

Cecília Cristina Marques dos Santos

Estudo da Condutividade Elétrica de Soluções de Polissacarídeos Iônicos



1910000932





UNESP

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" -

CECILIA CRISTINA MARQUES DOS SANTOS
(INSTITUTO ADOLFO LUTZ-LABORATÓRIO I SÃO JOSÉ DO RIO PRETO)

ESTUDO DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DE SOLUÇÕES DE POLISSACARÍDEOS IÔNICOS.

ORIENTADOR: PROF. DR. JOÃO RUGGIERO NETO

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. MARCELO ANDRÉS FOSSEY

*Ao Marcelo, Ruy e Gustavo que
fazem todo o valor a obra.*



932/00

Dissertação apresentada para
obtenção de grau de Mestre em Física,
área de concentração - Biofísica
Molecular. Instituto de Biociências,
Letras e Ciências Exatas da
Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho" - UNESP.

São José do Rio Preto - SP
1998

AGRADECIMENTOS

Manifesto a minha gratidão e indico as pessoas que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho e de forma particular:

a direção do Instituto Adolfo Lutz, pelo incentivo e colaboração, em especial aos colegas do Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I de São José do Rio Preto;

aos docentes do Departamento de Física do Ibutce/Unesp – São José do Rio Preto pela colaboração e, em especial aos Profs. Drs. Augusto Agostinho Neto e José Roberto Ruggiero pelas valiosas sugestões;

aos discentes do Departamento de Física do Ibutce/Unesp – São José do Rio Preto pela amizade;

aos técnicos do Departamento de Física do Ibutce/Unesp – São José do Rio Preto pela prestação e colaboração;

aos amigos pela dedicação;

Ao Marcilio, Rodrigo e Gustavo que
fazem tudo valer a pena.

ao Prof. Dr. João Ruggiero Neto pela orientação;

E em especial ao Prof. Dr. Marcelo André Fossey pela imprescindível contribuição.

AGRADECIMENTOS

Manifesto a minha gratidão a todos as pessoas que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho e de forma particular:

à diretoria do Instituto Adolfo Lutz, pelo incentivo e colaboração, em especial aos colegas do Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I de São José do Rio Preto;

aos docentes do Departamento de Física do Ibilce/Unesp – São José do Rio Preto pela colaboração e, em especial aos Profs. Drs. Augusto Agostinho Neto e José Roberto Ruggiero pelas valiosas sugestões;

aos discentes do Departamento de Física do Ibilce/Unesp – São José do Rio Preto pela amizade;

aos técnicos do Departamento de Física do Ibilce/Unesp – São José do Rio Preto pela presteza e colaboração;

aos amigos pela dedicação;

ao Prof. Dr. João Ruggiero Neto pela orientação.

E em especial ao Prof. Dr. Marcelo Andrés Fossey pela imprescindível contribuição.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	2
LISTA DE TABELAS	3
LISTA DE ABREVIATURAS	4
RESUMO	5
INTRODUÇÃO	6
MATERIAIS E MÉTODOS	11
Materiais	11
Preparação do Amolador	12
Métodos	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
Interpretação das constantes obtidas dos pontos das curvas experimentais	37
CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
APÊNDICE 1	48
APÊNDICE 2	57
APÊNDICE 3	58
APÊNDICE 4	59
ABSTRACT	61

Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena.
Quem quiser passar além do Bojador
Tem que passar além da dor.
Deus ao mar perigo e o abismo deu,
Mas nele é que espelhou o céu.

Fernando Pessoa
(1888-1935)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	2
LISTA DE TABELAS.....	3
LISTA DE ABREVIATURAS.....	4
RESUMO	5
INTRODUÇÃO.....	6
MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
Materiais.....	11
Preparação de Amostras.....	13
Métodos.....	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
Interpretação das constantes obtidas dos ajustes das curvas experimentais	37
CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
APÊNDICE 1.....	48
APÊNDICE 2.....	57
APÊNDICE 3.....	58
APÊNDICE 4.....	59
ABSTRACT	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Unidade dissacarídica repetitiva representativa da molécula de CHS-A	11
Figura 2 - Unidade representativa do dissacarídeo PGA	12
Figura 3a - Titulação potenciométrica do PGA na forma ácida PGA-H com NaOH	16
Figura 3b – Titulação potenciométrica do CHS-A na forma ácida CHS-H com NaOH	17
Figura 4 - Titulação condutimétrica do PGA com LiOH e KOH	27
Figura 5– Gráfico de Kohlrausch obtido a partir de várias titulações do PGA.....	28
Figura 6 – Gráfico de Vink representativo do experimento de diluição do PGA	29
Figura 7- Gráfico de Kohlrausch relacionando condutividade molar com $C_P^{1/2}$ representativo do experimento de diluição do PGA	30
Figura 8- Titulação condutimétrica do CHS-A com LiOH e KOH	34
Figura 9a -Gráfico de Vink representativo do experimento de diluição do CHS-A	35
Figura 9b- Gráfico de Kohlrausch relacionando condutividade molar com $C_P^{1/2}$ representativo do experimento de diluição do CHS-A	36
Figura10a-Dependência do fator de transporte f em função de $C_P^{1/2}$ para PGA	39
Figura10b-Dependência do fator de transporte f em função de $C_P^{1/2}$ para CHS-A	40



LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de condutividade molar limite e da constante A obtidos através dos gráficos de VINK e KOHLRAUSCH	33
Tabela 2 – Valores das densidades de cargas obtidos por condutimetria e diluição	41



LISTA DE ABREVIATURAS

CHS-Na	= 4-sulfato de condroitina(forma sódica)
CHS-H	= 4-sulfato de condroitin(forma ácida)
PGA	= ácido poligalacturônico
Cp	= concentração dos polímeros em mEq/L
α_i	= grau de ionização
α_n	= grau de neutralização
f	= fator de transporte
σ	=condutividade elétrica em μ S/cm
b	= distância entre grupos carregados (Å)
g/L	= gramas por litro
pH	= potencial hidrogeniônico
mEq/L	= miliequivalente por litro
mM	= milimolar
mL	= mililitro
Å	= angstrom
°C	= graus Celsius
Λ	= condutividade molar em $S\text{ cm}^2\text{Eq}^{-1}$
Λ^0	= condutividade molar à diluição infinita em $S\text{cm}^2\text{Eq}^{-1}$
ξ	= densidade linear de cargas
σ_H	= grau de autodissociação



Resumo

O objetivo deste trabalho foi verificar a aplicabilidade de modelos polieletrólíticos para polissacarídeos em solução e testar os métodos de análise dos dados experimentais, obtidos por titulação condutimétrica com dois tipos de polissacarídeos: ácido poligalacturônico(PGA), que contém somente grupos ionizáveis fracos, e condroitin sulfato(CHS-H), que contém grupos ionizáveis fortes e fracos alternados.

Os métodos de análises utilizados foram: a) método de Vink / Kolhrausch, b) método de Eisenberg e c) modelo de Manning, (através da condensação de contra-íons).

Os valores da densidade linear de cargas (ξ) obtidos para estes polieletrólitos ($\xi_{\text{PGA}} = 1.54$ e $\xi_{\text{CHS-A}} = 1.42$) estão de acordo com o dados cristalográficos ($\xi_{\text{PGA}} = 1.60$ e $\xi_{\text{CHS-A}} = 1.39$), indicando que estes métodos de análise descrevem de maneira adequada o comportamento destes polissacarídeos em solução.



INTRODUÇÃO

Macromoléculas biológicas tais como os ácidos nucleicos, as proteínas, alguns polissacarídeos e alguns lipídeos constituintes de membranas biológicas apresentam como aspecto comum o caráter polieletrólítico.

Esta característica é devida ao fato de que estas macromoléculas possuem grupos ionizáveis ao longo da cadeia. Quando dissolvidos em água (solvente polar) se dissociam em macroíons polivalentes e um grande número de íons de pequena massa molecular (contra-íons). Uma fração de contra-íons são atraídos pelo macroíon devido ao forte campo elétrico produzido por seus grupos carregados.

A presença dos grupos ionizáveis nestas macromoléculas é responsável por muitas funções biológicas, ou então modulam interações que são fundamentais na atividade biológica destas macromoléculas. Em muitos casos a atividade biológica envolve a interação entre diferentes macromoléculas tais como: proteínas com ácidos nucleicos e proteínas com polissacarídeos.

No caso de interação de proteínas com ácidos nucleicos a constituição química desses últimos, mais precisamente a sequência de bases, torna esta interação altamente específica e o caráter polieletrólítico modula esta ligação, via interação eletrostática ou alterando as características elásticas: torção e flexão da dupla hélice do ácido nucleico (Sinden, 1994). Os polissacarídeos não apresentam uma riqueza de constituição de açúcares que lhes dêem especificidade como ocorre com as sequências de bases dos ácidos nucleicos. Apesar disto as interações de alguns polissacarídeos, especialmente as de glicosaminoglicanos com proteínas, são altamente específicas, como por exemplo: de trombina com heparina, fatores de crescimento e polissacarídeos



sulfatados, etc. Nestes casos a especificidade é devida aos aspectos estereoquímicos dos açúcares e aos parâmetros como tamanho e conformação da cadeia, que são fortemente influenciados pela distribuição de cargas e pelas interações entre os contra-íons e a cadeia flexível(Weis,1997).

Glicosaminoglicanos são copolímeros formados por uma unidade repetitiva composta de um resíduo de ácido glucurônico, que contém um grupo carboxílico, e uma galactosamina sulfatada, como no caso do condroitin sulfato. Estes dois grupos, carboxila e sulfato, desempenham papel importante na formação de proteoglicanos e na ligação de ligantes carregados, como por exemplo: proteínas e íons bivalentes(Lehninger, 1993).

Seu papel biológico tem despertado o interesse dos pesquisadores que atuam na área de polieletrólitos. Estes polissacarídeos são políons com distribuição seletiva nos tecidos, desempenhando papel importante do ponto de vista estrutural, como por exemplo: em cartilagens, ossos, córnea, parede de vasos sangüíneos, líquido sinovial e como fatores antitrombóticos e antilipênico (heparina). Suas características físico-químicas, bem como sua biocompatibilidade, os tornam desejáveis para uma ampla gama de aplicações em medicina e farmacologia (Crecenzi et al, 1989).

Estudos de caracterização físico-química de polissacarídeos sulfatados (Ruggiero et al, 1994,1998) mostraram que a capacidade de complexar cálcio depende do conteúdo de grupos carregados (sulfatos e carboxilas) bem como da distribuição destes grupos na superfície do polissacarídeo sendo, portanto, dependente da conformação local por ele assumida em solução. Estes estudos indicaram ainda que a complexação envolvendo o grupo sulfato é pelo menos três vezes maior do que a que envolve grupos carboxílicos do condroitin



sulfato, que possui uma relação de 1:1 entre estes grupos. Além deste aspecto a distribuição de grupos sulfatos ao longo da cadeia polissacarídica é um fator determinante na interação de polipeptídios (poli-L-lisina) com polissacarídeos sulfatados (Fossey, M.A., 1998).

Uma abordagem experimental relativamente simples e que fornece informações importantes sobre o comportamento destes polieletrólitos em solução, envolve a determinação do coeficiente de transporte de cargas em soluções destas macromoléculas, através de experimentos de condutividade elétrica. Outra vantagem desta abordagem diz respeito aos métodos de análise dos dados experimentais, que são fortemente embasados nos modelos polieletrólíticos e conseqüentemente constituem um bom teste para estes modelos.

A condutividade molar, segundo observação de Kohlrausch, é uma função linear da raiz quadrada da concentração. Considerando a solução eletrolítica diluída, a condutividade molar pode ser expressa como:

$$\Lambda = \Lambda^0 - AC_p^{1/2} \quad (\text{ver apêndice1}) \quad (1)$$

sendo Λ = condutividade molar da solução = $\frac{\sigma - \sigma_0}{C_p}$

Λ^0 = condutividade molar à diluição infinita

$AC_p^{1/2}$ = representa os efeitos inter e intrainiônicos sobre a condutividade

C_p = concentração de grupos carregados do polieletrólito

Para soluções eletrolíticas simples Λ^0 pode ser obtida do gráfico Λ vs. $C_p^{1/2}$ por extrapolação da parte linear da curva. Entretanto, para soluções polieletrólíticas diluídas Λ não é bem definida e a equação (1) torna-se inaplicável para a determinação de Λ^0 .



Esta dificuldade é contornada usando uma extrapolação alternativa e rearranjando a equação (1), de acordo com Vink (Vink, 1981) e Kusnetsov (Kusnetsov *et al*, 1991) podendo ser escrita como :

$$\sigma = \sigma_0 + \Lambda C_p + C_p F(C_p) \quad (2)$$

sendo σ a condutividade da solução de polieletrólito, σ_0 a condutividade do solvente na presença do polieletrólito, C_p a concentração do polieletrólito medida em mEq/L através de titulações potenciométricas e $F(C_p)$ uma função que descreve a interação interiônica que, no caso de um polieletrólito, não é bem conhecida. Entretanto, no caso de solução isoônica de DNA e poli(U), Kusnetsov (Kusnetsov *et al*, 1991) observou experimentalmente a dependência da concentração do polieletrólito e pode ser escrita como:

$$F(C_p) = -AC_p^{1/2} \quad (3)$$

Esta equação descreve razoavelmente bem a dependência com a concentração para soluções de DNA e polinucleotídeos sintéticos que, em geral, são rígidos e possuem comprimento de persistência bem maior que a distância de Debye (ver apêndice 2). Entretanto, os polissacarídeos são mais flexíveis e em alguns casos a distribuição de grupos carregados ao longo da cadeia não é uniforme como nos ácidos nucleicos. Além da flexibilidade da cadeia, a dissociação dos grupos ionizáveis dos polissacarídeos apresenta uma dependência acentuada com a concentração destes grupos (Agostinho Neto *et al*, 1997). Os modelos polieletrólíticos e as análises de dados experimentais de condutividade de soluções se aplicam com relativo sucesso aos polímeros que contêm grupos ionizáveis fracos.

A proposta deste trabalho foi estudar a aplicabilidade dos modelos polieletrólíticos bem como os métodos de análise de condutividade de solução



a glicosaminoglicanos, com o objetivo de compreender o comportamento polieletrólítico destes polissacarídeos em solução. A estratégia utilizada foi realizar um estudo sistemático da dependência entre σ e C_p para um polissacarídeo com grupos ácidos fracos, para os quais os modelos polieletrólíticos e métodos de análise se aplicam com sucesso, e utilizar o mesmo procedimento para condroitin-sulfato em dois graus de ionização diferentes, máximo e parcialmente ionizado, isto é, quando o grupo forte está ionizado.

