

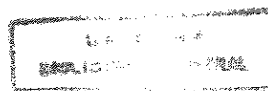


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE FÍSICO-QUÍMICA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

IMPLEMENTAÇÃO DA TÉCNICA DE
TAYLOR-ARIS, PARA MEDIDAS DE COEFICIENTES DE DIFUSÃO EM FASE
LÍQUIDA E SUAS APLICAÇÕES

ANTONIO CARLOS SENGENS LINO

ORIENTADOR: Prof. Dr. WATSON LOH



626.6185
2817 929

UNIDADE:	BC
N.º DE FOLHAS:	71
TIPO DE FOLHA:	6649i
VOLUME:	34888
PROJETO:	395/98
PREÇO:	R\$ 11,00
DATA:	01/04/98
N.º CDD:	

CM-00115852-B

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

L649i Lino, Antonio Carlos Senges
Implementação da técnica de Taylor-Aris para medi-
das de coeficientes de difusão em fase líquida e suas
aplicações / Antonio Carlos Senges Lino - Campinas,
[SP : s.n.], 1997.

Orientador: Watson Loh

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Química.

1. Difusão. 2. Polímeros. 3. Ciclodextrina. I. Loh,
Watson. II. Universidade Estadual de Campinas. Institu-
to de Química. III. Título.

Implementação da Técnica de Taylor-Aris para medidas de coeficiente de difusão em fase líquida e suas aplicações.

RESUMO

O coeficiente de difusão de uma substância em uma solução fornece diversas informações sobre solvatação, estado de agregação, interação com outras substâncias, etc. Dentre as técnicas utilizadas para a medida deste parâmetro a técnica de Taylor-Aris possui vantagens significativas, principalmente em relação ao custo de montagem e operacional, e versatilidade para a aplicação em vários sistemas diferentes. Nesta tese foi montado um equipamento para a medida de coeficientes de difusão por esta técnica, de acordo com especificações encontradas na literatura e através de experiência anterior do grupo. O sistema depois de montado passou por uma série de testes, que confirmaram a sua precisão e exatidão.

Foram determinados os coeficientes de difusão para a série homóloga dos p-hidroxibenzoatos de alquila (metila a butila) em água, em solução de NaOH e, posteriormente investigada sua interação com β -ciclodextrina (β -CD) e polímeros. Foram utilizadas como macromoléculas os PEG 8000 e 20000 e um copolímero-bloco tipo ABA, Pluronic F108, em diferentes concentrações. Nos estudos com a β -CD, foi possível confirmar a formação do complexo de inclusão e foi verificado que todos os homólogos são incorporados com intensidade semelhante. A formação do complexo foi acompanhada através da medida do coeficiente de difusão e o aparecimento de duas regiões de estabilidade sugere a ocorrência de estequiometrias 1:1 e 1:2. Os resultados obtidos para os polímeros comprovam a incorporação em soluções de copolímero-bloco abaixo da c.m.c. e demonstraram a existência de efeito hidrofóbico. Esta mesma característica foi verificada nos estudos com o polímero PEG 8000, em concentrações maiores que 2,5%.

Os resultados apresentados nesta tese comprovam o potencial desta técnica para o estudo de interações soluto-macromoléculas em fase líquida.

Assembling of an equipment for measurement of diffusion coefficient in liquid phase by the Taylor-Aris technique and applications

ABSTRACT

The diffusion coefficient of a compound in solution provides important information on its solvation, aggregation state and on its interaction with other molecules. The Taylor-Aris technique presents some advantages in relation to the others methods employed for measuring diffusion coefficients, mainly its low cost, simplicity of the apparatus and versatility. This thesis describes the assembling of equipment for such measurements whose precision and accuracy was proved to be similar to the best reported in the literature.

Diffusion coefficients were measured for a series of alkyl *p*-hydroxybenzoates (from methyl to butyl) in water, NaOH solution and in the presence of β -cyclodextrin (β -CD) and polymers. The titration of solutes followed by the changes on diffusion coefficients upon their incorporation into β -CD provides direct evidence for the occurrence of 1:1 and 1:2 complexes. This technique was also employed to investigate these solutes interaction with polyethylene oxides 8000 and 20000 and with a triblock copolymer. In all cases, an interaction was proven to occur and, for the copolymer and for larger PEG at higher concentrations, the more hydrophobic solutes presented stronger interaction. This finding suggests that even for copolymers below their critical micelle concentrations and for hydrophobic polymers, hydrophobic domains may arise from the polymer conformation.

The results reported here prove the potential of the Taylor-Aris technique as an important tool for studies on incorporation into macromolecules.

ÍNDICE:

	pág.
1. <u>Introdução</u>	1
1.1. Coeficiente de Difusão e suas aplicações.....	1
1.1.1. Coeficiente de Difusão.....	1
1.1.2. Estudos usando o coeficiente de difusão.....	8
1.2. Métodos de determinação de coeficiente de difusão.....	12
1.3. Técnica de Taylor-Aris.....	13
2. <u>Objetivo</u>	16
3. <u>Experimental</u>	17
3.1. Reagentes.....	17
3.2. Montagem do equipamento.	19
3.3. Testes operacionais.	24
3.3.1. Ajuste da curva de dispersão.....	24
3.3.2. Estudo da dependência do coeficiente de difusão com o fluxo.....	26
3.3.3. Calibração do sistema.....	29
4. <u>Resultados e discussões</u>	30
4.1. Parabens em água.	30
4.2. Estudo da formação do complexo de inclusão com β -ciclodextrina.....	42
4.3. Estudo da incorporação em polímeros e copolímeros bloco ABA.....	54
5. <u>Conclusões</u>	60
6. <u>Bibliografia</u>	62

Dedico esta tese a Luciana, minha esposa:

Que só haja beleza na sua frente, e que só haja beleza atrás de você...

Que só haja beleza ao seu redor, e que só haja beleza ao seu lado...

Que só haja beleza dentro de você...

*Frente a imensidão do cosmo e a infinidade do tempo foi um privilégio para mim
repartir um tempo e um lugar com alguém como você...*

Te amo demais,

Bart

Conselhos de uma lagarta

A Lagarta e Alice olharam-se por algum tempo em silêncio. Finalmente, a lagarta tirou o narguilé da boca e perguntou, em voz lânguida e sonolenta: Quem é você?

Não era um começo de conversa muito animador. Um pouco tímida, Alice respondeu: Eu...eu...nem eu mesmo sei, senhora, nesse momento...eu...enfim, sei quem eu era, quando me levantei hoje de manhã, mas acho que já me transformei várias vezes desde então.

Que é que você quer dizer com isto? -perguntou a lagarta, rispidamente - Explique-se!

- Acho que **eu mesma** não posso explicar - Disse Alice - por que eu não sou eu, está vendo?

- Não, não estou.

- Acho que não posso explicar melhor - replicou Alice com polidez- por que eu mesma não consigo entender , pra começar. E depois, ter tantos tamanhos diferentes num dia só é muito confuso.

- Não, não é.

- Bom, não sei. Talvez a senhora ainda não tenha passado por isso - continuou Alice - mas quando tiver de se tranformar numa crisálida...pois isso lhe acontecerá algum dia, não é?...e, depois disso, numa borboleta, tenho a impressão de que achará meio esquisito, não?

- Nem um pouco.

- Bom, quem sabe a **sua** maneira de sentir talvez seja diferente - disse Alice - mas o que sei é que tudo isso pareceria muito esquisito para **mim**.

- Você! - Exclamou desdenhosa a Lagarta. - E quem é você?

- Acho que a senhora deveria me dizer primeiro quem é.

- Por que?

Alice não conseguia achar nenhuma boa razão, e como a Lagarta parecia estar com o ânimo desagradável, ela voltou as costas, afastando-se.

- Volte! Chamou a Lagarta. - Tenho algo importante para te dizer.

Isso parecia promissor, com certeza. Alice voltou-se e retornou ao cogumelo.

- Acalme-se! - aconselhou a Lagarta.

- É tudo? - perguntou Alice, contendo-se o mais possível.

- Não - esclareceu a Lagarta.

Durante alguns minutos a Lagarta tirou algumas bafarodas sem dizer nada.

Por fim, descruzando os braços, retirou da boca o narguilé e falou: - Quer dizer que você acha que mudou, não é?...

AGRADECIMENTOS:

A Luciana de M. A. Pinto, minha esposa, pela dedicação e tempo despendidos nesta tese.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Watson Loh, pelo incentivo, apoio e liberdade decisivos para o bom andamento dos trabalhos. " Captain my Captain..." obrigado por tudo.

A Rosiley Almeida Leite por todas as sugestões e opiniões que foram muito importantes para a confecção desta tese.

Às minhas amigas Alexandra e Patrícia, minhas primeiras incentivadoras, obrigado por se importarem.

Aos meus irmãos Bruno e André, estamos nesta estrada juntos.

Aos meus pais, Rosa Maria Senges Lino e Antonio Barbosa Lino, meus irmãos, e parentes, em especial minhas madrinhas, Aparecida e Maria Luiza, as minhas avós, Francisca e Helena e a todos os meus amigos incarnados e desencarnados, obrigado pela luz.

A Marcia M. C. Ferreira minha amiga e incetivadora, obrigado por tudo.

Aos professores Marcelo G. de Oliveira, Celso Bertran, Pedro Volpe, Rogério Custódio, Inês Joeques e Edvaldo Sabadini, obrigado pelos ensinamentos.

Ao Instituto de Química da UNICAMP por viabilizar este trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

A FAPESP pelo projeto, nº : 94/3295 - 9, de montagem do equipamento de Taylor-Aris.

1. INTRODUÇÃO:

1.1. COEFICIENTE DE DIFUSÃO E SUAS APLICAÇÕES:

1.1.1. COEFICIENTE DE DIFUSÃO:

Difusão, é definida como o processo espontâneo de transporte de massa num sistema físico-químico, por efeito de gradiente de concentração. De uma maneira geral estamos no dia a dia participando de uma enormidade de fenômenos físico-químicos sem nos darmos conta disto, assim também ocorre com a difusão. Difusão significa movimento. Difundir é se movimentar por entre alguma coisa. Quando um pingo de tinta cai em um copo com água límpida, o líquido muda de cor gradativamente. Até que depois de um certo tempo o líquido no interior do copo estará colorido. Neste caso, a espécie química que promove a cor se dilui e fica distribuída igualmente por todo o líquido. A difusão pode ser encontrada ainda em outros locais e de maneira espantosamente interessante. Neste momento certamente está ocorrendo algum tipo de processo onde a difusão está presente dentro do seu organismo. Isso porque a difusão governa a maioria dos mecanismos reguladores da vida. O transporte entre células e o meio exterior ocorre através de difusão pela dupla camada lipídica da membrana celular. As reações químicas que ocorrem em sistemas biológicos, em geral, passam por etapas onde a ativação ou desativação de certa proteína ou enzima depende de uma reação em um grupo funcional característico. Esta reação ocorre normalmente em um sítio bem localizado na estrutura destas macromoléculas. Portanto, esta reação depende de duas moléculas se encontrarem. As transformações envolvidas na bioenergética humana são uma sucessão de eventos envolvendo reconhecimento molecular de uma quantidade apreciável de moléculas que difundem, de uma maneira ou de outra, até que esteja em posição adequada para que a reação aconteça. As proteínas possuem sítios alostéricos que são conhecidos por serem determinados grupos funcionais característicos de cada proteína específica. Assim ocorre com a duplicação do DNA, por exemplo.

Portanto o reconhecimento molecular, que inicialmente depende do deslocamento, difusão, das moléculas envolvidas no organismo, pode ser melhor entendido levando-se em consideração que moléculas são entidades geométricas. Reações de incorporação e complexação com moléculas hospedeiras, como a ciclodextrina, são reações conhecidas como reconhecimento molecular.¹

As leis que governam o movimento de moléculas em fase líquida são mais complicadas do que em fase gasosa devido às forças intermoleculares, que são mais intensas em líquidos do que em gases. Apenas nos casos de soluções diluídas o suficiente para que uma molécula não sofra influência de nenhuma outra que não seja o solvente, o movimento de moléculas pode ser estudado pelas leis desenvolvidas para os gases.

Em livros especializados em difusão como, por exemplo, o "Fundamentals of Diffusion" ² podemos encontrar descrições detalhadas de como o movimento de migração de moléculas em um espaço tridimensional depende do gradiente de concentração. Neste livro podemos encontrar um completo estudo sobre hidrodinâmica molecular, difusão, e a influência de características físico-químicas do sistema nestes fenômenos.

Os primeiros trabalhos estudando movimento de partículas foram feitos pelo botânico Robert Brown, em 1928. Enquanto investigava o pólen de diversas plantas diferentes, Brown observou que aquele pólen disperso em água em um grande número de partículas, persistia em um movimento "fervilhante", irregular e ininterrupto. ³ Robert Brown observou o que hoje chamamos de movimento Browniano.

Em um líquido puro o movimento de moléculas é aleatório em consequência de sua energia térmica. Este o movimento, chamado Browniano, foi descrito por Einstein para um sistema unidimensional, através da relação.

$$\langle z^2 \rangle = 2Dt \quad [1]$$

Onde $\langle z^2 \rangle$ representa o deslocamento quadrático médio da partícula/molécula, D , o coeficiente de difusão desta molécula, e t , o intervalo de tempo associado. Este coeficiente é chamado de coeficiente de autodifusão, ou intradifusão.

A lei de Fick descreve o coeficiente de difusão como uma função do fluxo de escoamento e dirigido a um gradiente de concentração, quando o gradiente de concentração não é igual a zero este processo chama-se interdifusão. Ela pode ser escrita na forma:

$$J_{j,z} = -D_j \frac{\delta C_j}{\delta z} \times i \quad [2]$$

onde $J_{j,z}$ é o fluxo de massa do componente j , na direção z . C_j é a concentração e o D_j é chamado de coeficiente de interdifusão, ou de difusão mútua e i ou $\hat{i}$ é o vetor unitário. O coeficiente de difusão é proporcional à capacidade de movimentação de uma partícula: quanto maior o coeficiente de difusão mais rapidamente ocorre o movimento entre dois pontos. De maneira geral, moléculas diferentes sobre um mesmo gradiente de concentração se movimentam mais quanto menores forem, e quanto menor for a sua afinidade com outras moléculas presentes na solução.

O coeficiente de difusão e o tamanho de moléculas podem ser relacionados através da equação de Stokes-Einstein³⁻⁵ (SE). A partir de estudos com a entropia dos sistemas em condições diferentes, Einstein demonstrou que a temperatura influencia o movimento de partículas. Um aumento de temperatura implica em um aumento da energia total do sistema e parte desta energia é transformada em energia cinética. Portanto, um aumento na temperatura reflete em uma aumento de energia cinética, o que faz com que a partícula se movimente mais rapidamente. Assim, quanto maior a temperatura maior o coeficiente de difusão. A relação descrita por Einstein foi:

$$D = \frac{k \cdot T}{f} \quad [3]$$

onde D é o coeficiente de difusão, k é a constante de Boltzmann e T a temperatura ($^{\circ}$ Kelvin).

O termo f , chamada fator de fricção, foi determinado por Stokes no seu tratamento para partículas grandes e esféricas.

$$f = \alpha \cdot \pi \cdot \eta \cdot r_h \quad [4]$$

onde α é uma constante de proporcionalidade que é função da espécie que está difundindo, podendo ser escrita como: ²

$$\alpha = \left(\frac{6 \frac{1 + 2 \cdot \eta}{\beta \cdot r}}{1 + 3 \frac{\eta}{\beta \cdot r}} \right) \quad [5]$$

onde β é o coeficiente de relaxação. Quando β é igual a zero a molécula está totalmente livre (não está sendo impedida, ou perturbada durante o movimento) e quando $\beta = \infty$ a partícula está em situação de resistência máxima frente ao meio, estes resultados levam a valores de α limitados entre 4 e 6, respectivamente. Os termos η e r_h , viscosidade e raio hidrodinâmico, são características estruturais, relativas a geometria molecular.

A equação de SE foi desenvolvida para situações em que a partícula é muito maior do que o solvente. Esta equação leva em consideração que a geometria da molécula possui um certo raio hidrodinâmico, neste caso sua aplicação é limitada por que ela foi desenvolvida para partículas, com tamanhos maiores que moléculas. O raio hidrodinâmico é definido como o raio de uma esfera que contém uma partícula em movimento, em fase líquida. Evans e Tominaga ³ demonstraram que a relação de SE pode ser aplicada a moléculas apenas em condições especiais. Estes autores mediram experimentalmente o coeficiente de difusão de vários solutos de geometria esférica em vários solventes, apolares e polares. E observaram que, quando os tamanhos do soluto e do solvente são semelhantes, a equação de SE falha, mesmo considerando os limites teóricos da constante $\alpha = 4$ e 6.

Quando o tamanho do soluto é bem maior que o do solvente, de maneira que o solvente possa ser considerado como um contínuo, a equação de SE é válida. Esta equação tem sido utilizada para determinação de tamanho de micelas e macromoléculas em solventes pequenos, como a água, por exemplo. Assim, combinando as equações 4 e 5, teremos a equação de Stokes-Einsten:

$$D = \frac{k \cdot T}{\alpha \cdot \eta \cdot \pi \cdot r_h} \quad [6]$$

A Tabela 1 mostra várias propostas de equações para determinação do raio hidrodinâmico. Todas as equações demonstram a proporcionalidade entre o coeficiente de difusão e o tamanho da partícula que difunde.

Tabela 1: Equações propostas para relacionar coeficiente de difusão e raio hidrodinâmico ².

Autores	Origem	equação básica
Sutherland (1905)	Paralela a SE mas com mínimo atrito para esfera	$D = \frac{k \cdot T}{4 \cdot \pi \cdot r_h}$
Glasstone (1941)	Empírica	$D = \frac{k \cdot T}{2 \cdot \eta \cdot r_h}$
Scheibel (1954)	Empírica	$D = \left(\frac{A \cdot T}{\eta \cdot V_2} \right) \cdot \left(1 + \left(\frac{3 \cdot V_1}{V_2} \right)^{2/3} \right)$
Wilke & Chang (1955)	Empírica	$D = 7.4 \cdot 10^{-8} \frac{(\Phi \cdot M_1)^{1/2}}{\eta_2 \cdot V_2^{0.6}} \cdot T$
King et al. (1965)	Empírica	$D = 4.4 \cdot 10^{-8} \cdot \frac{T}{\eta} \cdot \left(\frac{V_1}{V_2} \right)^{1/6} \cdot \frac{\Delta H_{vap,1}}{\Delta H_{vap,2}}$

Os números subscrito 1 e 2 indicam o solvente e o soluto, respectivamente.

Portanto, a equação de SE não pode ser aplicada para todo sistema indistintamente. Os trabalhos que tentaram melhorar a equação de SE tiveram de uma maneira geral uma preocupação em comum, reorganizar o desvio encontrado para várias moléculas e associações soluto-solvente e solvente-solvente. A teoria hidrodinâmica mais avançada neste sentido é um refinamento da equação original de SE: a teoria da microflicção, introduzida por Gieger e Wirtz ⁴. Esta considera que um soluto migrando por entre os espaços vazios, ou livres, deixados pelo solvente sofre uma microflicção, ou ainda, um microatrito proveniente da interação entre o soluto e o solvente. Este atrito depende basicamente da relação entre os tamanhos, raio molecular, do soluto e do solvente. Assim a equação 6 tem o acréscimo do termo f_T , que é a função denominada fator de microflicção. Assim:

$$D = \frac{k \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta f_T \cdot r_h} \quad [7]$$

onde f_T é dado por:

$$f_T = \frac{1}{\left(\left(1.5 \cdot \frac{r_1}{r_2} \right) + \left(\frac{1}{1 + \left(\frac{r_1}{r_2} \right)} \right) \right)} \quad [8]$$

r_1 e r_2 são, respectivamente, os raios moleculares do solvente e do soluto.

