

Escuela Superior Politécnica del Litoral

Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

Diseño de una metodología para la medición de propiedades interfaciales en
disoluciones complejas

Proyecto Integrador

Previo la obtención del Título de:

Ingeniera Química

Presentado por:

Keiry Nathalí Bowen Medina

Guayaquil - Ecuador

Año: 2024

Dedicatoria

Este proyecto, fruto de años de aprendizaje, quiero dedicarlo en primer lugar a Dios por ser mi guía; a mis padres por sus enseñanzas, apoyo, por celebrar mis éxitos e inspirarme a aprender de los desafíos. A mis familiares, quienes han estado presente a lo largo de mi vida. A mi mascota, que me ha acompañado en largas jornadas de estudio y me enseña la importancia de hacer pausas. Dedico este trabajo de manera especial a mis personas favoritas, Dayeline y Arelis; que son el regalo más hermoso que puedo tener, con quienes he compartido mi vida, son las primeras en notar cambios de ánimo y que con su compañía y acciones me motivan a avanzar; así como deseo que ellas lo hagan, sin seguir el ejemplo de nadie, siendo auténticas.

Agradecimientos

Agradezco al Dr. Joan Vera, por depositar su confianza en mí para llevar a cabo una parte de su proyecto y ser mi mentor en el ámbito de la investigación. Así mismo, quiero expresar mi agradecimiento a cada uno de los maestros que me han dejado enseñanzas valiosas a lo largo de mi trayectoria estudiantil. Por último, pero igual de significativo, a las personas que me han dado ánimo y de alguna manera me han ayudado a continuar.

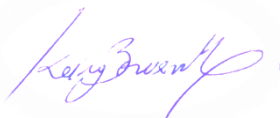
Declaración Expresa

Yo Keiry Nathalí Bowen Medina acuerdo y reconozco que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficio que corresponda a favor del autor. La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de mi innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique al autor que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 10 de noviembre del 2023.



Keiry Bowen Medina

Evaluadores

M.Sc. María Verónica Ordóñez Pazmiño

Profesor de Materia

Joan Ramón Vera Villalobos, Ph. D.

Tutor de proyecto

Resumen

El comportamiento de disoluciones complejas se ha estudiado a través de técnicas espectroscópicas; sin embargo, no se han evaluado mediante propiedades interfaciales (Adamczyk O. et al, 2024). Se busca desarrollar una estrategia experimental mediante goniometría de gota colgante y gota sésil para la medición de tensión superficial y ángulos de contacto de disoluciones de biomoléculas. Pues son herramientas importantes para predecir el comportamiento de dichos sistemas. Además, no se cuenta con un equipo adecuado por limitaciones económicas, de diseño y falta de una metodología apropiada. Por ello, se diseñaron técnicas de goniometría por análisis de imágenes en Fiji Image J versión 1.54h (Schindelin et al, 2022); acondicionando y calibrando el equipo, evaluando estadísticamente y analizando el comportamiento de sistemas de proteína-glucosa-metformina. Con el acondicionamiento del equipo se tuvo un porcentaje de error de 0.58% para tensión superficial de agua a 25°C, 3.12% para ángulo de contacto sobre cristal de sílice, desviaciones estándar aceptables para cada sistema, alta reproducibilidad en sistemas acuosos y un ahorro de \$1814.80. La estrategia desarrollada permitió identificar la capacidad del equipo ante cambios de energía libre superficial para los sistemas complejos variando temperatura y concentración.

Palabras Clave: Tensión superficial, Ángulo de contacto, Interacción proteína-ligando, Análisis de imágenes.

Abstract

The behavior of complex solutions has been studied through spectroscopic techniques; however, they have not been evaluated using interfacial properties (Adamczyk O. et al, 2024). The aim is to develop an experimental strategy using hanging drop and sessile drop goniometry for the measurement of surface tension and contact angles of biomolecules solutions. Well, they are important tools to predict the behavior of these systems. Furthermore, there is no adequate equipment due to economic and design limitations and lack of an appropriate methodology. For this reason, goniometry techniques were designed by image analysis in Fiji Image J version 1.54h (Schindelin et al, 2022); conditioning and calibrating the equipment, statistically evaluating and analyzing the behavior of protein-glucose-metformin systems. With the conditioning of the equipment, there was an error percentage of 0.58% for surface tension of water at 25°C, 3.12% for contact angle on silica glass, acceptable standard deviations for each system, high reproducibility in aqueous systems and savings of \$1814.80. The developed strategy allowed us to identify the capacity of the equipment in the face of changes in surface free energy for complex systems varying temperature and concentration.

Keywords: Surface tension, Contact angle, Protein-ligand interaction, Image Analysis.

Índice general

Resumen.....	I
<i>Abstract</i>	II
Índice general.....	III
Abreviaturas.....	VI
Simbología.....	VII
Índice de figuras.....	VIII
Índice de tablas	IX
Índice de ecuaciones	XI
Capítulo 1.....	1
1. Introducción	2
1.1 Descripción del problema	2
1.2 Justificación del problema.....	3
1.3 Objetivos	5
1.3.1 Objetivo general.....	5
1.3.2 Objetivos específicos	5
1.4 Marco teórico	5
1.4.1 Fuerzas intermoleculares y propiedades interfaciales.....	5
1.4.2 Aplicaciones de fenómenos interfaciales.....	8

1.4.3	Técnicas aplicadas a propiedades interfaciales, análisis de imágenes y equipos comerciales.....	9
1.4.4	Glucosilación de proteínas y diabetes.....	10
Capítulo 2		12
2.	Metodología	13
2.1	Adecuación y caracterización del goniómetro de ángulo de contacto	13
2.2	Instalación de software de análisis de imágenes y complementos.....	15
2.3	Limpieza de capilares y superficies	15
2.4	Preparación de sistemas de ensayo	16
2.4.1	Materiales, equipos y reactivos.....	16
2.4.2	Preparación de buffer	17
2.4.3	Sistemas unitarios	18
2.4.4	Sistemas binarios y ternarios	18
2.5	Metodología para gota sésil y gota colgante	19
2.5.1	Gota sésil.....	19
2.5.2	Gota colgante	20
2.6	Procesamiento de datos	22
2.6.1	Estadística de datos	22
2.6.2	Análisis de comportamiento de sistemas complejos.....	23
2.7	Análisis económico	24

Capítulo 3.....	25
3. Resultados y análisis	26
3.1. Calibración del equipo de goniometría de gota sésil y gota colgante	26
3.2. Acondicionamiento de sistemas de estudio.....	27
3.3. Evaluación estadística de propiedades interfaciales en disoluciones de biomoléculas.....	29
3.4. Evaluación del comportamiento de sistemas biológicos.....	31
3.5. Análisis de costos	34
Capítulo 4.....	35
4. Conclusiones y recomendaciones	36
4.1 Conclusiones	36
4.2 Recomendaciones.....	38
Referencias.....	40
Apéndice A	47
Apéndice B	48
Apéndice C	49

Abreviaturas

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
FT-IR (ATR)	Infrarrojo por transformada de Fourier por reflectancia total atenuada
UV-VIS	Espectroscopía ultravioleta visible
NIR	Infrarrojo cercano
TIMES	Espectroscopía electrónica molecular inducida transitoriamente
BSA	Albúmina sérica bovina
OPS	Organización Panamericana de la Salud
AGEs	Productos finales de glicación avanzada
PBS	Buffer fosfato salino
PET	Tereftalato de polietileno
EVA	Etilvinilacetato

Simbología

σ_{SV}	Energía superficial del sólido
σ_{SL}	Tensión interfacial sólido-líquido
θ	Ángulo de contacto
σ_L	Tensión superficial del líquido
W_{adh}	Trabajo de adhesión o Energía libre superficial
f	Fracción del área de la superficie
ΔG	Energía libre de Gibbs
ΔH	Variación de entalpía
ΔS	Variación de entropía
T	Temperatura
K	Constante de equilibrio
R	Constante de gases ideales

Índice de figuras

Figura 1-1 Estados de Wenzel y Cassie-Baxter para gota sésil	7
Figura 2-1 Goniómetro de gota sésil y gota colgante utilizado para la experimentación.....	13
Figura 2-2 Medición de ángulo de contacto en gota sésil.....	20
Figura 2-3 Medición de tensión superficial en gota colgante	21
Figura 3-1 Ángulo de contacto sobre superficie hidrofílica versus volumen de gota	28
Figura 3-2 Imágenes de gota colgante y gota sésil con distinta luminosidad.....	29
Figura 3-3 Tendencia de la energía libre de superficie en función de tres variables para los sistemas complejos	31
Figura 3-4 Comparación de sistemas complejos unitarios y binarios representativos en superficie de PET+EVA	333
Figura B-1 Diagrama de flujo de instalación de software para análisis de imágenes y complemento.....	48
Figura C-1 Diagrama de flujo de la metodología de medición de propiedades interfaciales en disoluciones complejas	49

Índice de tablas

Tabla 2-1 Distancias del equipo para los métodos de gota sésil y gota colgante	14
Tabla 2-2 Sistemas binarios y ternarios de ensayo	18
Tabla 2-3 Hipótesis nulas de los ANOVA.....	22
Tabla A-1 Signos esperados de las contribuciones de variaciones de entalpía y entropía	47
Tabla C-1 Propiedades interfaciales para sistemas puros	50
Tabla C-2 Tiempo de aclimatación y número de gotas en el ensayo de gota sésil.....	51
Tabla C-3 Resultados de los ANOVA para propiedades interfaciales y energías libres	52
Tabla C-4 Propiedades interfaciales de sistemas unitarios de BSA a distintas concnentraciones.	53
Tabla C-5 Propiedades interfaciales de sistemas unitarios deligandos a distintas concnentraciones	54
Tabla C-6 Propiedades interfaciales de sistemas binarios con proteína fija y glucosa variable..	55
Tabla C-7 Propiedades interfaciales de sistemas binarios con proteína fija y metformina variable	56
Tabla C-8 Propiedades interfaciales de sistemas binarios con proteína variable y glucosa fija..	57
Tabla C-9 Propiedades interfaciales de sistemas binarios con proteína variable y metformina fija	58
Tabla C-10 Propiedades interfaciales de sistemas ternarios con proteína y glucosa fijas, metformina variable	59
Tabla C-11 Datos para el ANOVA de un solo factor de tensión superficial de agua a 25°C en 3 días de ensayo	60
Tabla C-12 Energías libres de superficie de sistemas unitarios de proteína a distintas concnentraciones en superficie hidrofílica.....	61

Tabla C-13 Energías libre de superficie de sistemas unitarios de proteína a distintas concentraciones en superficie hidrofóbica.....	62
Tabla C-14 Tensión superficial de agua a temperaturas diferentes	63
Tabla C-15 Ángulo de contacto de agua sobre superficie hidrofílica a distintas temperaturas...	64
Tabla C-16 Ángulo de contacto de agua sobre superficie hidrofóbica a distintas temperaturas .	65
Tabla C-17 Tendencia de la energía libre superficial en función de la temperatura para sistemas unitarios	66
Tabla C-18 Tendencia de la energía libre superficial en función de la temperatura para sistemas binarios.....	67
Tabla C-19 Tendencia de la energía libre superficial en función de la temperatura para sistemas ternarios	68
Tabla C-20 Fuerzas intermoleculares de acuerdo a la termodinámica obtenida por Van't Hoff para sistemas complejos.....	69
Tabla C-21 Comparación de los costos de implementos para fabricación del equipo	70
Tabla C-22 Precio de reactivos para el ensayo de disoluciones complejas	71

Índice de ecuaciones

(Ec. 1.4-1) Young Laplace para Energía superficial del sólido	7
(Ec. 1.4-2) Young-Dupré para Energía libre superficial.....	7
(Ec. 1.4-3) Ángulo de contacto por Cassie-Baxter	8
(Ec. 1.4-4) Relación de trabajo de adhesión y energía libre de Gibbs.....	8
(Ec. 1.4-5) Van't Hoff	8

Capítulo 1

1. INTRODUCCIÓN

Se realizará el estudio de fenómenos interfaciales mediante el diseño de una metodología de gota sésil y gota colgante para su caracterización en un goniómetro y aplicación en el comportamiento y evaluación de la estabilidad de sistemas complejos relacionados a la diabetes.

1.1 Descripción del problema

El estudio de disoluciones complejas ha sido llevado a cabo por medio de técnicas espectroscópicas. Aplicaciones como la caracterización del cáncer de próstata que involucra superficies e interfases analizadas por espectroscopía Raman (Fatych et al, 2022); además, del uso de espectroscopía de absorción y fotoacústica para detección y caracterización de sustancias peligrosas (Bonilla Manrique, 2020.); son dos ejemplos de ello. Sin embargo, no se ha desarrollado el análisis de interacciones intermoleculares y de molécula-superficie de soluciones que intervienen en el tratamiento de enfermedades como la diabetes a través de fenómenos interfaciales; existen pocos estudios actuales que usan la goniometría como complementaria (Adamczyk O. et al, 2024).

Ambas propiedades han sido utilizadas ampliamente para otros fines como caracterización de superficies y análisis de sustancias puras. Tienen aplicaciones dentro de la industria naviera (Pistone et al, 2021), en biomedicina para la creación de prótesis (Shah et al, 2021), en micro robótica (Barbot et al., 2023); entre otras.

Por ello, se mantiene un enfoque en la caracterización de un equipo de goniometría para medición de tensión superficial y ángulo de contacto que reduce 3 veces el tiempo de análisis y hasta 90% los costes frente a técnicas espectroscópicas usadas actualmente para la interpretación del comportamiento de disoluciones complejas, en el que es indispensable adaptar variables

como temperatura y concentración; tener control de la humedad relativa, cámara de alta resolución, iluminación y filtros de imágenes adecuados.

1.2 Justificación del problema

Estudiar las interacciones proteína-ligando es de interés para el entendimiento del comportamiento de moléculas complejas ya que intervienen en un sinnúmero de funciones biológicas y pueden ser las causantes de alteraciones en la salud, pues según Hetz (2020) “el estrés celular inducido por la acumulación anormal de proteínas desplegadas o mal plegadas en el retículo endoplasmático se está convirtiendo en un posible impulsor de enfermedades humanas” (p. 421); así mismo la evaluación de dichas interacciones son de ayuda para la creación de nuevos fármacos (Zhang, 2016).

Para ello, se han empleado técnicas espectroscópicas que son sofisticadas por encargarse del análisis de la interacción de distintos tipos de radiación con la materia (Skoog et al, 2018); un ejemplo es la evaluación del ligando hierro en proteínas hemo por medio de espectroscopía de absorción ultravioleta/visible que puede ser posible por la presencia de cromóforos (Nienhaus y Ulrich, 2005) y ronda los \$90 (Esquivel, 2022). Sin embargo, las disoluciones de estudio se basan en la glucosilación de proteína y su reversión con un fármaco, que usa ligandos no cromóforos como glucosa y metformina, lo que es limitante para el uso de dicha técnica.

Además, otra metodología usada es FT-IR (ATR) para el diagnóstico de pacientes diabéticos y evaluación de la eficacia de un fármaco (Ramalingam et al, 2014), pero implica costos de alrededor de \$250 (Centro Nacional de Metrología, 2021).

