**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE
ADITIVOS (DECANOL E
ANESTÉSICO LOCAL
TETRACAÍNA) EM SISTEMAS
MICELARES**

Cilaine Verônica Teixeira

Universidade de São Paulo
Instituto de Física

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE ADITIVOS (DECANOL E ANESTÉSICO LOCAL TETRACAÍNA) EM SISTEMAS MICELARES

Tese apresentada ao Instituto de
Física da Universidade de São Paulo
para a obtenção do título de Doutor
em Ciências

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Rosângela Itri (orientadora)

Prof. Dr. Amando Siuiti Ito (IFUSP)

Prof. Dr. Mário José Politi (IQUSP)

Prof. Dr. Marcel Tabak (IQSC-USP)

Profa. Dra. Yvonne Primerano Mascarenhas (IFSC-USP)

Co-orientadora: Profa. Dra. Lia Queiroz do Amaral

Cilaine Verônica Teixeira

março de 1999

Silvio Canuto
Profa. Dra. Rosângela Itri
Profa. Dra. Yvonne Primerano Mascarenhas
Profa. Dra. Lia Queiroz do Amaral
Profa. Dra. Rosângela Itri
Profa. Dra. Yvonne Primerano Mascarenhas
Profa. Dra. Lia Queiroz do Amaral

defesa 06/04

530 429
T266e
D
ex 1

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Serviço de Biblioteca e Informação
do Instituto de Física da Universidade de São Paulo

Teixeira, Cilãine Verônica

"Estudo da influência de aditivos (decanol e
anestésico local tetracaína) em sistemas micelares".
São Paulo, 1999.

Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo.
Instituto de Física - Departamento de Física Aplicada.

Orientador: Profa. Dra. Rosângela Itri
Área de Concentração: Física do Estado Sólido

Unitermos: 1. Cristais líquidos; 2. Sistemas micelares; 3.
Tetracaína; 4. Decanol; 5. Saxes

USP/IF/SBI-013/99

Aos meus pais e ao Thiago.

Agradecimentos

Gostaria de manifestar meus agradecimentos:

- à Dra. Rosangela Itri, pela orientação, amizade e carinho;
- à Dra. Lia Q. Amaral, pela co-orientação;
- à Dra. Shirley, pela colaboração, discussões e pelo uso de seu laboratório;
- ao Fábio Casallanovo, pela colaboração no trabalho e pelos momentos descontraídos no laboratório;
- aos alunos da Dra. Shirley e à Lua, pela convivência agradável no laboratório;
- à Profa. Galina, pelas valiosas discussões;
- ao Dr. Amando S. Ito, pelas discussões, pelo uso do fluorímetro e ao André, pelas modelagens;
- ao Guinter e à Dra. Iris Torriani pela assistência na linha de SAXS do LNLS;
- à Márcia e à Karin, pelas discussões e informações;
- ao Ourides, pelos cálculos de volume e tamanho da TTC;
- ao Sérgio Alexandre, pelas fotografias e pelo convívio agradável no laboratório;
- ao Antônio Carlos, pelo constante apoio na parte computacional;

- ao Hannes, pela ajuda na confecção das figuras, e por seu constante apoio e amizade;
- ao Evandro, pela ajuda na confecção das figuras;
- ao Wanderley, pela colaboração constante na parte computacional;
- à Valéria, pela acessoria na utilização do programa ITP e pela força dada;
- à Liliana, pela colaboração em todas as etapas desse trabalho, e pela força de sempre;
- a todos os amigos e professores do laboratório de Cristalografia;
- ao Pramod, pelo apoio constante;
- aos amigos do Instituto de Física: Mário Tamashiro, Karina, Militão, Edson Rodrigues, Edson Ozono, Antônio, Cláudio Shida, Alejandro, pela agradável convivência;
- aos amigos fora do Instituto: Flávia, Fátima, Vidlin, Mauro, Marcos, Ju, pelo apoio e carinho e ao Maurício também pela acessoria na parte gramatical;
- ao meu amigo Sérgio, pela força e pelos momentos de lazer;
- aos meus alunos, pelos momentos agradáveis ;
- aos meus pais, pela colaboração e apoio constantes;
- à Marcela, pelas alegrias;
- a todos aqueles que estiveram presentes, cujos nomes não mencionei;
- à CAPES, pelo apoio financeiro;
- de modo especial, ao Thiago, pelo companheirismo, alegrias e apoio.

Índice

Agradecimentos	vii
SÍMBOLOS	xiii
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xix
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Sistemas Micelares	1
1.2 Anestésicos Locais	3
1.3 Motivações do Plano de Trabalho	8
1.3.1 Estudo da influência de decanol em micelas de SLS	8
1.3.2 Estudo da interação de drogas com micelas	8
1.4 Plano de Trabalho	12
2 ESTUDO DO EFEITO DO DECANOL NAS TRANSIÇÕES DE FASE LÍQUIDO-CRISTALINAS NO SISTEMA SLS/ÁGUA	15
2.1 Introdução	15
2.2 Parte Experimental	17
2.2.1 Método utilizado	17
2.2.2 Amostras	17
2.2.3 Resultados	17
2.2.4 Posição relativa dos dois picos de difração na fase I	20
2.3 Discussão	25
2.3.1 Comparação com teorias	28

3	ESTUDO DO EFEITO DA ADIÇÃO DE DECANOL NO SISTEMA 10% SLS/ÁGUA	31
3.1	Introdução	31
3.2	Método Utilizado	32
3.2.1	Espalhamento de raios X a baixos ângulos	32
3.2.2	A função distribuição de distâncias	33
3.2.3	Função distribuição de densidade eletrônica	36
3.3	Parte Experimental	39
3.3.1	Amostras	39
3.3.2	Arranjos Experimentais	40
3.3.3	Efeitos da geometria do sistema	40
3.3.4	Tratamento dos dados	43
3.4	Resultados	45
3.5	Discussão	58
4	A INFLUÊNCIA DA TETRACAÍNA (TTC) NOS SISTEMAS MICELARES À BASE DE SLS/H₂O E HPS/H₂O. UM ESTUDO POR FLUORESCÊNCIA.	67
4.1	Introdução	67
4.2	Fluorescência	68
4.2.1	Técnica de Fluorescência Aplicada a Sistemas Contendo Tetracaína	71
4.3	Parte Experimental	73
4.3.1	Amostras	73
4.3.2	Arranjo experimental	74
4.4	Resultados e Discussão	74
4.4.1	Sistema SLS/TTC/água	74
4.4.2	Sistema HPS/TTC/água	75
5	A INFLUÊNCIA DA TETRACAÍNA (TTC) NOS SISTEMAS MICELARES À BASE DE SLS/H₂O E HPS/H₂O. UM ESTUDO POR RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA.	85
5.1	Ressonância paramagnética eletrônica	85
5.1.1	O método do marcador de spin	87
5.1.2	Efeito da mobilidade nos espectros de RPE	89
5.2	Parte Experimental	93

5.2.1	Amostras	93
5.2.2	Arranjo experimental	94
5.3	Resultados e Discussão	94
5.3.1	Sistema SLS/TTC/água	94
5.3.2	Sistema HPS/TTC/água	100
6	ESTUDO DOS SISTEMAS SLS/TTC/ÁGUA E HPS/TTC/ÁGUA POR ESPALHAMENTO DE RAIOS X A BAIXO ÂNGULOS	105
6.1	Parte Experimental	105
6.1.1	Amostras	105
6.1.2	Arranjo experimental	106
6.1.3	Tratamento inicial dos dados e parâmetros para análise	106
6.1.4	Método de análise	108
6.2	Resultados	108
6.2.1	Sistema SLS/TTC/água	108
6.2.2	Sistema HPS/TTC/água	114
6.3	Discussão	114
7	CONCLUSÕES	125
A	TABELAS E GRÁFICOS DE ESTABILIDADE	129
B	TRABALHO PUBLICADO	135
	BIBLIOGRAFIA	137

SÍMBOLOS

2θ = ângulo de espalhamento

α = coeficiente de ionização

a = parâmetro de rede

a_0 = área ótima por cabeça polar

A = forma neutra do anestésico local

AH^+ = forma protonada do anestésico local

BG = radiação de fundo

$\gamma(r)$ = função de correlação

c = parâmetro de rede perpendicular ao plano hexagonal

cmc = concentração micelar crítica

c_v = fração volumétrica de anfifílico

CTAB = brometo de cetiltrimetil amônio

CTAC = cloreto de cetiltrimetilamônio

D = diâmetro

Decon = programa raiz quadrada da convolução

DIP = dipiridamole

$D_{m\acute{a}x}$ = dimensão máxima da partícula

$F(\vec{q})$ = amplitude de espalhamento

η = flutuação de densidade eletrônica

h_0 = altura de linha de campo médio

h_{+1} = altura de linha de campo baixo

H = fase hexagonal líquido-cristalina

H_α = fase hexagonal líquido-cristalina, α designa a conformação tipo líquido das cadeias parafínicas

HPS = N-hexadecil-N, N-dimetil-3-amônio-1-propano-sulfonato

- I = fase isotrópica em sistemas micelares
 $I(\vec{q})$ = intensidade de espalhamento
ITP = Procedimento de Transformação Indireta
 J = intensidade de espalhamento observada experimentalmente
 K_b = constante de ligação
 λ = comprimento de onda
 λ_{em} = comprimento de onda de emissão
 λ_{ex} = comprimento de onda de excitação
 λ_L = multiplicador de Lagrange
 $\lambda_{ót}$ = melhor valor de λ_L
 l = comprimento da cadeia de hidrocarbonetos
 L = comprimento
 L_α = fase lamelar líquido-cristalina
LPC = lisolecitina
 M_d = razão molar decanol:SLS
 M_{TTC} = razão molar TTC:SLS
 M_w = razão molar água:SLS
 ν = anisometria da região parafínica da micela
 n = número de agregação
 $\bar{n}$ = número de agregação médio
 n_e = número de elétrons
 $\bar{n}_{DeOH}$ = número de agregação médio do decanol
 n_P = densidade numérica de partículas
 $\bar{n}_{SLS}$ = número de agregação médio do SLS
 $\bar{n}_{TTC}$ = número de agregação da TTC
 N = fase nemática líquido-cristalina
 N_c = fase nemática cilíndrica líquido-cristalina
 N_d = fase nemática discótica líquido-cristalina
 NH = número de moléculas de água por cabeça polar
 $p(r)$ = função distribuição de distâncias
 $\bar{p}(r)$ = função distribuição de distâncias calculada teoricamente a partir de $\rho(r)$,
pelo programa Decon
 p_{01} = parâmetro espontâneo do surfactante
 p_{02} = parâmetro espontâneo do co-surfactante

- $p_c(r)$ = função distribuição de distâncias da secção transversal do cilindro
- $\bar{p}_c(r)$ = função distribuição de distâncias da secção transversal do cilindro calculada teoricamente pelo programa Decon
- $p_t(r)$ = função distribuição de distâncias da secção transversal de partículas com simetria lamelar
- $\bar{p}_t(r)$ = função distribuição de distâncias da secção transversal de partículas lamelares calculada teoricamente pelo programa Decon
- P = constante de partição
- P^0 = partição da forma desprotonada do anestésico local
- P^+ = partição da forma protonada do anestésico local
- $P(t)$ = perfil de altura do feixe de raios X
- $\vec{q}$ = vetor de espalhamento
- $Q(x)$ = perfil de largura do feixe de raios X
- $\rho(\vec{r})$ = número de elétrons por unidade de volume
- $\tilde{\rho}^2(r)$ = função de Patterson
- ρ_0 = densidade eletrônica do solvente
- $\rho_{\text{água}}$ = densidade eletrônica da água
- $\rho_c(r)$ = função distribuição de densidades eletrônicas da secção transversal do cilindro
- ρ_{par} = densidade eletrônica da região parafínica da micela
- ρ_{pol} = densidade eletrônica da região polar da micela
- $\rho_t(r)$ = função distribuição de densidades eletrônicas da secção transversal de partículas com simetria lamelar
- $\vec{r}$ = vetor posição
- R = raio da micela
- RMN = ressonância magnética nuclear
- RPE = ressonância paramagnética eletrônica
- R_{par} = raio da região parafínica da micela
- $R_{par_{ef}}$ = raio parafínico ponderado médio das cadeias de dodecil e decil
- R_{pol} = raio total da micela (região parafínica + região polar)
- R_{tot} = raio total da micela
- $s = \frac{2\text{sen}\theta}{\lambda}$ = distância entre micelas
- σ = espessura da região polar
- SAXS = espalhamento de raios X a baixos ângulos

SLS = lauril sulfato de sódio

τ = tempo de correlação

tmc = temperatura micelar crítica

Tr = transmissão da amostra

TTC = tetracaína

v = volume de uma cadeia alquila

v_1 = volume da cadeia parafínica do surfactante

v_2 = volume da cadeia parafínica do co-surfactante

v_{DeOH} = volume da cabeça polar do decanol

v_{H_2O} = volume da molécula de água

v_{Na^+} = volume do Na^+

$v_{SO_4^-}$ = volume do grupo SO_4^-

V = volume

V_{par} = volume do interior parafínico da micela

V_{pol} = volume da região polar da micela

V_{tot} = volume total da micela

V_P = volume molar parcial

RESUMO

Neste trabalho estudamos a influência que os aditivos decanol e o anestésico local tetracaína (TTC) exercem sobre a estrutura de sistemas micelares. Foram estudadas particularmente a influência do decanol na estrutura das micelas do surfactante aniônico dodecil sulfato de sódio (SLS) e da TTC na estrutura micelar do SLS e do surfactante zwitteriônico N-hexadecil-N, N-dimetil-3-amônio-1-propanosulfonato (HPS).

O estudo de soluções micelares concentradas (razão molar água:SLS, $M_w = 45,2$) do sistema binário SLS/água e do sistema ternário SLS/decanol/água por difração de raios X nas vizinhanças das transições de fase isotrópica (I) $\rightarrow$ hexagonal (H_α) líquido-cristalina indicam que existe um empacotamento das micelas em uma ordem hexagonal local na fase I do sistema binário, e a fase H_α tem empacotamento típico de objetos finitos/rígidos. No sistema ternário, em contraste, o empacotamento é relaxado através de um crescimento micelar induzido pelo decanol e a fase H_α , que ocorre a uma concentração molar decanol:SLS, $M_d = 0,20$, tem um comportamento típico de objetos infinitos/flexíveis. Uma seqüência intrigante de fases $H_\alpha \rightarrow$ nemática cilíndrica (N_c) a $M_d = 0,25$ foi também investigada e é atribuída a um efeito combinado de crescimento micelar e mudança na rigidez da micela, com aumento da quantidade de decanol. O subsequente aumento em M_d leva o sistema à transição de fase $N_c \rightarrow$ nemática discótica (N_d) ($M_d = 0,38$), acompanhada de uma mudança de forma micelar cilindro $\rightarrow$ disco.

A influência do decanol em soluções isotrópicas mais diluídas ($M_w = 144,0$) foi estudada por espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS) e analisada através das funções distribuição de distâncias $p(r)$ e da distribuição de densidades eletrônicas $\rho(r)$. Os resultados mostram que micelas esferoidais crescem por influência do decanol e mudam de forma esferóide $\rightarrow$ cilindro a $M_d = 0,20$ e cilindro $\rightarrow$ disco a $M_d \approx 0,40$. Portanto, tornou-se evidente que a evolução de forma micelar do SLS pela influência do decanol é governada pela energia de curvatura da interface polar/apolar, uma vez que o decanol prefere localizar-se em interfaces planas, e que as transições de fase líquido-cristalinas dependem dessas mudanças,

associadas a efeitos de ordem estrutural em soluções concentradas.

A influência da TTC em micelas aquosas de SLS e HPS foi estudada pelas técnicas espectroscópicas de fluorescência e ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e por SAXS. Os resultados de fluorescência indicam que a droga é incorporada nas micelas, sendo que a TTC protonada se localiza mais próxima à interface polar/apolar das micelas, enquanto que a desprotonada penetra mais o interior hidrofóbico.

Os resultados de RPE concordam com estas observações e indicam um aumento na organização molecular das micelas de SLS com a incorporação do anestésico local. Este aumento é mais pronunciado para micelas compostas por SLS e TTC carregada. Por outro lado, não foi observada nenhuma alteração significativa na organização molecular de micelas de HPS por influência da TTC.

Através dos resultados de SAXS não foi observada nenhuma alteração na dimensão e na forma micelar por adição gradual de TTC neutra em SLS ou carregada em HPS, até a razão molar TTC:SLS, $M_{TTC} = 0,30$. Já os resultados de SAXS para os sistemas compostos por SLS e TTC protonada evidenciam um crescimento de micelas elipsoidais prolatas com anisometria $\nu \approx 1,5$ a $M_{TTC} = 0$ para $\nu \approx 1,8$ a $M_{TTC} = 0,20$ e $0,30$.

Os resultados são discutidos em termos de alteração das forças envolvidas na formação micelar (eletrostáticas e hidrofóbicas) e da própria estrutura molecular da TTC.

ABSTRACT

The influence of the additives decanol and the local anaesthetic tetracaine on the micellar structure of the anionic surfactant sodium dodecyl sulfate (SLS) and zwitterionic N-hexadecyl-N, N-dimethyl-3-ammonio-1-propane-sulfonate (HPS) has been studied.

The study of concentrated micellar solutions (water:SLS molar ratio, $M_w = 45.2$) of the binary system SLS/water and ternary SLS/water/decanol through X-ray diffraction close to the liquid-crystalline isotropic (I) $\rightarrow$ hexagonal (H_α) phase transition indicates a local micellar hexagonal packing in the I phase in the binary system, whereas the H_α phase exhibits a packing typical of finite/rigid objects. On the other hand, the ternary system presents a more relaxed packing through a micellar growth induced by decanol, and the H_α phase, which occurs at the decanol:SLS molar ratio, $M_d = 0.20$ has got a typical infinite/flexible objects behaviour. An intriguing $H_\alpha \rightarrow$ cylindrical nematic (N_c) phase sequence was also investigated at $M_d = 0.25$ and has been attributed to the combined effect of the micellar growth and change of rigidity with the increasing in decanol amount. A further increase in M_d leads to the $N_c \rightarrow$ discotic nematic (N_d) transition ($M_d = 0.38$), which is accompanied by the cylinder $\rightarrow$ disc change of form.

The influence of decanol in more diluted solutions of SLS/water ($M_w = 144.0$) has been studied through small-angle X-ray scattering (SAXS) and analysed through the distance distribution function $p(r)$ and electronic density distribution $\rho(r)$. The results show that the spheroidal micelles grow due to the influence of decanol, changing from spheroid to cylinder form at $M_d = 0.20$ and from cylinder to disc at $M_d = 0.40$. Therefore, it became evident that the evolution of the SLS micellar shape under the effect of decanol is dominated by the bending curvature energy from the polar/apolar interface, since the decanol prefers the flat interfaces, and the liquid-crystalline phase transitions depend on these changes of shape, associated to structural order effects in concentrated solutions.

The influence of TTC on SLS and HPS micelles were studied through fluorescence and electronic paramagnetic resonance spectroscopic techniques as well as by SAXS.

The fluorescence results indicate that the drug incorporates into the micelles in such a way that the protonated TTC is localized close to the polar/apolar interface, whereas the uncharged form penetrates deeper into the hydrophobic core, in SLS micelles.

The EPR results agree with the above observation besides indicating an increase in the SLS micellar molecular organization as the local anaesthetic is incorporated. Such an increase is more pronounced for micelles composed of SLS and charged TTC. On the other hand, no meaningful alteration in the HPS micelles molecular organization was observed under the TTC influence.

From the SAXS results, we have not detected any changes in the micellar dimension and shape by gradual addition of either neutral TTC in SLS or charged TTC in HPS up to the TTC:SLS molar ratio (M_{TTC}) of 0.30. Conversely, the SAXS results for systems composed of SLS and charged TTC have shown a micellar growth of prolate ellipsoidal micelles from anisometry $\nu \approx 1.5$ at $M_{TTC} = 0$ to $\nu \approx 1.8$ at $M_{TTC} = 0.20$ and 0.30 .

The results are discussed in the view of alterations in the forces involved in the micellar auto-assembling (electrostatic and hydrophobic) and the TTC structure.

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1.1 Sistemas Micelares

O termo anfifílico é geralmente utilizado para designar moléculas que possuem ao mesmo tempo uma parte hidrofílica e uma parte hidrofóbica. Moléculas anfifílicas típicas podem, por exemplo, ser formadas por uma cabeça polar iônica (hidrofílica) e uma parte hidrofóbica (em geral uma ou duas cadeias parafínicas).

Quando moléculas dessa natureza encontram-se em um solvente polar tendem a se agregar de modo a minimizar o contato entre a parte hidrofóbica (cadeias parafínicas) e o solvente e maximizar o contato cabeça polar/solvente. Neste contexto as cabeças polares tendem a se localizar na parte mais externa do agregado em contato com a água, ao passo que as cadeias parafínicas se localizam na região interna. A estes agregados de moléculas anfifílicas dá-se o nome de micelas. Caso estas moléculas anfifílicas estejam em um solvente apolar, formarão micelas reversas, com as cadeias parafínicas voltadas para o exterior e as cabeças polares voltadas para o interior. Geralmente as micelas reversas têm em seu interior uma substância polar em contato com as cabeças polares, enquanto que as cadeias parafínicas ficam no exterior em contato com o solvente apolar.

A formação das micelas ocorre geralmente a uma *concentração micelar crítica* (cmc) e *temperatura micelar crítica* (tmc), as quais dependem da natureza do anfifílico. A formação micelar é regida por fatores como as forças hidrofóbicas, eletrostáticas, de solvatação e tensão superficial, que determinam a forma mais conveniente para o agregado, dependente do tamanho relativo das cadeias e da cabeça polar ([1]; [2]; [3]; [4]; [5]). Neste contexto, as limitações geométricas de empacotamento molecular têm um papel fundamental na determinação das

forças de auto-associação, sem as quais as micelas tenderiam a ser sempre esféricas. Entretanto, a dimensão menor da micela não pode ser maior do que $2l$, onde l é o comprimento de uma cadeia de hidrocarbonetos estendida ([3]). Além disso, existe uma área ótima por cabeça polar, a_0 , determinada por um balanço entre as componentes atrativas e repulsivas na interação entre as cabeças polares.

Lembrando que o volume total V do interior parafínico de uma micela e o volume v de uma cadeia alquila mantêm entre si a mesma relação que a área superficial total da micela A e a suposta área ótima a_0 , temos para uma esfera ([3]):

$$\frac{n\frac{4}{3}\pi l^3}{v} = \frac{n4\pi l^2}{a_0}, \quad (1.1)$$

onde n é o número de agregação. Portanto

$$\frac{v}{a_0 l} = \frac{1}{3} \quad (1.2)$$

e de maneira análoga para cilindros:

$$\frac{v}{a_0 l} = \frac{1}{2} \quad (1.3)$$

e lamelas:

$$\frac{v}{a_0 l} = 1. \quad (1.4)$$

Deste cálculo percebemos que anfífilos com duas cadeias paralelas (que apresentam grande $\frac{v}{l}$, como fosfolipídios) tendem a formar estruturas lamelares, enquanto que sabões e detergentes com uma cabeça polar iônica grande formam, em geral, micelas aproximadamente esféricas na cmc.

Em soluções mais concentradas (acima da cmc), estes sistemas apresentam um rico polimorfismo ([6]; [7]; [8]) por variação do teor de água, aditivos e/ou temperatura.

A adição de água, que hidrata as cabeças polares, altera os volumes relativos das regiões polar e apolar, dando origem a uma sucessão de fases desde sistemas desordenados (fases micelares isotrópicas) até sistemas que apresentam um certo grau de ordem (liomesofases ou fases líquido- cristalinas). Deste modo, cristais líquidos liotrópicos são aqueles formados pela dissolução de um composto anfílico num solvente polar, como por exemplo a água. As liomesofases mais comuns são: hexagonais (formadas por micelas com simetria cilíndrica

dispostas no plano em uma ordem bidimensional hexagonal), lamelares (formadas por bicamadas extensas com ordem unidimensional na direção do seu eixo mais curto) e fases com simetria cúbica em três dimensões ([9]), que podem ser formadas por micelas esféricas ou por cilindros interconectados. A figura 1.1 apresenta as fases mais comuns. Podem ainda existir uma série de fases intermediárias entre elas ([10]; [11]), como fases tetragonais, romboédricas ou monoclinicas bidimensionais ([10]).

A adição de álcoois de cadeia longa e/ou sal aos sistemas anfifílico/água pode promover o aparecimento de fases nemáticas *N* liotrópicas com agregados anisotrópicos de tamanho finito que possuem ordem orientacional a longo alcance (figura 1.1e).

Sistemas micelares de detergentes em água são muito estudados na literatura. Os detergentes classificam-se, de acordo com a carga do grupo polar, em: catiônicos (carga polar positiva), como por exemplo o brometo de cetiltrimetil amônio (CTAB), aniônicos (carga polar negativa), como o lauril (dodecil) sulfato de sódio (SLS), neutros (sem carga), por exemplo o triton X-100 ou zwitteriônicos (contém dois grupos, um positivo e outro negativo, na cabeça polar, tendo carga total nula), como o N-hexadecil-N, N-dimetil-3-amônio-1-propano-sulfonato (HPS).

Neste trabalho, serão estudadas micelas de SLS e de HPS, esquematizadas respectivamente nas figuras 1.2 e 1.3.

1.2 Anestésicos Locais

Os compostos anestésicos podem ser divididos em dois grupos: gerais e locais. Anestésicos gerais são aqueles que atuam no sistema nervoso central. Os anestésicos locais são compostos que, aplicados localmente nas membranas nervosas, causam perda da sensibilidade e da dor pelo bloqueio do impulso nervoso, tendo ação temporária e algumas vezes controlada ([12]; [13]).

A estrutura dos anestésicos locais é geralmente mais complexa do que a dos anestésicos gerais. Porém, alguns compostos podem atuar como ambos, dependendo da concentração utilizada e, principalmente, do sítio de aplicação ([14]).

A estrutura típica de um anestésico local é representada na figura 1.4, sendo que qualquer alteração nas partes a, b ou c (representadas na figura 1.4) implica em mudanças físico-químicas, potência anestésica ou toxicidade ([12]; [13]). O grupo amino (c) pode ser protonado, e desta forma os anestésicos podem ser encontrados nas formas protonada (AH^+) e neutra (A). O equilíbrio entre as duas formas é dado por:

Figura 1.1: Fases líquido-cristalinas mais comuns. (a) lamelar (ordem unidimensional); (b) hexagonal (ordem bidimensional); (c) hexagonal reversa (ordem bidimensional); (d) cúbica (tridimensional); (e) fase nemática, formada por micelas elipsoidais (prolatas ou oblatas) com ordem orientacional ao longo do eixo $\hat{z}$. Nas figuras (a)- (d) as cabeças polares são representadas pelas bolinhas e as cadeias parafínicas pelas caudas ligadas às mesmas.

Figura 1.2: Representação esquemática de uma micela de SLS ($CH_3 - (CH_2)_{11} - (OSO_3)^-Na^+$). R_{par} e R_{pol} são respectivamente os raios da região parafínica e total da micela. Este último inclui as cabeças polares e a água de hidratação.

Figura 1.3: Esquema de uma micela de HPS ($CH_3 - (CH_2)_{15} - N^+(CH_3)_2 - (CH_2)_3 - SO_3^-$). R_{par} é o raio da região parafínica e σ a espessura da região bipolar.

sendo que a proporção relativa de ambas depende da constante de dissociação do composto e do pH da solução. Em pH fisiológico geralmente as duas formas estão presentes ([12]; [13]; [15]).

Figura 1.4: Representação esquemática dos anestésicos locais. Estrutura geral, onde: **a** é o grupo aromático Ar, **b** a cadeia intermediária ligada a **a** por um heteroátomo X (X= O, N, S, etc) e **c** é um grupo amino (amina secundária ou terciária), que pode ou não estar protonado.

Com relação ao mecanismo de ação dos anestésicos locais, várias teorias vêm sendo propostas ([12]; [13]; [16]). Sabe-se que estes alteram a função dos canais iônicos presentes nas células nervosas de tal forma que bloqueiam não só o processo de geração como também o de propagação do impulso nervoso ([17]). A pHs fisiológicos as formas neutra e protonada dos anestésicos locais são encontradas nos espaços aquosos interno e externo das células nervosas. Ambas as formas são importantes para o mecanismo de ação dos anestésicos locais ([12]; [13]). Sabe-se também que compostos essencialmente neutros ou mesmo álcoois podem causar o “efeito anestésico local” ([18]).

Os anestésicos locais podem causar alterações em membranas lipídicas, as quais podem estar associadas aos mecanismos de ação ([19], [20]) e toxicidade dos mesmos ([21]). Por esta razão, muitos estudos vêm sendo realizados com membranas biológicas e artificiais com o intuito de compreender os processos envolvidos na interação de anestésicos locais com tais sistemas.

1.3 Motivações do Plano de Trabalho

1.3.1 Estudo da influência de decanol em micelas de SLS

O SLS tem sido amplamente estudado na literatura ([7]; [10]; [22]; [23]; fase isotrópica (I) $\rightarrow$ hexagonal (H_α) ([25]; [26]), onde α designa a conformação tipo líquido das cadeias parafínicas, e a adição de decanol ao sistema concentrado promove as transições $I \rightarrow H_\alpha \rightarrow N_c$ (nemática cilíndrica, composta por agregados micelares tipo cilindro) $\rightarrow N_d$ (nemática discótica, composta por agregados micelares tipo disco) $\rightarrow L_\alpha$ (lamelar) ([24]; [27]).

Itri e Amaral ([26]; [27]) estudaram a transição de fase $I \rightarrow H_\alpha$ no sistema ternário SLS/água/ decanol, e observaram a ocorrência de um crescimento micelar, próximo à transição, maior do que o crescimento observado próximo à transição $I \rightarrow H_\alpha$ no sistema binário. A transição $N_c \rightarrow N_d$ sob a influência do decanol também foi estudada na literatura ([23], [28], [29], [30]) e parece ser causada por uma mudança de forma micelar (de esfero-cilindro para tablete retangular), governada pela energia de curvatura na interface polar/apolar, visto que o decanol prefere alojar-se em interfaces planas ([31]).

Portanto, sabe-se que o decanol afeta as transições de fase, porém o modo como estas se correlacionam com a estrutura das micelas ainda permanece obscuro. Em continuidade ao trabalho de [27], neste trabalho estudaremos as transições $I \rightarrow H_\alpha \rightarrow N_c$ para uma razão molar constante de água:SLS, $M_w = 45,2$, variando-se a razão molar decanol:SLS, M_d , cujos resultados serão comparados com o sistema binário SLS/água, estudado anteriormente por [26].

Estudaremos também o efeito do decanol em sistemas menos concentrados de SLS/água ($M_w = 144,0$), nos quais podemos estudar a forma das micelas na fase isotrópica, independente dos efeitos de interferência intermicelar, presente em sistemas concentrados, e das transições de fase, com o intuito de desacoplarmos estes efeitos e focalizarmos apenas nas mudanças estruturais induzidas pela presença do decanol no sistema.

Os intervalos de concentração estudados estão esquematizados na figura 1.5.

1.3.2 Estudo da interação de drogas com micelas

Várias teorias vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de explicar a ação de anestésicos locais. Todas elas convergem para o fato de que a ação destes se dá no nível molecular, sendo que a interação de pequenas moléculas, existentes nas formas carregada e não carregada, com membranas constitui um dos pontos mais importantes no estudo da interação de drogas com

Figura 1.5: Representação dos intervalos de concentração estudados neste trabalho: para 26,25% SLS/água ($M_w = 45,2$), M_d de 0 a 0,38; para 10% SLS/água ($M_w = 144,0$), M_d de 0 a 0,45. I, H_α , N_c , N_d representam, respectivamente, fase isotrópica, hexagonal, nemática cilíndrica e nemática discótica.

materiais biológicos ([32]). Muitos efeitos farmacológicos têm sido interpretados como sendo resultado de fatores como hidrofobicidade da droga, pK, tamanho molecular e interações polares ([33]). Porém, além de bloquear a transmissão de impulsos nervosos, os anestésicos locais podem promover mudanças estruturais na membrana ([34], [35]), que podem estar diretamente envolvidas no mecanismo da anestesia ([19], [20]).