A equação 8 demonstra que quanto maior o soluto e menor o solvente, o fator de microflicção vai se aproximando de 1. Assim a equação de SE é válida na sua forma original. A Figura 1 mostra os resultados simulados para f_T em função da razão r_2 / r_1 . Para valores desta razão acima de 5 a diferença entre a equação 6 e 7, usando o fator de microflicção é menor do que 10 %.

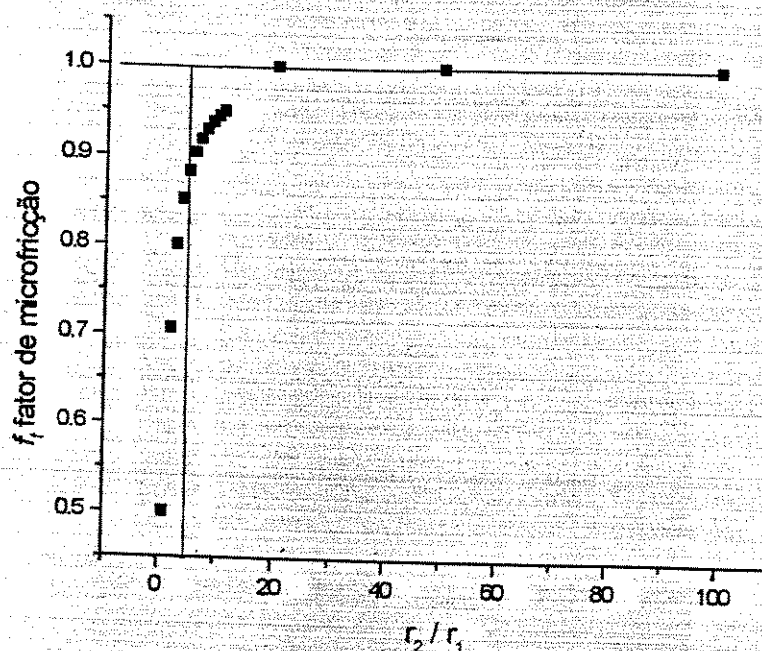


Figura 1: Simulação dos dados para microfritção.

Assim, uma regra empírica é a que pode-se utilizar a equação 6 quando o soluto é cinco vezes maior do que o solvente ², justificando o seu uso no estudo de difusão de macromoléculas.

No nosso caso todas as associações entre moléculas foram feitas acima deste fator. Todas as macromoléculas utilizadas são no mínimo 5 vezes maior que o solvente (água). A equação 6, com o $\alpha = 6$, foi usada em todos os cálculos contidos neste trabalho.

1.1.2. DESCRIÇÃO DE ALGUNS ESTUDOS USANDO O COEFICIENTE DE DIFUSÃO:

Estudos usando o coeficiente de difusão têm sido de grande contribuição para a investigação de interações entre moléculas em fase líquida. Alguns trabalhos que usam medidas de coeficientes de difusão aplicadas a diversas situações são apresentados a seguir.

Leaist *et alli*⁵ descreveram um experimento realizado para medir o coeficiente de difusão. Neste experimento uma amostra de água + soluto + HDO é injetada em um fluxo de água + soluto. O detetor consegue medir a diferença entre a água (H_2O) e o HDO. Ajuste duplo no resultado obtido possibilita a determinação simultânea do coeficiente de difusão da água e do soluto. A água deuterada, neste caso, está sendo usada como sonda. Neste mesmo trabalho foram usadas soluções aquosas de sacarose e uréia e também foi pesquisada a variação do coeficiente de difusão de polietileno glicol (PEG) em relação ao número de unidades $-OCH_2CH_2-$ nos polímeros PEG 600, 3400 e 8000 $g.mol^{-1}$. Os resultados obtidos para a difusão em água de uma solução aquosa de polietileno glicol contendo HDO como traçador são apresentados na tabela 2. Foi também estudada a variação do coeficiente de difusão em diferentes concentrações de PEG, para pesquisar a possibilidade de estar a solução em diluição infinita. Este termo é utilizado para descrever as faixas de concentração onde uma molécula de soluto não sofre qualquer efeito de moléculas iguais a ela (soluto). Na maioria dos casos a diferença entre os coeficientes de difusão a diferentes concentrações está na ordem de grandeza do erro experimental.

Foi também verificada a variação do coeficiente de difusão em função da viscosidade das soluções. Através da equação de SE a viscosidade é definida como inversamente proporcional ao coeficiente de difusão, porém através dos dados da Tabela 2 é possível observar que a variação do coeficiente de difusão em relação a η / η^0 é menor do que o previsto por SE. Neste estudo, η^0 é a viscosidade do solvente (água) e η é a viscosidade das soluções de polímero.

Tabela 2: Coeficiente de difusão da água, HDO e PEG (em solução aquosa de PEG) ⁵.

$C_1 / \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$	$M_1 / \text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$	$D / 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$D_{\text{HDO}} / 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	η / η^0
0,00	600	$3,58 \pm 0.008$	$22,6 \pm 0.01$	1,00
1,00	600	$3,44 \pm 0.007$	$20,9 \pm 0.01$	1,11
2,00	600	$3,36 \pm 0.006$	$18,2 \pm 0.01$	1,23
0,00	3400	$1,79 \pm 0.012$	$22,6 \pm 0.01$	1,00
1,00	3400	$1,67 \pm 0.008$	$20,8 \pm 0.01$	1,56
2,00	3400	$1,71 \pm 0.008$	$18,2 \pm 0.01$	2,39
0,00	8000	$1,38 \pm 0.012$	$22,6 \pm 0.01$	1,00
1,00	8000	$1,41 \pm 0.011$	$20,7 \pm 0.02$	2,48
2,00	8000	$1,21 \pm 0.008$	$18,0 \pm 0.02$	6,59

C_1 : concentração de PEG expressa em função do monômero

Chan e Chan ^{6,7} publicaram alguns trabalhos enfocando principalmente interação soluto- solvente. Em um dos artigos mais recentes eles usaram solutos pseudo planares, todos com grupos capazes de formar ponte de hidrogênio, e, a partir da comparação da medida do coeficiente de difusão destas espécies em água e vários solventes diferentes, foi possível comparar os efeitos dos solventes nas interações tipo ponte de hidrogênio. Este estudo traz como conclusão principal que o coeficiente de difusão é sensível a interações como ponte de hidrogênio e também mostra que para estes compostos o grupo -OH forma ponte de hidrogênio mais efetiva do que o grupo -NH₂. Além disso pôde ser observado que para um dado soluto, os efeitos da ponte de hidrogênio são maiores em solventes polares do que em apolares.

O grupo de trabalho de Tominaga ^{4,9,10} possui diversos trabalhos importantes usando a medida do coeficiente de difusão. Estudos sobre incorporação em micelas foram dos trabalhos mais significativos deste grupo. Tominaga e Nishinaka ¹⁰ demonstraram a dependência do coeficiente de difusão com a concentração de monômero formador de micela de C_nTAB, n = 10, 12, 14 e 16. Neste trabalho foi observado que as micelas formadas pelos monômeros maiores sofrem uma variação maior no coeficiente de difusão se comparada às de monômeros menores.

A quantidade necessária de surfatante para que o efeito seja observado diminui com o aumento do monômero formador. Assim, foi possível observar que monômeros maiores levam a formação de micelas maiores em concentrações menores de surfatante.

Yonezawa *et alli*⁹ apresentaram um trabalho onde a técnica de Taylor é usada para estudar o tamanho de nanopartículas de platina protegidas por C_n TAB. Usando dados de microscopia eletrônica para o complexo e de difusão para o sistema complexo e micela. Os resultados apresentados comprovam uma proteção efetiva do "cluster" pelo surfactante, as medidas de coeficiente de difusão determinaram raios hidrodinâmicos na ordem de nanômetros (10-20 nm). As diferenças entre o tamanho obtido para o complexo e do conjunto micela-complexo foram determinadas através de técnicas diferentes, microscopia para o complexo e coeficiente de difusão a micela. Assim, quanto maior a espécie, menor o coeficiente de difusão. No caso, mais efetiva a proteção exercida pelo surfactante.

O grupo da universidade de Tel Aviv, Israel, chefiado por Yoram Cohen¹⁰⁻¹⁴ está trabalhando há bastante tempo com medidas de coeficiente de difusão. Uma análise dos trabalhos mais recentes deste grupo mostra a aplicação desta técnica a sistemas cada vez menores. Mayzel *et alli*¹⁰ estudaram a interação do éter de coroa 18-C-6 com iodeto de potássio, demonstrando o efeito da formação do complexo na estrutura da água de hidratação em volta deste complexo.

Mais recentemente este estudo foi aplicado a complexos de inclusão utilizando ciclodextrinas. Gafni e Cohen¹¹ utilizaram a γ -ciclodextrina com sistemas macromoleculares baseados em estrutura coroa 12C4, 12N4 e 12S4, em presença e ausência de acetatos de Lítio e Potássio, Cloreto de Lítio e $(Me)_4 NCl$. Neste mesmo trabalho foram medidos o coeficiente de difusão de todas as espécies envolvidas, e foram estudados o efeito do solvente e pH nas constantes de associação do complexo γ -CD:12C4. Os resultados obtidos demonstraram que as interações dos ésteres de coroa com a γ -CD seguem a ordem: 12C4 > 12N4 > 12S4.

Beezer^{15,16} da universidade de Kent, Inglaterra, vem usando há vários anos a medida do coeficiente de difusão aplicada a sistemas biomiméticos como micelas e lipossomos para o estudo de incorporação de uma série de compostos. Loh *et al*¹⁵ utilizando a variação do coeficiente de difusão em concentrações cada vez maiores de copolímero, acima da c.m.c. (concentração micelar crítica), determinaram coeficientes de partição de uma série de solutos entre o sistema aquoso e o interior da micela.

A partir da variação do coeficiente de difusão uma relação pode ser escrita para partição entre solução aquosa e sistema macromolecular: o coeficiente de difusão em uma amostra é uma média ponderada entre o coeficiente de difusão da parte do soluto que está difundindo com a macromolécula, e do soluto que está fora. Quando aumenta a fração incorporada, o coeficiente de difusão diminui, até que todo o soluto esteja incorporado. Quando o coeficiente de difusão não muda mais com adições de macromoléculas podemos dizer que o coeficiente de difusão observado é o do complexo, assim:

$$D_{obs} = f.D_{macro} + (1 - f).D_{água} \quad [9]$$

onde D_{obs} é o coeficiente de difusão observado, $D_{complexo}$ é o coeficiente de difusão do complexo em solução aquosa, $D_{água}$ é o coeficiente de difusão para o soluto em água, e f é a fração incorporada, definida como a razão entre o número de moles do soluto no complexo e o número total de moles do soluto. Assim a fração de soluto transferida para a fase micelar pode ser escrito como:

$$f = \left(\frac{D_{obs} - D_{água}}{D_{complexo} - D_{água}} \right) \quad [10]$$

Estudos com micelas de C_n TAB utilizando o coeficiente de difusão pode ser encontrada também na tese de Cláudio Tonegutti¹⁷, onde um estudo sistemático sobre a incorporação em micelas pode ser encontrado.

1.2. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE COEFICIENTES DE DIFUSÃO:

Várias técnicas têm sido utilizadas para medidas de coeficiente de difusão entre elas, podemos citar interferometria , RMN de spin-eco ou eco de spin e espalhamento de luz dinâmico. O livro "Diffusion in Liquids" ¹⁸ , H. J. V. Tyrrell e K. R. Harris , oferece uma descrição detalhada destas técnicas. Nos limitamos a descrever o princípio de duas das técnicas mais utilizadas atualmente para comparação com a técnica de Taylor.

A interferometria é baseada na variação dos padrões de interferência devido a diferentes índices de refração causados pelo gradiente de concentração índice de refração obtido quando um laser atravessa duas amostras. As posições relativas dos feixes provenientes do laser são deslocadas em relação à posição original. A interferência entre estes dois feixes provoca o aparecimento de padrões, também chamados de franjas de Gouy. A análise da variação temporal destes padrões permite calcular o coeficiente de difusão. O grupo da universidade de Napoli, Italia, formado por Paduano, Sartorio e Vitagliano¹⁹⁻²¹ usa técnica de interferometria para a medida do coeficiente de difusão. Este grupo têm produzido trabalhos de grande importância inclusive com o estudo sistemático de compostos de inclusão (discutiremos com mais detalhes estes trabalhos na sessão 4.1.2).

Trabalhos significativos têm sido reportados na literatura usando o RMN de spin-eco para determinação dos coeficientes de difusão de solutos e sistemas macromoleculares, principalmente. Estes estudos tiveram início com os trabalhos de Peter Stilbs²² onde o antigo método de gradiente estático (spin a 90° ou 180°) foi modificado para medir-se a relaxação em vários pontos, assim, com um campo magnético homogêneo, o efeito da dispersão e reordenação dos spins são obtidos a partir de dois pulsos consecutivos. O eco atenuado pela difusão pode ser separado da relaxação transversal devido a um intervalo homogêneo entre os pulsos. Esta técnica possui uma vantagem significativa pois não usa gradiente de concentração para determinar o coeficiente de difusão. Esta técnica é das mais complexas e caras que são usadas para a medida de coeficiente de difusão.

Altieri *et al*^{23,24} demonstraram aplicação desta técnica para o entendimento de associações formadas entre sistemas biológicos como o reconhecimento molecular existente entre proteínas. A ativação de proteínas via ligação chave-fechadura como receptores de citosinas e domínios SH2 e SH3, dependem do grau de agregação destas moléculas e isto pode ser obtido através do D_s .

1.3. TÉCNICA DE TAYLOR-ARIS:

Esta técnica originou-se dos estudos de Taylor²⁵ em 1953 sobre dispersão de solutos em um solvente em fluxo laminar e baixo no interior de um tubo longo e fino, tendo sido complementada por Aris²⁶. Neste artigo o alargamento da banda de dispersão de uma solução aquosa de dicromato difundindo em água foi estudada pelas teorias hidrodinâmicas. Diferentes tempos foram usados e o deslocamento alcançado por um pulso de amostra foi anotado e depois comparado com o anterior, em um experimento que pela primeira vez demonstrou a formação a distribuição gaussiana para o gradiente de tonalidade da cor devido à diferença de concentração de íon dicromato em cada caso. Além disso foi a primeira vez que foi demonstrado que a concentração afeta a difusão, quanto mais diluída a amostra maior a distância alcançada.

A técnica de Taylor-Aris para medidas de coeficientes de difusão só existe como descrita hoje em dia devido ao trabalho de Alizadeth, Wakehan e Nieto de Castro²⁷, onde eles traçaram as bases teóricas e fundamentaram a técnica com equações hidrodinâmicas. De acordo com esta técnica, uma pequena quantidade de solução é injetada em um fluido em fluxo laminar em um tubo estreito e longo. O soluto então sofre uma combinação de processos de dispersão, devido ao gradiente de concentração e ao perfil parabólico de velocidades no interior do tubo.

Após um determinado intervalo de tempo, esta dispersão produz um perfil de concentração em função do tempo que pode ser descrito por uma equação quase-gaussiana²⁸ do tipo:

$$C(t) \propto \left(\frac{t_r}{t} \right)^{1/2} \exp \frac{-12D[t - t_r]^2}{r_i^2 - t^2} \quad [11]$$

onde $C(t)$ é a concentração em um ponto ao longo do tempo, D é o coeficiente de difusão, t_r é o tempo de retenção, e r_i é o raio interno do tubo de dispersão. Embora a equação 11 descreva a dispersão do soluto vários autores utilizam a equação gaussiana sem restrições.

Porém, para alguns casos, já foi demonstrado que outras equações podem ser usadas com ajustes de ordem superiores. Torkelson e Wisnudel²⁸ apresentaram um tratamento específico para difusão de polímeros de alto peso molecular. Neste caso a dispersão é apreciável e a distribuição gaussiana deve ser escrita levando-se em consideração o coeficiente de dispersão, k . Esta contribuição é devida à componente centrípeta que pode atuar em colunas enroladas, como será discutido em maiores detalhes na parte experimental.

Os dados relevantes para o cálculo do coeficiente de difusão são: tempo de retenção e a variância da gaussiana (σ), obtidos a partir da variação de concentração ao longo do tempo. Assim a constante D pode ser determinada como:

$$D = \frac{t_r r_i^2}{24 \sigma^2} \quad [12]$$

O soluto a ser estudado é injetado e, em um primeiro instante forma um pulso delta, que devido à difusão pela coluna forma um perfil parabólico de velocidades. Ao final desta coluna o gradiente de concentração gerado é lido pelo detector como a variação da concentração com o tempo e o gráfico formado tem o perfil de uma gaussiana. Ou, esquematicamente:

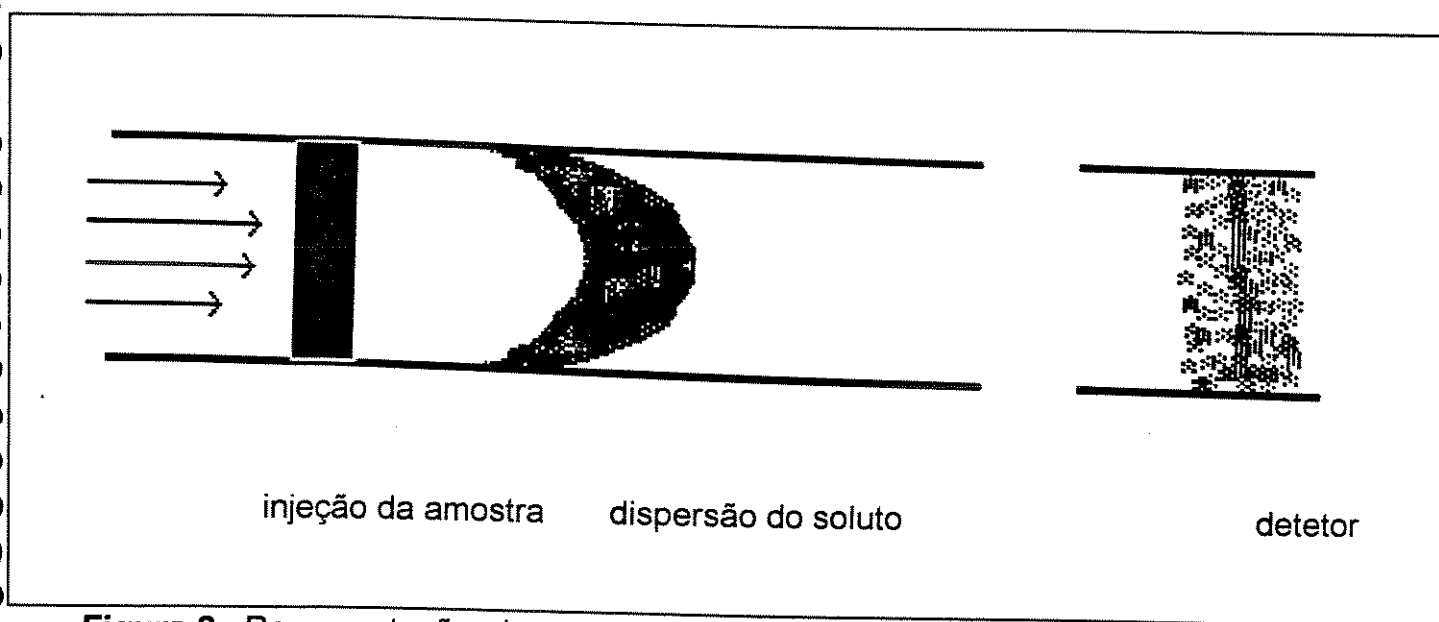


Figura 2 : Representação dos eventos que ocorrem num equipamento de Taylor-Aris.

