



## **TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**Máster en Física**

**Estudio de las interacciones de las nanopartículas autoensambladas en un ELR anfifílico negativo y neutro utilizando modelos de membranas biológicas.**

***Autor:***

***Brandon Santiago Guallazaca Gonzalez***

***Tutor/es:***

***Dr. Israel González de Torre***

***Dr. José Carlos Rodríguez Cabello***

# INDICE

---

<b>1. Introducción</b>	<b>3</b>
<b>2. Materiales</b>	<b>8</b>
2.1. Recombinámero tipo elastina . . . . .	8
2.2. Reactivos . . . . .	9
2.3. Preparación del polímero . . . . .	9
2.4. Funcionalización de las superficies de oro . . . . .	9
<b>3. Técnicas de análisis</b>	<b>10</b>
3.1. Técnicas de dispersión de radiación . . . . .	10
3.1.1. Espectrofotometría . . . . .	10
3.1.2. Dispersión de luz dinámica (DLS) . . . . .	11
3.1.3. Dispersión de luz electroforética (ELS) . . . . .	12
3.2. Tratamiento de las superficies de oro con plasma de argón . . . . .	13
3.3. Microbalanza de cuarzo . . . . .	13
3.3.1. Procesamiento de datos de la técnica QCM-D . . . . .	15
3.4. Ángulo de contacto . . . . .	16
3.5. Elipsometría . . . . .	16
3.6. Microscopia de fuerza atómica (AFM) . . . . .	18
3.7. Análisis estadístico de los valores resultantes . . . . .	18
<b>4. Resultados</b>	<b>18</b>
4.1. Espectrofotometría . . . . .	18
4.2. Tamaño y potencial z de las nanopartículas . . . . .	19
4.3. Microbalanza de cuarzo (QCM-D) . . . . .	21
4.4. Ángulo de contacto . . . . .	23
4.5. Elipsometría . . . . .	24
4.6. Microscopia de fuerza atómica (AFM) . . . . .	25
<b>5. Discusión</b>	<b>26</b>
<b>6. Conclusiones</b>	<b>33</b>

<b>7. APENDICE</b>	<b>38</b>
7.1. Resultados de la técnica del ángulo de contacto . . . . .	38
7.2. Resultados de la técnica Espectrofotometría . . . . .	41
7.3. Resultados obtenidos por la técnica DLS y ELS . . . . .	43
7.4. Resultados obtenidos por la técnica ELS . . . . .	46
7.5. Resultados obtenidos por la técnica elipsometría . . . . .	47
7.6. Representación grafica de la tecnica QCM-D . . . . .	50
7.7. Análisis ANOVA . . . . .	54

## LISTA DE FIGURAS

1.	Aplicación biomédica en la encapsulación de fármacos. . . . .	3
2.	Membrana biológica. . . . .	4
3.	Representación de la elaboración de películas delgadas sobre un sustrato de Au. . . . .	5
4.	Interacción de intermolecular por puentes de hidrógeno. . . . .	7
5.	Evolución de las interacciones hidrofobas en un medio acuoso. . . . .	7
6.	Representación esquemática del proceso de autoensamblado con respecto a la temperatura de transición de los copolímeros dibloque anfifílico. . . . .	8
7.	Proceso de espectrofotometría. . . . .	10
8.	Diferenciación entre los tamaños de las partículas por el proceso de dispersión de luz dinámica . . . . .	11
9.	Equipo de dispersión de luz electroforética (ELS). . . . .	12
10.	Proceso de tratamiento de limpieza de superficies con plasma de argón. . . . .	13
11.	Principio básico de la microbalanza de cuarzo [47] . . . . .	14
12.	Composición del equipo de microbalanza de cuarzo don disipación. . . . .	15
13.	Representación de la técnica del ángulo de contacto . . . . .	16
14.	Principio de la técnica de elipsometría. . . . .	17
15.	Absorbancia vs temperatura de los ELR. . . . .	19
16.	Gráfica de la pendiente de correlación del tamaño de las nanopartículas. . . . .	20
17.	Representación de los valores de intensidad con respecto al tamaño de las nanopartículas de los ELR. . . . .	20
18.	Evolución de la frecuencia con el tiempo en la etapa deposición de los ELR y la etapa de lavado de residuos. . . . .	22
19.	Evolución de la disipación con el tiempo en la etapa deposición de los ELRs y la etapa de lavado de residuos. . . . .	22
20.	Ángulo de contacto de los sensores QSX 301 . . . . .	24
21.	Caracterización de las superficies por medio del microscopio de fuerza atómica. . . . .	25
22.	Comparación de la evolución del proceso de interacción de los polímeros $S_{50}I_{60}$ $S_{50}I_{60}$ . . . . .	27
23.	Características de las interacciones de los ELR con las moléculas fosfolípídicas y lipídicas . . . . .	28
24.	Disipación en función de la frecuencia de los ELR sobre las moléculas fosfolípídicas y lipídicas. . . . .	30
25.	Representación en la conglomeración de las interacciones del polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	31
26.	Representación en la conglomeración de las interacciones del polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	32
27.	Ángulo de contacto de la molécula Lipídica. . . . .	38

28.	Ángulo de contacto de la molécula Fosfolipídica. . . . .	38
29.	Ángulo de contacto de la interacción fosfolípidos y $S_{50}I_{60}$ . . . . .	39
30.	Ángulo de contacto de la interacción lípidos y $S_{50}I_{60}$ . . . . .	39
31.	Ángulo de contacto de la interacción fosfolípidos y $E_{50}I_{60}$ . . . . .	40
32.	Ángulo de contacto de la interacción lípidos y $E_{50}I_{60}$ . . . . .	40
33.	Representación gráfica del primer resultado del polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	41
34.	Representación gráfica del segundo resultado del polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	41
35.	Representación gráfica del tercer resultado del polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	41
36.	Representación gráfica del primer resultado del polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	42
37.	Representación gráfica del segundo resultado del polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	42
38.	Representación gráfica del tercer resultado del polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	42
39.	Coefficiente de correlación del tamaño de partículas del polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	44
40.	Intensidad del tamaño de partículas suspendidas en el polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	44
41.	Coefficiente de correlación del tamaño de partículas del polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	45
42.	Intensidad del tamaño de partículas suspendidas en el polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	45
43.	Análisis del ajuste de datos con el método matemático del elipsometro de la interacción del fosfolípido y el polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	48
44.	Análisis del ajuste de datos con el método matemático del elipsometro de la interacción del lípido y el polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	48
45.	Análisis del ajuste de datos con el método matemático del elipsometro de la interacción del fosfolípido y el polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	49
46.	Análisis del ajuste de datos con el método matemático del elipsometro de la interacción del lípido y el polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	49
47.	Representación gráfica de la evolución de la frecuencia y la disipación con respecto al tiempo de la interacción del fosfolípido y el polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	50
48.	Representación gráfica de la evolución de la frecuencia y la disipación con respecto al tiempo de la interacción del fosfolípido y el polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	50
49.	Representación gráfica de la evolución de la frecuencia y la disipación con respecto al tiempo de la interacción del lípido y el polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	51
50.	Representación gráfica de la evolución de la frecuencia y la disipación con respecto al tiempo de la interacción del lípido y el polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	51
51.	Representación gráfica de la evolución de la frecuencia vs la disipación de la interacción del fosfolípido y el polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	52

52.	Representación gráfica de la evolución de la frecuencia vs la disipación de la interacción del fosfolípido y el polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	52
53.	Representación gráfica de la evolución de la frecuencia vs la disipación de la interacción del lípido y el polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	53
54.	Representación gráfica de la evolución de la frecuencia vs la disipación de la interacción del lípido y el polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	53
55.	ANOVA del los valores del ángulo de contacto . . . . .	54
56.	Gráfica ANOVA del los valores del ángulo de contacto . . . . .	54
57.	ANOVA del los valores de la elipsometría . . . . .	55
58.	Gráfica ANOVA del los valores de la elipsometría . . . . .	55

## LISTA DE TABLAS

1.	Medidas ajustadas con el modelo Broadfit de la masa y espesor en las interacciones de los ELR con las moléculas anfifílicas utilizando la técnicas QCM-D. . . . .	23
2.	Resultados del ángulo de contacto. . . . .	24
3.	Espesor en seco del polímero ELR depositada sobre las moléculas anfifílicas. . . . .	24
4.	Rugosidad RMS de las interacciones ELR con las membranas biológicas. . . . .	25
5.	Medidas ajustadas con el modelo Broadfit del módulo elástico y la viscosidad en las interacciones de los ELR con las moléculas anfifílicas utilizando la técnicas QCM-D. . . . .	27
6.	Contribución del agua al espesor QCM-D. . . . .	28
7.	Medida ajustada con el modelo Broadfit del espesor de la película delgada y del ángulo de contacto de las interacciones de los ELR. . . . .	31
8.	Representación de datos del tamaño de partículas $S_{50}I_{60}$ . . . . .	43
9.	Representación de datos del tamaño de partículas $E_{50}I_{60}$ . . . . .	43
10.	Representación de datos del potencial zeta del polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	46
11.	Representación de datos del potencial zeta del polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	46
12.	Espesor en seco de la monocapa de la interacción fosfolípido con el polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	47
13.	Espesor en seco de la monocapa de la interacción lípido con el polímero $S_{50}I_{60}$ . . . . .	47
14.	Espesor en seco de la monocapa de la interacción fosfolípido con el polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	47
15.	Espesor en seco de la monocapa de la interacción lípido con el polímero $E_{50}I_{60}$ . . . . .	47

## LISTADO DE ABREVIATURAS

<b>ELR</b>	Elastin Like Recombinamers = Recombinámeros tipo elastina.
<b>T<sub>t</sub></b>	Temperatura de transición.
<b>DLS</b>	Dispersión de luz dinámica.
<b>ELS</b>	Dispersión de luz electroforética.
<b>QCM-D</b>	Quartz crystal microbalance with dissipation monitoring.
<b>AFM</b>	Microscopio de fuerza atómica.
<b>PBS</b>	Tapón fosfato salino.
<b>DMF</b>	N, N-dimetilformamida.
<b>DMSO</b>	Dimitilsulfóxido.
<b>min</b>	Minutos.
<b>g</b>	Gramos.
<b>cm</b>	Centímetros.



# Estudio de las interacciones de las nanopartículas autoensambladas<sup>1</sup> en un ELR anfífilico negativo y neutro utilizando modelos de membranas biológicas

Brandon Santiago Guillazaca Gonzalez<sup>1</sup>

*Universidad de Valladolid, Valladolid, España.*

---

## RESUMEN

Las interacciones de nanopartículas es un aporte crucial para el desarrollo de aplicaciones como la liberación controlada de fármacos. En esta investigación se estudió las interacciones de nanopartículas de dos recombinámeros tipo elastina (ELR) siendo esta una estructura de tipo di-bloque con un modelo de membrana Langmuir, en superficies funcionalizadas con moléculas anfífilicas. El estudio de las nanopartículas ELR es debido a sus propiedades isoelectricas esenciales, ya que comprenden moléculas aniónicas con cargas negativas y moléculas polares sin carga definiéndose como moléculas neutras. Principalmente se estudió el comportamiento y las propiedades de los ELR realizando un análisis como la temperatura de transición del autoensamblado con la técnica de espectrofotometría, además se caracterizó el tamaño de las nanopartículas del polímero y la diferencia de potencial demostrando sus propiedades isoelectricas por medio del dinamic light scattering (DLS) y el potencial Zeta. Para las interacciones de las nanopartículas con las moléculas anfífilicas se utilizó la técnica de la microbalanza de cuarzo con disipación (QCM-D), determinando características como el espesor, masa, viscosidad y el módulo elástico, depositadas en las superficies de oro; Incluso se utilizó el microscopio de fuerza atómica (AFM) para estudiar la capa del polímero ELR depositada. Además, se realizó el estudio de las propiedades hidrofóbicas con la técnica del ángulo de contacto, siendo una técnica de control de calidad verificando que el proceso sea correcto. A partir de los resultados obtenidos, se demostró que el polímero SI tiene una interacción más fuerte y la formación de las capas son compactas y el polímero EI tiene una interacción ineficiente ya que la creación de las capas son de tipo blandas. Demostrando que las interacciones que ocurre con una membrana biológica depende del comportamiento de los ELR, sus propiedades isoelectricas y la secuenciación de los ELR.

### ***Palabras Clave:***

Recombinámero tipo elastina (ELR), autoensamblado, modelo de Langmuir, molécula anfífilica, moléculas anfífilicas, microscopio de fuerza atómica, potencial Z.

---

]

<sup>1</sup>Universidad de Valladolid España  
E-mail: brandnbgg@yahoo.es

---

## ABSTRACT

Nanoparticle interactions are a crucial contribution to the development of applications such as controlled drug release. In this research we studied the interactions of nanoparticles of two elastin-like recombinamers (ELR) being this a di-block type structure with a Langmuir membrane model, on surfaces functionalized with amphiphilic molecules. The study of ELR nanoparticles is due to their essential isoelectric properties, since they comprise anionic molecules with negative charges and uncharged polar molecules defined as neutral molecules. Mainly the behavior and properties of ELRs were studied by performing an analysis such as the self-assembly transition temperature with the spectrophotometry technique, also the size of the polymer nanoparticles and the potential difference were characterized demonstrating their isoelectric properties by means of dynamic light scattering (DLS) and Zeta potential. For the interactions of the nanoparticles with the amphiphilic molecules, the quartz microbalance with dissipation (QCM-D) technique was used, determining characteristics such as thickness, mass, viscosity and elastic modulus, deposited on the gold surfaces; atomic force microscopy (AFM) was also used to study the deposited ELR polymer layer. In addition, the study of the hydrophobic properties was carried out with the contact angle technique, being a quality control technique verifying that the process is correct. From the results obtained, it was demonstrated that the SI polymer has a stronger interaction and the formation of the layers are compact and the EI polymer has an inefficient interaction since the creation of the layers are of soft type. Demonstrating that the interactions that occurs with a biological membrane depends on the behavior of the ELRs, their isoelectric properties and the sequencing of the ELRs.

***Keyword:***

Elastin-like recombinamer (ELR), self-assembly, Langmuir model, amphiphilic molecule, amphiphilic molecules, atomic force microscopy, Z-potential.

---

## 1. Introducción

La evolución de la investigación en la biomedicina nos lleva a desarrollar sistemas aún más complejos a medida que los retos y avances científicos suceden. En las últimas décadas, la nanotecnología se ha convertido en un desafío en la investigación la cual correlaciona principios químicos y físicos en la elaboración de nuevos materiales nanotecnológicos, basándose en la variación de estructuras complejas a nivel molecular con el fin de implementar futuras aplicaciones biomédicas. Dentro de este campo los recombinámeros tipo elastina (ELR) presentan un gran interés, los cuales exhiben una excelente biocompatibilidad y presentan una característica muy interesante como es el cambio de estado dependiendo de la temperatura [1]. Esta propiedad ofrece la oportunidad de ampliar las investigaciones en la elaboración de nuevos materiales debido a su propiedades de auto-ensamblado presentando visiones para futuras aplicaciones como el encapsulamiento y liberación de fármacos de forma controlada.

Un biomaterial se puede definir como un material diseñado para reemplazar e interactuar con funciones del sistema biológico de una manera segura, fiable y fisiológicamente aceptable, debido a lo cual deben presentar excelentes propiedades de biocompatibilidad al interactuar con los sistemas biológicos con el fin de obtener aplicaciones terapéuticas [2]. Los biomateriales se encuentran en una mejora continua a medida que la investigación en ellos va evolucionando y cabría esperar que en un futuro se utilizarán en tratamientos de afecciones.

Los métodos de administración de fármacos tienen gran importancia dentro de las aplicaciones biomédicas, se basa en procedimientos de nanoencapsulación formados a partir de un sistema similar a los que se pueden encontrar en las células mediante conformaciones de bicapas lipídicas. Demostrando que la nanoencapsulación de enzimas en forma de liposomas tienden a potenciar la respuesta inmunitaria de fármacos que pueden ser encapsulados, exhibiendo una ventaja de biodegradabilidad [3].

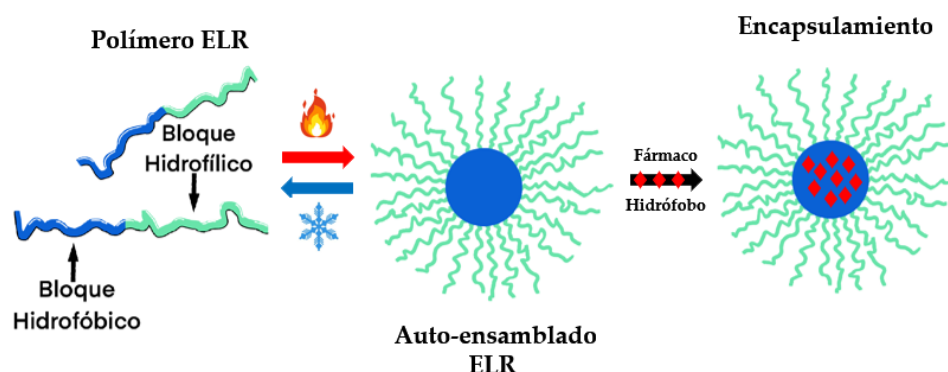


Figura 1: Aplicación biomédica en la encapsulación de fármacos.

La importancia de las membranas biológicas es proporcionar un ambiente estable en el cual una célula viva logre mantener un adecuado funcionamiento en el interior de los organismos [4]. Estas membranas exponen una conformación similar a una barrera física que permite aislar el medio interno con el medio externo, otorgando un control en el intercambio selectivo de ciertas moléculas que proporcionan una regularización en el intercambio de dichas molécula entre los medios externos e internos de las células [5].

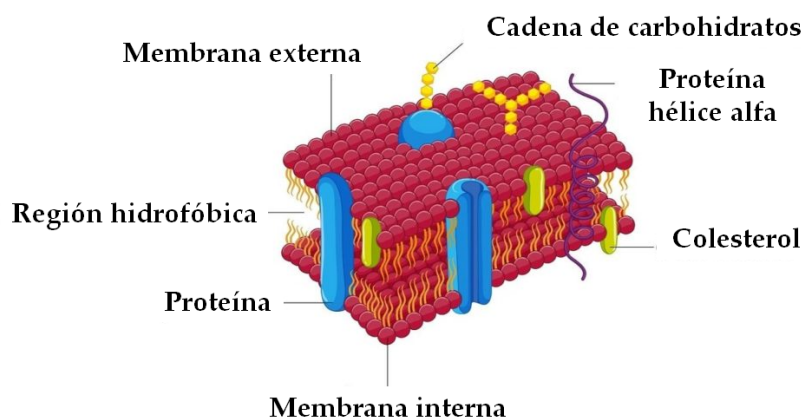


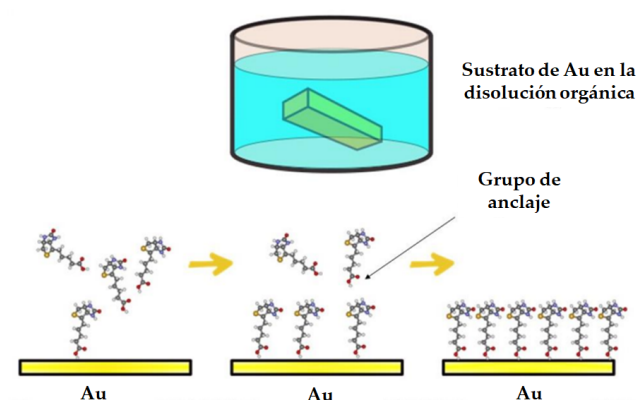
Figura 2: Membrana biológica.

La estructura de las membranas biológicas está constituida por lípidos, proteínas y en menor concentración glúcidos. Donde la conformación de las membranas celulares dependen principalmente de las propiedades de los lípidos que las conforman, que demuestran ser una conformación delgada formada por dos capas de moléculas lipídicas. La composición de los lípidos de dicha membranas biológicas presentan una región hidrófoba y una hidrofílica la cual se contribuye por el grupo fosfato [7]. Debido al carácter anfipático de las estructuras de las membranas, los grupos fosfatos con propiedades polares interaccionan con el medio acuoso externo y su parte apolar interacciona entre los medios internos y externos (Fig.2), logrando una interacción entre grupos hidrófobos la cual se conforma como una interfaz compleja, de esta manera se consigue que las células puedan auto-ensamblarse en forma de películas delgadas, creando así, una de las nanoestructuras más importantes en la física de polímeros [7; 8].

La composición de la membrana no siempre se organiza de manera homogénea debido a las variaciones de las propiedades polimórficas de los lípidos tales como la fluidez, el área transversal, carga eléctrica y el peso molecular, hace que sea inviable una organización homogénea. Por esta razón se define que las membranas lipídicas son estructuras extremadamente complejas. Debido, a esta complejidad se han desarrollado sistemas de membranas artificiales más sencillos para poder usarlos como simplificaciones de las membranas biológicas y poder usarlas en aplicaciones in vitro. El desarrollo de modelos amplían la investigación en las interacciones entre los polímeros y las membranas biológicas, que permiten desarrollar

nuevas aplicaciones al estudio del transporte y liberación controlada de fármacos, además como el estudio de las interacciones de las nanopartículas ELR[9].

El modelo utilizado para el desarrollo de mi investigación se realiza a partir de una monocapa delgada de Langmuir, el modelo simula un sistema de membranas biológicas, el cual demuestra ser un modelo adecuado para reproducir los procesos de interacción que ocurren en las superficies y el interior de las membranas [8]. Por lo que se manifiesta que la técnica de Langmuir-Blodgett (LB) es uno de los mejores métodos para la fabricación de películas delgadas en el campo de la nanotecnología en el orden molecular. Este tipo de películas se obtiene a partir de moléculas con carácter anfifílico, las cuales conforman una región hidrofílica y una región hidrófoba. Cuando estas moléculas se encuentran inmersas en una interfaz agua-aire presentan una orientación por sus propiedades hidrofílicas, la región hidrofóbica se orienta hacia la fase del aire demostrando una repulsión con la fase acuosa. Sin embargo, la parte hidrofílica ocupa la mayoría del área de la subfase acuosa que presenta una afinidad con el agua. De esta manera la conformación de las monocapas se debe a la aglomeración entre moléculas anfifílicas que se encuentran suspendidas en la fase agua-aire y las cuales son transferidas a un sustrato sólido, donde se evidencia la conformación de las películas LB [10].



**Figura 3:** Representación de la elaboración de películas delgadas sobre un sustrato de Au.

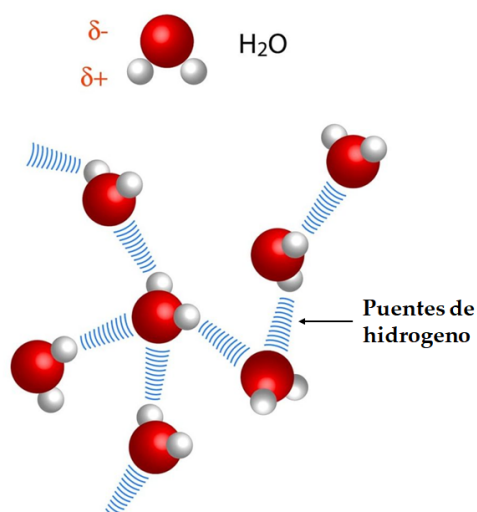
La elastina es uno de los componentes proteicos más abundantes e importantes de la matriz celular, suele encontrarse asociada al colágeno las cuales contribuyen a la elasticidad de los tejidos que aportan una regularización en el comportamiento celular y que con lleva a una reparación tisular [11]. La estructura de la elastina esta formada por una cadena de aminoácidos constituida por dos regiones las cuales aportan propiedades elásticas a las células. La composición de sus regiones presentan secuencias repetitivas formadas por la Valina (V), Prolina (P), Glicina (G), Valina (V) y Glicina (G). Debido a la secuencia demuestran un proceso de auto-reparación que produce un sin número de repeticiones de los ciclos de relajación y extensión sin sufrir ningún daño aparente ni deformaciones en su estructura. Las características especiales de la elastina son imprescindible para el estudio en el desarrollo de nuevos materiales que logren imitar las pro-

propiedades de la elastina, basándose en las secuencias repetitivas como el caso del estudio de los polímeros recombinámeros tipo elastina [12].

Los recombinámeros tipo elastina (ELRs) son biopolímeros que constituyen una familia de polipéptidos sintetizados mediante técnicas recombinantes del ADN. Presentan una secuencia repetitiva de aminoácidos  $(VPGXG)_n$ , siendo "n" el número de repeticiones y "X" un residuo huésped que puede ser cualquier aminoácido excepto la L-prolina [24; 27]. Los polímeros resultantes ELRs poseen propiedades similares a la elastina de forma natural demostrando sus propiedades de auto-ensamblado como respuesta a un cambio en la temperatura. La elastina es un componente proteico vital de la matriz extracelular logra estar presente en varios tejidos donde requieren elasticidad como parte de su funcionalidad [28], formando parte de la arquitectura central del crecimiento celular y manifestando una importancia vital para la estructura y la fisiología de los tejidos [29]. Por ello, existe un gran interés en la investigación de los ELRs para utilizar sus propiedades esenciales por su alta biocompatibilidad con los tejidos biológicos, y una biodegradabilidad efectiva dando como resultado una descomposición en pequeños residuos de péptidos y aminoácidos siendo estos residuos subproductos metabólicos. Y con ello destacar que no presentan un estado de desnaturalización debido a la variación de temperatura, confirmando que por debajo de una temperatura de transición ( $T_i$ ) presenta una solubilidad en forma de cadenas lineales, y por encima de una  $T_i$  presenta una conformación en forma de micelas provocando este cambio de estado de forma reversible con la dependencia de la temperatura [20]. La dependencia entre el cambio de fase por medio de su temperatura manifiesta una propiedad relevante para aplicaciones biomédicas como la detección de afecciones, encapsulación y activación controlada de fármacos [21; 22].

