición de la luz proveniente de lámparas o por la presencia del oxígeno (ver figura 1.10). Como se muestra en el capítulo 1, la formación del complejo $Q-M^{\text{Surfactante}}$ confiere estabilidad a la Q e induce la emisión de radiación electromagnética facilitando su cuantificación.

En medios micelares

Ya que, se ha demostrado que la IF de la Q aumenta en presencia de cualquiera de estos tres surfactantes y además se han calculado los valores de CMC, se construyen curvas de calibración de la Q a concentración fija algún surfactante. En la figura A2.1 se muestran las relaciones de IF en función de la concentración de Q a concentraciones fijas de: 12.09 mM de SDS, 0.80 mM de TX100 y 3.77 mM de CTAB, considerando que a estas concentraciones de cada surfactante ya se han formado las micelas. Para los sistemas que contienen SDS y TX100 no se tiene un intervalo lineal

en un rango de concentraciones de 0 a 10 μM de Q distinto a lo mostrado para el CTAB, debido tal vez a un cambio de estequiometría del complejo $\text{Q-M}^{\text{Surfactante}}$. La concentración de CTAB usada es cuatro veces su valor de CMC, por lo que se procede también a aumentar la concentración de SDS hasta cuatro veces su correspondiente valor de CMC; para el sistema que contiene TX100, la concentración se aumentó hasta $2.827 \pm 0.01 \text{ mM}$, debido a que se obtuvieron dos valores de CMC en agua: 0.18 ± 0.03 y $0.28 \pm 0.01 \text{ mM}$ y además el fabricante reporta un amplio intervalo para su valor de CMC. A las tres concentraciones de surfactante sugeridas, se tendrá un predominio del complejo $\text{Q-M}^{\text{Surfactante}}$, ver figura 1.9 (d)-(f).

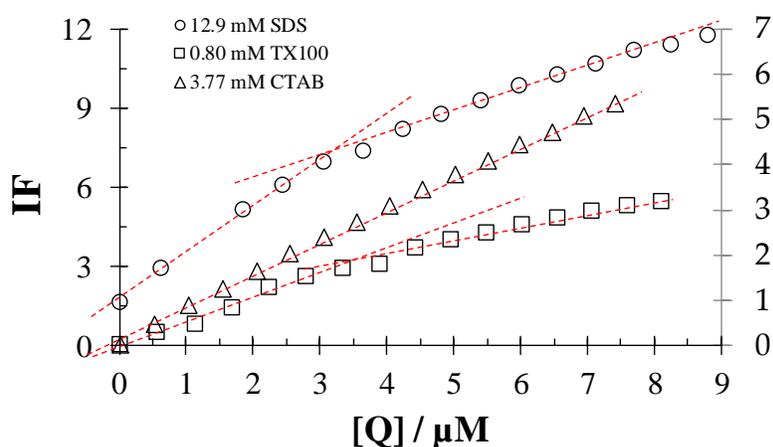


Figura A2.1 Relaciones de IF en función de la concentración de la Q a concentraciones fijas de: 12.09 mM de SDS, 0.80 mM de TX100 y 3.77 mM de CTAB (eje secundario) medidas a 523, 535 y 540 nm respectivamente. Usando una $\lambda_{\text{exit.}}$ de 350 nm y agua como disolvente.

En la figura A2.2 se muestran tres familias de espectros de emisión que aumentan su IF al aumentar la concentración de Q, con concentraciones fijas de: 36.893 mM de SDS, 3.768 mM de CTAB y 2.827 de mM TX100, bajo estas condiciones se tiene una dependencia lineal de la concentración de la Q con la IF, dando las siguientes ecuaciones lineales:

$$I = (2.919 \pm 0.054) (\mu\text{M}^{-1}) * [Q] (\mu\text{M}) + (0.33 \pm 0.25) \text{ con } R^2 = 0.9962.$$

(Con 36.893 ± 0.015 mM SDS (*figura A2.2(a)*))

$$I = (0.718 \pm 0.006) (\mu\text{M}^{-1}) * [Q] (\mu\text{M}) + (0.13 \pm 0.03) \text{ con } R^2 = 0.9989.$$

(Con 3.768 ± 0.009 mM CTAB (*figura A2.2(b)*))

$$I = (1.346 \pm 0.030) (\mu\text{M}^{-1}) * [Q] (\mu\text{M}) + (0.33 \pm 0.13) \text{ con } R^2 = 0.9944.$$

(Con 2.827 ± 0.012 mM de TX100 (*figura A2.2(c)*))

En la tabla A.2.1 se muestran los límites de detección, LD, y cuantificación, LC, así como la sensibilidad para cada regresión lineal mostradas en la figura A2.2. Se tiene una mayor IF y una mayor sensibilidad cuando se usa el SDS en comparación con los otros dos surfactantes, debido a que, la concentración de este surfactante es mayor que la de los otros dos surfactantes, debido a que tiene el mayor valor de CMC y con el CTAB se obtienen menores límites de detección y cuantificación.

Tabla A2.1 Valores de límite de detección, cuantificación y sensibilidad calculados para cada sistema, para la cuantificación de Q en medio micelar.

Surf.	CMC / mM	[Surf.] _{fija} / mM	LD / μM	LC / μM	Sensibilidad / μM^{-1}
SDS	7.7 ± 0.6	36.893 ± 0.015	0.48 ± 0.19	1.60 ± 0.18	2.919 ± 0.054
CTAB	0.94 ± 0.03	3.768 ± 0.009	0.244 ± 0.092	0.81 ± 0.09	0.718 ± 0.006
TX100	0.18 ± 0.03	2.827 ± 0.012	0.56 ± 0.22	1.88 ± 0.21	1.346 ± 0.030

*El valor de LD se calcula como tres veces la desviación estándar sobre la pendiente y el LC como diez veces la desviación estándar sobre la pendiente.

Debido a la interacción supramolecular de la Q con la $M^{\text{Surfactante}}$, se puede realizar la cuantificación de la Q. Una vez que se aumentó la concentración de cada surfactante a las concentraciones antes definidas, con la finalidad de tener un amplio intervalo de linealidad, además, de una alta sensibilidad y una estabilidad de este polifenol con el tiempo.

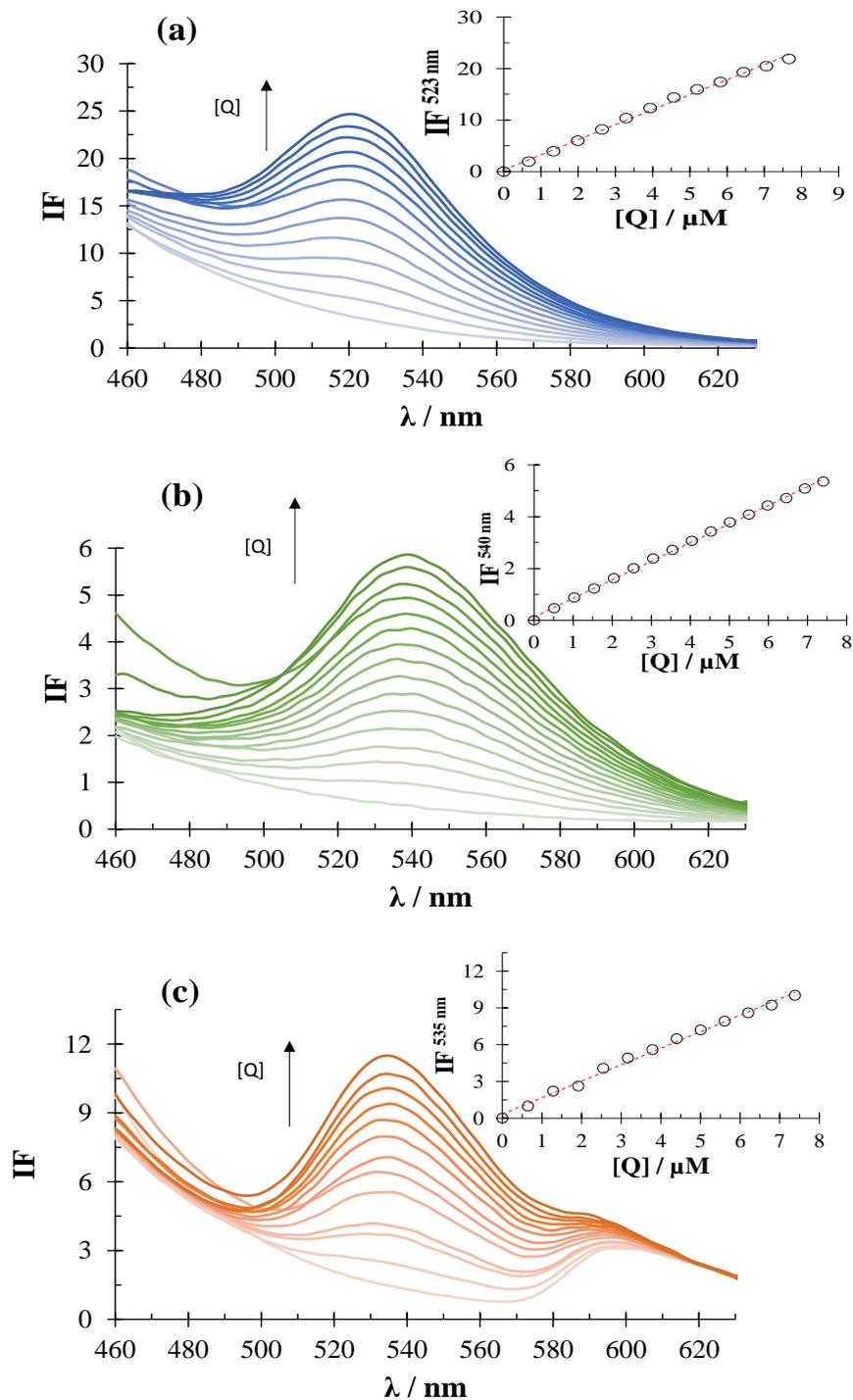


Figura A2.2 Espectros de emisión de la Q a concentraciones fijas de 36.893 ± 0.015 mM SDS (a), 3.768 ± 0.009 mM CTAB (b) y 2.827 ± 0.012 mM TX100 (c), además se muestra la relación de IF en función de la concentración de Q como inserto para cada sistema (se restó el valor de la IF del blanco a cada resultado obtenido). Usando como disolvente agua y una longitud de $\lambda_{\text{exit.}}$ de 350 nm.

Tabla A2.2 Comparación del desarrollo analítico de diferentes metodologías para la cuantificación de Q.

Medio	Metodología	10 ⁸ LD / M	10 ⁸ LC / M	10 ⁶ Sensibilidad / M ⁻¹	Ref.
NH ₃ -NH ₄ Cl solución buffer (0.10 M, pH 9.47)	Fluorescencia ^a	9.88	N.R.	9.39	66
Buffer de fosfatos (0.1 M pH 7.40)	Voltamperometría de onda cuadrada ^b	8.9	N.R.	2.5	67
	Voltamperometría de onda cuadrada ^c	0.75	N.R.	8.7	
	Amperometría ^d	170	N.R.	150	
	Amperometría ^b	140	N.R.	760	
	Amperometría ^c	20	N.R.	330	
Metanol	HPTLC ^e	4700	9500	N.R.	68
Etanol	HPTLC ^e	590	1480	N.R.	69
Agua (pH 7)	Fluorescencia, en presencia de micelas de CTAB	24.4	81	0.72	Este trabajo
	Fluorescencia, en presencia de micelas de SDS	47.9	160	2.92	
	Fluorescencia, en presencia de micelas de TX100	56.4	188	1.35	

a. Usando nanopartículas como prueba de fluorescencia, **b.** Usando GCE/PEI-CNT, **c.** GCE/PAA-CNT, **d.** GCE, donde: GCE (electrodos de carbón vitreo), CNT (nanotubos de multiventanas de carbon), PEI (polietilamina) y PAA (poli(ácido acrílico)), **e.** Cromatografía en capa fina de alta resolución. **N.R.** No reportado.

En la tabla A2.2 se muestra una comparación de métodos analíticos desarrollados para la determinación de la Q, lo cual da como resultado que el rendimiento analítico de nuestra metodología es claramente comparable o incluso mejor que el de otros más sofisticados, además de que en este método se logró la estabilidad de la Q

contrario a los otros métodos, además de utilizar reactivos menos costosos y una metodología sencilla.

Interferentes

Para ampliar la utilidad y la aplicabilidad de la metodología aquí desarrollada, para la cuantificación espectrofotométrica de la Q en medios micelares. Otros experimentos fueron realizados, analizando el efecto de otras moléculas que podrían causar competencia con la Q. Los compuestos analizados son: morina, rutina, catequina, epicatequina (imagen A2.1) y ácido ascórbico, debido a que son encontrados en los mismos productos (por esta razón poseen estructuras químicas similares) y, por lo tanto, puede provocar interferencia en la determinación de la Q.

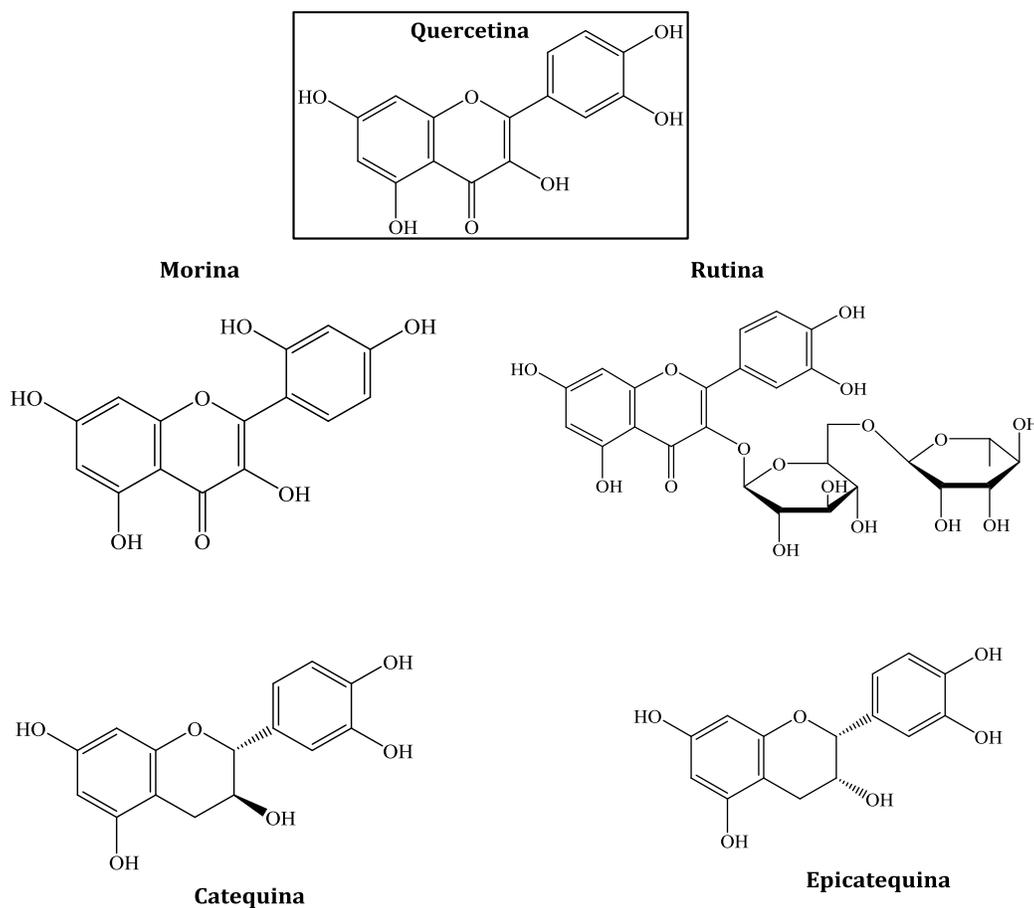


Imagen A2.1 Estructura química de: Q, morina, rutina, catequina y epicatequina.

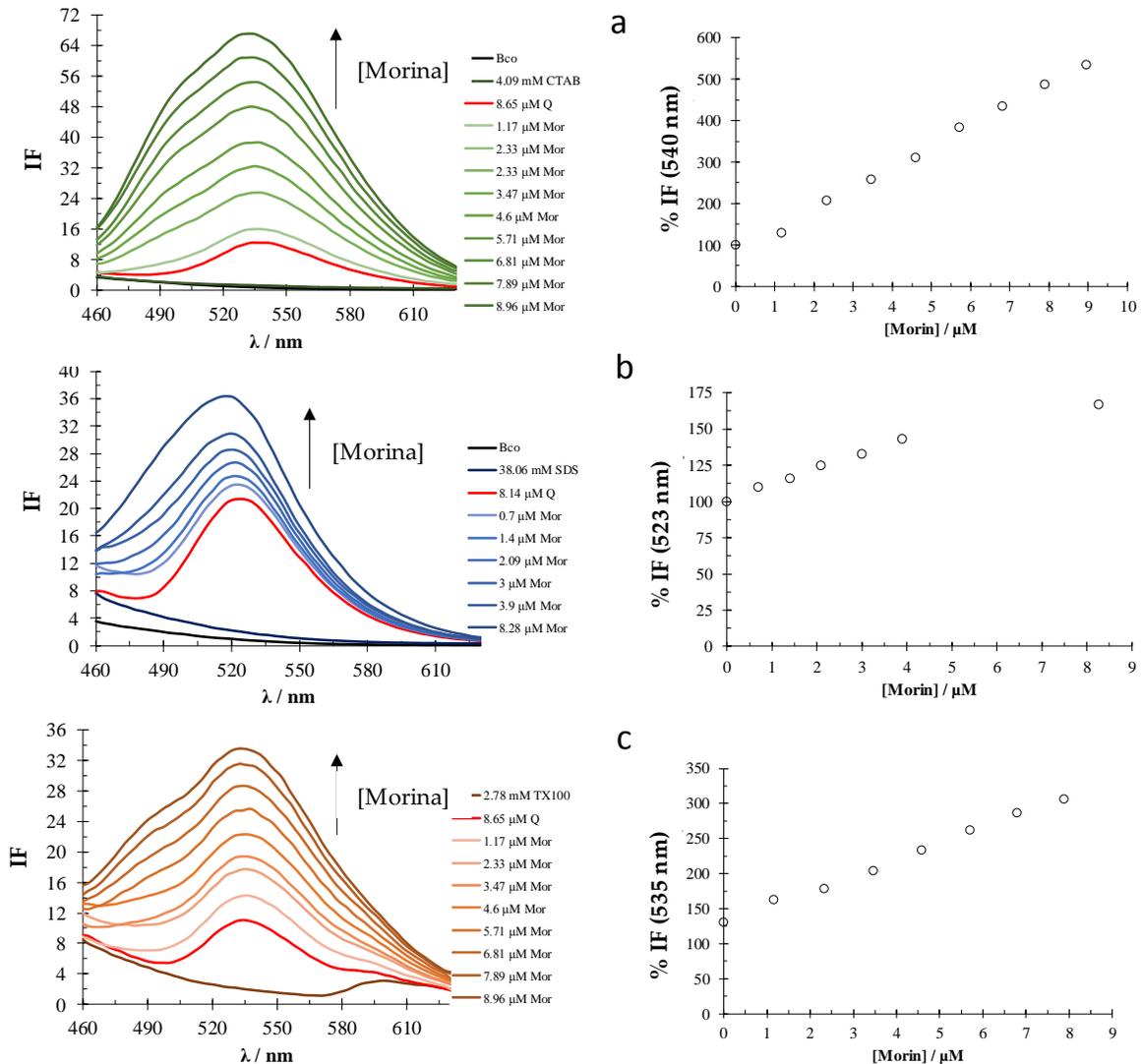


Figura A2.3 Espectros de emisión ($\lambda_{\text{exit.}}$ 350 nm), medidos en: 8.65 μM de Q y 4.09 mM de CTAB (a), 8.14 μM de Q y 38.06 mM de SDS (b) y 8.65 μM de Q y 2.78 mM de TX100 (c), en los cuales se les agregó concentraciones diferentes de morina a 28.0 ± 0.1 °C y pH de 7.0 ± 0.2 usando medio acuoso. La variación de la IF respecto al valor en ausencia de la morina (%) son también mostrados en la derecha de cada familia de espectros.

Se encontró que, independientemente de la naturaleza del surfactante, cuando se agregó morina a una solución acuosa con concentraciones fija de Q y surfactante, ver figura A2.3, la intensidad de fluorescencia aumenta linealmente con la concentración de morina, al contrario, cuando se agregó rutina en lugar de morina,

la intensidad de fluorescencia disminuye linealmente con su concentración, ver figura A2.4.

Sin embargo, cuando se agregó catequina, ver la figura A2.54, o epicatequina, ver figura A2.6, la intensidad de fluorescencia permanece prácticamente constante.

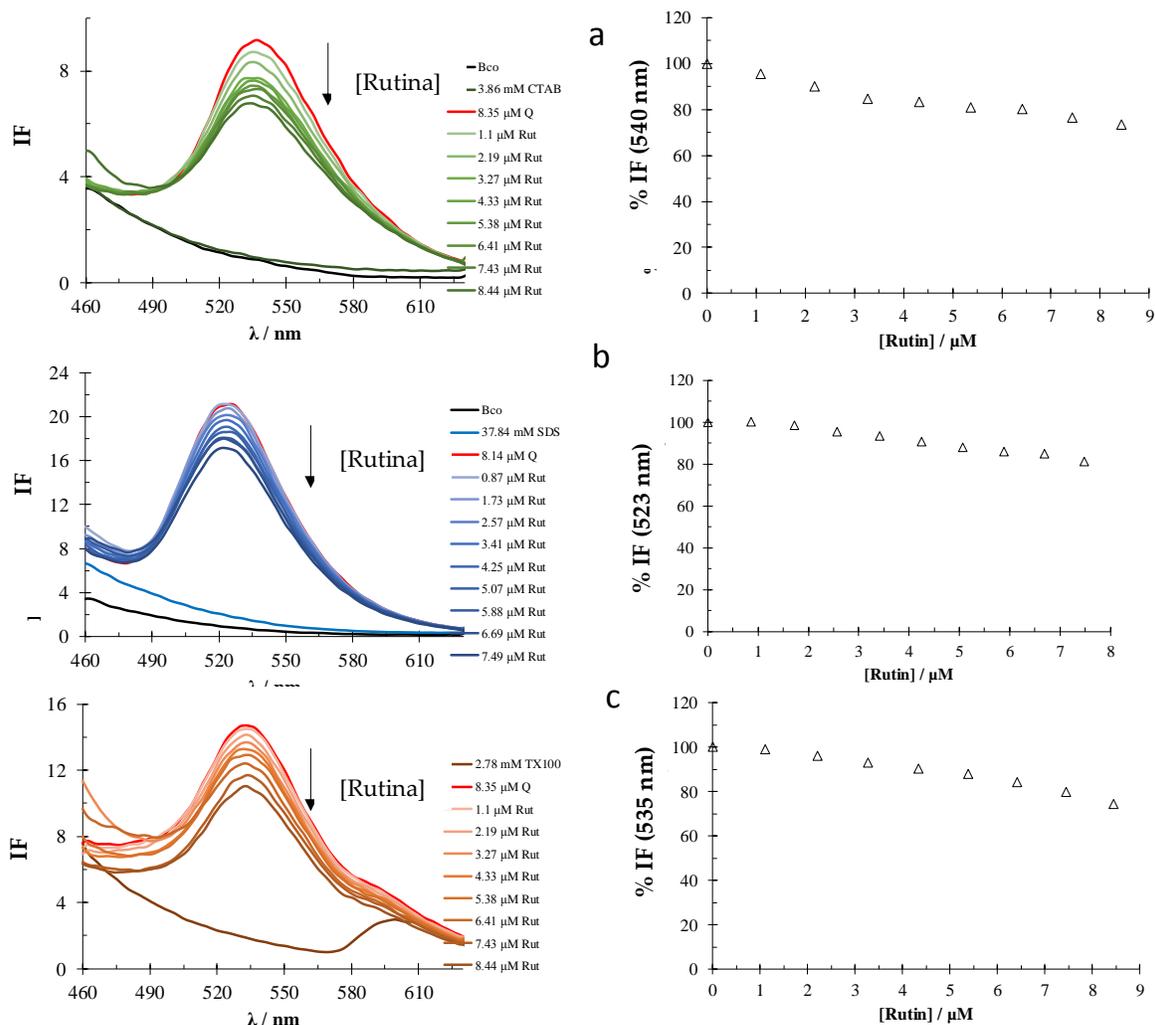


Figura A2.4 Espectros de emisión ($\lambda_{\text{exit.}}$ 350 nm), medidos en: 8.35 μ M de Q y 3.86 mM de CTAB (a), 8.14 μ M de Q y 37.84 mM de SDS (b) y 8.35 μ M de Q y 2.78 mM de TX100 (c), en los cuales se les agregó concentraciones diferentes de rutina a 28.0 ± 0.1 $^{\circ}$ C y pH de 7.0 ± 0.2 usando medio acuoso. La variación de la IF respecto al valor en ausencia de la rutina (%) son también mostrados en la derecha de cada familia de espectros.

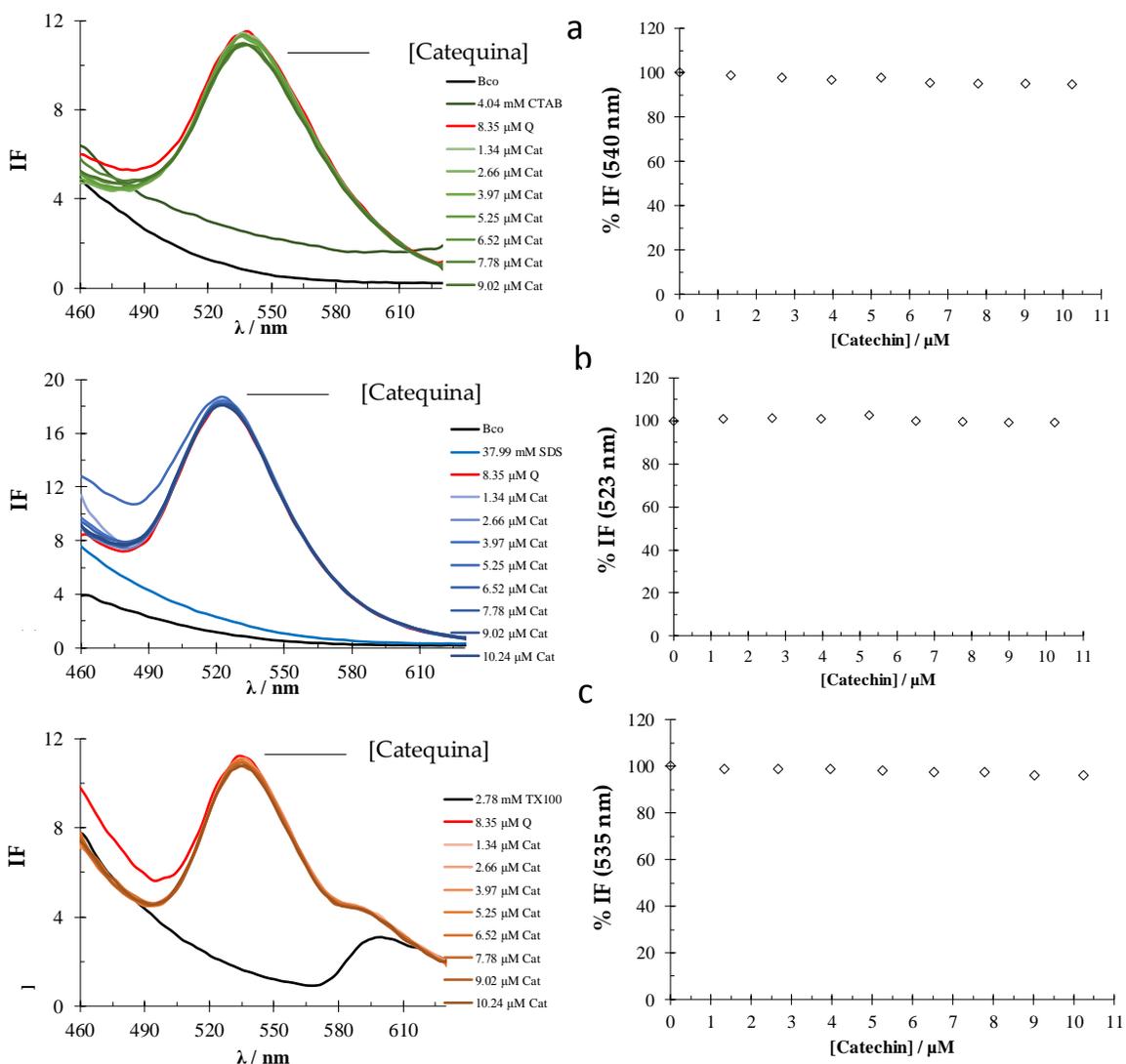


Figura A2.5 Espectros de emisión ($\lambda_{\text{exit.}}$ 350 nm), medidos en: 8.35 μ M de Q y 4.04 mM de CTAB (a), 8.35 μ M de Q y 37.99 mM de SDS (b) y 8.35 μ M de Q y 2.78 mM de TX100 (c), en los cuales se les agregó concentraciones diferentes de catequina a 28.0 ± 0.1 °C y pH de 7.0 ± 0.2 usando medio acuoso. La variación de la IF respecto al valor en ausencia de la catequina (%) son también mostrados en la derecha de cada familia de espectros.