A técnica de Taylor-Aris têm sido das técnicas mais usadas para a determinação de coeficientes de difusão, com base em levantamento bibliográfico a partir de 1990. A maior diferença destas técnicas apresentadas anteriormente e a técnica de Taylor é o custo operacional, um sistema tipo Taylor-Aris é significativamente mais barato do que os outros métodos.

2. OBJETIVO :

Esta dissertação de mestrado visa à montagem de um equipamento para medidas de coeficientes de difusão em fase líquida usando a técnica de Taylor-Aris. O objetivo é verificar o potencial deste equipamento para o estudo de interação de solutos com sistemas macromoleculares.

Para tal foi escolhida uma série homóloga, os parabens, onde efeitos estruturais e químicos pudessem ser estudados como variação do número de carbonos da série. Esta série foi estudada em soluções de macromoléculas. O uso dos p-hidroxibenzoatos de alquila (série homóloga, de metila à butila) tem um interesse pelo fato de serem fungicidas e bactericidas largamente utilizados na indústria cosmética, farmacêutica e alimentícia. O uso destes na forma de complexos de inclusão com ciclodextrinas para liberação controlada pode acarretar o desenvolvimento de produtos onde este efeito possa ser utilizado. Os polímeros escolhidos, são de uso frequente em formulações farmacêuticas como aditivos para os mais diversos fins, por exemplo como veículos ou excipientes.

3. EXPERIMENTAL:

3.1. REAGENTES:

Solventes: O único solvente utilizado foi água. Esta água foi tratada e deionizada em equipamento equipado com filtro Milipore, de qualidade Mili-Q Plus. Todas as soluções foram filtradas com um filtro (Varian) utilizado em experimentos de HPLC, com porosidade de $0,23\ \mu\text{m}$.

Solutos: Foi utilizada a série homóloga dos parabens, p-hidroxibenzoatos de alquila, desde metil até pentilparaben. Os parabens foram analisados em equipamento de HPLC Varian 9050 (coluna C-18, $100 \times 0,46\ \text{cm}$) com solução carregadora 1:1 ácido acético 1,5%/acetonitrila, fluxo de $0,6\ \text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Nesta técnica é possível identificar quantos componentes existem em uma amostra e, através dos dados referentes a cada um dos compostos, podemos identificar quanto cada composto contribui na amostra (pela integração do pico). Os resultados obtidos demonstraram que as amostras de metilparaben (Aldrich), etilparaben (Kochlight), propilparaben (BDH) e butilparaben (Apin) possuem um composto com mais de 98% de pureza. Nas amostras de o pentilparaben (Apin) foi encontrado um outro pico referente a 33% da amostra. A análise dos tempos de retenção em função do número de carbonos sugere que este pico seja devido a um isômero de cadeia do pentilparaben, conforme mostra a Figura 3.

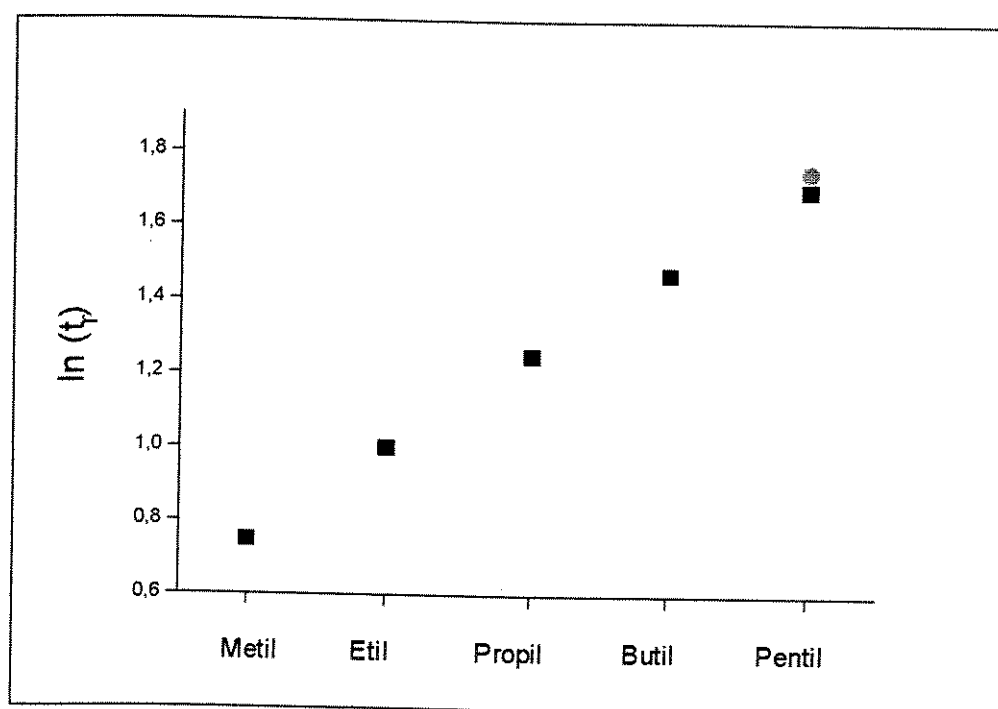


Figura 3: Linearidade demonstrada pelas amostras da série dos parabens.

A Figura 3 mostra o gráfico do $\ln$ do tempo de retenção pelo número de carbonos para a série, neste gráfico é possível observar que a impureza encontrada na amostra de pentilparaben é referente à um isômero deste.

Macromoléculas: Foram utilizados dois tipos de macromoléculas: β -ciclodextrina e os polímeros PEG 8000 e 20000 (Aldrich) e Pluronic F108 (ICI). Os polímeros utilizados não passaram por nenhum pré-tratamento. A Tabela 3 mostra algumas propriedades, fabricante e número de unidades formadoras de cada polímero utilizado.

Tabela 3: Composição e características dos polímeros utilizados.

Polímero	Fórmula	Fabricante	Estrutura	Massa g.mol ⁻¹	EO	PO
PEG 8000	HO-(CH ₂ -CH ₂ -O) _n -OH	Aldrich		8000	284	0
PEG 20000	HO-(CH ₂ -CH ₂ -O) _n -OH	Aldrich		20000	713	0
F 108/Pluronic	HO-EO _n -(PO) _m -EO _n -OH	ICI		14000	228	184

O controle de qualidade do fornecedor da β -ciclodextrina informou que a quantidade de água no produto puro é de aproximadamente 15%. Este mesmo resultado foi obtido por tratamento de uma amostra de β -ciclodextrina com agente secante⁵¹, neste experimento foi possível determinar o número de moléculas de água por molécula de ciclodextrina. Os experimentos sugerem que cerca de 6 moléculas de água podem se alojar no interior da cavidade da ciclodextrina, correspondendo a 15% de conteúdo de água. Assim, a massa molar utilizada nesta tese para o cálculo foi a da espécie β -CD•6H₂O, M = 1243 g.mol⁻¹.

3.2. MONTAGEM DO EQUIPAMENTO:

O equipamento utilizado nesta tese é composto por uma bomba peristáltica, um injetor, uma coluna de aço, um detector e um microcomputador. A **bomba** peristáltica é responsável pelo fluxo de carregador pelo sistema. A velocidade de fluxo utilizada é muito importante porque o fluxo determina a maioria das condições necessárias para a utilização da técnica, impostas pela condição de fluxo laminar. Uma parte em separado na sessão testes do equipamento foi destinada para discutir este item.

É importante que a concentração do solvente na amostra e no eluente sejam iguais para que não ocorra efeitos de dispersão na fronteira do pulso resultante do gradiente de concentração entre a amostra e o eluente, que não relativo ao soluto.

A amostra é injetada no eluente utilizando um injetor de HPLC Rheodyne com volume de amostra de 20µl. Após a injeção a amostra entra em um tubo de aço inoxidável, a coluna, onde ocorre a dispersão. Em geral a coluna mede entre 7 e 30 m de comprimento e tem de 1-0,5 mm de raio interno. Normalmente as colunas são enroladas com um diâmetro de enrolamento em torno de 30-50 cm. Há casos, como descrito por Wisnudel e Torkelson²⁹ em que é necessária uma modificação na geometria do sistema para minimizar os efeitos da curvatura do tubo sobre o fluxo. Neste trabalho a coluna foi enrolada com 30 cm de diâmetro.

Esta coluna é termostatizada por uma jaqueta montada em volta como uma camisa, o conjunto depois de montado assemelha-se a um **bambolê**. Conforme mostra em maiores detalhes a figura 4. Esta montagem foi feita toda à mão, colocando o tubo de aço dentro de dois segmentos de mangueiras. Após todo tubo estar dentro do arranjo formado, as mangueiras são conectadas e um sistema composto de fechos e duas partes de tubo de P.V.C. são montados em volta da conexão das mangueiras. Depois de montar este arranjo, a conexão é vedada com fita especial ("Silver-Tape").

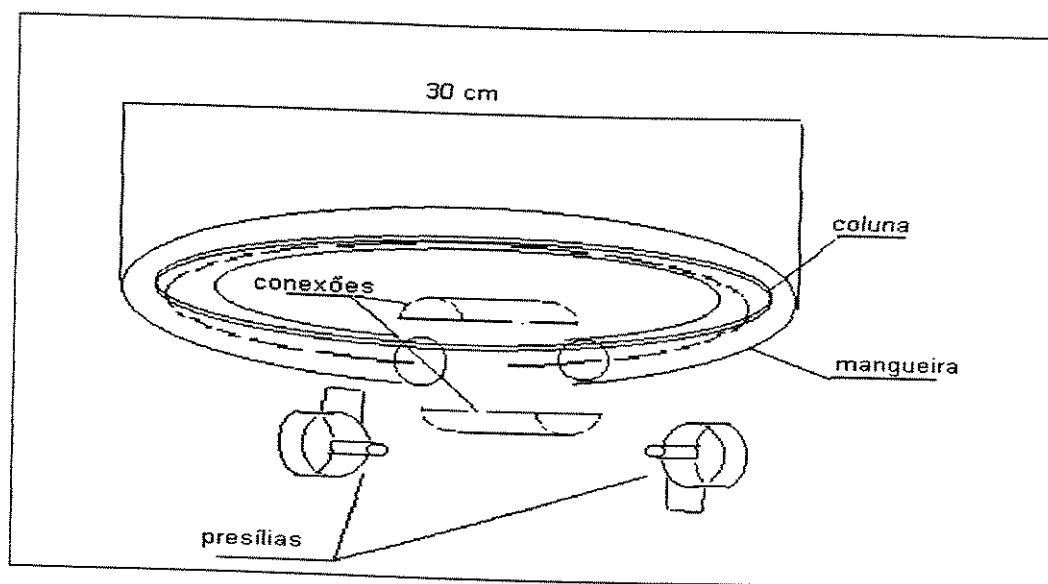


Figura 4: Detalhe da montagem do bambolê.

Posteriormente, a amostra segue para o **detetor**, que nesta montagem é um espectrofotômetro UV/VIS CECIL, CE1020s. Observando a Figura 2 é possível identificar três momentos distintos dentro do equipamento. Primeiro um pulso de amostra é injetado no equipamento, após este pulso entrar na coluna os efeitos de dispersão e difusão molecular fazem com que o pulso se alargue vagarosamente até que um perfil gaussiano é formado e detectado como absorbância ao longo do tempo.

Em todas as etapas o sistema permanece com a temperatura controlada por um sistema paralelo comandado por um **banho** termostático com especificação de $\pm 0,01$ °C, MQBTC 99-20 da Microquímica Ind. & Com. Ltda. A coluna e a cela de fluxo (que são as partes mais sujeitas a variação de temperatura) estão submetidas a um gradiente de temperatura que não excede 0,3 °C. A cela de fluxo está localizada dentro do UV/VIS.

Nas Figuras 5 e 6 são mostradas uma representação esquemática do equipamento e uma foto do equipamento montado no laboratório.

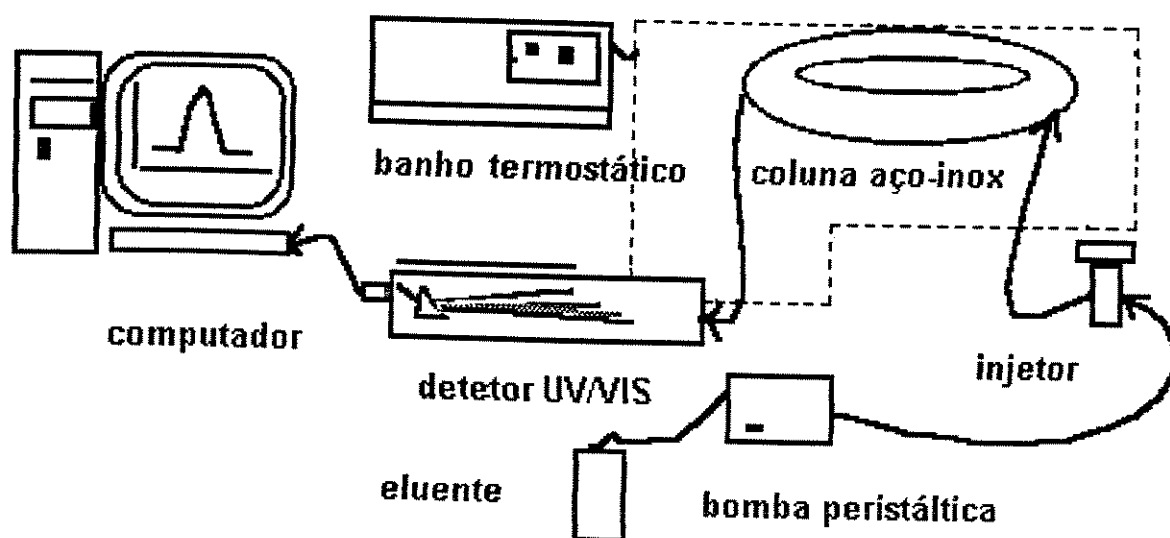


Figura 5: Esquema do equipamento de Taylor-Aris, utilizado nesta tese.

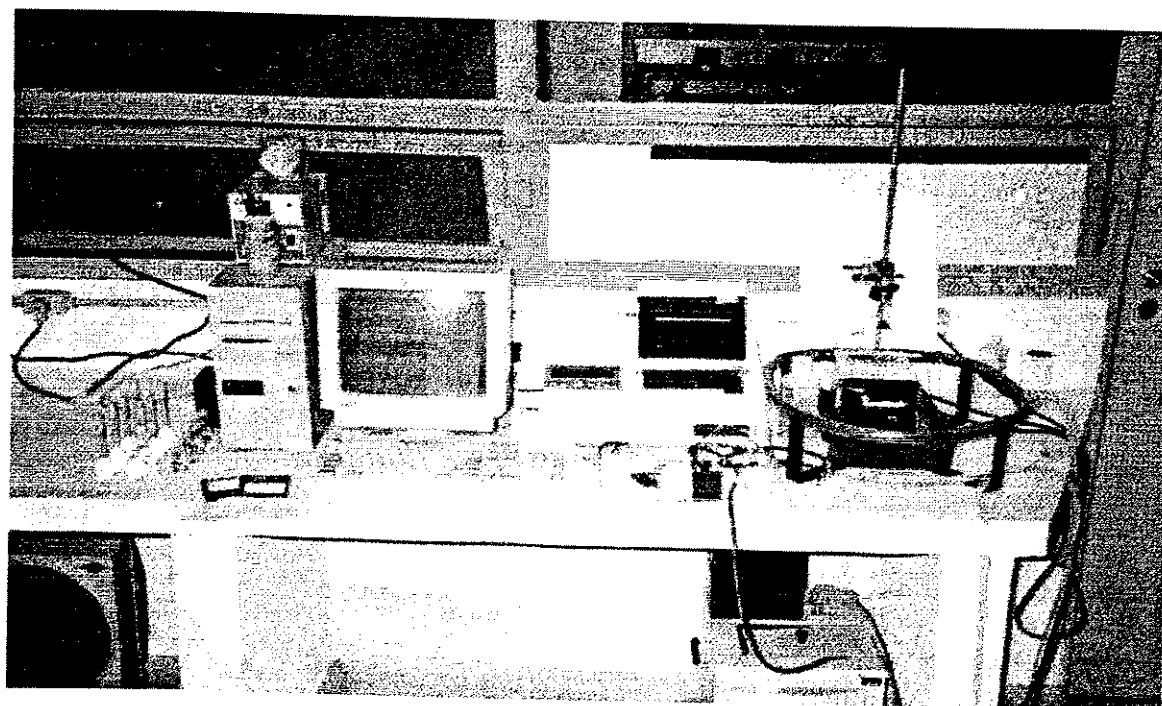


Figura 6: Equipamento montado no laboratório | 114.

Os dados coletados são de absorbância por tempo e estes são transmitidos para um computador 486 com uma saída serial RS232, que se comunica com o espectrofotômetro coletando a medida do aparelho no tempo. Este interfaceamento é moderado por um programa em linguagem Basic feito especialmente para este caso no programa Visual Basic 3.0 da Microsoft. (agradecemos ao Prof. Dr. Jarbas Rohwedder, do Departamento de Química Analítica, a orientação na elaboração do programa de aquisição de dados)

A estrutura do programa é bem simples, consistindo em um MID, ou pano de fundo, que imita a tela de comando do espectrofotômetro, onde as funções estão virtualmente representadas no computador. A comunicação é feita via saída serial RS232, que coleta a medida do espectrofotômetro ao longo do tempo, e o tempo é medido pelo relógio interno do computador. O intervalo de aquisição é variável e o número de pontos coletados depende de tempo de leitura, sendo de, no mínimo, 500 pontos para construção de cada curva.

O procedimento geral para cada medida consiste basicamente em:

- **Lavagem:** O sistema é lavado por bombeamentos sucessivos de água, NaOH 5% e HCl 5% por 5 minutos cada, a uma vazão de 30 mL.h^{-1} . Após isto, lava-se o sistema até pH neutro (usualmente mais 10 minutos de água com o mesmo fluxo).
- **Injeção:** Após fazer-se uma linha base estável por mais de 5 minutos, faz-se a injeção de $20 \mu\text{L}$ da amostra contendo o soluto dissolvido na solução eluente. Para um melhor rendimento nas análises foram utilizadas injeções sucessivas, com um intervalo de tempo de injeção de 1000 segundos e o ganho de tempo final foi de duas injeções para três. Anteriormente esses dados foram comparados com outros de injeção simples, e não se observou diferença alguma.