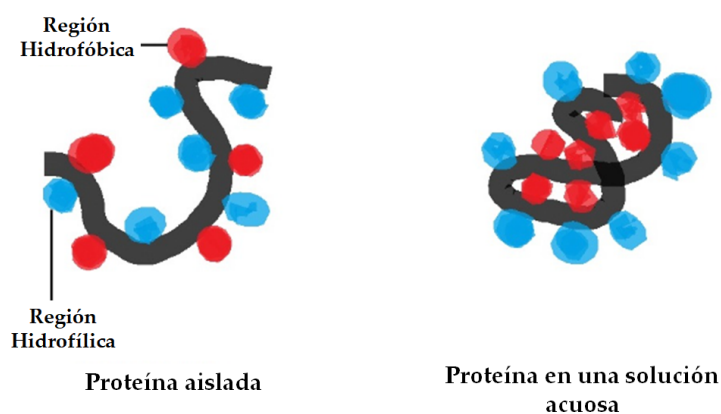
Las interacciones intermoleculares son fuerzas atractivas o repulsivas que existen entre moléculas y átomos que no se encuentran enlazados. La clasificación de las interacciones intermoleculares se origina de acuerdo a la polaridad de las moléculas y de los elementos que la conforman [19]. Las interacciones intermoleculares por su electronegatividad son provocadas por las fuerzas de atracción entre polos opuestos dando como resultado enlaces entre moléculas, estas uniones expresan la atracción que existe por medio de los puentes de hidrógeno y los átomos electronegativos [14]. Los enlaces de hidrógeno permiten la comunicación entre distintas moléculas (Fig. 4), pudiendo establecer conexiones entre moléculas orgánicas e inorgánicas. Las interacciones por medio de los puentes de hidrógeno es fundamental en la área de la bioquímica, ya que es la responsable de la creación de biomoléculas encontrándose en gran medida en la estructura de distintos tipos de biomoléculas como las proteínas y los ácidos nucleicos que son esenciales para el funcionamiento celular de los seres vivos [15].

Cabe mencionar que existe otra tipo de interacción que se describe como el producto de la composición de los elementos que la conforman. Se detallan como interacciones hidrofóbicas (IH) estas se describen por las fuerzas de cohesión que existe entre compuestos apolares (Fig.5) presentando interacciones relati-



**Figura 4:** Interacción de intermolecular por puentes de hidrógeno.

vamente más fuertes. A diferencia de otras interacciones no dependen de las propiedades intrínsecas de los solutos, sino más bien de los solventes. Las fuerzas de interacciones hidrofóbicas dependen de los factores de la temperatura y el número de carbonos presentes en las moléculas hidrofóbicas. Siendo que la temperatura juega un papel importante en la fuerza de interacción, a medida que incrementamos la temperatura aumenta la fuerza de interacción hidrofóbica. La importancia biológica de las interacciones hidrofóbicas con llevan al plegamiento de las proteínas para mantenerlas en un entorno estable y biológicamente activa, permitiendo que las proteínas se aglomeren entre compuestos apolares el cual provoca una disminución de las interacciones indeseables con el agua. Además de las proteínas, existen muchas otras sustancias biológicas que dependen de las interacciones hidrofóbicas para su supervivencia y funcionamiento biológico, como las membranas de bicapa fosfolípicas [16].



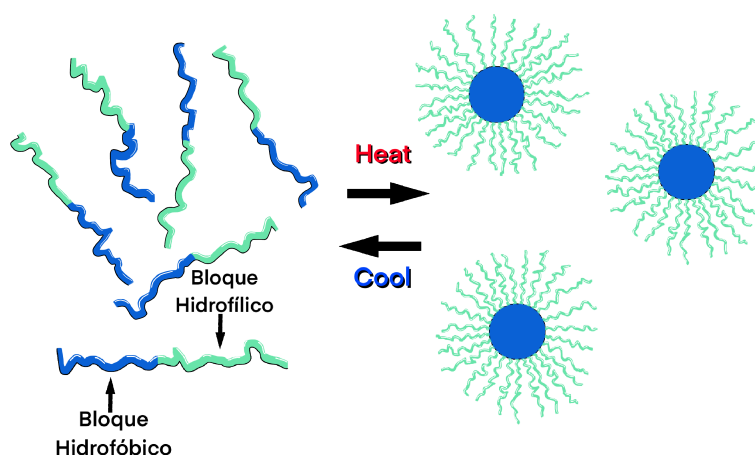
**Figura 5:** Evolución de las interacciones hidrofobas en un medio acuoso.

En esta investigación se simula un modelo de membrana biológica por medio de la creación de películas delgadas sobre una superficie de oro, con el objetivo de estudiar el comportamiento de las interacciones entre las membranas biológicas y las nanopartículas ELRs (negativas ( $E_{50}I_{60}$ ) y neutras ( $S_{50}I_{60}$ ), para ello se ha utilizado las técnicas de microbalanza de cuarzo con disipación, ángulo de contacto, elipsometría y la microscopía de fuerza atómica. Además se realizó el estudio de las propiedades de los ELRs con las técnicas Dynamic light scattering, potencial Z y turbidimetría.

## 2. Materiales

### 2.1. Recombinómero tipo elastina

En la investigación se utilizaron dos copolímeros anfífilicos los cuales se encontraban sintetizados por el grupo de investigación Bioforge [22; 27]. Los polímeros utilizados son EI y SI, donde la secuencia del primer polímero EI está representado por un bloque hidrofílico E [(VPGEG)<sub>50</sub>] y un bloque hidrofóbico apolar I [(VPGIG)<sub>60</sub>]<sup>2</sup>, donde la secuencia hidrofílica manifiesta una molécula polar aniónica [32]; La secuencia del copolímero SI presenta un bloque hidrofílico no iónico S [(VPGSG)<sub>50</sub>] y un bloque hidrofóbico apolar I [(VPGIG)<sub>60</sub>] [32]. El diseño molecular de las secuencias de los ELR depende del número de concentración de las secuencias, ya que permite obtener la formación en micelas por el proceso de auto-ensamblado a una cierta  $T_t$  [34; 30] .



**Figura 6:** Representación esquemática del proceso de autoensamblado con respecto a la temperatura de transición de los copolímeros dibloque anfífilico.

Demostrando que los ELR dependen de su temperatura de transición, consiguiendo un control en sus propiedades por su diseño genético. El control de la temperatura es importante, ya que los ELR disueltos en una solución acuosa tienden a comportarse de maneras diferentes por su temperatura demostrando ser

<sup>2</sup>Aminoácidos: V= Valina; P= Prolina; G= Glicina; E= Ácido Glutámico; I= Isoleucina; S= Serina.



la responsable del cambio de fase o agrupamiento entre grupos hidrófobos, puesto que por debajo de la temperatura de transición ( $T_i$ ) demuestra un desordenamiento aleatorio en forma lineal de las cadenas [31]. Sin embargo por encima de su  $T_i$  los polímeros se auto-ensamblan en micelas esféricas formando un núcleo hidrófobo, por lo que la parte hidrofílica queda expuesta con el medio acuoso permaneciendo en un proceso de hidratación (Fig.6).

## 2.2. *Reactivos*

Se utilizó reactivos para sintetizar las moléculas lipídicas y con ello realizar la funcionalización en las superficies de Au. El reactivo *1-Undecanotiol*<sup>3</sup> es utilizado para formar una monocapa con propiedades hidrofóbicas [23]; El ácido *11-mercaptoundecifosforico*<sup>4</sup> se utiliza para formar monocapas con propiedades hidrofílicas por medio del grupo tiol [23]; Además se utiliza disolventes como el N,N-dimetilformamida (DMF) y el dimetilsulfóxido (DMSO), demostrando ser disolventes altamente apróticos polares(hidrofílicos) con un alto punto de ebullición facilitando que las reacciones químicas dispongan del mismo comportamiento polar.

## 2.3. *Preparación del polímero*

En la preparación de la disolución de los polímeros se utilizó una solución acuosa de tampón fosfato salino (PBS) precisamente por sus propiedades isotónicas, puesto que esta solución no modifica el perfil de expresión y el funcionamiento celular de los polímeros, conservando un pH estable en la solución de 7.4 siendo una solución isotónica no toxica [35]. Por este motivo se disolvieron los polímeros  $E_{50}I_{60}$  y  $S_{50}I_{60}$  en PBS 1x en una concentración de 1 mg/mL durante 12 horas a una temperatura de 4°C. Además se realizó un control de los niveles del pH de la solución analizando de forma remota con un pHmetro comprobando que el PBS muestra una estabilización en la disolución final de los ELR dando como resultado un pH fisiológico de 7.4.

Para el análisis del tamaño de las partículas y el potencial Z, se procedió a la preparación del polímero de igual forma a lo mencionado anteriormente pero con un proceso adicional realizando un filtrado en frío de las nanopartículas suspendidas en la solución utilizando un filtro de 0.2  $\mu m$  con ello poder descartar partículas de tamaños mayores a las nanopartículas de los ELRs.

## 2.4. *Funcionalización de las superficies de oro*

Para una funcionalización apropiada de las superficies de oro se utilizó un tratamiento de plasma de argón el cual elimina fácilmente los contaminantes orgánicos de una superficie determinada, como resultado del tratamiento de las superficies nos permite obtener una correcta propiedad de adhesión entre la

---

<sup>3</sup>Lípido

<sup>4</sup>Fosfolípido

superficie Au y las moléculas lipídicas. Se utilizó una concentración de 1 mg/mL para una disolución entre el fosfolípido con el DMF y el lípido con el DMSO. Una vez obtenido esta solución las superficies de Au permanecen sumergidas durante un periodo de 24 h, obteniendo así una película delgada en su superficie. Una vez transcurrido el tiempo, se realiza un proceso de lavado donde las superficies son lavadas con DMF/DMSO correspondiente a cada solución sumergida, el siguiente lavado se realiza con etanol y agua mili-Q. Con la ayuda de este lavado se procura que las superficies queden totalmente limpias de residuos no adheridos a las superficies. Es importante que en cada lavado dejar reposar las soluciones con las superficies durante 15 min. Transcurrido el proceso de lavado se colocan en una estufa durante 12 horas a una temperatura de 37°C para que las superficies estén totalmente libres de agua.

### 3. Técnicas de análisis

#### 3.1. Técnicas de dispersión de radiación

##### 3.1.1. Espectrofotometría

La técnica de espectrofotometría es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en una solución [37]. Se basa en que las moléculas controlan el transporte de radiación electromagnética, demostrando que la cantidad de luz transmitida depende de la concentración de los ELRs. Donde la concentración es sujeta a la aglomeración de las partículas en la solución, debido a la transición de fase de los polímeros por encima de su  $T_t$  produciendo una disminución de la transmitancia. Al ser un indicador de la apariencia óptica esta técnica está relacionada a la dispersión y absorción de la energía lumínica de un líquido. Demostrando que el estudio de la técnica de espectrofotometría en los polímeros se basa en el análisis de las pérdidas de la intensidad de luz transmitida.

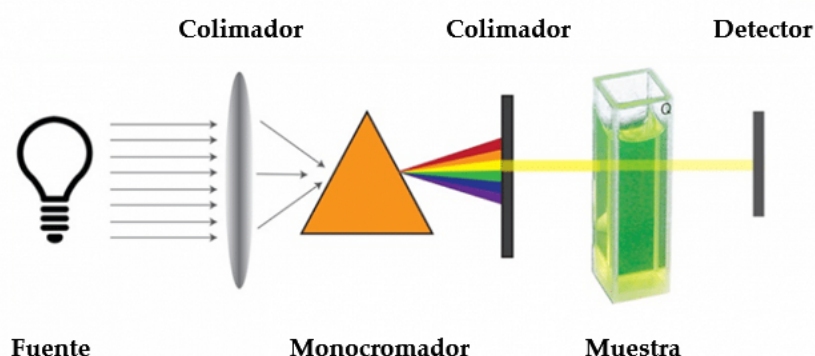
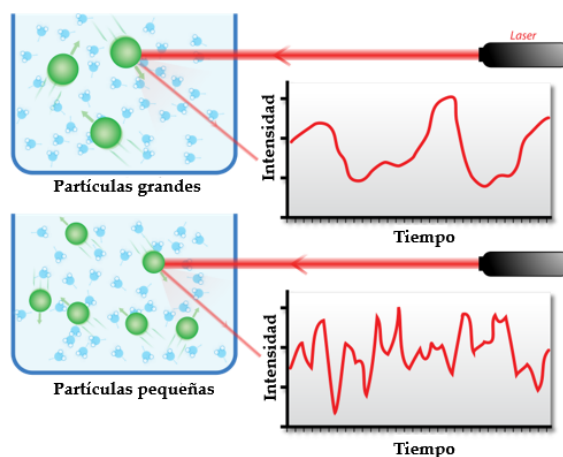


Figura 7: Proceso de espectrofotometría.

Se utilizó un espectrómetro UV-VIS (*CarySeries*) con una longitud de onda de 350 nm, con el cual se analizó la solución de los polímeros disueltos en PBS con una concentración de 5mg/mL depositadas en cubetas de poliestireno. Se realizó el análisis con una variación de temperatura de 4 °C a 60 °C con un incremento de temperatura de 1°C/min para controlar la evolución y la temperatura de la transición de fase.

### 3.1.2. Dispersión de luz dinámica (DLS)

La técnica es empleada para la determinación del tamaño de las nanopartículas (NP) es por medio de la dispersión de luz dinámica (DLS) siendo una técnica independiente del ángulo de dispersión, cuando las partículas tienen un tamaño menor de la longitud de onda ( $\lambda/10$ ) la luz dispersada lleva la misma energía con respecto a la luz incidente demostrando ser una dispersión elástica donde esta no depende del ángulo de dispersión [38].



**Figura 8:** Diferenciación entre los tamaños de las partículas por el proceso de dispersión de luz dinámica

Permitiendo obtener el tamaño hidrodinámico de las nanopartículas a partir del movimiento aleatorio, describiendo su comportamiento por medio de la ecuación de Stokes-Einstein.

$$D_h = \frac{k_B T}{3\pi\eta D_t}$$

Donde:

$K_B$  = Constante de Boltzmann ( $1.380 \times 10^{-23}$  J/K).

$T$  = Temperatura.

$\eta$  = Viscosidad absoluta.

$D_t$  = Radio hidrodinámico.

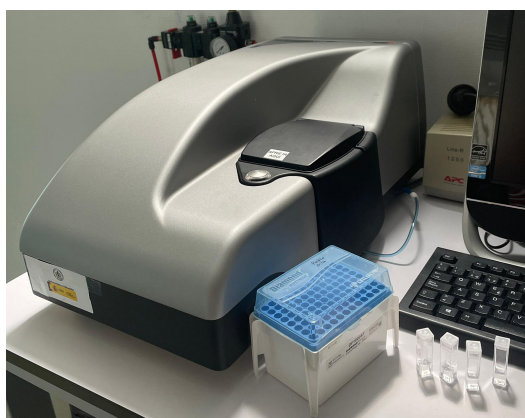
Como consecuencia del movimiento Browniano de las nanopartículas las posiciones relativas de estas varían constantemente entre si, provocando cambios en la interferencia y en la intensidad de la dispersión. Si las partículas se mueven rápidamente por el hecho que son partículas pequeñas pueden también acelerar

la variación de la intensidad de la dispersión, dando como resultado la relación de la ecuación de Stoke-Einstein para analizar el tamaño dependiendo la intensidad de la luz dispersada. Esto demuestra que es una técnica física-química empleada para la determinación de la distribución del tamaño de las partículas suspendidas en una solución y la formación de agregados [36; 38].

### 3.1.3. Dispersión de luz electroforética (ELS)

La técnica utilizada para determinar las propiedades isoelectricas de los polímeros es por medio de la dispersión de luz electroforética (ELS), es una técnica que se utiliza para medir la movilidad electroforética de las partículas suspendidas en la solución donde el principio físico fundamental es la electroforesis. El resultado se denomina como potencial zeta, el cual demuestra el movimiento de las nanopartículas por medio de un campo eléctrico la que puede ser representada por una medida de magnitud de repulsión o atracción electrostática entre nanopartículas. El sistema del movimiento de las partículas según su carga, está descrita por una capa interna la cual consta predominante de iones/moléculas con carga opuesta a la de la partícula. Dando como resultado el potencial en el plano de deslizamiento de una partícula coloidal que se mueve bajo un campo eléctrico [39].

El equipo utilizado fue el Zetasizer Nano ZSP, el cual para desarrollar esta técnica se necesita cubetas especiales (DTS1070) donde viene incorporada electrodos, en los cuales se aplica un campo eléctrico que hace que las partículas alcancen una cierta velocidad, donde los electrodos positivos y negativos son cambiados de polaridad de tal forma que las partículas se mueven continuamente de un electrodo hacia el otro. Donde el principio de la técnica se debe a la incidencia de una longitud de onda con la interacción de las nanopartículas, como producto de esta interacción existe una dispersión de luz causada por el movimiento de las partículas y con ella analizar su potencial zeta demostrando una dependencia con la viscosidad del fluido, su constante dieléctrica y movilidad electroforética [40].



(a) Dispersión de luz dinámica



(b) Cubetas especiales con electrodos.

**Figura 9:** Equipo de dispersión de luz electroforética (ELS).

### 3.2. Tratamiento de las superficies de oro con plasma de argón

El tratamiento de plasma se utiliza para alterar las propiedades de las superficies de una amplia gama de materiales para que exhiban una buena adhesión con el sustrato. Se describe el plasma como una descarga gaseosa, se obtiene por medio de un diferencial de potencial entre dos electrodos en presencia de un gas a baja presión. La interacción entre el plasma y la superficie se da dentro de la cámara de plasma pudiéndose encontrar en su interior iones, radicales, electrones metaestables y radiación ultravioleta. Al exponer la superficie de un material al efecto de estos elementos la superficie presenta una modificación. Cuando un polímero es sometido a la acción del plasma los electrones de alta energía chocan con la superficie provocando una ruptura en los enlaces a nivel molecular (Fig.10) generando nuevas formas moleculares excitadas que son extraídas por medio de la bomba de vacío [25]. La eficiencia de este proceso depende de los parámetros que se utilizaron en esta investigación como primer punto se utilizó el equipo Sterilizer PDC-002 con gas un de argón con un tiempo de interacción de 30 min con la superficie.

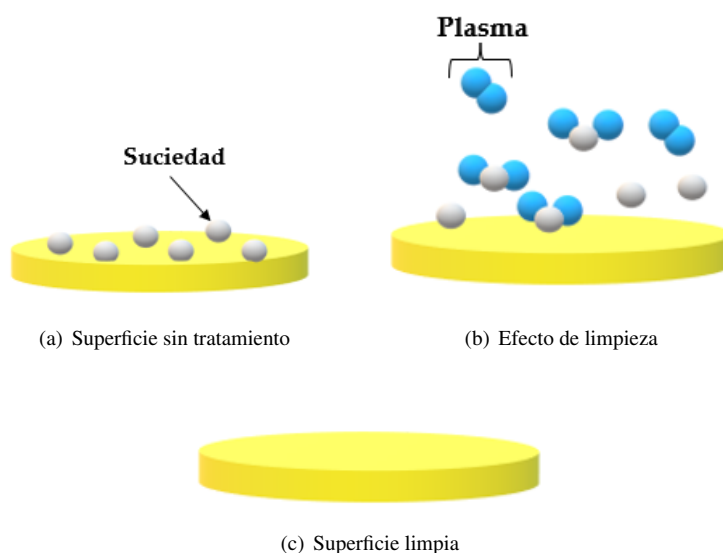


Figura 10: Proceso de tratamiento de limpieza de superficies con plasma de argón.

### 3.3. Microbalanza de cuarzo

La microbalanza de cuarzo (QCM-D) es un equipo de medición de alta resolución que permite la observación del cambio de masa del orden de decenas de nanogramos o una densidad de masa por debajo de  $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , donde la sensibilidad del equipo es de 1000 veces mayor que la de una balanza analítica típica. Permite observar la variación de masa por medio de los cambios de frecuencia de un cristal piezoeléctrico obteniendo la varianza de oscilaciones de los sensores de cuarzo, demostrando que la transición de las oscilaciones se debe a la adhesión de los polímeros con las membranas lipídicas inmersas en los sensores QSX 301 obteniendo de esta manera la cantidad de masa depositadas en las superficies de oro. Además, la

técnica proporciona el análisis de la disipación la cual refleja las propiedades mecánicas presentes en las capas adheridas.

El componente central del QCM-D es un piezoeléctrico de un cristal de cuarzo. Con películas de metal conductor depositadas a cada lado del disco del cristal de cuarzo como contactos eléctricos, el cristal oscila al aplicar un potencial eléctrico alterno (voltaje) [50]. Demostrando que la frecuencia de resonancia del material es ultrasensible a una variación de masa. Si una capa delgada no dispersable se deposita uniformemente sobre un electrodo activo, la frecuencia de resonancia del electrodo disminuye proporcionalmente a la masa de la capa absorbida. La relación entre el cambio de frecuencia y la eficiencia de la masa absorbida se expresa mediante la ecuación de Sauerbrey [46] :

$$\Delta f = \frac{2f_0^2}{A \sqrt{\rho_q \mu_q}} \Delta m \quad (1)$$

Donde:

$\rho_q$  = Densidad 2.648.

$\mu_q$  = Módulo de corte del cuarzo ( $2.947 \times 10^{11} \text{ g.cm}^{-1} \text{ . s}^2$ )

$f_0$  Frecuencia del cristal sin carga.

$A$  = El área geométrica del cristal piezoeléctricamente activo.

$\Delta m$  = Cambios de la masa del sistema.

$\Delta f$  = Cambios de la frecuencia del sistema.

De acuerdo con esta ecuación, la masa de una capa delgada depositada sobre una superficie se puede calcular midiendo los cambios en la frecuencia de resonancia. La sensibilidad de los resultados dependerán de los factores de los sensores como el tipo de material, la forma, grosor y el tamaño de los electrodos metálicos.

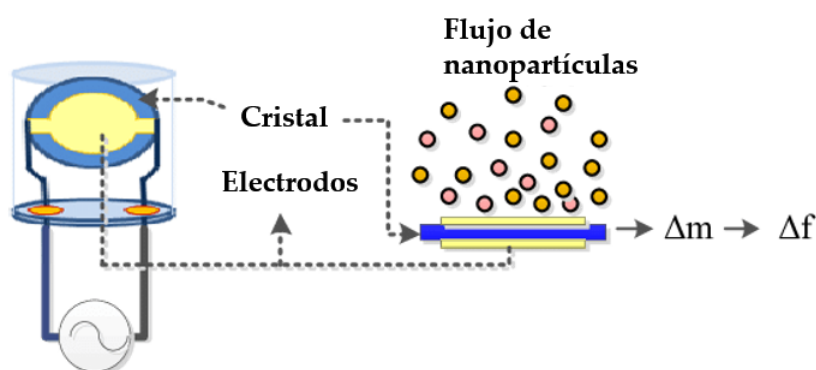
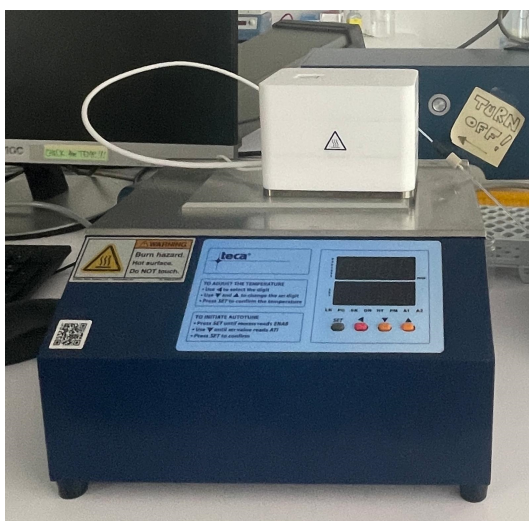


Figura 11: Principio básico de la microbalanza de cuarzo [47]

Para el desarrollo de las mediciones se utilizó el equipo Q-Sense Explorer System (Fig.12(a)), empleando sensores piezoeléctricos de cuarzo con superficies de oro. Estas se encuentran funcionalizadas con sus respectivas moléculas lipídicas. Se aplica parámetros no variables a las mediciones como el flujo laminar de  $20 \mu\text{L}/\text{min}$  el cual es suministrado a las superficies para mantener sus propiedades biológicas a una temperatura de  $37^\circ\text{C}$ , se utilizó una solución un tapón de referencia de PBS 1x siendo este el disolvente de los ELR, inyectando a los sensores en un intervalo de 20 min para la estabilización de la medición de referencia. Inmediatamente al conseguir la estabilización se empleó el flujo de la solución de los polímeros  $E_{50}I_{60}$  y  $S_{50}I_{60}$  a una concentración de  $1 \text{ mg}/\text{mL}$  durante 30 min. Finalmente se realizó un lavado de la superficie durante 20 min con la solución de referencia.



