UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LIGAÇÃO E TROCA IÔNICA EM INTERFACES ZWITTERIÔNICAS

MAURICIO DA SILVA BAPTISTA

ORIENTADOR: MARIO JOSÉ POLITI

SÃO PAULO
1992

"LIGAÇÃO E TROCA IÔNICA EM INTERFACES ZWITTERIÔNICAS"

MAURICIO DA SILVA BAPTISTA

Dissertação de Mestrado submetida ao
Instituto de Química da Universidade de São Paulo como
parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de
Mestre em Bioquímica.

Aprovado por:

Prof. Dr. Mário José Politi
IQ-USP
(Orientador)

Prof. Dr. Frank Herbert Quina
IQ-USP

Prof. Dr. Miguel Guillermo Neumann
IFQSC-USP

SAO PAULO, SP

10 DE JULHO DE 1992

A Marcia,

A menina que alegra os meus dias

Aos meus pais Nelson e Marisa

Aos meus irmãos Murilo e Cassio

Que sempre me deram tudo de melhor que
uma familia pode dar.

Agradecimentos:

Ao Xudão pela orientação, amizade, batucadas..., que tanto foram importantes nestes seis anos de convívio.

Ao Hernan, Pedro e Iolanda por fornecerem um ambiente de trabalho e discussão muito instrutivo e agradável.

Aos amigos do bloco 10 e 12, entre eles, casal 20 (Fabinho e Ana P), Idélcio, Claudinha, TC, Palmira, Silvia, Hioka, Lique, Willi, Anselmo, Márcia, Benê, Neuzinha, Sérgio, Jaime, Carlão, Silvia Helena, Memê, Jacira, Luis, Ourides, Carminha, Carmem Loira, Urânia, Cassios e muitos cujos nomes me fogem da memória.

As "perigosas viúvas", Teresa Cristina, Silvia, Palmira e Memê, e ao Luis pela ajuda decisiva na confecção da Tese.

A Marcia, Benedita e Neuza pelo suporte técnico laboratorial.

A toda a minha família que tanto me ajudou e continua ajudando.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

PREAMBULO

No presente trabalho estudou-se interfaces zwitteriônicas com o objetivo de caracterizar os processos que regem a acumulação e troca iônica a estas. Estes estudos foram baseados principalmente em técnicas fluorimétricas, cinéticas e de espalhamento de luz.

A dissertação encontra-se subdividida em 7 tópicos, que são: 1) introdução, onde serão abordados aspectos genéricos de interfaces zwitteriônicas, bem como das principais técnicas utilizadas para estudá-las; 2) materiais, aparelhos e métodos; 3) resultados; 4) discussão, onde será apresentado um modelo eletrostático simples para micelas zwitteriônicas e os dados apresentados no tópico 3 serão discutidos em face às previsões deste; 5) conclusão; 6) referências bibliográficas e 7) Apêndices, onde estão apresentados os desenvolvimentos matemáticos utilizados para racionalização do modelo.

A seguir estão apresentados o índice, lista de figuras e tabelas, e uma tábua de símbolos e abreviaturas, para facilitar a leitura da dissertação.

INDICE

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	v
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	vi
RESUMO	ix
SUMMARY	x
1) INTRODUÇÃO	2
1.1) ASPECTOS GENÉRICOS - INTERAÇÕES IÔNICAS EM IN- TERFACES ZWITTERIÔNICAS	2
1.2) ABORDAGENS EXPERIMENTAIS E TÉCNICAS EMPREGADAS.	12
1.2.1) ESTADOS EXCITADOS: EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE EM ESTADO EXCITADO E FUNDAMENTAL	12
1.2.2) DETERMINAÇÃO DE PROPRIEDADES ELETROSTÁTICAS DE INTERAÇÃO ENTRE MICELAS - ESPALHAMENTO DE LUZ DE SOLUÇÕES MICELARES	23
1.3) OBJETIVOS	29
2) MATERIAIS, APARELHOS E MÉTODOS	30
2.1) MATERIAIS	30
2.2) APARELHOS E MÉTODOS	32

3)	RESULTADOS	39
3.1)	INTERAÇÃO IÔNICA DA PIRANINA COM INTERFACES ZWITTERIÔNICAS	39
3.2)	DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE SOLVENTE DA INTERFACE DAS MICELAS ESTUDADAS E CARACTERIZA- ÇÃO DA INTERAÇÃO MICELAS-PIRANINA POR RESSONAN- CIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE CARBONO E PRÓTON	57
3.3)	CARACTERIZAÇÃO E TRANSFERENCIA DE PRÓTON EM INTERFACES ZWITTERIÔNICAS	60
3.3.a)	MEDIDAS DE VELOCIDADE DE REPROTONAÇÃO DA PIRA- NINA	60
3.3.b)	MEDIDAS DE VELOCIDADE DE REPROTONAÇÃO DO 1-NAFTOL E 2-NAFTOL	65
3.4)	MEDIDAS DE INTERAÇÕES MICELARES POR ESPALHAMEN- TO DE LUZ	71
4)	DISCUSSÃO	76
5)	CONCLUSÕES	133
6)	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	135
7)	APÊNDICES	140

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Exemplos de sistemas biomiméticos.	.5
FIGURA 2.	Estrutura molecular de detergentes iônicos e zwitteriônicos.	7
FIGURA 3.	Variação da intensidade de fluorescência em função de pH para o sistema $HX \rightleftharpoons X^- + H^+$	.17
FIGURA 4.	Estrutura molecular da sonda 8-hidróxi-1,3,6-pirenotrissulfonato de sódio (piranina), na forma protonada.	.19
FIGURA 5.	(A) Espectro de emissão de fluorescência não corrigida de piranina em função da concentração de HPS e (B) Gráfico de R em função da concentração de HPS.	.40
FIGURA 6.	Efeito salino na emissão de fluorescência do sistema piranina-HPS.	42
FIGURA 7.	Gráfico do parâmetro R em função da concentração de NaCl em solução de HPS.	43
FIGURA 8.	Variação do parâmetro R em função da concentração de NaCl, CsCl e NaBr, para solução micelizada (HPS) de piranina.	44
FIGURA 9.	(A) Espectro de emissão não corrigida da piranina em função da concentração de lisoPC e (B) Gráfico da variação do parâmetro R em função da concentração de lisoPC.	.46

- FIGURA 10. (A) Espectro de emissão não corrigida da piranina em função da concentração de NaCl em solução de lisoPC e (B) Gráfico da variação do parâmetro R em função da concentração de NaCl. 47
- FIGURA 11. (A) Espectro de emissão de fluorescência não corrigido de piranina em função da concentração de $C_{14}PN$ e (B) Gráfico de R em função da concentração de $C_{14}PN$ 49
- FIGURA 12. (A) Espectro de emissão não corrigido da piranina em função da concentração de NaCl em solução de $C_{14}PN$ e (B) Gráfico de variação do parâmetro R em função da concentração de NaCl.. . . . 50
- FIGURA 13. Parâmetro de polarização de fluorescência "p", em função da concentração de HPS e lisoPC. 55
- FIGURA 14. Valores de "p" em função da concentração de NaCl, para o sistema piranina-HPS. 56
- FIGURA 15. Variação de $\log (k_{obs}/[H^+])$ da piranina em solução aquosa e de HPS, em função da concentração de NaCl e de NaF. 62
- FIGURA 16. Variação de $\log (k_{obs}/[H^+])$ da piranina em função da concentração de NaCl em solução de $C_{14}PN$ 64
- FIGURA 17. Espectros de emissão de 2-naftol (A) e 1-naftol (B), em solução aquosa, de HPS e de $C_{14}PN$ em pH=5. 67
- FIGURA 18. Espectros de emissão de 2-naftol (A) e 1-naftol (B), em solução aquosa e em solução de vesículas de PC em pH=5. 68

FIGURA 19.	Variação de k_{obs} do 1-naftol e 2-naftol em HPS e $C_{12}PN$ em função de $[NaCl]$.	.70
FIGURA 20.	Variação de k_{obs} de 1-naftol em função da concentração de $NaCl$ à concentração de PC constante.	.72
FIGURA 21.	Variação de A_2 ($cm^3 \times mol/g^2$) para CTAB e HPS em função de C_s .	.74
FIGURA 22.	Cálculo do valor de K_m .	.82
FIGURA 23.	Cálculo do valor K_m para $NaCl$.	.85
FIGURA 24.	Cálculo do valor de K_m para $NaBr$ e $CsCl$ em micelas de HPS.	.86
FIGURA 25.	Cálculo do valor de K_1 para $NaCl$ e $CsCl$ em micelas de $C_{12}PN$.	.87
FIGURA 26.	Modelo Esquemático de micela zwitteriônica.	.98
FIGURA 27.	Variação do potencial na calota externa em função da força iônica da solução (C_s) e variação do fator de concentração de íons (CF) em função de C_s .	.102
FIGURA 28.	Variação do potencial da micela zwitteriônica em função de r para diversos valores de C_s .	.106
FIGURA 29.	Variação da concentração de íons na região interfacial em função de r para diversos valores de C_s .	.107

- FIGURA 30. Valores de A_2 experimentais em função de Cs para micelas de CTAB e HPS e tratamento teórico dos dados. 112
- FIGURA 31. Valores de A_2 experimentais em função de Cs para micelas de HPS e tratamento teórico dos dados. 113
- FIGURA 32. Valores Experimentais de $\Delta\sigma$ (água e solução micelar) em função da concentração de NaBr, CsCl, NaCl, KCl, NaI e NaOH. 116
- FIGURA 33. Dados experimentais de I_0/I de NBN em função de Cs segundo Broschztain 1990 e tratamento teórico segundo a equação 18 em função de Cs. 119
- FIGURA 34. Curvas teóricas de concentração de prótons na região interfacial de micelas de HPS, $C_{12}PN$ e vesículas de PC, em função da concentração salina da solução. 127, 128, 129
- FIGURA 35. Potenciais de região dipolar para micelas de $C_{12}PN$ e vesículas de PC, em função da força iônica da solução. 130, 131

LISTA DE TABELAS

TABELA I -	constantes de equilíbrio prototrópico de piranina, 1-naftol e 2-naftol.....	18
TABELA II -	ligação e troca iônica em vesículas de PC.....	51
TABELA III -	comprimento de onda de emissão da piranina em vários meios	53
TABELA IV -	Deslocamentos químicos de ^{13}C de metilas ligadas ao nitrogênio positivo de HPS, C_{12}PN e lisoPC	58
TABELA V -	Variação de deslocamento químico de ^1H de soluções micelizadas de HPS.....	59
TABELA VI -	Variação de K_{obs} da piranin em micelas de CTAB em função do pH do meio.....	60

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- A_2 : Segundo coeficiente virial
- CMC: Concentração micelar crítica
- $C_{16}PN$: Hexadecil fosforil colina
- CF: Fator de concentração de ions na calota dipolar de micelas de HPS.
- Cs: Concentração salina
- CTAB: Brometo de cetiltrimetilamônio
- $\Delta\sigma$: Diferença de condutividade iônica em micelas e em solução aquosa.
- DCP: Dicetil fosfato
- DODAC: Cloreto de dioctadecil dimetilamônio
- EPB: Equação de Poisson-Boltzman
- EDH: Equação de Debye-Hueckel
- HPS:3-(N-hexadecil -N,N-dimetilamônio) propanosulfonato
- HX e HX^* : forma ácida da molecula no estado fundamental e excitado, respectivamente.
- K : parâmetro de blindagem de Debye Huckel.
- $k_f, k_{nr}, k_f', k_{nr}'$: decaimento por fluorescência e decaimento não radiativo da sonda protonada e deprotonada, respectivamente.
- K_1 : constante de competição de eletrólito com a piranina pelos sítios de interação de interfaces zwitteriônicas.
- k_{obs} : Constante de velocidade observada experimentalmente.

K_{off}^* e K_{on}^* , K_{on} e K_{off} : Constantes de velocidade para reações de dissociação e associação no estado excitado e fundamental respectivamente.

K_m : Constante de ligação piranina - interface.

1isoPC: 1-Hexadecil glicerofosfatidil colina.

M_w : peso molecular médio ponderado por massa.

"p": polarização de fluorescência.

PC: Fosfatidil colina

Piranina: 8-hidróxi-1,3,6-pirenotrissulfonato de sódio

pK_m^* : $-\log(K_{off}^*/K_{on}^*)$

POH^* , PO^{*-} piranina protonada e deprotonada, respectivamente, no estado excitado

ϕ : potencial eletrostático

PPIIM: Troca iônica em pseudo-fase

Q_m : Carga total devido a íons móveis na região dipolar.

R: Razão entre intensidade de fluorescência observada a 510nm e aquela observada a 440nm ($R=I_{510}/I_{440}$)

R_m : raio da esfera de cargas internas de uma micela zwitteriônica (no caso da micela de HPS - carregada positivamente)

R_E : raio da esfera de cargas externas de uma micela zwitteriônica (no caso da micela de HPS - carregada negativamente)

R_D : Raio de Debye, $R_D = kZ_1Z_2 / K_B T$

$\langle R_G^2 \rangle$: Raio de giracão médio

R_h : Raio hidrodinâmico

S : espessura da calota dipolar de interfaces zwitteriônicas

SDS: Dodecil sulfato de sódio

U_{12} : energia total de interação de partículas em solução.

X^m e X^{m*} : forma básica da molécula em estado fundamental e excitado, respectivamente

RESUMO

Investigou-se o efeito do "caráter iônico" de interfaces zwitteriônicas, formalmente neutras, representadas por micelas e vesículas obtidas de monômeros com cabeça hidrofílica dipolar, nas propriedades de acumulação e troca de espécies iônicas.

Os sistemas estudados incluíram, micelas de 1-(N-hexadecil-N,N-dimetilamônio) propanossulfonato (HPS), Hexadecil fosforil colina ($C_{16}PN$), 3-hexadecil glicerofostidil colina (lisoPC) e vesículas de fosfatidil colina (PC).

O estudo da ligação e troca iônica nestas interfaces, foi monitorado a partir de efeitos sobre reações prototrópicas de sondas como a 8-hidroxi-1,3,6-pirenotrisulfonato de sódio (piranina). Observou-se a ligação crescente da piranina na seguinte ordem lisoPC < $C_{16}PN$ < HPS e troca iônica com sais adicionados (função do ânion) na ordem inversa, isto é, lisoPC > $C_{16}PN$ > HPS.

Estudos de reprotonação de 1 e 2 naftóis incluídos nestes agregados, via salto de pH induzido por laser, revelaram um perfil de concentração de prótons

inverso àquele das cargas do dipolo, isto é, concentração nos polos negativos e exclusão nos positivos. Estes resultados foram ainda reforçados por estudos de exclusão de volume, via espalhamento de luz, com micelas de HPS em função de sal adicionado.

A partir destes resultados propôs-se um modelo de capacitor esférico imerso em meio eletrolítico para estas interfaces, o qual se mostrou bastante versátil na análise e previsão de resultados experimentais.

Em suma, estabeleceu-se no presente trabalho a visão de que interfaces dipolares são geradoras de assimetria iônica na circunvizinhança da interface, assimetria esta de polaridade invertida àquela do dipolo radialmente disposto à interface. A generalidade deste modelo pode ser extrapolado para outras interfaces e colaborar na compreensão de diversos processos que dependem da acumulação e troca iônica.

SUMMARY

The effect of ionic domains of formally neutral zwitterionic interfaces, represented by micelles and vesicles obtained with dipolar headgroups amphiphiles, on the binding and exchange of ionic species were investigated.

The systems studied included: aqueous micelles of 1-(N-hexadecyl)-N,N-dimethylammonio Propane Sulfonate (HPS), Hexadecyl Phosphoryl Choline ($C_{16}PN$), and 1-hexadecylglycerophosphatidyl Choline (lisoPC) and vesicles of Phosphatidylcholine (PC).

Binding and ion-exchange processes were assessed from the effect of these aggregates on prototropic reactions of probes such as 8-hydroxy-1,3,6-pyrenetrisulfonate (pyranine). Binding of pyranine increased in the following order lisoPC $<$ $C_{16}PN$ $<$ HPS. The effectiveness of anion dependent salt displacement of the probe from the aggregates was opposite to that of affinities, i.e. lisoPC $>$ $C_{16}PN$ $>$ HPS.

Laser pH jump studies with 1 and 2 naphtols incorporated in these aggregates revealed a proton concentration profile inverse to that of the charged dipole, that is, accumulation in the region vicinal to the negatively charged group and exclusion from the positive end of the

dipole. These findings were substantiated by HPS micelle excluded volume data, obtained from light scattering studies as function of added salt.

A model of a spherical capacitor immersed in an electrolyte media for these interfaces was proposed. This model accounts for satisfactorily the observed characteristics of these interfaces. The model establishes that dipolar interfaces generate ionic asymmetries in the neighborhood of the interface that opposes the radially extended monomer dipole. The generality of the model can be very helpful in the analysis and understanding of several processes occurring in/at zwitterionic interfaces.

1) INTRODUÇÃO

1.1) ASPECTOS GENÉRICOS - INTERAÇÕES IÔNICAS EM INTERFACES ZWITERIÔNICAS

Os organismos vivos são sistemas dinâmicos constituídos de uma infindável quantidade de moléculas orgânicas.

A principal característica capaz de transformar um conjunto de moléculas orgânicas em um sistema padronizado que segue, quase estritamente, uma lógica determinada, é a organização deste sistema.

Dentre outros fatores, a compartimentalização dos sistemas biológicos tem importância fundamental na organização destes. De fato, desde os organismos menos desenvolvidos (por exemplo, células procarióticas), até os mais desenvolvidos (por exemplo, células eucarióticas), apresentam sempre sistemas que promovem a compartimentalização como por exemplo, a membrana citoplasmática. Sendo que nas células eucarióticas existem ainda organelas citoplasmáticas, retículos e carioteca, conferindo a estas células uma intensa compartimentalização. (Voet e Voet 1990; Zubay 1983).

Tem sido demonstrado que as membranas biológicas, além da sua função inquestionável de compartimentalização, exercem também funções específicas

dentro de determinados mecanismos celulares. Neste sentido, por exemplo, Robert R. Rand e colaboradores demonstraram que os fosfolípidos de membranas biológicas exercem função essencial no fornecimento de energia para o ciclo visual. (Rand 1991)

Fenômenos que dependem da concentração iônica muito próxima das membranas biológicas são frequentemente citados na literatura. A síntese de ATP, à guisa de exemplificação, explicada através da hipótese quimiosmótica, implica em um gradiente osmótico de prótons que fornece energia para o processo. Existem autores que acreditam que a membrana biológica per si exerce um papel fundamental neste processo. (Nagle e Morowitz 1978; Nagle e Nagle 1983) Um outro exemplo está na proposta de Joachim Seeling e colaboradores, na qual a interação da membrana biológica com determinados íons pode alterar o potencial transmembrânico, posicionar os dipolos interfaciais diferentemente e consequentemente permitir o ligamento e desligamento de vários ligantes à bicamada e à proteínas de superfície. (Seelig et al 1987)

As membranas biológicas são descritas pelo modelo do mosaico fluido, segundo o qual, estas são constituídas de uma dupla camada lipídica, onde encontram-se mergulhadas proteínas, glicoproteínas, etc. (Singer e Nicolson 1972) O estudo destas membranas é relativamente complicado devido a quantidade e a complexidade das moléculas constituintes e a dificuldade de obtê-las. Neste

sentido, utilizam-se sistemas que imitam as membranas biológicas (sistemas biomiméticos), sendo que, estes são sistemas simplificados e de fácil obtenção. São exemplos de sistemas biomiméticos, as monocamadas, as bicamadas (representadas pelos diversos tipos de vesículas), as membranas pretas, as micelas e as micelas reversas (Romsted 1977; Fendler 1982) (fig.1)

Os sistemas biomiméticos, em geral são agregados constituídos de moléculas anfifílicas (possuem uma porção hidrofílica e outra lipofílica). Genericamente, pode-se dizer, que dependendo da geometria espacial do anfifílico, bem como da composição da solução, este apresentará um determinado empacotamento médio que pode ser relacionado com um dos diversos tipos de sistemas biomiméticos. (Israelachvili 1985)

No presente estudo, empregou-se somente micelas e vesículas e por conseguinte apresenta-se a seguir, uma breve discussão destes sistemas.

Micelas são geralmente constituídas de detergentes com uma cadeia alquílica. Os modelos que explicam a estrutura micelar, consideram-na parcialmente esférica, onde a parte hidrofílica do monômero situa-se superficialmente na estrutura micelar, entrando em contato direto com água e a parte hidrofóbica situa-se internamente na estrutura micelar, tendo pouco contato com água (fig. 1). Estes agregados são estruturas termodinamicamente estáveis (ΔG de micelização é negativo), em virtude principalmente, do

FIGURA 1: Exemplos de sistemas biomiméticos: a)micelas; b)micelas reversas; c)bicamadas; d)vesículas; obtidos de Israelachvili, 1985

aumento de entropia conferido ao sistema, quando as cadeias hidrofóbicas se agregam formando a estrutura micelar e liberando a água que interagira com estas. (Tanford 1980)

A formação das micelas pode ser detectada pela medida da variação de diversos parâmetros físicos da solução como tensão superficial, condutividade, espalhamento de luz, etc, em função da concentração de detergente. Observa-se uma variação destes parâmetros, em uma estreita faixa de concentração e isto está relacionado com a agregação espontânea dos monômeros. Esta estreita faixa de concentração, é definida como concentração micelar crítica (CMC). (Romsted 1977; Fendler 1982; Shinoda 1963)

Pode-se dividir as micelas em diversos subgrupos, de acordo com as características eletrostáticas do grupo polar do monômero: catiônicas, aniônicas, zwitteriônicas e não iônicas. (Romsted 1977; Fendler 1982; Shinoda 1963) - (fig. 2)

A aplicabilidade dos vários tipos de micelas em pesquisa básica em química e bioquímica é extensa, uma vez que estas fornecem um sistema simplificado para o estudo de diversos processos em ambientes interfaciais. Pode-se citar por exemplo: estudo de catálise em meio micelar (Quina e Chaimovich 1979; Fendler 1982; Cuccovia et al 1982; Politi e Chaimovich 1991), aplicações práticas das teorias de DLVO em meio micelar (Corti et al 1982; Dorshow et al 1982; Dorshow et al 1983), estudos de processos difusionais em meio micelar (Gutman et al 1986), etc.