As membranas biológicas possuem uma estrutura relativamente complexa, com vários componentes como fosfolipídios, proteínas, além de apresentarem fortes campos dipolares internos. Para simplificar os sistemas biológicos utilizam-se freqüentemente sistemas modelo, que são geralmente formados por compostos anfifílicos. A estrutura lamelar (figura 1.1) é a de maior importância do ponto de vista biológico, por assemelhar-se às bicamadas existentes nas membranas naturais. As micelas também constituem um modelo interessante (e simples) na investigação do comportamento químico de compostos, como meio de compreensão dos processos que ocorrem numa célula ([36]; [37]). A interação de anestésicos locais com detergentes vem sendo estudada na literatura. Por exemplo, [38] estudaram a influência que micelas carregadas (aniônica SLS e catiônica CTAB) e neutras (Triton-X) têm sobre a dissociação ácido-base do grupo amino do anestésico local tetracaína, TTC, pela técnica de fluorescência. Os autores observaram um aumento do pK da TTC na presença de micelas de SLS e um decréscimo contínuo do pK para micelas de Triton-X e CTAB respectivamente, em relação ao pK da TTC em água. Analogamente, [39] estudaram o mesmo efeito, também por espectroscopia de fluorescência, do anestésico local dibucaína em micelas de SLS, zwitteriônicas de lisolecitina (LPC) e catiônicas de cloreto de cetiltrimetilamônio (CTAC), onde o pK da dibucaína segue a ordem $SLS > LPC > CTAC$. Os autores também determinaram a constante de ligação K_b da dibucaína e observaram que para a forma desprotonada ela é independente da carga da micela e do detergente que a forma. Por outro lado, para a droga protonada, o efeito da carga da micela é muito importante, tendo sido observado que K_b da droga em CTAC é mais do que seis vezes menor do que para LPC, enquanto que para SLS é pelo menos uma ordem de grandeza maior. Os mesmos efeitos foram observados por [40], por fluorescência, na incorporação de anestésicos locais da família da TTC em micelas de SLS e neutras (como Triton-X), evidenciando que a ligação dos anestésicos locais com micelas depende basicamente de três tipos de interação: hidrofóbica, dipolar e eletrostática.

Existem ainda trabalhos que focalizam a incorporação de outras drogas em micelas. Yushmanov e col ([32]) investigaram a interação da droga papaverine (vasodilatador cerebral e relaxante muscular) na forma protonada com micelas de HPS, por espectroscopia de absorção ótica e RMN, e observaram que a ligação da droga com o HPS é definida pelo

fragmento catiônico da cabeça polar (dimetilamônio) (figura 1.3), enquanto que o fragmento negativo (sulfonato - figura 1.3) atenua a carga efetiva da cabeça polar da micela. Borissevitch e col. ([41]) investigaram a localização de moléculas de dipiridamole (DIP) (vasodilatador coronário e coativador de alguns compostos antitumorais) em micelas de CTAC, SLS e HPS, através de medidas espectrais de fluorescência e ressonância magnética nuclear (RMN). Seus resultados evidenciaram a importância da interação eletrostática entre as moléculas de DIP protonadas e micelas carregadas tal que as moléculas de DIP penetram mais no interior hidrofóbico da micela para micelas catiônicas e zwitteriônicas e se localizam mais próximo à superfície micelar no caso de micelas aniônicas.

No nosso trabalho focalizaremos particularmente o efeito da adição do anestésico local tetracaína em micelas por espectroscopias de fluorescência e ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e por espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS). Tanto quanto seja do nosso conhecimento, existem vários trabalhos na literatura focalizando a incorporação de drogas em micelas pelas técnicas espectroscópicas de fluorescência, RMN e RPE. Entretanto, não existem trabalhos anteriores utilizando-se espalhamento de raios X a baixos ângulos.

A tetracaína (p-butilaminobenzoato de N, N-dimetil aminoetanol, TTC), cuja estrutura está representada na figura 1.6, foi primeiramente sintetizada em 1931 ([42]; [12]). É o composto mais empregado em anestesia raquidiana, além de ser utilizado em anestesia de olhos e mucosas ([42]; [12]). Esta droga apresenta interações hidrofóbicas capazes de formar micelas (concentração micelar crítica, $\text{cmc} \simeq 70 \text{ mM}$, quando protonada) ([43]) que podem romper bicamadas lipídicas ([44]) e lipossomos ([45]) através da formação de micelas mistas. Estas alterações estruturais podem estar relacionadas com efeitos tóxicos observados ([21]) no organismo. Apesar de a cmc da TTC estar bem acima da concentração necessária para que esta aja no nervo ([46]), o fato de sabermos que esta droga forma micelas é importante para um melhor conhecimento da importância da sua componente hidrofóbica na interação do anestésico com membranas ([43]), a concentrações farmacológicas (1- 10 mM) ([47]), mesmo porque sua tendência para formar micelas tem uma componente nas interações hidrofóbicas que causam a partição da droga em membranas ([43], [48]).

É possível também que diferentes efeitos estejam associados, em parte, a diferentes localizações do anestésico na membrana ([33]). Devemos lembrar que os anestésicos são encontrados em duas formas: protonada (positivamente carregada) e desprotonada (não carregada), as quais podem ocupar diferentes posições nas membranas e cujas porcentagens relativas variam com o pH. Segundo Matsuki e col. ([15]) o pH fisiológico é de 7,4, no qual as duas formas do anestésico estão presentes. Porém, a compreensão dos efeitos de cada uma das

formas requer que se estude cada uma delas separadamente, porque a forma neutra dos anestésicos locais atravessa mais facilmente as barreiras biológicas, enquanto que a forma protonada é mais potente na ação de bloqueio dos impulsos nervosos ([49]).

Devido à importância do conhecimento da ação de anestésicos locais em membranas, especialmente a TTC, e ao importante papel dos sistemas micelares para mimetizar a interação de drogas com sistemas biológicos, propusemo-nos a estudar os efeitos desta em micelas aniônicas de SLS, pois propõe-se que o canal de sódio, que acredita-se ser o sítio de ação dos anestésicos locais, possui um sítio é aniônico; e em micelas zwitteriônicas de HPS (N-hexadecil-N, N-dimetil-3-amônio-1-propano-sulfonato), já que algumas membranas são zwitteriônicas, como por exemplo membranas de fosfatidilcolina de ovo.

Figura 1.6: Estrutura do anestésico local tetracaína.

1.4 Plano de Trabalho

Primeiramente, no capítulo 2, estudaremos as transições de fase I $\rightarrow$ líquido-cristalinas por adição de decanol ao sistema SLS/água, a 26,25% em peso de SLS, por difração de raios X. Será utilizada a técnica de difração de raios X com geometria de Laue de transmissão e a análise será feita através da determinação da distância média entre micelas e das relações de volume ocupados pelas micelas e a água.

Depois estenderemos o estudo do efeito do decanol para sistemas menos concentrados (10% em peso de SLS), por espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS), no capítulo 3, e a análise será feita determinando-se a função distribuição de distâncias ($p(r)$) e a distribuição de densidades eletrônicas ($\rho(r)$), para que possamos avaliar modificações de forma e tamanho micelar pela presença de decanol no sistema.

Em seguida passaremos a investigar a interação da tetracaína com micelas de SLS e de HPS usando a técnica de espectroscopia de fluorescência. Esta nos auxiliará a determinar o pK dos sistemas SLS/TTC/água e HPS/TTC/água (capítulo 4), para trabalharmos com

valores de pH tal que se tenha apenas a forma protonada ou desprotonada na solução.

Avaliaremos a localização mais provável da TTC nas micelas, para as formas protonada e desprotonada da mesma, utilizando a técnica de ressonância paramagnética eletrônica (RPE), no capítulo 5.

Seguiremos a análise no capítulo 6, onde estudaremos possíveis mudanças estruturais nas micelas causadas pela ação da TTC através da técnica de espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS).

Serão apresentadas no capítulo 7 as conclusões do trabalho.

No apêndice A serão apresentados os valores dos parâmetros de estabilização escolhidos na análise de cada uma das curvas de SAXS, a partir dos gráficos e tabelas de estabilidade gerados pelo programa ITP (apresentado no capítulo 3). Apresentam-se também uma tabela de estabilidade acompanhada do respectivo gráfico, como exemplo.

Finalmente, no apêndice B, apresenta-se o artigo já publicado relacionado ao estudo apresentado no capítulo 2.

Capítulo 2

ESTUDO DO EFEITO DO DECANOL NAS TRANSIÇÕES DE FASE LÍQUIDO-CRISTALINAS NO SISTEMA SLS/ÁGUA

2.1 Introdução

Soluções concentradas de materiais anfífilos em água apresentam um rico polimorfismo ([6];[7]; [8]), que depende da concentração e da temperatura. A sequência típica de fases, com aumento da ordem posicional, em função do aumento da concentração de anfílico é: isotrópica (I) $\rightarrow$ hexagonal (H_α) $\rightarrow$ lamelar (L_α). A adição de álcoois de cadeia longa e/ou sal a soluções concentradas de sistemas contendo anfílico/água podem promover a formação de fases liotrópicas nemáticas (N) com agregados anisotrópicos finitos com ordem orientacional de longo alcance ([50]; [51]; [52]). O papel do álcool na mudança do processo de agregação, promovendo a formação de domínios nemáticos nos diagramas de fases ternários, ainda não é totalmente compreendido.

O anfílico dodecil (lauril) sulfato de sódio (SLS) tem sido amplamente estudado em soluções micelares isotrópicas. O sistema binário SLS/água apresenta as fases H_α e L_α ([7] e algumas fases intermediárias com ordem posicional de longo alcance ([10]), enquanto que o domínio nemático foi obtido no sistema ternário por adição de decanol ([22]; [23]; [24]).

O sistema SLS/água tem sido estudado por espalhamento de raios X a baixos ângulos

(SAXS) pelo grupo de Cristalografia do IFUSP, desde baixas concentrações ([53]; [54]) até a vizinhança da transição $I \rightarrow H_\alpha$ ([25]; [26]), que ocorre a 40% em peso de SLS em água (razão molar água:SLS, $M_w=24,0$) (figura 1.5), bem como o domínio da fase H_α ([55]; [56]). Itri e Amaral ([26]; [27]), estudaram fases isotrópicas ternárias, com 26,25% em peso de SLS/água ($M_w=45,2$), variando a razão molar decanol:SLS (M_d) de 0 a 0,139 e encontraram uma fase H_α para $M_d=0,195$ e uma fase nemática cilíndrica (N_c) para $M_d=0,286$. A seqüência de fases $I \rightarrow H_\alpha \rightarrow N_c \rightarrow N_d \rightarrow L_\alpha$ já havia sido observada por [24] para concentrações mais altas de anfifílicos, cujo diagrama de fases reproduziu o domínio nemático encontrado previamente por Amaral e col. ([30]; [23]), para baixas concentrações de SLS, e os limites da fase H_α obtidos por Ekwall ([7]).

Itri e Amaral ([26]) estudaram as curvas de espalhamento da fase isotrópica do sistema SLS/água/decanol através do ajuste do fator de forma das partículas e da função de interferência entre as mesmas ([57]; [58]), determinando a anisometria micelar parafínica, que corresponde à razão entre os eixos maior e menor da parte parafínica de um elipsóide prolato. Esses resultados foram comparados com teorias de auto-associação ([59]), as quais previram as transições de fase $I \rightarrow H$ e $I \rightarrow N \rightarrow H$.

Porém, o modo como o decanol afeta a estrutura micelar e promove as transições de fase ainda permanece obscuro. O decanol provoca o aparecimento de uma fase nemática com ordem orientacional de longo alcance entre duas fases com ordem posicional de longo alcance (H_α e L_α), o que não ocorre no sistema binário, sem decanol. Além disso, o decanol reverte a seqüência de fases prevista pela teoria ($I \rightarrow N \rightarrow H$), pois a seqüência observada no sistema SLS/água/decanol pode ser $I \rightarrow H_\alpha \rightarrow N_c$. Amaral e col ([30]) estudaram a transição $N_c \rightarrow N_d$ sob a influência de decanol para três anfifílicos diferentes e explicam a transição em termos de uma mudança de forma micelar (de um esfero-cilindro para uma partícula plana), induzida pela energia de curvatura na interface polar/apolar, porque o decanol prefere localizar-se em interfaces planas ([31]).

Itri e Amaral ([26]) estudaram o crescimento micelar no sistema ternário SLS/água/decanol próximo à transição $I \rightarrow H_\alpha$. Esse crescimento, causado pela adição de decanol ao sistema ternário, é maior do que o crescimento observado no sistema binário SLS/água próximo à transição $I \rightarrow H_\alpha$, em função do aumento da concentração de SLS. Este capítulo tem o objetivo de esclarecer o papel do decanol no crescimento micelar e nas transições de fase do sistema SLS/água/decanol. Para tanto, estudaremos as estruturas micelares nas transições $I \rightarrow H_\alpha \rightarrow N_c$, mantendo $M_w=45,2$ constante e variando a razão molar decanol:SLS, M_d , de 0,14 a 0,38, à temperatura ambiente ($T=22 \pm 1^\circ\text{C}$).

2.2 Parte Experimental

2.2.1 Método utilizado

Utilizou-se a técnica de difração de raios X, com geometria de Laue de transmissão, na qual um filme sensível a raios X é colocado posteriormente à amostra, perpendicularmente ao feixe de raios X incidente. A distância amostra-filme foi de 10 cm. A radiação era de cobre com filtro de níquel de 0,018 mm de espessura, que reduz a intensidade da linha K_α em 45% e a intensidade da linha K_β em 99,4% ([60]; [61]), de forma que podemos considerar apenas o comprimento de onda referente à radiação CuK_α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$, comprimento de onda). As fases nemáticas foram caracterizadas com o uso de um campo magnético constante de 2 kG ([62]; [63]).

2.2.2 Amostras

Para a preparação das amostras foram utilizados SLS com 99% de pureza obtido comercialmente da Merck, decanol (DeOH)¹ obtido da Merck e água bidestilada e desionizada. As soluções foram obtidas mantendo-se constante a razão molar água:SLS, $M_w = 45,2$, e variando-se a razão molar decanol:SLS, M_d , de 0,14 a 0,38. As soluções foram homogeneizadas por agitação e centrifugação e acondicionadas em capilares cilíndricos de 1 mm de diâmetro interno, vedadas e estudadas à temperatura ambiente ($22 \pm 1^\circ\text{C}$). Os resultados das amostras com $M_d = 0$ até $M_d = 0,14$ foram extraídos de [26].

Todas as amostras aqui estudadas encontravam-se homogêneas, não havendo separação de fases nem nos capilares nem nos tubos de ensaio, durante a obtenção dos resultados.

2.2.3 Resultados

A figura 2.1 apresenta a região (linha) estudada neste trabalho, em comparação com o diagrama de fases para o sistema ternário SLS/água/decanol à temperatura de 25°C ([7]; [22]; [23]; [24]). Os materiais aqui usados para o preparo das amostras apresentam a mesma pureza dos compostos utilizados por [24], porém deve-se observar que o fato de que os nossos compostos foram obtidos de fornecedores diferentes pode acarretar pequenas variações nas fronteiras das transições de fase, assim como na região de coexistência de fases. Além disso, as transições de fase dependem também da temperatura, como pode ser exemplificado pela

¹DeOH: $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_9 - \text{OH}$

ESTUDO DO EFEITO DO DECANOL NAS TRANSIÇÕES DE FASE LÍQUIDO-CRISTALINAS NO SISTEMA SLS/ÁGUA

transição $N_c \rightarrow H_\alpha$ com a variação de temperatura (N_c a 19°C e H_α a 25°C), observada por [24]. Assim, podemos afirmar que as fases H_α aqui observadas são consistentes com os diagramas de fases previamente obtidos ([23]; [24]).

Figura 2.1: Diagrama de fases de Quist et col.([24]), mostrando as concentrações estudadas neste trabalho, incluindo o domínio nemático localizado por Amaral e col. ([22]) e os limites da fase hexagonal dados por Ekwall ([7]). O diagrama foi inicialmente desenvolvido por Ekwall ([7]), ao qual foram acrescentadas as duas fases nemáticas (N_c e N_d) obtidas por Amaral e col ([22]; [23]). A área hachurada no diagrama representa região polifásica, tendo sido observada a reentrância do domínio hexagonal por Itri e Amaral ([27]).

A partir das fotografias obtidas pelo método de Laue (figuras 2.2- 2.5) obtivemos as posições dos picos de difração s^{-1} , sendo $s = 2\sin(\theta)/\lambda$, 2θ o ângulo de espalhamento. A tabela 2.1 mostra os valores de s^{-1} encontrados neste trabalho, assim como os valores obtidos por [26] para as fases ternárias para M_d de 0 a 0,14. Na figura 2.6 podemos observar a evolução de s^{-1} com a concentração de decanol.

As amostras encontram-se em fase isotrópica para $M_d=0$ até $M_d=0,18$. A figura 2.2 mostra a fotografia obtida por difração de raios X para a amostra com $M_d=0,18$, onde podemos observar claramente a presença de dois halos isotrópicos.

Figura 2.2: Fotografia obtida pelo método fotográfico de Laue para a amostra isotrópica de SLS/água/decanol, com $M_w=45,2$ e $M_d=0,18$.

A amostra com $M_d=0,195$ é caracterizada como hexagonal ([27]), com a presença de três picos de difração na razão $1 : \sqrt{3} : \sqrt{4}$, para temperaturas acima de 20°C , onde $s^{-1} = d$ é a distância interplanar. Para temperaturas entre 14°C e 20°C observou-se coexistência das fases I/H_α , por microscopia ótica. A figura 2.3 exibe a fotografia obtida pelo método de Laue para esta amostra. Até $M_d=0,24$, as amostras estavam na fase H_α .

As amostras com valores de M_d de 0,25 a 0,35 foram caracterizadas como N_c , de acordo com [62], apresentando dois halos na região equatorial do filme (figura 2.4a), devido ao alinhamento do eixo longo das micelas com as paredes do capilar ([62]). Quando em presença de campo magnético, os eixos das micelas cilíndricas alinham-se paralelamente ao campo ([63]), de modo que quando a amostra é submetida à difração de raios X com feixe perpendicular ao campo magnético observam-se dois halos dispostos na região meridional do filme (figura 2.4b). Quando o feixe de raios X é paralelo ao campo espera-se uma distribuição isotrópica, com a observação de dois halos isotrópicos (figura 2.4c) ([63] e [61]).

Para $M_d=0,38$ obteve-se uma fase nemática discótica. As micelas discóticas orientam-se com seu eixo de rotação perpendicular à superfície do capilar, na proximidade das paredes do mesmo, enquanto que no centro do capilar cilíndrico o eixo das micelas é paralelo ao eixo do mesmo. Como a região central do capilar representa uma parte pequena da amostra, não

Figura 2.3: Fotografia obtida pelo método fotográfico de Laue para a amostra SLS/água/decanol, com $M_w=45,2$ e $M_d=0,195$, na fase hexagonal.

detectável por raios X, o resultado obtido é semelhante ao que se observa para as fases N_c por orientação de superfície ([62]) (figura 2.5a). Quando em presença de campo magnético, este deforma o efeito causado pela parede do capilar mas não o anula totalmente, de modo que quando o feixe é perpendicular ao campo não se observam halos intensos de difração (figura 2.5b) e quando o feixe é paralelo ao campo observam-se bandas de difração dispostas na região equatorial do filme (figura 2.5c) ([62]). A fase N_d já fora obtida anteriormente por [23] e a transição direta $N_c \rightarrow N_d$ já havia sido observada anteriormente por [28]. Além disso, “ilhas” de fases biaxiais entre os domínios N_c e N_d foram observadas ([29]) em concentrações diferentes das utilizadas neste trabalho. Portanto, a seqüência de fases observada neste trabalho é:

$$I^{0,19} \rightarrow H_\alpha^{0,24} \rightarrow N_c^{0,35} \rightarrow N_d$$

onde os valores de M_d exibidos correspondem à última fase estudada na fase precedente.

2.2.4 Posição relativa dos dois picos de difração na fase I

No sistema binário, a posição do primeiro pico apresentou um comportamento funcional $s^{-1} \propto c_v^{-1/3}$ ([26], onde c_v é a fração volumétrica do anfifílico. Este comportamento é típico de sistemas com micelas rígidas e finitas, em que a quantidade de água em volta das micelas decresce nas três dimensões. Pela tabela 2.1 e figura 2.6 verificamos uma evolução na relação entre as posições dos halos de difração com o aumento da quantidade de decanol na fase I.

Figura 2.4: Fotografia obtida pelo método fotográfico de Laue, para amostra ternária SLS/água/decanol, com $M_d=0,30$, na fase N_c . (a) Fotografia obtida em ausência de campo magnético; (b) Amostra submetida a campo magnético, perpendicular ao feixe de raios X; (c) Amostra submetida a campo magnético, paralelo ao feixe de raios X.

Figura 2.5: Fotografia obtida pelo método de Laue, para amostra ternária SLS/água/decanol, com $M_w=45,2$ e $M_d=0,38$, na fase N_d ; (a) Ausência de campo magnético; (b) Campo magnético perpendicular ao feixe de raios X; (c) Campo magnético paralelo ao feixe de raios X.

Tabela 2.1: Valores de s^{-1} para as amostras do sistema ternário SLS/água/decanol. $M_d=0$, extraída de [25]; $M_d=0,034$; $0,084$; $0,139$ extraídas de [26] e $0,195$ extraída de [27]. Para as demais amostras, foram feitas 10 medidas e calculados os valores médios com os respectivos desvios padrão.

Amostra	$s^{-1}(\text{\AA})$		
$Md = 0$	53 ± 1	$29,5 \pm 0,5$	—
$Md = 0,034$	$52,7 \pm 0,5$	$31,2 \pm 0,5$	—
$Md = 0,084$	$54,0 \pm 0,5$	$29,1 \pm 0,5$	—
$Md = 0,139$	$55,6 \pm 0,5$	$29,2 \pm 0,5$	—
$Md = 0,170$	$56,0 \pm 0,5$	$29,2 \pm 0,5$	—
$Md = 0,180$	57 ± 1	$31,8 \pm 0,4$	—
$Md = 0,195$	$55,6 \pm 0,5$	$27,9 \pm 0,5$	$33,2 \pm 0,5$
$Md = 0,200$	$58,8 \pm 0,8$	$30,8 \pm 0,5$	$34,9 \pm 0,5$
$Md = 0,210$	58 ± 1	$29,2 \pm 0,7$	$33,1 \pm 0,7$
$Md = 0,230$	59 ± 1	$29,8 \pm 0,7$	$33,9 \pm 0,7$
$Md = 0,250$	57 ± 1	$29,0 \pm 0,7$	—
$Md = 0,30$	$60,5 \pm 0,6$	$30,6 \pm 0,5$	—
$Md = 0,33$	$58,2 \pm 0,5$	$28,8 \pm 0,5$	—
$Md = 0,35$	$59,0 \pm 0,5$	$29,8 \pm 0,3$	—
$Md = 0,38$	$58,1 \pm 0,4$	$29,7 \pm 0,3$	—

fase I

fase H_α fase N_c fase N_d

Figura 2.6: Valores de s^{-1} obtidos para o sistema SLS/água/decanol, de acordo com a tabela 2.1, dentro dos domínios I, H_α , N_c e N_d . Na fase I a razão entre os picos evolui de $1:\sqrt{3}$ para $1:2$, na fase H_α temos razão $1:\sqrt{3}:2$ e na fase N $1:2$.

Analisando a posição do primeiro pico de difração, podemos notar um aumento no valor de s^{-1} em função da adição de decanol ao sistema. Este comportamento evidencia um aumento na distância média entre as micelas, até a vizinhança da transição $I \rightarrow H_\alpha$, ao contrário do que ocorre nas fases binárias. A partir da transição para a fase H_α , a posição do primeiro pico não muda, mantendo-se até a fase N_d , o que indica que a distância intermicelar média (centro a centro) é mantida. Como as fases nemáticas, alinhadas pelo efeito de paredes do capilar, apresentam dois picos de difração somente na região equatorial do filme, não havendo nenhum espalhamento na direção paralela ao eixo das micelas (figura 2.4), não é possível extrair informações sobre o tamanho das micelas na fase N_c . Este tipo de informação somente pode ser obtida quando se tem difração em duas direções perpendiculares ([64]).

A partir dos valores de s^{-1} , obtemos o valor do parâmetro de rede, $a = \frac{2}{\sqrt{3}}s^{-1}$. Para o sistema ternário, obtemos $a = (67,9 \pm 0,7)\text{\AA}$, enquanto que para o sistema binário $a = (53,7 \pm 0,3)\text{\AA}$, logo após a transição $I \rightarrow H_\alpha$ ([25], o que indica que no sistema ternário há muito mais água entre as micelas. No entanto, deve-se lembrar que o domínio H_α obtido no sistema ternário é muito estreito para que se possa definir uma relação entre a e c_v , como foi possível no sistema binário ([55]; [56]).

Já o segundo pico na fase nemática, geralmente ausente em outros sistemas ([50]; [51]; [52]), está presente nos sistemas que contêm SLS devido à razão entre o raio micelar e a distância intermicelar ([22]. No sistema binário SLS/água, a relação entre o primeiro e o segundo halos, ainda na fase isotrópica, é aproximadamente $1 : \sqrt{3}$ ([25]), evidenciando um empacotamento hexagonal local antes da transição $I \rightarrow H_\alpha$. Por outro lado, no sistema ternário, a relação entre o primeiro e o segundo halos evolui de $1 : \sqrt{3}$ (para $M_d=0$), até aproximadamente $1 : 2$, com aumento de M_d . Este fato indica que os sistemas binário e ternário atingem a fase H_α de modos diferentes, conforme discussão a seguir.

2.3 Discussão

A partir da análise das curvas de SAXS via modelagem da intensidade espalhada como produto do fator de forma pela função de interferência entre micelas ([26]), obteve-se para o sistema binário uma anisometria micelar parafínica (razão entre os eixos longo e curto da região parafínica), ν , de 2,4, fornecendo-nos uma densidade numérica de partículas, n_p ,² de 5×10^{-6} micelas/ $\text{\AA}^3$ na vizinhança da transição de fase $I \rightarrow H_\alpha$. Para o sistema ternário,

² $n_p = \frac{[\phi] N_A}{\bar{n}}$, onde $[\phi]$ é a concentração da amostra, N_A o número de Avogadro e $\bar{n}$ o número de agregação médio.

obtiveram-se os valores $\nu=3,0$ e $n_p = 3,7 \times 10^{-6}$ micelas/ $\text{\AA}^3$ ([26]). Portanto, o decanol promove o crescimento micelar na fase isotrópica no sistema ternário, como é esperado a partir do estudo da transição $I \rightarrow N$ de sistemas de agregados que se auto-associam em solução ([31]), enquanto que o número de partículas diminui. Isto significa que o sistema se rearranja em um número menor de micelas maiores. O crescimento micelar devido à adição de decanol pode ser compreendido em termos da forma esfero-cilíndrica, pois o decanol tende a alojar-se preferencialmente no corpo do cilindro, evitando as regiões de maior curvatura (tampas esféricas dos esfero-cilindros) ([31]; [65]). A anisometria de um esfero-cilindro é menor do que a anisometria de um elipsóide com mesmo volume, porém a escolha de uma dessas duas formas não muda os resultados de nossa análise.

Considerando-se a ordem local na vizinhança da transição $I \rightarrow H_\alpha$, temos que a presença de um segundo pico de difração com razão $1 : \sqrt{3}$ favorece a ordem hexagonal local ([25]). Porém, a mudança dessa razão para $1 : 2$ no sistema ternário não implica necessariamente em uma diferença na ordem local. Esta mudança ocorre ao mesmo tempo em que as micelas crescem e uma maior quantidade de água permanece entre as micelas. Além disso, a fase H_α no sistema ternário forma-se para valores maiores de M_w (menor concentração volumétrica de anfifílico), possuindo maior quantidade de água do que as fases H_α das fases binárias. Desse modo, o empacotamento do sistema é mais relaxado, podendo-se observar um comportamento mais parecido com o do estado líquido. Portanto, a ordem secundária "pseudolamelar" ([22]) parece estar relacionada a essa estrutura semelhante ao estado líquido, e não necessariamente a uma mudança na simetria local ou ao número de primeiros vizinhos.

Uma análise mais quantitativa da transição $I \rightarrow H_\alpha$ pode ser feita através da comparação dos valores de $2R/s^{-1}$ e L/s^{-1} da fase isotrópica com os valores de $2R/a$ e L/c das fases H_α . R e L são, respectivamente, o raio e o comprimento da micela cilíndrica, enquanto que a e c são a distância intermicelar média no plano hexagonal e na direção perpendicular a ele, respectivamente. Não sabemos o valor exato de c , mas podemos obter a razão L/c a partir dos dados de raios X e da composição da amostra ([55]; [66]; [67]; [56]):

$$\frac{L}{c} = \frac{\sqrt{3}a^2c_v}{2\pi R^2} \quad (2.1)$$

A condição $L/c = 2R/a$, para uma distribuição homogênea de água em três dimensões resulta em um comportamento $a \propto c_v^{-1/3}$, enquanto que para objetos infinitos e flexíveis, obtém-se um comportamento $a \propto c_v^{-1/2}$ a partir da condição $L/c = 1$, o que corresponde a

uma distribuição bidimensional de água entre as micelas ([59]; [68]; [55]; [66];[67]; [56]).

No sistema binário, os valores de a obtidos para um intervalo suficientemente grande de c_v mostram claramente uma dependência de $a \propto c_v^{-1/3}$ ([55]; [56]), evidenciando a existência de micelas finitas e rígidas na fase H_α . No sistema ternário estudado neste trabalho, o intervalo de concentrações para o qual a fase H_α é observada é muito pequeno para que se possa determinar a variação de a em função de c_v . No entanto, a comparação dos valores de $2R/a$ e L/c (tabela 2.2) pode nos fornecer a informação necessária sobre a distribuição das micelas no sistema. A tabela 2.2 apresenta o valor da concentração volumétrica de anfifílico onde a transição $I \rightarrow H_\alpha$ ocorre, o parâmetro de rede hexagonal logo após a transição, $2R_{tot}/s^{-1}$ e L/s^{-1} na fase isotrópica perto da transição $I \rightarrow H_\alpha$ e os valores de $2R_{tot}/a$ e L/c na fase hexagonal logo após a transição. Conforme observamos na tabela, a anisotropia local na fase isotrópica concentrada é evidente, já que as micelas não podem girar livremente com $L/s^{-1} \sim 1, 2$. Cabe ressaltar que este valor é minimizado no modelo de partículas cilíndricas, sendo maior para elipsóides ou esfero-cilindros com o mesmo volume. A ocupação no plano perpendicular ao eixo da micela é consideravelmente menor no sistema ternário.

Tabela 2.2: c_v , concentração volumétrica de anfifílico onde a transição $I \rightarrow H_\alpha$ ocorre; parâmetro de rede hexagonal, a , logo após a transição $I \rightarrow H_\alpha$; $2R_{tot}/s^{-1}$ e L/s^{-1} na fase isotrópica perto da transição; $2R_{tot}/a$ e L/c na fase H_α perto da transição (R_{tot} corresponde à soma da cadeia dodecil estendida e do diâmetro da cabeça polar do SLS, igual a $21,3\text{\AA}$ ([53])). Para o cálculo de L/c usou-se um raio efetivo de $18,4\text{\AA}$, que corresponde ao raio da micela sem água ([56]). O valor de L corresponde ao comprimento de um cilindro de volume parafínico equivalente ao elipsóide de anisometria ν .

