

Interação de ácido algínico com surfactantes catiônicos em solução aquosa

Shirley Rosana de Oliveira

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Biofísica Molecular, área de concentração em Biofísica Molecular do Departamento de Física do Instituto de ciências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – UNESP.

Orientador: **Prof. Dr. Eloi da Silva Feitosa**

São José do Rio Preto
Estado de São Paulo – Brasil
2 de junho de 2006

I. Introdução	1
1. Sistemas Gerais.....	2
1.1 - Polímeros.....	2
1.2 - Polissacarídeos.....	5
1.3 - Surfactantes.....	7
1.4 - Interações Polímeros – Surfactantes.....	10
1.5 - Aplicações.....	15
2. Sistema em Estudo.....	17
2.1 - Ácido Algínico (AcA).....	17
2.2 - Brometo de Dodeciltrimetilamônio (DTAB).....	19
2.3 - Brometo de Didodecildimetilamônio (DDAB).....	19
2.4 - Interação entre AcA e DTAB.....	20
2.5 - Interação entre AcA e DDAB.....	21
2.6 - Métodos de Estudo.....	22
2.6.1 - Diagrama de Fases.....	22
2.6.2 - Tensão Superficial.....	23
2.6.3 - Reologia.....	25
2.6.4 - Eletroforese em Gel.....	27
2.6.5 - Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS).....	28
2.6.6 - Calorimetria por Titulação Isotérmica.....	30
II. Objetivos	32
III. Materiais e Métodos	33
1. Materiais	33
2. Métodos	33
2.1 - Diagramas de Fases	33
2.2 - Diagramas de Concentração Crítica de Eletrólitos (CEC).....	34
2.3 - Testes de Solubilidade	35
2.4 - Tensão Superficial.....	36
2.5 - Reologia	36
2.6 - Eletroforese em Gel	37
2.7 - Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	38

2.8 - Calorimetria por Titulação Isotérmica.....	39
IV. Resultados e Discussão	40
1. Sistema AcA/DTAB/água	40
1.1 - Diagramas de Fases	40
1.2 - Diagramas de Concentração Crítica de Eletrólito (CEC)	46
1.3 - Tensão Superficial.....	47
1.4 - Testes de Solubilidade.....	49
1.5 - Reologia.....	52
1.6 - Eletroforese em Gel	64
1.7 - Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS).....	65
1.8 - Calorimetria por Titulação Isotérmica.....	66
1.9 - Mecanismo proposto de formação dos complexos AcA-DTAB	71
2. Sistema AcA/DDAB/água	74
V. Conclusões	77
VI. Referências Bibliográficas	79

Lista de Figuras

	Página
Figura 1- Representação esquemática de um polieletrólito aniônico em solução aquosa.....	3
Figura 2- (a) Representação esquemática de micelas esférica e cilíndrica; (b) Corte de uma micela esférica catiônica, onde os círculos maiores marcados com (+) são os grupos de cabeça catiônicos e os círculos menores marcados com (−) são os contra-íons aniônicos; (c) Representação esquemática de uma vesícula.	9
Figura 3- Estrutura molecular básica do ácido algínico (AcA), MM = 240 kDa.....	17
Figura 4- Estruturas moleculares dos surfactantes catiônicos: (a) brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB) e (b) brometo de didodecildimetilamônio (DDAB).	20
Figura 5- Representação esquemática da adsorção na superfície água-ar de complexos surfactante-polieletrólito, entre um surfactante catiônico e um polieletrólito aniônico.....	21
Figura 6- Diagrama ternário de fases indicando uma mistura dos componentes A, B e C, nas seguintes composições: 20, 70 e 10% (m/m) de A, B e C, respectivamente, totalizando 100% de massa total na mistura..	23
Figura 7- Diagrama de Fases Ternário do sistema AcA/DTAB/água a 25°C, onde região1: isotrópica, 2: duas fases, 3: gel e 4: cristalizada.....	41
Figura 8- Diagrama de Fases Ternário do sistema: AcA/DTAB/água a 25°C, onde região1: isotrópica, 2: multifases e 3: gel.	43
Figura 9- Diagrama de Fases do Sistema pseudo-binário AcA/DTAB/Água, em 99% de água, a 25°C, na ausência e presença de NaBr. F ₁ : gel, F ₂ : gel com partículas em suspensão, F ₃ : multifases, F ₄ : isotrópica com aderências nas paredes, F ₅ : isotrópica.	45
Figura 10- Diagrama da CEC de Sais de Sódio, na presença de 0,1% (m/m) de AcA.	48
Figura 11- Efeito de DTAB na tensão superficial da mistura AcA/DTAB/água. Do intercepto das curvas obtemos CAC = 0,08 mM. Medidas realizadas a 25 °C.	48
Figura 12- Limites Inferiores de Solubilidade do Sistema AcA/DTAB/NaBr/água para AcA de 0,1 a 0,5% (m/m), a 25°C.	49

Figura 13- Limites de Solubilidade do Sistema AcA/DTAB/NaBr/água para AcA 0,1% (m/m), a 25°C, onde ϕ_1 é região homogênea, ϕ_2 é região de precipitação e ϕ_3 é região de ressolubilização do sistema.....	50
Figura 14- Limites de Solubilidade do Sistema AcA/DTAB/NaBr/Água para AcA de 0,1 a 0,3% (m/m), com 10mM de NaBr, a 25°C.	51
Figura 15 - Limites de Solubilidade do Sistema AcA/DTAB/NaBr/Água para AcA de 0,1 a 0,3% (m/m), com 20mM de NaBr, a 25°C.	52
Figura 16- Reograma de tensão de cisalhamento (τ) em função de taxa de deformação (γ) de solução aquosa do ácido algínico (AcA), em concentrações variando de 0,6 a 1% (m/m), a 25°C.....	53
Figura 17- Viscosidade aparente (μ_{ap}) de solução aquosa do ácido algínico (AcA), em concentrações variando de 0,1 a 0,5% (m/m), em função da taxa de deformação (γ), a 25°C.	55
Figura 18- Viscosidade aparente (μ_{ap}) de solução aquosa do ácido algínico (AcA), em concentrações variando de 0,6 a 1% (m/m), em função da taxa de deformação (γ), a 25°C.	56
Figura 19- Viscosidade aparente (μ_{ap}) de solução aquosa de AcA, em função da taxa de deformação (γ), a 25°C, com AcA variando de 0,1 a 0,5% (m/m), na presença de NaBr nas concentrações de: (a) 10; (b) 50; (c) 100; (d) 500; (e) 750; (f) 1000 mM.	57
Figura 20- Viscosidade aparente (μ_{ap}) de solução aquosa de AcA 0,1% (m/m) em função da taxa de deformação (γ), com NaBr variando de 10 a 1000 mM, a 25°C.....	58
Figura 21- Viscosidade aparente (μ_{ap}) do sistema AcA/DTAB/água em função da concentração de sal, para AcA variando de 0,1 a 0,5% (m/m), nas fronteiras inferiores de solubilização, com taxa de deformação (γ) de 1500 s ⁻¹ , a 25°C.....	61
Figura 22- Viscosidade aparente (μ_{ap}) do sistema AcA/DTAB/água em função da concentração de NaBr, para AcA variando de 0,1 a 0,5% (m/m), com 1mM de DTAB e taxa de deformação(γ) de 1500 s ⁻¹ , a 25°C.	63

Figura 23- Viscosidade aparente (μ_{ap}) do sistema AcA/DTAB/água em função da concentração de NaBr, para AcA 0,1% (m/m) com taxa de deformação(γ) de 1500 s^{-1} , a 25°C	63
Figura 24- Eletroforese em gel das amostras de AcA 0,1% na ausência (amostra 1) e presença de DTAB (demais), nas regiões ϕ_1 e ϕ_3 do diagrama de solubilidade do sistema AcA/DTAB/NaBr/água (Figura 13). Bandas de migração das amostras: (1) AcA; (2) DTAB: 1 mM, NaBr: 10 mM; (3) DTAB: 20 mM, NaBr: 10 mM; (4) DTAB: 1 mM, NaBr: 100 mM; (5) DTAB: 1 mM, NaBr; 300 mM, (6) DTAB: 35 mM, NaBr: 300 mM. As bandas 3 e 6 migram para a direção da base (para baixo) e as demais, na direção do ácido (para cima).	64
Figura 25- Efeito de NaBr no raio hidrodinâmico de AcA e dos complexos AcA com monômeros e micelas de DTAB, para AcA 0,1% (m/m), 1 mM e 35 mM de DTAB, respectivamente, a 25°C	66
Figura 26- Calor de interação de DTAB com água, obtido por ITC a 25°C . CMC = 15,6 mM e entalpia de micelização $\Delta H = -2\text{ kJ/mol}$	67
Figura 27- Calor de interação de DTAB com AcA 0,01% (m/m) em água, obtido por ITC a 25°C . Não há região de precipitação. As setas indicam concentrações críticas de interação que ocorrem no sistema.	68
Figura 28- Calor de interação de DTAB com água pura e com AcA 0,01% (m/m) em água, obtido por ITC a 25°C , ou seja, as curvas das Figuras 26 e 27 juntas. A diferença entre essas curvas fornece o calor de interação de DTAB com AcA.....	69
Figura 29- Calor de interação de DTAB com AcA 0,1% (m/m) em água, obtido por ITC a 25°C . A região de precipitação está entre ca 2-11 mM de DTAB.	70
Figura 30- Calor de interação de DTAB com AcA 0,1% (m/m) em solução aquosa de NaBr 10 mM. $C_1 = 2.3\text{ mM}$, $C_2 = 16,7\text{ mM}$ e $C_3 = 21.4\text{ mM}$	70
Figura 31- Mecanismo proposto de formação do complexo AcA-DTAB em solução aquosa de NaBr. Para simplificar, o surfactante (círculo amarelo) foi desenhado sem cauda.....	73
Figura 32- Diagrama de Fases Ternário do sistema AcA/DDAB/água a 25°C , onde região1: birrefringente, 2: duas fases, 3: gel, 4: homogênea (branca) e 5: cristalizada.	75

Figura 33- Diagrama de Fases Ternário do sistema: AcA/DDAB/água a 25°C, onde região 1: birrefringente, 2: multifases e 3: gel..... 76

Lista de Tabelas

Página

Tabela 1- Concentrações de DTAB (mM) necessárias para manter o sistema homogêneo, nos limites inferiores de solubilidade.	60
--	----

Resumo

Foram construídos diferentes diagramas de fases dos sistemas ácido algínico (AcA)/brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB)/solução aquosa e ácido algínico (AcA)/brometo de didodecildimetilamônio (DDAB)/solução aquosa, contendo ou não NaBr. DTAB e DDAB são surfactantes catiônicos homólogos com uma e duas cadeias hidrocarbônicas, respectivamente. Foram obtidas duas fases homogêneas (ϕ_1 e ϕ_3), e uma fase heterogênea intermediária de agregados e cristais hidratados. Estudos reológicos, de espalhamento de luz, de eletroforese em gel e de tensão superficial foram realizados de amostras nas regiões homogêneas a baixa (ϕ_1) e elevada (ϕ_3) concentração de DTAB e um modelo do mecanismo de complexação de AcA-DTAB foi proposto.

As amostras na fase ϕ_1 apresentaram comportamento de fluido não newtoniano, embora em elevadas concentrações de NaBr, tenderam a voltar ao comportamento newtoniano. Na ausência de NaBr, AcA e DTAB não formaram solução homogênea, mas na presença do sal, DTAB inicialmente (em ϕ_1) se ligou ao polímero na forma de monômeros, formando complexos aniônicos com AcA, até completa neutralização do polímero, quando então ocorreu precipitação. Na região de precipitação (ϕ_2) se formaram micelas de DTAB, que seqüestraram monômeros de DTAB dos complexos precipitados até a completa re-suspensão do polieletrólito na fase ϕ_3 , que, através de forte interação eletrostática, formou complexos catiônicos de AcA-micelas de DTAB altamente compactos. O raio hidrodinâmico (R_H) do polímero foi muito grande e a solução polidispersa, mas diminuiu acentuadamente com a adição de NaBr, até atingir um valor mínimo em torno de 450 nm. DTAB também teve um forte efeito na redução de R_H , que alcançou esse mesmo valor mínimo. Os complexos de AcA com micelas de DTAB na fase ϕ_3 eram altamente compactos, com R_H da ordem de 170 nm. O diagrama de fases do sistema ternário AcA/DDAB/solução aquosa foi construído na

ausência de NaBr e se obtiveram pequenas regiões homogêneas, devido à intensa força eletrostática atrativa entre o polieletrólito e os agregados de DDAB.

Abstract

Phase diagrams for the systems alginic acid (AcA)/dodecyltrimethylammonium bromide (DTAB)/aqueous solution and alginic acid (AcA)/didodecyldimethylammonium bromide (DDAB)/aqueous solution were constructed at 25°C in presence or absence of NaBr. DTAB e DDAB are single and double chain homologue cationic surfactants. Two single phase (ϕ_1 e ϕ_3) were found in addition to an intermediary heterogeneous phase of aggregates and hydrated crystals. Rheological investigation, dynamic light scattering, gel electrophoresis and tensiometry were performed for homogeneous samples at low (ϕ_1) and high (ϕ_3) DTAB concentrations and a model for the mechanism of formation of AcA-DTAB complex proposed.

Samples from phase ϕ_1 have a non newtonian behavior, but at high NaBr concentrations samples in phase ϕ_1 tend to turn newtonian. In absence of NaBr, AcA and DTAB do not form homogeneous solution, but in presence of salt, DTAB initially (in ϕ_1) bind to the polymer backbone as monomer, to form anionic complexes with AcA until complete neutralization of the polyelectrolytes that ultimately precipitate. In the precipitation region (ϕ_2) the excess surfactant form DTAB micelles that “steal” DTAB monomers from the precipitate complexes until complete re-solubilization of the polyelectrolytes in phase ϕ_3 , that form, through strong electrolyte interactions, highly compact cationic complexes with DTAB micelles. The hydrodynamic radius (R_H) of AcA in solution is huge and polydisperse, but it decreases steeply with addition of NaBr to attain a plateau around $R_H = 450$ nm after 50 mM NaBr. DTAB also affects strongly the R_H of the AcA polyelectrolyte that attains the same minimum value. The complexes of AcA with DTAB micelles within phase ϕ_3 are highly compact with of about 170 nm. The ternary phase diagram of AcA/DDAB/aqueous solution was constructed in the absence of NaBr and obtained small regions of homogeneous solution

owing to the strong attractive electrostatic interaction of the polyelectrolytes with the DDAB aggregates.

I - Introdução

Polímeros e surfactantes estão presentes numa grande variedade de produtos, apresentando propriedades especiais que dependem da natureza desses compostos, da composição e da interação entre eles. Esta interação depende das características dos componentes, como carga elétrica e hidrofobicidade, dentre outras (JÖNSSON et al, 1998). Os sistemas contendo polímeros e surfactantes têm sido muito estudados, devido à grande importância econômica, científica e tecnológica de aplicações na fabricação de tintas, alimentos, gêneros médicos e farmacêuticos e detergentes, gerando grande interesse acadêmico (GALATANU et al., 2000).

Neste trabalho foram utilizados diferentes métodos para investigar a interação do polissacarídeo aniônico ácido algínico (AcA) com os surfactantes catiônicos brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB) e brometo de didodecildimetilamônio (DDAB). Este polieletrólito tem muitas aplicações práticas, sobretudo em indústrias de alimentos, onde é muito utilizado como estabilizante, gelificante e espessante (OERTHER *et al.*, 1999), também tem sido considerado como um veículo potencial em soluções oftálmicas, para prolongar o efeito terapêutico de determinadas substâncias, além de exibir propriedades biológicas como biodegradabilidade e não ser tóxico (SÉCHOY *et al.*, 2000). A adição de surfactantes em solução aquosa de AcA pode alterar as propriedades reológicas do sistema. Apesar disso, encontramos poucos trabalhos na literatura sobre a mistura de AcA com surfactantes catiônicos em solução. Esses sistemas podem ser aplicados, por exemplo, no preparo de sobremesas lácteas, as quais podem apresentar defeitos de processamento relacionados aos efeitos causados pela tensão superficial, que poderiam ser diminuídos pela presença de surfactante.

1 – Sistemas Gerais

1.1 – Polímeros

Polímeros são macromoléculas constituídas de unidades químicas repetitivas (*monômeros*), ligadas covalentemente entre si, de maneira linear ou ramificada. Proteínas, polissacarídeos e DNA são polímeros naturais encontrados nos animais, e a celulose, o amido e as gomas são polímeros existentes nas plantas. O plástico e adesivos são exemplos de polímeros sintéticos. Os polímeros naturais frequentemente apresentam caráter polieletrólítico, tornando-os altamente solúveis em água. Quando dissolvidos em água, dissociam-se parcialmente em macro-íons e contra-íons, que se atraem eletrostaticamente e se afastam devido ao movimento térmico, formando um gradiente de concentração iônica em torno do macro-íon, que diminui exponencialmente com a distância à carga elétrica do macro-íon, denominada *dupla camada eletrostática*, a qual determinam muitas das suas funções e atividades biológicas. O número de cargas elementares de um polieletrólito totalmente carregado deve ser proporcional ao número de unidades monoméricas (*grau de polimerização*) (JÖNSSON *et al*, 1998). Na prática, no entanto, esses polímeros estão parcialmente dissociados e a fração α de contra-íons dissociados é o grau de dissociação de contra-íons.

Os *polieletrólitos* apresentam propriedades relacionadas tanto à natureza da macromolécula, quanto do contra-íon. Portanto, uma certa interferência entre as duas propriedades leva a um comportamento específico das soluções de polieletrólitos (Figura1).

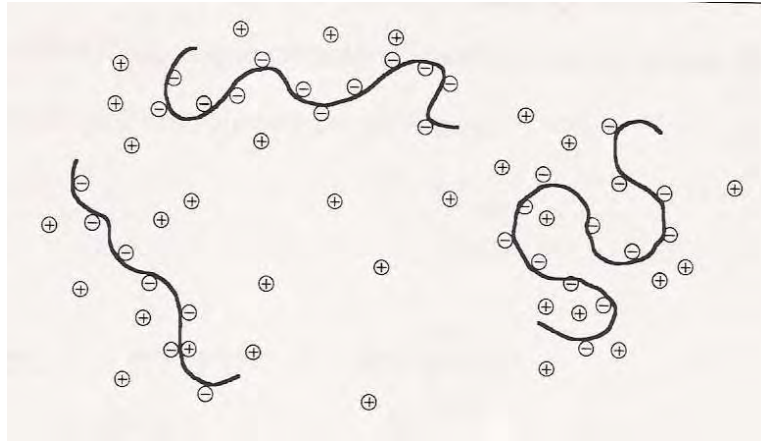


Figura 1: Representação esquemática de um polieletrólito aniônico em solução aquosa.

Dependendo de sua estrutura, estes polímeros podem apresentar domínios com diferentes propriedades: regiões com características hidrofóbicas, formadas pelas interações entre grupos tipo alquílicos e os anéis aromáticos, onde são solubilizadas substâncias orgânicas ou apolares; e regiões hidrofílicas, próximas das cargas dos grupos ionizáveis, onde se localizam espécies carregadas ou solvatáveis. O comportamento de um polieletrólito em solução, deriva em parte das propriedades da cadeia e também da interação com o solvente e outros solutos, carregados ou não. O contra-íon pode ser solvatado de diferentes maneiras e conseqüentemente influencia a solvatação do polímero. Surfactantes de baixo peso molecular podem igualmente se direcionar para regiões de segmentos do polímero ou adsorver na estrutura da cadeia por ligações eletrostáticas e/ou hidrofóbicas, que afetam a variação das propriedades físico-químicas do polímero e o seu estado conformacional (HERSLÖF e SUNDELÖF, 1992). Assim como as macromoléculas neutras, os polieletrólitos podem ser distinguidos entre naturais (*biopolímeros*), sintéticos e os quimicamente modificados. Podem também ser classificados de acordo com a natureza de sua estrutura, isto é, linear, ramificado ou reticulado; além disso, os polieletrólitos podem ser agrupados em homopolímeros ou copolímeros.

Copolímeros são polímeros constituídos por mais de uma espécie de monômeros. As unidades monoméricas de um copolímero podem estar distribuídas aleatoriamente, em blocos, ou de forma que um dos monômeros esteja enxertado na cadeia, dentro da estrutura da cadeia de outro monômero. Suas propriedades em solução e as propriedades químicas de superfície estão relacionadas à categoria que o copolímero pertence.

As interações entre copolímeros de ácido acrílico–etilmetacrilato (EMA) e dodecilsulfato de sódio (SDS) em solução aquosa foram avaliadas por sondas fluorescentes, e verificou-se que o decréscimo da concentração micelar crítica do surfactante (CMC) depende da composição do copolímero. Os polímeros induzem a agregação de surfactantes catiônicos em concentrações bem abaixo das observadas para esses surfactantes em água, sendo que o fenômeno como um todo depende da estrutura do polímero. A formação de agregados pode ser descrita em duas etapas: a primeira para baixa concentração de surfactante, envolve a formação de pré-agregados, a segunda, para maiores concentrações de surfactante, envolve a formação de agregados maiores nos quais podem ser solubilizados substratos hidrofóbicos e surfactantes. A principal contribuição para a energia livre de formação dos agregados é a interação eletrostática entre os surfactantes e cadeias poliméricas. O aumento da hidrofobicidade dos copolímeros também contribui para a formação dos agregados. O aumento da proporção de EMA tem como conseqüências o decréscimo na concentração de agregação crítica (CAC) e no tamanho do agregado. O aumento da cadeia hidrocarbônica do surfactante tem como conseqüência um decréscimo da CAC, que é atribuído à maior contribuição hidrofóbica dos grupos metilênicos adicionais, em um comportamento similar ao observado para os surfactantes puros em água. O aumento do pH resulta no aumento da CAC, que está relacionado a variações na força iônica da solução, aumento esse resultante da ionização de maior quantidade de grupos carboxílicos (OLIVEIRA *et al.*, 1996; TIERA *et al.*, 2001).

Uma classe de polímeros que tem recebido muita atenção dos pesquisadores é a dos que interagem fortemente com surfactantes e são chamados de *polímeros solúveis em água hidrofobicamente modificados* (HMP). São constituídos de uma longa cadeia hidrofílica, na qual uma pequena quantidade de substituintes fortemente hidrofóbicos são incorporados como cadeias pendentes (laterais), blocos ou grupos terminais. Como o contato entre os grupos hidrofóbicos e a água é desfavorável, estes polímeros têm uma forte tendência para se auto-associar e/ou associar com surfactantes, formando complexos polímero-surfactante, cujas propriedades em geral diferem das propriedades dos componentes individuais. Soluções aquosas de HMP exibem propriedades reológicas interessantes que se originam das associações intra e/ou intermoleculares dos grupos hidrofóbicos. A adição progressiva de surfactante leva a um aumento na viscosidade da solução, seguido por um decréscimo a concentrações de surfactante maiores. O aumento na viscosidade é atribuído à formação de micelas mistas ligadas à cadeia do polímero, reforçando as ligações intermoleculares cruzadas do polímero. Com a adição de surfactante, o número de micelas mistas ligadas à cadeia do polímero decresce, reduzindo desta forma o número de pontes do polímero. Entretanto, com o excesso de surfactante, a conectividade da rede é perdida e a solução recupera uma viscosidade menor. As misturas de HMP e surfactantes frequentemente têm propriedades físico-químicas interessantes, que resultam em aplicações em vários campos industriais (GUILLEMET e PICULELL, 1995; BABAK *et al.*, 2000; BU *et al.*, 2006).

1.2 – Polissacarídeos

Os *polissacarídeos* constituem uma classe de polímeros com propriedades muito variadas, dependendo da estrutura da sua unidade monomérica repetitiva, do número e

distribuição dos substituintes, da natureza dos grupos ionizáveis, do grau de ramificação e outras características estruturais. Os polissacarídeos são polímeros de monossacarídeos, compostos de unidades glicosídicas em arranjos linear ou ramificado, em número muito maior do que as 20 unidades limites dos oligossacarídeos. O número de unidades monossacarídicas determina seu grau de polimerização.

A maioria dos polissacarídeos contém unidades glicosídicas, que em média têm três grupos hidroxílicos. Os polissacarídeos são então polióis, onde cada grupo hidroxílico tem a possibilidade de ligar hidrogênio a uma ou mais moléculas de água. Então, o átomo de oxigênio ligado e o átomo de oxigênio glicosídico conectando um anel de açúcar a um outro, podem formar pontes de hidrogênio com a água. Como toda unidade de açúcar na cadeia tem a capacidade de envolver fortemente moléculas de água, os polissacarídeos possuem uma forte afinidade pela água e hidratam rapidamente quando ela está disponível. Em sistemas aquosos, os polissacarídeos podem envolver água, inchar, e usualmente sofrer parcial ou total dissolução. Os polissacarídeos modificam e controlam a mobilidade de água em sistemas alimentícios, e a água tem um importante papel na influência das propriedades físicas e funcionais de polissacarídeos. Portanto, polissacarídeos e água controlam muitas propriedades funcionais de alimentos, incluindo textura.