FIGURA 2: Estrutura molecular de detergentes iônicos e zwitteriônicos: em A) Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB); B) 3-(N-hexadecil-N,N-dimetilamônio)propanossulfonato (HPS); C) Dodecilsulfato de sódio (SDS); D) Hexadecil fosforil colina (C₁₆PN) e E) 1-hexadecil glicerofosfatidil colina (lisoPC); obtidos de Correia et al 1992.

Vesículas, diferentemente das micelas, são geralmente agregados termodinamicamente instáveis, formadas em geral por anfifílicos que apresentam duas cadeias alquílicas, que podem ser anfifílicos sintéticos como cloreto de dioctadecil dimetil amônio (DODAC) e Dicetil fosfato (DCP) ou anfifílicos naturais como fosfatidil colina (PC). Estes agregados possuem uma bicamada lipídica que define um ambiente aquoso interno e um ambiente aquoso externo. O número de bicamadas constituintes de cada agregado, bem como o tamanho do agregado em si são dependentes do método de preparação. Desta forma podem-se preparar vesículas pequenas por ultrasonicação, que são unilamelares (constituídos de uma bicamada) com diâmetro médio em torno de 400 Å, até vesículas multilameres (lipossomos) preparadas simplesmente através da mistura forçada do anfifílico em água. (Fendler 1982)

Devido aos vários tipos de anfifílicos existentes, bem como aos diversos tipos de populações de vesículas que se podem produzir, é bem grande a quantidade de estudos que podem ser realizados com vesículas, por exemplo: averiguação de propriedades intrínsecas das membranas biológicas (Lucy et al 1970), aplicações práticas de teorias de interação interpartículas de soluções coloidais (DLVO) (Carmona e Midmore 1992) estudos de catálise de reações orgânicas em meio vesicular (Cuccovia et al 1982), etc.

Uma vez que o tema principal deste trabalho é caracterizar interações iônicas com interfaces zwitteriônicas

enfatizaremos a seguir, com mais detalhes, a interação de ions com estas interfaces.

A interação de ions com micelas iônicas, já foi extensivamente estudada. Experimentos cinéticos demonstraram que estes agregados podem realizar catálise de várias ordens de magnitude, devido a vários fatores, entre eles, a acumulação de ions reativos. (Chaimovich 1979; Quina e Chaimovich 1979; Cuccovia et al 1982)

Entre os vários modelos descritos para tratar os dados de catálise em meio micelar, um dos mais utilizados é o de troca iônica em pseudo-fase (PPIEM) (Quina e Chaimovich 1979 ; Romsted 1977). Embora este modelo consiga explicar diversos dados eficientemente, apresenta falhas na sua concepção teórica, uma vez que, postula a divisão entre ions ligados à interface micelar e ions não ligados, definindo α , como grau de dissociação micelar, definindo ainda, este fator como independente da força iônica da solução. Estes postulados, se contradizem as leis eletrostáticas que prevêm a distribuição de ions ao redor da interface micelar, de forma que, α não apresenta um significado físico evidente.

Um modelo alternativo baseado na equação de Poisson-Boltzman (EPB), propõe a divisão da região interfacial de uma micela iônica em camada de Stern, onde os ions estão adsorvidos e a distribuição e concentração de ions nesta região pode ser estimada utilizando as isotermas de Langmuir ou Volmer e dupla camada elétrica onde a

distribuição e concentração de ions são obtidas resolvendo-se a equação de Poisson-Boltzman. Esta equação relaciona a variação de potencial a partir da interface, com a concentração de ions. (Bunton e Moffat 1986)

Embora a concepção teórica dos modelos PPIEM e EPB seja bem distinta, ambos os modelos apresentam alcances semelhantes na análise de reações orgânicas em meio micelar. (Bunton et al 1991)

Em comparação às interfaces iônicas, poucos estudos de interação e troca iônica tem sido realizados em interfaces zwitteriônicas. Este fato causa estranheza, pois interfaces zwitteriônicas são sistemas do ponto de vista estrutural, mais relacionados com a natureza das membranas, uma vez que, as membranas biológicas são constituídas por uma grande quantidade de anfifílicos zwitteriônicos como lecitina e fosfatidiletanolamina, o que demonstra a grande importância deste estudo. (Voet e Voet 1990)

A despeito das interfaces zwitteriônicas serem formalmente neutras, trabalhos anteriores demonstraram que estas interfaces acumulam ions. Neste sentido, a interação de prótons, ions monovalentes, ions divalentes com modelos de membranas constituídos de fosfolípidos zwitteriônicos está bem descrita na literatura. (Tocanne e Teissie 1990; Seelig et al 1987; Hauser et al 1977; Ghazal 1983; Chapman et al 1977) Por exemplo, D. Chapman estudando a variação da transição de fase de vesículas de fosfatidilcolina (PC) em função da concentração salina, observou que os cátions

apresentam uma maior interação a estas interfaces do que os ânions e que quanto maior o raio do cátion maior a interação observada. (Chapman et al 1977)

Trabalhos realizados por Bunton e colaboradores comprovaram, por medidas de cinética de reação, que micelas de 3-(N-hexadecil-N,N-dimetilamonio) propanosulfonato (HPS) - (fig. 2) acumulam ions negativos, tendo a seguinte ordem de afinidade: $\text{Br}^- = \text{Cl}^- > \text{OH}^- > \text{F}^-$. (Bunton et al 1987; Bunton et al 1989) Trabalho realizado pelo nosso grupo obteve resultado semelhante, com a diferença que evidenciou-se uma afinidade de Br^- pela micela de HPS, maior que a de Cl^- pela mesma. (Brochsztain et al 1990).

Na tentativa de generalizar o comportamento de interação de ions com interfaces zwitteriônicas, encontram-se na literatura vários trabalhos que descreveram interfaces zwitteriônicas do tipo do HPS, onde as cargas positivas dos monômeros estão situadas mais próximas da fase hidrofóbica, como pseudocatiônicas (Brochsztain et al 1990; Oliveira et al 1991; Baptista e Politti 1991; Hodge et al 1991; Correia et al 1992), ou seja, estas tem comportamento semelhante a interfaces catiônicas e interfaces do tipo de PC onde a carga negativa está mais próxima a região hidrofóbica, como pseudoaniônicas, (Lukac 1983; Chapman 1977). Não obstante a estas considerações, a racionalização de um modelo que explique os fenômenos que regem a acumulação e troca iônica nestas interfaces, é ainda objeto de conjectura. Pelo fato das micelas zwitteriônicas serem eletrostaticamente neutras,

poder-se-ia pensar que a interação iônica com estas interfaces fosse regida unicamente por interações específicas (forças de Van der Waals). Em contradição a esta hipótese, demonstrou-se que ions bastante hidrofílicos pouco polarizáveis como hidróxido, cuja contribuição das forças de Van der Waals para a interação deste ion a interfaces é presumivelmente pequena, acumulam-se na micela de HPS. (Brochsztain et al 1990) (vide infra)

Neste sentido, a racionalização de um modelo que explique a ligação e troca iônica em interfaces zwitteriônicas se mostra extremamente importante, podendo fornecer explicações para o efeito de interfaces zwitteriônicas em cinéticas de reações e principalmente, podendo dar informações do papel que membranas biológicas exercem nas muitas reações bioquímicas que se processam próximas a estas.

1.2) ABORDAGENS EXPERIMENTAIS E TÉCNICAS EMPREGADAS

A seguir apresenta-se uma breve abordagem dos princípios básicos das técnicas mais utilizadas neste estudo.

1.2.1.) ESTADOS EXCITADOS: EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE EM ESTADO EXCITADO E FUNDAMENTAL.

No processo de absorção de energia eletromagnética, as moléculas sofrem alterações nas suas

distribuições eletrônicas, sendo levadas a um estado estacionário de energia diferente do estado fundamental, que é chamado de estado excitado.

Devido a diferenças intrínsecas de distribuição eletrônica, estados excitados apresentam várias reações que não são observadas no estado fundamental. (Rohatgi-Mukherjee 1978)

Dentre as várias reações que são descritas, é de especial interesse para o nosso estudo, reações de transferência de próton que se processam em estado excitado. (Weber 1931; Forster 1950)

Várias moléculas aromáticas que doam ou recebem prótons, como alguns compostos hidróxi-aromáticos ou amino-aromáticos, podem apresentar constantes de equilíbrio ácido-base no estado excitado singlete de menor energia, bem distintas das observadas no estado fundamental. Genericamente, algumas substâncias hidróxi-aromáticas possuem constante de equilíbrio no estado excitado várias ordens de magnitude maior do que no estado fundamental, enquanto que em algumas substâncias amino-aromáticas esta constante de equilíbrio pode ser várias ordens de magnitude menor. (Rohatgi-Mukherjee 1978; Forster 1950; Pines et al 1986)

Os equilíbrios observados em estado excitado possuem outra diferença básica, além da magnitude das constantes, em relação aos equilíbrios no estado fundamental, que é o fato que estes, têm um determinado tempo para

ocorrer, tempo este relacionado com o tempo de vida das espécies no estado excitado. (Rohatgi-Mukherjee 1978)

O equilíbrio prototrópico no estado fundamental e excitado de moléculas hidróxi-aromáticas que sofrem estes processos como por exemplo, 1-naftol, 2-naftol, 8-hidroxí-1,3,6-pirenotrissulfonato de sódio (piranina) (fig.3), está representado no esquema I.

Esquema I: Representação de equilíbrio prototrópico de estados fundamental e excitado, onde: HX e HX* representam a forma ácida e X⁻, X^{-*} representam a forma básica da molécula no estado fundamental e excitado, respectivamente. k_{off}^* e k_{on}^* , k_{on} e k_{off} representam, respectivamente, as constantes de velocidade para reações de dissociação e associação no estado excitado e fundamental. k_f , k_{nr} , k_f' e k_{nr}' representam o decaimento por fluorescência e o decaimento não radioativo da sonda protonada e deprotonada, respectivamente.

Vale comentar que as constantes de dissociação no estado excitado e fundamental (k_{off}^* e k_{off}) são de pseudo-primeira ordem considerando a concentração de água constante. As constantes de associação no estado excitado e fundamental (k_{on}^* , k_{on}) são de segunda ordem, sendo que, as reações de associação são tipicamente processos difusionais, ou seja, a velocidade medida da reação é relacionada diretamente com a difusão das espécies reagentes. Uma vez que a difusão do próton é muito maior do que a das substâncias aromáticas em questão, pode-se considerar que a velocidade de reprotonação tanto no estado fundamental, quanto excitado, dependem somente da difusão de prótons no meio. (Forster e Volker 1975)

Dependendo da escala de tempo das velocidades envolvidas no processo prototrópico, há três casos de equilíbrio de protonação no estado excitado:

Caso 1) A velocidade de dissociação do ácido excitado é muito mais lenta do que o decaimento por fluorescência e por processos não radiativos desta espécie ($k_{\text{off}}^* \ll (k_f + k_{nr})$)

Caso 2) A velocidade de dissociação do ácido excitado é muito mais rápida do que o decaimento por fluorescência e não radiativo desta espécie ($k_{\text{off}}^* \gg (k_f + k_{nr})$)

Caso 3) Os processos de dissociação e de decaimento da forma ácida são competitivos ($k_{\text{off}}^* = k_f + k_{nr}$)

No caso 1, não ocorre o processo de transferência de próton, uma vez que o tempo necessário para este processo é muito maior do que o decaimento da espécie

HX^* , desta forma, se a forma HX for levada ao estado excitado, a fluorescência observada vai ser devida a esta forma, ocorrendo o mesmo para X^{*-} . Uma vez que a técnica fluorimétrica apresenta maior sensibilidade em relação à técnica espectrofotométrica, substâncias que atuem desta forma são ótimas sondas para determinação de pH. (Schulman 1971)

No caso 2, ocorre o processo de transferência de próton como também o estabelecimento de equilíbrio no estado excitado, sendo que a quantidade de forma HX^* e X^{*-} presente no estado excitado vai depender da magnitude relativa das velocidades de reprotonação e deprotonação respectivamente, k_{off}^* e $k_{on}[H^+]$.

No caso 3, ocorre o processo de transferência de próton, mas o equilíbrio não é totalmente estabelecido, uma vez que os processos de decaimento e de transferência de próton são competitivos.

Um exemplo típico de perfil variação de intensidade de emissão de fluorescência em função de pH para sondas que se encaixam no caso 2, está mostrado na figura 3A. Pode-se perceber que abaixo do pK_m^* ($-\log(k_{off}^*/k_{on}^*)$), só se observa emissão da forma HX^* , na região $pK_m^* - 1 < pH < pK_m^* + 1$ ocorre equilíbrio entre as velocidades de reprotonação e deprotonação e para região $pH > pK_m^* + 1$, só se observa emissão da forma X^{*-} , uma vez que a velocidade de reprotonação é desprezível. Para valores de $pH > pK_m$, ocorre

FIGURA 3: Variação da intensidade de fluorescência em função de pH para o sistema $HX \rightleftharpoons X^{*} + H^{+}$. A forma básica (indicada por símbolos marcados e curvas cheias), possui o estado singlete de mais baixa energia e absorve em λ_{ex} onde a forma ácida (indicada por símbolos não marcados e curvas tracejadas), é transparente. ϕ é rendimento quântico e ϵ é coeficiente de extinção molar. λ_1 é o comprimento de onda de absorção da forma ácida. Na figura A) está apresentado o caso 2 de equilíbrio prototrópico, onde ocorre equilíbrio completo no estado excitado e na figura B) o caso 2 onde somente uma fração x da população do estado excitado sofre dissociação. Obtido de Politi 1984.

aumento de emissão devido a excitação estar se realizando no comprimento de onda máximo de absorção de X^{--} .

Na figura 3B está apresentado o perfil de variação de intensidade de fluorescência em função do pH para sondas que se encaixam no caso 3. Note que em valores de pH $> pK_{a}^{*}$ não ocorre a dissociação completa no estado excitado como verificado no caso 2, sendo que uma fração $(1-x)$ permanece na forma HX^{*} e uma fração (x) vai para a forma X^{--*} .

Na tabela I estão apresentados os valores das principais constantes de velocidade envolvidas no equilíbrio prototrópico das sondas, piranina e 1-naftol que se encaixam dentro do caso 2 e do 2-naftol que se encaixa no caso 3.

TABELA I - CONSTANTES DE VELOCIDADE DO EQUILIBRIO PROTOTRÓPICO DAS SONDAS PIRANINA, 1-NAFTOL E 2-NAFTOL

	$k_f + k_{off}$ (s^{-1})	k_{off}^{*} (s^{-1})	k_{on}^{*} ($M^{-1} s^{-1}$)	k_{on}
piranina ^(a)	$1,92 \times 10^{10}$	9×10^9	$1,8 \times 10^{10}$	1×10^{11}
1-naftol ^(b)	1×10^{10}	3×10^9	5×10^{10}	5×10^{10}
2-naftol ^(b)	1×10^{10}	5×10^9 ^(c)	5×10^{10}	5×10^{10}

(a) segundo Politi 1984 (fig. 4)

(b) segundo Il'ichev 1991

(c) segundo Huppert 1981

FIGURA 4: Estrutura molecular da sonda 8-hidróxi-1,3,6-pirenotrissulfonato de sódio (piranina), na forma protonada.

No presente estudo, estas sondas fluorescentes foram utilizadas como ferramenta para análise de interação iônica em interfaces zwitteriônicas, sendo assim, torna-se importante descrever o comportamento destas em ambientes interfaciais.

Em interação com interfaces, o equilíbrio prototrópico das sondas hidróxi-aromáticas descritas, pode ser alterado por vários fatores, como alteração na concentração de próton e de água disponível na interface para realização do processo prototrópico. Vale lembrar que $k_{\text{on}}/k_{\text{off}}$ foi tratado como uma constante de pseudo-primeira ordem; considerando-se a concentração de água constante, na verdade esta constante deixa de ser de pseudo-primeira ordem para ambientes interfaciais onde a concentração de água é ainda relativamente desconhecida, porém presumivelmente menor do que em região de solvente isotrópico.

Diversos trabalhos da literatura mostram que a presença de água é fundamental para o processo de reprotonação. Por exemplo, foi observado que não ocorre reprotonação de naftóis e hidróxi-pirenos em solução metanólica, sendo que a deprotonação começa a ser observada após adição de 15% de água. (Huppert e Kolodney 1981).

Encontram-se na literatura vários estudos de interação de sondas hidróxi-aromáticas com interfaces. Por exemplo, a sonda 2-naftol em solução 0.05 M dodecil sulfato de sódio (SDS), não apresenta dissociação nenhuma, enquanto que a sonda 1-naftol apresenta dissociação, mas com

o equilíbrio no estado excitado deslocado para forma HX^* (Selinger e Weller 1977). A sonda piranina apresenta um perfil semelhante em interação com interfaces micelares de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB). Com efeito, ocorre uma expressiva diminuição na deprotonação no estado excitado, quando a sonda encontra-se ligada na interface. O valor de k_{off}^* observado em soluções micelares de CTAB foi $4,8 \times 10^9 s^{-1}$, uma diminuição de 15 vezes em relação ao valor em água. (Politi 1984) Este efeito de diminuição na velocidade de deprotonação de sondas hidroxí-aromáticas incorporadas em micelas, foi relacionado principalmente com a diminuição da concentração de água na interface para receber o próton proveniente do processo de reprotonação. (Politi 1984)

Outro aspecto interessante do equilíbrio prototrópico destas sondas, está relacionado com a velocidade de reprotonação no estado fundamental.

Para compostos que se encaixam nas condições de equilíbrio 2 e 3, na situação em que $pK_m^* + 1 < pH < pK_m - 1$, haverá dissociação no estado excitado e por conseguinte, a presença de X^- no estado fundamental. Para o retorno ao equilíbrio de pré-excitação, a forma X^- sofre reprotonação retornando a HX .

Como já comentado, esta é uma reação difusional, sendo que sua velocidade é diretamente proporcional à concentração de prótons do ambiente onde a sonda estiver. Considerando k_{on} da ordem de $1 \times 10^{11} M^{-1}s^{-1}$ e o pH do meio em torno de 6, isto equivale a um tempo de

reação da ordem de 10^8 s, perfeitamente mensurável pela técnica de fotólise de relâmpago a laser (vide aparelhos e métodos). Isto torna a medida de velocidade de reprotonação destas sondas no estado fundamental, uma ferramenta muito útil para análise de concentração prótons no ambiente em que a sonda estiver situada. (Politi 1984; Politi e Fendler 1984; Gutman et al 1981)

Baseado no modelo de colisão molecular pode-se dizer que as constantes de velocidade destas reações são dependentes da difusão das espécies reagentes e do potencial de interação eletrostática existente entre estas. (Debye 1942) Desta forma, processos que alterem o potencial de interação entre as espécies reagentes, como introdução de uma das moléculas em uma região sujeita a um potencial externo ou alteração da força iônica da solução, devem promover alterações nas constantes de velocidades bimoleculares da reação.

Utilizando o potencial de interação entre as espécies carregadas obtido do modelo de Debye-Huckel para correção de atmosfera iônica, na equação de efeito salino para reações difusionais entre espécies carregadas (Debye 1942), obtem-se a equação para o efeito de força iônica na constante de velocidade de reprotonação (Strehlow e Knoche 1977)

$$\ln K_{on}(\mu \neq 0) = \ln K_{on}(\mu = 0) + \frac{1,02 \times Z \times \sqrt{\mu}}{1 + 2 \times \sqrt{\mu}} \quad (\text{equação 1})$$

onde: $K_{on}(\mu \neq 0)$ - constante de reprotonação a força iônica diferente de zero

$K_{on}(\mu = 0)$ - constante de reprotonação a força iônica zero

Z - carga do centro atrator (para piranina é - 4)

μ - força iônica da solução

Esta equação é válida para a correção de força iônica para reações difusionais que ocorrem em regiões de solvente isotrópico, onde constante dielétrica do meio e o potencial de interação são conhecidos. Para fazer valer esta equação para ambientes interfaciais, é necessário obter valores para estes parâmetros no sítio de localização da sonda.

1.2.2) DETERMINAÇÃO DE PROPRIEDADES ELETROSTÁTICAS DE INTERAÇÃO ENTRE MICELAS - ESPALHAMENTO DE LUZ DE SOLUÇÕES MICELARES.

Uma vez que neste trabalho foram estudadas interações iônicas em interfaces zwitteriônicas, torna-se clara a necessidade de evidenciar que tipo de comportamento eletrostático existe nas interfaces zwitteriônicas. Com este

propósito foram utilizadas as técnicas de espalhamento de luz estático e dinâmico.

O decaimento do potencial com a distância a partir de uma superfície carregada pode ser interpretado por vários modelos matemáticos, por exemplo: Poisson-Boltzman, Debye-Huckel, Gouy Chapman, sendo que, os dois últimos são aproximações da equação de Poisson-Boltzman. (Hiemenz 1986)

Este decaimento é influenciado pela força iônica da solução. De forma geral, com o aumento da concentração de eletrólito inerte ocorre o encurtamento da distância alcançada pelo potencial, fenômeno este, que pode ser designado como blindagem da dupla camada elétrica.

Existem várias técnicas que são sensíveis a alterações na dupla camada elétrica, dentre as quais pode-se citar: Eletroforese, pressão osmótica, espalhamento de luz estático e dinâmico. (Hiemenz 1986)

O espalhamento de luz é uma técnica baseada na propriedade das substâncias atuarem como osciladores quando uma radiação eletromagnética incide nestas substâncias. Estes osciladores são fontes emissoras de luz, uma vez que, cargas aceleradas emitem luz.

De acordo principalmente com o tamanho do centro espalhador e com o índice de refração relativo (centro espalhador-solvente), existem vários modelos que são utilizados no espalhamento de luz estático, como os modelos de Rayleigh, Zimm e Mie. (Hiemenz 1986)

O modelo de Rayleigh pode ser aplicado somente a sistemas que possuam centros espalhadores com dimensões muito menores do que o comprimento de onda da luz incidente e cujo índice de refração relativo seja próximo a um. Os sistemas micelares estudados se encaixam bem dentro do modelo de Rayleigh.