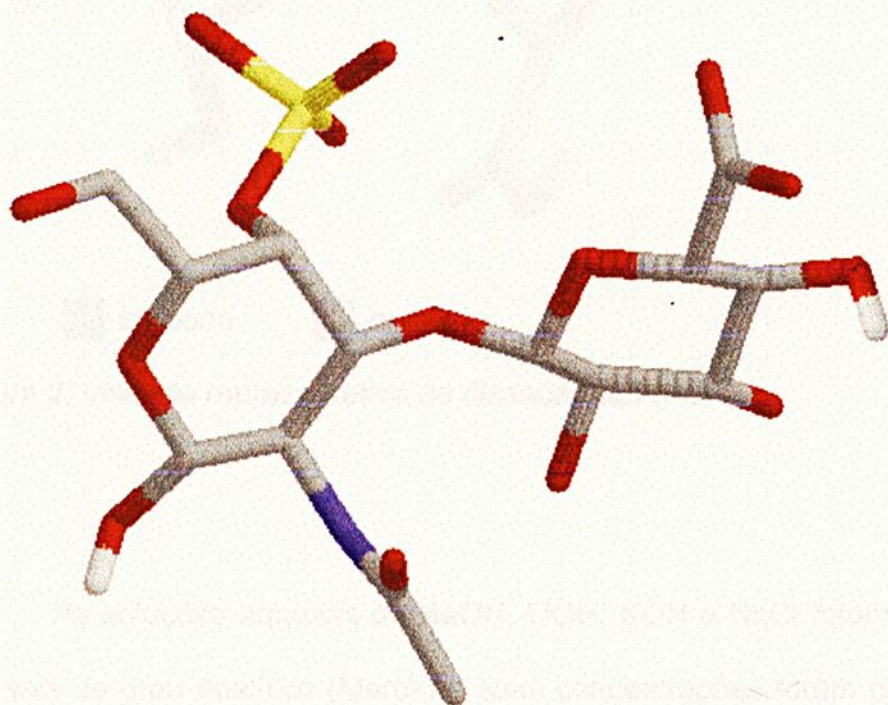
No grau de neutralização (α_n) igual a 1 temos a ionização total dos dois grupos fraco e forte, carboxila e sulfato, respectivamente. No grau de neutralização igual a 0,65 temos a ionização somente do grupo sulfato(grupo forte).



MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais:

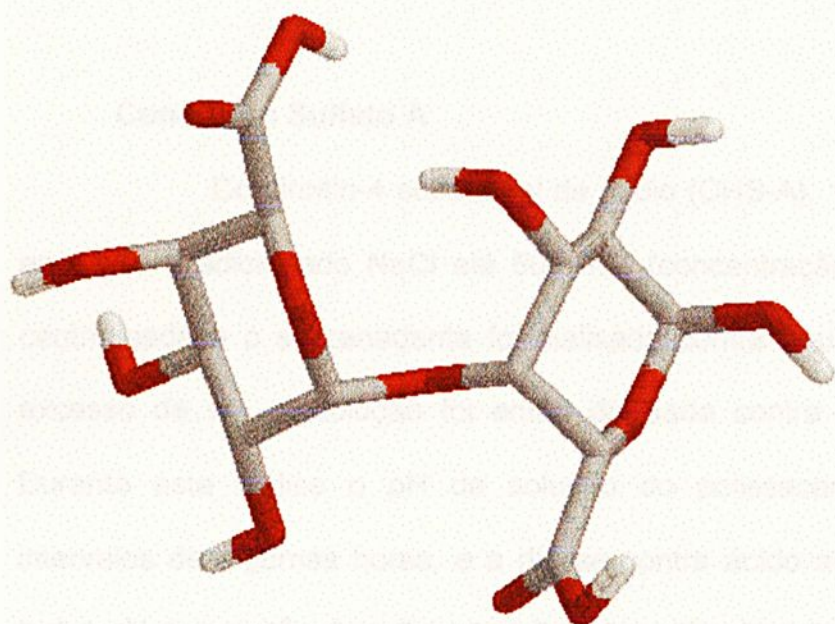
Polissacarídeos: condroitin sulfato A (β glucurônico α (1 $\rightarrow$ 3) - N - acetil - β galactosamina - 4 - sulfato (1-4))* , (fig.1), e ácido poligalacturônico (α (1,4)-D-ácido galacturônico), fig.2, foram adquiridos da Sigma Co.



■ enxofre ■ carbono ■ nitrogênio ■ oxigênio

figura 1: unidade dissacarídica repetitiva representativa da molécula do CHS-A

* Condroitin sulfato A é um copolímero alternado cuja unidade dissacarídica é composta por ácido β -glucurônico unido a N-acetil- β -galactosamina-4-sulfato por ligação α (1 $\rightarrow$ 3). Na cadeia macromolecular de 4-sulfato sódico de condroitina as unidades dissacarídicas estão unidas por ligações β (1 $\rightarrow$ 4).



■ carbono ■ oxigênio

figura 2: unidade representativa do dissacarídeo (PGA)

As soluções aquosas de NaOH, LiOH, KOH e NaCl foram feitas a partir de sais de grau analítico (Merck) e suas concentrações foram determinadas a partir de titulações com padrões primários ou soluções comerciais padronizadas (Merck). Estas concentrações foram então ajustadas para valores de 100mM.

Todas as soluções foram preparadas com água bidestilada e deionizada, com grau condutimétrico $0.60\mu\text{S}/\text{cm}$ e armazenadas em recipientes plásticos. Os volumes das soluções usadas foram medidos com seringas e microseringas de precisão Hamilton.

Preparação de Amostras:

Condroitin Sulfato A

Condroitin-4 sulfato sal de sódio (CHS-A), 1 g/litro, foi dissolvido em água e adicionado NaCl até 500 mM (concentração final). A solução foi centrifugada e o sobrenadante foi dialisado contra água pura, para retirar o excesso de sal. A solução foi então dialisada contra ácido acético 0,10M. Durante esta diálise o pH da solução do polissacarídeo foi medido em intervalos de algumas horas, e a diálise contra ácido acético foi mantida até que o pH da solução de polissacarídeo se mantivesse constante. Na sequência a solução da forma ácida do CHS-A foi dialisada exaustivamente contra água pura, para retirar o excesso de ácido acético. A diálise foi interrompida quando o pH da solução manteve-se constante num valor igual ao da água pura, garantindo que todos os cátions foram substituídos por íons H^+ e que o polissacarídeo foi convertido à forma ácida.

Ácido Poligalacturônico

Ácido poligalacturônico (PGA) foi dissolvido em água na forma de sal sódico, precipitado em etanol, solubilizado em água pura e dialisado exaustivamente contra água para remover o excesso de etanol. Em seguida o polissacarídeo foi convertido à forma ácida através do mesmo processo descrito acima.



Métodos

Titulações Potenciométricas:

As titulações potenciométricas foram feitas com um pHmetro Metrom-Micronal, equipado com eletrodo de vidro combinado. O eletrodo foi calibrado em três valores de pH (4,08, 6,98 e 9,00) com padrões Merck. Após cada titulação os valores de pH destas soluções foram verificados com o objetivo de detectar possíveis desvios no potencial do eletrodo.

Todas as titulações foram realizadas a $(25,0 \pm 0,10)^{\circ}\text{C}$, utilizando celas termostatizáveis acopladas a banhos termostáticos Neslab RTE 221.

As concentrações (em mEq/L) das soluções estoque de CHS-A e PGA foram determinadas através de titulações potenciométricas (fig.3a e 3b). Nestas determinações foram adicionadas alíquotas de NaOH 100mM a 3 mL de solução de polissacarídeo (CHS-A e PGA) na forma ácida, medindo-se a variação do potencial hidrogeniônico (pH). A concentração equivalente correspondente à quantidade de base necessária para neutralizar estas soluções de polissacarídeos é determinada como segue :

$$C_p = \frac{\Delta V [\text{OH}^-]}{V_0} \quad \text{onde,} \quad (4)$$

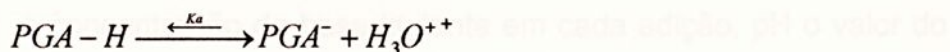
ΔV = incremento de volume do titulante no ponto de neutralização,

$[\text{OH}]$ = concentração do titulante

V_0 = volume inicial do poliácido



O resultado da dissociação eletrolítica do PGA, por exemplo é:



sendo $K_a = \frac{[H_3O^+][PGA^-]}{[PGA-H]}$

onde $[PGA-H] = C(1-\alpha)$

$[H_3O^+] = [PGA^-] = \alpha_i C^\oplus$ reescrevendo temos:

$$K_a = \frac{\alpha_i^2 C^2}{(1-\alpha_i)}$$

onde α_i = grau de ionização

C = concentração molar

⊗ A equação de Handerson-Hasselbalch apresenta uma forma alternativa da equação:

$[H_3O^+] = K_a \frac{[PGA-H]}{[PGA^-]}$ e é obtida expressando:

$-\log[H_3O^+] = -\log K_a - \log \frac{[PGA-H]}{[PGA^-]}$ então

$$pH = pK_a + \log \frac{[PGA^-]}{[PGA-H]}$$

O grau de ionização (α_i) em cada adição de base titulante foi calculado considerando as contribuições da autodissociação (α_H) e da neutralização (α_N)

como segue:

$$\alpha_i = \alpha_H + \alpha_N = \frac{10^{-pH}}{C_p} + \frac{[XOH]}{C_p} \quad (6)$$

sendo $[XOH]$ a concentração de base titulante em cada adição, pH o valor do potencial hidrogeniônico em cada adição de base e C_p a concentração do polímero em mEq/L.

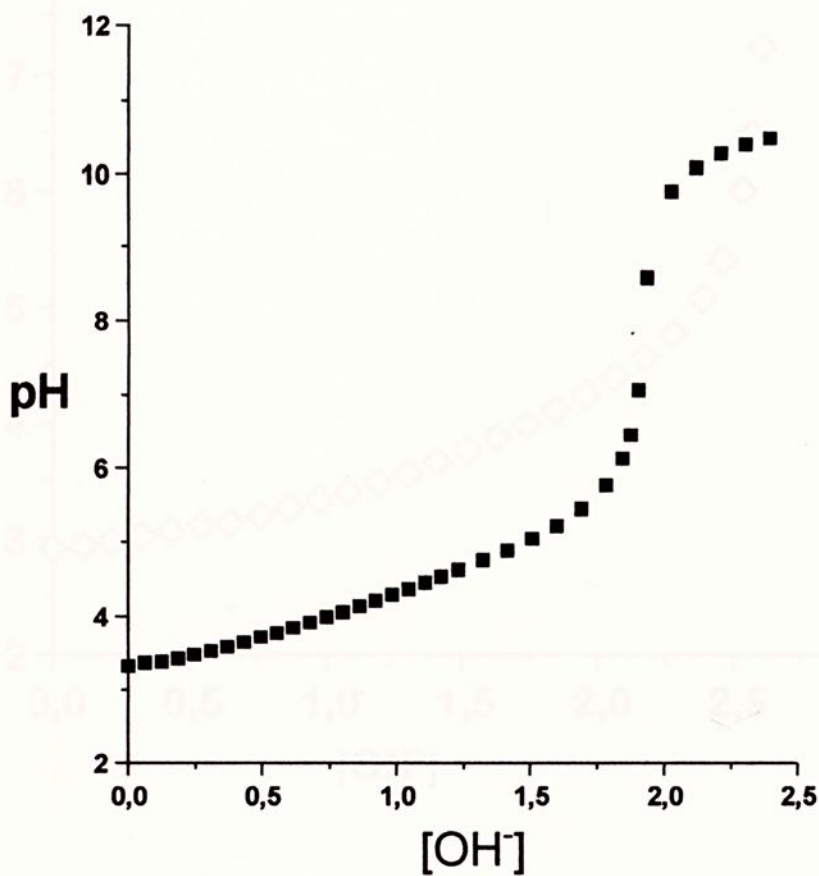


figura 3b: titulação potenciométrica do CHS-H com NaOH

concentração inicial = 2,51mEq/L

figura 3a: titulação potenciométrica do PGA na forma ácida – PGA-H

(concentração inicial = 1,91mEq/L)com NaOH

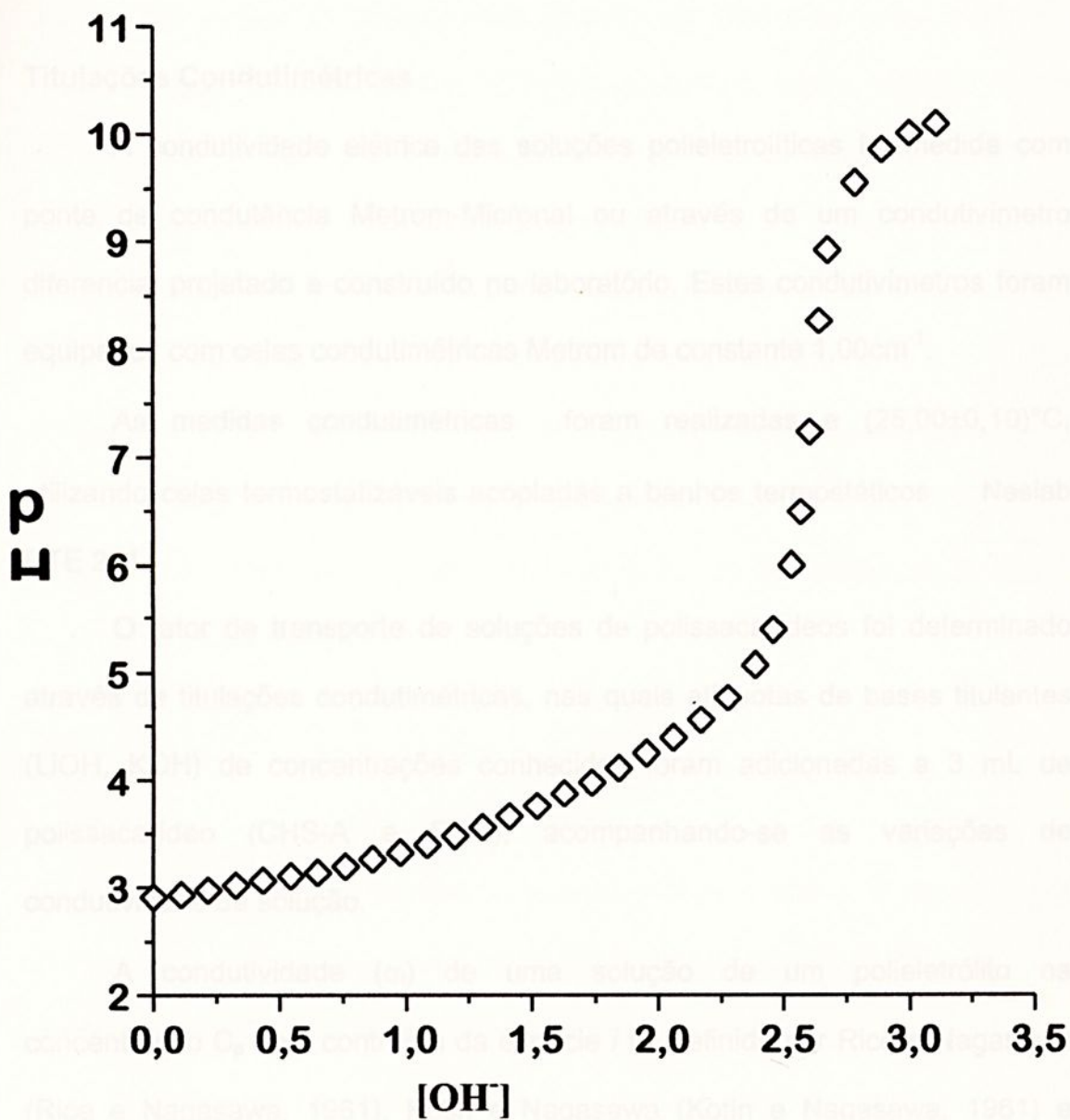


figura 3b: titulação potenciométrica do CHS-H com NaOH

(concentração inicial = 2,61mEq/L)

Medidas Condutimétricas

Titulações Condutimétricas

A condutividade elétrica das soluções polieletrólíticas foi medida com ponte de condutância Metrom-Micronal ou através de um condutivímetro diferencial projetado e construído no laboratório. Estes condutivímetros foram equipados com celas condutimétricas Metrom de constante $1,00\text{cm}^{-1}$.