A Figura 7 mostra um experimento com injeção sequencial:

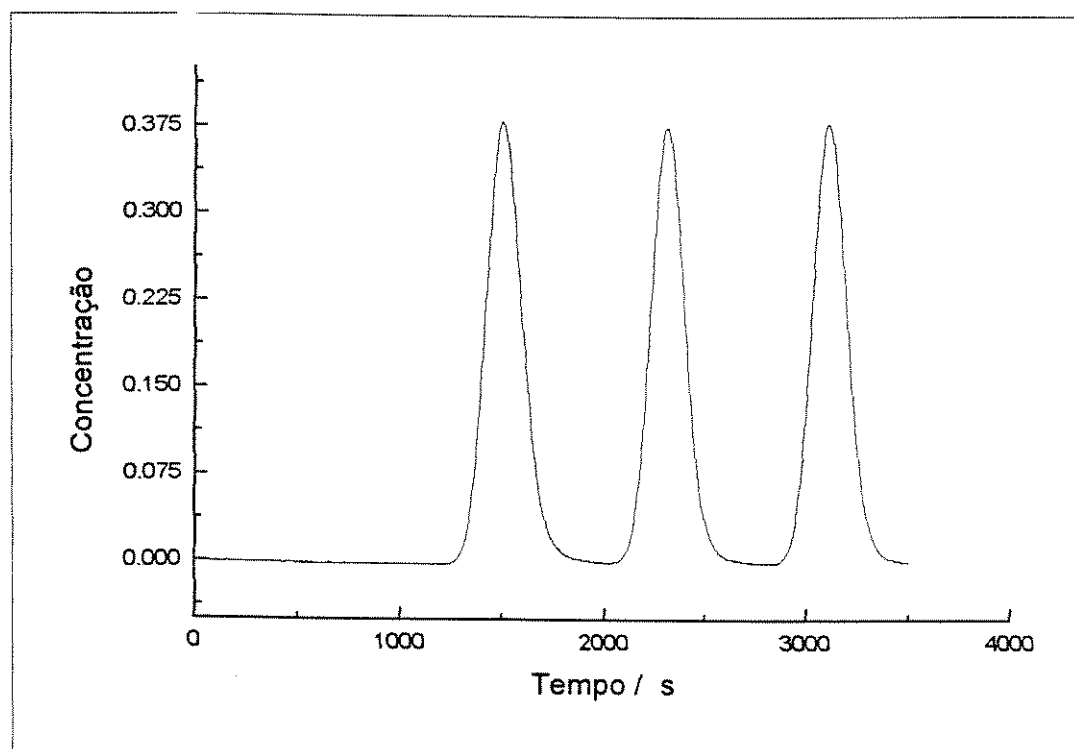


Figura 7: Injeção sequencial, aplicada aos parabens.

- **Detetor:** O comprimento de onda foi previamente selecionado através de análise em espectrofotômetro de UV/visível, para o $\lambda_{\max}$ de cada soluto, para maior sensibilidade do detetor. Por exemplo, os dados da Figura 7 foram coletados a 256 nm e a concentração de metilparaben de $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

3.3. TESTES DO EQUIPAMENTO:

3.3.1. AJUSTE DA CURVA DE DISPERSÃO:

Existem duas maneiras de obtenção do coeficiente de difusão a partir dos perfis de concentração, representados pela equação 11 e 12. Alguns grupos utilizam a equação quase-gaussiana (equação 11)²⁹, enquanto outros assumem o perfil gaussiano (equação 12)^{8,9}. Este último, mais simples, tem sido verificado mesmo em casos mais extremos como a difusão de nanopartículas^{8,9} ou polímeros³⁰.

Para verificar as diferenças entre os dois métodos foram realizadas simulações de perfis de concentração utilizando-se a equação quase-gaussiana. Os valores de $C(t)$ gerados pela equação 11 foram utilizados para determinar o coeficiente de difusão usando a equação gaussiana, e os valores obtidos, comparados com os iniciais. A Figura 8 mostra os perfis de concentração:

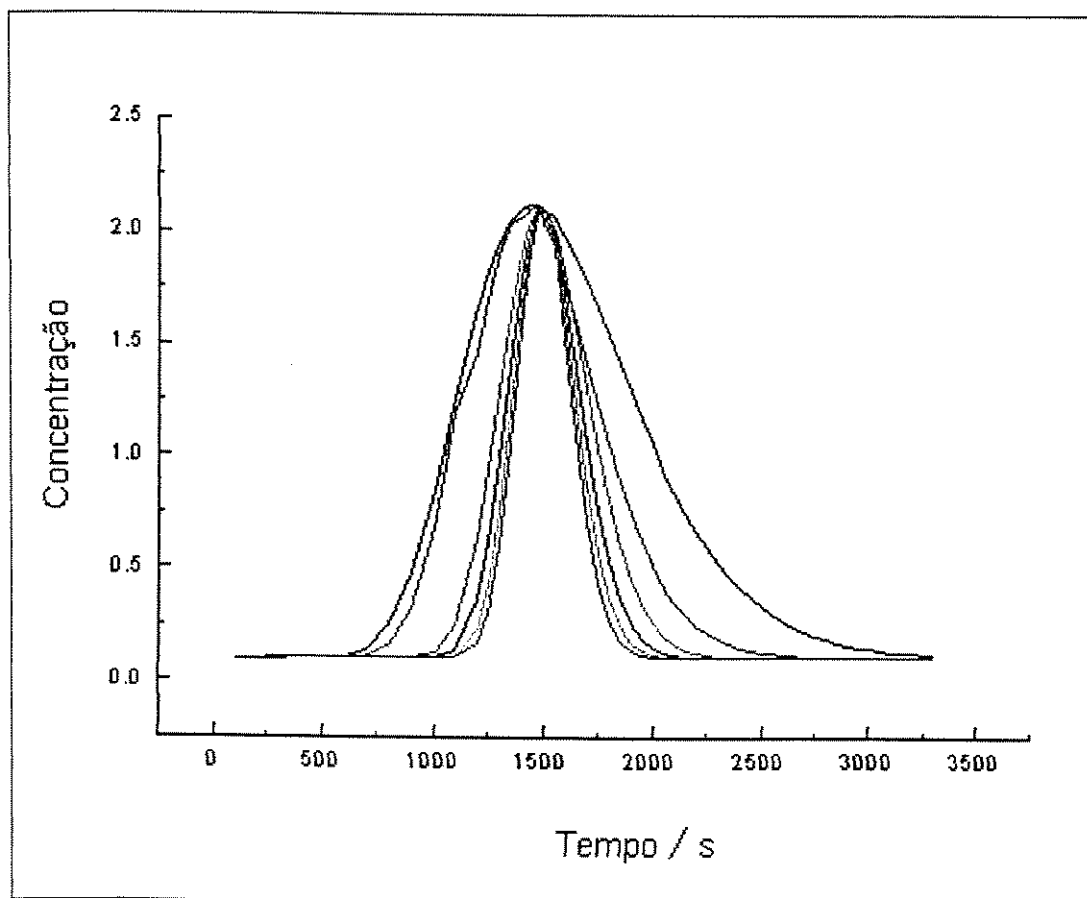


Figura 8: Simulações de perfis de concentração usando a equação 12 para $D = 10(\text{---}), 8(\text{---}), 6(\text{---}), 4(\text{---}), 2(\text{---}), 1(\text{---}) \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

Os resultados obtidos nesta simulação, tabela 4, apresentaram uma variação pequena, observando-se que o erro aumenta com o tamanho da espécie química. Isto se deve principalmente à distorção que aparece na curva para sistemas que difundem mais lentamente. Estas distorções podem ser associadas também a outros fenômenos, como adsorção, que serão discutidos na sessão 4.1, de resultados e discussões.

Tabela 4: Resultados de simulação usando equações.

$D_{teo} / 10^{-10} m^2 \cdot s^{-1}$	tr / s	variança / s	$D_{fit} / 10^{-10} m^2 \cdot s^{-1}$	Erro %
1,00	1515	766,2	1,08	7,6
2,00	1448	585,4	1,76	3,8
4,00	1503	394,0	4,04	1,8
6,00	1502	321,0	6,07	1,3
8,00	1502	277,9	8,10	1,3
10,00	1501	248,8	10,01	1,1

Esta faixa de simulação abrange desde a difusão de benzeno $1,1 \cdot 10^{-9} m^2 \cdot s^{-1}$ até de estruturas organizadas como micelas $1 \cdot 10^{-10} m^2 \cdot s^{-1}$. Em trabalho recente Tominaga e Nishinaka¹⁰ foram medidos os coeficientes de difusão de micelas do tipo C_nTAB , por exemplo, o dado obtido para o $C_{16}TAB$, foi de $5,9 \cdot 10^{-9} m^2 \cdot s^{-1}$.

Os menores coeficientes de difusão relatados na literatura obtidos por esta técnica são os do trabalho de Wisnudel e Torkelson para uma amostra de poliestireno de tamanho $88000 g \cdot mol^{-1}$ em ciclohexano ($3,9 \cdot 10^{-12} m^2 \cdot s^{-1}$) e os maiores são os de difusão de O_2 em água, à $96^{\circ} C$ ($5,1 \cdot 10^{-9} m^2 \cdot s^{-1}$)³¹

3.3.2. ESTUDO DA DEPENDÊNCIA DO COEFICIENTE DE DIFUSÃO COM O FLUXO:

As condições experimentais para a validade dos requisitos teóricos foram analisadas por Alizadeth *et alli* ²⁷ e para a aplicação da equação 11, um sistema de Taylor deve estar em fluxo laminar. A partir desta condição os parâmetros que influenciam o fluxo podem assumir valores máximos e mínimos, dependendo do caso. Principalmente deve-se ter:

$$\frac{u_0 r_i}{D} > 700 \quad [14]$$

onde u_0 é a velocidade linear média do fluido. O menor número para esta razão obtido por este equipamento foi de 2535.

Outro critério para validação do sistema diz respeito às variáveis operacionais.

$$\frac{D.t_r}{r_i^2} > 10 \quad [15]$$

Este critério não é totalmente satisfeito de acordo com as condições experimentais obtidas, uma vez que os valores deste produto estão em torno de 2 a 5.

As outras considerações que devem ser levantadas dizem respeito à geometria do tubo de dispersão. Uma análise das condições ideais de experimento demonstrou que o tubo deve ser longo e linear, e ter uma seção circular perfeita em toda sua extensão. Desde que há uma limitação prática na velocidade de fluxo experimental, e que, o fluxo pode ter valores comparativamente restritos, foi citado no artigo de Alizadeth ²⁷ o tamanho de 10 m. Já que manter um tubo de 10 m termostaticado linearmente poderá requerer um custo operacional desnecessário, a maioria das colunas usadas na técnica de Taylor são enroladas de maneira helicoidal.

Se um tubo onde a dispersão está sendo estudada for enrolado helicoidalmente podemos definir um número ω , como função do raio de enrolamento do tubo R_c , e do raio interno r_i , assim:

$$\omega = R_c / r_i \quad [16]$$

A partir desta definição podemos escrever os três números ou relações que governam este tipo de movimento em termos hidrodinâmicos, que são os números de Reynolds, Schmidt e Dean.

- número de Reynolds

$$Re = \frac{2 r_i u_0 r}{\eta} \quad [17]$$

onde ρ é a densidade e η é a viscosidade.

- número de Schmidt

$$Sc = \eta / \rho.D \quad [18]$$

onde D é o coeficiente de difusão medido.

- número de Dean

$$De = Re.\omega^{-1/2} \quad [19]$$

Para que o fluxo seja laminar o produto do quadrado do número de Dean (De) pelo número de Schmidt (Sc) deve ser menor que 20. De acordo com as condições utilizadas, após os cálculos realizados, o valor máximo obtido para este produto é 25. A variação deste fator foi entre 18 ± 8 . Como estas condições foram impostas para fornecer valores com precisão melhor que 0,1%, valores um pouco além destes limites são aceitáveis conforme pode ser verificado mais adiante.

A segunda etapa foi a verificação da região mais adequada de fluxo para ser usada para as futuras medidas. Este estudo foi realizado em uma faixa de fluxo da bomba peristáltica de 24 a 1,5 ml.h⁻¹. Primeiramente investigamos a dependência para alguns solutos estudados, usando metilparaben e tolueno. Os resultados estão na Figura 9.

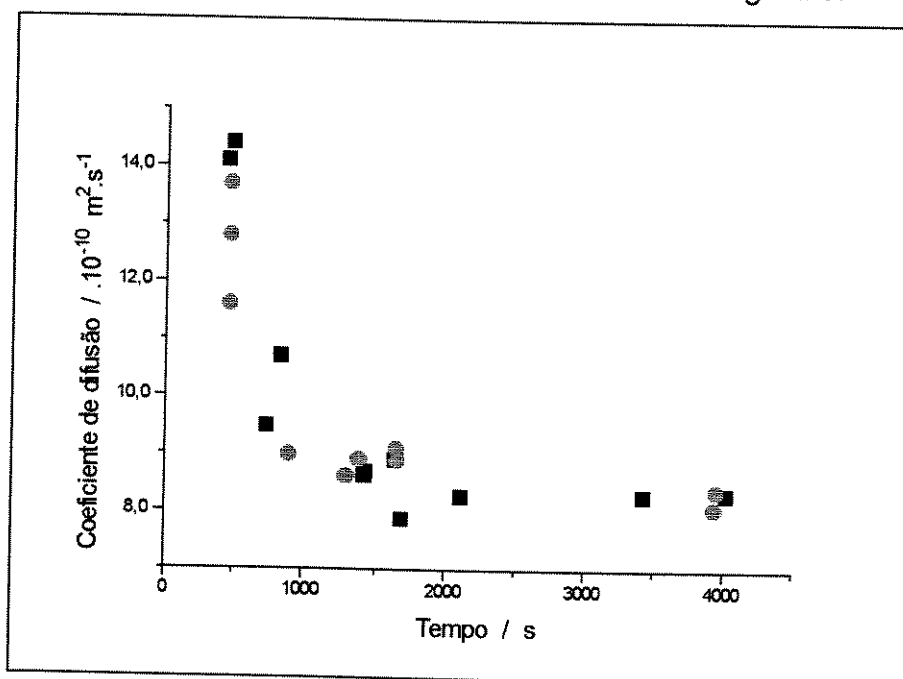


Figura 9: Variação do coeficiente de difusão aparente (■) metilparaben e (●) tolueno

Podemos observar pelo gráfico acima que ocorre variação no coeficiente de difusão de ambos os solutos a partir de um tempo de retenção menor que 1200 segundos possuem um erro inerente. Este deve-se a efeitos de dispersão secundários, que interferem na difusão da molécula. Wisnudel e Torkelson²⁹ observaram que esta dependência é crítica quando são usadas moléculas maiores, com coeficientes de difusão menores. Por este motivo foi feito o mesmo estudo para todas as espécies estudadas nesta tese. Em cada parte de resultados e discussões referentes às macromoléculas serão apresentadas as curvas de coeficiente de difusão por tempo de retenção. Por outro lado, os estudos realizados por Bello *et alli*³¹ foram realizados com tempo de retenção muito menor. Nos seus experimentos o tempo de retenção fica na ordem de 1 a 2 minutos. Isto é possível devido ao raio interno do tubo de dispersão que neste caso é de 50 a 100 µm. Os resultados obtidos desta maneira para a ovalbumina ($7,59 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) e para a hemoglobina ($6,79 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) estão em boa concordância com os dados da literatura.

3.3.3. CALIBRAÇÃO DO SISTEMA:

Usamos para a calibração do aparelho três solutos diferentes, e os resultados foram usados para calcularmos o raio operacional. O resultado final foi $r_i = 0,605 \pm 0,05$ mm, valor médio das medidas com os três solutos, Tabela 5:

Tabela 5: Raios derivados do coeficiente de difusão, mínimo de 5 experimentos.

Soluto	raio (mm)	desvio (%)
tolueno	0,607	2,60
ácido benzóico	0,603	0,45
cafeína	0,601	0,98

O raio experimental foi determinado também de outra forma para comparação e validação do raio operacional. Foi usado um pedaço de tubo, daquele mesmo utilizado como coluna, e cuidadosamente preenchido com água de maneira a se certificar que todo conteúdo interno do tubo continha apenas água. A diferença da passagem antes e depois de colocar água é o volume interno do tubo, portanto:

$$r_i = (V / \pi \cdot l)^{1/2} \quad [20]$$

onde V é o volume de água medido e l, o comprimento do tubo.

O resultado médio obtido com cinco medidas foi de $0,595 \pm 0,005$ mm, em muito boa concordância com o obtido através dos coeficientes de difusão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Depois dos testes descritos na parte experimental, foram medidos os coeficientes de difusão da série dos p-hidroxibenzoatos de alquila. Duas razões nos levaram a estudar esta série homóloga. Primeiramente o estudo do efeito hidrofóbico. Devido ao aumento da cadeia alquila a solubilidade dos parabens diminui, porque o radical alquila é apolar e quanto maior a cadeia mais apolar. O efeito hidrofóbico ocorre em alguns casos quando a interação existente é apolar. Em uma solução aquosa a molécula pouco solúvel, hidrofóbica, pode interagir fortemente com uma macromolécula, por exemplo, e assim manter seu caráter hidrofóbico. Além do caráter hidrofóbico a utilização dos parabens na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética, em vários produtos de uso geral, caracteriza um estudo com aplicação prática, tanto da técnica de análise de incorporação em macromoléculas como no desenvolvimento de novos produtos. Foi levado em consideração, também, que esta série já havia sido estudada em experiência anterior do grupo.^{32,14}

4.1. PARABENS EM ÁGUA:

O uso dos p-hidroxibenzoatos de alquila de cadeia pequena foi patenteado por G. F. D'Alelio, patente americana nº 2,269,186,1942, como produtos antimicrobianos. Robach e Pierson³³ estudaram seu efeito contra *Clostridium botulinum*³³ e demonstraram neste trabalho a inibição da produção da toxina desta bactéria. A ação dos parabens sobre diversas outras bactérias também foi estudada. Hirai³⁴ observou a atividade dos parabens contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*. Nos trabalhos de Macias³⁵ os parabens se mostraram eficazes contra *Salmonella Typhi*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Rhizopus nigricans*.

Foi pesquisada a eficiência de parabens (metil à octil) como conservantes em cerveja (F. B. Strandkov e J. B. Bockelman, patente americana nº 3,232,766, 1966), utilizando-se de $6 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ para heptil e octilparabens e acima de $300 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ para os homólogos menores. Metil, etil e propilparabens foram sugeridos pela FDA^{*} como substitutos ao nitrito em produtos à base de carne crua para minimizar a possibilidade de contaminação por *Clostridium botulinum*³³. Na indústria cosmética os parabens podem ser encontrados em pasta de dentes, em sabonetes especiais e cremes de tratamento. Normalmente aparecem em produtos de melhor qualidade.

A medida do coeficiente de difusão dos parabens foi feita em solução aquosa e em solução de NaOH $5 \text{ mmol}.\text{L}^{-1}$. Os ânions foram caracterizados à partir do deslocamento do máximo de absorbância de característico dos parabens, de 256 para 296 nm. A Figura 10 mostra os resultados obtidos com a adição de quantidades equivalentes de NaOH $\text{mmol}.\text{L}^{-1}$ em solução aquosa de metilparaben $10^{-4} \text{ mmol}.\text{L}^{-1}$, até que o espectro de absorbância não mais altera-se, determinando a formação total dos ânions, como estudado anteriormente³⁶. Quando a posição do máximo de absorbância não mais se alterar, estará caracterizada a ionização de toda a amostra. Ou seja, todas as moléculas de parabens estarão na forma ionizada. Cada um dos parabens foi estudado cinco vezes, em dias diferentes, e foi feita uma análise da variação do coeficiente de difusão com a concentração. O coeficiente de difusão de cada um dos parabens não variou em uma faixa de concentrações de 10^{-3} à $10^{-4} \text{ mol}.\text{L}^{-1}$, que foi a faixa de concentração utilizada nos estudos com macromoléculas. Esta é a concentração de soluto na amostra injetada. À medida que a amostra se dispersa no interior do tubo, esta dilui-se.

*Food and Drug Administration, serviço americano de controle a novos usos ou substâncias para a indústria e o comércio americano (E.U.A.)