Por otro lado, propiedades interfaciales como la tensión superficial y el ángulo de contacto, son indispensables para interpretar cambios en sistemas complejos en base a interacciones moleculares que ocurren en la frontera. La técnica de gota colgante ha sido utilizada para medir

sustancias puras o mezclas y así obtener la tensión superficial mediante análisis de la forma de la gota; una aplicación reportada por Singh y otros (2020) es la medición de esta propiedad en sangre, debido a su relevancia en la enfermedad de descompresión y otras funciones del organismo. Mientras que el ángulo de contacto permite medir la humectabilidad de una superficie sólida al contacto con un líquido en el punto de tres fases y ha sido utilizado en aplicaciones biológicas y tecnológicas (Haow et al, 2019).

Ambas son técnicas que involucran una cantidad de tiempo mínima, de 15 a 20 minutos de acuerdo a Huhtamäki (2018) y requiere de poca cantidad de muestra, ya que se analizan gotas; por lo que es conveniente utilizarla en instituciones públicas del Ecuador que se dediquen a investigaciones en el campo de la salud y química, y no disponen de un equipo comercial adecuado por limitaciones económicas, de diseño y falta de una metodología para interpretación de interacciones proteína-ligando. Por ello, se dirige el diseño de esta metodología a dichos investigadores, además, a encargados de industrias farmacéuticas que requieran analizar el comportamiento de nuevos fármacos. Así se posibilita impulsar el estudio de fenómenos interfaciales en estudiantes a nivel de su formación académica o desempeño en investigación e innovación, lo que evidencia el cumplimiento de los ejes 3 y 4 de la carrera Ingeniería Química, los cuales son Investigación, e Innovación y desarrollo.

Cabe recalcar, que el proyecto se enmarca dentro de los objetivos de desarrollo sostenible 3 y 9, porque con la aplicación en disoluciones de biomoléculas impacta en la salud y con la calibración del goniómetro de bajo costo, se motiva a la inversión en equipos que poseen un valor agregado a investigaciones académicas y de interés comercial.

1.3 Objetivos

1.3.1 *Objetivo general*

Desarrollar una estrategia experimental mediante goniometría de gota colgante y gota sésil para la medición de tensión superficial y ángulos de contacto de disoluciones de biomoléculas.

1.3.2 *Objetivos específicos*

- Calibrar el goniómetro de ángulo de contacto mediante la experimentación con tres sistemas de distinta humectabilidad y tensión superficial.
- Definir las condiciones adecuadas del sistema de estudio para la reproducibilidad de los fenómenos evaluados en disoluciones de biomoléculas.
- Interpretar datos de tensión superficial y ángulo de contacto estático de disoluciones de biomoléculas elegido por medio de evaluación estadística.
- Evaluar el comportamiento de soluciones biológicas a través de la determinación de tensión superficial y ángulo de contacto con sustancias puras conocidas y la medición de estos fenómenos variando temperatura y concentración.

1.4 Marco teórico

1.4.1 *Fuerzas intermoleculares y propiedades interfaciales*

El comportamiento de las sustancias se basa en las fuerzas intermoleculares. Estas, pueden ser de Van der Waals, efectos estéricos, por solvatación (hidrofílicas e hidrofóbicas), electrostáticas de doble capa eléctrica, etc. En cuanto a estas últimas, a bajas condiciones de salinidad previene la agregación de partículas sólidas finas (Zhang & Zeng, 2021).

Otros tipos de interacción son las no específicas que influyen en la forma en que las células se enfrentan a proteínas mal plegadas, fenómeno que genera la exposición de sus partes

hidrófobas y aporta a la agregación; también, las interacciones altamente específicas presentes en la formación de fibrillas (Frutiger et al., 2021).

Las interacciones por solvatación ocurren en soluciones, aquí se analizan las fuerzas que predominan, ya sean repulsivas o cohesivas. El concepto de humectabilidad tiene relevancia en este contexto y se mide por ángulos de contacto. Si el ángulo que la sustancia analizada forma con la superficie supera los 90° hay hidrofobicidad, las interacciones del líquido resultan cohesivas y no compatibles con las moléculas de la superficie; por el contrario, si el ángulo es menor a 90° se considera la hidrofiliidad, debido a la afinidad entre ambas fases (Ismail et al., 2022).

Por otra parte, en los líquidos existe una propiedad conocida como tensión superficial y en sólidos como energía libre superficial. La tensión superficial se define como la cantidad de energía que se necesita para incrementar la superficie de un líquido, sus unidades se encuentran representadas en $[J/m^2]$ o $[N/m]$, su magnitud indica el comportamiento de un fluido y puede ser comprendido de mejor manera al controlar temperaturas, presiones o composiciones (Shardt et al., 2021). Las fuerzas cohesivas entre las moléculas de un líquido son las responsables de este fenómeno y gracias a esto ocurre la capilaridad, que es el efecto de elevación o caída de la superficie del líquido en el área de contacto con un sólido.

La energía libre superficial es un concepto similar pero aplicado a sólidos; en este caso resulta difícil diferenciar el trabajo de deformación de la fase de volumen; por ello se utiliza el ángulo de contacto como medición indirecta, teniendo en cuenta que cuanto mayor sea el ángulo habrá menor humectabilidad y viceversa.

Para determinar la energía libre superficial del sólido (σ_{sv}) a partir del concepto de la ecuación de Young-Laplace, se relaciona la tensión interfacial entre las fases sólido-líquido

(σ_{SL}) con el coseno del ángulo de contacto formado ($\cos \theta$) por la tensión superficial del líquido (σ_L), como se expresa en la Ecuación 1.4-1.

$$\sigma_{SV} = \sigma_{SL} + \sigma_L \cos \theta \quad (\text{Ec. 1.4-1})$$

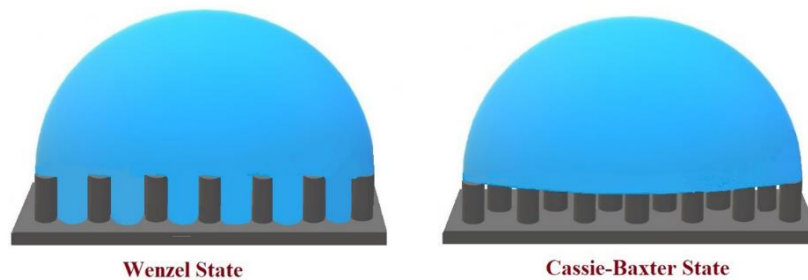
Sin embargo, se obtienen dos variables (σ_L , $\cos \theta$). Por ello, se considera la ecuación de Young-Dupré, que relaciona dos tipos de interacciones: cohesivas y de adhesión, y permite definir el trabajo de adhesión (W_{adh}) o energía libre superficial (Drelich et al., 2020), como indica la Ecuación 1.4-2.

$$W_{adh} = \sigma_L (\cos \theta + 1) \quad (\text{Ec. 1.4-2})$$

Existen ecuaciones de ángulo de contacto basadas en este parámetro, de acuerdo a dos modelos propuestos por Wenzel y por Cassie-Baxter (Yildirim Erbil, 2021). Estos dependen del área que ocupe una gota al contacto con la superficie (Figura 1-1) siendo el estado de Wenzel el que tiene mayor área ya que, el líquido ocupa los espacios de poros o irregularidades de una superficie rugosa. Mientras que, el estado de Cassie-Baxter es más usado para superficies homogéneas.

Figura 1-1

Estados de Wenzel y Cassie-Baxter para gota sésil



Nota. Adaptado de “Dependency of Contact Angles on Three-Phase Contact Line: A Review” (p. 4), por H. Yildirim Erbil, 2021, *Colloids and interfaces*, 5(8).

En base a ello, la ecuación para ángulos de contacto de superficies lisas por Cassie-Baxter, se expresa en la Ecuación 1.4-3.

$$\cos \theta^r = \sum f_i \cos \theta_i \quad (\text{Ec. 1.4-3})$$

Donde θ^r es el ángulo de contacto real en el sólido, f_i es la fracción del área de la superficie con un ángulo de contacto θ_i (Yildirim Erbil, 2021).

Por último, el trabajo de adhesión se relaciona con la energía libre de Gibbs como se expresa en la Ecuación 1.4-4.

$$W_{adh} = -\Delta G \quad (\text{Ec. 1.4-4})$$

Por lo que, es posible utilizar la ecuación de Van't Hoff (Ecuación 1.4-5) para graficar el comportamiento de distintos sistemas, tomando como datos la tensión superficial y el ángulo de contacto a varias temperaturas y así analizar el equilibrio o estabilidad de ellos (Mittal, 2003).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT \ln K \quad (\text{Ec. 1.4-5})$$

Los términos de la expresión 1.4.6 se encuentran detallados en la sección de simbología.

A partir de la ecuación de la recta es posible obtener las diferencias de entalpía y entropía de cada sistema, estos parámetros pueden ser analizados según su magnitud y signo, permitiendo establecer correlación entre el tipo de interacciones predominantes, como se sugiere en el Apéndice A (Ross & Subramanian, 1981).

1.4.2 Aplicaciones de fenómenos interfaciales

Entre las aplicaciones que se han desarrollado respecto a las propiedades interfaciales, se tiene la incidencia de las fuerzas capilares en micro robótica, donde la tensión superficial de líquidos tiene un papel importante en microfabricación (Barbot et al., 2023); así mismo, la humectabilidad de superficies en la industria petrolera para determinar la recuperación de

hidrocarburos por inyección de agua (Pan et al., 2021); en la creación de materiales hidrófilos para prótesis oculares (Pine et al., 2021); en el área farmacéutica para explorar los efectos de la humectabilidad en la absorción de medicamentos y comportamiento de disoluciones (Yang et al., 2019), etc. No obstante, su aplicación en el estudio de interacciones moleculares de sistemas complejos carece de soporte bibliográfico.

1.4.3 Técnicas aplicadas a propiedades interfaciales, análisis de imágenes y equipos comerciales

Se usan técnicas de gota colgante para tensión superficial y gota sésil para obtener de manera axisimétrica el ángulo de contacto estático, el cual se mide en el punto triple de contacto entre las fases sólida-líquida-gas. Además, se aplica análisis de imágenes a través de softwares como Fiji Image J, el cual ha sido útil para avances como evaluación de imágenes digitales del fondo de ojo (Sadikan et al., 2021); la cuantificación en cada fenofase en girasoles (Ochogavía, 2022); y de la misma manera, dispone de plugins y herramientas útiles, de manera gratuita y de fácil manipulación, como lo son el “Drop Analysis” plugin por Daerr y Mogne (2016) y la herramienta “ángulos”.

En cuanto al equipo necesario para realizar las mediciones detalladas, existen goniómetros comerciales con características que permiten obtener resultados fáciles, rápidos y confiables. Uno de ellos presenta un rango de medida de 5° a 180° para ángulo de contacto, resolución de cámara de 1920×1080 ; un software gratuito con secciones para grabación y análisis; se encuentra alrededor de 2000 euros (Ossila Ltd., 2023). Otro ejemplo comercial posee inclinación y dispensación automática, control de temperatura, permite medir ángulo de contacto estático y dinámico entre 0° y 180° , energía de superficie, tensión superficial; sin embargo, no menciona precio ni confiabilidad de los resultados (Ramé-hart Instrument Co., 2023).

1.4.4 Glucosilación de proteínas y diabetes

En referencia a las biomoléculas, han sido estudiadas por otras técnicas que brindan información de estabilización y de su termodinámica, en lugar de propiedades de frontera. Las proteínas son un ejemplo notable, ya que interactúan con biomoléculas como carbohidratos o ácidos nucleicos; por lo cual han sido evaluadas en el campo de la biomedicina por medio de espectrometría de masas, resonancia de plasmones superficiales, resonancia magnética nuclear, etc. (Lee et al., 2021).

Se considera la albúmina como parte esencial, ya que es abundante en el plasma sanguíneo y presenta funciones de acoplamiento con ligandos al encargarse del transporte de metabolitos, medicinas, nutrientes, etc. Para estudios in vitro, especialmente farmacológicos, se utiliza la BSA debido a su gran similitud a la humana y su asequibilidad (Jiang et al., 2023).

En condiciones de hiperglicemia (nivel elevado de glucosa en sangre) las proteínas pueden experimentar la reacción de glucosilación sin intervención de promotores biológicos (enzimas), esta reacción involucra los grupos amino libres presentes en los residuos de aminoácidos de la proteína y el grupo carbonilo de la glucosa, la reacción transcurre a través de la formación de una base de Schiff que posteriormente se arregla a un compuesto de glucosilación avanzada (re-arreglo de Amadori); la interacción que se desea estudiar es la glucosilación de proteínas que tiene efectos en la función de la proteína, su estabilidad, localización subcelular, etc. (Eichler, 2019) y su comportamiento al administrar un medicamento.

La hiperglicemia acelera la glucosilación, obteniéndose los “Productos finales de Glucosilación Avanzada”, AGEs por sus siglas en inglés, mismos que son altamente reactivos y que son capaces de acumularse como agregados en varios tejidos, contribuyendo a la diabetes y

patologías como retinopatía, neuropatía, complicaciones cardiovasculares, entre otras (Qais et al., 2021).

La diabetes es una enfermedad crónica que, al pasar los años sin tratamiento adecuado, afecta al corazón, vasos sanguíneos, ojos, riñones y nervios; la más común es la de tipo 2. De acuerdo a la OPS (2023) “aproximadamente 62 millones de personas en las Américas (422 millones de personas en todo el mundo) tienen diabetes”. Además, se conoce que 6305 de las 80182 muertes en Ecuador registradas en el 2019, se deben a esta enfermedad.

Capítulo 2

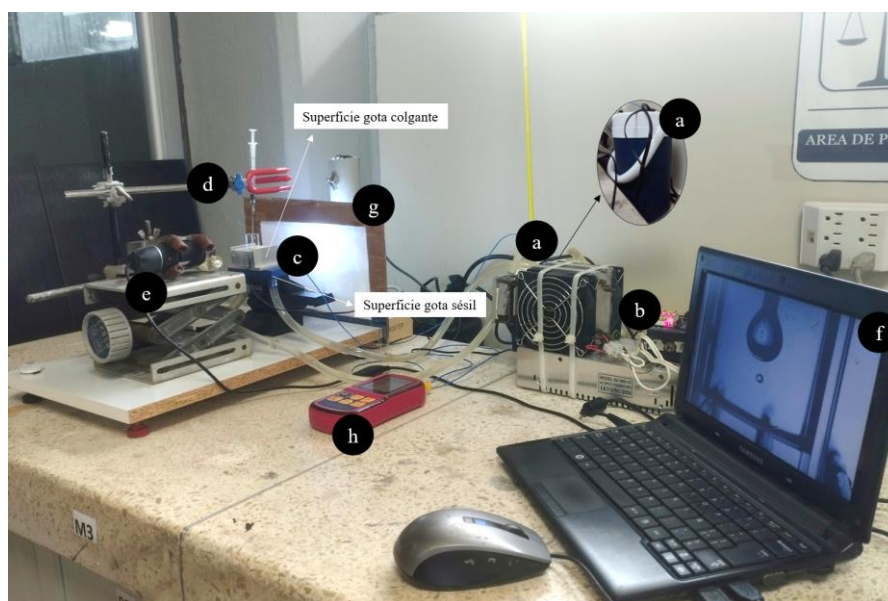
2. METODOLOGÍA

2.1 Adecuación y caracterización del goniómetro de ángulo de contacto

Se empleó un goniómetro casero ajustado para desarrollar las técnicas de gota sésil y gota colgante con regulación de temperatura. Se utilizó materiales de bajo costo y se equipó con una bomba de agua con termómetro de mercurio de -10-110°C con 0.5°C de precisión y 0.1°C de división (a), regulador de temperatura con celda peltier TEC1-12706 y sensor digital XH-W1-1401 (b), superficie adaptable para gota sésil y gota colgante (c), soporte para jeringuilla (d), cámara microscópica digital USB Bysameyee 5MP sensor CMOS máx 60 fps, con base reguladora de altura Cenco Lerner modelo 19089 de 4 ½" x 5 ½" (e), Chromebook SAMSUNG de 11,6 pulgadas con software de análisis de imágenes de uso libre, Fiji Image J versión 1.54h (Schindelin et al, 2022) (f), luz led trasera y difusor (g), termómetro digital Proster con dos termocuplas (h); como se exhibe en la Figura 2-1.