A partir de estos resultados, se puede concluir que, si bien la morina es un importante interferente, la rutina interfiere levemente y catequina y epicatequina no lo hacen. Además, también se encontró que la Q puede ser cuantificada espectrofotométricamente en presencia de una mayor concentración de ácido ascórbico (ver figura A2.7).

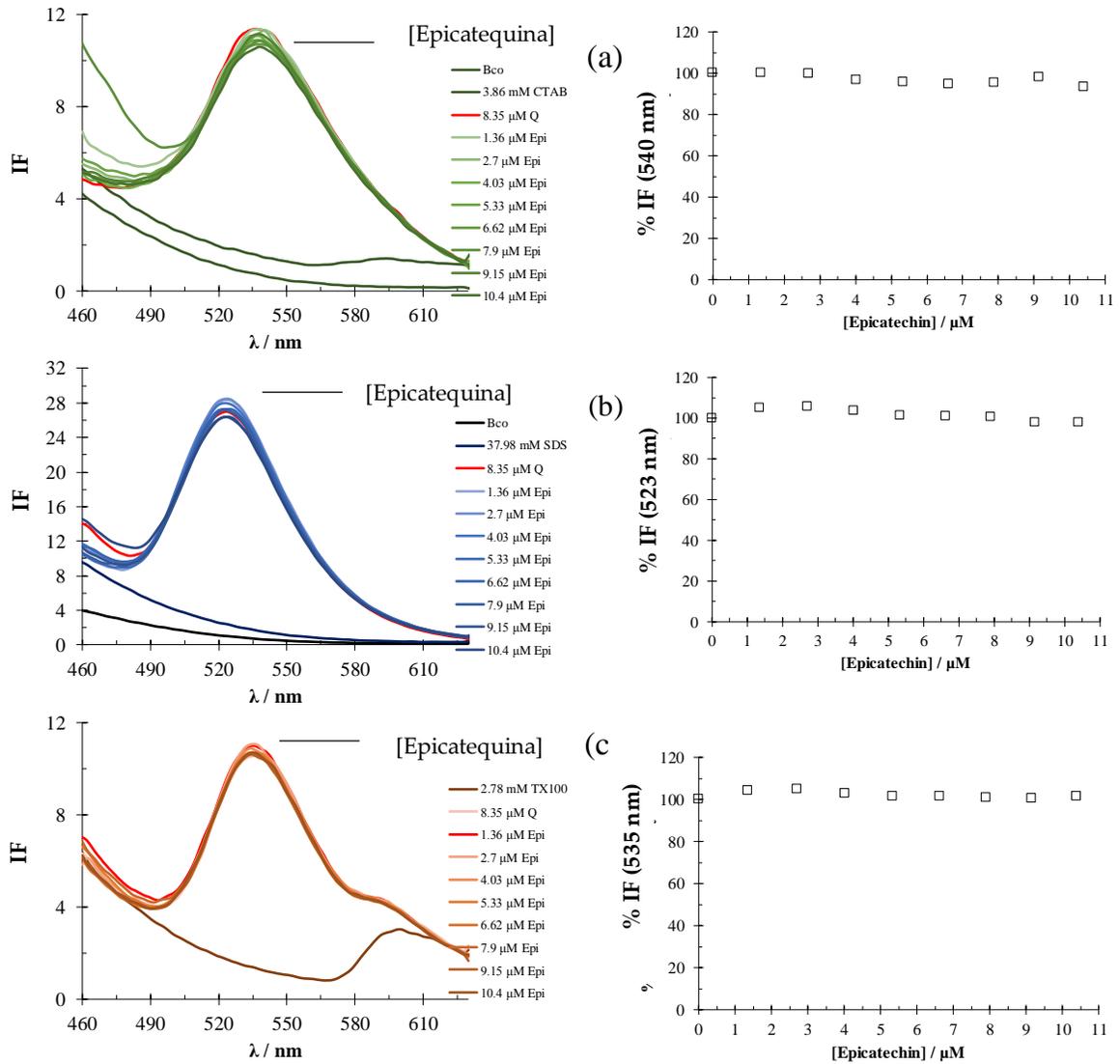


Figura A2.6 Espectros de emisión ($\lambda_{\text{exit.}}$ 350 nm), medidos en: 8.35 μM de Q y 3.86 mM de CTAB (a), 8.35 μM de Q y 37.98 mM de SDS (b) y 8.35 μM de Q y 2.78 mM de TX100 (c), en los cuales se les agregó concentraciones diferentes de epicatequina a 28.0 ± 0.1 °C y pH de 7.0 ± 0.2 usando medio acuoso. La variación de la IF respecto al valor en ausencia de la epicatequina (%) son también mostrados en la derecha de cada familia de espectros.

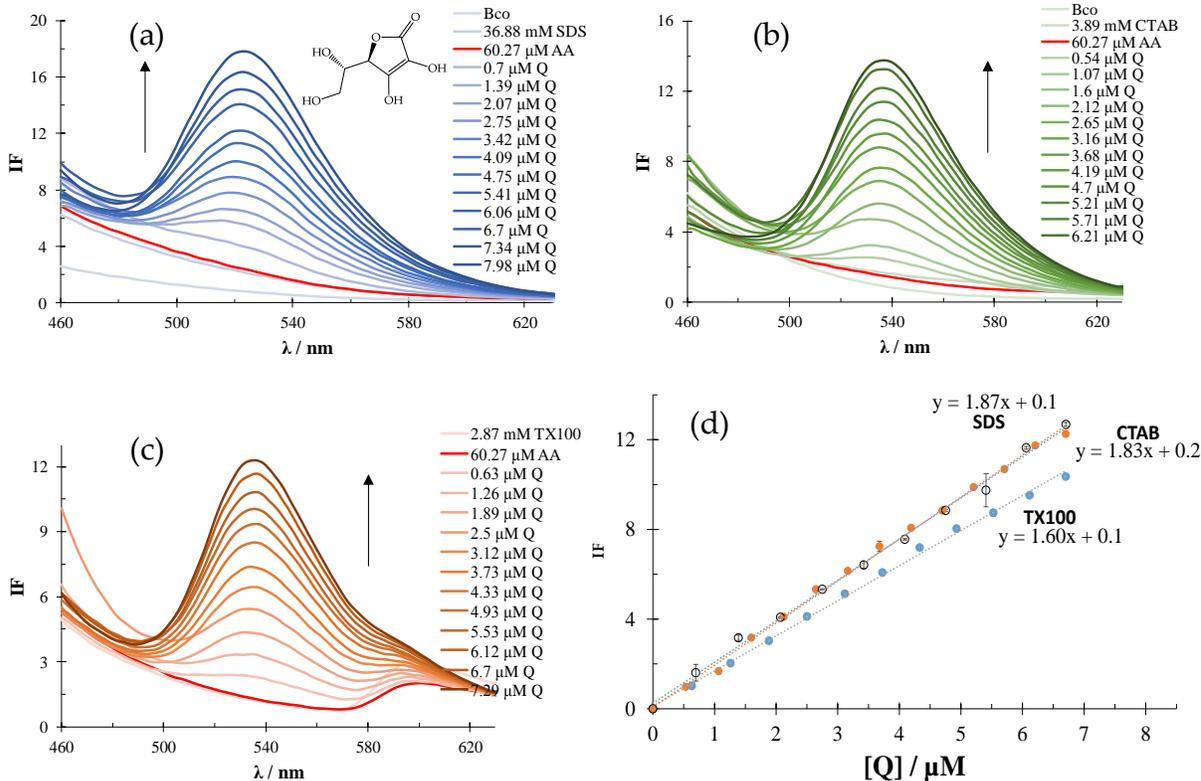


Figura A2.7 Espectros de emisión ($\lambda_{\text{exit.}}$ 350 nm), medidos en: 60.27 μM de ácido ascórbico y 36.88 mM de SDS (a), 60.27 μM de ácido ascórbico y 3.89 mM de CTAB (b) y 60.27 μM de ácido ascórbico y 2.78 mM de TX100 (c), en los cuales se les agregó concentraciones diferentes de Q a 28.0 ± 0.1 °C y pH de 7.0 ± 0.2 usando medio acuoso. Las respectivas curvas de calibración son también mostradas en (d). En estas curvas, la intensidad fluorescente del ácido ascórbico y solución acuosa del surfactante sin quercetina fue restada.

El efecto de competitividad de las moléculas interferentes podría ser explicada por la longitud de onda a la cual absorben, figura A2.7, considerando que todos los resultados obtenidos de los espectros de emisión se llevaron a cabo usando una longitud de onda de 350 nm, señalada con una línea punteada en color roja para cada espectro de absorción mostrada en la misma figura. La catequina y epicatequina no absorben a 350 nm, por lo que no emitirán a una longitud de onda mayor a 350 nm al igual que el ácido ascórbico. Por otro lado, la morina y la rutina sí muestran absorción a 350 nm, por lo que podría mostrar emisión, pero solo la morina es quien presenta emisión. La morina presenta emisión por sí misma, esto debido a que en agua la especie con mayor predominio es la especie mono desprotonada (pK_a en 5.18), donde el primer protón en ser retirado es el que se ubica

en el grupo hidroxilo del catecol (anillo B) y se señala con un círculo rojo en la figura A2.8(b) ⁵⁰, entonces, este oxígeno con una carga negativa podrá formar un puente de hidrógeno señalado con una flecha roja en la misma figura, ocasionando una rigidez en la estructura de la morina, por esta razón, la morina posee emisión en ausencia de algún surfactante a pH 7.

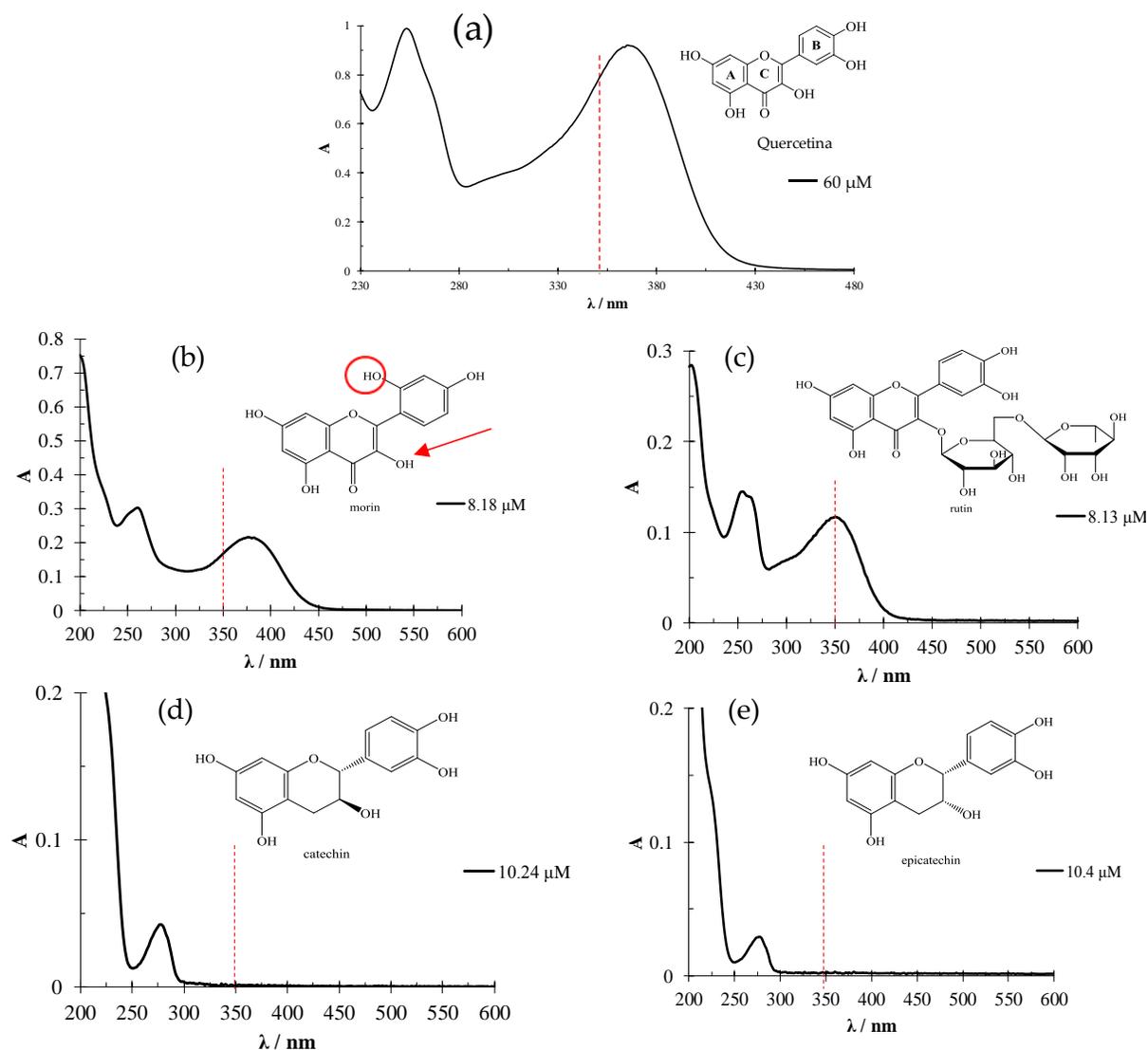


Figura A2.8 Espectros de absorción de: Q, morina, rutina, catequina y epicatequina en agua.

Finalmente, la rutina posee una estructura química similar a la de la Q, con la diferencia que la rutina contiene unidades de azúcar en su estructura, y como se ha demostrado hasta el momento la formación del complejo $Q-M^{\text{Surfactante}}$, se esperaría que la rutina también emitiera como lo hace la Q, pero no lo hace ni en ausencia de algún surfactante, por lo que se sugiere que tal vez no se forma el complejo rutina- $M^{\text{Surfactante}}$, debido al tamaño de esta molécula, pero no se puede afirmar esta hipótesis debido a que se necesita un análisis más a fondo.

Tamaños de micelas de los sistemas micelares usados

En la figura A2.9 se muestran los tamaños de partícula debida a la asociación de los surfactantes a las concentraciones usadas para la construcción de las curvas de calibración mostradas en la figura A2.2, considerando que los tamaños aquí obtenidos serán diferentes a los mostrados en la figura 1.12, ya que se emplean concentraciones de los surfactantes cuatro veces o más altas de sus correspondientes valores de CMC.

Los tamaños de partícula obtenidos se muestran en la tabla A2.3. Para los casos del SDS y TX100 se obtienen dos tamaños de partícula, de los cuales, los que tienen menor tamaño, son más pequeños que los obtenidos cuando se tenían micelas esféricas (ver figura 1.12) y en ambos casos se obtienen tamaños de la mitad de los obtenidos anteriormente, por lo cual se generan dos hipótesis: 1) podrían ser el tamaño de otra estructura de la micela (diferente a la esférica) o 2) debido a que se tiene una mayor cantidad de micelas y otros arreglos moleculares, estas ejercerán repulsión entre ellas mismas ocasionando una reducción en su tamaño.

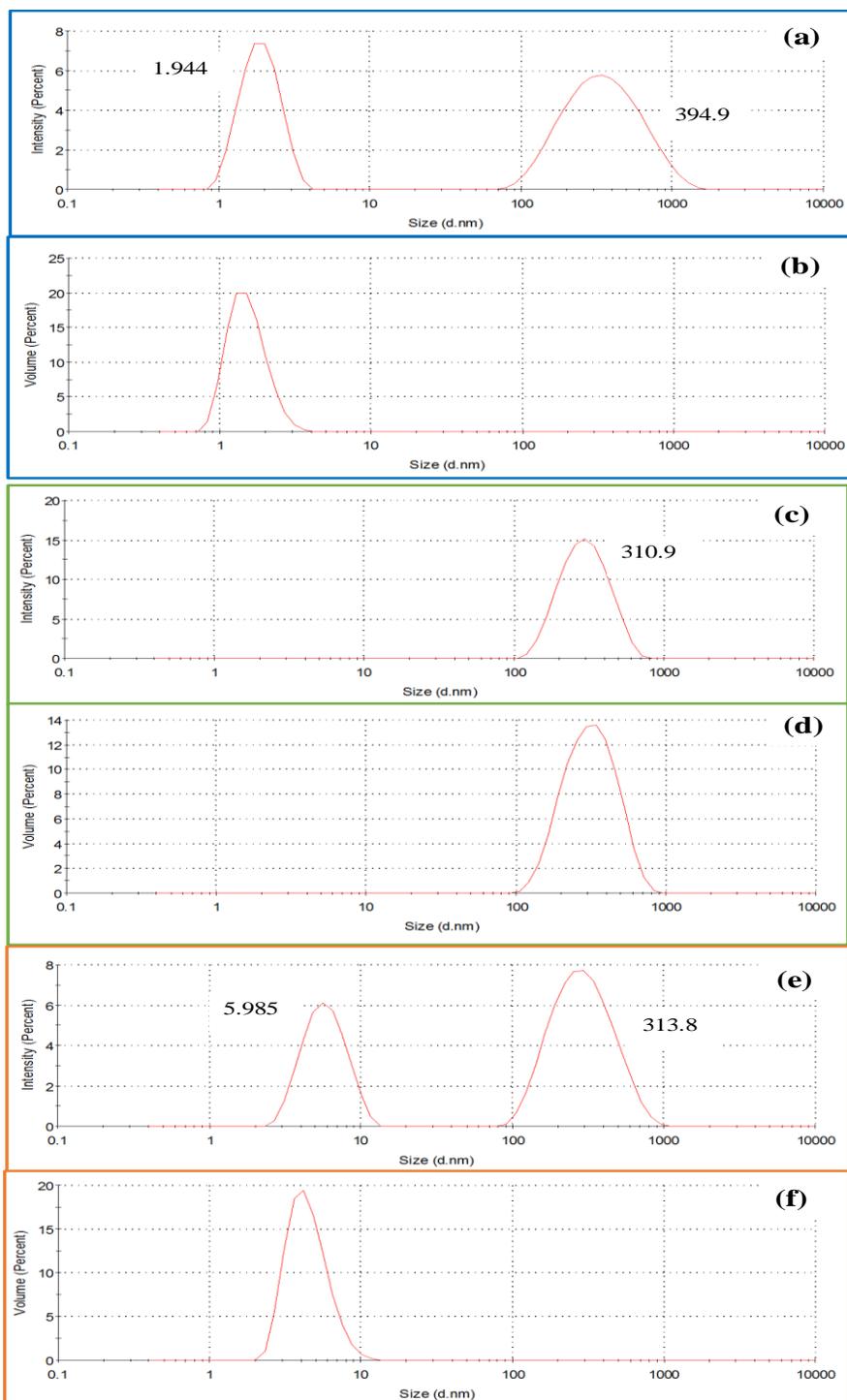


Figura A2.9 Relaciones de porcentajes de intensidad y volumen en función del tamaño (diámetro hidrodinámico) medido con DLS en sistemas que contienen: 36.8 mM de SDS (a y b), 3.9 mM de CTAB (c y d) y 2.9 mM de TX100 (e y f), usando las concentraciones de la curva de calibración mostrada en la figura 1.11.

La segunda hipótesis se considera como aceptable, ya que la unión de monómeros se da a través de interacciones débiles y debido a esto, la micela formada podrá ser modificada o comprimida, debido a que existen otros muchos más arreglos moleculares, además, los tamaños de partícula que se muestran a concentraciones altas son menores para los casos donde se tiene al CTAB y TX100 en comparación con los que se muestran en la figura 1.12.

Tabla A2.3 Diámetro hidrodinámico de micelas formadas en los sistemas micelares usados para la cuantificación de la Q, mostrados en la figura A2.2, usando como disolvente agua.

Surfactante	CMC / mM	[Surf.] _{fija} / mM	Diámetro / nm	
			1°	2°
SDS	7.7 ± 0.6	36.8	1.944 ± 0.552	394.9 ± 228.5
CTAB	0.94 ± 0.03	3.9	-	310.9 ± 110.7
TX100	0.18 ± 0.03	2.9	5.985 ± 1.881	313.8 ± 144.1

Apéndice 3. Espectros IR de: Q, SDS, CTAB y β CD

Como análisis inicial se tiene un estudio estructural de los reactivos usados para este trabajo de investigación, los cuales se analizaron por espectroscopía IR.

La espectrofotometría IR es una herramienta multifacética aplicada en la determinación cualitativa y cuantitativa de especies moleculares de todo tipo. En este estudio se hace uso del IR medio (desde casi 670 hasta 4,000 cm^{-1}), ya que es la principal herramienta para determinar la estructura de especies orgánicas y bioquímicas. Se inició con el análisis de IR medio a finales de los años cincuenta, con la aparición en el mercado de espectrofotómetros dispersivos de doble haz con registro, baratos y de fácil manejo que producían espectros en el intervalo de 5000 a 670 cm^{-1} (2 a 15 μm).

Para poder predecir donde se tendrán las señales de IR, se calculan las *frecuencias teóricas de grupo*, estas frecuencias son los modos fundamentales de vibración entre dos átomos, ya que los principales participantes en estos modos son: los dos átomos y su enlace químico que los une, así, esta frecuencia depende del peso de estos dos átomos y de la fuerza del enlace que los une, solo viéndose afectados un poco por otros átomos presentes en la molécula.

La frecuencia de vibración se puede calcular a partir de la ecuación del oscilador armónico, ecuación A3.1.

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{m_r}} \quad (\text{A3.1})$$

Donde c es la velocidad de la luz, k es la constante de fuerza y m_r es la masa reducida y se calcula como se muestra en la ecuación A3.2.

$$m_r = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (\text{A3.2})$$

Donde m_1 y m_2 son las masas de los dos átomos y algunos valores de k se reportan por Wilson, Decius y Cross en su libro. Olsen en el libro reporta una ecuación simplificada de A3.1, que facilita el cálculo A3.3.

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{k}{m_r}} \quad (\text{A3.3})$$

Explica que si se usa la k en unidades de (din/cm) y las masas de los dos átomos en cuestión en (g), se podrá realizar la sustitución directa para la obtención de la frecuencia, la cual estará dada en cm^{-1} . Ellos hablan de frecuencias, aunque lo que reportan es de números de onda explícitamente, pero como ambas propiedades están relacionadas, es correcto reportar una u otra, además, como se mencionó anteriormente estos valores que se calculan, son debidos a tensiones de estos dos átomos, por lo que al encontrar otras señales que no concuerden con los valores calculados, serán debidos a flexiones en la molécula.

Ahora se calcularán la frecuencia entre dos átomos que se encuentran dentro de la molécula de Q, SDS, CTAB y β CD.

***Entre O-H**

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{k}{m_r}}$$

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{7.8}{0.94}} = 3,764 \text{ cm}^{-1}$$

***Entre C=O** (se reportan dos límites de un intervalo para k que son: 11.8-13.4 din/cm)

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{11.8}{6.86}} = 1,714 \text{ cm}^{-1}$$

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{13.4}{6.86}} = 1,827 \text{ cm}^{-1}$$

***Entre C-O** (se reportan dos límites de un intervalo para k que son: 5-5.8 din/cm)

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{5}{6.86}} = 1,115 \text{ cm}^{-1}$$

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{5.8}{6.86}} = 1,202 \text{ cm}^{-1}$$

***Entre C-C** (se reportan dos límites de un intervalo para k que son: 4.5-5.6 din/cm)

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{4.5}{6}} = 1,132 \text{ cm}^{-1}$$

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{5.6}{6}} = 1,263 \text{ cm}^{-1}$$

***Entre C=C** (se reportan dos límites de un intervalo para k que son: 9.5-9.9 din/cm)

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{9.5}{6}} = 1,645 \text{ cm}^{-1}$$

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{9.9}{6}} = 1,679 \text{ cm}^{-1}$$

***Entre C-H** (se reportan valores para k que son: 4.7, 5.0, 5.1, 5.9 din/cm)

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{4.7}{0.92}} = 2,954 \text{ cm}^{-1} \text{ (en } CH_3X)$$

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{5.0}{0.92}} = 3,046 \text{ cm}^{-1} \text{ (en } CH_3X)$$

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{5.1}{0.92}} = 3,077 \text{ cm}^{-1} \text{ (en } C_2H_4)$$

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{5.9}{0.92}} = 3,309.8 \text{ cm}^{-1} \text{ (en } C_2H_2)$$

*Entre C-N (se reportan dos límites de un intervalo para k que son: 4.9-5.6 din/cm)

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{4.9}{6.46}} = 1,138 \text{ cm}^{-1}$$

$$\tilde{\nu} = 1,307 \sqrt{\frac{5.6}{6.46}} = 1,217 \text{ cm}^{-1}$$

Además de estas señales debidas a tensión se tendrá señales debidas a flexión, como: de aproximadamente 1,500 a 1,700 y de 650 a 900 cm^{-1} para el caso del enlace entre N-H, de 1,300 a 1,500 y 450 a 900 cm^{-1} entre C-H y de 1,200 a 1,400 para O-H.