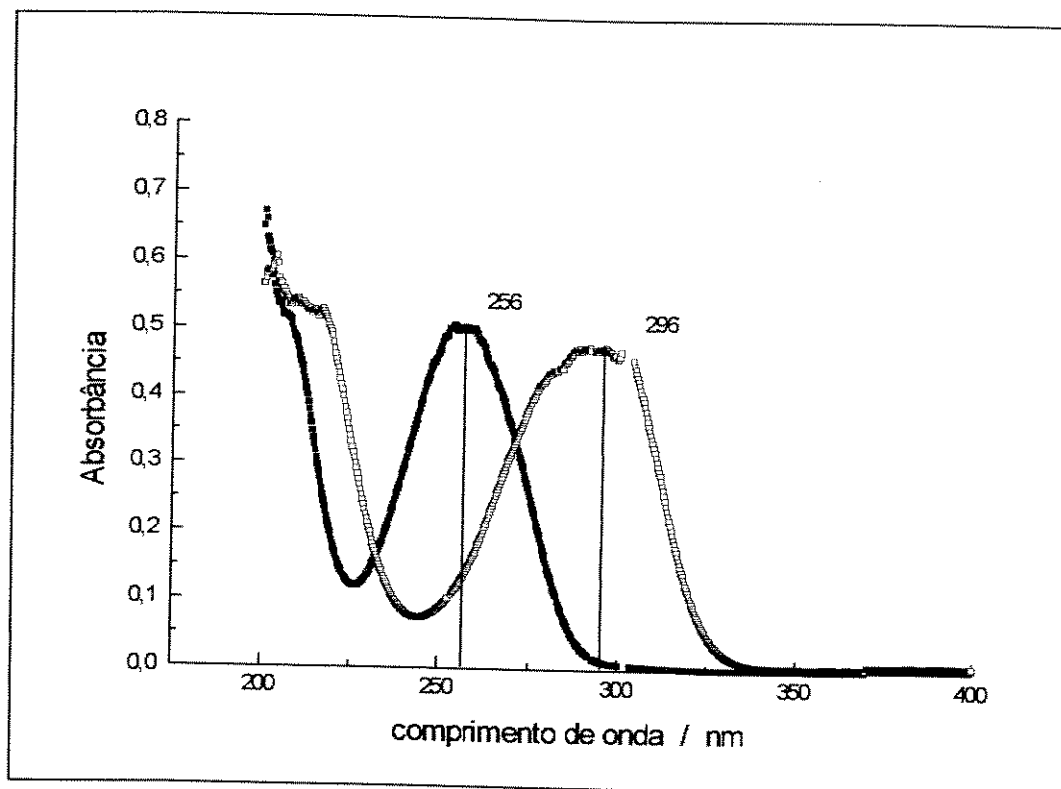


Figura 10: Espectro de absorção de UV/VIS de (■) metilparaben neutro e (□) ânion .

Assim, as concentrações de soluto que atingem o detetor são pelo menos 50 vezes menores do que as injetadas. A difusão portanto é um processo que ocorre por toda a coluna, e por esta razão também que o eluente deve ter a mesma concentração/composição que a amostra. Este fator de diluição varia com o fluxo e, nos experimentos realizados nesta tese, esteve entre 50 (para vazão de 4 mL.h^{-1}) e 65 (para vazão de $1,5 \text{ mL.h}^{-1}$). A Figura 11 mostra os coeficientes de difusão em função da concentração para os parabens (o desvio padrão relativo das medidas não foi maior que 3% em todos os casos).

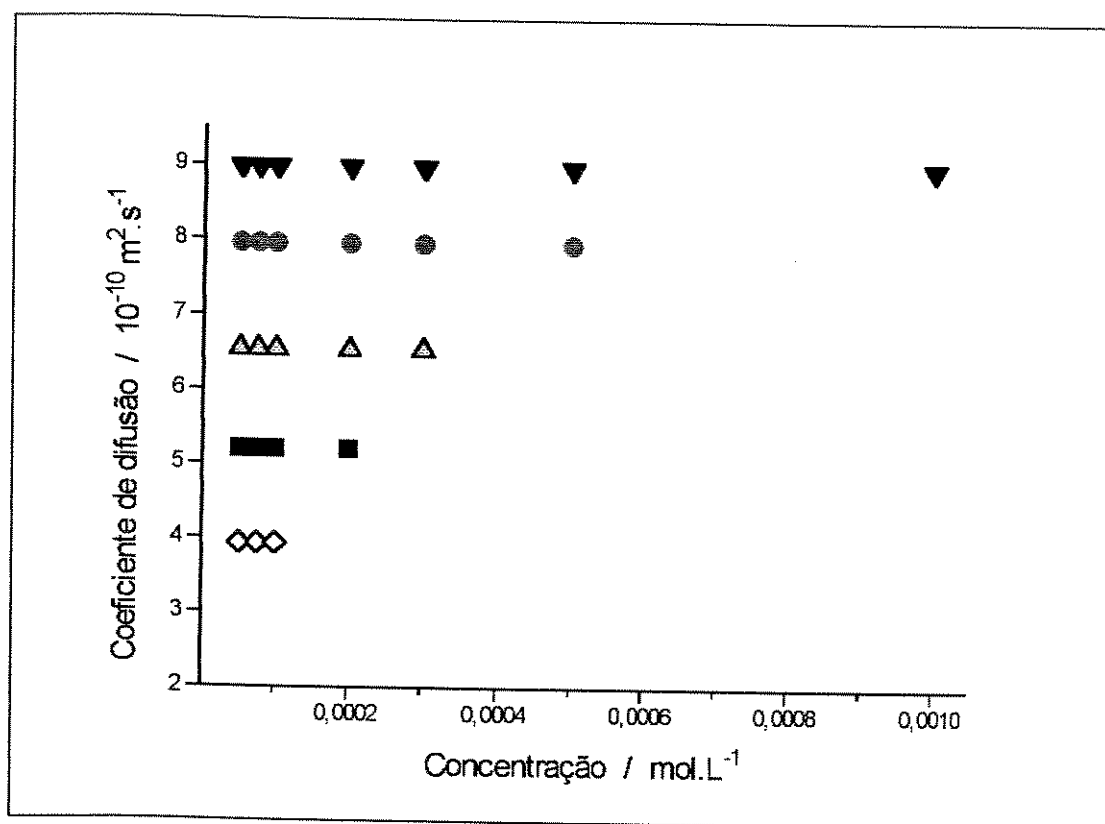


Figura 11: Coeficientes de difusão de ▼ metil, ● etil, ▲ propil, ■ butil ◆ pentilparaben, em função da concentração de solução injetada.

Os resultados obtidos para o coeficiente de difusão das espécies de parabens em água demonstrou que nesta faixa de concentração pode-se considerar as soluções como em diluição infinita, ou seja, não há efeitos de interação soluto-soluto. Os resultados estão na Tabela 6.

Tabela 6: Coeficiente de difusão para a série dos parabens em água.

soluto	D / 10 ⁻¹⁰ m ² s ⁻¹	
	em água	em sol. básica
metil	8,98	8,58
etil	7,95	7,70
propil	6,54	7,12
butil	5,20	6,40
pentil	3,93	----

Uma análise dos resultados obtidos neste equipamento foi feita por comparação com as versões anteriores^{14,32} utilizadas para medir o coeficiente de difusão dos parabens, isto pôde ser feito pela regressão linear dos dados no gráfico da Figura 12. Para o gráfico do coeficiente de difusão *versus* o número de carbonos, levando-se em consideração que a cada homólogo uma quantidade equivalente a um CH₂- aumenta no raio hidrodinâmico da molécula, considerando-se a equação de SE, uma série homóloga implica em uma reta neste gráfico.

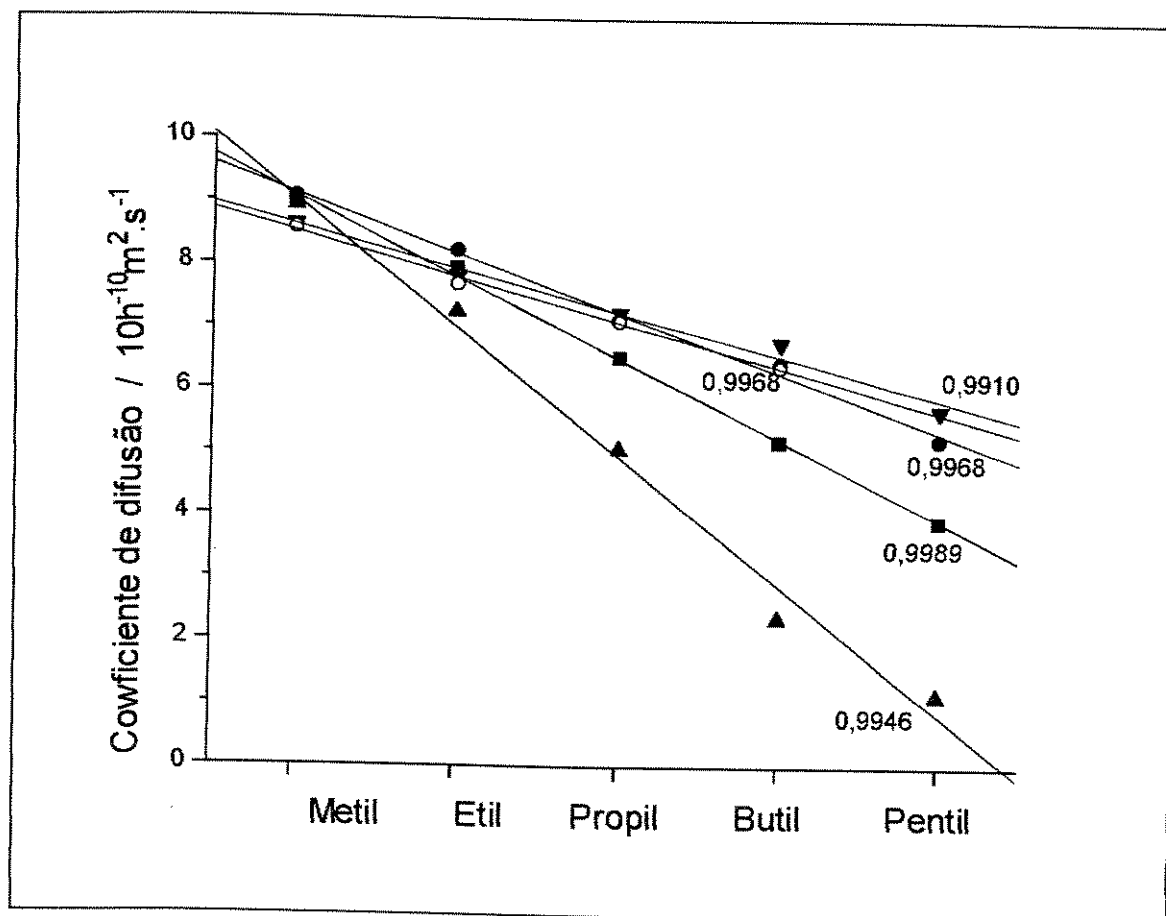


Figura 12: Coeficiente de difusão para os parabens, ■ esta tese, ▲ ref. 32 e ● ref. 14 neutros e ▼ ref. 32 e ○ esta tese em NaOH.

A primeira observação é que todos os conjuntos de pontos formam retas. Os resultados obtidos foram considerados satisfatórios para a medida dos parabens em água porque os dados foram concordantes com medidas anteriores em outras versões do equipamento. O conjunto de dados mais concordantes são o da referência 14 com os resultados deste trabalho, nestas duas versões foram utilizadas colunas de aço-inoxidável.

A medida dos ânions foi analisada em comparação com a referência 32, e os resultados foram considerados satisfatórios. O ajuste para os dados deste trabalho para a série dos ânions foi tão boa quanto a dos parabens neutros, comprovando que o procedimento experimental foi eficiente.

A diferença entre estas duas versões que foram usadas para medir os ânions foi basicamente a coluna de dispersão, o material da coluna na primeira versão³² era de Teflon, tinha 8,5 m de comprimento, raio interno (calibrado) de $0,418 \pm 0,014$ mm e foi enrolado em círculo de 50 cm de diâmetro.

Aquele trabalho demonstrou experimentalmente que o material da coluna de dispersão é determinante para que o equipamento montado segundo a técnica de Taylor tenha boa operacionalidade. Naquele caso³², observou-se que havia adsorção de alguns solutos sobre a coluna de Teflon. A adsorção de solutos na coluna pode ser corrigida por um método matemático que leva em consideração a diferença entre os tempos de retenção de um soluto que não possui adsorção, t_0 , e o tempo de retenção para uma molécula que adsorve, t_a .

Nos resultados obtidos neste trabalho não foi detectada nenhuma distorção no perfil das curvas de dispersão. Porém, foi possível verificar um aumento gradativo nos tempos de retenção ao longo da série, este aumento foi da ordem de 12% entre metil e pentilparaben. A Figura 13 mostra a comparação entre os tempos de retenção para série dos parabens e cafeína. A cafeína ($t_r = 1450$ s) foi utilizada como padrão de comparação devido à sua boa solubilidade em água e por apresentar o menor tempo de retenção, juntamente com o ácido benzóico.

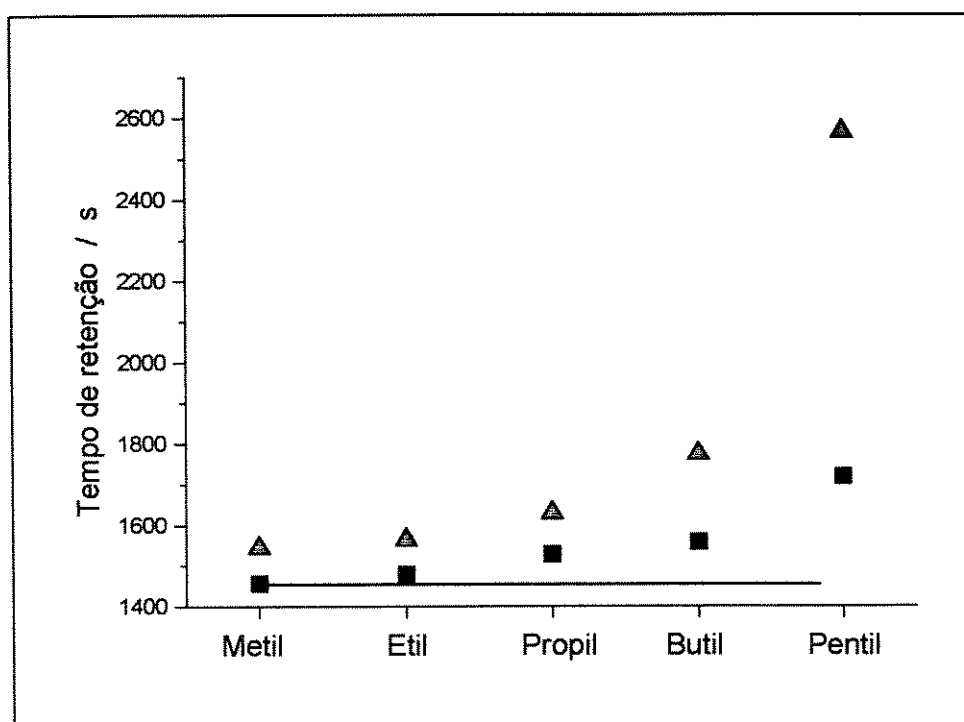


Figura 13: Tempos de retenção, ▲ ref. 32 e ■ desta tese para os parabens neutros, a linha marca o da cafeína.

A equação proposta por Golay foi derivado para descrever a difusão de solutos, e o processo de partição entre coluna e fase móvel, em cromatografia capilar³². Este método descreve um ajuste para os dados experimentais (gráfico 12) onde o D_{corr} , coeficiente de difusão corrigido, é dado por:

$$D_{corr} = D_{app} \frac{(1 + 6k + 11k^2)}{(1 + k)} \quad [21]$$

o fator k é dado por:

$$k = \frac{t_a - t_0}{t_0} \quad [22]$$

onde t_a é o tempo de retenção medido e t_0 é o tempo de retenção em uma situação que não ocorre adsorção.

A Figura 14 mostra dados (da referência 32 e desta tese) corrigidos pelo método de Golay:

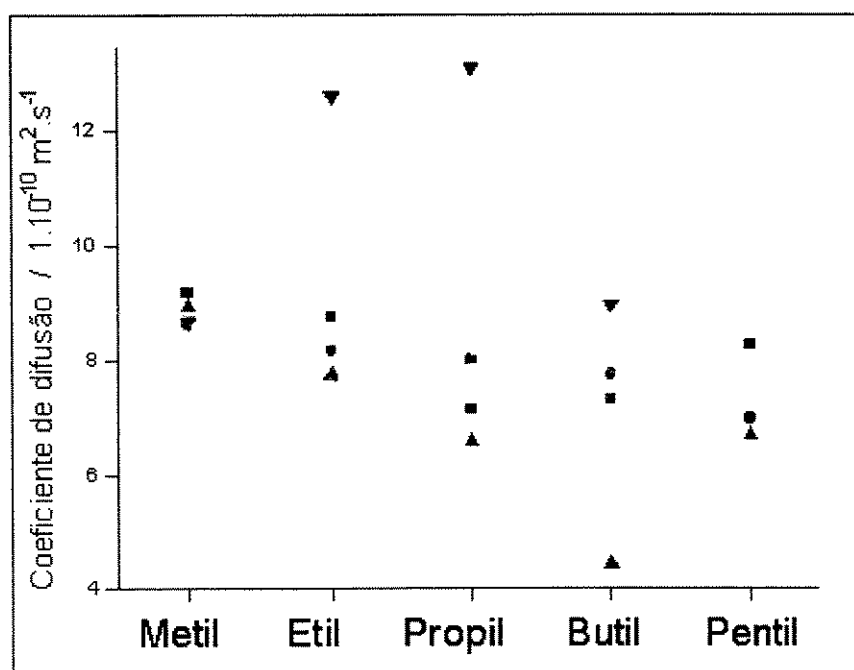


Figura 14: Análise dos dados de D_{corr} , ▲ neutros e ● ânions ref. 32 e ■ neutros e ▼ ânions desta tese.

Este tratamento só foi bem sucedido no caso dos ânions da referência 32, exatamente o caso em que o ajuste demonstrado na Figura 12 foi menos concordante. Porém no caso em que o tempo de retenção mais aumentou, dos parabens neutros³², conforme mostra a Figura 13, ocorreu uma piora nos dados comparando ao conjunto de dados sem correção. Portanto este não é um bom método para corrigir os dados devido a adsorção. Com este tratamento é possível apenas discriminar quando a adsorção é significativa.

A diminuição no coeficiente de difusão foi atribuído à adsorção devida ao retardamento que o pulso recebe ao difundir-se enquanto particiona entre a solução e a superfície da coluna, quanto maior a molécula mais lento é este equilíbrio e portanto maior o tempo de retenção. Além disso pôde ser observado também o aparecimento de distorções do perfil gaussiano, o aparecimento de caudas nas gaussianas obtidas para os homólogos maiores (à partir do propilparaben). Mais caracteristicamente com pentilparaben. Este caso foi estudado em maiores detalhes com relação a possibilidade de estar ocorrendo adsorção. Um experimento foi realizado para tentar observar os efeitos da adsorção sobre o tempo de retenção. Para minimizarmos o efeito da adsorção um experimento visando diminuir a interação entre a coluna e a fase móvel foi desenvolvido.

Para que isto ocorra devemos diminuir a diferença de concentração, do soluto, entre a solução injetada e a carregadora. Ou seja, devemos usar soluto também na solução carregadora. Assim diminuímos a possibilidade de interação entre o soluto que está na amostra injetada e a parede da coluna, pois os sítios de adsorção já estarão ocupados com outras moléculas de soluto.

Desta forma podemos criar uma zona de saturação em soluto, que cobre a coluna, e diminui a interação entre a coluna e o soluto que foi injetado. A Figura 15 mostra o experimento realizado para pentilparaben, e que o deslocamento do tempo de retenção não foi significativo neste caso.