Sistema	c_v	$a(\text{\AA})$	Fase isotrópica		Fase hexagonal	
			$2R_{tot}/s^{-1}$	L/s^{-1}	$2R_{tot}/a$	L/c
binário	0,343	53,7	0,91	1,15	0,79	0,80
ternário	0,265	67,9	0,75	1,17	0,63	1,00

Os resultados evidenciam a diferença na transição $I \rightarrow H_\alpha$ devido ao efeito do decanol. A fase H_α no sistema binário satisfaz a condição $L/c = 2R/a$, típica de micelas rígidas e finitas (mesmo que longas) ([55]; [56]; [59]), enquanto que no sistema ternário temos que $L/c = 1$, comportamento típico de micelas infinitas e flexíveis ([55]; [56]; [68]; [69]).

Quist e col. ([24]) analisaram as fases H_α no sistema ternário admitindo a hipótese de que as micelas fossem cilindros infinitos, e obtiveram um valor para o raio do cilindro compatível com o tamanho da cadeia parafínica estendida. No sistema binário, a hipótese de micelas cilíndricas infinitamente longas fornece um raio cilíndrico menor (5% menor) do que o tamanho da cadeia parafínica estendida ([55]; [56]).

2.3.1 Comparação com teorias

Alguns modelos teóricos foram desenvolvidos para sistema de auto-associação, para cilindros duros finitos ([59]) e para micelas semi-flexíveis tipo *wormlike* ([70]), e também para cilindros flexíveis persistentes eles prevêem as transições $I \rightarrow N \rightarrow H$ ou $I \rightarrow H$. Todas as teorias apresentam diagramas de fases em função da concentração volumétrica das partículas, com a mesma topologia. Existe um ponto triplo que separa as transições $I \rightarrow H$ e $I \rightarrow N \rightarrow H$. No caso de objetos finitos e rígidos, o diagrama de fases é uma função da energia livre de associação ϕ , a qual define o tamanho da partícula ([59]). No caso de cilindros longos e flexíveis, o diagrama é uma função de P/D , onde P é o tamanho persistente (distância entre dois vetores unitários de mesma direção que tangenciam o contorno do polímero livre ([68]) e D é o diâmetro do cilindro), tendo como parâmetro a razão axial L/D , onde L é o comprimento de contorno da partícula. A transição $I \rightarrow H$ é esperada nos limites de objetos pequenos e rígidos ou objetos muito flexíveis e longos (*wormlike*) na fase I . No caso de objetos rígidos e pequenos, espera-se um crescimento micelar na transição ([59]).

O sistema binário SLS/água está no limite de uma transição direta $I \rightarrow H$, pois não apresenta o domínio nemático. A presença de micelas pequenas na fase I ([53]; [54]; [25]; [26]), bem como o coeficiente $1/3$ para a distância intermicelar na fase H_α ([55]; [56]) mostra que o sistema binário é formado por micelas rígidas e finitas. A transição direta $I \rightarrow H_\alpha$ é prevista teoricamente por Taylor e Herzfeld ([59]). Além disso, o tamanho das micelas na fase H_α do sistema binário foi calculado para cilindros rígidos ([55]; [56]) para o qual obteve-se um valor médio de $L/2R \sim 6$, sendo que o valor máximo obtido é menor do que 16, mostrando que há um crescimento micelar na transição $I \rightarrow H_\alpha$.

A transição direta $I \rightarrow H_\alpha$ ocorre também para concentrações menores de decanol (menores do que 3,5% em peso)- figura 2.1. A sequência de fases $I \rightarrow N_c \rightarrow H$ prevista teoricamente ocorre somente para concentrações de decanol de aproximadamente 4% em peso e para concentrações de SLS entre 24,5% e 27% em peso, como pode ser visto na figura 2.1. Isto significa que somente para essas concentrações as micelas apresentam tamanho e rigidez necessários para que haja o aparecimento de uma fase N_c , como previsto teoricamente.

Os resultados aqui encontrados mostram uma mudança de comportamento de micelas infinitas e flexíveis na fase H_α para micelas finitas e rígidas com o aumento da quantidade de decanol, que não é considerado por nenhuma teoria. Esta mudança deve ocorrer na transição $H_\alpha \rightarrow N_c$, pois a fase nemática que sucede a fase hexagonal é formada por objetos pequenos ([71]). Isto só pode acontecer se considerarmos que haja uma quebra das micelas na transição $H_\alpha \rightarrow N_c$, assim como um grande crescimento micelar deve ocorrer na transição $N_c \rightarrow H_\alpha$, no sentido inverso. A transição $N_c \rightarrow H_\alpha$ prevista para 4% em peso de decanol ocorre com o decréscimo na razão molar de decanol (M_d), enquanto que neste trabalho a transição $H_\alpha \rightarrow N_c$ se dá com o aumento de M_d , o que mostra consistência de ambos os resultados.

A partir desses resultados, pode-se compreender a seqüência de fases $I \rightarrow H_\alpha \rightarrow N_c$, observada para concentrações mais altas de SLS ([24]) e presente também neste trabalho, a qual não foi prevista por nenhuma teoria. A transição direta $I \rightarrow H_\alpha$ ocorre em condições previstas pelas teorias. Entretanto, a transição $H_\alpha \rightarrow N_c$ requer um rearranjo das moléculas de anfifílico e decanol à medida que a fração de decanol no sistema aumenta, o que necessitaria de novos argumentos teóricos.

Por localizar-se preferencialmente no corpo dos esfero-cilindros, o decanol promove inicialmente um crescimento micelar. Na região do diagrama de fases investigada neste trabalho (figura 2.1) as micelas são relativamente pequenas e rígidas na fase isotrópica ternária, com anisometria $\nu = 3,0$ ([26]) e crescem tornando-se flexíveis na fase H_α . Porém, o aumento de decanol pode desestabilizar a fase H_α . A existência da fase N_c requer uma certa rigidez das micelas semi-flexíveis ([70]), o que significa que a rigidez das micelas começa a aumentar quando há um aumento muito grande na razão molar decanol/SLS. Este efeito pode ser atribuído à resistência do decanol em encaixar-se nas regiões de maior curvatura ([30]; [31]; [65]), necessárias para um dobramento da micela, inibindo a formação de micelas flexíveis (*wormlike*).

Depois que se quebram, as micelas, menores e mais rígidas na fase N_c , têm maior quantidade de decanol no corpo do esfero-cilindro do que na fase H_α , sendo que as tampas semi-esféricas permanecem sem decanol. A transição $N_c \rightarrow N_d$ ocorre para uma quantidade de decanol ainda maior, quando a fração molar de decanol presente no corpo do cilindro impõe uma mudança na forma micelar, conforme estudado por Amaral e col. ([30]).

Deve-se lembrar que a transição $N_c \rightarrow H_\alpha$ com o aumento de temperatura ([24]) pode ocorrer como consequência do aumento da flexibilidade micelar causado pelo efeito da temperatura.

De uma forma geral, podemos dizer que o decanol possui um duplo efeito: na fase I , promove o crescimento micelar por alojar-se no corpo das micelas esfero-cilíndricas, provocando a transição $I \rightarrow N_c$ para baixas concentrações de SLS, de acordo com o diagrama de fases apresentado na figura 2.1; o decanol influencia também as características da fase H_α no sistema ternário, no qual as micelas passam de um comportamento finito/rígido para infinito/flexível. Além disso, excesso de decanol tende a promover mudanças na estrutura micelar, desestabilizando a fase H_α de forma a promover a seqüência de fases $I \rightarrow H_\alpha \rightarrow N_c$, com quebra das micelas devido à dificuldade de curvar-se, ou induzindo a transição $N_c \rightarrow N_d$ através de mudanças na forma micelar, favorecendo a presença de superfícies achatadas ([30]).

O trabalho de Amaral e col. ([30]) sugere que as transições de fases, em particular a transição $N_c \rightarrow N_d$, ocorrem em consequência de uma mudança de forma micelar. Porém, nestes sistemas concentrados torna-se difícil dissociar a mudança de forma da transição de fase, já que ambas ocorrem simultaneamente. Além disso, o fator de interferência entre micelas está presente nestes sistemas concentrados, dificultando o estudo da forma das micelas isoladamente. Por este motivo, estudaremos no próximo capítulo o sistema SLS/água/decanol para concentrações mais baixas de SLS em água, com o intuito de separarmos estes efeitos e investigarmos apenas a influência do decanol sobre a estrutura micelar do SLS.

Capítulo 3

ESTUDO DO EFEITO DA ADIÇÃO DE DECANOL NO SISTEMA 10% SLS/ÁGUA

3.1 Introdução

Como foi visto no capítulo 2, a introdução de decanol no sistema SLS/água em soluções isotrópicas próximas à transição de fase $I \rightarrow H$ líquido-cristalina induz o sistema a um crescimento micelar maior do que para o sistema sem decanol. Foi observada uma transição $I \rightarrow H_\alpha$ para $M_w = 45,2$, constante, por variação de M_d ([27]; [72]). A transição direta $I \rightarrow H_\alpha$ é preparada por uma mudança de forma esferóide de revolução prolato $\rightarrow$ esfero-cilindro na fase I concentrada [65]. A transição de fase $N_c \rightarrow N_d$ também tem sido estudada na literatura ([23], [28], [29], [30]), sendo que estudos sobre a estabilidade das micelas em função da energia de curvatura das mesmas ([30]) indicaram que essa transição ocorre em consequência de uma mudança de forma das micelas, que passam de esfero-cilindros para discos.

Com o intuito de investigarmos até que ponto a mudança de forma ocorre apenas em função de M_d ou está relacionada com as transições de fase líquido-cristalinas, estudaremos neste capítulo a influência do decanol sobre o sistema SLS/água, para razões molares crescentes de decanol:SLS (M_d), a uma concentração de SLS relativamente baixa (10% em peso de SLS em água, fixos), onde o efeito de concentração (interferência intermicelar) pode ser considerado desprezível na curva de SAXS. Na realidade, a interferência entre partículas está

presente a essa concentração, porém o seu pico coincide com o primeiro mínimo do fator de forma [53] ([26], [54]), de modo que a curva de espalhamento é dominada pela forma das micelas. Este fato nos permite analisar as curvas de SAXS e determinar a dimensão máxima das partículas através da função distribuição de distâncias das mesmas, pelo método que será descrito na secção 3.2.2, ([73], [74], [75]).

Com a finalidade de compararmos os resultados com o que se obteve para o sistema mais concentrado (26,25% de SLS em água), variamos os valores de M_d de 0 a 0,45, passando pelos valores para os quais o sistema concentrado apresentou transições de fase ($I \rightarrow H_\alpha \rightarrow N_c \rightarrow N_d$) ([23]; [28]; [27]; [72]).

3.2 Método Utilizado

3.2.1 Espalhamento de raios X a baixos ângulos

A teoria de espalhamento a baixos ângulos, desprezando-se a interferência entre partículas, é bem conhecida na literatura ([74], [76], [75]). Vamos apenas lembrar que a amplitude espalhada pode ser escrita como ([74]):

$$F(\vec{q}) = \int \int \int dV \rho(\vec{r}) e^{-i\vec{q} \cdot \vec{r}}, \quad (3.1)$$

onde

$\rho(\vec{r})$ é o número de elétrons por unidade de volume;

dV é o elemento de volume, sendo V o volume irradiado da amostra;

$\vec{q}$ é o vetor de espalhamento de módulo $\frac{4\pi}{\lambda} \sin\theta$;

λ = comprimento de onda da radiação utilizada;

2θ = ângulo de espalhamento

e a intensidade de espalhamento é dada por ([75]):

$$I(\vec{q}) = FF^* = \int \int \int \int \int \int dV_1 dV_2 \rho(\vec{r}_1) \rho(\vec{r}_2) e^{-i\vec{q}(\vec{r}_1 - \vec{r}_2)}. \quad (3.2)$$

A integral acima pode ser solucionada em dois passos:

1) Agrupando-se todos os pares de pontos $\vec{r}_1$ e $\vec{r}_2$ de mesma distância, definindo a função de auto-correlação, $\tilde{\rho}^2(r)$, tal que:

$$\tilde{\rho}^2(r) \equiv \int \int \int dV_1 \rho(\vec{r}_1) \rho(\vec{r}_2) \quad (3.3)$$

com $\vec{r} = (\vec{r}_1 - \vec{r}_2) = \text{constante}$.

A função $\tilde{\rho}^2(r)$ é conhecida como função de Patterson.

2) Faz-se a integral em todo o espaço:

$$I(\vec{q}) = \int \int \int dV \cdot \tilde{\rho}^2(\vec{r}) e^{-i\vec{q} \cdot \vec{r}}. \quad (3.4)$$

Supondo que o sistema seja estatisticamente isotrópico, podemos escrever ([74]):

$$I(q) = \int 4\pi r^2 dr \cdot \tilde{\rho}^2(r) \frac{\text{sen} qr}{qr} \quad (3.5)$$

Admitindo-se ainda que não haja ordem a longo alcance no sistema, ou seja, que não haja correlação entre dois pontos bem distantes, a estrutura será representada por uma média. Como consequência, é conveniente usar a flutuação de densidade eletrônica, $\eta = \rho - \bar{\rho}$ em lugar de ρ . A média do produto de duas flutuações a uma distância r será então dada por ([75]):

$$\gamma(r) = \langle \eta(\vec{r}_1) \eta(\vec{r}_2) \rangle, \quad (3.6)$$

com $\vec{r} = |\vec{r}_1 - \vec{r}_2|$.

$\gamma(r)$ é chamada função de correlação e representa a probabilidade de um ponto a uma distância r em uma direção arbitrária de um dado ponto na partícula estar também na partícula. $\gamma(r)$ relaciona-se com a intensidade espalhada através da equação:

$$I(q) = V \int_0^\infty 4\pi r^2 dr \gamma(r) \frac{\text{sen} qr}{qr} \quad (3.7)$$

3.2.2 A função distribuição de distâncias

Na análise das curvas de espalhamento em baixo ângulo, utiliza-se freqüentemente a função distribuição de distâncias $p(r)$ ao invés da função $\gamma(r)$, sendo $p(r)$ dada por ([74], pág.12):

$$p(r) = r^{(dim-1)} \gamma(r) \quad (3.8)$$

onde dim define o tipo de simetria da partícula:

$dim=1 \rightarrow \text{lamelar}$

$dim=2 \rightarrow \text{cilíndrica}$

$dim=3 \rightarrow \text{esférica}$

e a intensidade espalhada é dada por:

$$I(q) = 4\pi \int_0^{D_{máx}} \frac{p(r) \text{sen}(qr) dr}{qr} \quad (3.9)$$

ou

$$p(r) = \frac{1}{2\pi^2} \int_0^\infty I(q)(qr) \text{sen}(qr) dq \quad (3.10)$$

para partículas esféricas, sendo $D_{máx}$ a dimensão máxima da partícula ($p(r) = 0$ para $r \geq D_{máx}$).

Na prática a função de espalhamento não pode ser determinada em todo o espaço recíproco, mas é conhecida apenas dentro de um intervalo $q_{mín} < q < q_{máx}$, o que gera efeitos de truncamento no cálculo de $p(r)$. Além disso, as flutuações estatísticas geram instabilidades na antitransformada de Fourier. Para solucionar esses problemas, O. Glat-ter desenvolveu um método chamado Procedimento de Transformação Indireta ("*Indirect Transformation Process*" - ITP) ([73] e [77]), que determina a função $p(r)$ de partículas em solução a partir da curva de intensidade espalhada. Outros métodos existem na literatura ([78], [79], entre outros), porém escolhemos o método ITP porque uma extensão do método fornece-nos a função distribuição de densidades eletrônicas ([80]), conforme será discutido na próxima secção. Os princípios do método ITP são descritos abaixo:

(i) A intensidade espalhada $I(q)$ é obtida por uma transformada de Fourier de $p(r)$ (equação 3.9) (transformação T1);

(ii) a intensidade observada experimentalmente pode sofrer efeitos de radiação não monocromática (T2) e efeitos geométricos de largura e altura do feixe incidente (T3 e T4).

Esses efeitos são descritos através da equação:

$$J = [8\pi \int dr \int d\lambda' \int dt \int dx Q(x)P(t)W(\lambda')p(r) \frac{\text{sen}\omega}{\omega}] + E(q) \quad (3.11)$$

onde

J = intensidade observada experimentalmente;

$\omega = r[(q - x)^2 + t^2]^{1/2}/\lambda'$;

$W(\lambda')$ = distribuição de comprimentos de onda;

$P(t)$ = perfil da altura do feixe;

$Q(x)$ = perfil da largura do feixe;

$E(q)$ = erro estatístico.

Na prática alguns desses efeitos ($T2 - T4$) podem ser desprezados, como por exemplo $T2$, pela presença de um monocromador no sistema. O nosso sistema será definido na secção 3.3.2;

(iii) o procedimento para a solução desta equação integral inicia-se com a hipótese de que um valor $D_{máx}$ pode ser estimado tal que ([77]):

$$p(r) = 0, \text{ para } r \geq D_{máx} \quad (3.12)$$

o que significa que a função $p(r)$ difere de zero somente em uma região limitada do espaço real (entre 0 e $D_{máx}$);

(iv) a função $p(r)$ é aproximada neste intervalo por uma combinação linear de um número N finito de funções $\varphi_\nu(r)$ cúbicas B -spline, tal que:

$$p(r) = \sum_{\nu=1}^N c_\nu \varphi_\nu(r) \quad (3.13)$$

onde os coeficientes de expansão c_ν são desconhecidos;

(v) as funções $\varphi_\nu(r)$ são transformadas de acordo com a seqüência de transformações $T1$ a $T4$, resultando em uma intensidade "borrada" (*smeared*):

$$X_\nu(q) = T4 T3 T2 T1 \varphi_\nu(r) \quad (3.14)$$

(vi) os coeficientes c_ν são então determinados pelo ajuste aos dados experimentais $J(q)$ em relação à soma $\sum_{\nu=1}^N c_\nu X_\nu(q)$, seguindo a condição de mínimos quadrados:

$$L = \sum_i^M [J(q_i) - \sum_i^N c_\nu X_\nu(q_i)]^2 / \sigma^2(q_i) = \text{Mín} \quad (3.15)$$

onde M é o número de pontos experimentais ($M \geq N$) e $\sigma^2(q_i)$ é a variância do i -ésimo ponto.

(vii) devido a problemas de estabilidade que podem ser causados por um aumento no número N de funções $X_\nu(q_i)$ ou por ruído estatístico nos dados de espalhamento, um vínculo é introduzido ao problema variacional, tal que ([73]):

$$(L + \lambda_L N'_c) = \text{Mínimo} \quad (3.16)$$

onde

$N'_c = \sum (c_\nu - c_{\nu-1})^2 =$ norma da 1ª derivada dos coeficientes solução c_ν e

$\lambda_L =$ multiplicador de Lagrange que estabelece a ponderação do vínculo em relação ao problema variacional, servindo como um parâmetro de estabilização.

(viii) os coeficientes c_ν resultantes da equação 3.16 através do uso de um $\lambda_{ót}$ (melhor valor de λ_L) definem a solução no espaço real de acordo com a equação 3.13. O apêndice A mostra como exemplo um dos gráficos de estabilidade e os valores de $\lambda_{ót}$ obtidos para os nossos conjuntos de dados.

O número N de funções spline determina a resolução com que a função $p(r)$ é representada no espaço real. A escolha de N é feita através do teorema da amostragem ([81]):

$$N_{máx} = \frac{q_{máx} D_{máx}}{\pi}, \quad (3.17)$$

Como esta limitação pode gerar alguns efeitos de truncamento ([73] e [77]), um dos pontos principais do método ITP é a possibilidade de realizar a somatória com um número de coeficientes $N > N_{máx}$ para garantir uma representação fiel da função distribuição de distâncias. Porém, em nosso caso, a utilização de $N > N_{máx}$ causou oscilações artificiais na função distribuição de distâncias, e por este motivo utilizou-se $N=11$, dado pela relação 3.17. O parâmetro de estabilização λ_L foi determinado a partir da tabela de estabilidade de cada curva, conforme [81]; [73]; [77] (Apêndice A).

A função $p(r)$ nos possibilita estimar a dimensão máxima da partícula e, acoplada à função de densidade eletrônica, a ser vista na próxima seção, dá indicação da simetria da partícula. A figura 3.1 exibe alguns modelos qualitativos da função $p(r)$, em caráter ilustrativo, em função da estrutura interna da partícula para algumas formas geométricas bem definidas.

3.2.3 Função distribuição de densidade eletrônica

Numa seqüência do método ITP é possível obter-se a função distribuição de densidade eletrônica $\rho(r)$ para partículas que apresentam simetria esférica, cilíndrica ou lamelar, a partir da função $p(r)$ (equações 3.7 e 3.8) através do método denominado raiz quadrada da convolução (Decon) ([80]). A função de densidade eletrônica $\rho(r)$ é aproximada por uma série de N funções degrau:

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^N c_i T_i(r) \quad (3.18)$$

onde

N é o número total de funções;

r é a distância normal do centro de simetria;

Figura 3.1: Modelos de funções distribuição de distâncias. Figura extraída de [82].

T_i = funções degrau eqüidistantes no método original passando a funções degrau de largura variável num aprimoramento do método realizado pelo próprio autor ([83]);

c_i são as alturas das funções degrau.

A função $\rho(r)$ definida em 3.18 corresponde à função distribuição de distâncias calculada $\bar{p}(r)$ através da equação ([80]):

$$\bar{p}(r) = \sum V_{ii}(r)c_i^2 + 2\sum_{i>k} V_{ik}(r)c_i c_k \quad (3.19)$$

onde V_{ii} e V_{ik} são integrais que levam em conta a simetria da partícula .

As integrais de sobreposição $V_{ik}(r)$ estabelecem a sobreposição do i-ésimo com o k-ésimo degrau deslocado de uma distância r , levando em conta os fatores especiais para geometria $r^{(dim-1)}$, conforme definido em 3.8.

Os valores iniciais de $c_i^{(0)} = cte = c^{(0)}$ são calculados de acordo com a equação ([80]):

$$c^{(0)} = 1.5(R_N)^{-3}[\pi^{-1} \int_0^\infty p(r)dr]^{1/2} \quad (3.20)$$

para simetria esférica;

$$c_c^{(0)} = R_N^{-2}[(\frac{2}{\pi}) \int_0^\infty p_c(r)dr]^{1/2} \quad (3.21)$$

para simetria cilíndrica e

$$c_t^{(0)} = R_N^{-1}[0, 5 \int_0^\infty p_t(r)dr]^{1/2} \quad (3.22)$$

para simetria lamelar, onde R_n é o raio externo do N-ésimo degrau.

O próximo passo é a computação de $\bar{p}(r)$ inserindo-se $c^{(0)}$ na equação 3.19. A função resultante diferirá da função de entrada $p(r)$ (saída do ITP) com desvio:

$$\Delta p(r) = p(r) - \bar{p}^{(0)}(r) \quad (3.23)$$

Em seguida os coeficientes $c_i^{(0)}$ são alterados pela adição de termos de correção Δc_i de tal modo que os desvios $\Delta p(r)$ tornem-se zero ou mínimos. O método utiliza um procedimento iterativo e o método dos mínimos quadrados de modo semelhante ao método ITP. Quando há desvio da simetria escolhida, as funções $\bar{p}(r)$ tendem a aproximações pobres da função distribuição de distâncias $p(r)$ de entrada ([80]).

Partículas anisométricas

No caso de partículas alongadas em uma direção (tipo cilindro), de comprimento L , o método ITP pode determinar a função distribuição de distâncias da secção transversal das mesmas ($p_c(r)$), a qual está relacionada com a intensidade espalhada da secção transversal $I_c(q)$, através da equação ([75]):

$$p_c(r) = \frac{1}{2\pi} \int_0^\infty I_c(q)(qr) J_0(qr) dq \quad (3.24)$$

O método permite que a função $p_c(r)$ seja calculada diretamente da curva de intensidade espalhada através da equação([75]):

$$I(q) \cdot q = 2\pi^2 L \int_0^\infty p_c(r) J_0(qr) dr = I_c(q) \pi L \quad (3.25)$$

A função distribuição de densidades eletrônicas, por sua vez, é dada por:

$$\rho_c(r) = \frac{1}{2\pi} \int_0^\infty (I_c(q))^{1/2} q J_0(qr) dq \quad (3.26)$$

No caso de partículas alongadas em duas direções (tipo disco), de área A e espessura t , o programa pode fornecer a função distribuição de distâncias da secção transversal da partícula, $p_t(r)$, que se relaciona com a intensidade espalhada da secção transversal, $I_t(r)$, por ([75]):

$$p_t(r) = \frac{1}{\pi} \int_0^\infty I_t(q) \cos(qr) dq \quad (3.27)$$

e com a intensidade espalhada por:

$$I(q) \cdot q^2 = 4\pi A \int_0^\infty p_t(r) \cos(qr) dr = A 2\pi I_t(q) \quad (3.28)$$

A correspondente função distribuição de densidades eletrônicas da secção transversal da partícula tipo disco será:

$$\rho_t(r) = \frac{1}{\pi} \int_0^\infty (I_t(q))^{1/2} \cos qr dq \quad (3.29)$$

3.3 Parte Experimental

3.3.1 Amostras

A preparação das amostras foi feita conforme descrito no capítulo 2, com a diferença de que utilizou-se aqui 10% em peso de SLS em água ($M_w = 144,0$), com M_d variando de 0 a 0,45.

3.3.2 Arranjos Experimentais

3.3.2.1. Difratorômetro de baixo ângulo, com gerador convencional

A primeira parte das amostras utilizadas neste estudo foi medida com um difratorômetro de baixo ângulo acoplado a uma janela de um gerador de raios X convencional da Rigaku-Denki, operando com 40 kV/30 mA, com radiação $\text{CuK}\alpha$, foco linha normal e geometria de colimação de fendas linha. Neste sistema de colimação (figura 3.2) utilizam-se duas fendas, f1 e f2, de secção transversal fixa e uma terceira, f3, denominada fenda lábios, com altura fixa e largura variável, que colocada entre a segunda fenda e a amostra, posicionada o mais próximo possível da fenda f2, reduz a radiação parasita provocada pelo espalhamento nas bordas da segunda fenda. A fenda lábios não pode tocar o feixe direto, para que não se torne ela própria uma nova fonte de radiação parasita.

Depois da amostra há um quarto sistema de colimação em cujas extremidades são colocadas duas fendas de secção retangular fixa: fenda de espalhamento (fe) e fenda de recepção (f4), as quais devem estar muito bem alinhadas com o feixe espalhado, que é monocromatizado por um cristal de grafite (M) (figura 3.3), montado sobre o braço do goniômetro, e que atinge um detector de cintilação. Este é acoplado a um sistema eletrônico de aquisição de dados, possibilitando um registro automático das curvas de espalhamento.

As dimensões das fendas utilizadas e as distâncias entre elas encontram-se na tabela 3.1.

3.3.2.2. Difratorômetro de baixo ângulo com gerador de anodo rotatório

Parte das amostras utilizadas neste trabalho foi medida utilizando-se um gerador de anodo rotatório, da Rigaku, instalado no laboratório de Cristalografia. Utilizou-se foco ponto fino de 0,3 mm, com colimação de fendas linha, operando a 50 kV/70 mA. O arranjo é semelhante ao que foi descrito na secção 3.3.2.1, com a diferença de que no atual arranjo o monocromador foi colocado entre o feixe de raios X e a primeira fenda, de modo que trabalhamos com feixe incidente monocromatizado. Apresentam-se na tabela 3.2 as dimensões das fendas utilizadas e as respectivas distâncias entre elas. Note que as dimensões das fendas são as mesmas que foram utilizadas no arranjo descrito anteriormente.

3.3.3 Efeitos da geometria do sistema

O feixe incidente na amostra sofre influência do sistema de colimação (altura e largura do feixe), causando uma distorção na intensidade espalhada medida ("smearing"). Esses efeitos

Figura 3.2: Sistema de colimação do difratômetro de raios X a baixos ângulos montado no gerador convencional: $f1=1^a$ fenda; $f2= 2^a$ fenda; $f3=$ fenda lábios; $f_e=$ fenda de espalhamento; $f4=$ fenda de recepção e $f_r=$ fenda de recepção do detector; x_{rx-f1} = distância entre o foco e $f1$; x_{f1-f2} = distância entre $f1$ e $f2$; x_{f3-f2} = distância entre $f2$ e $f3$; x_{f3-am} = distância entre $f3$ e a amostra e x_{am-f4} = distância entre a amostra e $f4$.

Figura 3.3: Arranjo do monocromador usado no difratômetro de raios X a baixos ângulos montado no gerador convencional: M= cristal de grafite, θ_m =ângulo de rotação do cristal (no caso, grafite) com radiação CuK_{α} , $\theta_m = 13,28^\circ$; fr=fenda de recepção do detector; BS= bloqueador do feixe direto (“beam-stopper”).

Tabela 3.1: Dimensões e distâncias das fendas (em mm) em um sistema de colimação de alta resolução do difratômetro de raios X a baixos ângulos montado no gerador convencional com feixe espalhado monocromatizado; xrx-f1= distância entre fonte de raios X e fenda 1; xf1-f2 = distância entre fendas f1 e f2; xf3-f2 = distância entre fendas f2 e f3; xf3-am= distância entre fenda f3 e amostra; xam-f4 = distância entre amostra e fenda f4

f1	0,2 X 10
f2	0,1 X 10
fe	0,1 X 15
f4	0,05 X 15
fr	0,8 X 15
xrx-f1	28,5
xf1-f2	239,5
xf3-f2	60,5
xf3-am	40,0
xam-f4	282,0

Tabela 3.2: Dimensões e distâncias das fendas utilizadas (em mm) em um sistema de colimação de alta resolução do difratômetro de raios X a baixos ângulos, montado no gerador de anodo rotatório, com monocromatização de feixe incidente; xmon-f1= distância entre o monocromador e a fenda f1; xf1-f2= distância entre fenda 1 e fenda 2; xf3-f2 = distância entre as fendas f2 e f3; xf3-am = distância entre fenda f3 e amostra; xam-f4 = distância entre amostra e f4.

f1	0,2 X 10
f2	0,1 X 10
fe	0,1 X 10
f4	0,05 X 15
xmon-f1	85
xf1-f2	224
xf3-f2	27
xf3-am	41,5
xam-f4	300

são corrigidos pelo programa ITP (equação 3.11). Os perfis de altura ($P(t)$) e largura ($Q(x)$) do feixe, medidos experimentalmente no arranjo com o gerador convencional, no laboratório de Cristalografia ([60]), encontram-se na tabela 3.3. Foram realizadas medidas do perfil do feixe com a geometria utilizada no gerador de anodo rotatório e o mesmo não difere do gerador convencional.

3.3.4 Tratamento dos dados

A intensidade de espalhamento a baixos ângulos medida experimentalmente sofre influência da radiação de fundo (BG) e da radiação parasita, que lhe devem ser subtraídas. Isso pode ser equacionado da seguinte forma:

$$J_{obs} = (J - BG) - (J_0 - BG).T_r \quad (3.30)$$

onde

J_{obs} = intensidade corrigida do espalhamento observado;

J = intensidade de espalhamento observada da amostra;

Tabela 3.3: Perfil de largura e altura do feixe de raios X incidente na amostra, extraído de [60].

q	Q(x)	q	P(t)
(Å ⁻¹)	(cps)	(Å ⁻¹)	(cps)
0,0000	26500	0,0000	26500
0,0071	20	0,0388	26500
0,0140	0	0,0777	26500
0,0210	0	0,1165	26500
-	-	0,1341	8000
-	-	0,1553	40
-	-	0,2330	0

J_0 = intensidade de espalhamento parasita;

BG = radiação de fundo e

T_r = transmissão da amostra

Geralmente o espalhamento parasita corresponde ao espalhamento do solvente, mas no nosso caso não conhecemos a priori a quantidade de água ligada à micela. Por isso o espalhamento da água não foi subtraído de J_{obs} e o espalhamento parasita J_0 consiste apenas da intensidade medida sem amostra (feixe direto).

