UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

**REATIVIDADE QUÍMICA E FOTOQUÍMICA EM
AGREGADOS DE TENSOATIVOS EM ÁGUA/ACETONITRILA**

Chang Yihwa

Tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. Frank H. Quina

SÃO PAULO

06/08/04

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Yihwa, Chang
Y51r Reatividade química e fotoquímica em agregados de tensoativos
em água/acetonitrila / Chang Yihwa. -- São Paulo, 2004.
100p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade
de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Quina, Frank Herbert

1. Fotoquímica 2. Cinética química : Físico-química 3. Química
de superfície I. T. II. Quina, Frank Herbert, orientador.

541.35 CDD

***“Reatividade química e fotoquímica em
agregados de tensoativos em
água/acetonitrila”***

CHANG YIHWANG

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química – Área: Físico-Química.

Aprovado(a) por:

Prof. Dr. FRANK HERBERT QUINA
IQ – USP
(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. OMAR ABDEL MONEIM ABOU EL SEOUD
IQ – USP

Prof. Dr. JOSEF WILHELM BAADER
IQ – USP

Prof. Dr. MIGUEL GUILLERMO NEUMANN
IQ – SC – USP

Prof. Dr. WATSON LOH
IQ – UNICAMP

SÃO PAULO
10 DE SETEMBRO 2004

Aos meus pais e irmãos

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Frank H. Quina pela orientação, pela amizade e por todas as oportunidades durante esses anos.

À Fapesp pela bolsa concedida (00/08776-3) e à Capes-ICCTI pelo apoio financeiro ao grupo.

À todos do ITQB/Portugal: Prof. Maçanita e Iolanda, Prof. João Carlos, Letícia, Melinda, Tiago e Prof. Eurico, pelas antocianinas, pela amizade, por acolher-me, pelas risadas e pelo tango; às amigas Dora, Joana e Rita pelos passeios e jantares semanais; à Pli, JC, Mônica e Nuno, por eu abusar dos jantares diários, pelas conversas e pela companhia.

À todos de UVIC/Victoria: Profa. Cornélia Bohne e Luis, Jessy, Tamara, John, Lana e Chelsea, pela amizade e pelo espírito de grupo.

Ao João e à Celize, aos dois pela amizade; e ele por medidas no RMN.

À todos os colegas do laboratório: Adilson, Amilcar, Carolina, Claudia, Débora, Fernando, Mafê, Marilene, Nara, Paulo, Reinaldo, D. Vanda e Volnir, pela amizade, risadas, festas e festas.

À Profa. Laura pelo uso de aparelho e discussões, além da amizade.

À todos os professores e funcionários do IQ-USP, principalmente ao técnico César, pelas inúmeras ajudas.

Aos amigos da graduação: Alezita, Ari, Alex, Eric, Elaine, Eli, Joice, Karina, Sílvio, Tati, Zé e Wallace, pela convivência durante todo o doutorado.

Ao Edu pela paciência e carinho.

Ao Magno e ao Edu pour l'amitié.

À todos os amigos do IQ-USP!

ÍNDICE

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	IX
RESUMO.....	XI
ABSTRACT.....	XII
1 - INTRODUÇÃO.....	1
1.1 - Agregados.....	1
1.1.1 - Tensoativos – Aspectos históricos.....	1
1.1.2 – Micelas.....	2
1.1.3 – Sais Biliares.....	4
1.2 – Acetonitrila-água e micelização.....	6
1.3 – Sondas fotofísicas em sistemas organizados.....	8
1.3.1 – Número de Agregação.....	9
1.3.2 – Dinâmica de interação de solutos e seletividade em micelas..	11
1.3.3 – Tempos de vida de estados tripletes.....	11
1.3.4 – Constantes de velocidade de dissociação e protonação de fotoácidos.....	13
2 – OBJETIVO.....	15
3 - PARTE EXPERIMENTAL.....	16
3.1 - Reagentes.....	16
3.2 – Preparação de brometo de N-dodecil-4-cianopiridínio.....	17
3.3 – Preparação de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano.....	17
3.4 - Aparelhos.....	18
3.5 - Metodologia.....	19
3.5.1 – Medidas de concentração micelar crítica.....	19
3.5.2 – Estudos de n-butil-3-nitrofenil éter.....	19
3.5.3 – Cinética da hidrólise ácida de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano	19

3.5.4– Incorporação de n-dodecil-4-cianopiridínio. em CTAB.....	20
3.5.5 – Estudos de 4-metil-7-hidroxiflavílio (HMF).....	20
3.5.6 – Estudos em sais biliares.....	21
4 - RESULTADOS.....	23
4.1 – Concentração micelar crítica	23
4.2 – Estudos de n-butil-3-nitrofenil éter em micelas de SDS.....	27
4.3 – Cinética de hidrólise ácida de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano.....	30
4.4 – Incorporação do íon N-dodecil-4-cianopiridínio em micela de CTAB.	38
4.5 – Estudos com o cloreto de 4-metil-7-hidroxiflavílio (HMF)	44
4.5.1 – Estudos da antocianina HMF no estado excitado	49
4.5.1.1 – HMF no estado excitado em meio aquoso	49
4.5.1.2 – HMF no estado excitado em micelas de SDS	53
4.5.2 – Estudos com antocianina HMF no estado fundamental.....	57
4.5.2.1 – HMF no estado fundamental em meio aquoso	57
4.5.2.2 – HMF no estado fundamental em micelas de SDS....	61
4.6 – Estudos da influência da acetonitrila em agregados de sais biliares.....	64
4.6.1 – Supressão de estado triplete excitado de EtNp e NpOH em solução	64
4.6.2 – Dinâmica de solubilização de EtNp e NpOH em agregados de sais biliares.....	67
4.6.3 – Acessibilidade do íon iodeto aos estados tripletes de EtNp e NpOH em agregados de sais biliares.....	74
5 - DISCUSSÃO.....	78
5.1 – Cinética de hidrólise catalisada por micela e incorporação de moléculas em agregados micelares.....	78
5.2 – Estudos com o cloreto de 4-metil-7-hidroxiflavílio (HMF).....	83
5.3 – Estudos em agregados de sais biliares.....	91
6 – CONCLUSÃO.....	94
7 – REFERÊNCIAS	95

Índice de Figuras

Figura 1:	Tensão superficial em função da concentração de SDS, na presença de tampão succinato 20 mM em: (a) 0% de acetonitrila; (b) 5 % de acetonitrila; (c) 10 % de acetonitrila; (d) 20 % de acetonitrila	24
Figura 2:	Concentração micelar crítica de SDS, na presença de 20mM de tampão succinato, em função da concentração de acetonitrila....	25
Figura 3:	Dependência do tempo de vida do estado triplete do n-butil-3-nitrofenil éter em micelas de SDS (10 mM) em função da concentração de NaBr (0-50 mM) mantendo a força iônica constante com NaCl (0-50 mM), na ausência e presença de acetonitrila	28
Figura 4:	Espectro de absorção de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano, na presença de micelas de SDS (40 mM), tampão succinato (20 mM), pH=5,19, em função do tempo: 10s, 30s, 60s e 2 minutos.	33
Figura 5:	Formação de p-octoxibenzaldeído em função do tempo	34
Figura 6:	Efeito da [SDS] sobre k_{obs} para a hidrólise, catalisada por ácido, do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano na ausência de acetonitrila	35
Figura 7:	Efeito da [SDS] sobre k_{obs} para a hidrólise, catalisada por ácido, do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano em 5 % de acetonitrila	35
Figura 8:	Efeito da [SDS] sobre k_{obs} para a hidrólise, catalisada por ácido, do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano em 10 % de acetonitrila	36
Figura 9:	Efeito da [SDS] sobre k_{obs} para a hidrólise, catalisada por ácido, do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano em 20 % de acetonitrila	36
Figura 10:	Supressão da emissão de $Ru(bipy)_3^{2+}$ pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na ausência de acetonitrila, em tampão BISTRIS. (A) Supressão pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na ausência de CTAB; (B) efeito da adição de CTAB ao sistema	39
Figura 11:	Supressão da emissão de $Ru(bipy)_3^{2+}$ pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na presença de 10 % de acetonitrila, em tampão BISTRIS. (A) Supressão pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na ausência de CTAB; (B) efeito da adição de CTAB ao sistema.....	39

Figura 12:	Supressão da emissão de $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na presença de 15% de acetonitrila, em tampão BISTRIS. (A) Supressão pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na ausência de CTAB; (B) efeito da adição de CTAB ao sistema	40
Figura 13:	Supressão da emissão de $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na presença de 20% de acetonitrila, em tampão BISTRIS. (A) Supressão pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na ausência de CTAB; (B) efeito da adição de CTAB ao sistema	40
Figura 14:	Razão do íon N-dodecil-4-cianopiridínio ligado (S_b) e livre (S_f) em função da concentração de detergente (CTAB) micelizado mais supressor (S_b), na ausência de acetonitrila	41
Figura 15:	Razão do íon N-dodecil-4-cianopiridínio ligado (S_b) e livre (S_f) em função da concentração de detergente (CTAB) micelizado mais supressor (S_b), na presença de 10 % de acetonitrila	41
Figura 16:	Razão do íon N-dodecil-4-cianopiridínio ligado (S_b) e livre (S_f) em função da concentração de detergente (CTAB) micelizado mais supressor (S_b), na presença de 15 % de acetonitrila	42
Figura 17:	Razão do íon N-dodecil-4-cianopiridínio ligado (S_b) e livre (S_f) em função da concentração de detergente (CTAB) micelizado mais supressor (S_b), na presença de 20 % de acetonitrila	42
Figura 18:	Espectro de absorção de de HMF em CTAB, pH=7,27: (1) 5 s; (2) 50 s; (3) 100 s; (4) 200 s; (5) 600 s	45
Figura 19:	Velocidade do desbotamento da base quinoidal em $\lambda = 478 \text{ nm}$ em: (■) 0 %, (▲) 10 %, (●) 20 % de acetonitrila	46
Figura 20:	Espectro de absorção de de HMF em SDS, pH=10: (1) sem detergente; (2) 10 s; (3) 24h	47
Figura 21:	Espectro de absorção do HMF ($\sim 1 \times 10^{-5} \text{ M}$) em SDS 100 mM, tampão fosfato 20 mM, a 20 °C, em função de pH na fase aquosa intermicelar: (1) 2,65; (2) 5,30; (3) 6,30; (4) 6,75; (5) 7,05; (6) 8,20	48
Figura 22:	Espectro de fluorescência do HMF em 100 mM SDS, tampão fosfato 20 mM, em função de pH na fase aquosa intermicelar: (1) 2,65; (2) 5,30; (3) 6,30; (4) 6,75; (5) 7,05; (6) 8,20	50

Figura 23:	Decaimento de fluorescência do íon 4-metil-7-hidroxiflavílio; com excitação em 413 nm e emissões em 480 nm e 630 nm, em tampão fosfato (20 mM), pH=0,99, a 20°C	50
Figura 24:	Decaimento da fluorescência do íon 4-metil-7-hidroxiflavílio, excitação em 413 nm e emissões em 480 nm e 630 nm, em SDS (0,1M) e tampão fosfato (20 mM), pH=0,99, a 20°C	54
Figura 25:	Espectro transiente de HMF em pH=4	58
Figura 26:	Decaimento de A em 470nm e recuperação de AH ⁺ em 405nm..	58
Figura 27:	Variação do k _{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de [H ⁺], em tampão fosfato 10 mM e 10 % de acetonitrila, a 20°C.....	59
Figura 28:	Variação do k _{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de [H ⁺], em tampão fosfato 10 mM e 20 % de acetonitrila.....	60
Figura 29:	Variação do k _{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de [H ⁺], em tampão fosfato 10 mM e 30 % de acetonitrila.....	60
Figura 30:	Variação do k _{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de [H ⁺], em SDS (0,1M), tampão fosfato (10 mM) e 5 % de acetonitrila ..	62
Figura 31:	Variação do k _{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de [H ⁺], em SDS (0,1M), tampão fosfato (10 mM) e 10 % de acetonitrila.	62
Figura 32:	Variação do k _{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de [H ⁺], em SDS (0,1M), tampão fosfato (10 mM) e 20 % de acetonitrila.	63
Figura 33:	Espectros transientes de NpOH borbulhados com: (a) N _{2(g)} e (b) N ₂ O _(g) , excitação em 266 nm	65
Figura 34:	Supressão de estado triplete de EtNp por íon nitrito em meio aquoso em acetonitrila: (♦)0%, (■)5%, (▲)10%, (●)20%, (✱)30%	66
Figura 35:	Supressão de estado triplete de NpOH por íon nitrito em meio aquoso em acetonitrila: (♦)0%, (■)5%, (▲)10%, (●)20%, (✱)30%	66
Figura 36:	Supressão de estado triplete de EtNp por íon nitrito em NaCh (10 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 5 %, (▲) 10 %, (●) 20 %, (✱) 30 %.....	68
Figura 37:	Supressão de estado triplete de EtNp por íon nitrito em NaCh (20 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 5 %, (▲) 10 %, (●) 20 %, (✱) 30 %.....	69

Figura 38:	Supressão de estado triplete de EtNp por íon nitrito em NaCh (40 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 5 %, (▲) 10 %, (●) 20 %, (*) 30 %.....	69
Figura 39:	Supressão de estado triplete de NpOH por íon nitrito em NaCh (10 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 10 %, (▲) 20 %, (●) 30 %..	70
Figura 40:	Supressão de estado triplete de NpOH por íon nitrito em NaCh (20 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 5 %, (▲) 10 %, (●) 20 %, (*) 30 %.....	70
Figura 41:	Supressão de estado triplete de NpOH por íon nitrito em NaCh (40 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 5 %, (▲) 10 %, (●) 20 %, (*) 30 %.....	71
Figura 42:	Supressão de fluorescência de EtNp pelo íon iodeto, em meio aquoso: 0, 5 M, 15 M, 25 M, 34 M, 44 M e 54 M de I ⁻	75
Figura 43:	Supressão de fluorescência de EtNp pelo íon iodeto em meio aquoso em acetonitrila: (■) 0 %, (●) 5 %, (▲) 10 %, (▼) 20 %, (♦) 30 %.....	75
Figura 44:	Supressão de fluorescência de EtNp pelo íon iodeto em meio aquoso em 40 mM NaCh em acetonitrila: (■) 0 %, (●) 5 %, (▲) 10 %, (▼) 20 %, (♦) 30 %.....	76
Figura 45:	Supressão de fluorescência de NpOH pelo íon iodeto em meio aquoso em acetonitrila: (■) 0 %, (●) 5 %, (▲) 10 %, (▼) 20 %, (♦) 30 %.....	76
Figura 46:	Supressão de fluorescência de NpOH pelo íon iodeto em 40 mM NaCh em acetonitrila: (■) 0 %, (●) 5 %, (▲) 10 %, (▼) 20 %, (♦) 30 %.....	77

Índice de Tabelas

Tabela 1:	Valores de cmc de SDS na presença de acetonitrila e tampão ...	23
Tabela 2:	Tempo de vida de decaimento do estado triplete de n-butil-3-nitrofenil éter na presença de SDS (40 mM), variando a concentração do íon supressor Br ⁻ (0-50 mM) e mantendo a força iônica constante com NaCl (0-50mM); tempo médio de residência na micela, τ_{res} ; a 20°C	27
Tabela 3:	Valores de k_{2w} , k_{2m} e K_s em função da concentração de acetonitrila.....	37
Tabela 4:	Valores das constantes de incorporação do íon N-dodecil-4-cianopiridínio em micelas de CTAB, do grau de dissociação dos contra-íons do agregado, da concentração micelar crítica, da concentração de monômero livre e da constante de troca em função da concentração de acetonitrila	43
Tabela 5:	Tempos de vida e coeficientes pré-exponenciais calculados a partir do decaimento de fluorescência em 480 nm em tampão fosfato (20 mM).....	51
Tabela 6:	Valores das constantes de velocidades de dissociação (k_d), de protonação (k_p) e de decaimento da forma básica (k_A)	52
Tabela 7:	Tempos de vida e coeficientes pré-exponenciais calculados a partir do decaimento de fluorescência em 480 nm em SDS (0,10 M) e tampão fosfato (20 mM)	53
Tabela 8:	Valores das constantes de velocidade de desprotonação (k_d) e de recombinação (k_r) do par geminado, de dissociação do par compartimentalizado (k_{diss}) e o tempo de fluorescência recíproca da forma básica (k_A).....	56
Tabela 9:	Constante de dissociação (k_d), constante de protonação (k_p), e $pK_{aparente}$ do 4-metil-7-hidroxiflavílio em água e na presença de 10 %, 20 % e 30 % de acetonitrila	61
Tabela 10:	Constantes de velocidades de dissociação (k_d), de protonação (k_p) e $pK_{aparente}$ do 4-metil-7-hidroxiflavílio em água/SDS na ausência e presença de acetonitrila	63

Tabela 11:	Constante de velocidade de supressão do estado triplete de EtNp e NpOH, em 0,1 M de NaCl e íon nitrito como supressor ...	67
Tabela 12:	Constante de velocidade de dissociação (k_{dis}), associação (k_{as}/N) e supressão (k_q^{BS}), e eficiência de proteção ($PE=k_q/k_q^{BS}$) para EtNp em agregados de NaCH	72
Tabela 13:	Constante de velocidade de dissociação (k_{dis}), associação (k_{as}/N) e supressão (k_q^{BS}), e eficiência de proteção ($PE=k_q/k_q^{BS}$) para NpOH em agregados de NaCH.....	73
Tabela 14:	Constantes de Stern-Volmer para supressão da fluorescência de EtNp e NpOH pelo íon iodeto em água ($K_{SV}^{água}$) e na presença de 40 mM de NaCH (K_{SV}^{BS})	77

Símbolos e Abreviaturas

α	Grau de dissociação
τ	Tempo de vida
a	Coeficiente pré-exponencial
A	Base quinoidal
AH^+	Cátion flavílio
BNE	n-butil-nitrofenil éter
C_D	Concentração de detergente micelizado
cmc	Concentração micelar crítica
C_T	Concentração total de detergente
CTAB	Brometo de hexadeciltrimetilamônio
DCP	N-dodecil-4-cianopiridínio
EtNp	1-etilnaftaleno
HMF	4-metil-7-hidroxiflavílio
k_A	Constante de velocidade de decaimento da forma básica
k_{AH^+}	Constante de velocidade de decaimento da forma ácida
k_{as}	Constante de velocidade de associação
k_d	Constante de velocidade de desprotonação
k_{diss}	Constante de velocidade de dissociação
k_{obs}	Constante de velocidade observada
k_p	Constante de velocidade de protonação
k_q	Constante de velocidade de supressão
k_r	Constante de velocidade de reprotonação
K_{SV}	Constante de Stern-Volmer
K_s	Constante de seletividade
K_T	Constante de troca
k_{2m}	Constante de velocidade bimolecular em solução micelar
k_{2w}	Constante de velocidade bimolecular em solução aquosa
m_f	Monômero livre
N	Número de agregação
NaCh	Colato de sódio
NpOH	1-naftil-1-etanol

PE	Coeficiente de proteção
SDS	Dodecil sulfato de sódio
S _b	Soluto ligado
S _f	Soluto livre

RESUMO

Neste trabalho, estudou-se o efeito da adição de acetonitrila na reatividade química em soluções micelares do detergente aniônico dodecil sulfato de sódio (SDS) e do detergente catiônico brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB) e em agregados supramoleculares do sal biliar, colato de sódio (NaCh).

Os sistemas utilizados para estudar a reatividade química na presença de acetonitrila foram: (a) fotorreatividade do estado excitado triplete de *n*-butil-3-nitrofenil éter (em SDS); (b) reação de hidrólise ácida do 2-(*p*-octoxifenil)-1,3-dioxolano no estado fundamental (em SDS); (c) constante de incorporação do co-íon *N*-dodecil-4-cianopiridínio (em CTAB); (d) a protonação/ desprotonação do ácido fraco 4-metil-7-hidroxi-flavílio, tanto no estado excitado como no estado fundamental (em SDS); e (e) a supressão dos estados excitados de 1-etilnaftaleno e 1-(1-naftil)-etanol (em NaCh).