(a) Microbalanza de cristal de cuarzo.



(b) Bomba peristáltica

**Figura 12:** Composición del equipo de microbalanza de cuarzo don dispación.

### 3.3.1. Procesamiento de datos de la técnica QCM-D

Los datos experimentales obtenidos por medio de la microbalanza de cuarzo (QCM) se describen por modelos matemáticos incluidos en el software Biolin Scientific, permitiendo un adecuado tratamiento de datos. El Software Q-sense D-find tiene modelos de dos capas basadas en el modelo de Voigt el cual explica una deformación viscoplástica reversible, bajo la aplicación de una tensión constante del material donde se deforma a un ritmo progresivamente más lento, llegando asintóticamente a un estado cuasiestacionario. El modelo Dfind Broadfit evalúa los resultados y selecciona un mejor ajuste para cada intervalo de tiempo y el Dfind Smartfit asume que los datos que representan cambios suaves en la capa superficial y presenta dos mejores soluciones de resultados continuos.

### 3.4. Ángulo de contacto

El ángulo de contacto se caracteriza en la formación de un ángulo entre la superficie de un líquido al entrar en contacto con una superficie sólida. Este ángulo depende principalmente de la relación que existe entre las fuerzas adhesivas del líquido y del sólido (Fig.13), además de las fuerzas cohesivas del propio líquido. Formando así una interfaz entre una fase sólida y una fase líquida.

Se empleó parámetros para la determinación del ángulo de contacto entre la fase líquida y la fase sólida, se utilizó agua ultrapura como medio de selección para la formación de las gotas, las cuales se establecieron parámetros de drenaje de las gotas por medio del software Data Physics OCA20, determinando una dosis de volumen de  $1 \mu L$  y una velocidad de salida de  $0.50 \mu L/s$  siendo una velocidad adecuada para la formación de la gota.

La gota se deposita en una posición aleatoria de la superficie de los sensores, repitiendo este proceso por 4 ocasiones en 4 sitios diferentes para realizar un análisis estadístico. Con la ayuda de una cámara de vídeo CCD se puede controlar de forma simultánea las imágenes para un correcto análisis. Este análisis se realiza en cada proceso como en las superficies de oro, las superficies de oro tratadas, en las superficies de oro funcionalizadas y en las superficies de oro funcionalizadas con los ELRs ( $S_{50I_{60}} - E_{50I_{60}}$ ).

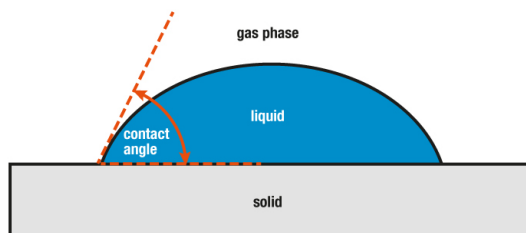


Figura 13: Representación de la técnica del ángulo de contacto

### 3.5. Elipsometría

La elipsometría es una técnica óptica sensible y no destructiva el cual puede determinar las propiedades de las superficies y las propiedades de las películas delgadas depositadas, el análisis óptico de esta técnica es por medio de una luz polarizada elípticamente que se genera como resultado de la interacción entre la luz polarizada linealmente y la superficie. Teniendo en cuenta que las medidas dependen de la variación del estado de polarización de la luz reflejada por la muestra, por lo que, al variar el espesor de la muestra cambian las propiedades de reflexión de la luz.

El resultado de la medida es el cambio en la polarización a medida que la radiación incidente interactúa con la estructura de la superficie de interés. Donde el cambio de polarización se puede cuantificar mediante



la relación de amplitud ( $\psi$ ), y la diferencia de fase ( $\Delta$ ), los cuales describen el estado de polarización elíptica de salida después de que la luz polarizada linealmente se refleje oblicuamente en una superficie con una película delgada [48]. En la adquisición de datos esta técnica mide la relación de reflectancia compleja  $\rho$  de un sistema, la cual puede ser parametrizada por la componente de amplitud ( $\psi$ ) y la diferencia de fase ( $\Delta$ ). La interacción de la luz incidente con la superficie da como resultado una descomposición del estado de polarización, descomponiéndose en una componente s como la oscilación perpendicular al plano de incidencia y paralela a la superficie de la muestra, por último la componente p demuestra una oscilación paralela al plano de incidencia. Las amplitudes de los componentes s y p, se denotan como  $r_s$  y  $r_p$  cuando estas componentes son normalizadas. Midiendo la relación de reflectancia compleja  $\rho$ :

$$\rho = \frac{r_p}{r_s} = \tan\psi \cdot e^{i\Delta} \quad (2)$$

De este modo  $\tan\psi$  es la relación de la amplitud en la reflexión y  $\Delta$  es el cambio de fase. La elipsometría es un método indirecto, ya que todos los procesos ópticos no pueden medir directamente los parámetros de interés de la muestra, es decir, las medidas de  $\psi$  y  $\Delta$  no se pueden convertir directamente en las constantes ópticas y determinar el espesor de la muestra. Debido a que es una técnica indirecta se necesita complementar la técnica con un modelo matemático que a partir de variables y parámetros se puede determinar el espesor de la película depositada sobre una cierta superficie [49].

Las medidas se realizaron con el elipsómetro espectroscópico (Horiba Jobin) requiriendo que la condición de las superficies sean en "seco", esta condición se cumple con la ayuda de una corriente de nitrógeno. Además, se trabajó con un ángulo de incidencia de  $70^\circ$ , realizando una exploración espectroscópica desde los rangos de 300nm a 800nm con un aumento de 2.5 nm. El acople de las muestras con el haz incidente se utilizó el elipsómetro como un microscopio consiguiendo así la manipulación de las superficies y la selección de tres puntos aleatorios dentro del rango del área de 2 a 3 mm<sup>2</sup>.

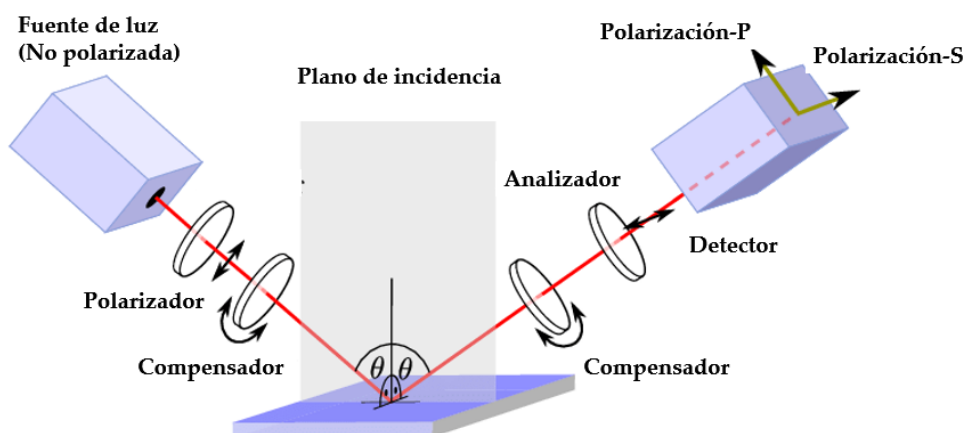


Figura 14: Principio de la técnica de elipsometría.

### 3.6. *Microscopia de fuerza atómica (AFM)*

La microscopía de fuerza atómica (AFM) se empleó para la caracterización de materiales poliméricos a una escala nanométrica, estudiando la topografía de las interacciones de los ELR con las moléculas anfífilas. Las imágenes fueron obtenidas por una institución exterior al centro de investigación, el equipo utilizado fue el AFM (MultiMode <sup>TM</sup> V de Veeco Instruments-Nanoscope V) con la técnica de tapping utilizando sondas de silicio afiladas.

Se utilizó una resolución de 256 líneas/área, en una área de escaneo de  $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ . Se estudió la rugosidad ( $R_q$ ) donde se cuantifica a partir de las imágenes topográficas, donde la rugosidad es el conjunto de irregularidades o imperfecciones que posee la superficie de interacciones resolviendo la distribución de alturas y con ello describiendo el acabado de las superficies ópticas.

### 3.7. *Análisis estadístico de los valores resultantes*

El procesamiento de datos se realizó con una repetición de tres operaciones por cada proceso experimental, para el análisis estadístico como la media y desviación estándar. Para el análisis estadístico de la comparación entre medidas se empleó el software "Statgraphics" realizando el método del análisis de la varianza (ANOVA) demostrando una técnica eficaz para el estudio de uno o más factores sobre la media de una variable [33]. Evidenciando que los resultados obtenidos entre grupos consigan expresar una diferencia estadísticamente significativa entre cualquier par de medias obteniendo un nivel de confianza del 95.0 % y del 99.9 %, definiéndose la probabilidad (p) de  $p < 0.05(*)$  y  $p < 0.001 (**)$  como una diferencia estadísticamente significativa, además los valores mayores de 0.05 se denota que no presentan diferencias significativas.

## 4. Resultados

### 4.1. *Espectrofotometría*

La representación del gráfico (Fig.15) de los valores demostrados por el método de espectrofotometría representa que a medida que se incrementa la temperatura, existe un cambio gradual de los polímeros con la dependencia de la absorbancia dando como resultado una transición de la intensidad y de la dispersión de luz. De este modo se relaciona que el polímero tiene una dependencia con la temperatura demostrando que a temperaturas menores el polímero mantiene un grado de transmitancia mayor, mientras que incrementamos la temperatura el grado de transmitancia es menor demostrando que el polímero se autoensambla en forma de micelas. Dando como resultado una temperatura de transición del polímero  $S_{50}I_{60}$  de  $21.00 \pm 0.02$  °C es de y del polímero  $E_{50}I_{60}$  de  $21.06 \pm 0.12$  C.

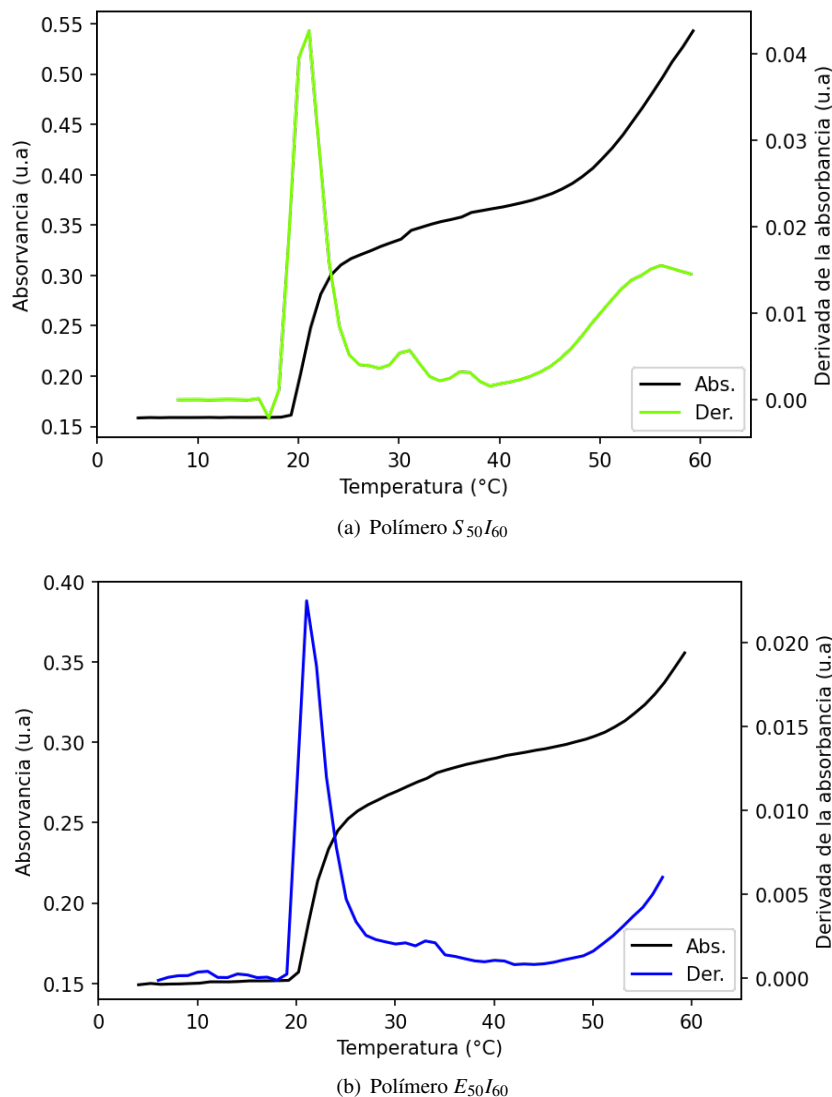
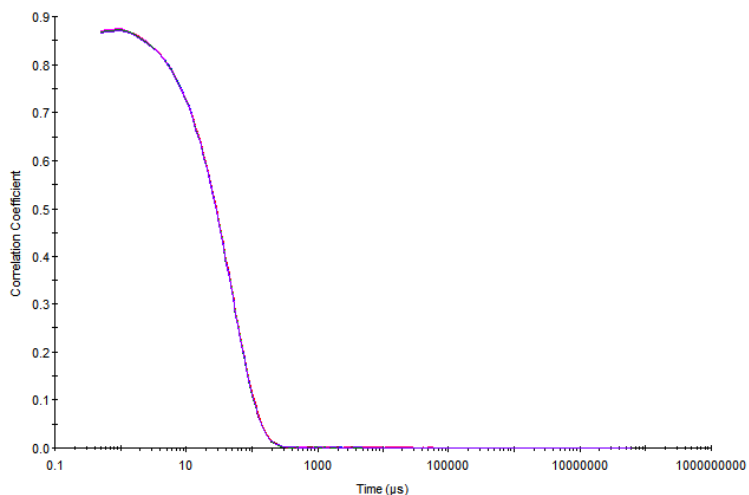


Figura 15: Absorbancia vs temperatura de los ELR.

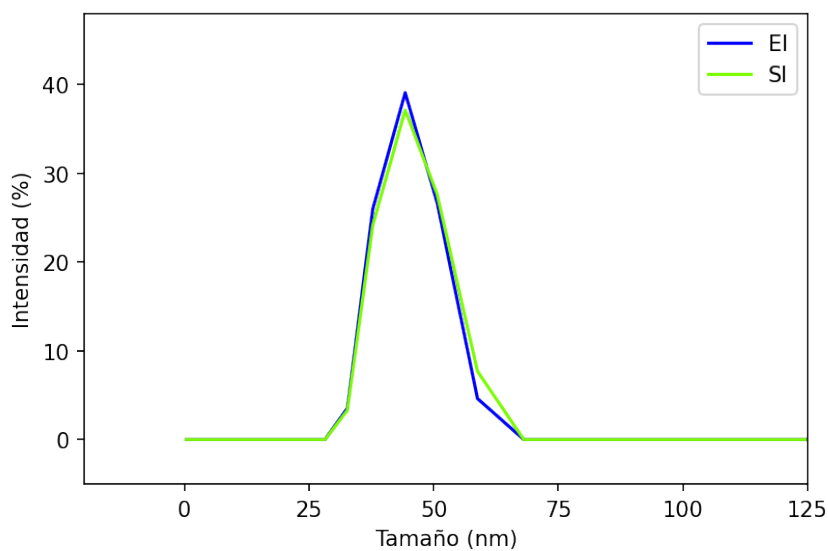
#### 4.2. Tamaño y potencial $z$ de las nanopartículas

Las nanopartículas que fueron analizadas por encima de su  $T_r$ , se aplicó una temperatura de  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  demostrando que el tamaño de las partículas dependen de su temperatura, ya que, cumple con su propiedad de auto-ensamblado donde podemos observar con la técnica de DLS el diámetro hidrodinámico de  $44.23 \pm 0.42\text{ d.nm}$  con un índice de polidispersión de 0.013 del polímero  $S_{50}I_{60}$ , mientras con el polímero  $E_{50}I_{60}$  demuestra un valor de  $43.70 \pm 0.60\text{ d.nm}$  dando como resultado una igualdad entre los valores de la polidispersión de las muestras indicando ser un grado de variación estable entre los diámetros hidrodinámicos presentes en los polímeros. Para la representación de la polidispersión de los valores obtenidos se obtiene a partir de la Fig.16 donde la polidispersión expresa el grado de variación que representa los pesos moleculares de un polímero. Relacionando la pendiente de la caída de la función de correlación con la dispersidad de los ELRs, a mayor caída mayor es la monodispersidad.



**Figura 16:** Gráfica de la pendiente de correlación del tamaño de las nanopartículas.

Sin embargo las medidas del tamaño de las nanopartículas autoensambladas no demuestran una variación significativa lo que conlleva a realizar un análisis de las propiedades isoelectricas de cada polímero induciendo un campo eléctrico por medio de los electrodos de las cubeta, evidenciando que los polímeros demuestran una diferencia en las propiedades isoelectricas, donde el polímero SI mantiene una carga débilmente negativa de  $-4.25 \pm 0.51$  mV y del polímero EI con un valor de  $-7.79 \pm 0.47$  mV, demostrando así una diferencia significativa entre sus propiedades isoelectricas.



**Figura 17:** Representación de los valores de intensidad con respecto al tamaño de las nanopartículas de los ELR.

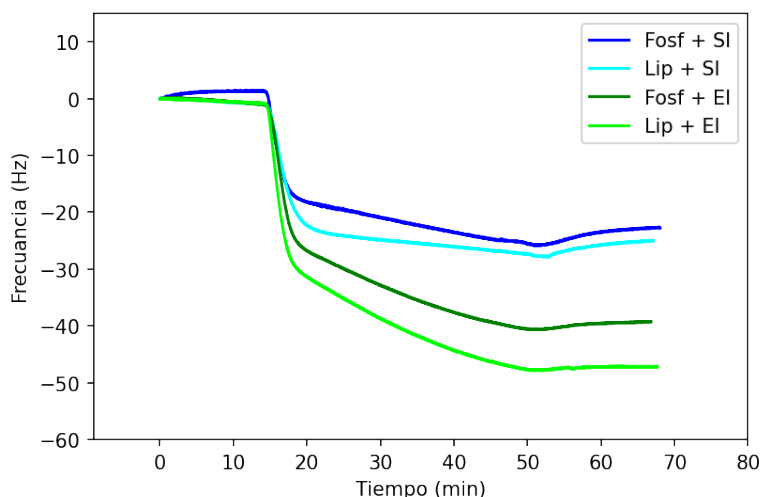
### 4.3. *Microbalanza de cuarzo (QCM-D)*

Se empleó la técnica de la microbalanza de cuarzo (QCM-D) para el monitoreo del crecimiento de las películas delgadas de las moléculas anfifílicas y el ensamblaje de los ELR. Midiendo las frecuencias de oscilación como la disipación en diferentes armónicos como 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 13. A medida que aumentamos el número de armónicos, disminuye el análisis de la profundidad de la penetración de la muestra y la relación señal/ruido, los armónicos 1 y 13 conducen a una pérdida de la señal por razón no se les considera en el análisis de los resultados [41]. Obteniendo la variación de la frecuencia y la disipación, relacionándose estos cambios con la masa asociada al material depositado y sus propiedades viscoelásticas.

La representación gráfica de las medidas del QCM-D se observa claramente que las etapas de la evolución demuestran ser un proceso gradual. La primera etapa se obtiene una línea de referencia haciendo fluir una solución de PBS 1x sobre las superficies funcionalizadas. La segunda etapa corresponde a la deposición de los ELRs, esta etapa se realiza de forma separada para cada molécula anfifílica y para cada polímero. Por último la etapa de lavado se deja fluir la misma solución de referencia PBS 1x interactuando con la superficie, lo cual este proceso nos permite eliminar residuos de las nanopartículas que no fueron adheridas con el sustrato.

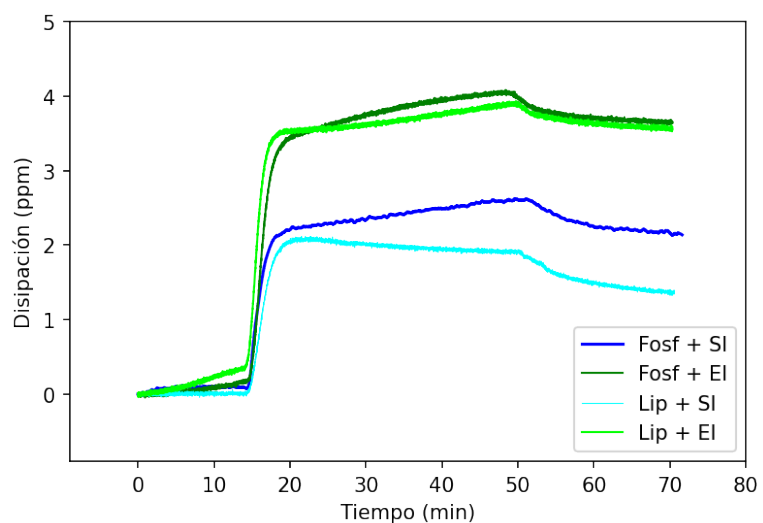
En la figura 18 se observa que en la etapa de deposición existe una caída precipitada, demostrando que, a medida que la frecuencia decae esta se asocia con el aumento de la masa del sensor indicándonos que hay una correcta deposición del sustrato prueba. Se observa una notable diferencia en la deposición entre los polímeros ya que existe una mayor interacción con la base de las moléculas anfifílicas con el polímero E<sub>50</sub> I<sub>60</sub>. Además, notamos que existe una pequeña similitud entre interacciones con los fosfolípidos y lípidos, ya que tienen un comportamiento similar en la disminución de la frecuencia pero con un rango de intervalos diferentes existiendo un cambio significativo entre estas. Mientras tanto en la etapa del lavado observamos que hay una diferencia notable entre polímeros, en el polímero S<sub>50</sub> I<sub>60</sub> hay un cambio brusco en el aumento de la frecuencia denotando pérdidas considerables de masa. Sin embargo en los polímeros E<sub>50</sub> I<sub>60</sub> apenas existe una variación en la pérdida de masa en el proceso del lavado.

En cambio, la representación de los valores de la disipación (Fig. 19) nos describe el comportamiento de la aglomeración de las películas delgadas, las cuales describen un aumento en la disipación asociándose a una capa suave de las interacciones que ocurre con las membranas biológicas y los ELRs. Se describe el comportamiento y las diferencias de los ELRs en la figura 19, la evolución del polímero E<sub>50</sub> I<sub>60</sub> se observa un aumento abrupto de la disipación, mientras que, la relación entre moléculas anfifílicas son totalmente invariables demostrando un comportamiento similar. El comportamiento del polímero S<sub>50</sub> I<sub>60</sub> presenta un aumento de forma controlada, pero sin embargo existe una diferencia entre cada molécula anfifílica notando



**Figura 18:** Evolución de la frecuencia con el tiempo en la etapa deposición de los ELR y la etapa de lavado de residuos.

una varianza en el comportamiento de la composición de la película, evidenciando que la interacción con las moléculas lipídicas presentan una composición menos blandas que con las moléculas fosfolípidicas esto puede ser una causa de su agregación o su interacción.



**Figura 19:** Evolución de la disipación con el tiempo en la etapa deposición de los ELRs y la etapa de lavado de residuos.

En la Tabla 1 nos representa los valores numéricos de la técnica QCM-D los cuales corroboran a las gráficas mencionadas anteriormente, donde se expresa la evolución de la frecuencia donde nos detallan la

deposición de la masa, además los valores del módulo elástico donde nos determina la rigidez de la capa delgada por medio de la evolución de la disipación.

Sustrato	Etapas	Masa [ $ng/cm^2$ ]	Módulo Elástico [ $kPa$ ]
<b>Fosfolípido + SI</b>	Deposición	3773.93 ± 216.73	83.51 ± 10.06
	Lavado	3686.35 ± 22.87	92.26 ± 1.54
<b>Lípido + SI</b>	Deposición	4001.01 ± 168.47	70.18 ± 5.13
	Lavado	3923.92 ± 14.17	68.99 ± 1.54
<b>Fosfolípido + EI</b>	Deposición	4194.63 ± 104.14	77.07 ± 9.43
	Lavado	4140.49 ± 11.81	79.52 ± 6.13
<b>Lípido + EI</b>	Deposición	4610.60 ± 138.63	69.14 ± 4.07
	Lavado	4558.42 ± 12.17	69.65 ± 0.35

**Tabla 1:** Medidas ajustadas con el modelo Broadfit de la masa y espesor en las interacciones de los ELR con las moléculas anfifílicas utilizando la técnica QCM-D.