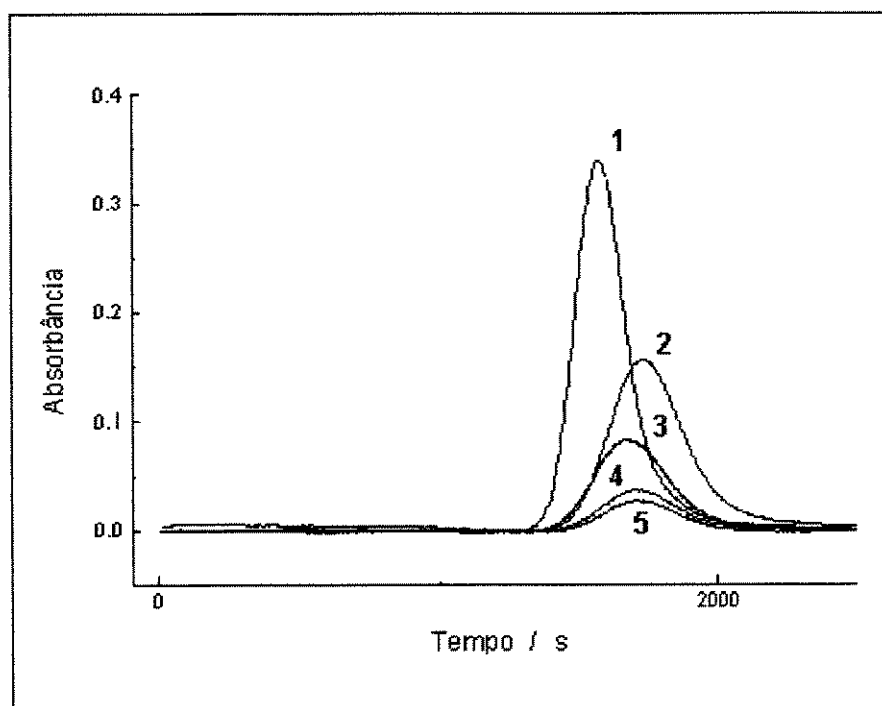


Figura 15 : Curvas para (1) cafeína, (2) 5,5; (3)2,8; (4)1,3 e (5) $0,9 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ de diferença de concentração de pentilparaben entre o eluente e a amostra.

Portanto, ao diminuirmos a diferença de concentração de pentilparaben entre a amostra e a solução carregadora a interação da superfície do aço inoxidável e a amostra diminui por que quando existem mais moléculas de soluto disponíveis há uma competição pelos sítios de adsorção da superfície da coluna.

Assim as moléculas de soluto que estão na amostra ficam menos sujeitas à adsorção. Se este experimento está correto deve existir alguma diferença de concentração baixa o bastante onde este efeito se perderia por total. Portanto, foram feitos experimentos como descrito para descobrir uma diferença concentração baixa o suficiente para que o tempo de retenção diminua. Os resultados estão graficados na Figura 16.

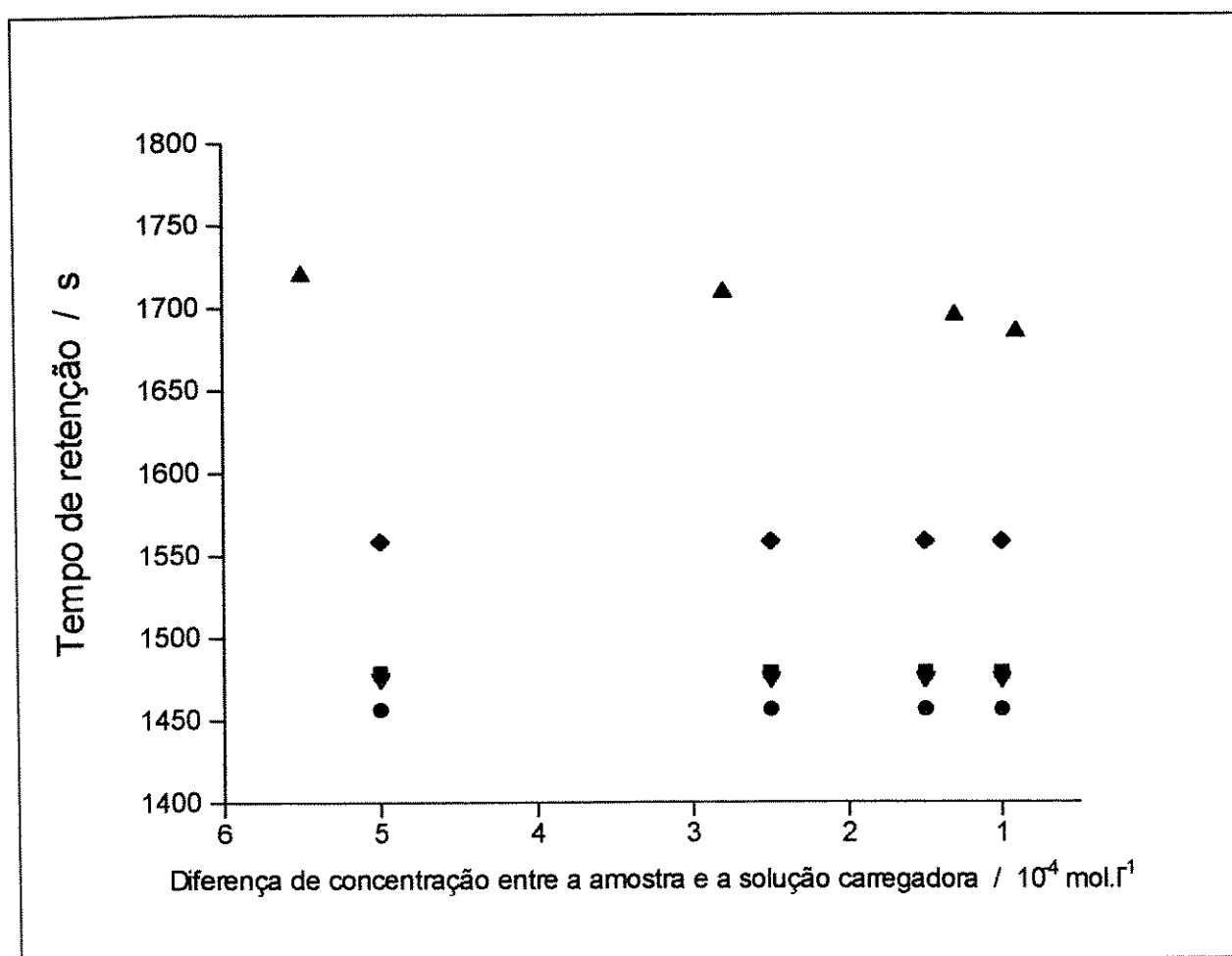


Figura 16: tempos de retenção para ● metil, ■ etil, ▼ propil, ◆ butil e ▲ pentilparaben,.

O mesmo experimento aplicado ao pentilparaben foi realizado também para todos os outros homólogos da série (metil a butil) sem que fosse possível verificar qualquer modificação nos tempos de retenção. Conforme mostra a Figura 16.

Este resultado é importante porque pode ser um indício de que a adsorção está apenas começando a ocorrer, e que para homólogos maiores (acima de seis carbonos no grupo alquil) poderiam ter este efeito mais pronunciado. Porém, os experimentos realizados com o pentilparaben indicam que a adsorção existente nesse caso não afeta o coeficiente de difusão (veja tabela 6). O ajuste para os dados na Figura 12 mostra que a relação linear inversa com o aumento do raio hidrodinâmico está em boa concordância, mesmo com o aumento no tempo de retenção. O pentilparaben não foi usado em nenhum dos experimentos posteriores, como segurança, e foi considerado que a adsorção que pudesse existir nos outros homólogos não afetaria o coeficiente de difusão.

Tabela 7: Coeficiente de difusão para pentilparaben descritos na Figura 16.

$\Delta C / \text{mol.l}^{-1}$	Tr / s	$D / 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
5,5	1735	3,93
2,8	1715	3,93
1,3	1692	3,93
0,9	1680	3,93

O fato da adsorção não afetar o coeficiente de difusão pode ser uma indicação de que a velocidade de troca, adsorção/desorção, nas paredes do tubo de aço inoxidável é rápida, ou pelo menos rápida o bastante para não afetar a difusão. Em artigo teórico Madras *et alli*³⁷ realizaram simulações de curvas gaussianas, representando a difusão medida por equipamento de Taylor. Naquele estudo a adsorção foi tratada como um ajuste da equação gaussiana (equação 11).

Outra observação importante é que existem na literatura propostas visando a corrigir os dados onde ocorre adsorção. Este tratamento foi utilizado nos estudos com o equipamento com coluna de Teflon³² mencionados anteriormente. Porém, os resultados obtidos não sustentam uma melhora nos dados, os dados corrigidos são piores do que os sem correção e em apenas um caso os dados melhoram (o que não pode ser considerado um bom método, por que quando os dados sem correção estavam em boa concordância, o tratamento piorou a regressão linear, Figura 13).

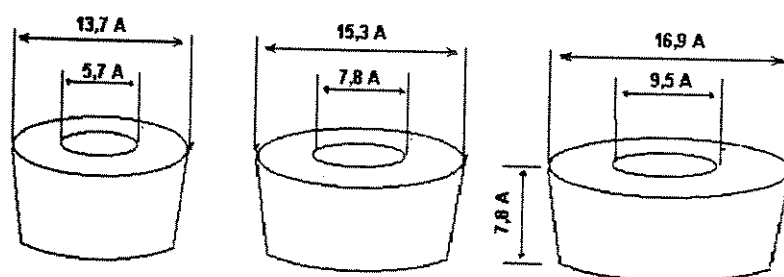
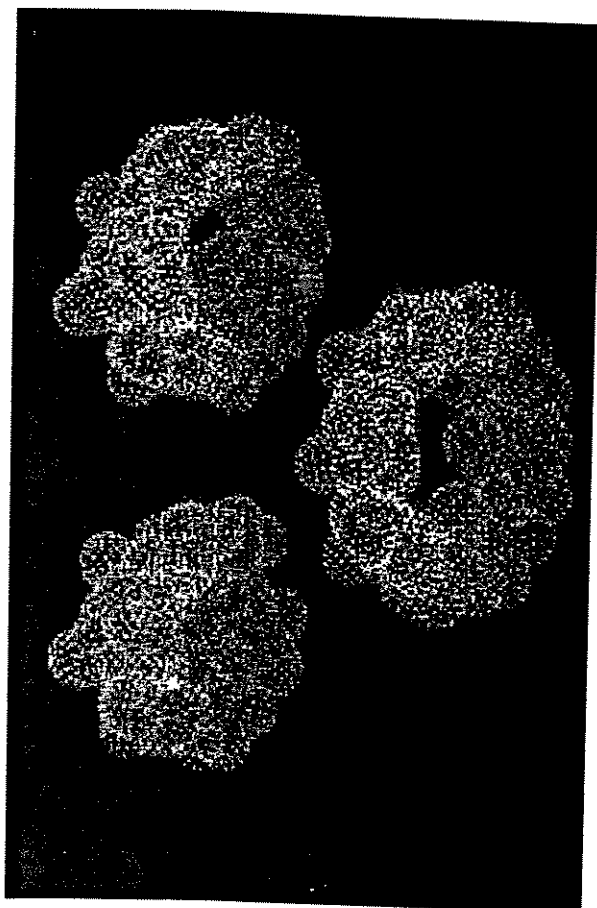


Figura 17: Representação esquemática e computacional das moléculas de α , β e γ -ciclodextrinas.

As características dos α , β , e γ -ciclodextrinas são mostradas na tabela 7:

Tabela 8: Características estruturais das ciclodextrinas.³⁹

CD	Massa	Dimensões da cavidade / Å		Volume
	Molecular / g.mol ⁻¹	Diâmetro	Altura	da cavidade / Å ³
alfa	972	5,7	7,8	176
beta	1135	7,8	7,8	346
gama	1297	9,5	7,8	510

a: valor estimado através dos coeficientes de difusão da α e da γ -ciclodextrinas.

Vários trabalhos na literatura descreveram aplicações de diferentes técnicas de análise ao estudo do efeito de complexação entre ciclodextrinas e outros tantos solutos de interesse industrial e/ou farmacêutico. Técnicas como RMN ROESY^{43,44} e NOE⁴⁵, espectroscopia, tanto de absorção^{46,47} como fluorescência^{48,49}, voltametria⁵⁰, calorimetria⁵¹ e técnicas que medem o coeficiente de difusão como interferometria¹⁸⁻²¹ e RMN¹⁰⁻¹³ pulsado de eco de spin estão sendo empregadas para o estudo da velocidade de incorporação, da sua estequiometria e das variações de energia envolvidas na formação do complexo de inclusão. Os complexos de inclusão entre parabens e ciclodextrinas foram estudados por Nakai⁵² e colaboradores em fase sólida. Nestes estudos foram usadas técnicas combinadas, na maioria dos trabalhos, raio-X, DSC e espectroscopia de absorção no infravermelho. Nakai demonstrou, através de estudos de raio-X, que amostras de metilparaben que passaram por um processo de liofilização, formam cristais diferentes na presença e ausência de α -ciclodextrina. Neste mesmo trabalho foi apresentada uma técnica eficiente para determinar a formação do complexo de inclusão. Medidas de DSC foram feitas com os cristais de metilparaben e α -ciclodextrina, preparados por liofilização, em diferentes razões paraben/ α -CD. O pico característico obtido para o metilparaben desaparece à medida que esta razão diminui e foi estimado que a razão necessária para a formação do complexo de inclusão seria de 1.

Nesta tese a formação do complexo de inclusão foi acompanhada pela medida do coeficiente de difusão dos parabens em presença de ciclodextrina. De posse dos coeficientes de difusão das moléculas em água, foram feitas análises em amostras onde a razão β -ciclodextrina/parabens aumentava, e o seu coeficiente de difusão diminuía até estabilizar. Os coeficientes de difusão da α - e da γ -ciclodextrina em água foram determinados para estimar o da β -CD, que é bem menos solúvel. Impossibilitando sua determinação direta.

Tabela 9: Dados experimentais sobre as ciclodextrinas

CD	Solubilidade em água / g.100mL ⁻¹	coeficiente de difusão/10 ⁻¹⁰ m ² .s ⁻¹	Raio hidrodinâmico / Å ⁴³
alfa	14,5	3,57	5,8
beta	1,85	3,4 ^a	6,2
gama	23,2	3,09	6,4

a valor estimado através dos coeficientes de difusão da α e da γ -CD através dos volumes.

São poucos os trabalhos que relatam coeficientes de difusão de ciclodextrinas e não foi encontrado na literatura qualquer trabalho utilizando a técnica de Taylor, portanto usamos para comparação resultados obtidos com outras técnicas. Gafni e Cohen¹³ mediram o coeficiente de difusão da γ -CD, com PESE NMR, obtendo um valor $3,2 \pm 0,2 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Nos trabalhos de Paduano *et alli*¹⁸⁻²¹, foram medidos os coeficientes de difusão para as três espécies de ciclodextrina, α , β e γ , obtendo 3,5 ; 3,2 e $3,1 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente.

Utilizando a técnica de Taylor e injetando soluções de α e γ -CD, em uma faixa de concentração de 0,1 e 0,05 mol.L⁻¹, estimamos o coeficiente de difusão para a β -CD. Isto foi feito levando-se em consideração a relação entre os volumes molares das ciclodextrinas. Devido a baixa solubilidade da β -CD, que impossibili sua medida direta. Os resultados obtidos foram de 3,57 e 3,09 $10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a α e da γ -CD, respectivamente. Estes resultados estão em boa concordância com os dados da literatura.

Porém, antes de realizar os experimentos foi feito um estudo da variação do coeficiente de difusão das possíveis espécies envolvidas para avaliar a velocidade de escoamento do líquido carregador que deveria ser empregada. Os resultados obtidos estão no gráfico da Figura 18, onde a velocidade de escoamento é medida pelo tempo de retenção.

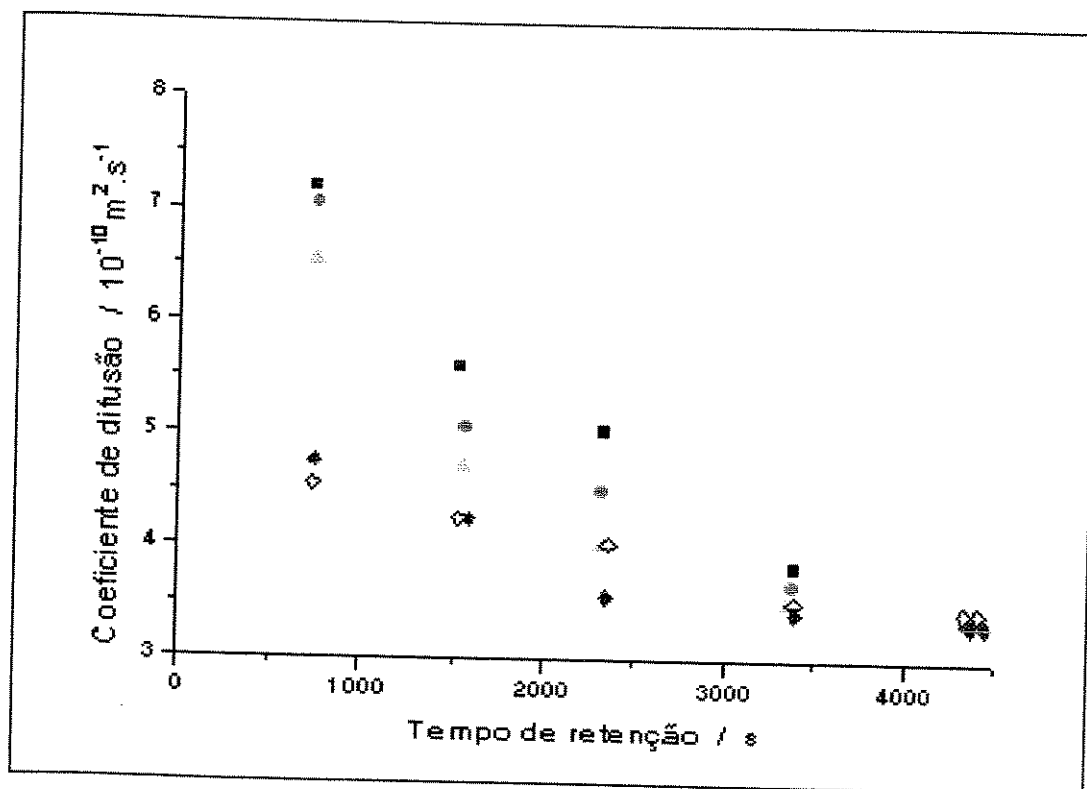


Figura 18: Medidas feitas em razão $[\beta\text{-CD}]/[\text{pb}]$ igual a 4, para os ânions ■ metil, ● etil, ▲ propil, ◆ butil; e △ butilparaben neutro.

Os resultados obtidos indicaram um patamar para a vazão em um tempo de retenção acima de 4000s, o fluxo deveria ser de $1,5 \text{ ml.h}^{-1}$. Normalmente a dependência com o fluxo é menor, ou seja, a velocidade de fluxo influencia menos o coeficiente de difusão para moléculas menores, conforme mostrado na Figura 9, para metilparaben e tolueno. Um resultado parecido foi reportado por Torkelson e Wisnudel²⁸ para macromoléculas em soluções concentradas.