As modificações na estruturação do agregado micelar e nas propriedades do meio aquoso, provocadas pela presença de acetonitrila, fazem com que as moléculas orgânicas e os íons saiam mais rapidamente do agregado para a fase aquosa. As mudanças que ocorrem com a micela e com a partição de solutos diminuem o efeito catalítico da micela sobre a reatividade química.

Os agregados de sal biliar possuem dois sítios distintos de ligação de solutos e a concentração mínima de sal biliar necessária para formar esses dois sítios depende da concentração de acetonitrila. Em concentrações de acetonitrila acima de 10 %, ocorre somente a formação de agregados com sítio primário, enquanto que acima de 30 % os agregados se desfazem por completo. Em baixas concentrações de acetonitrila (até aproximadamente 10 %), a dinâmica de dissociação de solutos do sítio secundário do agregado de sal biliar não modifica muito, enquanto que a velocidade de saída de solutos do sítio primário aumenta com a presença da acetonitrila. Desse modo, a acetonitrila pode ser empregada para acelerar a saída de uma espécie, tal como um intermediário reativo, do agregado primário, facilitando a aplicação de agregados de sal biliar como micro-reatores com dois sítios distintos de reação.

ABSTRACT

This work reports a study of the effect of the addition of acetonitrile on chemical reactivity in micellar solutions of the anionic detergent sodium dodecyl sulfate (SDS) and the cationic detergent hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) and in supramolecular aggregates of the bile salt sodium cholate (NaCh).

The systems employed in the study of chemical reactivity in the presence of acetonitrile were: (a) photoreactivity of the excited triplet state of N-butyl-3-nitrophenyl ether in SDS; (b) the acid catalyzed of 2-(p-octoxy-nitrophenyl)-1,3-dioxolane in the ground state in SDS; (c) incorporation of the coion N-dodecyl-4-cyanopyridine in CTAB; (d) protonation/deprotonation of the weak acid of the 4-methyl-7-hydroxyflavilium ion in the ground and excited state in SDS; and (e) quenching of the excited state of 1-ethylnaphthalene and 1-(1-naphthyl)-ethanol in NaCh.

The modifications of the structure of the micellar aggregate and of the properties of the bulk aqueous phase induced by acetonitrile result in a faster rate of exit of organic molecules and ions from the aggregate into the aqueous phase. The changes that occur in the micelle and in the partitioning of solutes tend to diminish the catalytic effect of micelles on chemical reactivity.

Bile salt aggregates possess two distinct sites for solubilization of solutes and the minimum concentration of bile salt necessary for the formation of these two sites depends on the concentration of acetonitrile. At acetonitrile concentrations above 10 %, only aggregates with the primary solubilization site are formed and, above 30 %, the aggregates are completely disrupted. At low acetonitrile concentrations (below 10 %), the dynamics of dissociation of solutes from the secondary site of bile salt aggregates changes very little, while the rate of exit of solutes from the primary site increases in the presence of acetonitrile. Thus, acetonitrile can be employed to accelerate the rate of exit of species such as reactive intermediates, facilitating the application of bile salt aggregates as two-reaction-site microreactors.

1- INTRODUÇÃO

1.1 - Agregados

1.1.1 - Tensoativos - Aspectos Históricos

Os tensoativos são moléculas sintéticas que começaram a ser produzidos comercialmente na década de 30. Antes do tensoativo, o sabão era o mais utilizado para a função de limpeza. O processo de limpeza já data da pré-história quando as pessoas percebiam a utilidade da água pura para a higiene pessoal e, também, para lavarem as roupas. Perceberam que métodos mecânicos ajudavam na lavagem, como esfregar com as mãos e bater as roupas. Na época dos Babilônios, 2800 A.C., já se sabia que eles queimavam gordura com cinzas (matéria-prima dos sabões), porém utilizavam esse material para modelarem os cabelos. Os egípcios empregavam aditivos, como a soda, que foi posteriormente suplementada com silicato de sódio para tornar a água mais branda e utilizar no tratamento de doenças bem como na limpeza. O hábito de higiene pessoal era considerado um comportamento saudável e tinha conotação de purificação espiritual para a época. O nome "sabão", de acordo com uma lenda romana, originou do Monte Sapo, onde animais eram sacrificados. A chuva levava a mistura da gordura do animal queimado e cinzas da madeira para o leito ao longo do Rio Tibre. Mulheres que lavavam roupas com a argila das margens desse rio observaram que as roupas necessitavam de um esforço menor para ficarem limpas.

No início do século XX, o sabão, o mais antigo dos detergentes, foi sendo substituído por tensoativos sintéticos, com propriedades de limpeza mais eficazes. Mas foi somente com a Segunda Guerra Mundial, quando o sabão começou a ficar escasso, que aumentou a produção comercial de tensoativos industriais, estimulando as pesquisas no desenvolvimento de melhores tensoativos (SDA, 1994; Jakobi & Löhr, 1987).

1.1.2 - Micelas

Os tensoativos, ou detergentes, são moléculas anfifílicas que possuem na sua estrutura uma cabeça polar ligada a uma cadeia hidrocarbônica. A cadeia hidrocarbônica (hidrofóbica) do tensoativo pode ter diversos comprimentos, insaturações ou, até mesmo, ter mais de uma cadeia. Dependendo do grupo polar, os surfactantes são classificados como catiônicos (p. ex. amônio ou piridínio), aniônicos (p. ex., sulfato ou carboxilados), não-iônicos (p. ex. compostos hidroxilados) ou zwitteriônicos (p. ex., óxido de amina ou sulfobetaina). Os tensoativos aniônicos, não-iônicos e zwitteriônicos são de grande interesse econômico pelo grande volume de aplicação como detergentes, emulsificantes, dispersantes e umectantes. Os catiônicos são empregados, por exemplo, na composição de antisépticos, desinfetante e amaciantes (Attwood & Florence, 1983).

Muitos surfactantes industriais apresentam problemas em relação às impurezas e podem até se decompor lentamente em solução. Esse é o caso de, por exemplo, sulfatos monoalquilados (Bunton & Savelli, 1986).

Em baixas concentrações, aproximadamente 10^{-5} M, os tensoativos comportam-se como eletrólitos fortes solução aquosa (no caso de tensoativos iônicos) ou como moléculas orgânicas (para tensoativos não-iônicos). Em concentrações maiores, devido a mudança de energia livre, os tensoativos começam a associar-se para formar micelas, num processo denominado de micelização. A concentração mínima para formar uma micela é denominada concentração micelar crítica, ou cmc, que pode ser medida por várias técnicas tais como tensão superficial, índice de refração, condutividade etc. (Etworthy *et al.*, 1968).

Vários modelos foram propostos para explicar a estrutura micelar e suas propriedades (Menger, 1979; Menger *et al.*, 1980 e 1986; Hartley, 1939; Dill & Flory, 1981). O modelo mais simples de micela é o Modelo de Hartley (Hartley, 1939), que propõe a existência de um miolo de hidrocarboneto rodeado pelos grupos polares. O empacotamento das moléculas de tensoativo também é motivo

de discussão. O modelo de Dill-Flory (Dill & Flory, 1981) propõe a exclusão da penetração de água no interior da micela. Entretanto, como a estrutura da micela é dinâmica, de modo que expõe alguns dos segmentos da cadeia hidrofóbica à água durante algum tempo (Gruen, 1985; Fromherz, 1981).

Além de formar micelas em solução aquosa, dependendo da sua estrutura e concentração, o detergente pode agregar-se para formar vesículas ou cristais líquidos liotrópicos. Alguns detergentes também se agregam em solventes orgânicos apropriados, formando micelas inversas ou, na presença de água, microemulsões água/óleo (Attwood & Florence, 1983; Bunton & Savelli, 1986).

A micela tem capacidade de solubilizar uma ampla variedade de moléculas com polaridade e grau de hidrofobicidade distintos. Essa solubilização em meio micelar depende da carga, tanto do soluto como da superfície micelar, e da contribuição hidrofóbica de cada um. Os íons inorgânicos com carga oposta à da micela, chamados contra-íons, são fortemente atraídos pelo potencial elétrico da superfície micelar, competindo com os contra-íons da própria micela e resultando numa seletividade na adsorção destes. Moléculas com a mesma carga do tensoativo, chamados co-íons, sofrem repulsão eletrostática pela micela iônica. Porém, co-íons orgânicos hidrofóbicos podem ser solubilizados pela micela, competindo com a própria molécula anfifílica do detergente e proporcionando uma seletividade entre as duas moléculas (Alonso & Quina, 1995a e 1995b; Ranganathan *et al.*, 1999a).

Com essas propriedades interessantes de solubilização, as micelas são capazes de afetar velocidades de reações, deslocar equilíbrios, controlar regioseletividades e modificar o comportamento de espécies geradas fotoquimicamente (Fendler, 1982; Chaimovich *et al.*, 1982; Kalyanasundaram, 1987; Tachiya, 1987; Bunton *et al.*, 1991; Pramauro & Pelizzetti, 1996).

Discussões sobre reatividade em sistemas micelares são baseadas no chamado modelo de pseudofase. Este modelo supõe que o mecanismo da reação é o mesmo nas fases aquosa e micelar e que estas podem ser consideradas como meios de reação distintos. As reações ocorrem tipicamente na superfície da micela, na camada de Stern (para micelas iônicas). A camada de Stern é

altamente aquosa e contém altas concentrações de grupos iônicos do detergente e contra-íons. A fração de grupos iônicos da cabeça polar neutralizadas pelos contra-íons é denominada $1-\alpha$, onde α é o grau de dissociação da micela. Para a maioria das micelas iônicas, α está na faixa de 0,1-0,3 e é insensível à concentração total de contra-íons. Em outras palavras, a superfície da micela iônica é tratada como se esta fosse saturada de contra-íons. O restante dos contra-íons fica distribuído na camada difusa de Gouy-Chapman e a sua distribuição é governada por interação eletrostática não específica com a micela (Bunton & Savelli, 1986; Attwood & Florence, 1983).

O efeito de micelas e de outros sistemas organizados sobre a velocidade de reações químicas (ou sobre a posição de equilíbrios) depende das constantes intrínsecas de velocidade (ou de equilíbrio) nas fases aquosa e micelar e das concentrações locais dos reagentes em cada fase (Bunton *et al.*, 1991; Pramauro & Pelizzetti, 1996). Essas concentrações locais podem ser estimadas a partir dos coeficientes de partição para espécies neutras e de troca iônica para contra-íons, permitindo a estimativa dos valores das constantes intrínsecas na fase micelar (Quina & Chaimovich, 1979; Bunton *et al.*, 1991).

1.1.3 - Sais biliares

Sais biliares, tal como o colato de sódio (NaCh), são moléculas anfifílicas que se agregam em solução. Os agregados de sal biliar são sistemas supramoleculares que possuem dois sítios distintos para a ligação de moléculas orgânicas. O lado côncavo desta molécula é hidrofílico enquanto que a parte convexa é hidrofóbica. Um número pequeno de monômeros (2-10) leva à formação do agregado primário. Os agregados primários associam-se para formar uma estrutura maior chamado de agregado secundário (Small *et al.*, 1969), Esquema 1.

Esquema 1

Agregado primário

Sítio de ligação secundária

Esses dois sítios possuem diferentes propriedades. O sítio primário possui um ambiente altamente hidrofóbico e a dinâmica de ligação de solutos é lenta. O tamanho e o formato da cavidade são fatores importantes para determinar a eficiência de ligação de solutos a este sítio. A dinâmica de ligação de solutos ao sítio de agregação secundário do sal biliar é mais rápida, comparada ao sítio primário, e é determinada principalmente pela hidrofobicidade da molécula que se acomodará nesta cavidade. As propriedades deste sítio secundário são similares às de micelas comuns, nas quais os fatores determinantes da incorporação de moléculas e do tempo de residência na micela são a hidrofobicidade (Almgren *et al.*, 1979; Scaiano & Selwyn, 1981) e a capacidade aceptora de ponte de hidrogênio da molécula (Rodrigues *et al.*, 1999).

Agregados de sais biliares são empregados em uma gama de aplicações, tanto analítica como biológica e clínica. Dentre estas estão a solubilização,

isolamento, reconstituição e/ou extração de enzimas de membranas. Dependendo da concentração de monômeros, estes modificam a velocidade de processos fotoquímicos e fotofísicos, a posição de equilíbrio, o microambiente (tal como polaridade, viscosidade etc.) e as propriedades do meio (tal como tensão superficial, condutividade etc.) (Hinze, 2000).

Em todas essas aplicações de sais biliares há a presença dos dois sítios de ligação com ambientes de propriedades diferentes. Em princípio, uma reação pode ocorrer inicialmente no sítio primário, mais hidrofóbico, seguido por uma reação no sítio secundário, mais flexível e mais hidrofílico. A eficiência e a dinâmica de ligação de moléculas nos agregados de sal biliar têm sido estudada somente em soluções aquosas. As mudanças que ocorrem no agregado de sal biliar na presença de misturas de água e solvente orgânico ainda não é conhecida.

1.2. Acetonitrila-Água e Micelização

Em muitas aplicações práticas, as propriedades de soluções aquosas de detergentes são modificadas pela adição de outros componentes à solução, tais como sais inorgânicos, co-surfactantes e solventes orgânicos (Ranganathan *et al.*, 1999b; Nassar *et al.*, 1997; Zana, 1995; López-Grío *et al.*, 1998; Bakshi, 1996).

Os solventes orgânicos em meio aquoso são amplamente utilizados em biotecnologia, cromatografia líquida, eletroforese capilar e eletroquímica (Barbosa & Sanz-Nebot, 1995; Espinosa *et al.*, 2002). Os álcoois são os componentes orgânicos mais comuns, em parte pelo fato que álcoois desempenham o papel de co-surfactante. Encontra-se na literatura um número muito grande de estudos do efeito da adição de álcoois nas propriedades de sistemas micelares aquosos de detergente (Zana, 1995; Verrall, 1995; Bakshi, 1996). A influência de outros solventes, como a acetonitrila, no processo de micelização ainda não foi tão exhaustivamente estudada como no caso de álcoois e, principalmente, os efeitos que a acetonitrila provoca nas reações químicas e fotoquímicas não foram ainda identificados e quantificados.

A acetonitrila é um solvente frequentemente utilizado devido à sua

capacidade de solubilizar materiais tanto inorgânicos como orgânicos. Além disso, possui alta constante dielétrica, é um solvente aprótico e as moléculas não interagem fortemente entre si. Na literatura há um número relativamente grande de estudos de misturas acetonitrila-água feitos utilizando várias técnicas experimentais (Marcus & Migron, 1991; Wakisaka *et al.*, 1995; Zhang *et al.*, 1993; Barbosa *et al.*, 1997; Bertie *et al.*, 1997; Novaki & El Seoud, 1997; El Seoud *et al.*, 1997; Jellema *et al.*, 1997; Takamuku *et al.*, 1998; Mountain, 1999). Quase todos estes estudos concluem que existem três tipos principais de estruturação nas misturas acetonitrila-água que dependem da concentração de acetonitrila. Em soluções aquosas, em baixas concentrações de acetonitrila de 15 a 20 %, as moléculas de acetonitrila incorpora-se preferencialmente nos interstícios existentes na estrutura da água. Aos poucos a formação de pontes de hidrogênio entre a água e a acetonitrila produz uma quebra parcial na estruturação tridimensional das moléculas da água. A faixa de concentração de aproximadamente 20 % - 85 % de acetonitrila é conhecida como a faixa de micro-heterogeneidade. Nesta faixa, a solução água-acetonitrila contém dois tipos de microdomínios distintos, um mais rico em água e o outro mais rico em acetonitrila. O aumento da concentração de acetonitrila aumenta a proporção relativa de microdomínios ricos em acetonitrila, porém sem provocar grandes mudanças na composição local dos dois microdomínios. Finalmente, em concentrações muito altas de acetonitrila (> 85 %), a micro-heterogeneidade desaparece e a água se dispersa na acetonitrila, complexada por meio de pontes de hidrogênio.

Em meio micelar, os estudos existentes na literatura sobre o efeito da acetonitrila na estrutura da micela referem-se a influência da acetonitrila na cmc de alguns tensoativos (Ionescu & Fávere, 1982; Jaquier & Dèsbene, 1996; Khan & Arfin, 1997; Gosh & Roy, 1998) e na adsorção de detergente na fase estacionária em cromatografia líquida micelar (MLC) (Premauro & Pelizzetti, 1996). Em nosso grupo, tem-se estudado nos últimos anos a influência da acetonitrila nas propriedades de soluções aquosas do detergente aniônico dodecilssulfato de sódio (SDS) e do detergente catiônico cloreto de hexadeciltrimetilamônio (CTACl). Verificou-se que a adição da acetonitrila provoca o aumento na cmc do

detergente, diminuição do número de agregação das micelas, aumento do grau de dissociação (α) das micelas e aumento da fluidez interna das micelas. Verificou-se também que, em altas concentrações de acetonitrila, as micelas desaparecem. A presença da acetonitrila também modifica a dinâmica de incorporação de íons e solutos. As moléculas incorporadas na micela começam a sair mais rapidamente das mesmas, devido às mudanças das propriedades da micela e do meio aquoso. Qualitativamente, os efeitos provocados pela acetonitrila correlacionam com a variação das propriedades de misturas água-acetonitrila em função da concentração de acetonitrila. Assim, para quase todas as propriedades estudadas (cmc, α , dinâmica de íons etc.) observa-se uma mudança progressiva destas até 15 % - 20 % de acetonitrila, seguido por claros indícios de uma mudança de comportamento, coincidente com o aparecimento da micro-heterogeneidade nas misturas acetonitrila-água (Yihwa, 2000).

1.3 – Sondas Fotofísicas em Sistema Organizados

Técnicas fotofísicas têm sido extensivamente utilizadas para o estudo de soluções micelares e de outros agregados de tensoativos como micelas mistas, agregados polímero-tensoativo e agregados de sais biliares (Nassar *et al.*, 1997; Kleiman & Bohne, 1997). Sondas fotofísicas permitem estudar processos dinâmicos tanto na fase aquosa como na micelar. As informações fornecidas pela sonda dependem do tempo de vida do estado excitado desta em relação à velocidade do processo sob estudo. Quando o tempo de vida da sonda é muito mais longo do que o processo dinâmico, esta pode apresentar mobilidade e explorar vários ambientes, fornecendo uma média das propriedades de todos os ambientes visitados. Porém, se o tempo de vida da sonda é muito curto, esta sentirá apenas as propriedades do local onde foi excitada. No caso do tempo de vida da sonda excitada ser de mesma ordem de magnitude do processo de associação/dissociação no agregado, informações sobre as constante de velocidade de entrada e saída da sonda do agregado podem ser obtidas. Por essa

razão, as sondas fotofísicas são úteis para estudar a dinâmica de processos na faixa de tempo de pico a microssegundos (Kalyanasundaram, 1987; Ramamurthy, 1991).

Os compostos fluorescentes têm tempos de vida relativamente curtos (tipicamente < 100 ns). Portanto, a fluorescência é uma técnica excelente para estudar as propriedades do microambiente local onde a sonda se encontra (Kalyanasundaram, 1987; Ramamurthy, 1991). A reação do estado singlete excitado com moléculas supressoras constitui um excelente método para obter informação sobre a concentração local de moléculas em agregados, a velocidade de encontro entre moléculas em agregados e a partição de moléculas entre o agregado e a fase contínua. Quando a sonda reside principalmente no agregado e a molécula supressora na fase aquosa, a supressão é relacionada com a acessibilidade da molécula supressora ao sítio de incorporação da sonda na estrutura do agregado.