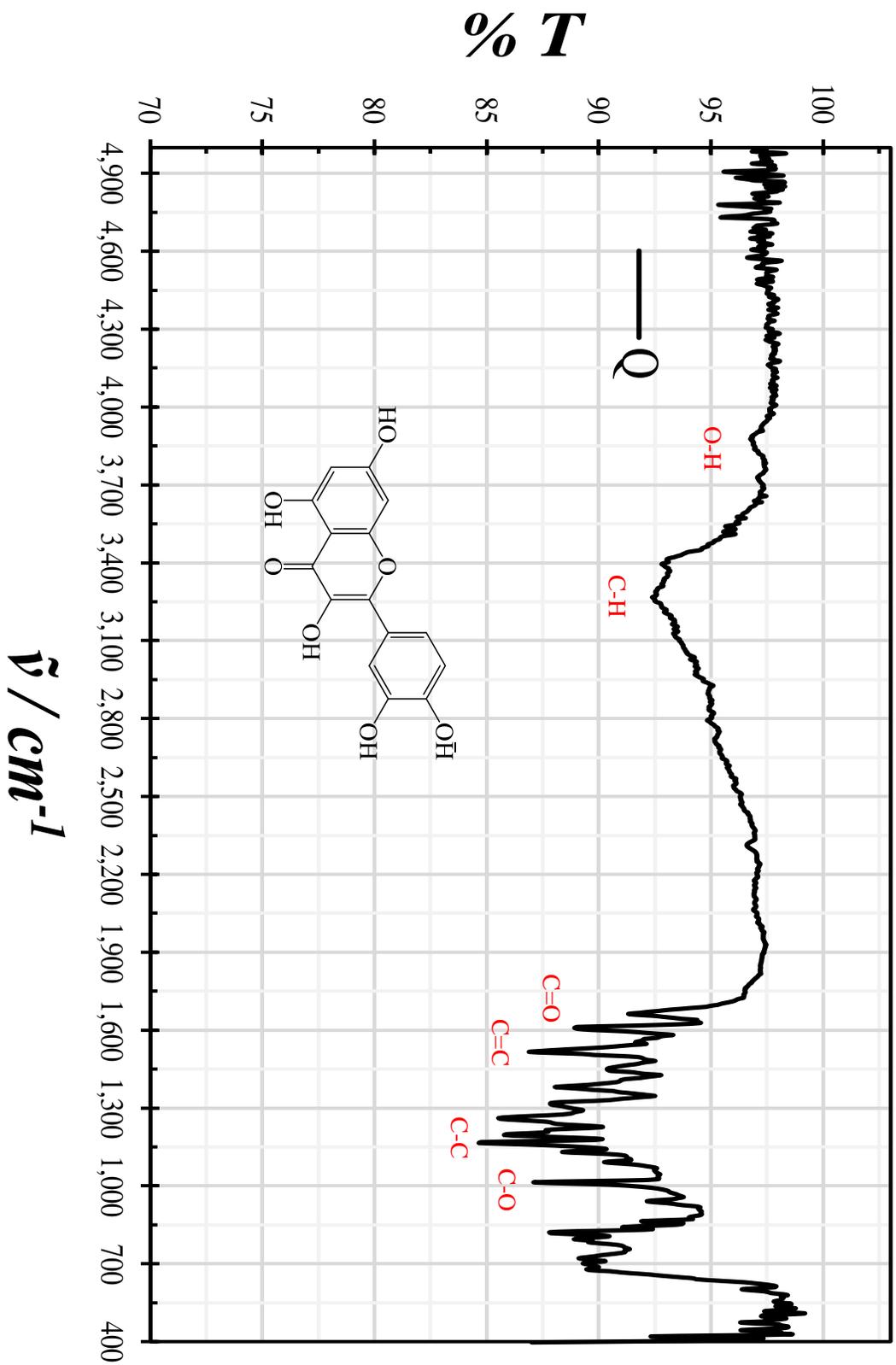
Referencias del apéndice 3

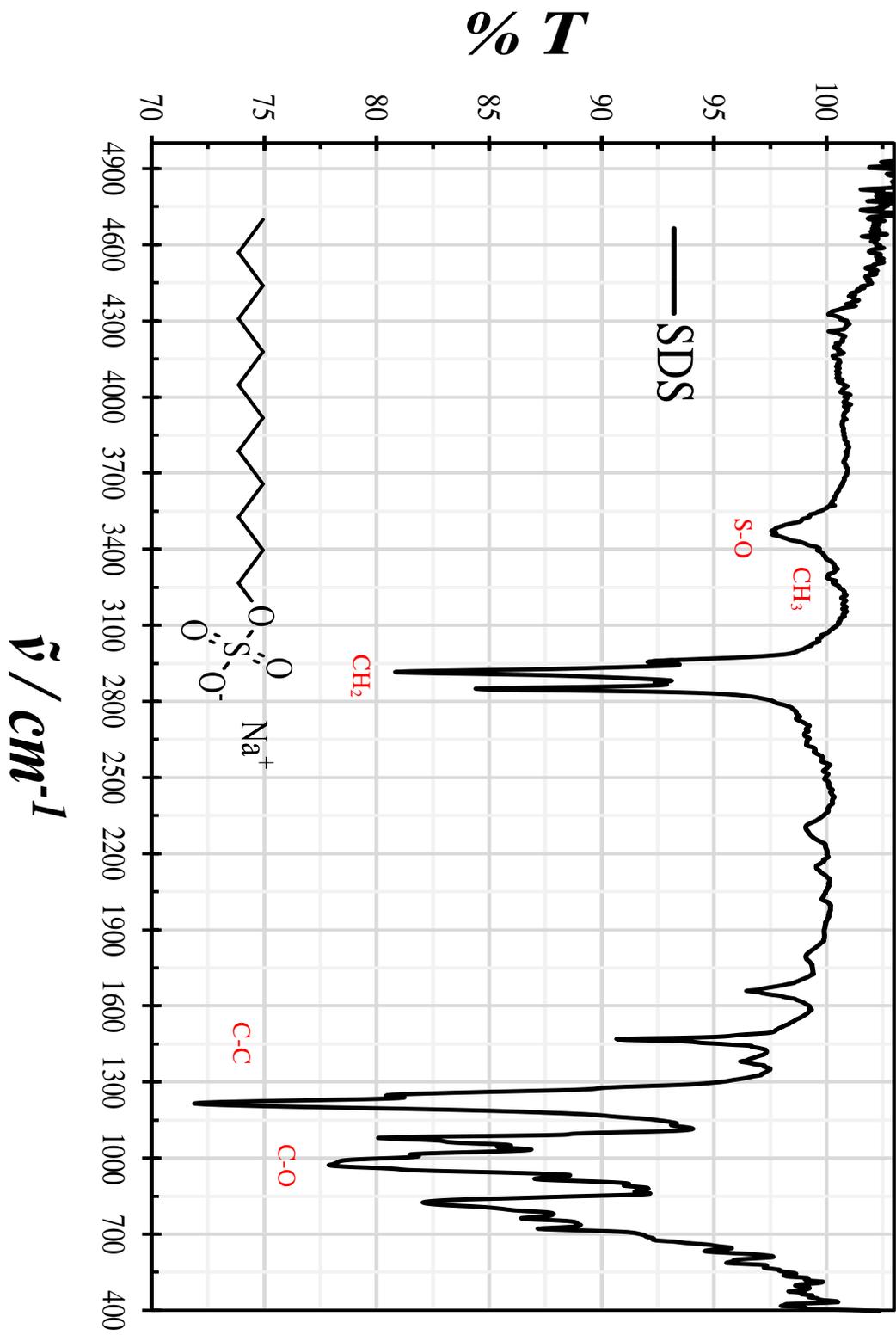
*D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Principios de análisis instrumental, Sexta edición, 2008, Editorial Cengage Learning, Santa Fe México.*

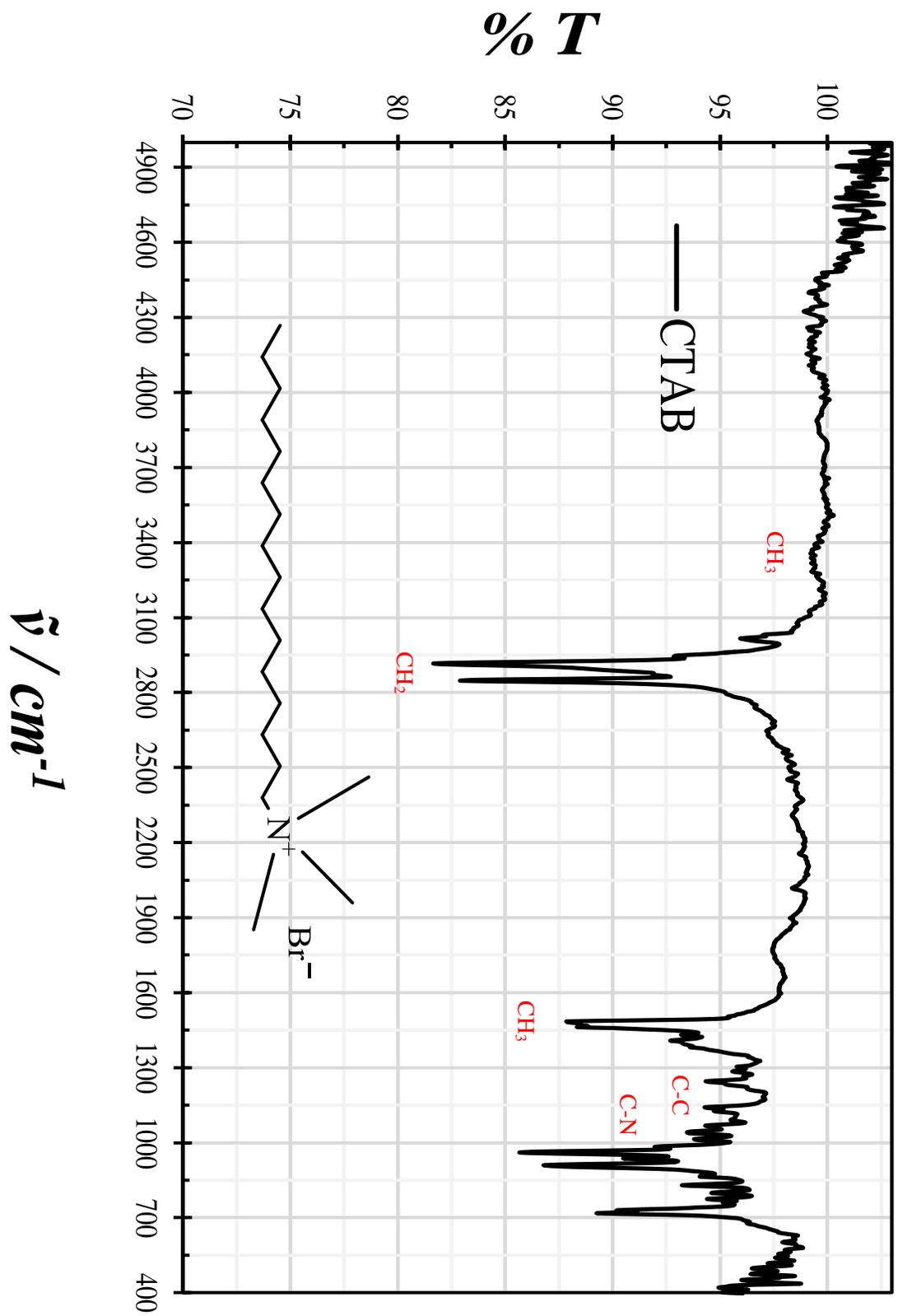
*E. D. Olsen, *Métodos ópticos de análisis, 1º edición es español, Ed. Reverte, España, 1990*

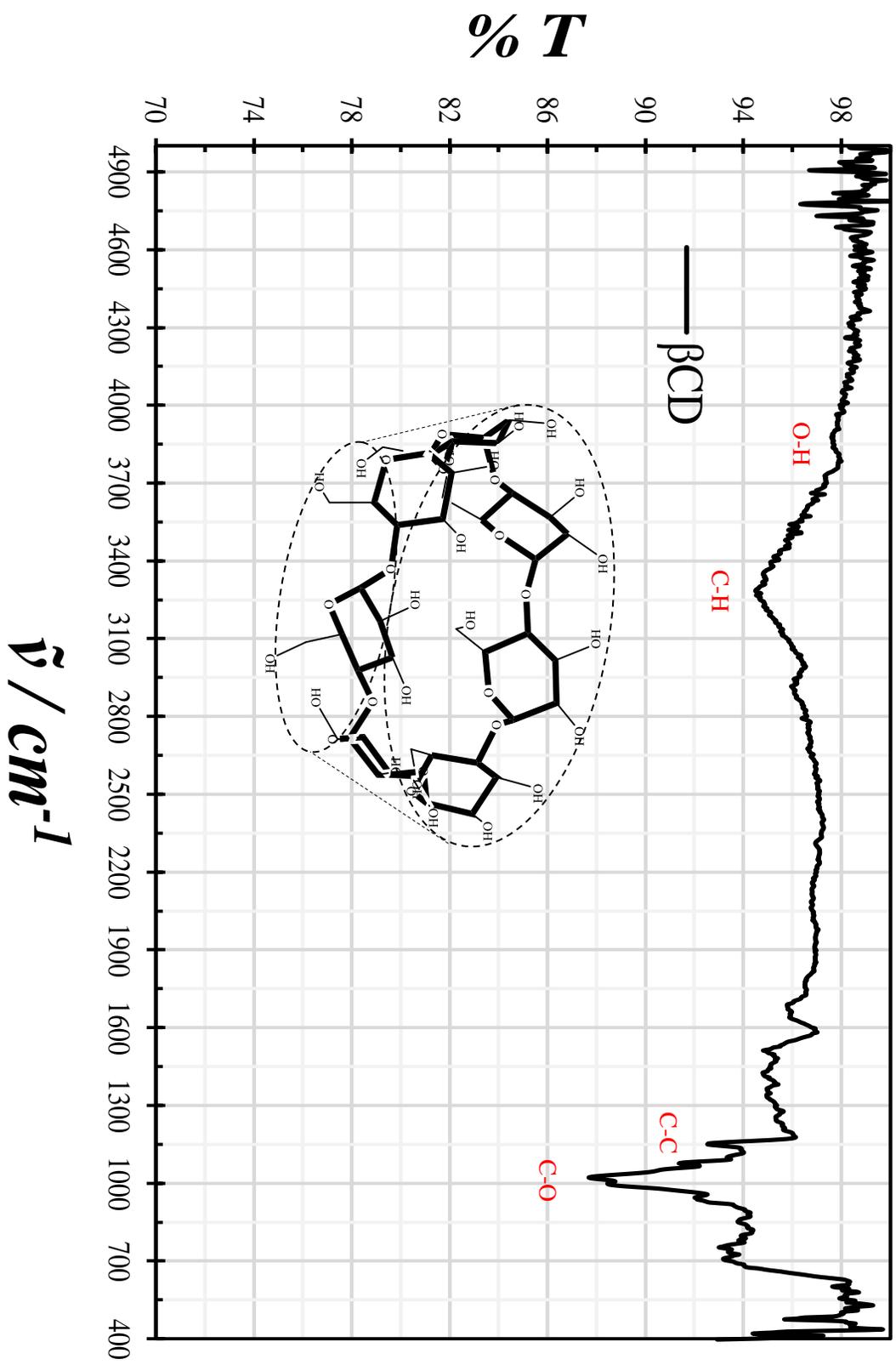
*E. B. Wilson, J. C. Decius, P. C. Cross, *Molecular Vibrations The theory of Infrared and Raman Vibrational Spectra, McGraw-Hill, New York, 1955.*

*N. B. Colthup, *Spectra-Structure Correlations in the Infra-Red Region, Journal of The Optical Society Of America 40 (1950) 397-400.*









Apéndice 4. Espectros Raman de: Q, SDS, CTAB, TX100 y β CD

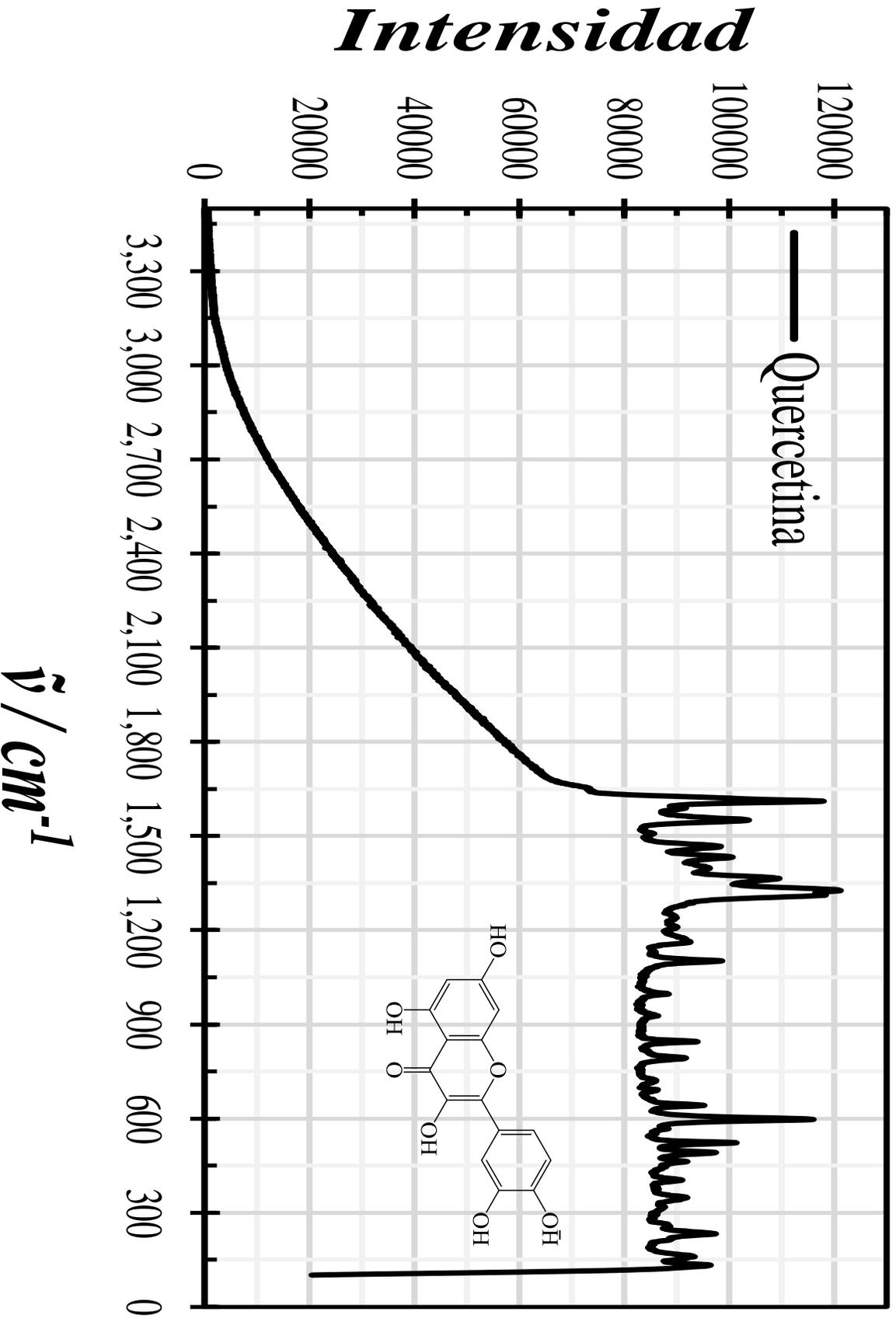
Como análisis inicial se analizaron los reactivos usados en este trabajo de investigación por medio de espectroscopía Raman, para corroborar que los reactivos empleados son los correctos, y además de que también fueron analizados por espectroscopía IR.

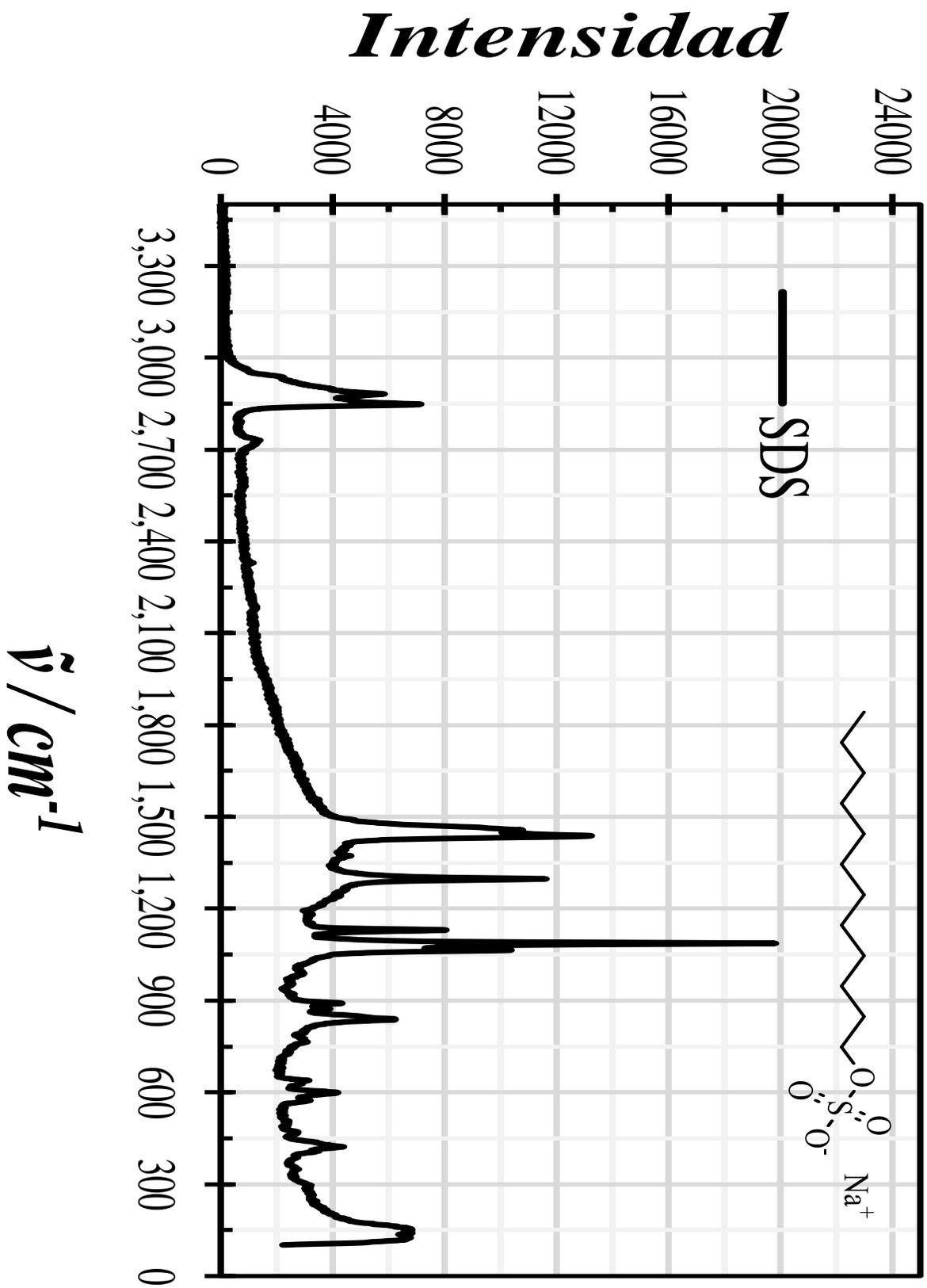
La espectroscopía Raman es resultado del mismo tipo de cambios vibracionales, cuantizados que se asocian con la absorción infrarroja. Por tanto, la diferencia de longitud de onda entre la radiación visible incidente y la dispersada corresponde a las longitudes de onda de la región del infrarrojo medio. De hecho, en el caso de una especie determinada, el espectro de difusión de Raman y el espectro de absorción infrarrojo son a menudo muy parecidos entre sí.

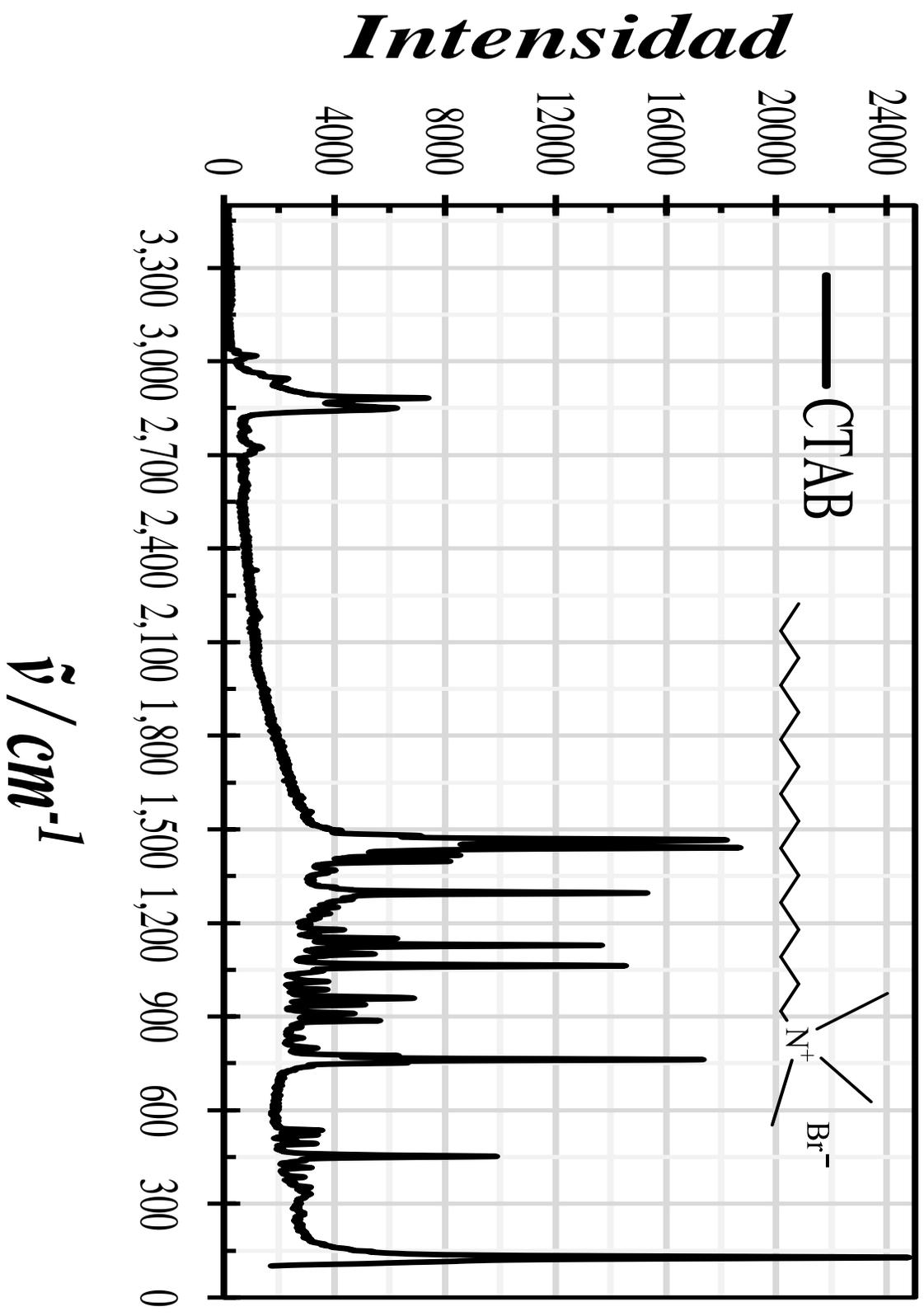
La espectroscopía en el infrarrojo es la mejor herramienta para dilucidar estructuras químicas, pero en el caso de otros análisis, la espectroscopía Raman proporciona información más útil, aunque finalmente ambas son complementarias.