Figura 2-1

Goniómetro de gota sésil y gota colgante utilizado en la experimentación



El equipo fue ubicado en un lugar libre de vibraciones y en un ambiente acondicionado para mantener la humedad relativa controlada, teniendo un promedio de 55% durante los ensayos. Se realizaron experimentos para dos metodologías: gota sésil y gota colgante, utilizando agua tipo I a 25°C para comparar con referencias de tensión superficial (Rumble, 2023) y ángulo de contacto en cristal de sílice (Deng et al, 2018). De esta manera, se pudo realizar la estandarización de ambas metodologías, considerando las distancias detalladas en la Tabla 2-1.

Tabla 2-1

Distancias del equipo para los métodos de gota sésil y gota colgante

	(a) Gota colgante	(b) Gota sésil
Altura de cámara	12.5 cm	8.5 cm
Distancia muestra-cámara	9.4 cm	8.0 cm
Altura muestra-superficie	4.0 cm	0.5 cm
Distancia muestra-difusor	11.8 cm	11.5 cm
Altura luz trasera	17.0 cm	13.0 cm
Altura soporte de jeringuilla	20.5 cm	21.0 cm

En cuanto a los sistemas para la caracterización de las superficies, se usó agua tipo I como componente polar; N-N Dimetilformamida Sigma Aldrich 99.8% de pureza, como medianamente polar y Monobromonaftaleno para refractometría Atago, como no polar. Además, las superficies seleccionadas fueron láminas de microscopio de cristal de sílice MedicLife de 25.4 x 76.2 mm y 1-1.2 mm de espesor como hidrofílica y láminas de tereftalato de polietileno con etilvinilacetato (PET+EVA) obtenidas de películas laminadas Foska de 80 x 100 mm con 50+50 micrones de espesor como superficie hidrofóbica; estas

últimas fueron adaptadas a un tamaño similar al del cristal para su uso. Se establecieron 3 temperaturas para evaluar la termodinámica, estas fueron de 25°C, 30°C y 35°C.

Se usó un sistema de regulación de temperatura donde se estableció un valor ajustado para llegar a la temperatura deseada, este fue controlado por un termómetro digital con dos termocuplas: una para la temperatura del agua en la bomba y otra para la superficie en gota sésil o la celda en gota colgante. Finalmente, el volumen de la gota para ambas metodologías y los materiales utilizados en todos los sistemas se detallan en la sección 2.5.

2.2 Instalación de software de análisis de imágenes y complementos

Se revisaron softwares de uso libre de análisis de imágenes para la selección de uno adecuado para la medición de las propiedades interfaciales a investigar. El seleccionado fue Fiji Image J versión 1.54h, por su utilidad en varias aplicaciones como se detalló en la sección 1.5.3 del capítulo 1; además, por su fácil manejo y disponibilidad para sistemas operativos como: Windows XP, Vista, 7, 8, 10, 11, etc.; Mac OS X 10.8 “Mountain Lion” o versiones posteriores; Linux AMD64 y x86, o cualquiera que funcione con lenguaje JAVA 8. Se descargó el de Windows 32 bit para el computador utilizado.

En la Tabla B-1 del Apéndice B, se detalla el diagrama de flujo de instalación del programa y su complemento para gota colgante.

2.3 Limpieza de capilares y superficies

Las jeringuillas y capilares usados para ambas metodologías se limpiaron en una solución de etanol (Merck de pureza 99.9%) al 5% con sonicador ultrasónico BRIO Ultrasonics, durante 10 minutos a temperatura ambiente previo a las mediciones a realizar, una vez al mes. Luego de ello, se enjuagaba 3 veces con agua destilada y 1 vez con la sustancia a medir, en cada cambio de sistema.

En cuanto a las superficies, los cristales de sílice fueron lavados con agua potable, jabón neutro y enjuagados con agua destilada. Luego, fueron colocados en una solución de ácido nítrico (HNO_3 JT Baker ultrapuro) 1% en metanol (Biopack, puro) durante 24 horas mínimo; después fueron enjuagados con agua destilada 3 veces aproximadamente, hasta obtener un pH neutro, comprobado con tiras de pH (Citotest 1-14). Por último, fueron colocados en una gradilla de portaobjetos y almacenados en un desecador durante 48 horas, antes de su uso. La técnica de limpieza fue adaptada de la metodología 1 de un estudio por J. J. Cras et al (1999), donde se usó una solución 1:1 MeOH: HCl durante 30 minutos seguido de enjuague con agua y secado con nitrógeno, debido a pruebas iniciales donde no favorecía mantener una concentración tan alta de ácido para los ensayos de gota sésil.

Las láminas de PET+EVA se recortaron en rectángulos de 7x3 cm aproximadamente, similar al tamaño de los cristales y se colocaron directamente en la superficie aclimatada para cada medición. En este caso, se procuró evitar irregularidades y partículas de polvo; desechándolas si se observaba aquello.

2.4 Preparación de sistemas de ensayo

2.4.1 *Materiales, equipos y reactivos*

- Balanza analítica Ohaus Adventurer Pro AV 313 con 4 decimales de precisión
- Vasos de precipitación de vidrio de 50mL de capacidad, Pyrex USA No. 1000 $\pm 5\%$
- Matraces aforados de 5 mL Isolab (Labwere) ± 0.025
- Matraces aforados de 10 mL Glassco ± 0.025
- Matraz de 100 mL Glassco ± 0.1
- Agitador de vidrio
- Espátula

- Micropipetas Pipettor de 10-100 μL (YE197AL0479232) y 100-1000 μL (YE193AL0298446)
- Viales de vidrio para cromatografía, de 1.5 mL, WelchLab
- Solución buffer fosfato salino (PBS) 10Mm, preparada en el laboratorio.
- Albúmina sérica bovina (BSA) grado biología molecular, libre de nucleasa y proteasa, Titan Biotech Ltd.
- Glucosa monohidratada Merck
- Metformina aislada de un fármaco comercial en el laboratorio por cristalización fraccionada en alcohol, con un intervalo de temperatura de fusión de 214 a 216°C.

2.4.2 Preparación de buffer

Se preparó buffer fosfato salino como background de las soluciones complejas de ensayo. Para ello se utilizaron los siguientes reactivos:

- Cloruro de potasio ($\text{KCl}_{(s)}$) Fisher Scientific 99.0-100.5% de pureza
- Fosfato monopotásico ($\text{KH}_2\text{PO}_{4(s)}$) Thermo Scientific Chemicals $\geq 98\%$ de pureza
- Fosfato dibásico de sodio ($\text{Na}_2\text{HPO}_{4(s)}$) anhidro JT Baker
- Cloruro de sodio ($\text{NaCl}_{(c)}$) ACS 99+% de pureza

Se utilizaron 0.0100g, 0.0100g, 0.1200 y 0.4590g de cada uno, respectivamente; de acuerdo a la receta sugerida por el calculador de buffer Biomol, disponible en la web (Beynon, 2023) para una solución de 100mL con 10mM de buffer, 100mM de fuerzas salinas y pH 7 a 25°C.

2.4.3 Sistemas unitarios

Se preparó una solución madre de BSA 10 mg/mL, de la cual se iban preparando soluciones de 1mL en viales de vidrio variando concentración (2, 4, 6, 8, 10 mg/mL), allí se agregó la cantidad calculada de la solución de proteína con una micropipeta y el volumen restante era completado con buffer. Además, se tuvo los sistemas de glucosa y metformina de 15 y 40 mg/mL cada uno; disueltos en PBS.

2.4.4 Sistemas binarios y ternarios

Se prepararon soluciones madre de 5mL de BSA, glucosa y metformina de 100 mg/mL; todas disueltas en PBS. En este caso se calculó la cantidad de la proteína y los ligandos a añadir en cada vial y el volumen restante se lo completó con buffer. En suma, se dejó refrigerado durante 20 horas mínimo antes de su uso. Los sistemas se detallan en la Tabla 2-2.

Tabla 2-2

Sistemas binarios y ternarios de ensayo

Sistemas	Sustancias fijas	Concentración [mg/mL]	Sustancias variables	Rango de concentración [mg/mL]
Binarios	BSA	10	Glucosa	0-40 ^a
	BSA	10	Metformina	0-40 ^a
	Glucosa	15	BSA	0-10 ^b
	Metformina	15	BSA	0-10 ^b
Ternarios	BSA	10	Metformina	0-40 ^a
	Glucosa	15		

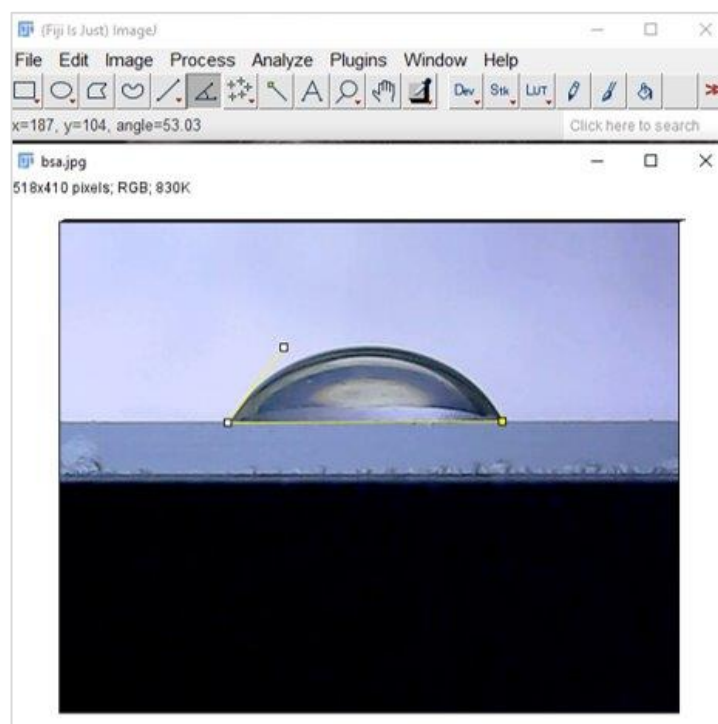
Nota: ^a Intervalos de 10 mg/mL. ^b Intervalos de 2 mg/mL.

2.5 Metodología para gota sésil y gota colgante

2.5.1 Gota sésil

Para los ensayos de gota sésil se empleó una jeringa de vidrio SGETM de 50 μ l de capacidad con capilar de calibre 20G y usando un volumen de 15 μ l para cada gota. Las superficies seleccionadas fueron cristal de sílice como hidrofílica y láminas de tereftalato de polietileno con etilvinilacetato (PET+EVA) de 50+50 micrones de espesor como superficie hidrofóbica. Cada superficie se aclimató durante 10 minutos y cada gota durante 2 minutos antes de capturar la imagen, usando un total de 8 gotas por sistema. Cabe recalcar que se realizó una limpieza de la jeringuilla con agua destilada por cada cambio de sustancia y a su vez, un enjuague con el mismo líquido de medición antes de depositar las gotas.

En el software, se importó la imagen desde “File” eligiendo la opción “Open” en la ventana desplegable y seleccionando la que se desee analizar. A continuación, se seleccionó la herramienta “ángulos” que es la que se encuentra sombreada en la Figura 2-2 y se colocó tres puntos en el contacto de las fases sólida-líquida, contacto de fases sólida-líquido-aire (punto triple) y contacto de fases líquido-aire, respectivamente. Luego se pudo visualizar el ángulo en la parte superior el cual fue registrado. Se continuó de la misma manera para el otro lado de la gota, obteniendo los ángulos de contacto de manera axisimétrica, para promediarlos.

Figura 2-2*Medición de ángulo de contacto en gota sésil*

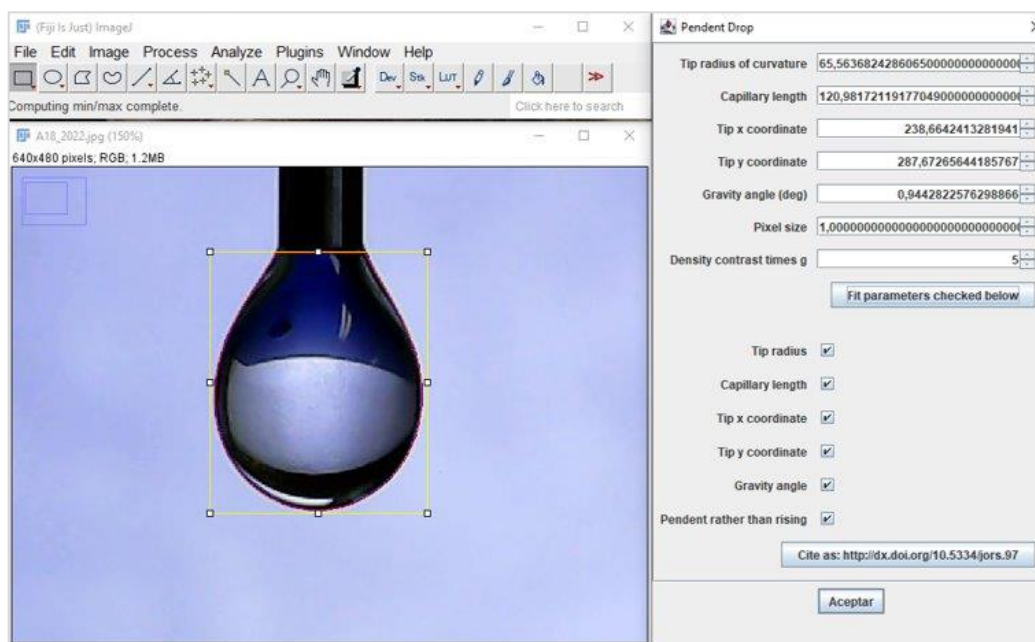
2.5.2 Gota colgante

Para el método de gota colgante se empleó una jeringuilla plástica Luer Slip de 1cc de capacidad con capilar adaptado de calibre 18 punta redondeada y usando un volumen entre 30 y 40 μl para cada gota. Se utilizó una celda plástica rectangular transparente Spectroquant® de 10mm, en la cual se colocó PBS como background de la sustancia a analizar hasta $\frac{3}{4}$ de su capacidad y se aclimató durante 10 minutos para mantener un ambiente saturado. Se dispensó un total de 8 gotas por sistema, manteniendo la punta del capilar dentro de la celda, en la zona en contacto con el vapor de la solución, para obtener la tensión superficial de cada una. En este caso se capturó una imagen por gota y se realizó una limpieza de la jeringuilla igual que en gota sésil, por cada cambio de sustancia.