Radiação de fundo

O BG é proveniente do sistema eletrônico de aquisição e registro de contagens, e sua verificação foi feita com o tubo operando nas mesmas condições utilizadas na obtenção das medidas, porém com a janela do tubo fechada.

No gerador convencional obteve-se o BG no valor de $(0,758 \pm 0,001)$ cps, com o tubo operando a 40kV/30mA. No gerador anodo rotatório obteve-se um valor de $(0,493 \pm 0,005)$ cps a 50kV/70mA, condição utilizada para a obtenção das medidas.

Transmissão das amostras

O procedimento para a medida da transmissão das amostras foi o seguinte:

- Gerador convencional: com o tubo operando a 40kV/10mA, $2\theta=0^\circ$ e com filtro de

alumínio de 0,04 mm de espessura na frente do detector, medimos a intensidade do feixe direto (sem amostra), J_0 , e da intensidade transmitida através da amostra, J_1 . Esse procedimento foi repetido dez vezes, de modo que pudemos calcular o valor médio desses valores, com o respectivo desvio padrão.

A transmissão é dada por:

$$T_r = \frac{J_1}{J_0} \quad (3.31)$$

- Gerador anodo rotatório: com o tubo operando a 26KV/10mA, $2\theta = 0^\circ$ e com filtro de alumínio de 0,02 mm na frente do detector, medimos os valores de J_0 e J_1 e calculamos a transmissão das amostras como descrito acima.

Os valores médios obtidos para a transmissão das amostras são $0,25 \pm 0,05$. A variação observada nestes valores é devida à falta de reprodutibilidade na centralização do capilar cilíndrico. Entretanto, essa variação afeta apenas os dados na região de espalhamento a ângulos muito baixos ($q < 0,04 \text{ \AA}^{-1}$), que será desconsiderada na análise de resultados abaixo descrita.

3.4 Resultados

Na figura 3.4 são apresentadas as curvas de SAXS das soluções aquosas de SLS/água/decanol obtidas no laboratório de Cristalografia do IFUSP, com gerador de anodo rotatório e com gerador convencional. A razão de termos utilizado esses dois geradores é que já haviam sido medidas primeiramente as soluções com valores de $M_d = 0; 0,10; 0,20; 0,33$ e $0,38$ com o gerador convencional, com 40kV/30mA. Com a instalação do gerador de anodo rotatório no laboratório de Cristalografia, novas curvas de SAXS foram obtidas com o novo gerador para $M_d = 0,14; 0,18; 0,40$ e $0,45$, com 50kV/70mA, para complementarmos a análise. Como a potência utilizada no gerador de anodo rotatório é maior, embora tenha sido utilizado foco fino, as intensidades das curvas com ele obtidas apresentaram intensidades aproximadamente 1,5 vezes maiores do que as que foram obtidas com o uso do gerador convencional. Por este motivo, para visualização dos resultados, as curvas de espalhamento foram normalizadas pelo valor de intensidade de pico obtido com o gerador de anodo rotatório. Tomou-se o cuidado de normalizar cada curva com aquela correspondente à concentração mais próxima, de forma que as amostras com $M_d = 0$ e $0,10$ foram normalizadas com a curva de $M_d = 0,14$;

$M_d=0,20$ e $0,33$ com $M_d=0,18$ e $M_d=0,38$ com $M_d=0,45$. Porém, para a análise dos dados foram utilizadas as curvas originais.

A partir das curvas de intensidade espalhada determinou-se a função distribuição de distâncias ($p(r)$), utilizando-se o método de transformação indireta (ITP) (secção 3.2.2, [73];[77]). Tendo como dados de entrada a curva de intensidade espalhada obtida experimentalmente e o tamanho máximo da partícula ($D_{máx}$), o programa ITP nos fornece a melhor função $p(r)$, associada a uma curva de espalhamento borrada (*smeared*) com o efeito da geometria do feixe de raios X (altura e largura do feixe) (tabela 3.3)), que melhor se ajusta à curva experimental. Com isso temos a informação sobre a dimensão máxima das partículas espalhadoras. Em seguida utilizamos o programa Decon ([80]) que, a partir da função $p(r)$ gerada pelo programa ITP, gera a função distribuição de densidades eletrônicas ($\rho(r)$) correspondente. Para tal, deve-se escolher a simetria da partícula (esférica, cilíndrica ou lamelar) e o programa gera funções $\rho(r)$ modelo através da minimização dos ajustes feitos entre as funções $\bar{p}(r)$ (gerada a partir da distribuição de densidade eletrônica modelo) e as funções $p(r)$ provenientes do ITP, dadas como entrada. O bom ajuste entre essas funções nos indica se a simetria escolhida está correta.

As figuras 3.5 e 3.6 exibem as funções $p(r)$ ($\square$) obtidas para M_d entre 0 e 0,18, juntamente com as funções $\bar{p}(r)$ (linha contínua) calculadas teoricamente a partir da densidade eletrônica das micelas $\rho(r)$, assumindo-se simetria esférica. No lado direito das figuras são apresentados os dados experimentais e as funções de espalhamento correspondentes às funções $p(r)$ geradas pelo programa ITP. Podemos observar o bom acordo entre as funções $p(r)$ e $\bar{p}(r)$, o que nos mostra que para estas concentrações as micelas têm uma simetria aproximadamente esférica. Podemos notar também um pequeno aumento no tamanho máximo das micelas com o aumento da concentração de decanol (tabela 3.4), bem como uma inversão nas alturas dos picos de $p(r)$ para $M_d=0,18$.

No entanto, para $M_d=0,20$, com simetria esférica, a posição do segundo pico da função $\bar{p}(r)$ (Decon)(traço cheio) não coincide com a posição do pico correspondente da função $p(r)$ (ITP), apesar de estar dentro do erro desta última (figura 3.7a) e do acordo entre as curvas de SAXS modelo e os dados experimentais continuarem bons. Entretanto, para valores de M_d maiores, o desacordo torna-se mais evidente, conforme será visto nos próximos gráficos. Decidimos então testar a simetria cilíndrica a partir desta concentração. Os resultados são apresentados nas figuras 3.7b -3.9b. Eles indicam que, supondo simetria cilíndrica, há um melhor acordo entre as funções $p_c(r)$ e $\bar{p}_c(r)$, em relação ao segundo pico, em comparação com a simetria esférica (figuras 3.7a - 3.9a). Como já discutido na secção 3.2.3, no caso de simetria

Figura 3.4: Curvas de SAXS de amostras compostas por 10% SLS/água com valores crescentes de M_d , conforme indicados.

cilíndrica o programa nos fornece a função distribuição de distâncias da secção transversal, $p_c(r)$. Por este motivo obtemos o diâmetro dos cilindros e não o tamanho (comprimento) das micelas. Os valores de $D_{máx}$ são apresentados na tabela 3.4.

Tabela 3.4: Dimensão máxima das partículas. esf = esférica, cil= cilíndrica, lam= lamelar. Os erros foram estimados a partir dos gráficos, considerando-se o intervalo (em Å) abrangido por cada ponto.

M_d	$D_{máx} (\pm 1) (\text{Å})$	Simetria
0	56	esf
0,10	55	esf
0,14	61	esf
0,18	61	esf
	$D_{máx} - \text{secção transversal } (\pm 1) (\text{Å})$	
0,20	46	cil
0,33	46	cil
0,38	46	cil
	$D_{máx} - \text{espessura } (\pm 1) (\text{Å})$	
0,40	41	lam
0,45	41	lam

Ao analisarmos a amostra com $M_d=0,40$ podemos verificar um pequeno desvio da simetria cilíndrica (figura 3.10). A forma esférica tampouco nos fornece bom resultado, de forma que passamos a testar a simetria lamelar. Conforme podemos observar nas figuras 3.10 e 3.11, a simetria lamelar fornece um bom ajuste entre as funções $p_t(r)$ e $\bar{p}_t(r)$. Para simetria lamelar, o programa determina a função distribuição de distâncias da secção transversal da micela, de modo que o que temos é a espessura da mesma.

Todas as funções $p(r)$ obtidas produziram um bom ajuste entre as curvas de espalhamento borradas com efeito do feixe e as curvas de intensidade obtidas experimentalmente, como podemos observar nas figuras 3.5 a 3.11 (lado direito das figuras).

A determinação das distribuições de densidades eletrônicas foi feita assumindo-se um modelo de cinco passos equidistantes de densidades eletrônicas. A figura 3.12 mostra as funções $\rho(r)$ correspondentes a cada uma das funções $\bar{p}(r)$ apresentadas nas figuras 3.5 a 3.11. Os valores de $\rho(r)$ fornecidos pelo programa são arbitrários e foram normalizados levando-se

Figura 3.5: Lado esquerdo: função distribuição de distâncias: ($\square$) $p(r)$ obtida a partir da curva de espalhamento (ITP), com as respectivas barras de erro; (—) $\bar{p}(r)$ obtida a partir da distribuição de densidade eletrônica (Decon). Lado direito: curvas de intensidade espalhada: ($\square$) curva experimental; (—) curva de espalhamento teórica calculada através da função $p(r)$, borrada com o efeito do feixe (tabela 3.3). (a) $M_d = 0$; (b) $M_d = 0, 10$.

Figura 3.6: Lado esquerdo: função distribuição de distâncias: ($\square$) $p(r)$ obtida a partir da curva de espalhamento (ITP), com as respectivas barras de erro; (—) $\bar{p}(r)$ obtida a partir da distribuição de densidade eletrônica (Decon). Lado direito: curvas de intensidade espalhada: ($\square$) curva experimental; (—) curva de espalhamento teórica calculada através da função $p(r)$, borrada com o efeito do feixe (tabela 3.3). (a) $M_d=0,14$; (b) $M_d=0,18$.

Figura 3.7: Lado esquerdo: função distribuição de distâncias da amostra com $M_d=0,20$: ($\square$) $p(r)$ obtida da curva de espalhamento (ITP), com as respectivas barras de erro; (—) $\bar{p}(r)$ obtida da função distribuição de densidade eletrônica (Decon). Lado direito: curva de intensidade espalhada: ($\square$) curva experimental; (—) curva teórica obtida a partir da função distribuição de distâncias, borrada com o efeito do feixe (tabela 3.3). (a) esfera; (b) cilindro.

Figura 3.8: Lado esquerdo: função distribuição de distâncias da amostra com $M_d=0,33$; ($\square$) $p(r)$ obtida a partir da curva de espalhamento (ITP), com as respectivas barras de erro; (—) $\bar{p}(r)$ obtida a partir da distribuição de densidade eletrônica (Decon). Lado direito: curva de intensidade espalhada: ($\square$) curva experimental; (—) curva teórica obtida a partir da função distribuição de distâncias, borrada com o efeito do feixe (tabela 3.3). (a) esfera; (b) cilindro.

Figura 3.9: Lado esquerdo: função distribuição de distâncias da amostra com $M_d=0,38$; ($\square$) $p(r)$ obtida a partir da curva de espalhamento (ITP), com as respectivas barras de erro; (—) $\bar{p}(r)$ obtida a partir da distribuição de densidade eletrônica (Decon). Lado direito: curva de intensidade espalhada: ($\square$) curva experimental; (—) curva teórica obtida a partir da função distribuição de distâncias, borrada com o efeito do feixe (tabela 3.3). (a) esfera; (b) cilindro.

Figura 3.10: Lado esquerdo: função distribuição de distâncias da amostra com $M_d=0,40$; ($\square$) $p(r)$ obtida a partir da curva de espalhamento (ITP), com as respectivas barras de erro; (—) $\bar{p}(r)$ obtida a partir da distribuição de densidade eletrônica (Decon). Lado direito: curva de intensidade espalhada: ($\square$) curva experimental; (—) curva teórica obtida a partir da função distribuição de distâncias, borrada com o efeito do feixe (tabela 3.3). (a) esfera ; (b) cilindro; (c) lamela.

Figura 3.11: Lado esquerdo: função distribuição de distâncias da amostra com $M_d=0,45$; ($\square$) $p(r)$ obtida a partir da curva de espalhamento (ITP), com as respectivas barras de erro; (—) $\bar{p}(r)$ obtida a partir da distribuição de densidade eletrônica (Decon). Lado direito: curva de intensidade espalhada: ($\square$) curva experimental; (—) curva teórica obtida a partir da função distribuição de distâncias, borrada com o efeito do feixe (tabela 3.3). (a) esfera; (b) cilindro; (c) lamela.

em conta o valor da densidade eletrônica do grupo CH_3 ($\rho = 0,167e/\text{\AA}^3$) e da densidade eletrônica da água ($\rho_{\text{água}} = 0,327e/\text{\AA}^3$). Os valores dos níveis de densidade eletrônica são apresentados na tabela 3.5. Na tabela encontram-se também os valores de R_{par} (tamanho da região parafínica) obtidos através dos gráficos de distribuição de densidades eletrônicas, discutidos na próxima secção.

Tabela 3.5: Valores das densidades eletrônicas e raio parafínico (R_{par}) (ver texto para maiores detalhes), extraídos dos gráficos de distribuição de densidades eletrônicas (figura 3.12) das amostras de SLS/água/decanol com valores crescentes de M_d . O primeiro nível corresponde à densidade eletrônica do grupo CH_3 , $\rho = 0,167e/\text{\AA}^3$, não exibido na tabela. * $R_{par} = 15,6 \text{ \AA}$ se considerarmos um valor de r médio entre os dois extremos do terceiro nível de densidade eletrônica.

M_d	Simetria	2º nível	3º nível	4º nível	5º nível	R_{par}
0	esf	0,191	0,288	0,382	0,349	17,5
0,10	esf	0,190	0,291	0,388	0,340	17,3
0,14	esf	0,206	0,316	0,355	0,343	18,7*
0,18	esf	0,210	0,335	0,344	0,338	12,5*
0,20	cil	0,207	0,305	0,377	0,372	14,0
0,33	cil	0,225	0,311	0,342	0,391	13,5
0,38	cil	0,236	0,294	0,341	0,388	13,0
0,40	lam	0,268	0,419	0,515	0,350	9,0
0,45	lam	0,263	0,393	0,461	0,383	8,5

A região parafínica tem densidade eletrônica (ρ_{par}) menor do que a água ($\rho_{\text{água}} = 0,327 e/\text{\AA}^3$), enquanto que a região polar tem densidade eletrônica (ρ_{pol}) maior do que a água. A densidade eletrônica, portanto, deve passar de $\rho < 0,327 e/\text{\AA}^3$ para $\rho > 0,327 e/\text{\AA}^3$ na interface entre as regiões polar e apolar. Assumimos o valor de r (abscissa no gráfico de distribuição de densidades eletrônicas) onde esta mudança ocorre como sendo indicativo do tamanho aproximado da região parafínica (as cadeias decil e dodecil estendidas medem, respectivamente, $14,2 \text{ \AA}$ e $16,7 \text{ \AA}$ ([84])). Na figura 3.12 observamos que o raio parafínico das micelas está diminuindo com o aumento da concentração de decanol. Por razões de geometria espera-se que em micelas cilíndricas o diâmetro da secção transversal seja apenas um pouco menor do que o tamanho de duas cadeias de surfactante estendidas. Já a espessura das lamelas pode ser bem menor do que o diâmetro dos cilindros (até 30% menor

Figura 3.12: Função distribuição de densidades eletrônicas correspondentes às funções $\bar{p}(r)$ apresentadas nas figuras 3.5 a 3.11.

do que o tamanho de duas cadeias estendidas ([8]). Na tabela 3.5 observamos que há uma redução da região parafínica acompanhando continuamente a mudança de forma. Os dados aparentemente discrepantes seriam para $M_d=0,14$ e $M_d=0,18$, mas isto deriva do fato de estarmos utilizando um modelo de cinco degraus equidistantes para a densidade eletrônica, o que obriga a escolha de um dos extremos do 3º nível. Assumindo-se R_{par} no valor médio entre os extremos, obtemos $R_{par}=15,6 \text{ \AA}$ compatível com o esperado. Para simetria lamelar, devemos esperar que o raio parafínico seja menor do que para cilindros. Apesar de termos valores de R_{par} um pouco menores do que era esperado (30% menor do que $15,7 \text{ \AA}$ seria $11,0 \text{ \AA}$, onde $15,7 \text{ \AA}$ corresponde a um raio parafínico médio entre as cadeias dodecil e decil considerando $M_d=0,40$), podemos novamente atribuir esta discrepância ao fato de utilizarmos um modelo de cinco passos equidistantes. Portanto, dentro das limitações do modelo, podemos concluir que o tamanho do raio parafínico é compatível com o valor esperado para as diferentes simetrias.

3.5 Discussão

Os resultados obtidos indicam um pequeno crescimento micelar com a adição de decanol, de $M_d=0$ a $M_d=0,14$, como podemos ver na tabela 3.4. Dos valores de $D_{m\acute{a}x}$ vemos que mesmo para a amostra sem decanol as micelas não são exatamente esféricas, pois o valor de $D_{m\acute{a}x}$ da esfera seria próximo de $42,6 \text{ \AA} = 2 \cdot (16,7 + 4,6 \text{ \AA})$ sendo $4,6 \text{ \AA}$ a espessura da cabeça polar ([85]). Assim sendo, calculamos as anisometrias ν da parte parafínica micelar, apresentadas na tabela 3.6, de acordo com [53] e [54]:

$$\nu = \frac{D_{m\acute{a}x}/2 - 4,6}{R_{par_{ef}}}, \quad (3.32)$$

com $R_{par_{ef}} = (1 - M_d)16,7 \text{ \AA} + M_d \cdot 14,2 \text{ \AA}$.

Nos trabalhos de Itri & Amaral obteve-se $\nu=1,45$ para a amostra com 9% em peso de SLS em água (sem decanol). Apesar de Itri & Amaral terem obtido um valor de ν um pouco maior do que o valor por nós calculado, podemos considerar coerentes os resultados, visto que a diferença é muito pequena ($\approx 3,5 \%$) e que foram utilizadas versões diferentes do programa ITP (ITP-79 por [53] e [54] e ITP-92 neste trabalho). Em nosso caso, $D_{m\acute{a}x}$ maiores do que o valor utilizado geravam oscilações artificiais no final da curva.

Para $M_d=0,20$, as micelas passam para a forma cilíndrica (mudança observada pela qualidade dos ajustes das funções $p(r)$ e $\bar{p}(r)$). Estudos sobre estabilidade de micelas baseados

Tabela 3.6: Anisometria ν da parte parafínica da micela, calculada de acordo com a equação 3.32. O erro foi calculado por propagação do erro estimado no valor de $D_{máx}$.

M_d	$\nu \pm 0,03$
0	1,40
0,10	1,39
0,14	1,58
0,18	1,59

na energia de curvatura das mesmas ([65]) mostram que para anisometrias menores que 1,8, elipsóides prolatos representam a forma mais estável para as micelas, enquanto que acima desse valor a forma cilíndrica torna-se mais estável. Em nosso caso não temos informação sobre o tamanho das micelas cilíndricas. Entretanto, como $\nu \approx 1,6$ para $M_d=0,18$, e com a indicação de que as micelas estão crescendo, podemos considerar que ν seja maior do que 1,8 ou esteja muito próximo deste valor.

O crescimento micelar com adição de decanol já tem sido bem estudado na literatura ([26]; [72]). Pensando nas micelas como sendo esfero-cilindros, o decanol tende a alojar-se no corpo dos mesmos, evitando as tampas semi-esféricas ([30]; [31]) e promovendo o crescimento das micelas.

Paralelamente, Amaral e col. ([30]) estudaram a transição de fase líquido-cristalina $N_c \rightarrow N_d$ no sistema SLS/água/decanol, com alta concentração de SLS em água (26,25% em peso, $M_w=45,2=\text{constante}$) e observaram que a adição de decanol induz uma mudança de forma esfero-cilindro $\rightarrow$ disco. É justamente esta mudança de forma que acompanha a transição de fases $N_c \rightarrow N_d$ em tais sistemas, para $M_d=0,38$. Em nosso sistema, a mudança de forma cilindro $\rightarrow$ lamela ocorre próximo deste valor (entre M_d 0,38 e 0,40). O bom ajuste da forma lamelar nos indica que as micelas têm simetria tipo disco ([86]). Segundo Amaral e col. ([30]), a mudança de forma esfero-cilindro $\rightarrow$ disco depende da razão molar decanol:SLS no corpo do cilindro (pois o decanol evita localizar-se nas hemisferas), correlacionada com a razão molar decanol:SLS total e com a anisometria do esfero-cilindro. Em nosso caso não sabemos o tamanho dos agregados micelares antes desta transformação, mas nossos resultados indicam que a condição para que tal mudança ocorra é atingida entre $M_d=0,38$ e $M_d=0,40$.

De acordo com [30], considerando-se um modelo de moléculas de surfactante/co-surfactante independentes, para que a transição esfero-cilindro $\rightarrow$ disco ocor-

ra, a seguinte equação deve ser satisfeita ([30]):

$$xp_{01}^2 + (1-x)p_{02}^2 = \frac{1}{2}, \quad (3.33)$$

onde x é a fração da superfície micelar das cadeias de hidrocarbonetos relativas ao surfactante no corpo do cilindro e p_{01} e p_{02} os parâmetros espontâneos do surfactante e do co-surfactante, respectivamente (relações 1.2- 1.4, capítulo 1).

A mudança de forma esfero-cilindro $\rightarrow$ disco será governada pela razão molar co-surfactante: surfactante (no nosso caso temos decanol:SLS) e pela anisometria dos agregados através das equações ([30]):

$$x = \frac{u}{1+u} \quad (3.34)$$

$$u = \left(\frac{\nu-1}{\nu-1/3}\right) \frac{1}{M_d} + \frac{v_2}{v_1} \left(\frac{\nu-1}{\nu-1/3} - 1\right), \quad (3.35)$$

onde v_1 e v_2 são os volumes das cadeias parafínicas do surfactante e do co-surfactante, respectivamente. Em nosso sistema, $v_1 = 350 \text{ \AA}^3$ (volume da cadeia do SLS) e $v_2 = 297 \text{ \AA}^3$ (volume da cadeia do decanol).

No trabalho de Amaral e col. ([30]) a transição esfero-cilindro $\rightarrow$ disco para o sistema concentrado ocorre para $x = 0,64$ (calculado a partir dos valores experimentais de $M_d = 0,38$ onde a transição $N_c \rightarrow N_d$ ocorre ([23]; [30]; [72])).

A transição esfero-cilindro $\rightarrow$ disco regida através da equação 3.33 é esperada para $p_{02} > \sqrt{2}/2$ e $p_{01} < p_{02}$. No entanto, para um modelo baseado na existência de uma “unidade efetiva” consistindo de uma determinada proporção de surfactante e co-surfactante, a transição esfero-cilindro $\rightarrow$ disco deve satisfazer a equação:

$$x\left(\frac{1}{p_{01}}\right) + (1-x)\left(\frac{1}{p_{02}}\right) = \sqrt{2} \quad (3.36)$$

De acordo com esta última equação a transição ocorre para concentrações de co-surfactante mais altas do que as concentrações de transição que satisfazem a equação 3.33. Utilizando-se o valor de $x = 0,64$ ([30]) e assumindo-se $p_{02} = 1$ (pois o decanol aloja-se preferencialmente em superfícies planas), Amaral e col. ([30]) determinaram $p_{01} = 0,47$ para o modelo de moléculas independentes (equação 3.33) e $p_{01} = 0,6$ para o modelo de “unidade efetiva” (equação 3.36). Embora não se saiba o valor exato de p_{01} , espera-se um valor da ordem de $1/2$, devido

à quantidade de água disponível no sistema e devido à existência do domínio hexagonal próximo à fase nemática.

Considerando-se o valor de $x = 0,64$ obtido experimentalmente por [30] e considerando que a transição ocorra para $M_d = 0,38$, as micelas apresentariam anisometria $\nu = 3,0$ (equações 3.34 e 3.35).

O fato de observarmos a mudança de forma esfero-cilindro $\rightarrow$ disco em fases isotrópicas para valores de M_d muito próximos dos valores obtidos no trabalho de [30] em fases líquido-cristalinas, apesar de termos uma quantidade muito maior de água ($M_w = 144,0$ versus $M_w = 45,2$ no trabalho de [30]) indica que mudanças na razão molar anfifílico/água não devem ser dominantes nas mudanças de forma micelar, mas sim a razão molar co-surfactante (no caso o decanol)/anfifílico (no caso o SLS). Provavelmente a quantidade de água de hidratação deva ser a mesma em ambos os casos, como veremos adiante. No entanto, em fases isotrópicas o excesso de água se distribui pelo volume total da amostra como água não estruturada. Parece ainda haver indicações de que as interações intermicelares influem pouco na mudança de forma, definida pela razão molar decanol:SLS dentro da micela.

Da tabela 3.5 percebemos uma diminuição na densidade eletrônica da região polar das micelas, com a adição de decanol para a mesma simetria micelar. Este fato ocorre, como poderíamos esperar, já que a intercalação de decanol aumenta a distância entre as cabeças polares do surfactante. Entretanto, o aumento da densidade eletrônica polar, quando passamos da forma esférica para a cilíndrica, e da forma cilíndrica para a lamelar, ocorre porque o volume disponível para a cabeça polar na esfera é maior do que no cilindro, que por sua vez é maior do que na lamela.

Com a finalidade de compararmos a quantidade de água ligada às micelas nos nossos sistemas com a quantidade de água ligada às micelas no sistema com 26,25% em peso de SLS em água, calculamos os valores de NH (número de moléculas de água por cabeça polar), dado pela relação:

$$V_{pol} = \bar{n}_{SLS} v_{SO_4^-} + \bar{n}_{SLS}(1 - \alpha) v_{Na^+} + \bar{n}_{DeOH} v_{DeOH} + NH \cdot \bar{n} \cdot v_{H_2O}, \quad (3.37)$$

onde

V_{pol} é o volume da região polar dado por uma camada esférica definida por $V_{tot} - V_{par}$, onde V_{tot} é o volume total micelar e V_{par} o volume do interior parafínico da micela;

$\bar{n}_{SLS}$ é o número de agregação médio do SLS;

$\bar{n}_{DeOH} = M_d \cdot \bar{n}_{SLS}$ é o número de agregação médio do decanol;

$\bar{n} = \bar{n}_{SLS} + \bar{n}_{DeOH} = \bar{n}_{SLS}(1 + M_d)$ é o número de agregação total;

$v_{SO_4^-} = 60,6 \text{ \AA}^3$ é o volume do SO_4^- ;

$v_{Na^+} = 31 \text{ \AA}^3$ é o volume do Na^+ ;

$v_{DeOH} = 21 \text{ \AA}^3$ é o volume do OH, na cabeça polar do decanol;

$v_{H_2O} = 30 \text{ \AA}^3$ é o volume da molécula de água;

α é o coeficiente de ionização.

O número de agregação médio é dado por:

$$\bar{n}_{SLS}v_1 + \bar{n}_{DeOH}v_2 = \frac{4}{3}\pi\nu R_{par_{ef}}^3 \quad (3.38)$$

Os valores de NH foram calculados para $M_d = 0$ e $M_d = 0,14$, por serem valores estudados no sistema contendo 26,25% SLS/água, para agregados na forma de esferóides de revolução prolatos. Como o objetivo é apenas comparar os valores de NH nos dois sistemas, é suficiente o cálculo para uma amostra sem decanol e uma amostra com decanol. Os valores de α ($\alpha = 0$ para $M_d = 0$ e $\alpha = 0,05$ para $M_d = 0,14$) foram extraídos de [26], bem como os valores de ν ($\nu = 2,4$ para $M_d = 0$ e $\nu = 3,0$ para $M_d = 0,14$) para o sistema 26,25% SLS/água. Os valores de ν para o sistema 10% SLS/água são dados na tabela 3.6. Os valores calculados de NH são $NH = 9,5 \pm 0,1$ para ambos os sistemas tanto para $M_d = 0$ como para $M_d = 0,14$, o que prova que apesar de termos maior quantidade de água no sistema em estudo, as micelas possuem a mesma quantidade de água ligada a elas. Uma vez que p_{01} reflete a quantidade de água ligada, sendo igual a $1/2$ no sistema concentrado (26,25% SLS/água, $M_w = 45,2$), cremos que p_{01} deva ser aproximadamente $1/2$ também para o sistema com 10% SLS/água ($M_w = 144,0$). Conseqüentemente, a transição esfero-cilindro $\rightarrow$ disco deve estar ocorrendo para $\nu = 3,0$ no sistema aqui estudado.

A relação de alturas entre o primeiro e o segundo picos da função $p(r)$ nos dá mais uma evidência da evolução da forma das micelas. Vemos que para $M_d = 0$ e $M_d = 0,10$, o segundo pico é mais alto do que o primeiro (figura 3.5), para $M_d = 0,14$ ambos os picos têm a mesma altura e que para $M_d = 0,18$ (figura 3.6) há uma inversão, tornando-se o primeiro pico mais alto do que o segundo. Esta relação se mantém para a simetria cilíndrica (figuras 3.7-3.9), tornando-se muito maior para a simetria lamelar (com $M_d = 0,40$ e $0,45$) (figuras 3.10-3.11).

A simulação da função distribuição de distâncias para um perfil de densidade eletrônica onde se tem um interior com densidade eletrônica menor do que o solvente (ρ_0 , considerada zero pelo programa) e uma parte externa com densidade eletrônica maior do que o solvente (figura 3.13), produz as curvas observadas na figura 3.14 para esferas, cilindros e lamelas.

Devemos lembrar que as funções distribuição de distâncias foram geradas para o mesmo perfil de densidade eletrônica, semelhante ao obtido para o nosso sistema, mudando-se apenas a simetria das partículas. Podemos observar claramente a evolução das alturas do primeiro e do segundo picos com a mudança de simetria das partículas.

A superposição das funções $p(r)$, $p_c(r)$ e $p_t(r)$ simuladas para partículas homogêneas, e das funções distribuição de distâncias obtidas para as nossas amostras para simetria esférica, cilíndrica e lamelar respectivamente ilustra o porquê desta evolução de alturas entre os dois picos da função distribuição de distâncias. Observando o gráfico da função $p(r)$ simulada para uma esfera homogênea, superposto à $p(r)$ obtida para a amostra com 10% SLS/água, sem decanol, na forma esférica (figura 3.15a), vemos que o pico de $p(r)$ da esfera homogênea é centralizado de tal forma que, pelas posições ocupadas por ambos os picos, deveríamos mesmo esperar que o segundo fosse mais alto do que o primeiro, como realmente ocorre. Já para a simetria cilíndrica (figura 3.15b), notamos que o pico de $p(r)$ simulada para cilindro homogêneo está deslocado, de forma que o primeiro pico para o nosso sistema, por sua posição, torna-se mais alto do que o segundo. Finalmente, a distribuição de distâncias para lamelas é tal que a relação entre alturas do primeiro e do segundo picos torna-se ainda maior do que para o caso anterior (figura 3.15c).

O fato de nossas curvas apresentarem uma inversão das alturas dos picos já para $M_d=0,18$ significa que o sistema encontra-se muito perto da mudança de forma esferóide $\rightarrow$ cilindro. Podemos também notar que para $M_d=0,20$ o ajuste das funções $p_c(r)$ e $\bar{p}_c(r)$, para simetria cilíndrica, embora tenha sido considerado um bom ajuste, não é tão bom quanto os ajustes obtidos para $M_d=0,33$ e $0,38$. Por outro lado, as funções $p(r)$ e $\bar{p}(r)$, para simetria esférica, ainda não se distanciam tanto para $M_d=0,20$ como para concentrações mais altas. O mesmo comentário cabe para os ajustes de cilindro e lamela para $M_d=0,40$. Isso significa que as mudanças de forma ocorrem gradualmente, tanto para $M_d=0,18$ e $M_d=0,20$ (esferóide $\rightarrow$ cilindro) como para $M_d=0,40$ (cilindro $\rightarrow$ disco).