As medidas condutimétricas foram realizadas a $(25,00 \pm 0,10)^\circ\text{C}$, utilizando celas termostatizáveis acopladas a banhos termostáticos Neslab RTE 221.

O fator de transporte de soluções de polissacarídeos foi determinado através de titulações condutimétricas, nas quais alíquotas de bases titulantes (LiOH, KOH) de concentrações conhecidas foram adicionadas a 3 mL de polissacarídeo (CHS-A e PGA), acompanhando-se as variações de condutividade da solução.

A condutividade (σ_i) de uma solução de um polieletrólito na concentração C_p com contraíon da espécie i foi definida por Rice e Nagasawa (Rice e Nagasawa, 1961); Kotin e Nagasawa (Kotin e Nagasawa, 1961) e Kuznetsov e Apolonnik (Kuznetsov e Apolonnik, 1981) baseada na relação empírica, proposta por Eisenberg (Eisenberg, 1958), como sendo:

$$\sigma_i = C_p f(\lambda_p + \lambda_i^0) \quad (\text{ver apêndice 1}) \quad (7)$$

sendo $f \leq 1$ o fator de transporte, C_p a concentração de grupos carregados do polieletrólito determinada na titulação potenciométrica, λ_i^0 a condutividade



molar limite dos contraíons e λ_p a condutividade molar limite do polieletrólito. O fator de transporte foi determinado através de titulações condutimétricas utilizando duas ou mais bases titulantes diferentes. Neste trabalho foram utilizados LiOH e KOH, por proporcionarem uma boa resolução dos pontos de neutralização dos grupos ácidos dos polímeros estudados e por apresentarem o mesmo tipo de interação com o polímero (relação linear entre a condutividade molar e as condutividades equivalentes dos íons Na^+ , Li^+ e K^+). Nestas condições a condutividade iônica do poliíon por mol de grupos carregados (λ_p) não depende do tipo de contraíons. Utilizando a equação (7) o fator de transporte (f) para um polieletrólito com grau de ionização α_i , é então determinado pela relação:

$$f(\alpha_i) = \frac{\sigma_K - \sigma_{Li}}{\alpha_i C p (\lambda_K^0 - \lambda_{Li}^0)} \quad (8)$$

Em nosso estudo os íons escolhidos foram o lítio e o potássio por apresentarem valores de condutividade equivalente iônica (à diluição infinita e a 25°C) iguais a 38,70 e 73,50 $\mu\text{Scm}^2/\text{mol}$, respectivamente.

O parâmetro f foi interpretado por Manning (Manning, 1975) com base na teoria, por ele proposta, de condensação de contraíons, como sendo a razão entre os coeficientes de auto-difusão dos contraíons medidos na presença (D) e na ausência do polieletrólito (D_0) ($f = D/D_0$). Baseado neste modelo o fator de transporte está fortemente correlacionado com o parâmetro adimensional (ξ) que define a densidade linear de cargas na teoria de condensação de contraíons. Para contraíons de valência Z as relações entre



o fator de transporte (f) e o parâmetro de carga (ξ) obtidas por Manning(Manning, 1975) são:

$$f = 0,866(|Z|\xi)^{-1} \quad \text{para} \quad |Z|\xi > 1 \quad \text{e} \quad (9a)$$

$$f = 1 - \frac{0,55(|Z|\xi)^2}{|Z|\xi + \pi} \quad \text{para} \quad |Z|\xi \leq 1 \quad (9b)$$

O parâmetro de cargas (ξ) é definido como:

$$\xi = \frac{q^2}{\varepsilon k T b} \quad (10)$$

Sendo, q a carga eletrônica (10^{-19}C), ε a constante dielétrica do meio assumida como igual à da água a 25°C , k a constante de Boltzmann(10^{-23}J.K^{-1}), T a temperatura absoluta(K) e b a distância média ($\text{\AA}$) entre os grupos ionizáveis ($b= 7.14 / \xi$). (ver apêndice 1)

Curvas de Diluição

Para os experimentos de diluição foram reproduzidas, nas mesmas condições experimentais, as titulações potenciométricas e as condutimétricas.

O volume (ΔV) da base titulante (LiOH e/ou KOH) necessário para obtenção do polímero no grau de ionização desejado ($\alpha_i = 0.65$ e $\alpha_i = 1.00$ para o CHS-A e $\alpha_i = 1.00$ para o PGA) foi obtido por potencimetria. E com ΔV definido reproduziu-se a titulação condutimétrica, sendo que esta foi interrompida ao atingir o volume suficiente para definir o grau de ionização desejado. E a partir deste ponto começou a diluição da solução do



polissacarídeo, com a adição de alíquotas de 1000µL de água, até que a condutividade elétrica da solução polieletrólítica atingisse o valor mínimo detectável da presença do polímero.



A técnica de medida da condutividade elétrica de polieletrólitos em solução é uma ferramenta potente, mas, ainda pouco explorada para o estudo do comportamento destas macromoléculas em solução e para testar modelos polieletrólíticos. Um poliion na forma ácida, quando em solução, dissocia-se como um eletrólito simples, porém seu forte campo elétrico retém parte dos contra-íons presos a sua vizinhança. Na dissociação de um eletrólito simples a interação entre os íons é menor e, em boa aproximação, a interação entre eles é dada pela teoria de Debye-Hückel. A mobilidade iônica, tanto do polieletrólito quanto do eletrólito simples, é dependente da concentração das espécies em solução. Os modelos polieletrólíticos para propriedades coligativas e de transporte são, em geral, aplicados para situações em que não há interação entre os poliions, isto é, em soluções diluídas e em alguns casos no limite de concentração nula. Desta forma é necessário proceder um estudo da dependência da condutividade da solução em função da concentração de polieletrólitos.



ÁCIDO POLIGALACTURÔNICO

a) Experimentos de Titulação

O perfil da curva de titulação de um políácido fraco é bastante característico e é mostrado na fig.4. O valor inicial relativamente baixo da condutividade da solução de um políácido fraco se deve a reduzida autodissociação característica destes grupos ($\sigma = 151.80 \mu\text{S/cm}$ para $C_p = 1,91 \text{ mEq/L}$). A adição de base titulante induz a um decréscimo suave da condutividade devido a substituição do próton dissociado pelo cátion da base, de condutividade menor ($\sigma_K = 102.80$, $\sigma_{Li} = 81.40 \mu\text{S/cm}$). Adicionando ainda a base, estes prótons são neutralizados e o cátion da base liga-se ao grupo ácido desprotonado sem neutralizar totalmente sua carga elétrica, restando uma carga residual do polieletrólito aumentando suavemente a condutividade ($\sigma_K = 119.40$, $\sigma_{Li} = 87.50 \mu\text{S/cm}$ e $\alpha_i = 0.51$), a adição da base continua até que todos os prótons sejam neutralizados ($\sigma_K = 159.90$, $\sigma_{Li} = 119.00 \mu\text{S/cm}$ e $\alpha_n = 1.00$). E neste ponto a condutividade aumenta bruscamente devido ao excesso da base titulante ($\sigma_K = 233.00$, $\sigma_{Li} = 208.00 \mu\text{S/cm}$). Na fig.4 são mostradas as curvas de titulação condutimétricas (σ vs. α_n) do PGA usando duas base titulantes (KOH e LiOH). Os valores de α_n são obtidos a partir da relação $\alpha_n = \frac{[OH]}{C_p}$. O fator de transporte para o ácido poligalacturônico calculado diretamente desta curva, através da equação (8) é $f = 0.615 \pm 0.022$ sendo que, a distância entre os grupos carregados é $b = 5.05 \pm 0.17 \text{ \AA}$ enquanto que a distância medida através da estrutura cristalográfica é



de $b = 4.46 \text{ \AA}$. A diferença razoável entre estes valores pode ser devida a contribuição do solvente que não foi avaliada neste tipo de tratamento. Desta forma um tratamento mais adequado seria utilizar os valores de condutividade, obtidos de titulações em várias concentrações de polieletrólito e extrapolar para diluição infinita através do gráfico Λ vs. $C_p^{1/2}$ como mostrado na fig.5. A análise destas curvas foi feita através do procedimento de Kohlrausch descrito abaixo. Os valores de condutividade molar limite obtidos através do ajuste destas curvas com a equação (11):

$$\Lambda = \Lambda^0 - AC_p^{1/2} \quad (11)$$

Os valores obtidos através destes ajustes foram: $\Lambda_{Li}^0 = 75.60 \pm 3.70 \text{ S cm}^2 \text{ Eq}^{-1}$ e $\Lambda_K^0 = 96.70 \pm 4.40 \text{ S cm}^2 \text{ Eq}^{-1}$. O fator de transporte obtido com estes valores é: $f = 0.606 \pm 0.040$ o que resulta em uma distância entre grupos $b = 4.970 \pm 0.340 \text{ \AA}$. Os valores de b obtidos a partir dos dados da curva de condutimetria (fig. 4) e dos dados obtidos a partir de várias titulações (fig. 5) estão de acordo entre si e com os dados cristalográficos, porém, apresentaram um erro relativamente grande (de 4 a 7 %).

b) Experimentos de Diluição

Na fig.6 são mostrados os gráficos de condutividade, de Vink, em função da concentração de polieletrólito, σ vs. C_p , representativos de um experimento de diluição do ácido poligalacturônico nas formas de sal de potássio e lítio. Estes gráficos indicam que a condutividade dos dois sais de PGA diminui, de maneira não exatamente linear, com o aumento da diluição. A análise destes experimentos de diluição foi feita de duas maneiras diferentes.



Na primeira os dados de condutividade foram analisados através do gráfico de Kohlrausch, (fig. 6), que relaciona condutividade molar ou equivalente com C_p (Λ ($\Lambda = \sigma/C_p$) vs. $C_p^{1/2}$). Estes gráficos mostraram a dependência linear da condutividade equivalente dos dois sais de PGA no intervalo de concentração de polieletrólito de 0.40 a 1.91 mEq/L. Este comportamento permite escrever a condutividade molar como:

$$\Lambda = \Lambda^0 - AC_p^{1/2} \quad (11)$$

onde Λ^0 é a condutividade molar ou equivalente à diluição infinita e A é uma constante que depende do tipo de contração e que descreve os efeitos de mobilidade eletroforética e de relaxação do polieletrólito. Os valores de Λ^0 e A obtidos dos ajustes pelo método de mínimos quadrados são: $\Lambda_K^0 = 93.60 \pm 0.10$, $A_K = 279.20 \pm 3.60$, $\Lambda_{Li}^0 = 72.60 \pm 0.10$ e $A_{Li} = 260.40 \pm 3.20$ para os sais de potássio e lítio, respectivamente.

Um segundo procedimento usado para analisar os dados de condutividade nos experimentos de diluição foi através de gráficos de condutividade, de Vink, (σ vs. C_p), fig. 6. O gráfico mostrado nesta figura indicou que a condutividade é uma função não linear da concentração de polímero e pode ser escrita como:

$$\sigma = \sigma_0 + \Lambda^0 C_p + C_p F(C_p) \Rightarrow \sigma = \sigma_0 + \Lambda^0 C_p + AC_p^{3/2} \quad (12)$$

sendo σ_0 a condutividade do solvente na presença do polieletrólito, $F(C_p)$ uma função da concentração de polieletrólito e Λ^0 tem o mesmo significado acima. Os valores de Λ^0 obtidos dos ajustes não lineares dos gráficos da fig.6 são $93.20 \pm 0.50 \text{ Scm}^2\text{M}^{-1}$ e $72.70 \pm 0.30 \text{ Scm}^2\text{M}^{-1}$ para o potássio e o



lítio respectivamente, praticamente idênticos aos obtidos do gráfico de Kohlrausch (fig.7).

Os valores de condutividade do solvente na presença de polieletrólito, determinados destes ajustes são 5.00 ± 0.20 e $4.30 \pm 0.20 \mu\text{S}/\text{cm}$ para K e Li, respectivamente, indicando uma forte influência do polieletrólito na condutividade da água. Deve ser lembrado que a água utilizada em todas as etapas do presente trabalho foi de grau condutimétrico de $0.60 \mu\text{S}/\text{cm}$. O bom acordo entre os valores de Λ^0 obtidos dos dois tipos de gráficos indica que o procedimento considerando a contribuição do solvente foi adequado.

A comparação dos resultados obtidos dos experimentos de titulação e de diluição mostraram que a utilização de várias curvas de titulação pode levar a erros sistemáticos de difícil tratamento indicando que a utilização das curvas de diluição foi melhor para o estudo da condutividade elétrica destas soluções. Desta forma o estudo com condroitin sulfato foi feito usando somente as curvas de diluição.



Figura 4: Titulação condutimétrica do PGA na forma ácida (PGA-H) com UOH e KOH (concentração inicial = 1,81 mEq/L) com UOH e KOH

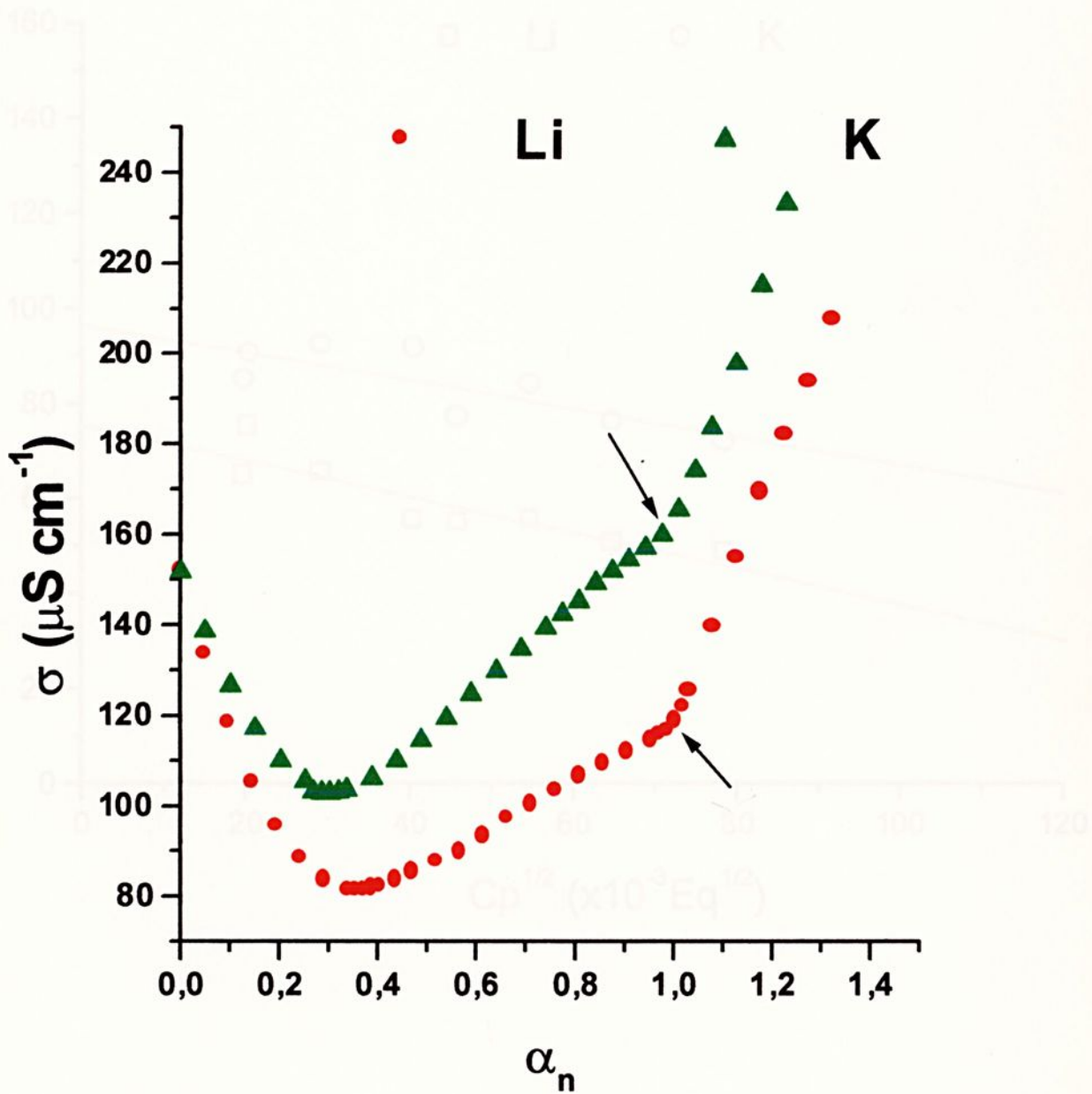


figura 4: titulação condutimétrica do PGA na forma ácida (PGA-H)