Na aproximação de Rayleigh, emprega-se a seguinte equação:

$$\frac{K(c - c_{mc})}{I_R} = \frac{1}{M_w} + 2 A_2 (c - c_{mc}) \quad (\text{equação 2})$$

onde:

K é uma constante ótica dada por:

$$K = \frac{4\pi n^2 (dn/dc)^2}{N_A \lambda^4} \quad (\text{equação 3})$$

onde:

dn/dc representa a variação do índice de refração da solução em função da concentração de soluto

I_R representa a razão de espalhamento de Rayleigh, razão entre a contagem absoluta da amostra e a contagem de tolueno. (a contagem do tolueno é $3,96 \times 10^{-5}$ - 488nm e $1,408 \times 10^{-5}$ - 632nm).

M_w é peso molecular médio ponderado por peso

A_2 é o segundo coeficiente virial

c é concentração em g/cm³

CMC é concentração micelar crítica

Como pode ser observado, graficando-se $K(c - c_{cmc})/I_R$ em função da concentração da substância estudada, obtêm-se uma reta. Do valor do intercepto desta reta obtêm-se o parâmetro peso molecular (M_w) e da inclinação da reta se obtém o segundo coeficiente virial (A_2).

A análise dos dados de espalhamento pode ser realizada também através de gráficos de Zimm. Basicamente, procede-se a análises de intensidade de espalhamento em função da concentração de polímeros e em função do ângulo de medida, segundo a equação:

$$K(c - c_{cmc})/I_R = \frac{1}{M}(1 + q^2 \langle Rg^2 \rangle / 3) + 2A_2(c - c_{cmc}) \quad (\text{equação 4})$$

onde:

q é o vetor de espalhamento ($q = (4\pi n/\lambda) \sin(\theta/2)$),
 $\langle Rg^2 \rangle$ é o raio de giracão médio.

Aplicando-se esta equação aos dados de intensidade de espalhamento obtidos experimentalmente, obtém-se, num mesmo gráfico, um conjunto de retas que relacionam intensidade de espalhamento com concentração a um determinado ângulo, e outro conjunto de retas que relacionam intensidade de espalhamento em função do ângulo a uma determinada concentração, extrapolando-se estas retas para zero de concentração e de ângulo obtém-se os parâmetros M_w , A_2 e $\langle Rg^2 \rangle$.

O parâmetro $\langle Rg^2 \rangle$ é um parâmetro de tamanho espacial médio das partículas em solução; especificamente

imaginando-se uma partícula específica, é o raio no qual a massa total da partícula poderia estar incluída, independente do formato, de forma que o momento de inércia seja o mesmo da partícula real. (Hiemenz 1986)

O segundo coeficiente virial descreve desvios de linearidade, observado desde em sistemas simples como gases reais até em experimentos de medida de propriedades de polímeros em solução, como por exemplo: viscosidade, pressão osmótica, difusão, espalhamento de luz, etc. Este coeficiente deve refletir tanto o tamanho finito das partículas em suspensão quanto a interação existente entre estas. (Hiemenz 1986 ; Atkins 1990)

O tratamento matemático para obtenção do segundo coeficiente virial varia de acordo com o sistema que está sendo analisado. Desta forma em polímeros ditos liofóbicos, ou seja, a interação polímero-solvente é muito pequena, o segundo coeficiente virial pode ser relacionado somente com exclusão de volume. (Hiemenz 1986) Em polímeros não carregados liofílicos, ou seja, existe interação polímero-solvente, um tratamento bem adequado é o desenvolvido por Flory-Huggins, que considera o segundo coeficiente virial como resultante da somatória das interações soluto-solvente, soluto-soluto e solvente-solvente, existentes no sistema em estudo (Hiemenz 1986). Para sistemas carregados, o tratamento mais aceito relaciona A_{22} com volume de exclusão e com a energia de interação total

entre duas partículas em solução. (Yamakawa 1971) - (vide discussão)

Desta forma, o estudo de variação de A_{90} em função de C_s em soluções de polímeros carregados, fornece dados com respeito ao potencial de superfície destes.

A técnica de espalhamento de luz dinâmico é baseada na medida da intensidade de espalhamento de uma determinada solução em função do tempo. Os dados de intensidade são analisados segundo uma função de correlação temporal de onde obtém-se diretamente o coeficiente de difusão médio das partículas em solução. Obtem-se também, utilizando os valores de difusão e empregando-se a equação de Stokes-Einstein ($R_h = K_B T / 6\pi\eta D$; onde: K_B é constante de Boltzman; T é Temperatura em Kelvin; η é a viscosidade da solução; D é coeficiente de Difusão), o valor do raio hidrodinâmico (R_h) dos sistemas estudados. O valor de D , e consequentemente de R_h , é dependente não só da força iônica da solução mas também da própria concentração de detergente empregado (Corti e Degiorgio 1981; Dorshow et al 1982; Dorshow et al 1983). Assim os valores de R_h para cada força iônica podem ser obtidos da difusão das partículas, extrapolada para zero de concentração de detergente (D_0).

1.3) OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é investigar os fatores que regem a ligação e troca iônica em interfaces zwitteriônicas. Os estudos foram planejados para determinar o papel exercido pela posição relativa do dipolo nestas interfaces, ou seja, o efeito que a posição das cargas positivas e negativas do dipolo em relação ao meio aquoso e ao meio hidrofóbico, exercem nas características eletrostáticas destas interfaces.

Como objetivo final propôs-se desenvolver um modelo eletrostático simplificado que pudesse explicar e prever efeitos devido a região interfacial como, potencial de superfície e de região dipolar, bem como fenômenos de ligação e troca iônica a interfaces zwitteriônicas.

2) MATERIAIS, APARELHOS E MÉTODOS

2.1) MATERIAIS

A fosfatidil colina (PC) foi isolada e purificada da gema de ovo (Hanahan et al 1957) e teve a sua pureza comprovada por apresentar mancha única em cromatografia de camada delgada de sílica gel (clorofórmio:metanol:água 65:35:5 v:v:v).

A 1-hexadecil glicero-fosfatidil colina (lisoPC - fig. 2) foi obtida da lecitina através da utilização da enzima fosfolipase A2. (Hubbell e Connell 1971)

O 3-(N-hexadecil-N,N-dimetilamonio)-propanossulfonato (HPS - fig. 2) foi sintetizado e purificado segundo método já descrito. (Fendler et al 1971)

A hexadecil fosforil colina ($C_{16}PN$ - fig. 2) foi sintetizado segundo método já descrito e purificado por coluna de sílica usando como solvente um gradiente de clorofórmio/metanol de 8/2-v:v até 1/9 v:v. (Kaatze et al 1980)

O Brometo de Cetil trimetil amônio (CTAB - fig. 2) foi triplamente recristalizado de acetona/metanol/água (80/10/5 - v:v:v).

A piranina foi adquirida da KODAK, triplamente recristalizada de acetona/água (90/10 v:v) e não mostrou impurezas em placas de cromatografia em camada delgada.

O 1-naftol e 2-naftol foram adquiridos da Merck e purificados por sublimação.

As vesículas foram preparadas por sonicação de forma a fornecer uma população homogênea de vesículas unilamelares. (Hubbell e McConell 1971)

A água utilizada foi bidestilada e a empregada nos experimentos de espalhamento de luz, foi bidestilada e filtrada em filtro millipore 0,22 μ m.

Todas as soluções micelares utilizadas nos experimentos de espalhamento de luz, foram filtradas em filtros de Nylon 0,22 μ m.

Todas as outras substâncias utilizadas tem grau de pureza P.A.

Todos experimentos reportados neste relatório foram realizados a temperatura ambiente, $t = 25^{\circ}\text{C}$.

2.2) APARELHOS E MÉTODOS

Os espectros de fluorescência, foram obtidos num Perkin-Elmer luminescence spectrometer (LS5)-R 100A Record.

Os espectros de absorvâncias das soluções, foram obtidas num Beckman DU-70.

Os espectros de RMN de ^{13}C e ^1H foram obtidos num BRUKER AC 200 com frequências de respectivamente 50,32 e 200,13 mega Hertz.

As leituras de pH foram realizadas utilizando um eletrodo combinado de vidro em um instrumento da Digimed modelo DMPH-3.

Nos experimentos de polarização de fluorescência, utilizou-se um par de polaróides (PERKIN ELMER) e realizaram-se medidas de excitação e emissão de fluorescência em diferentes planos, segundo a geometria esboçada no esquema II:

Como mostrado na esquema II, introduz-se um polaróide no caminho óptico de excitação e outro no caminho óptico de emissão. Polariza-se a excitação no vetor vertical e realizam-se medidas de emissão de fluorescência nos planos $I_{\perp}$ e $I_{\parallel}$, ou seja, medidas de intensidade de fluorescência 0-90 e 0-0. Para corrigir a não linearidade dos polaróides, fixa-se excitação no vetor horizontal e realizam-se medidas de emissão de fluorescência nos planos $I_{\perp}$ e $I_{\parallel}$, ou seja, 90-0 e 90-90.

Utilizando estas medidas chega-se ao parâmetro "p" (equação 5), que relaciona-se à mobilidade do cromóforo em solução. (Lakowitz 1983; Kondo et al 1982)

$$p = \frac{I_{0-0} - I_{0-90} \times G}{I_{0-0} + I_{0-90} \times G} \quad (\text{equação 5})$$

onde $G = \frac{I_{90-0}}{I_{90-90}}$, é um fator de correção para não linearidade dos polaróides.

Esquema II-ARRANJO GEOMÉTRICO PARA MEDIDAS DE POLARIZAÇÃO DE FLUORESCÊNCIA. Onde "a" representa o polaróide da excitação, "b" representa o polaróide da emissão, "c" representa a cubeta

As cinéticas de reprotonação foram monitorada pela aparelhagem de fotólise de relâmpago a laser, mostrada no esquema III.

O laser é de Nd-YAG e foi utilizado no terceiro harmônico (354 nm) para os experimentos utilizando a piranina e no quarto harmônico (266nm) nos experimentos com naftóis. O feixe óptico de análise é de xenônio sendo também pulsado, de forma a permitir maior sensibilidade à medida. Este conjunto de aparelhos foi adquirido da Applied Photophysis.

O osciloscópio é um Tektronix 2230-100MHz com dois canais de aquisição.

O microcomputador é um PC-AT IBM compatível (Novadata).

Como pode ser observado pelo esquema III, há dois feixes de luz que alcançam a cubeta: o feixe de laser que tem como função excitar uma população de espécies e o feixe óptico comum que é utilizado para acompanhar, no nosso experimento, que utiliza como sonda ácidos excitados, o desaparecimento da forma deprotonada ou o aparecimento da forma protonada.

Os dados cinéticos adquiridos no osciloscópio são transferidos para o computador, onde as cinéticas foram analisadas e calculadas ("software" desenvolvido no laboratório).

Os dados de espalhamento estático e dinâmico de luz foram obtidos no laboratório do IQUSP e no laboratório

ESQUEMA III: DIAGRAMA SIMPLIFICADO DO APARELHO DE FOTÓLISE DE RELÂMPAGO A LASER.

do grupo do prof. Wayne Reed da Universidade de Tulane. O esquema IV mostra, de forma simplificada, a aparelhagem empregada na realização dos experimentos de espalhamento de luz estático e dinâmico.

A fonte de luz é um laser de He-Ne de 10 mW ($\lambda = 632\text{nm}$) (Hughes).

O goniômetro e porta-amostras foram construídos no IQUSP.

O auto-correlador (BrookHaven) permite acumular sinais em 64 canais. A análise de dados é feita em um computador PC-AT IBM compatível (Novadata).

No espalhamento de luz estático é necessário realizar várias diluições das soluções micelares a cada concentração de sal.

Obtêm-se a cada diluição a intensidade de luz espalhada e este dado é transferido ao computador ("software" desenvolvido pelo laboratório).

Os valores de $K(c-c_m)/I_R$ são calculados e graficados em função da concentração de detergente, obtendo-se assim, uma reta (segundo equação 2 - Introdução) para cada concentração salina estudada ("software" desenvolvido pelo laboratório).

O sistema da Universidade de Tulane usa um laser polarizado de Argônio operando a 488nm e o sistema de detecção é similar ao nosso. (Reed et al 1981)

Para determinação rápida e precisa de medidas de espalhamento de luz estático, a Universidade de Tulane

ESQUEMA IV: DIAGRAMA SIMPLIFICADO DO APARELHO DE ESPALHAMENTO DE LUZ.

conta com um instrumento que coleta dados de espalhamento a 15 ângulos diferentes (26° a 128°) em cada medida (Wyatt Instruments Dawn-F), tornando muito facilitado estes experimentos.

Nos experimentos de espalhamentos de luz estático utilizando esta aparelhagem, foram realizadas análises teóricas baseadas em gráficos de Zimm. Cabe ressaltar que a magnitude medida de $\langle R_g^2 \rangle$ (o valor encontrado foi similar ao raio hidrodinâmico - vide infra), comprovou a aplicabilidade do modelo de Rayleigh para o estudo de espalhamento das soluções micelares de HPS e CTAB, não sendo necessário proceder à análises segundo gráficos de Zimm.

As medidas de dn/dc foram realizadas em refratômetro diferencial montado no laboratório.

Nos experimentos de espalhamento de luz dinâmico, os parâmetros coeficiente de Difusão (D) e Raio hidrodinâmico (R_h), são obtidos diretamente do correlador, com "software" fornecido pela BrookHaven.

3) RESULTADOS

3.1) INTERAÇÃO IÔNICA DA PIRANINA COM INTERFACES ZWITTERIÔNICAS.

Como já comentado na introdução, a piranina apresenta variação no equilíbrio prototrópico de estado excitado quando se liga a interface de micelas (Politi 1984; Politi e Fendler 1984) e esta propriedade foi utilizada com objetivo de monitorar a interação sonda-(interface zwitteriônica).

Inicialmente será apresentado o efeito de interfaces micelares zwitteriônicas no equilíbrio prototrópico da piranina em estado excitado, seguindo-se a ordem HPS, lisoPC e C₁₂PN.

Na figura 5A estão apresentados os efeitos da adição de HPS sobre a emissão do sistema POH*/PO-* (piranina protonada e deprotonada, respectivamente, no estado excitado). Nota-se que na ausência de HPS o espectro apresenta uma banda majoritária centrada em 510nm devido a PO-* e uma outra pequena em 440nm devido a forma POH*. A adição de HPS em concentrações acima da cmc ($\text{cmc} = 5 \times 10^{-5} \text{ M}$ - Herrmann 1966) resulta na diminuição da banda a 510nm com concomitante aumento a 440nm. Outra observação é que, com o aumento da concentração de detergente, ocorre o deslocamento da banda devido a PO-* para 525nm e da banda devido a POH* para

FIGURA 5: (A) Espectro de emissão de fluorescência não corrigida (unidades arbitrárias) de piranina em função da concentração de HPS. $[\text{POH}] = 4,5 \times 10^{-6} \text{ M}$. Comprimento de onda de excitação de 403nm. Curvas de a-i: $[\text{HPS}] = 16,7 - 467 \text{ nM}$ (B) Gráfico de R em função da concentração de HPS.

430nm, tais deslocamentos indicam uma mudança de microambiente da sonda (vide infra).

Na figura 5B, estão apresentados os valores da razão entre a intensidade de fluorescência observada a 510nm e aquela observada a 440nm ($R = I_{510nm}/I_{440nm}$) em função da concentração de HPS. A variação deste parâmetro em função da concentração de HPS, permite monitorar a ligação da piranina à interface. Pode-se evidenciar que a ligação piranina-(micela de HPS) apresenta saturação aparente a cerca de 400uM de HPS.

Nas figuras 6A e 6B, estão apresentados os efeitos do aumento da concentração de NaCl sobre a emissão da piranina a duas concentrações distintas de HPS. Observa-se que com o aumento da concentração de eletrólito, ocorre o aumento da fluorescência da forma PO^{2-} (510nm) com concomitante diminuição da emissão da forma POH^* (440nm); paralelamente observa-se o retorno aos comprimentos de onda máximo de emissão das formas PO^{2-} e POH^* , para os valores observados em soluções aquosas de piranina (fig. 5). Estes dados podem ser interpretados através da liberação da sonda ligada na interface para o meio aquoso. Na figura 7, este efeito está melhor evidenciado pelo gráfico de R em função da concentração de NaCl, a duas concentrações distintas de HPS.

Na figura 8, está apresentado a variação do parâmetro R para a piranina em interação com HPS em função da concentração de NaBr, NaCl e CsCl. Pode-se notar que a variação de R em função da concentração de NaCl e CsCl, é

FIGURA 6: Efeito salino na emissão de fluorescência do sistema piranina-HPS, (A) $[HPS] = 660\mu M$, a - i $[NaCl] = 0mM - 980mM$; (B) $[HPS] = 250\mu M$, a - i $[NaCl] = 0mM - 1000mM$

FIGURA 7: Gráfico do parâmetro R em função da concentração de NaCl; (o) [HPS]=660 μ m; (Δ) [HPS]=250 μ m.

FIGURA 8: Variação do parâmetro R em função da concentração de (•) NaCl; (+) CsCl; (*) NaBr, para solução micelizada de piranina; $[HPS]=650\mu M$; $[POH]=5 \times 10^{-6} M$.

equivalente, enquanto que para o NaBr a variação é muito maior. Estes dados demonstram a maior afinidade da interface micelar por Br^- do que por Cl^- e a pequena influência exercida pelo tamanho do cátion no processo de troca iônica.

Nas figuras 9A e 9B, estão mostrados os efeitos do aumento da concentração de lisoPC sobre o processo de reprotonação da piranina no estado excitado. Nota-se que o efeito observado é similar ao que ocorre com HPS (fig. 5), neste caso porém, a quantidade de anfifílico adicionado é muito maior. Este dado sugere uma menor afinidade da piranina por micelas de lisoPC em relação a observada por HPS. A saturação aparente, neste caso, ocorre em cerca de 55mM de lisoPC (fig. 9A e 9B). Deve-se notar ainda, que praticamente não ocorre deslocamento de máximo de emissão em relação ao espectro da piranina em água, sugerindo a ligação da sonda em ambiente similar à água (vide infra).

Nas figuras 10A e 10B, estão apresentados os efeitos da adição de NaCl como agente competitivo da ligação da piranina com a interface de lisoPC. Nota-se que semelhantemente ao que ocorre com HPS, a piranina é deslocada da interface de micelas de lisoPC para o ambiente aquoso. Nota-se também, que a concentração de sal que leva a uma saturação (constância no valor de R) é menor que no caso de HPS (fig. 8) ainda que a concentração de lisoPC utilizada seja significativamente maior que a de HPS (fig. 8).

FIGURA 9: (A) Espectro de emissão não corrigida da piranina em função da concentração de lisoPC; curvas de a-i: $[lisoPC]=0-50mM$. $[POH]=3,37 \times 10^{-6}M$. (B) Gráfico da variação do parâmetro R em função da concentração de lisoPC

FIGURA 10: (A) Espectro de emissão não corrigida da piranina em função da concentração de NaCl à concentração de 55mM de lisoPC. $[POH]=2,5 \times 10^{-6}M$. (B) Gráfico da variação do parâmetro R em função da concentração de NaCl.

Na figura 11A, está apresentado o efeito do aumento da concentração do detergente $C_{12}PN$ no espectro de emissão da piranina. Pode-se notar o aumento na emissão da forma protonada (440nm) e concomitante diminuição da emissão da forma deprotonada (510nm) da piranina em função da concentração de $C_{12}PN$, demonstrando a ligação da sonda a esta interface. Cabe ressaltar, que a faixa de concentração de detergente em que ocorre a ligação é intermediária àquela observada em HPS e em lisoPC (fig. 5 e 8). Salienta-se ainda, a ausência de deslocamento espectral da piranina nesta interface. Na figura 11B, a interação da piranina com micelas de $C_{12}PN$ pode ser melhor evidenciada através do gráfico de R em função da concentração de $C_{12}PN$, que demonstra que a saturação da ligação piranina-(micela de $C_{12}PN$) ocorre a cerca de 7mM de $C_{12}PN$.

Na figura 12A, está apresentada a mudança no espectro de fluorescência da piranina interagindo com $C_{12}PN$ em função da concentração de NaBr. Nota-se que ocorre um efeito de competição semelhante ao observado com as micelas de HPS e lisoPC (figs. 6, 7, 8, 10). Na figura 12B, está apresentada a variação do parâmetro R em função da concentração de NaBr, NaCl e CsCl a uma concentração constante de $C_{12}PN$. Pode-se notar que a variação de R é similar para NaBr e CsCl, sendo um pouco menor para o NaCl.

Para evidenciar o efeito de bicamadas zwitteriônicas no processo de reprotonação da piranina, obtiveram-se espectros de emissão desta sonda incorporada em

A

$R \times [C_{16}PN]$

B

FIGURA 11: (A) Espectro de emissão de fluorescência não corrigido (unidades arbitrárias) de piranina em função da concentração de $C_{16}PN$, $[POH]=5 \times 10^{-4}M$; curvas de 1-8: $[C_{16}PN]=0 - 13mM$. (B) Gráfico de R em função da concentração de $C_{16}PN$

FIGURA 12: (A) Espectro de emissão não corrigido da piranina em função da concentração de NaCl à concentração de 15mM de $C_{16}PN$. Curvas de 1 - 10 $[NaBr]=0 - 0,6M$. (B) Gráfico de variação do parâmetro R em função da concentração NaCl (-), NaBr (+) e CsCl (*) a concentração de 15mM de $C_{16}PN$

vesículas de PC a valores diversos de concentração salina (C_s) (tabela II).

Como pode ser observado na tabela II, o valor de R em solução de vesículas de PC, a $C_s = 0,01M$, é 1,94. Comparando este valor com R da piranina em solução aquosa ($R = 15$), percebe-se que ocorre a ligação da piranina em vesículas de PC. Pode-se perceber também, que o aumento de C_s leva ao aumento de R , caracterizando a liberação da sonda da interface vesicular para o meio aquoso, como observado nos sistemas micelares estudados (figs. 7, 8, 10, 12).