A evolução da forma micelar na fase isotrópica evidencia o fato de que as mudanças de forma dos agregados ocorrem por fatores intrínsecos às micelas e que as transições de fase líquido-cristalinas dependem dessas mudanças, associadas a efeitos de concentração (volume disponível) no sistema.

Figura 3.13: Perfil de densidade eletrônica usado para simulação das funções $p(r)$, $p_c(r)$ e $p_t(r)$ da figura 3.14.

Figura 3.14: Funções distribuição de distâncias simuladas pelo programa Decon para o perfil de densidade eletrônica apresentado na figura 3.13. (a) esfera; (b) cilindro; (c) lamela.

Figura 3.15: Funções distribuição de distâncias de partículas homogêneas, simuladas pelo programa ITP (—), superpostas às funções $p(r)$, $p_c(r)$ e $p_t(r)$ obtidas para os nossos sistemas ($\square$). (a) esfera homogênea, 10% SLS/água, $M_d=0$; (b) Cilindro homogêneo, 10% SLS/água, $M_d=0,33$; (c) Lamela homogênea, 10% SLS/água, $M_d=0,45$.

Capítulo 4

A INFLUÊNCIA DA TETRACAÍNA (TTC) NOS SISTEMAS MICELARES À BASE DE SLS/H₂O E HPS/H₂O. UM ESTUDO POR FLUORESCÊNCIA.

4.1 Introdução

Devido à importância do conhecimento da ação de anestésicos em membranas e ao importante papel dos sistemas micelares no estudo da interação de drogas com sistemas biológicos, propusemo-nos a estudar os efeitos da tetracaína em micelas aniônicas de SLS, pois propõe-se que o canal de sódio, que é o sítio de ação dos anestésicos, tenha um sítio aniônico; e em micelas zwitteriônicas de HPS (N-hexadecil-N, N-dimetil-3-amônio-1-propano-sulfonato), já que algumas membranas são zwitteriônicas, como por exemplo membranas de fosfatidilcolina de ovo. Primeiramente, neste capítulo, determinaremos o pK dos sistemas SLS/TTC/água e HPS/TTC/água, para trabalharmos com valores de pH tal que se tenha apenas a forma protonada ou desprotonada na solução. Em seguida, no capítulo 5, avaliaremos a localização mais provável da TTC nas micelas, para as formas protonada e desprotonada da mesma, utilizando a técnica de RPE. Seguiremos a análise no capítulo 6, onde estudaremos possíveis mudanças estruturais nas micelas causadas pela ação da TTC nas mesmas através da técnica

de SAXS.

4.2 Fluorescência

Fluorescência é a emissão resultante do decaimento de um estado singlete excitado para o estado fundamental, por ocasião de absorção de radiação. As substâncias que são tipicamente fluorescentes são chamadas fluoróforos, sendo que as características de sua emissão podem ser alteradas quando há mudanças no meio em que estão, como por exemplo alterações de pH ou temperatura.

As propriedades de absorção e emissão de um fluoróforo podem ser descritas pelo diagrama de Jablonski (figura 4.1) ([87]). As linhas horizontais longas representam os níveis eletrônicos, dentro dos quais vários níveis vibracionais são possíveis, os quais são representados no diagrama por linhas horizontais curtas. Dentro de cada estado vibracional, vários estados rotacionais são possíveis, porém não estão representados no diagrama por serem muito próximos.

Figura 4.1: Diagrama de Jablonski, mostrando os vários processos de desexcitação. Extraído de [87].

Os estados singletos ($S_0, S_1, \dots$) consistem de configurações eletrônicas em que todos os spins eletrônicos estão emparelhados e a molécula tem spin zero. Por outro lado, os estados tripletos (T_1) são formados por configurações em que dois spins eletrônicos estão desemparelhados e a molécula tem spin 1. Na maior parte dos fluoróforos de moléculas orgânicas o nível eletrônico mais baixo é um estado singlete.

A emissão de um fóton (fluorescência) só é detectada quando existe uma diferença de população entre os níveis de energia. A relação entre as populações dos níveis de energia (R) é dada pela distribuição de Boltzmann:

$$R = e^{\frac{-\Delta E}{KT}} \quad (4.1)$$

onde

ΔE é a diferença de energia entre os níveis;

K é a constante de Boltzmann e

T é a temperatura em Kelvin.

À temperatura ambiente, a energia do primeiro estado excitado é geralmente muito maior do que KT e por isso a maior parte das moléculas estará no estado fundamental.

A absorção do fóton ocorre somente se a energia do mesmo for igual à diferença de energia entre o estado fundamental e um dos estados excitados:

$$\Delta E = h\nu, \quad (4.2)$$

onde ν é a frequência da radiação recebida e h é a constante de Planck ¹. Os fluorímetros utilizam tipicamente lâmpada de Xe, com $\lambda > 250 \text{ \AA}$.

Na realidade, em todo o processo de desexcitação de uma molécula que absorve uma energia $h\nu$ existe uma competição entre os processos de desexcitação radiativa (fluorescência) e não radiativa. Depois da absorção da luz, vários processos ocorrem. O processo de desexcitação radiativa (fluorescência) é o retorno do elétron do nível vibracional mais baixo do estado singlete excitado para um dos estados vibracionais do estado fundamental S_0 , emitindo um fóton.

Quando um fluoróforo é excitado para um nível vibracional mais alto dos estados excitados (A ou B) (figura 4.1), as moléculas decaem para o estado vibracional de menor

¹ $h=6,625 \times 10^{-27} \text{ erg.s}$

70 A INFLUÊNCIA DA TETRACAÍNA (TTC) NOS SISTEMAS MICELARES À BASE DE SLS/H₂O E HPS/H₂O. UM ESTUDO POR FLUORESCÊNCIA.

energia do primeiro estado excitado (S_1), dissipando energia sem emissão de luz (processo não radiativo). Este processo é chamado conversão interna e ocorre em tempo médio de aproximadamente 10^{-12} s. Como a fluorescência ocorre em aproximadamente 10^{-8} s, a conversão interna geralmente ocorre antes da emissão da fluorescência, a qual é resultante do decaimento de estados excitados termicamente equilibrados (nível vibracional mais baixo do primeiro estado excitado) para os níveis vibracionais do estado fundamental. Como a molécula dissipa energia decaindo até o estado excitado com energia vibracional mais baixa, a energia do fóton emitido é menor do que a energia do fóton absorvido e por este motivo o espectro de emissão de um fluoróforo é deslocado para comprimentos de onda maiores em relação ao espectro de absorção (figura 4.2). Desde que as estruturas vibracionais dos estados singletos excitado e fundamental sejam similares, a imagem do espectro de emissão será uma imagem rebatida do espectro de absorção.

Figura 4.2: Os efeitos dos níveis vibracionais e eletrônicos no espectro de excitação e emissão de fluorescência. (a) Níveis de energia; (b) Espectro de excitação (—) e espectro de emissão (- - -).

Como citado anteriormente, a espectroscopia de fluorescência é muito sensível ao meio onde está o fluoróforo, podendo a emissão de fluorescência ser influenciada pela variação de pH, constante dielétrica, concentração, etc ([40]). Essa dependência ocorre porque a

interação do fluoróforo com as moléculas que o rodeiam provoca uma alteração nos orbitais moleculares do mesmo, resultando em uma alteração do rendimento quântico e, em alguns casos, provoca o deslocamento do comprimento de onda de emissão ([88]; [40]).

4.2.1 Técnica de Fluorescência Aplicada a Sistemas Contendo Tetracaína

A intensidade de fluorescência da TTC ($3 \mu\text{M}$) em função do pH, em solução aquosa contendo 10 mM de NaCl, já havia sido estudada anteriormente por [38]. Os resultados exibiram duas regiões sigmoidais (figura 4.3): uma em valores de pH menores do que 4 e outra entre 7 e 10. Ambas as regiões têm a forma prevista pela equação de Henderson-Hasselbach, que relaciona a dependência do pH com o grau de dissociação de ácidos fracos ([89]; [90]), tal que:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[A]}{[AH^+]}, \quad (4.3)$$

onde pK é o valor de pH para o qual as formas protonada e desprotonada estão na mesma concentração, $[AH^+]$ e $[A]$ correspondem às concentrações da forma protonada e da base conjugada (não carregada), respectivamente.

Figura 4.3: Intensidade de fluorescência da TTC em função do pH em solução aquosa. O meio contém $3 \mu\text{M}$ de TTC e 10 mM de NaCl; comprimento de onda de excitação $\lambda_{ex} = 302 \text{ nm}$; comprimento de onda de emissão $\lambda_{em} = 360 \text{ nm}$. Extraído de [38].

Uma vez que a TTC tem dois grupos dissociáveis, uma amina aromática secundária e uma amina alifática terciária (figura 4.4), a variação da intensidade de fluorescência com o pH em cada região sigmoidal pode ser atribuída à titulação de uma destas duas aminas. Segundo esta interpretação, a curva da figura 4.3 foi normalizada para representar o grau de dissociação de cada amina carregada em função do pH. Assim, considerando-se que o valor do pH no qual o grau de dissociação é 0,5 seja o valor de pK, a partir da figura 4.3 chegou-se aos valores de $pK = 2,14 \pm 0,02$ (pK_1) e $pK = 8,26 \pm 0,04$ (pK_2) para as duas regiões. Uma vez que o grupo amino aromático protonado é mais ácido que o grupo amino alifático protonado ([91]), o pK_1 corresponde ao primeiro grupo, enquanto que pK_2 corresponde ao segundo, conforme esquema da figura 4.4.

Figura 4.4: Dissociação ácido-base dos grupos amino aromático e alifático da tetracaína. Os valores de pK mostrados na figura foram determinados em solução aquosa com 10 mM de NaCl. Extraído de [38].

Embora o grupo amino alifático seja afastado do anel aromático fluorescente, sua protonação/desprotonação é suficiente para alterar a intensidade de fluorescência. De fato, foi observado experimentalmente que a intensidade de fluorescência da TTC desprotonada num meio (aquoso) é maior do que da TTC protonada no mesmo meio ([40]). A intensidade de fluorescência é também afetada pela polaridade do meio onde o fluoróforo se encontra, sendo maior para meios com constante dielétrica menor ([40]). Além disso, o comprimento de onda de emissão de fluorescência também varia em função do meio, decrescendo para meios de constante dielétrica menor ([40]).

Vale a pena ainda ressaltar que, para a TTC em solução aquosa, a amina alifática se dissocia próximo ao pH fisiológico. No nosso caso, com o intuito de investigarmos o efeito

que cada uma das espécies (protonada e desprotonada) da TTC tem sobre as micelas perto do pH fisiológico, fizemos a titulação desta amina em nossos sistemas com a técnica de fluorescência analogamente ao que foi feito em [38] para obtermos o pK dos mesmos.

A intensidade de fluorescência, F , pode ser escrita como a soma das intensidades relativas à fração das formas protonada e desprotonada. Assumindo-se que a intensidade seja mínima quando a TTC está protonada e máxima quando a TTC está desprotonada, a intensidade de fluorescência será então dada por:

$$F = \Phi_{prot} F_{min} + \Phi_{desp} F_{max}, \quad (4.4)$$

onde Φ_{prot} é o rendimento quântico da forma protonada e Φ_{desp} é o rendimento quântico da forma desprotonada, e associando-se com a equação de Henderson-Hasselbach, temos:

$$F = \frac{[AH^+]}{[TTC]} F_{min} + \frac{[A]}{[TTC]} F_{max}, \quad (4.5)$$

onde $[TTC]$ é a concentração total de TTC.

Portanto, o valor de pK corresponde ao valor de pH no qual as quantidades relativas protonada e desprotonada da TTC são iguais, sendo que a intensidade de fluorescência é dada pela média de F_{max} e F_{min} .

4.3 Parte Experimental

4.3.1 Amostras

Para a preparação das amostras utilizaram-se SLS (secção 2.2.2), HPS e tetracaína (TTC)² obtidos da Sigma, e água bidestilada e desionizada. Os compostos foram utilizados como obtidos, sem recristalização prévia.

Para o sistema SLS/TTC/água utilizou-se 1% em peso de SLS (35mM) em água com 3 μ M de TTC e para o sistema HPS/TTC/água utilizou-se 1% em peso de HPS em água (25 mM) com 3 μ M de TTC. Variou-se o pH de 6,0 a 12,0 para o sistema SLS/TTC/água e de 4,0 a 11,5 para o sistema HPS/TTC/água. Isso porque tínhamos o conhecimento prévio de que o pK do sistema SLS/TTC/água encontra-se acima de 8, e acima de 7 para

²TTC: $C_{15}H_{24}N_2O_2.HCl$

o sistema HPS/TTC/água ([38]). O controle do pH foi feito com um pH-metro pH-206, da Lutron. A determinação do pK foi feita com concentração de TTC muito mais baixa do que a concentração utilizada nos experimentos de SAXS e RPE (até 10,37 mM), porque para tais concentrações há grande absorção, assim como espalhamento da luz, de forma que o espectro de fluorescência fica mascarado.

4.3.2 Arranjo experimental

As medidas de fluorescência foram realizadas no IQUSP, no laboratório da Profa. S. Schreier, em um fluorímetro F4500 da Hitachi, com lâmpada de Xe. Utilizou-se comprimento de onda de excitação (λ_{ex}) de 302 nm, com fendas de excitação e emissão de 2,5 nm. Foram feitas varreduras para comprimentos de onda de emissão (λ_{em}) a partir de 310 nm, à temperatura ambiente ($T = (20 \pm 1)^\circ\text{C}$).

4.4 Resultados e Discussão

4.4.1 Sistema SLS/TTC/água

As curvas de fluorescência para os diferentes valores de pH obtidas para o sistema SLS/TTC/água, das quais foi devidamente subtraído o fundo causado pela solução de SLS a 1% em peso (35 mM) (branco - para cada pH), são apresentadas nas figuras 4.5 e 4.6. O comprimento de onda de emissão observado é de 360 ± 1 nm, o qual não se alterou com a variação do pH. O valor de λ_{em} concorda com o obtido por [38] e [40]. A figura 4.7 apresenta os resultados da intensidade do pico de fluorescência em função do pH ao longo da curva teórica calculada segundo as equações 4.3 - 4.5. O pK é o valor correspondente ao pH no ponto médio entre as intensidades máxima ($F_{máx}$) e mínima ($F_{mín}$) e resulta em $9,9 \pm 0,2$. Este valor concorda com o valor obtido por [38] para micelas de SLS a 17 mM em soluções aquosas contendo 10 mM de NaCl.

Conforme podemos observar na figura 4.7, o valor de pK sofre um deslocamento em relação ao valor apresentado em solução aquosa, $pK = 8,25$ ([38]), para $pK = 9,9$ em micelas aniônicas de SLS. Esta troca pode ser associada a diferentes constantes de ligação para as espécies carregadas e não carregadas, tal que $\Delta pK = pK_m - pK_w$, é escrito como ([44]):

$$\Delta pK = \log\left(\frac{P^+}{P^0}\right), \quad (4.6)$$

sendo pK_m o pH em que ambas as formas encontram-se na mesma concentração na micela e pK_w o pK na água e P^+ e P^0 correspondem, respectivamente, à partição das formas protonada e desprotonada, onde

$$P = \frac{n_m/V_m}{n_w/V_w}, \quad (4.7)$$

com n = número de moles do soluto (no caso, a TTC) e V o volume, os subscritos m e w referem-se à fase micelar e aquosa, respectivamente. No caso de micelas carregadas negativamente, $P^+ > P^0$ ([44]), o que justifica o aumento de pK observado em relação ao da água.

Segundo o trabalho de Desai e col. ([40]), que estudaram a adsorção de uma série de anestésicos locais em micelas de detergentes por fluorescência, foi observado que o máximo de incorporação da TTC (de ambas as espécies) em micelas de SLS acontece para concentrações em torno de 20 mM de SLS. No nosso caso, estamos trabalhando com 35 mM de SLS, o que assegura a condição de máxima incorporação de TTC nas micelas de SLS. Além disso, o decréscimo do λ_{em} de 373 nm para TTC em água ([92]) para o valor de 360 nm na presença de micelas nos indica que a TTC está penetrando na micela, passando de um meio de maior para um meio de menor constante dielétrica.

Quanto à variação de intensidade de fluorescência, observamos que o rendimento quântico da forma protonada é menor que da forma desprotonada, conforme esperado ([40]). Mais ainda, o fato de a intensidade de fluorescência ser menor para $pH < pK$ (TTC protonada) pode ser uma indicação de que o fluoróforo da TTC se localiza mais perto da região polar da micela (maior constante dielétrica), enquanto que a TTC desprotonada penetra mais o interior hidrofóbico micelar (menor constante dielétrica). Este efeito será melhor investigado através das técnicas de RPE e SAXS nos próximos capítulos.

A fim de verificarmos se o pK do sistema apresentaria grande diferença para as concentrações utilizadas nos experimentos de raios X e RPE, foi feita uma titulação de RPE através da razão molar h_{+1}/h_0 (ver próximo capítulo) para 1% em peso de SLS/água com 15 mM de TTC, para a qual se obteve $pK = 9,5 \pm 0,2$. Tal diferença é muito pequena e pode ser atribuída a desvios originados na própria manipulação dos dados, de forma que podemos aceitar o valor de pK obtido a baixa concentração de TTC.

4.4.2 Sistema HPS/TTC/água

Exibem-se nas figuras 4.8 a 4.10 os espectros de fluorescência obtidos para o sistema HPS/TTC/água, dos quais foram subtraídos os efeitos de fundo devidos à presença da so-

Figura 4.5: Curvas de fluorescência para as amostras contendo 1% SLS/água (35 mM) com 3 μ M de TTC, para pH de 6,0 a 9,0.

Figura 4.6: Curvas de fluorescência para as amostras contendo 1% SLS/água (35 mM) com 3 μ M de TTC, para pH de 9,5 a 12,0.

Figura 4.7: Curva de titulação da amostra contendo 1% SLS/água (35 mM) e 3 μ M de TTC. Intensidade de pico de fluorescência em função da variação de pH; ($\square$) dados experimentais; (—) curva teórica ajustada a partir das equações 4.3 - 4.5.

lução micelar de 1% em peso de HPS (25 mM) (branco), para cada pH. O comprimento de onda de emissão é 357 ± 2 nm, o qual se manteve constante com a variação de pH. A curva da intensidade de fluorescência em função do pH é mostrada na figura 4.11, da qual se obteve o valor de $pK = 7,2 \pm 0,2$.

O valor de λ_{em} concorda com o obtido por [92] pela técnica de fluorescência, que observaram um decréscimo contínuo no valor de λ_{em} , de 373 nm para 3 μ M de TTC em água para 357 nm em 15 mM de HPS (TTC protonada, pH= 4,5) e 2,2 mM de HPS (TTC desprotonada, pH= 10,5). Acima destas concentrações os autores não observaram decréscimo do valor de λ_{em} que se estabilizou em 357 nm. Assim, estes resultados demonstram que a partição P^0 da TTC na forma desprotonada é maior do que para a forma protonada (P^+), uma vez que é necessária uma concentração maior de detergente zwitteriônico HPS para se observar o mesmo valor de λ_{em} de fluorescência. Isto explica porque o valor de pK por nós observado em micelas zwitteriônicas de HPS diminui em relação ao pK da água e de micelas aniônicas, pois $P^0 > P^+$ na equação 4.6. O valor de $pK = 7,2 \pm 0,2$ por nós obtido é compatível também com o valor de pK obtido em micelas neutras por [38], de $7,50 \pm 0,05$.

Quanto à incorporação da TTC nas micelas de HPS, analogamente ao sistema com SLS, λ_{em} de fluorescência de TTC (para ambas as espécies) decresceu do meio aquoso ($\lambda_{em} = 373$ nm) para o meio que contém micelas de HPS (a 25 mM, ou seja, acima do limite de saturação de $\lambda_{em} = 357$ nm observado por [92]), indicando que a TTC localiza-se num meio menos polar, penetrando na micela. Além disto, sabemos que a TTC é altamente hidrofóbica ([40]) e que a hidrofobicidade é uma componente responsável pela incorporação da droga em membranas e micelas ([93]). Resultados da interação da TTC em monocamadas de Langmuir-Blodgett de DPPC (zwitteriônica) também evidenciam a incorporação da droga com grande penetração na parte hidrofóbica do filme ([94]).

Quanto à intensidade de fluorescência (figura 4.11), as variações são qualitativamente similares aos dados de titulação obtidos para o SLS.

Figura 4.8: Curvas de fluorescência da amostra contendo 1% HPS/água (25 mM) com 3 μ M de TTC, para pH de 4,0 a 7,0.

Figura 4.9: Curvas de fluorescência da amostra contendo 1% HPS/água (25 mM) com $3 \mu\text{M}$ de TTC, para pH de 7,5 a 10,0.

Figura 4.10: Curvas de fluorescência da amostra contendo 1% HPS/água (25 mM) com 3 μ M de TTC, para pH de 10,5 e 11,5.

Figura 4.11: Curva de titulação do sistema 1% HPS/água (25 mM) com 3 μ M de TTC. Intensidade de pico de fluorescência em função da variação de pH; ($\square$) dados experimentais; (—) curva teórica obtida a partir das equações 4.3 - 4.5.

84 A INFLUÊNCIA DA TETRACAÍNA (TTC) NOS SISTEMAS MICELARES À
 BASE DE SLS/H₂O E HPS/H₂O. UM ESTUDO POR FLUORESCÊNCIA.

Capítulo 5

A INFLUÊNCIA DA TETRACAÍNA (TTC) NOS SISTEMAS MICELARES À BASE DE SLS/H₂O E HPS/H₂O. UM ESTUDO POR RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA.

Neste capítulo será dada continuidade ao estudo iniciado no capítulo anterior dos sistemas contendo 1% SLS/água e 1% HPS/água, com tetracaína, agora utilizando a técnica de ressonância paramagnética eletrônica com marcador de *spin*.

5.1 Ressonância paramagnética eletrônica

A ressonância paramagnética eletrônica (RPE) é uma técnica espectroscópica que opera na região de microondas, na presença de um campo magnético, e que detecta elétrons desemparelhados. Esta técnica permite a obtenção de informações quanto à conformação de macromoléculas ou agregados moleculares ([95]) permitindo, entre outras coisas, que se obtenha informações sobre o grau de ordem ([96]) e mobilidade das moléculas ([97]).

Toda forma de absorção espectroscópica (incluindo-se a ressonância magnética) reside no fato de que a absorção de radiação por uma molécula envolve uma transição de níveis de energia do estado fundamental para estados excitados. Para que ocorra a transição, a energia recebida deve ser igual à diferença de energia entre os níveis, dada pela lei de Planck (equação 4.2, capítulo 4) ([95]). As transições de energia na ressonância paramagnética correspondem a interações fracas do elétron com o campo magnético e por isso operam na região de microondas (aproximadamente 10 GHz) que, de acordo com a relação $c = \nu\lambda$, corresponde a um comprimento de onda de 3 cm, conhecido como banda X.

A ressonância magnética só pode ser observada em materiais que apresentam momento magnético não nulo. No caso de elétrons desemparelhados, deve haver interação do sistema com um campo magnético.

A hamiltoniana desta interação do campo magnético com o *spin* eletrônico, chamada interação de Zeeman, H_z , é dada por:

$$H_z = \beta \vec{H} \cdot \mathbf{g} \vec{S}. \quad (5.1)$$

onde

$\beta = 9,27 \cdot 10^{-24}$ J/tesla é o magneton de Bohr;

$\vec{H}$ é o campo magnético aplicado;

$\mathbf{g}$ é o tensor $\mathbf{g}$ ([96]);

$\vec{S}$ é momento de *spin* eletrônico.

Assumindo que $\mathbf{g}$ seja um tensor diagonal, H_z pode ser escrita como:

$$H_z = \beta(g_{xx}H_xS_x + g_{yy}H_yS_y + g_{zz}H_zS_z), \quad (5.2)$$

sendo S_x , S_y e S_z as componentes do *spin* eletrônico nas direções x , y e z , respectivamente (no sistema de coordenadas escolhido), H_x , H_y e H_z as componentes do campo magnético e g_{xx} , g_{yy} e g_{zz} as componentes de $\mathbf{g}$.

A interação hiperfina

A interação hiperfina corresponde à interação entre o elétron desemparelhado e o momento magnético nuclear. Esta interação resulta em $2I + 1$ orientações permitidas ao *spin*

nuclear quando em presença de um campo magnético externo. Portanto, a ressonância será observada em $2I + 1$ valores do campo magnético externo (figura 5.1) e a separação entre as linhas é normalmente chamada de desdobramento hiperfino.

A hamiltoniana desta interação hiperfina é representada por ([96]):

$$H_h = \vec{I} \cdot \mathbf{A} \cdot \vec{S}, \quad (5.3)$$

onde $\vec{I}$ é o momento de *spin* nuclear, $\mathbf{A}$ é o tensor de acoplamento hiperfino. Analogamente a $\mathbf{g}$, podemos assumir que $\mathbf{A}$ seja um tensor diagonal e a hamiltoniana da interação hiperfina pode ser escrita como:

$$H_h = A_{xx}I_xS_x + A_{yy}I_yS_y + A_{zz}I_zS_z, \quad (5.4)$$

onde A_{xx} , A_{yy} e A_{zz} são as componentes de $\mathbf{A}$ nas direções x , y e z , respectivamente e I_x , I_y e I_z são as componentes de $\vec{I}$ nessas três direções.

Portanto, a Hamiltoniana de *spin* pode ser representada por:

$$H = \beta \vec{H} \mathbf{g} \vec{S} + \vec{I} \mathbf{A} \vec{S} \quad (5.5)$$

Na realidade, existe um terceiro termo na Hamiltoniana de *spin* (equação 5.5) relacionado à interação entre o *spin* nuclear e o campo magnético (termo Zeeman nuclear), que é considerado desprezível nas condições normais dos experimentos de RPE ([98]).

Deve-se ressaltar que os espectros de RPE são sensíveis à orientação da amostra em relação ao campo magnético aplicado, uma vez que os tensores $\mathbf{A}$ e $\mathbf{g}$ são anisotrópicos.

5.1.1 O método do marcador de spin

Muitas moléculas não possuem centros paramagnéticos intrínsecos, mas podem-se obter muitas informações se uma molécula estruturalmente sensível (marcador de *spin*) for introduzida ao sistema. Este método foi introduzido por [99], sendo o radical nitróxido (figura 5.2) o mais utilizado por ser bastante estável nas condições em que são estudadas as moléculas biológicas e não perturbar o sistema estudado.

O grupo nitróxido é ligado a um sítio específico de uma molécula, podendo fornecer informações sobre o meio onde a mesma se encontra, como mobilidade, grau de ordem ou mudanças conformacionais de membranas, bicamadas ou micelas ([95]) induzidos por agentes ou fatores externos.

Figura 5.1: Desdobramento dos níveis de energia de um elétron desemparelhado interagindo com um núcleo com spin $I = 1$ e o respectivo espectro característico de RPE da primeira derivada do espectro de absorção.

Figura 5.2: Radical livre nitróxido, onde R₁ e R₂ representam cadeias carbônicas.

Nos radicais nitróxido a maior parte da densidade eletrônica está localizada no átomo de nitrogênio, cujo isótopo mais abundante, ^{14}N , possui *spin* nuclear $I = 1$, podendo, por isso, apresentar três valores para o momento magnético de *spin* nuclear quando em presença de um campo magnético ($M_I = -1, 0$ e $+1$). Como já vimos anteriormente, a interação entre o *spin* eletrônico e o *spin* nuclear com um campo magnético externo dá origem ao desdobramento hiperfino (figura 5.1). O espectro é registrado na forma de primeira derivada da absorção, sendo a separação das linhas o desdobramento hiperfino. Os eixos principais do nitróxido se relacionam com o sistema de coordenadas adotado (x, y e z) em relação ao campo magnético aplicado (figura 5.3). Por convenção, o eixo x coincide com a ligação N-O e o eixo z é paralelo ao orbital $2p\pi$, que contém a maior parte da densidade eletrônica do elétron desemparelhado, ficando o eixo y perpendicular aos outros dois. Por isso, no caso de radicais nitróxido, o desdobramento hiperfino A é máximo na direção do eixo z e mínimo nas direções x e y . Por outro lado, o valor de g é máximo na direção x e menor nas direções y e z ([100]).

5.1.2 Efeito da mobilidade nos espectros de RPE

Os elementos A e g são sensíveis ao movimento do marcador de *spin* no meio onde o mesmo se encontra. Moléculas esféricas em fluidos anisotrópicos freqüentemente têm movimentos isotrópicos. Se o movimento é rápido na escala de tempo de RPE (tempo de correlação $\tau < 10^{-9}$ s), o espectro exibirá valores de g_0 e de seu desdobramento hiperfino A_0

Figura 5.3: (a) Sistema de coordenadas convencionalmente atribuídas ao radical nitróxido; (b) Espectros do radical nitróxido obtidos com o campo magnético em diferentes orientações em relação aos eixos principais do radical. Figura extraída de [101].

que são as médias das componentes principais dos respectivos tensores $\mathbf{g}$ e $\mathbf{A}$, dadas por

$$g_0 = \frac{1}{3}(g_{xx} + g_{yy} + g_{zz}), \quad (5.6)$$

e

$$A_0 = \frac{1}{3}(A_{xx} + A_{yy} + A_{zz}), \quad (5.7)$$

A taxa de movimento determina as larguras relativas das várias ressonâncias. Elas são estreitas para movimentos rápidos e se alargam quando o movimento torna-se mais lento.

Tem sido demonstrado que a condição de movimento isotrópico raramente se aplica ([102]), pois mesmo moléculas de nitróxido relativamente pequenas realizam movimento anisotrópico. Entretanto, se o movimento, apesar de anisotrópico, for rápido, existirá uma média parcial da anisotropia espectral e a média do grau de movimento será uma média da amplitude angular do movimento anisotrópico. Nestes casos, dizemos que o movimento é rápido e “pseudo-isotrópico”.

Na figura 5.4a apresenta-se, em caráter ilustrativo, um espectro gerado por um radical nitróxido com movimento rápido e “pseudo-isotrópico”. Porém, se por algum efeito do meio, como por exemplo o aumento da viscosidade, o marcador adquire movimentos mais lentos observa-se um alargamento das linhas espectrais (figura 5.4b-e). Em casos extremos, em que o marcador descreve movimentos muito lentos ($\tau > 3 \cdot 10^{-7}$ s) para a escala de tempo de RPE, o espectro (chamado espectro de pó) será a resultante de uma somatória de todas as orientações possíveis da molécula em relação ao campo magnético (figura 5.4f).

No caso de incorporação de marcadores de *spin* de natureza lipídica em micelas, como estudado neste trabalho, o espectro de RPE é interpretado como resultante da contribuição da rotação do eixo longo da molécula marcadora de *spin*, do movimento intramolecular e da difusão rotacional da micela como um todo ([104]). Simulações de espectro de marcadores de *spin* em micelas ([105]) evidenciaram que a difusão do marcador de *spin* na superfície micelar também contribui para a forma da linha espectral. Assim sendo, o movimento rápido de toda a micela e a difusão rápida do marcador de *spin* na superfície micelar produzem linhas espectrais mais estreitas (típico de movimento rápido e “pseudo-isotrópico”) do que as linhas observadas para bicamadas. Essas últimas são grandes e rotacionam a uma taxa lenta em relação à escala de tempo de RPE. Para bicamadas é possível extrair informações sobre o grau de ordem do sistema, a partir das distâncias entre as linhas dos espectros de RPE com campo magnético orientado paralela e perpendicularmente à normal da superfície da bicamada ([96]).

Figura 5.4: Espectros de RPE do marcador de *spin* TEMPOL em soluções de viscosidade crescente. Extraído de [103].