En el software, se importó la imagen de la misma manera que en gota sésil y con la herramienta “rectángulo” se trazó uno alrededor de la gota, sin incluir el capilar. Seguido a ello, se eligió la opción “Drop Analysis” de la ventana que se despliega al seleccionar “Plugins”, y la opción “Pendent Drop”. A continuación, se abrió una ventana donde se ajustaron ciertos parámetros, como se observa en la Figura 2-3, hasta observar que el contorno rojo que aparece en la imagen se ajuste al borde de la gota, y se dio clic en “Aceptar”. Se abrió la ventana “Results” donde se pudo observar la tensión superficial en $\mu\text{N/m}$, la cual es convertida a mN/m para su comparación con la literatura y registro de los demás sistemas.

Figura 2-3

Medición de tensión superficial en gota colgante



2.6 Procesamiento de datos

2.6.1 Estadística de datos

Tanto para la tensión superficial, como para los ángulos de contacto, los datos obtenidos fueron promediados, tomando en cuenta 8 mediciones por técnica y sistema de estudio. Es decir, para cada muestra o solución de ensayo se realizó 8 réplicas teniendo en cuenta las mismas condiciones (temperatura, concentración, superficie) ya sea para gota colgante o sésil. Además, se registró en una base de datos con su mínimo, máximo, desviación estándar y coeficiente de variación. En el caso de valores referenciales, se incluyó un porcentaje de error de la tensión superficial de todas las sustancias y ángulo de contacto de agua en cristal de sílice a 25°C, de acuerdo a referencias detalladas en la Tabla 3-1 de la discusión.

También se realizaron análisis de varianza ANOVA con las hipótesis nulas descritas en la Tabla 2-3.

Tabla 2-3

Hipótesis nulas de los ANOVA

1. Tensión superficial	No existen diferencias significativas entre las medidas de tensión superficial de agua tipo I a 25°C en distintos días de ensayo.
2. Ángulo de contacto	No existen diferencias significativas entre el ángulo de contacto de buffer sobre la superficie hidrofílica versus la hidrofóbica.
3. Propiedades interfaciales variando temperatura	No existen diferencias significativas entre las propiedades interfaciales del agua a distintas temperaturas (tensión superficial de agua y ángulo de contacto de la misma sobre cristal de sílice y PET+EVA).

4. Energías libres de superficie	No existen diferencias significativas entre las energías libres de superficie de sistemas unitarios de proteína a distintas concentraciones (0, 2, 4, 6, 8, 10 mg/ml).
---	--

2.6.2 *Análisis de comportamiento de sistemas complejos*

Para analizar el comportamiento de los sistemas complejos de estudio, se utilizó el valor promedio de tensión superficial y ángulo de contacto, de las 8 gotas consideradas por sistema; de manera que fueron incluidos en la ecuación 1.4.2, obteniendo el trabajo de adhesión. Luego, este se relacionó con la energía libre de Gibbs, de acuerdo a la Ecuación 1.4.5, donde resulta ser la misma magnitud con diferente signo.

Posteriormente, se despejó el logaritmo natural de la constante de equilibrio de la ecuación 1.4.6, sustituyendo los valores de energía libre de Gibbs, el inverso de la temperatura del sistema en Kelvin y la constante de gases ideales; graficando $\ln K$ versus $1/T$.

Dicho procedimiento se realizó para todos los sistemas unitarios, binarios y ternarios; especificando las rectas para cada concentración considerada. Además, se obtuvo la ecuación lineal de cada uno, para obtener los resultados de variación de entalpía y entropía.

Con ello, fue posible comparar los signos de los gradientes con los especificados en el Apéndice A, y se analizaron las fuerzas intermoleculares que se ven favorecidas de acuerdo con Ross y Subramanian, determinando las interacciones que aporta la agregación de ligandos a la proteína y el mecanismo de acción de la metformina en los procesos de glucosilación in vitro ensayados.

2.7 Análisis económico

El análisis de sistemas complejos para el estudio de interacciones proteína-ligando, es llevado a cabo por técnicas espectroscópicas como: Infrarrojo por transformada de Fourier por reflectancia total atenuada FT-IR ATR (Ramalingam et al., 2014), UV-VIS (Nienhaus y Ulrich, 2005), Espectroscopía electrónica molecular inducida transitoriamente TIMES (Zhang et al., 2016), Cinética de flujo detenido por fluorescencia (Martin y Schilstra, 2021), espectroscopía del infrarrojo cercano NIR (Nalçakan et al., 2023), etc. Sin embargo, estas técnicas conllevan altos costos, por ejemplo, análisis por FT-IR alrededor de \$250 (Centro Nacional de Metrología, 2021) y un mayor tiempo asociado; por lo cual, la técnica propuesta es viable debido a que la inversión en un equipo de bajo costo es mínima en comparación a los equipos comerciales, el software es de uso libre, y se usan reactivos en pequeñas cantidades para una gran cantidad de muestras. El tiempo que se requiere involucra únicamente la aclimatación de la superficie o celda de 10 minutos y ha sido posible medir hasta 12 concentraciones diferentes en 3 horas; lo que permite a su vez reducir costos en recursos como energía eléctrica, materia prima y agua por usar un sistema recirculante. Por último, para establecer el ahorro que conlleva el uso de un goniómetro de bajo costo, se comparó los precios que involucra la manufactura del mismo con materiales importados y locales. Además, se contrastó el valor de un goniómetro comercial respecto al utilizado en la metodología.

Capítulo 3

3. Resultados y análisis

3.1. Calibración del equipo de goniometría de gota sésil y gota colgante

Se realizaron comparaciones de propiedades interfaciales con sistemas de referencia y una caracterización de 2 superficies y 3 líquidos de distinta polaridad, como se detalló en el capítulo 2 (Tabla C-1).

Considerando como variable la temperatura, fue posible notar que para todos los líquidos la tensión superficial disminuye conforme aumenta la temperatura y lo mismo ocurre con el ángulo de contacto, exceptuando el comportamiento del agua en 30°C. Además, comparando los tres líquidos, el agua resulta en una mayor tensión superficial, es decir que predominan las fuerzas cohesivas entre las moléculas; mientras que, en las sustancias de polaridad media y baja esta propiedad disminuye, lo cual se debe también a fenómenos físico-químicos como gravedad, fugacidad, densidad, entre otros. Al analizar la humectabilidad, estas mismas sustancias, resultaron en ángulos bajos sobre ambas superficies y en la mayoría hubo humectabilidad total (ángulo de contacto de 0°) debido a que no predominaron las interacciones del líquido para las condiciones seleccionadas.

El porcentaje de error de la dimetilformamida para tensión superficial, pudo ser causada por trazas de agua restantes en la jeringuilla o capilar, ya que esta sustancia es higroscópica. El comportamiento del bromonaftaleno está acorde a lo reportado por Oosterlaken y otros (2023), donde se alcanzaron tensiones superficiales desviadas del valor de literatura con el que compararon y hubo completa humectabilidad en una placa de platino iridio; pues el porcentaje de error con la referencia, muestra que el valor experimental se encuentra por debajo del real, atribuyendo dichas variaciones a la evaporación de halógenos.

No obstante, la técnica de goniometría de gota sésil y colgante desarrollada es adecuada para disoluciones acuosas, manejando las distancias del equipo detalladas en la Tabla 2-1 y con las condiciones descritas en la sección 2.5.

3.2. Acondicionamiento de sistemas de estudio

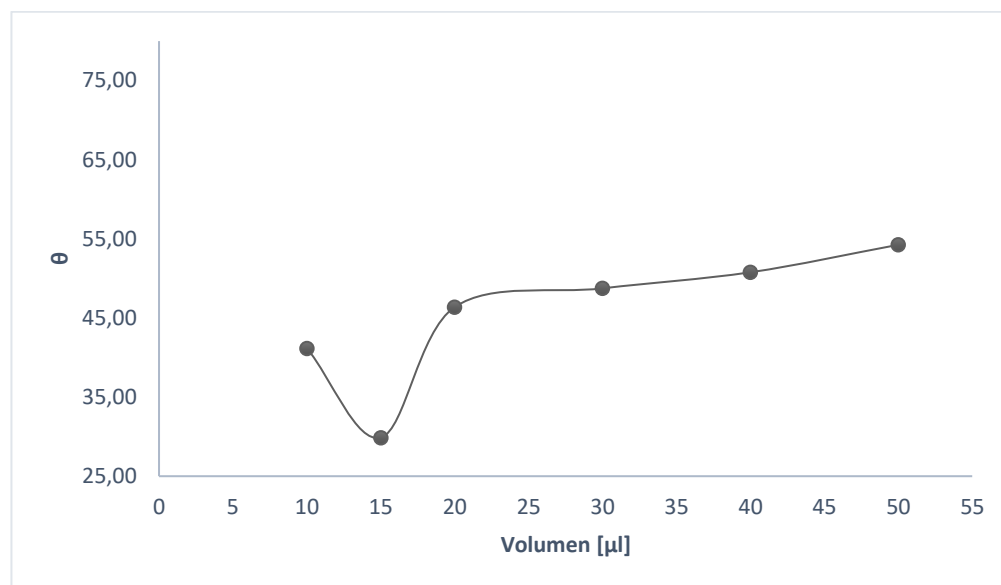
Se determinaron condiciones importantes como tiempo de aclimatación de la superficie o celda, termostatzado de las gotas, número de muestras, volumen y luminosidad.

De acuerdo a la Tabla C-2 se realizaron ensayos de gota sésil sobre una superficie hidrofílica a 25°C para comparar con la referencia reportada por Deng y otros (2018). Se determinó un tiempo de aclimatación de la superficie de 10 minutos, ya que, no hubo diferencias considerables del ángulo de contacto y se prefiere el menor tiempo de análisis. Así mismo, se fotografió cada gota al instante que fueron depositadas, pero mostró un error mayor que al esperar 2 minutos, por lo que este último se eligió como termostatzado de la muestra. En cuanto al número de gotas es preferible usar la mayor cantidad en una misma superficie; haciendo una prueba con 6 gotas y otra con 8, esta última resultó en un menor error. En base a ello, se acondicionó el sistema de gota colgante y al comparar los resultados con lo reportado por Rumble (2023), se tuvo un error de apenas 0.58%.

Por otro lado, la selección del volumen en gota sésil se realizó contrastando los resultados de ángulo de contacto de agua en cristal de sílice a 25°C a 6 diferentes volúmenes (Figura 3-1). La mayoría de ángulos se encuentran dentro del rango referencial (27.8°-50.3°), (Deng et al, 2018); pero, el volumen de 15 µl el presentó un valor más cercano al límite inferior, que es el más repetido en las mediciones de la literatura y con el que se mantiene un porcentaje de error de 3.12%.

Figura 3-1

Ángulo de contacto sobre superficie hidrofílica versus volumen de gota

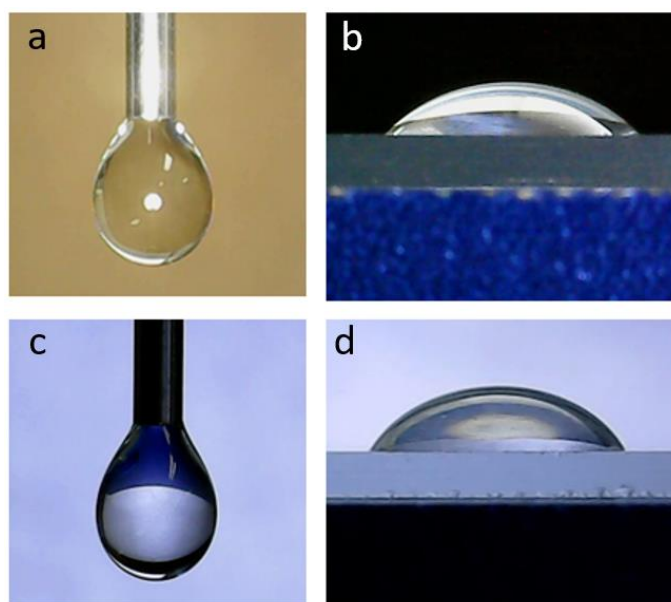


En gota colgante, en cambio, se manejó un volumen entre 30 y 40 μl debido a la dificultad de manejar la jeringuilla manualmente y por la formación correcta de la gota, a su vez obteniéndose tensiones superficiales apropiadas.

La luminosidad permitió una mejor apreciación de las gotas por la facilidad de detección de bordes tanto por el programa, como por el analista. A continuación, se muestran las imágenes de las que se seleccionaron las de mejor calidad y con mejor detección de bordes (Figura 3-2 c y d).

Figura 3-2

Imágenes de gota colgante y gota sésil con distinta luminosidad



Nota. Gota colgante con luz delantera y fondo claro (a), gota sésil con luz delantera y fondo oscuro (b), gota colgante con luz trasera y difusor (c), gota sésil con luz trasera y difusor (d)

Con las condiciones determinadas y los datos referenciales definidos en la calibración con agua, se estableció la metodología de medición de propiedades interfaciales (Figura C-1).

3.3.Evaluación estadística de propiedades interfaciales en disoluciones de biomoléculas

En las Tablas C-4 a C-10 del apéndice, se tienen los promedios de propiedades interfaciales para sistemas unitarios, binarios y ternarios a distintas temperaturas y concentraciones. Donde las mayores desviaciones estándar se atribuyen al ángulo de contacto sobre cristal de sílice, esto pudo ser posible porque el material requiere mayor manipulación, o porque las interacciones entre la proteína o los ligandos con dicha superficie son variables debido a su estructura. Además, comparando los sistemas unitarios de proteína con los ligandos, estos últimos tienen mayor variación, lo que se debe a la magnitud de sus ángulos.

A pesar de llegar a coeficientes de variación cerca del 23%, es aceptable para la cantidad de muestras utilizadas (8 gotas por sistema); pues de acuerdo a Andrade (2020), las desviaciones fueron mucho mayores para el sistema agua-cristal de sílice (40.8 con 158 observaciones). Y teniendo en cuenta que las sustancias que se estudian son complejas, se espera observar una variación hasta que alcancen la estabilidad.

Por otro lado, se realizó análisis de varianza de propiedades interfaciales, con una confianza del 95%. De la Tabla C-3 es posible establecer que la metodología de gota colgante es repetible y reproducible pues, en 3 días distintos de ensayo se tienen tensiones superficiales dentro de la media para agua a 25°C y el error respecto a la referencia es mínimo. Con ello, se concluye que la técnica tiene alta exactitud y precisión a las condiciones determinadas.

En la segunda hipótesis referente a los ángulos de contacto (Tabla 2-3) se pudo notar que sobre la superficie hidrofílica fueron alrededor de 30° y sobre la hidrofóbica cerca de 75°; mostrando gran diferencia debido a la humectabilidad del material, lo que hizo prescindible usar el ANOVA y a la vez indica que al equipo es adecuado para manejar ambas superficies, dado que son diferencias esperadas.