Tabela II. LIGAÇÃO E TROCA IÔNICA DE PIRANINA ENCAPSULADA EM VESÍCULAS DE PC

C_s (M)	% de incorporação (b)	[PC], mM (c)	R
0,01	1,5	18,5	1,94
0,10	0,5	18,5	2,63
0,15	0,5	18,5	2,93

(a) A força iônica foi ajustada adicionando-se aliquotas apropriadas de solução estoque de NaCl concentrado (2,5M) a um tubo de ensaio contendo solução 0,001 M de piranina e um filme de PC; (b) Porcentagem de incorporação medidos por curva padrão depois de proceder a ruptura da vesícula por SDS; (c) Concentração de PC medida por método descrito na literatura. (Hubbell e McConiell 1971)

Comparando-se os comprimentos de ondas máximos de emissão da piranina em diversos meios e nos sistemas estudadas, pode-se evidenciar distintos posicionamentos da sonda nestas interfaces. Na tabela III, pode se observar que a emissão máxima da forma POH^* em água é 443nm e da forma $PO^{=}$, é 508nm. Em solvente de polaridade menor, como metanol, o comprimento de onda máximo de emissão de POH^* é 426nm. Na presença de micelas de CTAB, os comprimentos de ondas máximos são: para POH^* - 430nm e para $PO^{=}$ - 523nm. Devido a semelhança do comprimento de onda máximo de emissão de POH^* em interação com CTAB e em meio metanólico, pode-se estimar que o ambiente de interação da sonda com micelas de CTAB é semelhante ao metanol. No caso de soluções de HPS, a sonda apresenta emissão máxima de fluorescência das formas POH^* e $PO^{=}$ nos comprimentos de onda 430nm e 525nm respectivamente, muito semelhante ao apresentado pela sonda em CTAB e em solução metanólica, sugerindo um mesmo tipo de ambiente de interação da piranina com micelas de HPS. Pode-se verificar também que este efeito é revertido pela adição de sal, ou seja, com aumento de Cs a sonda volta a apresentar espectro de fluorescência com intensidade máxima de emissão em comprimentos de ondas observados em soluções aquosas de piranina. Na interação com micelas de lisoPC e $C_{14}PN$ e com vesículas de PC, a piranina apresenta máximos de emissão similares aos observados em água, sugerindo um sítio de ligação da piranina com estas interfaces de polaridade similar à água.

Tabela III. COMPRIMENTO DE ONDA DE FLUORESCENCIA NÃO CORRIGIDA DE POH* E PO** EM VARIOS MEIOS.

MEIO	Máximo de emissão (nm)	
	POH*	PO**
3M de HClO ₄ (aq)	443	---
0,1M NaOH (aq)	---	508
metanol	426	---
0,05M CTAB	430	523
[HPS] mM (aq)		
0,033	443	508
0,20	431	514
0,537	430	525
0,666mM HPS + [NaCl] M		
0,096	431	525
0,565	434	515
0,976	437	512
[lisoPC] = 50mM	443	508
[C ₁₄ PN] = 13mM	443	508
[PC] = 18,5mM	443	508

No sentido de evidenciar a ligação da piranina nas interfaces estudadas através de parâmetro experimental independente, utilizou-se a técnica de polarização de fluorescência.

Na figura 13, encontra-se o gráfico obtido do experimento de polarização de fluorescência. Nota-se que com o aumento da concentração de HPS, o valor de "p" aumenta até 1mM permanecendo constante a concentrações maiores. Para a lisoPC, o valor de "p" apresenta pouca variação até 1mM e apresenta saturação somente a altas concentrações, acima de 40mM (fig.13 inserto). Estes dados comprovam a afinidade diferencial da piranina pelas micelas de HPS e lisoPC, em concordância à observação realizada por medidas de fluorescência (figs. 5 e 9).

Na figura 14, está apresentado o gráfico da variação de "p" de uma solução de piranina em interação com HPS em função da concentração de sal. Pode-se apreciar que com a elevação da concentração salina ocorre a diminuição do valor de "p", ou seja, aumento da mobilidade rotacional da sonda, comprovando a liberação desta da interface micelar para o meio aquoso.

Vale comentar que não se pretende caracterizar os detalhes fotofísicos do parâmetro "p" obtidos, mas unicamente ater-se às variações relativas deste parâmetro em função de concentração de detergente e eletrólito.

FIGURA 13: Parâmetro de polarização de fluorescência "p", em função da concentração de (□) HPS e (▲) lisoPC, respectivamente. $[POH] = 2,7 \times 10^{-6} M$. O inserto apresenta os valores de "p" a altas concentrações de lisoPC.

FIGURA 14: Variação de "p" em função da concentração de NaCl, para o sistema piranina-HPS. $[POH]=2,7 \times 10^{-4} M$, $[HPS]=475 \mu M$.

3.2) DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE SOLVENTE DA INTERFACE DAS MICELAS ESTUDADAS E CARACTERIZAÇÃO DA INTERAÇÃO MICELA -PIRANINA POR RESSONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE CARBONO E PROTON.

Com a intenção de caracterizar a polaridade das interfaces micelares estudadas, mais precisamente o grau de hidratação das metilas ligadas ao nitrogênio em micelas de HPS, $C_{12}PN$ e lisoPC, bem como monitorar a localização da sonda nestas interfaces, realizaram-se experimentos utilizando as técnicas de ressonância magnética nuclear de carbono e proton (RMN de ^{13}C e ^1H).

Para monitorar o grau de hidratação das metilas ligadas ao nitrogênio dos detergentes estudados, optou-se por utilizar o efeito de solvente no ^{13}C RMN. Sabe-se que a polaridade do solvente afeta o deslocamento químico no espectro de ^{13}C RMN, sendo que, embora não exista uma relação direta polaridade/deslocamento, em geral o aumento de polaridade conduz o deslocamento do núcleo investigado para campo baixo. (Lichter e Roberts 1970)

Na tabela IV, estão apresentados os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C das metilas ligadas ao nitrogênio positivo de soluções micelizadas de HPS, $C_{12}PN$ e lisoPC. Pode-se notar que o deslocamento químico observado para estas metilas no HPS está situado mais para campo alto em relação aos deslocamentos químicos destas metilas nos

detergentes $C_{16}PN$ e $11soPC$. A magnitude da diferença dos deslocamentos é de 6.6 ppm, sugerindo uma maior hidratação das metilas ligadas ao nitrogênio em interfaces micelares de $11soPC$ e $C_{16}PN$.

TABELA IV. DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE ^{13}C DAS METILAS LIGADAS AO NITROGÊNIO DE SOLUÇÕES MICELARES DE HPS, $C_{16}PN$ e $11soPC$

HPS ^(a)	47,5
$11soPC$ ^(a)	54,1
$C_{16}PN$ ^(a)	54,1

(a) Deslocamentos químicos em ppm. [detergente] = 0,02M

Para investigar a posição da sonda nas interfaces estudadas, utilizou-se o efeito de correntes de anéis que, usualmente, núcleos aromáticos ou poliaromáticos exercem nas suas vizinhanças. A nuvem eletrônica de núcleos poliaromáticos exercem um efeito de blindagem nos prótons circunvizinhos, de forma que estes apresentam variações nos deslocamentos químicos observados. (Silverstein et al 1979) Como a piranina é um núcleo poliaromático, utilizou-se este efeito para monitorar a "posição" em que esta sonda se situa na interface micelar.

Na tabela V, encontram-se as variações nos deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN de ^1H (diferença entre os deslocamentos químicos observados para as micelas em solução aquosa e em solução de piranina), de soluções micelares de HPS a duas concentrações de piranina.

$$\begin{array}{ccccccccccc} \text{H}_3 & - & (\text{CH}_2)_{12} & - & \text{CH}_2 & - & \text{CH}_2 & - & \text{N}^+ & \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \vdots \\ \text{CH}_3 \end{array} & - & \text{CH}_2 & - & \text{CH}_2 & - & \text{CH}_2 & - & \text{SO}_3^- \\ \text{a} & & \text{b} & & \text{c} & & \text{d} & & & & & \text{f} & & \text{g} & & \text{h} & & \end{array}$$

(a) Variação dos deslocamentos espectrais em Hertz (para Campo alto) observados no RMN de ^1H de soluções micelizadas de HPS a duas concentrações de piranina em função do carbono a que o próton está ligado. (b) deslocamentos observados para campo baixo. $[\text{HPS}] = 0,6\text{mM}$

Nota-se que ocorrem variações nos deslocamentos químicos dos prótons c, d, e, f do HPS que acompanham a variação de concentração da sonda, indicando um posicionamento preferencial da piranina próximo ao nitrogênio na micela de HPS. Vale citar que em todos os espectros foram observados sempre picos únicos relacionados com determinado próton. Note também a grande concentração de sonda necessária para visualização do efeito observado.

Cabe ressaltar que nos espectros de RMN de ^1H de soluções micelizadas de lisoPC não foram evidenciadas variações de deslocamentos espectral em função da concentração de piranina.

3.3) CARACTERIZAÇÃO DE TRANSFERÊNCIA DE PRÓTON EM INTERFACES ZWITTERIONICAS.

3.3.a) MEDIDAS DE VELOCIDADE DE REPROTONAÇÃO DA PIRANINA.

A piranina, como comentado na introdução, comporta-se segundo o caso 2 de equilíbrio prototrópico de estado excitado. Desta forma, na situação em que $\text{pK}_a^* + 1 > \text{pH} > \text{pK}_a - 1$, a forma PO^{*-} predomina no estado excitado, decaindo para PO^{*-} ($k_f^* + k_{nr}^*$), o qual associa-se a um próton para o restabelecimento do equilíbrio pré-excitação (vide esquema I). A cinética de reprotonação pode ser monitorada medindo-se o aparecimento da forma POH (observado a 403nm)

ou o desaparecimento da forma PO^- (observado a 454nm). Nos experimentos a seguir reportados monitorou-se somente o aparecimento de PO^- , uma vez que a resolução do sinal transiente é melhor, ainda que as cinéticas acompanhadas em ambos comprimentos de onda sejam totalmente equivalentes. Cabe ressaltar que foram utilizadas concentrações de detergentes suficientes para que a piranina estivesse totalmente incorporada nas micelas estudadas. (vide discussão) Vale citar ainda, que os dados de relaxação acompanharam curvas exponenciais simples ($A = A_0 \cdot \exp^{-k_{obs} \cdot t}$, onde: A é a absorvância final, A_0 é a absorvância inicial, k_{obs} é a constante de velocidade observada experimentalmente, t é o tempo), isto é, comportando-se como cinéticas de primeira ordem, sendo válida a relação $k_{obs} = k_{on} [H^+]$ (vide introdução).

Na Figura 15 está mostrada a variação do $\log (K_{obs}/[H^+]) = \log(k_{on})$ da piranina em soluções aquosas e de HPS, em função da concentração de NaCl e NaF. Está apresentado também, a curva teórica derivada do efeito de blindagem eletrostática ocasionado pelo aumento de força iônica (equação 1) - (fig.15 linha cheia). Vale comentar que a concentração de prótons utilizados nos cálculos de k_{on} foi obtida a partir da medida do pH.

Pode-se perceber que a curva experimental para velocidade de reprotonação da piranina em solução aquosa, acompanha de forma adequada a curva teórica (equação 1). Deve-se notar também que a piranina quando ligada na

FIGURA 15: Variação de $\log (K_{obs}/[H^+])$ da piranina em solução aquosa (●) e de HPS em função da concentração de NaCl (○) e de NaF (△). A curva teórica (—) é obtida da equação 1. $[HPS]=2,5mM$; $[piranina]=8,8 \times 10^{-4}$;

interface micelar apresenta: i) velocidade inicial de reprotonação ligeiramente diminuída; ii) um comportamento de variação da velocidade de reprotonação em função de sal bastante semelhante ao observado em solução aquosa. Vale citar que com o aumento da concentração salina a piranina é deslocada da interface micelar como mostrado na figura 6. No caso em que o sal adicionado foi NaF, a piranina é deslocada de maneira menos intensa da interface micelar, como seria de esperar, uma vez que o F^- é ânion com pouca afinidade pela interface de HPS. (Brochsztain et al 1991) (vide discussão).

Na figura 16¹, está apresentada a variação de $\log (K_{obs}/[H^+])$ da piranina situada em micelas de $C_{12}PN$ em função da concentração de NaCl. Pode-se perceber que o perfil de variação de $\log (K_{obs}/[H^+])$ em função de sal, segue o previsto pela equação 1, semelhantemente ao mostrado na figura 15.

Na Tabela VI, encontram-se os valores de $K_{obs}/[H^+]$ da piranina, obtidos em soluções micelares de CTAB (situação em que a piranina está completamente ligada às micelas de CTAB), em função do pH do meio. Nota-se que os valores de $K_{obs}/[H^+]$ observados, são muito menores do que os obtidos para soluções aquosas ($1,2 \times 10^{11} M^{-1}s^{-1}$) e micelares (HPS e $C_{12}PN$) de piranina (figs. 15 e 16, tabela 1).

FIGURA 16: Variação do logaritmo da velocidade de reprotonação da piranina dividido pela concentração hidrogeniônica do meio $\log (K_{\text{obs}}/[\text{H}^+])$ em função da concentração de NaCl, para o sistema piranina- C_{14}PN . $[\text{C}_{14}\text{PN}] = 20\text{mM}$; $[\text{piranina}] = 1 \times 10^{-5}$. A linha contínua representa a curva teórica segundo a equação 1.

Tabela VI. VARIACAO DO $k_{obs}/[H^+]$ EM SOLUÇÕES MICELARES DE CTAB. (a)

[CTAB]mM	pH	$k_{obs}/[H^+]$ ($M^{-1}.s^{-1}$)
10	4,93	$3,6 \times 10^9$
10	4,26	$2,3 \times 10^9$
10	3,79	$1,8 \times 10^9$

(a) $[piranina] = 8,8 \times 10^{-6} M$

3.3.b) MEDIDAS DE VELOCIDADE DE REPROTONAÇÃO DO 1-NAFTOL E 2-NAFTOL.

O objetivo destes experimentos é monitorar a velocidade de transferência de prótons em interfaces zwitteriônicas utilizando para tanto as sondas 1-naftol e 2-naftol incorporadas nestas interfaces. Especula-se que o sítio de interação das interfaces estudadas com estas sondas deve estar situado em uma região mais interna da interface, em direção à parte hidrofóbica do agregado, do que o sítio de interação da piranina e portanto, estes experimentos podem fornecer maiores informações do ambiente iônico da calota dipolar (interface).

Semelhantemente ao que acontece com a piranina, o 1 e 2-naftóis são ácidos excitados. Vale lembrar, que o 1-naftol comporta-se segundo o caso 2 de equilíbrio prototrópico, enquanto que o 2-naftol, embora não

apresente dissociação completa (caso 3 - vide introdução), é susceptível a estudos de salto de pH induzido por laser.

A ligação destas sondas com as interfaces estudadas foi monitorada através da diminuição de k_{off}^* que resulta em aumento da emissão da forma ácida. (Selinger e Weller 1977; Lee et al 1986; Il'ichev et al 1991)

Nas figuras 17A e 17B, estão apresentados os espectros de fluorescência do 2-naftol e 1-naftol, respectivamente, em solução aquosa e micelar (HPS e $C_{16}PN$). Nas figuras 18A e 18B estão apresentados os espectros de fluorescência de 2-naftol e 1-naftol respectivamente em solução aquosa e em interação com vesículas de PC. Pode-se notar que um aspecto semelhante em todos espectros, é que ocorre aumento de emissão da forma protonada dos naftóis em soluções micelares de HPS e $C_{16}PN$ e de vesículas de PC, demonstrando a ligação destas sondas a estas interfaces. Vale notar que, no caso do 1-naftol ocorrem variações aparentes de rendimento quântico, de ambas as formas, protonadas e deprotonadas, que são específicas das respectivas interações sondas-meio. Cabe citar ainda, que a variação da concentração salina da solução não causa nenhuma alteração nos espectros de emissão dos naftóis interagindo com as interfaces estudadas, demonstrando que o sal não desloca os naftóis das interfaces de HPS, $C_{16}PN$ e PC.

As cinéticas de reprotonação do 1-naftol e 2-naftol foram monitoradas pelo desaparecimento da forma

FIGURA 17: Espectros de emissão de 2-naftol (A) e 1-naftol (B), em solução aquosa (-), de HPS (---) e de $C_{14}PN$ (---). $pH = 5$; $[HPS] = [C_{14}PN] = 5mM$.

FIGURA 18: Espectros de emissão de 2-naftol (A) e 1-naftol (B), em solução aquosa (-) e em solução de vesículas de PC (- -). $pH=5$; $[PC]=2,5mM$.

básica, formadas após os pulso de laser, nos comprimentos de ondas de 330nm e 360nm, respectivamente.

Na figura 19A, está apresentada a variação da constante observada de reprotonação (k_{obs}) das sondas 1-naftol e 2-naftol, nas micelas de HPS e $C_{12}PN$, em função da concentração de eletrólito adicionada à solução. Está apresentado também o valor do k_{obs} destas sondas em meio aquoso; vale citar, que estes experimentos foram realizados no mesmo pH. Há vários aspectos que devem ser ressaltados desta figura:

i) Comparativamente, o valor de k_{obs} observado para 1-naftol em interação com HPS é menor do que em água, sendo observado efeito inverso na interface de $C_{12}PN$.

ii) O perfil de variação de k_{obs} do 1-naftol em interação com ambas interfaces em função de Cs, mostra, com o aumento de Cs, a diminuição de k_{obs} na interface de $C_{12}PN$ e aumento na interface de HPS. Observa-se também, que para ambas interfaces a magnitude de k_{obs} alcança um platô mínimo (HPS) ou máximo ($C_{12}PN$) e a valores maiores de Cs ocorre pequeno aumento em k_{obs} (HPS) ou diminuição ($C_{12}PN$).

iii) Pode também ser evidenciado que k_{obs} do 2-naftol segue perfil semelhante ao do 1-naftol, excetuando-se que a magnitude do efeito é menor e que na interação inicial desta sonda com a interface de $C_{12}PN$ o valor de k_{obs} ,é muito semelhante ao k_{obs} na água, ao invés de ser maior, como observado para o 1-naftol. Na figura 19.B, está apresentada a

A

B

FIGURA 19: (A) Variação de K_{obs} do 1-naftol em HPS (-); C₁₆PN (+) ; de 2-naftol em HPS (□) e C₁₆PN (x) em função de [NaCl]. Está mostrado também o K_{obs} do 1 e 2 naftol em solução aquosa pH=5 (*) - $K_{obs} = 4,8 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. [1-naftol] = [2-naftol] = $5 \times 10^{-5} \text{ M}$; [HPS]=[C₁₆PN]=5mM. (B) Ampliação do gráfico de K_{obs} do 2-naftol, apresentado na figura 19(A) em solução de HPS (-) e C₁₆PN (+).

ampliação da variação de k_{obs} do 2-naftol nas interfaces de HPS e $C_{12}PN$ em função da concentração de sal.

Em interfaces de vesículas de PC, como pode ser observado na figura 20, ocorre um efeito semelhante ao observado nas interfaces micelares de $C_{12}PN$, ou seja, à $C_s = 0$, a velocidade é ligeiramente maior; com aumento de C_s , ocorre diminuição na velocidade que alcança um platô, ocorrendo aumento da velocidade a valores ainda maiores de C_s .

3.4) MEDIDAS DE INTERAÇÕES MICELARES POR ESPALHAMENTO DE LUZ

Utilizou-se a técnica de espalhamento de luz estático para monitorar através, principalmente, do parâmetro A_2 , o comportamento de interação intermicelar de soluções de HPS, perante o aumento da força iônica. Como descrito na introdução, a variação A_2 em função de C_s é diretamente relacionada com a variação da energia de interação destas partículas, o que pode fornecer dados de variação do potencial eletrostático superficial, se presente, destas micelas em função de C_s . Caracterizou-se a variação de A_2 em função de C_s também para micelas de CTAB, para termos de comparação. Obteve-se ainda destes experimentos, o valor do peso molecular médio ponderado por massa das micelas estudadas (M_w).

FIGURA 20: Variação de k_{obs} de 1-naftol (·) e 2-naftol (+) em função da concentração de NaCl. Está apresentado também o k_{obs} observado em água (■); $[PC] = 2,5mM$; $[1-naftol] = [2-naftol] = 5 \times 10^{-5}M$.

O valor de M_w para as micelas de HPS manteve-se praticamente inalterado de 0 a 100mM de NaBr, $M_w = 53000 \pm 5\%$. A 500mM de NaBr, este valor subiu para $M_w = 60000 \pm 5\%$ e em 2000mM de NaBr, para $M_w = 68000 \pm 5\%$. Sendo o peso molecular de monômero igual 391, obtiveram-se números de agregação para micelas de HPS de 130 a 170. O valor de M_w medido para micelas de CTAB, foi de $65000 \pm 5\%$ numa faixa de $C_s = 5$ a 50mM. Nestes experimentos utilizou-se os seguintes valores de dn/dc medidos experimentalmente: CTAB - $dn/dc = .1585$ na faixa de 5 a 50 mM de NaBr. Para o HPS, $dn/dc = .1622$ de 0 a 100mM de NaBr; a 500mM $dn/dc = .1534$ e a 2000mM, é $.1313$.

Está apresentado na figura 21A, a variação de A_2 em função de C_s para micelas de HPS e de CTAB. Pode-se perceber que o valor de A_2 para micelas de CTAB apresenta variação de quase duas ordens de magnitude com C_s , a $C_s = 70mM$, o valor de A_2 é $7,7 \times 10^{-5} \text{ cm}^3 \text{ mol/g}^2$ e em $C_s = 2mM$, este valor é $6,18 \times 10^{-3} \text{ cm}^3 \text{ mol/g}^2$. Para HPS (na figura 21B), estão apresentados valores de A_2 para HPS em escala ampliada), em $C_s = 0$ o valor de A_2 é $5 \times 10^{-5} \text{ cm}^3 \text{ mol/g}^2$; com o aumento de C_s , ocorre um aumento de A_2 , que alcança um platô em $C_s = 15mM$, onde $A_2 = 2,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^3 \text{ mol/g}^2$, valor que se mantém constante até 100mM. Após isto, A_2 diminui até o valor de $1,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^3 \text{ mol/g}^2$, por volta de 2000mM. Pode-se perceber que, embora a variação de A_2 observada para HPS seja muito menor àquela observada para CTAB, esta é mensurável.