#### 4.4. Ángulo de contacto

El ángulo de contacto fue un método de control utilizado para cada proceso en el tratamiento de las superficies verificando el cumplimiento de las condiciones de referencia de las propiedades hidrofóbicas de las moléculas depositadas en cada proceso. De esta manera se comprueba que el ángulo de contacto obtenidos en la funcionalización con fosfolípidos presenta una propiedad hidrofílica de  $62.25 \pm 3.63$ ; Mientras tanto las superficies funcionalizadas con las moléculas lipídicas demuestran un ángulo de  $95.45 \pm 0.47$  verificando que cumple con su propiedad altamente hidrofóbica. Posteriormente a la comprobación de las propiedades hidrofílicas se analizaron las interacciones de los polímeros SI depositadas sobre las moléculas fosfolípicas dando como resultado un ángulo de contacto de  $79.79 \pm 1.58$  demostrando un aumento de hidrofobicidad, mientras tanto el ángulo de contacto de la interacción entre los polímeros SI y las moléculas lipídicas es de  $81.66 \pm 0.93$  produciendo una disminución de su hidrofobicidad. Sin embargo el ángulo de contacto entre las interacciones de los polímeros EI con las moléculas fosfolípicas es de  $83.25 \pm 1.65$ , y la interacción de los polímeros EI sobre las moléculas lipídicas es de  $86.41 \pm 2.08$ .

Los valores obtenidos de las interacciones de los polímeros ELRs con las moléculas lipídicas y fosfolípicas no demuestran diferencias significativas, pero sin embargo existe una variabilidad en sus propiedades hidrofílicas y hidrofóbicas. Manifestando un aumento en la atracción del agua en las interacciones con los lípidos, y un aumento en la hidrofobicidad con los fosfolípidos. Demostrando que el comportamiento de las interacción no depende solamente de las membranas biológicas sino mas bien del comportamiento de aglomeración y afinidad de los ELRs.

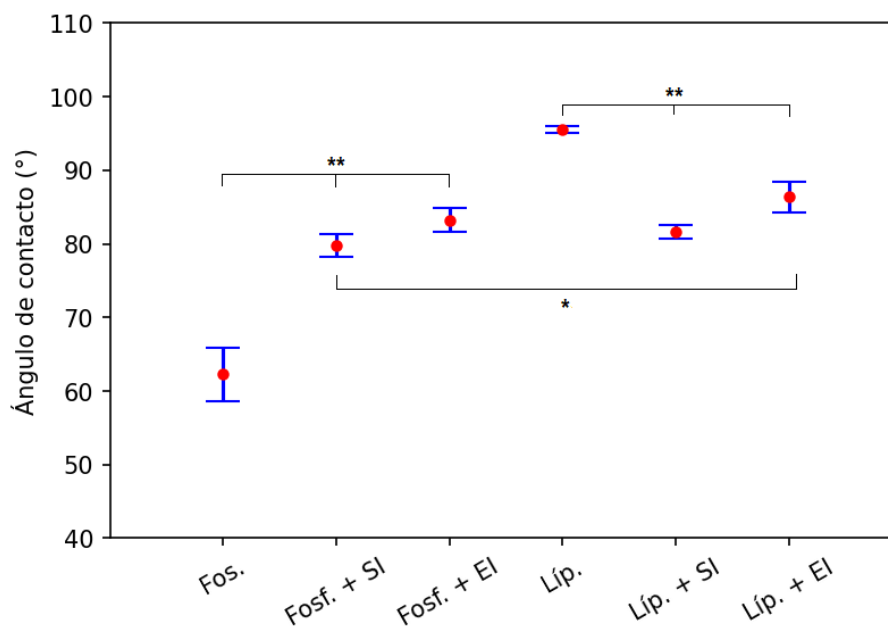


Figura 20: Ángulo de contacto de los sensores QSX 301

Sustrato	Ángulo de contacto [°]
<b>Fosfolípido</b>	62.25 ± 3.63
<b>Lípido</b>	95.42 ± 0.47
<b>Fosfolípido + SI</b>	79.79 ± 1.58
<b>Lípido + SI</b>	81.66 ± 2.08
<b>Fosfolípido + EI</b>	83.25 ± 1.65
<b>Lípido + EI</b>	86.41 ± 2.08

Tabla 2: Resultados del ángulo de contacto.

#### 4.5. Elipsometría

La técnica de elipsometría se ha utilizado para determinar el espesor de las películas delgadas en un medio seco. En la tabla 6 se representan los espesores obtenidos en cada caso, los cuales se indican valores inferiores en comparación con la técnica QCM-D. Esto ocurre a la diferencia del medio en que se encuentran las muestras, ya que la técnica de elipsometría debe estar totalmente libre de agua para que el procesamiento de datos no pueda ser alterado por los procesos ópticos de la técnica, además se trata de evitar la retención de agua por sus propiedades hidrofílicas previniendo la variabilidad de los valores.

Sustrato	Espesor [nm]	X <sup>2</sup>
<b>Fosfolípido + SI</b>	3.91 ± 0.787	0.20
<b>Lípido + SI</b>	1.02 ± 0.179	0.50
<b>Fosfolípido + EI</b>	2.49 ± 1.40	0.20
<b>Lípido + EI</b>	1.01 ± 0.283	0.58

Tabla 3: Espesor en seco del polímero ELR depositada sobre las moléculas anfifílicas.

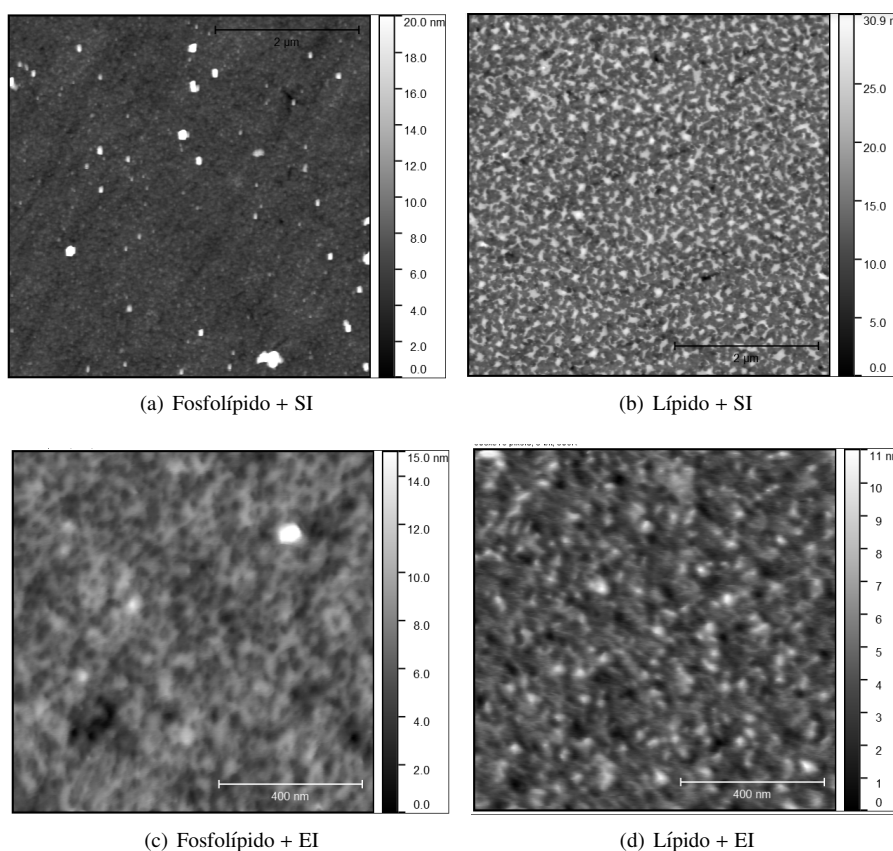


#### 4.6. Microscopia de fuerza atómica (AFM)

Se emplea la técnica de AFM para el estudio topográfico de las superficies al interactuar con los ELRs. Permite también calcular la rugosidad de las superficies, lo que es especialmente interesante para superficies homogéneas e isotrópicas. Los valores obtenidos de la rugosidad se presentan en la tabla 4 donde se encuentran diferencias significativas entre las interacciones finales de los ELR, demostrando que los valores de la rugosidad del SI son mayores que los EI. Sin duda alguna la variabilidad de la rugosidad nos detalla un parámetro importante de las propiedades mecánicas de la película creada por medio de las interacciones demostrando que las interacciones con los SI presentan una aglomeración más compacta y homogénea en comparación a los valores del EI donde presenta una aglomeración mucho más blanda y relativamente homogénea.

Sustrato	Rugosidad RMS (nm)
Fosfolípido + SI	$2.006 \pm 0.094$
Lípido + SI	$3.989 \pm 0.376$
Fosfolípido + EI	$1.364 \pm 0.298$
Lípido + EI	$1.602 \pm 0.138$

**Tabla 4:** Rugosidad RMS de las interacciones ELR con las membranas biológicas.



**Figura 21:** Caracterización de las superficies por medio del microscopio de fuerza atómica.

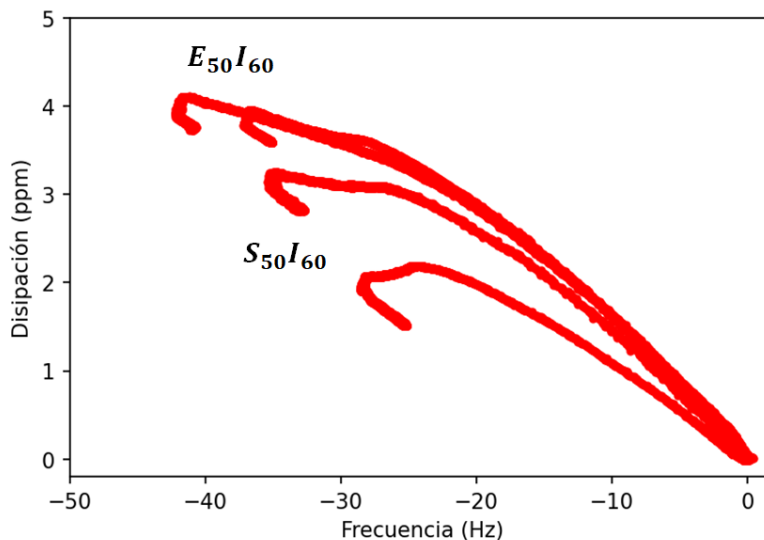
## 5. Discusión

Para el estudio de las interacciones de las nanopartículas auto-ensambladas se caracteriza principalmente por sus propiedades isoelectricas de los ELR, y su conformación del modelo de Langmuir de una estructura compleja. Su estructura principal es la superficie, esta debe presentar una biocompatibilidad con las moléculas anfífilas demostrando ser que las nanopartículas de oro comprenden una estabilidad del sistema biológico [43]. Los materiales que pueden ser utilizados en las superficies son importantes para el desarrollo de las técnicas para la creación de monocapas con el modelo Langmuir, realizando una funcionalización sobre las superficies con la ayuda del grupo tiol se mejora la adhesión de las moléculas anfífilas a la superficie por medio de enlaces covalente [44; 6].

Con ello para un buen control de funcionalización de las moléculas anfífilas, se empleó la técnica del ángulo de contacto siendo una técnica de control puesto que, se analiza y se comprueba las propiedades hidrófobas de la topología superficial, demostrando una dependencia de las propiedades y composición de la estructura. De esta manera se observó una gran diferencia en las propiedades de las moléculas, obteniendo en las moléculas lipídicas una elevada hidrofobicidad de  $95.45 \pm 0.47$  debido a su propiedad no polar. Mientras que las moléculas fosfolípicas debido a su grupo fosfato demuestran una propiedad polar, comprobando su propiedad hidrófila. Los datos obtenidos a su vez son comparados con el trabajo de investigación elaborado anteriormente [42], correlacionando los datos obtenidos.

Las propiedades de los ELR presentan una mínima variación entre polímeros, adquiriendo valores análogos en el tamaño de las partículas y la temperatura de transición siendo prácticamente imperceptible. Esta similitud es correspondiente a la dependencia con las cadenas poliméricas [45]. Por otro lado, existe una considerable diferencia en sus propiedades isoelectricas, siendo una característica esencial en las cadenas laterales de cada polímero por la presencia de grupos amino ( $\text{NH}_2 \rightarrow \text{NH}_3^+$ ) y grupos carboxilo ( $\text{COOH} \rightarrow \text{COO}^-$ ). Corroborando con la técnica del potencial Z, se puede comprobar que el polímero E<sub>50</sub> I<sub>60</sub> es una molécula aniónica con un valor de  $-7.79 \pm 0.47$  mV y el polímero S<sub>50</sub> I<sub>60</sub> presenta una carga débilmente negativa de  $-4.23 \pm 0.51$  mV.

El estudio de las interacciones entre las nanopartículas con las moléculas anfífilas se consideró la técnica QCM-D demostrando ser una técnica precisa y eficaz a una escala nanométrica, puesto que, es una técnica que nos describe el módulo elástico, viscosidad, masa y espesor de estas interacciones. Los valores se describen por medio de la frecuencia y la disipación, demostrando que para los polímeros EI existe una disminución abrupta en la frecuencia como se puede observar en la fig.18), esta variación de frecuencia se relaciona con la cantidad de materia depositada [50], observando una deposición de materia de forma progresivamente hasta obtener una estabilización entre los rangos de -45 Hz a -35 Hz la estabilización se



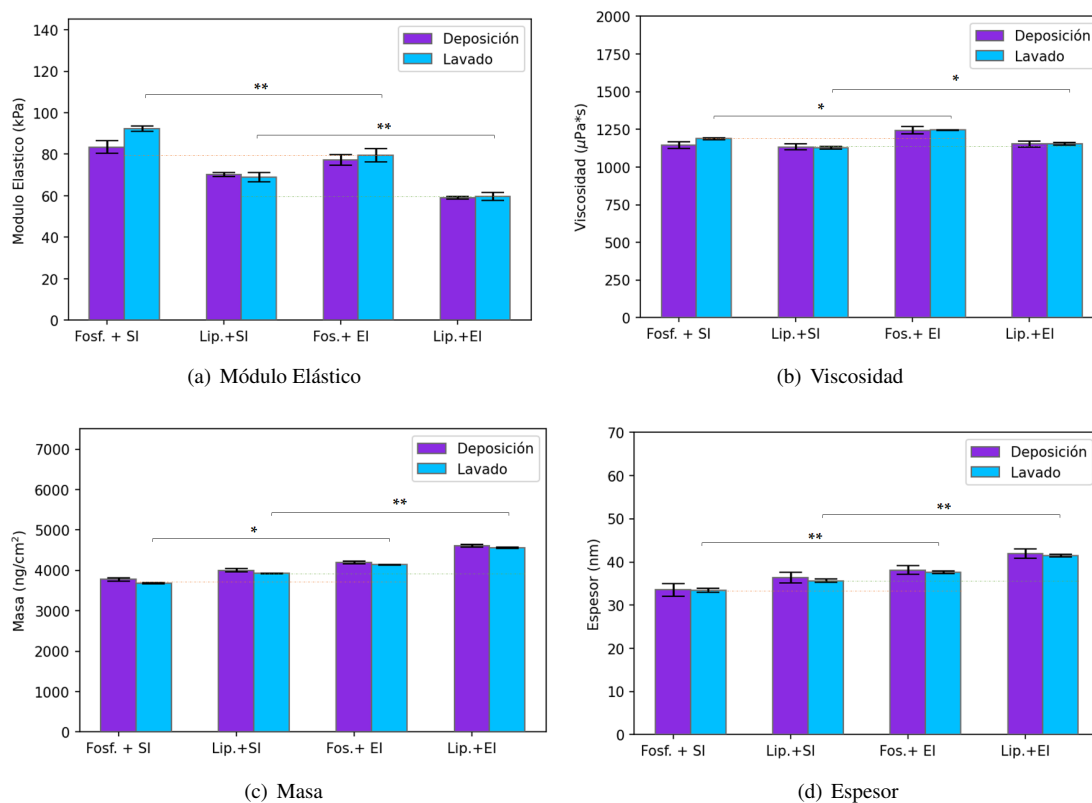
**Figura 22:** Comparación de la evolución del proceso de interacción de los polímeros  $S_{50}I_{60}$   $S_{50}I_{60}$

logra en la etapa de lavado. Por otro lado, en los polímeros SI podemos observar una disminución muy estable, sin embargo, se puede notar una diferencia en el comportamiento de las interacciones entre moléculas anfífilas, ya que, en los lípidos se observa una estabilización por adelantado. Demostrando una frecuencia entre los rangos de -22 Hz y - 18 Hz dando como resultado una deposición de masa menor, de la misma manera podemos observar una variación en la frecuencia en la etapa de lavado se puede describir como algo insignificante, ya que, esta variación puede pertenecer al lavado de los residuos que no fueron interactuados con las moléculas anfífilas.

Sustrato	Etapas	Módulo Elástico [kPa]	Viscosidad [ $\mu Pa*s$ ]
<b>Fosfolípido + SI</b>	Deposición	$83.51 \pm 10.06$	$1145.46 \pm 46.71$
	Lavado	$92.26 \pm 1.54$	$1187.63 \pm 6.79$
<b>Lípido + SI</b>	Deposición	$70.18 \pm 5.13$	$1133.34 \pm 34.93$
	Lavado	$68.99 \pm 1.54$	$1129.59 \pm 7.66$
<b>Fosfolípido + EI</b>	Deposición	$77.07 \pm 9.43$	$1244.48 \pm 57.05$
	Lavado	$79.52 \pm 6.13$	$1244.93 \pm 1.70$
<b>Lípido + EI</b>	Deposición	$69.14 \pm 4.07$	$1152.12 \pm 36.27$
	Lavado	$69.65 \pm 0.35$	$1153.01 \pm 7.31$

**Tabla 5:** Medidas ajustadas con el modelo Broadfit del módulo elástico y la viscosidad en las interacciones de los ELR con las moléculas anfífilas utilizando la técnicas QCM-D.

Las diferencias de las interacciones entre polímeros se representa en la fig.18 detallando a simple vista una interpretación variada entre polímeros y entre moléculas anfífilas. El polímero EI demuestra una deposición constante del material manifestando una dependencia con el tiempo de deposición, argumentando que la variable del tiempo y de la frecuencia son inversamente proporcional existiendo una ausencia de estabilidad en la etapa de deposición. Sin embargo, con el polímero SI se observa una disminución paulatinamente de la frecuencia, encontrando así una estabilización a medida que la evolución aumenta,



**Figura 23:** Características de las interacciones de los ELR con las moléculas fosfolípídicas y lipídicas

evidenciando un porcentaje de similitud en la estabilización en los rangos de -22 Hz y -28 Hz, donde podemos inferir que esta interacción es mucho más fuerte e incluso evidenciando que las partículas no adheridas en el proceso del lavado es mayor.

En la comprensión de las interacciones de los ELR se necesita analizar la formación del espesor por este motivo se realiza una comparación entre dos medios diferentes con las técnicas de elipsometría y QCM-D, donde la técnica de elipsometría nos permite determinar el espesor en un medio seco mientras que la técnica QCM-D es en un medio húmedo. Es importante comparar estas técnicas donde podemos obtener la contribución de agua presente en las capas y las diferencias de la conglomeración de las capas.

Sustrato	Porcentaje de H <sub>2</sub> O
<b>Fosfolípido + SI</b>	88.31 ± 0.58
<b>Lípido + SI</b>	97.13 ± 0.05
<b>Fosfolípido + EI</b>	93.38 ± 1.30
<b>Lípido + EI</b>	97.62 ± 0.54

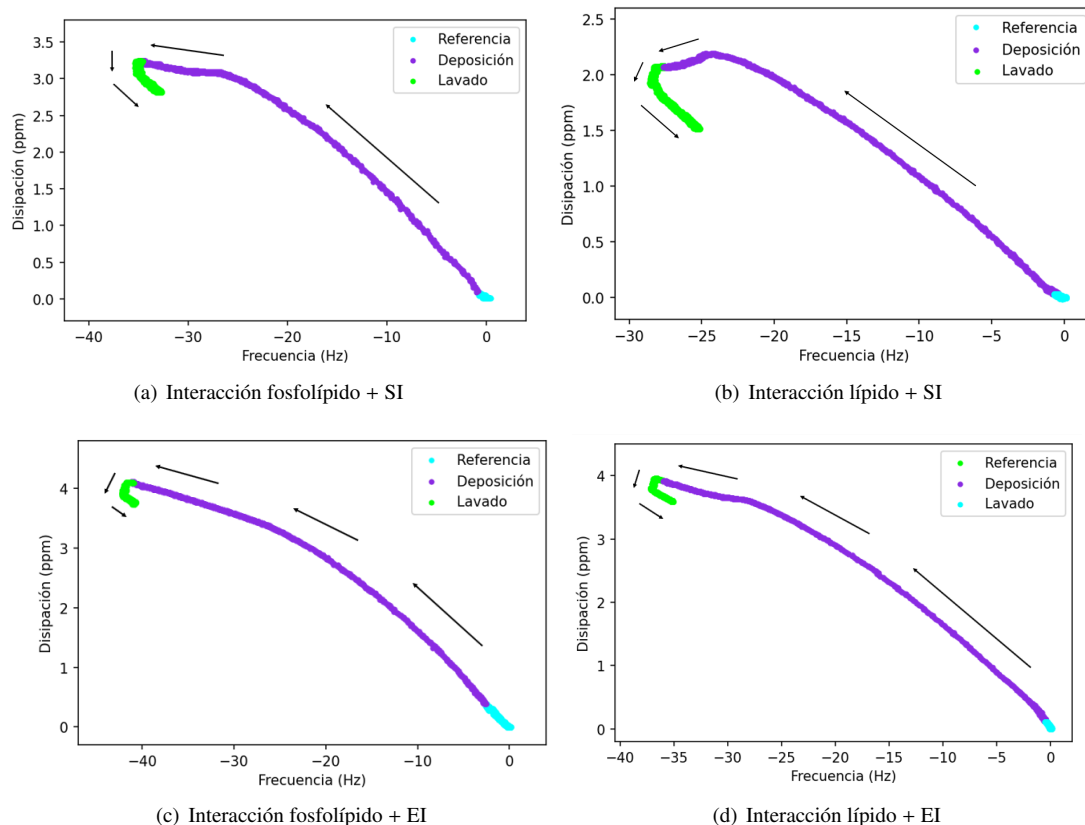
**Tabla 6:** Contribución del agua al espesor QCM-D.

Con ello se puede definir que la capa formada por el polímero EI tiene una mayor interacción con

el lípido demostrando ser una capa más hidratada que la formada sobre el fosfolípido pero sin embargo demuestra una diferencia estadísticamente significativa (\*\*) e incluso se puede corroborar (tabla 1) en el resultado de las masa, siendo esta una masa mayor por el porcentaje de agua que contribuye a la medida. Sin embargo, para la interacción en el polímero SI donde podemos diferenciar con respecto al otro polímero es por el porcentaje de contribución de agua en los fosfolípidos siendo una contribución menor y se debe a la conformación de las capas ya que puede estar expuesta la parte hidrófoba con el medio. Donde existen fuerzas intramoleculares mayores siendo esta la responsable de que exista menos deformaciones entre las interacciones, esto se puede definir como un aumento de la viscosidad en las interacciones con las moléculas fosfolípicas.

Es importante tener en cuenta la evolución de la frecuencia con respecto a la disipación esto nos puede definir las propiedades mecánicas entre interacciones, por lo que nos describe acerca del comportamiento dinámico de las nanopartículas ELR cuando entran en contacto con los modelos de las capas de las moléculas anfifílicas. Demostrando una evolución de forma paulatina y controlada de los procesos, además observar (Fig.24) la diferenciación entre los procesos deposición e incluso puede detallarnos el comportamiento del lavado como puede inferir este proceso a la conglomeración de estas interacciones. Donde se puede reiterar que a medida que la frecuencia es menor el aumento de masa es mayor, sin embargo, en el lavado se observa lo contrario un mayor aumento en la frecuencia existe una pérdida de masa [50], mientras exista una disminución en la viscosidad este nos determina que tan compacta se encuentra la capa, pero si la viscosidad se comporta de forma contraria a lo mencionado nos determinaría que tan blanda es la capa [50].