Estados excitados tripletes de moléculas orgânicas geralmente têm tempos de vida longos quando comparados aos tempos de vida de estados excitados singletes, pois uma inversão de spin é necessária para o triplete decair para o seu estado fundamental. Por esta razão, o estado triplete tem sido empregado para estudar a dinâmica de entrada e saída ou a mobilidade de sondas. A mobilidade da sonda pode ser estudada diretamente desde que alguma propriedade do estado triplete (como, p. ex. o seu espectro de absorção) depende do ambiente em que está localizado. Alternativamente, uma metodologia de supressão pode ser empregada para discriminar entre sonda na fase aquosa e no agregado quando a eficiência de supressão do estado triplete é diferente nestas duas fases.

1.3.1 - Número de agregação

A formação da micela em água requer um valor mínimo no comprimento da cadeia hidrofóbica, normalmente cerca de 8 a 10 grupos metilênicos. O aumento do comprimento da cadeia hidrocarbônica do detergente faz com que o número de agregação aumente, sendo este geralmente entre 50 a 100. A presença de

aditivos também muda o tamanho do agregado: eletrólitos e co-surfactantes provoca o aumento do número de agregação (Alonso & Quina, 1995a; Ranganathan *et al.*, 1999b), enquanto que os co-solventes orgânicos diminuem este valor (Zana, 1995; Yihwa, 2000). Micelas normais em meio aquoso são geralmente formadas por cadeias simples de surfactantes; cadeias ramificadas tendem a inibir a micelização (Bunton & Savelli, 1986).

Métodos de supressão de fluorescência são amplamente utilizados para a determinação do número de agregação (N) de micelas. O número de agregação pode ser obtida por medidas de intensidade relativa de emissão com sondas e supressores imobilizadas, utilizando o modelo de Turro-Yekta (Turro & Yekta, 1978). Outra técnica amplamente utilizada para determinar o número de agregação por estudos fotofísicos é a fluorescência resolvida no tempo (Kalyanasundaram, 1987; Ranganathan *et al.*, 1999b). Nessa técnica, utiliza-se uma sonda imóvel, ou seja, uma sonda cujo tempo médio de permanência na micela é maior do que o tempo de vida de sua fluorescência. O supressor também deve ser imóvel e permanecer no agregado nesta mesma escala de tempo. Como mostrado por Infelta e colaboradores (1974) e Tachiya (1975), na condição de baixa concentração de supressor, a seguinte equação descreve o decaimento da fluorescência da sonda:

$$I(t) = I(0) \exp\{-At + B [\exp(-Ct)-1]\} \quad (1)$$

Nesta equação, $I(0)$ é a intensidade inicial de fluorescência; A, B e C são funções dos valores das constantes de velocidades de supressão intramicelar (k_q), de saída (k_-) e entrada (k_+) e do número médio de supressores ligados por micela $\langle n \rangle$ (Tachiya, 1987; Gehlen & de Schryver, 1993; Kalyanasundaram, 1987). Uma vez que sonda e soluto são imóveis, a constante de saída é nula e o número de agregação é obtido diretamente do número médio de supressores ligados por micela, $\langle n \rangle$. Através dessa técnica, o número de agregação pode ser obtido em qualquer concentração de tensoativo, tanto na ausência como na presença de eletrólito.

1.3.2 - Dinâmica de interação de solutos e seletividade em micelas

A técnica da fluorescência resolvida no tempo também pode ser explorada para determinar a dinâmica de interação de co-íons e contra-íons supressores com micelas iônicas (Ranganathan *et al.*, 1999a; Alonso & Quina, 1995a e 1995b; Okano *et al.*, 1996). A técnica é a mesma utilizada para determinar o número de agregação, porém utiliza-se um supressor que particiona entre as fases aquosa e micelar. Se a sonda migrar para fora da micela, a equação de Infelta e Tachiya ainda se aplica, mas os coeficientes da equação passam a ter um significado distinto (Almgren *et al.*, 1986). A migração da sonda pode ser provocada, por exemplo, pela adição de um co-solvente como acetonitrila (Yihwa, 2000) ou álcoois de cadeia curta (Malliaris *et al.*, 1987).

Muitos efeitos de micelas iônicas na velocidade de reações químicas podem ser entendidos em termos da concentração local de espécies reativas na superfície micelar. A concentração na superfície micelar é determinada em parte pelo equilíbrio de troca iônica competitiva entre as várias espécies de contra-íons presentes na solução. Supressão de fluorescência também pode ser utilizada para determinar a constante de seletividade, tanto por fluorescência de estado estacionário (Albuin *et al.*, 1991, 1992, 1996) como pela técnica de fluorescência resolvida no tempo. Esta última tem a vantagem de determinar o coeficiente de seletividade para a troca de contra-íons e co-íons na micela para cada conjunto de condições experimentais (Ranganathan *et al.*, 1999a; Nassar *et al.*, 1997; Alonso & Quina, 1995a e 1995b).

1.3.3 - Tempos de vida de estados tripletes

Os tempos de vida de estados tripletes são muito maiores que os tempos de vida do estado singlete, de modo que uma molécula no estado triplete pode migrar entre ambientes diferentes durante o seu tempo de vida. Por esta razão, a mobilidade do estado triplete pode ser obtida diretamente, quando as velocidades de entrada e de saída são da mesma ordem de magnitude (ou mais rápidas) que o

tempo de vida do estado triplete em solução aquosa ou em agregados. Na temperatura ambiente, o valor do rendimento quântico de fosforescência é normalmente baixo demais para medir o decaimento do estado triplete através da emissão de luz. Assim, o decaimento de estados tripletes é geralmente acompanhado por absorção triplete-triplete, através da técnica de fotólise por pulso de laser. A técnica de fotólise por pulso de laser é bastante utilizada, pois detecta também espécies tais como radicais. As espécies excitadas transientes são monitoradas por absorção de luz em função do tempo. A migração da sonda, depois da excitação, pode ser determinada diretamente se o espectro do estado excitado varia com as propriedades do meio. Este é o caso da xantona, que tem sido empregada para estudar a dinâmica de migração do seu estado excitado triplete em agregados de surfactantes, polieletrólitos e ciclodextrinas (Bohne, 2000).

Alternativamente, pode-se utilizar um supressor para diferenciar os estados excitados da sonda livre e incorporada no agregado de interesse. A metodologia de supressão de estados excitados tripletes foi inicialmente desenvolvida para estudar mobilidade em micelas. Posteriormente, foi aplicada a outros sistemas supramoleculares, como ciclodextrinas e agregados de sais biliares. O método é aplicável se as eficiências de supressão na fase aquosa e no sistema supramolecular são diferentes. Geralmente utiliza-se um supressor que reside na fase aquosa ($k_q > k_q^{BS}$), Esquema 2.

Esquema 2

Esse método tem sido utilizado com agregados de detergente e soluções de ciclodextrina e sais biliares (Kleimann & Bohne, 1997; Almgren *et al.*, 1979; Barros *et al.*, 1998). Sob condições nas quais o decaimento do estado triplete segue uma função monoexponencial, com uma constante de velocidade observada dada por $k_{obs} = 1/\tau_{tripleto}$, pode-se demonstrar que:

$$k_{obs} = k_o^{BS} + k_{dis} + k_q^{BS} [Q] - \frac{k_{dis} k_{as} \frac{[tensoativo]}{N}}{k_{as} \frac{[tensoativo]}{N} + k_o + k_q [Q]} \quad (2)$$

no qual k_o e k_o^{BS} são as constantes de velocidade de decaimento do estado triplete da sonda em água e no agregado na ausência de supressor; k_q e k_q^{BS} são as constantes de velocidade de supressão do estado triplete em água e ligado ao agregado. O parâmetro $[tensoativo]/N$ corresponde à concentração de agregado, sendo $[tensoativo]$ a concentração analítica do monômero do tensoativo de interesse (p. ex., detergente ou sal biliar) e N o número de agregação.

1.3.4 – Constantes de velocidade de dissociação e protonação de fotoácidos

A excitação eletrônica de uma molécula muda a sua distribuição eletrônica relativa ao estado fundamental. Em moléculas capazes de participar em equilíbrios prototrópicos, esta mudança da densidade eletrônica frequentemente manifesta-se como uma diferença entre as constantes de acidez da molécula nos estados fundamental (pK_a) e excitado (pK_a^*). De modo geral, os compostos hidroxiaromáticos (fenóis, naftóis, etc.) e os íons arilamônios (1-pirenoamônio, 2-naftilamônio, etc.) são ácidos muito mais fortes no primeiro estado singlete excitado, ou seja, $pK_a > pK_a^*$. Por exemplo, para 2-naftol, os valores de pK_a e de pK_a^* são 9,5 e 3,1, respectivamente, enquanto que os valores correspondentes para o íon 2-naftilamônio são 4,1 e -2 (Rohatgi-Mukerjee, 1986). Por outro lado, ácidos carboxílicos e compostos heterocíclicos contendo nitrogênio são, geralmente, ácidos muito mais fracos no estado singlete excitado. Assim, os

respectivos valores de pK_a e pK_a^* do ácido 2-naftóico são 4,2 e ca. 11 e, para o íon acridínio, 5,5 e 10,6 (Rohatgi-Mukerjee, 1986). A dinâmica de protonação/desprotonação (k_{+H}^* e k_{-H}^*) do estado excitado pode ser determinada por espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo, acompanhando o decaimento da fluorescência do ácido excitado e o aparecimento da fluorescência da base excitada (Ireland & Wyatt, 1976; Pines & Fleming, 1991; Carmeli *et al.*, 1996; Lima *et al.*, 1998; Agmon & Golpich, 1999; Solntsev & Agmon, 2000).

2. OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo estudar a modificação da reatividade química e fotoquímica provocada pela adição de acetonitrila em soluções micelares aquosas de detergentes iônicos e de agregados de sais biliares.

Os sistemas escolhidos para identificar e quantificar os efeitos da presença de acetonitrila incluem:

(a) em meio aquoso contendo os detergentes iônicos SDS ou CTAB:

- a protonação/desprotonação do ácido fraco 4-metil-7-hidroxiflavílio, tanto no estado excitado como no estado fundamental;
- a reação de hidrólise ácida do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano no estado fundamental;
- a incorporação do co-íon n-dodecil-4-cianopiridínio;
- reatividade do estado triplete de éter n-butil-3-nitrofenil.

(b) em meio aquoso contendo sais biliares:

- a supressão e a dinâmica de migração de 1-etilnaftaleno e 1-(1-naftil)-etanol nos dois sítios do agregado.

A influência de acetonitrila na reação (ou equilíbrio), nas constantes de incorporação dos solutos orgânicos e na dinâmica das moléculas nos sítios de solubilização são parâmetros essenciais para a análise do efeito de acetonitrila em agregados de interesse. Nas reações fotoquímicas, é necessário também determinar a influência de acetonitrila no tempo de vida dos estados excitados, nas constantes de velocidade dos processos de reação e na dinâmica de migração dos estados excitados.

3 - PARTE EXPERIMENTAL

3.1 - Reagentes

Foram utilizados, sem purificação prévia, os reagentes: acetonitrila (Merck); acetato de etila, p.a. (Synth); ácido clorídrico 1 M, Tritisol (Merck); ácido clorídrico, 37% (Merck); ácido bórico, 99% (Aldrich); ácido succínico, 99% (Aldrich); ácido toluenossulfônico, 98,5% (Aldrich); 1,3-Bis[tris(hidroximetil)metilamino]propano, BISTRIS, 99 % (Aldrich); brometo de cetiltrimetilamônio, CTAB, (Aldrich); brometo de sódio, 99% (Aldrich); brometo de tetrabutilamônio, TBAB, 99% (Aldrich); 1-bromo-octano, 98% (Aldrich); 1-bromo-dodecano, 98% (Aldrich); carbonato de potássio, 99% (Aldrich); 4-cianopiridina, 98% (Aldrich); cloreto de sódio, p.a. (Merck); cloreto de tris (2,2'-bipiridina) rutênio (II) hexa-hidratado, $\text{Ru}(\text{bipy})^{2+}_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (G. Frederick Smith Company); colato de sódio, NaCH, 98% (Aldrich); di-hidrogenofosfato de sódio, 99% (Aldrich); dimetilformamida, DMF, 99% (Aldrich); 1,4-dioxano, p.a. (Acros); dodecil sulfato de sódio, SDS, ultrapure (J. T. Baker); etanol absoluto, p.a. (Merck); 1-etilnaftaleno, > 99 % (Aldrich); hidróxido de sódio 0,1 M, Tritisol (Merck); hidróxido de sódio, p.a. (Merck); p-hidroxibenzaldeído (Aldrich); iodeto de sódio, 99 % (Aldrich), 1-(1-naftil)etanol, > 99 % (Fluka); p-nitrobenzenotiol, 80 % (Aldrich); sulfato de sódio, p.a. (F. Maia).

Cloreto de 4-metil-7-hidroxiflavílio foi gentilmente cedido pelo Prof. Dr. A. L. Maçanita do Instituto de Tecnologia Química e Biológica (ITQB), Oeiras, Portugal. Butil-3-nitrofenil éter foi gentilmente cedido pelo Prof. A. C. Tedesco, FFCL-USP Ribeirão Preto. Benzeno (Merck) e etileno glicol (Carlos Erba) foram destilados e secos sobre peneira molecular (4-8 mesh, Aldrich). Nitrito de sódio, 97 % (Aldrich) foi recristalizado com água. Pireno (Aldrich) foi purificado pelo método de Geiger e Turro (1975). A água utilizada para preparar todas as soluções aquosas foi purificada num sistema Milli-Q da Millipore.

3.2 - Preparação de brometo de N-dodecil-4-cianopiridínio (Landquist, 1976)

A mistura de 15 g (0,144 mol) de 4-cianopiridina, 17,3 mL (0,072 mol) de 1-bromododecano e 50 mL de acetonitrila foi mantida sob refluxo por 12 h e esfriada. Evaporou-se o solvente e o produto obtido (N-dodecil-4-cianopiridínio) foi recristalizado com acetonitrila à quente. P.F.: 196-199°C (P.F._{literatura}: 201-203°C, Landquist 1976). Rendimento: 78 %.

3.3 - Preparação de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano (Fernandes *et al.*, 2002; Fife & Jao, 1965)

Em um balão, à mistura de 100 mL de DMF com 17 g (0,189 mol) de K₂CO₃ foi adicionada 10 g (0,082 mol) de p-hidroxibenzaldeído e traços do catalisador brometo de tetrabutylamônio. A mistura foi mantida sob agitação por 30 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se 14,1 mL (0,083 mol) de 1-bromo-octano e a reação foi mantida sob agitação por 24 horas a temperatura ambiente. À mistura foi adicionada 50 mL de água e o produto extraído com acetato de etila (3 x 50 mL). A fase orgânica foi seca sobre Na₂SO₄, filtrado e rotoevaporado. O produto líquido incolor (p-octoxibenzaldeído), rapidamente utilizado na próxima etapa, foi identificado por RMN de ¹H (300 MHz) em CDCl₃ δ (ppm): 0,856 (t, 3H), 1,255 (s, 10H), 1,750 (m, 2H), 3,999 (t, 2H), 6,937 (d, 2H), 7,772 (d, 2H).

O 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano foi preparado reagindo 17 mL de p-octoxibenzaldeído com 4,28 mL (0,076 mol) de etileno glicol na presença de traços do ácido p-toluenossulfônico como catalisador, em refluxo com 50 mL de benzeno. A mistura foi aquecida a 80°C e, durante a reação, a água foi continuamente removida por destilação azeotrópica com benzeno. Finalizada a reação, o produto foi esfriado, lavado com solução de NaOH 1M, seco sobre Na₂SO₄, filtrado e o benzeno removido por rotoevaporação. O produto líquido foi identificado por RMN de ¹H (300 MHz) em CDCl₃ δ (ppm): 0,865 (t, 3H), 1,265 (s, 10H), 1,767 (m, 2H), 3,680 (s, 4H), 4,013 (m, 2H), 5,720 (s, 1H), 6,957 (d, 2H), 7,793 (d, 2H).

3.4 - Aparelhos

Para as medidas do sistema em tempos de picossegundos com o íon 4-metil-7-hidroxi-flavílio foram utilizados o pHmetro Crison 2002 com eletrodo combinado Mettler Toledo; medidas de absorção foram obtidas no espectrômetro de absorção Beckman DU-70; espectros de fluorescência corrigidos foram medidos num fluorímetro SPEX Fluorolog 2; as medidas de fluorescência resolvida no tempo foram feitas com fonte de excitação laser Ti/safira (Spectra-Physics Tsunami) com pulso de saída do Tsunami (82 kHz) reduzido a 4 MHz e modulador opto-acústico Spectra-Physics Pulse Selector Model 3980, discriminador Camberra 2126, conversor tempo-amplitude TAC Camberra 2145.

Para medidas com os sais biliares foram utilizados: um espectrofotômetro Cary 1 da Varian para medidas de espectros de absorção; os espectros de fluorescência foram coletados num fluorímetro PTI QM-2 (o conjunto de slits de excitação e emissão foram otimizadas de acordo com a intensidade de emissão); fotólise por pulso de laser ("nanosecond laser flash photolysis") foi excitado em 226 nm usando um laser de Nd:YAG Spectra Physics GCR-12 (≤ 20 mJ/pulse).

Para outros sistemas foram utilizados: o espectrômetro Modelo LP900 da Edinburgh Instruments (laser de Nd-YAG, excitação 266 nm e 355 nm) foi utilizado para as medidas de fotólise por pulso de laser e os decaimentos analisados através do software do próprio equipamento; para fluorescência estática foi utilizada o fluorímetro Modelo F4500 da Hitachi; os espectros de absorção foram registrados num espectrofotômetro UV-Vis de conjunto de diodos ("diode array") Modelo 8452A da Hewlett-Packard; o pHmetro utilizado foi Accumet, Modelo 50, da Fisher Scientific; o eletrodo de calomelano Microprobe Accumet cat. 13620293; o tensiômetro tipo Du Noüy equipado com anel de platina; os espectros de RMN foram feitas no espectrômetro Bruker DPX-300 (300 MHz para próton).

3.5 - Metodologia

3.5.1 - Medidas de Concentração Micelar Crítica

Uma solução estoque de água/acetonitrila, contendo sempre 20 mM de tampão succinato pH=5,19 (cujo pH foi corrigido com soluções padronizadas de NaOH), foi preparada de acordo com as concentrações desejadas de acetonitrila. A partir dessa solução estoque, preparou-se a solução contendo detergente (SDS). Às soluções de água-acetonitrila, termostatizadas a 30°C, foram adicionadas alíquotas de solução de detergente, com acetonitrila na concentração específica e, após agitação com o auxílio de um agitador magnético, a tensão superficial foi medida. Estas alíquotas foram adicionadas e a tensão superficial medida até a obtenção de um valor constante desta. Os valores de cmc foram verificados pela quebra característica da curva de tensão superficial em função do log da concentração de detergente.

3.5.2 - Estudos de n-butil-3-nitrofenil éter

Preparou-se duas soluções estoques contendo n-butil-3-nitrofenil éter (com absorção de aproximadamente 0,5 em 355 nm) e 40 mM de SDS, sendo que uma das soluções adicionou-se 50 mM de NaCl e a outra solução 50 mM de NaBr. Em uma cela de 1 cm de caminho óptico foram adicionados soluções de SDS variando a concentração de Br⁻ e mantendo a força iônica constante com a solução de NaCl. Adicionou-se acetonitrila e o espectro de absorção foi tirada. Logo em seguida, medidas de decaimento foram coletadas (com excitação em 355 nm e absorção em 450 nm).

3.5.3 - Cinética da hidrólise ácida de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano

Solução estoque tamponado de 20 mM de succinato (pH=5,19) foi utilizada para preparar outras soluções contendo detergente. Em uma cela de quartzo

(Hellma, 1 cm de caminho óptico), contendo solução tamponada de detergente, foi adicionado com ajuda de uma seringa (Hamilton) as soluções da sonda para obter uma concentração final de 5 μ M. O momento da adição é o tempo zero e a primeira medida ocorre depois de 10 s. A constante de primeira-ordem é obtido do gráfico do logaritmo da diferença de absorção, $\log(A_{\infty}-A_t)$, em função do tempo, sendo A_{∞} a absorbância final após dez meia-vidas, quando a reação se completa. Todas as medidas foram realizadas a 30°C.