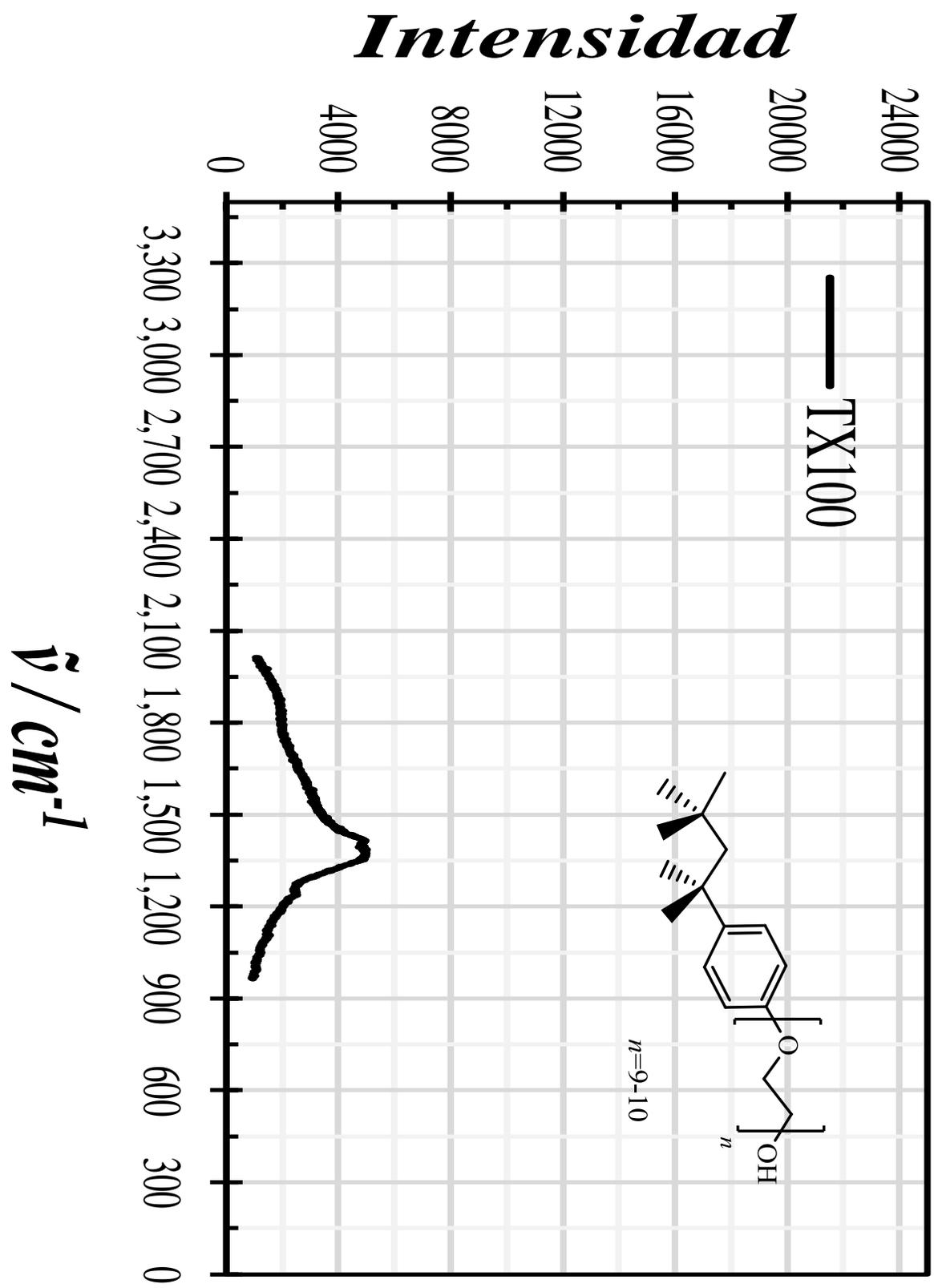
Referencia del apéndice 4

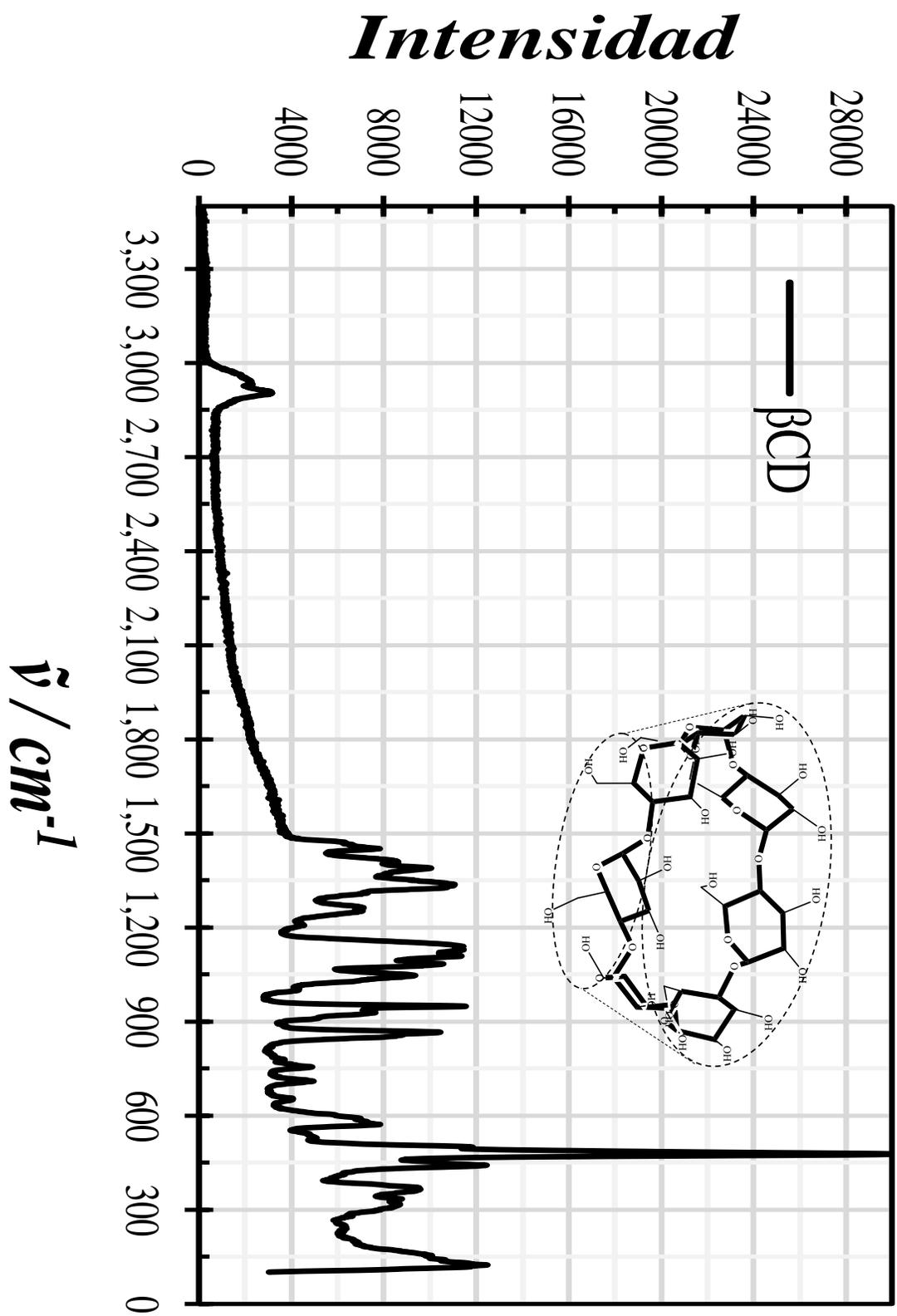
D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, Principios de análisis instrumental, Sexta edición, 2008, Editorial Cengage Learning, Santa Fe México.







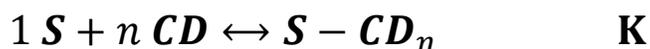




Apéndice 5. Desarrollo algebraico de la ecuación para la determinación de la constante inclusión propuesta en este trabajo a partir de la ecuación de Marques

Se demuestra algebraicamente la obtención de una ecuación para el cálculo de la constante de unión derivada de la ecuación propuesta por *Marques* en su tesis doctoral, de un complejo de inclusión entre un sustrato y una ciclodextrina y que después fue modificada para que fuera empleada a complejos micelares por *María de la Guardia y colaboradores*. La finalidad de modificar la ecuación de Marques, es debida a que creemos que la formación de complejos supramoleculares no siempre se dará con estequiometría 1:1.

Se parte de que se tiene un equilibrio entre “un” S y “n” CD y con estequiometria 1:n representada con la siguiente ecuación.



Donde S-CD_n es el complejo supramolecular formado por un S y n CD, por lo tanto, la ecuación de acción de masas estará dada por la siguiente relación.

$$K = \frac{[S - CD_n]_{eq}}{[S]_{eq}[CD]_{eq}^n} \quad (A5.1)$$

$$K = \frac{[S - CD_n]_{eq}}{([S]_T - [S - CD_n]_{eq})([CD]_T - [S - CD_n]_{eq})^n} \quad (A5.2)$$

Sí se considera que la [S] está en menor cantidad y la [CD] está en mayor cantidad; casi todo el S formará el complejo, por lo tanto, podremos hacer una aproximación de [CD]_T >> [S-CD_n]_{eq}, para dar.

$$K = \frac{[S - CD_n]_{eq}}{([S]_T - [S - CD_n]_{eq})([CD]_T - [S - CD_n]_{eq})^n} \quad (A5.3)$$

$$K = \frac{[S - CD_n]_{eq}}{[CD]_T^n ([S]_T - [S - CD_n]_{eq})} \quad (A5.4)$$

Ahora, si se hace uso de una técnica de fluorescencia midiendo los espectros de emisión y se mide la intensidad de fluorescencia del S al agregar CD, esta se deberá al sustrato no acomplexado y al acomplexado, considerando que la CD no fluoresce sola.

$$I = I_0 \left(\frac{[S]_{eq}}{[S]_T} \right) + I_C \left(\frac{[S - CD_n]_{eq}}{[S]_T} \right) \quad (A5.5)$$

Donde I_0 y I_C son las intensidades del S sin CD y del Complejo formado respectivamente. La concentración total del S se define como:

$$[S]_T = [S]_{eq} + [S - CD_n]_{eq} \quad (A5.6)$$

Si despejamos la concentración del S que esta al equilibrio se tiene.

$$[S]_{eq} = [S]_T - [S - CD_n]_{eq} \quad (A5.7)$$

Sustituyendo la *ecuación* A5.7 en la A5.5 se tiene.

$$I = I_0 \left(\frac{[S]_T - [S - CD_n]_{eq}}{[S]_T} \right) + I_C \left(\frac{[S - CD_n]_{eq}}{[S]_T} \right) \quad (A5.8)$$

Separando el primer término de la suma se tiene.

$$I = I_0 \left(\frac{[S]_T}{[S]_T} \right) - I_0 \left(\frac{[S - CD_n]_{eq}}{[S]_T} \right) + I_C \left(\frac{[S - CD_n]_{eq}}{[S]_T} \right) \quad (A5.9)$$

Factorizamos $\frac{[S - CD_n]_{eq}}{[S]_T}$ de la ecuación A5.9 y obtenemos.

$$I = I_0 + \frac{[S - CD_n]_{eq}}{[S]_T} (I_C - I_0) \quad (A5.10)$$

Rearreglando la ecuación A5.10 y se tiene.

$$I - I_0 = \frac{[S - CD_n]_{eq}}{[S]_T} (I_C - I_0) \quad (A5.11)$$

$$\frac{(I - I_0)}{(I_C - I_0)} = \frac{[S - CD_n]_{eq}}{[S]_T} \quad (A5.12)$$

$$\frac{(I_C - I_0)}{(I - I_0)} = \frac{[S]_T}{[S - CD_n]_{eq}} \quad (A5.13)$$

Retomando la ecuación de acción de masas A5.4 y sacándole el inverso se obtiene.

$$\frac{1}{K} = \frac{[CD]_T^n ([S]_T - [S - CD_n]_{eq})}{[S - CD_n]_{eq}} = \frac{[CD]_T^n [S]_T - [CD]_T^n [S - CD_n]_{eq}}{[S - CD_n]_{eq}} \quad (A5.14)$$

$$\frac{1}{K} = \frac{[CD]_T^n [S]_T}{[S - CD_n]_{eq}} - [CD]_T^n = [CD]_T^n \left(\frac{[S]_T}{[S - CD_n]_{eq}} - 1 \right) \quad (A5.15)$$

Sustituyendo la ecuación A5.13 en la ecuación A5.15 se tiene.

$$\frac{1}{K} = [CD]_T^n \left(\frac{(I_C - I_0)}{(I - I_0)} - 1 \right) \quad (A5.16)$$

$$\frac{1}{K[CD]_T} = \left(\frac{(I_C - I_0)}{(I - I_0)} - 1 \right) \quad (A5.17)$$

$$\frac{1}{K[CD]_T^n} + 1 = \frac{(I_C - I_0)}{(I - I_0)} = (I_C - I_0) \left(\frac{1}{I - I_0} \right) \quad (A5.18)$$

Se despeja $\frac{1}{(I - I_0)}$.

$$\left(\frac{1}{I_C - I_0} \right) \left(\frac{1}{K[CD]_T^n} + 1 \right) = \left(\frac{1}{I - I_0} \right) \quad (A5.19)$$

Ahora se puede escribir de forma diferente $\frac{1}{I_C - I_0}$ y $\frac{1}{I - I_0}$, como sigue.

$$* \frac{1}{(I_C - I_0)} = \frac{\left(\frac{1}{I_0} \right)}{\left(\frac{1}{I_0} \right) (I_C - I_0)} = \frac{\left(\frac{1}{I_0} \right)}{\left(\frac{I_C}{I_0} - 1 \right)} = \left(\frac{1}{I_0} \right) \left[\frac{I_C}{I_0} - 1 \right]^{-1} \quad (A5.20)$$

$$* \frac{1}{(I - I_0)} = \frac{\left(\frac{1}{I_0} \right)}{\left(\frac{1}{I_0} \right) (I - I_0)} = \frac{\left(\frac{1}{I_0} \right)}{\left(\frac{I}{I_0} - 1 \right)} = \left(\frac{1}{I_0} \right) \left[\frac{I}{I_0} - 1 \right]^{-1} \quad (A5.21)$$

Sustituyendo los rearrreglos de las ecuaciones A5.20 y A5.21 en la ecuación A5.19 se tiene.

$$\left(\frac{1}{I_0} \right) \left[\frac{I_C}{I_0} - 1 \right]^{-1} \left(\frac{1}{K[CD]_T^n} + 1 \right) = \left(\frac{1}{I_0} \right) \left[\frac{I}{I_0} - 1 \right]^{-1} \quad (A5.22)$$

$$\left[\frac{I_C}{I_0} - 1 \right]^{-1} \left(\frac{1}{K[CD]_T^n} + 1 \right) = \left[\frac{I}{I_0} - 1 \right]^{-1} \quad (A5.23)$$

$$\left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} \left(\frac{1}{K[CD]_T^n}\right) + \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} \quad (\text{A5.24})$$

Arreglando el orden de la ecuación A5.24.

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} + \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} \left(\frac{1}{K[CD]_T^n}\right) \quad (\text{A5.25})$$

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} + \left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} / K[CD]_T^n \quad (\text{A5.26})$$

Ahora si se compara esta ecuación obtenida con la propuesta por Marques.

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1} = \left[\frac{I_M}{I_0} - 1\right]^{-1} + \left[\frac{I_M}{I_0} - 1\right]^{-1} / \gamma K C_{\beta-CD}$$

Se tiene ligeras diferencias como el termino γ que no se sabe de dónde se origina, pero en la práctica este valor es considerado como uno, además de que I_M en la ecuación de Marques se refiere a la intensidad máxima obtenida y I_C es la intensidad debida al complejo formado, aunque dicho valor no es necesario conocerlo para para el cálculo de la K, además de un término n que aparece como exponente en la concentración de CD que se refiere a un cociente de las relaciones molares entre la CD y el S.

Cálculo de la K usando la ecuación A5.26

Si se gráfica $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\frac{1}{[CD]^n}$ tenemos una línea recta con una ordenada al origen $\left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1}$ y con pendiente de $\left[\frac{I_C}{I_0} - 1\right]^{-1} / K$, como la siguiente figura A5.1.

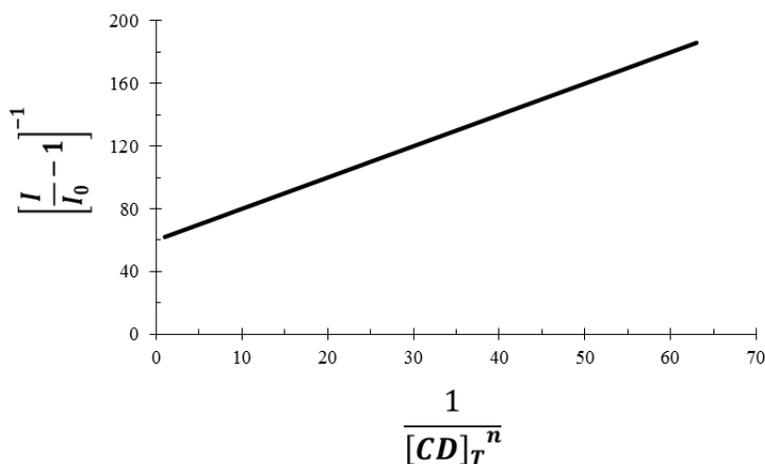


Figura A5.1. Relación $\left[\frac{I}{I_0} - 1\right]^{-1}$ en función de $\frac{1}{[CD]_T^n}$ empleando la ecuación A5.26.

Para encontrar el valor correspondiente de n , se grafica a diferentes valores de n la ecuación A5.26, y ya que es una relación lineal, el valor de n con el valor de R^2 más alto será el valor correcto, figura A5.2.

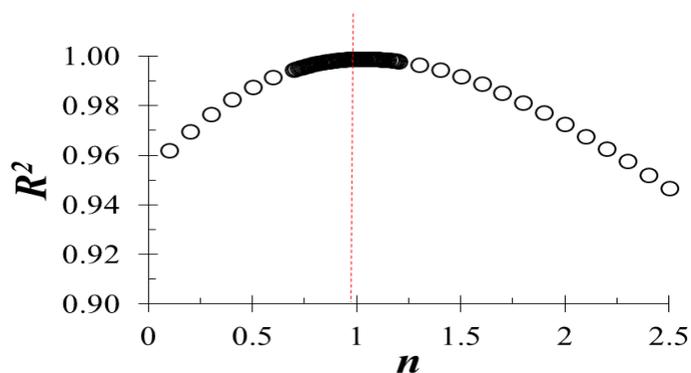


Figura A5.2. Relación de R^2 en función de n .

En la práctica se obtuvieron valores fraccionarios para n los cuales suponen una estequiometría realmente complicada, por lo tanto, se hace uso de una estrategia para la consideración de un mejor valor de n , el cual consiste en, ya obtenido el valor de n , este valor se aproxima al entero más cercano el cual tendrá un valor de R^2 alto y aceptable, esto se hace con la finalidad de obtener una estequiometria más real y fácil de interpretar.

Finalmente conocido el valor adecuado n , se divide el valor de la ordenada al origen entre la pendiente para obtener la K , que se adecua a una la ecuación A5.26. mostrado en la ecuación A5.27.

$$\frac{b}{m} = \frac{\left[\frac{I_{\text{E}}}{I_{\text{B}}} - 1\right]^{-1}}{\left[\frac{I_{\text{E}}}{I_{\text{B}}} - 1\right]^{-1} / K} = K \quad (\text{A5.27})$$

Referencias del apéndice 5

*Marques, J. C. *Ph.D. thesis, University of Malaga, Spain, 1988.*

*M. Guardia, E. Perris-Cardells, J. Sancenón, J. L. Carrión, *Fluorimetric Determination of Binding Constants between Micelles and Chemical Systems, Microchemical Journal 44 (1991) 193-200.*

Apéndice 6. Desarrollo algebraico de la ecuación propuesta por Runhua Lu y colaboradores para el cálculo de la constante de inclusión del complejo CD-Surfactante

Se demuestra algebraicamente la ecuación que propone Runhua y colaboradores para el cálculo de la constante de inclusión entre una ciclodextrina y un surfactante (tensoactivo).

Se parte de que se tiene un equilibrio con estequiometría 1:1 representada con la siguiente ecuación.



Donde CD es la ciclodextrina, T es el surfactante (se elige T ya que se empleó S en los apéndices anteriores) y $CD-T$ es el complejo de inclusión, por lo tanto, la ecuación de acción de masas estará dada por la siguiente relación.

$$K = \frac{[CD - T]}{[CD][T]} \quad (A6.1)$$

$$CD_0 = [CD] + [CD - T] \quad (A6.2)$$

$$T_0 = [T] + [CD - T] \quad (A6.3)$$

El subíndice de las ecuaciones A6.2 y A6.3 representan las concentraciones totales. Sustituyendo las ecuaciones A6.2 y A6.3 en la ecuación A6.1, se tiene.

$$K = \frac{T_0 - [T]}{(CD_0 - [CD - T])[T]} = \frac{T_0 - [T]}{(CD_0 - T_0 + [T])[T]} \quad (A6.4)$$

$$\frac{1}{K} = \frac{(CD_0 - T_0 + [T])[T]}{T_0 - [T]} = \frac{(CD_0 - T_0 + [T])[T]}{(T_0/[T] - 1)[T]} = \frac{CD_0 - T_0 + [T]}{T_0/[T] - 1} \quad (\text{A6.5})$$

$$\frac{1}{K} \left(\frac{T_0}{[T]} - 1 \right) = CD_0 - T_0 + [T] \quad (\text{A6.6})$$

$$CD_0 - T_0 + [T] = \frac{1}{K} \left(\frac{T_0}{[T]} - 1 \right) \quad (\text{A6.7})$$

$$-T_0 + [T] = \frac{1}{K} \left(\frac{T_0}{[T]} - 1 \right) - CD_0 \quad (\text{A6.8})$$

$$T_0 - [T] = \frac{1}{K} \left(1 - \frac{T_0}{[T]} \right) + CD_0 \quad (\text{A6.9})$$

De la ecuación A6.9 se tiene una relación lineal de $T_0 - [T]$ con $(1 - T_0/[T])$, donde la pendiente es igual a $1/K$ y la ordenada al origen es igual a la CD_0 , a partir de medidas de **tensión superficial** se pueden obtener los valores de $[T]$ y T_0 . Los valores de $[T]$ y T_0 se obtienen de las relaciones de TS vs [Surfactante] en ausencia y en presencia de la β CD respectivamente como se muestra en la figura A6.1.

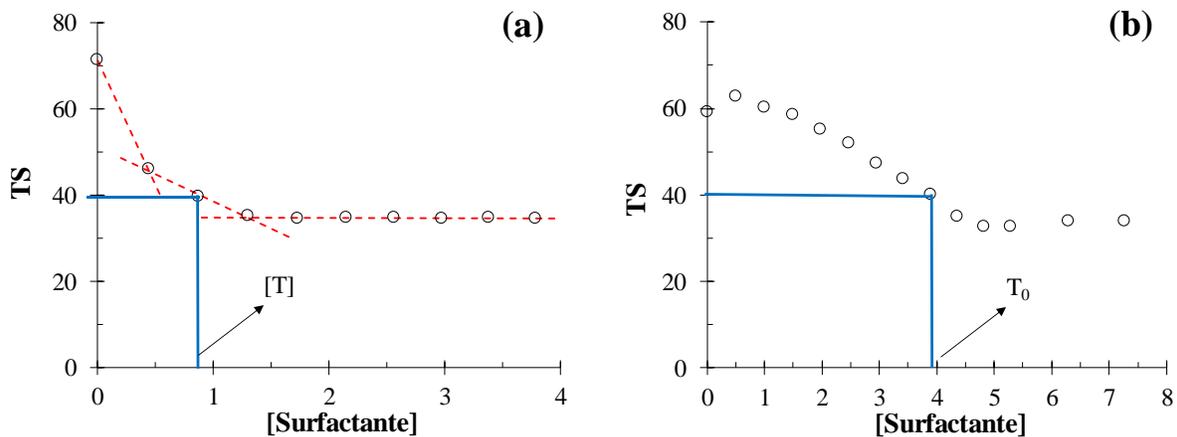


Figura A6.1 Relación de TS en función de [Surfactante] en ausencia (a) y presencia de β CD (b).

En la figura A6.1(a) se muestra la relación de TS vs [Surfactante] en ausencia de la β CD, donde se muestra que a un valor de TS de 40, se tiene un valor de 0.9 que corresponde al valor de [T] y representa la concentración del surfactante libre y en el inciso (b) de la misma figura, se muestra la misma relación pero ahora en presencia de la β CD, por lo que al mismo valor de TS, se tiene un valor diferente de concentración del surfactante, para este caso se tiene un valor de aproximadamente 4, que corresponde a T_0 y representa a la concentración total del surfactante (surfactante libre y surfactante complejado con la β CD). Con estos resultados se hace uso de la ecuación A6.9 y se construye la siguiente relación mostrada en la figura A6.2.

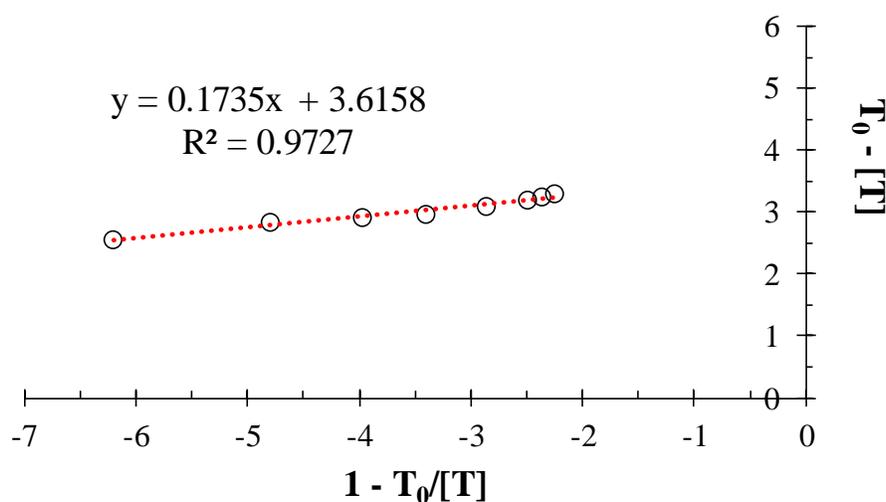


Figura A6.2 Relación de $T_0 - [T]$ en función de $1 - T_0/T$.

De la pendiente se obtiene el valor de la constante de inclusión del complejo. Además, el valor de la ordenada al origen corresponde a la concentración total de la CD. La concentración de la CD usada para la construcción de la figura A6.2 fue de 4 mM (las unidades del eje y está en mM).

El valor del coeficiente de correlación cuadrado no tiene buena correlación, por lo que Runhua y colaboradores, mencionan que es debido a que se lleva a cabo la formación de otros complejos de inclusión con estequiometría diferente a la 1:1.

Referencia del apéndice 6

**R. Lu, J. Hao, H. Wang, L. Tong, Determination of Association Constants for Cyclodextrin–Surfactant Inclusion Complexes: A Numerical Method Based on Surface Tension Measurements, Journal of Colloid and Interface Science 192 (1997) 37–42.*

Referencias

- [1] Halliwell, B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?, *The Lancet* 334 (2003) 721-724.
- [2] Marx J. L. Oxygen Free Radicals Linked to Many Diseases, *Science* 235 (1987) 529-531.
- [3] Gutteridge J. M. C. Invited Review Free Radicals in Disease Processes: A compilation of cause and consequence, *Free Rad. Res. Comms.* 19 (1993) 141-158.
- [4] Jean-Marie L., *Supramolecular Chemistry Concepts and perspectives*, VCH, Weinheim (Bundesrepublik Deutschland), 1995.
- [5] Schalley C. A., *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry*, WILEY-VCH, República Federal de Alemania, 2007.
- [6] M. J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 3rd ed., John Wiley & Sons Ltd, New Jersey, 2004.
- [7] J. H. Fendler, E. J. Fendler, *Catalysis in Micellar and Macromolecular System*, Academic Press, London, 1975. Libro en físico: está en el locker.
- [8] K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg, B. Lindman, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, Great Britain, 2003.
- [9] R. S. Sarpal, M. Belletête, G. Durocher, Fluorescence Probing and Proton-Transfer Equilibrium Reactions in Water, SDS, and CTAB Using 3,3-Dimethyl-Z-phenyl-3H-indo, *J Phys Chem* 97 (1993) 5007-5013.
- [10] T. S. Singh, S. Mitra, Fluorescence behavior of intramolecular charge transfer probe in anionic, cationic, and nonionic micelles, *J Colloid Interf Sci* 311 (2007) 128-134.
- [11] A. Mallick, B. Haldar, S. Maiti, N. Chattopadhyay, Constrained photophysics of 3-acetyl-4-oxo-6,7-dihydro-12H indolo-[2,3-a] quinolizine in micellar environments: a spectrofluorometric study, *J Colloid Interf Sci* 278 (2004) 215-223
- [12] S. Corona-Avenidaño, M. T. Ramírez-Silva, M. Palomar-Pardavé, L. Hernández-Martínez, Mario Romero-Romo, G. Alarcón-Ángeles, Influence of CTAB on the electrochemical behavior of dopamine and on its analytic determination in the presence of ascorbic acid, *J Appl Electrochem* 40 (2010) 463-474.
- [13] S. Corona-Avenidaño, G. Alarcón-Ángeles, M. T. Ramírez-Silva, G. Rosquete-Pina, M. Romero-Romo, M. Palomar-Pardavé, On the electrochemistry of dopamine

in aqueous solution. Part I: The role of [SDS] on the voltammetric behavior of dopamine on a carbon paste electrode, *J Electroanal Chem* 609 (2007) 17-26.

[14] S. Corona-Avendaño, G. Alarcón-Ángeles, M. T. Ramírez-Silva, G. Rosquete-Pina, M. Romero-Romo, A. Cuán, M. Palomar-Pardavé, Simultaneous Electrochemical Determination of Adrenaline and Ascorbic Acid: Influence of [CTAB], *J Electrochem Soc* 156 (2009) J375-J381.

[15] M. Hoshino, M. Imamura, K. Ikehara, Y. Hama, Fluorescence Enhancement of Benzene Derivatives by Forming Inclusion Complexes with β -Cyclodextrin in Aqueous Solutions, *J Phys Chem* 85 (1981) 1820-1823.

[16] R. Challa, A. Ahuja, J. Ali, R. K. Khar, Cyclodextrins in Drug Delivery: An Updated Review, *AAPS PharmSciTech* 6 (2005) E329-E357.

[17] M. Kfoury, L. Auezova, H. Greige-Gerges, S. Ruellan, S. Fourmentin, Cyclodextrin, an efficient tool for trans-anethole encapsulation: Chromatographic, spectroscopic, thermal and structural studies, *Food Chem* 164 (2014) 454-461.

[18] Y. Zheng, I. S. Haworth, Z. Zuo, M. S. S. Chow, A. H. L. Chow, Physicochemical and Structural Characterization of Quercetin- β -Cyclodextrin Complexes, *J Pharma Sci* 94 (2005) 1079-1089.

[19] T. Pralhad, K. Rajendrakumar, Study of freeze-dried quercetin-cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis, *J Pharmaceut Biomed* 34 (2004) 333-339.

[20] S. Tommasini, D. Raneri, R. Ficarra, M. L. Calabrò, R. Stancanelli, P. Ficarra, Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with β -cyclodextrin, *J Pharmaceut Biomed* 35 (2004) 379-387.