O coeficiente de difusão de uma amostra contendo o soluto e a ciclodextrina é dado pelo coeficiente de difusão da parte do soluto que está difundindo como complexo e o restante do soluto livre. Em um ponto onde nem todo soluto está complexado, o coeficiente de difusão é dado por:¹⁴.

$$D_{obs} = f \cdot D_{complexo} + (1 - f) \cdot D_{\text{água}} \quad [23]$$

onde D_{obs} é o coeficiente de difusão medido a partir de um ponto onde nem todo soluto está incorporado, $D_{complexo}$ é o coeficiente de difusão do complexo formado, D_w é o coeficiente de difusão do soluto em água. E, f é a fração de soluto que está formando o complexo de inclusão, ou seja, uma razão entre o número de moles de soluto complexado pelo número de moles totais de soluto:

$$f = n_{complexo} / n_{totais} \quad [24]$$

A fração incorporada mede a quantidade de soluto que está formando o complexo de inclusão, quando a razão de ciclodextrina é tal que o f é igual a 1, todas as moléculas de soluto estão dentro de pelo menos uma ciclodextrina. A Figura 19 mostra o gráfico da variação do coeficiente de difusão para amostras de alquilparabens em água, pH = 6,5, em função de proporções calculadas de β -ciclodextrina/soluto. Nos experimentos demonstrados na Figura 20 foram utilizadas soluções de parabens em tampão de borato, 0,25 mol.L⁻¹, em pH = 11. As soluções tampão foram utilizadas em uma faixa de concentração diluída, e portanto foram desconsiderados quaisquer efeitos destes na difusão e/ou incorporação⁵³. Todos os resultados foram obtidos em triplicada e seus desvios padrões relativos não excederam 3%. O experimento foi feito com fluxo de 1,5 mL.h⁻¹.

A razão $[\beta\text{-CD}] / [\text{solute}]$ representa a razão entre as concentrações na amostra injetada.

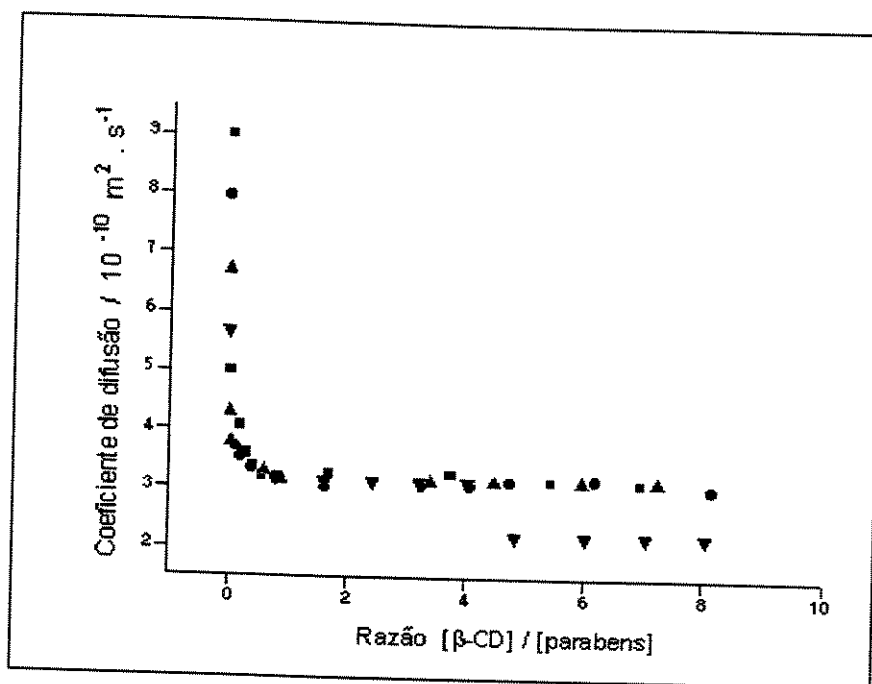


Figura 19: Variação do coeficiente de difusão dos parabens na presença de quantidades crescentes de $\beta\text{-CD}$ D_{obs} para ■ metil, ● etil, ▲ propil, ▼ butilparaben em água.

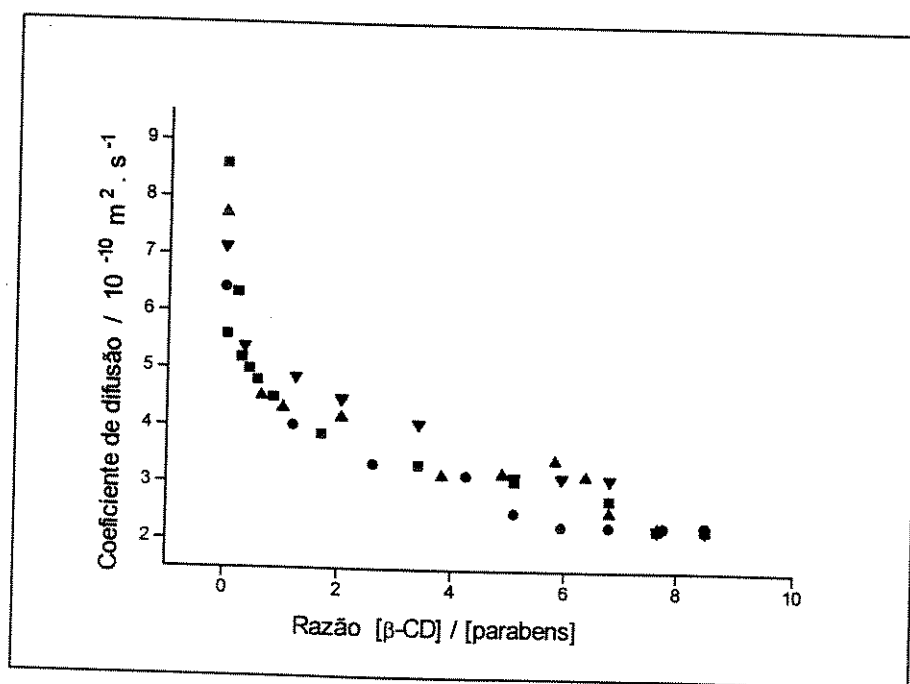


Figura 20: Variação do coeficiente de difusão dos parabens em presença de quantidades crescentes de $\beta\text{-CD}$ ■ metil, ● etil, ▲ propil, ▼ butilparaben em tampão de bórax pH = 11.

Ao adicionarmos ciclodextrina em uma solução contendo um soluto qualquer, se este soluto tem pouca afinidade com a água, este pode se isolar do ambiente químico ao seu redor se alojando dentro da cavidade. O coeficiente de difusão de uma amostra que possui soluto é dado pela média ponderada entre a parte do soluto que difunde dentro da ciclodextrina e o soluto livre conforme mostra a equação 23., aumentando a quantidade de soluto que difunde dentro da ciclodextrina (ao adicionarmos ciclodextrina). Até que com uma certa quantidade de ciclodextrina todo o soluto difunde dentro da ciclodextrina. Neste ponto o complexo está totalmente formado, ou seja, a única espécie química presente na amostra é o complexo. Assim, os patamares demonstrados nas Figuras 19 e 20 representam as regiões onde existem espécies químicas predominantes.

A primeira observação é que os complexos 1:1 com os ânions possuem tamanhos muito similares aos complexos formados com os parabens neutros, exceto para o butilparaben. Portanto, a carga negativa localizada no oxigênio extremo dos parabens não contribui significativamente para incorporação dentro da cavidade hidrofóbica da ciclodextrina. A constante de formação do complexo, estimada através da inclinação da curva do coeficiente de difusão, aumenta do neutro em relação ao ânion, mas esta modificação pode ser atribuída à maior solubilidade dos parabens com carga, diminuindo o caráter hidrofóbico da associação soluto/macromolécula.

Ocorreu o aparecimento de um patamar para as espécies neutras e dois patamares para os ânions e para o butilparaben neutro. Este patamar, onde o coeficiente de difusão do soluto não se altera mais com a adição de β -ciclodextrina, é o D_{complexo} mencionado anteriormente. O aparecimento de dois patamares pode ser uma indicação de duas estequiometrias, 1:1 e 1:2, entre o soluto e a β -ciclodextrina. Os valores destes patamares são concordantes para todos os solutos em menos de 1%. O primeiro ocorre com um $D_{\text{complexo}} = 3,14$ e o segundo a $2,23 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, o que aplicando na equação 6 fornece raios hidrodinâmicos de $7,80$ e $11,0 \cdot 10^{-10} \text{ m}$, respectivamente.

Através de simples geometria, desenhando trapézios para representar moléculas de ciclodextrinas utilizando os valores da Tabela 7, é fácil verificar que o tamanho do complexo 1:2 não necessariamente é o dobro do tamanho do complexo 1:1. A razão entre os raios de esferas que circundam os trapézios referentes ao complexo 1:1 e 1:2 é de aproximadamente 1,5 vezes. Ou seja, uma segunda ciclodextrina aumenta em cerca de 50% o tamanho do complexo. O que fortalece ainda mais a hipótese de que o que estamos observando são as estequiometrias. Os resultados experimentais apresentados nesta tese apontam para uma razão entre os raios dos complexos 1:1 e 1:2 de cerca de 1,4.

A presença da carga negativa parece facilitar a acomodação da segunda molécula de ciclodextrina em volta do paraben, o que não foi observado, mesmo estudando soluções com excesso de ciclodextrina, para as espécies neutras. A única exceção foi o butilparaben. Através de estimativas baseadas nos comprimentos e ângulos de ligação para os parabens e para a β -CD observou-se que um ajuste perfeito do soluto dentro da cavidade da β -CD faz com que o grupo alquila fique para fora da cavidade, em contato com o ambiente aquoso. Esta parte hidrofóbica pode interagir com outra molécula de ciclodextrina para formar o complexo 1:2. Os dados obtidos para a difusão dos parabens neutros comprovam que a segunda complexação é efetiva apenas para o butilparaben, o que possui maior grupo alquila. Com o ânion porém, a molécula do soluto parece formar o complexo com uma mobilidade maior ou com a cadeia carbônica mais exposta, fazendo com que o soluto fique mais livre para acomodar a segunda ciclodextrina. Essas transições de estequiometria de 1:1 para 1:2 ocorrem em razões iguais de $[\beta\text{-CD}] / [\text{solute}]$ para todos os homólogos. Para os parabens de cadeia alquila pequena o patamar ocorre em uma razão de aproximadamente 1.

A estequiometria envolvida na formação do complexo de inclusão é um dos objetivos da maioria dos trabalhos com ciclodextrinas. As técnicas utilizadas, de maneira geral, estão sempre associadas ao método de Job, que consiste em acompanhar a variação de uma certa propriedade físico-química frente a diferentes razões $[\beta\text{-CD}] / [\text{soluto}]$. A seguir, uma série de estudos onde a investigação da estequiometria de complexação serão discutidos com detalhes.

A associação de α -ciclodextrina com álcoois e a dióis lineares⁵¹⁻⁵³ foi estudada por calorimetria por I. Wadso e colaboradores, e nestes trabalhos foi demonstrado que a formação do complexo com a α -ciclodextrina segue também uma tendência baseada no efeito hidrofóbico. Esta tendência é quebrada quando o tamanho da cadeia carbônica é tal que não é possível acomodar toda a molécula no interior da ciclodextrina. Neste caso, esta mudança ocorre com cadeias de aproximadamente 6 átomos de carbono. Quando isto ocorre, é impossível ajustar os dados calorimétricos a um modelo de complexação 1:1, sendo necessário considerar também a estequiometria 1:2.

Castronuovo⁴² *et alli* trabalhando com α - ω -amino ácidos e ácidos carboxílicos estuda por calorimetria o efeito do comprimento da cadeia alquila frente a incorporação, e também chegaram as mesmas conclusões, comprovando assim um comprometimento entre as estruturas das duas moléculas na formação do complexo de inclusão. Para os ânions dos parabens a estequiometria 1:2 ocorre mesmo para pequenos tamanhos do grupo alquila, o que pode indicar que a formação do complexo depende do comprimento do soluto. Isto pode ser entendido imaginando que as duas ciclodextrinas do complexo 1:2 possuem ponte de hidrogênio muito forte entre as duas coroas de hidroxilas.

Em artigo recente Connors⁴³ relata na forma de revisão a discussão sobre as constantes de equilíbrio, $K_{1:1}$ e $K_{1:2}$, em complexos de inclusão.

Recentemente um artigo de Salvatierra *et alli* ⁴⁴ demonstrou um completo estudo sobre a complexação de ácido benzóico por β -CD. Este trabalho comprovou através de dados de RMN NOE as interações existentes entre prótons da ciclodextrina e do ácido benzóico. Dados de acoplamento e mudança no deslocamento químico $\Delta\delta_i$ para diferentes proporções de ácido benzóico e ciclodextrina foram obtidos através de experimentos de 1D-ROESY. Os resultados foram interpretados como determinantes na associação mais ou menos efetiva entre os prótons H_3 e H_5 da ciclodextrina e H_o , H_m e H_p , respectivamente, prótons em posição orto-, meta- e para- do anel benzênico. Todos os sinais iguais observados para os dados de NOE quando H_o é irradiado, e o fato que o maior valor do NOE de H_m para H_3 em comparação com o valor de H_m para H_5 , sugerem uma geometria de inclusão com o próton aromático H_o localizado no plano equatorial da ciclodextrina, H_p no eixo central do eixo vertical, e H_m à mesma distância de H_3 e H_5 .

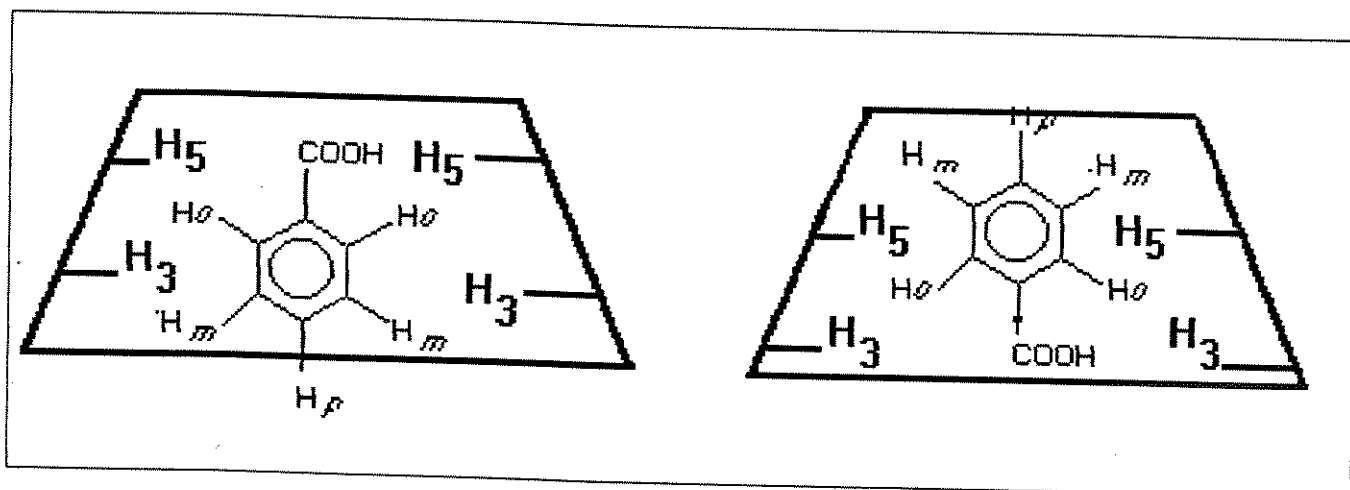


Figura 21: Representação dos prótons associados durante inclusão.

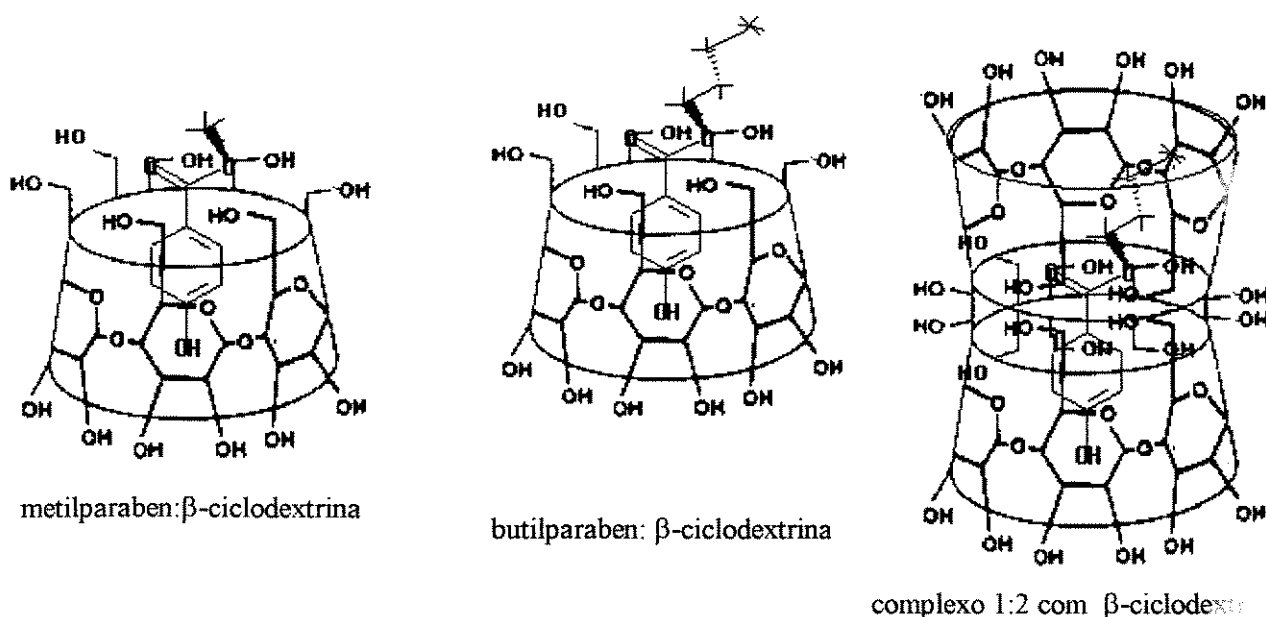
Um completo estudo usando mecânica molecular foi também desenvolvido para a comparação energética entre as possíveis posições relativas. Duas posições relativas foram inicialmente propostas. (a) paralela (b) perpendicular. A primeira foi logo descartada por não haver nenhuma interação importante que fosse beneficiada com essa posição. A segunda pode ser das duas formas apresentadas na figura 21. O cálculo da energia do processo de inclusão foi obtido através de estruturas minimizadas por MM2, MM3 e usando o campo de força Alliger's MM2(85)⁵³. A diferença energética obtida entre os dois mecanismos propostos foi de apenas 0.27 kcal.mol⁻¹, a favor da primeira hipótese. Estes resultados teóricos foram obtidos a partir de otimizações geradas com coordenadas estipuladas a partir de resultados dos experimentos de RMN NOE.

Para o benzoato, Hirai *et alli*⁴⁵ demonstraram através de experimentos de RMN 2D-ROESY que a carga negativa do oxigênio da carbonila é estabilizada mais fortemente pela parte da molécula da ciclodextrina que possui os grupos -CH₂-OH e não o lado dos OH's somente. Estes resultados foram muito úteis para a confirmação do modelo proposto para a interação existente na complexação dos parabens, neutros e ânions, já que esta preferência na interação dos grupos -COOH, anel benzênico e desta carga negativa é bastante semelhante.

Para os parabens neutros o efeito na interação dos prótons H₅ e H₀ deve ser o mesmo porque o importante neste caso é o grupo -COOR que também está presente nos parabens como éster. O anel benzênico deve estar paralelo ao eixo vertical da ciclodextrina e o grupo alquil é pequeno o bastante para estar na posição horizontal. Até que este grupo alquil atinja um determinado tamanho tal que não mais é totalmente incluído pela estrutura da ciclodextrina, uma parte da molécula fica para fora da cavidade. Neste momento outra ciclodextrina pode interagir com este complexo formando o complexo 1:2.