(concentração inicial = 1.91 mEq/L) com LiOH e KOH

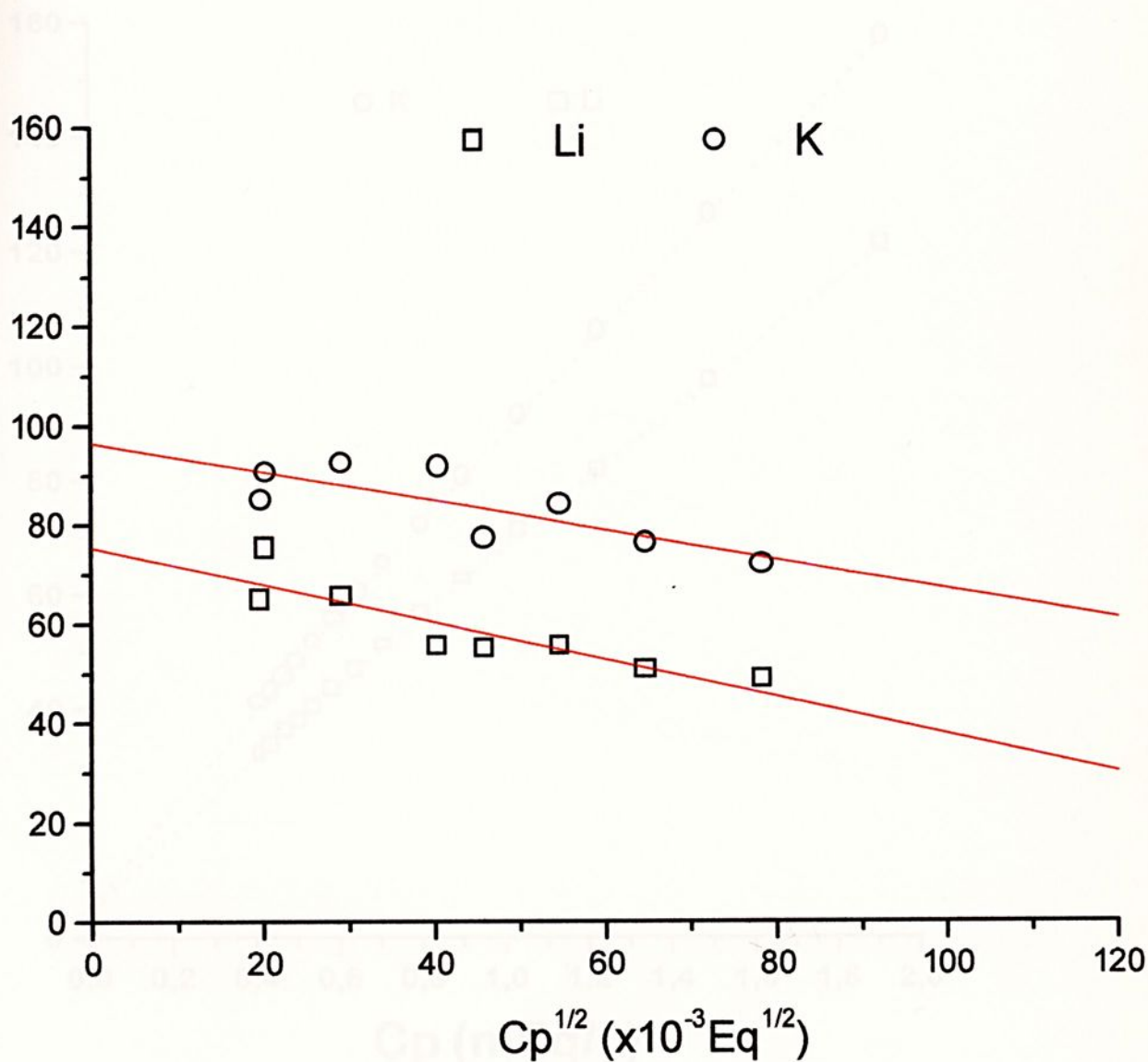


figura 5: gráfico de KOHLRAUSCH obtido a partir de várias titulações do PGA.

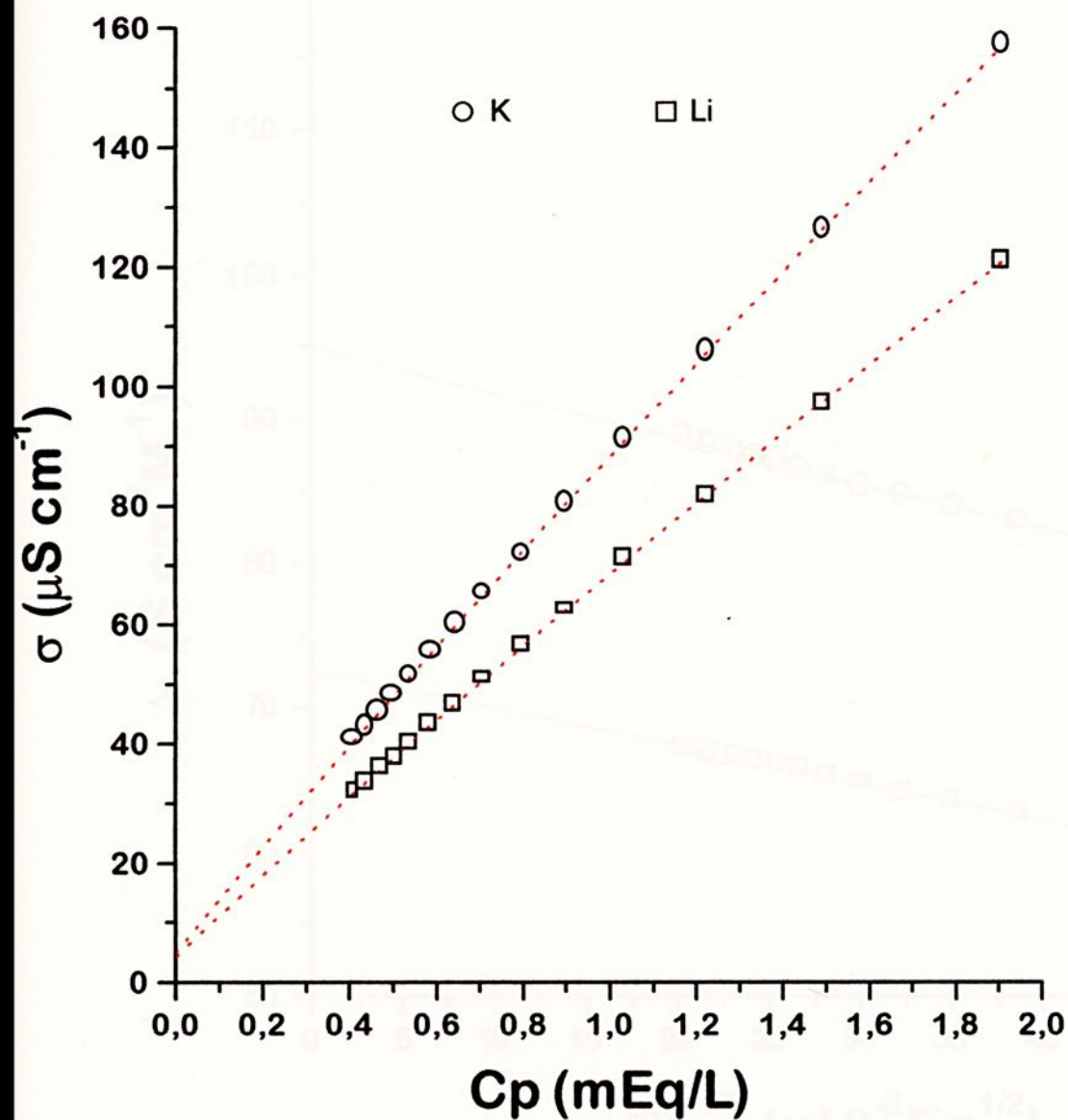


figura 6: gráfico de VINK representativo do experimento de diluição do PGA (concentração inicial = 1.910mEq/L). Curvas pontilhadas representam o ajuste obtido com o método do mínimo quadrado não linear usando a função:

$$\sigma = \sigma_0 + \Lambda^0 C_p + A C_p^{3/2} .$$

□ Li ○ K

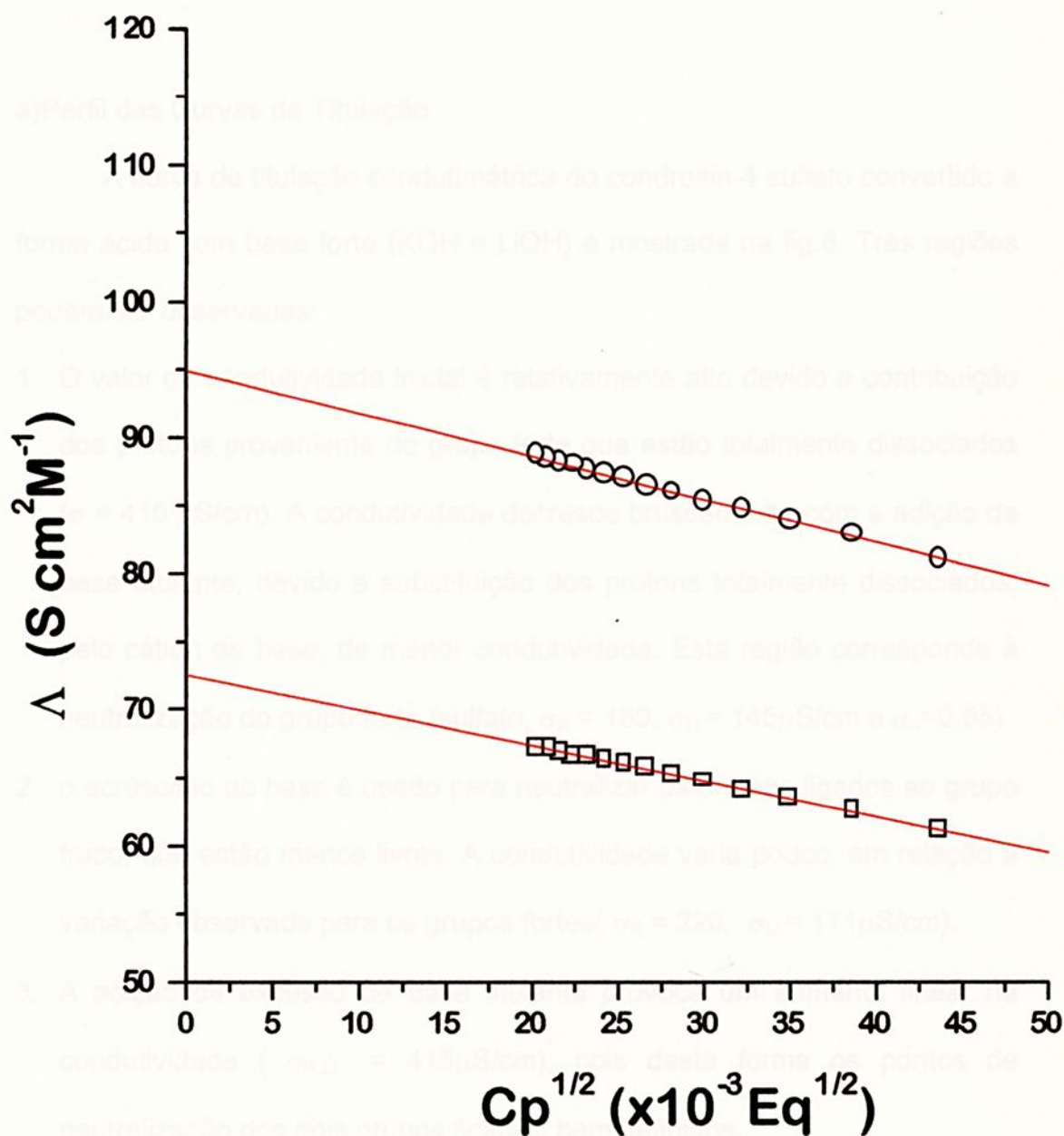


figura 7: gráfico de Kohlrausch relacionando condutividade molar com $C_p^{1/2}$ representativo do experimento de diluição do PGA.
(concentração inicial = 1.91mEq/L e ajuste $\Lambda = \Lambda^0 - A C_p^{1/2}$).

CONDROITIN-4 SULFATO

a) Perfil das Curvas de Titulação

A curva de titulação condutimétrica do condroitin-4 sulfato convertido a forma ácida com base forte (KOH e LiOH) é mostrada na fig.8. Três regiões podem ser observadas:

1. O valor da condutividade inicial é relativamente alto devido a contribuição dos prótons proveniente do grupo forte que estão totalmente dissociados ($\sigma = 416 \mu\text{S/cm}$). A condutividade decresce bruscamente com a adição de base titulante, devido a substituição dos prótons totalmente dissociados, pelo cátion da base, de menor condutividade. Esta região corresponde à neutralização do grupo forte (sulfato, $\sigma_K = 189$, $\sigma_{Li} = 145 \mu\text{S/cm}$ e $\alpha_n = 0.65$)
2. o acréscimo da base é usado para neutralizar os prótons ligados ao grupo fraco, que estão menos livres. A condutividade varia pouco, em relação à variação observada para os grupos fortes ($\sigma_K = 220$, $\sigma_{Li} = 171 \mu\text{S/cm}$).
3. A adição de excesso de base titulante provoca um aumento linear na condutividade ($\sigma_{K,Li} = 415 \mu\text{S/cm}$), pois desta forma os pontos de neutralização dos dois grupos ficaram bem definidos.

Os experimentos de diluição do condroitin-4 sulfato foram realizados em dois graus de ionização diferentes, máximo e parcialmente ionizado ($\alpha_i = 1.00$ e $\alpha_i = 0.65$ que corresponde a ionização apenas dos grupos sulfatos).



A curva de condutividade elétrica em função da concentração do polímero para o CHS-A referente ao experimento de diluição do polímero com grau máximo de ionização é diferente daquela observada para o PGA (fig.6).

Para o CHS-A a variação da condutividade molar com $C_p^{1/2}$ não é linear em todo o intervalo de concentrações do polieletrólito. A condutividade molar aumenta com o aumento da diluição do polímero (fig.9), possivelmente devido a dissociação iônica do polieletrólito (Agostinho Neto et al, 1997). Entretanto, existe um intervalo de valores de concentrações no qual pode ser observado uma dependência linear no gráfico Λ vs. $C_p^{1/2}$. O mesmo comportamento foi observado para o polímero parcialmente ionizado ($\alpha_i=0.65$). Atribuímos esta dependência linear ao comportamento polieletrólítico e concentramos a análise destas curvas na região linear. Os gráficos de Vink (σ vs. C_p) foram também analisados no intervalo de concentração que corresponde a parte linear do gráfico de Kohlrausch (Λ vs. $C_p^{1/2}$). A análise do gráfico de Kohlrausch foi feita através de ajuste não linear, supondo que a função $F(C_p)$ seja proporcional a $C_p^{1/2}$.