Con la tercera hipótesis utilizando las propiedades interfaciales, se comparó la tensión superficial del agua y el ángulo de contacto sobre las superficies hidrofílica e hidrofóbica a 3 temperaturas distintas obteniéndose que existen diferencias significativas de dichas propiedades en todos los casos; es decir, el sistema es sensible a la temperatura y puede utilizarse para evaluar la termodinámica de las disoluciones complejas, siendo en el ángulo de contacto sobre cristal de sílice donde hay mayores diferencias, lo que se evidencia con el F calculado de la hipótesis 3^b (Tabla C-3).

Por último, al comparar la proteína variando concentraciones a 25°C sobre ambas superficies, se concluyó que no existen diferencias significativas en las medias de su energía libre superficial; no obstante, sobre la superficie hidrofílica el valor de F tabulado respecto al calculado difiere en apenas 0.12, es decir, podría haber diferencias en las medias de los resultados, pero se debe analizar desde un punto de vista distinto al estadístico. La información tomada en cuenta para los ANOVA se encuentra en las Tablas C-11 a C-16.

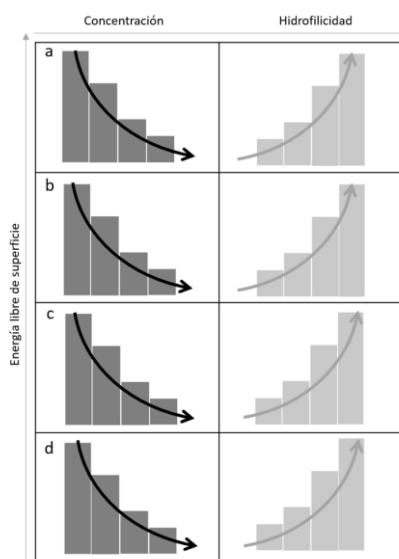
3.4. Evaluación del comportamiento de sistemas biológicos

Las energías de superficie resultaron ser mayores en sistemas unitarios, estos a los binarios y ternarios; esto implica que, al añadir un ligando en el medio disminuye la energía necesaria para formar o romper enlaces entre las moléculas del líquido con la superficie, con ello decrecen las fuerzas cohesivas y aumenta la adhesión al entrar en contacto con un sólido.

En la Figura 3-3 se muestran las tendencias de la energía libre en función de la concentración e hidrofiliidad.

Figura 3-3

Tendencia de la energía libre de superficie en función de dos variables para los sistemas complejos



Nota. (a) Sistemas unitarios, (b) Sistemas binarios con BSA a concentración fija, (c) Sistemas binarios con BSA a concentraciones variables, (d) Sistemas ternarios.

Para todos los sistemas esta propiedad disminuye conforme aumenta la concentración debido a que hay mayor cantidad de sustancia con la que se puede establecer enlaces, esto es lo contrario a lo que se estableció estadísticamente en el apartado anterior; sin embargo, se pudo identificar una tendencia asociada a la adaptabilidad que tienen las proteínas globulares como la BSA para adoptar la polaridad del medio en el que se encuentran (Prasad et al, 2021). Ocurre lo contrario si se modifica la superficie de una hidrofóbica a hidrofílica, esta última tendrá una mayor energía, lo cual conlleva una adhesión mayor y un menor ángulo de contacto; fenómeno que se atribuye a la polaridad de los complejos, pues todos tienen buffer como “background” que es una solución acuosa.

La variación de energía libre superficial respecto a la temperatura (Tablas C-17 a C-19) no presenta una tendencia definida para todos los sistemas. De acuerdo a Rahmati y otros (2020), el tipo de enlaces existentes al actuar con una superficie representan modificaciones en el valor de su energía libre, que pueden ser “de tipo primario (iónico, covalente y metálico) así como secundarios (Van der Waals)” (p. 5208). Dependiendo el tipo de enlace que predomine la energía libre superficial será alta o baja respectivamente; sin embargo, la mayoría de superficies poseen una combinación de ambos que hace compleja su interacción con moléculas biológicas y pudo ser la causante del comportamiento irregular observado.

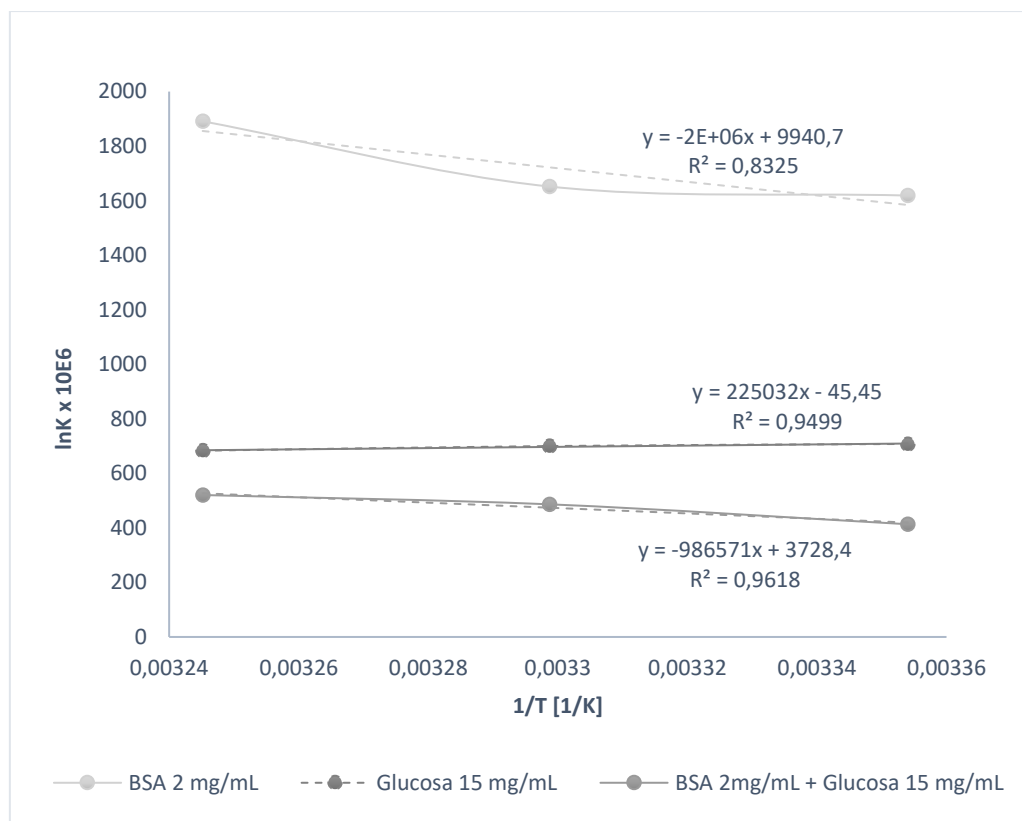
Para comparar los sistemas (Tablas C-17, C-18 y C-19) se consideraron los de BSA 10mg/mL, glucosa 40mg/mL, metformina 40mg/mL, binarios y ternarios que contenían la misma concentración en el rango de 25 a 30°C sobre cristal de sílice, donde se identificó un cambio de tendencia en la energía libre superficial, de manera que predominaron las interacciones de la glucosa, por disminuir su valor. Esto implica la formación de la

glucosilación, que se podría comprobar al contrastar los signos de variación de entalpía y entropía (Tabla C-20) donde resultan predomnantes las interacciones hidrofóbicas que presentó la glucosa; sin embargo, el valor de R^2 para dichos sistemas se aleja de 1, por lo cual este criterio no asegura la formación de la proteína glicosidada.

Por otro lado, se analizó la termodinámica de los sistemas complejos por medio de gráficos de Van't Hoff (Figuras 3-4) para sistemas que resultaron muy aproximados a la linealidad.

Figura 3-4

Comparación de sistemas complejos unitarios y binarios representativos en superficie de PET+EVA



Siguiendo la metodología de la sección 2.6.2, fue posible determinar el signo de la variación de entalpía y entropía de las ecuaciones de la recta que se muestran en la figura anterior. De allí, se tuvo que la glucosa posee variaciones negativas favoreciéndose las

interacciones de Van der Waals, enlaces de hidrógeno y protonación. Mientras que la proteína, a pesar de no ser lineal, se observa que predominan las interacciones hidrofóbicas. Al combinar los sistemas, se siguen manteniendo dichas interacciones; es decir, aunque la concentración del ligando sea mayor, las interacciones moleculares presentes en la proteína gobiernan o son más notorias por el método de goniometría.

3.5. Análisis de costos

Teniendo en cuenta que la metodología propuesta no existe en el mercado, se realizó un análisis de los implementos que se requieren para la fabricación del equipo de bajo costo, se comparó los precios de importación con los locales en la Tabla C-21. De allí se tuvo que el costo de manufactura es de \$354.27, resultando en un ahorro de \$124.17. Y en comparación a un goniómetro comercial importado que cuesta alrededor de \$2169.07 según Ossila Ltda. (2023), se ahorra \$1814.80. Además, la inversión en reactivos se detalla en la Tabla C-22 resulta en \$1885.31; sin embargo, para la cantidad de muestras requeridas en el método se utiliza soluciones de menos de 1mL para pruebas, lo que permite ahorrar en recursos.

Capítulo 4

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

- Fue posible la calibración de las metodologías de gota sésil y gota colgante comparando con valores referenciales para el agua a las condiciones seleccionadas en el ajuste del equipo. Con ello, se establece que es necesario medir la tensión superficial del agua a 25°C antes de iniciar experimentaciones variando temperatura y sustancias. Para el ángulo de contacto, se determina que sobre cada superficie de cristal de sílice se debe medir los mismos de manera axisimétrica en una gota de agua a 25°C como blanco y si cumple con el valor referencial y se encuentra dentro de la desviación registrada se puede continuar con el ensayo de las disoluciones complejas; caso contrario, se verifican las condiciones o se descarta la superficie por posible contaminación.
- Con las comparaciones de diversas condiciones examinadas en el equipo se estableció que las distancias adecuadas para cada metodología fueron las detalladas en la Tabla 2-1; sin embargo, es necesario tomar como referencia el agua antes de cada ensayo. Respecto al volumen, para gota sésil 15 μl fueron adecuados y entre 30-40 μl para gota colgante. En cuanto a la luminosidad, se mejoró la calidad de las imágenes usando luz trasera y difusor como lo poseen otros goniómetros de ángulos de contacto (Lamour et al, 2010). Finalmente, se puede mantener el número de réplicas como 8 para cada método, ya que, con ello la dispersión es baja y aseguran la repetibilidad y reproducibilidad de los ensayos, a la vez que se minimiza el uso de recursos.
- Al evaluar estadísticamente los resultados de las propiedades interfaciales consideradas en el estudio, se obtuvo que en gota colgante la dispersión de la mayoría de sistemas fue adecuada, lo mismo ocurrió para gota sésil sobre la superficie hidrofóbica, ya que no

requirió de un proceso de limpieza o manipulación y eran de único uso. Se debe mejorar el método de limpieza de las superficies hidrofílicas para evitar que existan desviaciones estándar mayores a 10° y coeficientes de variación mayores al 10%. En relación a los ANOVA realizados, se pudo corroborar la reproducibilidad con el agua como referencia variando los días de medición, se debe comprobar con otro analista u otras condiciones; además, se determinó que los ángulos de contacto sobre distintas superficies tienen diferencias significativas, lo que hace al método de gota sésil sensible a la naturaleza del sólido utilizado. Contrastando las temperaturas seleccionadas para un mismo sistema (agua sobre cristal de sílice o agua sobre PET+EVA) resultó en poseer diferencias significativas, esto se puede interpretar como una sensibilidad de los métodos de medición ensayados a la temperatura, por lo que es apto para estudiar sistemas termodinámicos. Por último, comparando las energías libres de superficie de sistemas unitarios de proteína, se obtuvo que no existen diferencias en la media de todos los resultados, es decir, a las concentraciones consideradas, el equipo no detecta una variación significativa.

- Al evaluar el comportamiento de las disoluciones complejas que intervienen en el tratamiento de la diabetes, esto es, la glucosidación de la proteína con el tratamiento de un fármaco común que es la metformina, se pudo determinar que la metodología de goniometría de gota colgante y gota sésil es capaz de detectar diferencias en las energías libres de superficie teniendo en cuenta las variables de concentración y temperatura. De la misma manera, revela diferencias al usar superficies de distinta humectabilidad, pudiendo ser adecuado no sólo para sistemas biológicos, sino para otros campos donde se utiliza caracterización de superficies en la actualidad.

4.2 Recomendaciones

- Es necesario calibrar el equipo con otras sustancias puras, para asegurar la validación de la estrategia en todos los disolventes, además de agua. En el caso de medición de ángulos de contacto, se debe mejorar la metodología de limpieza del cristal de sílice para la disminución del porcentaje de error y la dispersión de los resultados, tanto en la calibración con agua para su comparación como en los sistemas complejos. En el caso de la superficie hidrofóbica, se recomienda caracterizarla para poder reportar con exactitud el tipo de material que se está manejando, o usar nuevas superficies con componentes puros.
- Es importante que diferentes analistas realicen ensayos de gota sésil y gota colgante con agua y con las disoluciones complejas a las condiciones establecidas en la metodología para la comparación de los resultados y aseguramiento de la reproducibilidad en todos los sistemas. Además, se sugiere automatizar la forma de dispensación de las gotas para evitar errores del analista al manipular las jeringuillas; también modificar el volumen en la técnica de medición de tensión superficial, para que sea igual a la de ángulo de contacto, realizando pruebas y verificando estadísticamente que sea aceptable. En cuanto a la luminosidad, es necesario mejorar el sistema con la creación de una caja oscura que delimite el lugar de las muestras y permita el paso de la luz difusa, de manera que se eviten reflejos causados por luces externas dentro del lugar de trabajo.
- Se sugiere implementar una metodología de histéresis mediante la medición de ángulos de contacto dinámicos de avance y retroceso, para su relación con las propiedades interfaciales medidas y determinación de nuevos datos de goniometría para sistemas complejos.

- Es significativo realizar ensayos de las propiedades interfaciales propuestas a una mayor cantidad de temperaturas que las tomadas en cuenta, para poder evaluar la termodinámica de las disoluciones biológicas de estudio de manera que sea posible determinar si el comportamiento es lineal o en su defecto establecer el tipo de función que presentaría la energía libre superficial.

Referencias

- Adamczyk O., Szota M., Rakowski K., Prochownik M., Doveiko D., Chen Y., Jachimska B. (2024). Bovine serum albumin as a platform for designing biologically active nanocarriers-experimental and computational studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(37), 1-19. <https://doi.org/10.3390/ijms25010037>
- Andrade, C. F. (2020). *Contact Angle Hysteresis: Implications for Fluid Flow*. [Thesis for the Degree of Master in Science], <https://repository.kaust.edu.sa/items/df8533e3-9175-4ffc-be7c-ad149b5542d5>
- Barbot, A., Ortiz, F., Bolopion, A., Gauthier, M., & Lambert, P. (2023). Exploiting Liquid Surface Tension in Microrobotics. *Annual Reviews*, 6(3), 13-34. <https://doi.org/10.1146/annurev-control-062422>
- Beynon R. (2023). *Buffer Calculator*, University of Liverpool. <https://www.biomol.net/en/tools/buffercalculator.htm>
- Bonilla Manrique, O. (2020). *Desarrollo de aplicaciones basadas en técnicas espectroscópicas y fuentes multimodo para la detección y caracterización de sustancias peligrosas en aplicaciones industriales*. [Tesis doctoral, Universidad Carlos III de Madrid], <https://e-archivo.uc3m.es/handle/10016/31318>
- Centro Nacional de Metrología. (2021). *Análisis de alta confiabilidad*. <https://www.cenam.mx/analysac/servicios.aspx>
- Cras J. J., Rowe-Taitt C. A., Nivens D. A., Ligler F. S. (1999) Comparison of chemical cleaning methods of glass in preparation for silanization. *Biosensors & Bioelectronics*, 14(1). 683-688.