[21] R. Narayanan, *Interfacial Processes and Molecular Aggregation of Surfactants*, Springer, Berlin, 2008.

[22] C. O. Rangel-Yagui, A. Pessoa Junior, L. Costa Tavares, Micellar solubilization of drugs, *J Pharmacy Pharm Sci* 8 (2005) 147-163.

[23] J. Joon-Hyung, K. Hyunmyung, J. Seunho, Electrochemical selectivity enhancement by using monosuccinyl β -cyclodextrin as a dopant for multi-wall carbon nanotube-modified glassy carbon electrode in simultaneous determination of quercetin and rutin, *Biotechnol Lett* 31 (2009) 1739-1744.

- [24] D. S. Guzmán-Hernández, M. Palomar-Pardavé, A. Rojas-Hernández, S. Corona-Avenidaño, M. Romero-Romo, M. T. Ramírez-Silva, Electrochemical quantification of the thermodynamic equilibrium constant of the tenoxicam- β -cyclodextrin inclusion complex formed on the surface of a poly- β cyclodextrin-modified carbon paste electrode *Electrochim Acta* 140 (2014) 535-540.
- [25] G. Roa-Morales, L. Galicia, A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez-Silva, Electrochemical study on the selective formation of [Pb(cyclodextrin)₂]⁺ surface inclusion complexes at the carbon paste electrode/ClO₄⁻ 1M interphase, *Electrochim Acta* 50 (2005) 1925-1930.
- [26] M. Palomar-Pardavé, G. Alarcón-Ángeles, M. T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, A. Rojas-Hernández, S. Corona-Avenidaño, Electrochemical and spectrophotometric determination of the formation constants of the ascorbic acid- β -cyclodextrin and dopamine- β -cyclodextrin inclusion complexes, *J Incl Phenom Macrocycl Chem* 69 (2011) 91-99.
- [27] A. Fragoso, E. Almirall, R. Cao, L. Echevoyen, R. González-Jonte, A supramolecular approach to the selective detection of dopamine in the presence of ascorbate, *Chem Commun* (2004) 2230-2231.
- [28] A. Ferancová, J. Labuda, Fresenius, Cyclodextrins as electrode modifiers, *J Anal Chem* 370 (2001) 1-10
- [29] W. Buranaboripan, W. Lang, E. Motomura, N. Sakairi, Preparation and characterization of polymeric host molecules, β -cyclodextrin linked chitosan derivatives having different linkers, *Int J Biol Macromol* 69 (2014) 27-34.
- [30] K. A. Connors, The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution, *Chem Rev* 97 (1997) 1325-1357.
- [31] J. Szejtli, Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry, *Chem Rev* 98 (1998) 1743-1753.
- [32] F. Sallas, R. Darcy, Amphiphilic Cyclodextrins – Advances in Synthesis and Supramolecular Chemistry, *Eur J Org Chem* 2008 (2008) 957-969.
- [33] K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg, B. Lindman. Surfactants and Polymers in Aqueous Solution. 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, Great Britain, 2003.
- [34] M.J. Rosen. Surfactants and Interfacial Phenomena. 3rd ed., John Wiley & Sons Ltd, New Jersey, 2004.

- [35] J.H. Fendler, E.J. Fendler. *Catalysis in Micellar and Macromolecular System*. Academic Press, London, 1975.
- [36] A.P. Mukerjee, K. J. Mysels. *Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactants System*. Secretary of Commerce on Behalf of the United States Government, 1970.
- [37] S. Martínez-Flórez, J. González-Gallego, J.M. Culebras, M.J. Tuñón. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp* 17 (2002) 271-278.
- [38] G. Pérez-Trueba. Los Flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Rev Cubana Invest Biomed* 22 (2003) 48-57.
- [39] A. Russo, R. Acquaviva, A. Campisi, V. Sorrenti, C. Di Giacomo, G. Virgata, M. L. Barcellona, A. Vanella. Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biology and Toxicology* 16 (2000) 91-98
- [40] K. Raj Narayana, M. Spiral Reddy, M. R. Chaluvadi, D. R. Krishna. Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical effects and Therapeutical Potencial. *Indian J Pharmacol* 33 (2001) 2-16
- [41] P. Pier-Giorgio. Flavonoids as Antioxidants. *J Nat Prod* 63 (2000) 1035-1042.
- [42] K.E. Heim, A.R. Tagliaferro, D.J. Bobilya. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem* 13 (2002) 572-584.
- [43] T. Shohaib, M. Shafique, N. Dhanya, M.C. Divakar. Importance of Flavonoides in Therapeutics. *Hygeia J D Med* 3 (2011) 1-18.
- [44] L. Bravo. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutr Rev*, 56, (1998), 317-333.
- [45] R.J. Nijveldt, E. van Nood, D.EC van Hoorn, P.G. Boelens, K. van Norren, P. AM van Leeuwen. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74 (2001) 418-425.
- [46] L. Houli, Z. XiaoBin, M. YuKun, Z. GuangXi, L. LingBing, L. HongXiang. Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. *J Control Release* 133 (2009) 238-244.
- [47] K. Murota, J. Terao. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. *Arch Biochem Biophys* 417 (2003) 12-17.

- [48] K. Srinivas, J.W. King, L.R. Howard, J.K. Monrad. Solubility and solution thermodynamic properties of quercetin and quercetin dihydrate in subcritical water. *J Food Eng* 100 (2010) 208-218.
- [49] J.M. Herrero-Martínez, M. Sanmartin, M. Rosés, E. Bosch, C. Ràfols. Determination of dissociation constants of flavonoids by capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 26 (2005) 1886-1895.
- [50] R. Álvarez-Diduk, M.T. Ramírez-Silva, A. Galano, A. Merkoçi. Deprotonation Mechanism and Acidity Constants in Aqueous Solution of Flavonols: a Combined Experimental and Theoretical Study. *J Phys Chem B* 117 (2013) 12347-12359.
- [51] D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch. *Fundamentos de Química Analítica*. Novena Edición, Cengage Learning, Santa Fe México, 2015, pag. 763.
- [52] Marques, J.C. Ph.D. thesis, University of Malaga, Spain, 1988.
- [53] M. Guardia, E. Perris-Cardells, J. Sancenón, J.L. Carrión. Fluorimetric Determination of Binding Constants between Micelles and Chemical Systems. *Microchemical Journal* 44 (1991) 193-200.
- [54] G.R. Bruce, P.S. Gill. Estimates of Precision in a Standard Additions Analysis. *Journal of Chemical Education* 76 (1999) 805-807.
- [55] G. Duplâtre, M.F. Ferreira, M. da Graça. Size of Sodium Dodecyl Sulfate Micelles in Aqueous Solutions as Studied by Positron Annihilation Lifetime Spectroscopy. *J. Phys. Chem.* 1996, 100, 16608-16612
- [56] M. Molero, R. Andreu, D. González, J. Calvente, G. López-Pérez. An Isotropic Model for Micellar Systems: Application to Sodium Dodecyl Sulfate Solutions. *Langmuir* 17 (2001) 314-322.
- [57] E.D. Olsen. *Métodos ópticos de análisis*. 1º edición es español, Ed. Reverte, España, 1990
- [58] E.B. Wilson, J.C. Decius, P.C. Cross. *Molecular Vibrations The theory of Infrared and Raman Vibrational Spectra*. McGraw-Hill, New York, 1955.
- [59] A. Kumari, S.K. Yadav, Y.B. Pakade, B. Singh, S.C. Yadav. Development of biodegradable nanoparticles for delivery of quercetin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 80 (2010) 184-192.

- [60] V. Natarajan, N. Krithica, B. Madhan, P.K. Sehgal. Formulation and Evaluation of Quercetin Polycaprolactone Microspheres for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Journal Of Pharmaceutical Science* 100 (2011) 195-204.
- [61] J. Zhang, X. Xie, C. Li, H. Wang, L. Wang. The role of soft colloidal templates in the shape evolution of flower-like MgAl-LDH hierarchical microstructures. *The Royal Society of Chemistry* 5 (2015) 29757-29765.
- [62] S.R. Ede, U. Nithiyantham, S. Kundu. Enhanced catalytic and SERS activities of CTAB stabilized interconnected osmium nanoclusters. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 16 (2014) 22723-22734.
- [63] J.M. Marković, Z.S. Marković, J.B. Krstić, D. Milenković, B. Lučić, D. Amić. Interpretation of the IR and Raman spectra of morin by density functional theory and comparative analysis. *Vibrational Spectroscopy* 64 (2013) 1– 9.
- [64] K. Mollaeian, S. Wei, M.R. Islam, B. Dickerson, W.E. Holmes, T.J. Benson. Development of an Online Raman Analysis Technique for Monitoring the Production of Biofuels. *Energy Fuels* 30 (2016) 4112-4117.
- [65] Y. Li, X. Cai, W. Shen. Preparation and performance comparison of supercapacitors based on nanocomposites of MnO₂ with cationic surfactant of CTAC or CTAB by direct electrodeposition. *Electrochimica Acta* 149 (2014) 306–315.
- [66] D. Xiao, D. Yuan, H. He, M. Gao. Microwave assisted one-step green synthesis of fluorescent carbon nanoparticles from ionic liquids and their application as novel fluorescence probe for quercetin determination. *Journal of Luminescence* 140 (2013) 120-125.
- [67] F. Gutiérrez, G. Ortega, J.L. Cabrera, M.D. Rubianes, G.A. Rivas. Quantification of quercetin using glassy carbon electrodes, modified with multiwalled carbon nanotubes dispersed in polyethylenimine and polyacrylic acid. *Electroanalysis*, 22 (2010) 2650-2657.
- [68] B. Singh, P. Mungara, M. Nivsarkar, S. Anandjiwala. HPTLC Densitometric Quantification of Glycyrrhizin, Glycyrrhetic Acid, Apigenin, Kaempferol and Quercetin from *Glycyrrhiza glabra*. *Chromatographia* 70 (2009) 1665-1672.
- [69] S. Shailajan, H. Joshi. Optimized Separation and Quantification of Pharmacologically active markers Quercetin, Kaempferol, β -sitosterol and Lupeol from *Cuscuta reflexa* Roxb. *Journal of Pharmacy Research* 4 (2011) 1851-1853.

- [70] M. F. Emerson, A. Holtzer, On the Ionic Strength Dependence of Micelle Number. II, *The Journal of Physical Chemistry* 71 (1967) 1898-1907
- [71] N. M. Inayathullah, G. J. Jasmine, R. Jayakumar, Effect of Osmolyte on the Micellization of SDS at Different Temperatures, *Langmuir* 19 (2003) 9545-9547.
- [72] K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg, B. Lindman, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, Great Britain, 2003.
- [73] M. J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 3rd ed., Jhon Wiley & Sons Ltd, New Jersey, 2004.
- [74] J. H. Fendler, E. J. Fendler, *Catalysis in Micellar and Macromolecular System*, Academic Press, London, 1975. Libro en físico: está en el locker.
- [75] A. P. Mukerjee, K. J. Mysels, *Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactants System*, Secretary of Commerce on Behalf of the United States Government, 1970.
- [76] A. Zdziennicka, K. Szymczyk, J. Krawczyk, B. Janczuk, Critical micelle concentration of some surfactants and thermodynamic parameters of their micellization, *Fluid Phase Equilibria* 322–323 (2012) 126–134.
- [77] A. M. Carlucci, M. C. Vidal, C. Bregni, Las Microemulsiones como Vehículos para Administración de Drogas, *Acta Farm. Bonaerense* 23 (2004) 550-557.
- [78] M. J. Lawrence, G. D. Rees, Microemulsion-based media as novel drug delivery systems, *Advanced Drug Delivery Reviews* 45 (2000) 89–121.
- [79] C. O. Rangel-Yagui, A. Pessoa, L. Costa, Micellar solubilization of drugs, *J. Pharmaceut Sci* 8 (2005) 147-163.
- [80] D. Attwood, A. T. Florence, *SURFACTANT SYSTEMS Their chemistry, pharmacy and biology*, first edition, Chapman and Hall, New York, 1983.
- [81] S. Chakraborty, D. Shukla, A. Jain, B. Mishra, S. Singh, Assessment of solubilization characteristics of different surfactants for carvedilol phosphate as a function of pH, *Journal of Colloid and Interface Science* 335 (2009) 242–249.
- [82] A. Ringbom, *Formación de complejos en Química Analítica*, primera edición en español, Alhambra, Madrid, 1979.

- [83] R. Álvarez-Diduk, M. T. Ramírez-Silva, A. Galano, A. Merkoçi, Deprotonation Mechanism and Acidity Constants in Aqueous Solution of Flavonols: a Combined Experimental and Theoretical Study, *J Phys Chem B* 117 (2013) 12347-12359.
- [84] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Fundamentos de Química Analítica*, Novena Edición, Cengage Learning, Santa Fe México, 2015, pag. 763.
- [85] R. Martínez, M. T. Ramírez, I. González, Voltammetric Characterization of Carbon Paste Electrodes with a Nonconducting Binder. Part I: Evidence of the Influence of Electroactive Species Dissolution into the Paste on the Voltammetric Response, *Electroanalysis* 10 (1998) 336-342.
- [86] S. Manne, H. E. Gaub, Molecular Organization of Surfactants at Solid-Liquid Interfaces, *Science* 270 (1995) 1480-1482.
- [87] J. L. Wolgemuth, R. K. Workman, S. Manne, Surfactant Aggregates at a Flat, Isotropic Hydrophobic Surface, *Langmuir* 16 (2000) 3077-3081.
- [88] I. Grosse, K. Estel, Thin surfactant layers at the solid interface, *Colloid Polym Sci* 278 (2000) 1000-1006.
- [89] A. E. Sánchez-Rivera, V. Vital-Vaquier, M. Romero-Romo, M. T. Ramírez-Silva, M. Palomar-Pardavé, Electrochemical Deposition of Cetyltrimethylammonium Surface Hemimicelles at the Hg/0.1 M NaCl(aq) Interface, *Journal of The Electrochemical Society* 151 (2004) C666-C673.
- [90] S. A. Wring, J. P. Hart, Chemically Modified, Carbon-based Electrodes and Their Application as Electrochemical Sensors for the Analysis of Biologically Important Compounds, *Analyst* 117 (1992) 1215-1229.
- [91] G. A. Álvarez-Romero, E. Garfias-García, M. T. Ramírez-Silva, C. Galán-Vidal, M. Romero-Romo, M. Palomar-Pardavé, Electrochemical and AFM characterization of the electropolymerization of pyrrole over a graphite-epoxy resin solid composite electrode, in the presence of different anions *Applied Surface Science* 252 (2006) 5783-5792.
- [92] A. Ferancová, J. Labuda, Cyclodextrins as electrode modifiers, *Fresenius J Anal Chem* 370 (2001) 1-10.
- [93] S. Corona Avendaño, G. Alarcón Ángeles, M. Romero Romo, A. Merkoçi, A. Rojas Hernandez, M. T. Ramírez Silva, M. Palomar Pardavé. Supramolecular

Systems Construction for the Selective Quantitative Determination of Dopamine in the Presence of Ascorbic Acid, *ECS Transactions* 36 (2011) 385-392.

[94] S. Corona-Avendaño, M.T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, A. Rojas-Hernández, M. Palomar-Pardavé, Influence of the HClO₄ concentration on the β -CD electropolymerization over a carbon paste electrode and on dopamine's electrochemical response, *Electrochimica Acta* 89 (2013) 854– 860.

[95] D. S. Guzmán-Hernández, M. Palomar-Pardavé, A. Rojas-Hernández, S. Corona-Avendaño, M. Romero-Romo, M. T. Ramírez-Silva, Electrochemical quantification of the thermodynamic equilibrium constant of the tenoxicam- β -cyclodextrin inclusion complex formed on the surface of a poly- β -cyclodextrin-modified carbon paste electrode, *Electrochimica Acta* 140 (2014) 535–540.

[96] G. Roa Morales, T. Ramírez Silva, L. Galicia, Carbon paste electrodes electrochemically modified with cyclodextrins, *J Solid State Electrochem* 7 (2003) 355–360.

[97] I. Švancara, A. Walcarius, K. Kalcher, K. Vytřas, Carbon paste electrodes in the new millennium, *Cent. Eur. J. Chem.* 7 (2009) 598–656.

[98] M. T. Ramírez-Silva, M. Palomar-Pardavé, S. Corona-Avendaño, M. Romero-Romo, G. Alarcón-Angeles, Guest-Host Complex Formed between Ascorbic Acid and β -Cyclodextrin Immobilized on the Surface of an Electrode, *Molecules* 19 (2014) 5952-5964.

[99] M. T. Ramírez, M. E. Palomar, I. González, A. Rojas-Hernández, Carbon Paste Electrodes with Electrolytic Binder: Influence of the Preparation Method, *Electroanalysis* 7 (1995) 184-188.

[100] K. A. Connors, The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution, *Chem Rev* 97 (1997) 1325-1357.

[101] J. Szejtli, Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry, *Chem Rev* 98 (1998) 1743-1753.

[102] F. Sallas, R. Darcy, Amphiphilic Cyclodextrins – Advances in Synthesis and Supramolecular Chemistry, *Eur J Org Chem* 2008 (2008) 957-969.

[103] J. Zheng-Yu, CYCLODEXTRIN CHEMISTRY Preparation and Application, Ed. World Scientific Publishing, Singapore, (2013).

- [104] E. Gaidamauskas, E. Norkus, E. Butkus, D. C. Crans, G. Grinciene, *Carbohydrate Research* 344 (2009) 250.
- [105] A. W. Coleman, I. Nicolis, N. Keller, J. P. Dalbiez, *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* 13 (1992) 139.
- [106] R. Martínez, M. T. Ramírez, I. González, *Voltammetric Characterization of Carbon Paste Electrodes with a Nonconducting Binder. Part I: Evidence of the Influence of Electroactive Species Dissolution into the Paste on the Voltammetric Response*, *Electroanal* 10 (1998) 336-342.
- [107] R. Challa, A. Ahuja, J. Ali, R.K. Khar, *Cyclodextrins in Drug Delivery: An Updated Review*, *AAPS PharmSciTech* 6 (2005) E329-E357.
- [108] W. Buranaboripan, W. Lang, E. Motomura, N. Sakairi, *Preparation and characterization of polymeric host molecules, β -cyclodextrin linked chitosan derivatives having different linkers*, *International Journal of Biological Macromolecules* 69 (2014) 27–34.
- [109] M. Kfoury, L. Auezova, H. Greige-Gerges, S. Ruellan, S. Fourmentin, *Cyclodextrin, an efficient tool for trans-anethole encapsulation: Chromatographic, spectroscopic, thermal and structural studies*, *Food Chemistry* 164 (2014) 454–461.
- [110] L. Lei, S. Ke-Sheng, L. Xiao-Song, G. Qing-Xiang, *Charge-transfer Interaction: A Driving Force for Cyclodextrin Inclusion Complexation*, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 40 (2001) 35–39.
- [111] J. Szejtli, *Past, present, and future of cyclodextrin research*, *Pure Appl. Chem.* 76 (2004) 1825–1845.
- [112] D. J. Leggett, *Computational Methods for Determination of Formation Constant*, p.160, Ed. Plenum Press New York and London (1985).
- [113] Z.-N. Gao, X.-LWen, H.-L. Li; *Study of the Inclusion Complexes of Catecholamines with β -Cyclodextrin by Cyclic Voltammetry* *Polish J.Chem.* 76 (2002), 1001-1007.
- [114] T. Pralhad, K. Rajendrakumar, *Study of freeze-dried quercetin–cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 34 (2004) 333–339.

- [115] C. Lucas-Abellán, I. Fortea, J. A. Gabaldón, E. Núñez-Delicado, Encapsulation of Quercetin and Myricetin in Cyclodextrins at Acidic pH, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 255–259.
- [116] Y. Zheng, I. S. Haworth, Z. Zuo, M. S. S. Chow, A. H. L. Chow, Physicochemical and Structural Characterization of Quercetin- β -Cyclodextrin Complexes, *Journal Of Pharmaceutical Sciences* 94 (2005) 1079-1089.
- [117] Z. Aytac, S. Ipek Kusku, E. Durgun, T. Uyar, Quercetin/ β -cyclodextrin inclusion complex embedded nanofibres: Slow release and high solubility, *Food Chemistry* 197 (2016) 864–871.
- [118] S. Tommasini, D. Raneri, R. Ficarra, M. L. Calabrò, R. Stancanelli, P. Ficarra, Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with β -cyclodextrin, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 35 (2004) 379–387.
- [119] E. M. Martin Del Valle, Cyclodextrins and their uses: a review, *Process Biochemistry* 39 (2004) 1033
- [120] G. Roa Morales, M. T. Ramírez-Silva, L. Galicia, Carbon paste electrodes electrochemically modified with cyclodextrins, *J Solid State Electrochem.* 7 (2003) 355.
- [121] S. Corona-Avendaño, M.T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, A. Rojas-Hernández, M. Palomar-Pardavé, *Electrochimica Acta* 89 (2013) 854-860.
- [122] G. Roa-Morales, L. Galicia, A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez-Silva, Electrochemical study on the selective formation of [Pb(cyclodextrin) $_2$] $^{2+}$ surface inclusion complexes at the carbon paste electrode/ ClO_4^- 1 M interphase, *Electrochim. Acta* 50 (2005) 1925–1930.
- [123] M. T. Ramírez-Silva, M. Palomar-Pardavé, S. Corona-Avendaño, M. Romero-Romo, G. Alarcón-Angeles, Guest-Host Complex Formed between Ascorbic Acid and β -Cyclodextrin Immobilized on the Surface of an Electrode, *Molecules* 19 (2014) 5952-5964.
- [124] A. Cuadros-Moreno, R. Casañas Pimente, E. San Martín-Martínez, J. Yañes Fernandez, Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas, *Lat. Am. J. Phys. Educ.* 8 (2014) (4314-1) - (4314-5).

- [125] C. W. Yong, C. Washington, W. Smith, Structural Behaviour of 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin in Water: Molecular Dynamics Simulation Studies, *Pharmaceutical Research*, 25 (2008) 1092-1099.
- [126] N. Elgindy, K. Elkhodairy, A. Molokhia, A. Elzoghby, Lyophilization monophase solution technique for improvement of the physicochemical properties of an anticancer drug, flutamide, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 74 (2010) 397-405.
- [127] P. Jadhav, Y. Pore, Physicochemical, thermodynamic and analytical studies on binary and ternary inclusion complexes of bosentan with hydroxypropyl- β -cyclodextrin, *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* 55 (2016) 147-154.
- [128] R. Spivey, R. L. Swofford, Inclusion Complexes of N-Benzoyl-D-leucine and N-Benzoyl-L-leucine with β -Cyclodextrin by Raman Spectroscopy, *Applied Spectroscopy* 53 (1999) 435-438.
- [129] T. Iliescu, M. Baia, V. Miclăuș, A Raman spectroscopic study of the diclofenac sodium- β -cyclodextrin interaction, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (2004) 487-495.
- [130] W. Li, B. Lu, A. Sheng, F. Yang, Z. Wang, Spectroscopic and theoretical study on inclusion complexation of beta-cyclodextrin with permethrin, *Journal of Molecular Structure* 981 (2010) 194-203.
- [131] S. K. S. Al-Burtomani, F. O. Suliman, Inclusion complexes of norepinephrine with β -cyclodextrin, 18-crown-6 and cucurbit[7]uril: experimental and molecular dynamics study, *The Royal Society of Chemistry* 7 (2017) 9888-9901.
- [132] X. Meng, D. Yang, G. Keyvan, B. Michniak-Kohn, S Mitra, Synthesis and immobilization of micro-scale drug particles in presence of β -cyclodextrins, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 92 (2012) 213- 222.
- [133] J. G. Vos, R. J. Forster, T. E. Keyes, *Interfacial Supramolecular Assemblies*, John Wiley & Sons Ltd, England, 2003.
- [134] E. Junquera, G. Tardajos, E. E. Aicart, Effect of the Presence of β -Cyclodextrin on the Micellization Process of Sodium Dodecyl Sulfate or Sodium Perfluorooctanoate in Water, *Langmuir* 9 (1993) 1213-1219.

- [135] H. Mwakibete, R. Cristantino, D. M. Bloor, E. Wyn-Jones, J. F. Holzwarth, Reliability of the Experimental Methods To Determine Equilibrium Constants for Surfactant/cyclodextrin Inclusion Complexes, *Langmuir* 11 (1996) 57-60.
- [136] L. Jiang, M. Deng, Y. Wang, D. Liang, Y. Yan, J. Huang, Special Effect of β -Cyclodextrin on the Aggregation Behavior of Mixed Cationic/Anionic Surfactant Systems, *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 7498–7504.
- [137] M. Benkő, Z. Király, Thermodynamics of inclusion complex formation of β -cyclodextrin with a variety of surfactants differing in the nature of head group, *J. Chem. Thermodynamics* 54 (2012) 211–216.
- [138] A. Bagheri, A. A. Rafati, Thermodynamic investigation of inclusion complex formation between cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) and β -cyclodextrin at various temperatures, *Journal of Molecular Liquids* 195 (2014) 145–149.
- [139] M. Benkő, L. A. Király, S. Puskás, Z. Király, Complexation of β -Cyclodextrin with a Gemini Surfactant Studied by Isothermal Titration Microcalorimetry and Surface Tensiometry, *Langmuir* 30 (2014) 6756–6762.
- [140] N. Funasaki, S. Ishikawa, S. Hirota, Chemical shifts as a novel measure of interactions between two binding sites of symmetric dialkyldimethylammonium bromides to α -cyclodextrin, *Analytica Chimica Acta* 555 (2006) 278–285.
- [141] A. Guerrero-Martínez, G. González-Gaitano, M. H. Viñas, G. Tardajos, Inclusion Complexes between β -Cyclodextrin and a Gemini Surfactant in Aqueous Solution: An NMR Study, *J. Phys. Chem. B* 110 (2006) 13819-13828.
- [142] V. K. Smith, T. T. Ndou, A. Muñoz De La Peña, I. M. Warner, Spectral Characterization of β -Cyclodextrin' Triton X-100 Complexes, *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* 10 (1991) 471-484.
- [143] X. Du, W. Lu, N. Ding, H. Dai, X. Teng, H. Deng, Spectral properties and supramolecular inclusion complexes of β -cyclodextrin with flexible amphiphilic and rigid compounds, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 177 (2006) 76–82.
- [144] X. Du, X. Chen, W. Lu, J. Hou, Spectroscopic study on binding behaviors of different structural nonionic surfactants to cyclodextrins, *Journal of Colloid and Interface Science* 274 (2004) 645–651.

- [145] E. L. Roberts, P. T. Chou, T. A. Alexander, R. A. Agbaria, I. M. Warner, Effects of Organized Media on the Excited-State Intramolecular Proton Transfer of 10-Hydroxybenzo[h]quinolone, *J. Phys. Chem.* 99 (1995) 5431-5437.
- [146] Y. S. El-Sayed, Optical properties and inclusion of an organic fluorophore in organized media of micellar solutions and beta-cyclodextrin, *Optics & Laser Technology* 45 (2013) 89–95.
- [147] T. S. Singh, S. Mitra, Studies on the inclusion complexation between intramolecular charge transfer probe trans-ethyl p-(dimethylamino) cinamate and β -cyclodextrin in presence of ionic and nonionic surfactants, *Journal of Luminescence* 143 (2013) 120–127.
- [148] J. W. Park, H. J. Song, Association of Anionic Surfactants with β -Cyclodextrin. Fluorescence-Probed Studies on the 1:1 and 1:2 Complexation, *J Phys. Chem.* 93 (1989) 6454-6458.
- [149] H. E. Edwards, J. K. Thomas, A fluorescence-probe study of the interaction of Cycloheptaamylose with arenes and Amphiphilic molecules, *Carbohydrate Research* 65 (1978) 173-182.
- [150] S. Hashimoto, J. K. Thomas, Fluorescence Study of Pyrene and Naphthalene in Cyclodextrin-Amphiphile Complex Systems, *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 4655-4662.
- [151] Y. Kusumoto, M. Shizuka, I. Sakate, Absorption and fluorescence studies of the interaction of pyrene With β -cyclodextrin in aqueous surfactant solutions, *Chemical Physics Letters*, 125 (1986) 64-68.
- [152] B. Tang, X. Wang, G. Wang, Ch. Yu, Z. Chen, Highly sensitive and selective spectrofluorimetric determination of tolnaftate through the formation of ternary inclusion complex of β -naphthol/ β -cyclodextrin/anionic surfactant system, *Talanta* 69 (2006) 113–120.
- [153] X. Shen, M. Belletête, G. Durocher, Studies of the Inclusion Complexation between a 3H-Indole and β -Cyclodextrin in the Presence of Urea, Sodium Dodecyl Sulfate, and 1-Propanol, *Langmuir* 13 (1997) 5830-5836.
- [154] J. W. Park, K. H. Park, Inclusion of (Aminostyryl)-1-Methylpyridinium Dyes by/ β -Cyclodextrin and Its Use for Fluorescent-Probe Studies on Association of Cationic and Neutral Molecules with/ β -Cyclodextrin, *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* 17 (1994) 277-290.