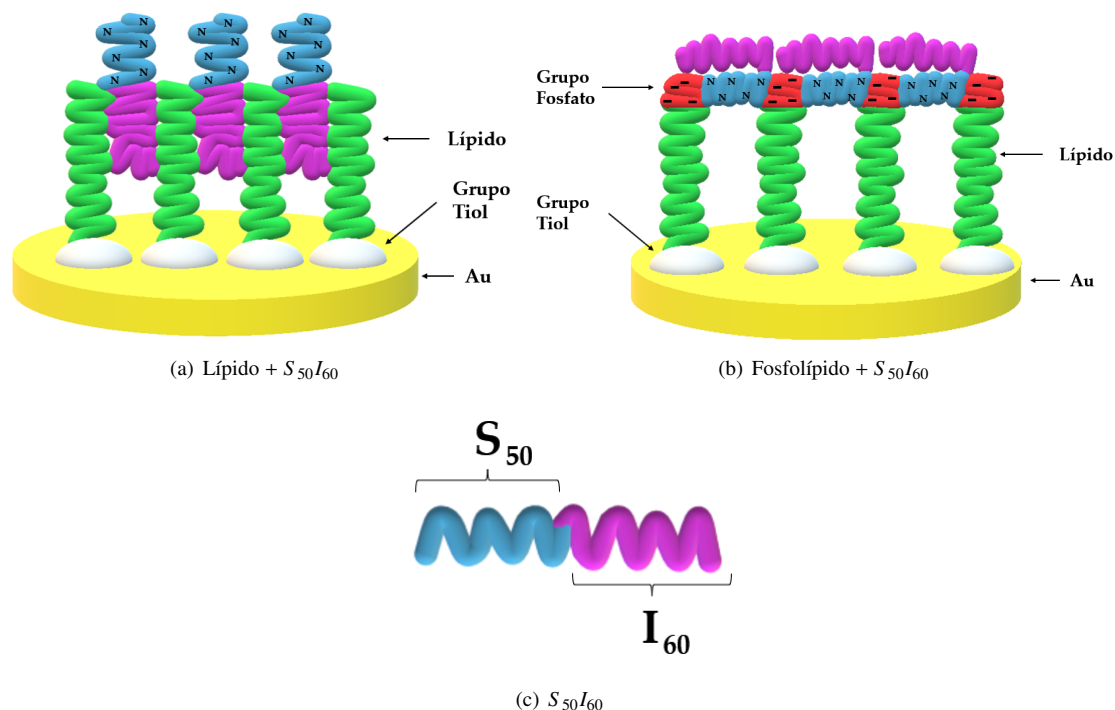
La interpretación de la Fig.24 en los polímeros SI existe notablemente una diferencia en el comportamiento de la disipación entre fosfolípidos y lípidos. Sin embargo en la evolución de la frecuencia encontramos que hay un aumento lineal en la deposición de la materia hasta un punto en concreto donde esta genera una estabilización, donde la frecuencia va aumentando paulatinamente encontrando la correlación de la fig.18 donde se menciona sobre la existencia de una estabilización en la evolución de la frecuencia, después del acontecimiento ocurrido se observa un cambio en la disipación con más relevancia en la interacción de los lípidos ya que existe una caída abrupta describiéndonos que la capa comienza a tener un comportamiento más rígido, sin embargo existe un comportamiento diferente en los fosfolípidos encontrando un diminuto incremento y luego ocurre una estabilización, dando como resultado una capa más rígida en los fosfolípidos que en los lípidos. Por lo tanto, en el proceso del lavado se observa un reordenamiento de las moléculas estas decrecen de forma lineal a la disipación dando como resultado una capa menos rígida y una eliminación de las nanopartículas no adheridas.



**Figura 24:** Disipación en función de la frecuencia de los ELR sobre las moléculas fosfolípídicas y lipídicas.

En la interacción de los polímeros EI (Fig.24) existe un comportamiento ligeramente diferente entre las moléculas de fosfolípidos y lípidos. El aumento de la frecuencia es de forma lineal en los dos casos pero sin embargo existe un comportamiento diferente en el cambio de la disipación donde en la interacción de los fosfolípidos a medida que aumenta la frecuencia este aumenta la disipación y detalla claramente que a medida que aumentamos la masa de la capa no existe una interacción ya que obtenemos un aumento en la suavidad de la capa, pero sin embargo en los lípidos existe un pequeño cambio en la disipación pero se puede observar que no influye al comportamiento. La etapa de lavado es algo imperceptible ya que existe una disminución menor en la disipación y la frecuencia.

Dado la comparación entre los ELR notamos una diferencia sustancial como primer punto en la evolución de la frecuencia, obteniendo una interacción menor en los polímeros EI siendo una interacción débil por las propiedades isoelectricas ya que este se encuentra cargado negativamente ocurriendo una fuerza de repulsión con los grupos fosfatos, sin embargo la aglomeración de la materia en los polímeros SI es mucho más fuerte por lo que es una evolución lineal obteniendo una interacción mayor debido a su propiedad isoelectrica e incluso teniendo una carga neutra existe interacciones entre los grupos hidrófobicos y además existiendo una interacción intermolecular con los grupos fosfato y la secuencia con carga neutra del ELR,



**Figura 25:** Representación en la conglomeración de las interacciones del polímero  $S_{50}I_{60}$

obteniendo de esta manera interacciones de capas rígidas.

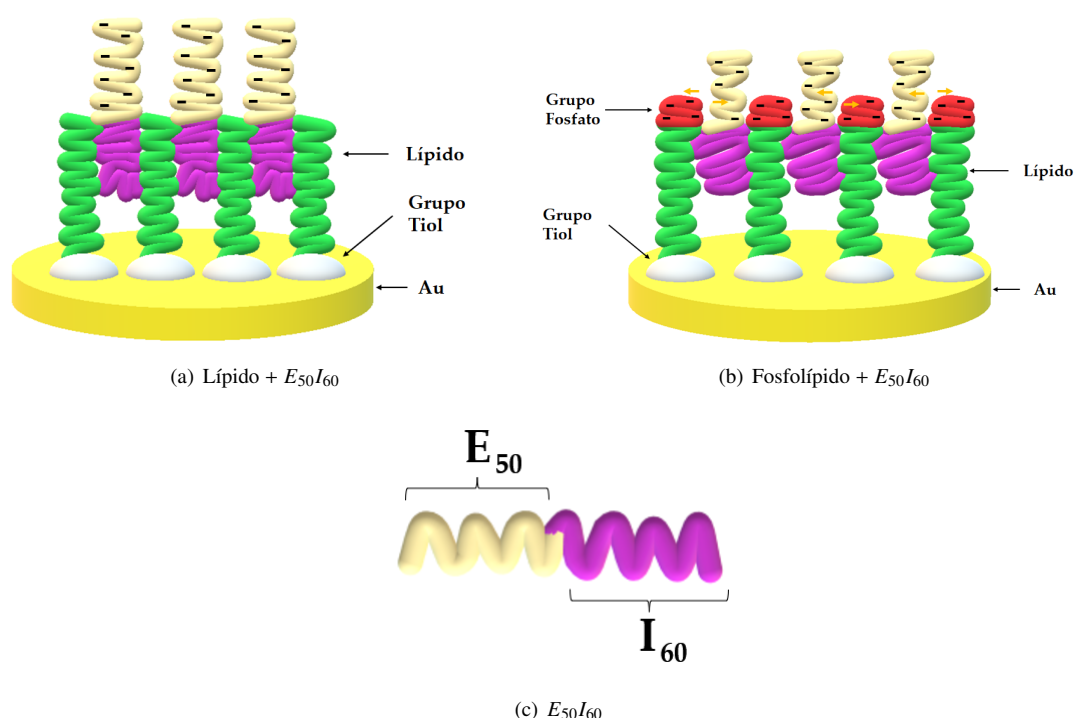
La interpretación de la conglomeración entre partículas hidrófobas se puede obtener por el análisis de la técnica del ángulo de contacto (Fig.20). Describiendo las propiedades hidrófobas de cada muestra, al interaccionar las partículas ELR con las moléculas fosfolípídicas estas cambian sus propiedades demostrando que existe un solapamiento de la parte hidrófoba, probando que la cadena apolar del aminoácido de la isoleucina queda parcialmente expuesta con el medio acuoso evidenciando una interacción del grupo fosfato con las cadenas hidrofílicas polares.

Sustrato	Ángulo de contacto	Espesor [nm]
<b>Fosfolípido + SI</b>	$79.79 \pm 1.58$	$83.51 \pm 10.06$
<b>Lípido + SI</b>	$81.66 \pm 0.93$	$70.18 \pm 5.13$
<b>Fosfolípido + EI</b>	$83.25 \pm 1.65$	$77.07 \pm 9.43$
<b>Lípido + EI</b>	$86.41 \pm 2.08$	$69.14 \pm 4.07$

**Tabla 7:** Medida ajustada con el modelo Broadfit del espesor de la película delgada y del ángulo de contacto de las interacciones de los ELR.

Dado la ilustración de la Fig.25 nos detalla las interacciones de acuerdo a los resultados obtenidos por las diferentes técnicas siguiendo los parámetros de las evoluciones de la frecuencias y las disipación. Además se correlaciona los parámetros sobre el espesor detallando las interacciones que podría asumir el polímero  $S_{50}I_{60}$  con las moléculas base. Demostrando una aglomeración de partículas con las mismas propiedades hidrófobas tales que se detallan como las moléculas lipídicas y la isoleucina presente en el ELR, esto se debe por el principio de auto-ensamblaje de las propiedades de la elastina donde la parte hidrofóbica

se ensambla de tal manera que esta no interacciones con el medio, pero sin embargo la parte hidrofílica interacciona con el medio acuoso presentando una acumulación de agua en la serina, estos valores son correlacionado con la contribución de H<sub>2</sub>O (Tabla6) siendo un porcentaje de  $97.13 \pm 0.005$ . Donde podemos asumir la responsabilidad de la transición de las propiedades hidrófobas del lípido con respecto al ángulo de contacto. Sin embargo para Fig.25(b) la aglomeración es de forma contraria ya que existe una unión de los grupo fosfato con la parte hidrofílica presentado por la serina, y la parte de la isoleucina se aglomera en la superficie del grupo fosfato pero sin interactuar con ella debido a su propiedad polar cargado débilmente negativa. Demostrando una contribución de agua menor aun siendo una interacción con una molécula fosfolipídica, ya que la parte hidrófoba se encuentran plegadas en la superficie demostrando una repulsión con el medio acuoso.



**Figura 26:** Representación en la conglomeración de las interacciones del polímero  $E_{50}I_{60}$

En cuanto a las interacciones con el polímero  $E_{50}I_{60}$  demuestra la misma relación en los lípidos con una aglomeración entre moléculas que presentan una similitud en las propiedades hidrofóbicas. Sin embargo para las interacción con los grupo fosfato (Fig.26(b)) encontramos la misma aglomeración entre grupos hidrófilicos pero se encuentra una diferenciación en la representación del grupo isoleucina, existiendo una repulsión entre el grupo fosfato y el ácido glutámico, donde sus cargas son negativas. Se puede observa un aumento en la contribución de agua con respecto a la interacción del polímero SI, ya que en esta interacción quedan parcialmente expuesto los grupos fosfato donde estos se encuentran interaccionando con el medio acuoso y produciendo un hinchazón de los grupos fosfatos.



## 6. Conclusiones

A lo largo del presente trabajo de investigación se ha abordado el estudio del comportamiento de las nanopartículas cargadas negativamente y con propiedades neutras, además se ha estudiado las interacciones de los ELR con membrana biológica sintética. Se comenzó estudiando el comportamiento de los ELR como  $E_{50}I_{60}$  y  $S_{50}I_{60}$ , donde los resultados obtenidos del estudio de la temperatura de transición y del tamaño de las nanopartículas demostraron valores muy similares debido a que los ELR utilizados presentan las mismas secuencias repetitivas de aminoácidos detallando que para alterar sus propiedades y el comportamiento de los ELR se basa en la modificación de la secuencia por medio de la técnica recombinantes del ADN.

Para realizar el estudio de las interacción de los ELR con las membranas biológicas se detalla principalmente por sus superficies de Au por sus propiedades de adhesión con las moléculas lipídicas y fosfolípicas. Donde estas juegan un papel fundamental para la simulación del modelo de una membrana biológica demostrando ser una herramienta valiosa para lograr una adhesión celular selectiva espacialmente controladas por medio de los grupos tiolos y la unión de las membranas biológicas con la superficies por medio de un enlace covalente que proporciona los grupos tiolos. Para comprender las interacciones de los ELRs con las membranas biológicas se llevo a cabo por medio de la técnica QCM-D, ya que esta técnica nos ayuda a observar de forma remota el comportamiento de las interacciones por medio de la evolución de la frecuencia y la disipación. Las principales diferencias en las interacciones se dan a partir de la base de la interacción y con ello el comportamiento de cada ELR, donde la base de la interacción juega un papel crucial, ya que al interactuar con una base lipídica sobre la superficie de Au estas no poseen ninguna interacción con la secuencia predominante de su carga isoelectricas detallando una interacción hidrofóbicas. Pero sin embargo el comportamiento es distinto con una base fosfolipidica al poseer una estructura del grupo fosfato detallando una carga negativa, ya que estas tienden a relacionarse con las secuencias que poseen las cargas isoelectricas existiendo un tipo de interacción diferente para cada ELR. Donde el ELR  $S_{50}E_{60}$  determina una interacción intermolecular atractiva existiendo una atracción entre puentes de hidrógeno y átomos electronegativos. No obstante para el ELR  $E_{50}E_{60}$  existe una fuerza repulsiva entre la secuencia negativa y el grupo fosfato existiendo en este caso una interacción hidrofóbica.

La comprensión de las interacciones entre ELR con lípidos y fosfolípidos, nos demuestra que las interacciones con los  $E_{50}I_{60}$  puedan depositarse en mayor cantidad sobre una membrana biológica pero tiene el riesgo que a medida que esta vaya interaccionando con un medio acuoso tienda a presentar pérdidas, demostrando que la interacción es de tipo suave. Sin embargo para las interacciones  $S_{50}I_{60}$  presenta una deposición menor sobre una membrana biológica pero sin embargo esta interacción es compacta, ya que al interactuar con un medio acuoso no va a existir pérdida.

Con ello abre un camino para la investigación relacionada sobre los ELR y las aplicaciones biomédicas en la encapsulación de fármacos. A simple vista se puede determinar que las aplicaciones de los  $S_{50}I_{60}$  nos permitirá el estudio del transporte de fármacos a una determinada área sin pérdidas aparentes del fármaco. Y las aplicaciones biomédicas de los  $E_{50}I_{60}$  nos proporcionara un estudio de la liberación controlada de fármacos.

## Referencias

- [1] D. Urry, T. Trapane, K. Prasad, "Phase-structure transitions of the elastin polypentapeptide–water system within the framework of composition–temperature studies", *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, vol. 24, no 12, p. 2345-2356, 1985.
- [2] J. Park, R. Lakes, "Biomaterials: an introduction", Springer Science Business Media, 2007.
- [3] J. Hanker, B. Giammara, "Biomaterials and biomedical devices", *Science*, vol. 242, no 4880, p. 885-892, 1988.
- [4] G. Orchard, B. Nation, "Cell structure function", Oxford University Press, 2015.
- [5] R. Wardhan, M. Padmshree, "Textbook of membrane biology", Springer, vol. 35, no 8, p. 942-946, 2017.
- [6] W. Engelman, D. Engelman, "Current models for the structure of biological membranes", *The Journal of cell biology*, vol. 42, no 3, p. 613, 1969, doi: 10.1083/jcb.42.3.613.
- [7] F. EMBS et al., "Preformed polymers for Langmuir–Blodgett films–molecular concepts", *Advanced Materials*, vol. 3, no 1, p. 25-31, 1991, doi: 10.1002/adma.19910030106.
- [8] V. Kaganer, V. MÖHWALD, and H. Dutta, "Structure and phase transitions in Langmuir monolayers", *Reviews of Modern Physics*, vol. 71, no 3, p. 779, 1999, doi: 10.1002/adma.19910030106.
- [9] C. Peetla, A. Stine, V. Labhassetwar, "Biophysical interactions with model lipid membranes: applications in drug discovery and drug delivery", *Molecular pharmaceutics*, vol. 6, no 5, p. 1264-1276, 2009, doi: 10.1021/mp9000662
- [10] M. Caldera-Villalobos, V. Álvarez-Venicio, M. Carreón-Castro, "Construcción de películas de Langmuir-Blodgett a partir de nanoestructuras", *Consejo Ejecutivo*, p. 4, 2022.
- [11] J. Vicent, "Structural biomaterials", Princeton University Press, 2012.
- [12] E. Pérez del Río, et. al. "Síntesis y caracterización de nuevos polímeros recombinámeros tipo elastina fusionados a eGFP para la formación de nanopartículas", Universidad de Valladolid, 2015.
- [13] C. Perrin, J. Nielson. "Strong hydrogen bonds in chemistry and biology", *Annual review of physical chemistry*, vol. 48, no 1, p. 511-544, 1997.
- [14] C. Perrin, J. Nielson. "Strong hydrogen bonds in chemistry and biology", *Annual review of physical chemistry*, vol. 48, no 1, p. 511-544, 1997.
- [15] A. Sierra Ramos, "Síntesis, caracterización y estudio preliminar de la formación de puentes de hidrógeno intermolecular de sistemas fenilvinilideno", *Química*, 2011.
- [16] R. Chang, "Physical chemistry for the biosciences", University Science Books, 2005.
- [17] W. Hassouneh et al., "Elastin-like polypeptide diblock copolymers self-assemble into weak micelles", *Soft Matter*, vol. 48, no 12, p. 4183-4195, 2015, doi: 10.1021/acs.macromol.5b00431.
- [18] J.C. Rodríguez-Cabello, I.G. De Torre, and S. Acosta, "Elastin-like proteins: molecular design for self-assembling", Woodhead Publishing, p. 49-785, 2018, doi: 10.1016/B978-0-08-102015-9.00004-6.
- [19] R. Rayner, "Pump users handbook (4th ed. edición)", Elsevier Advanced Technology, vol. 4, 1995.
- [20] L. Martín et al., "Temperature-triggered self-assembly of elastin-like block co-recombinamers: the controlled formation of micelles and vesicles in an aqueous mediums", *Biomacromolecules*, vol. 13, no 2, p. 293-298, 2012, doi: 10.1021/bm201436y.
- [21] J. Despanie et al., "Elastin-like polypeptides: Therapeutic applications for an emerging class of nanomedicines", *Journal of Controlled Release*, vol. 240, p. 93-108, 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2015.11.010.
- [22] R. Sallach et al., "Elastin-mimetic protein polymers capable of physical and chemical crosslinking", *Biomaterials*, vol. 30, no 3, p. 409-422, 2009, doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.09.040.
- [23] T. Kukiuchi, et at., "Miscibility of adsorbed 1-undecanethiol and 11-mercaptoundecanoic acid species in binary self-assembled monolayers on Au (111)", *Biotechnology journal*, vol. 17, no 5, p. 1599-1603, 2001, doi: 10.1021/la0014757.
- [24] A. Girotti, A. Fernández-Colino, I. M. Torre, F. J., "Elastin-like recombinamers: Biosynthetic strategies and biotechnological applications", *Biotechnology journal*, vol. 6, no 10, p. 1174-1186, 2011, doi: 10.1002/biot.201100116.
- [25] M. Quinde, P. P. Sarmiento, "Plasma: una tecnología de gran potencial para la industria y la ciencia.", *Ingenius*, 2010.

- [26] Q. Chen, et al., "QCM-D study of nanoparticle interactions", *Advances in colloid and interface science*, vol. 233, p. 94-114, 2016.
- [27] C. Garcia-Arevalo, J. F. Bermejo-Martin, L. V. Rico. Iglesias, L. Martin, J. C. Rodriguez-Cabello and F. J. Arias, "Immunomodulatory nanoparticles from elastin-like recombinamers: single-molecules for tuberculosis vaccine development", *Molecular pharmaceutics*, vol. 10, no 2, p. 586-597, 2013, doi: 10.1021/mp300325v.
- [28] S. Mithieux A. Weiss "Elastin", *Advances in protein chemistry*, vol. 70, p. 437-461, 2005
- [29] F. Almine, et al. , "Elastin-based materials", *Molecular pharmaceutics*, vol. 39, no 9, p. 3371-3379, 2010.
- [30] F. Keeley, C. Bellingham, and K. Woodhouse, "Elastin as a self-organizing biomaterial: use of recombinantly expressed human elastin polypeptides as a model for investigations of structure and self-assembly of elastin", *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, vol. 357, no 1418, p. 185-189, 2002.
- [31] J. Reguera, et al., "Estudio de la transición inversa con la temperatura en polímeros tipo elastina con creciente funcionalidad", Universidad de Valladolid, 2008.  
REGUERA GÓMEZ, Javier, et al. 2008.
- [32] S. Acosta, L. Quintanilla-Sierra, and J. C. Rodriguez-Cabello, "Charge Density as a Molecular Modulator of Nanostructure in Intrinsically Disordered Protein Polymers", *Biomacromolecules*, vol. 22, no 1, p. 158-170, 2020, doi: 10.1021/acs.biomac.0c00934
- [33] ST. Lars, et al., "Analysis of variance (ANOVA)", *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, vol. 6, no 4, p. 259-272, 1989.
- [34] M. H. Misbah, L. Quintanilla, M. Alonso, and J. C. Rodriguez-Cabello, "Evolution of amphiphilic elastin-like co-recombinamer morphologies from micelles to a lyotropic hydrogel", *Polymer*, vol. 81, p. 37-44, doi: 10.1016/j.polymer.2015.11.013.
- [35] K. Patri, F. Kukowska-Latallo, JR. Baker, R. James, "Targeted drug delivery with dendrimers: comparison of the release kinetics of covalently conjugated drug and non-covalent drug inclusion complex", *Advanced drug delivery reviews*, vol. 57, no 15, p. 2203-2214, 2005, doi: 10.1016/j.addr.2005.09.014.
- [36] R. Foord, et al. "Determination of diffusion coefficients of haemocyanin at low concentration by intensity fluctuation spectroscopy of scattered laser light. *Nature*", vol. 227, no 5255, p. 242-245, 1970.
- [37] N. Díaz et al. "Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas", Universidad de Córdoba, p. 1-8, 2010.
- [38] X. Fan, W. Zheng, D. Singh, "Light scattering and surface plasmons on small spherical particles", *Light: Science Applications*, vol. 3, no 6, p. e179-e179, 2014.
- [39] M. Kaszuba, et al., "High-concentration zeta potential measurements using light-scattering techniques. *Philosophical transactions of the royal society a: mathematical, physical and engineering sciences*, vol. 368, no 1927, p. 4439-4451, 2010.
- [40] J. E. Tibaquirá, et al., " Mediciones de potencial zeta de microesferas de vidrio en glicol de etileno y en soluciones tampón de fosfato", *Scientia et Technica*, vol. 1, no 35, 2007.
- [41] A. D. Easley, et al., "A practical guide to quartz crystal microbalance with dissipation monitoring of thin polymer films", *Journal of Polymer Science*, vol. 60, no 7, p. 1090-1107, 2022, doi: 10.1002/pol.20210324.
- [42] P. Gironés Payá, I. González de Torre, J. C. Rodríguez-Cabello, "Estudio de la interacción de nanopartículas autoensambladas basadas en un ELR anfífilico positivo con modelos de membranas biológicas", Universidad de Valladolid, 2021.
- [43] Y. Zhuo, et al., " A reagentless amperometric immunosensor based on gold nanoparticles/thionine/Nafion-membrane-modified gold electrode for determination of -1-fetoprotein", *Electrochemistry communications*, vol. 7, no 4, p. 355-360, 2005.
- [44] H. Häkkinen, " The gold-sulfur interface at the nanoscale", *Nature chemistry*, vol. 4, no 6, p. 443-455, 2012.
- [45] H. Becker L. E. Locascio, " Polymer microfluidic devices", *Talanta*, vol. 56, no 2, p. 267-287. 2002.
- [46] U. Latif, S. Can, O. Hayden, P. Grillberger, F. L. Dickert, " Sauerbrey and anti-Sauerbrey behavioral studies in QCM sensors—Detection of bioanalytes", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 176, p. 825-830, 2013.
- [47] M. Rivai, A. Arifin, E. Agustin, "Mixed vapour identification using partition column-QCMs and Artificial Neural Network",

- International Conference on Information Communication Technology and Systems (ICTS), p. 172-177, 2016.
- [48] H. Tompkins, E. Irene, "Handbook of ellipsometry", William Andrew, 2005.
- [49] V. J. García, E. Irene, "Supervisión del crecimiento de capas inhomogéneas y del gas de fondo en ablación láser", CICESE, 2003.
- [50] Q. Chen, et al., " QCM-D study of nanoparticle interactions", Advances in colloid and interface science, vol. 233, p. 94-114, 2016.

## 7. APENDICE

### 7.1. Resultados de la técnica del ángulo de contacto

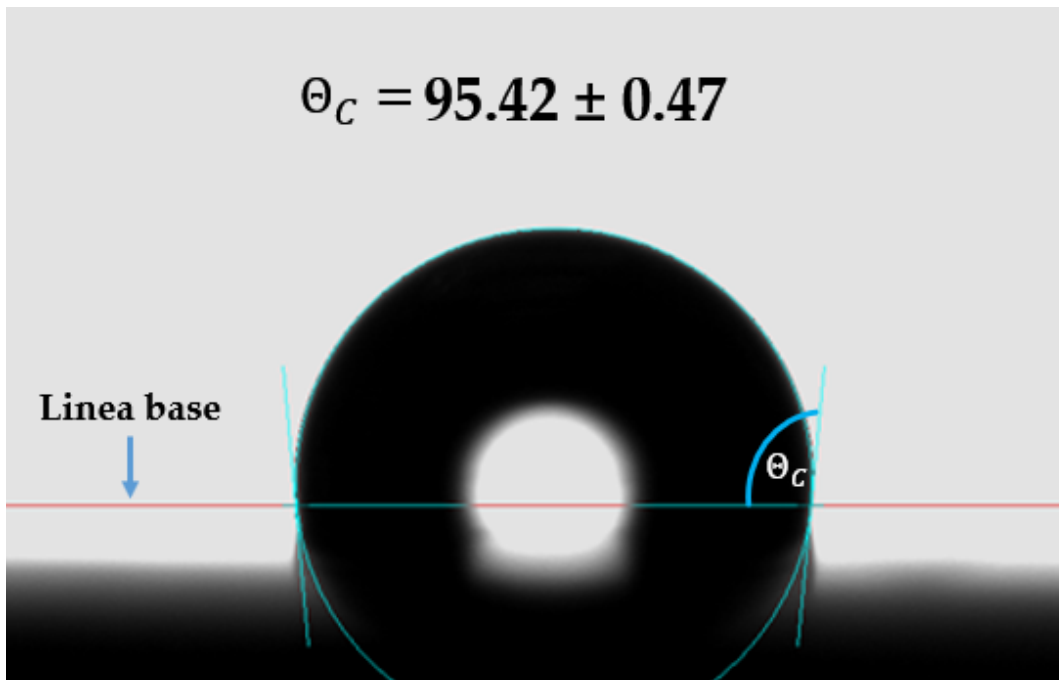


Figura 27: Ángulo de contacto de la molécula Lipídica.