Em solução, os polissacarídeos podem formar gel. Um gel é uma rede tridimensional contínua de moléculas ou partículas conectadas (tais como cristais, gotinhas de emulsão ou agregados moleculares), envolvendo um grande volume de fase líquida contínua, assim como uma esponja. Os géis podem ser definidos como materiais que têm as propriedades elásticas de um sólido e o escoamento de um líquido (BeMILLER e WHISTLER, 1996; WARRINER *et al.*, 1998).

1.3 – Surfactantes

Os *surfactantes*, ou moléculas tensoativas, são moléculas de natureza anfifílica, consistindo de duas partes, uma (liofílica) solúvel e a outra (liofóbica) insolúvel em um fluido específico. Quando o fluido é a água estas partes se denominam hidrofílica (polar), que consiste de um grupo polar ionizável ou não, e hidrofóbica (apolar), formada geralmente por uma cadeia hidrocarbônica. Os surfactantes são classificados com base na carga do grupo polar, em aniônicos, catiônicos, não-iônicos e zwitteriônicos ou bipolares. Os sistemas contendo anfifílicos são melhor classificados como homogêneos, ou de uma única fase, e heterogêneos, de duas ou mais fases.

Os surfactantes se auto-associam em uma variedade de estruturas. A concentração para o início da auto-associação, denominada *concentração micelar crítica* (CMC), é, em geral, muito bem definida e se torna menor quanto mais longa for a cadeia alquílica do surfactante, e os primeiros agregados formados são geralmente de forma esférica, com raio da ordem do comprimento das caudas do surfactante (JÖNSSON *et al*, 1998).

Colóides de associação são agregados de surfactantes (por exemplo, micelas, vesículas) formados devido ao efeito hidrofóbico, que faz com que as moléculas de surfactantes se posicionem na superfície água-ar, com a parte hidrofóbica voltada para o ar e a hidrofílica para a água.

A formação de micelas (Figura 2a e b) se dá na CMC, e de vesículas (Figura 2c) na CVC (concentração vesicular crítica). Nesses agregados, a cauda dos surfactantes ocupa o interior hidrofóbico, enquanto que o grupo polar fica exposto ao solvente, ou seja, na superfície dos agregados. Um modelo simples de micela é mostrado na Figura 2b. O valor da CMC, o tipo de micelas formadas e a quantidade de monômeros nos agregados dependem da natureza do grupo terminal polar, da cauda hidrofóbica e do comprimento da cadeia

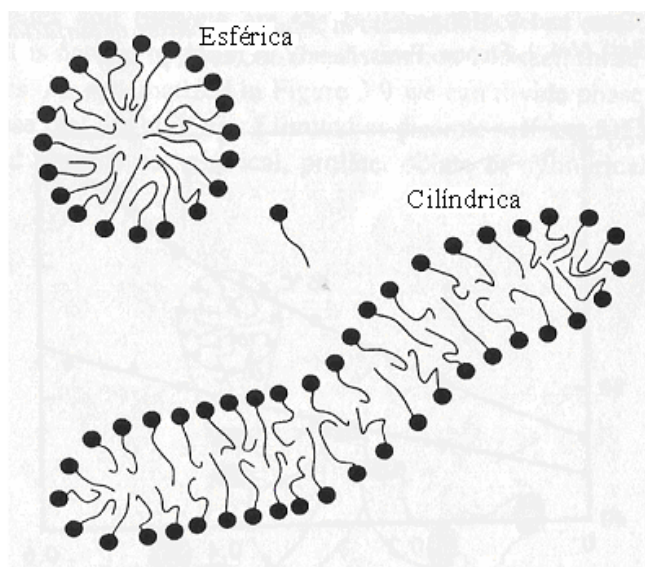
hidrocarbônica, da natureza dos contra-íons, da natureza e concentração de co-solutos (sal inorgânico, polímero ou surfactante), da temperatura e da pressão (JÖNSSON *et al*, 1998).

Dentre as propriedades mais importantes da micela de surfactante iônico, destacam-se a sua capacidade de solubilizar substratos hidrofóbicos, ligar contra-íons, excluir co-íons hidrofílicos e alterar velocidades de reações químicas e a posição de equilíbrio químico. As micelas e vesículas são estruturas dinâmicas, havendo, pois, um equilíbrio dinâmico entre os monômeros livres e os monômeros contidos nesses agregados. O tempo de vida do monômero na micela pode ser da ordem de um microsegundo e na vesícula é da ordem de nanosegundos (HERSLÖF-BJÖRLING, 1996).

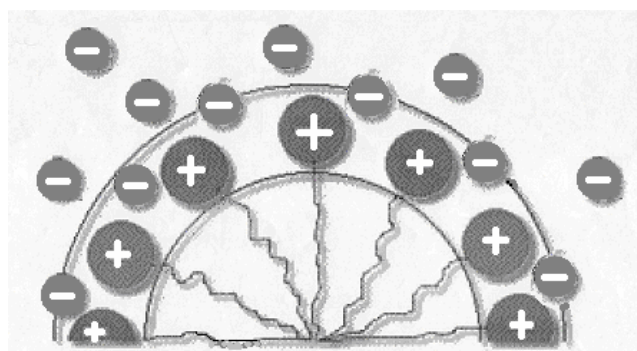
Surfactantes iônicos têm habilidade para se ligar a polímeros lineares solúveis em água. Tais interações têm sido muito estudadas e são melhores compreendidas para sistemas diluídos. Em geral os surfactantes formam aglomerados micelares adsorvidos nas cadeias poliméricas. A princípio, o comportamento destes sistemas pode ser descrito por apenas dois parâmetros: a concentração de monômero de surfactante livre, requerido para induzir a ligação do surfactante ao polímero, e a quantidade máxima de surfactante que pode ser ligada ao polímero (THALBERG e LINDMAN, 1991).

Surfactantes catiônicos derivados de amônia quaternária, com uma ou duas caudas, como por exemplo, DTAB e DDAB, formadores de micelas e vesículas, têm sido muito investigados e aplicados em diversas áreas de pesquisa e desenvolvimento (ZANA *et al*, 1991).

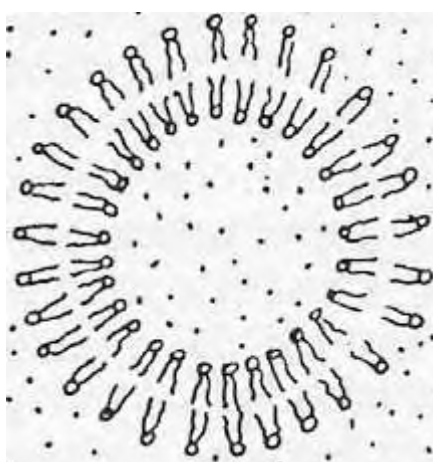
Uma nova classe de surfactantes muito investigada é a dos diméricos, ou *gemini*, constituídos de duas metades anfifílicas conectadas, ao nível dos grupos terminais polares por um espaçador molecular (ZANA, 2002). O interesse em tais surfactantes aumenta devido as suas propriedades essenciais: (1) são caracterizados pela CMC que é de uma ou duas ordens de grandeza menor que a dos correspondentes surfactantes monoméricos, sendo, portanto,



(a)



(b)



(c)

Figura 2: (a) Representação esquemática de micelas esférica e cilíndrica; (b) Corte de uma micela esférica catiônica, onde os círculos maiores marcados com (+) são os grupos de cabeça catiônicos e os círculos menores marcados com (-) são os contra-íons aniônicos; (c) Representação esquemática de uma vesícula.

mais eficientes no processo de micelização; (2) são mais eficientes que os correspondentes monoméricos, na diminuição da tensão superficial da água, pois a mesma quantidade molar dos dois reduzem a quantidades diferentes a tensão superficial; (3) soluções aquosas de surfactantes diméricos com pequenos espaçadores podem ter viscosidade muito alta em concentração de surfactante relativamente baixa, enquanto que a solução do monômero correspondente permanece com baixa viscosidade. Além disso, os surfactantes diméricos têm melhores propriedades espumantes, de solubilização, molhagem e dispersão do que os convencionais (ZANA, 2002).

1.4 – Interações Polímeros – Surfactantes

A intensidade de interação polímero-surfactante depende do polímero e do surfactante. Há dois modelos básicos para a interação polímero-surfactante: um baseado na associação cooperativa do surfactante ao polímero, e o outro baseado na micelização do surfactante ao longo da cadeia polimérica. O modelo de “colar de pérolas” para complexos polímero-surfactante, com o surfactante formando um discreto ramallete micelar ao longo do polímero, tem sido muito usado em sistemas de surfactantes iônicos e homopolímeros. O polímero afeta pouco ou nada o tamanho médio e o número de agregação das micelas (JÖNSSON *et al*, 1998).

Estudos mostram que a natureza dos contra-íons influencia o valor da CMC e o número de agregação e, portanto, a interação com o polímero. Os fatores que influenciam essa interação são: a estrutura molecular do polímero e do surfactante, a densidade da carga, a natureza dos contra-íons, flexibilidade, hidrofobicidade, grau de ramificação da cadeia polimérica, entre outros (BJÖRLING *et al*, 1999).

Há diferentes combinações possíveis de sistemas polímero-surfactante: (1) polímero neutro-surfactante não-iônico, (2) polímero neutro-surfactante iônico, (3) polieletrólito-surfactante não-iônico, e (4) polieletrólito-surfactante iônico de carga igual ou oposta. A interação entre polieletrólito e surfactante de carga oposta é geralmente tão forte que a interação começa abaixo da CMC do surfactante. A ligação é mais frequentemente acompanhada por precipitação, ou separação de fase, onde a fase precipitada contém polieletrólito e surfactante.

Um dos problemas comumente encontrados no estudo da interação polímero-surfactante é que a separação de fases começa em concentrações baixas de surfactante e se estende até concentrações muito elevadas. Uma maneira de suprimir ou reduzir a região de separação de fases é adicionar eletrólitos de baixo peso molecular. Uma outra maneira para se obter condições homogêneas é diminuir a densidade de carga das micelas pela troca de parte do surfactante iônico por um não-iônico, isto é, usando micelas mistas (JÖNSSON *et al*, 1998).

Contudo, a separação de fases e a precipitação podem ser muito úteis em processos de purificação. Pesquisadores concluíram que sistemas aquosos bifásicos são excelentes para separação de proteínas, incluindo enzimas. O processo é especialmente adequado para as etapas iniciais de recuperação e para remoção de fragmentos celulares. O entendimento teórico limitado do processo tem sido um grande obstáculo para prever o equilíbrio de fase e a partição correta da proteína. Micelas reversas têm grandes perspectivas para separação de proteínas e para o aumento ou inibição de reações específicas (CARVALHO e CABRAL, 2000). Elas permitem o renovelamento de proteínas e a retenção da atividade enzimática após separação, porém o processo tem sido usado apenas em operações de pequena escala. A precipitação pode ser facilmente adaptada para aplicações de larga escala, sendo altamente

recomendada para recuperação de proteínas da carne, promovendo alto valor adicional ao produto, e para processos diários de tratamento de efluentes (SINGH e SINGH, 1996).

O estudo de interações entre polímeros e surfactantes em soluções aquosas é de importância fundamental, bem como de significância para aplicações práticas. Nesta área de aplicação, a maioria das investigações têm sido realizadas com derivados de poliácridamida (PAM) e ácido poliacrílico (PAA) (BU *et al.*, 2006). Para avaliar as interações entre polímeros e surfactantes e estabelecer os mecanismos de associação são utilizadas várias técnicas, dentre elas, reologia, condutivimetria, tensiometria, calorimetria por titulação isotérmica (ITC), espectrofotometria, ressonância nuclear magnética (NMR), espalhamento de luz, raios X e neutron (BU *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2004).

Estudos realizados com misturas aquosas ternárias de polímero e surfactante ou um segundo polímero, mostraram que, quando o polímero ou surfactante adicionado é iônico, a adição de sal altera drasticamente o comportamento de fase, o que é discutido em termos de entropia adicional associada com a distribuição do contra-íon (ZHANG *et al.*, 1994).

Interações entre alginato hidrofobicamente modificado (HM-Alg) e o surfactante aniônico dodecil sulfato de sódio (SDS) foram investigados por microcalorimetria, reologia e turbidimetria. Interações significantes entre HM-Alg e SDS foram observadas, enquanto que para misturas de alginato não modificado e SDS, foi detectado apenas fraco sinergismo. Os experimentos também revelaram que o mecanismo de ligação do polímero é significativamente diferente para HM-Alg, do que para alginato não modificado. A ligação de SDS ao HM-Alg começa a concentrações muito baixas de surfactante, e associações hidrofóbicas são responsáveis pela interação, induzindo o aumento da viscosidade e turbidez da solução (BU *et al.*, 2006).

Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com sistemas de polieletrólito-surfactantes de cargas opostas, dentre eles, o hialuronato de sódio (NaHy), um polissacarídeo aniônico

natural, e brometo de tetradeciltrimetilamônio (TTAB), um surfactante catiônico (THALBERG e LINDMAN, 1989; THALBERG e LINDMAN, 1991; THALBERG *et al.*, 1991(a); THALBERG *et al.*, 1991(b); WONG, 1991; HERSLÖF e SUNDELÖF, 1992; PISÁRČIK *et al.*, 1999; FUKADA *et al.*, 1999; PISÁRČIK *et al.*, 2001). A adição de TTAB à solução de NaHy causa precipitação, a menos que uma quantidade suficiente de sal inorgânico esteja presente. A força da interação entre o surfactante e o polieletrólito de carga oposta aparentemente decresce com o aumento da força iônica, o que é uma indicação clara de que a interação é de natureza eletrostática (BJÖRLING *et al.*, 1995). A interação é cooperativa, e os agregados consistem de aglomerados de surfactantes ligados na cadeia de NaHy, sendo que neste sistema coexistem monômeros e micelas livres em solução (IMAE *et al.*, 2003). Neste sistema a separação de fases pela adição do surfactante ocorre após a CAC, abaixo dela nenhuma ligação do surfactante é detectada (THALBERG *et al.*, 1991).

Na avaliação do efeito de sal adicionado sobre a interação de NaHy-TTAB, foi verificado que a extensão da região de duas fases do precipitado NaHy-TTAB é muito dependente do tipo de sal adicionado. É interessante que não apenas a valência dos íons, mas também suas propriedades específicas são importantes. O aumento da valência dos contra-íons de mono para divalentes provoca uma interação muito mais forte entre o contra-íon e o polieletrólito ou micela. Esta interação mais forte, compete com a interação entre as cadeias de polieletrólito e as micelas. Conseqüentemente uma menor quantidade de sal divalente é necessária comparada ao sal monovalente, para suprimir a separação de fases, e a extensão da região de duas fases é menor. Para íons de mesma valência, o efeito específico do íon é observado, sendo mais forte para os contra-íons das micelas de TTAB do que para os contra-íons da cadeia de hialuronato. Alguma influência dos co-íons sobre as micelas de TTAB também foram reportadas por Herslöf-Björling e cols. (1999).

Estudos reológicos de sistemas aquosos de NaHy com surfactantes (n)alquil-amônio, na presença de NaCl mostraram um comportamento não newtoniano. Quando se adiciona NaCl ao sistema, e se aplica tensão de cisalhamento, a viscosidade aumenta como resultado de um desequilíbrio da atmosfera iônica ao redor das micelas. Tanto para surfactantes monoméricos quanto diméricos, a interação NaHy-surfactante ocorre em baixa tensão de cisalhamento, e a influência da estrutura do surfactante na viscosidade, à mesma concentração de NaCl, mostra que à medida que aumenta o número de carbonos no espaçador do surfactante dimérico, aumenta a viscosidade e ocorre um estiramento da cadeia de hialuronato (PISÁRCIK *et al.*, 1999).

Resultados reológicos do sistema NaHy/TTAB/NaCl/água, mostraram que após a adição de NaCl na solução aquosa de NaHy, a viscosidade inicialmente decresce rapidamente até assumir valores assintóticos. O decréscimo da viscosidade reflete a blindagem de cargas na cadeia do polímero, resultando em uma cadeia mais flexível. Na presença de TTAB (e mesma concentração de NaHy da solução anterior) a viscosidade parece ser consideravelmente menor do que na solução pura de NaHy. Com o aumento da concentração de sal, a viscosidade inicialmente aumenta rapidamente até atingir a viscosidade da solução pura de NaHy. Os efeitos observados se devem ao fato de a viscosidade de uma solução de polímero ser governada pela distribuição espacial dos segmentos de moléculas individuais, por interação intermolecular e por agregação (HERSLÖF e SUNDELÖF, 1992).

Para a interação entre NaHy e TTAB foi proposto um modelo que consiste na ligação entre as micelas de TTAB e a cadeia de NaHy, que ocorre de forma análoga à condensação de contra-íons multivalentes sobre a cadeia do polímero. Os contra-íons de maior valência são condensados preferencialmente em relação aos de menor valência. Do ponto de vista eletrostático, as micelas de TTAB podem ser vistas como polieletrólitos de cargas opostas ou como contra-íons multivalentes. As micelas podem exibir multi-sítios e um número

correspondente de contra-íons é liberado tanto da cadeia do polieletrólito quanto da micela. Esta competição entre contra-íons, e a preferência por contra-íons de maior valência, pode ser entendida qualitativamente considerando o aumento na entropia do contra-íon como condensação de contra-íons de baixa valência, tais como Na^+ e Br^- que são substituídos por uma quantidade menor de contra-íons de maior valência. O ganho na entropia do contra-íon decresce quando a força iônica no sistema principal aumenta e uma redissolução do precipitado formado a baixas concentrações de sal é observada a alta concentração de surfactante e/ou de sal (HERSLÖF e SUNDELÖF, 1992).

1.5 – Aplicações

A associação de alginato e hialuronato de sódio foi sugerida para elaboração de novos biomateriais, para aplicações cirúrgicas, que melhorassem o transporte de drogas e/ou a cicatrização de feridas. A ocorrência de interações entre os dois polissacarídeos em solução aquosa, foi avaliada por comparação dos dados experimentais obtidos de soluções individuais, com as medidas encontradas para a mistura dos polímeros. Os resultados mostraram que a mistura dos polímeros comporta-se como uma espécie única, cujas características são um compromisso entre aquelas moléculas individuais, embora suas propriedades físico-químicas sejam ligeiramente diferentes daquelas dos polissacarídeos isolados. Entretanto, existem interações entre as macromoléculas dissolvidas, mas causam pequeno efeito sobre as propriedades viscoelásticas da mistura (OETHER *et al.*, 1999).

Para aplicações clínicas, bem como em indústrias de alimentos, a solubilidade do polieletrólito em sistemas aquosos é uma propriedade físico-química muito importante e fundamental (HERSLÖF-BJÖRLING e SUNDELÖF, 1996).

Em sistemas contendo polímero e surfactante, normalmente ocorre a precipitação. Esta tem sido muito utilizada em aplicações práticas, tais como, a purificação de misturas de proteínas por precipitação seletiva induzida por surfactantes, a precipitação de cátions usando polissacarídeos e no tratamento de resíduos (BJÖRLING *et al.*, 1995).

Os biopolímeros são polímeros considerados biocompatíveis, não tóxicos, não imunogênicos e biodegradáveis, que os levam a serem fortes candidatos para aplicações biomédicas. O alginato é um membro desta classe de polímeros, podendo ser caracterizado como um copolímero biocompatível aniônico, que se encontra negativamente carregado em pH fisiológico, o que é de grande importância para suas propriedades adesivas. A Farmacopéia Européia e a FDA (Administração de Alimentos e Drogas) aprovam o alginato como excipiente farmacêutico e seu uso comum nas indústrias de alimentos diminui os riscos de incidentes toxicológicos (BU *et al.*, 2006; BALDURSDÓTTIR e KJØNIKSEN, 2005). A biocompatibilidade do alginato é fundamental para sua possível aplicação em biomedicina e biotecnologia (KLÖCK *et al.*, 1997).

A associação de alginato de sódio com outros polissacarídeos, sugere combinar o efeito formador de gel do alginato com as propriedades da macromolécula parceira; a quitosana, por exemplo, foi incorporada com sucesso em soluções de alginato para melhorar o transporte de drogas no organismo humano. Várias misturas de sulfato de condroitina, quitosana e alginato, foram propostas para limitar a desintegração das estruturas de gel em solução. Foram também sugeridas a elaboração e uso de gel de alginato-hialuronato, na presença de íons cálcio, que após rearranjos internos de sua estrutura, a matriz preparada estava adequada para aplicações cirúrgicas, devido a sua estabilidade no fluido sinovial. Esta associação pode também ser interessante para a preparação de carreadores de drogas biopoliméricas (OERTHER *et al.*, 1999).

Na literatura existem poucos estudos do efeito de surfactantes catiônicos nas propriedades físico-químicas do alginato. Portanto, este trabalho vem se somar aos já existentes, trazendo resultados importantes para aplicações práticas deste sistema.

2 – Sistemas em Estudo

2.1 – Ácido Algínico (AcA)

O ácido algínico (AcA) é um copolímero linear composto de duas unidades monoméricas, dos ácidos β -D-manurônico (M) e α -L-glicurônico (G), ligados às unidades vizinhas através das posições C₁ e C₄ (Figura 3) em várias proporções dependendo da sua origem, algas ou bactérias (MANCINI *et al.*, 1996; RAO *et al.*, 1998). Este polímero consiste de longos blocos homopoliméricos de cada monômero juntamente com blocos de copolímeros alternados.

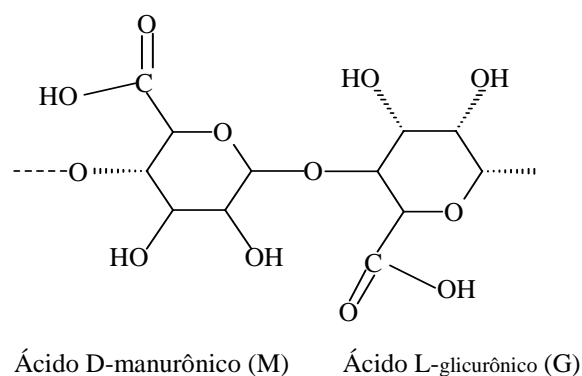


Figura 3 – Estrutura molecular básica do ácido algínico (AcA), MM = 240 kDa.

A massa molecular média do AcA disponível comercialmente é de aproximadamente 240 kDa. É um polissacarídeo estrutural de algas marinhas marrons e algumas bactérias,

sendo a composição e comprimento dos blocos dependentes das espécies. A atividade de adsorção deste polissacarídeo, na interface água-ar é baixa, devido a sua natureza hidrofílica e de seu alto grau de ionização, uma vez que possui um grupo carboxílico por unidade sacarídica (BABAK *et al.*, 2000).

O AcA é o único polissacarídeo que contém naturalmente grupos carboxílicos em cada resíduo constituinte, e possui várias características como material funcional. O AcA se encontra disponível em grandes quantidades na natureza, por isso ele é importante para desenvolver novas possibilidades na área química (IKEDA *et al.*, 2000). Este polissacarídeo é amplamente usado na indústria e em biotecnologia, principalmente devido suas propriedades de ligação à água, alteração de viscosidade e formação de gel (ESTERVÅG *et al.*, 1999). Nas indústrias de alimentos, o AcA é usado devido a suas propriedades gelificantes, principalmente com cálcio (STOKKE *et al.*, 1993; RAO *et al.*, 1998). Os géis ácidos de alginato são formados pela diminuição do pH abaixo dos valores de pK_a dos resíduos de ácido urônico e acredita-se que sejam estabilizados por pontes de hidrogênio intermoleculares (BALDURSDÓTTIR e KJØNIKSEN, 2005).

Os alginatos produzidos comercialmente são geralmente extraídos das paredes celulares de algas marinhas marrons (*Phaeophyceae*), mas algumas espécies bacterianas pertencentes ao gênero *Pseudomonas* e *Azotobacter* também produzem este polímero (ESTERVÅG *et al.*, 1999). A produção comercial de alginato quase sempre envolve a etapa de purificação onde um tratamento ácido precipita o alginato como o ácido algínico. Entretanto, sabe-se que uma solução de alginato pode formar um gel homogêneo sob condições adequadas. Na prática, isto implica que o pH terá que estar muito abaixo do pK_a dos resíduos de ácido manurônico na forma controlada, pois uma diminuição abrupta no pH, inevitavelmente leva à precipitação (DRAGET *et al.*, 2006).

2.2 – Brometo de Dodeciltrimetilamônio (DTAB)

O DTAB é um surfactante catiônico monoalquilado, derivado de um sal de amônia quaternária (Figura 4a), muito estudado em sistemas micelares (McGRATH, 1995). A fase micelar de DTAB em água é relativamente extensa, chegando perto de 40% (m/m) do surfactante. A CMC de DTAB em água, a 25°C, é relativamente elevada, cerca de 16 mM. Em concentrações maiores são formadas fases cúbicas, hexagonal e lamelar (JÖNSSON, 1998).