Em contraposição, em micelas incorporando moléculas marcadoras de *spin* de caráter lipídico, os espectros de RPE se assemelham ao do marcador de *spin* em meio isotrópico, que independe da orientação do campo magnético, sendo g e A médias de seus componentes. Por esta razão não é possível, neste trabalho, obter-se o grau de ordem do sistema a partir dos espectros de RPE. Podemos apenas obter informações sobre o grau de ordem e fluidez (acoplados) das moléculas em torno do marcador de *spin* através da medida de um parâmetro empírico obtido da razão das alturas das linhas de campo baixo (h_{+1} , $m = +1$) e campo médio (h_0 , $m = 0$), h_{+1}/h_0 ([98]) (figura 5.6). Quanto maior a razão h_{+1}/h_0 , menor o grau de organização do sistema em torno do marcador de *spin*.

5.2 Parte Experimental

Com o intuito de nos assegurarmos de que o anestésico local TTC estava totalmente protonado ou desprotonado em nossos estudos, trabalhamos com pelo menos duas unidades de pH abaixo ou acima do pK. Nestas condições foram realizados os experimentos de RPE.

5.2.1 Amostras

Utilizando-se SLS, TTC, HPS e água descritos anteriormente, preparamos uma amostra com 1% em peso de SLS em água (35 mM) e 1% em peso de HPS em água (25 mM) e variamos a concentração de TTC de 0 a 15 mM para o sistema SLS/água e de 0 a 16 mM para o sistema HPS/água. Para o sistema SLS/TTC/água os experimentos foram realizados a pH=6,5 (TTC protonada, conforme resultados da seção 4.4) e pH=12 (TTC desprotonada) e para o sistema HPS/TTC água utilizaram-se pH=4,5 e pH=10. Para pH=10 houve precipitação da TTC na solução e por este motivo os resultados não foram utilizados. Os pHs alto e baixo foram obtidos adicionando-se pequenas alíquotas de NaOH e HCl concentrados, respectivamente.

Usou-se marcador de spin 5-MeSL, ilustrado na figura 5.5. Este marcador possui a ligação N-O ao longo do seu eixo molecular. O marcador foi preparado pela evaporação de solução de cloróformio por fluxo de nitrogênio. A concentração de marcador nas soluções foi de 0,1 mM.

Figura 5.5: Marcador de spin 5-MeSL.

5.2.2 Arranjo experimental

As medidas de RPE foram realizadas no IQUSP, no laboratório da Profa. S. Schreier, em um espectrômetro ER200D-SCR da Bucker, o qual opera na banda X, que corresponde à região de 9,5 GHz. Foram feitas varreduras de 100 G, com centro em 3440 G, frequência de microondas de 9,68 GHz, potência de microondas de 10 mW e 1,6 de amplitude da frequência de modulação do campo magnético.

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Sistema SLS/TTC/água

As figuras 5.6 e 5.7 exibem os espectros de RPE das moléculas de 5-MeSL incorporadas a micelas de SLS (35 mM) na presença de TTC protonada (pH=6,5) e desprotonada (pH=12,0), respectivamente, com concentrações crescentes de TTC de 0 a 15 mM. O 5-MeSL, por ser um éster, é menos polar e menos ancorado na interface, gerando espectros indicativos do grau de liberdade de movimento do mesmo ([92]). Conforme podemos ver nas figuras, os espectros do 5-MeSL em micelas de SLS sem TTC possuem caráter “pseudo-isotrópico”. Esta característica, conforme discutido na seção 5.1.2 deve ser devida à combinação de vários efeitos, tais como a soma de todas as orientações possíveis das moléculas de 5-MeSL, incorporadas na estrutura micelar, em relação ao campo magnético aplicado, a difusão e os movimentos das moléculas marcadoras de *spin* na micela, que dependem do grau de ordem

(inverso à fluidez) da estrutura micelar e o tempo de rotação das micelas em solução em relação ao tempo de resolução do RPE ($\tau < 10^{-9}$ s) ([96]). Tanto quanto seja do nosso conhecimento, não existem na literatura até o presente momento espectros de RPE de SLS incorporando 5-MeSL. Existe apenas um trabalho realizado há mais de vinte anos, cujo enfoque era determinar o caráter de pré-agregação nas vizinhanças da cmc (acima e abaixo desta) do SLS em solução aquosa ([106]). Neste trabalho os autores apresentam o espectro de RPE do marcador 5-MeSL em solução aquosa de 10 mM de SLS (acima da cmc) com caráter “pseudo-isotrópico”, similar ao que apresentamos no presente trabalho.

Conforme descrevemos na secção 5.1, a razão entre alturas de linha de campo baixo e campo médio (h_{+1}/h_0) pode ser usada para avaliarmos mudanças na organização molecular em torno do marcador de *spin*. Esta razão é um parâmetro empírico que mede as contribuições combinadas de ordem e mobilidade, onde o decréscimo dos valores h_{+1}/h_0 é reflexo de maior ordem e/ou menor mobilidade das moléculas.

Dos espectros de RPE apresentados na figura 5.6 observamos variações nas alturas dos picos em função da concentração de TTC protonada (pH=6,5), cujas razões h_{+1}/h_0 são apresentadas na figura 5.8. Estas variações são menos acentuadas nos espectros de RPE na presença de TTC desprotonada (pH=12,0), cujos valores de h_{+1}/h_0 são também mostrados na figura 5.8.

De acordo com os resultados apresentados na figura 5.8, a razão h_{+1}/h_0 praticamente não se altera em relação ao sistema sem TTC, dentro dos erros experimentais, para concentrações até 3 mM de TTC (razão molar TTC:SLS, M_{TTC} , de 0,10). Entretanto, os valores de h_{+1}/h_0 decrescem para concentrações maiores de TTC para ambas as espécies, sendo o decréscimo muito mais acentuado para a TTC protonada. Portanto, os resultados de RPE evidenciam uma perda de mobilidade das moléculas de 5-MeSL/aumento de ordem do meio, com o aumento da concentração de TTC. Entretanto, para pH=6,5 essa perda de mobilidade/aumento de ordem é muito mais acentuada do que para pH=12,0.

Devido à estrutura da molécula de 5-MeSL (figura 5.5), com o grupo nitróxido ligado ao quinto carbono da cadeia, as informações obtidas dos seus espectros de RPE relatam possíveis modificações ocorridas num meio mais próximo à região polar da micela. Dos resultados de fluorescência sabemos que a TTC deve incorporar-se nas micelas de SLS. Os resultados de RPE reforçam esta observação, uma vez que observamos alteração na organização molecular do agregado micelar com adição gradual de TTC. Além disto, os dados de RPE evidenciam que a TTC protonada afeta mais a organização molecular próxima à interface polar/apolar da micela do que a TTC desprotonada.

**A INFLUÊNCIA DA TETRACAÍNA (TTC) NOS SISTEMAS MICELARES À
BASE DE SLS/H₂O E HPS/H₂O. UM ESTUDO POR RESSONÂNCIA
PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA.**

96

Figura 5.6: Espectros de RPE para as amostras contendo 1% SLS/água, a pH=6,5, com concentrações crescentes de TTC.

Figura 5.7: Espectros de RPE para as amostras contendo 1% SLS/água, a $\text{pH}=12,0$, com concentrações crescentes de TTC.

Figura 5.8: Relação entre alturas de linhas, h_{+1}/h_0 , para as amostras com 1% SLS/água, em função da concentração de TTC, para TTC protonada (pH=6,5) e desprotonada (pH=12,0).

Uma vez que as micelas de SLS têm carga superficial negativa, a interação de Coulomb deve ser responsável pela localização do anestésico local na forma carregada perto da cabeça polar. De fato, Desai e col. ([40]), que estudaram a ligação de drogas (entre as quais a tetracaína) com o SLS em comparação com três detergentes neutros através de medidas de fluorescência, sugerem que a influência da carga é um fator importante na localização de anestésicos locais na camada polar de micelas aniônicas, regida por interações de Coulomb. Borissevitch e col. ([41]) mostraram por fluorescência e RMN que, na interação da droga dipiridamole protonada com micelas de SLS, é a atração eletrostática que mantém a droga perto da interface polar.

Já a TTC na forma neutra não sofre interação de Coulomb com a cabeça polar de SLS e, portanto, o ancoramento na superfície micelar não é favorecido. Ao mesmo tempo, a TTC desprotonada é altamente hidrofóbica ([107]), o que deve contribuir para sua maior penetração no interior hidrofóbico das micelas.

Estes resultados são compatíveis com estudos sobre o efeito da TTC em membranas modelo. [108] investigaram bicamadas de fosfatidilcolina e ([109]) estudaram bicamadas de 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC) por RMN. Os autores observaram que a TTC protonada localiza-se na região polar das bicamadas, favorecendo um ordenamento das cabeças ([109]), enquanto que a TTC não carregada penetra mais profundamente na membrana ([108]).

Ota e Ito ([110]) fizeram uma simulação teórica da interação da TTC com membranas, frente a um modelo para a interface água/membrana, a qual é representada por uma descontinuidade dielétrica. Os efeitos da interface sobre as cargas presentes na molécula foram analisados pelo método das imagens eletrostáticas ([111]). Os resultados evidenciaram que a TTC neutra atravessa a interface com facilidade, alojando-se no interior da membrana ou até atravessando-a, enquanto que a TTC protonada atravessa a interface água/membrana mas localiza-se junto a ela.

Nossos resultados obtidos até aqui indicaram que a TTC protonada deve localizar-se mais próxima da região polar das micelas do que a TTC desprotonada, em bom acordo com os resultados experimentais apresentados na literatura sobre a incorporação de anestésicos em micelas e membranas ([108]; [40]; [109]) e com a simulação teórica realizada por ([110]). Mais ainda, nossos resultados reforçam o fato de que a forma protonada do anestésico deve interagir com as cabeças polares do SLS via um potencial de Coulomb, e estas interações são responsáveis pela localização da droga mais perto da região polar da micela.

O aumento gradual da razão molar TTC:SLS, M_{TTC} , conduz a um aumento da orga-

dos dados de RPE. Esta perda de mobilidade deve ser devida, em parte, à própria estrutura molecular da TTC, que é mais rígida do que a do SLS, em função da presença do anel aromático e do grupo éster na molécula de TTC. Entretanto, a perda de mobilidade (fluidez) molecular intramicelar é muito mais acentuada na micela composta por SLS e TTC protonada. Portanto, deve estar ocorrendo alguma alteração na estrutura micelar que favorece um maior empacotamento das cadeias de hidrocarbonetos para soluções micelares de SLS/TTC/água a pH= 6,5 em relação a pH= 12,0.

Possíveis alterações na estrutura das micelas de SLS devido à influência da TTC (protonada e desprotonada), que são correlacionadas com os efeitos de alteração de organização molecular intramicelar observados por RPE, serão melhor investigados pela técnica de SAXS no próximo capítulo.

5.3.2 Sistema HPS/TTC/água

Nas figuras 5.9 e 5.10 são apresentados os espectros de RPE do marcador 5-MeSL incorporado ao sistema HPS/TTC/água com pH=4,5 para concentrações crescentes de TTC de 0 a 16 mM. Para pH=10, correspondente à TTC desprotonada, conforme já mencionado, houve precipitação da TTC mesmo para as concentrações baixas, de modo que os resultados não foram utilizados. Comparando-se os espectros com os que foram obtidos para o SLS (figura 5.6) percebemos que a organização molecular do HPS é maior do que a do SLS, devido à forma mais alargada das linhas espectrais e da razão h_{+1}/h_0 que passa de 0,87 (para o SLS - figura 5.8) para 0,66, a pH=10 (para o HPS - figura 5.11). Este último valor está de bom acordo com o valor observado por [92] ($h_{+1}/h_0 = 0,633$ para 10 mM de HPS, pH= 10,5).

Inversamente ao que foi observado para micelas aniônicas de SLS, a TTC protonada parece não afetar significativamente a organização molecular próxima à região da cabeça polar de micelas zwitteriônicas de HPS, pois os valores de h_{+1}/h_0 (figura 5.11) diferem ligeiramente do sistema sem TTC, com h_{+1}/h_0 aumentando de 0,633 para um valor médio de 0,65. Para nos certificarmos da incorporação do anestésico local nas micelas de HPS, uma vez que não foi observada variação significativa nos resultados de RPE, calculamos a porcentagem da droga protonada que penetra na micela, através da equação 4.7 do capítulo anterior. Para isto utilizamos coeficiente de partição $P=280$, tendo em vista o valor da constante de ligação $K_b = 100 \text{ mM}^{-1}$ da TTC em micelas de HPS a pH= 4,5,

Figura 5.9: Espectros de RPE para as amostras contendo 1% HPS/água, a pH= 4,5, com concentrações de TTC variando de 0,0 a 6,0 mM.

10 G

Figura 5.10: Espectros de RPE para as amostras contendo 1% HPS/água, a pH=4,5, com concentrações de TTC de 8,0 a 16,0 mM.

Figura 5.11: Relação entre alturas de linhas, h_{+1}/h_0 para as amostras com 1% HPS/água, em função da concentração de TTC.

volume molar parcial do HPS). Avaliando a porcentagem da TTC incorporada na estrutura protonado em micelas zwitteriônicas de HPS, nas condições experimentais estudadas neste trabalho.

Provavelmente a TTC esteja se intercalando na região polar da micela, tal que a amina alifática se promova na direção da água, provocando um pequeno distanciamento entre as cabeças bipolares do HPS, que favorece um pequeno decréscimo no grau de empacotamento das cadeias parafínicas do agregado micelar. A protusão do grupo carregado da TTC na direção da água já foi observada anteriormente por estudos de RMN da incorporação da droga em bicamadas de fosfatidilcolina, que também é zwitteriônica ([108]).

Os resultados até aqui mostrados serão utilizados para complementar o estudo feito por espalhamento de raios X, apresentado no capítulo 6, onde então será concluída a discussão.

Capítulo 6

ESTUDO DOS SISTEMAS SLS/TTC/ÁGUA E HPS/TTC/ÁGUA POR ESPALHAMENTO DE RAIOS X A BAIXO ÂNGULOS

Nos capítulos 4 e 5 foram estudados os sistemas SLS/TTC/água e HPS/TTC/água por fluorescência e por RPE, respectivamente. Esses mesmos sistemas serão agora abordados através da técnica de SAXS e analisados através de suas respectivas funções distribuição de distâncias e distribuição de densidades eletrônicas, utilizando-se o método desenvolvido por O. Glatter (seções 3.2.2 e 3.2.3). A análise dos dados, acoplada aos resultados de fluorescência e RPE, nos permitirão concluir qual o efeito que a TTC (protonada e deprotonada) tem sobre micelas aniônicas e zwitteriônicas, em termos de incorporação, localização e mudanças estruturais da micela.

6.1 Parte Experimental

6.1.1 Amostras

Os compostos utilizados (SLS, HPS e TTC) foram descritos anteriormente. Foram preparadas amostras com 1% em peso de SLS em água (35 mM), variando-se a razão molar

TTC:SLS (M_{TTC}) de 0 a 0,30 (10,37 mM) e 1% HPS/água (25 mM), com $M_{TTC}=0$ e 0,30 (7,65 mM). As amostras foram homogeneizadas, centrifugadas e acondicionadas entre duas “folhas” de filme de *mylar*, em um porta-amostra circular com 1 mm de espessura. Assim como para os experimentos de RPE, o sistema SLS/TTC/água foi estudado a pH=6,5 (TTC protonada) e pH=12 (TTC desprotonada), enquanto que o sistema HPS/TTC/água foi estudado apenas a pH=4,5, pois para pHs mais altos houve precipitação da TTC na solução. Os pHs alto e baixo foram obtidos com a adição de pequenas alíquotas de NaOH e HCl, respectivamente.

6.1.2 Arranjo experimental

As amostras foram medidas na linha de SAXS do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS - Campinas), cujo arranjo está representado na figura 6.1. O feixe é focalizado verticalmente através de um espelho de curvatura cilíndrica e horizontalmente através de um monocromador de silício curvo de reflexão (111). O sistema possui fendas de colimação e dois detectores de cintilação (um anterior e um posterior à amostra) que servem para monitoração do feixe de raios X. Existe um caminho de vácuo entre a amostra e o detector unidimensional sensível a posição, utilizado para a coleta dos dados. A distância entre a amostra e o detector pode ser variada, sendo que no nosso caso utilizou-se 543,5 mm, com exceção da amostra 1% HPS/água, medida separadamente, com distância de 609,5 mm. O comprimento de onda utilizado foi de 1,608 Å.

6.1.3 Tratamento inicial dos dados e parâmetros para análise

Inicialmente as curvas foram corrigidas pela homogeneidade do detector e normalizadas levando-se em conta a queda da intensidade do feixe (queda da corrente do anel) durante a realização das medidas. A correção pela homogeneidade do detector é feita dividindo-se as curvas de intensidade espalhada pela curva característica do detector, sendo esta última devidamente normalizada para um valor médio de 1. A normalização pela queda da intensidade do feixe é feita dividindo-se a curva de intensidade espalhada (já corrigida com a homogeneidade do detector) por um valor integral de intensidade observado pelo detector de cintilação posicionado anteriormente à amostra.

Em seguida, subtraiu-se das curvas a radiação parasita, de acordo com a equação 3.30 (capítulo 3), porém, como neste caso a radiação de fundo é muito pequena comparada à intensidade de espalhamento obtida, esta foi desprezada e portanto considerou-se $BG=0$.

Figura 6.1: Arranjo experimental da linha de SAXS no LNLS, Campinas.

Transmissão das amostras

No LNLS mede-se a transmissão das amostras, colocando-se dois espalhadores, E_1 (lâmina de mylar de 5 μm) e E_2 (lâmina de acrílico de 1 mm), na frente do feixe direto e medindo-se a intensidade do mesmo, N_{TP} . Em seguida coloca-se a amostra entre os espalhadores E_1 e E_2 e mede-se novamente a intensidade do feixe, N_{Ta} . A transmissão da amostra é dada por:

$$Tr = \left(\frac{N_{Ta}/N_{0a}}{N_{TP}/N_{0p}} \right), \quad (6.1)$$

onde N_{0a} e N_{0p} são as contagens obtidas pelo detector de cintilação anterior à amostra.

Obteve-se um valor médio de $0,25 \pm 0,04$.

6.1.4 Método de análise

Após terem sido feitas todas as correções, as curvas de SAXS foram analisadas através do método de O. Glatter (secção 3.2.2), com a utilização dos programas ITP (para determinação da função distribuição de distâncias) e Decon (para determinação da distribuição de densidades eletrônicas). Devido à grande influência do feixe direto para ângulos muito pequenos, foram utilizados para análise somente pontos da curva com $q > 0,05 \text{ \AA}^{-1}$. Para a curva correspondente à amostra com 1% HPS/água (medida feita separadamente) foram utilizados os pontos com $q > 0,02 \text{ \AA}^{-1}$, pois houve alterações nas condições de alinhamento do feixe. Utilizou-se número de splines $N = 11$. Os parâmetros de estabilidade $\lambda_{\text{ót}}$ de cada curva, determinados a partir da tabela de estabilidade, são apresentados no apêndice A. Devemos lembrar que o feixe de raios X no LNLS é considerado pontual e portanto as curvas de SAXS não precisam ser corrigidas pelos efeitos de largura e altura do feixe. Deste modo, o programa ITP nos fornece as curvas teóricas sem serem borradas com efeito do feixe.

6.2 Resultados

6.2.1 Sistema SLS/TTC/água

Apresentamos na figura 6.2 as curvas de espalhamento obtidas para o sistema 1% SLS/água, com concentrações crescentes de TTC, a pH=6,5 (TTC protonada) e pH=12 (TTC desprotonada). Embora observa-se uma variação aparente das intensidades, esta pode ter sido gerada pela subtração de espalhamentos parasitas diferentes obtidos no decorrer das medidas experimentais. Como vamos focalizar nossa análise na função distribuição de distâncias, que

é dada em unidades arbitrárias, proporcional à intensidade de espalhamento, as diferenças de intensidade de espalhamento não alteram a análise de dados.

A partir das curvas de SAXS obtivemos as funções distribuição de distâncias, exibidas nas figuras 6.3a e 6.4a. Apresentamos na figura 6.5 as curvas de intensidade teóricas calculadas pelo programa ITP, juntamente com os correspondentes dados experimentais de SAXS. Nota-se uma mudança significativa no comportamento da função $p(r)$ e um aumento da dimensão máxima das micelas ($D_{máx}$) entre $M_{TTC}=0,10$ e $0,20$, que se mantém para $M_{TTC}=0,30$ (dentro das incertezas avaliadas), para $\text{pH}=6,5$. Os valores de $D_{máx}$ são exibidos na tabela 6.1. Por outro lado, para $\text{pH}=12$ (TTC desprotonada), não houve alterações na função $p(r)$ e conseqüentemente no valor de $D_{máx}$ (tabela 6.1).

Usando-se o programa Decon, foram determinados os perfis de densidade eletrônica das micelas a partir das funções $p(r)$, exibidos nas figuras 6.3b e 6.4b. Vimos na figura 6.3a e 6.4a o ajuste das funções $\bar{p}(r)$ (calculadas teoricamente pelo programa Decon) e das funções $p(r)$ determinadas pelo programa ITP a partir das curvas de espalhamento. O bom ajuste dessas duas funções nos assegura que para estas concentrações as micelas não sofrem mudança de forma.

Tabela 6.1: Dimensões máximas das micelas no sistema 1% SLS/água, para diferentes concentrações de TTC, para $\text{pH}=6,5$ e $\text{pH}=12$. Os erros foram estimados a partir dos gráficos, considerando-se o intervalo (em Å) abrangido por cada ponto.

pH	M_{TTC}	$D_{máx} (\pm 2) (\text{Å})$
6,5	0	59
	0,10	61
	0,20	75
	0,30	70
12	0	63
	0,10	62
	0,20	63
	0,30	63

Figura 6.2: Curvas de SAXS das amostras contendo 1% SLS/água, com concentrações crescentes de TTC, para pH=6,5 e pH=12.

Figura 6.3: (a): $\square$ Funções distribuição de distâncias das amostras contendo 1% SLS/água, pH=6,5, com concentrações crescentes de TTC e (—) $\bar{p}(r)$ obtida teoricamente pelo programa Decon; (b) Perfis de densidades eletrônicas correspondentes às funções $\bar{p}(r)$. Obs.: para $M_{TTC}=0,10$ utilizaram-se 7 níveis de densidade eletrônica a fim de detalhar melhor a passagem da parte parafínica para a parte polar.

Figura 6.4: (a): $\square$ Funções distribuição de distâncias das amostras contendo 1% SLS/água, pH=12,0, com concentrações crescentes de TTC e (—) $\bar{p}(r)$ obtida teoricamente pelo programa Decon; (b) Perfis de densidades eletrônicas correspondentes às funções $\bar{p}(r)$.

Figura 6.5: (□) curva de SAXS obtida experimentalmente; (—) Curva calculada teoricamente pelo programa ITP, para amostras com 1% SLS/água e concentrações crescentes de TTC, para pH=6,5 e pH=12,0.

6.2.2 Sistema HPS/TTC/água

A figura 6.6 exibe as curvas de espalhamento obtidas para o sistema 1% HPS/água, com $M_{TTC} = 0$ e $M_{TTC} = 0,30$, com pH=4,5.

As funções distribuição de distâncias obtidas são exibidas na figura 6.7a, enquanto que as curvas de espalhamento correspondentes, calculadas teoricamente pelo programa ITP são apresentadas na figura 6.8. Dentro das incertezas avaliadas, os resultados não mostram alteração em $p(r)$ e em $D_{máx}$, como pode-se observar na tabela 6.2. A figura 6.7b mostra as distribuições de densidade eletrônica desse sistema. O bom ajuste das curvas $\bar{p}(r)$ (Decon) aos dados $p(r)$ (ITP), mostrados na figura 6.7a indica que as micelas de HPS têm simetria esférica.

Tabela 6.2: Dimensão máxima das micelas no sistema 1% HPS/água, para $M_{TTC}=0$ e $M_{TTC}=0,30$, a pH=4,5.

M_{TTC}	$D_{máx} (\pm 3) (\text{\AA})$
0	82
0,30	77

6.3 Discussão

Conforme discutido anteriormente, os resultados de espectroscopia de fluorescência da TTC (carregada e neutra) em sistemas aquosos micelares compostos por SLS e HPS evidenciam que a droga é incorporada nos agregados anfífilos. Mais que isso, embora não tenha sido notada nenhuma mudança organizacional significativa nas micelas de HPS na presença de TTC protonada por espectroscopia de RPE, o cálculo do coeficiente de partição da droga, nas condições aqui estudadas, nos indica que aproximadamente 93% da TTC presente na solução penetra no agregado micelar. O fato de que a partição do anestésico local carregado deva ser ainda maior em micelas aniônicas ([39]), reforça as observações feitas da incorporação da TTC em micelas de SLS (por fluorescência), também evidenciada por RPE através do aumento da organização molecular nas respectivas micelas com a presença de TTC no sistema.

Vamos primeiramente discutir o efeito que a TTC tem sobre micelas de SLS. Os valores de $D_{máx}$ obtidos para as micelas de 1% SLS/água sem TTC são compatíveis com o que se

Figura 6.6: Curvas de SAXS das amostras contendo 1% HPS/água. (a) $M_{TTC}=0$; (b) $M_{TTC}=0,30$, ambas a $\text{pH}=4,5$.

Figura 6.7: (a): $\square$ Funções distribuição de distâncias das amostras contendo 1% HPS/água, pH=4,5, para $M_{TTC}=0$ e $M_{TTC}=0,30$ e (—) $\bar{p}(r)$ obtida teoricamente pelo programa Decon; (b) Perfis de densidades eletrônicas correspondentes às funções $\bar{p}(r)$.

Figura 6.8: ($\square$) curva de SAXS obtida experimentalmente; (—) Curva calculada teoricamente pelo programa ITP, para amostras com 1% HPS/água; (a) $M_{TTC} = 0$; (b) $M_{TTC} = 0,30$, ambas a pH=4,5.

obteve para a amostra com 10% SLS/água (sem decanol) estudada no capítulo 3, indicando que nestas concentrações as micelas são elipsóides prolatos de revolução com anisometria parafínica, ν , de $1,49 \pm 0,06$. Da análise das curvas de SAXS a pH= 6,5 com $M_{TTC}= 0,10$, não foi observada nenhuma alteração de tamanho ou forma das micelas, em bom acordo com os dados de RPE, que não apresentaram variação na organização molecular do agregado micelar de SLS. Podemos então inferir que a essa concentração a TTC, embora incorporada, não causa alterações na organização molecular local, nem na estrutura global da micela. Já para $M_{TTC}= 0,20$, observou-se uma mudança no comportamento da função $p(r)$ (figura 6.3), semelhante à função $p(r)$ de uma partícula elipsoidal prolata (ver figura 3.1), com uma notável variação no valor de $D_{máx}$ (tabela 6.1). Assim sendo, para esta concentração de TTC, os agregados micelares estão se rearranjando na direção de formar micelas elipsoidais mais alongadas, aumentando o número de agregação.

O intrigante crescimento das micelas para $M_{TTC}= 0,20$ foi verificado e comprovado através do ajuste da curva de intensidade teórica gerada pelo programa ITP a partir da função $p(r)$ à curva experimental de SAXS. Para nos certificarmos do aumento de $D_{máx}$, na figura 6.9 temos a função $p(r)$ para $D_{máx}= 55 \text{ \AA}$ acompanhada pelos dados de SAXS e a correspondente curva de intensidade teórica. Podemos ver que para $q < 0,09 \text{ \AA}^{-1}$ a curva teórica afasta-se consideravelmente dos dados experimentais, o que nos leva a refutar a possibilidade de termos $D_{máx} \approx 55 \text{ \AA}$. Aumentando-se o valor de $D_{máx}$ para $60 \text{ \AA}$, a função $p(r)$ apresenta oscilações artificiais (figura 6.10), típicas de escolha errada no valor de $D_{máx}$ ([81]) e ainda assim a curva teórica de intensidade espalhada não se ajusta adequadamente à experimental na região citada. Prosseguiu-se aumentando o valor de $D_{máx}$, sendo que o melhor ajuste entre estas duas curvas, assim como a melhor função distribuição de distâncias, foi obtido para $D_{máx}= 75 \text{ \AA}$ (figura 6.3). Utilizamos o mesmo critério na análise do valor de $D_{máx}$ para $M_{TTC}= 0,10$. Por esse motivo temos a certeza de que realmente não houve crescimento micelar para $M_{TTC}= 0,10$.

Da análise simultânea da função $p(r)$ e dos dados de RPE para o sistema incorporando TTC carregada a $M_{TTC}=0,30$, observamos que, embora exista um aumento da organização molecular do agregado micelar, não houve alteração nas suas dimensões. Isto deve estar relacionado a uma perda de fluidez molecular intramicelar, devido à própria estrutura molecular da TTC, que é mais rígida que a do SLS, com preservação da forma e do tamanho da micela.

A partir da figura 6.3b observamos que não houve alterações nos perfis de densidades eletrônicas. Como sabemos a partir dos resultados de RPE que a TTC protonada penetra

na micela permanecendo ancorada perto da região polar da mesma, calculamos os valores das densidades eletrônicas nesta região (ρ_{pol}), com o objetivo de verificarmos se deveríamos ou não esperar que houvesse mudanças de densidade eletrônica com a adição de TTC nesta região. Como o grupo amino alifático da TTC (figura 1.6, capítulo 1), com duas metilas, um nitrogênio e um hidrogênio, (volume estimado de $130 \text{ \AA}^3$ - [112]), é menos hidrofóbico do que o restante da molécula, consideramos sua localização na camada polar das micelas. Dessa forma, ρ_{pol} é dada por:

$$\rho_{pol} = \frac{\bar{n}_{SLS}.n_e(SO_4Na) + \bar{n}_{TTC}n_e(H^+N(CH_3)_2) + NH.\bar{n}.n_e(H_2O)}{V_{pol}}, \quad (6.2)$$

onde

$\bar{n}_{SLS}$ é o número de agregação do SLS, definido no capítulo 3;

$\bar{n}_{TTC} = M_{TTC}.\bar{n}_{SLS}$ é o número de agregação da TTC;

NH o número de moléculas de água por cabeça polar, calculado pela equação 3.37;

$\bar{n} = \bar{n}_{SLS} + \bar{n}_{TTC} = \bar{n}_{SLS}(1 + M_{TTC})$ é o número de agregação total;

$n_e(SO_4Na) = 59$, $n_e(HN(CH_3)_2) = 26$ e $n_e(H_2O) = 10$ são os números de elétrons dos grupos SO_4Na , $HN(CH_3)_2$ e H_2O , respectivamente;

V_{pol} é calculado como na secção 3.5, capítulo 3;

$\bar{n}_{SLS}$ e $\bar{n}_{TTC}$ são calculados pela equação 3.38, substituindo-se o volume da cadeia do decanol pelo volume da parte hidrofóbica da TTC ($= 121 \text{ \AA}^3$), sendo o volume molecular da TTC igual a $251 \text{ \AA}^3$ ([113]).

Obtivemos um valor médio de $(0,390 \pm 0,005) \text{ e/\AA}^3$ para os valores de M_{TTC} estudados, com cerca de 10 moléculas de água distribuídas para cada cabeça polar, que inclui $SLS(1 + M_{TTC})$. Portanto, não foi observado variação na densidade eletrônica da cabeça polar da micela com o aumento da concentração de TTC no sistema, em bom acordo com a constância observada no valor do nível de densidade eletrônica da região polar obtido da análise das distribuições de densidades eletrônicas fornecidos pelo programa Decon (figura 6.3).

Entretanto, observamos $\rho_{pol} = 0,35 \pm 0,01 \text{ e/\AA}^3$ a partir das funções de densidades eletrônicas (figura 6.3), sendo este valor menor do que o calculado pela equação 6.2. No entanto, para este cálculo utilizamos o valor de $\sigma = 4,6 \text{ \AA}$ (onde σ é a espessura da camada polar), análogo ao que fizemos na análise para o decanol no capítulo 3. Naturalmente, o volume do grupo amino alifático da TTC é maior do que o do grupo OH do decanol. Deste modo, devemos considerar que a região polar tenha uma espessura maior. Para que tenhamos um

valor de ρ_{pol} (equação 6.2) compatível com o observado no mapa da figura 6.3b devemos ter uma espessura polar de ordem de 8 Å, com cerca de 20 moléculas de água de hidratação por $SLS(1 + M_{TTC})$.