- [155] K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg, B. Lindman, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, Great Britain, 2003.
- [156] M. J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 3rd ed., John Wiley & Sons Ltd, New Jersey, 2004.
- [157] J. H. Fendler, E. J. Fendler, *Catalysis in Micellar and Macromolecular System*, Academic Press, London, 1975.
- [158] P. Mukerjee, K. J. Mysels, *Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactants System*, National Standard Reference Data System (NSRDS), By Secretary of Commerce on Behalf of the United States Government, Washington D.C., 1970.
- [159] R. Álvarez-Diduk, M. T. Ramírez-Silva, A. Galano, A. Merkoç, Deprotonation Mechanism and Acidity Constants in Aqueous Solution of Flavonols: a Combined Experimental and Theoretical Study, *The Journal of Physical Chemistry B* 117 (2013) 12347-12359.
- [160] S. Chakraborty, D. Shukla, A. Jain, B. Mishra, S. Singh, Assessment of solubilization characteristics of different surfactants for carvedilol phosphate as a function of pH, *Journal of Colloid and Interface Science* 335 (2009) 242-249.
- [161] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Fundamentos de Química Analítica*, Novena Edición, Cengage Learning, Santa Fe México, 2015, pag. 763.
- [162] G. Duplâtre, M. F. Ferreira Marques, M. da Graça Miguel, Size of Sodium Dodecyl Sulfate Micelles in Aqueous Solutions as Studied by Positron Annihilation Lifetime Spectroscopy, *J. Phys. Chem.* 100 (1996) 16608-16612.
- [163] M. Molero, R. Andreu, D. González, J. J. Calvente, G. López-Pérez, An Isotropic Model for Micellar Systems: Application to Sodium Dodecyl Sulfate Solutions, *Langmuir* 17 (2001) 314-322.
- [164] A. E. Sánchez-Rivera, V. Vital-Vaquier, M. Romero-Romo, M. T. Ramírez-Silva, M. Palomar-Pardave, Electrochemical Deposition of Cetyltrimethylammonium Surface Hemimicelles at the Hg/0.1 M NaCl(aq) Interface, *Journal of The Electrochemical Society*, 151 (2004) C666-C673.
- [165] X. Shen, M. Belletête, G. Durocher. Studies of the Inclusion Complexation between a 3H-Indole and β -Cyclodextrin in the Presence of Urea, Sodium Dodecyl Sulfate, and 1-Propanol, *Langmuir* 13 (1997) 5830-5836.

- [166] J.W. Park, K.H. Park. Inclusion of (Aminostyryl)-1-Methylpyridinium Dyes by β -Cyclodextrin and Its Use for Fluorescent-Probe Studies on Association of Cationic and Neutral Molecules with β -Cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* 17 (1994) 277-290.
- [167] T.S. Singh, S. Mitra. Studies on the inclusion complexation between intramolecular charge transfer probe trans-ethyl p-(dimethylamino) cinamate and β -cyclodextrin in presence of ionic and nonionic surfactants. *Journal of Luminescence* 143 (2013) 120–127.
- [168] J.W. Park, H.J. Song. Association of Anionic Surfactants with β -Cyclodextrin. Fluorescence-Probed Studies on the 1:1 and 1:2 Complexation. *J. Phys. Chem.* 93 (1989) 93 6454-6458.
- [169] H.E. Edwards. A fluorescence-probe study of the interaction of cycloheptaamylose with arenes and amphiphilic molecules. *Carbohydrate Research* 65 (1978) 173-182.
- [170] S. Hashimoto, J.K. Thomas. Fluorescence Study of Pyrene and Naphthalene in Cyclodextrin-Amphiphile Complex Systems. *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 4655-4662.
- [171] Y. Kusomoto, M. Shizuka, I. Stake. Absorption and fluorescence studies of the interaction of with β -cyclodextrin in aqueous surfactant solutions. *Chemical Physics Letters* 125 (1986) 64-68.
- [172] B. Tang, X. Wang, G. Wang, Ch. Yu, Z. Chen. Highly sensitive and selective spectrofluorimetric determination of tolnaftate through the formation of ternary inclusion complex of β -naphthol/ β -cyclodextrin/anionic surfactant system. *Talanta* 69 (2006) 113–120.
- [173] J. Zheng-Yu, *Cyclodextrin Chemistry Preparation and Application*, World Scientific, Singapore, 2013.
- [174] H. Dodziuk, *Cyclodextrins and Their Complexes Chemistry, Analytical Methods, Applications*, Wiley-Vch, Weinheim, 2006.
- [175] E.M. Martin del Valle. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry* 39 (2004) 1033–1046.

- [176] L. Jiang, M. Deng, Y. Wang, D. Liang, Y. Yan, J. Huang. Special Effect of β -Cyclodextrin on the Aggregation Behavior of Mixed Cationic/Anionic Surfactant Systems. *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 7498–7504.
- [177] X. Du, X. Chen, W. Lu, J. Hou. Spectroscopic study on binding behaviors of different structural nonionic surfactants to cyclodextrins. *Journal of Colloid and Interface Science* 274 (2004) 645–651.
- [178] Y. Wang, N. Ma, Z. Wang, X. Zhang. Photocontrolled Reversible Supramolecular Assemblies of an Azobenzene-Containing Surfactant with α -Cyclodextrin. *Angew. Chem. Int. Ed.* 46 (2007) 2823–2826.
- [179] W. Saenger, A. Müller-Fahrnow. Cyclodextrins Increase Surface Tension and Critical Micelle Concentrations of Detergent Solutions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 393-394.
- [180] C.H. Chang, N.-H.L Wang, E.I. Franses. Adsorption dynamics of single and binary surfactants at the air/water interface. *Colloids and Surfaces* 62 (1992) 321-332.
- [181] E.H. Lucassen-Reynders. Surface Equation of State for Ionized Surfactants. *The Journal of Physical Chemistry* 70 (1966) 1777-1785.
- [182] Á. Piñeiro, X. Banquy, S. Pérez-Casas, E. Tovar, A. García, A. Villa, A. Amigo, A.E. Mark, M. Costas. On the Characterization of Host-Guest Complexes: Surface Tension, Calorimetry, and Molecular Dynamics of Cyclodextrins with a Non-ionic Surfactant. *J. Phys. Chem. B* 111 (2007) 4383-4392.
- [183] L. Jiang, M. Deng, Y. Wang, D. Liang, Y. Yan, J. Huang. Special Effect of β -Cyclodextrin on the Aggregation Behavior of Mixed Cationic/Anionic Surfactant Systems. *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 7498–7504.
- [184] E. Junquera, G. Tardajos, E. Aicart. Effect of the Presence of β -Cyclodextrin on the Micellization Process of Sodium Dodecyl Sulfate or Sodium Perfluorooctanoate in Water. *Langmuir* 9 (1993) 1213-1219.
- [185] H. Mwakibete, R. Cristantino, D.M. Bloor, E. Wyn-Jones, J.F. Holzwarth. Reliability of the Experimental Methods to Determine Equilibrium Constants for Surfactant/cyclodextrin Inclusion Complexes. *Langmuir* 11 (1996) 57-60.
- [186] U. Retter. One-Dimensional Nucleation-Growth-Collision in the Formation of Surface Hemimicelles of Amphiphiles. *Langmuir* 16 (2000) 7752-7756.

- [187] A. Bagheri, A.A. Rafati. Thermodynamic investigation of inclusion complex formation between cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) and β -cyclodextrin at various temperatures. *Journal of Molecular Liquids* 195 (2014) 145–149.
- [188] M. Benkő, Z. Király, S. Puskás, Z. Király. Complexation of β -Cyclodextrin with a Gemini Surfactant Studied by Isothermal Titration Microcalorimetry and Surface Tensiometry. *Langmuir* 30 (2014) 6756–6762.
- [189] M. Benkő, Z. Király. Thermodynamics of inclusion complex formation of β -cyclodextrin with a variety of surfactants differing in the nature of headgroup. *J. Chem. Thermodynamics* 54 (2012) 211–216.
- [190] I. Satake, T. Ikenoue, T. Takeshita. Conductometric and Potentiometric Studies of the Association of α -cyclodextrin with Ionic Surfactants and Their Homologs. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 58 (1985) 2746-2750.
- [191] I. Satake, S. Yoshida, K. Hayakawa, T. Maeda, Y. Kusumoto. Conductometric Determination of the Association Constants of β -Cyclodextrin with Amphiphilic Ions. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 59 (1986) 3991-3993.
- [192] R. Palepu, V. Reinsborough. Surfactant-cyclodextrin interactions by conductance measurements. *Can. J. Chem.* 66 (1988) 325-328.
- [193] L. Georges, S. Desmettre. An Electrochemical Study of Mixed Solutions of β -Cyclodextrin and Sodium Dodecyl Sulfate. *Journal of Colloid and Interface Science* 118 (1987) 192-200.
- [194] T. Okubo, H. Kitano, N. Ise. Conductometric Studies on Association of Cyclodextrin with Colloidal Electrolytes, *The Journal of Physical Chemistry* 80 (1976) 2661-2664.
- [195] V.K. Smith, T.T. Ndou, A. Muñoz de la Peña, I.M. Warner. Spectral Characterization of β -Cyclodextrin: Triton X-100 Complexes. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* 10 (1991) 471-484.
- [196] X. Du, W. Lu, N. Ding, H. Dai, X. Teng, H. Deng, Spectral properties and supramolecular inclusion complexes of β -cyclodextrin with flexible amphiphilic and rigid compounds, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 177 (2006) 76–82.

- [197] K. Fujita, T. Ueda, T. Imoto, I. Tabushi, N. Toh, T. Koga. Selective Recognition of Alkanoates by a β -Cyclodextrin Flexibly Capped with a Chromophore. *Bioorganic Chemistry* 11 (1982) 108-114.
- [198] N. Funasaki, S. Ishikawa, S. Hirota. Chemical shifts as a novel measure of interactions between two binding sites of symmetric dialkyldimethylammonium bromides to α -cyclodextrin. *Analytica Chimica Acta* 555 (2006) 278–285.
- [199] A. Guerrero-Martínez, G. González-Gaitano, M.H. Viñas, G. Tardajos. Inclusion Complexes between β -Cyclodextrin and a Gemini Surfactant in Aqueous Solution: An NMR Study. *J. Phys. Chem. B* 110 (2006) 13819-13828.
- [200] R. Lu, J. Hao, H. Wang, L. Tong. Surface Tension and ^1H NMR Studies on Inclusion Complexes of β -Cyclodextrin with Sodium Alkyl Sulfonate. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry* 28 (1997) 213–221.
- [201] R. Lu, J. Hao, H. Wang, L. Tong, Determination of Association Constants for Cyclodextrin–Surfactant Inclusion Complexes: A Numerical Method Based on Surface Tension Measurements, *Journal of Colloid and Interface Science* 192 (1997) 37–42.
- [202] U.R. Dharmawardana, S. D. Christian, E.E. Tucker, R.W. Taylor, J.F. Scamehorn. A Surface Tension Method for Determining Binding Constants for Cyclodextrin Inclusion Complexes of Ionic Surfactants. *Langmuir* 9 (1993) 2258-2263.
- [203] W. Liu, R. Guo. Interaction between flavonoid, quercetin and surfactant aggregates with different charges, *Journal of Colloid and Interface Science* 302 (2006) 625–632.
- [204] F. Zsila, Z. Bikádi, M. Simonyi. Probing the binding of the flavonoid, quercetin to human serum albumin by circular dichroism, electronic absorption spectroscopy and molecular modelling methods, *Biochemical Pharmacology* 65 (2003) 447-456.
- [205] S. Kumar, S.K. Jain, R.C. Rastogi. An experimental and theoretical study of excited-state dipole moments of some flavones using an efficient solvatochromic method based on the solvent polarity parameter, E_T^N . *Spectrochimica Acta Part A* 57 (2001) 291–298.
- [206] P.K. Sengupta, M. Kasha. Excited state proton-transfer spectroscopy of 3-hydroxyflavone and quercetin, *chemical physics letters* 68 (1979) 382-285.

- [207] O.S. Wolfbeis, M. Leiner, P. Hochmuth. Absorption and Fluorescence Spectra, PKa Values, and Fluorescence Lifetimes of Monohydroxyflavones and Monomethoxyflavones, *Phys. Chem.* 88 (1984) 759-767.
- [208] W. Liu, R. Guo. Interaction of flavonoid, quercetin with organized molecular assemblies of nonionic surfactant, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 274 (2006) 192–199.
- [209] H.H. Paradies. Shape and Size of a Nonionic Surfactant Micelle. Triton X-100 in Aqueous Solution, *J. Phys. Chem.* 84 (1980) 599-607.
- [210] K. Strelitzky, G.D. J. Phillies. Temperature Dependence of Triton X-100 Micelle Size and Hydration, *Langmuir* 11 (1996) 42-47.

Artículo publicado

Cite this: *RSC Adv.*, 2018, **8**, 10980

Quercetin spectrofluorometric quantification in aqueous media using different surfactants as fluorescence promoters†

J. C. Alva-Ensastegui,^a M. Palomar-Pardavé,^b M. Romero-Romo^b and M. T. Ramírez-Silva^{b*}

Quercetin spectrofluorometric quantification was carried out in aqueous media (pH 7) using micelles of surfactants, namely: CTAB, SDS and TX100 as promoters of quercetin fluorescence, having a critical micelle concentration, CMC, of: 0.94 ± 0.03 , 7.7 ± 0.6 and 0.18 ± 0.3 mM, respectively, measured through UV-Vis spectrophotometry. The thermodynamic binding constant, K , for the quercetin-surfactants' micelles supramolecular complex was estimated to be $(\log(K/M^{-1})) = 2.87 \pm 0.02$, 2.78 ± 0.04 and 2.80 ± 0.04 , respectively, from fluorescence spectrophotometry. With the aid of these parameters it was possible to construct species distribution diagrams and choose the experimental conditions where quercetin can be quantified in aqueous media from fluorescence measurements. The best lowest limit of detection (0.244 ± 0.092) μM was achieved with CTAB micelles while the best sensitivity (2.919 ± 0.054) M^{-1} corresponded to SDS.

Received 7th February 2018

Accepted 14th March 2018

DOI: 10.1039/c8ra01213j

rsc.li/rsc-advances

1 Introduction

Quercetin, 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone, see Fig. S1,† is commonly found in fruits and vegetables, although in particular, in apples and onions it occurs at highest levels.^{1,2} Due mainly to its anti-oxidant capacity,³ quercetin exhibits also other very important properties, namely: anti-inflammatory,⁴ anti-atherogenic and anti-carcinogenic.⁵ Furthermore, as caffeine, quercetin is also neuroactive and has GRAS (Generally Recognized As Safe) status. No side-effects have yet been noted in doses of a few grams a day in either humans or animals. In order to quantify quercetin several methods have been reported, namely: spectrophotometry in ethanolic media,^{1,6} using the coloured complex formed on reaction of quercetin with aluminium chloride in aqueous media,⁷ high performance liquid chromatography,^{1,6} electrochemical,^{2,8,9} photo-electrochemical.¹⁰ Flavonols, like the quercetin, containing an -OH group at position 5 (C-5), comprise a special class of non-fluorescent molecules in aqueous solution; since the intermolecular hydrogen bond between the polar groups of solute and H₂O exceeds various intramolecular hydrogen bonds, it displays

a large dihedral angle that makes it very difficult for ESICT (excited state intramolecular charge transfer) to occur.

Thus, the formation of a distorted excited state will become very active in water and no quercetin fluorescence emission is observed.¹¹ It has been shown that under particular conditions, namely: when quercetin binds to intracellular proteins¹² and in methanol media,¹³ the quercetin exhibits strong fluorescence, which was the property herein used for its simple, affordable, quantification. Notwithstanding, the spectrofluorometric quantification of quercetin in aqueous media has not been reported yet. In this work, it is shown that different surfactants namely: cetyl trimethylammonium bromide, CTAB,¹⁴ sodium dodecyl sulphate, SDS,¹⁵ and Triton X-100 (TX-100)¹⁶ can be used as promoters for quercetin fluorescence in aqueous media, allowing its spectrophotometric quantification, in this regard, Dwivedi *et al.*,¹⁷ have shown that the fluorescence properties of an amphiphilic perylene diimide, a bimolecular analogue of *l*-DOPA, can be modulated by means of host-guest interactions with CTAB. It is important to mention that the methods reported so far for quercetin quantification require expensive instrumentation *i.e.* HPTLC^{18,19} or sensing materials namely: multiwall carbon nanotubes² or carbon nanoparticles.²⁰

But most important, all of them need sufficiently long periods of time for quercetin determination, however as has been shown,³ the stability of quercetin and other flavonoids namely: morin, kaempferol, and myricetin are pH and time dependent thus, if these flavonoids are not stabilized during the measuring times their concentration may change. As will be shown in this work the use of surfactants overcomes this

^aUniversidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa, Departamento de Química, Área de Química Analítica, Av. San Rafael Atlixco #186, Col. Vicentina, C.P. 09340, Ciudad de México, México. E-mail: mtrs218@uanam.uam.mx

^bUniversidad Autónoma Metropolitana – Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Área Ingeniería Materiales, Av. San Pablo #180, Col. Reynosa-Tamaulipas, C.P. 02200, Ciudad de México, México

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/c8ra01213j

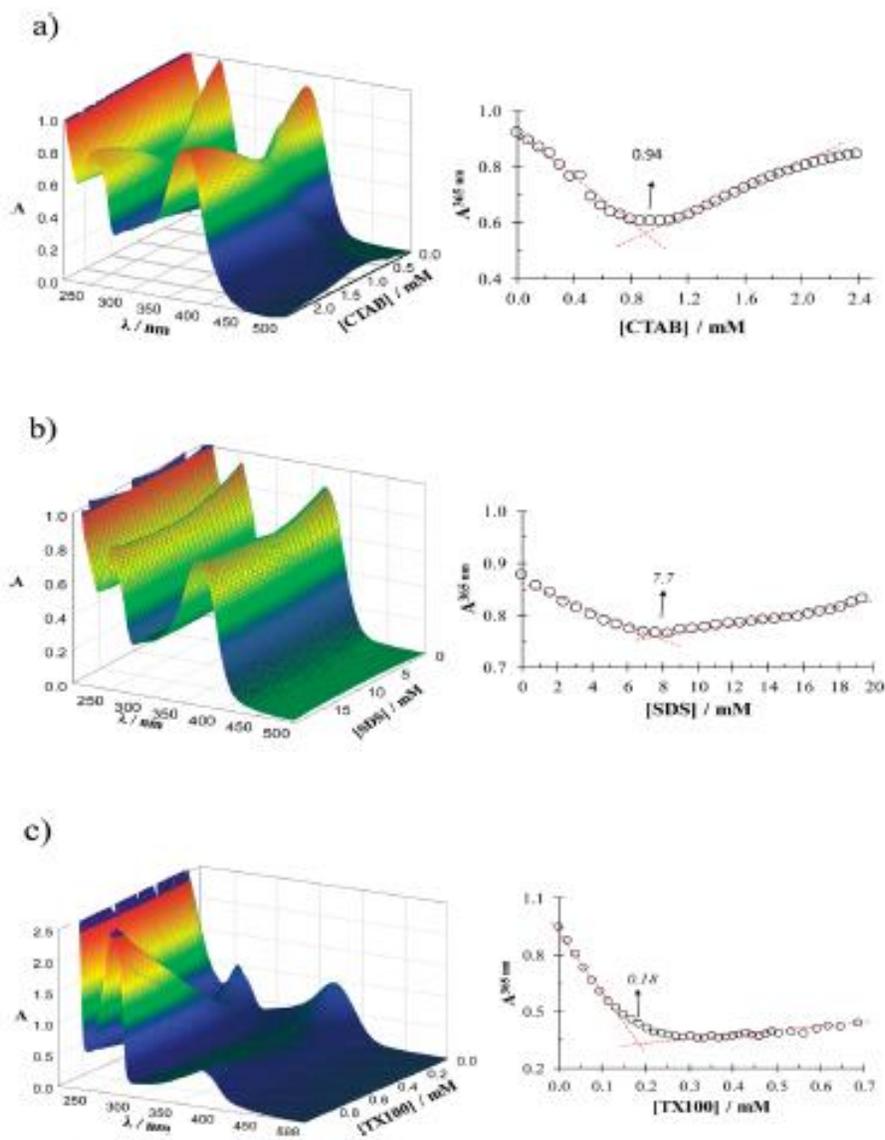


Fig. 1 UV-Vis spectra recorded in the system quercetin–H₂O–surfactant recorded as a function of the concentration of the different surfactants considered: (a) CTAB, (b) SDS and (c) TX-100. In all cases the temperature was $(28.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$, the pH 7 ± 0.2 and the quercetin concentration was 5×10^{-5} M. The absorbance recorded at 365 nm as a function of the surfactant variation is also shown in each case.

difficulty since they confer enough stability to quercetin during its spectrofluorometric quantification time.

2 Experimental

2.1 Reagents and instruments

All the substances used were reactive grade. Quercetin, CTAB, SDS and Triton X-100 from Sigma-Aldrich, methanol to dissolve the quercetin was J.T. Baker brand, 18 M Ω cm resistivity deionized water from a Millipore Milli-Q equipment was used as solvent for all experiments. To dissolve the reagents, an Ultrasonic (8891 Cole-Parmer, set sonic min). All the experiments were conducted at $28.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ aided by a Grant W14 recirculator.

The solutions were protected from light incidence as much as possible. Concentrated solutions of SDS, CTAB and Triton X-100

Table 1 Comparison of the CMC values calculated in this work, from UV-Vis spectrophotometric measurements, with those reported in the literature for the surfactants considered in this work

CMC/mM			
CTAB	SDS	TX-100	
0.94 ± 0.03	7.7 ± 0.6	0.18 ± 0.3	This work
0.92	8.1	"	21
0.92	8.3	"	22
0.98	8.2	"	23

" CMC reported by the supplier is 0.2–0.9 mM. The uncertainty reported was estimated from at least 5 repetitions.

were prepared in water and a quercetin concentrated one in methanol. Aliquots were taken from each of these solutions to be added to the different systems to obtain the desired

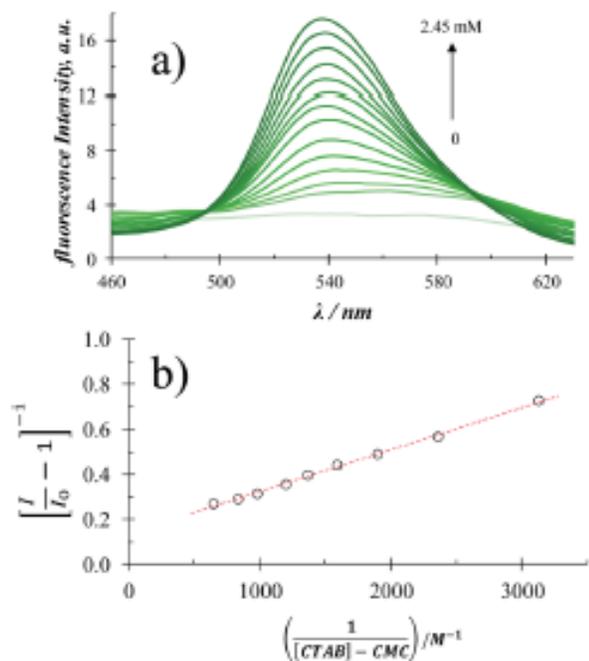


Fig. 2 (a) Fluorescence emission spectra recorded in a 6×10^{-5} M quercetin aqueous solution containing different CTAB concentrations, within the 0 to 2.45 M range, using an excitation wavelength of 350 nm at $(28.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ and the $\text{pH } 7 \pm 0.2$. (b) Plot $[I/I_0 - 1]^{-1}$ vs. $1/[\text{CTAB}] - \text{CMC}$ obtained from the fluorescence intensity, I , in (a) and CMC in Table 1.

concentrations. The pH of the solutions was measured with a Mettler Toledo pH-meter, with an error of ± 0.01 per pH unit.

2.2 UV-Vis spectrophotometry

Spectrophotometric measurements were carried out with a UV-Vis Lambda 20 spectrophotometer using quartz cells, one-centimetre optical path length, and two transparent faces and the WinLab software. For estimation of the surfactants critical micelle concentration, CMC, three systems were prepared with a volume of 5 mL of water and 5×10^{-5} M quercetin concentration each. To each of the systems, aliquots of the stock solution of one of the surfactants, were added and the respective absorption spectrum was measured after every addition.

2.3 Fluorescence spectrophotometry

Fluorescence measurements were performed with a Perkin Elmer LS50 Luminescence Spectrometer using quartz cells, one-centimetre optical path length, with the four transparent faces and the WinLab software.

These measurements were used for both: evaluation of the binding constant of the supramolecular complex formed between quercetin and surfactants micelles and for quercetin quantification. Three systems were prepared with a volume of 5 mL of water and a 6×10^{-5} M quercetin concentration. To each of the systems, aliquots of the mother solution of one of the surfactants were added and the respective emission fluorescence spectrum was measured after every addition. For quercetin quantification, calibration plots were obtained by

Table 2 Binding constants between quercetin and micelles of different surfactants^a

Surfactants	Intercept	10^5 slope/M	R^2	$\log(K/M^{-1})$
CTAB	0.1376 ± 0.0061	18.73 ± 0.35	0.9975	2.87 ± 0.02
SDS	0.2823 ± 0.0087	47.08 ± 2.86	0.9819	2.78 ± 0.04
TX-100	0.1262 ± 0.0112	19.79 ± 0.55	0.9947	2.80 ± 0.04

^a The uncertainty reported was estimated from at least 5 repetitions.

adding quercetin (within the 0 to 7.5 mM range) to an aqueous solution having a fixed surfactant concentration (higher than the respective CMC value) and the respective emission fluorescence spectrum was recorded at 350 nm excitation wavelength, for all experiments.

3 Results and discussion

3.1 CMC calculations

Fig. 1 shows a family of UV-Vis spectra recorded in the system quercetin-H₂O-surfactant for a fixed quercetin concentration and different surfactant concentrations. From absorbance variation at 365 nm it is possible to estimate the CMC for each case, see Table 1.¹⁴⁻¹⁶

3.2 Quercetin stability

In the absence of surfactant micelles, see Fig. S2,† quercetin is notably unstable, the absorbance at 365 nm decreases linearly with time, referred to its value at $t = 0$, however when the surfactant concentration is present higher than the respective CMC value quercetin becomes stable in time.

3.3 Thermodynamic binding constant for the quercetin-surfactants micelles supramolecular complex

Fig. 2a shows a family of fluorescence emission spectra of quercetin in aqueous media with different CTAB concentrations.

From this figure it becomes plain that in the absence of CTAB molecules, quercetin depicts no fluorescence. Notwithstanding, as the CTAB concentration in the system is increased, a well-defined

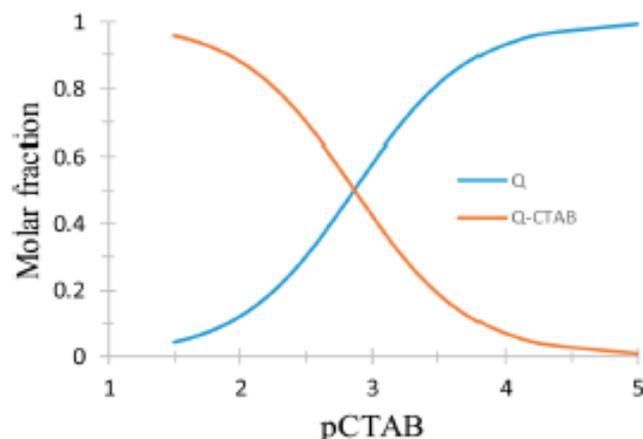


Fig. 3 Distribution diagram of the quercetin, Q, species as a function of $\text{pCTAB} = -\log[\text{CTAB}]$.