A

B

FIGURA 21: (A) Variação de A_2 (cm³xmol/g²) para CTAB (□) e HPS (Δ) em função de C_s ; (B) Ampliação do dado de $A_2 \times C_s$ para micelas de HPS.

O fato da variação de A_{e} com Cs ser muito mais expressiva para CTAB do que para HPS, indica que no primeiro caso existe uma forte interação eletrostática intermicelar ou grande exclusão de volume, que ocorre em muito menor intensidade em micelas zwitteriônicas.

Como comentado na introdução, foram realizados experimentos de espalhamento dinâmico de luz para calcular o R_{h} . O cálculo deste parâmetro foi extrapolado para zero de concentração de detergente, fornecendo desta forma, o tamanho aparente da micela em solução (R_{h} - figura 26).

O R_{h} obtido foi 27 Å para HPS e 25 Å para CTAB.

4) DISCUSSÃO

A ligação e troca de íons a interfaces carregadas está bem estabelecido para sistemas micelares e também vesiculares. (Chaimovich 1979; Quina e Chaimovich 1979; Cuccovia et al 1989) A extensão destes estudos para interfaces neutras do tipo zwitteriônicas esta entretanto pouco documentada. Pelos dados aqui apresentados, pode-se constatar a ligação e troca de íons para estes sistemas.

Comparando-se os resultados apresentados nas figuras 5, 9 e 11, pode-se notar que a variação do parâmetro R, inicia-se a uma concentração mais baixa de HPS do que de C₁₆PN e lisoPC, ou seja, a sonda se liga nesta interface em concentrações menores de detergente. Deve-se citar que todos os detergentes estudados possuem cmc da ordem de 5×10^{-3} M (HPS - Herrmann 1966; C₁₆PN - Kaatze et al 1980; lisoPC - Helenius et al 1979), de forma que estes efeitos observados não podem ser devidos a diferenças na cmc. Pode-se observar também, que ocorre uma saturação aparente, ou seja, R constante, a concentração de cerca de 400µM de HPS, 7mM de C₁₆PN e 55mM de lisoPC. Estes dados sugerem que a ligação da piranina nestas interfaces segue a ordem: HPS > C₁₆PN > lisoPC.

A adição de eletrólito inerte (NaCl) a uma solução de piranina na presença de detergente micelizado, leva ao aumento do valor de R (figs. 6, 7, 8, 10 e 12). O

aumento do valor de R implica numa maior deprotonação da sonda no estado excitado que é relacionado com a liberação da sonda para o meio aquoso. Vale notar também, que a saturação nestes sistemas ocorre em torno de 900mM em HPS, 600mM em C16PN e 500mM em lisoPC (6, 10 e 12B), indicando que a facilidade de deslocar a piranina da interface pelo NaCl, aumenta na seguinte ordem: lisoPC > C16PN > HPS.

O fato do eletrólito inerte NaCl deslocar a piranina dos seus sítios de interação com a interface, demonstra o caráter iônico da interação sonda-interface. Cabe lembrar que sondas não carregadas como 1 e 2 naftóis, não são deslocadas de interfaces zwitteriônicas pelo aumento da força iônica da solução (fig. 17)

Analisando-se o efeito de competição de diversos eletrólitos pelo sítio de ligação da piranina com micelas de HPS (figura 8), percebe-se claramente que ions brometo deslocam a piranina da interface micelar muito mais eficientemente do que ions cloreto, comprovando a maior afinidade de interfaces de HPS por ions brometo do que por ions cloreto, em analogia aos dados de literatura (Brochsztain et al 1991). Percebe-se também, que cátions não interferem neste processo de troca iônica, uma vez que os sais NaCl e CsCl, deslocam a piranina da interface micelar com a mesma eficiência.

O efeito de competição observado em micelas de C12PN (fig. 12B), mostrou que os sais CsCl e NaBr deslocam a piranina da interface micelar com a mesma eficiência,

indicando novamente que os cátions não interferem neste processo de troca iônica e que nesta interface ions cloreto e brometo competem com a mesma eficiência pelos sítios de interação da piranina. O efeito observado para NaCl, embora seja de menor magnitude, não parece divergir sobremaneira do efeito de CsCl e NaBr, sendo mais seguro afirmar que estas diferenças estejam dentro do erro experimental.

A ligação da piranina em vesículas de PC segue o mesmo perfil que é evidenciado na interação lisoPC-piranina (tabela II), então a altas concentrações salinas o parâmetro R aumenta, mostrando também um típico processo de troca iônica.

Os dados de deslocamento espectral contidos na tabela III, além de corroborarem a demonstração da ligação, dão indícios do posicionamento da sonda nos vários tipos de interface. Observa-se que o deslocamento espectral apresentado pela sonda em meio de micelas de HPS é semelhante aquele observado na presença de micelas de CTAB e misturas água/etanol. Estes deslocamentos refletem ambientes de baixa polaridade, sugerindo que a piranina situa-se internalizada na interface de micelas de HPS. Por sua vez, em presença de micelas de C16PN e lisoPC, bem como em vesículas de PC a sonda não apresenta deslocamento espectral, indicando uma localização mais externa à interface micelar.

Acompanhando-se o efeito exercido pela piranina no deslocamento químico dos diversos prótons da interface de micelas de HPS (tabela V), pode-se evidenciar a

região onde este efeito apresenta intensidade maior e relacionar esta região, com a provável localização da sonda. Desta forma, pode-se comprovar que a piranina apresenta-se bem internalizada na interface micelar de HPS, próximo ao nitrogênio dos monômeros na interface. Vale comentar que devido ao fato de ter sido observado a presença de um único pico de deslocamento químico para cada próton que varia com a quantidade de sonda, conclui-se que a troca entre a piranina ligada e desligada se processa rapidamente em relação a escala de tempo de medida da ressonância magnética, uma vez que se a troca fosse lenta, deveriam ser observados dois picos para cada próton, um devido a piranina ligada e outro para a piranina não ligada.

O fato do RMN de ^1H não apresentar variações evidentes nos deslocamentos quando a piranina interage com a micela de lisoPC, pode ser explicado pela interação sonda-micela não ser suficientemente intensa para ser evidenciada por esta técnica. Isto pode ser atribuído a ligação da piranina se dar na região mais externa da interface e também devido a baixa concentração de sonda ligada, que pode ser estimada em 90% com HPS e apenas 7% com lisoPC nestes experimentos de RMN de ^1H . Estas estimativas foram realizadas através das constantes de ligação piranina-interfaces (vide infra) obtidas das figuras 5 e 9.

Uma vez que em micelas de lisoPC e C_{12}PN a piranina situa-se em um ambiente maior hidratação (tabela III), aventamos a possibilidade de o parâmetro R não estar

monitorando a ligação de sonda à interface, mas meramente refletindo distintas hidratações. Para evidenciar esta questão, utilizou-se o método de polarização de fluorescência que evidencia de forma direta, através do parâmetro "p", o grau de mobilidade que a sonda se encontra. (Lakowicz 1983; Kondo et al 1982)

Os dados obtidos nestes experimentos encontram-se na figura 13. Nota-se que a variação deste parâmetro é sobremaneira maior para soluções micelizadas de HPS, indicando que a sonda apresenta uma menor mobilidade rotacional nesta interação, ou seja, a ligação da sonda a esta interface é realmente maior e ocorre a concentrações menores do que no caso de micelas de lisoPC. Nota-se também que, pela semelhança dos valores de concentração que ocasionam variações dos valores de "p" em relação aos valores de concentração que ocasionam variações em $\bar{R}$ contidos nas figuras 5 e 9, pode-se comprovar a efetividade do parâmetro $\bar{R}$, escolhido para evidenciar a ligação da sonda as interfaces dos anfifílicos.

O dado apresentado na figura 14 demonstra que o deslocamento da sonda da interface micelar de HPS, que foi primeiramente monitorado pela variação do parâmetro $\bar{R}$ (figs. 6 e 7), resulta também em uma grande variação no parâmetro "p", demonstrando inequivocamente que a sonda é liberada da interface micelar através do aumento de força iônica da solução.

No sentido de obter-se parâmetros de comparação da ligação da piranina nas micelas estudadas, analisou-se fenomenologicamente os dados segundo o modelo de ligação abaixo:

onde:

$$K_{\text{m}} = \frac{[\text{POHMIC}]}{[\text{POH}] \times [\text{MIC}]}$$

sendo: $[\text{POH}]_{\text{t}} = [\text{POHMIC}] + [\text{POH}]$

onde $[\text{POH}]_{\text{t}}$ é a concentração analítica da sonda, pode-se obter a equação:

$$\frac{1}{\%L} = \frac{1}{K_{\text{m}}} \times \frac{1}{[c]} + 1 \quad (\text{equação 6})$$

onde %L representa a porcentagem de sonda ligada a micela. Nas figuras 5, 9 e 11, o valor de 100% de ligação é estimado a partir da região em que R é constante e 0% é obtido quando a sonda está em solução sem detergente. Na figura 13 o valor de 100% e 0% é obtido de forma semelhante para o parâmetro "p". [c] representa a concentração molar de detergente micelizado na cubeta (concentração analítica menos cmc).

Tratando-se os dados das figuras 5, 9 e 11 segundo a equação 6, obtem-se os gráficos apresentados na figura 22A (HPS), 22B (C₁₂PN) e 22C (IisoPC). Os valores calculados de K_m são: 1,02 x 10⁴ M⁻¹ para HPS, 4,7 x 10⁴ para

FIGURA 22: Análise de acordo com a equação 6 dos dados apresentados nas figuras 5,9,11 e 13. Gráfico de duplo recíproco de: (A) % de ligação versus $[HPS]$ dos dados de intensidade de emissão (fig.5). (B) % de ligação versus $[C_{16}PN]$ dos dados de emissão (fig.11). (C) % de ligação versus $[LisoPC]$ (fig.9). (D) % de ligação do parâmetro de polarização de fluorescência (fig.13).

$C_{12}PN$ e 40 M^{-1} para lisoPC, comprovando a ordem de afinidade da piranina com as interfaces estudadas: $HPS > C_{12}PN > \text{lisoPC}$. Análise similar realizada através do parâmetro "p" (figura 13) utilizando a equação 6, fornece um valor de K_{11} para interação piranina-HPS de $4,0 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}$ (figura 22D), semelhante ao obtido da análise dos dados da figura 5.

Para o processo de troca iônica considerou-se o sal como um agente competitivo para a piranina ligada. Uma análise mais significativa poderia ser realizada utilizando o modelo de pseudofase de troca iônica, mas para tanto deveria-se saber a atividade da piranina ligada. (Bacaloglu et al 1989; Romsted 1977) Desta forma utilizou-se um modelo tipo enzimático simples de inibição competitiva, (Marshall 1978) segundo o qual:

onde

$$K_1 = \frac{[POH]}{[SAL] * [POHMIC]}$$

$$\frac{1}{\%L} = K_1 * [c] + C \quad (\text{equação 7})$$

com C representando termos constantes.

Tratando os dados relativos a troca iônica (fig. 6, 10 e 12) segundo a equação 7, obtem-se os gráficos

apresentados nas figuras 23A (HPS), 23B ($C_{14}PN$) e 23C (lisoPC) e os valores de K_1 obtidos são: $K_1 = 3 \text{ M}^{-1}$, $7,5 \text{ M}^{-1}$ e 20 M^{-1} respectivamente para HPS, $C_{14}PN$ e lisoPC, demonstrando que a facilidade do NaCl deslocar a piranina ligada às micelas estudadas segue a ordem: lisoPC > $C_{14}PN$ > HPS. Estas análises foram realizadas também com os sais NaBr e CsCl para HPS (figs. 24A e 24B) e $C_{14}PN$ (figs. 25A e 25B). Os resultados obtidos de K_1 foram: 32 M^{-1} e 6 M^{-1} para NaBr e CsCl, respectivamente, em HPS e 11 M^{-1} , 10 M^{-1} para NaBr e CsCl, respectivamente, em $C_{14}PN$. Estes dados demonstram que interfaces micelares de HPS apresentam uma afinidade diferencial por ânions de acordo com o tamanho destes e que as interfaces micelares de $C_{14}PN$ não demonstraram esta afinidade diferencial com a sonda estudada.

Análise semelhante realizada com dados de troca iônica em micelas de HPS obtidos de experimentos de polarização de fluorescência (figura 14) fornece um valor para de $K_1 = 1 \text{ M}^{-1}$ (fig. 23D) para troca iônica em micelas de HPS, em concordância com o resultado obtido dos dados de fluorescência (fig. 23A).

Para caracterizar a afinidade dos diferentes tipos de interfaces estudadas por prótons realizou-se a medida da velocidade de reprotonação no estado fundamental da piranina e do 1 e 2 naftóis ligados a interfaces micelares iônicas (CTAB) e zwitteriônicas (micelas de HPS e $C_{14}PN$ e vesículas de PC).

A

B

C

D

FIGURA 23: Análise de acordo com a equação 7 dos dados apresentados nas figuras 6,10,12 e 14. (A) dado de emissão do sistema piranina-HPS versus [NaCl] da figura 6. (B) Dado de emissão do sistema piranina-C₁₂PN versus [NaCl] da figura 12. (C) Dado de emissão do sistema piranina-lisoPC versus [NaCl] da figura 10. (D) Dado de "p" do sistema piranina-HPS versus [NaCl] da figura 14.

A

B

FIGURA 24: Análise de acordo com a equação 7 dos dados apresentados na figura 8. Dado de emissão de piranina incorporada em micelas de HPS em função de NaBr (A) e CsCl (B).

A

B

FIGURA 25: Análise de acordo com a equação 7 dos dados apresentados na figura 12(B). Dado de emissão de piranina incorporada em micelas de $C_{14}PN$ em função de concentração de NaBr (A) e CsCl (B).

Como já comentado, a velocidade de transferência de prótons observada experimentalmente é dependente de k_{on} e da concentração de prótons do ambiente onde a sonda estiver situada. Sendo que k_{on} , é dependente da difusão das espécies reagentes e do potencial de interação entre estas segundo a equação 1.

O estudo da velocidade de reprotonação da piranina em micelas de HPS, $C_{12}PN$ e CTAB, está mostrado nas figuras 15, 16 e Tabela VI, respectivamente.

Comparando, os valores de $k_{obs}/[H^+]$ para soluções de piranina em meio aquoso ($k_{obs}/[H^+] = 1 \times 10^{11} M^{-1}.s^{-1}$) e em micelas de CTAB (Tabela II), evidencia-se que o $k_{obs}/[H^+]$ nas micelas de CTAB, é aproximadamente 60 vezes menor do que o observado para soluções aquosas de piranina, demonstrando que a concentração aparente de prótons na interface da micela de CTAB, é muito menor do que a encontrada no "bulk" aquoso. Valores estes, compatíveis com os valores encontrados na literatura. (Politi 1984; Politi e Fendler 1984) A explicação para este fenômeno é relacionado com a grande extensão alcançada pelo potencial superficial positivo da micela de CTAB, ou seja, existe uma força contrária à aproximação dos prótons para a região da interface micelar e os prótons só alcançam esta pelo processo de difusão que estatisticamente prevê a aproximação, mas em menor intensidade.

Comparando-se o valor de $k_{obs}/[H^+]$ da piranina, em soluções aquosas e em soluções micelares de HPS

e de $C_{14}PN$ (fig. 15 e 16), percebe-se que os valores encontrados são muito parecidos, contrastando com o que ocorre no sistema piranina-CTAB. Analisando-se o perfil de variação da velocidade de reprotonação da sonda em função da concentração de NaCl (fig. 15 e 16), percebe-se que este segue comportamento muito semelhante ao observado quando o experimento é realizado em solução aquosa, ou seja, o eletrólito exerce um efeito de blindagem sobre as espécies interagentes, conforme previsto por Debye-Huckel, não importando se a sonda está ligada na interface de micelas HPS e $C_{14}PN$ ou em solução aquosa.

Para compreender este resultado deve-se analisar mais precisamente a região da interface zwitteriônica que está sendo monitorada pela sonda. A piranina possui um enorme potencial de atração de prótons, como pode ser visualizado analisando-se o seu raio de Debye. Basicamente este parâmetro é a distância das espécies reagentes em que a energia de interação eletrostática é igual a energia térmica do ambiente ($R_D = K Z_1 Z_2 / K_B T$ onde K é a constante de Coulomb, Z_1 e Z_2 são as cargas das espécies reagentes, K_B é a constante de Boltzman, T é temperatura - Gutman e Nachliel 1990) Para interação com próton o raio de Debye da piranina é $28\text{\AA}$, ou seja, à distância de $28\text{\AA}$ o próton já está na gaiola na coulômbica da piranina. Considerando que a espessura média das interfaces zwitteriônicas presentemente estudadas é em torno de $4\text{\AA}$,

pode-se racionalizar que a piranina está na verdade monitorando uma região externa a interface.

Face aos resultados experimentais de variação de $\log (k_{\text{obs}}/[H^+])$ da piranina em micelas de HPS e $C_{12}PN$ obtidos, onde caracterizou-se que as interfaces zwitteriônicas estudadas não alteram o processo de reprotonação da piranina, pode-se concluir que a região externa à interface zwitteriônica possui um potencial eletrostático mínimo que é totalmente sobrepujado pelo grande potencial eletrostático negativo da piranina.

Uma outra explicação para os resultados de reprotonação obtidos com a piranina (figs. 15 e 16) seria que esta é deslocada da interface micelar com o aumento da força iônica, como pode ser observado pela figura 7 e 12, o que diminuiria a porcentagem de sonda ligada na interface, que estivesse monitorando realmente a reprotonação neste microambiente. Vale citar que mesmo no experimento com NaF onde a piranina é deslocada da interface micelar menos eficientemente, o resultado obtido foi semelhante ao observado com NaCl (fig. 15), de forma que este efeito não é o principal determinante dos resultados obtidos.

Diferentemente do que ocorreu com a piranina os experimentos com o 1-naftol e 2-naftol forneceram dados importantes do processo de transferência de prótons em interfaces zwitteriônicas. Este fato está provavelmente relacionado com o menor potencial de atração destas sondas, $R_H = 7\text{\AA}$ para interação com prótons e o provável

posicionamento destas numa região mais interna da interface. Desta forma, espera-se que estas monitorem uma região da interface zwitteriônica próxima ao centro hidrofóbico da micela.

Deve-se ressaltar também, que os naftóis não são deslocados da interface micelar pelo aumento da força iônica. Quanto aos naftolatos produzidos no processo de transferência de próton, não pode-se garantir que estes estejam completamente internalizados na interface, independentemente da força iônica da solução.

Os dados de reprotonação com 1-naftol e 2-naftol mostram que as interfaces de micelas de HPS afetam o processo de reprotonação de maneira completamente diversa do que interfaces de micelas de $C_{12}PN$ e vesículas de PC. Para a micela de HPS a $C_s = 0mM$ (fig. 19A) o k_{obs} do 1-naftol é menor do que o observado em água, enquanto que para micelas de $C_{12}PN$ (fig. 19A) e vesículas de PC (fig. 20) o k_{obs} é maior. Considerando que as alterações de k_{obs} sejam devidos unicamente a alterações na concentração interfacial de prótons a $C_s = 0mM$, este dado demonstra que a concentração de prótons na região monitorada pela sonda na interface de micelas de HPS é menor do que a do meio aquoso, enquanto que em micelas de $C_{12}PN$ e em vesículas de PC a concentração é maior. Cabe ressaltar que este resultado é compatível com as previsões do modelo (que será apresentado), para a concentração de prótons na região interna da interface de micelas zwitteriônicas, uma vez que em micelas de HPS esta

região possui grande densidade de cargas positivas ocorrendo o oposto para micelas de $C_{12}PN$ e vesículas de PC.

Com aumento de C_s , k_{obs} alcança um platô máximo e decai (HPS) (fig. 19A), um perfil exatamente oposto ao observado para micelas de $C_{12}PN$ e vesículas de PC (figs. 19, 20). Ressalta-se que as variações de k_{obs} em função de C_s , observadas em micelas de $C_{12}PN$ ocorrem a valores de C_s menores e com intensidade maior do que as observados em micelas de HPS. Estas alterações na velocidade de reprotonação a força iônica diferente de zero são decorrentes de alterações na concentração de prótons da interface, devido a um processo de neutralização de cargas da calota interna (vide infra) e alterações no k_{on} previsto segundo a equação 1 e serão melhor analisadas após a apresentação do modelo.

Cabe comentar que a variação de k_{obs} do 2-naftol em interação com as interfaces estudadas em função de C_s (19A e 19B) apresenta o mesmo perfil de variação de $k_{obs} \times C_s$, embora a magnitude de variação seja bem inferior a observada para o 1-naftol, um efeito que possivelmente esta relacionada com a diferente localização destas sondas nas interfaces micelares e vesiculares estudadas.

A maneira que se utilizou para monitorar quantitativamente a variação do potencial interfacial de micelas zwitteriônicas em função de C_s foi estudar a variação de A_p em função de C_s , em soluções micelares de HPS, através de experimentos de espalhamentos de luz. Esta variação como

pode ser observada na figura 21B apresenta um perfil bastante interessante. A $C_s = 0\text{mM}$ o valor de A_z é mínimo, a C_s em torno de 100mM A_z alcança um valor máximo que volta a decair a valores maiores de C_s . Isto indica que a interação intermicelar é mínima a $C_s = 0\text{mM}$, alcança um platô máximo a $C_s = 100\text{mM}$ e volta a decair a valores maiores de C_s . (fig. 21B) Este perfil de variação de interação intermicelar é completamente diverso do observado em micelas carregadas onde a interação intermicelar decai com o aumento de C_s (fig. 21A). (Corti e Degiorgio 1981; Dorshow et al 1982; Dorshow et al 1983) Deve-se ressaltar que a variação de A_z em função de C_s indica que a interface de micelas de HPS deve possuir um potencial de superfície que varia com C_s , demonstrando que estas micelas não podem ser consideradas eletrostaticamente neutras em solução de eletrólito.

Vale citar que Hermann (Herrmann 1966) encontrou valor de A_z para micelas de HPS igual a zero, concluindo que soluções micelares deste detergente se comportam idealmente. Não está claro se o valor encontrado por Hermann é devido a insensibilidade de aparelhagem ou devido ao fato deste autor ter escolhido valores de C_s imprópriamente espaçados.