- Daerr A., Mogne A. (2016). Pendent Drop: An ImageJ plugin to measure the surface tension from an image of a pendent drop. *Journal of Open Research Software*, 4(3), 1-5.
<http://dx.doi.org/10.5334/jors.97>
- Deng, Y., Xu, L., Lu, H., Wang, H., & Shi, Y. (2018). Direct measurement of the contact angle of water droplet on quartz in a reservoir rock with atomic force microscopy. *Chemical Engineering Science*, 177, 445–454. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2017.12.002>
- Drelich, J. W., Boinovich, L., Chibowski, E., della Volpe, C., Hołysz, L., Marmur, A., & Siboni, S. (2020). Contact angles: History of over 200 years of open questions. *Surface Innovations*, 8(1-2), 3-27 ICE Publishing. <https://doi.org/10.1680/jsuin.19.00007>
- Eichler, J. (2019). Protein glycosylation. *Current Biology*, 29(7), R229–R231.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.01.003>
- Esquivel B. (2022). *Lista de pecios de análisis disponibles* [Archivo pdf].
https://www.iquimica.unam.mx/images/precios/PRECIOS_DE_ANALISIS_2019.pdf
- Fatych, Y., Recio Aldavero, J., Sanchís Bonet, Á., & Menor-Salván, C. (2022). Aplicación de técnicas espectroscópicas en la caracterización del cáncer de próstata. *Journal dianas*, 11(2): e202209fa08. ISSN 1886-8746 (electronic) journal.dianas.e202209fa08
<http://www3.uah.es/dianas?e202209fa08>. URI <http://hdl.handle.net/10017/15181>
- Haow K., Kumar P., Zahiri B., Mérida w. (2019). Assesment and interpretation of surface wettability based on sessile droplet contact angle measurement: challenges and opportunities. *Advances Materials Interfaces*, 6(18), 1900839.
<https://doi.org/10.1002/admi.201900839>

Hetz C., Zhang K., Kaufman R. (2020). Mechanism, regulation and functions of the unfolded protein response. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21, 421-438.

<https://doi.org/10.1038/s41580-020-0250-z>

Huhtamäki T., Tian X., Korhonen J., Ras R. (2018). Surface wetting characterization using contact-angle measurements. *Nature Protocols*, 13, 1521-1538.

<https://doi.org/10.1038/s41596-018-0003-z>

Ismail, M. F., Islam, M. A., Khorshidi, B., Tehrani-Bagha, A., & Sadrzadeh, M. (2022). Surface characterization of thin-film composite membranes using contact angle technique:

Review of quantification strategies and applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 299. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102524>

Jiang, S. L., Wang, W. J., Hu, Z. Y., Zhang, R. J., & Shi, J. H. (2023). Comprehending the intermolecular interaction of JAK inhibitor fedratinib with bovine serum albumin (BSA)/human alpha-1-acid glycoprotein (HAG): Multispectral methodologies and molecular simulation. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 304. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.123277>

Lamour G., Hamraoui A., Buvailo A., Xing Y., Keuleyan S., Prakash V., Eftekhari A., Borguet E. (2010). Contact angle measurements using a simplified experimental set up. *American Chemical Society and Division of Chemical Education, Inc.* 87(12), 1281-1460.

<https://doi.org/10.1021/ed100468u>

Lee, J. W., Choi, S. R., & Heo, J. H. (2021). Simultaneous Stabilization and Functionalization of Gold Nanoparticles via Biomolecule Conjugation: Progress and Perspectives. *American Chemical Society. Applied Materials and Interfaces*, 13(36), 42311–42328.

<https://doi.org/10.1021/acsami.1c10436>

- Martin S. R., Schilstra M. J. (2021). Interactions of a Signal Transduction Protein investigated by Fluorescence Stopped-Flow Kinetics. *Methods in Molecular Biology*, 2263.
https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1197-5_3
- Mittal K. L. (2018). *Contact angle, wettability and adhesion*. CRC Press, Taylor & Francis Group, 3. ISBN-13: 978-90-6764-391-7
- Nalçakan H., Kurtay G., Özdil D. T., Yilmaz Z. (2023). An in silico pharmacokinetic investigation of organic luminogens: understanding the NIR aiegens and their interactions with serum albumins. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 48(1), 1-19. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1335047>
- Nienhaus, K., Ulrich, G. (2005). Probing Heme Protein-Ligand Interactions by UV/Visible Absorption Spectroscopy. *Methods in Molecular Biology*, (305).
<https://doi.org/10.1385/1-59259-912-5:215>
- Ochogavía, A. C. (2022). Quantifying the reproductive progression of sunflower using FIJI (Image J). *MethodsX*, 9. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101879>
- Oosterlaken B., Bruinhorst A., With G. (2023). On the use of probe liquids for surface energy measurements. *Langmuir*, 239(47), 16685-16964.
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.3c00910>
- Organización Panamericana de la Salud. (2023). *Perfiles Carga Enfermedad Diabetes 2023*.
<https://www.paho.org/es/tag/perfiles-carga-enfermedad-diabetes-2023>
- Ossila Ltd. (2023). *Contact angle goniometer: User manual*. [Archivo PDF].
<https://www.ossila.com/>
- Pan, B., Clarkson, C. R., Debuhr, C., Younis, A., Song, C., Ghanizadeh, A., & Birss, V. I. (2021). Low-permeability reservoir sample wettability characterization at multiple

- scales: Pore-, micro- and macro-contact angles. *Journal of Natural Gas Science and Engineering*, 95. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2021.104229>
- Pine, K. R., de Silva, K., Zhang, F., Yeoman, J., & Jacobs, R. (2021). Towards improving the biocompatibility of prosthetic eyes. *Heliyon*, 7(2).
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06234>
- Pistone A., Sclaro C., Visco A. (2021). Mechanical properties of protective coatings against marine fouling: a review. *Polymers*, 13(2), 1-19. <https://doi.org/10.3390/polym13020173>
- Prasad K., Mondal S., Mondal S., Bandyopadhyay S. (2021). Contrasting effects of ionic liquids of varying degree of hydrophilicity on the conformational and interfacial properties of a globular protein. *The Journal of Physical Chemistry*, 125, 9441-9453.
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c04167?urlappend=%3Fref%3DPDF&jav=VoR&rel=cite-as>
- Qais, F. A., Sarwar, T., Ahmad, I., Khan, R. A., Shahzad, S. A., & Husain, F. M. (2021). Glyburide inhibits non-enzymatic glycation of HSA: An approach for the management of AGEs associated diabetic complications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 169, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.096>
- Rahmati M., Silva E., Reseland J., Heyward C., Haugen H. (2020). Biological responses to physicochemical properties of biomaterial surface. *Royal Chemical of Society*, 49(15), 5103-5640. DOI: 10.1039/d0cs00103a.
- Ramalingam P., Padmanabha Reddy Y., Vinod Kumar K., Rao Chandu B., Rajendran K. (2014). Evaluation of metformin hydrochloride in Wistar rats by FTIR-ATR spectroscopy: A convenient tool in the clinical study of diabetes. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 5(2), 288-292.

Ramé-hart Instrument Co. (2023). *Ramé-hart Model 790*. [Archivo PDF].

<https://www.ramehart.com/>

Repositorio de investigadores ESPOL. (2022). *Estadísticas de Publicaciones por Área de Investigadores*. <http://i-research.espol.edu.ec/>

Ross P. D., Subramanian S. (1981). Thermodynamics of Protein Association Reactions: Forces Contributing to Stability. *Biochemistry*, 20(11), 3096-3102.

Rumble, J. R. (2023). *Handbook of Chemistry and Physics*. CRC Press, Taylor & Francis Group, 104. ISBN-13 978-1032425207

Sadikan, M. Z., Abdul Nasir, N. A., Abdul Ghani, N. A., Lambuk, L., Iezhitsa, I. N., & Agarwal, A. R. (2021). The Use of Fiji Image J as an Image Analysis Tool for Measuring Retinal Vessel Diameter in Rodent Model of Diabetic Retinopathy. *Asian Journal of Medicine and Biomedicine*, 5(1), 61–66.

<https://doi.org/10.37231/ajmb.2021.5.1.422>

Schindelin J., Arganda I., Cardona A., Longair M., Schmid B. (2022) JAVA (Versión 1.54h) [Fiji Image J] Recuperado de <https://imagej.net/software/fiji/downloads>

Shah R., Gashi B., Hoque S., Marian M., Rosenkranz A. (2021). Enhancing mechanical and biomedical properties of prostheses-surface and material design. *Surfaces and Interfaces*, 27(101498), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2021.101498>

Shardt, N., Wang, Y., Jin, Z., & Elliott, J. A. W. (2021). Surface tension as a function of temperature and composition for a broad range of mixtures. *Chemical Engineering Science*, 230. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2020.116095>

Skoog D., Holler F., and Crouch, S. (2018). *Principles of instrumental analysis* (7th ed.). Cengage Learning. ISBN: 9786075266558.

- Yang, B., Wei, C., Qian, F., & Li, S. (2019). Surface Wettability Modulated by Surfactant and Its Effects on the Drug Release and Absorption of Fenofibrate Solid Dispersions. *AAPS PharmSciTech*, 20(6). <https://doi.org/10.1208/s12249-019-1446-4>
- Yildirim Erbil, H. (2021). Dependency of contact angles on three-phase contact line: A review. *Colloids and Interfaces*, 5(1). <https://doi.org/10.3390/colloids5010008>
- Zhang Q., Chi L. & Zhang F. (2021). Editorial: Interactions Between Proteins and Biomacromolecules: Tools and Applications. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 1-2. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.708084>
- Zhang S., Zhao L., Yue X., Li B., Zhang J. (2018). Density, viscosity, surface tension and spectroscopic studies for the liquid mixture of tetraethylene glycol + N,N-dimethylformamide at six temperatures. *Journal of Molecular Liquids*, 264, 451-457. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.04.017>
- Zhang T., Wei T., Han Y., Ma H., Samieegohar M., Chen P., Lian I., Lo Y. (2016). Protein-Ligand interaction detection with a novel method of Transient Induced Molecular Electronic Spectroscopy (TIMES): Experimental and theoretical studies. *American Chemical Society*, 2, 834-842. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.6b00217>

Apéndice A

Tabla A-1

Signos esperados de las contribuciones de variaciones de entalpía y entropía

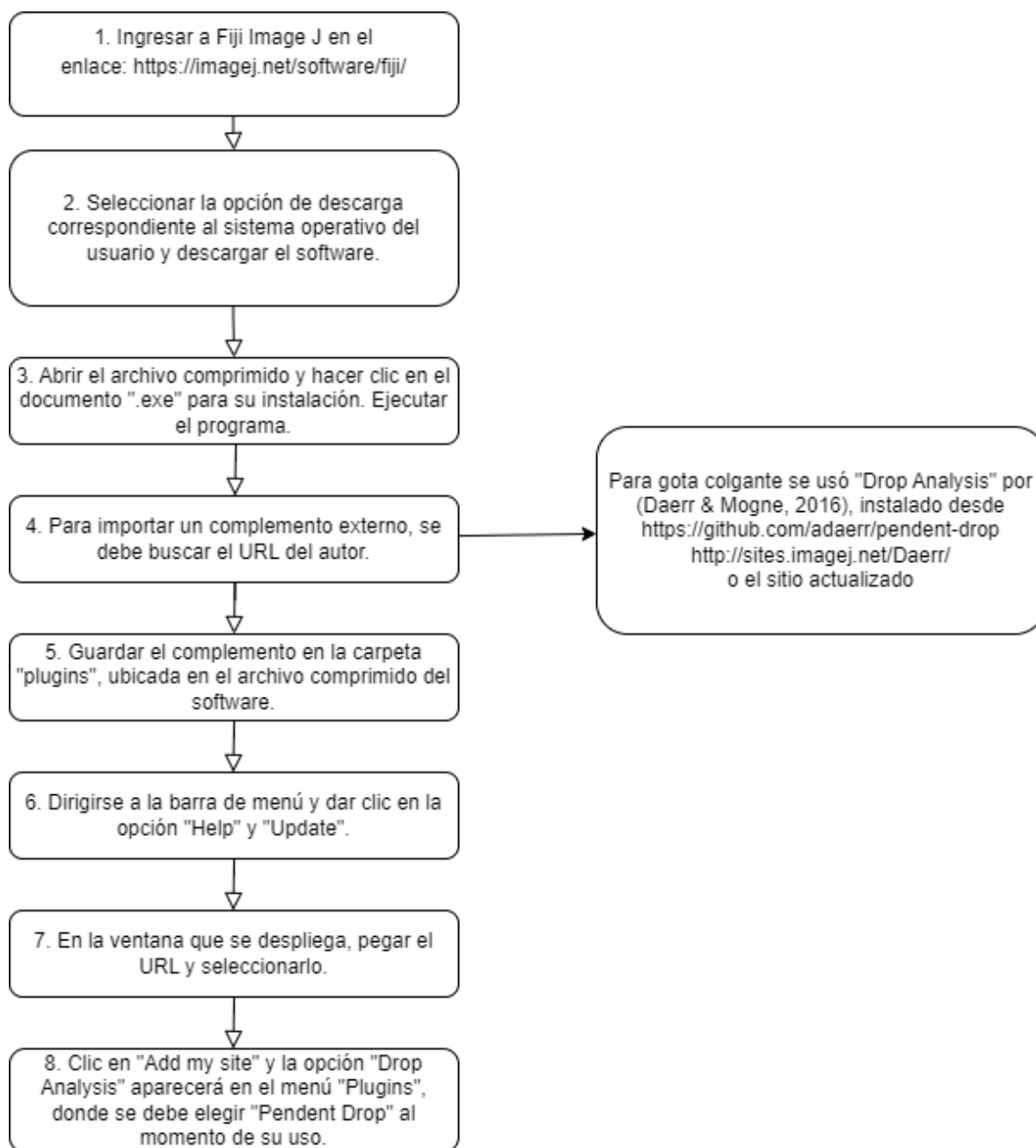
Proceso	ΔH	ΔS
Asociación hidrofóbica	Positiva	Positiva
Van der Waals	Negativa	Negativa
Formación de enlaces de hidrógeno en medio dieléctrico bajo	Negativa	Negativa
Neutralización de carga iónica	Ligeramente positiva o negativa	Positiva
Protonación	Negativa	Negativa*

Nota. *Estado estándar para el H⁺; unidad de actividad a pH 7. Adaptado de “Thermodynamics of Protein Association Reactions: Forces Contributing to Stability” (p. 3098), por Ross & Subramanian, 1981, *Biochemistry*, 20(11).