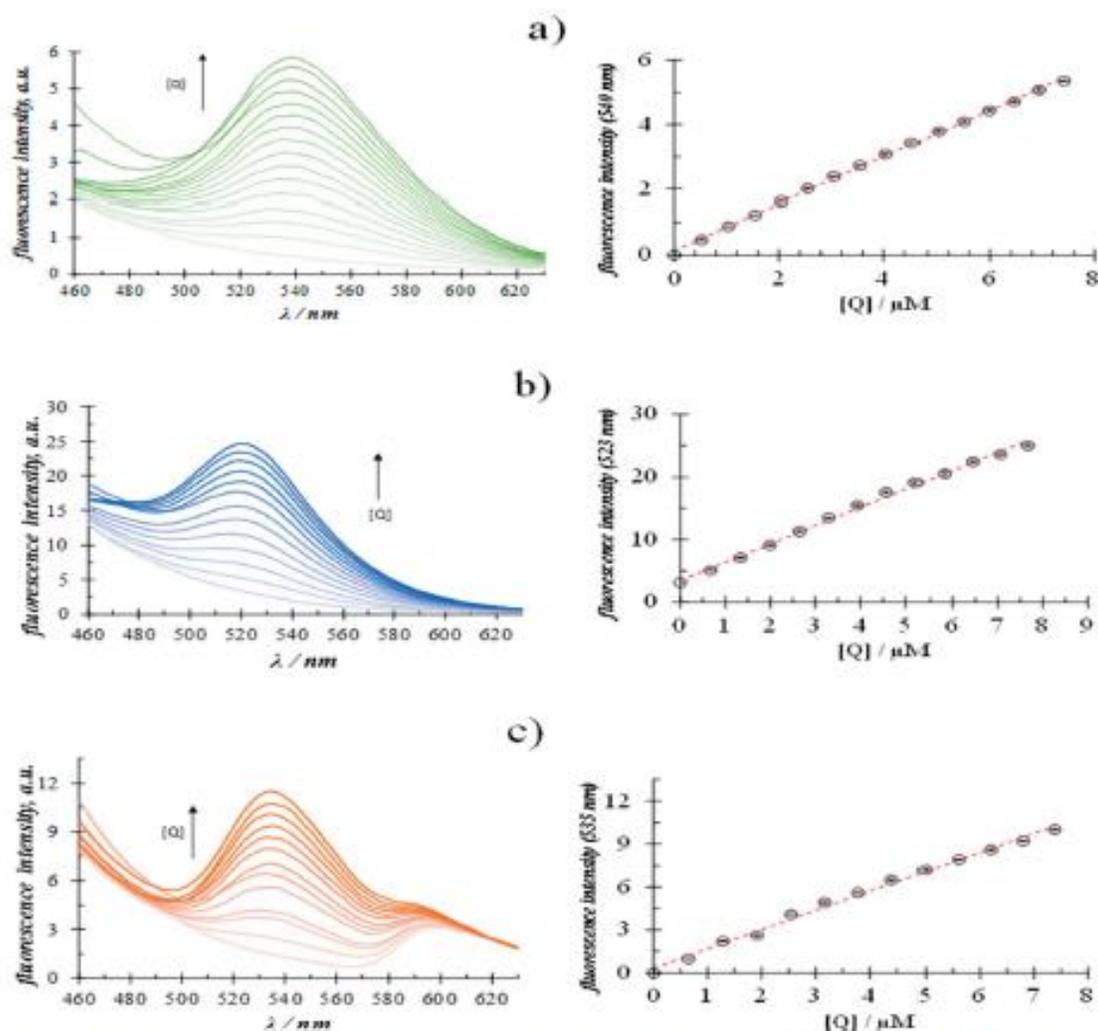
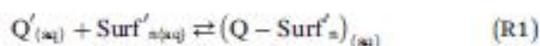


Fig. 4 Fluorescence emission spectra, using an excitation wavelength of 350 nm, recorded in (a) 3.768 ± 0.009 mM CTAB (b) 36.893 ± 0.015 mM SDS and (c) 2.827 ± 0.012 mM TX-100 aqueous solutions added with different quercetin concentrations at $(28.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ and the pH 7 ± 0.2 . The respective calibration plots are also show at the right of each spectra family. In these plots the fluorescence intensity of the corresponding surfactant aqueous solution without quercetin was subtracted. The error bars were estimated from at least 5 repetitions.

fluorescence intensity peak is formed at 540 nm, furthermore, quite a similar behaviour was noted when SDS or TX-100 was added, see Fig. S3 in the ESI† of this work.

The supramolecular complex, $Q - \text{Surf}'_n$, formed between quercetin, Q, molecules and the surfactant, Surf, micelles, see Reacc. (1), restricts quercetin mobility and promotes in this way its fluorescence.



where Q' and Surf' represent generalised species. As can be noted from the distribution diagram shown in Fig. S4,† constructed with the $\text{p}K_a$ values reported by Álvarez-Diduk *et al.*,³ at pH 7 the quercetin predominant species correspond to a mono-anionic, Q^- , form while for the surfactant micelles, cations (CTB^+), anions (DS^-) or neutral molecules (TX100) would form depending on the surfactant nature.

According with Guardia *et al.*,²⁴ from fluorescence emission spectra it is possible to determine the binding constants, K , between micelles and chemical systems using eqn (1).

$$\left[\frac{I}{I_0} - 1 \right]^{-1} = \left[\frac{I_M}{I_0} - 1 \right]^{-1} \left[1 + \frac{1}{\gamma K([\text{surfactant}] - \text{CMC})} \right] \quad (1)$$

where I is the fluorescence intensity of the system at each concentration of the surfactant, I_0 , is the fluorescence of the system in the absence of surfactant, and I_M , is the maximum fluorescence obtained; γ is the quotient of the molar extinction coefficient, at the excitation wavelength, in the presence (ϵ_p) and in the absence (ϵ_0) of the surfactant.

When the extinction coefficient does not vary in the micellar media $\gamma = 1$. The regression between $[I/I_0 - 1]^{-1}$ and $I/[[\text{surfactant}] - \text{CMC}]$, gives a straight line and the value of the binding constant between the system and the micelles can be obtained from the ratio of the intercept and the slope of this line, whenever the micelles do not modify the extinction coefficient at the excitation wavelength. From Fig. 2b it can be noted, in the case when CTAB was the surfactant added, that the model associated to eqn (1) fits quite well the experimental data (similar behaviour has been noted in the case of SDS and TX100), see Fig. S3.†

Table 3 Analytical features depicted for the spectrofluorometric quantification of quercetin in aqueous media using different surfactants at fixed concentrations, obtained from the calibration plots shown in Fig. 4^a

Surfactant	[Surfactant]/mM	LOD/ μ M	LOQ/ μ M	Sensitivity/ μ M ⁻¹
CTAB	3.768 \pm 0.009	0.244 \pm 0.092	0.81 \pm 0.09	0.718 \pm 0.006
SDS	36.893 \pm 0.015	0.48 \pm 0.19	1.60 \pm 0.18	2.919 \pm 0.054
TX-100	2.827 \pm 0.012	0.56 \pm 0.22	1.88 \pm 0.21	1.346 \pm 0.030

^a The uncertainty reported was estimated from at least 5 repetitions.

Table 2 summarizes the values of binding constant for the quercetin and micelles of the different surfactants considered.

It is important to note that recently, from similar spectroscopic measurements, Szymczyk and Taraba,²⁵ found that $\log(K/M^{-1}) = 3.16$ for the interaction between Triton X-114 and Quercetin (2×10^{-5} M at 20 °C) while Liu and Guo²⁶ reported 3.45 for quercetin (5×10^{-5} M at 25 °C) with Triton X-100 and Singh *et al.*²⁷, 3.25 for sodium bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinate and quercetin (3×10^{-5} M at 25 °C).

With the respective K values reported in Table 2 it is possible to construct the species distribution diagram for quercetin and the complex formed in aqueous solution as a function of p Surfactant = $-\log[\text{surfactant}]$.²⁸ Fig. 3 depicts such diagram in the case of CTAB; similar diagrams, for SDS and TX100 can be found in Fig. S5.†

3.4 Quercetin quantification

Once it was shown that the interaction between quercetin and surfactant promotes the fluorescence of the former in aqueous media, due to the supramolecular interaction with micelles of the amphiphilic molecules, the spectrofluorometric quantification of quercetin in aqueous media was carried out.

In order to do this, an aqueous solution of surfactants with a fixed concentration, 4 times higher than the respective CMC,

was used to ensure the presence of micelles in each case and that the complex quercetin-surfactant predominates in the system, see Fig. 3 and S5.† Fig. 4 shows the fluorescence emission spectra recorded in aqueous surfactant solutions, at a fixed concentration, added with different quercetin concentrations.

It is possible to note in all cases the formation of a fluorescence peak, of which the intensity varies linearly with the quercetin concentration. From these calibration plots, it was possible to calculate the analytical features namely: the limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) and the sensitivity in each case, see Table 3.

Table 4 depicts a comparison of the analytical method developed in this work with others reported, particularly regarding quercetin quantification, from which it results plain that the analytical performance of our methodology is plainly comparable or even better than that of others more sophisticated ones.

3.5 Interferences

In order to broaden the usefulness and applicability of the spectrofluorometric quantification of quercetin, experiments were run on other molecules that could cause competition with quercetin in the micelles, namely: morin, rutin, catechin and

Table 4 Comparison of the analytical performance of different methodologies towards quercetin quantification^a

Media	Methodology	10 ^b LOD/M	10 ^b LOQ/M	10 ^c sensitivity/M ⁻¹	Ref.
NH ₂ -NH ₄ Cl buffer solution (0.10 M, pH 9.47)	Fluorescence ^b	9.88	N.R.	9.39	20
Phosphate buffer (0.1 M pH 7.40)	Adsorptive stripping with square wave voltammetry ^f	8.9	N.R.	2.5	2
	Adsorptive stripping with square wave voltammetry ^d	0.75	N.R.	8.7	
	Amperometry ^e	170	N.R.	150	
	Amperometry ^c	140	N.R.	760	
Methanol	Amperometry ^d	20	N.R.	330	18
	HPILC	4700	9500	—	
	HPILC	590	1480	—	
Ethanol	Fluorescence, in the presence of CTAB micelles	24.4	81	0.72	This work
	Fluorescence, in the presence of SDS micelles	47.9	160	2.92	
	Fluorescence, in the presence of TX100 micelles	56.4	188	1.35	

^a N.R. Not reported. ^b Using carbon nanoparticles as fluorescence probe. ^c Using GCE/PEI-CNT. ^d GCE/PA-CNT. ^e GCE, where: GCE (glassy carbon electrodes), CNT (multiwall carbon nanotubes), PEI (polyethylenimine) and PAA (poly(acrylic acid)).

epicatechin, see Fig. S6,† and thus may provoke interference. It was found that regardless of the nature of the surfactant, when adding morin to an aqueous solution with fixed concentrations of quercetin and surfactant, see Fig. S7,† the fluorescence intensity increases linearly with the morin concentration, contrary, when rutin was added, instead of morin, the fluorescence intensity decreases linearly with its concentration, see Fig. S8,† however, when catechin, see Fig. S9,† or epicatechin, see Fig. S10,† were added the fluorescence intensity remains practically constant. From these results, it can be concluded that while morin is a major interferent, rutin slightly interferes and catechin and epicatechin do not. Furthermore, it was also found that quercetin can be quantified spectrofluorometrically in the presence of a higher concentration of ascorbic acid (see Fig. S11†).

4 Conclusions

It has been shown that micelles of surfactants (anionic, cationic or neutral) in neutral aqueous media interact with quercetin forming stable supramolecular complexes that promote both: time stability and quercetin fluorescence, which allow its quantification by means of spectrofluorometry even in the presence of similar molecules like catechin and epicatechin or higher ascorbic acid concentrations.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest to declare.

Acknowledgements

JCAE (286109) acknowledges and thanks CONACyT for the studentship given to pursue research Ph. D studies. MEPP, MARR and MTRS gratefully acknowledge the SNI for the distinction granted and stipend received. MTRS acknowledges CONACyT for project 237327 and the cathedra 2159. The authors also like to thank SEP PRODEP for financial support through the RedNIQAE.

Notes and references

- 1 K. A. Lombard, E. Geoffriau and E. Peffley, Flavonoid quantification in onion by spectrophotometric and high performance liquid chromatography analysis, *HortScience*, 2002, **37**, 682–685.
- 2 F. Gutiérrez, G. Ortega, J. L. Cabrera, M. D. Rubianes and G. A. Rivas, Quantification of quercetin using glassy carbon electrodes, modified with multiwalled carbon nanotubes dispersed in polyethylenimine and polyacrylic acid, *Electroanalysis*, 2010, **22**, 2650–2657.
- 3 R. Álvarez-Diduk, M. T. Ramírez-Silva, A. Galano and A. Merkoçi, Deprotonation mechanism and acidity constants in aqueous solution of flavonols: a combined experimental and theoretical study, *J. Phys. Chem. B*, 2013, **117**, 12347–12359.
- 4 A. E. Rotelli, T. Guardia, A. O. Juárez, N. E. de la Rocha and L. E. Pelzer, Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation, *Pharmacol. Res.*, 2003, **48**, 601–606.
- 5 A. K. Verma, J. A. Johnson, M. N. Gould and M. A. Tanner, Inhibition of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene- and *N*-nitrosomethylurea-induced rat mammary cancer by dietary flavonol quercetin, *Cancer Res.*, 1988, **48**, 5754–5758.
- 6 K. Sun Yoo, E. Jin Lee and B. S. Patil, Quantification of Quercetin Glycosides in 6 Onion Cultivars and Comparisons of Hydrolysis-HPLC and Spectrophotometric Methods in Measuring Total Quercetin Concentrations, *J. Food Sci.*, 2010, **75**, C160–C165.
- 7 L. E. Dowd, Spectrophotometric Determination of Quercetin, *Anal. Chem.*, 1959, **31**, 1184–1187.
- 8 R. Álvarez-Diduk, M. T. Ramírez-Silva, G. Alarcón-Ángeles, A. Galano, A. Rojas-Hernández, M. Romero-Romo and M. Palomar-Pardavé, Electrochemical Characterization of Quercetin in Aqueous Solution Analysis, *ECS Trans.*, 2009, **20**, 115–122.
- 9 B. Lu, J. Xia, Z. Wang, F. Zhang, M. Yang, Y. Li and Y. Xia, Molecularly imprinted electrochemical sensor based on an electrode modified with an imprinted pyrrole film immobilized on a β -cyclodextrin/gold nanoparticles/graphene layer, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 82930–82935.
- 10 L. Tian, B. Wang, R. Chen, Y. Gao, Y. Chen and T. Li, Determination of quercetin using a photo-electrochemical sensor modified with titanium dioxide and a platinum(*n*)-porphyrin complex, *Microchim. Acta*, 2015, **182**, 687–693.
- 11 G. S. Pillai, K. Krishnakumar and B. Krishnan, Fluorescence properties of Quercetin – A Review, *Asian J. Res. Biol. Pharm. Sci.*, 2017, **5**(2), 44–49.
- 12 I. Baran, C. Ganea, I. Ursu, V. Baran, O. Calinescu, A. Iftime, R. Ungureanu and I. T. Tofolean, Fluorescence properties of quercetin in human leukemia jurkat t-cells, *Rom. J. Phys.*, 2011, **56**, 388–398.
- 13 R. Jain and S. Rajput, Determination of quercetin in lotus leaves extract and glycyrrhizin in liquorice roots extract by spectrofluorimetric methods, *Indo Am. J. Pharm. Res.*, 2014, **4**, 5495–5499.
- 14 A. E. Sánchez-Rivera, V. Vital-Vaquier, M. Romero-Romo, M. T. Ramírez-Silva and M. Palomar-Pardavé, Electrochemical Deposition of Cetyltrimethylammonium Surface Hemimicelles at the Hg/0.1 M NaCl(aq) Interface, *J. Electrochem. Soc.*, 2004, **151**, C666–C673.
- 15 S. Corona-Avenidaño, G. Alarcón-Ángeles, M. T. Ramírez-Silva, G. Rosquete-Pina, M. Romero-Romo and M. Palomar-Pardavé, On the electrochemistry of dopamine in aqueous solution. Part I: The role of [SDS] on the voltammetric behavior of dopamine on a carbon paste electrode, *J. Electroanal. Chem.*, 2007, **609**, 17–26.
- 16 S. Kumar Hait and S. Priya Moulik, Determination of critical micelle concentration (CMC) of nonionic surfactants by Donor-Acceptor interaction with iodine and correlation of CMC with hydrophile-lipophile balance and other parameters of the surfactants, *J. Surfactants Deterg.*, 2001, **4**, 303–309.

- 17 A. K. Dwivedi, M. Pandeewar and T. Govindaraju, Assembly Modulation of PDI Derivative as a Supramolecular Fluorescence Switching Probe for Detection of Cationic Surfactant and Metal Ions in Aqueous Media, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2014, **6**, 21369–21379.
- 18 B. Singh, P. Mungara, M. Nivsarkar and S. Anandjiwala, HPTLC Densitometric Quantification of Glycyrrhizin, Glycyrrhetic Acid, Apigenin, Kaempferol and Quercetin from *Glycyrrhiza glabra*, *Chromatographia*, 2009, **70**, 1665–1672.
- 19 S. Shailajan and H. Joshi, Optimized Separation and Quantification of Pharmacologically active markers Quercetin, Kaempferol, β -sitosterol and Lupeol from *Cuscuta reflexa* Roxb, *J. Pharm. Res.*, 2011, **4**, 1851–1853.
- 20 D. Xiao, D. Yuan, H. He and M. Gao, Microwave assisted one-step green synthesis of fluorescent carbon nanoparticles from ionic liquids and their application as novel fluorescence probe for quercetin determination, *J. Lumin.*, 2013, **140**, 120–125.
- 21 J. H. Fendler and E. J. Fendler, *Catalysis in Micellar and Macromolecular System*, Academic Press, London, 1975.
- 22 K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg and B. Lindman, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, John Wiley & Sons Ltd, Great Britain, 2nd edn, 2003.
- 23 M. J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, John Wiley & Sons Ltd, New Jersey, 3rd edn, 2004.
- 24 M. Guardia, E. Ferris-Cardells, J. Sancenón and J. L. Carrión, Fluorimetric determination of binding constants between micelles and chemical systems, *Microchem. J.*, 1991, **44**, 193–200.
- 25 K. Szymczyk and A. Taraba, Spectroscopic Studies of Triton X-114 and Quercetin/Rutin Solutions, *J. Anal. Pharm. Res.*, 2017, **5**(1), 00128, DOI: 10.15406/japlr.2017.05.00128.
- 26 W. Liu and R. Guo, Interaction of flavonoid, quercetin with organized molecular assemblies of nonionic surfactant, *Colloids Surf., A*, 2006, **274**, 192–199.
- 27 O. Singh, R. Kaur and R. Kumar Mahajan, Flavonoid-surfactant interactions: A detailed physicochemical study, *Spectrochim. Acta, Part A*, 2017, **170**, 77–88.
- 28 M. Palomar-Pardavé, G. Alarcón-Angeles, M. T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, A. Rojas-Hernández and S. Corona-Avedaño, Electrochemical and spectrophotometric determination of the formation constants of the ascorbic acid- β -cyclodextrin and dopamine- β -cyclodextrin inclusion complexes, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.*, 2011, **69**, 91–99.

Supporting material

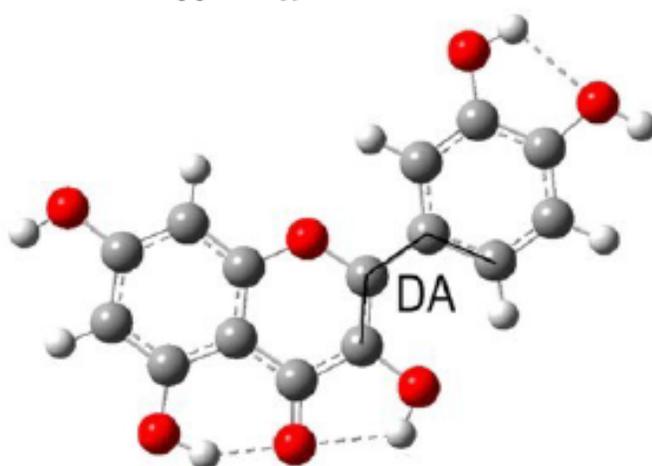


Figure S1. Quercetin fully optimized geometry, with a dihedral angle, DA, 21.63°, according with Álvarez-Diduk *et al.* [3], where the colours code is: gray for carbon, red for oxygen and white for hydrogen atoms.

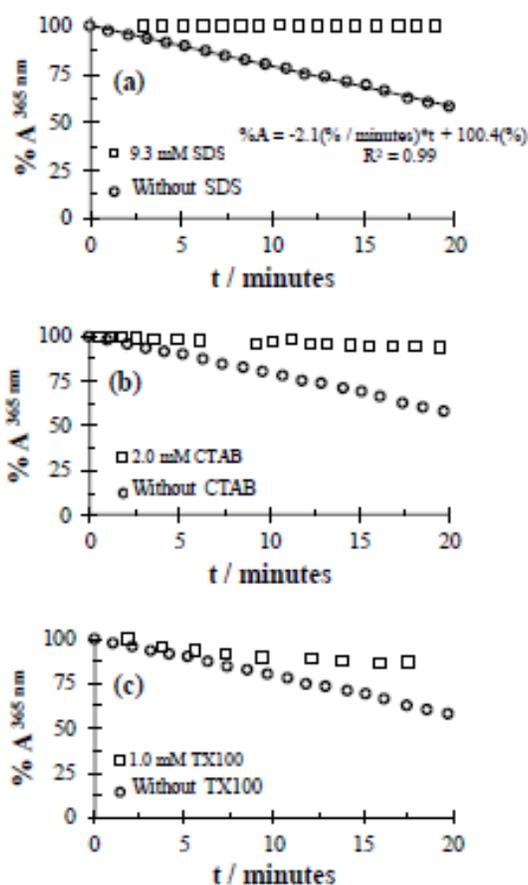


Figure S2. Comparison of time variation of the absorbance percentage at 365 nm, referred to its $t = 0$ value, recorded in a quercetin (5×10^{-5} M) aqueous solution, (28.0 ± 0.1) °C, and pH 7 ± 0.2 , in the absence (circles) and presence (squares) of different surfactants: a) SDS, b) CTAB and c) TX-100, all at a set concentration higher than its respective CMC value. The line was obtained by linear fit of the data in the absence of surfactant molecules.

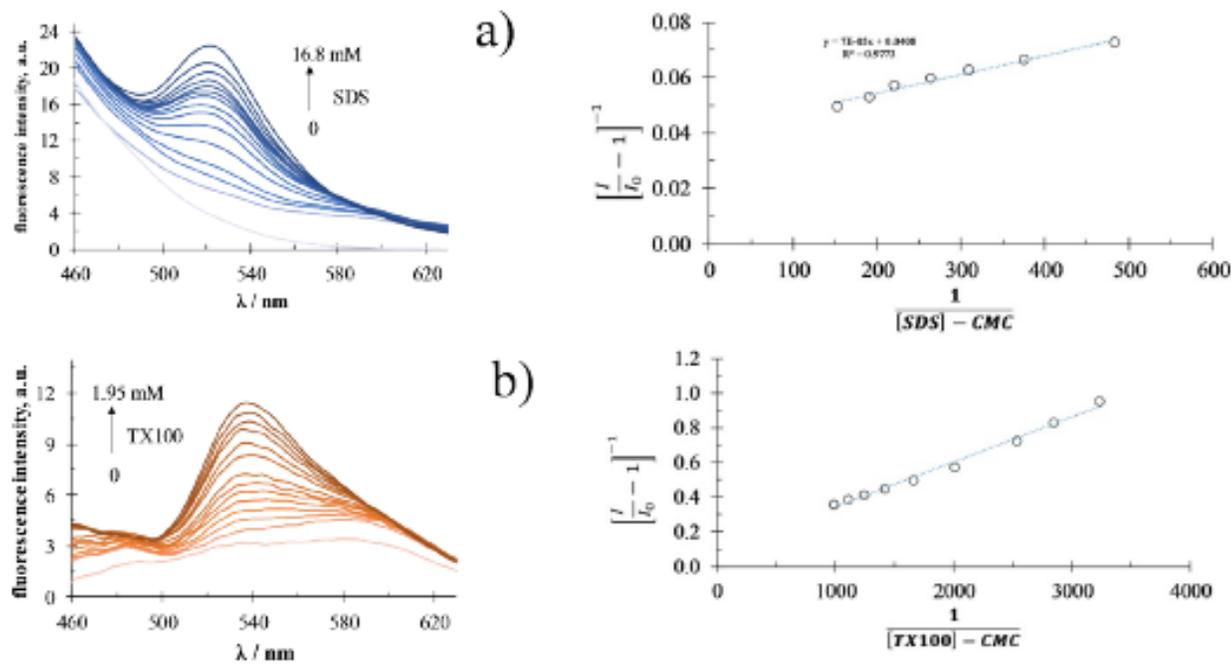


Figure S3. Fluorescence emission spectra recorded in a 6×10^{-5} M quercetin aqueous solution containing different SDS (a) or TX100 (b) concentrations, indicated in the figure using 350 nm excitation wavelength at $(28.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$, $\text{pH } 7 \pm 0.2$. (b) Plot $[I/I_0 - 1]^{-1}$ vs. $1/[\text{Surf.}] - \text{CMC}$ obtained for the fluorescence intensity, I , in a) and CMC in Table 1.

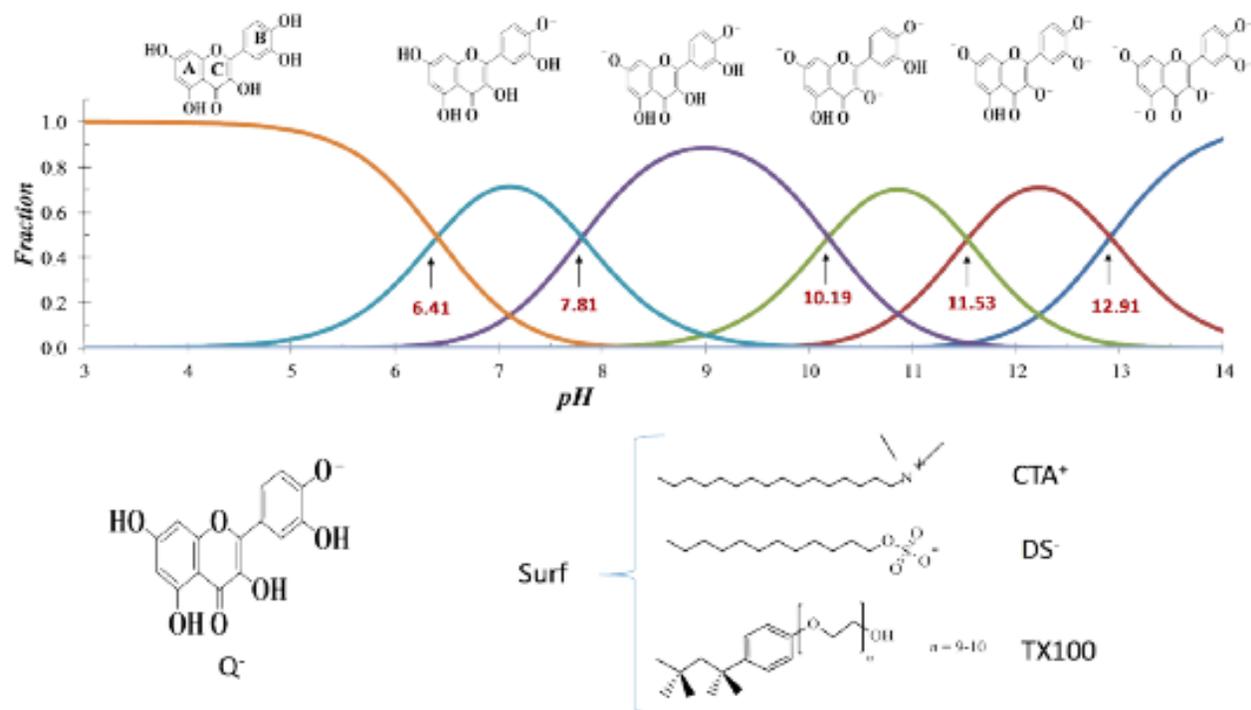


Figure S4. Up: Distribution diagram of the quercetin, Q, species as a function of pH constructed from the pKa values reported by Álvarez-Diduk *et al.* [3] Bottom: Quercetin predominant species at pH 7 and the different surfactants considered in this work.