3.5.4 - Incorporação do co-íon N-dodecil-4-cianopiridínio em CTAB

A incorporação do co-íon N-dodecil-4-cianopiridínio em CTAB foi feita por fluorescência estática utilizando $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{+2}$ como sonda em solução tamponada com BisTris com pH cerca de 7. Os espectros de fluorescência foram coletados a cada alíquota de N-dodecil-4-cianopiridínio adicionada na solução tamponada contendo $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{+2}$, o gráfico de Stern-Volmer foi obtido após correção da diluição do supressor. Logo em seguida foram adicionados alíquotas sucessivas de uma solução CTAB contendo $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{+2}$ e os espectros de fluorescência foram coletados.

3.5.5 - Estudos com o íon 4-metil-7-hidroxi-flavílio (HMF)

Soluções estoques de tampão fosfato 20 mM foram preparadas no pH desejado a partir de adições de HCl padronizado Tritisol. A partir dessas soluções tamponadas foram preparadas as soluções de SDS 0,1 M. Em um balão de 10 mL, adicionou-se 5 μ L de solução metanólica concentrada de HMF e secou com jato de ar comprimido formando um filme de HMF. Neste balão adicionou-se a solução de SDS.

Para medidas no estado excitado, em tempo de picossegundos, a concentração de HMF foi de aproximadamente 10^{-5} M. Todas as medidas foram realizadas em cela de quartzo (caminho óptico de 1,0 cm), a 20°C. Os

decaimentos de fluorescência de HMF foram realizadas com excitação em 413 nm e as emissões foram coletadas em 480 nm (emissão de AH^+) e em 600 nm (emissão de A). As soluções aquosas com a solução de HMF, em solução tampão fosfato (20 mM), foram feitas em pH=1; enquanto que em solução de SDS (0,1 M) foram feitas em pH=5,70.

Os experimentos de fotólise por pulso de laser foram realizadas empregando o terceiro harmônico do laser de Nd-YAG (355 nm) monitorando o transiente de absorção em 510 nm. A concentração de HMF foi suficiente para obter uma absorção de aproximadamente 0,5 em 355 nm (comprimento de onda no qual o HMF é excitado pelo laser pulsado). O espectro de absorção foi registrado antes e depois de cada 10 tiros de laser e verificado qualquer degradação.

3.5.6 - Estudos em Sais Biliares

Foram preparadas concentrações de sal (NaCl) e de colato de sódio (NaCh) de acordo com a concentração de acetonitrila desejada. Soluções contendo derivados de naftalenos foram preparadas injetando pequenas quantidades da solução estoque metanólica (0,02 M) na solução aquosa, obtendo uma concentração final de 80 μ M para NpOH e 160 μ M para EtNp. Deixou-se a solução agitando durante a noite. As soluções foram aquecidas antes do experimento por 30 minutos a 50°C, para evitar a formação de gel. Depois de esfriar colocou-se 2 mL em uma cela de pescoço longo (celas Suprasil, 7 mm x 7 mm) e borbulhou-se a solução com N_2O por 20 minutos. A acetonitrila foi borbulhada com N_2O separadamente por 40 minutos e adicionada na solução com auxílio de uma seringa hermeticamente fechada. As soluções do supressor $NaNO_2$ (0,01, 0,3 e 0,6 M) foram preparadas diariamente, borbulhadas com N_2O e adicionadas à solução com ajuda de uma seringa hermeticamente fechada. Espectros de absorção foram medidas antes e depois de cada medida no laser

para monitorar qualquer degradação. Nas medidas de fotólise por pulso de laser, as amostras foram excitadas em 266 nm a temperatura constante ($20.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$).

Para as medidas de fluorescência estática, o procedimento foi o mesmo descrito acima, porém em equilíbrio com ar e utilizada celas de quartzo de 1cm de caminho óptico (Hellma). As concentrações de derivados de naftalenos para as medidas de fluorescência foram 10 μM para NpOH e 20 μM para EtNp. A solução estoque do supressor NaI (2 M) foi utilizado para supressão da fluorescência. Todas as amostras foram excitadas em 280 nm e o espectro de fluorescência foi obtida entre 315 nm e 475 nm. Para evitar o espalhamento Raman do solvente, todos os espectros de fluorescência foram corrigidas a partir do espectro do branco (solução contendo todos os componentes exceto os derivados de naftalenos).

Todos os experimentos de supressão de derivados de naftalenos (EtNp e NpOH) foram graficados e as curvas tratadas pelo programa Kaleidagraph, sendo o erro obtido da média de experimentos correspondentes.

4 - RESULTADOS

Neste trabalho, as soluções foram preparadas com concentrações de acetonitrila expressas em porcentagem por volume. Abaixo são dadas as conversões entre os valores da concentração de acetonitrila em porcentagem por volume e fração molar.

%	X
2,5	0,0086
4,8	0,017
7,4	0,025
9,1	0,033
10	0,037
16,7	0,065
20	0,077
23	0,094
30	0,124
40	0,179

4.1 - Concentração Micelar Crítica (cmc)

Os valores de cmc de SDS, em 20 mM de tampão succinato pH=5,19, em função de acetonitrila, foram verificados pela quebra característica da curva da tensão superficial em função do logaritmo de concentração de detergente. Os valores obtidos de cmc são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de cmc de SDS na presença de acetonitrila e tampão.

% acetonitrila	SDS / mM
0	2,0
5	2,0
10	2,4
20	4,6

Na curva de tensão superficial vs log da concentração de SDS, observou-se a presença de um mínimo na curva de tensão superficial devido à impureza na solução e, com o aumento da concentração de acetonitrila, esse mínimo diminui, Figura 1. Essa impureza, provavelmente dodecanol proveniente de um pouco da hidrólise do SDS, adsorve na superfície. A impureza é, aparentemente, mais solúvel em acetonitrila/água do que em água, diminuindo a sua concentração na superfície.

Figura 1: Tensão superficial em função da concentração de SDS, na presença de tampão succinato 20 mM em: (a) 0 % de acetonitrila; (b) 5 % de acetonitrila; (c) 10 % de acetonitrila; (d) 20 % de acetonitrila.

Em meio micelar, a presença de acetonitrila faz com que os agregados micelares se tornem menores, mais dissociados e apresentem maior fluidez interna. Essa mudança micelar reflete também no aumento da cmc do detergente como ocorre com SDS. O aumento da cmc é devido a acetonitrila solvatar os grupos metilênicos do detergente de modo que uma quantidade maior de surfactante é necessário para a formação de uma micela. O aumento cmc, provocada por essa mudança, é mais pronunciada em 20 % de acetonitrila no qual

inicia-se a micro-heterogeneidade do sistema, Figura 2. Essa solvatação pela acetonitrila é também o motivo pelo qual o mínimo, na Figura 1, diminui.

Figura 2: Concentração micelar crítica de SDS, na presença de 20 mM de tampão succinato, em função da concentração de acetonitrila.

4.2 - Estudos de n-butil-3-nitrofenil éter em micelas de SDS

A foto-hidrólise alcalina de éteres de 3-nitrofenila tem sido estudada em soluções aquosas na presença do detergente aniônico SDS (Tedesco *et al.* 2000). As micelas de SDS, sendo aniônicas, deveriam repelir o íon OH^- e solubilizar o éter de 3-nitrofenila, ou seja, devem diminuir o rendimento quântico da foto-hidrólise. Não obstante, no caso de 3-nitroanisol, encontrou-se um aumento do rendimento quântico em presença de SDS, um resultado que só poderia ser explicado com base numa mudança muito grande da solubilidade do estado triplete na micela relativa ao estado fundamental. Utilizando fotólise por pulso de laser para determinar as constantes de velocidade de saída do estado triplete excitado do n-butil-3-nitrofenil éter da micela para a água, Tedesco *et al.* (2000) confirmaram que o estado triplete excitado deste éter é cerca de dez vezes mais hidrofílico do que o estado fundamental. As constantes de incorporação do estado fundamental dos éteres de 3-nitrofenila em micelas podem ser convenientemente determinadas a partir de medidas de absorbância (Bonilha *et al.*, 1979, 1993, 1994). As constantes de partição do estado excitado e a dinâmica de saída do estado excitado triplete da micela podem ser determinados através da supressão seletiva do estado triplete por íons supressores localizados exclusivamente na fase aquosa. No caso, foi utilizado o íon brometo como supressor em solução micelar de SDS.

Na ausência de SDS, a supressão do estado triplete deste éter nitrofenil pelo íon brometo é controlada pela difusão. Em SDS, em altas concentrações do supressor Br^- , supressão na fase aquosa torna-se muito mais rápida do que a saída da micela, tornando a saída da micela o passo limitante. Sobre estas condições, o valor limite do tempo de vida do estado triplete relaciona-se com a constante de saída do estado triplete da micela através da equação (Tedesco, 2000):

$$1/k = (1/\tau_{\text{Br}} - 1/\tau_{\text{Br}}^0)^{-1} \quad (3)$$

A extrapolação dos dados do tempo de vida do estado triplete (expressão do lado direito da equação 3) para altas concentrações de NaBr adicionado fornece o tempo médio de residência ($1/k_-$) na micela.

O comportamento da dinâmica de saída do estado triplete do n-butil-3-nitrofenil éter (BNE) na micela de SDS (40 mM) variando a concentração de acetonitrila, foi determinado mantendo a força iônica constante com NaCl, Tabela 2, com o tempo de residência obtida a partir da extrapolação da Figura 3.

A excitação de n-butil-3-nitrofenil éter (BNE) em micelas de SDS, seguido por um rápido cruzamento intersistema, produz um estado excitado de vida longa, que migra da micela de SDS para a fase aquosa, onde o estado triplete do n-butil-3-nitrofenil éter é suprimido pelo íon brometo que se encontra na fase aquosa, Esquema 3.

Esquema 3

Tabela 2: Tempo de vida de decaimento do estado triplete de n-butil-3-nitrofenil éter na presença de SDS (40 mM), variando a concentração do íon supressor Br⁻ (0-50 mM) e mantendo a força iônica constante com NaCl (0-50 mM); tempo médio de residência na micela, τ_{res} ; a 20°C.

% aceto- nitrila	Sem sal (ns)	NaBr 0 mM (ns)	NaBr 12,5 mM (ns)	NaBr 25,0mM (ns)	NaBr 37,5 mM (ns)	NaBr 50,0 mM (ns)	τ_{res} (ns)
0	654	687	-	147	144	124	128
4,8	705	762	124	78	77	63	45
9,1	812	838	72	54	48	43	35
16,7	979	998	57	70	20	25	10

Figura 3: Dependência do tempo de vida do estado triplete do n-butil-3-nitrofenil éter em micelas de SDS (40 mM) em função da concentração de NaBr (0-50 mM) mantendo a força iônica constante com NaCl (0-50 mM), na ausência e presença de acetoneitrila. ▼: sem acetoneitrila; ▲: 4,8 % de acetoneitrila; ●: 9,1 % de acetoneitrila; ■: 16,7 % de acetoneitrila. A intersecção corresponde ao inverso da constante de velocidade de saída do estado triplete do agregado de SDS.

4.3- Cinética da hidrólise ácida de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano

A reação de hidrólise, catalisada por ácido, de um substrato orgânico neutro, S, na pseudofase micelar, representado no Esquema 4, resulta, tanto na fase aquosa (w) como na pseudofase micelar (m), nos mesmos produtos finais.

Esquema 4

As velocidades de entrada e saída da molécula neutra e dos íons da micela são ordens de magnitude mais rápidas que a velocidade de hidrólise do dioxolano. Portanto, a distribuição de surfactante, do substrato, de contra-íons reativos e não reativos está em equilíbrio termodinâmico na escala de tempo da reação. Dado isso, a velocidade pode ser escrita como:

$$\text{Velocidade} = k_{\text{obs}}[S_t] = k_2[S_t][H_t^+] = k_{2w}[S_w][H_w^+] + (k_{2m}/V \cdot C_D)[S_m][H_m^+] \quad (4)$$

no qual S_t é a concentração estequiométrica do reagente. As constantes k_{obs} , k_2 , k_{2w} , k_{2m} , V e C_D são, respectivamente, a constante de velocidade observada de primeira ordem, constante de velocidade de segunda ordem, as constantes de velocidade de segunda ordem na solução aquosa e na micela, volume molar parcial de detergente micelizado e a concentração analítica de detergente micelizado, onde C_D é dada por: $C_D = C_T - \text{cmc}$ (concentração total de detergente menos a concentração micelar crítica).

A distribuição do substrato, S, é descrita pela constante de incorporação nas micelas:

assim:

$$S_m = S_w \cdot C_D \cdot K_s \quad (6)$$

Os valores de $[H_m^+]$ podem ser obtidas a partir da constante de troca iônica, $K_{H/Na}$, na superfície micelar de um detergente aniônico como SDS (Quina & Chaimovich, 1979):

$$[H^+]_m = \frac{K_{H/Na} \cdot [H^+]_w \cdot [Na^+]_m}{[Na^+]_w} \quad (8)$$

Substituindo as equações 6 e 8 na equação 4 e rearranjando, temos:

$$k_{obs} = \frac{k_{2w} \cdot [H^+]_w \cdot [1 + (k_{2m} / k_{2w}) \cdot (1/\bar{V}) K_{H/Na} K_s (Na_m / Na_w)]}{(1 + K_s C_D)} \quad (9)$$

Em micelas de SDS, $K_{H/Na}$ é 1 (Bunton *et al.*, 1977). A concentração de $[H^+]_w$ é obtida diretamente pelo pH da solução, na temperatura da reação. As concentrações de Na_m^+ e Na_w^+ podem ser expressas como (Quina & Chaimovich, 1979):

$$Na_m^+ = (1-\alpha) \cdot C_D - H_m^+ \quad (10)$$

$$Na_w^+ = \alpha \cdot C_D + cmc + Na_{tp} + H_m^+ \quad (11)$$

no qual α é o grau de dissociação em função da concentração de acetonitrila e Na_{tp} é a concentração de sódio proveniente do tampão utilizado.

Muitos estudos já foram realizados anteriormente em relação à catálise em meio micelar (Ruzza *et al.*, 1992; Bonilha *et al.*, 1982; Politi & Chaimovich, 1991).

No caso de micelas aniônicas de SDS, estas aceleram a velocidade de reação devido à concentração do próton na superfície da micela. Na presença de micelas aniônicas, o íon 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano sofre ataque do H^+ , resultando em dois produtos: p-octoxibenzaldeído e etileno glicol, Esquema 5 (Ruzza *et al.*, 1992).

Esquema 5

A constante de velocidade observada, k_{obs} , é verificada através da cinética de formação do p-octoxibenzaldeído, monitorada em 284 nm no espectro de absorção, como exemplificado na Figura 4.

Figura 4: Espectro de absorção de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano, na presença de micelas de SDS (40 mM), tampão succinato (20 mM), 5 % de acetonitrila, pH=5,19, em função do tempo: 10 s, 30 s, 60 s e 2 minutos.

Pelo coeficiente angular do gráfico de $\ln(A_{\infty}-A_t)$ *versus* o tempo, obtém-se a constante de velocidade observada, Figura 5.

Figura 5: Formação de p-octoxibenzaldeído em função do tempo a partir do monitoramento do espectro de absorção em $\lambda=284$ nm.

A hidrólise do íon 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano foi determinada na presença e ausência de acetonitrila. A constante de velocidade de segunda ordem em água, dado por: $k_{2w} = k_{obsw} / [H^+]$, foi obtida a partir da cinética de hidrólise do íon 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano na ausência de micelas, em pH=3,50.

Utilizando a equação 9, simulou-se uma curva em função dos valores de C_D e k_{obs} no qual o ajuste é feita em função de apenas dois termos k_{2m}/V e K_s (os únicos valores que não são obtidos experimentalmente), Figuras 6 a 9.

Os valores de k_{2w} , k_{2m} e K_s são dados na Tabela 3. Os parâmetros k_{2m} e V na equação não podem ser separados experimentalmente. Para estimar o valor de k_{2m} foi utilizado $V=0,25$, o volume molar das micelas de SDS (Shinoda & Soda, 1963; Mukerjee, 1962).

Figura 6: Efeito da [SDS] sobre k_{obs} para a hidrólise, catalisada por ácido, do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano na ausência de acetonitrila.

Figura 7: Efeito da [SDS] sobre k_{obs} para a hidrólise, catalisada por ácido, do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano em 5 % de acetonitrila.

Figura 8: Efeito da [SDS] sobre k_{obs} para a hidrólise, catalisada por ácido, do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano em 10 % de acetonitrila.

Figura 9: Efeito da [SDS] sobre k_{obs} para a hidrólise, catalisada por ácido, do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano em 20 % de acetonitrila.

Tabela 3: Valores de k_{2w} , k_{2m} e K_s em função da concentração de acetonitrila.

% acetonitrila	k_{2w} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{2m} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{2m} / k_{2w}	K_s (M^{-1})
0	41±1	109±16	2,7	126±29
5	26±1	74±4	2,9	146±17
10	25±1	56±8	2,2	82±19
20	19±1	41±6	2,2	26±8

4.4- Incorporação do íon N-dodecil-4-cianopiridínio em micela de CTAB

A incorporação de moléculas em micelas pode ser determinada a partir da distribuição de produtos entre a fase aquosa e a fase micelar. Para esse propósito foi escolhido o íon N-dodecil-4-cianopiridínio que tende a incorporar-se na estrutura micelar devido à sua longa cadeia hidrocarbônica. Este sistema já foi estudado anteriormente na ausência de acetonitrila utilizando o íon N-dodecil-4-cianopiridínio como supressor da fluorescência de $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ (Chaimovich *et al.*, 1979; Bonilha *et al.*, 1982, Politi & Chaimovich, 1991). O íon $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ não se incorpora em micelas positivamente carregadas, como o CTAB, por causa da presença de duas cargas positivas. O íon $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ tem uma banda de emissão em 610 nm e é suprimida pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio por transferência de carga.

Nos gráficos 10A a 13A apresentam-se os valores de (I_0/I) na presença de concentrações crescentes do íon N-dodecil-4-cianopiridínio, onde I_0 e I representam as intensidades de emissão na ausência e presença de supressor, respectivamente. Nos gráficos 10B a 13B, a razão de intensidades de emissão é graficada na presença de concentrações crescentes de detergente. A medida que aumenta a concentração do detergente CTAB, os íons N-dodecil-4-cianopiridínio são incorporados às micelas, diminuindo a supressão. Pelos valores de (I_0/I) na presença do detergente, calcula-se a concentração do íon N-dodecil-4-cianopiridínio livre (S_f).

A constante de incorporação, K_s , do íon N-dodecil-4-cianopiridínio na micela foi analisada utilizando a relação (Miola *et al.* 1983):

$$K_s = \frac{S_b}{S_f(C_D + S_b)} \quad (12)$$

onde S_b é a concentração do íon N-dodecil-4-cianopiridínio ligado ao agregado e C_D é a concentração de detergente micelizado. Do gráfico de S_b/S_f versus $(C_D + S_b)$ para o íon N-dodecil-4-cianopiridínio em CTAB obtemos, da inclinação, o valor de K_s , Figuras 14 a 17, Tabela 4.

Figura 10: Supressão da emissão de $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na ausência de acetonitrila, em tampão BISTRIS. (A) Supressão pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na ausência de CTAB; (B) efeito da adição de CTAB ao sistema

Figura 11: Supressão da emissão de $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na presença de 10 % de acetonitrila, em tampão BISTRIS. (A) Supressão pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na ausência de CTAB; (B) efeito da adição de CTAB ao sistema.

Figura 12: Supressão da emissão de $Ru(bipy)_3^{2+}$ pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na presença de 15% de acetonitrila, em tampão BISTRIS. (A) Supressão pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na ausência de CTAB; (B) efeito da adição de CTAB ao sistema.

Figura 13: Supressão da emissão de $Ru(bipy)_3^{2+}$ pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na presença de 20% de acetonitrila, em tampão BISTRIS. (A) Supressão pelo íon N-dodecil-4-cianopiridínio na ausência de CTAB; (B) efeito da adição de CTAB ao sistema.