As principais características de interfaces zwitteriônicas demonstrados até aqui foram:

- i) A piranina apresenta ligação muito maior às micelas de HPS, do que por micelas de lisoPC, sendo que a ligação

com $C_{14}PN$ apresenta um valor intermediário. Foi demonstrado que esta ligação tem características eletrostáticas. (figs 5, 9, 11, 13, 22)

- 11) A interface de micelas de HPS tem afinidade seletiva por ânions, $Br^- > Cl^-$, o que não é observado na interface micelar de $C_{14}PN$. (figs. 8, 12, 23, 24, 25)
- 111) A interação intermicelar em soluções de HPS apresenta um valor mínimo a $C_s = 0mM$, com $C_s = 100mM$ a interação é máxima e a valores maiores de C_s volta a decair. (fig. 21B) Demonstrando variação do potencial de superfície em função de C_s .
- 1v) Monitorando-se a reprotonação de naftóis, observou-se que micelas de HPS, a $C_s = 0mM$, apresentam concentração aparente de prótons menor, na região interna de suas interfaces do que no ambiente aquoso, enquanto que as micela de $C_{14}PN$ e vesícula de PC apresentam concentração aparente de prótons na região interna de suas interfaces maior do que no meio aquoso. (figs. 19, 20)

Para explicar estes dados, bem como os reportados na literatura, foi proposto um modelo para caracterizar propriedades eletrostáticas de interfaces zwitteriônicas baseado no posicionamento do dipolo na interface micelar. Basicamente considerou-se a micela de HPS esférica com os dipolos posicionados radialmente. Os estudos de Chevalier demonstraram que os dipolos dos monômeros, tipo

betainas, encontram-se estendidos na região interfacial de micelas quando estes dipolos possuem de 1 a 4 grupos de metilenos entre as cargas positivas e negativas. (Chevalier et al 1988; Chevalier et al 1991) Deve-se lembrar que esta disposição esta de acordo com os dados apresentados na tabela IV que indicam que as metilas ligadas ao nitrogênio positivo do HPS estão localizadas em ambiente de menor polaridade. Devido ao fato dos monômeros de HPS possuírem as cargas positivas mais próximas ao centro hidrofóbico da micela, resultaria em uma densidade de cargas positivas maior do que a densidade de cargas negativas na interface micelar, resultando em um potencial dipolar positivo, que deveria promover atração para ânions. Em micelas que possuíssem o dipolo invertido, ou seja, carga negativa do monômero mais próxima ao centro hidrofóbico, esperar-se-ia um potencial dipolar negativo e como resultado uma interação com cátions.

Cabe ressaltar que não foi possível até o momento transformar este modelo fenomenológico de potencial dipolar em um modelo matemático que apresente parâmetros físicos mensuráveis. (Baptista e Politi 1991)

Neste sentido, propôs-se um modelo alternativo que apresenta um desenvolvimento matemático facilitado. Neste considera-se o compartimento dipolar da interface zwitteriônica como um condensador esférico, com as cargas determinadas pela posição média das cargas positivas e negativas dos monômeros na interface micelar. Neste modelo o potencial externo à interface micelar é nulo e na região

determinada entre as cargas positivas e negativas existe um potencial alto, que caracteriza esta região como trapeadora de ions. (Baptista e Politi 1991)

Desenvolveu-se um tratamento matemático baseado em cálculos eletrostáticos simplificados para o modelo do condensador esférico. (Baptista et al 1992) Observa-se, neste modelo, que na situação em que a força iônica da solução é zero, o potencial externo das superfícies das micelas zwitteriônicas é nulo e o potencial da região dipolar é máximo (vide infra). Ao aumentar a concentração de eletrólito inerte da solução ocorre uma acumulação de ions na região dipolar que é responsável por uma alteração no potencial de superfície. Vale citar que a acumulação de ions observada na região dipolar é puramente eletrostática, sendo decorrente da neutralização do potencial da calota interna e advém diretamente das previsões do modelo.

O cálculo dos potenciais no modelo foram efetuados utilizando-se a equação de Debye-Hueckel, que é uma linearização da Equação de Poisson-Boltzmann, sendo válida para regiões onde o potencial seja pequeno em relação a energia térmica do ambiente. (Hiemenz 1986) Basicamente ambas equações relacionam o potencial de uma determinada região a uma distância r de uma superfície carregada, com a concentração de ions nesta região. (vide introdução)

Vale comentar que o modelo é desenvolvido considerando-se primeiramente a distribuição de cargas da região dipolar de micelas do tipo de HPS.

Considerando a região dipolar da micela zwitteriônica como a superposição de duas esferas concêntricas carregadas com cargas opostas pode-se esquematizar uma micela zwitteriônica como mostrado na fig. 26, onde a esfera interna é carregada positivamente e possui raio R_m , a esfera externa é carregada negativamente e possui raio $R_e = R_m + S$, onde S representa a espessura da região dipolar. Considerou-se que o potencial total em determinada região da micela fosse resultante da superposição linear de duas esferas concêntricas de cargas opostas, (vide nota - p. 146)

A calota interna positiva contribui para o potencial e acumulação de ions como uma micela catiônica, cujo o centro hidrofóbico é impermeável a ions móveis. O potencial $\phi_c(r)$ desta, expresso em unidades de MKSA (metros-kilogramas-segundos-amperes), é: (no apêndice A está apresentado a dedução da equação de DH resolvida para superfícies esféricas, partindo-se da equação de Poisson-Boltzmann, segundo Verwey e Overbeek 1948)

$$\phi_c(r) = \frac{Ze e^{\kappa(R_A - r)}}{4\pi\epsilon(1 + \kappa R_A)r} \quad r \geq R_A \quad (\text{equação 8})$$

onde Z é o número de cargas em ambas superfícies, dado por M/m , sendo M o peso molecular da micela e m o peso molecular do monômero, " e " é a carga elementar, ϵ é a permissividade do vácuo vezes a constante dielétrica do meio aquoso e κ é o

FIGURA 26: Modelo Esquemático de micela zwitteriônica onde está apresentada a região dipolar de espessura S , o raio da calota positiva R_A e o raio da calota negativa R_B . Está apresentada também, uma demonstração da concentração resultante de ions em cada região da interface micelar (vide discussão).

parâmetro de blindagem de Debye-Hueckel, o qual pode ser calculado como: (no apêndice B encontram-se as transformações executadas para obtenção da equação 9).

$$\kappa (\text{\AA}^{-1}) = \sqrt{Cs/97} \quad (\text{equação 9})$$

onde Cs é a concentração de eletrólito univalente adicionada a solução micelar em milimolar (mM).

Vale comentar que o parâmetro κ tem um sentido muito importante no modelo de DH. Ele representa a intensidade de blindagem de uma determinada superfície carregada, de forma que seu valor aumenta com Cs. O inverso de κ apresenta unidades de distância e representa a distância em que o potencial de uma superfície plana carregada cai a $\pm 37\%$ do seu valor inicial, isto é, $1/e$.

A superfície externa negativa age como uma micela esférica aniônica permeável a ions móveis até a superfície de R_a . A superfície aniônica fixa em R_a não cria campo elétrico para dentro da esfera, pois o potencial devido a calota negativa é constante nesta região. Isto é paralelo ao princípio de Faraday que diz que qualquer excesso de carga em um meio condutor residirá no exterior. O potencial devido a calota aniônica $\phi_a(r)$ é dado por:

$$\phi_a(r) = \frac{-Zc e \kappa (R_B - r)}{4\pi\epsilon(1 + \kappa R_B)r} \quad r \geq R_B \quad (\text{equação 10})$$

O potencial para dentro da região dipolar devido a calota negativa é obtido através da equação 10 igualando-se r a R_B ($r = R_B$).

$$\phi_B = \frac{-Zc}{4\pi\epsilon(1+\kappa R_B)} R_B \quad 0 \leq r \leq R_B \quad (\text{equação 11})$$

Para obter-se o potencial total de uma determinada região da micela, deve-se somar os potenciais devido as calotas positivas e negativas, resultando no aparecimento de três regiões distintas: o centro hidrofóbico onde o potencial é a soma de termos constantes devido as calotas negativas e positivas, a região dipolar onde o potencial é resultante da função de potencial da calota positiva adicionado a um termo constante da calota negativa e a região externa da superfície micelar onde o potencial é resultante da soma das funções de potencial para as calotas negativas e positivas. Desta forma o potencial resultante para a região dipolar é:

$$\phi(r) = \frac{Zc}{4\pi\epsilon} \left[\frac{e^{\kappa(R_A - r)}}{r(1+\kappa R_A)} - \frac{1}{R_B(1+\kappa R_B)} \right] \quad R_A \leq r \leq R_B \quad (\text{equação 12})$$

Pode-se perceber que a calota negativa simplesmente adiciona um termo negativo constante a $\phi(r)$ nesta região. Para a região externa à micela, o potencial é:

$$\phi(r) = \frac{Zc}{4\pi\epsilon} \frac{e^{\kappa(R_A-r)}}{r} \left[\frac{1}{(1+\kappa R_A)} - \frac{e^{\kappa S}}{(1+\kappa R_B)} \right] \quad r \geq R_B \quad (\text{equação 13})$$

No centro hidrofóbico o potencial é constante em função do parâmetro r e é expresso por:

$$\phi(r) = \frac{Zc}{4\pi\epsilon} \left[\frac{1}{R_A(1+\kappa R_A)} - \frac{1}{R_B(1+\kappa R_B)} \right] \quad r \leq R_A \quad (\text{equação 14})$$

As equações 12 e 13 predizem que com o aumento da concentração de eletrólito (κ aumenta) a magnitude do potencial externo da micela $\phi(r_B)$ ($r = R_B$), começará em zero na situação de força iônica igual a zero ($\kappa = 0$), passará por um máximo e decairá novamente na situação que κ for muito grande. (o potencial externo será sempre negativo com exceção da situação de $C_s = 0$). Este perfil de variação de potencial superficial em função de C_s pode ser observado na figura 27 onde está apresentado a variação de ϕ em R_B em função de C_s . Os parâmetros usados para o cálculo foram: $m = 391$ (monômero de HPS), $S = 4 \text{ \AA}$ (como será apresentado a seguir este valor é obtido de cálculos de médias rotaméricas termodinâmicas), $R_B = 27 \text{ \AA}$ de dados de espalhamento de luz dinâmico e $M_w = 54700$ valor obtido dos experimentos de espalhamento de luz estático.

Com o objetivo de obter-se parâmetros mais demonstrativos e mais facilmente mensuráveis da interação de interfaces zwitteriônicas com ions serão calculados parâmetros como: a densidade de carga na região dipolar e na

FIGURA 27: Variação do potencial na calota externa (R_B), segundo equação 13, para $r = R_B$, em função da concentração salina da solução (C_s) e variação do fator de concentração de ions (CF), segundo equação 18 -vide infra- em função de C_s .

superfície externa da micela (ρ), a carga total na região dipolar (Q_D) e fator de concentração de ânions (CF). Para tanto é necessário começar calculando a densidade de carga de íons móveis dentro e fora da micela zwitteriônica, utilizando a equação de Poisson:

$$\rho(r) = -\epsilon \nabla^2 \phi(r)$$

$$\rho(r) = \frac{-Zc\kappa^2}{4\pi} \left[\frac{e^{\kappa(R_A - r)}}{r(1 + \kappa R_A)} \right] \quad R_A \leq r \leq R_B \quad (\text{equação 15})$$

(equação 16)

$$\rho(r) = \frac{-Zc\kappa^2 e^{\kappa(R_A - r)}}{4\pi r} \left[\frac{1}{(1 + \kappa R_A)} - \frac{e^{\kappa S}}{(1 + \kappa R_B)} \right] \quad r \geq R_B$$

No apêndice C estão apresentadas as derivações executadas na expressão do potencial de uma determinada região da interface micelar para a obtenção da densidade de carga nesta região, segundo a equação de Poisson.

Vale ressaltar que a densidade de carga de íons móveis dentro da região dipolar (eq. 15) é a mesma que a observada em uma superfície positiva na ausência de uma superfície negativa externa, uma vez que esta última contribui somente com um termo constante de potencial nesta região. Como resultado disto a concentração de íons na calota dipolar pode ser muito maior do que a força iônica da solução e igual a esperada para uma micela catiônica com Z e R_A da calota interna positiva. A densidade de carga de íons móveis fora da micela (eq. 16) é, entretanto, significativamente menor do que seria esperado para uma superfície negativa isolada,

uma vez que esta densidade é extremamente atenuada pelo segundo termo devido a superfície interna positiva. Desta forma, tanto o potencial quanto a distribuição de ions para fora da micela zwitteriônica são muito menores do que seria esperado para uma micela iônica.

A carga negativa móvel total na região dipolar pode ser encontrada integrando-se a equação 15 sobre o volume da região dipolar. O que fornece:

$$Q_D = \left(1 + \frac{\kappa Zc}{\kappa R_A}\right) [R_A + \kappa^{-1} - (R_B + \kappa^{-1})e^{-\kappa S}] \quad (\text{equação 17})$$

No apêndice D encontram-se as derivações matemáticas para a integração da função de densidade de carga (eq. 15) sobre o volume da calota dipolar.

Um parâmetro que seria muito ilustrativo do poder de acumulação de ions de interfaces zwitteriônicas seria um que relacionasse a concentração de ions na região dipolar com a força iônica da solução. Sendo assim, pode-se calcular o fator de concentração de ânions dentro da região dipolar (CF), ou seja, a razão entre a concentração de carga negativa na região dipolar e a força iônica da solução, que é expresso por:

$$CF = \frac{Q_D}{4\pi/3(R_B^3 - R_A^3)cN_A Cs(\text{mM})} \quad (\text{equação 18})$$

Encontra-se na figura 27, o gráfico de variação de CF em função de Cs de acordo com as eqs. 17 e 18.

Pode-se perceber que ocorre uma diminuição neste parâmetro em função de C_s , que indica a previsão do modelo de saturação da região dipolar, quanto a acumulação de íons, por um processo de neutralização das cargas positivas da calota interna.

Na figura 28 está apresentada a variação de ϕ em função de r para vários C_s . Pode-se notar que quando $C_s = 0$ o valor do potencial em R_A é máximo e em R_B é nulo. Com o aumento de C_s o potencial em R_A diminui e o em R_B segue o perfil da figura 27. Na figura 29 está apresentada a variação de ρ em função de r para valores selecionados de C_s . O perfil de concentração de íons, obtido pelo modelo e mostrados na figura 29 está esquematizado qualitativamente na figura 26. Na região externa da micela próxima a interface ocorre uma concentração de íons levemente superior a força iônica da solução e na região dipolar ocorre uma concentração de íons bem superior a C_s .

Um aspecto muito importante dentro do desenvolvimento de um modelo é demonstrar a sua aplicabilidade para prever dados experimentais. Neste sentido, os parâmetros propostos pelo modelo como potencial superficial $\phi(r)$ para $r > R_B$, carga na região dipolar (QD) e o fator de acumulação (CF), foram testados, semiquantitativamente, comparando-se os dados experimentais de espalhamento de luz, condutividade elétrica e supressão de fluorescência, respectivamente.

FIGURA 28: Variação do potencial da micela zwitteriônica em função de r (distância do centro da micela), para diversos valores de C_s , segundo equações 12,13 e 14.

FIGURA 29: Variação da concentração de íons na região interfacial (ρ) em função de r , para valores diversos de C_s , segundo equações 15 e 16.

Os potenciais obtidos pelo modelo para a região de superfície externa da micela foram testados através do estudo da variação do parâmetro A_2 em função de C_s (figura 21B).

O segundo coeficiente virial para polímeros carregados em solução pode ser expresso pela equação (Yamakawa 1971):

$$A_2 = \frac{N_A}{2M^2} \left[\frac{32\pi R_B^3}{3} + 4\pi \int_{2R_B}^{\infty} [1 - \exp(-U(r_{12})/k_B T)] r_{12}^2 dr_{12} \right] \quad (19)$$

onde, o primeiro termo entre colchetes representa o volume excluído por partícula na interação entre partículas rígidas de raio R_B e o segundo termo representa a integral de energia de interação interpartículas. Este segundo termo é deduzido por argumentos de termodinâmica estatística (Hill 1962) e o termo $U(r_{12})$ representa o trabalho reversível necessário para trazer duas moléculas de $r = \infty$ até $r = R_B$, ou seja, a energia de interação entre duas partículas.

Este termo deve a priori incluir tanto fatores atrativos (interações de van der Waals) quanto fatores repulsivos como interações eletrostáticas. Como micelas zwitteriônicas apresentam estabilidade termodinâmica mesmo a concentrações iônicas altas, onde os termos repulsivos são praticamente totalmente blindados, consideraremos que os termos atrativos são negligenciáveis e $U(r_{12})$ será dominado por interações eletrostáticas.

Expressões aproximadas para $U(r_{12})$, tem sido deduzidas por vários autores (Verwey e Overbeek 1948; Hogg et al 1966; Corti e Degiorgio 1981; Dorshow et al 1982; Dorshow et al 1983). Basicamente existem duas deduções distintas que são dependentes do valor de κR . O valor de κR tem significado importante pois reflete a relação entre a extensão do potencial de uma partícula em direção ao solvente e o raio desta. Quando o valor de κR é muito menor do que 1 isto indica que a distância κ^{-1} é muito maior do que o raio da esfera considerada. Para obter-se a expressão de energia de interação neste caso deve-se calcular o campo elétrico na superfície da esfera e após isto calcular a energia livre de interação procedendo a linearização das equações de campo. Para a situação em que κR é maior do que 1 (indicando que a distância κ^{-1} é pequena em relação a R) pode-se calcular a energia de interação devido a duas superfícies planas e transformar este valor diretamente para a energia de duas superfícies esféricas sem necessariamente promover uma linearização. (Verwey e Overbeek 1948)

para $\kappa R < 1$:

$$U(r_{12}) \cong \frac{2\pi\epsilon R_B \phi(R_B)^2 e^{-2\kappa R_B x}}{(1+x)} f \quad (\text{equação 20})$$

onde f é uma função de r_{12} e κ . Foram obtidas representações gráficas de f de Verwey e Overbeek 1948, para cálculo de A_{el} . O parâmetro x é uma transformação conveniente dada por:

$$x \equiv (r_{12} - 2R_B) / 2R_B$$

(equação 21)

para $\kappa R \gg 1$

$$U(r_{12}) \equiv 2\pi\epsilon R_B \phi(R_B)^2 \ln[1 + \exp(-2\kappa R_B x)]$$

(equação 22)

Infelizmente, devido ao tamanho das micelas de HPS e a faixa de força iônica utilizada neste trabalho, o valor de κR é próximo de 1, de forma que nenhum dos dois métodos para o cálculo de $U(r_{12})$, devem funcionar bem. Uma maneira simplista de estimar o valor de A_2 , mas que se mostrou extremamente condizente com os resultados obtidos (vide infra) é considerar que a micela tem um raio efetivo, R_* , que é a soma do seu raio R_B mais uma distância da superfície em que o potencial decaia para uma fração da energia térmica do ambiente ($\kappa_B T/e$), por exemplo metade de $\kappa_B T/e$, que é igual a .0013 V. Desta forma a expressão para A_2 , fica:

$$\Lambda_2 \sim \frac{N_A}{2M^2} \left[\frac{32\pi R_*^3}{3} \right] \quad (\text{equação 23})$$

Esta aproximação se mostra artificial no sentido em que considera arbitrariamente uma fronteira de energia para o cálculo de R_* . Apesar desta consideração os resultados da equação 23, utilizando $kt/2e$ como "cut-off", se mostraram surpreendentemente compatíveis com os resultados experimentais de A_2 . (vide infra).

Para testar-se o modelo utilizou-se as equações de energia de interação intermicelar baseadas em potenciais de superfície (que são obtidos do modelo), na equação teórica de A_m e comparou-se os resultados obtidos com os dados experimentais.

Procedendo desta forma para micelas de CTAB esta apresentado na figura 30 a variação de A_m com C_s prevista pela equação 19, usando energia de interação intermicelar dada pela equação 20 e $\phi(R)$ dado por:

$$\phi(R) = \frac{Ze}{4\pi\epsilon(1+\kappa R)R} \quad (\text{equação 24})$$

onde R é o raio da micela iônica. A previsão da eq. 19 se mostrou bem compatível com os dados experimentais, sendo que a reta possui um coeficiente de inclinação de -1,03. Vale citar que a parte de volume excluído devido a esferas rígidas em A_m possui o valor de $3,67 \times 10^{-25} \text{ cm}^3 \times \text{mole/g}^2$.

A figura 31 mostra a variação de A_m em função de C_s para micelas de HPS calculados segundo a eq. 19 com potenciais de interação dados pela eq. 20 e pela eq. 22 com ϕ obtido da Verwey e Overbeek 1948 e ϕ segundo eq. 13. Vale citar que a equação 20 foi usada para valores de C_s no gráfico em que $\kappa R < 1$ e a equação 22 para a região de C_s em que κR é > 1 . A parte de volume excluído devido a esferas rígidas no A_m de micelas de HPS segundo a eq. 19 tem o valor de $7,27 \times 10^{-25} \text{ cm}^3 \times \text{mole/g}^2$. Embora o modelo teórico não tenha previsto exatamente o resultado experimental,

FIGURA 30: Valores de A_2 experimentais em função de C_s para micelas de CTAB (□) e HPS (△) segundo figura 21. A linha continua mostra a previsão teórica da equação 19, usando U_{r1e} segundo equação 20 e segundo equação 24.

FIGURA 31: Valores de A_2 experimentais em função de C_s para micelas de HPS (Δ) segundo figura 21B. As linhas contínuas são as curvas teóricas usando a equação 19 para A_2 e equações 20 e 22 para U_{r1e} . Está apresentada também a curva teórica de A_2 segundo a equação 23.

devido ao fato de terem sido feitas muitas aproximações (como por exemplo, o negligenciamento dos termos atrativos na energia de interação intermicelar, a consideração da constante dielétrica na região dipolar igual ao valor da água), e ainda devido ao problema já comentado com o valor de A_R e devido aos limites de erros experimentais, a concordância entre a previsão teórica e os dados experimentais é relativamente boa. Pode-se observar também que surpreendentemente a equação 23, a despeito da sua simplicidade, ajustou-se aos dados experimentais de maneira adequada em uma extensa faixa de C_s .