2.3 - Brometo de Didodecildimetilamônio (DDAB)

O DDAB é um surfactante catiônico dialquilado, derivado de amônia quaternária, muito investigado e usado no preparo de vesículas e estruturas lamelares (Figura 4b). As duas cadeias hidrocarbônicas C_{12} favorecem a formação de estruturas lamelares em sistemas aquosos. A 25°C DDAB forma essencialmente duas fases lamelares $L_{\alpha 1}$ e $L_{\alpha 2}$, a primeira entre 5 e 35% (m/m), e a segunda entre 55 e 90% (m/m) de DDAB, que diferem entre si pela espessura da camada de água entre as lamelas que são menores para $L_{\alpha 2}$ (mais compacta). Entre 35 e 55% (m/m) essas duas fases coexistem em equilíbrio. Acima de 90% (m/m) de DDAB formam-se cristais hidratados, e abaixo de 5% de DDAB formam vesículas, acima da temperatura de transição gel-líquido-cristalina T_m , que é de aproximadamente 16°C (MARQUES *et al*, 1993). Abaixo da T_m , DDAB é pouco solúvel em água, dificultando a formação de vesículas. Uma vez formadas, acima da T_m , as vesículas são estáveis, ou metaestáveis, mesmo em temperaturas abaixo da T_m (até um limite inferior de temperatura).

2.4 – Interação entre AcA e DTAB

Em pH fisiológico, AcA e DTAB interagem fortemente devido à atração eletrostática. A adição de DTAB à solução aquosa de AcA induz precipitação, a menos que uma quantidade suficiente de sal esteja presente. A quantidade mínima de sal necessária para solubilizar os precipitados de AcA-DTAB em água, denominada concentração crítica de eletrólito (CEC), pode ser obtida através da construção de diagramas de fases. A CEC não depende apenas da valência dos contra-íons mas também da especificidade desses íons.

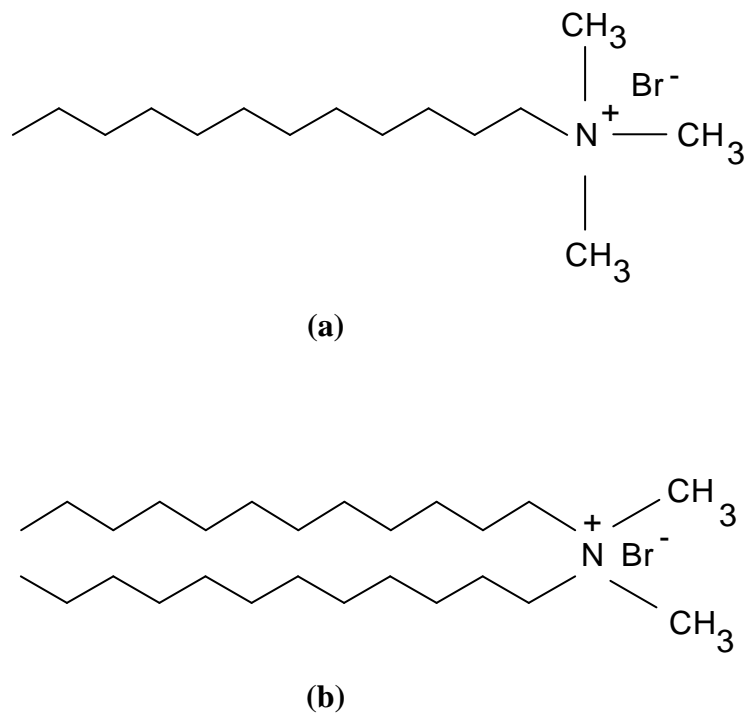


Figura 4 – Estruturas moleculares dos surfactantes catiônicos: (a) brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB) e (b) brometo de didodecildimetilamônio (DDAB).

Os complexos de AcA-DTAB (Figura 5) são caracterizados por ligações eletrostáticas. As interações eletrostáticas entre DTAB e alginato permite às cadeias hidrofóbicas se reorganizarem livremente na solução, de modo a ficarem mais expostas à interface água-ar,

enquanto permanecem eletrostaticamente ligadas à cadeia do polímero. A interação cooperativa entre os macroíons e os surfactantes, forma agregados dinâmicos que resultam no sinergismo de sua adsorção na interface água-ar (BABAK *et al.*, 2000). Avaliações reológicas da interface água-ar de sistemas contendo a mistura polímero-surfactante mostraram que a viscoelasticidade promove evidências de uma adsorção sinérgica dos dois componentes (REGISMOND *et al.*, 1997).

2.5 – Interação entre AcA e DDAB

A interação de AcA com DDAB se dá, principalmente com bicamadas do surfactante, pois a CVC de DDAB é muito baixa, menor do que 50 μM . A interação é muito forte e induz precipitação, quando DDAB está na forma de vesículas, mas AcA induz uma pequena estabilidade quando adicionado às fases lamelares de DDAB/água, estendendo ligeiramente essas fases. Por outro lado, a adição de pequena quantidade de DDAB ao gel de AcA/água, preserva as características do gel.

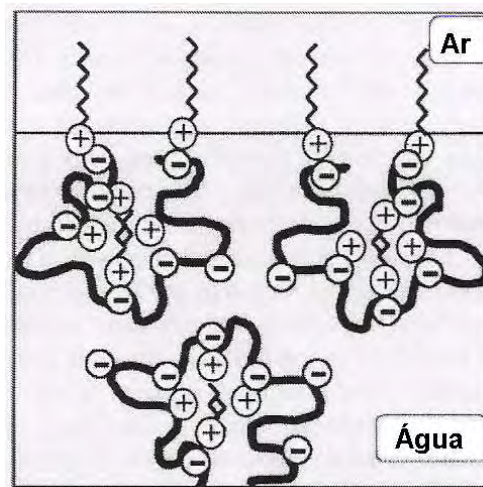


Figura 5: Representação esquemática da adsorção na superfície água-ar de complexos surfactante-políeletrólito, entre um surfactante catiônico e um políeletrólito aniônico (BABAK *et al.*, 2000).

2.6 - Métodos de Estudo

2.6.1 - Diagramas de Fases

A determinação de um diagrama de fases é necessária como uma etapa no estudo de sistemas binários ou ternários, pois constituem a parte essencial da descrição termodinâmica de um sistema coloidal. Análise de suas características fornecem ligações entre o comportamento macroscópico e as interações intermoleculares. Os diagramas de fases nos fornecem uma maneira visual eficiente para representar o comportamento das diferentes fases, além de sumariarem um grande número de dados experimentais (EVANS e WENNERSTRÖM, 1994). Eles geralmente são multidimensionais, devido ao grande número de variáveis apresentadas mesmo em sistemas simples; sendo seu conhecimento de grande importância para se prever e compreender as propriedades que um sistema apresentará sob certas condições, pois as diferentes estruturas podem existir em um mesmo sistema, mas em diferentes condições de concentração, temperatura e pressão. Examinando um diagrama de fases, percebemos em que regiões é possível fazer variações de concentração sem mudar o tipo de agregado existente. Entretanto, ao se passar de um domínio do diagrama para outro, quando mudam os tipos de agregados, podem surgir diferenças muito grandes de comportamento, que implicam em consequências práticas muito grandes, tais como as variações de viscosidade.

As transições de fase de um domínio para o outro não são instantâneas, isto é, mesmo adicionando todos os componentes do sistema e colocando-o na temperatura desejada, ele não atingirá imediatamente o estado de equilíbrio, o que é outro aspecto de grande importância prática (JÖNSSON *et al*, 1998).

Para se representar um diagrama de fases ternário é comum considerar o comportamento de fases a temperatura constante e usar o triângulo de Gibbs (Figura 6), onde os vértices representam os três componentes puros (100% m/m), enquanto os três lados do triângulo representam os três sistemas bifásicos possíveis. Dentro do triângulo os três componentes estão presentes e as quantidades podem ser lidas como indicado na Figura 6.

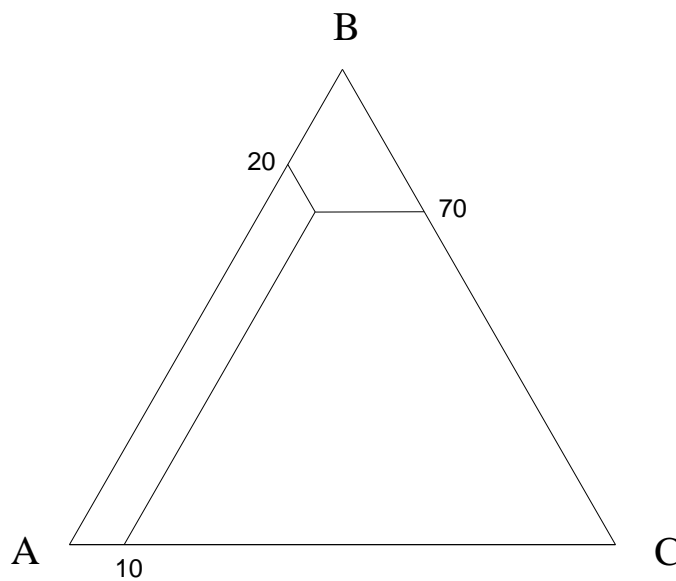


Figura 6: Diagrama ternário de fases indicando uma mistura dos componentes A, B e C, nas seguintes composições: 20, 70 e 10% (m/m) de A, B e C, respectivamente, totalizando 100% de massa total na mistura.

2.6.2 – Tensão Superficial

Tensão superficial (γ) pode ser definida como a variação de energia livre (δG) de um sistema, por unidade de variação de área de superfície (δA) deste sistema, sob condições de pressão (P) e temperatura (T), ou seja:

$$\gamma = (\delta G / \delta A)_{P,T} \quad (1)$$

A tensão superficial é uma consequência das interações intermoleculares. As moléculas ou íons que se encontram na superfície de um sólido ou líquido estão sempre atraindo e sendo atraídas pelos seus vizinhos, por forças de dispersão e de van der Waals. Havendo mais vizinhos de um lado do que do outro da superfície, a atração resultante é em direção ao interior da fase, o que resulta sempre na minimização da área da superfície. Podemos, então, visualizar a tensão superficial como uma força paralela à superfície, que provoca a sua redução.

A tensão superficial de líquidos causa a formação de gotas e está relacionada às forças atrativas entre as moléculas. Estas forças são a fonte de condensação de vapor no líquido. No interior do líquido uma molécula exerce a mesma força atrativa em todas as direções, enquanto que na superfície esta atração é apenas em uma direção. Esta assimetria é a origem da energia superficial, que se manifesta na tensão superficial, como resultado das forças coesivas em um líquido. A tensão interfacial aparece na interface entre dois líquidos imiscíveis. A razão da imiscibilidade é normalmente encontrada na diferença entre as forças de coesão das moléculas nos dois líquidos.

A grande importância da tensão superficial está no controle de sistemas biológicos e tecnológicos, o que é possível graças às substâncias que têm a propriedade de, em pequenas quantidades, alterarem muito o valor da tensão superficial da água. São tensoativas as substâncias anfifílicas que adsorvem na interface água-ar, onde se orientam de maneira que a sua parte polar fique imersa na fase líquida, e a parte apolar fique compartilhada entre a fase líquida e a fase gasosa. Portanto, elas cobrem a superfície da água com um filme apolar, com interações intermoleculares mais fracas, que respondem pela redução na tensão superficial do líquido.

Em sistemas aquosos a adição de um componente pode afetar a tensão superficial de diferentes maneiras, por exemplo, compostos orgânicos solúveis em água, tais como etanol,

normalmente diminuem a tensão superficial devido à adsorção preferencial das moléculas orgânicas na superfície líquido-ar. Surfactantes, mostram uma grande redução na tensão superficial a concentrações muito baixas, abaixo da CMC, mas após a CMC, a tensão superficial é praticamente constante. Esta grande redução na tensão superficial é devido à forte adsorção dos surfactantes na interface líquido-ar. Acima da CMC, todo surfactante adicional formará novas micelas, mantendo assim a tensão superficial do surfactante constante. Eletrólitos normalmente aumentam a tensão superficial, pois ocorre uma adsorção negativa dos íons na superfície (JÖNSSON *et al*, 1998).

2.6.3 - Reologia

A reologia é etimologicamente a “ciência do fluxo” e trata das respostas das substâncias às forças que provocam fluxo, ou seja, o escoamento, ou a deformação, sejam de origens mecânicas, térmicas, elétricas ou magnéticas. O fluxo de uma substância pode ser reversível ou irreversível. O fluxo reversível é uma deformação elástica, pois uma vez cessada a atuação da força motriz, o sistema recupera a forma original. O fluxo irreversível tem como resultado uma deformação permanente. Os líquidos e os gases são muito facilmente deformáveis e as suas resistências à deformação são dadas apenas pelas suas viscosidades, ou seja, escoam sob a ação de tensões ou pressões, dissipando a energia que provoca seus escoamentos.

O estudo da viscosidade é um ramo da reologia. O estudo reológico dos materiais no estado sólido ou em solução permite obter informações muito importantes sobre as propriedades de escoamento e deformação dos materiais. Através da reologia pode-se avaliar duas componentes que atuam na deformação de um material sob influência de uma tensão

mecânica, que em geral atuam simultaneamente: a elasticidade e a viscosidade. Um sólido perfeito é completamente elástico enquanto um líquido perfeito é completamente viscoso. Porém o comportamento mecânico da grande maioria dos materiais, em níveis variáveis, é regido tanto por uma contribuição conservadora elástica, quanto por uma contribuição dissipativa viscosa. A caracterização reológica dos polímeros no estado sólido ou no estado fundido permite avaliar determinadas propriedades mecânicas que estão diretamente associadas à capacidade de processamento termo-mecânico de materiais poliméricos, como por exemplo a injeção, extrusão, sopro, calandragem, etc. Os valores de viscosidade variam com a temperatura, diminuindo à medida que esta aumenta. A viscosimetria de soluções diluídas, refere-se principalmente a medidas quantitativas da contribuição do aumento da viscosidade do solvente pela presença das partículas isoladas do soluto (partículas hidrodinâmicas). Quando o soluto é polimérico, tais medidas permitem obter informações a respeito das dimensões da cadeia, do formato e tamanho das partículas do polímero (volume hidrodinâmico), e de sua massa molecular (RAO, 1999).

A medida da viscosidade é uma maneira conveniente de se caracterizar um polímero em solução a baixas concentrações. Pela dependência da viscosidade com a concentração de polímero é possível obter informações sobre o tamanho, forma e hidratação do polímero. A influência do polímero na viscosidade da solução está relacionada a propriedades friccionais do polímero no solvente.

Há várias maneiras de se medir viscosidade, sendo muito utilizados os métodos para soluções diluídas, que consistem na medida do tempo de efluxo, t , da solução polimérica através do capilar de um viscosímetro tipo U, comparado ao tempo de efluxo do solvente, t_0 . A viscosidade é proporcional ao tempo de efluxo vezes a densidade do líquido. Como soluções diluídas têm aproximadamente a mesma densidade que o solvente puro, a viscosidade relativa é dada por $\eta_{rel} = t/t_0$.

A viscosidade específica μ_{sp} fornece uma medida do efeito espessante das soluções poliméricas relativas ao solvente. Esta qualidade é muito dependente da concentração do polímero e por isso a viscosidade específica é uma propriedade muito usada para caracterizar sistemas poliméricos. A viscosidade reduzida $\mu_{red} = \mu_{sp} + 1$ varia linearmente com a concentração do polímero, cuja extrapolação para a concentração zero do polímero dá a viscosidade intrínseca, $[\eta]$, que é independente da concentração do polímero, mas dependente do solvente escolhido e do peso molecular do polímero, podendo ser usada para obter a relação entre $[\eta]$ e o peso molecular, M , através da equação de Mark-Houwink:

$$[\eta] = KM^\alpha \quad (2)$$

onde K e α são constantes dependentes do solvente e tipo de polímero, encontradas na literatura para combinações comuns de polímero-solvente (JÖNSSON *et al*, 1998).

Para fluidos não Newtonianos, a curva de tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação é geralmente não linear, portanto a inclinação varia ponto a ponto. Neste caso tem-se a viscosidade aparente para cada ponto, que é dada pela cotangente do ângulo que define a inclinação daquele determinado ponto (HIEMENZ e RAJAGOPALAN, 1997).

2.6.4 – Eletroforese em Gel

A eletroforese é a migração de íons sob a ação de um campo elétrico, e é muito usada para separação analítica de moléculas biológicas (VOET e VOET, 1995). A força elétrica, F_e , sobre um íon de carga q em um campo elétrico de intensidade E , é expressa por:

$$F_e = q E \quad (3)$$

E a migração eletroforética do íon, através da solução, é oposta à força de atrito:

$$F_f = vf \quad (4)$$

onde, v é a taxa de migração (velocidade) do íon e f é o seu coeficiente de atrito. Esta é uma medida do arraste que a solução exerce no movimento do íon e é dependente do tamanho, forma e estado de solvatação do íon, bem como da viscosidade da solução. Em um campo elétrico constante, o balanço de forças em cada íon resulta em $F_e = F_f$, ou seja:

$$qE = vf \quad (5)$$

Assim, cada íon se move com uma velocidade característica, constante. A mobilidade eletroforética do íon, μ , é igual à taxa de migração por unidade de campo elétrico, ou seja:

$$\mu = v/E = q/f \quad (6)$$

Esta equação indica que as moléculas em seu ponto isoelétrico têm mobilidade eletroforética zero. Assim para eletrólitos que têm propriedades ácido-base, a carga iônica e conseqüentemente a mobilidade eletroforética depende do pH.

Eletroforese em gel é um dos mais eficientes métodos convencionalmente usados para separação de macromoléculas. Os géis comumente usados são poliacrilamida e agarose, que têm poros de dimensões moleculares, e cujos tamanhos podem ser especificados. As separações moleculares são baseadas na filtração através do gel, como também nas mobilidades eletroforéticas das moléculas que estão sendo separadas. Os géis usados em eletroforese têm o papel de retardar a migração das grandes moléculas em relação às menores, que migram facilmente através do gel.

2.6.5 - Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

As medidas de espalhamento dinâmico de luz dão informações sobre o coeficiente de difusão e o raio hidrodinâmico (R_h). A técnica é excelente para o estudo de micelas e

vesículas (FEITOSA e BROWN, 1997; FEITOSA *et al.*, 2000) e de interações entre polímeros e surfactantes em solução (FEITOSA *et al.*, 2002).

Na técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), basicamente se mede a intensidade de luz espalhada pela amostra, com a qual se calcula a função de auto-correlação da intensidade, que é usada para calcular o coeficiente de difusão e o diâmetro médio das partículas (ou mesmo um histograma de distribuição de diâmetros de partículas). Ela é adequada para determinação de tamanho de partículas dispersas em líquido, na faixa de dezenas de nanômetros a microns. A função de auto-correlação serve não apenas para fornecer tamanhos de partículas, mas também para mostrar a ocorrência de associação e entrelaçamento entre elas.

A técnica de espalhamento dinâmico de luz consiste, basicamente, em se explorar o efeito do movimento térmico das partículas em suspensão na intensidade de luz espalhada em diferentes ângulos de espalhamento, e a função de auto-correlação da intensidade da luz espalhada determinada pelo auto-correlador do aparelho. Da função de autocorrelação da intensidade da luz espalhada, obtém-se através da função distribuição do tempo de relaxação, o coeficiente de difusão translacional, relacionado ao raio hidrodinâmico pela equação de Stokes-Einstein,

$$D_o = \frac{kT}{6\pi\eta_o R_h} \quad (7)$$

onde D_o é o coeficiente de difusão a diluição infinita, k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta, η_o é a viscosidade do solvente e R_h é o raio hidrodinâmico (NIEH *et al.*, 2004).

Para partículas com o mesmo tamanho (amostra monodispersa) em suspensão, a função de auto-correlação é uma exponencial simples, fornecendo um único valor de tempo de relaxação. Para amostras polidispersas, a função de auto-correlação é dada por uma soma

de exponenciais com uma distribuição de tempos de relaxação. A função distribuição do tempo de relaxação pode ser caracterizada por um ou mais picos, estando cada pico associado a um valor médio do coeficiente de difusão das partículas em uma dada população.

2.6.6 - Calorimetria por Titulação Isotérmica

Calorimetria significa “medida de calor”, onde calor é a quantidade de energia trocada entre dois sistemas num determinado período de tempo. A ciência da calorimetria consiste de apenas duas leis: a lei de conservação de energia e a lei de transferência de calor (HANSEN e HART, 2004).

Dentre os métodos termométricos para o estudo de macromoléculas em solução, destacam-se os de calorimetria diferencial de varredura (DSC) e o de calorimetria por titulação isotérmica (ITC).

A técnica de ITC permite verificar a variação do fluxo de energia durante um processo de liberação ou absorção de calor. No equipamento de ITC são utilizados dois canais de titulação, um contendo a cela para a amostra e outro uma cela de referência (preferencialmente com material inerte ou possuindo a mesma capacidade calorífica e condutividade térmica). Os calorímetros isotérmicos podem ser chamados de calorímetros de condução ou de fluxo de calor e, neste tipo de equipamento, a energia é liberada (ou absorvida) na cela de reação para um trocador de calor que fica à sua volta. O fluxo de calor é registrado pelas termopilhas posicionadas entre a amostra e o trocador de calor e a diferença de temperatura entre a amostra e o trocador de calor gera um potencial elétrico (U) sobre a termopilha. Considerando que as temperaturas da cela da amostra e do trocador de calor são constantes, o potencial térmico liberado na cela da reação é calculado através da equação:

$$P = \varepsilon[U + \tau (dU/dt)] \quad (8)$$

onde: $P = dQ/dt$ é o potencial térmico, ε é a constante de calibração, U é o potencial elétrico, τ é a constante de tempo do instrumento e dU/dt é a derivada do potencial elétrico em função do tempo (OLOFSSON e WANG, 1998). A mistura das soluções é realizada através de titulações de uma determinada solução (colocada na seringa) em outra (colocada ceta calorimétrica), sendo que o volume inicial da amostra na seringa é estipulado de acordo com o experimento a ser realizado, variando de 3 a 15 μl , e a temperatura pode ser ajustada na faixa entre 15 e 80°C. A homogeneidade da solução analisada é garantida com a utilização de agitação numa faixa de 20 a 120 rpm.

Com ITC mede-se o calor em uma ligação isotérmica e sua representação gráfica representa o grau de saturação em termos da concentração do ligante. Para tanto, alíquotas do ligante são adicionadas à solução da macromolécula. Após cada adição do ligante, o calor liberado (exotérmico) ou absorvido (endotérmico) é medido contra a referência (solvente) e a troca de calor é monitorada através da potência elétrica necessária para manter uma pequena diferença de temperatura entre ambas as celas colocadas em uma câmara adiabática, pois a quantidade disponível de macromolécula não complexada decresce progressivamente a cada adição, e a magnitude do pico torna-se menor até que a saturação seja alcançada (SILVA, *et al.*, 2004; SORAI, 2004; BARRELEIRO *et al.*, 2000; HEERKLOTZ *et al.*, 1999).

II - Objetivos

- ✓ Caracterizar o polissacarídeo AcA e avaliar sua interação com surfactantes catiônicos derivados da amônia quaternária, formadores de micelas e vesículas, em solução aquosa.
- ✓ Investigar o efeito de brometo de sódio (NaBr) na interação e nas propriedades dos complexos AcA-surfactantes.
- ✓ Construir diagramas de fases do sistema AcA/surfactante catiônico/solução aquosa, indicando as diferentes fases encontradas.
- ✓ Encontrar regiões onde o sistema polímero-surfactante possa ser útil em aplicações práticas, sobretudo na indústria de alimentos, onde o AcA é muito utilizado, considerando a substituição destes surfactantes, por outros permitidos em alimentos.
- ✓ Propor modelo para o mecanismo de complexação de AcA-DTAB.

III - Materiais e Métodos

1 - Materiais

O ácido algínico (AcA) na forma de sal de sódio, com grau de pureza 98%, MM = 240 kDa, bem como os surfactantes catiônicos, brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB), MM = 308,35, grau de pureza 99% e brometo de didodecildimetilamônio (DDAB), MM = 462,65, grau de pureza 99%, foram adquiridos da Sigma e usados conforme recebidos, sem prévia purificação. Os sais utilizados, brometo de sódio (NaBr), cloreto de sódio (NaCl) e sulfato de sódio (Na₂SO₄), adquiridos da Merck, são de grau analítico. O ácido acético glacial (Synth) e o álcool etílico (Merck) são também de grau analítico. A agarose, adquirida (Amersham Biosciences) é específica para focalização isoeétrica. O corante azul de toluidina (Sigma) e a glicina (Vetec) foram utilizados conforme recebidos. Foi utilizada na preparação das amostras água deionizada de qualidade Milli-Q plus.

2 - Métodos

2.1 - Diagramas de Fases

Para construir os diagramas de fases ternários utilizou-se AcA, DTAB ou DDAB e água, totalizando 0,4g da mistura, em cada ponto escolhido do diagrama. Inicialmente escolheu-se pontos na região onde se conhecem os diagramas de fases binários de DTAB/água (McGRATH, 1995) e DDAB/água (MARQUES *et al*, 1993) para que se pudesse comparar os resultados e verificar se o polímero afetava ou não as estruturas formadas no

sistema binário surfactante/água, e, a partir daí, estendeu-se para outras regiões do diagrama e observou-se o comportamento das diversas fases. Para os diagramas de fases utilizou-se misturas de AcA, DTAB, NaBr e água deionizada. Foram preparadas cerca de 400 amostras para cada experimento.