Figura 14: Razão do íon N-dodecil-4-cianopiridínio ligado (S_b) e livre (S_f) em função da concentração de detergente (CTAB) micelizado mais supressor (S_b), na ausência de acetonitrila.

Figura 15: Razão do íon N-dodecil-4-cianopiridínio ligado (S_b) e livre (S_f) em função da concentração de detergente (CTAB) micelizado mais supressor (S_b), na presença de 10 % de acetonitrila.

Figura 16: Razão do íon N-dodecil-4-cianopiridínio ligado (S_b) e livre (S_f) em função da concentração de detergente (CTAB) micelizado mais supressor (S_b), na presença de 15 % de acetonitrila.

Figura 17: Razão do íon N-dodecil-4-cianopiridínio ligado (S_b) e livre (S_f) em função da concentração de detergente (CTAB) micelizado mais supressor (S_b), na presença de 20 % de acetonitrila.

A incorporação de um co-íon no processo de micelização pode também ser descrito através do seguinte processo de troca iônica (Miola *et al.* 1983):

Desse modo:

$$K_T = \frac{S_b}{S_f \cdot C_D} \cdot m_f \quad (14)$$

onde m_f é a concentração do monômero livre presente no sistema.

A quantidade $S_b/S_f \cdot C_D$ é relacionado com a constante de incorporação, de modo que a equação 14 pode ser escrita como:

$$K_T = K_s \cdot m_f \quad (15)$$

O valor da concentração de monômero livre foi calculado pela equação:

$$\log m_f = (2-\alpha) \cdot \log \text{cmc} - (1-\alpha) \cdot \log \{m_f + \alpha (C_T - m_f)\} \quad (16)$$

Tabela 4: Valores das constantes de incorporação (equação 12) do íon N-dodecil-4-cianopiridínio em micelas de CTAB, do grau de dissociação dos contra-íons do agregado, da concentração micelar crítica, da concentração de monômero livre (equação 16) e da constante de troca (equação 15) em função da concentração de acetonitrila.

% acetonitrila	K_s	$\alpha^{(1)}$	$\text{cmc}^{(1)}$ ($10^3 \cdot M$)	m_f ($10^4 \cdot M$)	K_T
0	103	0,25	1,67	2,00	0,0052
10	74	0,38	2,53	4,61	0,0016
15	48	0,41	3,85	9,33	0,0005
20	50	0,49	4,99	15,2	0,0003

⁽¹⁾ Yihwa, 2000.

4.5 - Estudos com o cloreto de 4-metil-7-hidroxiavílio (HMF)

Tanto as antocianinas naturais, como muitos dos seus análogos sintéticos, possuem uma reatividade química bastante rica no estado fundamental em meio aquoso, envolvendo uma série de equilíbrios simultâneos dependente do pH do meio. Esta inclui equilíbrios ácido-base da antocianina, hidratação e abertura do anel avílio, tautomerização e isomerização das chalconas resultantes da abertura do anel avílio (Furtado *et al.* 1993; Santos *et al.*, 1993; Figueiredo *et al.*, 1994; Lima *et al.*, 1994; Pina *et al.* 1997; Maestri *et al.*, 2000), Esquema 6. No estado excitado ocorrem processos de transferência de próton extremamente rápida da antocianina (Lima *et al.*, 1998; Pina *et al.*, 1998) e fotocromismo chalcona/antocianina (Figueiredo *et al.*, 1994; Pina *et al.*, 1996, 1997, 1998; Matsushima & Murakami, 2000; Horiuchi *et al.*, 1999; Maestri *et al.*, 2000).

Esquema 6

A influência de micelas e outros sistemas organizados na reatividade das antocianinas é pouco conhecido (Pina *et al.*, 2001; Roque *et al.*, 1999) e tem sido estudado recentemente no nosso grupo (Giestas *et al.*, 2003; Lima *et al.*, 2002; Vautier-Giongo *et al.*, 2002).

As antocianinas podem sofrer hidrólise dependendo do meio em que ela está e ter um equilíbrio complexo para formação de hemiacetais e/ou de chalconas. A escolha do sistema é um ponto importante pois, além do sistema depender da molécula de antocianina, depende também do pH e, se for o caso, do detergente. O HMF mesmo tendo somente o equilíbrio ácido-base, visto anteriormente em meio ácido (Lima *et al.*, 1998), pode sofrer hidrólise na presença, por exemplo, de detergentes catiônicos como CTAB. A Figura 18 mostra a hidrólise de HMF pela diminuição da forma da base quinoidal, A, em função do tempo na presença de CTAB (Vautier-Giongo *et al.*, 2002).

Figura 18: Espectro de absorção de de HMF em CTAB, pH=7,27: (1) 5 s; (2) 50 s; (3) 100 s; (4) 200s; (5) 600s.

A acetonitrila muda a estrutura micelar de modo que a adição desta no sistema HMF/CTAB diminui o efeito catalítico do CTAB, diminuindo a velocidade de hidrólise da forma base, Figura 19.

Figura 19: Velocidade do desbotamento da base quinoidal em $\lambda = 478$ nm em acetona nitrila: (■) 0 %, (●) 10 % e (▲) 20 %.

No caso de SDS, o espectro de absorção do HMF não modifica com tempo e o efeito eletrostático deste detergente aniônico faz com que AH^+ se estabilize no agregado, evitando a hidrólise, Figura 20.

Figura 20: Espectro de absorção de de HMF em SDS, pH=10: (1) sem detergente; (2) 10 s; (3) 24h.

A antocianina sintética cloreto de 4-metil-7-hidroxiavílio (HMF) tem mostrado ser um bom modelo para o entendimento dos multiequilíbrios complexos da antocianina natural. O HMF apresenta em meio aquoso ácido (ou em meio de detergente aniônico) somente duas espécies: AH^+ e A. Com esta simplificação da química desta antocianina sintética, o equilíbrio ácido-base ($AH^+ \rightleftharpoons A + H^+$) pode ser analisado separadamente de outros equilíbrios.

Em meio aquoso, as espécies ácida (AH^+) e base quinoidal (A) estão em equilíbrio. Em baixos valores de pH, o espectro de absorção exibe a banda de AH^+ em $\lambda_{m\acute{a}x} = 427$ nm. Aumentando o pH, a banda de absorção do cátion diminui enquanto que a banda da base quinoidal, em $\lambda_{m\acute{a}x} = 475$ nm, aumenta, Figura 21. No caso dos espectros de emissão, estes apresentam duas bandas quando excitadas em 420 nm: uma banda de emissão em $\lambda_{m\acute{a}x} = 480$ nm correspondente ao cátion avílio AH^+ e a outra em $\lambda_{m\acute{a}x} = 630$ nm correspondente à base quinoidal, Figura 22.

Figura 21: Espectro de absorção do HMF ($\sim 1 \times 10^{-5}$ M) em SDS 100 mM, tampão fosfato 20 mM, a 20 °C, em função de pH na fase aquosa intermicelar: (1) 2,65; (2) 5,30; (3) 6,30; (4) 6,75; (5) 7,05; (6) 8,20.

Figura 22: Espectro de fluorescência do HMF ($\sim 1 \times 10^{-5}$ M) em 100 mM SDS, tampão fosfato 20 mM, a 20 °C, em função de pH na fase aquosa intermicelar: (1) 2,65; (2) 5,30; (3) 6,30; (4) 6,75; (5) 7,05; (6) 8,20.

4.5.1- Estudos da Antocianina HMF no Estado Excitado

4.5.1.1- HMF no estado excitado em meio aquoso

O equilíbrio ácido-base no estado excitado pode ser resumido como:

Esquema 7

As medidas de decaimento de fluorescência de HMF na escala de tempo de picossegundos, foram realizadas com excitação em 413 nm. As emissões foram coletadas em 480 nm (emissão de $(\text{AH}^+)^*$) e em 630 nm (emissão de A^*), em soluções de tampão fosfato (20 mM), pH=0,99, a várias concentrações de acetonitrila. O decaimento da fluorescência de HMF, nas condições acima, é exemplificada na Figura 23.

Figura 23: Decaimento de fluorescência do íon 4-metil-7-hidroxiflavílio; com excitação em 413 nm e emissões em 480 nm e 630 nm, em tampão fosfato (20 mM), pH=0,99, a 20°C.

Os decaimentos de fluorescência de HMF, bem como seus coeficientes pré-exponenciais, obtidas até 45 % de acetonitrila, são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5: Tempos de vida e coeficientes pré-exponenciais calculados a partir do decaimento de fluorescência em tampão fosfato (20 mM), a 20°C.

% acetonitrila	τ_1 ps	τ_2 ps	a_1	a_2	$R(=a_2/a_1)$
0	130	9,4	0,016	0,984	61,5
5	137	9,7	0,017	0,983	57,8
15	155	11,5	0,026	0,974	37,5
20	158	12,1	0,029	0,968	33,4
30	159	16,1	0,036	0,957	26,6
40	157	22,2	0,044	0,946	21,5
45	167	26,7	0,053	0,937	17,7

A análise cinética é dada pela evolução das concentrações no estado excitado, descrito pela soma de dois termos exponenciais para as duas espécies (Lima *et al.*, 1998):

$$I_{AH^*}(t) = a_1 e^{-\lambda_1 t} + a_2 e^{-\lambda_2 t} \quad (17)$$

$$I_A(t) = a(e^{-\lambda_1 t} + e^{-\lambda_2 t}) \quad (18)$$

os parâmetros λ_1 e λ_2 são as recíprocas dos tempos de decaimento longo ($1/\tau_1$) e curto ($1/\tau_2$), respectivamente, dado por:

$$\lambda_{1,2} = \frac{X + Y \pm \sqrt{(X - Y)^2 + 4k_d k_p [H^+]}}{2} \quad (19)$$

com:

$$X = k_d + k_{AH^*} \quad (20)$$

$$Y = k_p [H^+] + k_A \quad (21)$$

A razão dos fatores pré-exponenciais ($R = a_2/a_1$) está relacionada com a constante cinética por:

$$R = \frac{X - \lambda_1}{\lambda_2 - X} \quad (22)$$

As quatro constantes de velocidade do Esquema 3 são determinadas diretamente dos três parâmetros obtidas do decaimento (λ_1 , λ_2 e R) e do tempo de vida de fluorescência de AH^+ (τ_{AH^+}) na ausência de desprotonação, resultando nos parâmetros da Tabela 6.

$$X = \frac{\lambda_2 R + \lambda_1}{R - 1} \quad (23)$$

$$Y = \lambda_2 + \lambda_1 - X \quad (24)$$

$$k_d = X - k_{AH^+} \quad (25)$$

$$k_p [H^+] = \frac{(\lambda_2 - \lambda_1)^2 - (X - Y)^2}{4k_d} \quad (26)$$

Tabela 6: Valores das constantes de velocidades de dissociação (k_d), de protonação (k_p) e de decaimento da forma básica (k_A).

% acetonitrila	k_d ($10^{11} \cdot s^{-1}$)	k_p ($10^{10} \cdot L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)	k_A ($10^9 \cdot s^{-1}$)
0	1,0	1,5	7,8
5	1,0	1,6	7,4
15	0,85	1,9	6,6
20	0,80	2,0	6,5
30	0,60	1,8	6,5
40	0,43	1,5	6,6
45	0,36	1,4	6,7

4.5.1.2 - HMF no estado excitado em micelas de SDS

O decaimento de fluorescência do HMF, excitado em 413 nm e medido em 480 nm (emissão de $(AH^+)^*$) e 630 nm (emissão de A^*), em solução de SDS (100 mM) e tampão fosfato (20 mM) em pH=5,70, apresenta três tempos de vida para todas as concentrações de acetonitrila adicionada, Tabela 7. Os dois tempos de vida mais curtos ($\tau_1 \approx 211$ ps e $\tau_2 \approx 20$ ps) são similares em magnitude aos dois tempos encontrados em água ($\tau_1 \approx 130$ ps e $\tau_2 \approx 9,4$ ps, a 20°C), enquanto que τ_3 , o tempo mais longo, ocorre apenas no comprimento de onda na qual $(AH^+)^*$ emite e é de aproximadamente 740 ps.

Um exemplo do decaimento em SDS é dada na Figura 24. Como consequência da existência deste tempo de vida longo, os decaimentos de $(AH^+)^*$ e A^* cruzam-se, isto é, a fluorescência de $(AH^+)^*$ persiste muito mais tempo do que a de A^* . Desse modo, τ_3 não é produzido por A^* e, consequentemente, é desacoplado cineticamente do equilíbrio ácido-base.

Tabela 7: Tempos de vida e coeficientes pré-exponenciais calculados a partir do decaimento de fluorescência em 480 nm em SDS (100 mM) e tampão fosfato (20 mM), a 20°C.

% acetonitrila	τ_1 ps	τ_2 ps	τ_3 ps	a_1	a_2	a_3	$R=(a_2/a_1)$
0	211	20,0	740	0,15	0,49	0,36	3,26
5	200	25,5	681	0,13	0,46	0,41	3,41
10	188	21,2	657	0,14	0,50	0,36	3,61
15	179	25,2	652	0,13	0,52	0,36	3,92
20	176	22,8	665	0,13	0,57	0,30	4,24
25	172	17,9	693	0,12	0,66	0,21	5,42

Figura 24: Decaimento da fluorescência do íon 4-metil-7-hidroxiflavílio, excitação em 413 nm e emissões em 480 nm e 630 nm, em SDS (100 mM) e tampão fosfato (20 mM), pH=0,99, a 20°C.

Medidas realizadas com HMF em micelas de SDS em vários pHs mostraram que há um segundo mecanismo de reprotonação de A* e independente do pH da fase aquosa intermicelar, $[H^+]_w$ (Giestas *et al.*, 2003). Uma vez que é independente de $[H^+]_w$, deve também ser independente de $[H^+]_{mic}$, a concentração local de protons na superfície micelar, que é controlado por troca dos contra-íons proton/sódio na superfície da micela. A água não é a doadora do próton pois A* é uma base mais fraca que o estado fundamental, A, que não é protonado pela água na micela de SDS. Do mesmo modo, o ânion do tampão não está envolvido, pois o decaimento de fluorescência é idêntica na presença e ausência do tampão no mesmo pH. Assim, a única possibilidade para um componente da reprotonação de A* independente de pH é uma reação compartimentalizada, na superfície da

micela, entre A^* e o proton gerado pela desprotonação de $(AH^+)^*$. O esquema mais simples condizente com esta possibilidade e com as medidas ou valores estimados das constantes de velocidade é o esboçado no Esquema 8.

Esquema 8

Neste esquema, o par compartimentalizado inicialmente formado na superfície micelar é representado como $(A^* \dots H_3O^+)$. A reação de reprotonação compartimentalizada, caracterizado pela constante k_r , deve competir com o escape irreversível do proton, k_{diss} , e o decaimento de A^* para o estado fundamental, k_A . O mecanismo do Esquema 6 traduz para as equações (Giestas, 2003):

$$X = k_d + k_{AH^+} \quad (27)$$

$$Y = k_r + k_{diss} + k_A \quad (28)$$

$$Z = k_p [H^+]_w + k_A \quad (29)$$

onde os recíprocos dos tempos de vida são dados por:

$$\lambda_{3,2} = \frac{X + Y \pm \sqrt{(X - Y)^2 + 4k_r k_d}}{2} \quad (30)$$

$$\lambda_4 = k_A \quad (31)$$

A obtenção das relações entre as constantes de velocidade e os parâmetros de decaimento (λ_i) e razão pré-exponenciais ($R=a_3/a_2$) também é direta:

$$X = \frac{R\lambda_3 + \lambda_2}{R + 1} \quad (32)$$

$$Y = \lambda_3 + \lambda_2 - X \quad (33)$$

$$k_d = X - k_{AH^+} \approx X \quad (34)$$

$$k_r = \frac{XY - \lambda_3\lambda_2}{k_d} \quad (35)$$

$$k_{diss} = Y - k_A - k_r \quad (36)$$

A análise do decaimento experimental (λ_3 , λ_2 , R , k_A) em termos do Esquema 6 para SDS e acetonitrila resulta nos parâmetros da Tabela 8.

Tabela 8: Valores das constantes de velocidade de desprotonação (k_d) e de recombinação (k_r) do par geminado, de dissociação do par compartimentalizado (k_{diss}) e o tempo de fluorescência recíproca da forma básica (k_A).

% acetonitrila	k_d ($10^{10} \cdot s^{-1}$)	k_{diss} ($10^9 \cdot s^{-1}$)	k_r ($10^9 \cdot s^{-1}$)	k_A ($10^{10} \cdot s^{-1}$)
0	3,93	1,18	9,32	4,99
5	3,15	1,39	6,53	3,92
10	3,80	1,75	7,80	4,71
15	3,28	1,94	5,75	3,97
20	3,67	1,99	6,16	4,39
25	4,81	1,94	6,85	5,59

4.5.2 - Estudos da Antocianina HMF no Estado Fundamental

Como visto no equilíbrio do estado excitado, a desprotonação de AH^+ ocorre em 6 ps e o decaimento da base quinoidal para o estado fundamental em 130 ps. Ambos destes processos são mais rápidos do que a reprotonação da base quinoidal no estado fundamental, que demora cerca de 40 ns em pH=3. Assim, a excitação pode perturbar transientemente o equilíbrio de protonação do estado fundamental de modo que por fotólise por pulso de laser possa medir a transferência de próton no estado fundamental através da relaxação do sistema para o equilíbrio.

4.5.2.1- HMF no estado fundamental em meio aquoso

A Figura 25 mostra o espectro de absorção transiente da solução de HMF em pH = 4, gerada pela excitação em 355 nm com pulso de laser de 5 ns. Além da depleção de AH^+ em $\lambda = 416$ nm, uma nova absorção em 465 nm, devido A, é observada. A evolução temporal dos dois transientes (recuperação em 420 nm e decaimento em 470 nm) está apresentada na Figura 26. O decaimento da absorção em 470 nm é monoexponencial e o seu tempo de vida é igual ao da recuperação de AH^+ ($\tau = 169$ ns).

Figura 25: Espectro transiente de HMF em pH=4, excitada em 355 nm.

Figura 26: Decaimento de A em 470 nm e recuperação de AH^+ em 405 nm, pH=4.

A constante de velocidade observada, k_{obs} , igual ao recíproco do tempo de vida do transiente, τ , é uma função linear da concentração de íon hidrônio $[\text{H}^+]$:

$$k_{\text{obs}} = k_d + k_p [\text{H}^+] \quad (37)$$

Do gráfico de k_{obs} *versus* $[\text{H}^+]$, obtém-se a constante de desprotonação ou dissociação (k_d) a partir do intercepto da curva e a constante de protonação (k_p) a partir do coeficiente angular. O logaritmo da razão k_p/k_d fornece o valor do $\text{pK}_{\text{aparente}}$ do 4-metil-7-hidroxiflavílio na presença de acetonitrila (Figuras 27-29, Tabela 9).

Figura 27: Variação do k_{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de $[\text{H}^+]$, em tampão fosfato 10 mM e 10 % de acetonitrila, a 20°C.

Figura 28: Variação do k_{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de $[H^+]$, em tampão fosfato 10 mM e 20 % de acetonitrila, a 20°C.

Figura 29: Variação do k_{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de $[H^+]$, em tampão fosfato 10 mM e 30 % de acetonitrila, a 20°C.

Tabela 9: Constante de dissociação (k_d), constante de protonação (k_p), e pK_{aparente} do 4-metil-7-hidroxiflavílio em água e na presença de 10 %, 20 % e 30 % de acetonitrila.