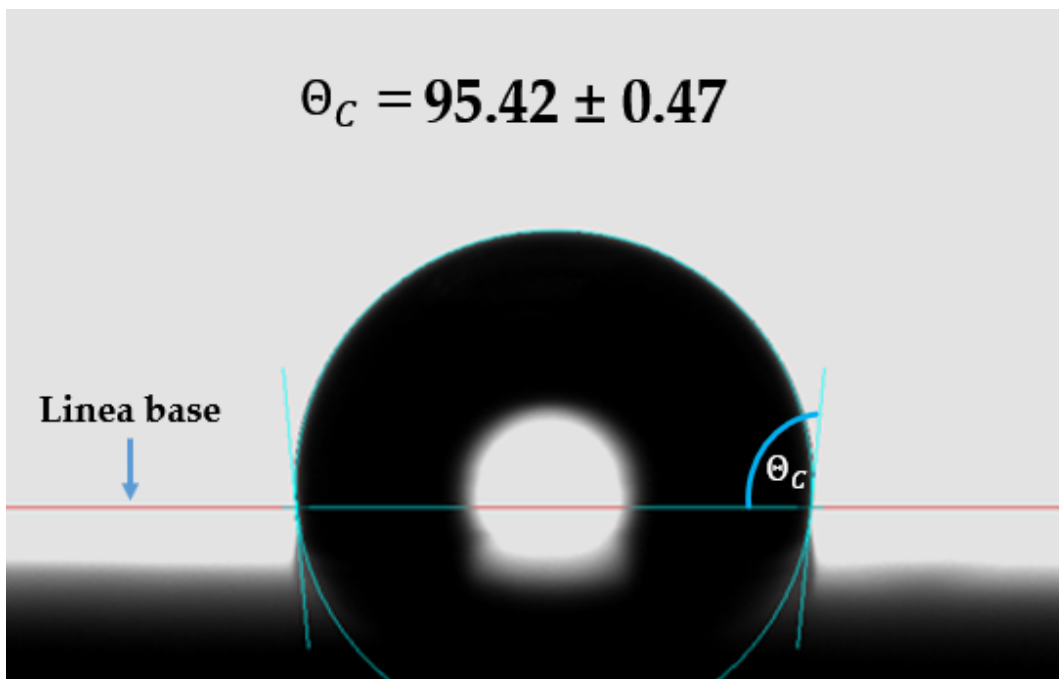


Figura 28: Ángulo de contacto de la molécula Fosfolipídica.

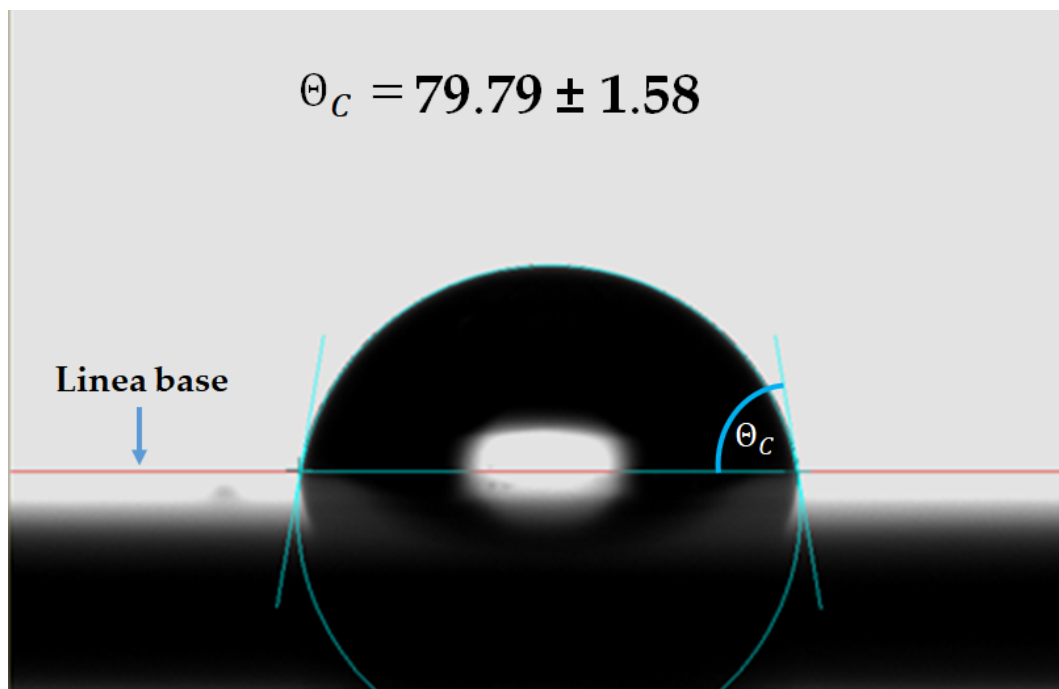


Figura 29: Ángulo de contacto de la interacción fosfolípidos y  $S_{50}I_{60}$ .

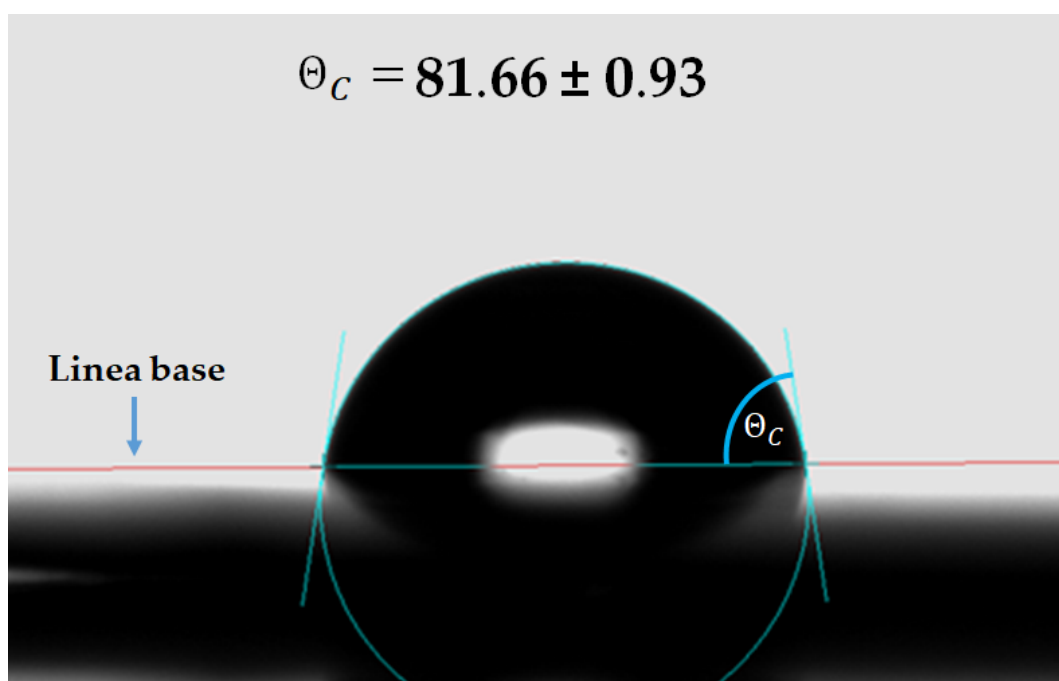


Figura 30: Ángulo de contacto de la interacción lípidos y  $S_{50}I_{60}$ .

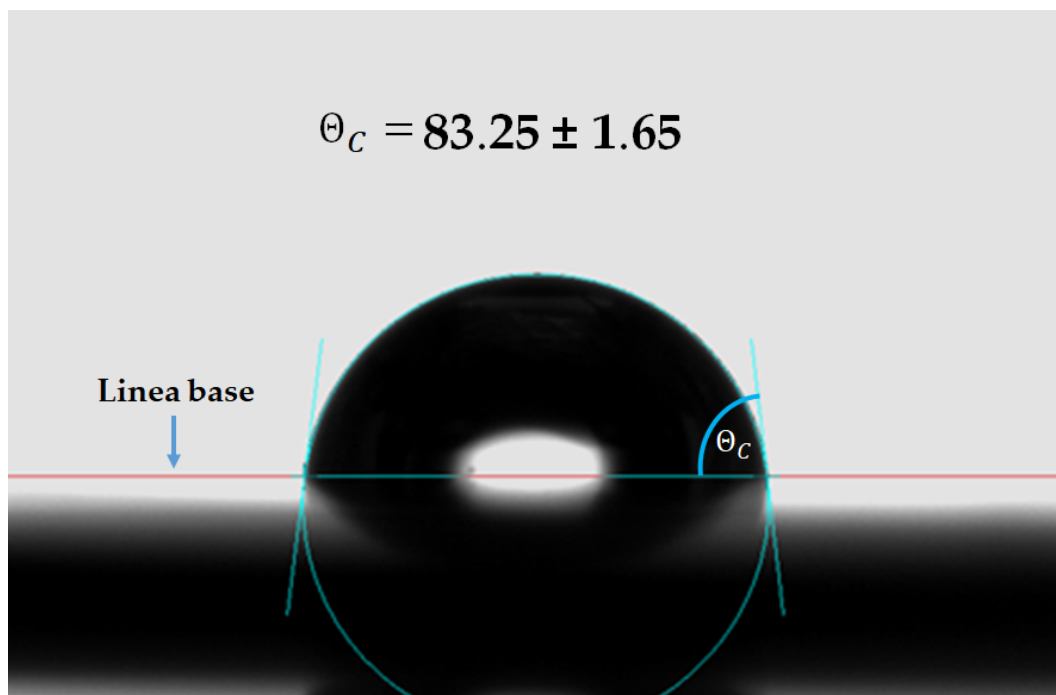


Figura 31: Ángulo de contacto de la interacción fosfolípidos y  $E_{50}I_{60}$ .

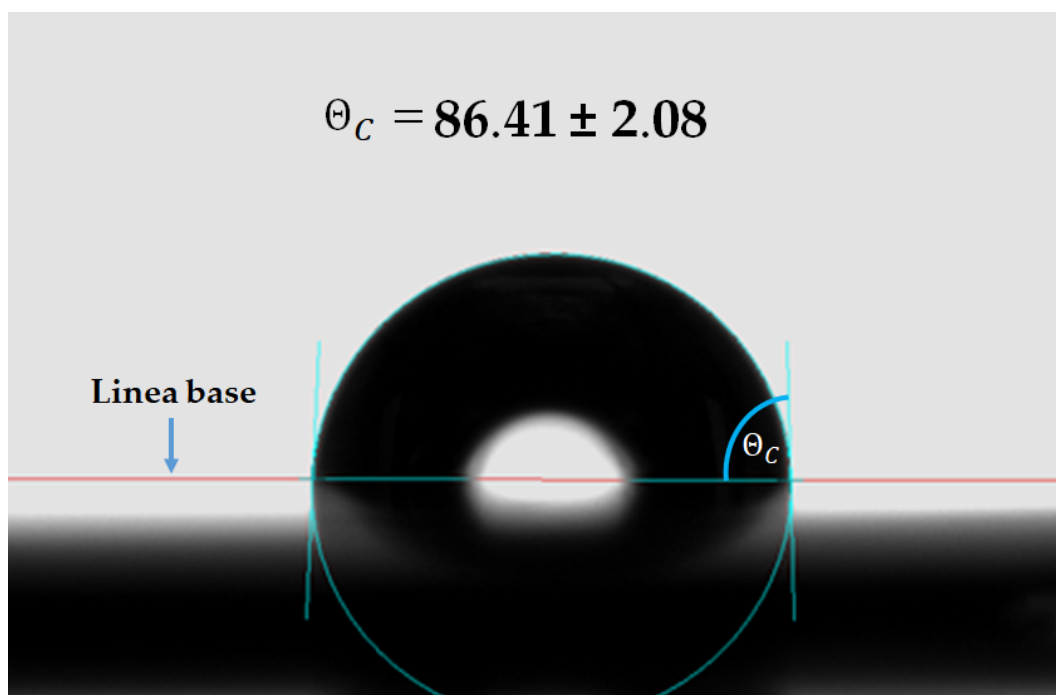


Figura 32: Ángulo de contacto de la interacción lípidos y  $E_{50}I_{60}$ .



## 7.2. Resultados de la técnica Espectrofotometría

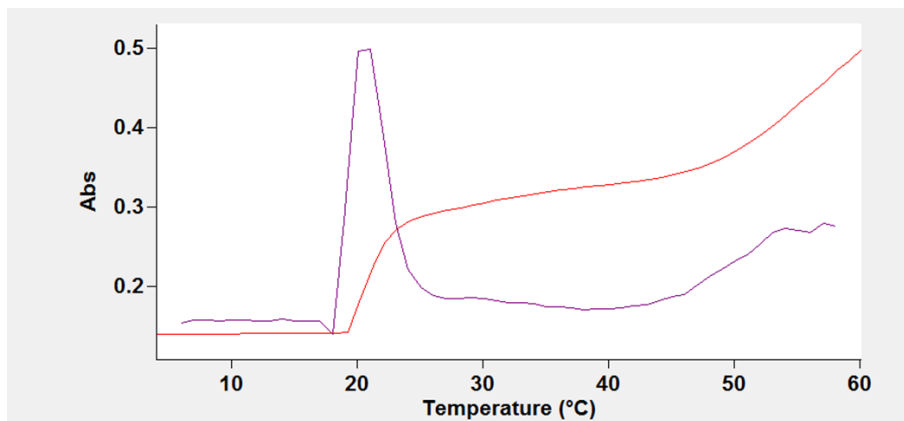


Figura 33: Representación gráfica del primer resultado del polímero S<sub>50</sub>I<sub>60</sub>

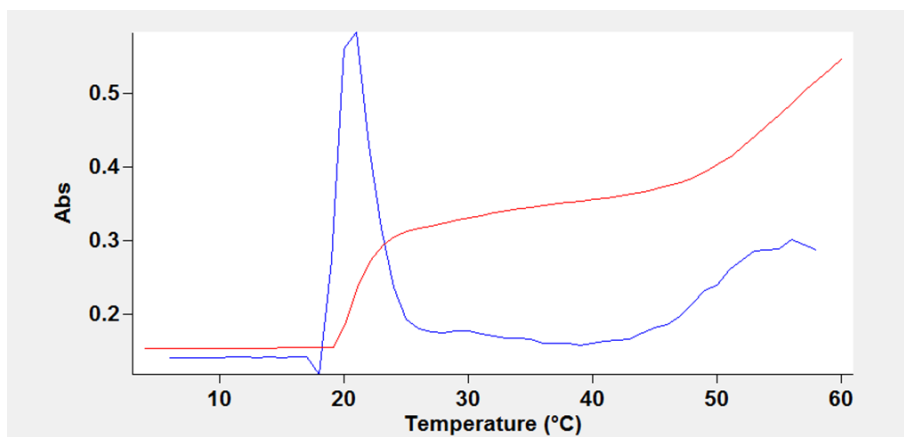


Figura 34: Representación gráfica del segundo resultado del polímero S<sub>50</sub>I<sub>60</sub>

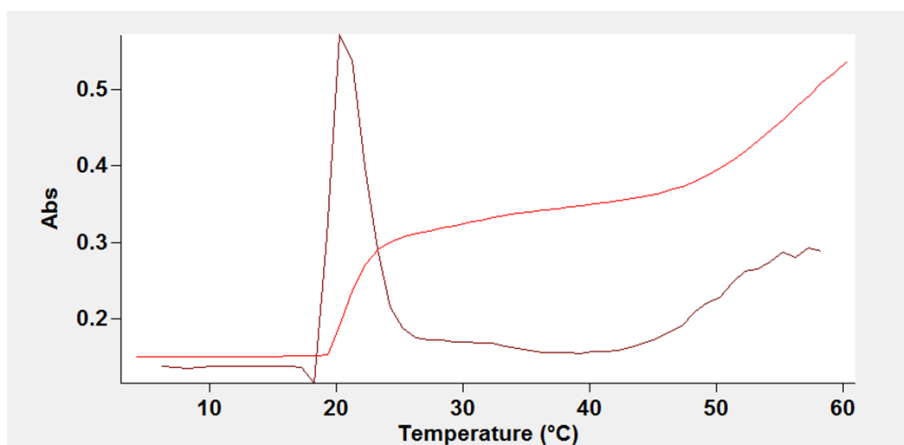


Figura 35: Representación gráfica del tercer resultado del polímero S<sub>50</sub>I<sub>60</sub>

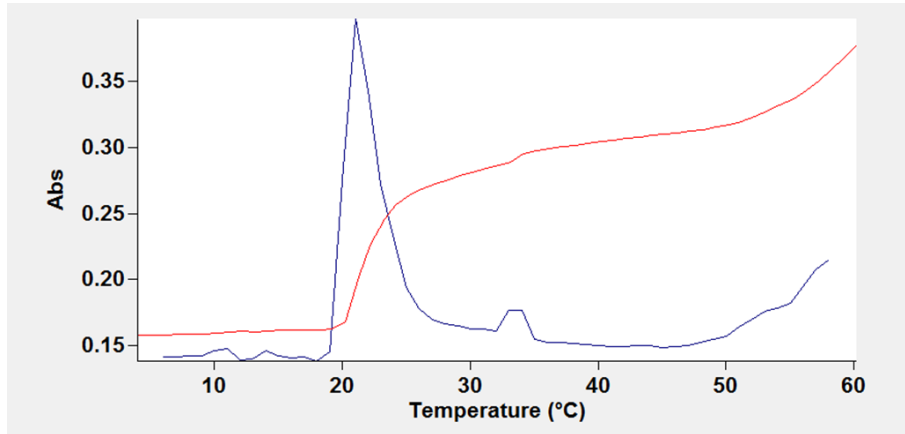


Figura 36: Representación gráfica del primer resultado del polímero  $E_{50}I_{60}$

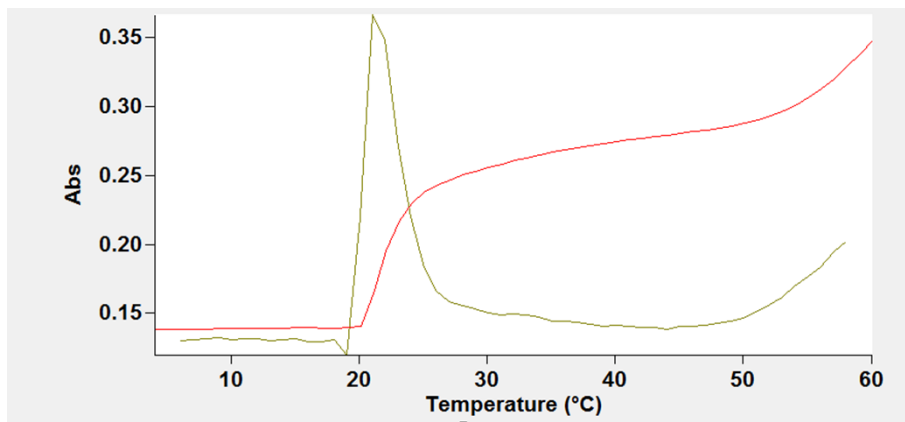


Figura 37: Representación gráfica del segundo resultado del polímero  $E_{50}I_{60}$

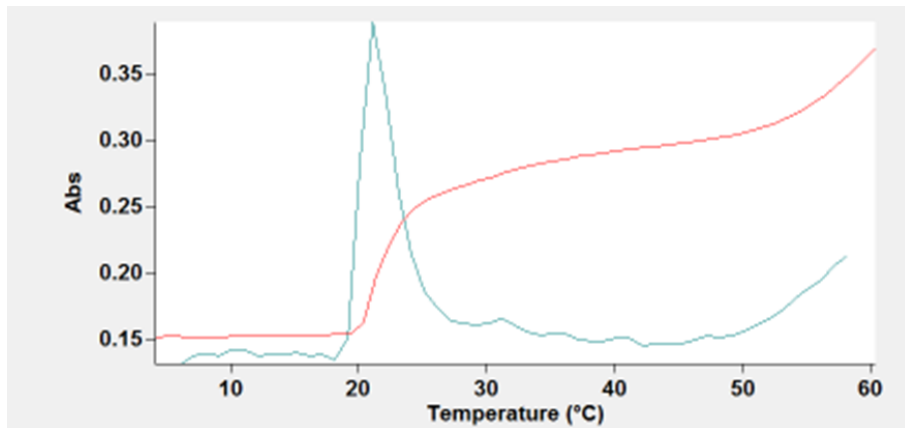


Figura 38: Representación gráfica del tercer resultado del polímero  $E_{50}I_{60}$

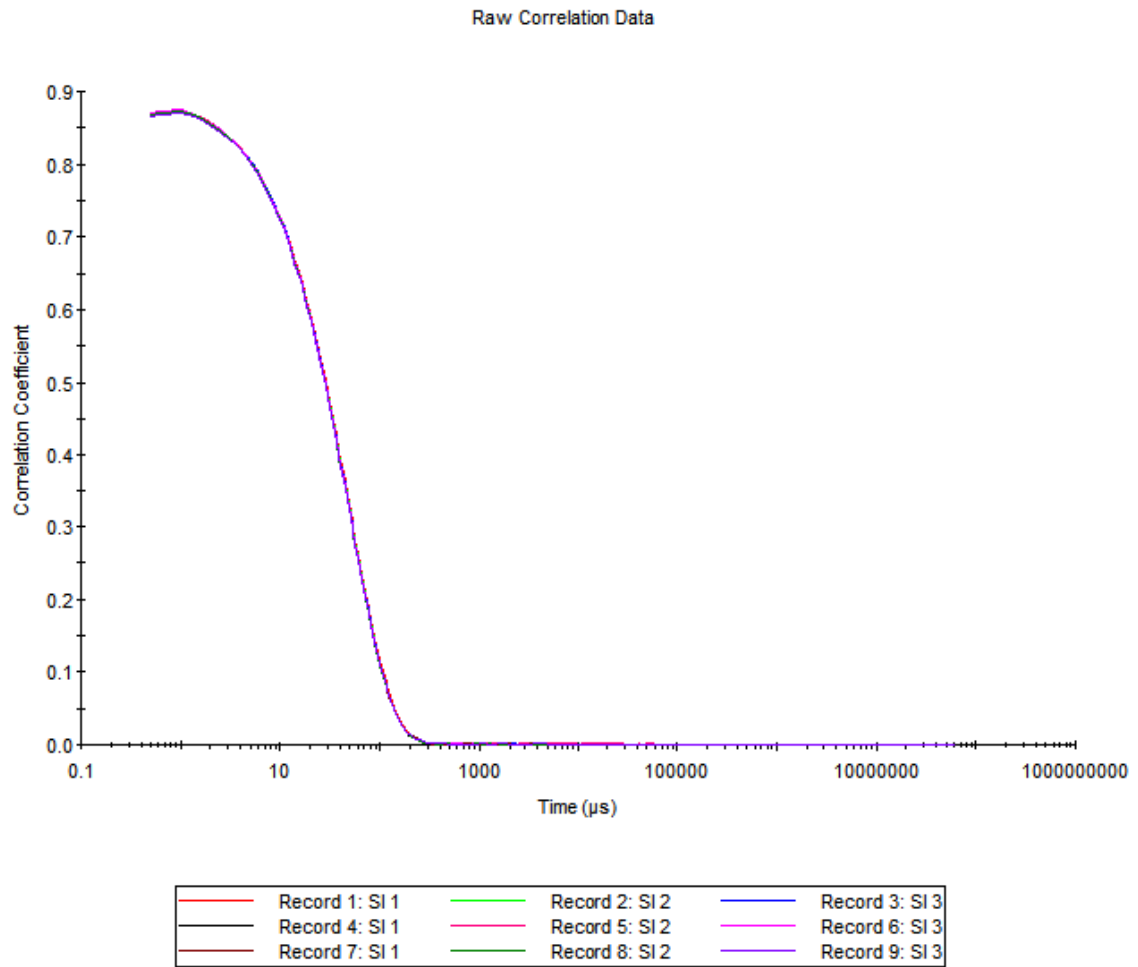
### 7.3. Resultados obtenidos por la técnica DLS y ELS

#	Date	Sample Name	Temperature	Derived Count Rate	Z-Average	PdI	
PdI Width			°C	kcps	d.nm		
d.nm							
1	3/3/2022	SI 1	37	101445.5	45.06	0.016	5.646
2	3/3/2022	SI 2	37	101630	44.66	0.003	2.266
3	3/3/2022	SI 3	37	101744.2	44.53	0.003	2.537
4	3/3/2022	SI 1	37	101668.6	44.15	0.009	4.176
5	3/3/2022	SI 2	37	101539.4	43.99	0.017	5.734
6	3/3/2022	SI 3	37	101254.6	44.09	0.019	6.041
7	3/3/2022	SI 1	37	101200.1	43.83	0.018	5.887
8	3/3/2022	SI 2	37	101398	43.85	0.015	5.32
9	3/3/2022	SI 3	37	101752.9	43.94	0.023	6.655