É interessante frisar que o modelo teórico prevê todos os aspectos qualitativos dos dados obtidos. Na situação em que $C_s = 0$, ocorre que o potencial de superfície e a energia de interação inter-partículas são iguais a zero, acarretando um valor mínimo de A_{μ} devido ao volume excluído por esferas rígidas, o que é observado experimentalmente. Com o aumento de C_s ocorre aumento de potencial de superfície e de energia de interação inter-partículas levando à região de máximo de A_{μ} , seguido de declínio do potencial e de A_{μ} a altos valores de C_s , comprovando a aplicabilidade do modelo para micelas zwitteriônicas. Vale comentar novamente, que o platô máximo em A_{μ} previsto pelo modelo é consequência direta no máximo de $\phi \times C_s$ e é completamente diverso do perfil observado para micelas iônicas onde o valor A_{μ} decai em função de C_s .

Outra previsão do modelo é que a região dipolar de micelas zwitteriônicas sequestra ions móveis da solução. Estes são principalmente ânions, no caso de micelas de HPS, pois o potencial nesta região é positivo (fig. 28), de forma que a previsão dos fatores de ponderação da equação de Boltzmann, para ânions $\exp(e\phi_m/k_B T)$, $\exp(-e\phi_m/k_B T)$ (cátions) , mostra a acumulação de ânions na região dipolar. Este sequestro de ânions pela região dipolar de micelas de HPS é representado pelo fator de concentração de ions móveis CF (eq. 18), que está apresentada graficamente na fig. 26.

Uma confirmação semi-quantitativa da previsão de concentração de ions segundo a equação 17 foi obtida analisando-se a diferença da condutividade iônica em micelas e em solução aquosa ($\Delta\sigma$) $\propto C_s$, experimentos estes realizados pela prof. Iolanda Cuccovia (Baptista et al 1992).

Como pode ser observado na figura 32 ocorre um aumento no $\Delta\sigma$ (aumento na diferença entre a condutividade de solução aquosa e micelar), com o aumento de C_s . Este efeito de abaixamento na condutividade da solução micelar foi atribuído ao sequestro de ânions na região dipolar da micela de HPS. Pode-se perceber também que as curvas são dependentes do tipo de sal que se emprega, um efeito de seletividade que não é previsto pelo modelo, mas que acompanha os dados de seletividade por interfaces de HPS obtidos por outros experimentos. (Bunton et al 1987; Bunton et al 1989; Brochsztain et al 1990) (vide introdução) Deve-se frisar que o modelo considera os ions como cargas pontuais

FIGURA 32: Valores Experimentais de $\Delta\sigma$ (variação entre a condutividade de uma determinada concentração salina em água e em solução micelar, em função da concentração de (■) NaBr; (□) CsCl; (△) NaCl; (▲) KCl; (○) NaI; (●) NaOH. A curva continua mostra a previsão do modelo de acordo com as equações 27 e 17 usando valores experimentais de $\delta_i = 75\mu\text{S}/\text{mM}$ para I^- , Br^- , Cl^- .

e não pode prever seletividade iônica, uma vez que esta deve ser resultado de efeitos específicos como tamanho do íon, hidratação deste e polarizabilidade.

Para estimar a condutividade da solução micelar a uma dada C_s ($\sigma_m(C_s)$), foi considerado que os ânions sequestrados não conduzem, e os cátions como não são sequestrados conduzem, de forma que a diminuição na condutividade é devida somente ao sequestro dos ânions, conforme descrito pela equação a seguir:

$$\sigma_m(C_s) \cong \sigma_o C_s - \sigma_i C_{i,m}(C_s) \quad (\text{equação 25})$$

onde σ_o é a condutividade específica dos sais utilizados, por exemplo, para NaCl e CsCl $\sigma_o = 148 \mu S/mg/mM$ e para NaI e NaBr $\sigma_o = 138 \mu S/mg/mM$. σ_i é a condutividade específica do ânion sequestrado na micela e $C_{i,m}(C_s)$ representa a concentração de ânions sequestrados:

$$C_{i,m}(C_s) = Q_m(C_s) C_m / e \quad (\text{equação 26})$$

onde $Q_m(C_s)/e$ representa o número de ânions sequestrados pela micela e C_m representa a concentração em milimolar de micelas ($C_m = [HPS] / M_w$)

Em termos de parâmetros do modelo $\Delta\sigma$ é representado por:

$$\Delta\sigma = \frac{Q_D(C_s)C_m\sigma_i}{e} \quad (\text{equação 28})$$

Pode ser observado na figura 32 que a curva teórica prevê relativamente bem os valores de $\Delta\sigma$ para NaI e NaBr, desviando-se dos dados de NaCl, KCl e principalmente dos dados de NaOH e NaF. Este desvio é esperado uma vez que os íons, OH^- , F^- são altamente hidratados e volumosos em solução, sendo que a interação destes com interfaces é dificultada. (Bunton et al 1992)

Outra evidência de efeito de sequestramento pode ser obtido dos dados de supressão de N-butil-2,3-naftalimida (NBN) x C_s em micelas de HPS obtido do trabalho de Brochsztain (Brochsztain et al 1991). Em solução aquosa o gráfico de Stern-Volmer I_0/I de NBN x C_s é linear, enquanto que em solução micelar de HPS este apresenta inclinação. A figura 33 mostra a média efetiva de força iônica na região dipolar (C_s'), (onde $C_s' = C_s \times CF$, CF obtido da equação 18) em função de C_s , juntamente com o dado de I_0/I x C_s (Brochsztain et al 1991). A concordância é excepcionalmente boa demonstrando que a curva no gráfico de Stern-Volmer pode ser explicada pelo efeito de saturação, por neutralização de cargas, na calota dipolar como mostrada na fig. 27. Pode-se inferir deste resultado, que o modelo também deve explicar dados de catálise de hidrólise em micelas zwitteriônicas reportados anteriormente, por um

FIGURA 33: Dados experimentais de I_0/I de NBN em função de C_s ($\square$) obtidos da referência Brochsztain et al 1991. A curva continua representa a previsão teórica para a concentração de íons na interface micelar ($C_s' = C_s \times CF - CF$, segundo a equação 18), em função de C_s .

efeito de concentração de íons na calota dipolar. (Bunton et al 1987; Bunton et al 1989; Brochsztain et al 1991)

Vale comentar que o único parâmetro ajustável utilizado no modelo é o valor de S . O valor deste parâmetro, usado no trabalho, foi calculado por médias rotaméricas termodinâmicas. Este cálculo foi realizado pelo prof. Wayne Reed (Baptista et al 1992) e basicamente se trata de uma média das possíveis distâncias entre as cargas positivas e negativas de um monômero (fornecidas por mobilidade rotamérica) ponderada por: número de densidade de estados conformacionais com uma determinada distância e a energia de interação entre a carga negativa de um monômero e a calota de cargas positivas neste estado conformacional. Através deste cálculo puderam ser estabelecidos valores de S para vários C_s e verificou-se que este varia de 4 Å ($C_s = 0$) a 3,5 Å ($C_s = 160\text{mM}$), sendo que a alta força iônica, $S = 3,9$ Å. Estes valores são bem semelhantes entre si, tornando desnecessária alguma correção no valor de S usado no modelo em função de C_s . Outra consideração importante obtida deste cálculo é que o grupo sulfonato nas micelas de HPS não possui mobilidade rotamérica suficiente para se inclinar de forma a neutralizar o nitrogênio positivo.

A generalização prática do modelo proposto implica na visualização dentro da micela zwitteriônica de dois sítios de interação com íons: o sítio "forte" (sítio positivo na micela de HPS) que promove uma intensa concentração de íons com cargas opostas às suas (ânions para

o HPS) e o sítio "frouxo" que apresenta uma pequena interação com os íons em solução, à força iônica diferente de zero (pequena concentração de cátions em micelas de HPS). Desta forma para micelas zwitteriônicas que possuem as cargas positivas na calota interna espera-se uma forte interação com ânions e para micelas que possuem as cargas negativas na calota interna uma forte interação com cátions.

A interação e troca iônica destas interfaces com ânions já se encontra documentada (Bunton et al 1987; Bunton et al 1989; Brochsztain et al 1990). Foi reportado neste trabalho que a piranina apresenta uma constante de ligação (K_m) com micelas de HPS da ordem de $K_m = 1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ e para micelas de LisoPC $K_m = 40 \text{ M}^{-1}$ (fig. 22). Estes valores de K_m podem ser explicados pelo modelo desenvolvido, uma vez que se trata da interação da piranina com o sítio forte da micela de HPS e com o sítio fraco da micela de LisoPC. Os valores de K_1 com NaCl para LisoPC (fig. 23 C- $K_1 = 20 \text{ M}^{-1}$) e os para micelas de HPS (fig. 23 A- $K_1 = 3 \text{ M}^{-1}$) comprovam ser mais fácil deslocar a piranina da micela de LisoPC do que da micela de HPS.

Inicialmente aventou-se a possibilidade da interação da piranina com micelas de LisoPC ser devida a uma inversão do posicionamento do dipolo na interface micelar deste detergente, como previsto por Dill e Stigter (Dill e Stigter 1988) para monocamadas de PC. Embora a posição do dipolo em monocamadas ou vesículas de PC já tenha sido extensivamente estudada, ainda hoje é assunto contraditório.

Contrariamente ao que Dill e Stigter propuseram muitos estudos (RMN, difração de raio x, difração de elétrons, etc.) indicam que o dipolo de moléculas de PC estão relativamente deitados na superfície da monocamadas ou de vesículas deste anfifílico (Hauser et al 1981; Zakrzewska e Pullman 1982; Seelig et al 1977; Tocanne e Teissie 1990; Seelig et al 1987; Hauser et al 1977; Ghazal 1983; Chapman et al 1977). Cabe ressaltar que a inversão proposta por Dill e Stigter é de apenas de $0,86 \text{ \AA}$ a 25°C e pode ser comprovada através de dados de segundo coeficiente virial de compressão de monocamadas. Considerando que, como os próprios autores comentam, o erro experimental em técnicas como RMN e difração de elétrons é de $\approx 1 \text{ \AA}$ os dois resultados que aparentemente são contraditórios se tornam condizentes, com a consideração que a técnica utilizada por Dill e Stigter para demonstrar suas previsões teóricas é mais sensível.

A despeito de todas estas considerações não nos parece provável que a técnica experimental utilizada por nós seja sensível a alterações de frações de angstrom no posicionamento do dipolo em micelas de LisoPC e as considerações baseadas no modelo proposto são suficientes para explicar a interação piranina-micela de lisoPC.

O valor de K_{m} encontrado para a interação da piranina com micelas de C_{12}PN ($K_{\text{m}} = 470 \text{ M}^{-1}$ fig. 22B) apresenta um valor intermediário ao observado para HPS e LisoPC. Uma possível explicação para o valor de K_{m} da piranina na interação com C_{12}PN ser em torno de 100 vezes

maior do que o K_m na interação com LisoPC ($K_m = 40 \text{ M}^{-1}$ -fig. 22C) e para o fato do k_1 observado em micelas de $C_{14}PN$ (k_1 (NaCl) = $7,5 \text{ M}^{-1}$ fig. 23B) ser menor do que o observado em micelas de lisoPC ($k_1 = 20 \text{ M}^{-1}$ fig. 23C), está relacionada com a mobilidade dos dipolos dos monômeros na estrutura micelar. Baseado somente nas estruturas moleculares dos monômeros de lisoPC e de $C_{14}PN$, percebe-se que a LisoPC deve possuir um grau de liberdade maior na interface micelar, uma vez que possui um grupo hidrofílico maior que o $C_{14}PN$, principalmente por causa do glicerol que deve estar relativamente hidratado. Esse maior grau de liberdade possibilita que a colina de moléculas de lisoPC se inclinem em direção ao plano da interface micelar em semelhança ao que ocorre com moléculas de PC na estrutura de vesículas ou monocamadas. (Hauser et al 1981; Zakrzewska e Pullman 1982; Seelig et al 1977) Esta inclinação pode explicar as diferenças de K_m obtidas para LisoPC e $C_{14}PN$, por um processo de neutralização de cargas e diminuição da espessura da região dipolar. Ainda que os dados apresentados de RMN de ^{13}C na tabela IV não detecte ambientes de diferentes polaridades no nitrogênio dos monômeros nas interfaces micelares de lisoPC e $C_{14}PN$, estudos de espectros de constante dielétrica (ϵ) em função de frequência (γ) de soluções micelares (Kaatze et al 1980; Pottel et al 1978) obtiveram dados de mobilidade do dipolo na interface micelar, bem como do número de águas de hidratação por monômero, que são compatíveis com as previsões baseadas na estrutura molecular do monômero. A mobilidade do

dipolo em micelas de LisoPC é $2 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1} \text{Å}^{-2}$, para HPS $1,8 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1} \text{Å}^{-2}$ e para C_{12}PN é $1,41 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1} \text{Å}^{-2}$. O número de águas de hidratação por monômeros são para LisoPC 12 águas/monômero, para C_{12}PN e HPS 8 águas/monômero. Estes números indicam que a interface micelar de LisoPC possui uma mobilidade maior e encontra-se mais hidratada do que as outras duas estudadas, o que pode estar relacionado com uma posição média dos dipolos na interface micelar mais inclinada em relação ao plano da interface micelar, resultando em uma neutralização maior entre as cargas positivas e negativas do zwitterion e num valor baixo de K_{a} . Vale citar ainda que esta diferença de mobilidade e hidratação da LisoPC em relação a C_{12}PN tem sido usado também para explicar dados de decomposição de m-nitrofenil 9-fluorenocarboxilato em meio micelar. (Correia et al 1992)

Um outro dado importante obtido de soluções micelares de C_{12}PN e HPS em interação com piranina, é o efeito do tamanho iônico no processo de troca iônica. Pode-se perceber que as constantes K_1 não apresentam variação expressiva em função do tamanho do ânion ou do cátion do sal utilizado para competição com o sistema piranina- C_{12}PN (K_1 para NaCl = $7,5 \text{ M}^{-1}$, K_1 para NaBr = 11 M^{-1} - K_1 para CsCl = 10 M^{-1} figs. 23, 25), diferentemente do que ocorre com HPS onde são observados valores bem distintos de K_1 para Cl^- e Br^- (K_1 para NaCl = 3 M^{-1} , K_1 para CsCl = 6 M^{-1} , K_1 para NaBr = 32 M^{-1} - figs. 23, 24). Como o sítio de interação da piranina com micelas de C_{12}PN se trata do sítio "frouxo" e

externo das micelas de $C_{14}PN$, pode-se dizer que a piranina se encontra em uma interação relativamente débil de forma que a maior hidratação que ocorre nos íons cloreto, não impede que este compita pelo sítio de interação da piranina, de forma semelhante que íons brometo. No caso de interfaces de HPS obteve-se diferenças expressivas entre o K_1 para NaCl e NaBr. A explicação para este efeito pode estar relacionado com a menor energia envolvida na desidratação dos íons brometo. Embora seja bastante improvável que íons como cloreto e brometo interajam com interfaces de micelas carregadas totalmente desidratados, é possível que ocorram quebras e alterações na estrutura de hidratação destes, de forma que íons mais facilmente desidratáveis como brometo interajam mais fortemente com interfaces, efeito este, que pode explicar as diferenças de k_1 observadas para NaCl e NaBr, bem como vários dados de literatura, que comprovam a maior afinidade de interfaces de HPS por brometo do que por cloreto. (Brochsztain et al 1990) Desta forma, pode-se concluir que a interação com o sítio "frouxo" e externo de interfaces zwitteriônicas não necessariamente implica na desidratação do íon, enquanto que a interação com o sítio forte provavelmente implica numa alteração da estrutura de hidratação. O fato de não se visualizar efeito pronunciado do tamanho do cátion no processo de troca iônica, pode ser entendido como uma separação dos sítios de ligação para cátions e para ânions em interfaces zwitteriônicas. Como em todos estudos realizados com a piranina o sítio que está

sendo monitorado é o sítio de ligação para ânions o efeito de tamanho do cátion não influencia nos resultados.

Os dados de reprotonação dos naftóis também são explicados pelo modelo desenvolvido. Na situação em que $C_s = 0$, o modelo prevê que a concentração de prótons na região dipolar de micelas de HPS será menor do que no meio, ocorrendo o oposto para a região dipolar de micelas do tipo de $C_{14}PN$ e vesículas de PC, perfil este que é completamente compatível com os dados de reprotonação (figs. 19, 20). Com o aumento de C_s o modelo prevê que ocorre uma diminuição na concentração de prótons na região dipolar de micelas de $C_{14}PN$ e vesículas de PC, por um processo de neutralização de cargas da calota negativa interna, ocorrendo o inverso para micelas de HPS. Na figura 34 está apresentado este perfil de variação da concentração de prótons na região dipolar das interfaces de micelas de HPS (fig. 34A) e $C_{14}PN$ (fig. 34B) e vesículas de PC (fig. 34C) a diversos valores de C_s , calculados utilizando os fatores de ponderação de Boltzman e as equações de potenciais 12, 13 e 14 para as respectivas regiões da interface micelar em que estas são válidas. Os potenciais de região dipolar para micelas de $C_{14}PN$ e vesículas de PC calculadas segundo as equações 12, 13 e 14, alterando-se a posição relativa das calotas positivas e negativas, utilizando $S = 4\text{\AA}$ para micelas de $C_{14}PN$ e $S = 6\text{\AA}$ para vesículas de PC, estão apresentadas na figura 35.

O perfil observado de variação de k_{obs} dos naftóis nas interfaces zwitteriônicas estudadas (figs. 19 e

FIGURA 34 A: Curvas teóricas de concentração de prótons na região interfacial de micelas de HPS, em função da concentração salina da solução, calculados segundo os fatores de ponderação de Boltzman e potenciais segundo as equações 12,13 e 14, utilizando $S = 4\text{Å}$. Os valores de força iônica utilizados foram: $a = 1 \times 10^{-6}\text{M}$, $b = 0,025\text{M}$, $c = 0,15\text{M}$, $d = 0,35\text{M}$, $e = 0,8\text{M}$.

FIGURA 34 B: Curvas teóricas de concentração de prótons na região interfacial de micelas de $C_{14}PN$ em função da concentração salina da solução, calculados segundo os fatores de ponderação de Boltzman e potenciais segundo as equações 12,13 e 14.

Utilizou-se as equações 12,13 e 14, alterando-se a posição relativa das calotas negativas e positivas. Os valores de força iônica utilizados foram: $a = 1 \times 10^{-6} M$, $b = 0,025M$, $c = 0,15M$, $d = 0,35M$, $e = 0,8M$.

FIGURA 34 C: Curvas teóricas de concentração de prótons na região interfacial de vesículas de PC, em função da concentração salina da solução, calculados segundo os fatores de ponderação de Boltzman e potenciais segundo as equações 12,13 e 14.

Utilizou-se as equações 12,13 e 14, alterando-se a posição relativa das calotas negativas e positivas. Os valores de força iônica utilizados foram: a = 1×10^{-6} M, b = 0,025M, c = 0,15M, d = 0,35M, e = 0,8M.

FIGURA 35 A: Potenciais de região dipolar e superficial para micelas de $C_{14}PN$ calculados segundo as equações 12,13 e 14, utilizando $S = 4\text{Å}$, em função da força iônica da solução. Os valores de força iônica utilizados foram: a = 1×10^{-6} M, b = 0,025M, c = 0,15M, d = 0,35M, e = 0,8M.

FIGURA 35 B: Potenciais de região dipolar e interfacial para vesículas de PC, calculados segundo as equações 12,13 e 14, utilizando $S = 6\text{\AA}$, em função da força iônica da solução. Os valores de força iônica utilizados foram: a = $1 \times 10^{-4}\text{M}$ b = $0,025\text{M}$, c = $0,15\text{M}$, d = $0,35\text{M}$, e = $0,8\text{M}$.

20) pode ser compreendido como a somatória de dois efeitos: alteração na concentração de prótons na região da interface micelar monitorada pela sonda em função de C_s como previsto pelo modelo e variação de k_{on} em função de C_s , como previsto pela equação 1. Desta forma nas micelas de $C_{12}PN$ os dois efeitos, diminuição de k_{on} e diminuição na concentração de prótons em função de C_s , acarretam uma diminuição na velocidade da reação de reprotonação com intensidade maior do que o aumento de k_{obs} observado no caso de micelas de HPS onde os dois efeitos são contrários, ou seja, com o aumento de C_s ocorre um aumento na concentração de prótons na região interfacial e diminuição de k_{on} . Para valores altos de C_s , como pode ser observado na figura 34, a alteração na concentração de prótons na região dipolar de interfaces zwitteriônicas em função de C_s já está bem diminuída, uma vez que a calota de cargas internas já se encontra neutralizada. Ainda nesta situação, a acumulação de eletrólito na região dipolar também é menos intensa (fig. 27) de forma que ambos efeitos que alteram o valor de k_{obs} ($[H^+]$ e alteração de k_{on}) apresentam pequena alteração a valores altos de C_s , o que resulta na pequena alteração de k_{obs} observada a valores altos de C_s .

Cabe ressaltar, que a análise teórica destes dados de reprotonação precisa ser melhor trabalhada, sendo que o objetivo do estudo aqui apresentado, foi somente analisar os aspectos qualitativos destes dados em face ao modelo proposto.

5) CONCLUSÕES

Em termos gerais, a luz dos resultados presentes, torna-se patente o caráter iônico de interfaces zwitteriônicas, que seriam formalmente neutras. Este caráter é função marcante da concentração de eletrólito e da posição relativa do dipolo na interface. A adição de eletrólito resulta na acumulação diferenciada na calota dipolar interfacial de ânions ou cátions, os quais serão discriminados pela posição radial do dipolo. Em interfaces com o interior carregado positivamente, isto é, a calota de cargas positivas dos monômeros encontra-se mais próxima ao centro hidrofóbico da micela, ocorrerá a acumulação preferencial de ânions, e em sistemas invertidos, ou seja, calota negativa posicionada mais próxima ao centro hidrofóbico, ocorrerá acumulação preferencial de cátions.