% acetonitrila	k_d (10^6s^{-1})	k_p ($10^{10} \text{L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$)	pK_{aparente}
0 ¹	1,4	3,6	4,4
10	2,3	2,7	4,06
20	2,4	2,6	4,03
30	2,7	3,0	4,05

¹: Maçanita *et al.*, 2001

4.5.2.2- HMF no estado fundamental em micelas de SDS

A constante de velocidade de dissociação (k_d) e a constante de velocidade de protonação (k_p) de 4-metil-7-hidroxiflavílio em micelas de SDS foi determinada a partir da dependência da constante de velocidade observada, k_{obs} , em função de $[\text{H}^+]$, utilizando a equação 37. Os gráficos são mostrados a seguir, Figuras 30–32, e os valores das constantes de velocidade e de pK_{aparente} na presença do detergente aniônico em 0 %, 5 %, 10 % e 20 % de acetonitrila estão reunidos na Tabela 10.

Figura 30: Variação do k_{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de $[H^+]$, em SDS (100 mM), tampão fosfato (10 mM) e 5 % de acetonitrila, a 20°C

Figura 31: Variação do k_{obs} de 4-metil-7-hidroxiflavílio em função de $[H^+]$, em SDS (100 mM), tampão fosfato (10 mM) e 10 % de acetonitrila, a 20°C

Figura 32: Variação do k_{obs} de 4-metil-7-hidroxi-flavílio em função de $[H^+]$, em SDS (100 mM), tampão fosfato (10 mM) e 20 % de acetonitrila, a 20°C.

Tabela 10: Constantes de velocidades de dissociação (k_d), de protonação (k_p) e $pK_{aparente}$ do 4-metil-7-hidroxi-flavílio em água/SDS na ausência e presença de acetonitrila.

% acetonitrila	k_d ($10^5 s^{-1}$)	k_p ($10^{10} L.mol^{-1}.s^{-1}$)	$pK_{aparente}$
0 ¹	0,36	18	6,70
5	5,2	7,9	5,2
10	6,2	5,6	5,0
20	3	7,8	5,4

¹: Vautier-Giongo *et al.*, 2002

4.6 - Estudos da influência da acetonitrila em agregados de sais biliares

A metodologia que tem sido utilizada para o estudo da dinâmica de complexação em agregados de sais biliares é a supressão de estados excitados de sondas moleculares (Rinco *et al.*, 2001 e 2003; Li *et al.*, 2000; Bohne 2000, Ju & Bohne, 1996). Utilizam-se sondas nos estados excitados tripletes que têm vidas maiores e, frequentemente, com tempos de vida da mesma ordem de magnitude dos processos dinâmicos. Embora os estudos têm elucidado a dinâmica de ligação em diferentes sítios de sais biliares, não se conhece o efeito de co-solvente na dinâmica do sistema.

Neste trabalho, avaliou-se o efeito da acetonitrila como co-solvente em agregados de sais biliares a partir da técnica de fotólise por pulso de laser. Utilizou-se 1-etil-naftaleno (EtNp) como sonda da dinâmica de solubilização no agregado primário, 1-(1-naftil)-etanol (NpOH) como sonda de solubilização no agregado secundário e nitrito de sódio como supressor. Os valores das constantes de velocidade obtidos foram calculados para cada gráfico de supressão utilizando o programa Kaleidagraph. Nessa seção, o erro experimental obtido foi muito alto, por esse motivo os valores de erro foram mantidos para comparação.

4.6.1- Supressão de estado triplete excitado de EtNp e NpOH em solução aquosa

Os espectros de absorção triplete-triplete de EtNp e NpOH em solução aquosa são similares ao espectro de absorção de naftaleno triplete (Rinco *et al.*, 2001 e 2003). A energia do pulso de laser foi mantida baixa para evitar a ocorrência de aniquilação triplete-triplete de modo que os decaimentos dos estados tripletes fossem monoexponenciais. A desaeração da solução evita a supressão do estado triplete do naftaleno pelo oxigênio. Neste caso, a utilização de $N_{2(g)}$ não é indicado, visto que este não evita a formação do e^- solvatado, banda característica em 700 nm. Resultados melhores foram obtidos com soluções borbulhadas com $N_2O_{(g)}$, Figura 33. Como supressor de estados excitados tripletes

foi utilizado o íon nitrito, uma vez que este ânion reside principalmente na fase aquosa e não interage fortemente com o agregado biliar carregado negativamente.

Figura 33: Espectros transientes de NpOH borbulhados com: (a) $N_{2(g)}$ e (b) $N_{2}O_{(g)}$, excitação em 266 nm.

A dependência da constante de velocidade de primeira ordem (k_{obs}) em função da concentração de supressor foi linear em água e em mistura água-acetonitrila, Figuras 34 e 35. A constante de supressão, k_q , é obtida de um gráfico da constante de velocidade observada em função da concentração de supressor (Rinco *et al.*, 2003).

$$k_{obs} = k_0 + k_q [Q] \quad (38)$$

A constante de velocidade de supressão do estado tripleto, k_q , de EtNp e NpOH em água foi perto da constante de velocidade de um processo controlado por difusão em água ($6,5 \times 10^9 s^{-1}$) e diminuiu com o aumento da concentração de acetonitrila, Tabela 11.

Figura 34: Supressão de estado triplete de EtNp por íon nitrito em meio aquoso em acetonitrila: (◇) 0 %, (■) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (●) 16,7 %, (*) 23 %.

Figura 35: Supressão de estado triplete de NpOH por íon nitrito em meio aquoso em acetonitrila: (◇) 0 %, (■) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (●) 16,7 %, (*) 23 %.

Tabela 11: Constante de velocidade de supressão do estado triplete de EtNp e NpOH, em 0,1 M de NaCl e íon nitrito como supressor.

% acetonitrila	$k_q / 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	
	EtNp	NpOH
0	$2,9 \pm 0,1$	$3,20 \pm 0,03$
4,8	$2,72 \pm 0,03$	$2,96 \pm 0,03$
9,1	$2,5 \pm 0,3$	$2,91 \pm 0,05$
16,7	$2,14 \pm 0,02$	$2,68 \pm 0,07$
23,0	$1,83 \pm 0,04$	$2,13 \pm 0,07$

4.6.2 - Dinâmica de solubilização de EtNp e NpOH em agregados de sais biliares

O efeito da adição de acetonitrila na dinâmica de ligação de EtNp e NpOH em agregados de colato (NaCh) foi estudado em concentrações de NaCh de 10, 20 e 40 mM, Figuras 36 - 41, e os resultados obtidos reunidos nas Tabelas 12 e 13.

Na presença de 40 mM de colato de sódio, no qual os dois sítios (primário e secundário) estão presentes, o gráfico de supressão foi curvo para os dois derivados de naftalenos. O gráfico de supressão curvo é devido à incorporação dos estados tripletes nos agregados de sais biliares, que limita o acesso do íon nitrito à molécula no estado excitado.

Quando a supressão do hóspede triplete é mais eficiente em água do que no agregado de sal biliar ($k_q > k_q^{BS}$), a saída do hóspede no estado triplete do agregado de sal biliar à água (k_{diss}) torna-se a etapa limitante da supressão em altas concentrações de supressor. Como consequência, uma curvatura para baixo é observada no gráfico de supressão. Se não ocorrer nenhuma supressão no agregado de sal biliar esse gráfico atinge um valor limite de k_{obs} . Se alguma supressão ocorre no agregado, em altas concentrações de supressor, o gráfico de

supressão se aproxima a uma relação linear com a inclinação menor do que para a supressão em água. A inclinação da porção linear do gráfico corresponde ao k_q^{BS} . A constante de velocidade de supressão pode ser estimada a partir do intercepto com o eixo Y da região linear em altas concentrações de supressor. Informação sobre o processo de associação é contida na porção curva do gráfico de supressão.

Os dados dos gráficos de supressão curvos foram analisados usando a equação 2, empregado anteriormente para a supressão de hóspedes em micelas e ciclodextrinas (Kleimman & Bohne, 1997; Barros, *et al.* 1998; Almgren *et al.*, 1979; Turro *et al.*, 1982). Esta equação é somente válida se o decaimento do estado triplete segue uma função monoexponencial, com $k_{obs} = 1/\tau_{triplete}$:

A razão k_q/k_q^{BS} , chamado de eficiência de proteção, PE, fornece uma medida de quão bem o agregado de sal biliar protege o estado triplete da interação com o supressor. No caso, na presença de 40 mM de NaCh, o PE de NpOH é muito menor em relação a EtNp.

Figura 36: Supressão de estado triplete de EtNp por íon nitrito em NaCh (10 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (●) 16,7 %, (✱) 23 %.

Figura 37: Supressão de estado triplete de EtNp por íon nitrito em NaCh (20 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (•) 16,7 %, (*) 23 %.

Figura 38: Supressão de estado triplete de EtNp por íon nitrito em NaCh (40 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (•) 16,7 %, (*) 23 %.

Figura 39: Supressão de estado triplete de NpOH por íon nitrito em NaCh (10 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 9,1 %, (▲) 16,7 %, (•) 23 %.

Figura 40: Supressão de estado triplete de NpOH por íon nitrito em NaCh (20 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (•) 16,7 %, (*) 23 %.

Figura 41: Supressão de estado triplete de NpOH por íon nitrito em NaCh (40 mM) em acetonitrila: (♦) 0 %, (■) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (•) 16,7 %, (*) 23 %.

Tabela 12: Constante de velocidade de dissociação (k_{dis}), associação (k_{as}/N) e supressão (k_q^{BS}), e eficiência de proteção ($PE = k_q/k_q^{BS}$) para EtNp em agregados de NaCH.¹

[NaCh] (mM)	% acetonitrila	k_{dis} ($10^6 s^{-1}$)	k_{as}/N ($10^8 M^{-1}.s^{-1}$)	k_q^{BS} ($10^9 M^{-1}.s^{-1}$)	PE
10	0	$0,35 \pm 0,07$	3 ± 2	$0,038 \pm 0,005$	$(8 \pm 1) \times 10$
	4,8	0,7 - 1,0	0,8 - 2	0,02 - 0,05	> 53
	7,4	-	-	$1,59 \pm 0,06$	$1,62 \pm 0,07$
	9,1	-	-	$2,19 \pm 0,04$	$1,14 \pm 0,03$
	16,7	-	-	$2,03 \pm 0,02$	$1,05 \pm 0,04$
	23	-	-	$1,76 \pm 0,01$	$1,03 \pm 0,05$
20	0	$0,23 \pm 0,04$	3 ± 2	$0,027 \pm 0,001$	106 ± 4
	2,5	$0,21 \pm 0,07$	2 ± 1	$0,042 \pm 0,004$	66 ± 6
	4,8	$0,49 \pm 0,05$	$2,8 \pm 0,8$	$0,033 \pm 0,002$	81 ± 5
	7,4	$1,0 \pm 0,3$	4 ± 3	$0,03 \pm 0,01$	$(9 \pm 3) \times 10$
	9,1	$1,1 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,2$	$0,039 \pm 0,002$	64 ± 4
	16,7	-	-	$1,53 \pm 0,01$	$1,39 \pm 0,05$
40	23	-	-	$1,75 \pm 0,03$	$1,03 \pm 0,05$
	0	$0,09 \pm 0,04$	1 ± 1	$0,027 \pm 0,001$	106 ± 4
	9,1	$2,0 \pm 0,3$	7 ± 1	$0,015 \pm 0,006$	$(17 \pm 7) \times 10$
	16,7	3 - 4	1 - 2	0,02 - 0,2	> 11
	23	-	-	$1,23 \pm 0,01$	$1,47 \pm 0,07$

¹: Os erros correspondentes são determinados a partir da análise estatística dos dados, utilizando a equação 2 para supressão do gráfico curvo e equação 38 para o gráfico linear.

Tabela 13: Constante de velocidade de dissociação (k_{dis}), associação (k_{as}/N) e supressão (k_q^{BS}), e eficiência de proteção ($PE = k_q/k_q^{BS}$) para NpOH em agregados de NaCh.¹

[NaCh] (mM)	% acetonitrila	k_{dis} ($10^6 s^{-1}$)	k_{as}/N ($10^8 M^{-1} s^{-1}$)	k_q^{BS} ($10^9 M^{-1}.s^{-1}$)	PE
10	0	-	-	$3,03 \pm 0,04$	$1,06 \pm 0,03$
	9,1	-	-	$2,74 \pm 0,04$	$1,06 \pm 0,04$
	16,7	-	-	$2,35 \pm 0,03$	$1,06 \pm 0,09$
	23	-	-	$2,16 \pm 0,01$	$1,02 \pm 0,09$
20	0	-	-	$1,69 \pm 0,04$	$1,90 \pm 0,07$
	4,8	-	-	$1,90 \pm 0,02$	$1,57 \pm 0,06$
	9,1	-	-	$1,99 \pm 0,02$	$1,46 \pm 0,05$
	16,7	-	-	$2,25 \pm 0,05$	$1,11 \pm 0,09$
	23	-	-	$1,41 \pm 0,05$	$1,6 \pm 0,2$
40	0	$4,2 \pm 0,4$	$2,1 \pm 0,3$	$0,10 \pm 0,03$	32 ± 6
	4,8	$4,20 - 0,04$	$2,6 \pm 0,3$	$0,26 - 0,03$	12 ± 4
	9,1	$4 - 13$	$2-5$	$0,1- 0,5$	>6
	16,7	-	-	$1,41 \pm 0,02$	$1,8 \pm 0,1$
	23	-	-	$1,46 \pm 0,02$	$1,5 \pm 0,1$

¹: Os erros correspondentes são determinados a partir da análise estatística dos dados, utilizando a equação 2 para supressão do gráfico curvo e equação 38 para o gráfico linear.

Na presença de 10 mM de NaCh, em aproximadamente 5 % de acetonitrila, o decaimento do estado triplete de EtNp não apresentou uma monoexponencial. Neste caso a mistura de agregados tem propriedades diferentes e os valores obtidos são somente estimados, assim a equação 2 não é rigorosamente aplicável. Em todos os outros experimentos os decaimentos apresentaram-se monoexponenciais. Em 20 mM de NaCh mostra o limite de experimentos independente, porém o gráfico de supressão não estão bem curvos. Nenhuma

tendência para k_{as}/N é evidente devido ao alto erro associado com este parâmetro. Os valores de k_q^{BS} para cada concentração de NaCh aumentou com o aumento da concentração de acetonitrila.

4.6.3 - Acessibilidade do íon iodeto aos estados tripletes de EtNp e NpOH em agregados de colatos

Para comparar as mudanças na dinâmica de ligação do hóspede provocados pelo aumento da concentração de acetonitrila, estudou-se a supressão da fluorescência das sondas de derivados de naftalenos pelo íon iodeto.

A supressão foi determinada pela diminuição da intensidade de fluorescência de EtNp e NpOH em função da concentração de iodeto. A forma do espectro de fluorescência do hóspede não mudou com a adição de iodeto, somente a intensidade foi diminuída (exemplificada na Figura 42). Os dados foram graficados de acordo com a equação 39 onde I_o e I são as intensidades de emissão integradas na ausência e presença de supressor e K_{SV} é a constante de Stern-Volmer.

$$\frac{I_o}{I} = \frac{\tau_o}{\tau} = 1 + K_{SV} [Q] = 1 + k_q \tau_o [Q] \quad (39)$$

O gráfico da supressão foi linear na ausência e presença de 40 mM de NaCh, bem como com o aumento da concentração de acetonitrila, Figuras 43 - 46, Tabela 14. A constante de Stern-Volmer é o produto da constante de velocidade de supressão e do tempo de vida do fluoróforo na ausência de supressor. A razão entre a constante de Stern-Volmer em água K_{sv}^W e na presença de agregado de sal biliar K_{sv}^{BS} é uma medida do grau de proteção propiciado pelo agregado de sal biliar contra o acesso do íon iodeto ao hóspede. Esta razão é diferente da eficiência de proteção, PE, definido como uma razão de constantes de velocidade, porque o tempo de vida do estado singleto de EtNp e NpOH na presença de colato

é maior do que em água. Assim, valores de K_{sv}^W/K_{sv}^{BS} são menores do que os valores de PE.

Figura 42: Supressão de fluorescência de EtNp pelo íon iodeto, em meio aquoso: 0, 5 M, 15 M, 25 M, 34 M, 44 M e 54 M de I^- .

Figura 43: Supressão de fluorescência de EtNp pelo íon iodeto em meio aquoso em acetonitrila: (■) 0 %, (●) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (▼) 16,7 %, (◆) 23 %.

Figura 44: Supressão de fluorescência de EtNp pelo íon iodeto em meio aquoso em 40 mM NaCh em acetoneitrila: (■) 0 %, (●) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (▼) 16,7 %, (◆) 23 %.

Figura 45: Supressão de fluorescência de NpOH pelo íon iodeto em meio aquoso em acetoneitrila: (■) 0 %, (●) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (▼) 16,7 %, (◆) 23 %.

Figura 46: Supressão de fluorescência de NpOH pelo íon iodeto em 40 mM NaCh em acetonitrila: (■) 0 %, (●) 4,8 %, (▲) 9,1 %, (▼) 16,7 %, (◆) 23 %.

Tabela 14: Constantes de Stern-Volmer para supressão da fluorescência de EtNp e NpOH pelo íon iodeto em água ($K_{SV}^{água}$) e na presença de 40 mM de NaCH (K_{SV}^{BS}).

%	EtNp			NpOH		
	$K_{SV}^{água} (M^{-1})$	$K_{SV}^{BS} (M^{-1})$	$\frac{K_{SV}^{água}}{K_{SV}^{BS}}$	$K_{SV}^{água} (M^{-1})$	$K_{SV}^{BS} (M^{-1})$	$\frac{K_{SV}^{água}}{K_{SV}^{BS}}$
0	97 ± 4	$6,9 \pm 0,1$	$14,1 \pm 0,6$	118 ± 4	42 ± 1	$2,8 \pm 0,1$
4,8	94 ± 13	$9,1 \pm 0,2$	$10,3 \pm 0,2$	127 ± 7	58 ± 1	$2,2 \pm 0,1$
9,1	108 ± 8	$11,4 \pm 0,2$	$9,5 \pm 0,7$	129 ± 8	65 ± 1	$2,0 \pm 0,1$
16,7	109 ± 11	$42,6 \pm 0,5$	$2,6 \pm 0,3$	117 ± 11	131 ± 7	$0,9 \pm 0,1$
23	131 ± 2	95 ± 1	$1,38 \pm 0,03$	123 ± 15	137 ± 2	$0,9 \pm 0,1$

5 - DISCUSSÃO

5.1 - Cinética da hidrólise catalisada por micela e incorporação de moléculas em agregado micelares

O objetivo dessa seção é examinar o efeito da acetonitrila na velocidade de reação catalisada por micela, assim como o comportamento da incorporação de moléculas em agregados micelares na presença de acetonitrila. Primeiramente, foi estudado o comportamento da cinética de uma reação de hidrólise ácida na ausência de micelas em várias concentrações de acetonitrila. No meio aquoso, observa-se uma diminuição da constante de velocidade de segunda ordem da hidrólise ácida do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano para formar p-octoxibenzaldeído, k_{2w} , com a adição de acetonitrila de 41 mol.L⁻¹.s⁻¹ em água para 19 mol.L⁻¹.s⁻¹ em 20 % de acetonitrila (Tabela 3, pág. 37).

Na presença de SDS, a hidrofobicidade da cauda do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano favorece a incorporação desta no agregado micelar. Ao mesmo tempo, ocorre uma mudança na distribuição de reagentes de modo que há uma concentração local maior de H⁺ na superfície da micela de SDS, aumentando a velocidade de reação.

A Figura 48 mostra os perfis das constantes de velocidade observadas em função da concentração de detergente micelizado, em várias concentrações de acetonitrila. Utilizando as equações 6 a 9, foram simuladas as curvas de k_{obs} em função de C_D . O ajuste da curva dos dados experimentais é feita em função de dois termos: k_{2m} e K_S .

Figura 48: Efeito da [SDS] sobre k_{obs} para a hidrólise, catalisada por ácido, do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano em (♦) 0 % acetoneitrila, (▲) 5% acetoneitrila, (■) 10% de acetoneitrila e (*) 20% de acetoneitrila.