As amostras foram preparadas por pesagem dos componentes diretamente dentro de tubos de vidro de 10 mm de diâmetro, que foram selados com parafilme e levados para centrifugação em uma centrífuga modelo K70D – MLW (Rússia), a 2500 rpm e temperatura de 25°C, por aproximadamente 12h, para que todos os componentes se desprendessem das paredes do tubo; a seguir os tubos foram selados com fogo, e foram re-centrifugados para agilizar a homogeneização da mistura. Nesta etapa, os tubos eram virados no sentido oposto a cada 30 minutos e permaneciam neste processo por aproximadamente 15 dias, período variável de acordo com a composição da amostra, que levava maior ou menor tempo para completa homogeneização. Na seqüência, as amostras eram observadas em polarímetro de luz cruzada a fim de se avaliar as fases formadas. O polarímetro indica apenas se as amostras são ou não birrefringentes.

2.2 - Diagramas de Concentração Crítica de Eletrólito (CEC)

Para construir os diagramas de concentração crítica de eletrólito, CEC, utilizou-se AcA, DTAB, NaBr, NaCl, Na₂SO₄ e água. Foram preparadas soluções estoques concentradas dos sais, próximas dos limites de solubilidade à temperatura ambiente (NaBr 3 M, NaCl 4 M e Na₂SO₄ 1 M) (PERRY e CHILTON, 1980). As amostras foram preparadas por pesagem dos componentes AcA, DTAB e água diretamente dentro de frascos de vidro de 15 mm de diâmetro com tampa rosqueável, totalizando 5g de solução. A concentração de AcA nas

soluções foi mantida constante, aproximadamente igual a 0,1% em peso, e as concentrações de DTAB usadas foram de 1, 5, 15, 30, 50, 70, 90 e 150 mM. Misturas de AcA/DTAB/água ficaram sob agitação mecânica por 15 horas, em agitador Thermolyne Nuova Stirrer, antes da adição do sal. Alíquotas das soluções estoques de sal foram acrescentadas por titulação às soluções de AcA/DTAB/água. Após cada adição de sal as amostras permaneciam sob agitação magnética por um período de 12 horas, para garantir a completa homogeneização da mistura para a inspeção visual, com auxílio de polarímetro de luz cruzada, e verificar a presença de precipitados. As adições de sal foram feitas até se observar completa solubilização do sistema (que, na ausência do sal, contém precipitados), ou seja, até não haver nenhum precipitado em solução, encontrando-se assim a CEC de cada sal, para cada concentração de surfactante avaliada, que foram mostradas em diagramas.

2.3 - Testes de Solubilidade

Realizou-se testes de solubilidade do sistema AcA/DTAB/NaBr/água, para o qual se obteve diagramas indicando as fronteiras inferiores e superiores de solubilidade, separadas pela região de precipitados. Os testes de solubilidade foram avaliados por observações visuais das amostras.

As amostras foram preparadas por pesagem dos componentes AcA, DTAB e água, diretamente dentro de frascos de vidro de 15 mm de diâmetro com tampa rosqueável, totalizando 5 g de solução. As concentrações dos componentes nas amostras foram as seguintes: AcA 0,02, 0,05, 0,1 e 0,7% (m/m), NaBr 10, 20, 50, 75, 100, 150, 200, 300 e 400 mM e DTAB de 0,5 a 120 mM de DTAB, a fim de encontrar as fronteiras inferiores e superiores de solubilização do sistema. As soluções preparadas permaneciam sob agitação

magnética por 48h em um agitador magnético Thermolyne Nuova Stirrer e, em seguida, deixadas em repouso por aproximadamente 4 horas, antes de se fazer observações visuais da solubilização da mistura através do polarímetro de luz cruzada.

Para a determinação das fronteiras superiores de solubilidade, onde ocorre a redissolução do precipitado (FUKADA *et al*, 1999), utilizou-se as seguintes concentrações de AcA: 0,02, 0,1 0,2, 0,3 e 0,5% (m/m), mas se trabalhou com todas as concentrações de sal acima citadas, para 0,1% (m/m) de AcA; para as demais concentrações de AcA, utilizou-se as seguintes concentrações de sal: 10, 20, 50 e 100 mM.

2.4 - Tensão Superficial

Medidas de tensão superficial foram feitas para se obter a CAC da mistura AcA/surfactante. Nos experimentos utilizou-se um tensiômetro da UNICAMP, modelo KSV Sigma 701 (Helsinki, Finland), empregando-se o método do anel (Du Noüy). Todas as medidas foram realizadas com temperatura da amostra mantida em 25°C. Nessas condições, a tensão superficial medida da água foi de 72 mN/m. As medidas foram realizadas por adição de alíquotas de 1-10 µl de solução de DTAB 1M à solução de AcA 0,01%. Após cada adição o equipamento media a força necessária para remover o anel da solução.

2.5 - Reologia

As medidas reológicas foram feitas usando um reômetro rotacional Brookfield equipado com cone e placa (Brookfield Engineering Laboratories, modelo RVIII, Stoughton,

MA, EUA). O instrumento opera utilizando cone 40, com velocidade variando de 150 a 250 rpm, em incrementos de 10 rpm a cada 10 s, para as soluções contendo de 0,1 a 0,5% (m/m) de AcA e, para as soluções com concentração entre 0,6 e 1% de AcA (m/m), utilizou-se o cone 42, com velocidade entre 20 e 70 rpm e incrementos de 5 rpm a cada 10 s. A coleta e análise dos dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação foram feitos usando o programa Rheocalc (Brookfield Engineering Laboratories). Um banho termostático foi usado para manter a temperatura de trabalho em 25°C. Neste trabalho, obteve-se a viscosidade aparente do sistema AcA/DTAB/solução aquosa de NaBr, para diferentes composições dos componentes.

Todas as soluções foram preparadas por pesagem dos reagentes em pó (polímero, surfactante e sal) em água (m/m), permanecendo sob agitação magnética por 15 horas, no caso das soluções contendo apenas AcA, e AcA com NaBr, e por 48 horas quando essas soluções continham DTAB. Após este período, as soluções permaneciam em repouso por no mínimo 4h, para se verificar sua estabilidade, ou seja se permaneciam homogêneas. As soluções contendo DTAB que não solubilizavam no período de 48 h, já podiam ser consideradas insolúveis, pois em várias tentativas, foram deixadas sob agitação por até 30 dias, e não ocorreu a homogeneização. As soluções homogêneas e estáveis estavam prontas para avaliação reológica.

2.6 - Eletroforese em Gel

Em nosso trabalho utilizou-se gel de agarose para os experimentos de eletroforese, seguindo metodologia descrita por Dietrich e cols. (1995). O gel foi preparado utilizando 0,6% de agarose dissolvida em 0,05 M de solução tampão de glicina, pH 9,0. A solução foi

aquecida até completa solubilização da agarose e, a seguir, espalhada em lâmina de vidro (7,5 x 5 cm, e 0,2 cm de espessura). Após resfriamento, foram feitas pequenas perfurações na região central do gel, onde foram colocadas alíquotas de aproximadamente 10 µg das amostras (soluções de AcA e de AcA-DTAB) e o gel submetido a eletroforese (campo elétrico) de 10 V/cm, durante 1 hora, em uma fonte (Electrophoresis Power Supply – EPS 3501). Os compostos foram fixados no gel com o auxílio de 0,01% (p/v) de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), durante 4 horas. O gel foi então corado durante 1 hora com 0,01% (p/v) de azul de toluidina preparada em solução de 1% (v/v) de ácido acético, 50 % (v/v) de etanol e 49% (v/v) de água. Após este procedimento pôde-se observar a migração das amostras através do gel e as bandas de migração das macromoléculas foram fotografadas.

2.7 - Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

Neste trabalho utilizou-se DLS para estimar o tamanho dos agregados de AcA em concentrações variando de 0,05 a 0,5% (m/m), e dos complexos AcA-DTAB formados nas fases ϕ_1 e ϕ_3 do diagrama de limites de solubilidade. As medidas foram feitas usando um equipamento Zeta Sizer 3000 HS, da USP de Ribeirão Preto, operando com um laser de potência de 10 mW. A fonte de luz é um laser de He-Ne, com comprimento de onda de 633 nm. Todas as medidas foram realizadas com as amostras em temperatura de 25°C.

2.8 - Calorimetria por Titulação Isotérmica

O experimento foi realizado na UNICAMP, utilizando um calorímetro de alta sensibilidade (modelo VP-ITC – Micro Cal Inc., Northampton, Massachusetts, USA), equipado com duas celas de 1,4 ml, onde numa se coloca a referência (água) e na outra a amostra (solução de AcA 0,1%). Para a titulação de AcA, foram feitas adições automáticas consecutivas de 3 a 15 μ l de solução concentrada de DTAB (pelo menos 20 vezes a CMC do surfactante), em água ou solução aquosa de AcA, em intervalos de 10 min, através de microseringas (Hamilton, com capilar de aço) conectadas a um adicionador, interfaceado ao programa central de controle do calorímetro, e sob agitação constante. Para cada adição do surfactante o calorímetro calcula o calor de interação do sistema. O experimento foi conduzido à temperatura de 25°C.

IV - Resultados e Discussão

Inicialmente construiu-se diagramas de fases ternários para os sistemas AcA/DTAB/água e AcA/DDAB/água e verificou-se que acima de 27% (m/m) do polímero, na ausência de surfactante, ocorreu cristalização do polímero, que apresentou um aspecto duro. Os diagramas de fases foram, portanto, limitados à região de até 40 % (m/m) de polímero, 40% (m/m) de surfactante e de 60 a 100% (m/m) de água. Os resultados de interação dos surfactantes catiônicos com AcA estão apresentados inicialmente para DTAB e, posteriormente, para DDAB.

Foi realizado o controle de pH para todas as amostras. As soluções de AcA na faixa de 0,1 a 0,5% (m/m) apresentaram pH 7,0. Mesmo na presença de sal e surfactante, o pH se manteve dentro da faixa fisiológica, entre 6,5 e 7,0.

1 - Sistema AcA/DTAB/água

1.1 - Diagramas de Fases

A Figura 7 mostra o diagrama de fases ternário do sistema AcA/DTAB/água, onde se encontrou diversas fases, que foram agrupadas em quatro regiões principais: a região 1, isotrópica que compreendia uma faixa muito estreita, onde a concentração de AcA era muito baixa, não ultrapassando 0,5% (m/m), representada pela menor área do diagrama, 4%, mas de grande interesse, pois a adição do polímero não destruiu as micelas formadas nesta região (MCGRATH, 1995), e sim se associou a elas formando complexos de AcA-DTAB. A região 2 era de duas fases, onde uma era isotrópica e a outra consistia de um gel em suspensão, e

correspondia a 14% da área do diagrama. A separação de fases pode ser útil em processos de purificação de macromoléculas (GU e SHIH, 2004; SINGH e SINGH, 1996). Em um sistema bifásico, na região do diagrama de fases próxima da fronteira entre o domínio monofásico e o bifásico, surge o fenômeno da opalescência crítica, onde a amostra se apresentava turva, mas não se consegue separá-la em duas fases por técnica alguma. A impossibilidade da separação vem do fato da turvação resultar de flutuações de composição de curta duração (ZHANG *et al.*, 1992).

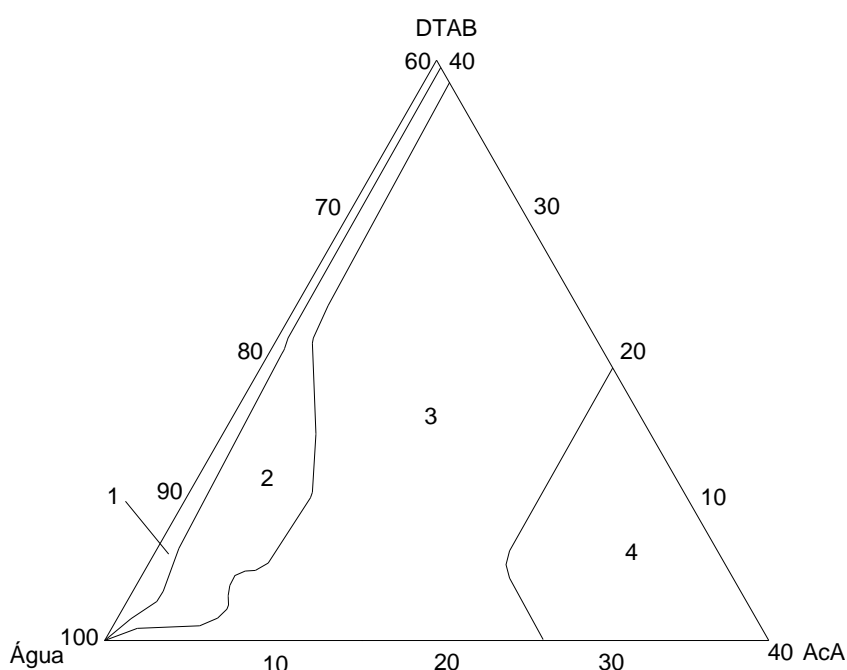


Figura 7 – Diagrama de fases ternário do sistema AcA/DTAB/água a 25°C, onde região 1: isotrópica, 2: duas fases, 3: gel e 4: cristalizada.

A região 3, representada pela maior área do diagrama, 61%, foi visualmente homogênea, com características de gel pouco viscoso, em concentrações muito baixas de AcA, até cerca de 0,3%, tendo esta viscosidade aumentado gradativamente à medida que se aumentava a concentração de AcA, tornando-se um gel bem consistente que se mantinha praticamente idêntico nas várias concentrações de DTAB, o que seria interessante para aplicações onde se necessita manter as características naturais do gel, sem que sejam afetadas

pela adição do surfactante. Analisou-se atentamente em diagrama binário de fases o comportamento do AcA em água, e verificou-se que em concentrações muito baixas, cerca de 0,01% (m/m) já ocorria a formação de gel de baixa viscosidade, que escoava facilmente. A propriedade do AcA de formar soluções altamente viscosas mesmo em concentrações moderadas tem sido explorada em áreas de processamento de alimentos e em farmacologia como carreador de drogas (OERTHER *et al.*, 1999; BALDURSDÓTTIR e KJØNIKSEN, 2005; DRAGET *et al.*, 2000; DRAGET *et al.*, 2006; SÉCHOY *et al.*, 2000). À medida que a concentração de AcA aumentava o escoamento ficava mais lento, até cessar, ou seja, a viscosidade aumentava até formar um gel consistente em torno de 20% (m/m) de AcA, que persistia até cerca de 27% (m/m); a partir dessa concentração, apresentava uma textura firme e homogênea até 40% (m/m) de AcA.

A região 4 representava 21% da área do diagrama de fases, e nela o sistema se encontrava cristalizado, apresentando um aspecto mais homogêneo em concentrações menores de DTAB, pois, conforme citado anteriormente, o AcA em água se homogeneizava até 40% (m/m), mas à medida que se acrescentava DTAB, esta mistura era dificultada.

Como nosso maior interesse estava nas regiões de fase isotrópica e de gel, o diagrama de fases ternário do sistema AcA/DTAB/água foi limitado de 0 a 3% (m/m) de polímero, de 0 a 3% (m/m) de surfactante e 97 a 100% (m/m) de água. Sob essas condições, o diagrama de fases foi mostrado na Figura 8. Embora o sistema fosse bem diluído, existia uma grande região não homogênea, onde ocorria precipitação e várias fases coexistiam.

Na Figura 8, a região 1 era isotrópica e representava a fase micelar que não era destruída pela presença do polímero em baixas concentrações, não ultrapassando 0,5% (m/m) de AcA, correspondia a uma área de aproximadamente 25% do diagrama de fases. A região 2 era composta por multifases, cujas características variavam de acordo com a concentração do polímero e do surfactante, e representava a maior área do diagrama, cerca de 59%. A região 3

era de gel, e representava a menor área do diagrama, em torno de 16%, cujo gel formado era bastante consistente.

Contudo, nosso interesse foi voltado para regiões ainda mais diluídas, onde se podia observar a interação entre o polímero e o surfactante, com reduzida área de formação de precipitados. Escolheu-se, portanto, a linha de concentração de 99% de água do sistema AcA/DTAB/água (da Figura 8), para a qual se investigou o comportamento das fases, na presença de NaBr.

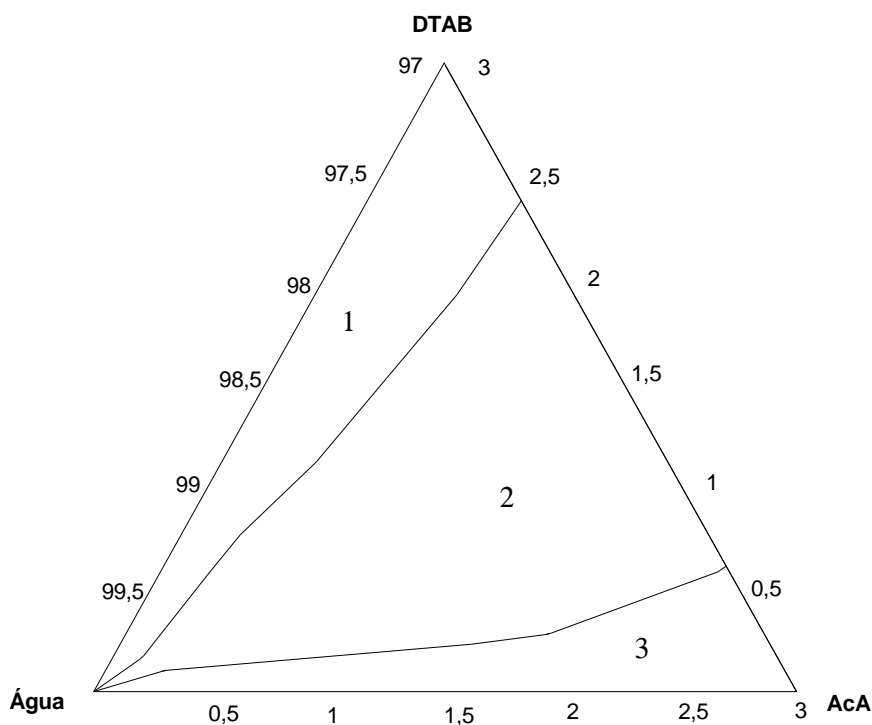


Figura 8 – Diagrama de fases ternário do sistema: AcA/DTAB/água a 25°C, onde região 1: isotrópica, 2: multifases e 3: gel.

A Figura 9 mostra os resultados obtidos para 99% (m/m) de água, em diagramas de fases binários do sistema AcA/DTAB a 25°C, na ausência (a) e presença de NaBr (b-h). Na ausência do sal (a), observou-se que ocorriam cinco fases distintas, sendo F_1 a fase gel, que variava de 0,9 a 1% (m/m) de AcA e (0 a 0,1% (m/m) de DTAB), ou seja, apenas

concentrações muito baixas do surfactante não alteravam a fase gel formada pelo polímero em água; F₂ era fase gel que continha partículas macroscópicas em suspensão, compreendendo a faixa que variava de 0,8 a 0,9% (m/m) de AcA e de 0,1 a 0,2% (m/m) de DTAB; conseqüentemente, a adição de DTAB a soluções de baixas concentrações de AcA, desestabiliza a fase gel do polímero; F₃ era região de multifases e representava a maior região do diagrama, indicando que a interação polímero-surfactante era muito intensa nestas concentrações, formando estruturas complexas; F₄ era região de precipitação de cristais do complexo, apresentando uma fase isotrópica com aderências nas paredes dos tubos; é uma faixa estreita que variava de 0,15 a 0,2% (m/m) de AcA (0,8 a 0,85% (m/m) de DTAB); a fase isotrópica de F₄ mostrou-se estável, quando colocada em outro recipiente, não apresentando aderência; F₅ era região isotrópica, que variava de de 0 a 0,15% (m/m) de AcA (0,85 a 1% (m/m) de DTAB), onde as estruturas micelares características deste surfactante nestas concentrações não eram destruídas pela presença do polímero. Na presença de 50 mM de NaBr (Figura 9b), observou-se um aumento da região de precipitação F₃ (ao invés de diminuição, como se esperava), e diminuição da fase isotrópica F₅, mantendo constante a fase gel F₁. Na Figura 9c verificou-se que na presença de 100 mM de NaBr a fase de precipitação F₃ se expandiu, diminuindo a fase isotrópica F₅, praticamente desaparecendo a fase F₄ isotrópica com aderências, e reduzindo consideravelmente a fase gel. Aumentando a concentração de NaBr para 200 mM, Figura 9d, a região de precipitação F₃ reduziu um pouco, a isotrópica F₅ e gel F₁ também reduziram, aumentando a fase isotrópica com aderências F₄, ou seja, nesta região o polímero começou a afetar as estruturas formadas pelo surfactante. Na presença de 400 mM de NaBr, Figura 9e, verificou-se um aumento considerável da fase isotrópica F₅, redução da fase isotrópica com aderências F₄ e ligeira diminuição da região de precipitação F₃ e da fase gel F₁. Na presença de 800 mM de NaBr, Figura 9f, a fase gel F₁ desapareceu, e manteve constante a região micelar isotrópica F₅, reduzindo um pouco a região

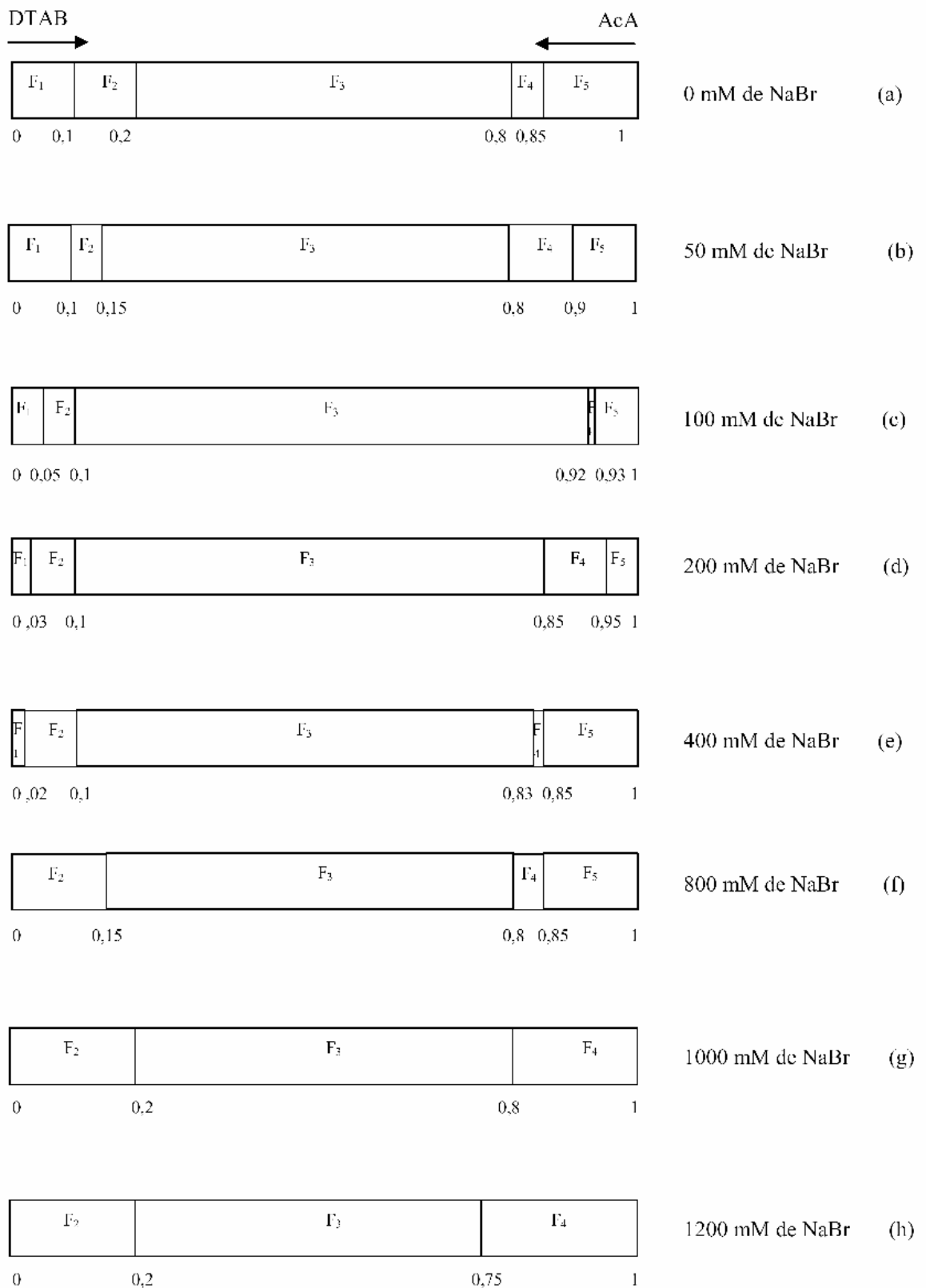


Figura 9 – Diagrama de Fases do Sistema AcA/DTAB/Água, em 99% de água, a 25°C, na ausência e presença de NaBr. F₁: gel, F₂: gel com partículas em suspensão, F₃: multifases, F₄: isotrópica com aderências nas paredes, F₅: isotrópica.

de precipitação F_3 , estando de acordo com resultados preliminares, de NaBr causar separação de fases em solução aquosa de AcA, que era pronunciada em concentrações maiores, ou seja, a adição de sal induz a separação de fases no polímero em solução (uma rica e a outra pobre de polímero). A Figura 9g mostra que 1000 mM do sal causou o desaparecimento das fases gel F_1 e micelar isotrópica F_5 ; porém, reduziu a região de precipitação F_3 a valores menores do que os da Figura 9a,. Este comportamento se manteve na presença de 1200 mM de NaBr (Figura 9h). A adição de sal elimina a separação de fases, mas em concentrações muito elevadas, induz novamente separação de fases, o que pode ser entendido por uma combinação de efeitos eletrostáticos e diminuição da entropia do sistema (JÖNSSON *et al.*, 1998).