Os valores de R_{par} obtidos através dos gráficos de distribuição de densidades eletrônicas oscilam dentro de um intervalo de 13 Å a 18 Å. No entanto, conforme já discutido no capítulo 3, considerando-se o modelo de cinco níveis de densidades eletrônicas utilizado e lembrando-se que a densidade eletrônica varia de forma contínua, podemos considerar que o intervalo de R_{par} obtido é compatível com um raio médio ponderado pelo tamanho da cadeia dodecil estendida (16,7 Å- [84]) e da parte considerada hidrofóbica da tetracaína, de 17,6 Å ([112]).

Tomando os resultados do sistema SLS/TTC/água para pH=12 (TTC desprotonada), pode-se dizer que o não crescimento das micelas indica que embora a TTC se situe no interior hidrofóbico das mesmas, e não induza alterações em suas dimensões, existe um decréscimo de mobilidade das moléculas no interior micelar, observado por RPE, pois a TTC é uma molécula mais rígida. Analogamente ao caso da TTC protonada, para pH= 12,0 não houve alterações de densidade eletrônica com a incorporação do anestésico local nas micelas de SLS.

Os efeitos da TTC carregada parecem ser diferentes dos efeitos causados pelo decanol nas micelas de SLS. Este último tende a alongar as micelas, induzindo a mudança de forma esferóide $\rightarrow$ cilindro a uma razão molar de 0,20 (anisometria parafínica $\nu > 1,8$, capítulo 3) e posteriormente cilindro $\rightarrow$ disco, a $M_d = 0,38$. A TTC, ao contrário, não altera a forma esferoidal das micelas à razão molar de 0,20. Quando protonada, induz o crescimento micelar na direção do eixo maior do agregado. Entretanto, quando TTC protonada é adicionada às micelas de SLS, ν cresce de $1,49 \pm 0,06$ para $M_{TTC} = 0$, considerando-se a espessura da camada polar de 4,6 Å, para $\nu = 1,77 \pm 0,06$ para $M_{TTC} = 0,20$ considerando $\sigma = 8$ Å. Ou seja, obtemos um valor de anisometria muito próximo ao obtido com decanol e previsto teoricamente para a transição de forma micelar esferóide $\rightarrow$ esfero-cilindro por minimização da energia de curvatura da interface polar/apolar ([65]). Contudo, a teoria é baseada num raio parafínico efetivo comparável à cadeia estendida do SLS, e concorda muito bem com a adição de decanol ao sistema, uma vez que a cadeia do decanol, embora um pouco mais curta, tem estrutura molecular similar ao SLS. Além disto, o decanol, devido à sua estrutura molecular com uma cabeça polar pequena prefere interfaces mais planas, favorecendo a transição de forma do agregado tipo esférico para tipo cilíndrico. Por outro lado, a TTC possui uma cabeça polar bem maior, favorecendo talvez a forma esférica, ao mesmo tempo

Figura 6.9: (a) Função $p(r)$ obtida para a amostra com $M_{TTC} = 0,20$, com $D_{m\acute{a}x} = 55 \text{ \AA}$; (b) (—) Curva de intensidade calculada teoricamente a partir de $p(r)$ ajustada à curva de SAXS experimental ($\square$).

Figura 6.10: (a) Função $p(r)$ obtida para a amostra com $M_{TTC}=0,20$, com $D_{m\acute{a}x}=60 \text{ \AA}$; (b) (—) Curva de intensidade calculada teoricamente a partir de $p(r)$ ajustada à curva de SAXS experimental ($\square$).

que possui uma cadeia hidrofóbica bem diferente do SLS, o que deve alterar significativamente o raio parafínico efetivo do interior hidrofóbico da micela. Assim sendo, seria necessária a realização de novos experimentos de SAXS aumentando-se a razão molar da TTC ($M_{TTC} > 0,30$) nas micelas de SLS, para que se possam investigar possíveis alterações de forma das micelas por influência de TTC carregada. Isto nos geraria subsídios para inferirmos sobre uma possível relação entre a quantidade de aditivo necessária e sua estrutura molecular que propicie uma transformação de forma micelar.

Vale a pena ressaltar que crescimento micelar e mudança de forma esfera $\rightarrow$ cilindro em micelas de SLS são observadas por adição de sal à solução aquosa ([114]; [115]; [116]; [117]; [118]; [119]). Isto porque a presença de íons na solução reduz (ou blinda) a repulsão eletrostática Coulombiana entre as cabeças polares, facilitando a aproximação das mesmas (ou seja, reduzindo a área ótima por cabeça polar, a_0). Como consequência, o sistema pode se auto-associar em micelas esferoidais mais alongadas ou mesmo cilíndricas. Entretanto, os íons se localizam perto da interface polar/apolar. Já a TTC protonada, embora também atue no sentido de reduzir a interação eletrostática entre as cabeças polares de SLS, é uma molécula menos hidrofóbica do que a molécula de SLS (cmc da TTC é da ordem de 70 mM enquanto que a cmc do SLS é 8 mM) e se incorpora no interior da micela. Deste modo, o balanço das forças de formação do agregado micelar (eletrostáticas e hidrofóbicas) sendo alterado pela incorporação de TTC, além da própria estrutura molecular da mesma (razão v/a_0l), devem favorecer a formação de agregados elipsoidais de anisometria maior.

Quanto aos resultados de SAXS do sistema HPS/TTC/água a pH=4,5, não foi observada nenhuma alteração do agregado micelar induzida pela incorporação da droga. Ao mesmo tempo, os dados de RPE mostraram que a TTC, embora incorporada, provoca um leve decréscimo da organização molecular das micelas.

Quanto às dimensões da micela de HPS, Baptista e col. ([120]) determinaram o tamanho de uma micela esférica como sendo em torno de 27 Å ($R_{par} + \sigma$, na figura 1.3). Se considerarmos o tamanho do grupo sulfonato $\approx 4,6$ Å temos um tamanho total de 32 Å. O valor de D_{max} obtido (tabela 6.2) nos dá uma anisometria parafínica $\nu \approx 1,35 \pm 0,05$, ou seja, as micelas, a esta concentração seriam esferóides com baixa anisometria. Entretanto, se considerarmos uma camada de hidratação maior em torno da região bipolar, incluindo os ânions sulfonato, conforme as funções distribuição de densidades eletrônicas mostradas na figura 6.7b, a micela tende a uma esfera.

A partir das distribuições de densidade eletrônica (figura 6.7b) foi obtido um valor de raio parafínico $R_{par} = 18$ Å para $M_{TTC}=0$, um pouco menor do que o raio de 23 Å (figura

1.3) estimado por [120]. Porém não podemos afirmar que a cadeia esteja realmente mais encolhida do que no caso anterior pois, devido ao modelo utilizado (5 níveis equidistantes de densidade eletrônica) o programa provavelmente pode ter sido forçado a escolher um dos extremos do nível onde a interface polar/apolar provavelmente ocorre, como já discutido na secção 3.5. Porém, para $M_{TTC} = 0,30$, $R_{par} = (24 \pm 1) \text{ \AA}$, compatível com o tamanho estimado por [120].

As densidades eletrônicas das micelas não sofreram alterações nem em seu interior nem na parte polar por adição de TTC a pH=4,5. Vale a pena ressaltar que a região bipolar em micelas de HPS corresponde ao nível maior de densidade eletrônica nas funções $\rho(r)$ apresentadas na figura 6.7b, consistentes com a figura 1.3.

O fato de a TTC carregada não afetar a estrutura global da micela de HPS (não alterar suas dimensões) nem alterar significativamente sua organização molecular, juntamente com a informação de que esta liga-se às micelas de HPS, nos dá indicação de que talvez apenas uma parte dela esteja penetrando no interior micelar. O grupo amino alifático da TTC se localiza provavelmente mais próximo à água. Esta parte, menos hidrofóbica, contém o nitrogênio protonado, e sua localização mais próxima à água pode ser compreendida como sendo o resultado da interação de Coulomb repulsiva entre a TTC, positivamente carregada, e a parte positiva da cabeça polar, situada no interior desta camada externa (figura 1.3 - capítulo 1). Os resultados estariam de acordo com os estudos de [32] e [121], sobre a interação de micelas de HPS com a droga papaverine por RMN ([32]; [121]) e por espectroscopia de absorção ótica ([32]). Nestes, os autores mostraram que, embora a cabeça bipolar zwitteriônica tenha carga total nula, deve existir interação eletrostática entre a parte positiva da cabeça polar do HPS e a droga carregada, sendo que o fragmento aniônico apenas atenua a carga efetiva da cabeça polar do HPS.

Capítulo 7

CONCLUSÕES

Ao longo deste trabalho estudamos a influência que certos aditivos têm sobre a estrutura micelar. Neste contexto estudamos o efeito do co-surfactante decanol em soluções concentradas de SLS em água que transitam de fases isotrópicas para líquido-cristalinas, assim como em soluções isotrópicas mais diluídas, ambos por técnicas de espalhamento de raios X. Estudamos também a influência que o anestésico local tetracaína, em suas duas formas (protonada e desprotonada), exerce sobre micelas de SLS e HPS em fases I diluídas, por técnicas de espectroscopia de fluorescência, e de RPE e por espalhamento de raios X a baixos ângulos.

Ao investigarmos as transições de fase líquido-cristalinas nos sistemas SLS/decanol/água, a 26,25% de SLS em água ($M_w = 45,2 = \text{constante}$), em função da razão molar decanol:SLS, M_d , observamos um aumento na distância média entre micelas nas vizinhanças da transição $I \rightarrow H_\alpha$, ao contrário do que acontece no sistema binário, indicando que no sistema ternário há muito mais água entre as micelas. Para o sistema ternário notou-se uma evolução na razão entre o primeiro e o segundo picos de difração, de $\frac{1}{\sqrt{3}}$ (para $M_d = 0$) para $\frac{1}{2}$ (perto da transição $I \rightarrow H_\alpha$, para $M_d = 0,195$), enquanto que no sistema binário essa relação se mantém igual a $\frac{1}{\sqrt{3}}$. Isso evidencia um empacotamento mais relaxado do sistema ternário perto da transição $I \rightarrow H_\alpha$. Os resultados mostram ainda que as micelas na fase ternária H_α têm um comportamento típico de micelas tipo cilindro infinitas e flexíveis, ao contrário do sistema binário em que elas se comportam como finitas e rígidas. Posteriormente observamos que o acréscimo gradual de decanol no sistema promove a transição $H_\alpha \rightarrow N_c$. Isto porque o decanol, por alojar-se preferencialmente nas superfícies planas, promove inicialmente um crescimento micelar na fase isotrópica, tornando as micelas infinitas e flexíveis na fase H_α . Porém existe um limite de flexibilidade, pois é desfavorável ao decanol localizar-se nas regiões de altas curvaturas da micela. Assim, um aumento na concentração de decanol deve provocar uma quebra das

micelas, induzindo o sistema à transição $H_\alpha \rightarrow N_c$. Para quantidades ainda maiores de decanol, observamos a transição $N_c \rightarrow N_d$, acompanhada novamente por mudança na forma micelar, de partícula tipo cilindro para partícula tipo disco, de acordo com o trabalho de [30].

Para sistemas a baixas concentrações de SLS (10% SLS/água, $M_w = 144,0$) nossos resultados evidenciaram que as micelas são esferoidais com anisometria parafínica $\nu \approx 1,4$ e crescem ligeiramente por influência do decanol, passando para $\nu \approx 1,6$ a $M_d = 0,18$. A subsequente adição de decanol provoca uma mudança de forma micelar esferóide $\rightarrow$ partícula tipo cilindro, para valores de M_d entre 0,18 e 0,20 e $\nu \geq 1,8$, de acordo com o estudo de estabilidade de forma micelar em função da energia de curvatura das mesmas ([65]). O valor de $M_d = 0,20$ coincide com o valor em que ocorre a transição de fase $I \rightarrow H_\alpha$ para o sistema concentrado de SLS, acompanhada por uma mudança de forma micelar esferóide $\rightarrow$ esferocilindro ([26]; [72]). O fato de que o número de moléculas de água de hidratação por cabeça polar de SLS + decanol é o mesmo ($N_H \approx 10$) tanto para o sistema isotrópico concentrado nas vizinhanças das transições de fase líquido-cristalinas ($M_w = 45,2$) quanto para os sistemas mais diluídos ($M_w = 144,0$), indica que as interações intermicelares influem pouco (ou não influem) na mudança de forma micelar, que é definida pela razão molar decanol:SLS no interior da micela.

A forma micelar tipo cilindro no sistema diluído ($M_w = 144,0$) é mantida para valores crescentes de M_d até 0,38, sendo que micelas tipo cilindro também compõem as fases H_α e N_c do sistema mais concentrado ($M_w = 45,2$) para os mesmos valores de M_d . Uma segunda mudança de forma micelar então ocorre, passando agora de partículas tipo cilindro para tipo disco, em ambos os sistemas para valores maiores de M_d (entre 0,38 e 0,40) e anisometria do cilindro ≈ 3 , de acordo com o trabalho de [30].

Portanto, a partir de nossos resultados podemos concluir que a evolução de forma micelar de agregados de SLS em solução aquosa por efeito de decanol ocorre por fatores intrínsecos às micelas (energia de curvatura da interface polar/apolar, uma vez que o decanol prefere localizar-se em interfaces planas) e que as transições de fase líquido-cristalinas dependem dessas mudanças, associadas a efeitos de concentração (volume disponível) no sistema.

Investigamos a influência do anestésico local tetracaína em micelas aquosas de 1% SLS e 1% HPS. Para isto, fizemos a titulação dos sistemas pela técnica de fluorescência, da qual determinamos os valores de $pK = 9,9 \pm 0,2$ e $pK = 7,2 \pm 0,2$, para micelas de SLS e HPS, respectivamente.

Estes resultados demonstraram que a partição da TTC na forma protonada em relação

à desprotonada é maior em micelas aniônicas de SLS, aumentando o valor de pK em relação ao sistema TTC em água, em bom acordo com dados da literatura ([38]). Este efeito é favorecido devido à interação entre as cabeças polares do detergente e o próton da TTC. Já em micelas zwitteriônicas de HPS, para as quais a interação eletrostática talvez não seja predominante, a partição da forma protonada é menor do que a da desprotonada, o que reduz o valor do pK em relação àquele da TTC em água pura, analogamente ao observado para a incorporação da dibucaína em micelas zwitteriônicas ([39]).

Para ambos os sistemas, o comprimento de onda de emissão máxima de fluorescência λ_{em} do anestésico local TTC decresce do valor de 373 nm em água para 360 ± 1 nm em micelas de SLS e 357 ± 2 nm em micelas de HPS. Assim, estes dados evidenciaram a incorporação da droga no meio micelar, uma vez que o decréscimo no valor de λ_{em} está associado a um decréscimo do valor da constante dielétrica do meio onde o fluoróforo está localizado.

Os resultados de fluorescência ainda sugeriram que o fluoróforo da TTC protonada se localiza mais perto da interface polar/apolar das micelas (maior constante dielétrica), enquanto a TTC desprotonada penetra mais o interior hidrofóbico micelar (menor constante dielétrica).

Os resultados de RPE concordam com os de fluorescência, indicando que tanto a TTC protonada como a TTC desprotonada entram nas micelas de SLS (refletido num aumento da organização molecular, observado através da relação entre as alturas de linha de campo baixo e campo médio (h_{+1}/h_0)), sendo que a TTC carregada se localiza mais próxima da interface polar/apolar, enquanto que a forma neutra do anestésico local penetra mais profundamente no interior hidrofóbico da micela. A perda de fluidez das moléculas é devida, em parte, à estrutura molecular da TTC, que é mais rígida que a do SLS. Entretanto, quando a TTC protonada está presente no sistema o decréscimo de h_{+1}/h_0 é muito maior.

Quanto às micelas de HPS, observamos que elas têm uma estrutura mais empacotada que a do SLS e a incorporação da TTC protonada não altera significativamente a organização molecular das mesmas.

Através dos resultados de raios X não foi observada nenhuma alteração nas dimensões (forma e tamanho) da micela por adição de TTC desprotonada em SLS ou protonada em HPS, até $M_{TTC} = 0,30$. Por outro lado, a formação de micelas compostas por SLS/TTC protonada é tal que micelas elipsoidais $\nu = 1,5$ a $M_{TTC} = 0$, se rearranjam em micelas mais alongadas, $\nu = 1,8$ para $M_{TTC} = 0,20$ e $M_{TTC} = 0,30$.

A soma das informações obtidas pelas três técnicas indicam, portanto, que a localização da TTC carregada em micelas compostas por SLS está na região polar ou próxima desta, go-

vernada por interações de Coulomb. A alteração no balanço das forças que regem a formação micelar, por exemplo redução da interação eletrostática entre as cabeças polares e alteração nas componentes hidrofóbicas, favorece o crescimento de micelas elipsoidais prolatas, aumentando o número de agregação. A organização molecular desses agregados micelares de SLS/TTC protonada é maior do que em micelas compostas apenas por monômeros de SLS, ou SLS/TTC neutra.

A estrutura da molécula de TTC parece favorecer a forma esferoidal das micelas, ao contrário do decanol que, com sua cabeça polar pequena e sua preferência por alojar-se em superfícies planas tende a alongar as micelas de SLS e promover a alteração de forma esferóide → esfero-cilindro, com posterior mudança esfero-cilindro → disco.

Quanto aos resultados da micela composta por HPS/TTC protonada /água, não observamos nenhuma alteração estrutural em relação ao sistema na ausência do anestésico local. Este resultado parece indicar que a TTC carregada não deve penetrar profundamente nas micelas de HPS, provavelmente com hidratação do grupo amino alifático.

Apêndice A

TABELAS E GRÁFICOS DE ESTABILIDADE

O valor ótimo de λ_L ($\lambda_{ót}$) é escolhido através da tabela e do gráfico de estabilidade, gerados pelos programas ITP e Decon através da resolução da equação 3.16. Apresentamos abaixo uma das tabelas de estabilidade obtidas (tabela A.1), como exemplo, com seu respectivo gráfico de estabilidade (figura A.1). O gráfico de estabilidade consiste no gráfico de $\log N_c$ e L para cada solução da equação 3.16, correspondente a um valor particular de λ_L . Existe um ponto de inflexão, quando a segunda derivada de $\log N_c$ ($2^a d(\log N_c)$) troca de sinal e a primeira derivada de $\log N_c$ ($1^a d(\log N_c)$) tem um valor mínimo. O valor de λ_L correspondente a este ponto corresponde ao valor de $\lambda_{ót}$. Este valor, determinado a partir da tabela de estabilidade, deve ser escolhido separadamente para cada problema. Esse ponto de inflexão deve estar, no gráfico, na região onde $\log N_c$ e L são constantes.

A tabela A.2 exhibe os valores de $\lambda_{ót}$ do programa ITP para as amostras do sistema SLS/água/decanol estudados no capítulo 3, enquanto que a tabela A.3 apresenta os valores de $\lambda_{ót}$ do programa Decon para essas mesmas amostras. As tabelas A.4 e A.5 mostram os valores de $\lambda_{ót}$ dos sistemas SLS/TTC/água e HPS/TTC/água, respectivamente, estudados no capítulo 6 por SAXS.

Tabela A.1: Tabela de estabilidade da amostra contendo 1% SLS/água, com $M_{TTC}=0,10$, e pH=6,5.

$\log \lambda$	$\log N_c$	1ºd ($\log N_c$)	2ºd ($\log N_c$)	L
-3,00	4,58	***	***	1,191
-2,00	4,58	-0,0213	0,0175	1,191
-1,00	4,60	-0,243	0,204	1,191
0,00	4,82	0,351	-0,798	1,191
1,00	4,25	2,34	-1,19	1,190
2,00	2,48	1,87	1,66	1,190
3,00	2,37	0,111	0,104	1,190
4,00	2,37	0,00899	-0,00218	1,190
5,00	2,36	0,0304	-0,0193	1,191
6,00	2,34	0,152	-0,102	1,215
7,00	2,21	0,645	-0,391	1,962
8,00	1,69	1,75	-0,710	6,618
9,00	0,467	2,97	-0,519	12,30
10,00	-1,28	***	***	14,28

Figura A.1: Gráfico de estabilidade da amostra contendo 1% SLS/água, com $M_{TTC} = 0,10$ e $\text{pH} = 6,5$, correspondente à tabela A.1. As setas mais finas definem o intervalo de estabilidade e a mais espessa corresponde ao valor de $\lambda_{\text{ót}}$ escolhido.

Tabela A.2: Valores de $\lambda_{ót}$ obtidos para o sistema contendo 10% SLS/água, com diferentes valores de M_d para a obtenção das funções $p(r)$ (programa ITP). Sistemas utilizados no capítulo 3.

Amostra	$\lambda_{ót}$		
M_d	Simetria Esférica	Simetria Cilíndrica	Simetria Lamelar
0	5,0	—	—
0,10	5,0	—	—
0,14	3,0	—	—
0,18	3,0	—	—
0,20	6,0	6,0	—
0,33	3,0	6,0	—
0,38	6,0	6,0	—
0,40	5,0	5,0	5,0
0,45	5,0	7,0	6,0

Tabela A.3: Valores de $\lambda_{ót}$ obtidos para o sistema contendo 10% SLS/água, com diferentes valores de M_d para a obtenção das funções distribuição de densidades eletrônicas (programa Decon). Sistemas utilizados no capítulo 3.

Amostra	$\lambda_{ót}$		
M_d	Simetria Esférica	Simetria Cilíndrica	Simetria Lamelar
0	2,0	—	—
0,10	3,0	—	—
0,14	2,0	—	—
0,18	2,0	—	—
0,20	2,0	5,0	—
0,33	3,0	7,0	—
0,38	1,0	0,0	—
0,40	0,0	1,0	1,0
0,45	5,0	0,0	2,0

Tabela A.4: Valores de $\lambda_{ót}$ obtidos para o sistema contendo 1% SLS/água, com diferentes valores de M_{TTC} , para pH=6,5 e pH=12, para obtenção das funções $p(r)$ (programa ITP) e funções distribuição de distâncias (programa Decon). Sistemas utilizados no capítulo 6.

Amostra (M_{TTC})	pH	$\lambda_{ót}$ (ITP)	$\lambda_{ót}$ (Decon)
0	6,5	6,0	0,0
0,10	6,5	4,0	0,0
0,20	6,5	4,0	0,0
0,30	6,5	3,0	1,0
0	6,5	4,0	1,0
0,10	12	4,0	1,0
0,20	12	5,0	1,0
0,30	12	4,0	1,0

Tabela A.5: Valores de $\lambda_{ót}$ obtidos para o sistema contendo 1% HPS/água, para $M_{TTC}=0$ e $M_{TTC}=0,30$, para pH=4,5, para obtenção das funções $p(r)$ (programa ITP) e funções distribuição de densidades eletrônicas (programa Decon). Sistemas utilizados no capítulo 6.

Amostra (M_{TTC})	$\lambda_{ót}$ (ITP)	$\lambda_{ót}$ (Decon)
0	5,0	0,0
0,30	5,0	-1,0

Apêndice B

TRABALHO PUBLICADO

**Decanol Effect on Micellar Structure and
Phase Transitions**

Decanol Effect on Micellar Structure and Phase Transitions

**Cilaine Verônica Teixeira, Rosangela Itri, and
Lia Queiroz do Amaral**

Instituto de Física da USP, C.P. 66318, São Paulo, 05315-970, Brazil

Langmuir[®]
The ACS Journal of Surfaces and Colloids

Reprinted from
Volume 15, Number 4, Pages 936-939

Decanol Effect on Micellar Structure and Phase Transitions

Cilaine Verônica Teixeira, Rosangela Itri,* and Lia Queiroz do Amaral

Instituto de Física da USP, C.P. 66318, São Paulo, 05315-970, Brazil

Received May 22, 1998. In Final Form: October 5, 1998

Concentrated micellar solutions of the binary system sodium lauryl sulfate-water and the ternary system sodium lauryl sulfate-water-decanol have been studied by X-ray diffraction in the vicinity of the isotropic (I)-type I hexagonal (H_α) liquid-crystal phase transitions. Results show how decanol affects the I $\rightarrow$ H_α phase transition. In the binary system there is a close packing of micelles in a local hexagonal order in the I phase, and the H_α phase has a behavior typical of finite/hard objects. In contrast, in the ternary system the close packing is relaxed through a micellar growth, and the H_α phase has a behavior typical of infinite/flexible objects. An intriguing phase sequence H_α -nematic cylindrical (N_c) with an increase in the decanol content is also investigated, and it is attributed to a combined effect of micellar growth and change in rigidity with decanol addition.

I. Introduction

Concentrated solutions of amphiphilic materials in water present a rich polymorphism^{1,2} depending on concentration and temperature. The typical sequence of positional growing order with increasing amphiphile concentration is isotropic (I)-type I hexagonal (H_α)-lamellar (L_α), where the α symbol refers to disordered paraffin chains. Addition of a long-chain alcohol and/or salt to concentrated amphiphilic/water systems can yield lyotropic nematic N phases with finite anisotropic aggregates having long-range orientational order.^{3,4} The role of alcohol in changing the aggregation process, leading to islands of nematic phases in ternary phase diagrams, is not yet understood.

The amphiphile sodium dodecyl (lauryl) sulfate (SLS) has been widely studied in isotropic micellar solutions. The binary SLS/water system shows H_α and L_α phases² with some intermediate phases with long-range positional order,⁵ while a nematic domain⁶⁻⁸ is obtained in the ternary system by decanol addition.

The SLS/water system has been studied by small-angle X-ray scattering (SAXS) in our group from lower concentrations⁹ up to the vicinity of the I- H_α phase transition,^{10,11} which occurs at 40 wt % of SLS (mole ratio water/SLS, $M_w = [\text{water}]/[\text{SLS}]$, of 24.0), as well as its H_α domain.¹² In addition, I samples with decanol addition to the binary

system with 26 wt % of SLS ($M_w = 45.2$) up to mole ratio decanol/SLS, $M_d = [\text{decanol}]/[\text{SLS}]$, of 0.139 were also previously investigated.¹¹ Further, an H_α phase and a nematic cylindrical (N_c) were encountered at $M_d = 0.195$ and 0.286, respectively.¹¹ The sequence of phases I- H_α - N_c - N_d (nematic discotic)- L_α was observed by Quist et al.⁸ in the region of higher amphiphilic concentration. The phase diagram of Quist et al.⁸ reproduced the nematic domain previously found by Amaral et al.^{6,7} at lower SLS concentration and the limits of the H_α phase obtained by Ekwall² when the nematic domain was not known yet.

In a previous paper,¹¹ analysis of the isotropic curves in terms of particle form factor and interference function¹³ allowed the determination of the paraffinic micellar anisometry, which corresponds to the ratio between the longest and the shortest axes of a paraffinic prolate ellipsoid. Results were compared with theories of self-assembling,¹⁴ which predicted I-H and I-N-H phase transitions.

However, some questions remain open such as how decanol affects the micellar structure and induces phase transitions. Decanol allows the appearance of an intermediate long-range orientational order phase (nematic) between two long-range positional order phases, H_α and L_α , in contrast with the system without decanol. It also reverts the phase sequence, since the transitions observed with decanol addition are I- H_α - N_c , while theories predict I-N-H. In a recent paper¹⁵ the N_c - N_d transition in three different amphiphilic systems was explained in terms of changes in the micellar shape (from spherocylinder to planar) induced by requirements of the elastic bending energy of the polar/apolar interface. This happens because it is energetically favorable for the decanol to stay at flatter interfaces.

To investigate the micellar structures at I- H_α - N_c phase transitions, samples at fixed $M_w = 45.2$ with M_d ranging from 0.14 to 0.38 are now studied by means of X-ray diffraction, complementing the previous work.¹¹ The results show a narrow H_α domain, confirming the phase sequence I- H_α - N_c - N_d . Accordingly, both binary and

(1) Luzzati, V. In *Biological Membranes*; Academic: London, 1968; Chapter 3, p 71. Tiddy, G. J. T. *Phys. Rep.* **1980**, *57*, 2.

(2) Ekwall, P. In *Advances in Liquid Crystals*; Academic: London, 1975; Vol. 1, p 1.

(3) Amaral, L. Q.; Pimentel, C. A.; Tavares, M. R.; Vanin, J. A. J. *Chem. Phys.* **1979**, *71*, 2940.

(4) Charvolin, J.; Levelut, A. M.; Samulski, E. T. *J. Phys. Lett.-Paris* **1979**, *40*, L587. Hendriks, Y.; Charvolin, J. *J. Phys.-Paris* **1981**, *42*, 1427.

(5) Kekicheff, P.; Cabane, B. *J. Phys.-Paris* **1987**, *48*, 1571.

(6) Amaral, L. Q.; Helene, M. E. M.; Bittencourt, D. R.; Itri, R. J. *Phys. Chem.* **1987**, *91*, 5949.

(7) Amaral, L. Q.; Helene, M. E. M. *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 6094.

(8) Quist, P. O.; Halle, B.; Furó, I. *J. Chem. Phys.* **1991**, *95*, 6945.

(9) Itri, R.; Amaral, L. Q. *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 423; *J. Appl. Crystallogr.* **1994**, *27*, 20.

(10) Itri, R.; Amaral, L. Q. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 2198.

(11) (a) Itri, R.; Amaral, L. Q. *Phys. Rev. E* **1993**, *47*, 2551. (b) Erratum in *Phys. Rev. E* **1988**, *58*, 1173, regarding the H_α phase in the ternary system in the phase sequence I- H_α - N_c with increasing decanol amount.

(12) Amaral, L. Q.; Gulik, A.; Itri, R.; Mariani, P. *Phys. Rev. A* **1992**, *46*, 3548. Itri, R.; Amaral, L. Q.; Mariani, P. *Phys. Rev. E* **1996**, *54*, 5211.

(13) Hayter, J. B.; Penfold, J. *Mol. Phys.* **1981**, *42*, 109. Hansen, J. P.; Hayter, J. B. *Mol. Phys.* **1982**, *6*, 651.

(14) Taylor, M. P.; Herzfeld, J. *Phys. Rev. A* **1991**, *43*, 1892.

(15) Amaral, L. Q.; Santin Filho, O.; Taddei, G.; Vila-Romeu, N. *Langmuir* **1997**, *13*, 5016.

ternary systems present direct I-H_a phase transitions, although the characteristics of the H_a phases are quite different as shown below. We extend the discussion to the intriguing H_a-N_c phase transition with an increase of the decanol content in the ternary system that may occur because of changes in micellar flexibility/rigidity, based on some available theories.^{14,16,17}

II. Experimental Section

Commercial Merck SLS (99% purity), deionized and double-distilled water, and BDH decanol were used to prepare the samples according to the procedure previously described.¹⁰ Materials were used as purchased because this gave good reproducibility of phase diagrams, while attempts of further recrystallization did not lead to good reproducibility. Isotropic solutions composed of 26.15 wt % ($M_w = 45.2$) with M_d changing up to 0.139 had already been obtained and studied in a previous work.¹¹ For this work more samples were prepared, extending the decanol amount up to $M_d = 0.38$.

All samples were conditioned in sealed 1.0 mm (inner diameter) glass cylindrical capillaries and investigated at room temperature ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) by X-ray diffraction using a photographic technique (Laue transmission geometry, 10 cm sample-detector distance, Cu K α with a Ni filter). A permanent magnet of 2 kG was used to characterize the N phases.¹⁸

The X-ray characterization of the H_a phases was complemented by polarized optical microscope observations. A Wild (Orthoplan-pol) microscope was used, equipped with crossed polarizers and a temperature controller.

