

VISUALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MOLÉCULAS DE COLESTEROL EN SUBSTRATOS SÓLIDOS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE EFECTO TÚNEL (STM)

Segura A. *, Batina N. **

* Ciencias Químicas. Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca,

**Laboratorio de Nanotecnología e Ingeniería Molecular, Área Electroquímica, Departamento de Química. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa .A.P. 55-534, México, D.F. 09340, México.

aris@xanum.uam.mx

Resumen

Estudio del comportamiento de las moléculas de colesterol adsorbidas en sustratos sólidos de superficie cristalina, como el Au (111), en forma de colesterol monohidratado. La visualización se realizó con el microscopio electrónico de barrido de efecto túnel (STM), utilizando la siguiente metodología que consiste en colocar una gota de la disolución del colesterol monohidratado disuelto en diferentes solventes : agua, metanol, etilenglicol y tolueno, sobre el sustrato de Au(111), previamente preparado y posteriormente cada una de las muestras se someten a movimientos rotatorios durante 4 minutos, para mejorar la dispersión de la solución sobre el sustrato, finalmente se deja secar la muestra y se coloca en cajas petri de vidrio para la protección contra contaminantes del ambiente. El agua y el metanol como solventes del colesterol monohidratado se obtuvieron imágenes de alta resolución con el STM. La visualización de las capas de moléculas de colesterol monohidratado se presentan de manera ordenada sobre las terrazas del Au(111) monocristalino, estas moléculas tienden a agruparse entre ellas, teniendo una particularidad de adsorberse en las orillas de las terrazas y dejando un espacio entre agregados, con el análisis de la sección trasversal que nos proporciona este microscopio de STM. Estas capas tienen un grosor de 0.283 nm.

Introducción

La arteriosclerosis, o endurecimiento de las arterias, se produce cuando se acumula el colesterol monohidratado en las paredes de las arterias, esta acumulación hace que la arteria sea más rígida de lo normal y produce un bloqueo parcial o total de la circulación de la sangre.

El bloqueo parcial o total de la circulación de la sangre por las arterias puede provocar un ataque cardíaco, un derrame cerebral o una falla en el riñón. Las enfermedades del aparato circulatorio son la primera causa de muerte en el mundo y en México.

La importancia de las moléculas de colesterol en la medicina, biología y bioquímica esta dada por la composición química de la membrana celular: proteínas y lípidos. El colesterol es uno de los lípidos más importantes en la membrana celular[1]. El 25% del peso seco de la membrana de un glóbulo rojo es colesterol. Su presencia da rigidez a las membranas y evita su congelamiento a bajas temperaturas. También es un componente principal de la vaina de mielina, la membrana lipídica que envuelve a las fibras nerviosas de conducción rápida, acelerando el impulso nervioso, las hormonas son formadas a partir de la molécula de colesterol.

La molécula del colesterol monohidratado contiene un núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno y presenta un grupo hidroxilo en el carbono 3, una cadena lateral de 8 átomos de carbono, doble enlace en el C-5 y además grupos en metilos C-18, C-19, C-21, C-26 y C-27. La molécula de colesterol tiene un carácter hidrofóbico y en su estructura denota dos planos de superficie muy importante la parte hidrofóbica (CH₃ – Terminal) y la parte hidrofílica (OH – terminal)[2].

Cuando se produce en un plano tiene torsiones en la región de los carbonos número 4-5-10-1y 5-10-1-2, pero el carbono 5 y carbono 6 tiene un doble enlace, también cuenta con dos partes importante de rotación en el carbono 22 -23 y el otro en el carbono 23- 24. En el acta cristalográfica se reporta la dimensión de la molécula de colesterol de 16.95 Å [3]. (Fig. 1).

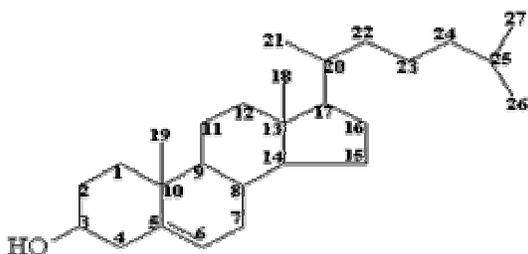


Fig. 1 Estructura del Colesterol

Para este experimento se utiliza la metodología siguiente, que consiste en colocar una gota de la disolución del colesterol monohidratado disuelto en: agua, metanol, etilenglicol y tolueno, sobre el sustrato de Au(111) ya preparada previamente y posteriormente cada una de las muestras se someten a movimientos rotatorios durante 4 minutos, para mejorar la dispersión de la solución sobre el sustrato, finalmente se deja secar la muestra y se coloca en cajas petri de vidrio para la protección contra contaminantes del ambiente. Los solventes apropiados para el colesterol monohidratado en el que se visualizaron imágenes con el microscopio de STM, son el agua y metanol. La visualización de las capas de moléculas de colesterol monohidratado se presentan de manera ordenada sobre las terrazas del Au(111) monocristalino, estas moléculas tienden a agruparse entre ellas, teniendo una particularidad de adsorberse en las orillas de las terrazas y dejando un espacio entre agregados, con el análisis de la sección transversal que nos proporciona este microscopio de STM, estas capas tienen un grosor de 0.283 nm.