Os valores de condutividade molar e da constante A obtidos dos ajustes dos gráficos de Kohlrausch e os valores de condutividade molar intrínseca (Λ^0 , à diluição infinita) obtidos dos ajustes dos gráficos de Vink para condroitin-4-sulfato com ionização completa ($\alpha_i=1.00$) e parcial ($\alpha_i=0.65$) são mostrados na tabela 1.



Tabela 1 - Valores de Condutividade Molar limite e da Constante A

obtidos através dos gráficos de VINK e KOHLRAUSCH

Polímero	V I N K		K O H L R A U S C H			
	Λ_K^0	Λ_{Li}^0	Λ_K^0	Λ_{Li}^0	A_K	A_{Li}
PGA	93.60 $\pm$ 0.10	72.60 $\pm$ 0.10	93.20 $\pm$ 0.50	72.70 $\pm$ 0.30	279.20 $\pm$ 3.60	260.40 $\pm$ 3.20
CHS-A $\alpha=1.00$	98.20 $\pm$ 0.50	76.70 $\pm$ 0.60	98.10 $\pm$ 0.50	76.90 $\pm$ 0.60	280.90 $\pm$ 16.80	234.17 $\pm$ 18.40
CHS-A $\alpha=0.65$	146.00 $\pm$ 0.30	113.40 $\pm$ 0.20	147.10 $\pm$ 0.30	113.80 $\pm$ 0.30	556.50 $\pm$ 5.20	459.90 $\pm$ 3.10

Comparando com os dados experimentais obtidos para polímeros rígidos

Polímero	V I N K		K O H L R A U S C H			
	Λ_K^0	Λ_{Li}^0	Λ_K^0	Λ_{Li}^0	A_K	A_{Li}
Poli (U)	100 $\pm$ 11	72 $\pm$ 7	101 $\pm$ 12	74 $\pm$ 4	219 $\pm$ 19	187 $\pm$ 13
Poli(A) I	78 $\pm$ 1	55 $\pm$ 5	79 $\pm$ 1	55 $\pm$ 1	212 $\pm$ 12	198 $\pm$ 12
Poli(A) II	56 $\pm$ 6	43 $\pm$ 4	55 $\pm$ 5	44 $\pm$ 3	170 $\pm$ 15	165 $\pm$ 12

Fonte: Kuznetsov, 1991

Assim como observado para o ácido poligalacturônico, os dados da tabela 1 mostraram bom acordo entre os valores de Λ^0 obtidos dos dois gráficos. Estes resultados sugeriram que a presença do grupo sulfato, caracterizado por forte dissociação, não impediu o tratamento dos dados de condutividade com a mesma dependência de $C_p^{1/2}$. A comparação dos valores de condutividade molar limite Λ^0 (Λ_K^0 e Λ_{Li}^0) e da constante A (A_K e A_{Li}) para PGA e CHS-A indicaram que para o condroitin 4 - sulfato estes parâmetros foram maiores do que para o ácido poligalacturônico. Considerando que no estado de ionização total as distâncias entre os grupos



carregados nestes polímeros foram muito próximas ($b_{PGA} = 4.63 \text{ \AA}^0$ e $b_{CHS-A} = 5.01 \text{ \AA}^0$) a grande diferença observada nos valores de Λ^0 deve ser devida a maior dissociação iônica no condroitin-4 sulfato.

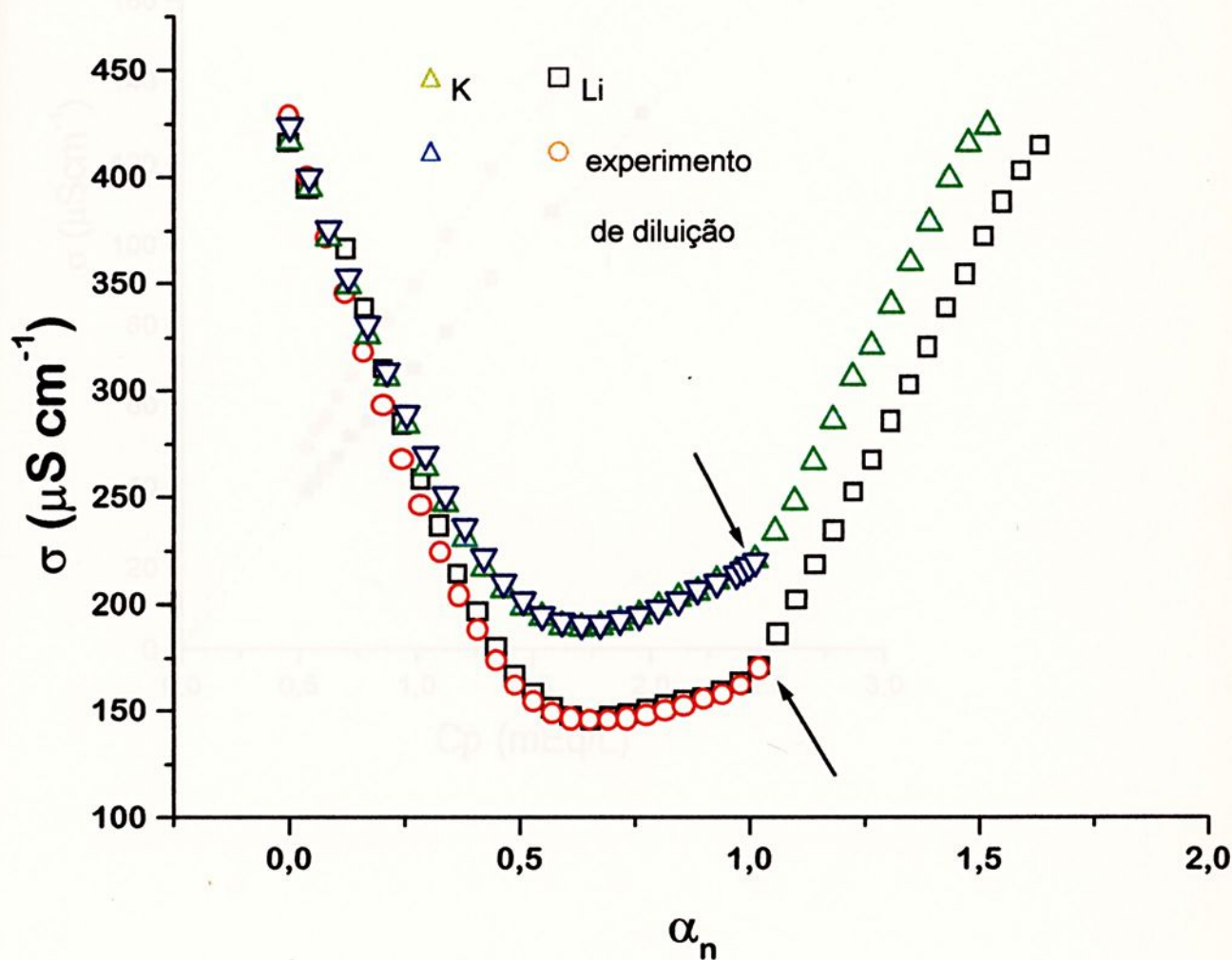


figura 8a: gráficos de σ vs α_n representativo do experimento de diluição do CHS-A (concentração inicial = 2.61mEq/L e $m = 1.00$). Curvas pontilhadas

figura 8: titulação condutimétrica do CHS-A com LiOH e KOH (concentração inicial = 2.61mEq/L)

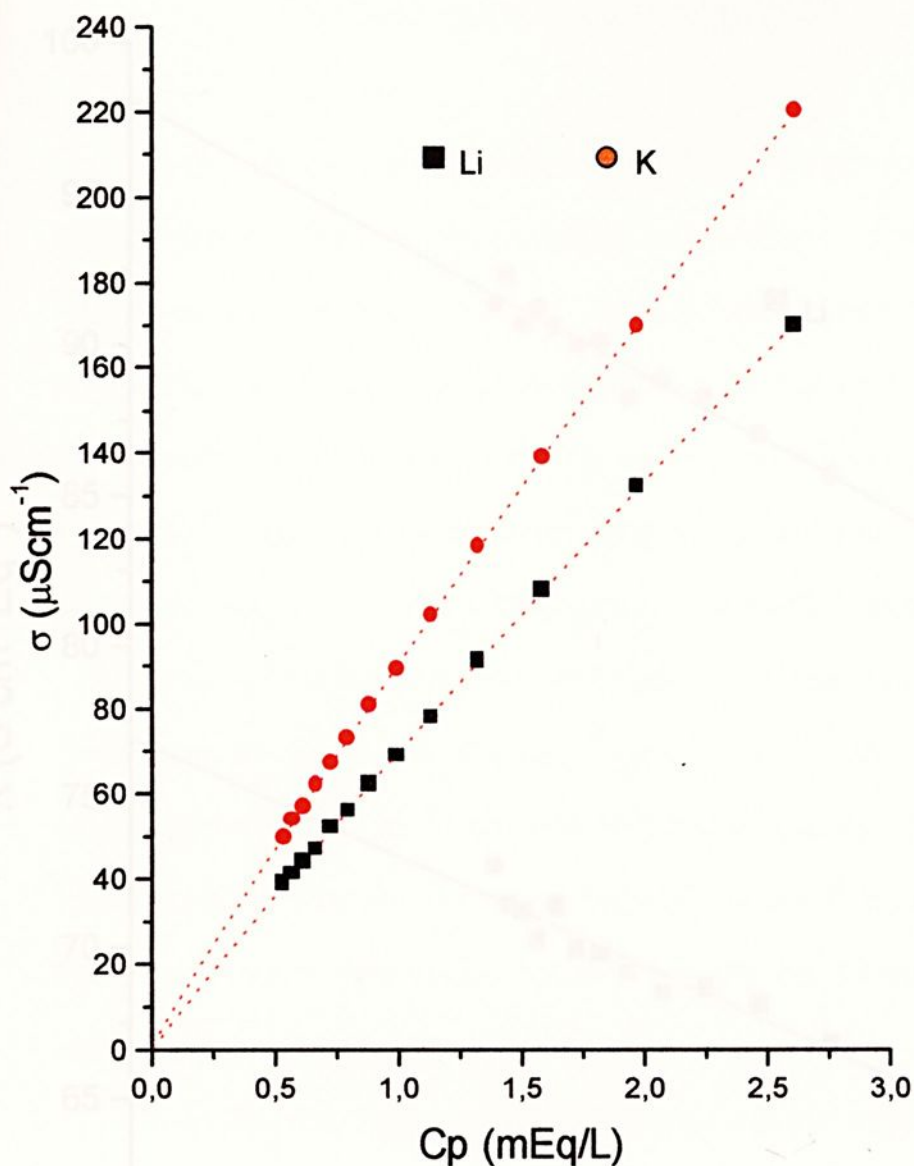


figura 9a: gráfico de Vink representativo do experimento de diluição do CHS-A (concentração inicial = 2.61mEq/L e $\alpha_i = 1.00$). Curvas pontilhadas representam o ajuste obtido com o método do mínimo quadrado não linear usando a função $\sigma = \sigma_0 + \Lambda^0 C_P + A C_P^{3/2}$.

INTERPRETAÇÃO DAS CONSTANTES OBTIDAS DOS AJUSTES DAS CURVAS EXPERIMENTAIS

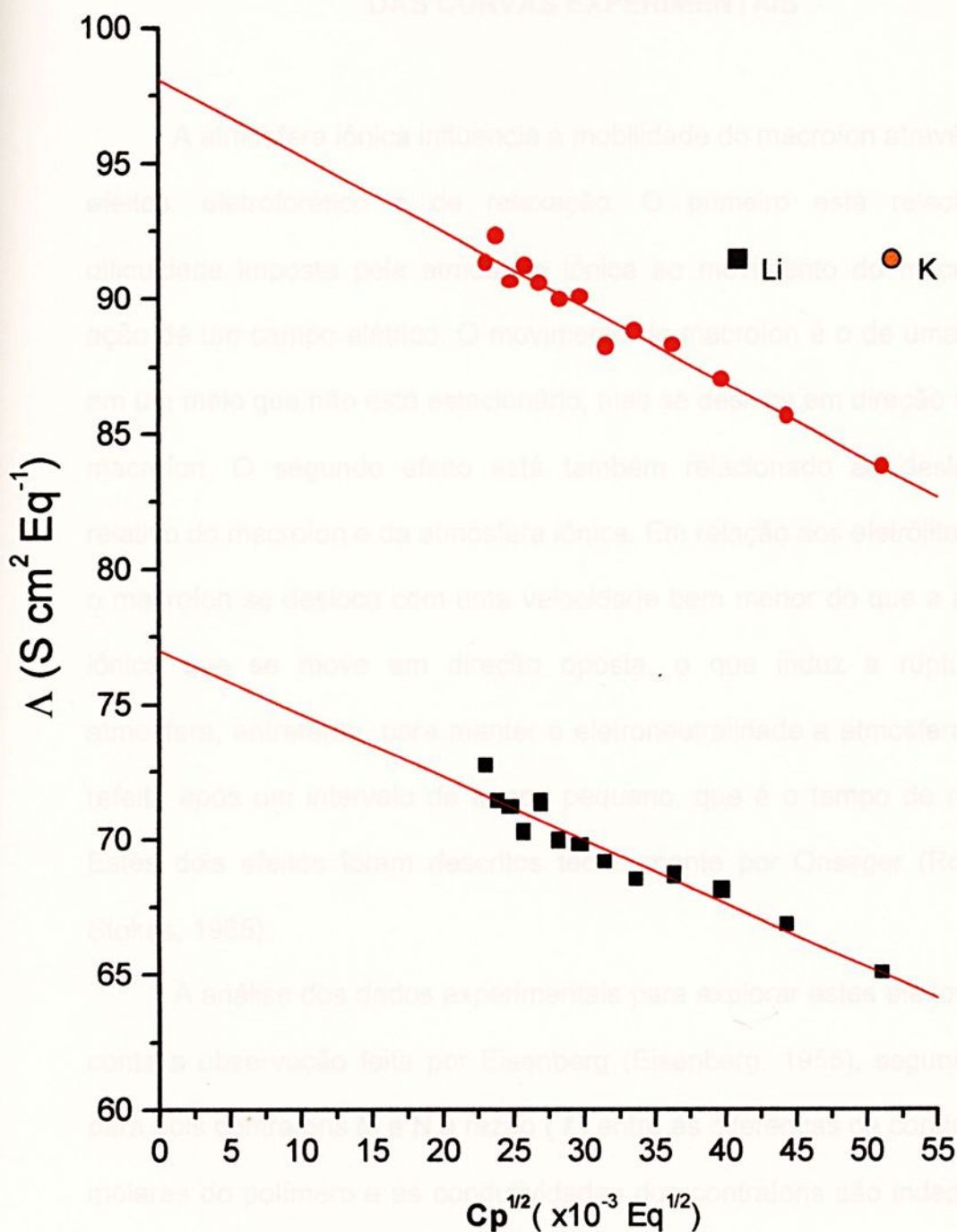


figura 9b: Gráfico de Kohlrausch relacionando condutividade molar com $C_p^{1/2}$ representativo do experimento de diluição do CHS-A.
(concentração inicial = 2.61mEq/L , $\alpha_l = 1.00$ e ajuste $\Lambda = \Lambda^0 - A C_p^{1/2}$)

INTERPRETAÇÃO DAS CONSTANTES OBTIDAS DOS AJUSTES

DAS CURVAS EXPERIMENTAIS

A atmosfera iônica influencia a mobilidade do macroíon através de dois efeitos: eletroforético e de relaxação. O primeiro está relacionado à dificuldade imposta pela atmosfera iônica ao movimento do macroíon sob ação de um campo elétrico. O movimento do macroíon é o de uma partícula em um meio que não está estacionário, mas se desloca em direção oposta ao macroíon. O segundo efeito está também relacionado ao deslocamento relativo do macroíon e da atmosfera iônica. Em relação aos eletrólitos simples o macroíon se desloca com uma velocidade bem menor do que a atmosfera iônica que se move em direção oposta, o que induz a ruptura desta atmosfera, entretanto, para manter a eletroneutralidade a atmosfera iônica é refeita após um intervalo de tempo pequeno, que é o tempo de relaxação. Estes dois efeitos foram descritos teoricamente por Onsager (Robinson e Stokes, 1965).