Observou-se, desse modo, que NaBr foi importante para o sistema AcA/água e afetou sobretudo o comportamento das regiões de multifases do sistema AcA/DTAB/água.

1.2 - Diagramas de Concentração Crítica de Eletrólitos (CEC)

A Figura 10 mostra o efeito de diferentes sais inorgânicos no comportamento de fases de AcA/DTAB, contendo 0,1% (m/m) de AcA. Nesses diagramas, a fase de precipitação correspondia à região abaixo das curvas, que representavam a CEC. Verificou-se que a CEC máxima de NaBr ficava em torno de 375 mM. Em trabalho semelhante, Björling *et al.* (1999), encontraram uma CEC máxima de 150 mM para NaBr em 0,1% (m/m) do polissacarídeo aniônico ácido hialurônico (NaHy) na presença de CTAB. Por esta razão, trabalhou-se com concentrações de até 400 mM de NaBr, uma vez que se pretendia utilizar as menores concentrações necessárias à solubilização do sistema. O brometo de sódio foi escolhido por ter o mesmo contra-íon do surfactante. Diagramas de fases para sistemas similares foram

muito estudados anteriormente por THALBERG e LINDMAN, 1989; HERSLÖF e SUNDELÖF, 1992; HERSLÖF-BJÖRLING *et al.*, 1999 e THALBERG *et al.*, 1991.

Observou-se ainda na Figura 10 que a CEC dependia da natureza do contra-íon; os valores máximos de CEC decresciam na seguinte ordem $\text{NaBr} > \text{NaCl} > \text{Na}_2\text{SO}_4$. Para todos os sais investigados, a CEC inicialmente aumentava rápido até o valor máximo, e depois diminuía a uma taxa que dependia da natureza do contra-íon. Essa diminuição foi mais acentuada para NaBr e NaCl e mais suave para Na_2SO_4 . A diminuição da CEC se deve, provavelmente a efeitos de blindagem eletrostática e especificidade do contra-íon.

1.3 - Tensão Superficial

Dos resultados de tensão superficial (Figura 11) obteve-se a $\text{CAC} = 0,08 \text{ mM}$ de DTAB na presença de AcA, (em água, a $\text{CMC} = 16 \text{ mM}$). O comportamento da curva de tensão superficial foi semelhante ao de sistemas análogos (JÖNSSON *et al.*, 1998), nos quais a adição de surfactante diminuía a tensão superficial abaixo da CMC, e acima da CMC era praticamente constante, quando todo surfactante adicionado formava novas micelas.

O intercepto das linhas na curva de tensão superficial (Figura 11) correspondia ao valor da CAC, isto é, à formação de agregados micelares ligados ao polissacarídeo, que ocorria em $0,08 \text{ mM}$ de DTAB, na presença de AcA $0,01 \%$, sugerindo uma forte interação de AcA com DTAB, uma vez que $\text{CAC} \ll \text{CMC} = 16 \text{ mM}$ (JÖNSSON *et al.*, 1998), que caracteriza grande afinidade do polieletrólito pelo surfactante.

Os complexos DTAB-AcA formados foram caracterizados pela adsorção do surfactante, que se ligava eletrostaticamente à cadeia do poliácido (BABAK *et al.*, 2000). O perfil da curva de tensão superficial (Figura 11) evidenciou a forte atividade superficial do

surfactante na presença do polissacarídeo. Este efeito se deve à cooperatividade da adsorção das moléculas de DTAB no AcA, que têm carga elétrica opostas.

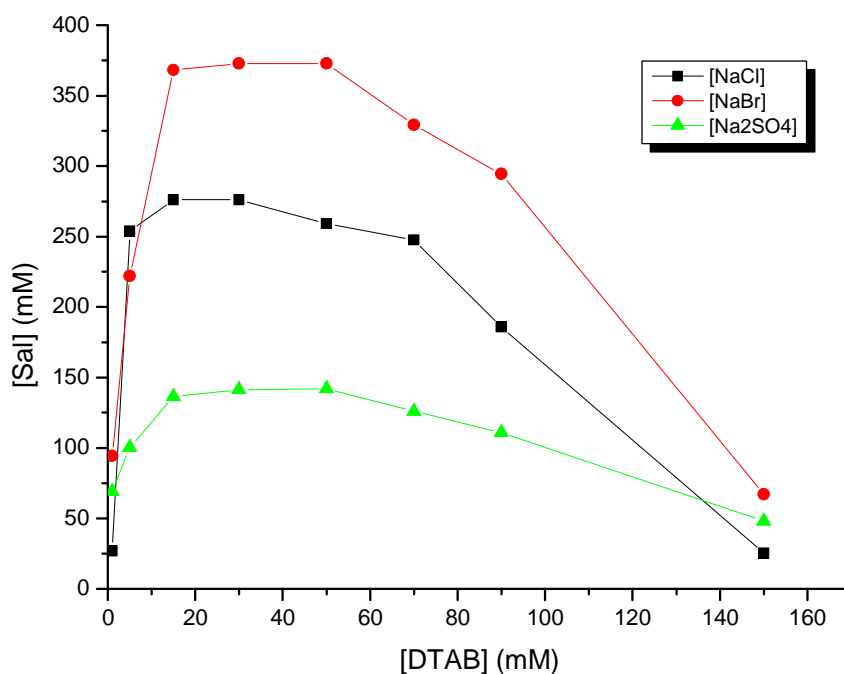


Figura 10: Diagrama da CEC de sais de sódio, na presença de 0,1% (m/m) de AcA.

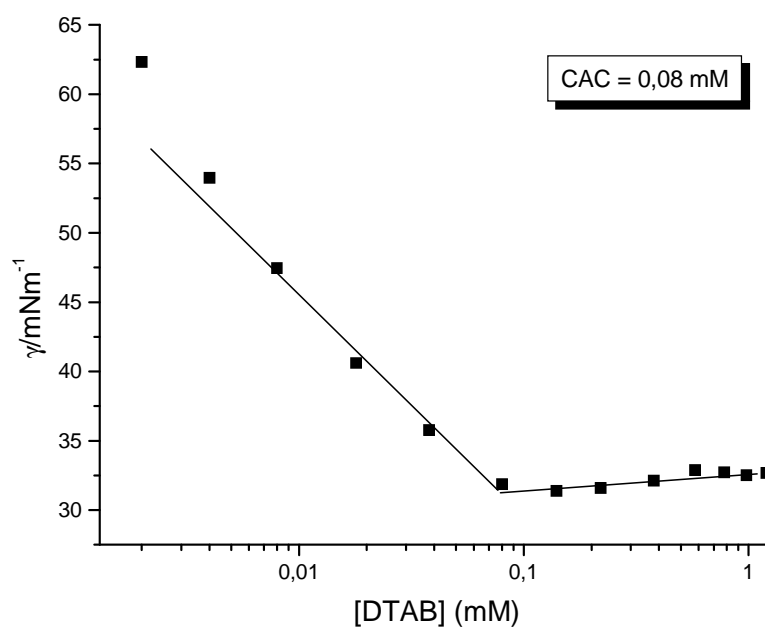


Figura 11 - Efeito de DTAB na tensão superficial da mistura AcA/DTAB/água. Do intercepto das curvas obtemos CAC = 0,08 mM. Medidas realizadas a 25°C.

1.4 - Testes de Solubilidade

A Figura 12 mostra os limites inferiores de solubilidade do sistema AcA/DTAB/NaBr/Água para AcA de 0,05 a 0,7% (m/m), onde se observou que estes limites eram muito baixos, ou seja, pequenas concentrações de DTAB adicionadas ao sistema aquoso do polímero, provocava a precipitação do complexo, mesmo na presença de sal. Abaixo destes limites, tinha-se sistemas homogêneos e acima era a região de precipitação. Baseados em resultados encontrados por FUKADA *et al* (1999), que encontraram uma região de ressolubilização, após uma grande região de precipitação para o sistema aquoso NaHy-TTAB, procurou-se no sistema em estudo, encontrar tal região, e explorou-se detalhadamente o sistema para a concentração de 0,1% de AcA, cujos resultados são mostrados na Figura 13.

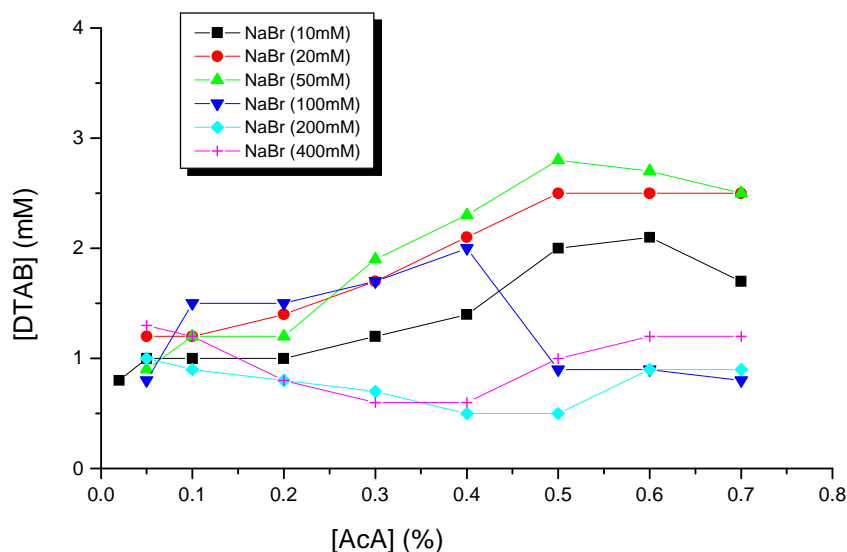


Figura 12 – Limites Inferiores de Solubilidade do Sistema AcA/DTAB/NaBr/água para AcA de 0,1 a 0,5% (m/m), a 25°C.

A Figura 13 mostra o diagrama dos limites inferior e superior de solubilidade do sistema para AcA 0,1% (m/m), em que ϕ_1 era região homogênea, de concentrações muito baixas de DTAB, onde ocorria completa homogeneização do sistema; ϕ_2 era região de

precipitação dos complexos de AcA-DTAB, e nela se encontravam multifases do sistema, e ϕ_3 era região de ressolubilização, onde ocorria a redissolução do precipitado formado na fase anterior. Comportamento semelhante foi observado por Fukada *et al.* (1999) para o sistema NaHy-C₁₀TAB-água, onde verificaram a separação em duas fases quando a concentração de C₁₀TAB estava entre 0,03 e 0,35 M e a concentração de polímero abaixo de 0,05 g/L; em regiões de concentrações maiores de surfactante (> 0,35 M) observaram a redissolução do precipitado, que atribuíram à ligação dos agregados micelares de surfactantes à cadeia do polímero.

As baixas concentrações de DTAB, na região inferior de solubilidade de nosso sistema, provavelmente devem estar relacionadas à CAC, que corresponde ao início da ligação de monômeros de DTAB ao polissacarídeo, e que ocorreu a 0,08 mM de DTAB na presença de AcA (conforme resultados de tensão superficial descritos anteriormente).

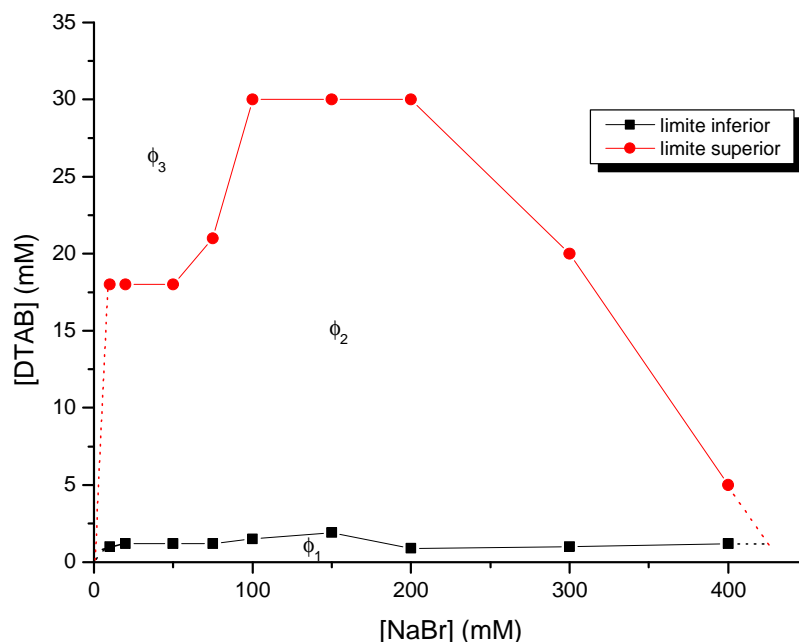


Figura 13 - Limites de Solubilidade do Sistema AcA/DTAB/NaBr/água para AcA 0,1% (m/m), a 25°C, onde ϕ_1 é região homogênea, ϕ_2 é região de precipitação e ϕ_3 é região de ressolubilização do sistema.

Foram feitas medidas de pH de soluções aquosas de AcA em várias concentrações, e de amostras retiradas das três regiões acima citadas. Encontrou-se valores de pH entre 6,5 e 7, ou seja, dentro da faixa de pH fisiológico, que é onde o AcA se encontra negativamente carregado (BALDURSDÓTTIR e KJØNIKSEN, 2005).

Alternativamente, as Figuras 14 e 15 mostram os limites inferior e superior de solubilidade do sistema para AcA de 0,1 a 0,3% (m/m) e para 10 e 20 mM de NaBr, respectivamente. Para ambas as concentrações de sal, o limite inferior de solubilização foi muito baixo, seguido por uma região de precipitação, para depois ressolubilizar novamente. Acredita-se que a precipitação dos complexos se deva à eletroneutralidade do polieletrólito devido à ligação dos monômeros de DTAB ao longo da cadeia do polímero, e que esta ressolubilização esteja relacionada às ligações de micelas do surfactante ligadas à cadeia do polímero, conforme o modelo proposto para o mecanismo de interação polímero-surfactante (Figura 30).

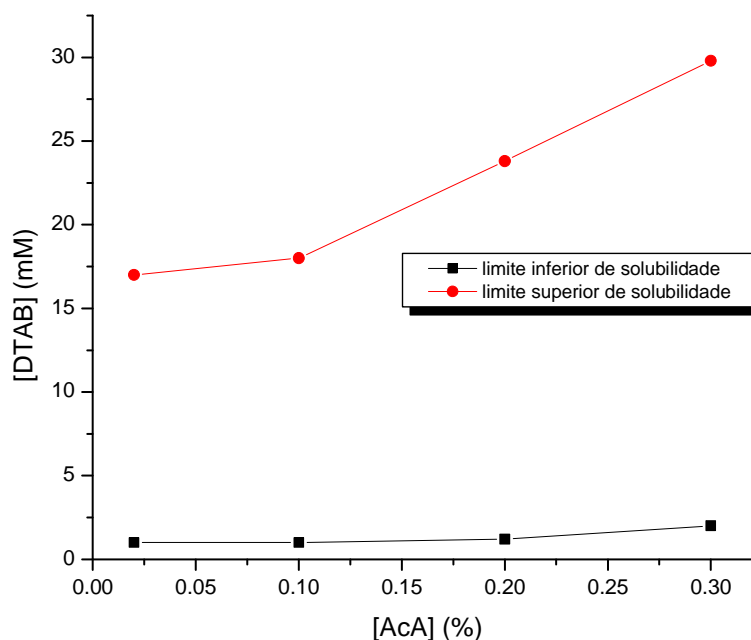


Figura 14 - Limites de Solubilidade do Sistema AcA/DTAB/NaBr/Água para AcA de 0,1 a 0,3% (m/m), com 10mM de NaBr, a 25°C.

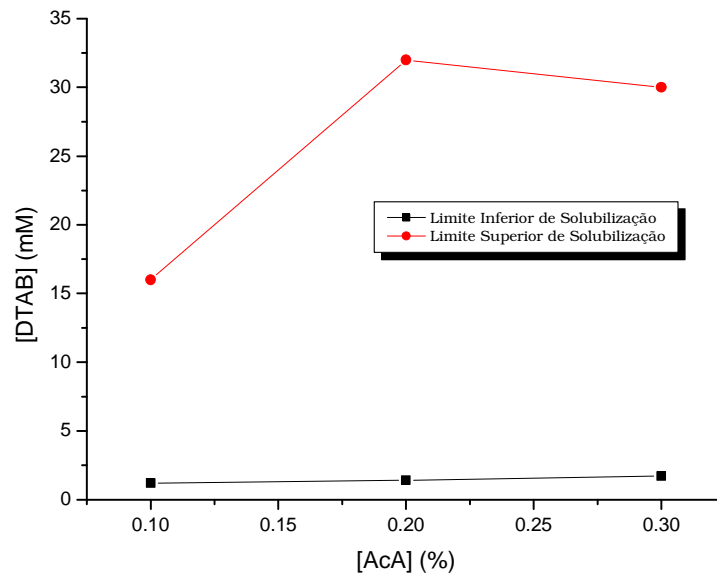


Figura 15 - Limites de Solubilidade do Sistema AcA/DTAB/NaBr/Água para AcA de 0,1 a 0,3% (m/m), com 20mM de NaBr, a 25°C.

1.5 - Reologia

A Figura 16 apresenta as curvas típicas de testes reológicos das soluções aquosas de AcA. Este comportamento caracteriza um fluido não-newtoniano, pois o gráfico de tensão de cisalhamento (τ) em função de taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) é não linear e/ou não começa na origem do diagrama. O comportamento do fluxo é dependente apenas da taxa de deformação e não do tempo de duração da força aplicada. Portanto, os resultados experimentais foram descritos pelo modelo *Power Law* ou Lei da Potência (RAO, 1999):

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad (9)$$

onde τ é a tensão de cisalhamento, K é o índice de consistência, $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação e n é o índice de comportamento do fluido, que é igual a 1 para fluidos newtonianos, menor que 1 para pseudoplásticos e maior que 1 para fluido dilatante. Os coeficientes K e n do sistema

AcA/água foram obtidos pelo ajuste ao modelo de Power Law dos dados experimentais, sendo os correspondentes coeficientes de correlação (r^2) maiores que 0,999.

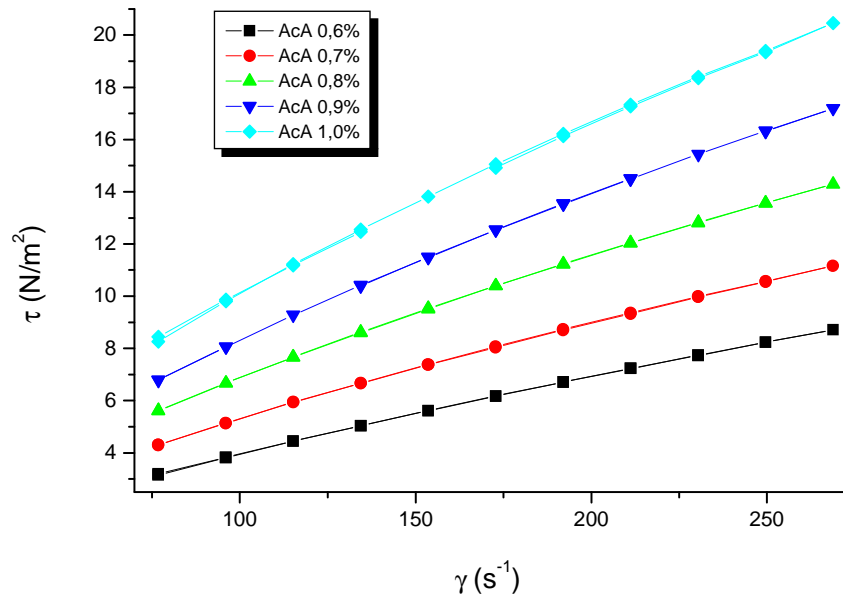


Figura 16: Reograma de tensão de cisalhamento (τ) em função de taxa de deformação (γ) de solução aquosa de AcA, em concentrações variando de 0,6 a 1% (m/m), a 25°C.

Para fluidos newtonianos, a tensão de cisalhamento τ é proporcional à taxa de deformação γ (HIEMENS e RAJAGOPALAN),

$$\tau = \mu\gamma \quad (10)$$

onde a constante de proporcionalidade μ é a viscosidade do fluido. Combinando as equações (9) e (10), obtivemos a expressão para viscosidade aparente (μ_{ap})

$$\mu_{ap} = K \gamma^{n-1} \quad (11)$$

Os valores de μ_{ap} para AcA em água foram mostrados nas Figuras 17 e 18, para concentração de AcA variando de 0,1 a 0,5% e de 0,6 a 1% (m/m), respectivamente, sendo que as curvas apresentaram comportamento de fluido não-newtoniano do tipo pseudoplástico

($n < 1$). Embora o comportamento das curvas em ambas as figuras tenham mostrado um aumento gradativo de μ_{ap} , e que sua variação em função da taxa de deformação, $\dot{\gamma}$, devido ao aumento da concentração de AcA, estivesse de acordo com os reportados por outros pesquisadores (MANCINI *et al.*, 1996; PISÁRCIK *et al.*, 1999; FUKADA *et al.*, 1999), elas não podiam ser comparadas, pois as taxas de deformação ($\dot{\gamma}$) eram de ordens de grandeza diferentes, pois foram obtidos usando cones diferentes. Como o nosso objetivo foi trabalhar em concentrações mais diluídas do polímero, considerou-se apenas os resultados obtidos na faixa de 0,1 a 0,5% (m/m) de AcA.

Observou-se pela Figura 17 que, à medida que a concentração do polímero aumentou de 0,1 até 0,5% (m/m), a variação da μ_{ap} em função da $\dot{\gamma}$, também aumentou, distanciando-se cada vez mais do comportamento newtoniano. Porém, quando adicionou-se sal ao sistema, esta variação diminuiu consideravelmente, principalmente para concentrações menores de AcA, diminuindo cada vez mais a variação no valor de μ_{ap} com o aumento da concentração de sal (Figura 19).

As Figuras 19a-f mostraram que NaBr alterou μ_{ap} do sistema contendo apenas AcA e água. Quando a concentração de NaBr aumentou de 10 a 1000 mM, μ_{ap} de AcA (0,1-0,5% (m/m)) em água diminuiu gradativamente, principalmente para concentrações menores de AcA (0,1-0,3% (m/m)) e do sal (10-500 mM). Comparando-se estas figuras, com a Figura 17 (sem sal), e fixando-se na concentração de 0,1% (m/m) de AcA, verificou-se que μ_{ap} decresceu de 6,4 mPa.s (AcA em água) para 4,1 mPa.s e 2,2 mPa.s (10 mM e 50 mM de NaBr, respectivamente), mantendo a diferença aproximada de 2 mPa.s, até a adição de 500mM de NaBr. A adição de 750 mM NaBr diminuiu a μ_{ap} para 1,6 mPa.s, permanecendo nesta faixa, com a adição de 1000 mM de NaBr. Observou-se pela Figura 19a que, para 0,1% (m/m) de AcA, embora μ_{ap} tivesse diminuído com a adição de 10 mM de sal, ainda existia uma ligeira inclinação da curva, característica de fluido não-newtoniano; mas, a partir da

adição de 50 mM de sal (Figuras 19b-f), essa inclinação praticamente desaparecia, apresentando o sistema um comportamento de fluido newtoniano.