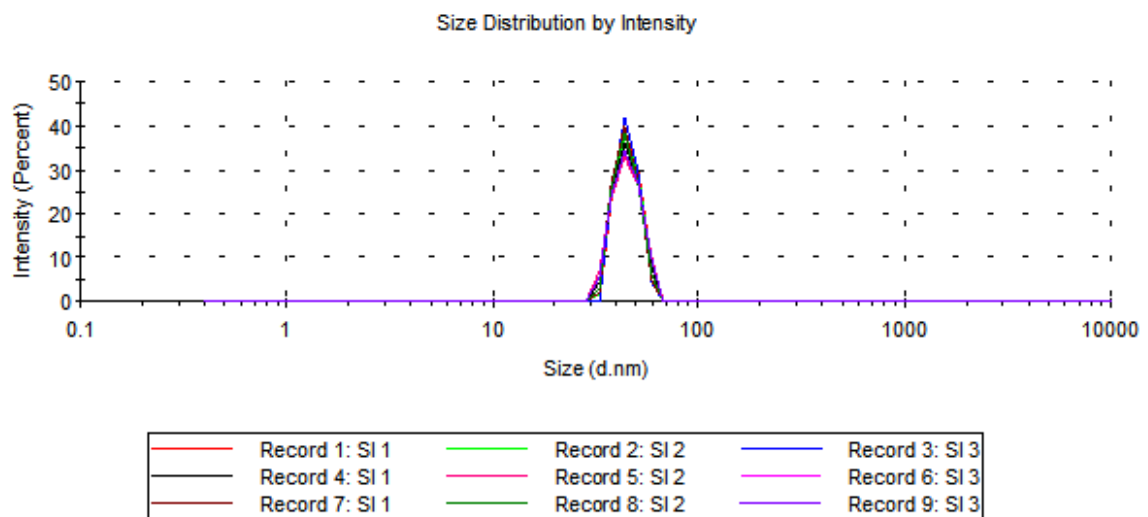
**Tabla 8:** Representación de datos del tamaño de partículas  $S_{50}I_{60}$

#	Date	Sample Name	Temperature	Derived Count Rate	Z-Average	PdI	PdI Width
			°C	kcps	d.nm		d.nm
1	3/3/2022	SL <sub>37°C</sub> 1	37	83618.5	44.3	0.021	6.357
2	3/3/2022	SL <sub>37°C</sub> 2	37	85287.1	43.4	0.014	5.152
3	3/3/2022	SL <sub>37°C</sub> 3	37	85201.6	42.7	0.043	8.839
4	3/3/2022	SL <sub>37°C</sub> 1	37	56731.8	43.57	0.042	8.92
5	3/3/2022	SL <sub>37°C</sub> 2	37	56895.3	43.16	0.015	5.25
6	3/3/2022	SL <sub>37°C</sub> 3	37	56747.9	42.86	0.013	4.861
7	3/3/2022	SL <sub>37°C</sub> 1	37	85986.3	48.85	0.002	2.185
8	3/3/2022	SL <sub>37°C</sub> 2	37	87582.9	45.23	0.015	5.566
9	3/3/2022	SL <sub>37°C</sub> 3	37	88380.1	43.87	0.011	4.586

**Tabla 9:** Representación de datos del tamaño de partículas  $E_{50}I_{60}$



**Figura 39:** Coeficiente de correlación del tamaño de partículas del polímero  $S_{50I60}$



**Figura 40:** Intensidad del tamaño de partículas suspendidas en el polímero  $S_{50I60}$

Raw Correlation Data

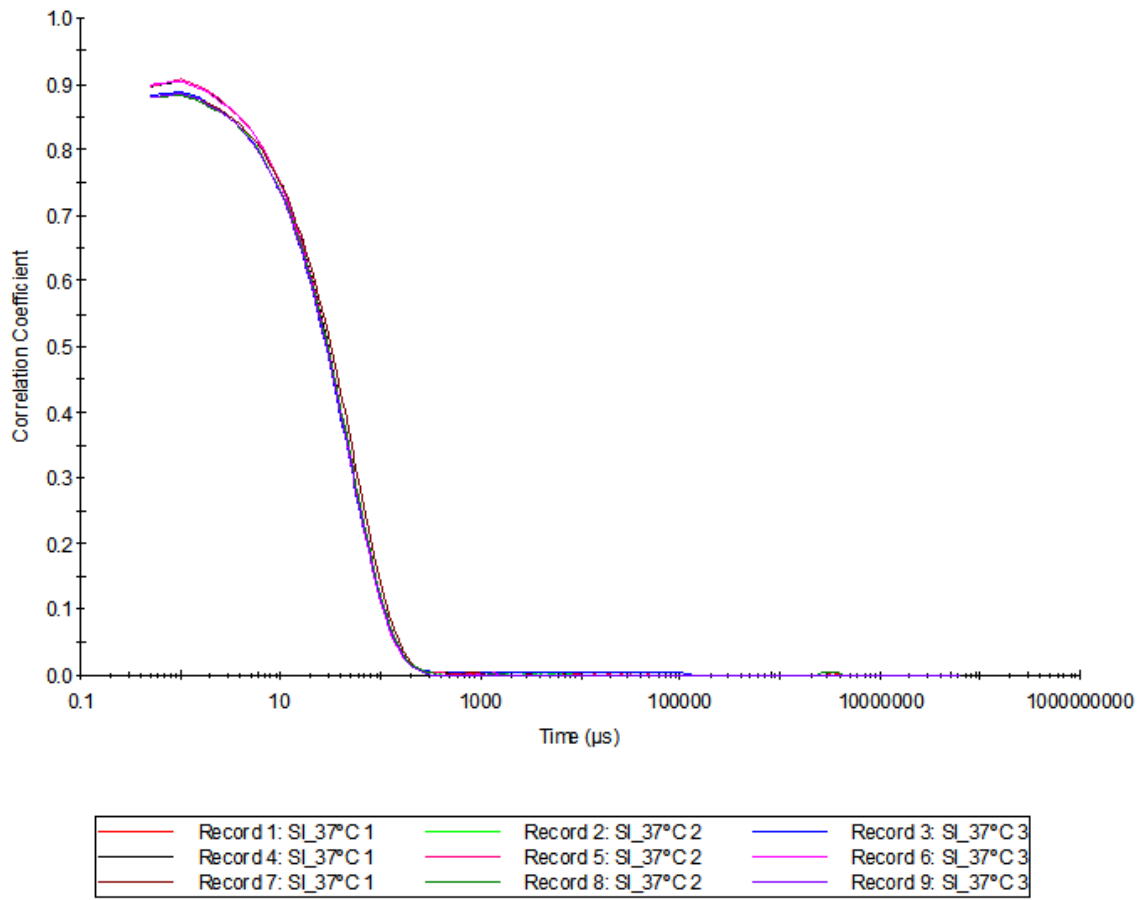


Figura 41: Coeficiente de correlación del tamaño de partículas del polímero  $E_{50I60}$

Size Distribution by Volume

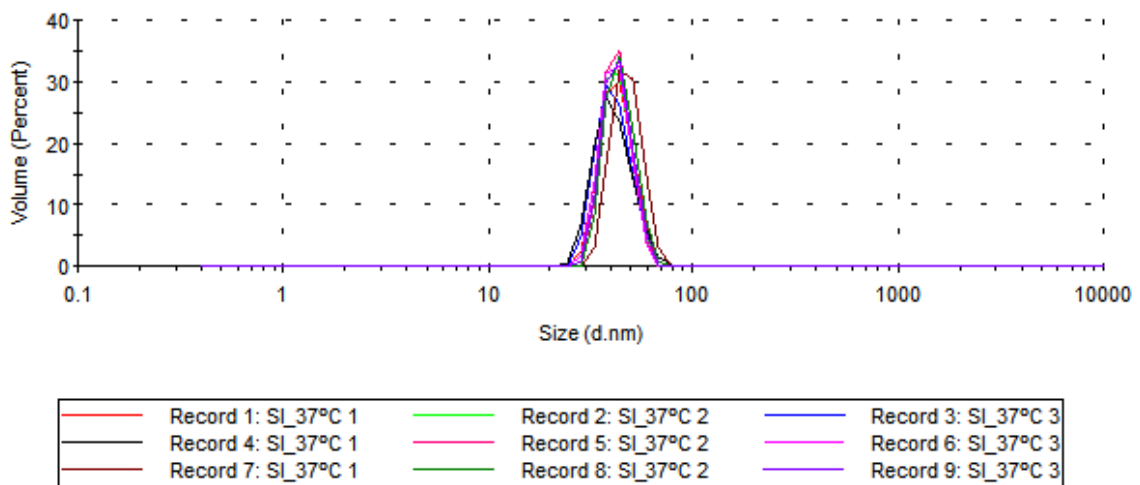


Figura 42: Intensidad del tamaño de partículas suspendidas en el polímero  $E_{50I60}$

7.4. Resultados obtenidos por la técnica ELS

#	Type	Sample Name	Measurement Date and Time	T °C	ZP mV	Mob μcm/Vs	Cond mS/cm	Effective Voltage V
1	Zeta	ei 2	44837	37	-4.68	-0.4489	23.6	49.1
2	Zeta	ei 3	44837	37	-4.73	-0.4536	24	49
3	Zeta	ei 1	44837	37	-3.75	-0.3595	23.4	49.3
4	Zeta	ei 2	44837	37	-4.91	-0.4711	24.2	49
5	Zeta	ei 3	44837	37	-4.03	-0.3868	24.7	48.9
6	Zeta	SI 1	44837	37	-3.83	-0.3679	23.6	49.3
7	Zeta	SI 2	44837	37	-3.71	-0.3562	24.4	49

Tabla 10: Representación de datos del potencial zeta del polímero  $S_{50I60}$

#	Type	Sample Name	Measurement Date and Time	T °C	ZP mV	Mob μcm/Vs	Cond mS/cm	Effective Voltage V
1	Zeta	ei 1	44837	37	-7.47	-0.7165	21.4	49.3
2	Zeta	ei 2	44837	37	-7.56	-0.7254	22.3	49.2
3	Zeta	ei 3	44837	37	-7.16	-0.6866	22.6	49.1
4	Zeta	ei 1	44837	37	-7.69	-0.7377	22.1	49.3
5	Zeta	ei 2	44837	37	-8.82	-0.8463	22.8	49.1
6	Zeta	ei 3	44837	37	-7.98	-0.7658	23.1	49.1
7	Zeta	ei 1	44837	37	-7.56	-0.7257	22.2	49.3
8	Zeta	ei 2	44837	37	-7.99	-0.7668	22.8	49.2
9	Zeta	ei 3	44837	37	-7.92	-0.7603	23.1	49.1

Tabla 11: Representación de datos del potencial zeta del polímero  $E_{50I60}$

### 7.5. Resultados obtenidos por la técnica elipsometría

#	Espesor	error	$X^2$
1	4.547	0.651	0.4966
2	5.149	0.353	0.2112
3	3.311	0.556	0.1878
4	3.947	0.313	0.07525
5	3.245	0.31	0.091723
6	3.311	0.556	0.1878

**Tabla 12:** Espesor en seco de la monocapa de la interacción fosfolípido con el polímero  $S_{50}I_{60}$

#	Espesor	error	$X^2$
1	1.186	0.239	0.825
2	1.2	0.303	0.572
3	1.443	0.852	0.232
4	1.007	0.258	0.5597
5	0.696	0.159	0.452
6	0.591	0.195	0.387

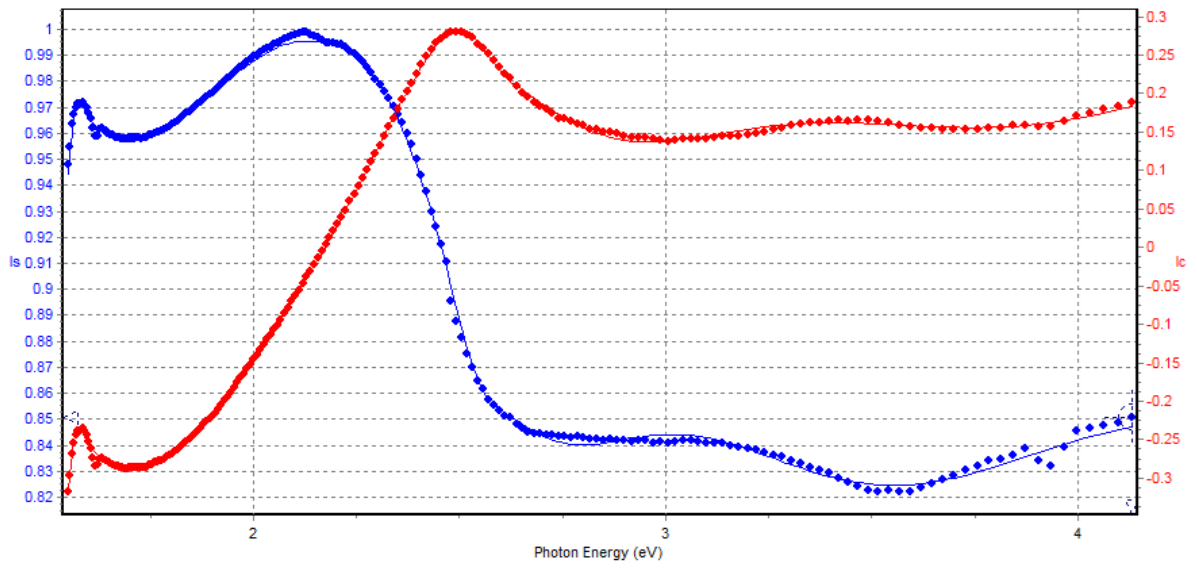
**Tabla 13:** Espesor en seco de la monocapa de la interacción lípido con el polímero  $S_{50}I_{60}$

#	Espesor	error	$X^2$
1	1.702	0.298	0.2822
2	3.126	0.127	0.0721
3	1.877	0.328	0.1671
4	4.037	0.21	0.1032
5	4.589	0.392	0.3374
6	0.748	0.187	0.2375

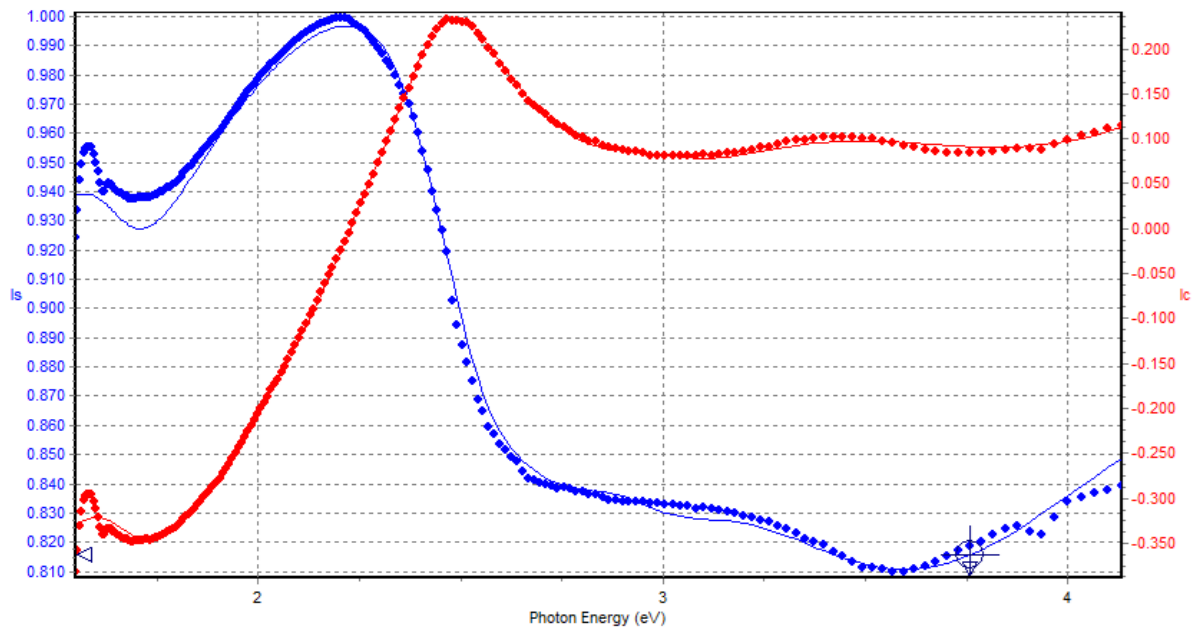
**Tabla 14:** Espesor en seco de la monocapa de la interacción fosfolípido con el polímero  $E_{50}I_{60}$

#	Espesor	error	$X^2$
1	1.233	0.264	0.6046
2	1.086	0.247	0.6044
3	0.85	0.201	0.6097
4	2.138	0.691	0.4752
5	0.523	0.144	0.5486
6	0.275	0.151	0.6494

**Tabla 15:** Espesor en seco de la monocapa de la interacción lípido con el polímero  $E_{50}I_{60}$

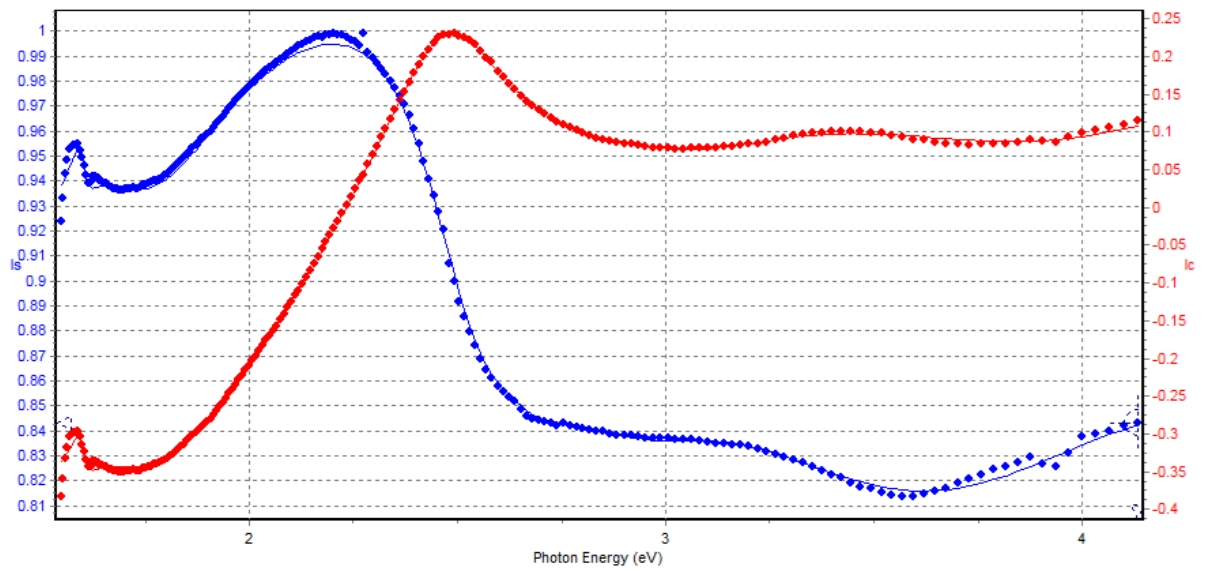


**Figura 43:** Análisis del ajuste de datos con el método matemático del elipsómetro de la interacción del fosfolípido y el polímero  $S_{50I60}$

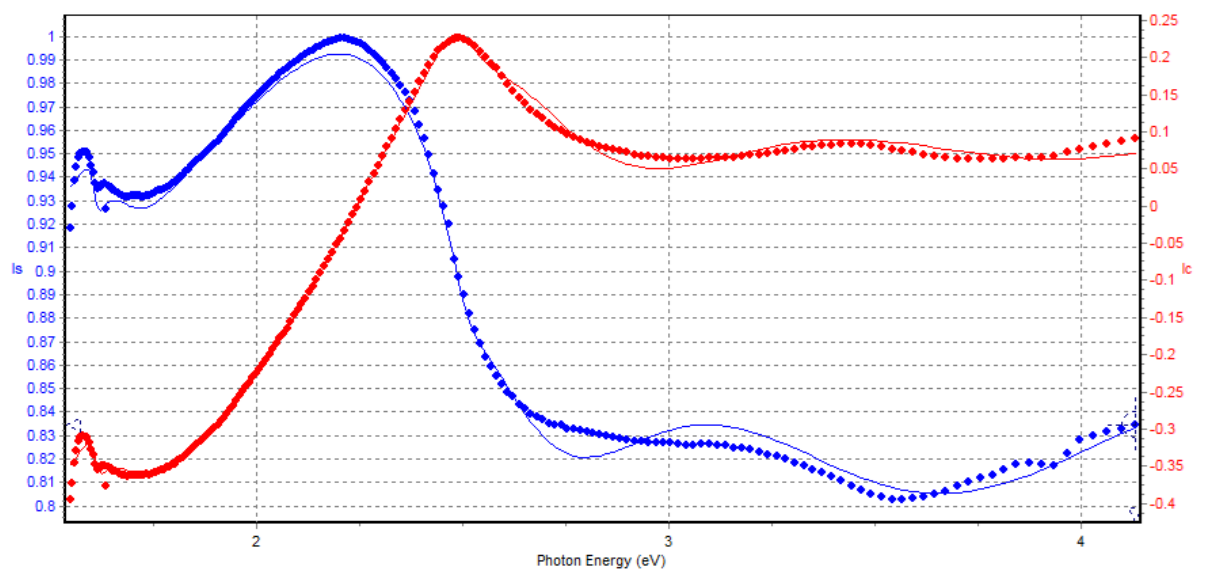


**Figura 44:** Análisis del ajuste de datos con el método matemático del elipsómetro de la interacción del lípido y el polímero  $S_{50I60}$





**Figura 45:** Análisis del ajuste de datos con el método matemático del elipsómetro de la interacción del fosfolípido y el polímero *E50I60*



**Figura 46:** Análisis del ajuste de datos con el método matemático del elipsómetro de la interacción del lípido y el polímero *E50I60*

## 7.6. Representación gráfica de la técnica QCM-D

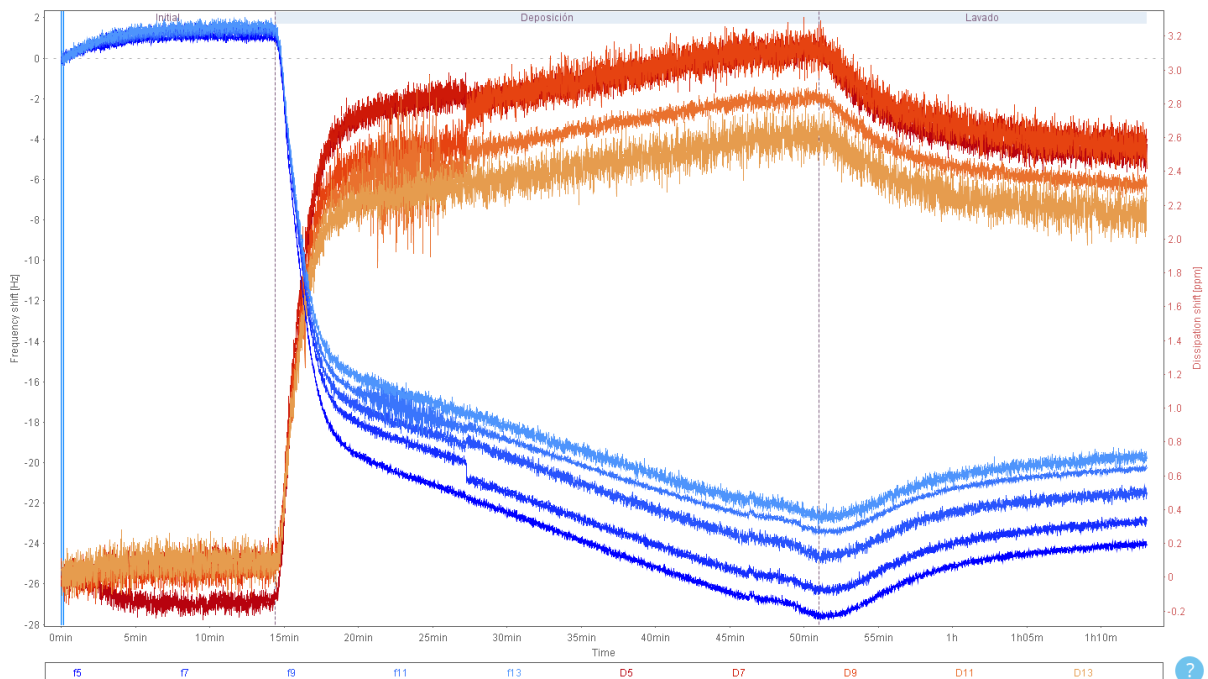


Figura 47: Representación gráfica de la evolución de la frecuencia y la disipación con respecto al tiempo de la interacción del fosfolípido y el polímero  $S_{50}I_{60}$