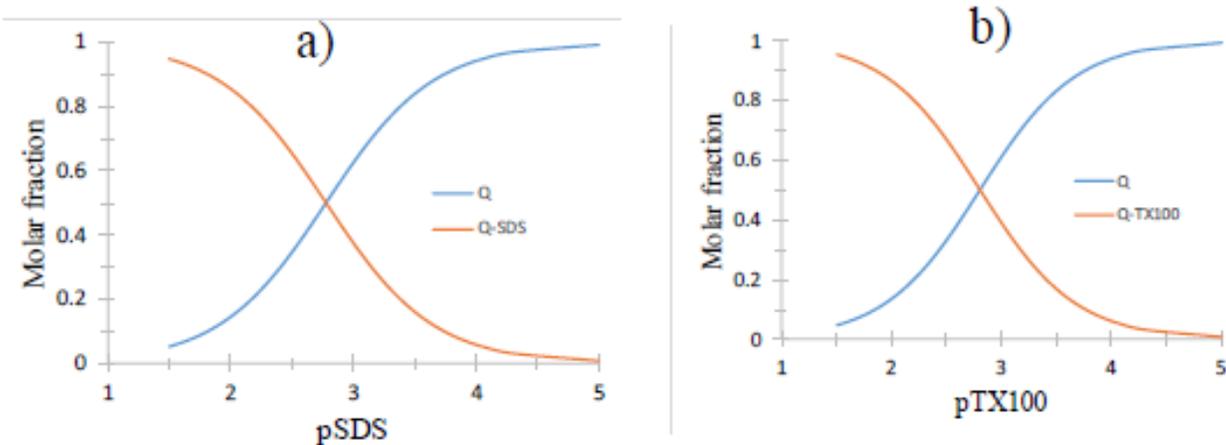


Figure S5. Distribution diagram of the quercetin, Q, species as a function of a) pSDS = $-\log [\text{SDS}]$ or b) pTX100 = $-\log [\text{TX100}]$.

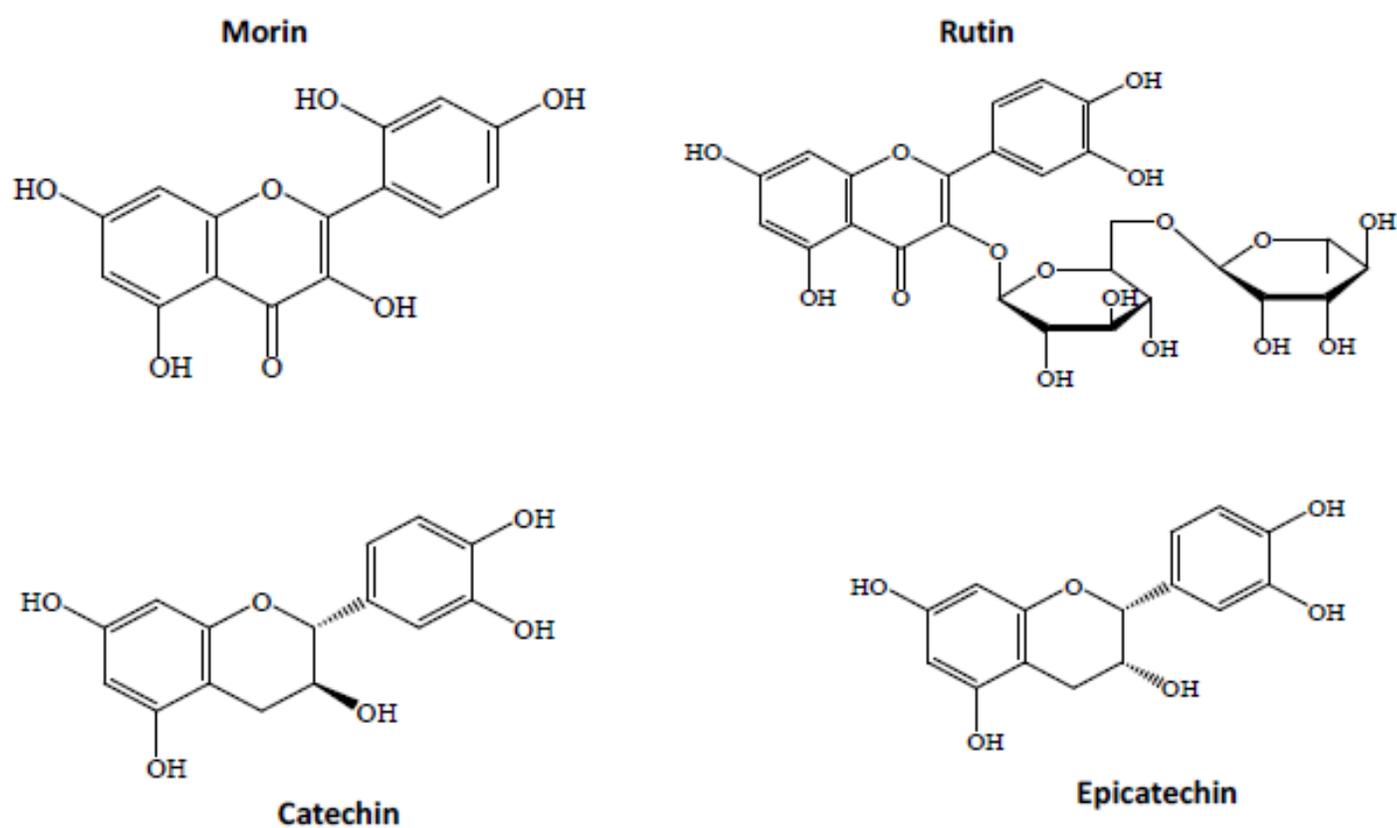


Figure S6. Molecules tested as possible interferents during the spectrofluorometric quantification of quercetin.

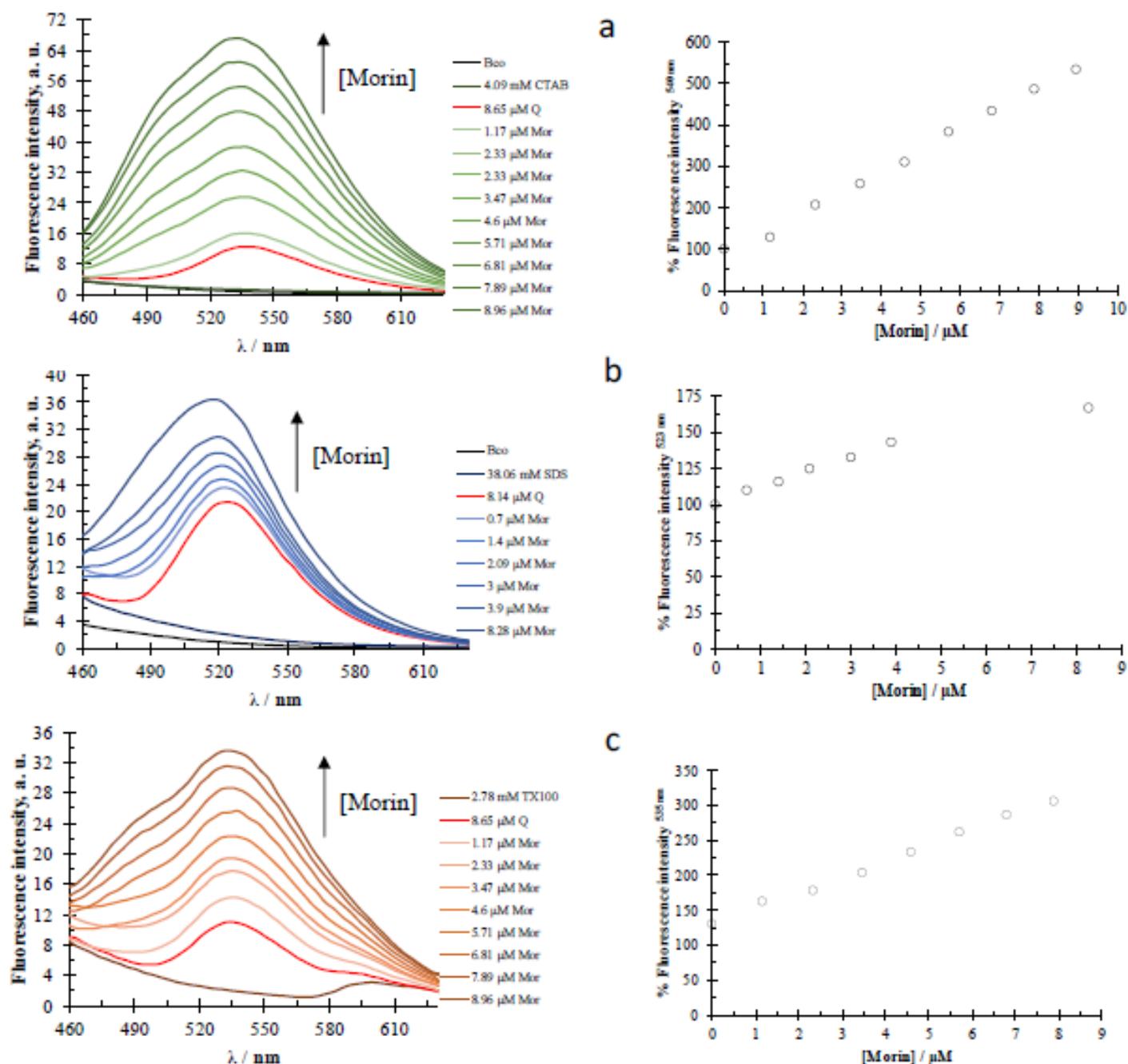


Figure S7. Fluorescence emission spectra, using an excitation wavelength of 350 nm, recorded in a) 8.65 μ M Q and 4.09 mM CTAB b) 8.14 μ M Q and 38.06 mM SDS and c) 8.65 μ M Q and 2.78 mM TX-100 aqueous solutions added with different morin concentrations at (28.0 ± 0.1) $^{\circ}$ C and the pH 7 ± 0.2 . The fluorescence intensity variations respect to the value in the absence of morin (%) are also shown at the right of each spectra family.

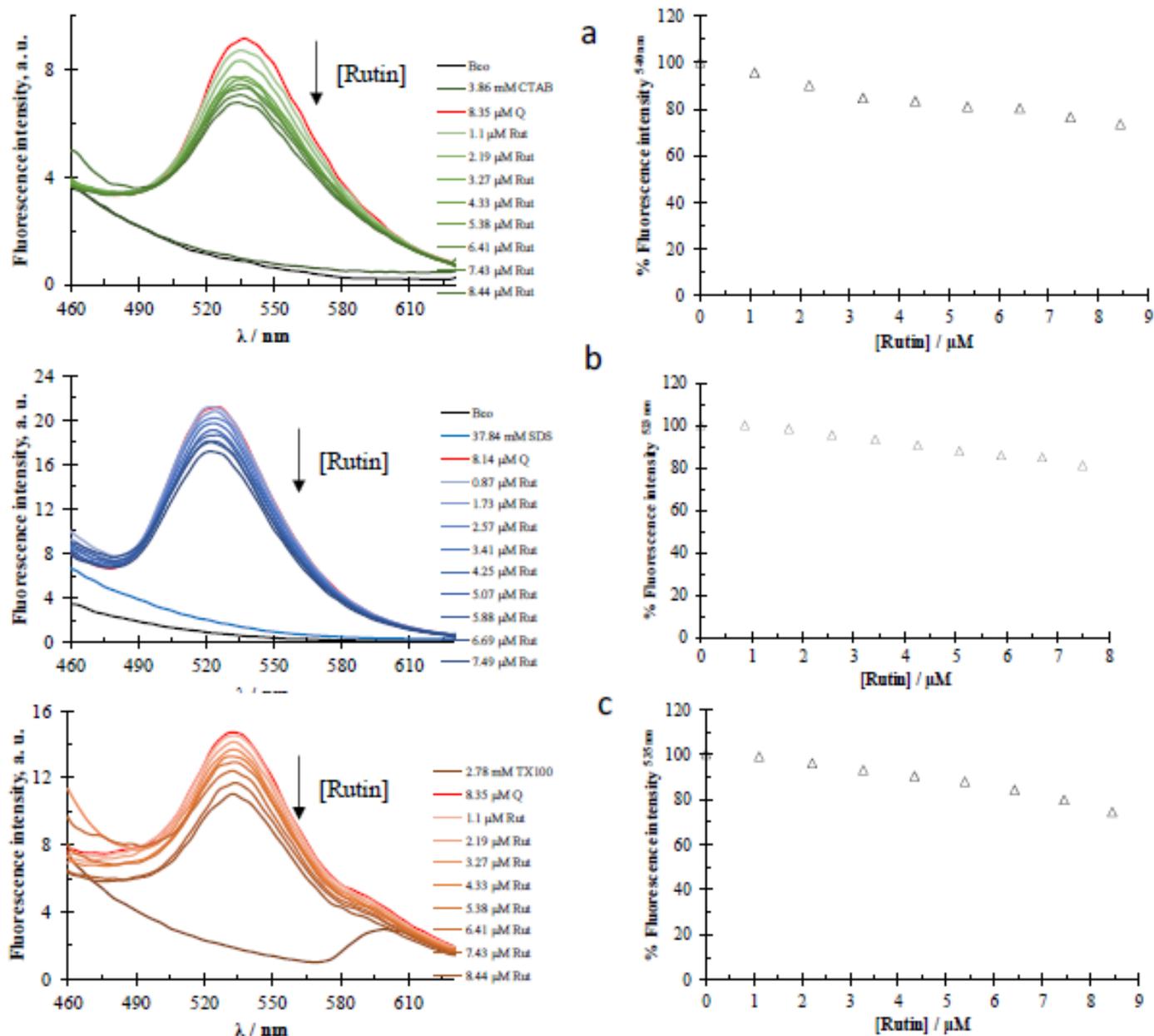


Figure S8. Fluorescence emission spectra, using an excitation wavelength of 350 nm, recorded in a) 8.35 μM Q and 3.86 mM CTAB b) 8.14 μM Q and 37.84 mM SDS and c) 8.35 μM Q and 2.78 mM TX-100 aqueous solutions added with different rutin concentrations at (28.0 ± 0.1) $^{\circ}\text{C}$ and the $\text{pH } 7 \pm 0.2$. The fluorescence intensity variations respect to the value in the absence of rutin (%) are also shown at the right of each spectra family.

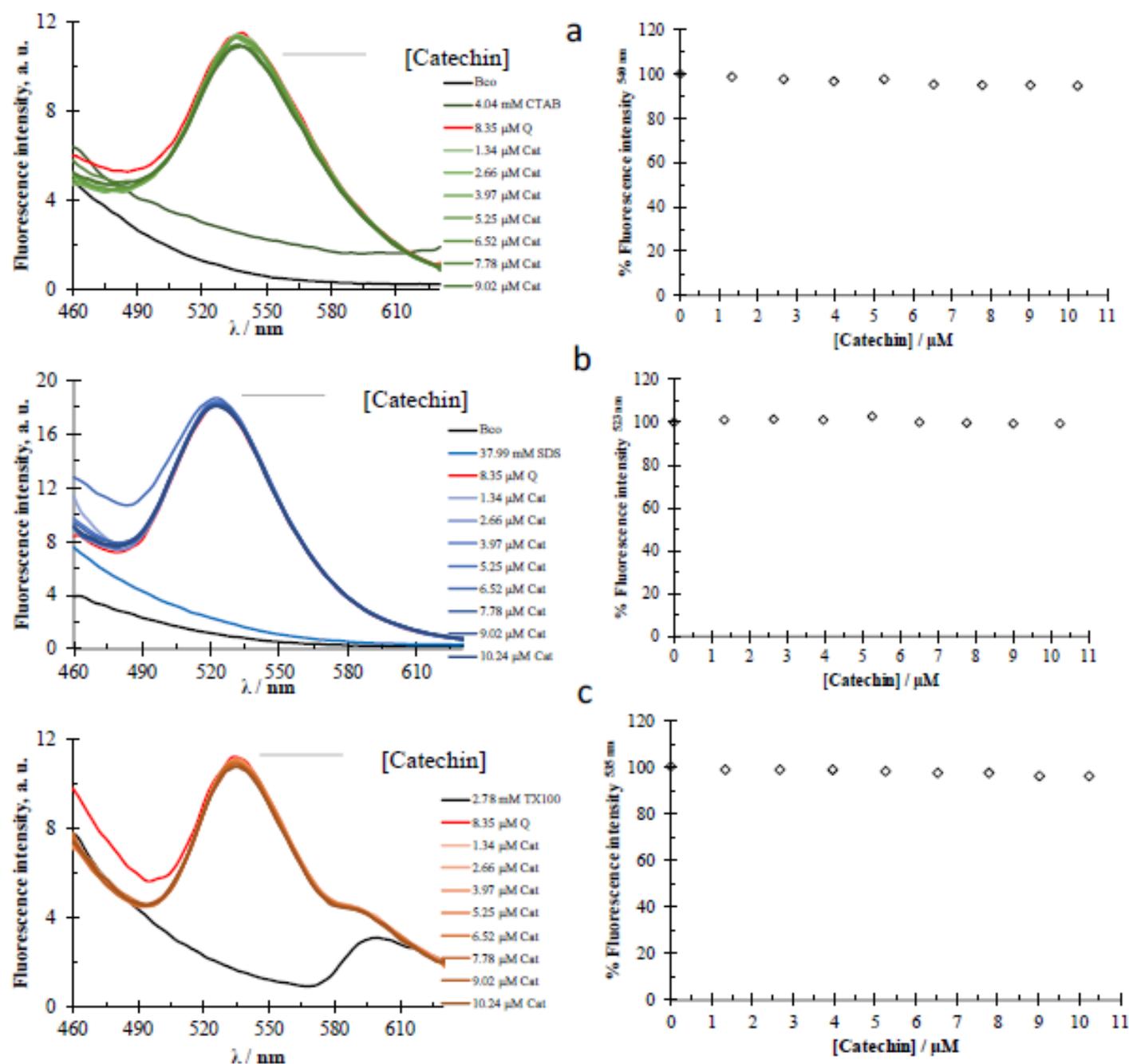


Figure S9. Fluorescence emission spectra, using an excitation wavelength of 350 nm, recorded in a) 8.35 μM Q and 4.04 mM CTAB b) 8.35 μM Q and 37.99 mM SDS and c) 8.35 μM Q and 2.78 mM TX-100 aqueous solutions added with different catechin concentrations at $(28.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ and the $\text{pH } 7 \pm 0.2$. The fluorescence intensity variations respect to the value in the absence of catechin (%) are also shown at the right of each spectra family.

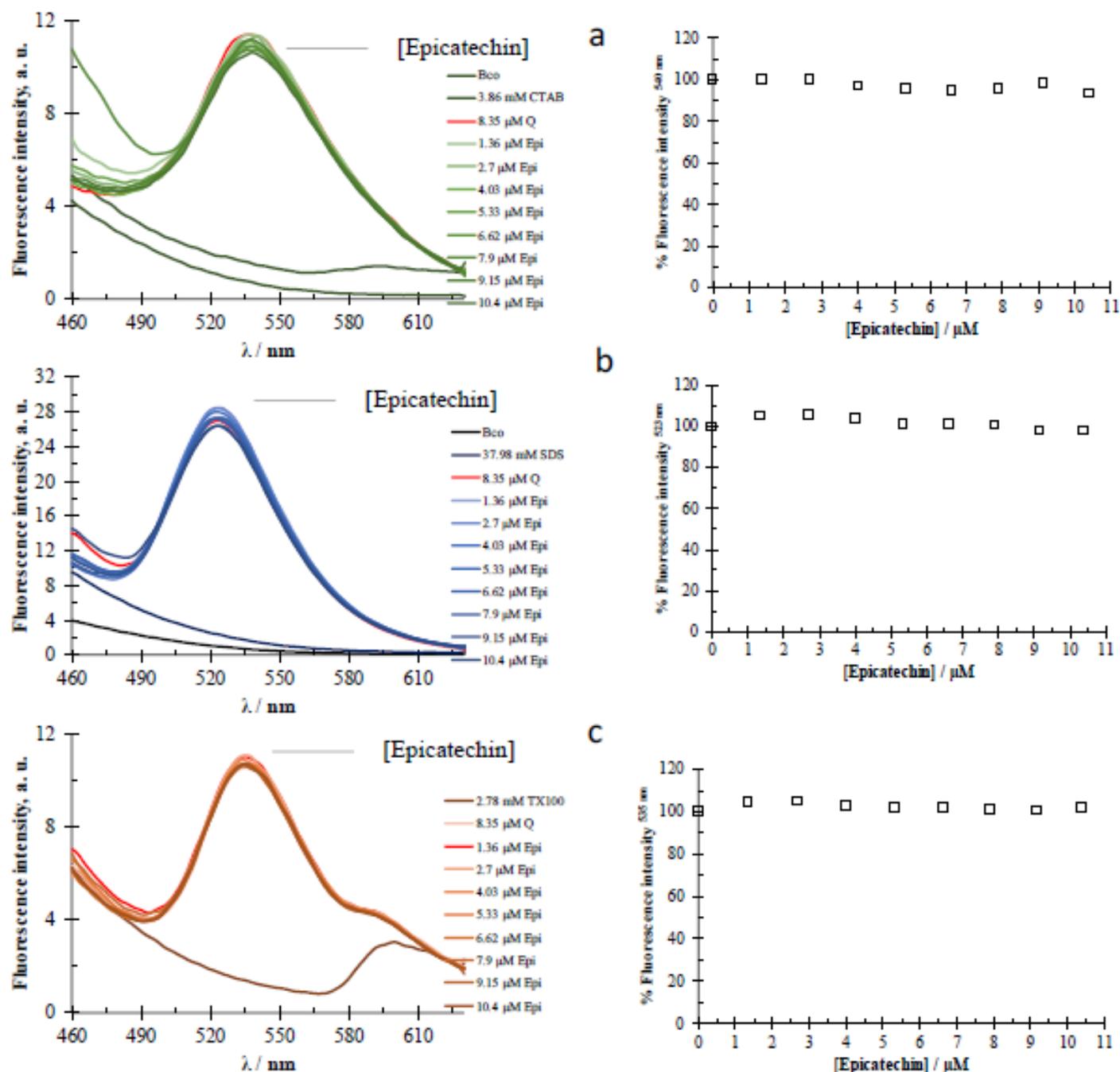


Figure S10. Fluorescence emission spectra, using an excitation wavelength of 350 nm, recorded in a) 8.35 μM Q and 3.86 mM CTAB b) 8.35 μM Q and 37.98 mM SDS and c) 8.35 μM Q and 2.78 mM TX-100 aqueous solutions added with different epicatechin concentrations at (28.0 ± 0.1) $^{\circ}\text{C}$ and the $\text{pH } 7 \pm 0.2$. The fluorescence intensity variations respect to the value in the absence of Epicatechin (%) are also shown at the right of each spectra family.

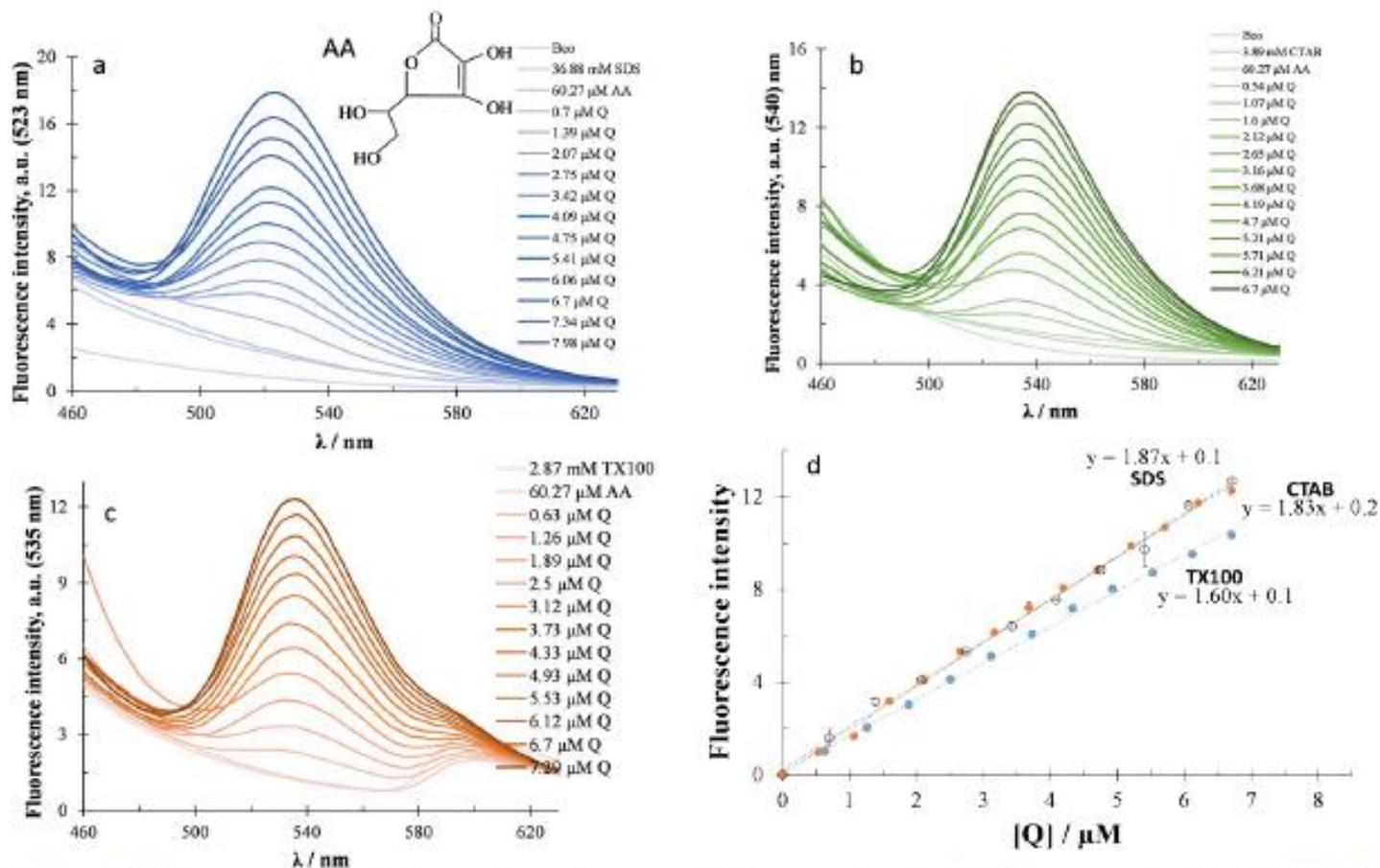


Figure S11. Fluorescence emission spectra, using an excitation wavelength of 350 nm, recorded in a) 60.27 μM ascorbic acid (AA) and 36.88 mM SDS b) 60.27 μM AA and 3.89 mM CTAB and c) 60.27 μM AA and 2.78 mM TX-100 aqueous solutions added with different quercetin concentrations at (28.0 ± 0.1) °C and the pH 7 ± 0.2 . d) The respective calibration plots are also shown in d). In these plots, the fluorescence intensity of the corresponding AA and surfactant aqueous solution without quercetin was subtracted.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00147

Matrícula: 2133890392

EFFECTO DE LOS SURFACTANTES
EN LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS
DE INCLUSIÓN

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:00 horas del día 23 del mes de mayo del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DR. MARIO ALBERTO ROMERO ROMO
- DRA. GABRIELA ROA MORALES
- DR. CARLOS ANDRES GALAN VIDAL
- DR. JUAN MARCOS ESPARZA SCHULZ
- DRA. SILVIA CORONA AVENDAÑO



JULIO CESAR ALVA ENSASTEGUI
ALUMNO

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la última, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS (QUIMICA)

DE: JULIO CESAR ALVA ENSASTEGUI

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

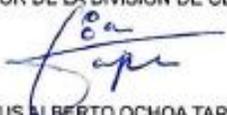
REVISÓ



LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI



DR. JESUS ALBERTO OCHOA TAPIA

PRESIDENTE



DR. MARIO ALBERTO ROMERO ROMO

VOCAL



DRA. GABRIELA ROA MORALES

VOCAL



DR. CARLOS ANDRES GALAN VIDAL

VOCAL



DR. JUAN MARCOS ESPARZA SCHULZ

SECRETARIA



DRA. SILVIA CORONA AVENDAÑO