Na simulação, a diminuição do valor do coeficiente de incorporação do soluto, K_s , desloca o máximo da curva para concentrações maiores de SDS. O coeficiente de incorporação do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano na micela diminui progressivamente de 180 M^{-1} para 21 M^{-1} na faixa de concentração de acetoneitrila entre 0 % e 20 % (Tabela 3, pág. 37). A solvatação pela acetoneitrila dos grupos metilênicos do soluto, assim como a mudança das propriedades do meio aquoso contribuem para a diminuição da afinidade de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano pela micela. O logaritmo da constante de incorporação mostra uma dependência linear com a porcentagem de acetoneitrila, Figura 49.

Figura 49: Correlação do logaritmo natural do coeficiente de incorporação do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano em agregados de SDS em função da porcentagem de acetonitrila.

O efeito da acetonitrila na incorporação da molécula neutra de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano no meio micelar de SDS pode ser comparada com o seu efeito na incorporação de um co-íon anfifílico na micela catiônica de CTAB. Neste caso, o co-íon estudado foi o cátion N-dodecil-4-cianopiridínio (DCP), que particiona entre as fases aquosa e micelar. A constante de partição deste íon foi determinada através de medidas da concentração do íon DCP livre na fase aquosa (S_f). Na presença de acetonitrila, os valores obtidos para o coeficiente de incorporação de DCP diminuem de 103 M^{-1} em água para 50 M^{-1} em 20 % de acetonitrila (Tabela 4, pág. 43). O íon N-dodecil-4-cianopiridínio é um anfifílico análogo ao monômero de CTAB, isto é, ambos são catiônicos com cadeia carbônica comprida (12 e 16 carbonos respectivamente). As constantes de velocidade de entrada de co-íons independem do comprimento da cadeia alquílica (Ranganathan *et al.*, 1999). Desta forma, a estrutura hidrofóbica desses co-íons é responsável pela solubilização destes em micelas em meio aquoso. Novamente, a solvatação da cadeia hidrocarbônica do DCP pela acetonitrila em conjunto com a

mudança de polaridade do meio aquoso diminuem a incorporação do íon DCP no agregado micelar.

A constante de troca monômero-pseudomonômero, referente ao equilíbrio:

obtida na ausência de acetonitrila, $K_T = 0,005$ (Tabela 4, pág. 43), foi próximo ao valor de $K_T = 4 \times 10^{-3}$ encontrado para N-dodecilmecanopiridínio em micelas de cloreto de cetiltrimetilamônio, CTACl (Ranganathan *et al.*, 1999). Na presença de 20 % de acetonitrila, esta constante de troca diminui para 0,0003. Assim, pelo fato das micelas de CTAB formadas em misturas acetonitrila-água serem menores, mais dissociadas e apresentarem maior fluidez, a seletividade entre os íons CTA^+ e N-dodecil-4-cianopiridínio aumenta na presença de acetonitrila.

Esse efeito da acetonitrila nas mudanças micelares também é observado pelo aumento da saída do estado triplete n-butil-3-nitrofenil éter em micelas aniônicas de SDS. O tempo de residência no agregado diminui de 128 ns na ausência de acetonitrila para 10 ns em 16,7 % de acetonitrila (Tabela 2, pág. 29).

Na Figura 48, um aumento ou diminuição do valor do termo k_{2m} desloca a curva para cima ou para baixo, sem modificar significativamente a posição do máximo de k_{obs} . Esse máximo aparece porque o grau de incorporação do soluto, 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano, na micela aumenta com o aumento da concentração de detergente enquanto que a concentração local de H^+ na micela diminui.

Como visto anteriormente, há uma concentração local maior de H^+ na superfície da micela de SDS e a hidrólise de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano é acelerada. As constantes de velocidade de segunda ordem na presença e ausência de acetonitrila, mostradas na Figura 50, diminuem na presença de acetonitrila. Embora haja uma diminuição das constantes na presença de acetonitrila, tanto em solução aquosa como em meio micelar, a razão dessas duas constantes de velocidade, k_{2m}/k_{2w} (Tabela 3, pág. 37), que reflete o efeito do

microambiente sobre a reatividade, são próximas. Na Figura 50, a diminuição de k_{2m} é vista já em baixas concentrações de acetonitrila adicionada, sugerindo que há uma solvatação seletiva do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano da forma semelhante nos dois meios.

Figura 50: Constante de velocidade de segunda ordem para a hidrólise de 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano em: (■) meio aquoso e (●) solução micelar de SDS.

5.2 - Estudos com o cloreto de 4-metil-7-hidroxi-flavílio (HMF)

A mudança da constante de desprotonação de HMF corresponde a uma diferença de 5 unidades entre o pK_a do estado fundamental ($pK_a=4,4$) e do estado excitado ($pK_a^*=-0,8$) (Maçanita *et al.*, 2002), mostrando que a molécula de HMF é um ácido muito mais forte no estado excitado. No estado excitado, o HMF, assim como muitos hidroxi-aromáticos como fenóis e naftóis (Tolbert & Solntsev, 2002; Solntsev *et al.*, 1999), possui uma basicidade reduzida e, conseqüentemente, se torna um ácido muito mais forte. A transferência ultra-rápida de próton para a água é o processo dominante que ocorre em antocianinas em solução aquosa (Lima *et al.*, 1998, Moreira *et al.*, 2003). Uma perturbação transitória do equilíbrio ácido-base no estado fundamental é uma consequência direta dessa transferência de próton no estado excitado.

Todo o sistema de equilíbrios ácido-base, nos estados fundamental e excitado, é mostrado no esquema abaixo e resulta num sistema de quatro espécies (AH^+ , A , $(AH^+)^*$ e A^*), seis constantes de velocidade (desprotonações, k_d e k_d^* , protonações, k_p e k_p^* , e decaimentos, k_{AH^+} e k_A) e duas constantes de equilíbrio (K_a e K_a^*).

Esquema 9

O estado fundamental de AH^+ é eletronicamente excitado, formando $(AH^+)^*$. Esta sofre uma rápida desprotonação (k_d^*) para a espécie A^* em competição com a sua volta ao estado fundamental com uma velocidade (k_{AH^+}). A espécie A^* pode reprotonar por difusão, (k_p^*), formando novamente $(AH^+)^*$ ou decair para seu estado fundamental (k_A). No estado fundamental, as constantes de desprotonação (k_d) e protonação (k_p) são relacionadas ao equilíbrio ácido-base das espécies A e AH^+ .

As constantes de protonação e desprotonação de HMF no estado fundamental foram determinadas utilizando a técnica de fotólise por pulso de laser baseado na perturbação do equilíbrio ácido-base no estado fundamental. A técnica de fluorescência resolvida no tempo, com resolução de picossegundos, possibilitou a determinação das constantes de protonação e desprotonação do estado excitado de HMF, bem como as constantes de velocidade de decaimento dos estados singlete excitados de AH^+ e A . Desse modo, todas as seis constantes envolvidas no equilíbrio da antocianina HMF em meio homogêneo, k_p^* , k_d^* , k_A , k_{AH^+} , k_p e k_d , puderam ser determinadas.

O comportamento de transferência ultra-rápida pode ser visto pela constante de desprotonação do HMF, que no estado excitado ($k_d^*=1,0 \times 10^{11} s^{-1}$) é muito maior do que no estado fundamental ($k_d=1,4 \times 10^6 s^{-1}$). As constantes de velocidade de protonação dos estados excitado, k_p^* , e fundamental, k_p , são controladas por difusão e, portanto, são da mesma ordem de magnitude ($k_p^*=1,5 \times 10^{10} L.mol^{-1}.s^{-1}$ e $k_p=3,6 \times 10^{10} L.mol^{-1}.s^{-1}$).

A análise global do decaimento no estado excitado da forma catiônica (480 nm) e da base quinoidal (600 nm) permite obter três parâmetros: dois tempos de vida e a relação das amplitudes ou coeficientes pré-exponenciais. Os tempos de vida obtidos foram iguais para os dois comprimentos de emissão, $\tau_1=9,4$ ps e $\tau_2=130$ ps. Em 600 nm, o tempo mais curto tem um coeficiente pré-exponencial negativo. A soma das duas pré-exponenciais é perto de zero, ou seja, a intensidade de fluorescência da base é zero no tempo zero (Figura 23, pág. 50).

Na presença de acetonitrila, esse coeficiente pré-exponencial continua negativo e, no decaimento em 480 nm, o tempo de vida mais longo, τ_1 , aumenta. Aparentemente, na presença de acetonitrila, há uma preferência da base quinoidal pelo solvente menos polar. Isto pode ser visto pela razão dos coeficientes pré-exponenciais, em que o peso do tempo de vida mais longo, a_1 , aumenta (isto é, $R=a_2/a_1$ diminui, Tabela 5 da pág. 51), Figura 51.

O comportamento das constantes de velocidade de desprotonação, k_d , protonação, k_p , e decaimento do estado singlete excitado da forma base quinoidal, k_A , é mostrado na Figura 52.

Figura 51: Razão dos coeficientes pré-exponenciais ($R=a_2/a_1$) em função da concentração de acetonitrila.

Figura 52: Constantes de velocidades de protonação, k_p , desprotonação, k_d , e decaimento do estado singlete excitado da base quinoidal, k_A , em função da concentração de acetonitrila.

Trabalhos recentes em nosso grupo, mostraram que micelas de detergente aniônico SDS são capazes de estabilizar preferencialmente a forma AH^+ de antocianinas como HMF (Vautier-Giongo *et al.*, 2002). Mostraram também que o equilíbrio ácido-base no estado excitado envolve outras constantes de velocidade na superfície da micela de SDS, devido à formação de um par compartimentalizado, simbolizado como $[A^{\cdot\cdot}H^+]^*$ (Giestas *et al.*, 2003), com vida finita durante o processo de desprotonação. Este par compartimentalizado, na qual o próton não está ligado ao cátion flavílio mas também ainda não se separa da forma base quinoidal, é um intermediário que decai através de competição entre reprotonação e escape do próton para a formação de A^* , Esquema 10.

Esquema 10

A existência do par compartimentalizado implica em mais duas constantes de velocidade em relação ao sistema em meio aquoso: a constante de velocidade de reprotonação, k_r , e a constante de velocidade de dissociação, k_{diss} .

Na presença de micelas de SDS, obtiveram-se três tempos de vida (Tabela 7, pág. 53). Dois destes tempos são da mesma ordem de magnitude dos dois tempos de vida encontrados em água, enquanto que o terceiro tempo é muito mais longo e só aparece em meio micelar (abaixo da cmc esse tempo desaparece). Isto ocorre porque uma fração das moléculas de AH^+ incorporadas às micelas é excitada em uma orientação em que não há uma molécula de água ao qual o grupo OH possa transferir seu próton no instante da excitação. Moléculas orientadas para o interior da micela teriam que submeter-se à uma rotação molecular para poder transferir o próton para a água. Para uma molécula orgânica catiônica em uma micela de SDS, esta rotação pode levar algumas centenas de picossegundos.

Estudos com pireno como sonda hidrofóbica em soluções micelares de SDS mostraram que, a partir de 20 % de acetonitrila, a sonda começa a migrar para fora da micela, com a formação de excímeros (Yihwa, 2000). O peso do tempo de vida longo, a_3 , não varia até 15 % de acetonitrila ($a_3=0,36$), sugerindo que não há moléculas de água na parte hidrofóbica da micela ao qual a espécie AH^+ possa transferir seu próton. Acima de 20 % de acetonitrila, o tempo de vida

longo, a_3 , começa a diminuir em função da concentração de acetonitrila. Devido às mudanças provocadas na estrutura do agregado pela acetonitrila, o AH^+ aparentemente começa a migrar para fora da micela e a fração das moléculas de $(AH^+)^*$, que não desprotona logo após a excitação, diminui. Ao mesmo tempo, o coeficiente pré-exponencial a_2 , relacionado com a espécie AH^+ , aumenta de 0,49 para 0,66 na faixa de concentração de acetonitrila de 0 % para 25 % (Tabela 7, pág. 53).

Na presença de micelas de SDS, no pH das medidas (pH~5,7), o peso do coeficiente a_1 (base quinoidal, A) é maior do que em meio aquoso, onde o pH foi muito menor (pH~1). Assim, a magnitude de R é substancialmente menor em micelas de SDS, em comparação com a água ($R_{SDS}=3,26$ e $R_{\text{água}}=61,5$). Uma vez que a_2 aumenta com a adição de acetonitrila como visto anteriormente, R conseqüentemente aumenta também, Figura 53.

Figura 53: Razão dos coeficientes pré-exponenciais ($R= a_2/a_1$) em função da concentração de acetonitrila.

Figura 54: Constantes de velocidade de desprotonação, k_d , dissociação do par compartimentalizado, k_{diss} , e recombinação do par compartimentalizado, k_r .

Na ausência de acetonitrila, o valor da constante de velocidade de dissociação do par compartimentalizado na superfície da micela de SDS ($k_{diss}=1,18 \times 10^9 \text{s}^{-1}$) é oito vezes menor do que k_r ($k_r=9,32 \times 10^9 \text{s}^{-1}$), ou seja, somente cerca de 12 % dos pares compartimentalizados desprotonam irreversivelmente para A^* . Com o aumento da concentração de acetonitrila (até 25 % de acetonitrila), essa razão diminui para um pouco mais de 3 vezes ($k_r=6,85 \times 10^9 \text{s}^{-1}$ e $k_{diss}=1,94 \times 10^9 \text{s}^{-1}$). A presença da acetonitrila no sistema contendo SDS diminui a constante de reprotonação e aumenta a dissociação do par compartimentalizado. Essas mudanças das constantes de velocidade estão associados com as mudanças das propriedades do agregado de SDS. A acetonitrila aumenta a fluidez do agregado e, ao mesmo tempo, diminui o tamanho do agregado, refletindo na desestabilização desse par compartimentalizado, de modo que aumenta a porcentagem dos pares compartimentalizados que desprotonam irreversivelmente para A^* .

No estado fundamental, a constante de velocidade de protonação (k_p) da forma básica do HMF em micelas de SDS ($1,8 \times 10^{11} \text{ L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$) é muito maior do que em água ($3,6 \times 10^{10} \text{ L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$). A protonação da forma básica da antocianina é controlado por difusão em água e a magnitude da constante de velocidade em SDS é consistente com valores conhecidos para entrada de espécies contra-iônicas em uma micela iônica (Yihwa, 2000). Isto sugere que a protonação ocorre via o encontro entre a base solubilizada na micela e um proton vindo da fase aquosa. O aumento de k_p entre a solução de SDS e água é de 5 vezes; na presença de 20 % de acetonitrila, essa diferença cai para 2 vezes ($k_{p \text{ SDS}} = 7,8 \times 10^{10} \text{ L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$ e $k_{p \text{ água}} = 3,0 \times 10^{10} \text{ L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$). Neste contexto, a mudança do pK_a não se deve tanto à variação de k_p e do pH local (Lima *et al.*, 2002) e sim à diminuição de k_d . A constante de desprotonação diminui 25 vezes entre água ($k_d = 1,4 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$) e a superfície micelar ($k_d = 3,6 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$). Uma vez que a estabilidade de AH^+ diminui na presença de acetonitrila, em 30 % de acetonitrila, k_d diminui apenas 9 vezes (em água $k_d = 2,7 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ e na superfície micelar $k_d = 3,0 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$).

5.3 - Estudos em Agregados de Sal Biliar

A ligação de moléculas em diferentes sítios no agregado de sal biliar é observada pelas diferentes constantes de velocidades de dissociação e eficiência de proteção. O comportamento de derivados de naftaleno, 1-etilnaftaleno (EtNp) e 1-naftil-1-etanol (NpOH), como sondas da dinâmica em agregados de colatos, mostraram que a dinâmica de ligação dessas duas sondas variam de uma ordem de magnitude e que estas se agregam em sítios diferentes de ligação. Na presença de acetonitrila, é necessário determinar a influência desta no tempo de vida dos estados excitados, nas constantes de velocidade dos processos de fotorreação e na dinâmica de migração dos estados excitados. A concentração máxima de acetonitrila em que ainda se mantém esses dois sítios distintos na estrutura do agregado depende da concentração de colato de sódio (NaCh).

Experimentos de supressão do estado excitado tripleto de EtNp mostraram que, até aproximadamente 5 % de acetonitrila, o agregado primário estava presente em 10 mM de colato de sódio, enquanto que, para 20 mM de colato de sódio, a concentração máxima de acetonitrila para manter o agregado primário foi de 9,1 %. Pouco acima dessas concentrações, ocorre a perda do agregado primário. No entanto, os valores de PE foram menores que 2, porém maiores que 1. Isto indica que ainda há interação de EtNp com moléculas de colato, mas de uma forma distinta daquele no sítio de ligação primária dos agregados. Quanto maior a concentração do sal biliar, maior a concentração de acetonitrila necessária para o valor de PE chegar a 1, ou seja, chegar aos valores similares àqueles na ausência de colato. Os resultados de supressão de fluorescência de EtNp pelo íon iodeto indicam que, na presença de quantidade moderada de acetonitrila (até 9,1 %), EtNp é solubilizado em um sítio similar ao sítio primário ocupado por este na ausência de acetonitrila. A diminuição do valor de K_{sv}^W/K_{sv}^{BS} indica que o sítio de ligação é menos rígido na presença de acetonitrila, facilitando o acesso do íon supressor à molécula fluorescente. Esta perda da rigidez é provavelmente devido a incorporação de moléculas de acetonitrila no agregado primário. Em altas concentrações de acetonitrila (mais que 16,7 %) os valores de

K_{sv}^W/K_{sv}^{BS} são menores que 3. Este resultado indica que a proteção de EtNp a altas concentrações de acetonitrila é menos eficiente que a proteção produzida pelo agregado secundário na ausência de acetonitrila. Por outro lado, a razão K_{sv}^W/K_{sv}^{BS} não é unitária. Assim, alguma interação ocorre entre EtNp e moléculas de NaCh. Entretanto, o pequeno valor de K_{sv}^W/K_{sv}^{BS} sugere ausência dos agregados primários em altas concentrações de acetonitrila.

No caso de NpOH, a dinâmica de sua incorporação no sítio secundário torna-se mais rápida quanto maior a concentração de acetonitrila, levando a uma diminuição na curvatura do gráfico de supressão comparado com aqueles observados na ausência de acetonitrila. Os valores de PE para NpOH, em 10mM de NaCh, foram unitárias em todas as concentrações de acetonitrila, ou seja, somente o agregado primário está presente na solução, reforçando a idéia que existe alguma interação quando PE é acima do valor unitário. Quando PE está acima do valor unitário mais abaixo de 2 indica que há uma interação com o grupo colato mas não a completa incorporação de NpOH no sítio de ligação.

Em 40 mM de NaCh, o valor de k_{dis} para NpOH, não muda em concentrações de acetonitrila até 5 %. Desse modo, parece que em baixas concentrações de acetonitrila o agregado secundário está intacta. Em 9,1 % de acetonitrila, o valor da constante de velocidade de dissociação aumentou comparado com a ausência de acetonitrila. Este aumento da dinâmica pode ser devido a uma mudança na polaridade do meio ou mesmo pela mudança na estrutura do agregado secundário. Pelos experimentos de supressão de fluorescência de NpOH, a razão K_{sv}^W/K_{sv}^{BS} diminuiu somente de 2,8 para 2,0, ou seja, a mudança do sítio secundário não é o fator determinante do aumento da dinâmica de dissociação e sim a diferença da polaridade do meio. Estudos com moléculas orgânicas mostraram que estas são solvatadas preferencialmente por um solvente orgânico (El Seoud *et al.*, 1997), contribuindo para a preferência do soluto para a fase aquosa.

Aumentando a concentração de NaCh diminui o valor de k_{dis} do EtNp, no sítio de ligação primário, de $3,5 \times 10^5 s^{-1}$ na presença de 10 mM NaCh para $0,9 \times 10^5 s^{-1}$ na presença de 40 mM de NaCh. Este resultado indica que a formação

do agregado secundário, que contém diversos agregados primários, faz diminuir a probabilidade de saída de EtNp para fase aquosa. Assim, uma molécula de EtNp que sai de um sítio primário vai para outro sítio primário no mesmo agregado, ao invés de sair para a fase aquosa. Isto explica a progressiva diminuição na k_{dis} com o aumento da concentração de NaCh, pois o número de agregados primários dentro da estrutura secundária aumenta com a concentração de colato.