A análise dos dados experimentais para explorar estes efeitos leva em conta a observação feita por Eisenberg (Eisenberg, 1958), segundo o qual para dois contraíons M e N a razão (f) entre as diferenças de condutividades molares do polímero e as condutividades dos contraíons são independentes do tipo de contraíons:

$$f = \frac{\Lambda_{MP} - \Lambda_{NP}}{\lambda_M^0 - \lambda_N^0} \quad (13)$$

Substituindo Λ_{MP} e Λ_{NP} pela expressão de Vink ($\Lambda = \Lambda^0 - AC_p^{1/2}$) obtém-se:

$$f = \frac{\Lambda_{MP}^0 - AC_p^{1/2} - (\Lambda_{NP}^0 - AC_p^{1/2})}{\lambda_M^0 - \lambda_N^0} \quad (14)$$

De acordo com o modelo de Onsager a constante A é escrita em função de duas constantes α e β que estão relacionadas aos efeitos eletroforético e de relaxação (ver apêndice 1 e 3) respectivamente, como:

$$A = \alpha + \beta\Lambda^0 \quad (15)$$

Substituindo esta expressão na expressão para f (eq.14) e arranjando os termos tem-se:

$$f = f^0 - \frac{\beta(\Lambda_{MP}^0 - \Lambda_{NP}^0)C_p^{1/2}}{\lambda_M^0 - \lambda_N^0} \quad (16 a)$$

ou

$$f = f^0(1 - \beta C_p^{1/2}) \quad (16 b)$$

onde

$$f^0 = \frac{\Lambda_{MP}^0 - \Lambda_{NP}^0}{\lambda_m^0 - \lambda_N^0}$$

Desta maneira e considerando os dados experimentais de condutividade molar intrínseca com os contraíons K^+ e Li^+ (usando os valores de $\lambda_K^0 = 73.50\mu\text{Scm}^2/\text{mol}$ e $\lambda_{Li}^0 = 38.70\mu\text{Scm}^2/\text{mol}$), pode-se construir um gráfico de f vs. $C_p^{1/2}$ e do ajuste obter os valores de f^0 e β para cada polieletrólito.

Os gráficos obtidos para o PGA e para o CHS-A com o grau máximo de ionização ($\alpha_i = 1.00$) são mostrados na fig.10(a e b).

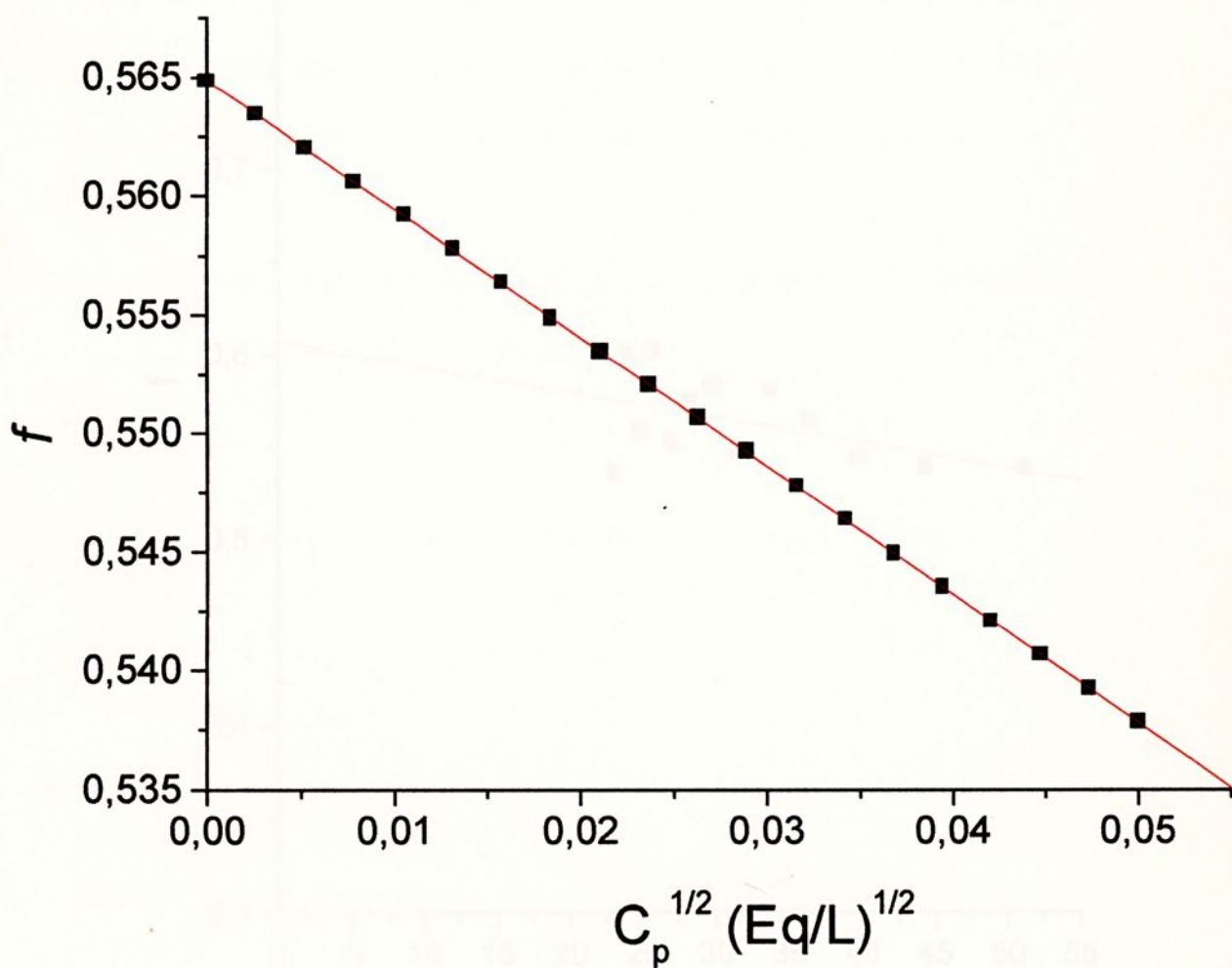


figura 10b: dependência do fator de transporte (f) em função de $C_p^{1/2}$ para o

figura 10a: dependência do fator de transporte (f) em função de $C_p^{1/2}$ para o
PGA.

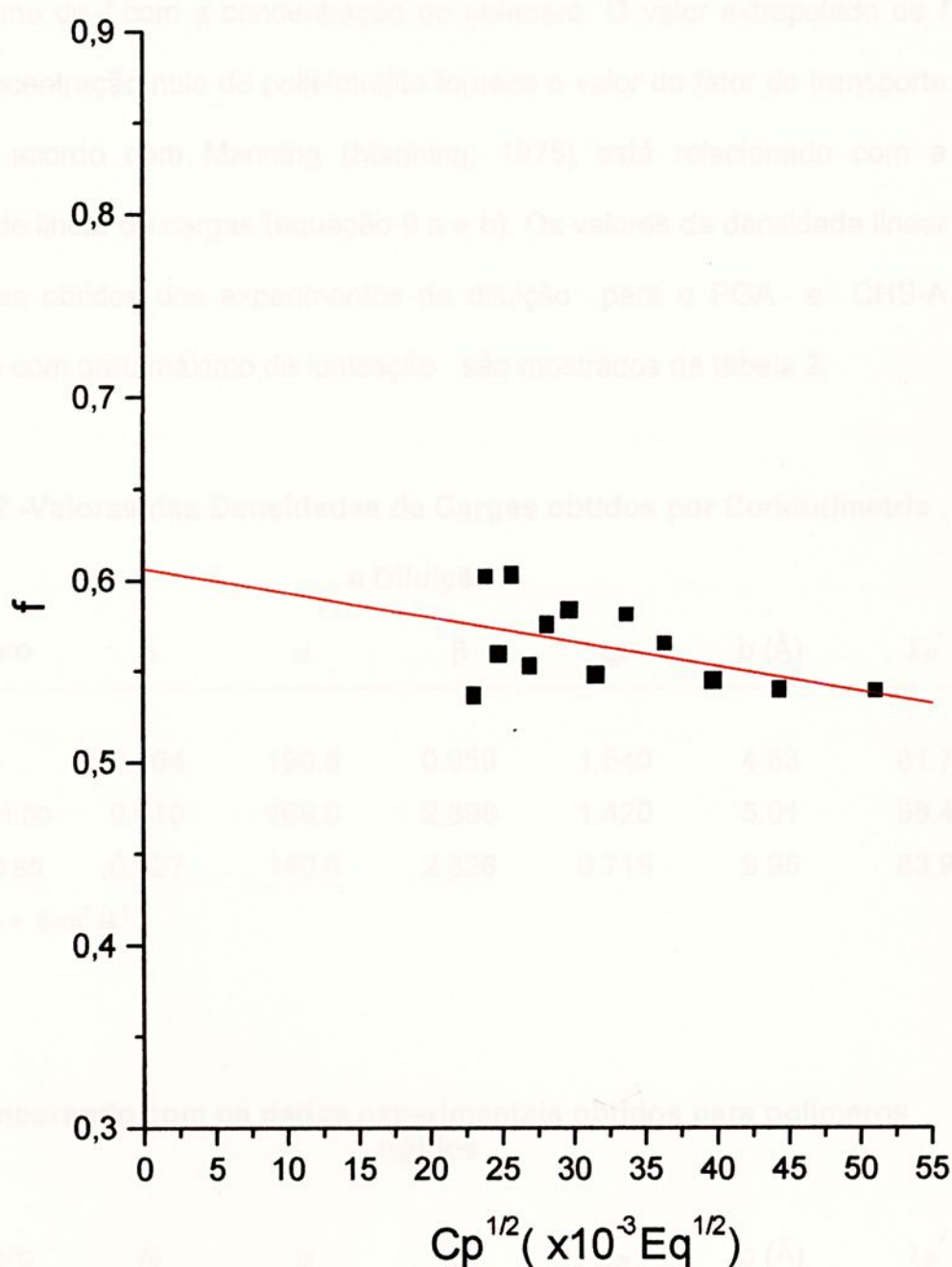


figura 10b: dependência do fator de transporte (f) em função de $C_p^{1/2}$ para o CHS-A. (concentração inicial = 2.61mEq/L e $\alpha_i=1.00$)

Para os dois polieletrólitos os gráficos mostraram um ligeiro decréscimo de f com a concentração do polímero. O valor extrapolado de f para concentração nula do polieletrólito fornece o valor do fator de transporte que de acordo com Manning (Manning, 1975) está relacionado com a densidade linear de cargas (equação 9 a e b). Os valores da densidade linear de cargas obtidos dos experimentos de diluição para o PGA e CHS-A parcial e com grau máximo de ionização são mostrados na tabela 2.

Tabela 2 -Valores das Densidades de Cargas obtidos por Condutimetria e Diluição

Polímero	f_0	α	β	ξ_P	$b \text{ (Å)}$	λ_P^*
PGA	0.564	190.8	0.959	1.540	4.63	81.7
CHS- $\alpha=1.00$	0.610	109.0	2.398	1.420	5.01	98.4
CHS- $\alpha=0.65$	0.927	140.0	2.826	0.715	9.95	83.9

* $\lambda_P = \text{Scm}^2 \text{ M}^{-1}$

Comparando com os dados experimentais obtidos para polímeros rígidos

Polímero	f_0	α	β	ξ_P	$b \text{ (Å)}$	λ_P^*
Poli(U)	0.77	140	0.81	1.1	6.3	56
Poli (A) I	0.66	156	0.74	1.3	5.40	44
Poli (A) II	0.35	146	0.46	2.5	2.9	83

Fonte:Kuznetsov, 1991



Esta tabela mostra ainda que há excelente acordo entre os dois métodos na determinação do fator de transporte, tanto para o polieletrólito com um único tipo de grupo carregado (fraco) quanto para o polieletrólito que possui dois tipos de grupos (forte e fraco). O fator de transporte permite calcular a distância entre os grupos carregados nos polímeros (b)** e os valores destas distâncias também estão mostrados na tabela 2. Para o PGA a densidade linear de cargas, determinada a partir do fator de transporte é $\xi = 1.54 \pm 0.08$ e a distância entre os grupos carregados $b = 4.63 \pm 0.08 \text{ \AA}$ em excelente acordo com os dados cristalográficos (Walkinshaw e Arnott, 1981) onde $b = 4.46 \text{ \AA}$ e $\xi = 1.60$. Para o CHS-A com grau máximo de ionização o valor experimental de b foi essencialmente igual ao determinado a partir de dados cristalográficos. Quando apenas os grupos sulfatos estão ionizados o valor de b determinado foi $9.95 \text{ \AA}$, quando o esperado seria $10.40 \text{ \AA}$.