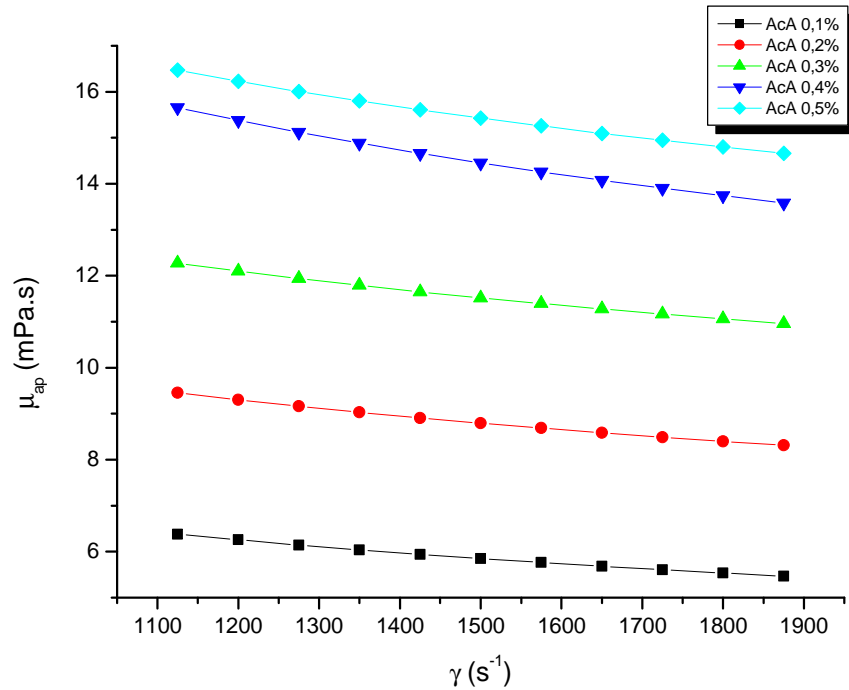
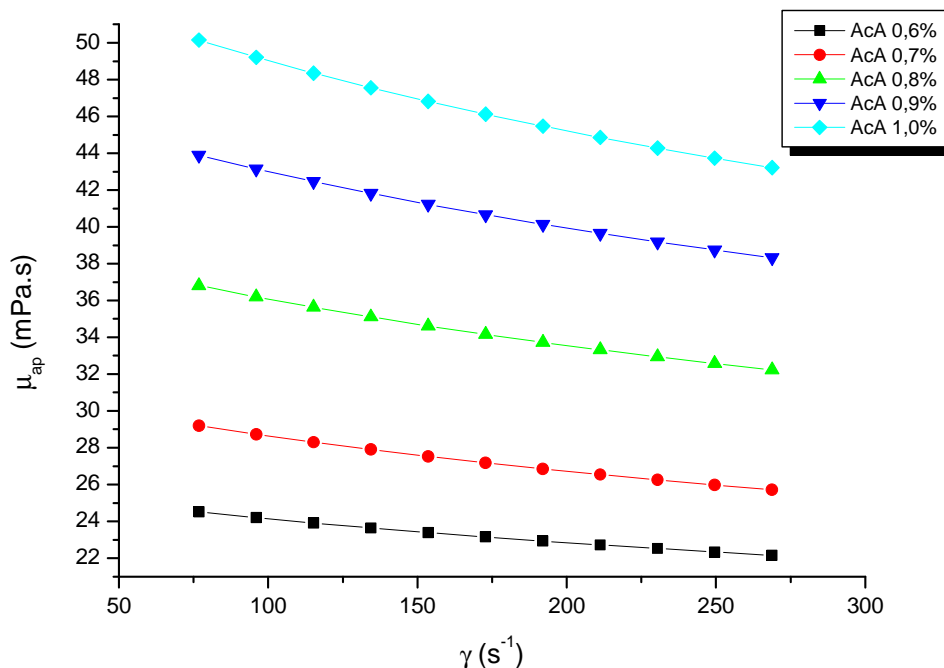


Figura 17 – Viscosidade aparente (μ_{ap}) de solução aquosa do ácido algínico (AcA), em concentrações variando de 0,1 a 0,5% (m/m), em função da taxa de deformação (γ), a 25°C.

Para 0,2% (m/m) de AcA o comportamento foi semelhante a 0,1%, porém a inclinação da curva desapareceu somente após a adição de 500 mM de NaBr; e para 0,3% (m/m) de AcA a inclinação só desapareceu quando se adicionou 750 mM de NaBr. Para concentrações de 0,4 e 0,5% (m/m) de AcA, as inclinações das curvas permaneceram, embora houvesse uma menor variação. Assim, pode-se afirmar que quando a concentração de polímero era baixa e a concentração de sal era relativamente alta, μ_{ap} independia da taxa de deformação. Na Figura 19f, para 0,4% (m/m) de AcA, observou-se que ocorreu uma inversão na inclinação da curva, apresentando um comportamento de fluido dilatante ($n >$

1), o que não se acredita que tenha sido devido ao excesso de sal, uma vez que esse fenômeno não foi observado para outras concentrações de polímero.



Figura

18 – Viscosidade aparente (μ_{ap}) de solução aquosa do ácido algínico (AcA), em concentrações variando de 0,6 a 1% (m/m), em função da taxa de deformação (γ), a 25°C.

A Figura 20 sintetiza o que já foi discutido nas Figuras 17 e 19 para AcA 0,1% (m/m), apresentando as curvas de μ_{ap} em função da γ , para solução aquosa de AcA 0,1% (m/m) e NaBr variando de 0 a 1000 mM. Pode-se observar o efeito que a adição de pequenas concentrações do sal exerceu sobre a viscosidade do polímero. Nas concentrações de 10 e 50 mM de NaBr teve-se o maior efeito na queda de μ_{ap} , acima de 50 mM não ocorreu queda brusca na viscosidade do sistema. Acredita-se que, quando se adicionou pequenas quantidades de sal, seus íons blindaram as cargas do polímero, cuja cadeia encontrava-se estirada em solução, compactando a molécula e diminuindo assim a viscosidade do sistema.

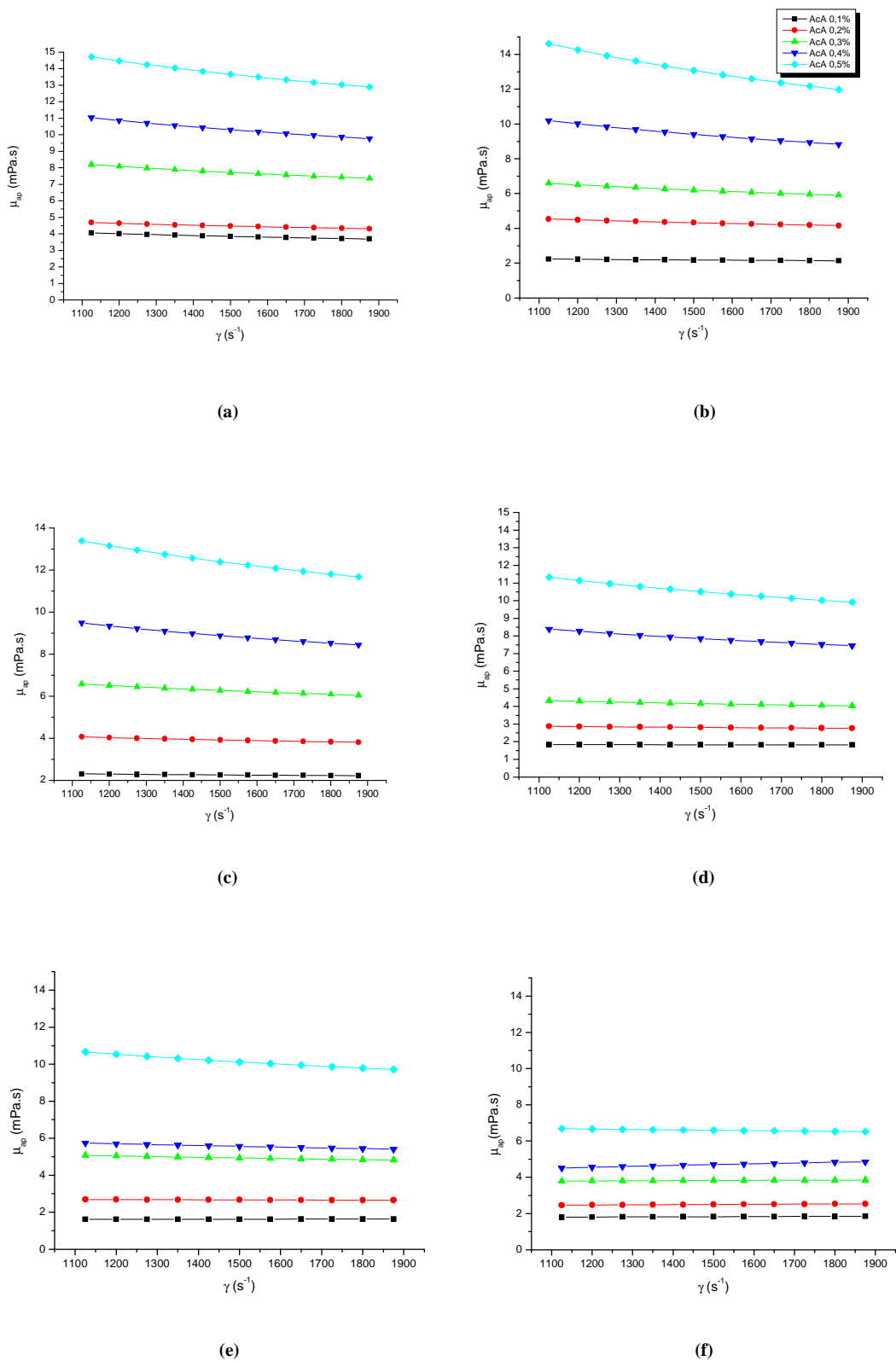


Figura 19 – Viscosidade aparente (μ_{ap}) de solução aquosa de AcA, em função da taxa de deformação (γ), a 25°C, com AcA variando de 0,1 a 0,5% (m/m), na presença de NaBr nas concentrações de: (a) 10; (b) 50; (c) 100; (d) 500; (e) 750; (f) 1000 mM.

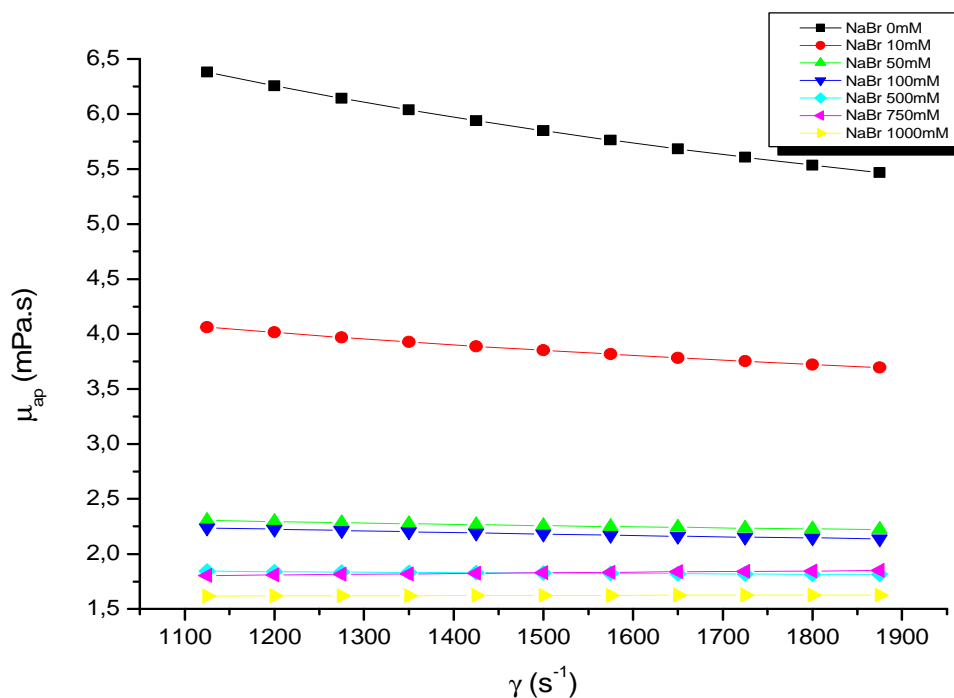


Figura 20 – Viscosidade aparente (μ_{ap}) de solução aquosa de AcA 0,1% (m/m) em função da taxa de deformação (γ), com NaBr variando de 10 a 1000 mM, a 25°C.

Concentrações maiores de sal saturaram as cargas do polímero, fazendo com que o aumento da concentração de sal não causasse grandes alterações na conformação do polímero. Observou-se também o comportamento newtoniano das três curvas com maior concentração de sal. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Fukada *et al.* (1999), para o efeito de NaCl na viscosidade de NaHy.

Como acima de 100 mM, NaBr afetou muito pouco a viscosidade aparente de AcA, utilizou-se nos experimentos subsequentes concentrações de sal máxima de 400 mM. Verificou-se também que ao adicionar DTAB à solução aquosa do polímero, ocorreu precipitação em concentrações muito baixas, em torno de 0,5 mM do surfactante, a menos

que se adicionasse sal ao polímero. Por essa razão não se realizou estudos reológicos do sistema AcA/DTAB/água na ausência de sal.

A reologia nos limites superiores de solubilidade, região ϕ_3 (Figura 13) do sistema AcA/DTAB/NaBr/água não foi realizada por limitações do equipamento disponível, que é para média viscosidade. Dentro desses limites a viscosidade do sistema diminuiu muito, e não se conseguiu leitura no reômetro. Portanto, os resultados seguintes referem-se aos limites inferiores de solubilidade do sistema AcA/DTAB/NaBr/água, os quais foram baseados na maior concentração de DTAB possível de se adicionar ao sistema, numa dada concentração de sal, mantendo-o homogêneo. A mínima quantidade de surfactante que se adicionava ao sistema além deste limite, provocava a separação de fases, caindo na região heterogênea ou de precipitação ϕ_2 .

Os resultados dos experimentos de reologia realizados no limite inferior de solubilidade do sistema AcA/DTAB/NaBr/água, com AcA variando de 0,1 a 0,5% (m/m) e NaBr de 10 a 400 mM, mostraram que a adição do surfactante ao sistema levou a oscilações nos valores de viscosidade aparente em relação aos sistemas contendo apenas AcA/NaBr/água (Tabela 1).

Portanto, para facilitar a análise dos resultados de reologia nos pontos próximos à fronteira inferior, investigou-se a viscosidade aparente em função da concentração de sal numa taxa de deformação fixa, de 1500 s^{-1} (Figura 21). Através desta figura observou-se que, ao se adicionar 20 mM de NaBr, houve uma tendência ao aumento da μ_{ap} , para todas as concentrações de AcA, exceto para 0,2% (m/m). Na seqüência, após este pequeno aumento, houve uma queda em μ_{ap} na concentração do sal de 50 mM, que foi relativamente grande para as concentrações de 0,3 a 0,5% (m/m) de AcA mas pequena para 0,1 e 0,2% (m/m) de AcA.

Tabela 1: Concentrações de DTAB (mM) necessárias para manter o sistema homogêneo, no limite inferior de solubilidade.

Concentração de NaBr (mM)	Concentração de AcA (% m/m)				
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
10	1,0	1,0	1,2	1,4	2,0
20	1,2	1,4	1,7	2,1	2,5
50	1,2	1,2	1,9	2,3	2,8
100	1,5	1,5	1,7	2,0	0,9
200	0,9	0,8	0,7	0,5	0,5
400	1,2	0,8	0,6	0,6	1,0

A adição de mais de sal provocou outro decréscimo na μ_{ap} , exceto em 0,2% (m/m) de AcA que aumentou μ_{ap} . Essa variação de μ_{ap} provavelmente se deva ao fato da concentração de DTAB na região de fronteira variar com as concentrações de sal e de polímero, e a concentração de surfactante ter alterado a viscosidade do sistema, o que foi bem discutido para o sistema NaHy/TTAB/NaCl/água (PISÁRCIK *et al.*,1999).

Como na região de fronteira os valores de DTAB foram variáveis, o que dificultou avaliar os resultados de viscosidade, investigou-se pontos abaixo desta linha de fronteira, fixando o valor de DTAB em 1 mM, pois nesta concentração de surfactante, conseguiu-se leitura no viscosímetro (que é adequado para viscosidades médias).

A Figura 22 mostra μ_{ap} em função da concentração de NaBr para o sistema AcA/DTAB/NaBr/água, com DTAB de 1,0 mM, taxa de deformação de 1500 s^{-1} e concentração de AcA variando de 0,1 a 0,5% (m/m), ou seja, região de solubilização inferior. Observou-se que na presença de 10 mM de NaBr, μ_{ap} do sistema apresentou valores muito próximos, para as concentrações do polímero investigadas, exceto para 0,2%

(m/m). Na presença de 20 mM de NaBr, ocorreu aumento da μ_{ap} , e para 50 mM o aumento ocorreu para as concentrações de 0,4 e 0,5% (m/m) de AcA, enquanto diminuiu para 0,1 a

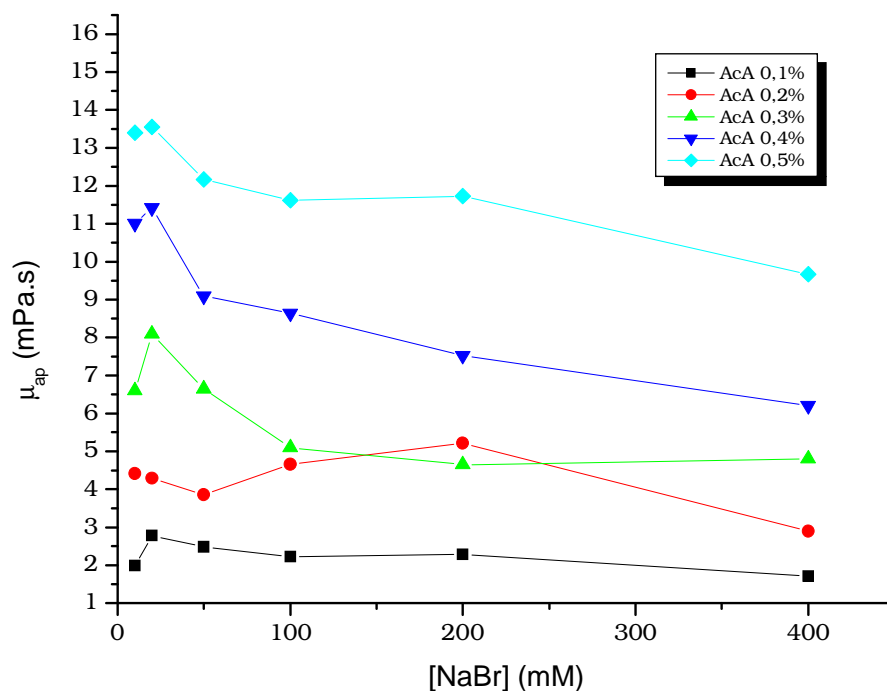


Figura 21 – Viscosidade aparente (μ_{ap}) do sistema AcA/DTAB/água em função da concentração de sal, para AcA variando de 0,1 a 0,5% (m/m), nas fronteiras inferiores de solubilização, com taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) de 1500 s^{-1} , a 25°C .

0,3% (m/m) de AcA. Após a adição de 50 mM de NaBr houve uma tendência de estabilização da curva para 0,1% (m/m) de AcA.

A variação na viscosidade se deve a uma competição entre os contra-íons e o surfactante para se ligar ao polímero. A viscosidade na presença de sal e surfactante foi sempre menor do que na ausência desses componentes (ou seja do polímero sozinho em água), de modo que variações na viscosidade se devem a variações na conformação do

polímero ou complexo polímero-surfactante. Inicialmente, as moléculas de DTAB interagiram eletrostaticamente com AcA compactando-as, e fizeram com que a viscosidade do sistema diminuísse. Com o aumento da concentração de NaBr os íons Br^- blindaram as micelas, fazendo com que elas se afastassem do polímero aumentando a viscosidade do sistema. Depois de atingir um máximo, a viscosidade decaiu com o aumento da concentração de NaBr, devido ao efeito de blindagem eletrostática. A partir de determinada concentração de sal, os íons e contra-íons ficaram dispersos na solução interferindo muito pouco na viscosidade do sistema. A Figura 23, compara a variação de μ_{ap} com o aumento da concentração de sal, da solução de AcA, 0,1% (m/m), na ausência e na presença de DTAB. Observou-se que NaBr provocou uma queda inicial considerável em μ_{ap} , até 50 mM de NaBr, e acima desta concentração a queda suave. Já para a solução contendo 1,0 mM de DTAB, a adição de 20 mM de NaBr provocou um ligeiro aumento inicial em μ_{ap} , diminuindo em seguida com a adição de 50 mM de NaBr e mantendo um comportamento semelhante ao da solução de AcA puro. Resultados semelhantes foram encontrados para o sistema NaHy/TTAB/NaCl/água, cujos autores explicaram que as variações na viscosidade pela adição de TTAB eram devidas a ligações de micelas ao polímero. Para baixas concentrações de TTAB estas ligações originaram produtos de associação de uma cadeia polimérica contraída, cercada de uma ou mais micelas ou agregados de mais de um polímero compartilhando as mesmas micelas. O efeito desta contração e/ou agregação apareceu como um decréscimo na viscosidade (HERSLÖF e SUNDELÖF, 1992).

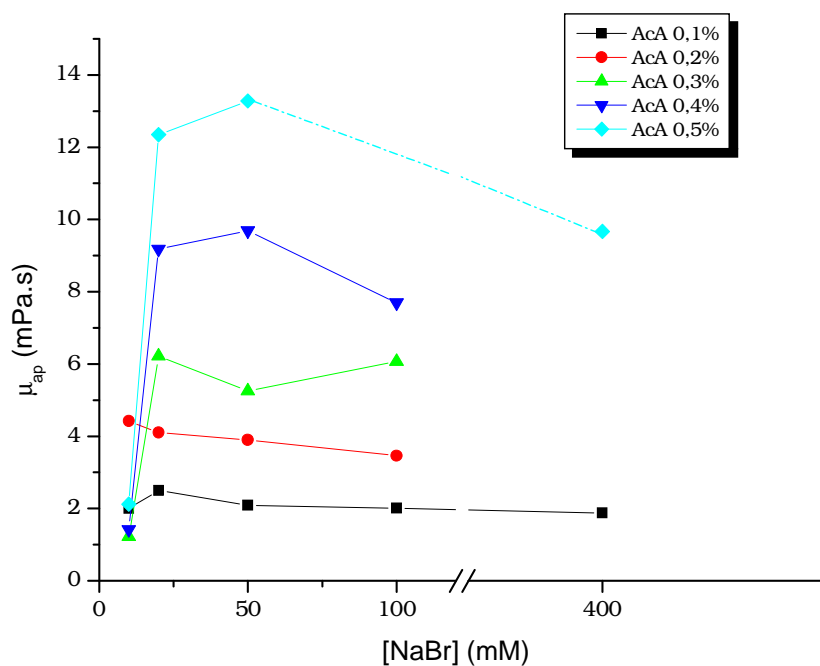


Figura 22 - Viscosidade aparente (μ_{ap}) do sistema AcA/DTAB/água em função da concentração de NaBr, para AcA variando de 0,1 a 0,5% (m/m), com 1mM de DTAB e taxa de deformação(γ) de 1500 s^{-1} , a 25°C .

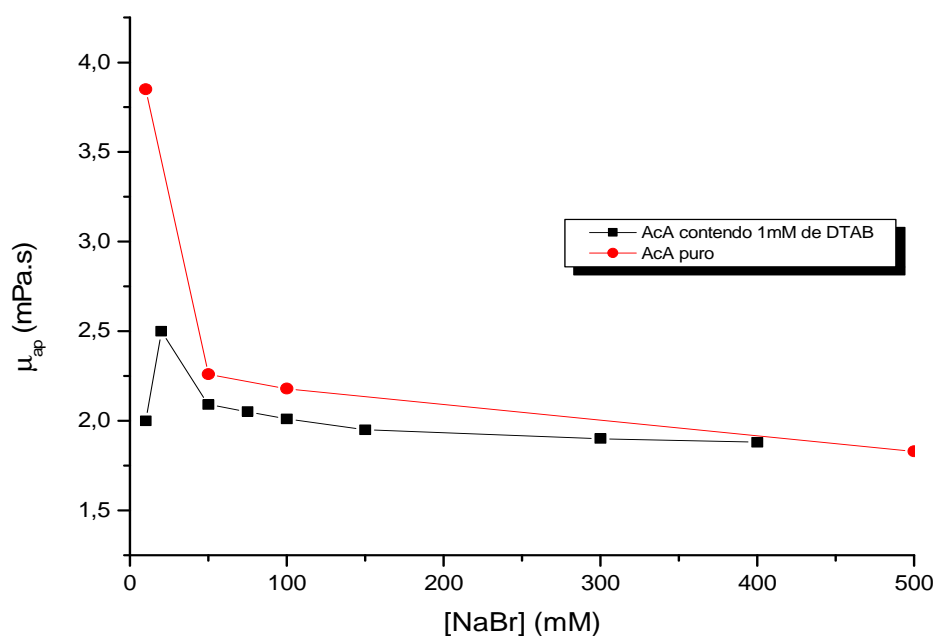


Figura 23 - Viscosidade aparente (μ_{ap}) do sistema AcA/DTAB/água em função da concentração de NaBr, para AcA 0,1% (m/m) com taxa de deformação(γ) de 1500 s^{-1} , a 25°C .

1.6 - Eletroforese em Gel

A Figura 24 mostra as bandas de migração de AcA na ausência e na presença de DTAB, em duas regiões homogêneas, sendo que os retângulos em branco mostram os pontos onde as amostras foram aplicadas, e os retângulos em preto mostram os locais para onde elas migraram.