Objetivo

Estudio del comportamiento de moléculas de Colesterol adsorbidas en sustratos sólidos de superficie cristalina, como el Au (111), en forma de colesterol monohidratado. La visualización se realiza con el microscopio electrónico de barrido de efecto túnel (STM).

Materiales y Metodología

Materiales

1. Colesterol, 99+% pureza, marca Aldrich.
2. Metanol, 99.93 %, marca Aldrich.
3. Placa de vidrio con película de Au (111); Berliner Glas Co. Berlin, Germany.
4. Alambre de tungsteno W policristalino de diámetro 0.25 mm. 99.95% puro metal (Alfa AESAR).

5. Agua ultra puro con sistema Milli-Q Millipore.
6. Hidróxido de sodio (NaOH)

Metodología

La preparación de 5 ml de solución de colesterol 2×10^{-4} M, se pesa 3.98301×10^{-4} g: de Colesterol, los cuales se colocaron en un matraz volumétrico para posteriormente aforar a 5 ml. Con Metanol y posteriormente la solución fue sometida a ultrasonido por una hora, con la finalidad de disolverse por medio de estas ondas de sonoras. Preparación del sustrato de Au (111). Se corta aproximadamente un cm^2 de placa de vidrio con película de Au (111). Esta placa se enjuaga con agua ultra pura (Milli-Q) para eliminar todas impurezas generadas en el corte. Posteriormente se le aplica calor con el método de Annealing, que consiste en calentar con flama de hidrogeno a la placa con película de oro a una temperatura de 400°C por 30 segundo, para tener una superficie con terrazas mas planas y grandes. Después se enfría a temperatura ambiente cubriéndola con una caja petri para evitar que se adsorban impurezas. Una vez enfriada dicha placa se utiliza para la colocación de la muestra. Se coloca una gota de la disolución del colesterol monohidratado disuelta en (agua, metanol, etilenglicol y tolueno) sobre el sustrato de Au (111) ya preparada previamente y posteriormente cada una de las muestras se someten a movimientos rotatorios durante 4 minutos, para mejorar la dispersión de la solución sobre el sustrato, finalmente se deja secar la muestra y se coloca en una cajas petri de vidrio para la protección contra contaminantes del ambiente.

La fabricación de puntas de tungsteno (W) para el barrido por STM, se utilizo la técnica de electroquímica, que es el método mas común usados para preparar puntas de tungsteno (W), es fácil y baratos la preparación, en este experimento se utilizo el alambre de tungsteno (W) policristalino y este alambre es usado como electrodo de trabajo dentro de una celda electroquímica. El electrolito empleado en este experimento es el hidróxido de sodio (NaOH) 6 M. El voltaje que se le aplica a la celda electroquímica es aproximadamente de 9 V.

Resultados y Discusión

Las moléculas de colesterol monohidratado. Con una concentración de 2×10^{-4} M. Es preparado en diferentes solventes, agua, metanol, tolueno, etilenglicol, adsorbiendo estas moléculas sobre Au (111) a temperatura ambiente y visualizados por el Microscopio de STM. Dando únicamente

resultados en los siguientes solventes: El agua y el metanol como solventes del colesterol monohidratado se obtuvieron imágenes de alta resolución con el microscopio de STM. En la caracterización de moléculas de colesterol monohidratado por Microscopía de Fuerza Química, se obtiene resultados similares utilizando el metanol como solvente[2].

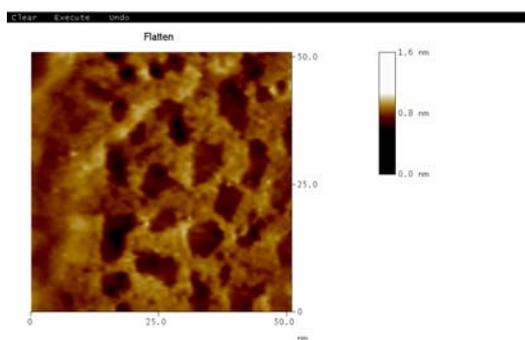


Fig. 1. STM Imagen de alta resolución de capas de moléculas de colesterol monohidratado (2×10^{-4} M) en agua y adsorbidas a temperatura ambiente sobre Au (111). La imagen muestra los orificios que forman las moléculas de colesterol al agregarse

En la Figura 1 podemos observar claramente, las moléculas de colesterol monohidratado que se encuentra de manera ordenada en capas sobre las terrazas del Au(111) monocristalino, estas moléculas tienden a agruparse entre ellas, teniendo una particularidad de adsorberse en las orillas de las terrazas y dejando un espacio entre agregados.