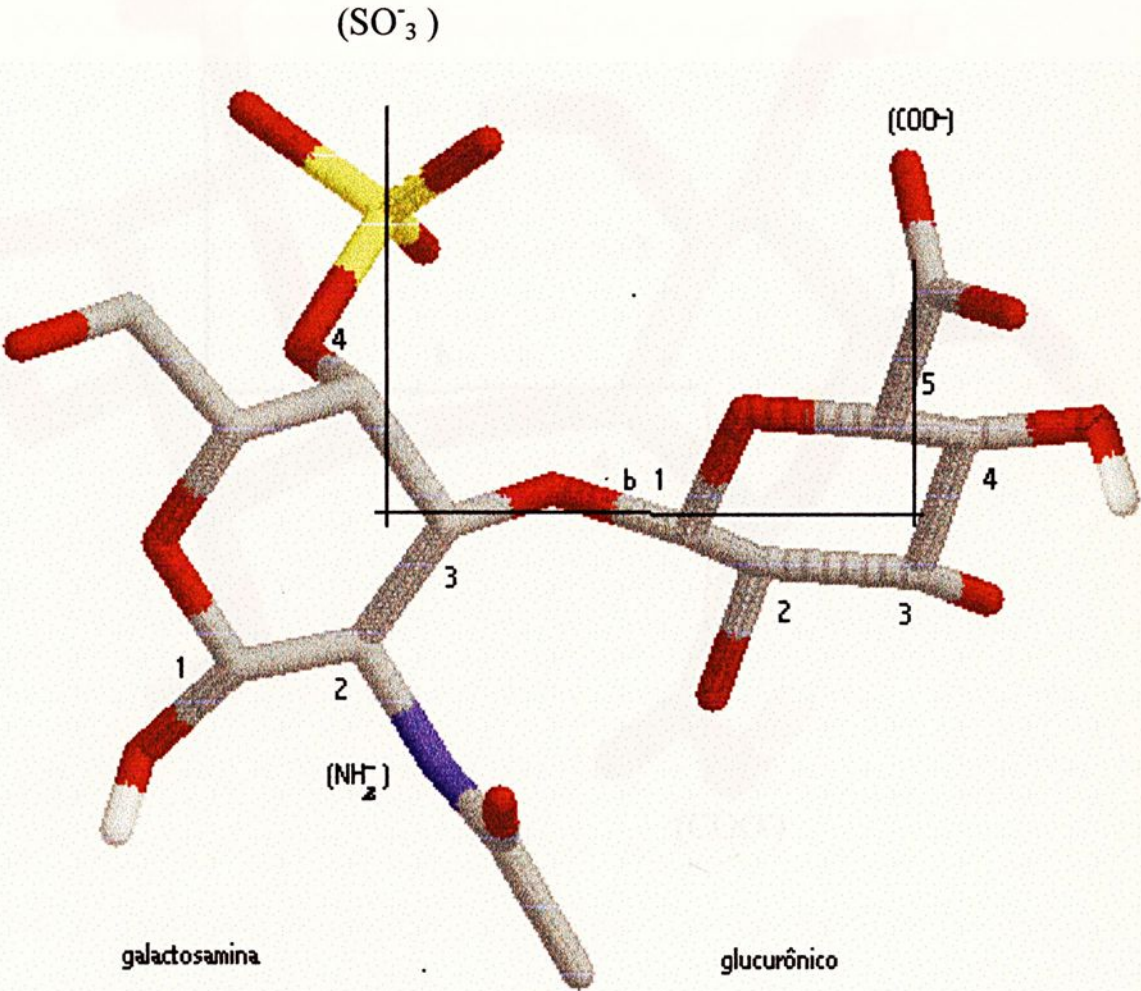
** $b \Rightarrow \lambda = q/b$ sendo λ a densidade linear de cargas, q a carga de cada grupo e b a distância média entre cargas.

☐ enxofre ☐ carbono ☐ nitrogênio ☐ oxigênio

Unidade representativa da molécula do CHS-A



Nos sistemas estudados(CHS-H e PGA) temos:



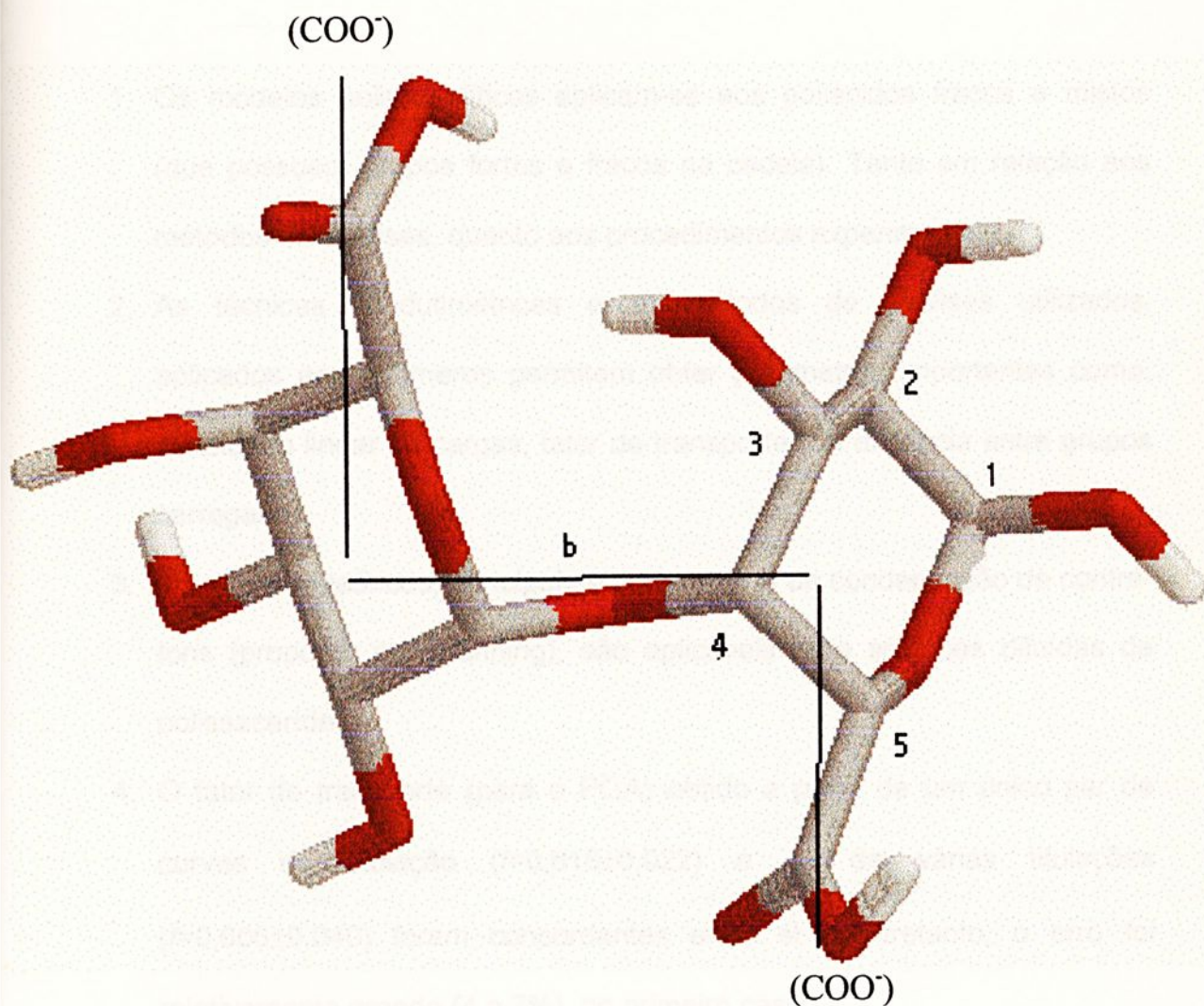
carbono oxigênio

Unidade representativa do dissacarídeo (PGA)

enxofre carbono nitrogênio oxigênio

Unidade representativa da molécula do CHS-A

CONCLUSÕES



carbono
 oxigênio

Unidade representativa do dissacarídeo (PGA)

CONCLUSÕES

1. Os modelos polieletrólíticos aplicam-se aos poliácidos fracos e mistos (que possuem grupos fortes e fracos na cadeia). Tanto em relação aos métodos de análises, quanto aos procedimentos experimentais.
2. As técnicas condutimétricas e os métodos de análises utilizados, aplicados aos polímeros permitem obter parâmetros importantes como, densidade linear de cargas, fator de transporte e a distância entre grupos carregados.
3. Os modelos teóricos, principalmente o modelo de condensação de contra-íons (proposto por Manning), são aplicáveis para soluções diluídas de polissacarídeos.
4. O fator de transporte (para o PGA) obtido a partir de um único par de curvas de titulação ($f=0,615\pm0,022$) e ou de várias titulações ($f=0,606\pm0,040$) foram concordantes entre si, entretanto, o erro foi relativamente grande (4 a 7%) no primeiro caso.
5. Os experimentos de diluição mostraram-se mais satisfatórios, pois, eliminam erros sistemáticos decorrentes da técnica de titulação condutimétrica em várias concentrações de soluções polieletrólíticas.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGOSTINHO NETO, A., DRIGO FILHO, E., FOSSEY, M.A., RUGGIERO NETO, J., **Polyacids self-dissociation model**, The Journal of Physical Chemistry, v.101, n.47, p. 9833-9837, 1997.
2. CRESCENZI, V., DEA, I.C.M., PAOLETTI, S., STIVOLLA, S., SUTHERLAND, I.W., **Biomedical and Biotechnological Polysaccharides**, Gordon and Beach Science Publishers, New York, 1989.
3. EISENBERG, H., **Conductance of Partially Neutralized Polymethacrylic and Polyacrylic Acids, Using a Polarization Compensated Twin Cell**, Journal of Polymers Science, v. XXX, p.47-66, 1958.
4. FOSSEY, M.A., RUGGIERO NETO, J., SANTOS, J.A., MOURÃO, P.A.S., **Polysaccharide-Polypeptide System: Model for Glycosaminoglicans Interactions**. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 27, 1998, Caxambú.
5. KOTIN, L., NAGASAWA, M., Journal American Chemistry Society, v. 83, p. 1026-1028, 1961.
6. KUZNETSOV, I.A., APOLONNIK, N.V., **The Equivalent Conductivity of Aqueous Salt-Free Solutions of DNA: Influence of Univalent Counterions**, Biopolymers, v. 20, p. 2083-2091, Moscou, 1981.
7. KUZNETSOV, I.A., VORONTSOVA, O.V., KOSLOV, A.G., **Polyelectrolyte Properties of Biopolymers: Conductivity and Secondary Structure of Polyriboadenylic Acid and its Salts in Solutions**, Biopolymers, v.31, p.65-76, Moscou, 1991.
8. MANNING, G.S., **A Limiting Law for the Conductance of the Rod Model of a Salt-free Polyelectrolyte Solution**, The Journal of Physical Chemistry, v. 79, n.3, p. 262-265, New Jersey, 1975.
9. MILAS, M., **Polieletrólitos**, Depto. de Física-Química – Instituto de Física e Química de São Carlos-USP, São Carlos, 1991.
10. RICE, A.S., NAGASAWA, M., MORAWETZ, H., **Polyelectrolyte Solutions**, edited by Nathan Kaplan & Harold H. Scheraga, Academic Press, Inc, Londres e Nova Iorque, 1961.



11. ROBINSON, R.A., STOKES, R.H., **Eletrolyte Solutions – The Measurement and Interpretation of Conductance, Chemical Potential and Diffusion in Solutions of Simple Eletrolytes**, Butterworths, 2ªed, London, 1965.
12. RUGGIERO NETO, J., VIEIRA, R.P., MOURÃO, P.A.S., **Increased Calcium Affinity of a Fucosylated Chondroitin Sulfate from Sea Cucumber**, Carbohydrate Research. 256:275-287, 1994.
13. RUGGIERO NETO, J., FOSSEY, M.A., SANTOS, J.A., MOURÃO, P.A.S., **Charge Distribution and Calcium Affinity of Sulfated α -L-galactans from Ascidians. Comparison between linear and highly branched Polymers**, Carbohydrate Research. 306:545-550, 1998.
14. SINDEN, R.C., **DNA Structure and Function**, Academic Press, San Diego 1994.
15. VINK, H., **Conductivity of Polyelectrolytes in Very Dilute Solutions**, J. Chem. Soc. Faraday, trans.77: 2439-49, 1981.
16. WALKINSHAW, M.D., ARNOTT, S., **Conformations and Interactions of Pectins. I. X-ray Diffraction Analyses of Sodium Pectate in Neutral and Acidified Forms**, Academic Press Inc., London, p. 1055-1073, 1981.
17. LEHNINGER, A., NELSON, D.L., COX, M.M., **Carbohydrates**, In:**Principles of Biochemistry**, Worth Publishers, New York, p. 298-321, 1993.
18. WEIS, W.I., **Cell-Surface Carbohydrate Recognition by Animal and Viral Lectins. Current Opinion in Structural Biology**, Wayne Hendrickson & Tem L. Blundell Editors, v.7, n.5, New York, 1997.



APÊNDICE 1

Método de Vink / Kohlrausch (Vink, 1981)

A condutividade molar (Λ) é obtida através da seguinte relação:

$$\Lambda = \frac{\sigma - \sigma_0}{C_p} = \Lambda^0 + F(C_p) \quad (1)$$

Sendo σ a condutividade da solução, σ_0 a condutividade do solvente puro, C_p a concentração equivalente do polímero, Λ^0 a condutividade molar à diluição infinita e $F(C_p)$ uma função que representa o efeito das interações interiônicas na condutividade devido à concentração do polímero na solução.

Para uma solução polieletrólítica Λ não é definida para diluição infinita, pois, σ_0 não é constante na solução polieletrólítica, devido a influência da presença do polímero. Uma alternativa para a solução é rearranjar os termos da eq. 1 de forma que:

$$\sigma = \sigma_0 + \Lambda^0 C_p + C_p F(C_p) \quad (2)$$

Sendo Λ^0 obtida da declividade da curva σ vs. C_p .

Experimentalmente Kusnetsov (Kusnetsov et al, 1991) observou a dependência linear entre Λ e $C_p^{1/2}$.

Esta dependência pode ser definida pela equação:

$$\Lambda = \Lambda^0 - AC_p^{1/2} \quad (3)$$



Expressando Λ^0 em termos da condutividade molar limite dos íons individuais, temos a seguinte relação:

$$\Lambda^0 = \Lambda_{C,P}^0 = f(\lambda_C^0 + \lambda_P^0) \quad (4)$$

sendo $f \leq 1$ um parâmetro de interação, C e P referem-se ao contraíon e ao polímero, respectivamente.

Os parâmetros f e λ_0 podem ser determinados experimentalmente se Λ^0 for medido para dois contraíons diferentes, desde que apresentem interação idêntica com o poliíon (a linearidade de curva Λ vs. λ_c^0 garante que os íons interagem identicamente com o poliíon) e pode ser escrita como:

$$f = \frac{\Lambda_{ip}^0 - \Lambda_{jp}^0}{\lambda_i^0 - \lambda_j^0} \quad (5)$$

$$\lambda_p^0 = \frac{\Lambda_{cp}^0}{f} - \lambda_c^0 \quad \text{para } c = i \text{ e } j \quad (6)$$

(i e j = dois diferentes íons alcalinos)

Análise da constante A

A equação 3 ($\Lambda = \Lambda^0 - AC_p^{1/2}$) estabelece a dependência entre a condutividade molar (Λ) e $C_p^{1/2}$, e quando os valores de Λ estão dispostos em coordenadas de Kohlrausch (Λ vs. $C_p^{1/2}$) a declividade das curvas fornece o valor de A .