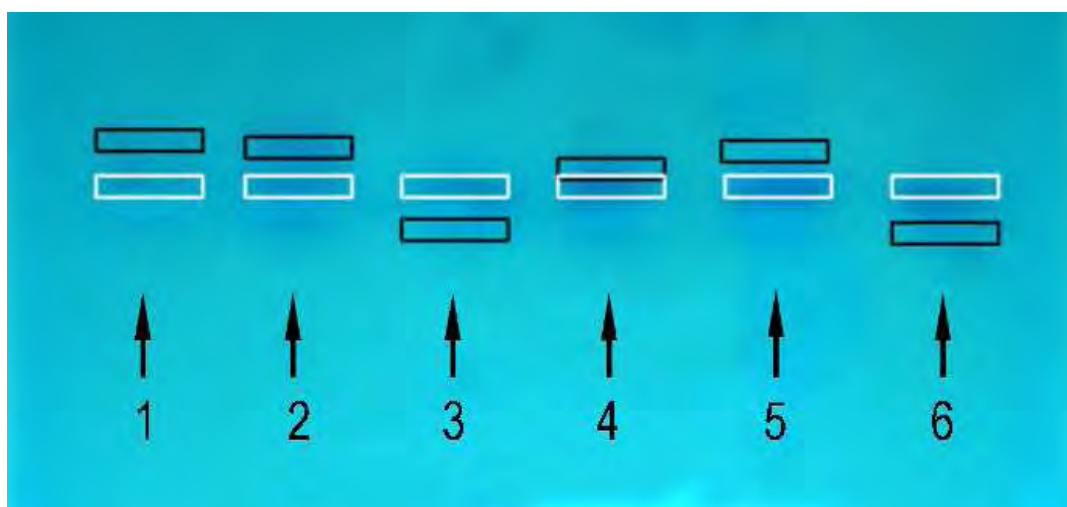


Figura 24 – Eletroforese em gel das amostras de AcA 0,1% na ausência (amostra 1) e presença de DTAB (demais), nas regiões ϕ_1 e ϕ_3 do diagrama de solubilidade do sistema AcA/DTAB/NaBr/água (Figura 13). Bandas de migração das amostras: (1) AcA; (2) DTAB: 1 mM, NaBr: 10 mM; (3) DTAB: 20 mM, NaBr: 10 mM; (4) DTAB: 1 mM, NaBr: 100 mM; (5) DTAB: 1 mM, NaBr: 300 mM, (6) DTAB: 35 mM, NaBr: 300 mM. As bandas 3 e 6 migram para a direção da base (para baixo) e as demais, na direção do ácido (para cima).

Através da Figura 24, observou-se que a amostra contendo apenas AcA e água (amostra 1) foi a que mais se distanciou do ponto de aplicação, movendo-se na direção do ácido (para cima), e as amostras da região ϕ_1 (Figura 13), contendo 1 mM de DTAB (amostras 2, 4 e 5 na Figura 24) também se moveram na mesma direção da amostra 1, ou seja na direção do ácido. Já as amostras da região ϕ_3 (Figura 13), contendo 30 mM de DTAB (amostras 3 e 6 na Figura 24), moveram-se na direção oposta (para baixo), ou seja, na direção

da base. Estes resultados sugeriram que na ausência de DTAB o polieletrólito (AcA) era aniônico, assim como era aniônico o complexo de AcA com monômeros de DTAB (da fase ϕ_1), pois migraram na direção do ácido. Já o complexo da fase ϕ_3 migrou na direção oposta (da base) sendo portanto, catiônico. Este complexo muito provavelmente foi formado por micelas de DTAB envoltas pelo polieletrólito, conforme sugere o esquema da Figura 31. De modo geral, todas as amostras se distanciaram pouco do ponto onde foram aplicadas, e isto pode ter ocorrido pelo fato de serem moléculas grandes (resultados confirmados por DLS), o que dificulta sua mobilidade através dos poros do gel. Talvez o deslocamento tivesse sido maior, se o tempo de corrida do gel fosse aumentado em relação ao protocolo seguido, mas para que se pudesse aumentar este tempo, o campo elétrico a que o gel foi submetido, teria que ser menor que 10 V/cm.

1.7 - Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

A Figura 25 mostra o efeito de NaBr no raio hidrodinâmico (R_H) do polieletrólito (AcA) e dos complexos de AcA-DTAB da fase ϕ_1 (0,1% (m/m) de AcA e 1,0 mM DTAB), e da fase ϕ_3 (0,1% (m/m) de AcA e 35 mM DTAB). Esses resultados sugeriram que o R_H do polieletrólito na ausência de sal era muito grande, resultado esse confirmado por medida direta de amostras de AcA em água, que apresentaram também um elevado índice de polidispersidade. Além disso, notou-se que NaBr teve um efeito inicial intenso na diminuição de R_H do polieletrólito, atingindo um valor limite mínimo em torno de 50 mM de NaBr. Observou-se ainda que o R_H do complexo de AcA com monômeros de DTAB era muito pequeno em relação ao R_H do polieletrólito sozinho (sem surfactante), e que NaBr não afetou o R_H do complexo.

Os valores de R_H na fase ϕ_3 não foram regulares, mas oscilaram em torno de um valor médio igual a aproximadamente 170 nm. Esse valor foi menor do que o R_H dos complexos formados na fase ϕ_1 , mostrados na Figura 31. Muito provavelmente, os complexos da fase ϕ_3 foram formados por micelas enoveladas por um polieletrólito, de maneira compacta.

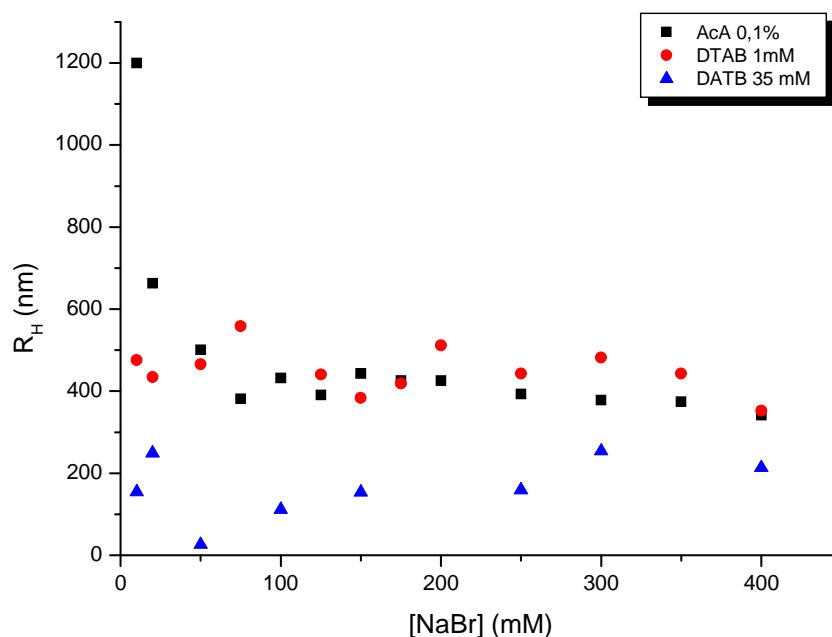


Figura 25 – Efeito de NaBr no raio hidrodinâmico de AcA e dos complexos AcA com monômeros e micelas de DTAB, para AcA 0,1% (m/m), 1 mM e 35 mM de DTAB, respectivamente, a 25°C.

1.8 - Calorimetria por Titulação Isotérmica (ITC)

A Figura 26 mostra o calor de interação obtido por titulação de uma solução 0,15 M de DTAB em água, a 25°C. A curva exibiu um valor de CMC = 15,6 mM, dado pelo ponto de inflexão da curva, e entalpia de micelização $\Delta H = -2$ kJ/mol, dado pela distância entre as extrapolações das retas abaixo e acima da CMC. Abaixo da CMC, o calor aumentou linearmente com a temperatura e acima da CMC o calor diminuiu. O valor da CMC obtido

para DTAB concordou com a CMC reportada na literatura (JONSSON, 1998). Abaixo da CMC o calor de interação endotérmico, que se deve à diluição da solução micelar e desmicelização, aumentou linearmente com a concentração de surfactante. Na região da CMC, quando as micelas começaram a se formar, o calor sofreu uma brusca diminuição, pois o calor de desmicelização tendeu a zero, restando apenas o calor de diluição. Após a região da CMC, o calor de diluição diminuiu linearmente, pois um número crescente de micelas se formou.

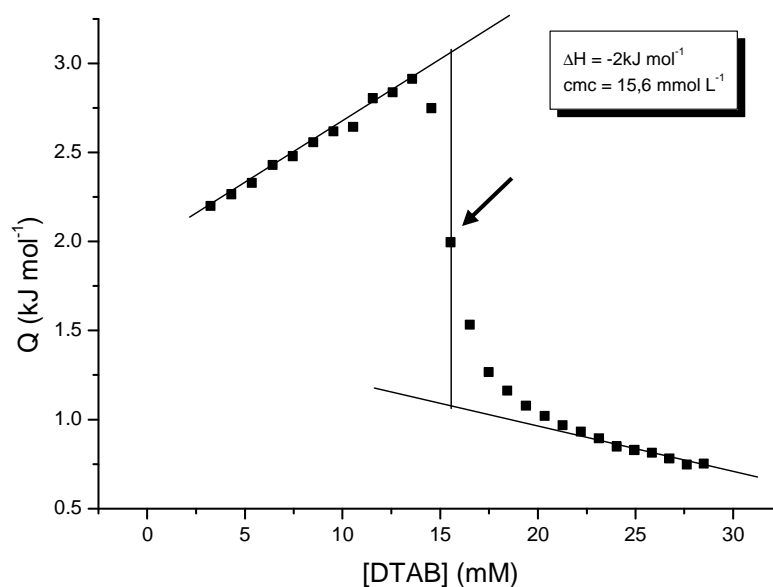


Figura 26: Calor de interação de DTAB com água, obtido por ITC a 25°C. CMC = 15,6 mM e entalpia de micelização $\Delta H = -2 \text{ kJ/mol}$. A seta indica a CMC.

Na presença de 0,01% (m/m) de AcA, o perfil da curva do calor de interação do sistema se assemelhou ao do sistema sem o polímero, porém com algumas diferenças. A curva apresentou algumas “quebras”, nas seguintes concentrações $C_1 = 2,0 \text{ mM}$, $C_2 = 10 \text{ mM}$ e $C_3 = 18 \text{ mM}$, e a entalpia de micelização. $\Delta H = -1,4 \text{ kJ mol}^{-1}$ (Figura 27). Inicialmente o calor

diminuiu rapidamente até um valor mínimo na concentração crítica $C_1 = 2,0$ mM, quando aumentou linearmente até $C_2 = 10$ mM, a partir daí continuou a aumentar linearmente, porém a uma taxa menor, até atingir a região da CMC = 18 mM, quando então diminuiu linearmente com o aumento da concentração de DTAB. Na Figura 28 mostrou-se juntas as curvas de calor de interação de DTAB em água pura e em 0,01% m/m de AcA. A diferença entre essas curvas fornece o calor (entalpia) de interação de DTAB com AcA. Na região da CMC, e acima dela, esse calor era endotérmico, enquanto que abaixo da CMC ele era exotérmico. Esse comportamento foi oposto ao observado, por exemplo, para o sistema PEG-SDS (calor endotérmico abaixo da CMC e exotérmico acima da CMC). A razão para esse comportamento diferenciado ainda não está clara, mas pode estar relacionado, respectivamente, à interação do surfactante com o polímero e com a formação de micelas após saturação da cadeia do polímero pelo surfactante.

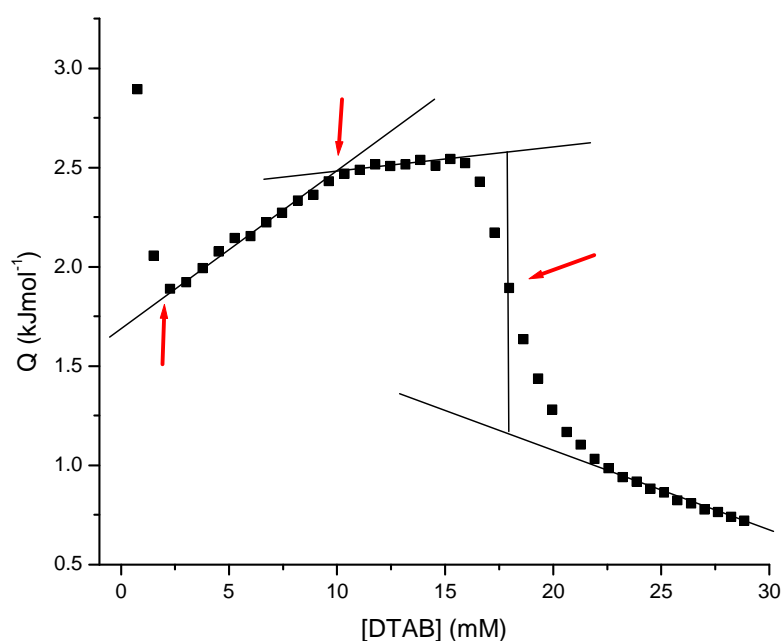


Figura 27: Calor de interação de DTAB com AcA 0,01% (m/m) em água, obtido por ITC a 25°C. Não há região de precipitação. As setas indicam concentrações críticas de interação que ocorrem no sistema.

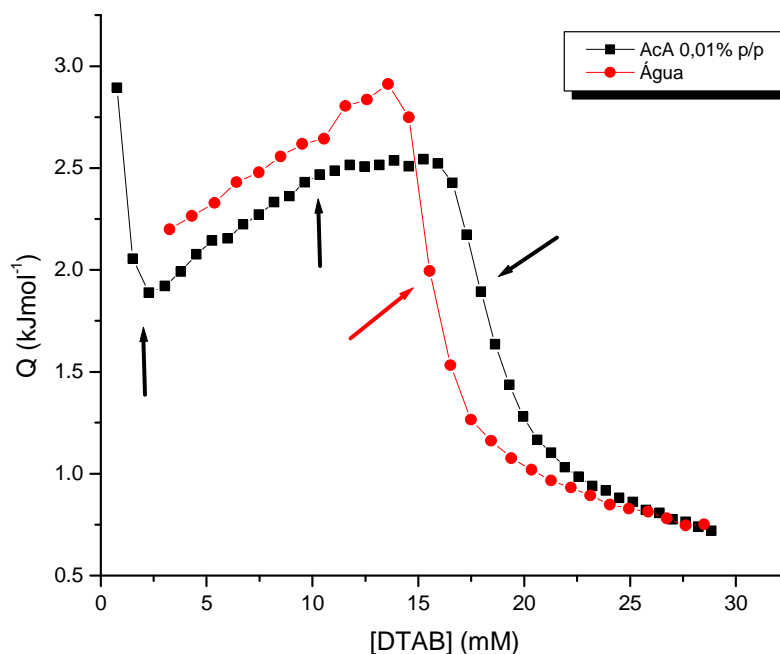


Figura 28: Calor de interação de DTAB com água pura e com AcA 0,01% (m/m) em água, obtido por ITC a 25°C, ou seja, as curvas das Figuras 26 e 27 juntas. A diferença entre essas curvas fornece o calor de interação de DTAB com AcA.

O mesmo experimento foi repetido, porém, substituiu-se a água por uma solução 0,1% (m/m), mais concentrada, de AcA (Figura 29). Esse experimento mostrou claramente a existência de três regiões: a de solubilização (inferior), até ca 2 mM de DTAB, a de precipitação (intermediária), entre ca 2 e 11 mM de DTAB, e a de ressolubilização (superior), acima de ca 11 mM. Em todas essas regiões, o calor de interação foi endotérmico. Na região de solubilização o calor aumentou de 2-11 kJ/mol com a concentração de DTAB adicionado, até ca 2 mM. Esse calor possivelmente se deve à ligação dos monômeros de DTAB com o polieletrólito, que foi endotérmico. A partir daí o calor de interação diminuiu e se tornou caótico na região de precipitação, entre 2-11 mM. Acima desse valor, na região de ressolubilização, o calor de interação foi pequeno e praticamente constante entre 1-2 kJ/mol, que se deve à ligação de micelas de DTAB com segmentos do polieletrólito.

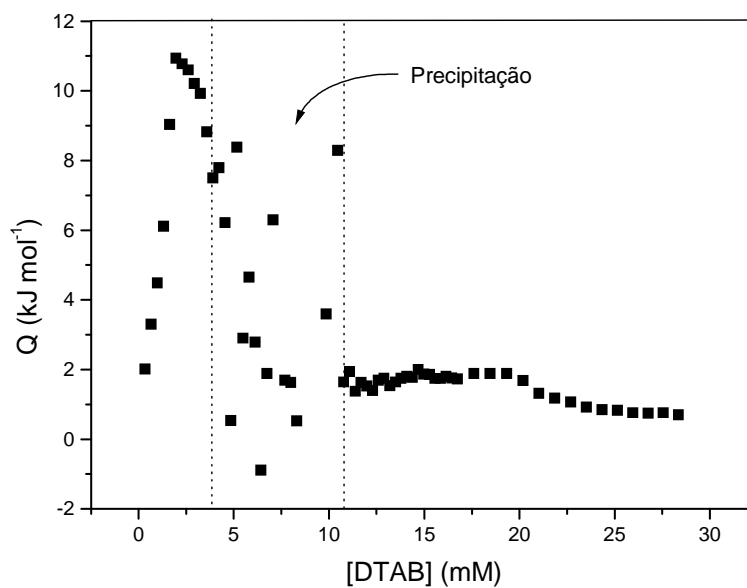


Figura 29: Calor de interação de DTAB com AcA 0,1% (m/m) em água, obtido por ITC a 25°C. A região de precipitação está entre ca 2-11 mM de DTAB.

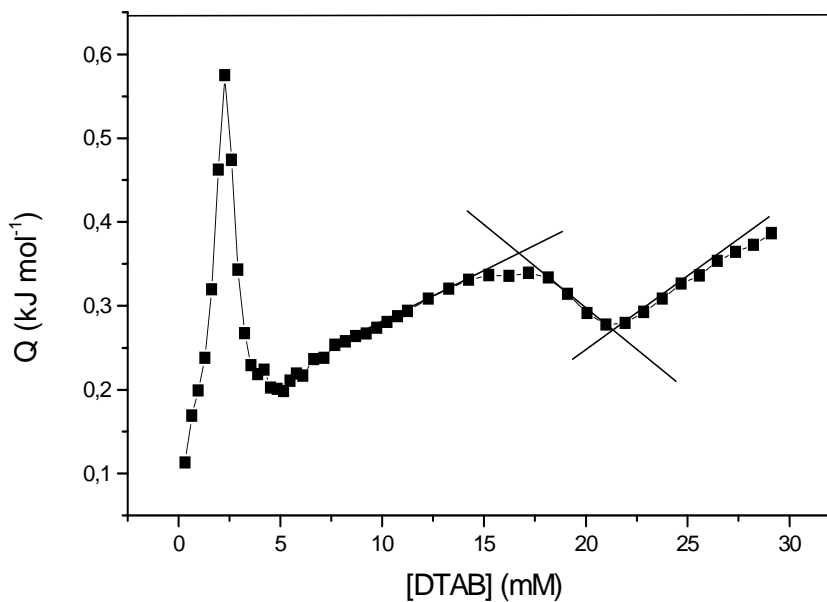


Figura 30: Calor de interação de DTAB com AcA 0,1% (m/m) em solução aquosa de NaBr 10 mM. $C_1 = 2,3$ mM, $C_2 = 16,7$ mM e $C_3 = 21,4$ mM.

O calor de interação de DTAB com AcA 0,1% (m/m) também foi medido na presença de 10 mM de NaBr (Figura 30). Na presença do sal, o calor foi sempre endotérmico e apresentou um pico bem definido em ca 2,3 mM. Essa concentração pode estar relacionada à formação de micelas ligadas ao polímero. Nesse caso, precipitação não foi observada, e foram detectadas duas concentrações críticas $C_2 = 16,7$ mM e $C_3 = 21,4$ mM, possivelmente relacionadas à saturação do polímero e à formação de micelas livres em solução.

1.9 - Mecanismo proposto de formação dos complexos AcA-DTAB

Baseado nos resultados aqui apresentados, propôs-se um modelo de formação do complexo AcA-DTAB, mostrado na Figura 31, que ilustra esquematicamente as etapas de complexação de AcA-DTAB para um pequeno segmento do polissacarídeo.

Em baixas concentrações até 0,5 % (m/m), e na ausência de DTAB, AcA estaria enovelado aleatoriamente em água, ou em solução aquosa de NaBr. Na presença de pouco DTAB, e na região de solubilização, os monômeros do surfatante se ligariam à cadeia do polímero para formar complexos de AcA com monômeros de DTAB, até a completa neutralização eletrostática dos complexos, que então precipitariam.

A adição de mais DTAB levaria à formação de um número crescente de micelas que “sequestrariam” surfactantes do complexo precipitado, re-suspendendo assim os polímeros que seriam atraídos eletrostaticamente pelas micelas catiônicas, para formar os complexos de AcA com micelares catiônicos de DTAB. Quando DTAB foi adicionado a uma solução AcA-NaBr-água, o polímero se tornou cada vez menos negativo na fase ϕ_1 , onde os complexos com monômeros DTAB estavam negativamente carregados, e eletricamente neutros na fase ϕ_2 . Na fase ϕ_3 , entretanto, os complexos de AcA com micelas de DTAB estavam

positivamente carregados. Essa descrição foi confirmada por testes de eletroforese em gel do polímero em solução e dos complexos do polímero com o surfactante.

Um cálculo simples indicou que AcA tem cerca de 700 unidades monoméricas, tendo assim um comprimento máximo estendido de 7000 Å. Sendo o comprimento do monômero de DTAB de aproximadamente 14,96 Å, o raio das micelas de DTAB seria aproximadamente igual a 15 Å. Deste modo, seria necessário um segmento de aproximadamente 47 Å, para o polímero envolver metade da micela, ou seja, cerca de 9 unidades monoméricas do polímero, significando que dezenas de micelas poderiam estar ao longo da cadeia do polímero, de acordo com o modelo de colar de pérolas para complexos polímero-surfactante.

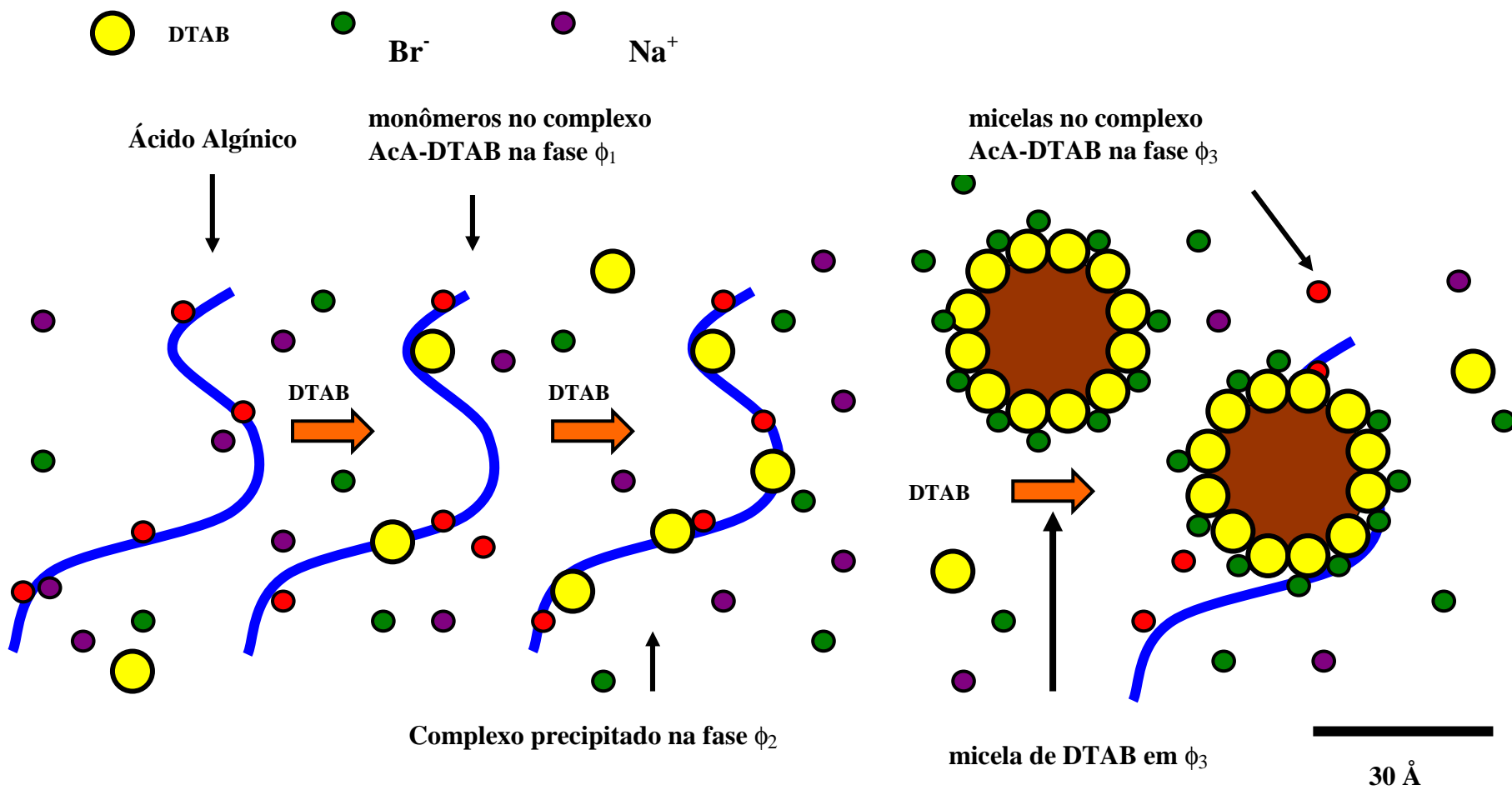


Figura 31 - Mecanismo proposto de formação do complexo AcA-DTAB em solução aquosa de NaBr. Para simplificar, o surfactante (círculo amarelo) foi desenhado sem cauda.