The samples were homogeneous and no phase separation was observed in the capillaries and in the sample tubes, indicating that all samples here reported were in a single phase during the measurements.

III. Results

SAXS curves of SLS/water/decanol solutions in an I phase up to $M_d = 0.139$ ($M_w = 45.2$, fixed) were shown in the previous work.¹¹ A sample with $M_d = 0.195$ was characterized as a H_a phase and that with $M_d = 0.286$ as a N_c phase by X-ray diffraction.¹¹ To investigate the decanol influence on both micellar structure and liquid-crystal phases in the ternary system, more samples are now investigated between I and N_d phases.

Figure 1 shows the line investigated in this work compared with the previous phase diagram for the ternary system at 25°C .^{2,6-8} Although the nominal purity of the amphiphile is apparently the same here and in Quist et al.'s work,⁸ the suppliers are different and small differences in purity could be responsible for slight variations in phase boundaries and in the range of phase coexistence. The phase boundaries also depend on the temperature, since there is an intriguing N_c-H_a transition with temperature increase.⁸ The H_a phases here detected are therefore not inconsistent with the previous phase diagrams.^{7,8}

The X-ray diffraction peak positions, s^{-1} ($s = 2 \sin \theta / \lambda$, where 2θ and λ are the scattering angle and the wavelength, respectively), related to the intermicellar distance (center-to-center spacing), were obtained by a photographic method. The results for the SLS/water system up to the I $\rightarrow$ H_a phase transition were already presented in a previous work.¹⁰ The position of the first peak in the I phase showed a functional behavior $s^{-1} \propto c_v^{-1/3}$,¹¹ where c_v is the amphiphilic volume fraction, typical of rigid finite micelles with the water amount decreasing in all three dimensions. Figure 2 shows the s^{-1} values for the SLS/water/decanol phases. The new results evidence the

Figure 1. Line of the present work compared with the phase diagram from Quist et al.,⁸ which includes the nematic domain previously localized by Amaral et al.^{6,7} and the limits of the hexagonal phase given by Ekwall,² when the N domain was not known. Small biaxial islands localized later are far away from the line of the present work²⁰ and do not appear in this figure.

Figure 2. s^{-1} values obtained from photographs of samples with a fix water/SLS mole ratio, M_w , of 45.2, and variable decanol/SLS mole ratio, M_d : ■ = first observed diffraction peak and ● = second observed peak for I, N_c, and N_d phases; ▲, △, and ○ correspond to 1:√3:√4 diffracted peak positions in the H_a phases. The first diffraction peak position for samples with up to $M_d = 0.139$ and for a sample with $M_d = 0.286$ had been previously reported.^{11a} The X-ray photograph from a sample with $M_d = 0.195$, which presents three H_a diffraction peaks, has also been presented elsewhere.^{11b}

evolution of the ratio between the first and second diffraction peak positions with increasing decanol amount.

The observed phase sequences for increasing M_d values are as follows (the shown M_d value corresponds to the last studied sample in the previous phase):

The H_a phases are well-defined by the presence of three X-ray diffraction peaks ($s^{-1} = d$, interplanar spacing) with the ratio 1:√3:√4 for temperatures above 20°C . An I-H_a biphasic exists, however, for temperatures between 14 and 20°C .

The samples with M_d from 0.25 up to 0.35 are characterized as N_c phases, while $M_d = 0.38$ as a N_d phase, in

(16) Hentschke, R.; Herzfeld, J. *Phys. Rev. A* **1991**, *44*, 1148.

(17) van der Schoot, P. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 1130.

(18) Amaral, L. Q. *J. Appl. Crystallogr.* **1989**, *22*, 519. Santos Bittencourt, D. R.; Amaral, L. Q. *Liq. Cryst.* **1989**, *4*, 283.

agreement with what has been previously found.⁷ The observation of a direct $N_c \rightarrow N_d$ phase transition for this M_w value had already been reported.¹⁹ Biaxial islands between N_c and N_d regions have been recently observed²⁰ in concentrations different from those of the current work.

An analysis of the diffraction peak positions follows below.

First Peak Position. From Figure 2 one can see that the s^{-1} value increases upon gradual decanol addition in the I phase. Such behavior evidences, contrarily to what was observed in the binary phases, an increase of the mean distance among micelles up to the vicinity of the I- H_α phase transition. The first interference peak position does not change anymore from H_α up to N_d phase, indicating that the system keeps the average distance between micelles in the shorter direction. The results obtained in N_c phases, well-oriented by surface effects, showed diffraction only in the equator, without any scattering parallel to the director. As a consequence, it was not possible to extract any information about micellar anisotropy in the N_c phase from these data, as is possible when diffraction in two perpendicular directions is present.²¹

From s^{-1} values, the hexagonal cell parameter $a = 67.9 \pm 0.7$ Å is obtained in the small H_α domain, quite larger than that observed in the binary system, $a = 53.7$ Å, right after the I- H_α phase transition.¹⁰ It should be remarked, however, that the H_α domain is too small to allow a definition of the dependence between a and c_v , as was possible in the binary system.¹²

Second Peak Position. A striking result refers to the position of the second peak in the I phase. The second peak is not usually present in the lipid systems^{3,4} and appears in the SLS system because of the particular ratio between the micellar radius and the intermicellar distance.⁶ In the binary SLS/water system the second peak has a ratio close to $1:\sqrt{3}$,¹⁰ evidencing some local hexagonal packing before the I- H_α transition. In the ternary SLS/water/decanol system, on the contrary, the second peak has a ratio which evolves from $1:\sqrt{3}$ (at $M_d = 0$) up to almost 1:2 as M_d increases. Hence, this ratio indicates changes in the way the H_α phase is approached in the binary and ternary systems, as is discussed below.

IV. Discussion

The results for the SLS/water system showed¹¹ a paraffinic micellar anisotropy, ν , of 2.4, which leads to a particle number density, n_p , of 5×10^{-6} micelles/Å³ in the vicinity of the I- H_α phase transition. For the SLS/water/decanol system, the values were $\nu = 3.0$ and $n_p = 3.7 \times 10^{-6}$ micelles/Å³.¹¹ It is clear that for the ternary system the decanol addition promotes micellar growth,¹¹ as is expected from arguments of bending energy,^{22,23} whereas the particle number decreases. Therefore, the system rearranges in a smaller number of longer micelles. Decanol promoting an increase in micellar size is better understood in terms of a spherocylinder (SC) shape. Decanol would avoid the high curvature of spherical caps and preferably enter the cylindrical body.^{22,23} The anisotropy of a SC of the same volume as a prolate ellipsoid is smaller, but the trend observed would not change with the detailed form adopted.

Table 1. Amphiphile Volume Concentration, c_v , where the I- H_α Transition occurs; Hexagonal Cell Parameter, a , right after the I- H_α Phase Transition; $2R_{tot}/s^{-1}$ and L/s^{-1} values in the I Phase near the Transition; $2R_{tot}/a$ and L/c values in the H_α Phase near the Transition (where R_{tot} corresponds to the sum of the Extended Dodecyl Chain, 16.7 Å, and of the Polar Head of an Average Diameter of 4.6 Å)^{27,a}

	c_v	a (Å)	I		H_α	
			$2R_{tot}/s^{-1}$	L/s^{-1}	$2R_{tot}/a$	L/c
binary	0.343	53.7	0.91	1.2	0.79	0.80
ternary	0.265	67.9	0.75	1.2	0.63	1.00

^a A value of $R_{ef} = 18.4$ Å (effective radius, corresponding to the "micelle without water", correlated to c_v)¹² was used to calculate L/c in the H_α phase (see text for details). L corresponds in the I phase to the micellar length for a cylindrical particle of the same volume as that of the equivalent paraffinic ellipsoid of anisotropy ν .

Regarding the question of the local order in the vicinity of the I- H_α transition, an analysis of the binary system has already been discussed in detail:¹⁰ the presence of a second peak with ratio $1:\sqrt{3}$ favors a local hexagonal order. The shift of this peak to a 1:2 ratio in the ternary system, however, does not imply necessarily a different symmetry in the local order. This shift occurs at the same time as the micelle grows, and more water is placed between micelles (Figure 2). Further, the ternary H_α phase is formed at a larger M_w value (smaller amphiphilic volume concentration, c_v) and hence a larger water amount in relation to the binary phase. Thus, the close packing is relaxed, and a structure more typical of the liquid state is observed. The "pseudolamellar" second order,⁶ therefore, seems to be related to such a "liquidlike" structure and not necessarily to a change in the local symmetry or in the number of first neighbors.

A more quantitative analysis of the I- H_α transitions can be made by comparing $2R/s^{-1}$ and L/s^{-1} values of the I phase with $2R/a$ and L/c values of the H_α phases reported. R and L are respectively the radius and length of a cylindrical micelle, while a and c are the average intermicellar distances in the hexagonal plane and in its perpendicular direction. The exact c value is unknown, but the L/c ratio can be obtained from X-ray data and sample composition as $L/c = \sqrt{3}a^2c_v/2\pi R^2$.^{12,24}

It has been shown in detail elsewhere^{12,14,16,24} that the condition $L/c = 2R/a$ for the distribution of the finite/rigid objects in three dimensions leads to a behavior $a \propto c_v^{-1/3}$ while for infinite/flexible objects a behavior $a \propto c_v^{-1/2}$ is obtained from the condition $L/c = 1$, which corresponds to a two-dimensional swelling. In the binary SLS/water system, the obtained a values, over a sufficiently long range of c_v , gave a clear dependence $a \propto c_v^{-1/3}$,¹² evidencing finite/rigid micelles in the H_α phase. In the ternary system here reported, the range of the H_α phase is too small to allow the direct determination of the variation of a with c_v . However, the comparison of values of $2R/a$ and L/c can give the necessary information on the distribution of micelles in space. Table 1 shows the results. The local anisotropy in the concentrated I phase is clear since micelles cannot rotate freely with $L/s^{-1} \sim 1.2$. Notice that this value is minimized by the cylindrical model and would be larger for ellipsoids or SC of the same volume. The occupancy in the plane perpendicular to the micellar axis is considerably lower in the ternary system.

(19) Amaral, L. Q. *Liq. Cryst.* **1990**, *7*, 877.

(20) Quist, P. O. *Liq. Cryst.* **1995**, *18*, 623.

(21) Hendriks, Y.; Charvolin, J.; Rawiso, M.; Liebert, L.; Holmes, M. C. *J. Phys. Chem.* **1983**, *87*, 3991.

(22) Gelbart, W. M.; McMullen, W. E.; Master, A.; Ben-Shaul, A. *Langmuir* **1985**, *1*, 101.

(23) Taddei, G.; Amaral, L. Q. *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 6102.

(24) Mariani, P.; Amaral, L. Q. *Phys. Rev. E* **1994**, *50*, 1678. Mariani, P.; Amaral, L. Q.; Saturni, L.; Delacroix, H. *J. Phys.-Paris* **1994**, *4*, 1393.

The results evidence a clear difference due to the decanol effect on the $I-H_a$ transition. The H_a phase in the binary system satisfies the condition $L/c = 2R/a$, typical of finite/rigid (even if long) micelles,^{12,14} while the H_a phase in the ternary system is shown here to have $L/c = 1$, a behavior typical of infinite/flexible micelles.^{12,16,25}

A previous analysis of an H_a phase in a slightly more concentrated region by Quist et al.⁸ in the ternary system gave results consistent with those here reported. Their X-ray data analyzed with the hypothesis of infinite-rod micelles led to a cylinder radius compatible with the extended chain. Their NMR data required a marked flexibility to account quantitatively for the relaxation data. Note that in the binary system the hypothesis of the infinite rod leads to a cylinder radius that is much shorter than the extended chain.¹²

V. Comparison with Theories

Statistical mechanics models have been developed for the cases of hard finite rods,¹⁴ persistent flexible hard rods,¹⁶ and wormlike micelles.¹⁷ All theories present phase diagrams as a function of particle volume concentration with the same topology. There is a triple point that separates $I-H$ and $I-N-H$ phase transitions. In the case of finite/rigid objects, the phase diagram is a function of the association free energy Φ (which defines the particle length). In the case of flexible long rods, the phase diagram is a function of P/D (P is a persistent length and D is the micelle diameter), with the axial ratio L/D (L contour length) as a parameter. The direct $I-H$ transition is expected in the limits of small rigid objects or very flexible long objects (wormlike limit) in the I phase. In the former a marked increase in micellar size is expected at the transition.

The binary SLS/water system is in the limit of a direct $I-H$ transition, because it does not show a nematic domain. The results of small micelles in the I phase⁹⁻¹¹ as well as the exponent $1/3$ for the intermicellar distance in the H_a phase¹² show that the binary system is composed of hard finite micelles. A comparison with the theory of Taylor and Herzfeld has already been presented.¹¹ Further, the micellar length in the binary H_a phase with rigid rods was estimated¹² to correspond on the average to $L/2R \approx 6$ with a maximum smaller than 16. Thus, there is an increase in micellar size at the $I-H_a$ transition.¹²

The direct $I-H_a$ transition also occurs for small decanol content (smaller than 3.5 wt % of decanol). The expected theoretical phase sequence $I-N_c-H_a$ occurs only for around 4 wt % of decanol and between 24.5 and 27 wt % of SLS, as can be seen in Figure 1. This means that only for these concentrations are the micelles in the correct range of length and rigidity to induce the appearance of the N_c phase as predicted by theories.

The results here reported indicate a "crossover" from the finite/rigid model to the infinite/flexible model for the H_a phase with an increase in the decanol content, which is not accounted for by any theory. This crossover must occur at the H_a-N_c transition, since the nearby nematic phase is considered to be made up of small objects.²⁶ This

can be rationalized only by admitting that a breaking of micelles must occur at the H_a-N_c transition and, conversely, that a large increase in micellar size must occur at the N_c-H_a transition. Note that in the line at 4 wt % of decanol the phase sequence N_c-H_a corresponds to a decrease in M_d , while in the line investigated here the H_a-N_c transition corresponds to an increase in M_d . Thus, there is no inconsistency.

Under this picture it is also possible to understand the $I-H_a-N_c$ phase sequence observed at higher SLS concentrations⁸ and also here reported, which is not predicted by any of the theories. The direct $I-H_a$ transition occurs in conditions predicted by the theories. However, the following H_a-N_c transition requires a rearrangement of amphiphile/decanol molecules as the decanol fraction increases, which needs other arguments to be explained.

Decanol promotes initially a micellar growth, since the decanol molecules prefer to be localized in the body of SC micelles. For the line of the phase diagram here investigated ($M_w = 45.2$) (Figure 1), micelles are still relatively small and rigid in the ternary I phase ($\nu = 3.0$)¹¹ but growing and becoming flexible at the H_a phase. However, an increase in the decanol content may destabilize the H_a phase.

It has been shown that the existence of the N_c phase requires a certain rigidity of semiflexible micelles.¹⁷ This means that the micellar rigidity starts to increase when the decanol/SLS fraction (M_d) increases too much. The reason for such an effect can be attributed to the resistance of the decanol in fitting higher curvature regions^{15,22,23} necessary for folding, inhibiting the formation of truly flexible wormlike micelles.

After the breaking, more rigid and shorter micelles presented in the N_c phase will have a larger decanol mole fraction in the body of the spherocylinder than in the H_a phase but still without decanol in the hemispherical caps. Only with a further decanol increase, at the N_c-N_d transition, the mole fraction of the cylindrical body imposes a change in micellar form, as extensively discussed in ref 15 by one of us (L.Q.A.).

It should be remarked that the very intriguing N_c-H_a transition with an increase in temperature⁸ could also occur as a consequence of increased micellar flexibility.

In summary, the effect of decanol is twofold: in the I phase it promotes initially micellar growth, because it stays in the body of the SC micelles and this allows the appearance of the N phase after an $I-N_c$ transition for low SLS concentrations, according to the phase diagram of Figure 1; it also influences the characteristics of the ternary H_a phase, where the micelles switch from the finite/rigid behavior to the infinite/flexible behavior. However, an excess of decanol tends to promote other changes in micellar structure, either destabilizing the H_a phase leading to the $I-H_a-N_c$ phase sequence (break of micelles because of difficulties in folding) or inducing N_c-N_d transition through changes of micellar form in favor of flat surfaces.¹⁵

Acknowledgment. Thanks are due to FAPESP, CNPq, and FINEP foundations for financial support. C.V.T. had a postgraduate fellowship from CAPES. We also thank Dr. Ourides Santin Filho for help in optical microscope observations.

LA980606P

(25) Amaral, L. Q.; Itri, R.; Mariani, P.; Micheletto, R. *Liq. Cryst.* **1992**, *12*, 913.

(26) Quist, P. O.; Halle, B.; Furó, I. *J. Chem. Phys.* **1992**, *96*, 3875.

(27) Stigter, D. *J. Phys. Chem.* **1964**, *68*, 3603.

Bibliografia

- [1] Tanford,C.
1973, *The Hydrophobic Effect*, Wiley: New York
- [2] Israelachvili,J.N.; Mitchell,D.J.; Ninham,B.W.
1976, J.Chem. Soc. Faraday Trans. 2, 72, 1525-1568
- [3] Wennerström,H.; Lindmann,B.
1979, Phys. Rep., 52 (1) 1-86
- [4] Israelachvili,J.N.; Marcelja,S.; Horn,R.G.
1980, Quart.Rev.Biophys., 13(2), 121-200
- [5] McMullen,W.E.; Ben-Shaul,A.; Gelbart,W.M.
1984, J. Coll.Int. Sci., 98, 2, 523-536
- [6] Luzzati,V.
1968, em *Biological Membranes*; Academic Press:London, cap. 3, pág. 71
- [7] Ekwall,P.
1975, em *Advances in Liquid Crystals*, Academic London, vol.1, pág. 1
- [8] Tiddy,G.J.T.
1980, Phys.Rep., 57, 1, 1-46
- [9] Charvolin,J.; Sadoc,J.F.
1988, J. de Phys., 49, 521-526
- [10] Kékicheff,P.; Cabane,B
1987, J.Phys.-Paris, 48, 1571-1583

- [11] Auvray,X.; Petipas,C.; Anthore,R.; Rico,I.; Lattes,A.
1989, J. Phys. Chem., 93, 7458-7464
- [12] Covino,B.G.; Vassallo,H.G.
1976, em *Local Anesthetics. Mechanisms of Action and Clinical Use*, Kitz,R.J. & Laver,M.B., eds. - Grune & Stratton, New York
- [13] Covino,B.G.
1986, Br.J.Anaesth., 58, 701
- [14] Seeman,P.
1972, Pharmacol. Rev., 24, 583
- [15] Matsuki,H.; Kaneshina,S.; Kamaya,H.; Ueda,I.
1998, J.Phys. Chem. B, 102, 3295-3304
- [16] Strichartz,G.R.; Ritchie,J.M.
1987, *Local Anesthetics*, Strichartz,G.R., ed., Springer-Verlag Berlin, 21-52
- [17] Elliot,J.R.; Haydon,D.A.
1989, Biochim.Biophys. Acta, 988, 257
- [18] Mrose,H.E.; Ritchie,J.M.
1978, J. Gen. Physiol., 71, 223
- [19] Lee,A.G.
1976, Nature, 262, 545-548
- [20] Trudell,J.R.
1977, Anesthes., 46, 5-10
- [21] Frezzatti,W.A.Jr.; Toselli,W.R.; Schreier,S.
1986, Biochim. Biophys. Acta, 860, 531-538
- [22] Amaral,L.Q.; Helene,M.E.M.; Bittencourt,D.R.; Itri,R.
1987, J.Phys.Chem., 91, 5949-5953
- [23] Amaral,L.Q.; Helene,M.E.M.
1988, J.Phys.Chem, 92, 6094-6098

- [24] Quist,P.O.; Halle,B.; Furó
1991, J.Chem.Phys, 95, 6945-6961
- [25] Itri,R.; Amaral,L.Q.
1990, J. Phys.Chem., 94, 2198-2202
- [26] Itri,R.; Amaral,L.Q.
1993, Phys. Rev.E, 47, 2551-2557; Errata em [27]
- [27] Itri,R.; Amaral, L.Q.
1998, Errata de [Itri & Amaral, 1993], Phys. Rev.E, 58, 1173
- [28] Amaral,L.Q.
1990, Liq. Cryst., 7(6), 877-881
- [29] Quist,P.O.
1995, Liq. Cryst., 18(4), 623-629
- [30] Amaral,L.Q.; Santin Filho,O.; Taddei,G.; Vila-Romeu,N.
1997, Langmuir, 13, 5016-5021
- [31] Gelbart,W.M.;McMullen,W.E.; Masters,A.; Ben-Shaul,A.
1985, Langmuir, 1, 101-103
- [32] Yushmanov,V.E.; Perussi,J.R.; Imasato,H.; Ruggiero,A.C.; Tabak,M.
1994, Bioph. Chem., 52, 157-163
- [33] de Paula,E.; Schreier,S.
1995, Biochim. Biophys. Acta, 1240, 25-33
- [34] Suko,J.; Winkler,F.; Scharinger,B.; Hellmann,G.
1976, Biochim. Biophys. Acta, 443, 571-583
- [35] Chazotte,B.; Vanderkooi,G.; Chignell,D.
1982, Biochim.Biophys. Acta. 680, 310-316
- [36] Tanford, C.
1980, em *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, 2ª
edição, Wiley, New York

- [37] Mittal,K.L.; Lindman,B., eds.
1984, em *Surfactants in Solution*, Vol 1-3, Plenum Press, New York
- [38] Garcia-Soto,J.; Fernández,M.S.
1983, *Biochim.Biophys. Acta*, 731, 275-281
- [39] Louro,S.R.W.; Nascimento,O.R.; Tabak,M.
1994, *Biochim. Biophys. Acta*, 1190, 319-328
- [40] Desai,S.; Hadlock,T.; Messam,C.; Chafetz,R.; Strichartz,G.
1994, *J. Pharmacol. Exp.Ther.*, 271(1), 220-228
- [41] Borissevitch,I.E.; Borges,C.P.F.; Yushmanov,V.E.; Tabak,M.
1995, *Biochim. Biophys. Acta*, 1238, 57-62
- [42] Vandam,L.D.
1987, em *Local Anesthetics*, Strichartz,G.R., ed., Springer-Verlag Berlin, 1-19
- [43] Fernández, M.S.
1980, *Biochim. Biophys. Acta*, 597, 83-91
- [44] de Paula,E.; Schreier,S.
1996, *Braz. J. Med. Biol. Research*, 29, 877-894
- [45] Fernández,M.S.
1981, *Biochim. Biophys. Acta*, 646, 27-30
- [46] Skou,J.C. 1954, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 10, 281-337
- [47] de Jong,R.H.
1977, em *Local Anesthetics*, Charles C. Thomas, Springfield, IL.
- [48] Satake,H.; Matsuki,H.; Kaneshina,S.
1993, *Coll.Surf. A: Physic.Eng.Aspects*, 71, 135-140
- [49] Hille,B.
1977, *J.Gen. Physiol.*, 69, 475-496
- [50] Amaral,L.Q.; Pimentel,C.A.; Tavares,M.R.; Vanin,J.A.
1979, *J. Chem. Phys.*, 71(7), 2940-2945

- [51] Charvolin, J.; Levelut, A.M.; Salmuski, E.T.
1979, J.Phys.Lett.-Paris, 40, L587-L592
- [52] Hendrikx, Y.; Charvolin, J.
1981, J.Phys-Paris, 42, 1427-1440
- [53] Itri, R.; Amaral, L.Q.
1991, J.Phys.Chem, 95, 423-427
- [54] Itri, R.; Amaral, L.Q.
1994, J.Appl.Cryst., 27, 20-24
- [55] Amaral, L.Q.; Gulik, A.; Itri, R.; Mariani, P.
1992, Phys.Rev.A, 46, 3548-3550
- [56] Itri, R.; Amaral, L.Q.; Mariani, P.
1996, Phys.Rev.E, 54(5), 5211-5216
- [57] Hayter, J.B.; Penfold, J.
1981, Mol. Phys., 42 (1), 109-118
- [58] Hansen, J.P.; Hayter, J.B.
1982, Mol. Phys., 46(3), 651-656
- [59] Taylor, M.P.; Herzfeld, J.
1991, Phys.Rev.A, 43(4), 1892-1904
- [60] Itri, R.
1991, tese de doutorado apresentada ao IFUSP
- [61] Teixeira, C.V.
1994, dissertação de Mestrado apresentada ao IFUSP
- [62] Amaral, L.Q.
1989, J. Appl. Cryst., 22, 519-522
- [63] Santos Bittencourt, D.R.; Amaral, L.Q.
1989, Liq. Cryst., 4, 3, 283-292

- [64] Hendrikx,Y.; Charvolin,J.; Rawiso,M.; Liébert,L.; Holmes,M.C.
1983, J.Phys Chem., 87, 3991-3999
- [65] Taddei,G.; Amaral,L.Q.
1992, J.Phys. Chem., 96, 6102-6104
- [66] Mariani,P.; Amaral,L.Q.
1994, Phys. Rev. E, 50(2), 1678-1681
- [67] Mariani,P.; Amaral,L.Q.; Saturni,L.; Delacroix,H.
1994, J.Phys- Paris, 4, 1393-1416
- [68] Hentschke,R.; Herzfeld,J.
1991, Phys.Rev. A, 44(2), 1148-1155
- [69] Amaral,L.Q.; Itri,R.; Mariani,P.; Micheletto,R.
1992, Liq.Cryst., 12—(6), 913-919
- [70] van der Schoot,P.
1996, J.Chem.Phys., 104(3), 1130-1139
- [71] Quist.P.O.; Halle,B.; Furó,I.
1992, J. Chem. Phys., 96 (5), 3875-3891
- [72] Teixeira,C.V.; Itri,R.; Amaral,L.Q.
1999, Langmuir, 15, 4, 936-939
- [73] Glatter,O.
1977, Acta Phys.Austr., 47, 83-102
- [74] Guinier,A.; Fournet,G.
1955, em *Small Angle Scattering of X-Rays*, Wiley: New York
- [75] Glatter,O.; Kratky,O.
1982, em *Small Angle X-ray Scattering*. Academid Press:London
- [76] Azároff,L.V.
1968, em *Elements of X-ray crystallography*. McGraw-Hill: New York

- [77] Glatter, O.
1977, *Journal Appl. Cryst.*, 10, 415-421
- [78] Moore, P.B.
1890, *J. Appl. Cryst.*, 13, 168-175
- [79] Svergun, D.I.; Semenyuk, A.V.; Feigin, L.A.
1988, *Acta Cryst.*, A44, 244-250
- [80] Glatter, O.
1981, *J. Appl. Cryst.*, 14, 101-108
- [81] Müller, K., Glatter, O.
1982, *Makrom. Chem.*, 183, 465-479
- [82] Müller, K.
1987, 10^a Conferência sobre espalhamento em baixo ângulo e métodos relacionados.
Praga, Tchecoslováquia; comunicação privada de resultados não publicados
- [83] Glatter, O.
1984, *J. Appl. Cryst.*, 17, 435-441
- [84] Tanford, C.
1972, *J. Phys. Chem.*, 76, 3020-3024
- [85] Stigter, D.
1964, *J. Phys. Chem.*, 68, 3603-3611
- [86] Glatter, O.
1980, *J. Appl. Cryst.*, 13, 577-584
- [87] Yguerabide, J.; Foster, M.C.
1981, em *Membrane Spectroscopy*, Berlin, Springer-Verlag, 199-269
- [88] Tabak, M.; Borissevitch, I.E.
1992, *Biochim. Biophys. Acta*, 1116, 241-249
- [89] Daniels, F.; Alberty, R.
1975, *Physical Chemistry*, John Wiley and Sons, New York, 221-223

- [90] Kotz, J.C.; Treichel Jr., P.
1996, Chemistry and Chemical Reactivity, 3ª edição, Harcourt Brace College Publishers
- [91] Feinstein, M.B.
1964, J. Gen. Physiol., 48, 357-374
- [92] Ferreira, G.S.S.; Périgo, D.M.; Politi, M.J.; Schreier, S.
1996, Photochem. Photobiol., 63(6), 755-761
- [93] Matsuki, H.; Maruyama, S.; Kaneshina, S.
1995, Colloids and Surfaces A: Physic. Eng. Aspec, 97, 21-26
- [94] Cavalli, A.
1997, tese de doutoramento apresentada ao IFSC
- [95] Knowles, P.F.; Marsh, D.; Rattle, H.W.E.
1976, em *Magnetic Resonance of Biomolecules*, John Wiley & Sons, eds.
- [96] Marsh, D.
1981, em *Membrane Spectroscopy*, Berlin, Springer-Verlag, 51-142
- [97] Schreier-Muccillo, S.; Marsh, D.; Dugas, H.; Schneider, H.; Smith, I.C.P.
1973, Chem. Phys. Lipids, 10, 11-27
- [98] Schreier, S.; Polnaszek, C.F.; Smith, I.C.P.
1978, Biochim. Biophys. Acta, 515, 375
- [99] Ohnishi, S.; McConell, H.M.
1965, J. Chem. Soc., 87, 2293-2298
- [100] Griffith, O.M.; Cornell, D.W.; McConnell, H.M.
1965, J. Phys. Chem., 43, 2909
- [101] Griffith, O.H.; Waggoner, A.S.
1969, Acc. Chem. Res., 2, 17
- [102] Goldman, S.A.; Bruno, G.V.; Polnaszek, C.F.; Freed, J.H.
1972, J. Chem. Phys., 56, 716-735

- [103] Hsia,J.C.; Piette,L.H.
1969, Arch. Biochem. Biophys., 129, 296-307
- [104] Schreier,S.; Ernandes,J.R.; Cuccovia,I.M.; Chaimovich,H. 1978, J. Magn. Res., 30,
283-298
- [105] Liang,Z.; Westlund,P.; Wikander,G.
1993, J. Chem. Phys., 99, 7098-7107
- [106] Ernandes; Chaimovich; Schreier
1977, Chem.Phys. Lipids, 18, 304-315
- [107] Lee,A.G.; Schreier,S.
1993, em *Liposome Technology, Vol.II, Entrapment of Drugs and Other Materials*, G. Gregoriadis, ed., CRC Press, Boca Raton, Flórida
- [108] Boulanger,Y.; Schreier,S.; Smith,I.C.P.
1981, Biochem., 20, 6824-6830
- [109] Peng,X.; Jonas,A.; Jonas,J.
1995, Chem. Phys. of Lipids, 75, 59-69
- [110] Ota,A; Ito,A.S.
1998, resultados não publicados
- [111] Pascuti,P.G.; Areas,E.P.G.; Ito,A.S.; Mundin,K.C.; Bisch,P.
1996, Progress Biop. Molec. Biol., 65, 340
- [112] Santin Filho,O.
1998, comunicação privada
- [113] Gupta,S.P.
1991, Chem.Rev., 91, 1109-1191
- [114] Corti,M.; Degiorgio,V.
1978, Chem. Phys. Letter, 53, 237-241
- [115] Corti,M.; Degiorgio,V.
1978, Ann. Phys., 3, 303-308

- [116] Corti,M; Degiorgio,V.
1979, em *Solution Chemistry of Surfactants*, págs. 377-390. Plenum: New York
- [117] Corti,M; Degiorgio,V.
1981, J. Phys. Chem., 85, 711-717
- [118] Missel,P.J.; Mazer,N.A.; Benedek,G.B.; Young,C.Y.; Carey,M.C.
1980, J.Phys.Chem., 84, 1044-1057
- [119] Missel,P.J.; Mazer,N.A.; Benedek,G.B.; Young,C.Y.; Carey,M.C.
1983, J. Phys. Chem., 87, 1264-1277
- [120] Baptista,M.S.; Cuccovia,I.; Chaimovich,H.; Politi,M.J.
1992, J.Phys.Chem., 96, 6442-6449
- [121] Yushmanov,V.E.; Perussi,J.R.; Imasato,H.; Tabak,M.
1994, Biochim. Biophys. Acta, 1189, 74-80