Como visão geral de interfaces dipolares num meio aquoso, concluímos por fim, que o ambiente iônico estará diferencialmente acomodado em regiões próximas à interface, com carga oposta às cargas dos dipolos interfaciais. Ainda que a propagação desta região seja de bastante curto alcance, isto é, prolonga-se a cerca de 2 a 3 vezes a dimensão efetiva do dipolo, quando imaginada para sistemas biológicos como

membranas, deve auxiliar na compreensão de vários eventos que dependem desta distribuição iônica.

Enfim acredita-se que o modelo desenvolvido é bastante genérico e pode ser extrapolado para outros tipos de interfaces dipolares e desta forma, ajudar a compreender diversos processos que dependem da acumulação e troca iônica em interfaces zwitteriônicas.

6) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atkins, P.W. "Physical Chemistry", 4ed., Oxford Press 1990
- Bacaloglu, R.; Bunton, C.A.; Cericheli, G.; Ortega, F. J. Phys. Chem. **93**, 1490 (1989)
- Baptista, M.S.; Politi, M.J. J. Phys. Chem. **95**, 5936 (1991).
- Baptista, M.S.; Cuccovia, I.; Chaimovich, H.; Reed, W.F.; Politi, M.J. J. Phys. Chem. (0,0) (1992).
- Brochsztain, S.; Filho, P.B.; Berci, P.F.; Toscano, V.G.; Chaimovich, H.; Politi, M.J. J. Phys. Chem. **94**, 6781 1990.
- Bunton, C.A.; Mhala, M.M.; Moffatt, J.R. J. Org. Chem. **52**, 3832 (1987).
- Bunton, C.A.; Mhala, M.M.; Moffatt, J.R. J. Phys. Chem. **93**, 856 (1989).
- Bunton, C.A.; Moffatt, J.R. J. Phys. Chem. **90**, 538 (1986).
- Bunton, C.A.; Mhala, M.M.; Moffatt, J.R. J. Org. Chem. **52**, 3832 (1987).
- Bunton, C.A.; Nome, F.; Quina, F.H.; Romsted, L.S. Accounts of Chemical Research **24** (12), 358 (1991).
- Carmona, R.A.M.; Midmore, B.R. J. Phys. Chem. **96**, 3542 (1992)
- Chapman, D.; Peel, W.E.; Kingston, B.; Lilley, T.H. Biochim. Biophys. Acta **464**, 260 (1977).
- Chaimovich, H. Tese de Doutorado; Universidade de São Paulo (1979).
- Chevalier, Y.; Germanaud, L.; Percec, P. Colloid Polym. Sci. **266**, 441 (1988).
- Chevalier, Y.; Storet, Y.; Pourchet, S.; Percec, P. Langmuir **7**, 848 (1991).
- Clunie, J.S.; Corkill, J.M.; Goodman, J.F.; Ogden, C.P. J. chem. Soc. Faraday Soc. **63**, 505 (1967).

- Correia, V.R.; Cuccovia, I.M.; Stemo, M.; Chaimovich, H. J. Am. Chem. Soc. **114** (6), 2144 (1992).
- Corti, M.; Degiorgio, V. J. Phys. Chem. **85**, 711 (1981).
- Cuccovia, I.M.; Quina, F.H.; Chaimovich, H. Tetrahedron **38** (7), 617 (1982).
- Cuccovia, I.M.; Kawamuro, M.K.; Krutman, M.A.K.; Chaimovich, H. J. Am. Chem. Soc. **111**, 365 (1989).
- Debye, P. Trans. Electrochem. Soc. **82**, 265 (1942).
- Denjaschkewitch, A.B.; Zaitsev, N.K.; Kuzmin, M.G. Chem. Phys. Lett. **55**, 80 (1978).
- Dill, A.K.; Stigter, D. Biochemistry **27**, 3446 (1988).
- Dorshow, R.; Briggs, J.; Bunton, C.A.; Nicoll, D.F. J. Phys. Chem. **86**, 2388 (1982).
- Dorshow, R.; Bunton, C.A.; Nicoll, D.F. J. Phys. Chem. **87**, 1409 (1983).
- Evans, D.F.; Ninham, B.W. J. Phys. Chem. **87**, 5025 (1983).
- Fendler, E.J.; Day, C.L.; Fendler, J.H. J. Phys. Chem. **76**, 1460 (1972).
- Fendler, J.H. e Fendler, E.J. "Catalysis in micellar & Macromolecular systems" A.D., N.Y., 1975
- Fendler, J.H. "Membrane Mimetic Chemistry", Wiley-Interscience, New York, 1982.
- Forster, Th. Z. Electrom. **54**, 42 (1950).
- Forster, Th.; Volker, S. Chem. Phys. Lett. **34**, 1 (1975).
- Ghazal, F.L.; Tichadou, J.L.; Tocanne, J.F. Eur. J. Biochem. **134**, 531 (1983).
- Gutman, M.; Huppert, D.; Pines, E.; Nachliel, E. Biochimica et Biophysica Acta **642**, 15 (1981).
- Gutman, M.; nachliel, E. Biochimica et Biophysica Acta **1115**, 391 (1990).
- Gutman, M.; Nachliel, E.; Fishman, M. "Ion Interactions in Energy Transport Systems; Papageorgio et al; Plenum; New York, 93 (1986).

- Hanahan, G.; Dittmer, J.C.; Warashina, E. J. Biological Chem. **228**, 685 (1957).
- Hauser, H.; Hincley, C.C.; Krebs, J.; Levine, B.A.; Phillips, M.C. Biochim. Biophys. Acta **468**, 364 (1977).
- Hauser, H.; Pascher, I.; Pearson, R.H.; Sundell, S. Biochim. Biophys. Acta **650**, 21 (1981).
- Helenius, A.; Macashin, D.R.; Frie, F.I.; Tanford, C. Methods Enzymol. **53**, 734 (1979).
- Herrmann, K.W. J. Colloid and Int. Sci. **22**, 352 (1966).
- Hiemenz, P.C. "Principles of Colloid and surface Chemistry"; Marcel Dekker: New York, 1986.
- Hill, T.L. "An Introduction to Statistical Thermodynamics", Addison-Wesley, Massachusetts, 1962.
- Hodge, D.J.; Laughlin, R.G.; Ottewill, R.H.; Rennie, A.R. Langmuir **7**, 878 (1991).
- Hogg, R.; Healy, T.W.; Fuerstenau, D.W. Trans. Faraday Soc. **62**, 1638 (1966).
- Hubbell, W.L.; McConnell, H.M. J. Am. Chem. Soc. **93**, 314 (1971).
- Hubbell, W.L. e Mc Connell, H.M. J. Am. Chem. Soc. **93**, 314 (1971).
- Huppert, D.; Gutman, M.; Kaufmann, K.J. Adv. Chem. Phys. **47**, 643 (1981).
- Huppert, D.; Kolodney, E. Chem. Phys. **63**, 401 (1981).
- Il'ichev, Y.V.; Demyashkevich, A.B.; Kuzmin, M.G. J. Phys. Chem. **95**, 3438 (1991).
- Israelachvili, J.N. "Intermolecular and Surface Forces", Academic Press, London, 1985.
- Kaatze, U.; Muller, S.C.; Eibl, H. Chemistry and Physics of Lipids **27**, 263 (1980).
- Kondo, H.; Miwa, I.; Sunamoto, J. J. Phys. Chem. **86**, 4826 (1982).
- Lakowicz, J.R. "Principles of Fluorescence Spectroscopy", Plenum Press, New York, 1983.
- Lee, J.; Robinson, G.W.; Webb, S.P.; Phillips, L.A.; Flark, J.H. J. Am. Chem. Soc. **108**, 6538 (1986).

- Lichter, R.L.; Roberts, J.D. J. Phys. Chem. 74, 912 (1970).
- Lucy, J.A.; Howell, J.I.; Poole, A.R. Nature 227, 810 (1970).
- Lukac, S. J. Phys. Chem. 87, 5045 (1983).
- Marshall, G.A. "Biophysics Chemistry: Principles, Techniques and Applications", John Wiley & Sons, New York, 1978.
- Nagle, J.F.; Morowitz, H.J. Proc. Natl. Acad. Sci USA 75 (1), 298 (1978).
- Nagle, F.J.; Nagle, S.T. J. Membrane Biol. 74, 1 (1983).
- Oliveira, A.G.; Nothenberg, M.S.; Cuccovia, I.M.; Chaimovich, H. J. Phys. Org. Chem. 4, 19 (1991).
- Pines, E.; Huppert, D.; Gutman, n.; Nachliel, N.; Fishman, M. J. Phys. Chem. 90, 6366 (1986).
- Politi, M.J. Tese de Doutorado, Clarkson Univ., USA, 1984.
- Politi, M.J.; Chaimovich, H. J. Phys. Org. Chem. 4, 207 (1991).
- Politi, M.J.; Fendler, J.H. J. Am. Chem. Soc. 106 (2), 265 (1984).
- Pottel, R.; Kaatz, U.; Muller, St. Ber. Bunsenges Phys. Chem. 82, 1086 (1978).
- Quina, F.H.; Chaimovich, H. J. Phys. Chem. 83, 1844 (1979).
- Rand, R.R. Biochemistry 30 (3), 1 (1991).
- Reed, C.E.; Li, X.; Reed, W.F. Biopolymers 28, 1981 (1989).
- Rohatgi-Mukherjee, K.K. "Fundamentals of Photochemistry" John Wiley & Sons, New York, 1978.
- Romsted, L.S. "Micelization, Solubilization and Microemulsion", Eds Plenum Press, New York, 1977.
- Schulman, S.G. Rev. Anal. Chem. 1, 85 (1971).

Seelig, J.; McDonald, P.M.; Scherer, P.G. Biochemistry 26 (24), 7535 (1987).

Seelig, J.; Gally, H.U.; Gemuth, R.W. Biochim. Biophys. Acta 467, 109 (1977).

Selinger, R.K.; Weller, A. Aust. J. Chem. 30, 2377 (1977).

Shinoda, K.; Nakagawa, T.; Tamamushi, B.; Tsemura, T. em "Colloidal Surfactants", Academic Press, New York (1963).

Silverstein, R.M.; Bassler, G.C.; Morrill, T.M. em "Identificação espectrométrica de Compostos Orgânicos" 3ed., Editora Guanabara Dois S.A., Rio de Janeiro, 1979.

Singer, S.L.; Nicolson, G.L. Science 175, 720 (1972).

Strehlow, H.; Knoche, W. "Fundamentals of Chemical Relaxation" Verlag Chemie Weinheim, New York, 1977.

Tanford, C. em "The Hydrophobic Effect", Wiley, New York, 1980.

Tocanne, J.F.; Teissié, J. Biochim. Biophys. Acta 1031, 111 (1990).

Verwey, E.J.; Overbeek, J.T.G. "Theory of the Stability of Lyophobic Colloids", Elsevier, New York, 1948.

Voet, D.; Voet, J.G. "Biochemistry", John Wiley, New York, 1990.

Weber, K. Z. Physik. Chem. B15, 18 (1931).

Weller, A. Prog. Reaction Kin. 1, 186 (1961).

Yamakawa, H. "Modern Theory of Polymer Solutions", Harper and Row, 1971.

Zakrzewska, K.; Pullman, A. International Journal of Quantum Chemistry: Quantum Biology Symposium 9, 411 (1982).

Zubay, G. em "Biochemistry", Addison Wesley, California, 1983.

7) APÊNDICE

APÊNDICE A

O modelo para micela zwitteriônica utiliza a solução linearizada de Debye-Hueckel da equação de Poisson-Boltzmann.

$$-\epsilon \nabla^2 \phi = \sum_i Z_i |e| n_{oi} e^{-Z_i |e| \phi / kT} \quad \text{equação de Poisson-Boltzmann}$$

onde: $\nabla^2 \phi$ - Laplaciano do potencial

ϵ - permissividade elétrica do meio

Z_i - carga do ion "i"

$|e|$ - a carga do eletron

n_{oi} - o numero de ions "i" por unidade de volume na região

onde $\phi \rightarrow 0$

k - constante de Boltzmann

T - temperatura

expandindo o termo $e^{-Z_i |e| \phi / kT}$ e ignorando termos com potência maior que 1:

$$-\epsilon \nabla^2 \phi = \sum_i Z_i |e| n_{oi} (1 - Z_i |e| \phi / kT)$$

$$\text{- devido a condição de eletroneutralidade } \sum_i Z_i |e| n_{oi} = 0$$

$$\nabla^2 \phi = \frac{|e|^2 \phi}{\epsilon kT} \sum_i Z_i^2 n_{oi} \quad \text{considerando } \kappa^2 = \frac{|e|^2 \sum_i Z_i^2 n_{oi}}{\epsilon kT}$$

$$\nabla^2 \phi = \kappa^2 \phi \quad \text{equação de Debye-Hueckel (EDH)}$$

Resolvendo a EDH para calotas esféricas:

condições de contorno : $\lim_{r \rightarrow +\infty} \phi(r) = 0$ e $\lim_{r \rightarrow +\infty} d\phi/dr = 0$

como o sistema apresenta simetria esférica, utilizando coordenadas esféricas, a EDH se reduz a:

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{d}{dr} \right) \phi = \kappa^2 \phi \Rightarrow \phi(r) = \frac{A e^{-\kappa r}}{r} \quad \text{eq. 1}$$

a constante A é obtida da condição de contorno para o campo elétrico radial em Ra:

$$\left(\frac{d}{dr} \phi(r) \right)_{r=Ra} = - \frac{\sigma}{\epsilon}$$

onde: σ = densidade superficial de carga = $Q / 4\pi Ra^2$

$$A \frac{e^{-\kappa Ra}}{Ra^2} (1 + \kappa Ra) = \frac{Q}{4\pi \epsilon Ra^2} \Rightarrow A = \frac{Q e^{\kappa Ra}}{4\pi \epsilon (1 + \kappa Ra)}$$

Substituindo A na eq. 1:

$$\phi(r) = \frac{Q e^{\kappa(Ra-r)}}{4\pi \epsilon (1 + \kappa Ra) r}$$

esta equação para $\phi(r)$ foi usada ao longo do trabalho

APÊNDICE B

Tomemos κ como mostrado no Apêndice A:

$$\kappa = \left[\frac{|e|^2 \sum_i Z_i^2 n_{oi}}{\epsilon kT} \right]^{1/2}$$

Como n_{oi} é o número de ions por m^3 , n_{oi} é relacionado com a concentração molar de ions M_i por:

$$n_{oi} = 1000 M_i N_a \quad , \text{ onde } N_a \text{ é o número de Avogadro}$$

$$\kappa^2 = \frac{1000 |e|^2 N_a}{\epsilon kT} \sum_i Z_i^2 M_i \quad , \text{ onde: } \sum_i Z_i^2 M_i = 2 C_s$$

Se C_s for expresso em mM:

$$\kappa^2 = \frac{|e|^2 N_a 2C_s}{\epsilon kT}$$

Substituindo os termos constantes:

$$T = 298 \text{ K}$$

$$|e| = 1,6 \times 10^{-19} \text{ C}$$

$$N_a = 6,02 \times 10^{23}$$

$$\epsilon = 78,54 \times 8,85 \times 10^{-12} \text{ C}^2 \text{ m}^{-2} \text{ N}^{-1}$$

$$k = 1,38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$$

, temos:

$$\kappa = 1,03 \times 10^8 \sqrt{C_s} \text{ m}^{-1} \Rightarrow \kappa = 0,0103 \sqrt{C_s} \text{ \AA}^{-1}$$

$$\kappa = \frac{\sqrt{C_s}}{97} \text{ \AA}^{-1}$$

APENDICE C

Para $R_a \leq r \leq R_b$:

$$\rho(r) = -\epsilon \nabla^2 \phi(r) = -\epsilon \nabla^2 \left[\frac{Z |e|}{4\pi \epsilon} \left(\frac{e^{\kappa(R_a - r)}}{r(1 + \kappa R_a)} - \frac{1}{R_b(1 + \kappa R_b)} \right) \right]$$

como o sistema de estudo apresenta simetria esférica:

$$\nabla^2 = \frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{d}{dr} \right)$$

$$\rho(r) = -\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{d}{dr} \right) \frac{Z |e|}{4\pi} \left[\frac{e^{\kappa(R_a - r)}}{r(1 + \kappa R_a)} - \frac{1}{R_b(1 + \kappa R_b)} \right]$$

$$\rho(r) = -\frac{Z |e| e^{\kappa R_a}}{4\pi(1 + \kappa R_a)} - \frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{d}{dr} \right) \frac{e^{-\kappa r}}{r}$$

$$\rho(r) = -\frac{Z |e| \kappa^2 e^{\kappa(R_a - r)}}{4\pi r(1 + \kappa R_a)}$$

Para $r \geq R_b$:

$$\rho(r) = -\frac{\epsilon Z |e| e^{\kappa R_a}}{4\pi \epsilon} \left[\frac{1}{(1 + \kappa R_a)} - \frac{e^{\kappa S}}{(1 + \kappa R_b)} \right]$$

$$\nabla^2 (e^{-\kappa r}/r)$$

$$\rho(r) = - \frac{Z |e| \kappa^2 e^{\kappa(Ra-r)}}{4\pi r} \left[\frac{1}{1 + \kappa Ra} - \frac{e^{\kappa S}}{1 + \kappa Rb} \right]$$

APÉNDICE D

$$\int_{r_1}^{r_2} \rho(r) dr = Q_D$$

sendo $dr = r^2 \sin\theta d\theta d\psi$ (coordenadas esféricas) :

$$\int_0^{2\pi} \int_0^\pi \int_{R_a}^{R_b} \rho(r) r^2 \sin\theta d\theta d\psi = \int_0^{2\pi} d\psi \int_0^\pi \sin\theta d\theta \int_{R_a}^{R_b} \rho r^2 dr$$

$$4\pi \int_{R_a}^{R_b} - \frac{Z |e| \kappa^2 e^{\kappa R_a}}{4\pi (1 + \kappa R_a)} \frac{r^2}{r e^{\kappa r}} dr = \frac{Z |e| \kappa^2 e^{\kappa R_a}}{(1 + \kappa R_a)} \int_{R_a}^{R_b} r e^{-\kappa r} dr$$

$$Q_D = \left. - \frac{Z |e| \kappa^2 e^{\kappa R_a}}{(1 + \kappa R_a)} \frac{e^{-\kappa r}}{\kappa^2} (-\kappa r - 1) \right|_{R_a}^{R_b}$$

$$Q_D = \frac{Z |e|}{(1 + \kappa R_a)} [-\kappa R_a - 1 + \kappa R_b e^{-\kappa R_b} + e^{-\kappa R_b}]$$

$$Q_D = \frac{-Z |e| \kappa}{(1 + \kappa R_a)} [R_a + \kappa^{-1} - (R_b + \kappa^{-1}) e^{-\kappa R_b}]$$

NOTA

A somatória dos potenciais das superfícies carregadas impermeáveis a ions, para obtenção do potencial total em uma determinada região da micela não é um artifício rigorosamente válido dentro da aproximação de Debye Huckel, o que pode ser facilmente evidenciado pela contradição física criada, uma vez que a região do dipolo interfacial é permeável a ions em relação a calota positiva e impermeável em relação a calota negativa. Este artifício matemático foi utilizado devido a dois fatores principais:

i) O tratamento segundo D.H. para regiões onde Z e $\phi / K_R T \gg 1$ (no caso da micela em questão, a baixa força iônica, este valor alcança valores em torno de 6 - fig. 27) leva a uma superestimativa do potencial e subestimativa da concentração de ions na calota dipolar, devido a linearização efetuada. Este fato leva a uma subestimativa dos valores de potencial superficial, segundo coeficiente virial e concentração de ions na região interfacial que serão utilizados para o teste do modelo.

ii) A solução de Poisson-Boltzman, embora seja mais confiável numa situação de valores altos de potencial, não foi por nós utilizada, uma vez que a sua solução para o sistema em questão só é possível através de cálculos numéricos, não se obtendo expressões simplificadas como objetiva este trabalho.

Desta forma para evitar os erros inerentes da aproximação de D.H. na região interna da interface micelar e a impossibilidade de se obter expressões analíticas da resolução de P.B. optou-se por utilizar o artifício matemático da soma dos potenciais das esferas concêntricas.

Cabe ressaltar que a resolução seguindo rigorosamente as equações de D.H. e as condições de contorno do sistema, como será apresentado a seguir, fornece resultados similares ao que serão apresentados na dissertação, excetuando-se a magnitude destes pelas razões já comentadas. (Baptista et al 1992)

Assumindo que a camada dipolar é permeável aos ions e que o interior micelar é impermeável, os potenciais têm as seguintes formas em cada região:

$$\phi_1(r) = \frac{a e^{-\kappa r}}{r} \quad r \geq R_b \quad (1)$$

$$\phi_2(r) = \frac{b e^{\kappa r} + c e^{-\kappa r}}{r} \quad R_a \leq r \leq R_b \quad (2)$$

$$\phi_3(r) = \text{constante} \quad r \leq R_a \quad (3)$$

Aplicando as condições de contorno:

$$- \left[\frac{d}{dr} \phi_2(r) \right]_{r=Ra} = \frac{Q}{4\pi\epsilon R a^2}$$

$$- \left[\frac{d}{dr} \phi_1(r) \right]_{r=Rb} + \left[\frac{d}{dr} \phi_2(r) \right]_{r=Rb} = \frac{-Q}{4\pi\epsilon R b^2}$$

$$\phi_1(Rb) = \phi_2(Rb)$$

$$\phi_2(Ra) = \phi_3(Ra)$$

Aos potenciais das eqs. (1), (2) e (3), obtemos:

$$a = \frac{Q}{4\pi\epsilon} \left[\frac{e^{\kappa Ra}}{1 + \kappa Ra} \left[1 - \frac{(\kappa Ra - 1) e^{-\kappa S}}{2\kappa Rb} \right] - \frac{e^{\kappa Rb}}{2\kappa Rb} \right]$$

$$b = \frac{-Q e^{-\kappa Rb}}{4\pi\epsilon (2\kappa Rb)}$$

$$c = \frac{Q e^{\kappa Ra}}{4\pi\epsilon (1 + \kappa Ra)} \left[1 - \frac{(\kappa Ra - 1) e^{-\kappa S}}{2\kappa Rb} \right]$$