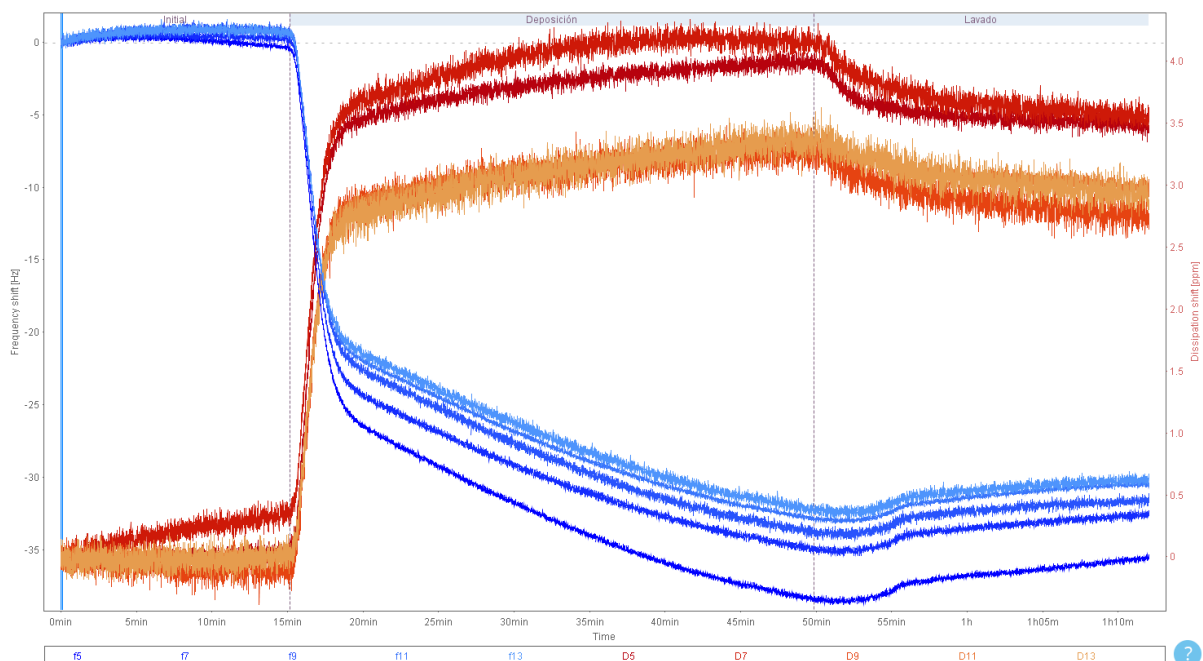
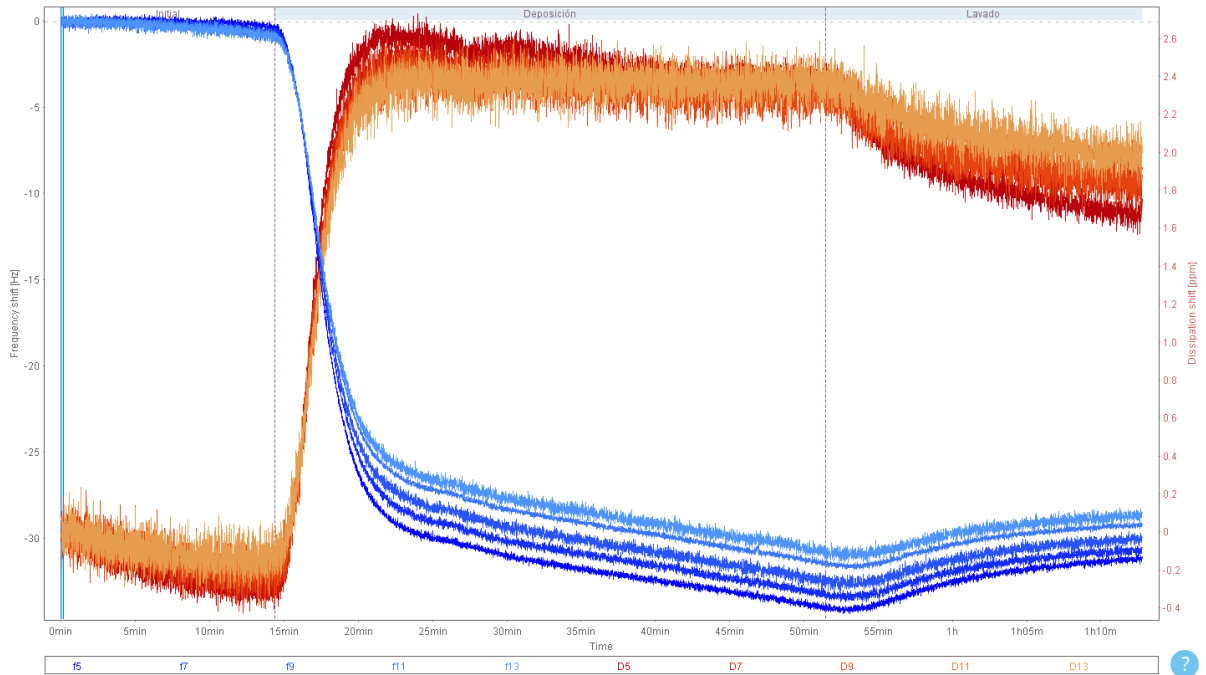
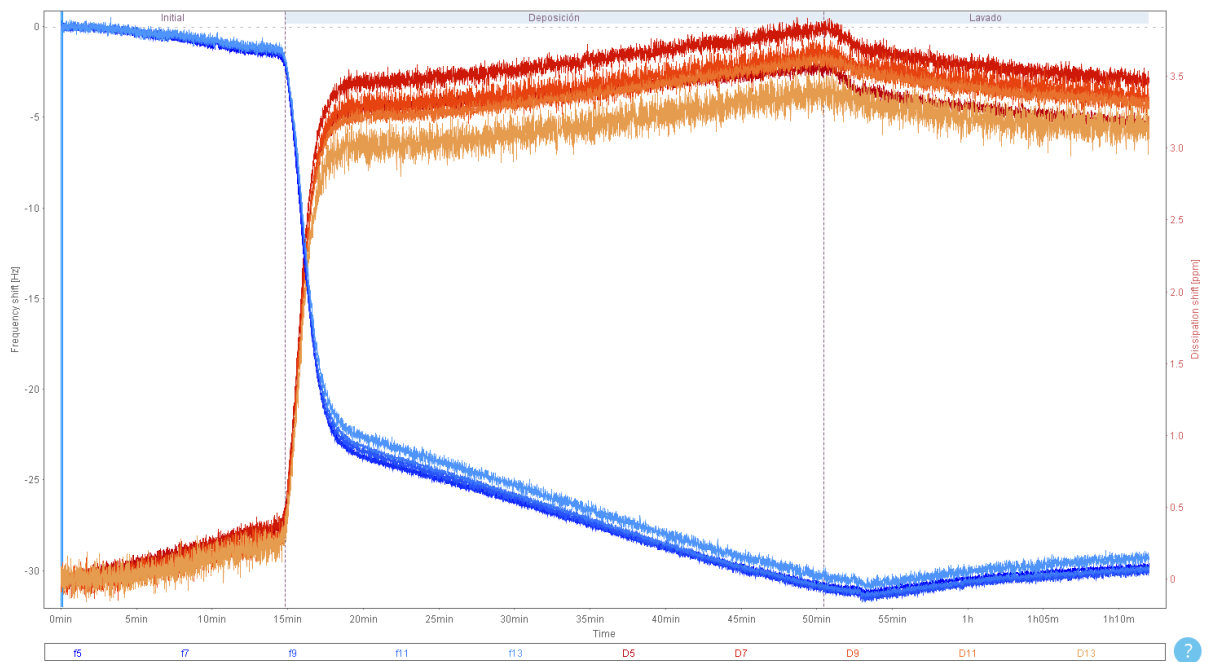


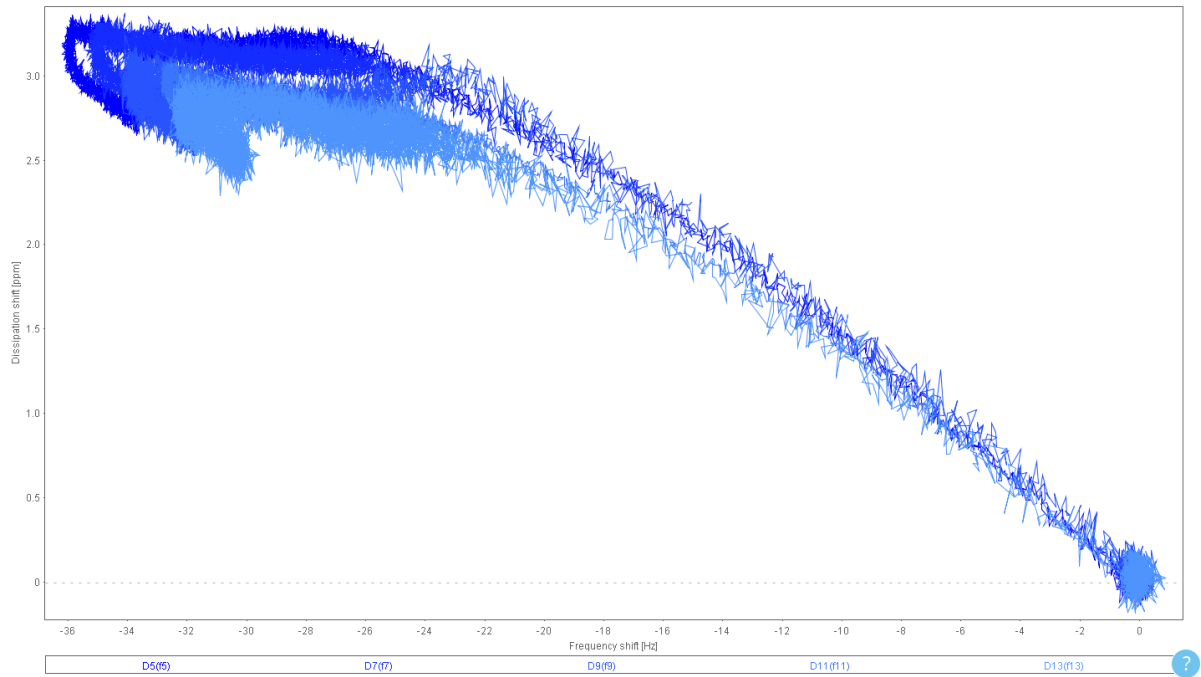
Figura 48: Representación gráfica de la evolución de la frecuencia y la disipación con respecto al tiempo de la interacción del fosfolípido y el polímero  $E_{50}I_{60}$



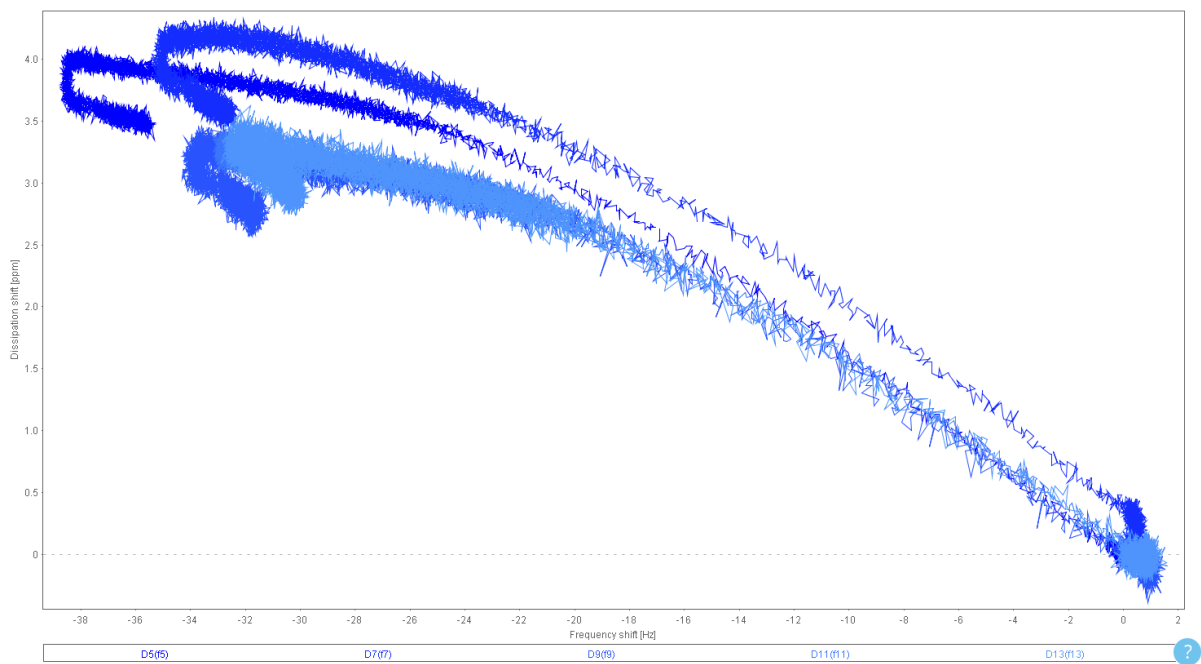
**Figura 49:** Representación gráfica de la evolución de la frecuencia y la disipación con respecto al tiempo de la interacción del lípido y el polímero  $S_{50}I_{60}$



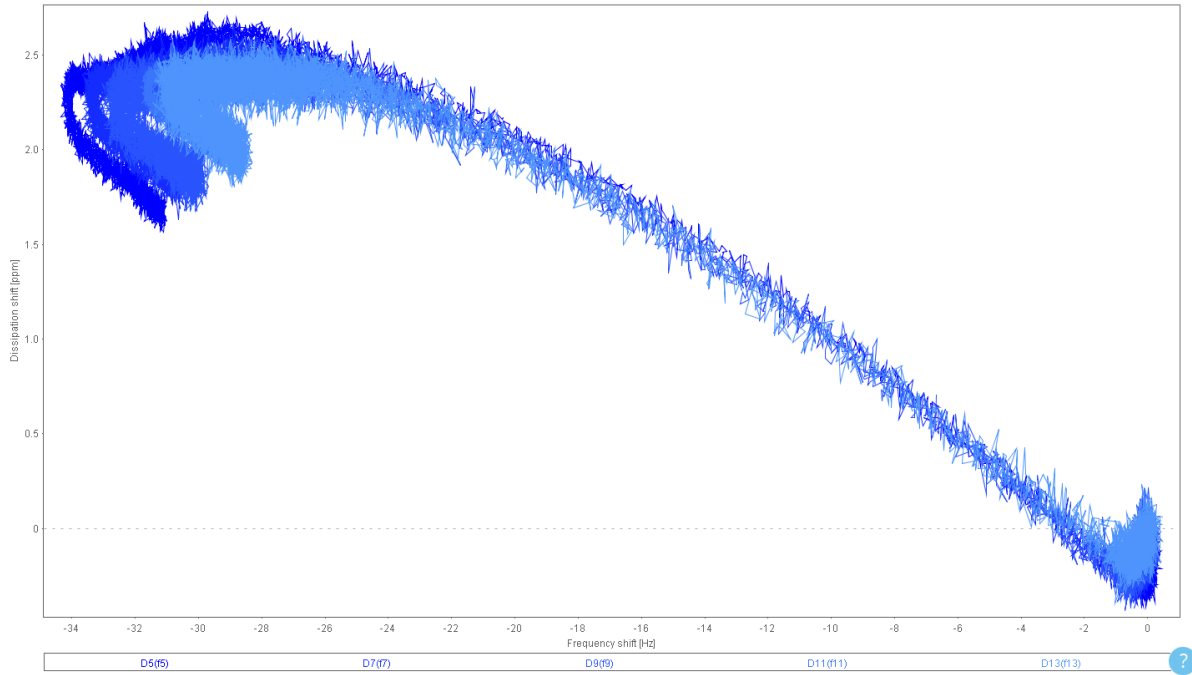
**Figura 50:** Representación gráfica de la evolución de la frecuencia y la disipación con respecto al tiempo de la interacción del lípido y el polímero  $E_{50}I_{60}$



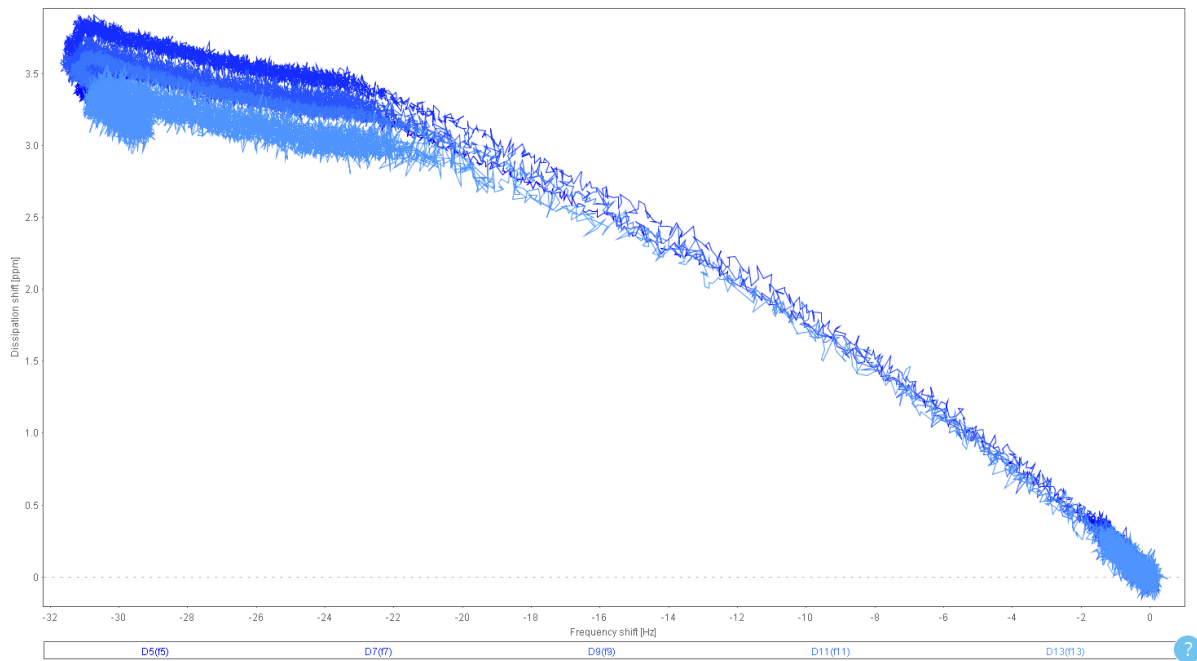
**Figura 51:** Representación gráfica de la evolución de la frecuencia vs la disipación de la interacción del fosfolípido y el polímero  $S_{50I60}$



**Figura 52:** Representación gráfica de la evolución de la frecuencia vs la disipación de la interacción del fosfolípido y el polímero  $E_{50I60}$



**Figura 53:** Representación gráfica de la evolución de la frecuencia vs la disipación de la interacción del lípido y el polímero *S<sub>50</sub>I<sub>60</sub>*



**Figura 54:** Representación gráfica de la evolución de la frecuencia vs la disipación de la interacción del lípido y el polímero *E<sub>50</sub>I<sub>60</sub>*

## 7.7. Análisis ANOVA

Método: 99.9 porcentaje LSD

Col_1	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Fos	3	62.7667	X
Fos + SI	3	79.6667	X
Lip + SI	3	81.9833	XX
Fos+ EI	3	83.8667	XX
Lip +EI	3	86.7767	X
Lip	3	95.4233	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Limites
Fos - Fos + SI	*	-16.9	6.94199
Fos - Fos+ EI	*	-21.1	6.94199
Fos - Lip	*	-32.6567	6.94199
Fos - Lip + SI	*	-19.2167	6.94199
Fos - Lip +EI	*	-24.01	6.94199
Fos + SI - Fos+ EI		-4.2	6.94199
Fos + SI - Lip	*	-15.7567	6.94199
Fos + SI - Lip + SI		-2.31667	6.94199
Fos + SI - Lip +EI	*	-7.11	6.94199
Fos+ EI - Lip	*	-11.5567	6.94199
Fos+ EI - Lip + SI		1.88333	6.94199
Fos+ EI - Lip +EI		-2.91	6.94199
Lip - Lip + SI	*	13.44	6.94199
Lip - Lip +EI	*	8.64667	6.94199
Lip + SI - Lip +EI		-4.79333	6.94199

\* indica una diferencia significativa.

Figura 55: ANOVA del los valores del ángulo de contacto

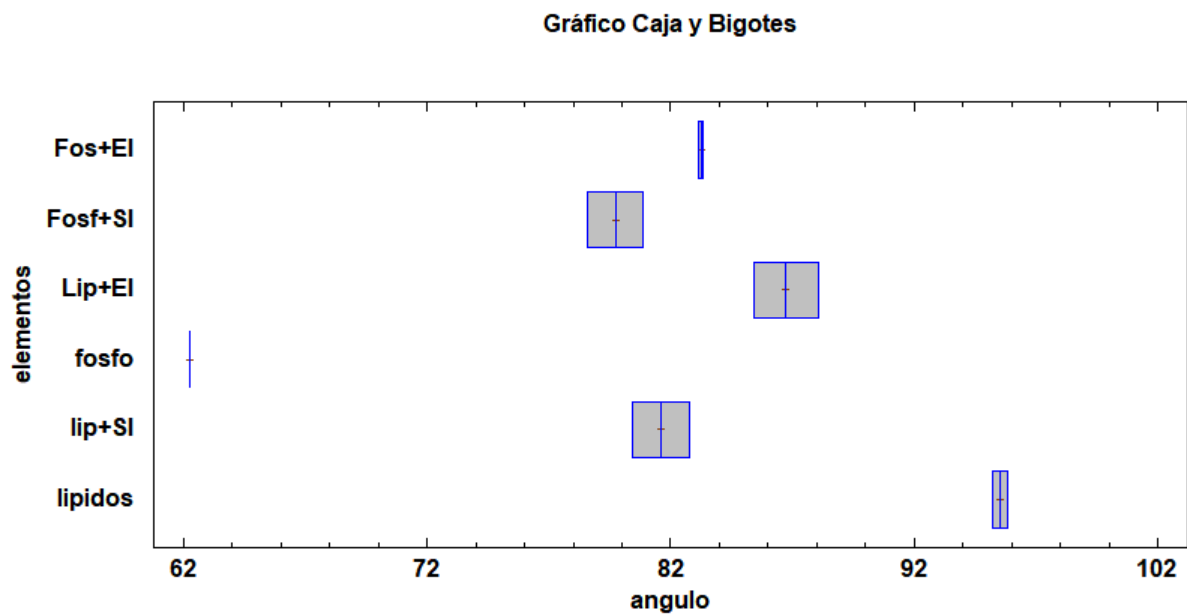


Figura 56: Gráfica ANOVA del los valores del ángulo de contacto

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>sustrato</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Lip + EI	6	1.0175	X
Lip + SI	6	1.01883	X
Fosfo + EI	9	2.49078	X
Fosfo + SI	6	3.91833	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Fosfo + EI - Fosfo + SI	*	-1.42756	1.05484
Fosfo + EI - Lip + EI	*	1.47328	1.05484
Fosfo + EI - Lip + SI	*	1.47194	1.05484
Fosfo + SI - Lip + EI	*	2.90083	1.15552
Fosfo + SI - Lip + SI	*	2.8995	1.15552
Lip + EI - Lip + SI		-0.00133333	1.15552

\* indica una diferencia significativa.

Figura 57: ANOVA del los valores de la elipsometría

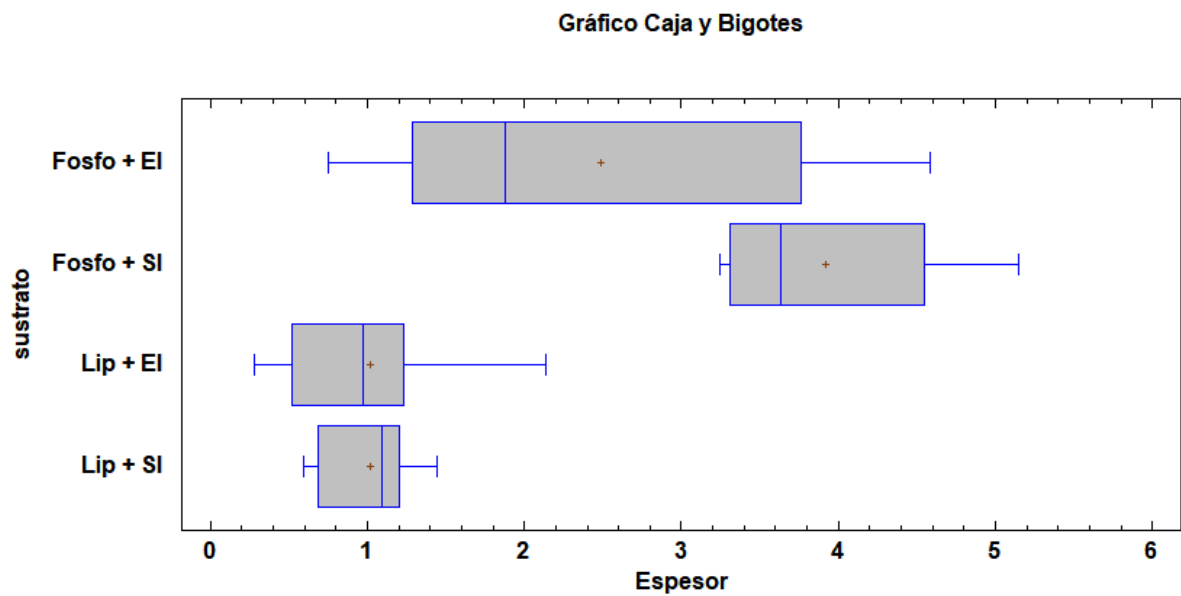


Figura 58: Gráfica ANOVA del los valores de la elipsometría