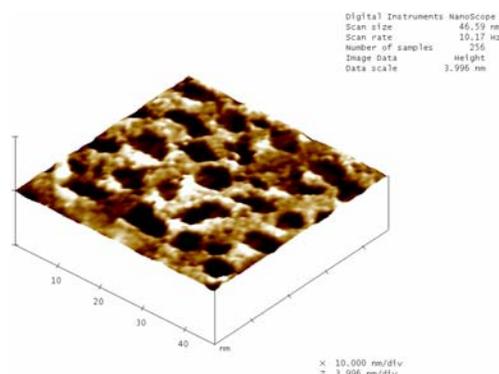


Fig.2. STM Imagen de alta resolución en 3D de capas de moléculas de colesterol monohidratado (2×10^{-4} M) en agua y adsorbidas a temperatura ambiente sobre Au (111).

En la Figura 2, se observa el crecimiento de las capas de las moléculas de colesterol monohidratado con una topografía muy especial que presenta orificios, producidos por los agregados. Estas moléculas son disueltas en agua.

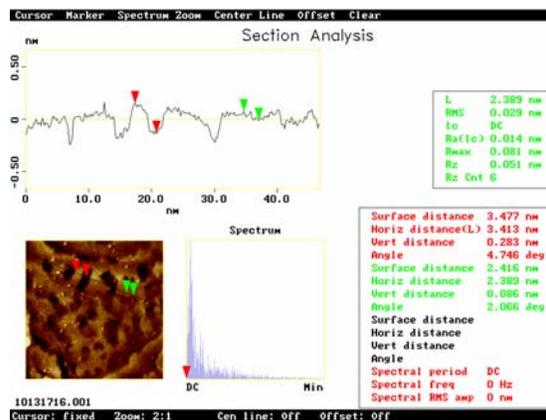


Fig. 4. STM imagen de alta resolución de análisis de la sección transversal de la imagen de capas de moléculas de colesterol monohidratado (2×10^{-4} M) en agua y adsorbidas a temperatura ambiente sobre Au (111).

En la Figura 4. Se puede observar orificios que presenta la topografía de las capas de moléculas de colesterol monohidratado y mediante el análisis de la sección trasversal podemos determinar el grosor de estas capas de colesterol que resulta una aproximación de 0.283 nm, esta información no se puede confundir con los escalones entre terraza y terraza de Au (111) ya que estos miden tan solamente 0.238 nm, estos datos se pueden ver en la Figura 3. El Microscopio de Fuerza Química aporta una información sobre las capas de Colesterol monohidratado, mostrando que son multicapas con una dimensión de 3.4 nm de espesor[2] y con el microscopio de fuerza atómica (AFM), se reporta capas mas gruesas, con espesor de 4 nm[4].

En cambio las que se obtienen en este experimento con el microscopio de STM, se obtienen imágenes que se aproximan mejor a monocapas con un espesor de 0.283 nm.

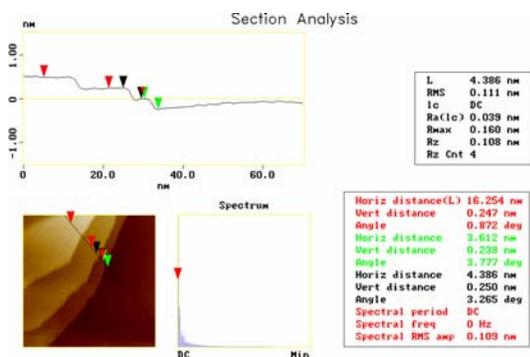


Fig. 3. STM imagen de análisis de la sección transversal del sustrato de Au (111) limpio

Conclusión

El sustrato que se utilizó en este trabajo de investigación, es el Au (111) y con la ayuda del análisis de la sección transversal obtenida con el microscopio STM, podemos conocer la caracterización de esta superficie y obteniendo las distancias entre los escalones de las plataformas que conforman este sustrato y mide aproximadamente 0.247 nm. Con esta información no se puede confundir los escalones y las capas de materiales que se depositan en el sustrato Au (111).

Las moléculas de colesterol monohidratado, con una concentración de 2×10^{-4} M, en agua o metanol y adsorbida a temperatura ambiente sobre el sustrato monocristalino de Au (111) y visualizado con el Microscopio STM. Estas moléculas de colesterol monohidratado se visualizó, y tienden a

agruparse entre ellas, con una particularidad de adsorberse en las orillas de las terrazas y dejando un orificio entre agregados, formando capas en las orillas de las plataformas, con el análisis de la sección transversal que nos proporciona este Microscopio de STM, podemos observar que estas capas tienen un grosor de 0.283 nm.

Agradecimientos

Este trabajo de investigación fue realizado gracias al apoyo del Instituto Mexicano del Petróleo (IMP), a través del proyecto FIES-98-100-I “Mecanismos de deposición de compuestos orgánicos pesados en flujo de petróleo en oleoductos” y al programa de mejoramiento de profesores (PROMEP).

Referencias

- [1] Devlin Thomas M., Biochemistry, (Third Printing), WILEY-LISS, USA. (1992).
- [2] Abendan Richard S., Swift Jennifer A., Langmuir, 18(2002), 4847-5853
- [3] Sheng Shiem Huey, Hoard Laurence G., Nordman C.E., ACTA CRYST. B37(1981). 1538-1543.
- [4] Daemel Robert V, Snel Margot M.E., Batenburg, Biochemistry, 41(2002)15007-15016.