2 - Sistema AcA/DDAB/água

A Figura 32 representa o diagrama de fases ternário para o sistema AcA/DDAB/água, onde se encontrou diversas fases, que foram agrupadas em cinco regiões principais. Estudos mostraram que os surfactantes apresentam uma auto-associação muito forte na ausência de polímeros, mas a adição destes ao sistema, induz a uma progressiva desestabilização dos surfactantes (ZHANG *et al.*, 1994b).

Na Figura 32 foram encontradas cinco regiões distintas. A região 1 era birrefringente, e compreendia uma faixa extremamente estreita do diagrama, onde a concentração do polímero era muito baixa, não ultrapassando 0,05% (m/m) de AcA, representada pela área correspondente a 2%, que seria de grande interesse, pois a adição do polímero não destruiu as estruturas características do surfactante (DDAB) que se formam nesta região. A região 2 era de duas fases, e compreendia duas sub-áreas de 9% e 4%, totalizando uma área de 13% do diagrama, que estavam separadas por uma região de fase homogênea. Na região 2 foram encontrados aglomerados de gel dispersos em solução. A região 3 era de gel, e se estendia até aproximadamente 26% (m/m) de AcA, mas numa faixa muito estreita, que não ultrapassava 0,1% (m/m) de DDAB, compreendendo uma área de 2% do diagrama. A região 4 representava a maior área do diagrama, 47%, e foi caracterizada por uma fase branca homogênea, que tinha aspecto cremoso e consistente. Esta região, se devidamente explorada, talvez pudesse ser de grande utilidade para aplicações em fármacos. Na região 5, o sistema se encontrava cristalizado. Esta região ocupava 36% do diagrama e não era de interesse ao nosso trabalho.

Da mesma forma que para o sistema AcA/DTAB/água, neste sistema, AcA/DDAB/água, também se teve interesse nas regiões de uma fase, especialmente nas fases

gel, característica do polímero, e birrefringente onde se encontram as vesículas espontaneamente formadas pelo DDAB. Por esta razão, limitou-se o diagrama de fases ternário para o sistema AcA/DDAB/água de 0 até 3% (m/m) de AcA, de 0 até 3% (m/m) de DDAB e de 97 até 100% (m/m) de água, que pode ser observado na Figura 33.

Na Figura 33, encontrou-se uma fase birrefringente muito estreita, representada pela região 1, que ocupava uma área de 2% do diagrama. A região 2 era de multifases e ocupava a quase totalidade da área do diagrama, 91%, não apresentado nem as características do polímero, nem as do surfactante. A região 3 era de gel e correspondia a 7% da área do diagrama. Era uma região bastante estreita, que não ultrapassava 0,1% (m/m) de DDAB, mas o gel aqui formado tinha aspecto bastante homogêneo e claro, e de baixa consistência.

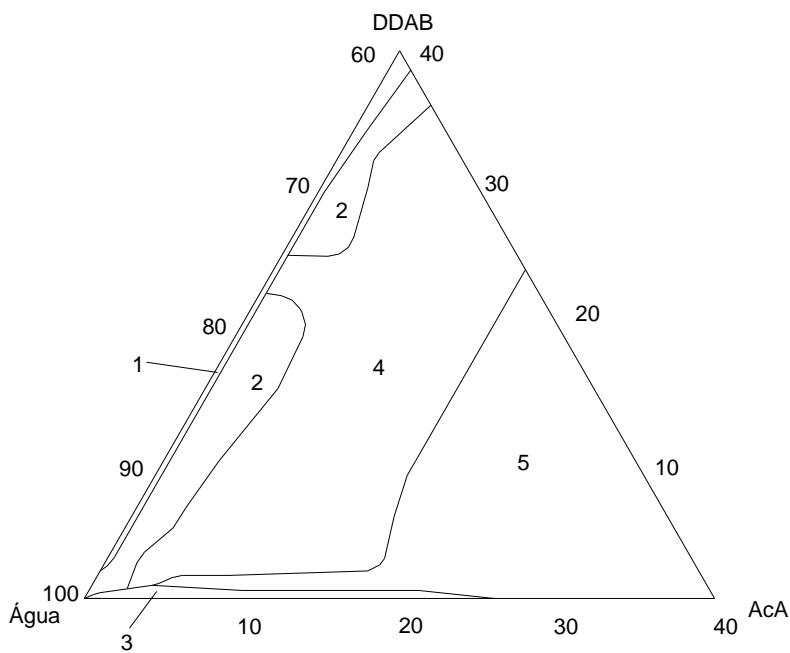


Figura 32 – Diagrama de Fases Ternário do sistema AcA/DDAB/água a 25°C, onde região 1: birrefringente, 2: duas fases, 3: gel, 4: homogênea (branca) e 5: cristalizada.

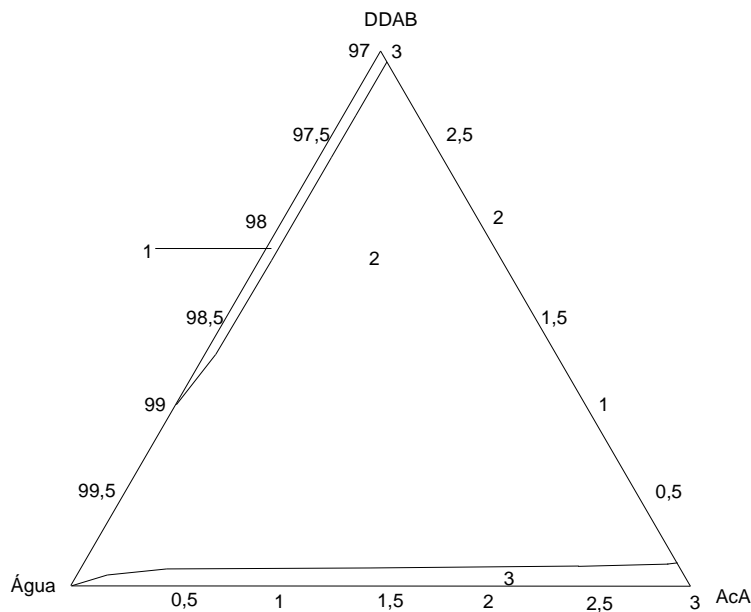


Figura 33 – Diagrama de Fases Ternário do sistema: AcA/DDAB/água a 25°C, onde região 1: birrefringente, 2: multifases e 3: gel.

Como nosso interesse foi voltado para regiões sem grandes áreas de formação de precipitados, escolheu-se a linha de concentração de 99% de água para avaliar o comportamento das fases do sistema AcA/DDAB/água. Porém, para este sistema, não se obteve resultados satisfatórios, pois as fronteiras não estavam bem definidas. Desse modo, não foi dada seqüência ao estudo desse sistema.

V - Conclusões

De acordo com os resultados encontrados, verificou-se que a adição de um surfactante catiônico, DTAB ou DDAB, à solução aquosa de AcA, induzia precipitação devido a forte atração eletrostática entre o polímero e o surfactante. A mínima quantidade de surfactante que se adicionava ao sistema aquoso de AcA, provocava a separação de fases, caindo na região heterogênea ou de precipitação, que podia ser suprimida pela adição de sal, dentro de uma faixa de concentração específica, pois a simples adição de sal em concentrações elevadas à solução pura de AcA induzia à separação de fases. Misturas homogêneas foram obtidas apenas em concentrações muito baixas do polímero, ou na presença de sal inorgânico (NaBr).

Nos diagramas de fases do sistema AcA/DTAB/NaBr/água identificou-se duas regiões homogêneas, uma de solubilização e a outra de ressobilização, entre as quais se encontrava uma região de precipitação. Na região de solubilização, observou-se que, para uma dada concentração de AcA, a viscosidade aparente (μ_{ap}) aumentava com a concentração de DTAB, mas diminuía com a concentração de NaBr.

A avaliação reológica das soluções aquosas diluídas de AcA (p.ex., 0,1% m/m) puro, mostrou um comportamento de fluido não-newtoniano, para baixas concentrações de NaBr, mas newtoniano em concentrações elevadas do sal. Em outras palavras, quando a concentração do polímero era relativamente baixa e a concentração de sal era alta, a viscosidade aparente do sistema não dependia da taxa de deformação.

Os resultados de espalhamento dinâmico de luz sugeriram que o raio hidrodinâmico R_H do polieletrólito na ausência do sal era muito grande, e o índice de polidispersidade era elevado. Observou-se que o NaBr tinha um efeito inicial intenso na diminuição do R_H do polieletrólito, que alcançava um valor limite mínimo de ca 400 nm para 50 mM de NaBr., na

região de solubilização, onde o complexo consistiria de monômeros de DTAB ligados à cadeia do polímero. Na região de solubilização, o tamanho do complexo de AcA com micelas de DTAB era menor ainda ($R_H \approx 170$ nm), mas a grande polidispersidade dificultou a medida mais precisa do tamanho.

Medidas de tensão superficial, mostraram que a CAC do sistema AcA/DTAB/água era muito menor do que a CMC de DTAB/água, indicando que esses compostos interagiram fortemente. Medidas de ITC também confirmaram essa interação, bem como a formação das fases de solubilização, de ressolubilização e de precipitação.

Os resultados preliminares do estudo do sistema AcA/DDAB/água sugeriram forte interação desses compostos, e o diagrama ternário de fases indicou grandes regiões não homogêneas. As regiões homogêneas se limitaram a faixas estreitas para baixas concentrações de um dos componentes e excesso do outro, ou em baixas concentrações de ambos polímero e surfactante.

VI – Referências Bibliográficas

BABAK, V. G.; SKOTNIKOVA, E. A.; LUKINA, I. G.; PELLETIER, S.; HUBERT, P.; DELLACHERIE, E. - Hydrophobically association alginate derivates: surface tension properties of their mixed aqueous solutions with oppositely charged surfactants. *Journal Colloid Interface Science*, 225: 505-10, 2000.

BALDURSDÓTTIR, S. G.; KJØNIKSEN, A-L. - Rheological characterization and turbidity of riboflavin-photosensitized changes in alginate/GDL systems. *European J. Pharm. Biopharm.*, 59: 501-10, 2005.

BARRELEIRO, P. C. A.; OLOFSSON, G.; FEITOSA, E. - Vesicle-to-micelle transition in dioctadecyldimethylammonium bromide and dioctadecyldimethylammonium chloride dispersions induced by octaethylene glycol *n*-dodecyl monoether. An isothermal titration calorimetry study. *Programme Colloid Polymer Science*, 116: 33-6, 2000.

BEMILLER, J. N.; WHISTLER, R. L - **Food Chemistry**, Cap. 4 – Carbohydrates, Ed. Owen R. Fennema, Nova Iorque, 1996, 161-212p.

BJÖRLING, M.; HERSLÖF-BJÖRLING, Å.; STILBS, P. - An NMR self-diffusion study of the interaction between sodium hyaluronate and tetradecyltrimethylammonium bromide. *Macromolecules*, 28: 6970-5, 1995.

BU, H.; KJØNIKSEN, A-L.; ELGSAETER, A.; NYSTRÖM, B. - Interaction of unmodified and hydrophobically modified alginate with sodium dodecyl sulfate in dilute aqueous solution. Calorimetrics, rheological and turbidity studies. *Colloids and Surfaces A* (no prelo), 2006.

CARVALHO, C. M. L.; CABRAL, J. M.S. - Reverse micelles a reaction media for lipases. *Biochimie*, 82: 1063-85, 2000.

DIETRICH, C. P.; FARIAS, G. G. M.; ABREU, L. R. D.; LEITE, E. L.; SILVA, L. F.; NADER, H. B. - A new approach for the characterization of polysaccharides from algae: presence of four main acidic polysaccharides in three species of the class Phaeophyceae. *Plant Science*, 108: 143-53, 1995.

DRAGET, K. I.; STRAND, B.; HARTMANN, M.; VALLA, S.; SMIDSRØD, O.; SKJÅK-BRÆK, G. - Ionic and acid gel formation of epimerised alginates; the effect of AlgE4. *International Journal of Biological Macromolecules*, 27: 117-22, 2000.

DRAGET, K. I.; SKJÅK-BRÆK, G.; STOKKE, B. T. - Similarities and differences between alginic acid gels and ionically crosslinked alginate gels. *Food Hydrocolloids*, 20: 170-5, 2006.

ESTERVÅG, H.; HØIDAL, H. K.; SCHJERVEN, H.; SVANEM, B. I. G.; VALLA, S. - Mannuronan C-5-epimerases and their application for *in vitro* and *in vivo* design of new alginates useful in biotechnology. *Metabolic Engineering*, 1: 262-9, 1999.

EVANS, D. F.; WENNERSTRÖM, H. - **The Colloidal Domain: Where Physics, Chemistry, Biology, and Technology Meet**, Wiley-VCH, Nova Iorque, 2 ed., 1994, 672p.

FEITOSA, E.; BROWN, W. - Fragment and vesicle structures in sonicated dispersions of dioctadecyldimethylammonium bromide *Langmuir*, 13: 4810-6, 1997.

FEITOSA, E.; BARRELEIRO, P. C. A.; OLOFSSON, G. - Phase transition in dioctadecyldimethylammonium bromide and chloride vesicles prepared by different methods. *Chemistry and Physics of Lipids*, 105: 201-13, 2000.

FEITOSA, E.; BROWN, W.; WANG, K.; BARRELEIRO, P. C. A. - Interaction between poly(ethylene glycol) and C₁₂E₈ investigated by dynamic light scattering, time-resolved fluorescence quenching, and calorimetry. *Macromolecules*, 35: 201-7, 2002.

FEITOSA, E.; BROWN, W.; HANSSON, P. - Self-assembly in mixtures of polymers and small associating molecules. *Macromolecules*, 29: 2169-75, 1996.

FUKADA, K.; SUZUKI, E.; SEIMIYA, T. - Rheological properties of sodium hyaluronate in decyltrimethylammonium bromide aqueous solutions. *Langmuir*, 15: 4217-21, 1999.

GALATANU, A. N.; CHRONAKIS, I. S.; ANGHEL, D. F.; KHAN, A. - Ternary phase diagram of the triton X-100/poly(acrylic acid)/water system. *Langmuir*, 16: 4922-8, 2000.

GODDARD, E. D.; ANANTHAPADMANABHAN, K. P. - **Interactions of Surfactants with Polymers and Proteins**, CRC Press, Boca Raton, 1993, 427p.

GU, Y.; SHIH, P-H. - Salt-induced phase separation can effectively remove the acetonitrile from the protein sample after the preparative RP-HPLC. *Enzyme and Microbial Technology*, 35: 592-7, 2004.

GUILLEMET, F.; PICULELL, L. - Interaction in aqueous mixtures of hydrophobically modified polyelectrolyte and oppositely charged surfactant. Mixed micelle formation and associative phase separation. *Journal of Physical Chemistry*, 99: 9201-9, 1995.

HANSEN, L. D.; HART, R. M. - The art of calorimetry. *Thermochimica Acta*, 417: 257-73, 2004.

HEERKLOTZ, H. H.; BINDDER, H.; EPAND, R. M. - A "release" protocol for isothermal titration calorimetry. *Biophysical Journal*, 76: 2606-13, 1999.

HERSLÖF, A.; SUNDELÖF, L. O. - Interaction between polyelectrolyte and surfactant of opposite charge. Hydrodynamic effects in the sodium hyaluronate/tetradecyltrimethylammonium bromide/sodium chloride/water system. - *Journal of Physical Chemistry*, 96: 2345-8, 1992.

HERSLÖF-BJÖRLING, Å.; SUNDELÖF, L. O. - Interaction between an anionic polysaccharide and an oppositely charged surfactant. Quasi elastic light scattering, size exclusion chromatography, and capillary electrophoresis study of the sodium hyaluronate/tetradecyltrimethylammonium bromide/sodium chloride/water system. *Langmuir* 12: 4628-37, 1996.

HERSLÖF-BJÖRLING, Å.; BJÖRLING, M.; SUNDELÖF, L. O. - The counter and coion influence on the interaction between sodium hyaluronate and tetradecyltrimethylammonium bromide. *Langmuir*, 15: 353- 7, 1999.

HIEMENS, P. C.; RAJAGOPALAN, R. - **Principles of colloid and surface chemistry**, Marcel Dekker Inc. 3 ed., Nova Iorque, 1997, 650p.

IKEDA, A.; TAKEMURA, A.; ONO, H - Preparation of low-molecular weight alginic acid by acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 42: 421-5, 2000.

IMAE, T.; HIROTA, T.; FUNAYAMA, K.; AOI, K.; OKADA, M. - Binding of poly(amido amine) dendrimer to sodium hyaluronate in aqueous NaCl solution. *Journal of Colloid and Interface Science*, 263: 306-11, 2003.

JONSSON, B.; LINDMAN, B.; HOLMBERG, K.; KRONBERG, B. - **Surfactants and Polymers in Aqueous Solution**, John Wiley & Sons Ltd, Nova Iorque, 1998, 438p.

KLÖCK, G.; PFEFFERMANN, A.; RYSER, C.; GRÖHN, P.; KUTTLER, B.; HAHN, H.-J.; ZIMMERMANN, U. - Biocompatibility of mannuronic acid-rich alginates. *Biomaterials*, 18: 707-13, 1997.

MANCINI, M.; MORESI, M.; SAPPINO, F. - Rheological behaviour of aqueous dispersions of algal sodium alginates. *Journal of Food Engineering*, 28: 283-95, 1996.

MARQUES, E. F.; KHAN, A.; MIGUEL, M. G.; LINDMAN, B. - Self-assembly in mixtures of a cationic and an anionic surfactant: The sodium dodecyl sulfate-didodecyltrimethylammonium bromide-water system. *Journal of Physical Chemistry*, 97: 4729-36, 1993.

MCGRATH, K. M. - Phase Behaviour of Dodecyltrimethylammonium Bromide/Water Mixtures. *Langmuir*, 11: 1835-9, 1995.

NICKERSON, M. T.; PAULSON, A. T. - Rheological properties of gellan, κ -carrageenan and alginate polysaccharides: effect of potassium and calcium ions on macrostructure assemblages. *Carbohydrate Polymers*, 58: 15-24, 2004.

OERTHER, S.; PAYAN, E.; LAPICQUE, F.; PRESLE, N.; HUBERT, P.; MULLER, S.; NETTER, P.; LAPCQUE, F. - Hyaluronate-alginate combination for the preparation of new biomaterials: investigation of the behaviour in aqueous solutions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1426: 185-94, 1999.

OLIVEIRA, V. A.; TIERA, M. J.; NEUMANN, M. G. - Interaction of cationic surfactants with acrylic acid-ethyl methacrylate copolymers. *Langmuir*, 12: 607-12, 1996.

OLOFSSON, G.; WANG, G. - Isothermal Titration and Temperature Scanning Calorimetric Studies of Polymer-Surfactant Systems. In: Jan C.T.Kwak editor. **Polymer-Surfactant Systems**, Nova Iorque, Marcel Dekker Inc., cap.8, 1998, p.317-56.

PERRY, R. H.; CHILTON C. H. - **Manual de Engenharia Química**, Rio de Janeiro, Guanabara Dois, 1980, 322p.

PISÁRČIK, M.; SOLDÁN, M.; BAKOS, D.; DEVÍNSKY, F.; LACKO, I. - Viscometric study of the sodium hyaluronate-sodium chloride-alkyl-(n)-ammonium surfactant system. *Colloids and Surfaces*, 150: 207-16, 1999.

PISÁRČIK, M.; IMAE, T.; DEVINSKY, F.; LACKO, I. - Aggregates of sodium hyaluronate with cationic and aminoxide surfactants in aqueous solution – light scattering study. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 183: 555-62, 2001.

PROVERBIO, Z. E.; SCHULZ, P. C.; PULG, J. E. - Aggregation of the aqueous dodecyltrimethylammonium bromide-didodecyldimethylammonium bromide system at low concentration. *Colloid Polymer Science*, 280: 1045-52, 2002.

RAO, V. S. R.; QASBA, P. K.; BALAJI, P. V. AND CHANDRASEKARAN, R. - **Conformation of Carbohydrates**, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1998, 359p.

RAO, M. C. - **Rheology of Fluid and Semisolid Foods : Principles and Applications**, Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, 1999, 433p.

REGISMOND, S. T. A.; GRACIE, K. D.; WINNIK, F. M.; GODDARD, E. D. - Polymer/surfactant complexes at the air/ water interface detected by a simple measure of surface viscoelasticity. *Langmuir*, 13: 5558-62, 1997.

SÉCHOY, O.; TISSIÉ, G.; SEBASTIÁN, C.; MAURIN, F.; DRIOT, J-Y.; TRINQUAND, C. - A new long acting ophthalmic formulation of Carteolol containing alginate acid. *International Journal Pharm.*, 207: 109-16, 2000.

SILVA, R. C.; LOTH, W.; OLOFSSON, G. - Calorimetric investigation of temperature effect on the interaction between poly(ethylene oxide) and sodium dodecylsulfate in water. *Thermochimica Acta*, 417: 295-300, 2004.

SINGH, P. C.; SINGH, R. K. - Choosing an appropriate bioseparation technique. *Trends in Food Science & Technology*, 7: 49-58, 1996.

SORAI, M. - **Comprehensive Handbook of Calorimetry and Thermal Analysis**, John Wiley & Sons, Inglaterra, 2004, 556p.

STOKKE, B. T.; SMIDSRØD, O.; ZANETTI, F.; STRAND, W.; SKJÁK-BRÆK, G. - Distribution of uronate residues in alginate chains in relation to alginate gelling properties – 2:

Enrichment of β -D-manuronic acid and depletion of α -L-guluronic acid in sol fraction. *Carbohydrates Polymers*, 21: 39-46, 1993.

THALBERG, K.; LINDMAN, B. - Interaction between hyaluronate and surfactants. *Journal of Physical Chemistry*, 93: 1478-83, 1989.

THALBERG, K.; LINDMAN, B. - Gel Formation in aqueous systems of a polyanion and an oppositely charged surfactant. *Langmuir*, 7: 277-83, 1991.

THALBERG, K.; LINDMAN, B.; KARLSTRÖM, G. - Phase behaviour of systems of cationic surfactant and anionic polyelectrolyte: influence of surfactant chain length and polyelectrolyte molecular weight. *Journal of Physical Chemistry*, 95: 3370-6, 1991(a).

THALBERG, K.; LINDMAN, B.; KARLSTRÖM, G. - Phase behaviour of cationic surfactant and anionic polyelectrolyte: the effect of salt. *Journal of Physical Chemistry*, 95: 6004-11, 1991(b).

TIERA, V. A. O.; TIERA, M. J.; NEUMANN, M. G - Fluorescence probe study of interaction between acrylic acid-co-ethyl methacrylate copolymers and sodium dodecylsulfate. *Journal of Dispersion Sciences and Technology*, 22 (2&3): 177-84, 2001.

VOET, D.; VOET, J. G. – **Biochemistry**, John Wiley & Sons Inc., 2 ed., Nova Iorque, 1995, 1360p.

WARRINER, H. E.; KELLER, S. L.; IDZIAK, S. H. J.; SLACK, N. L.; DAVIDSON, P.; ZASADZINSKI, J. A.; SAFINYA, C. R. - The influence of polymer molecular weight in lamellar gels based on PEG-lipids. *Biophysical Journal*, 75: 272-93, 1998.

WONG, T. C.; THALBERG, K.; LINDMAN, B.; GRACS, H. - Surfactant ^{13}C relaxation and differential line broadening in a system of a polyanion and a cationic surfactant. *Journal of Physical Chemistry*, 95: 8850-7, 1991.

ZANA, R.; BENRRAOU, M.; RUEFF, R. - Alkanediyl- α,ω -bis(dimethylalkylammonium bromide) surfactants. 1. Effect of the spacer chain length on the critical micelle concentration and micelle ionization degree. *Langmuir*, 7: 1072-5, 1991.

ZANA, R. - Dimeric and oligomeric surfactants. Behaviour at interfaces and in aqueous solution: a review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 97: 205-53, 2002.

ZHANG, K. W.; KARLSTRÖM, G.; LINDMAN, B. - Phase behaviour of Systems of a non-ionic surfactant and a non-ionic polymer in aqueous solution. *Colloids and Surfaces*, 67: 147-55, 1992.

ZHANG, K. W.; CARLSSON, M.; LINSE, P.; LINDMAN, B - Phase behavior of copolymer-homopolymer mixtures in aqueous solution. *The Journal of Physical Chemistry*, 98: 2452-8, 1994(a).

ZHANG, K. W.; JONSTRÖMER, M.; LINDMAN, B. - Self-assembly in concentrated polymer-surfactant systems – a self-diffusion study of a non-ionic random copolymer –non-ionic surfactant-water system. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 87: 133-42, 1994(b).

ZHANG, K. W.; KARLSTRÖM, G.; LINDMAN, B. - Ternary aqueous mixtures of nonionic polymer with a surfactant or a second polymer. A theoretical and experimental investigation of the phase behavior. *The Journal of Physical Chemistry*, 98: 4411-21, 1994(c).