Na presença de 10 mM de NaCh, EtNp liga aos agregados de NaCh somente em baixas concentrações de acetonitrila (até 5 %) e a adição de acetonitrila resulta em um aumento na k_{dis} da molécula do agregado. Na presença de 20 mM de colato, o valor de k_{dis} aumentou de $0,23 \times 10^6 s^{-1}$ na ausência de acetonitrila para $1 \times 10^6 s^{-1}$ na presença de 9,1 % acetonitrila. Este último valor é perto de k_{dis} para EtNp ligado a sítio do agregado secundário, estimado utilizando naftaleno como modelo (Quina *et al.*, 1995). Entretanto, o EtNp não fica no sítio do agregado secundário em altas concentrações de acetonitrila porque, para concentrações de acetonitrila menores que 9,1 %, os valores de PE e K_{sv}^W/K_{sv}^{BS} são muito maiores do que seria esperado para uma molécula ligada ao sítio secundário. Por esta razão, o aumento de valor de k_{dis} é devido às mudanças na estrutura do agregado primário na presença de acetonitrila, provavelmente devido à incorporação de moléculas de acetonitrila no agregado. Finalmente, os experimentos de fluorescência confirmam que os agregados primários não estão presentes em concentrações de acetonitrila acima de 16,7 %, uma vez que o valor de K_{sv}^W/K_{sv}^{BS} é muito baixo.

De um modo geral, desde que a concentração de acetonitrila não seja maior que 9,1 %, a acetonitrila não rompe a estrutura do agregado de colato a ponto que a formação do sítio primário e secundário do agregado fossem comprometidos. Uma sonda ligada ao agregado primário, como EtNp, não move para o sítio secundário quando aumenta a concentração de acetonitrila, mas a constante de saída da sonda do sítio primário aumenta. Este resultado mostra que a acetonitrila é um efetivo co-solvente para modular a solubilidade e dinâmica de ligação de sondas em agregados de sal biliar.

6 - CONCLUSÕES

Neste trabalho, estudou-se 5 tipos distintos de reações em solução aquosa de tensoativo (SDS, CTAB e sal biliar) na presença e ausência de acetonitrila: (a) reatividade do estado triplete de n-butil-3-nitrofenil éter; (b) reação de hidrólise ácida do 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano; (c) constante de incorporação do co-íon N-dodecil-4-cianopiridínio; (d) a protonação/desprotonação nos estados excitado e fundamental do ácido 4-metil-7-hidroxi-flavílio (HMF); e (e) a supressão dos estados excitados de 1-etilnaftaleno e 1-(1-naftil)-etanol.

As reações em meio micelar mostraram, de maneira geral, que a acetonitrila afeta a constante de incorporação dos solutos orgânicos e a dinâmica das moléculas nos sítios de solubilização. As constantes de incorporação (utilizando o 2-(p-octoxifenil)-1,3-dioxolano e o íon N-dodecil-4-cianopiridínio) diminuem em consequência do aumento da velocidade de saída do soluto do agregado devido, por sua vez, às mudanças que ocorrem no meio aquoso e na estrutura micelar. Mudanças na micela, como diminuição do tamanho e aumento da fluidez interna e aumento do grau de dissociação, reflete na diminuição do tempo de residência de soluto, como o n-butil-3-nitrofenil éter, dentro do agregado e desestabilização de moléculas intermediárias como no caso do par-geminado de HMF. Em solução aquosa, a mudança da viscosidade do sistema água-acetonitrila faz com que ocorra um pequeno aumento da velocidade de encontros entre sonda e supressor visto no sistema utilizando as sondas 1-etilnaftaleno e 1-(1-naftil)-etanol.

O agregado de sal biliar possui dois sítios distintos de ligação de solutos e a concentração mínima de sal biliar necessária para formar esses dois sítios depende da concentração de acetonitrila. Em concentrações acima de 10 % somente ocorre a formação do agregado primário, enquanto que acima de 23 % os agregados se desfazem por completo. Em baixas concentrações de acetonitrila (até aproximadamente 10 %), a dinâmica de dissociação de solutos do agregado secundário do sal biliar não modifica muito, enquanto que a velocidade de saída de solutos do agregado primário aumenta com a presença da acetonitrila. Desse modo, a acetonitrila pode ser empregada para acelerar a saída de uma espécie, tal como um intermediário reativo, do agregado primário, facilitando a aplicação de agregados de sal biliar como micro-reatores com dois sítios distintos de reação.

7 - REFERÊNCIAS

- Agmon, N.; Gopich, I. V. (1999), *Chem. Phys. Letters*, **302**, 399.
- Albuin, E.; Lissi, E. (1986) *J. Colloid Interface Sci.*, **112**, 178.
- Albuin, E.; Lissi, E. (1991) *J. Colloid Interface Sci.*, **143**, 97.
- Albuin, E.; Lissi, E. (1992) *J. Colloid Interface Sci.*, **151**, 594.
- Almgren, M.; Grieser, F.; Thomas, J. K. (1979) *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 279.
- Almgren, M.; Löfroth, J. E.; Vanstam, J. (1986), *J. Phys. Chem.*, **90**, 4431.
- Alonso, E. O.; Quina, F. H. (1995a), *J. Braz. Chem. Soc.*, **6**, 155.
- Alonso, E. O.; Quina, F. H. (1995b), *Langmuir*, **11**, 2459.
- Attwood D.; Florence A. T. (1983), in: “*Surfactant Systems. Their Chemistry Pharmacy and Biology*”, Chapman and Hall, London.
- Barbosa, J.; Sanz-Nebot, V. (1995), *Fresen. J. Anal. Chem.*, **353**, 148.
- Barbosa, J.; Barrón, D.; Bérge, R.; Sanz-Nebot, V.; Toro, I. (1997) *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **93**, 1915.
- Bakshi, M. S. (1996), *Bull. Chem. Soc. Japan*, **69**, 2723.
- Barros, T. C.; Stefaniak, K.; Holzwarth, J. F.; Bohne, C. (1998) *J. Phys. Chem A*, **102**, 5639.
- Bertie, J. E.; Lan, Z. (1997), *J. Phys. Chem. B*, **101**, 4111.
- Bohne, C. (2000), “*Dynamics of Probe Interaction with Bile Salt Aggregates*”, in: *Organized Assemblies in Chemical Analysis*, W.L. Hinze Ed.; JAI Press Inc., Stamford, **2**, 147.
- Bonilha, J.B.S.; Chaimovich, H.; Toscano, V.G.; Quina, F.H. (1979), *J. Phys. Chem.*, **83**, 2463.
- Bonilha, J. B. S.; Chiericato Jr., G.; Martins-Franchetti, S. M.; Ribaldo, E. J.; Quina, F. H. (1982), *J. Phys. Chem*, **86**, 4941.
- Bonilha, J.B.S.; Tedesco, A.C.; Nogueira, L.C.; Diamantino, M.T.R.S.; Carreiro, J.C. (1993), *Tetrahedron*, **49**, 3053.
- Bonilha, J.B.S.; Tedesco, A.C.; Naal, R.M.Z.G.; Carreiro, J.C. (1994), *Tetrahedron*, **50**, 3071.
- Bunton, C. A.; Savelli, G. (1986), *Adv. Phys. Org. Chem.*, **22**, 213.

- Bunton, C. A.; Nome, F. J.; Quina, F. H.; Romsted, L. S. (1991), *Accounts Chem. Research*, **24**, 357.
- Carmeli, I.; Huppert, D.; Tolbert, L. M.; Haubrich, J. E. (1996), *Chem. Phys. Letters*, **260**, 109.
- Chaimovich, H.; Aleixo, R. M. V.; Cuccovia, I. M.; Zanette, D.; Quina, F. H. (1982), in: *"Solution Behavior of Surfactants - Theoretical and Applied Aspects"*, K. L. Mittal & E. J. Fendler, Eds., Plenum Press: New York, NY; **2**, 949.
- Dill, K. A.; Flory, P. J. (1981), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 676.
- El Seoud, O. A.; El Seoud, M. I.; Farah, J. P. S. (1997), *J. Org. Chem.*, **62**, 5928.
- Elworthy, P. H.; Florence, A. T.; MacFarlane, C. B. (1968), in: *"Solubilization by Surface Active Agents"*, Chapman and Hall, London.
- Espinosa, S.; Bosch, E.; Rosés, M. (2002), *Anal. Chem*, **74**, 3809.
- Fendler, J. H. (1982), *"Membrane Mimetic Chemistry"*, Wiley: New York.
- Fernandes, R. A.; Bodas, M. S.; Kumar, P. (2002), *Tetrahedron*, **28**, 1223.
- Fife, T. H.; Jao, L. K. (1965), *J. Org. Chem.*, **30**, 1492.
- Figueiredo, P.; Lima, J. C.; Figueiredo, Santos, H.; Wigand, M. C.; Brouillard, R.; Maçanita, A. Pina, F. (1994) *J. Amer. Chem. Soc.*, **116**, 1249.
- Fromherz, P. (1981), *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem.*, **85**, 891.
- Furtado, P.; Figueiredo, P.; Neves, H. C.; Pina, F. (1993), *J. Photochem. Photobiol. A*, **75**, 113.
- Gehlen, M. H., & DeSchryver, F. C. (1993), *Chem. Revs.*, **93**, 199.
- Geiger, M. W.; Turro, N. J. (1975) *J. Photochem. Photobiol.*, **22**, 273.
- Giestas, L.; Yihwa, C.; Lima, J. C.; Vautier-Giongo, C.; Lopes, A.; Maçanita, A. L.; Gosh, K. K.; Roy, S. (1998) *Indian J. Chem.*, **37B**, 875.
- Gruen, D. W. R. (1985), *Prog. Colloid Polym. Sci.*, **70**, 6.
- Hartley, G. S. (1939), *Kolloid Z.*, **88**, 22.
- Hinze, W. L. (2000) In: *Organized Assemblies in Chemical Analysis*, W.L. Hinze Ed., JAI Press Inc., Stamford, **2**, 1.
- Horiuchi, H.; Yokawa, A.; Okutsu, T.; Hiratsuka, H. (1999) *Bull. Chem. Soc. Japan*, **72**, 2429.

- Ionescu, L. G.; Fávere, V. T. (1982), in: *Solution Behavior of Surfactants - Theoretical and Applied Aspects* (K. L. Mittal & E. J. Fendler, Eds.), Plenum Press: New York, **1**, 407.
- Infelta, P. P.; Grätzel, M.; Thomas, J. K. (1974), *J. Phys. Chem.*, **78**, 190.
- Ireland, J. F.; Wyatt, P. A. H. (1976) *Adv. Phys. Org. Chem*, **12**, 131.
- Jaquier, J. C.; Desbène, P. L. (1996) *J. Chromatogr. A*, **743**, 307.
- Jakobi, G.; Löhr, A. (1987) "*Detergents and textile washing: Principles and practice*", 1^a ed., VCH.
- Jellema, R.; Bulthuis, J.; van der Zwan, G. (1997) *J. Mol. Liquids*, **73**, 179.
- Ju, C.; Bohne, C. (1996) *J. Phys. Chem.*, **100**, 3847.
- Kalyanasundaram, K. (1987), "*Photochemistry in Microheterogeneous Systems*", Academic Press, Orlando.
- Khan, M. N.; Arfin, Z. (1997), *Colloid Surf. A.*, **125**, 149.
- Kleiman, M. H.; Bohne, C. (1997), "*Use of Photophysical Probes to Study Dynamic Processes in Supramolecular Structures*". In: *Molecular and Supramolecular Photochemistry*, V. Ramamurthy, K. S. Schanze, Eds.; Marcel Dekker: New York, **1**, 391.
- Landquist, J. K. (1976) *J. Chem. Soc. Perkin I*, 545.
- Li, Y.; Holzwarth J.F.; Bohne C. (2000) *Langmuir*, **16**, 2038.
- Lima J. C.; Danesh, P.; Figueiredo, P.; Pina, F. S.; Maçanita, A. (1994), *Photochem. Photobiol.*, **59**, 412.
- Lima, J. C.; Abreu, I.; Brouillard, R.; Macanita. A. L. (1998) *Chem. Phys. Letters*, **298**, 189.
- Lima, J. C.; Valtier-Giongo, C.; Lopes, A.; Melo, E.; Quina, F.; Maçanita, A. L. (2002) *J. Phys. Chem. A*, **106**, 5851.
- Liao, Y.; Bohne, C. (1996) *J. Phys. Chem.*, **100**, 734.
- López-Grío, S; Baeza-Baeza, J. J.; García-Alvarez-Coque, M. C. (1998), *Chromatographia*, **48**, 655.
- Maestri, M.; Pina, F.; Roque, A.; Passaniti, P. (2000), *J. Photochem. Photobiol. A*, **137**, 21.
- Malliaris, A.; Lang, J.; Sturm, J.; Zana, R. (1987) *J. Phys. Chem.*, **91**, 1475.

- Malliaris, A (1988), *Int. Rev. Phys. Chem.*, **7**, 95.
- Marcus, Y.; Migron, Y. (1991), *J. Phys. Chem.*, **95**, 400.
- Menger, F. M. (1979), *Acc. Chem. Res.*, **12**, 111.
- Menger, F. M.; Boyer, B. J. (1986), *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 1297.
- Menger, F. M.; Boyer, B. J. (1980), *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 5936.
- Moreira Jr., P. F.; Giestas, L.; Yihwa, C.; Vautier-Giongo, C.; Quina, F. H.; Maçanita, A. L.; Lima, J. C. (2003), *Phys. Chem. A* **107**, 4204.
- Maçanita, A. L.; Moreira, P.; Lima, J. C.; Quina, F.; Yihwa, C.; Valtier-Giongo, C. (2002) *J. Phys. Chem. A*, **106**, 1248.
- Miola, L.; Abarkeli, R. B.; Ginani, M. F.; Berci Filho, P.; Toscano, V. G.; Quina, F. H. (1983) *J. Phys. Chem.*, **87**, 4417.
- Mountain, R. D. (1999) *J. Phys. Chem. A*, **103**, 10744.
- Mukerjee, P. (1962) *J. Phys. Chem*, **66**, 1733.
- Nassar, P. M., Naal, R. M. Z. G., de Pauli, S. H., Bonilha, J. B. S., Okano, L. T., & Quina, F. H. (1997), *J. Colloid Interface Sci.*, **190**, 461.
- Novaki, L. P.; El Seoud, O. A. (1997), *Ber Bunsenges. Phys. Chem.*, **101**, 6, 902.
- Okano, L. T., Alonso, E. O., Waissbluth, O. L.; Quina, F. H. (1996), *Photochem. Photobiol.*, **63**, 746.
- Pina, F.; Benedito, L.; Melo, M. J.; Parola, A. J.; Bernardo, A. (1996) *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **92**, 1693.
- Pina, F.; Benedito, L. Melo, M. J.; Parola, A. J.; Lima J. C.; Maçanita, A. L. (1997) *Anal. Quím. Int. Ed.*, **93**, 111.
- Pina, F. (1998) *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **94**, 2109.
- Pina, F.; Melo, M. J.; Alves, S.; Ballardini, R.; Maestri, M.; Passaniti, P. (2001) *New J. Chem.*, **25**, 747.
- Pines, E.; Fleming, G. R. (1991) *J. Phys. Chem.*, **95**, 10448.
- Politi, M. J.; Chaimovich, H. (1991) *J. Phys. Org. Chem.*, **4**, 207.
- Pramauro, E.; Pelizzetti, E. (1996), in: "*Surfactants in Analytical Chemistry - Applications of Organized Amphiphilic Media*", Elsevier: Amsterdam, 323.
- Quina, F. H.; Chaimovich, H. (1979) *J. Phys. Chem.*, **83**, 1844.
- Quina, F. H.; Alonso, E. O.; Farah, J. P. S. (1995) *J. Phys. Chem.*, **99**, 11708.

- Ramamurthy, V. (1991) "*Photochemistry in Organized and Constrained Media*", VCH: Publishers: New York, 875.
- Ranganathan, R.; Okano, L. T.; Yihwa, C.; Alonso, E. O.; Quina, F. H. (1999a), *J. Phys. Chem B.*, **103**, 1997.
- Ranganathan, R.; Okano, L. T.; Yihwa, C.; Quina, F. H., (1999b), *J. Colloid Interface Sci.*, **214**, 238.
- Rinco, O.; Nolet, M.; Ovans, R.; Bohne C. (2003), *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2**, 1140.
- Rinco, O.; Kleinman; M.H; Bohne, C. (2001) *Langmuir*, **17**, 5781.
- Rodrigues, M. A.; Alonso, E. O.; Yihwa, C.; Farah, J. P. S.; Quina, F. H. (1999), *Langmuir*, **15**, 6770.
- Roque, A.; Pina, F.; Alves, S.; Ballardini, R.; Maestri, M.; Balzani, V. (1999), *J. Mater. Chem.*, **9**, 2265.
- Ruzza, A.A.; Nome, F.; Zanette, D.; Romsted, L.S. (1995), *Langmuir*, **11**, 2393.
- Ruzza, A.A.; Walter, M. R. K.; Nome, F.; Zanette, D. (1992), *J. Phys. Chem*, **96**, 1463.
- Santos, H.; Turner, D. L.; Lima, J. C.; Figueiredo, P.; Pina, F. S.; Maçanita, A. L. (1993), *Phytochemistry*, **33**, 1227.
- Scaiano, J. C.; Selwyn, J. C. (1981), *J. C. Can. J. Chem*, **59**, 2368.
- SDA: The Soap and Detergent Association: <http://www.sdahq.org/sdalatest/html/soaphistory1.htm>; acessada em setembro de 2004.
- Shinoda, K.; Soda, T. (1963), *J. Phys. Chem*, **67**, 2072.
- Small, D. M.; Penkett, S. A.; Chapman, D. (1969), *Biochim. Biophys. Acta*, **176**, 178.
- Solntsev, K. M.; Huppert, D.; Agmon, N. (1999), *J. Phys. Chem*, **103**, 6984.
- Solntsev, K. M.; Agmon, N. (2000), *Chem. Phys. Letters*, **320**, 262.
- Tachiya, M. (1975), *Chem. Phys. Lett.*, **33**, 289.
- Tachiya, M. (1987), in: "*Kinetics of Nonhomogeneous Processes*" (G. R. Freeman, Ed.), Wiley: New York; 575.
- Takamuku, T.; Tabata, M.; Yamaguchi, A.; Nishimoto, J.; Kumamoto, M.; Wakita, H.; Yamaguchi, T. (1998), *J. Phys. Chem. B*, **102**, 8880.

- Tedesco, A. C.; Nogueira, L. C.; Carreiro, J. C.; Costa, A. B.; Bonilha, J. B. S.;
Moreira Jr., P. F.; Alonso, E. O.; Quina, F. H. (2000), *Langmuir*, **16**,134.
- Tolbert, L. M.; Solntsev, K. M. (2002), *Acc. Chem. Res.*, **35**, 19.
- Turro, N. J.; Okubo, T.; Chung, C. J. (1982) *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 1789.
- Turro, N. J.; Yekta, A. (1978) *J. Amer. Chem. Soc.* **100**, 5951.
- Vautier-Giongo, C.; Yihwa, C.; Moreira Jr., P. F.; Lima, J. C.; Freitas, A. A.; Quina,
F. H.; Maçanita, A. L. (2002), *Langmuir*, **18**, 10109.
- Verrall, R. E. (1995) *Chem. Soc. Revs.*, **24**, 135-142.
- Wakisaka, A.; Takahashi, S.; Nishi, N. (1995), *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **91**,
22, 4063.
- Yihwa, C. (2000) *Dissertação de Mestrado*, Instituto de Química - USP.
- Zana, R. (1995), *Adv. Colloid Interf. Sci.*, **57**, 1-64.
- Zhang, D.; Gutow, J. H.; Eiseenthal, K. B.; Heinz, T. F. (1993), *J. Chem Phys.* **98**, 6,
5099.