Kuznetsov(Kuznetsov,1991) calculou a constante A (para dois cátions de baixa massa molecular) utilizando a seguinte relação:



$$A = \underbrace{\frac{41.25(Z_1 + Z_2)^{3/2}}{\sqrt{2\eta(\varepsilon T)^{1/2}}}}_{\text{EFEITO ELETROFORÉTICO}} + \underbrace{\frac{2.80110^6 Z_1 Z_2 q (Z_1 + Z_2)^{3/2}}{(\varepsilon T)^{3/2} \sqrt{2} (1 + q^{1/2})}}_{\text{EFEITO DE RELAXAÇÃO}} \cdot \Lambda^0 \quad (7)$$

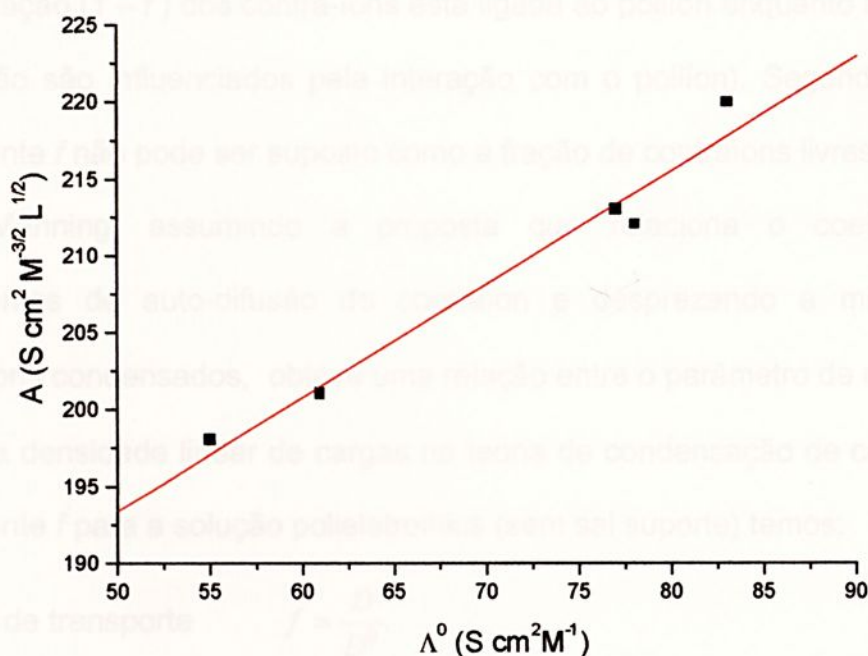
onde

$$q = \frac{Z_1 Z_2 (\lambda_1^0 + \lambda_2^0)}{(Z_1 + Z_2)(Z_2 \lambda_1^0 + Z_1 \lambda_2^0)} \quad (8)$$

Analisando a curva da constante A em função da condutividade molar limite (Λ^0) de vários contraíons diferentes para um mesmo polímero, verificou-se uma dependência linear entre A e Λ^0 , em analogia com a equação (7) a constante A pode ser escrita como:

$$A = \alpha + \beta \Lambda^0 \quad (9)$$

Relação entre a constante A e a condutividade equivalente limite (Λ^0) do poli(A)-I. (Kuznetsov, 1991)



O parâmetro f foi interpretado quantitativamente por Manning com base na teoria de condensação de contraíons, por ele proposta.

A equação 10 tem sido usada para descrever a condutividade de soluções salinas polieletrólíticas (na ausência de sal suporte):

$$\Lambda = f(\lambda_c^0 + \lambda_p) \quad (10)$$

Sendo Λ a condutividade molar da solução salina de polieletrólito, λ_c^0 a condutividade molar do contraíon no solvente puro, λ_p a condutividade molar do poliíon em solução e f o parâmetro definido como :

$$f = \frac{(\lambda_c + \lambda_p)}{(\lambda_c^0 + \lambda_p)} \quad (11)$$

A equação 10 ($\Lambda = f(\lambda_c^0 + \lambda_p)$) assume que a estrutura da solução é tal que a fração $(1 - f)$ dos contra-íons está ligada ao poliíon enquanto a fração f está livre (não são influenciados pela interação com o poliíon). Segundo Manning, o coeficiente f não pode ser suposto como a fração de contraíons livres.

Manning, assumindo a proposta que relaciona o coeficiente f ao coeficientes de auto-difusão do contraíon e desprezando a mobilidade dos contraíons condensados, obteve uma relação entre o parâmetro de carga (ξ , que define a densidade linear de cargas na teoria de condensação de contraíons) e o coeficiente f para a solução polieletrólítica (sem sal suporte) temos:

a) fator de transporte $f = \frac{D}{D^0}$ (12)

sendo D o coeficiente de difusão do contraíon na solução polieletrólítica e D^0 o



coeficiente de difusão do contraíon no solvente puro.

b) densidade linear de cargas $\xi = \frac{q^2 / \epsilon b}{(kT)}$ (13)

sendo q a carga eletrônica e ϵ a constante dielétrica do meio (assumida como igual a da água a 25°C), k a constante de Boltzmann, T a temperatura absoluta e b a distância média ($\overset{0}{A}$) entre os grupos ionizáveis ($b = 7.14/\xi$). Considerando a dissociação de um poliácido na forma de sal temos duas situações distintas:

- a) $\xi < 1 \rightarrow q^2 / \epsilon b < KT$ os contraíons estão dissociados, não há condensação, pois, atração eletrostática é menor do que a energia térmica.
- b) $\xi > 1 \rightarrow q^2 / \epsilon b > KT$ os contraíons encontram-se condensados na vizinhança do polímero (no volume de condensação)

Manning propõe também, uma expressão que relaciona a condutividade do polímero com a concentração:

$$\lambda_p = \frac{22.29 |\ln \chi a|}{1 + 3.454 |\ln \chi a| (\chi_c^0)^{-1}} \quad (\text{para } \xi > 1) \quad (14)$$

Sendo χ o parâmetro de blindagem de Debye-Hückel, a o raio do polímero. Para obter esta expressão ele faz uma média ponderada da mobilidade do poliíon paralelo e perpendicular ao campo elétrico aplicado, considerando apenas 1/3 para contribuição paralela e 2/3 para a perpendicular. As constantes 22,29 e 3,454 estão relacionados com a viscosidade (η) da solução e ao efeito de relaxação. A dependência entre λ_p e C_p é dada pelo $\ln(\chi a)$ e χ é definido como:

$$\chi = \left(\frac{4\pi e^2}{\epsilon K T} \right) \xi^{-1} \eta e \quad (15)$$

Sendo η_e o número de grupos monovalentes carregados por mL.

Método de Eisenberg

Eisenberg observou experimentalmente que medindo a condutividade para um mesmo polímero com contraíons diferentes, a razão entre a diferença entre as condutividades molares para os dois sais e a diferença entre as condutividades molares intrínsecas dos dois contraíons mantém-se constante numa grande faixa de concentração ($0 - 60 \text{ Eq/L} \times 10^4$ do contraíon). Esta razão é igual ao coeficiente f .

As curvas experimentais de condutividade molar do poliácido (Λ) em função da concentração (C) em equivalentes de contraíons por litro mostraram que a condutividade molar (Λ) aumenta com a concentração (C), tendendo a zero para a diluição infinita. Nas curvas Λ vs. C a extrapolação da concentração para zero não é possível.

O aspecto interessante destas curvas é que as diferenças ($\Lambda_K - \Lambda_{Na}$), ($\Lambda_K - \Lambda_{Li}$) e ($\Lambda_{Na} - \Lambda_{Li}$) são constantes em um grande intervalo de concentração e para cada par de contraíons em qualquer grau de ionização (α_i), esta diferença representa a mesma fração f das diferenças entre as condutividades molares intrínsecas dos dois contraíons, então, temos:

$$1) f(\alpha_i) = \frac{(\Lambda_K - \Lambda_{Na})}{(\lambda_K^0 - \lambda_{Na}^0)} \quad (16)$$

$$2) f(\alpha_i) = \frac{(\Lambda_K - \Lambda_{Li})}{(\lambda_K^0 - \lambda_{Li}^0)} \quad (17)$$



$$3) f(\alpha_i) = \frac{(\Lambda_{Na} - \Lambda_{Li})}{(\lambda_{Na}^0 - \lambda_{Li}^0)} \quad (18)$$

Sendo Λ_K , Λ_{Li} e Λ_{Na} a condutividade molar do polímero com o contraíon K, Li e Na respectivamente, λ_K^0 , λ_{Li}^0 e λ_{Na}^0 igual a 73,5, 38,7 e 50,1 Scm²/mol respectivamente.

Eisenberg atribuiu a dependência entre f e C_p às diferenças de densidade de cargas dos polímeros e experimentalmente obteve o parâmetro f definido por:

$$f = \frac{(\Lambda_{ip} - \Lambda_{jp})}{(\lambda_i^0 - \lambda_j^0)} \quad (19)$$

Analisando as curvas experimentais de condutividade molar (Λ) em função de $C_p^{1/2}$ através da equação $\Lambda = \Lambda^0 - AC_p^{1/2}$ foi constatada a linearidade entre Λ e $C_p^{1/2}$ e tornou-se possível obter uma relação que descrevesse a dependência entre f e C_p .

Substituindo a equação (9) na equação (3) e esta na equação (19) temos:

$$f = \frac{\Lambda_i - \Lambda_j}{(\lambda_i^0 - \lambda_j^0)} = \frac{(\Lambda_i^0 - A_i C_p^{1/2}) - (\Lambda_j^0 - A_j C_p^{1/2})}{(\lambda_i^0 - \lambda_j^0)} \quad (20)$$

$$f = \frac{(\Lambda_i^0 - \Lambda_j^0) - (A_i - A_j) C_p^{1/2}}{(\lambda_i^0 - \lambda_j^0)} \quad (21)$$

$$f = f^0 - \frac{(\alpha + \beta \Lambda_i^0) C_p^{1/2} - (\alpha + \beta \Lambda_j^0) C_p^{1/2}}{(\lambda_i^0 - \lambda_j^0)} \quad (22)$$

$$f = f^0 - \frac{\beta(\Lambda_i^0 - \Lambda_j^0) C_p^{1/2}}{(\lambda_i^0 - \lambda_j^0)} \quad (23)$$

$$f^0 = \frac{(\Lambda_i^0 - \Lambda_j^0)}{(\lambda_i^0 - \lambda_j^0)} \quad (24)$$

$$f = f^0(1 - \beta C_p^{1/2}) \quad (25)$$

Esta relação mostrou que f independe do tipo de contra-íon, mas, é dependente da concentração do polímero (C_p), devido a constante β que descreve os efeitos da relaxação.

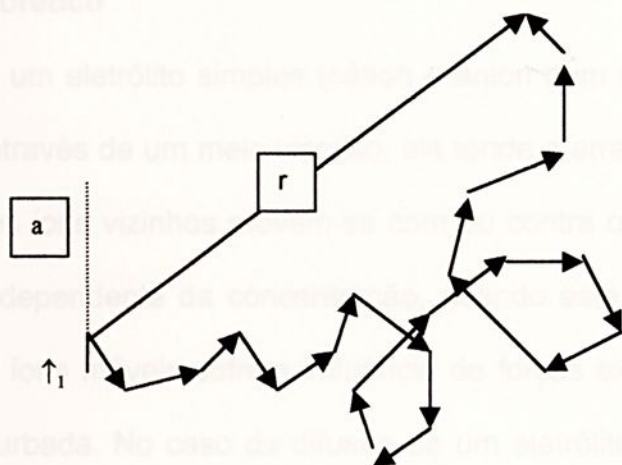
APÊNDICE 2

O comprimento de persistência é definido como a projeção média da distância "vetor i" (end-to-end) sobre a primeira ligação da cadeia $\hat{u}_1$, no limite do comprimento infinito da cadeia. Assim:

$$a = \left\langle \left(\frac{\hat{u}_1}{l_1} \right) \cdot \sum_{i=1}^n \hat{u}_i \right\rangle \quad n \rightarrow \infty \quad \text{onde}$$

$\frac{\hat{u}_1}{l_1}$ é um vetor na direção de $\hat{u}_1$. O comprimento de persistência é a medida

do comprimento na qual a cadeia "persiste" na mesma direção da primeira ligação.



Para uma cadeia infinitamente longa o comprimento de persistência pode ser medido em relação a ligação $\uparrow_1$ distante da última ligação, tal que a seja

simplesmente a soma das projeções de todas as ligações $j \geq i \rightarrow \frac{\uparrow_j}{l_i}$:

$$a = \left\langle \left(\frac{\uparrow_i}{l} \right) \sum_{j=i}^n \uparrow_j \right\rangle \quad n \rightarrow \infty$$

Para cadeias compostas de ligação idênticas de comprimento l , o comprimento de persistência está relacionado com a região C_∞ , sendo :

$$C_\infty = \frac{2a}{l-1} \quad \text{e} \quad a = (C_\infty + 1) \frac{l}{2}$$

APÊNDICE 3

Efeito Eletroforético

Considerando um eletrólito simples (cátion e anion num solvente A). Quando um íon move-se através de um meio viscoso, ele tende a arratar-se com a solução ao seu redor, e os íons vizinhos movem-se com ou contra o meio (não estacionário). Este efeito é dependente da concentração, quando esta tende a zero à diluição infinita. Se os íons móveis sofrem influência de forças externas, esta distribuição pode ser perturbada. No caso da difusão de um eletrólito simples, todos os íons movem-se com a mesma velocidade e a simetria da distribuição não é afetada.



Efeito de Relaxação

A mobilidade dos íons sob a influência de forças externas poderá perturbar a distribuição simétrica destes íons e esta perturbação tende a diminuir com a velocidade dos íons.

No equilíbrio a atmosfera iônica está distribuída em um tempo médio, com simetria esférica e por esta razão exerce força não resultante sobre o íon central.

APÊNDICE 4

Expressando Λ^0 em termos da condutividade molar limite do íon individual temos:

$$\Lambda^0 = \Lambda_{ip}^0 = f(\lambda_c^0 + \lambda_p^0)$$

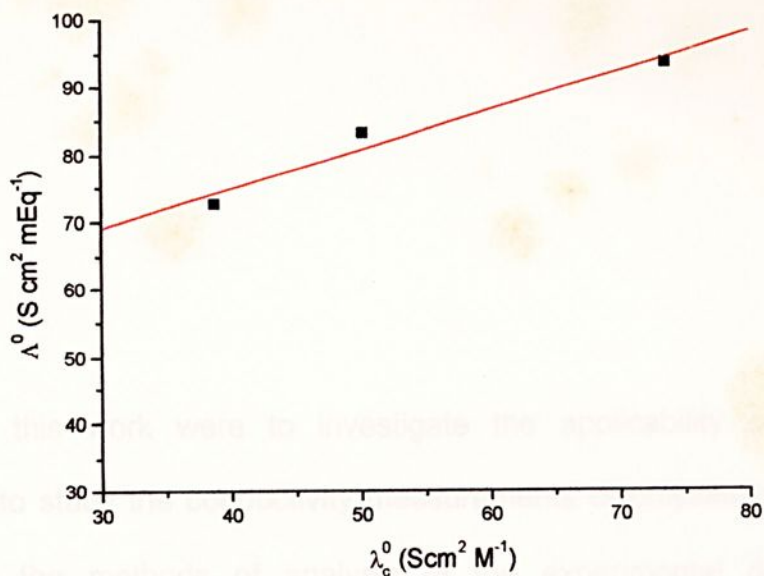
sendo $f \leq 1$ = um parâmetro de interação (fator de transporte)

λ_c^0 = condutividade equivalente iônica (dos contraíons)

λ_p^0 = condutividade molar limite do polieletrólito

f e λ_p^0 podem ser determinados experimentalmente se Λ^0 for medido para dois contraíons que apresentem interação idêntica com o poliíon. (a linearidade da curva Λ vs. λ_c^0 comprova que a interação é do mesmo tipo)





então temos a relação:
$$f^0 = \frac{\Lambda_{ip}^0 - \Lambda_{jp}^0}{\lambda_i^0 - \lambda_j^0}$$

Abstract

The objects of this work were to investigate the applicability of the polyelectrolyte models to study the conductivity measurements of polysaccharide solutions and to test the methods of analysis of the experimental data . Polygalacturonic acid (PGA), which has only weak charged groups, and chondroitin sulfate (CHS-A), with alternately strong and weak charged groups, were employed in this study, obtained by conductimetric titulations.

Three methods of analysis were used: a) the Vink-Kohlrausch method; b) the Eisenberg method; and c) the Manning model (based on the counterions condensation model).

The values of linear charges densities, (ξ), obtained for both polysaccharides used ($\xi_{\text{PGA}} = 1.54$ and $\xi_{\text{CHS-A}} = 1.42$) are in good agreement with the crytolographic data ($\xi_{\text{PGA}} = 1.60$ and $\xi_{\text{CHS-A}} = 1.39$) pointing out that the methods of analysis are adequate to describe the behavior of those polysaccharides in solution.