Apéndice B

Figura B-1

Diagrama de flujo de instalación de software para análisis de imágenes y complemento



Apéndice C

Figura C-1

Diagrama de flujo de la metodología de medición de propiedades interfaciales en disoluciones complejas

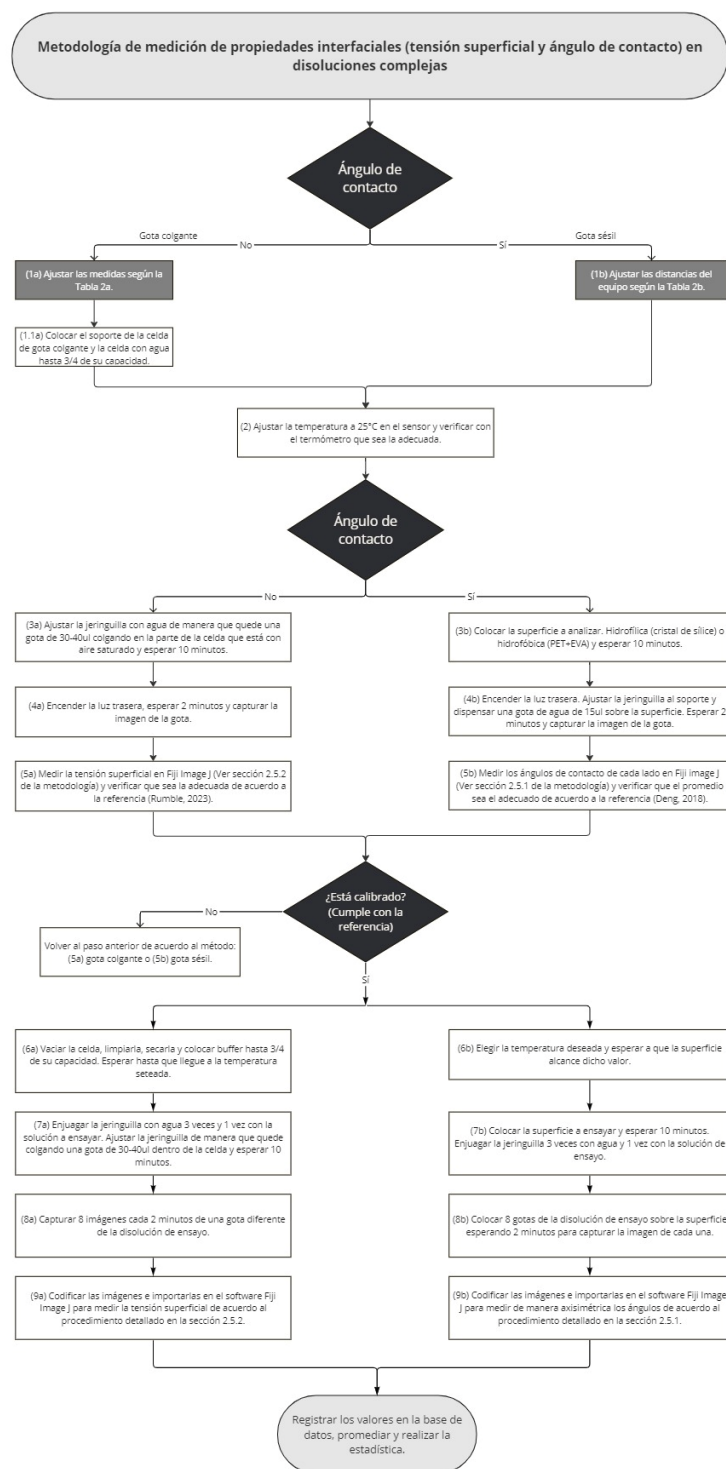


Tabla C-1*Propiedades interfaciales para sistemas puros*

Líquido	Temperatura [°C]	Propiedades interfaciales			Error [%]	
		σ_L [mN/m]	$\theta_{\text{hidrofílica}}$	$\theta_{\text{hidrofóbica}}$	σ_L	$\theta_{\text{hidrofílica}}$
Agua	25	71.57 ± 0.29	28.67 ± 0.74	74.44 ± 3.18	0.58 ^a	3.12 ^b
	30	69.16 ± 0.88	27.70 ± 4.01	69.21 ± 1.60	2.84 ^a	
	35	69.52 ± 1.40	38.16 ± 5.02	71.39 ± 4.41	1.21 ^a	
DMF	25	40.01 ± 0.81	0.00	20.60 ± 1.89	8.20 ^c	
	30	38.01 ± 0.40	0.00	19.16 ± 2.24	11.47 ^c	
	35	28.21 ± 0.82	0.00	18.09 ± 3.02	14.52 ^c	
Bromonaftaleno	25	20.20 ± 0.45	14.75 ± 1.96	0.00	*53.00 ^d	
	30	19.54 ± 2.39	0.00	0.00	*53.93 ^d	
	35	15.93 ± 0.32	0.00	0.00	*61.93 ^d	

Nota. Superficie hidrofílica: cristal de sílice. Superficie hidrofóbica: láminas de PET+EVA de 100mic. Porcentajes de error respecto a ^a(Rumble, 2023), ^b(Deng et al,2018), (Zhang et al, 2018), ^d(Oosterlaken et al, 2023). *Valores referenciales calculados por interpolación lineal de 43.11mN/m a 23.8°C y 40.75 mN/m a 44.7°C.

Tabla C-2*Tiempo de aclimatación y número de gotas en el ensayo de gota sésil*

Tiempo*	Tiempo**	Nro.	Líquido /	Temperatura	θ	C.V.	Error ^a
[min]	[min]	De	Superficie	[°C]	[°]	[%]	[%]
		gotas					
20	0	6			30.46 ±	6.42	9.57
					1.96		
20	2	6	Agua/Cristal	25	28.85 ±	8.83	3.78
			de sílice		2.55		
10	2	8			28.67 ±	2.60	3.12
					0.74		

Nota. *Tiempo de aclimatación de la superficie. **Tiempo de aclimatación de cada gota. ^aError respecto a (Deng et al, 2018)

Tabla C-3*Resultados de los ANOVA para propiedades interfaciales y energías libres*

	Variable	Hipótesis nula*	Fcalc	Ftab	Acepta
Tensión superficial de agua.	Días de ensayo	1	2.31	3.47	Sí
Propiedades interfaciales de agua.	Temperatura	3 ^a	9.80	3.47	No
		3 ^b	19.15	3.47	No
		3 ^c	5.16	3.47	No
Energías libres de superficie de proteína.	Concentración	4 ^d	2.32	2.44	Sí
		4 ^e	1.25	2.44	Sí

Nota. *Hipótesis nulas descritas en la Tabla 2-3. Fcalc: F calculada < Ftab: Ftabulada, se acepta la hipótesis nula.

^aTensión superficial, ^bÁngulo de contacto en superficie hidrofílica, ^cÁngulo de contacto en superficie hidrofóbica,

^dEnergía libre de superficie en superficie hidrofílica, ^eEnergía libre de superficie sobre superficie hidrofóbica.

Tabla C-4*Propiedades interfaciales de sistemas unitarios de BSA a distintas concentraciones*

Temperatura [°C]	BSA [mg/mL]	σ_L [mN/m]	$\theta_{\text{hidrofílica}}$ [°]	$\theta_{\text{hidrofóbica}}$ [°]
25	2	64.82 ± 3.64	36.35 ± 2.16	78.68 ± 4.15
30		60.31 ± 2.93	31.98 ± 2.61	71.82 ± 1.76
35		63.48 ± 3.18	50.49 ± 3.12	64.72 ± 3.30
25	4	66.57 ± 4.42	49.21 ± 5.24	76.36 ± 1.35
30		59.08 ± 6.26	50.81 ± 7.28	70.20 ± 1.92
35		58.09 ± 3.44	38.56 ± 4.16	68.80 ± 3.27
25	6	67.14 ± 4.55	43.39 ± 3.96	74.15 ± 2.14
30		60.24 ± 2.55	38.02 ± 4.47	68.85 ± 1.59
35		62.75 ± 3.20	38.06 ± 4.71	65.03 ± 2.28
25	8	64.75 ± 2.84	41.14 ± 5.71	74.82 ± 1.05
30		58.61 ± 2.65	32.43 ± 2.28	68.39 ± 2.84
35		61.08 ± 3.30	44.68 ± 5.25	64.98 ± 1.63
25	10	65.74 ± 4.11	47.88 ± 2.20	71.57 ± 2.22
30		59.96 ± 2.32	47.47 ± 6.39	71.39 ± 2.17
35		62.97 ± 2.47	29.58 ± 2.25	66.45 ± 2.65

Tabla C-5*Propiedades interfaciales de sistemas unitarios de ligandos a distintas concentraciones*

Temperatura [°C]	Ligando	σ_L [mN/m]	$\theta_{\text{hidrofílica}}$ [°]	$\theta_{\text{hidrofóbica}}$ [°]
25	Glucosa 15 mg/mL	71.88 ± 5.54	38.90 ± 8.82	72.20 ± 3.94
30		69.20 ± 0.67	33.42 ± 4.29	70.02 ± 3.29
35		71.36 ± 1.54	31.59 ± 5.06	74.36 ± 2.40
25	Glucosa 40 mg/mL	72.05 ± 3.08	43.27 ± 3.77	69.87 ± 2.33
30		69.32 ± 1.01	33.57 ± 4.23	73.84 ± 2.27
35		67.69 ± 7.92	28.73 ± 3.80	67.55 ± 3.00
25	Metformina 15 mg/mL	54.61 ± 3.55	28.55 ± 2.51	62.22 ± 2.80
30		48.47 ± 1.83	30.05 ± 4.85	59.38 ± 2.06
35		45.21 ± 2.24	31.77 ± 2.80	57.21 ± 2.31
25	Metformina 40 mg/mL	53.64 ± 2.44	30.41 ± 4.77	59.64 ± 1.25
30		44.88 ± 2.70	26.60 ± 3.84	56.25 ± 2.65
35		42.55 ± 0.91	20.87 ± 2.28	56.21 ± 5.85

Tabla C-6*Propiedades interfaciales de sistemas binarios con proteína fija y glucosa variable*

Temperatura [°C]	Sistema	σ_L [mN/m]	$\theta_{\text{hidrofílica}}$ [°]	$\theta_{\text{hidrofóbica}}$ [°]
25	BSA 10mg/mL – Glucosa	62.74 ± 3.74	33.50 ± 2.83	66.31 ± 1.93
30	10mg/mL	88.80 ± 4.65	24.36 ± 2.58	70.58 ± 4.34
35		59.65 ± 2.17	35.76 ± 3.13	65.64 ± 3.51
25	BSA 10mg/mL – Glucosa	61.94 ± 3.51	31.38 ± 3.85	66.89 ± 2.00
30	20mg/mL	97.27 ± 2.69	35.00 ± 7.99	72.90 ± 2.79
35		61.71 ± 3.00	24.19 ± 2.32	67.25 ± 2.60
25	BSA 10mg/mL – Glucosa	62.90 ± 2.94	40.94 ± 6.72	67.62 ± 1.45
30	30mg/mL	58.90 ± 2.73	32.89 ± 4.01	70.39 ± 2.43
35		66.25 ± 2.57	41.57 ± 6.23	67.16 ± 1.93
25	BSA 10mg/mL – Glucosa	60.38 ± 2.95	34.93 ± 2.55	68.50 ± 1.82
30	40mg/mL	58.96 ± 2.49	27.29 ± 5.05	70.11 ± 1.54
35		67.16 ± 3.06	35.83 ± 2.79	62.71 ± 3.16

Tabla C-7*Propiedades interfaciales de sistemas binarios con proteína fija y metformina variable*

Temperatura [°C]	Sistema	σ_L [mN/m]	$\theta_{\text{hidrofílica}}$ [°]	$\theta_{\text{hidrofóbica}}$ [°]
25	BSA 10mg/mL –	53.85 ± 1.14	32.36 ± 6.76	61.55 ± 1.94
30	Metformina 10mg/mL	47.93 ± 1.10	28.63 ± 4.70	60.08 ± 2.13
35		46.41 ± 1.98	17.97 ± 3.52	55.90 ± 4.29
25	BSA 10mg/mL –	51.83 ± 1.04	31.70 ± 4.49	57.14 ± 1.28
30	Metformina 20mg/mL	46.34 ± 1.41	26.57 ± 1.67	56.58 ± 1.58
35		44.98 ± 1.88	28.60 ± 3.96	54.93 ± 1.23
25	BSA 10mg/mL –	50.63 ± 1.20	38.55 ± 4.87	58.39 ± 2.32
30	Metformina 30mg/mL	45.22 ± 0.98	32.00 ± 4.94	55.07 ± 2.62
35		45.52 ± 1.22	26.53 ± 7.11	53.00 ± 2.96
25	BSA 10mg/mL –	55.40 ± 12.50	28.05 ± 3.75	51.69 ± 2.12
30	Metformina 40mg/mL	43.63 ± 1.37	29.56 ± 2.47	56.39 ± 2.77
35		45.03 ± 1.70	27.80 ± 2.20	52.30 ± 2.61

Tabla C-8*Propiedades interfaciales de sistemas binarios con proteína variable y glucosa fija*

Temperatura [°C]	Sistema	σ_L [mN/m]	$\theta_{\text{hidrofílica}}$ [°]	$\theta_{\text{hidrofóbica}}$ [°]
25	BSA 2mg/mL-	56.86 ± 3.05	30.76 ± 1.83	71.80 ± 1.65
30	Glucosa 15mg/mL	62.63 ± 4.62	38.41 ± 4.11	65.84 ± 1.56
35		66.98 ± 1.02	34.34 ± 6.04	66.24 ± 2.20
25	BSA 4mg/mL-	55.99 ± 3.75	32.05 ± 2.91	69.22 ± 2.32
30	Glucosa 15mg/mL	60.94 ± 3.13	35.57 ± 4.53	66.13 ± 2.75
35		62.88 ± 1.26	40.69 ± 3.19	66.09 ± 1.75
25	BSA 6mg/mL-	58.39 ± 2.53	33.75 ± 3.42	70.38 ± 2.35
30	Glucosa 15mg/mL	59.39 ± 2.91	34.33 ± 4.50	67.80 ± 1.23
35		60.77 ± 1.24	29.45 ± 4.08	66.09 ± 1.84
25	BSA 8mg/mL-	56.29 ± 1.85	39.13 ± 3.47	70.68 ± 2.57
30	Glucosa 15mg/mL	58.42 ± 2.30	38.51 ± 6.39	66.28 ± 2.04
35		61.98 ± 2.26	34.06 ± 2.52	65.61 ± 2.15
25	BSA 10mg/mL-	63.57 ± 5.59	26.75 ± 4.01	68.74 ± 2.36
30	Glucosa 15mg/mL	65.76 ± 4.82	33.52 ± 5.27	63.73 ± 1.88
35		63.02 ± 5.26	34.53 ± 3.83	65.74 ± 2.24

Tabla C-9*Propiedades interfaciales de sistemas binarios con proteína variable y metformina fija*

Temperatura [°C]	Sistema	σ_L [mN/m]	$\theta_{\text{hidrofílica}}$ [°]	$\theta_{\text{hidrofóbica}}$ [°]
25	BSA 2mg/mL-	46.95 ± 1.73	20.89 ± 2.58	57.41 ± 3.15
30	Metformina	46.93 ± 0.25	21.99 ± 6.28	58.75 ± 1.79
35	15mg/mL	48.43 ± 0.50	34.46 ± 2.96	55.99 ± 1.25
25	BSA 4mg/mL-	46.60 ± 1.51	30.20 ± 7.82	60.70 ± 1.89
30	Metformina	46.63 ± 1.09	22.89 ± 4.10	58.68 ± 3.40
35	15mg/mL	46.62 ± 1.59	29.31 ± 2.23	55.99 ± 1.84
25	BSA 6mg/mL-	47.70 ± 1.25	35.74 ± 3.43	55.60 ± 6.83
30	Metformina	48.69 ± 1.25	18.70 ± 4.60	59.28 ± 2.00
35	15mg/mL	45.60 ± 0.95	22.87 ± 2.86	54.37 ± 2.10
25	BSA 8mg/mL-	47.53 ± 1.40	31.99 ± 2.63	60.92 ± 1.74
30	Metformina	48.52 ± 1.57	29.84 ± 1.64	57.16 ± 2.18
35	15mg/mL	46.48 ± 1.63	28.65 ± 5.21	53.02 ± 1.13
25	BSA 10mg/mL-	45.53 ± 1.04	31.25 ± 5.76	59.86 ± 2.14
30	Metformina	47.89 ± 0.87	30.89 ± 5.22	58.09 ± 2.73
35	15mg/mL	48.21 ± 0.94	18.11 ± 3.68	57.50 ± 3.26

Tabla C-10*Propiedades interfaciales de sistemas ternarios con proteína y glucosa fijas, metformina variable*

Temperatura [°C]	Sistema	σ_L [mN/m]	$\theta_{\text{hidrofílica}}$ [°]	$\theta_{\text{hidrofóbica}}$ [°]
25	BSA 10mg/mL-Glucosa	44.47 ± 0.97	32.82 ± 4.26	62.02 ± 2.17
30	15mg/mL-Metformina	50.98 ± 1.39	29.97 ± 7.07	57.84 ± 1.81
35	10mg/mL	49.75 ± 1.49	31.53 ± 1.93	59.22 ± 2.30
25	BSA 10mg/mL-Glucosa	45.03 ± 0.58	25.78 ± 2.34	58.20 ± 1.24
30	15mg/mL-Metformina	51.37 ± 0.58	27.04 ± 2.40	57.58 ± 2.41
35	20mg/mL	47.61 ± 1.08	17.77 ± 2.73	52.54 ± 2.20
25	BSA 10mg/mL-Glucosa	43.54 ± 0.99	29.41 ± 1.30	57.62 ± 1.36
30	15mg/mL-Metformina	49.61 ± 1.22	26.13 ± 5.89	56.50 ± 1.88
35	30mg/mL	46.87 ± 1.34	28.85 ± 3.42	53.43 ± 2.16
25	BSA 10mg/mL-Glucosa	43.55 ± 2.29	21.08 ± 2.11	58.21 ± 2.56
30	15mg/mL-Metformina	48.57 ± 1.53	23.56 ± 3.55	56.41 ± 1.74
35	40mg/mL	45.45 ± 1.19	26.61 ± 1.93	54.25 ± 2.06

Tabla C-11

Datos para el ANOVA de un solo factor de tensión superficial de agua a 25°C en 3 días de ensayo

n	Tensión superficial [mN/m]		
	Día 1	Día 2	Día 3
1	71,31	72,84	73,09
2	70,77	71,72	72,79
3	72,67	72,17	71,29
4	73,42	70,89	71,31
5	70,61	65,27	71,88
6	71,12	68,84	71,80
7	70,04	70,85	72,28
8	72,63	70,46	71,85
Suma	572,55	563,06	576,29
Promedio	71,57	70,38	72,04
Varianza	1,42	5,71	0,42

Tabla C-12*Energías libres de superficie de sistemas unitarios de proteína a distintas concentraciones en superficie hidrofílica*

n	Energías libres de superficie [mJ]					
	BSA	BSA	BSA	BSA	BSA	BSA
	0mg/mL	2mg/mL	4mg/mL	6mg/mL	8mg/mL	10mg/mL
1	0,0031	0,0025	0,0025	0,0024	0,0021	0,0014
2	0,0033	0,0027	0,0024	0,0029	0,0028	0,0030
3	0,0030	0,0027	0,0024	0,0026	0,0031	0,0032
4	0,0032	0,0026	0,0028	0,0027	0,0030	0,0018
5	0,0031	0,0028	0,0026	0,0028	0,0030	0,0018
6	0,0030	0,0028	0,0026	0,0028	0,0009	0,0029
7	0,0031	0,0028	0,0026	0,0027	0,0006	0,0014
8	0,0031	0,0029	0,0025	0,0027	0,0031	0,0032
Suma	0,0249	0,0218	0,0205	0,0216	0,0186	0,0187
Promedio	0,0031	0,0027	0,0025	0,0027	0,0023	0,0023
Varianza	6,02E-09	1,70E-08	2,18E-08	2,71E-08	1,06E-06	6,42E-07

Tabla C-13

Energías libres de superficie de sistemas unitarios de proteína a distintas concentraciones en superficie hidrofóbica

n	Energías libres de superficie [mJ]					
	BSA	BSA	BSA	BSA	BSA	BSA
	0mg/mL	2mg/mL	4mg/mL	6mg/mL	8mg/mL	10mg/mL
1	0,0017	0,0000	0,0029	0,0006	0,0021	0,0014
2	0,0033	0,0029	0,0028	0,0000	0,0028	0,0030
3	0,0033	0,0027	0,0001	0,0018	0,0031	0,0032
4	0,0022	0,0009	0,0007	0,0000	0,0030	0,0018
5	0,0023	0,0031	0,0020	0,0022	0,0030	0,0018
6	0,0031	0,0006	0,0008	0,0032	0,0009	0,0029
7	0,0016	0,0028	0,0031	0,0030	0,0006	0,0014
8	0,0035	0,0028	0,0026	0,0005	0,0031	0,0032
Suma	0,0209	0,0159	0,0149	0,0113	0,0186	0,0187
Promedio	0,0026	0,0020	0,0019	0,0014	0,0023	0,0023
Varianza	6,17E-07	1,57E-06	1,38E-06	1,71E-06	1,06E-06	6,42E-07

Tabla C-14*Tensión superficial de agua a temperaturas diferentes*

n	Tensión superficial [mN/m]		
	T1=25°C	T2=30°C	T3=35°C
1	71,31	68,64	70,76
2	70,77	68,80	72,00
3	72,67	71,05	70,20
4	73,42	68,33	69,00
5	70,61	68,60	68,78
6	71,12	69,13	69,28
7	70,04	68,95	67,61
8	72,63	69,78	68,54
Suma	572,55	553,29	556,15
Promedio	71,57	69,16	69,52
Varianza	1,42	0,77	1,95

Tabla C-15*Ángulo de contacto de agua sobre superficie hidrofílica a distintas temperaturas*

n	Ángulo de contacto [°]		
	T1=25°C	T2=30°C	T3=35°C
1	29,47	26,67	30,15
2	29,04	24,10	34,33
3	29,55	36,24	37,44
4	28,23	25,70	35,89
5	27,26	25,85	38,72
6	28,32	24,41	39,19
7	28,70	28,30	43,64
8	28,81	30,36	45,94
Suma	229,35	221,61	305,28
Promedio	28,67	27,70	38,16
Varianza	0,55	16,09	25,20

Tabla C-16*Ángulo de contacto de agua sobre superficie hidrofóbica a distintas temperaturas*

n	Ángulo de contacto [°]		
	T1=25°C	T2=30°C	T3=35°C
1	75,47	69,51	66,68
2	73,59	69,27	68,96
3	72,55	66,70	68,90
4	71,56	71,26	78,18
5	81,55	70,96	72,93
6	74,53	67,83	65,91
7	74,44	70,16	74,86
8	71,87	68,04	74,72
Suma	595,54	553,72	571,12
Promedio	74,44	69,21	71,39
Varianza	10,10	2,55	19,41

Tabla C-17*Tendencia de la energía libre superficial en función de la temperatura para sistemas unitarios*

Sistema	Concentración [mg/mL]	Superficie hidrofílica		Superficie hidrofóbica	
		25°C- 30°C	30°C- 35°C	25°C- 30°C	30°C- 35°C
BSA	2	↓	↓	↑	↑
	4	↓	↑	↓	↑
	6	↓	↑	↓	↑
	8	↓	↓	↓	↑
	10	↓	↑	↓	↑
Glucosa	15	↓	↑	↓	↓
	40	↑	↓	↓	↑
Metformina	15	↓	↓	↓	↓
	40	↓	↓	↓	↓

Nota. La flecha gris hacia abajo indica que la energía libre superficial disminuye en el rango de temperatura especificado. La flecha negra hacia arriba, indica que aumenta.

Tabla C-18*Tendencia de la energía libre superficial en función de la temperatura para sistemas binarios*

Sistema	Concentración proteína-ligando [mg/mL]	Superficie hidrofílica		Superficie hidrofóbica	
		25°C-30°C	30°C-35°C	25°C-30°C	30°C-35°C
BSA-Glucosa	10-10	↑	↓	↑	↓
	10-20	↑	↓	↑	↓
	10-30	↓	↑	↓	↑
	10-40	↑	↑	↓	↑
BSA-Metformina	10-10	↓	↓	↓	↑
	10-20	↓	↓	↓	↓
	10-30	↓	↑	↓	↑
	10-40	↓	↑	↓	↑
BSA-Glucosa	2-15	↑	↑	↑	↑
	4-15	↑	↑	↑	↑
	6-15	↑	↑	↑	↑
	8-15	↑	↑	↑	↑
	10-15	↑	↓	↑	↓
BSA-Metformina	2-15	↓	↓	↓	↑
	4-15	↑	↓	↑	↑
	6-15	↑	↓	↓	↓
	8-15	↑	↓	↑	↓
	10-15	↑	↑	↑	↑

Nota. La flecha gris hacia abajo indica que la energía libre superficial disminuye en el rango de temperatura especificado. La flecha negra hacia arriba, indica que aumenta.

Tabla C-19

Tendencia de la energía libre superficial en función de la temperatura para sistemas ternarios

Sistema	Concentración	Superficie hidrofílica		Superficie hidrofóbica	
		25°C-	30°C-	25°C-	30°C-
		30°C	35°C	30°C	35°C
BSA-Glucosa-	10-15-10	↑	↓	↑	↓
Metformina	10-15-20	↑	↓	↑	↓
	10-15-30	↑	↓	↑	↓
	10-15-40	↑	↓	↑	↓

Nota. La flecha gris hacia abajo indica que la energía libre superficial disminuye en el rango de temperatura especificado. La flecha negra hacia arriba, indica que aumenta.

Tabla C-20

Fuerzas intermoleculares de acuerdo a la termodinámica obtenida por Van't Hoff para sistemas complejos

Sistemas	Disolución	R ²		Signos			
		Cristal	PET+EVA	Cristal de sílice		PET+EVA	
				ΔH	ΔS	ΔH	ΔS
Unitarios	PBS	0,4244	0,9472	-	-	-	-
	Metformina 15	0,9768	0,9680	-	-	-	-
	Metformina 40	0,9942	0,9267	-	-	-	-
	Glucosa 15	0,5960	0,9499	+	+	-	-
	Glucosa 40	0,7491	0,1663	+	+	-	-
	BSA2	0,9903	0,8325	-	-	+	+
	BSA4	0,2380	0,7572	-	-	-	-
	BSA6	0,2173	0,2597	-	-	+	+
	BSA8	0,9883	0,5364	-	-	+	+
	BSA10	0,1596	0,2084	-	-	-	-
Binarios BSA fija	BSA10 G10	0,089	0,0080	-	-	-	-
	BSA10 G20	0,003	0,00003	+	+	-	+
	BSA10 G30	0,4821	0,1388	+	+	+	+
	BSA10 G40	0,8356	0,5779	+	+	+	+
	BSA10 M10	0,9191	0,6964	-	-	-	-
	BSA10 M20	0,9227	0,8411	-	-	-	-
	BSA10 M30	0,6912	0,4772	-	-	-	-
	BSA10 M40	0,6628	0,5624	-	-	-	-
	BSA2 G15	0,9573	0,9618	+	+	+	+
	BSA4 G15	0,7634	0,9115	+	+	+	+
Binarios BSA Variable	BSA6 G15	0,9007	0,9999	+	+	+	+
	BSA8 G15	0,9512	0,9973	+	+	+	+
	BSA10 G15	0,6173	0,0987	-	-	+	+
	BSA2 M15	0,9648	0,5342	-	+	+	+
	BSA4 M15	0,0210	0,9947	+	+	+	+
	BSA6 M15	0,020	0,9933	+	+	-	-
	BSA8 M15	0,0228	0,6823	-	+	+	+
	BSA10 M15	0,9984	0,9024	+	+	+	+
	BSA10 G15 M10	0,4042	0,4244	+	+	+	+
	BSA10 G15 M20	0,3420	0,4781	+	+	+	+
Ternarios	BSA10 G15 M30	0,1960	0,4392	+	+	+	+
	BSA10 G15 M40	0,0238	0,2334	+	+	+	+

Nota. Los números en la disolución indican la concentración en mg/mL. Los valores sombreados de R² son los que superan un 0,9000 y se aproximan a la linealidad. El conjunto de signos negativos indica que predominan las fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno y protonación; los positivos de fondo gris claro, las interacciones hidrofóbicas y los sombreados de gris oscuro, neutralización de carga iónica de acuerdo a la Tabla A-1.

Tabla C-21*Comparación de los costos de implementos para fabricación del equipo*

Detalle	Cantidad	Precio Internacional [USD]	Proveedor	Precio local [USD]	Proveedor
Celda peltier TEC1-12706.	2	13.99	Kiro & Seeu	5.12	Megasystem
Sensor digital XH-W1-1401.	1	19.00	Maxima Import Store	6.00	Importadora Atenea
Termómetro digital Proster con dos termocuplas.	1	51.31	PROSTER US	20.99	Aivica
Cámara microscópica digital USB 5MP sensor CMOS.	1	22.99	Bysamayee	10.00	Distribuidora Vásquez
Chromebook Samsung 11,6 pulgadas.	1	235.62	Amazon	235.62	Amazon
Láminas de cristal de sílice Glassco.	50	5.35	Marfil. Supermercado de la salud.	3.00	Latina Medical Store
Láminas de PET+EVA 50+50mic.	50	15.79	PLLCUTE Store	3.00	Pipos Business Cía.
Jeringuilla plástica de 1cc para insulina.	100	42.26	HaBeuniversal	10.00	Fybeca
Jeringuilla de vidrio SGE 004000-50F 50µl.	1	58.14	Sigma Aldrich	58.14	Sigma Aldrich* (importado)
TOTAL		478.44		354..27	

Tabla C-22*Precio de reactivos para el ensayo de disoluciones complejas*

Detalle	Cantidad	Precio [USD]	Proveedor
BSA grado biología molecular.	100g	1480.84	Sigma Aldrich
Glucosa Monohidratada.	1kg	66.86	Merck
Metformina comercial.	30	7.80	Fybeka
Cloruro de potasio 99.0-100.5% de pureza.	250g	59.81	Merck
Fosfato monopotásico $\geq 98\%$ de pureza.	500g	39.50	Fischer Scientific
Fosfato de sodio dibásico anhidro JT Baker.	500g	201.00	Fischer Scientific
Cloruro de sodio ACS 99+% de pureza.	500g	29.50	Fischer Scientific
TOTAL		1885.31	