Para os ânions a carga negativa pode ser melhor estabilizada pela face que contém os grupos $\text{CH}_2\text{-OH}$ da ciclodextrina. A formação do complexo de inclusão dos parabens neutros, foi praticamente igual para todos os homólogos (exceto butilparaben), isto pode ser uma indicação de que o determinante para a formação do complexo não é a cadeia alquila sair da água para se alojar na cavidade da ciclodextrina. Portanto, o modelo proposto para a formação do complexo de inclusão implica na entrada do grupo -OH, na posição *para*-, e posterior acomodação do anel aromático dentro da cavidade e localização do grupo éster verticalmente em frente aos -OH's da parte da β -ciclodextrina que possui os grupos $-\text{CH}_2\text{-OH}$. O butilparaben por sua vez apresenta dois patamares para o coeficiente de difusão, indicativo dos complexos 1:1 e 1:2, mostrando que a cadeia alquila deve mesmo estar exposta na fase aquosa. Isto mostra que quando a cadeia for de um determinado tamanho outra ciclodextrina é capturada para a formação do complexo 1:2 soluto: β -ciclodextrina. A Figura 22 mostra as possibilidades para a formação do complexo de inclusão em cada caso.

Figura 22: Representação esquemática dos complexos de inclusão.



4.3. Estudo do efeito da adição de polímeros em soluções de parabens:

Dois tipos diferentes de polímeros foram utilizados neste trabalho: PEG e Pluronic. Os PEG's (polioxietileno) são polímeros lineares formados por uma sequência de unidades EO ligadas entre si. O Pluronic F108 é um copolímero bloco tipo ABA, ou seja, possui uma parte central menos solúvel (polioxipropileno-PO) entre duas partes constituídas de unidades EO, oxietilênicas ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$) ligadas entre si. Este copolímero pode assumir diferentes arranjos em solução, ver, por exemplo, Tabela 3.

Algumas vezes estes padrões são específicos, mas outras apenas a forma final da macromolécula é importante. No caso de polímeros biológicos, como as proteínas e o DNA, não apenas a forma geométrica é importante como também a sequência exata, porque é esta sequência que registra a informação química.

Polímeros são utilizados em vários produtos industriais, desde o uso da goma arábica na antiguidade. Nos últimos 30 anos as propriedades físico-químicas "especiais" dos polímeros que foram sendo descobertas despertaram atenção especial para o estudo de macromoléculas. Principalmente devido ao uso de grande quantidade de material polimérico pela indústria química em vários produtos como excipientes, fixadores e géis.

Normalmente os polímeros são encontrados em formulações farmacêuticas como excipientes, ou seja, tudo aquilo que não é o princípio ativo de um produto, por exemplo uma cápsula. Existem alguns tipos de cápsulas onde o princípio ativo ocupa toda parte interna, cápsula de alho, ou óleo de fígado de bacalhau, etc. Porém, na maioria dos casos onde o remédio é um princípio ativo sintético, o resto do enchimento da cápsula é algum tipo de material polimérico. Em produtos da indústria alimentícia e de cosméticos os polímeros são utilizados como géis e fixadores. Os géis são utilizados em produtos comestíveis, gelatinas, e em produtos cosméticos, como géis para cabelo.

A propriedade descrita como fixação, também chamada incorporação, ocorre quando o polímero consegue reter ou fixar outras moléculas dentro da sua estrutura. Este efeito pode ser comparado à formação do complexo de inclusão, porque os solutos ficam fixos em uma estrutura maior. O estudo de incorporação⁵⁴ e agregação⁵⁵ de polímeros é importante porque o uso direto deste efeito em formulações industriais pode acarretar uma modificação no modo de administração de produtos de interesse.

O nosso trabalho visa ao estudo da variação do coeficiente de difusão de soluções dos p-hidroxibenzoatos de alquila, parabens, de metil a butilparaben na presença de PEG e Pluronic F108. Este assunto traça um paralelo entre estudos anteriores de Loh¹⁴ e esta tese. No trabalho anterior¹⁴, foram utilizados outros polímeros em concentrações acima da região de concentração micelar crítica (c.m.c). Ou seja, através de experiências anteriores do grupo^{14,54,55}, foi possível nestes últimos anos verificar que polímeros agregam formando estruturas maiores que têm capacidade de interagir com solutos. Assim, como os surfatantes catiônicos, uma pequena diferença de solubilidade na própria molécula pode criar um ambiente propício a formação de estruturas maiores, a partir da associação entre as macromoléculas.

No caso de micelas, a parte mais polar (mais solúvel em água) possui uma tendência a ficar orientada para o meio aquoso, enquanto a parte menos solúvel procura não ficar exposta ao ambiente aquoso. A forma final é bem conhecida. Uma esfera é formada, separando o meio aquoso do interior hidrofóbico. Assim, é formado um ambiente diferente dentro do sistema aquoso. Um local onde moléculas que não possuem boa afinidade com a água podem encontrar melhores condições.

Nesta tese foram utilizadas soluções abaixo da c.m.c. (para F108 0,7%)⁵⁵ e o efeito hidrofóbico foi estudado em polímeros solúveis em água. Os coeficientes de difusão obtidos são listados na Tabela 9. Foram utilizadas soluções de parabens em concentrações conhecidas e os polímeros foram adicionados em diferentes concentrações percentuais (m/m).

Os tempos de retenção utilizados, reflexo da velocidade de escoamento, apresentaram mesmo comportamento do que as soluções aquosas de parabens. A viscosidade aumentou em alguns casos, porém a mudança no coeficiente de difusão não foi proporcional (assumindo a relação de Stokes-Einstein, equação 6), como descrito anteriormente na introdução.

Tabela 10: O coeficientes de difusão dos parabens em soluções contendo polímeros é expresso em $\cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e a viscosidade, em $\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

	água	peg20000 ^{1%}	peg8000 ^{1%}	F 108 ^{0,1%}	peg8000 ^{2,5%}	peg8000 ^{5%}	F 108 ^{0,4%}
metilparaben	8,98	8,02	7,75	8,13	7,21	7,15	8,36
etilparaben	7,95	6,87	7,67	7,02	6,39	6,08	6,84
propilparaben	6,54	5,72	5,90	5,53	5,24	4,36	5,34
butilparaben	5,20	5,24	4,93	4,17	3,89	2,19	2,95
viscosidade	0,894	1,236	1,24	1,145	0,962	1,147	1,006

Dados experimentais com desvio padrão relativo menor que 3%.

Na introdução desta tese foi comentado o uso das equações 9 e 10 para o acompanhamento do efeito de incorporação, definindo-se um parâmetro f (fração de soluto incorporada), que é a razão entre a quantidade de soluto que está dentro do sistema macromolecular e a quantidade de soluto total:

$$f = n_{\text{soluto incorporado}} / n_{\text{totais}} \quad [25]$$

Este fator também pode ser descrito como:

$$f = (D_{\text{água}} - D_{\text{obs}}) / (D_{\text{água}} - D_{\text{complexo}}) \quad [26]$$

onde $D_{\text{água}}$ é o coeficiente de difusão do soluto em solução aquosa diluída. D_{obs} é o observado na presença de polímero, e o D_{complexo} é o coeficiente de difusão para a molécula de polímero contendo as moléculas de soluto incorporadas. Este último pode ser considerado muito próximo do coeficiente de difusão para a macromolécula sozinha, $D_{\text{complexo}} \approx D_{\text{polímero}}$, que por sua vez depende da forma e tamanho do polímero, portanto, é um fator que depende da massa molecular, da temperatura e concentração do polímero. Porém, os resultados obtidos por Leaist⁶, e listados na Tabela 2 para a medida dos coeficientes de difusão de PEG 3400, 6000 e 8000, comprovaram pequena diferença existente para o coeficiente de difusão.

Assumindo-se que $D_{\text{polímero}}$ varia pouco, utilizaremos a relação $(D_{\text{água}} - D_{\text{obs}}) / D_{\text{água}}$ como estimativa da fração de soluto incorporada. A Figura 23 mostra a variação desta relação, para os diversos polímeros, em função dos paraben correspondente da série homóloga. Este fator é uma expressão da intensidade de interação polímero-soluto e o aumento neste fator reflete um aumento na intensidade de incorporação.

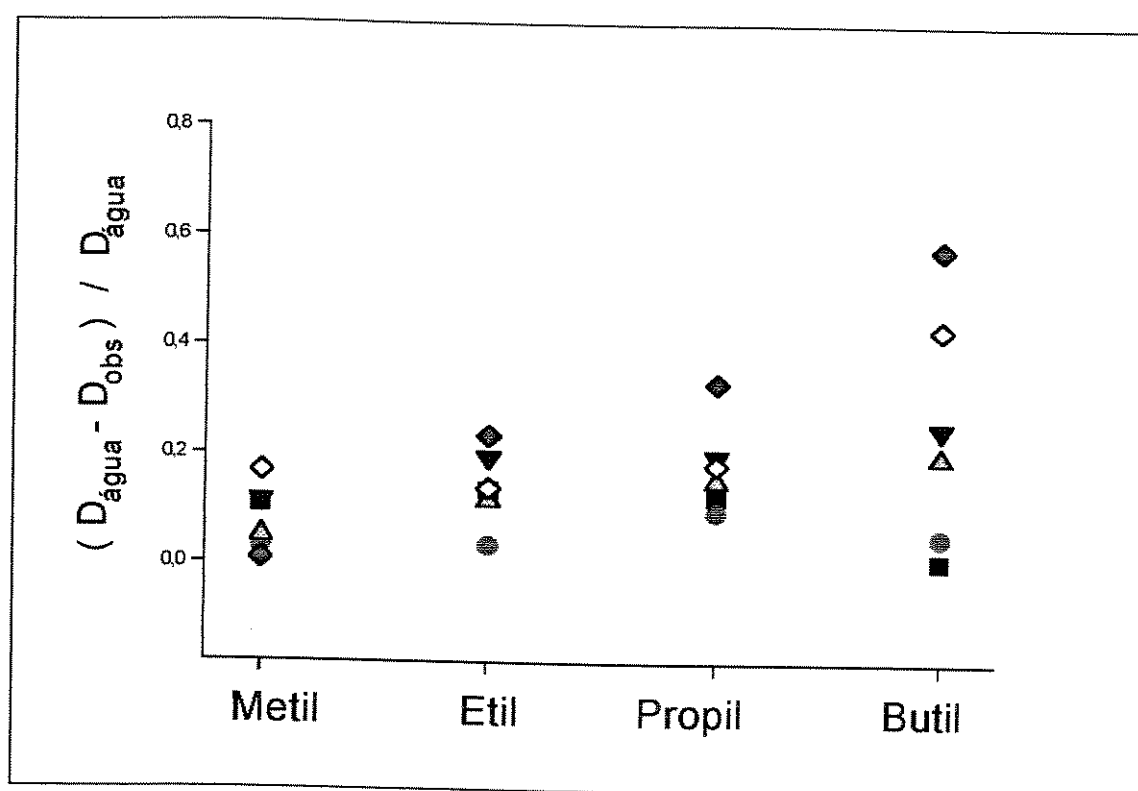


Figura 23: Variação das razões de coeficientes de difusão dos parabens devido a interações com ■ PEG 20000 1% e ● PEG 8000 1% ▲ 2,5% ▼ 5% e ◆ F108 0,1% e ◆ 0,4%.

Utilizando o $D_{\text{polímero}}$, para PEG 8000 na Tabela 2, existente na literatura não ocorre qualquer modificação nos dados expressos na Figura 23, comprovando que o procedimento é correto. Dados sobre estrutura, composição e número de unidades formadoras dos polímeros utilizados, mostrados na Tabela 3, devem ser levados em consideração para análise dos resultados obtidos.

Analisando o gráfico da Figura 23 podemos distinguir dois comportamentos distintos. Um grupo de curvas possui tendência à ascensão, ou seja, o fator $(D_{\text{agua}} - D_{\text{obs}}) / D_{\text{agua}}$ aumenta ao longo da série homóloga. Isto ocorre para as duas concentrações do Pluronic F108 e para PEG8000 2,5%, e esta tendência pode ser explicada pelo efeito hidrofóbico. Os copolímeros bloco ABA, como o F108, possuem grupos PO menos solúveis que os EO localizados na parte central destas macromoléculas que podem formar domínios hidrofóbicos que permitem a incorporação de moléculas hidrofóbicas. O resultado obtido para PEG8000, em concentrações acima de 2,5%, é muito importante por que fica evidenciado que polímeros com estruturas abertas também podem apresentar efeito hidrofóbico. Estas estruturas são normalmente espiral ou globular dependendo da concentração e da temperatura, e podem apresentar algum tipo de domínio hidrofóbico.

O outro grupo de curvas, representadas pelos outros PEG's, possuem uma inclinação negativa e um comportamento exatamente contrário em comparação ao primeiro grupo. O arranjo estrutural dos PEG's é o de uma espiral, e esta tendência pode ser um reflexo de uma incompatibilidade do arranjo estrutural entre as macromoléculas e o butilparaben. Assim como foi observado neste trabalho sobre o tamanho do grupo butil em relação a cavidade da β -ciclodextrina, neste caso o tamanho da uma hélice da espiral é maior para o PEG 20000 o que poderia ser uma razão para que não ocorra uma incorporação seguindo o efeito hidrofóbico. O PEG 8000 2.5% deve estar em uma conformação mais rígida e fechada que em concentração 1%, isto explicaria por que apresenta efeito hidrofóbico apenas numa concentração maior.

Uma análise dos tempos de retenção obtidos para a difusão dos p-hidroxibenzoatos de alquila em soluções de polímeros deve ser feita para podermos nos certificar que os resultados obtidos não estão afetados por efeito de adsorção dos solutos na parede do aço inoxidável, como foi feito na Figura 13. Assim, podemos nos certificar que os resultados são confiáveis. O gráfico da Figura 24 mostra a variação do tempo de retenção com o número de carbonos do grupo alquil para a série dos p-hidroxibenzoatos de alquila, os dados foram colhidos a uma vazão de $7,5 \text{ ml.h}^{-1}$:

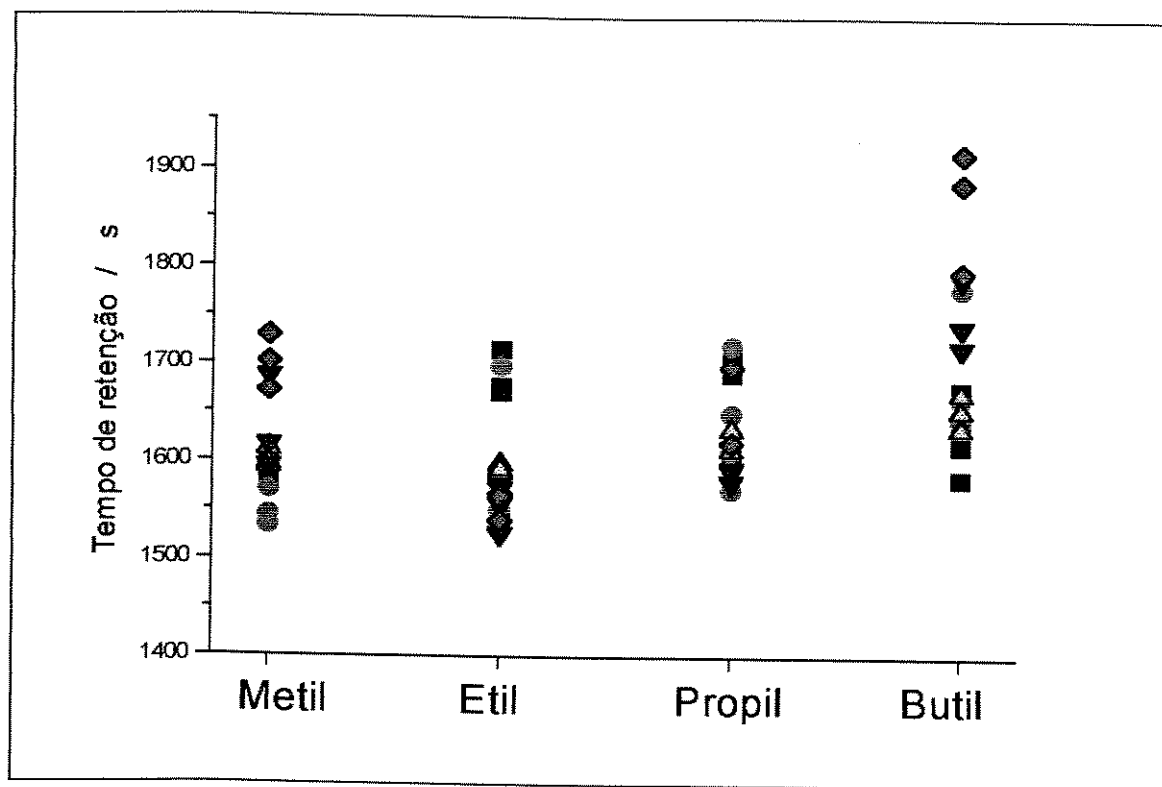


Figura 24: Variação do tempo de retenção para ● PEG 8000 2,5% , ■ 1%, ▲ 20000 1%, e ▼ F108 0,1% e ◊ F108 0,4%.

Da mesma maneira que a difusão em solução aquosa diluída, dos parabens, neste caso, foi observado um aumento gradativo dos tempos de retenção, principalmente para os solutos menos solúveis e em soluções de polímeros mais hidrofóbicos. Isto pode ser explicado por um aumento na tendência à adsorção devido à interação soluto-polímero. Assim, com o aumento do número de sítios de adsorção, dado pelas moléculas de polímero que também ficam adsorvidas na superfície da coluna de aço inoxidável, ocorre um ligeiro aumento no tempo de retenção. Porém, como foi discutido anteriormente, este efeito parece não afetar a medida dos coeficientes de difusão.

5. CONCLUSÕES:

Um equipamento para medida de coeficiente de difusão segundo a técnica de Taylor-Aris foi montado, testado e aplicado ao estudo de interações soluto-macromoléculas. Os resultados obtidos para medida do coeficiente de difusão dos parabens em água comprovou que o equipamento montado tem qualidade igual ou superior à outros descritos na literatura.

A formação do complexo de inclusão entre os parabens e a β -ciclodextrina pôde ser acompanhada através da modificação do coeficiente de difusão, foram usadas as espécies neutras e os ânions dos parabens. Os resultados obtidos demonstraram um patamar, onde o coeficiente de difusão permaneceu constante mesmo com adições sucessivas de ciclodextrina, para os parabens neutros, exceto butilparaben. E, dois patamares para as espécies ânionicas e o butilparaben neutro. Estes dois patamares foram atribuídos a formação de duas estequiometrias, no primeiro patamar uma primeira molécula de ciclodextrina forma o complexo 1:1 com o soluto e, com o aumento na quantidade de ciclodextrina disponível, ocorre a formação do complexo 1:2 soluto:ciclodextrina.

Os resultados obtidos tanto para o complexo 1:1, como o 1:2, e a medida dos coeficientes de difusão das espécies em água (alfa e gama-ciclodextrinas) foram coerentes com estudos reportados na literatura.

Os resultados obtidos para os polímeros foram comparados com estudos anteriores do grupo. A incorporação em micelas de copolímero-bloco já havia sido estudada e o efeito hidrofóbico caracterizado. Para estruturas organizadas como micelas esta verificação não é surpreendente, porém nesta tese foi comprovada a existência de efeito hidrofóbico nos copolímeros bloco abaixo da c.m.c. e para polímeros hidrosolúveis em solução aquosa PEG 8000 2,5 e 5%, Estas observações concordam com dados recentes obtidos por Polveri e van der Ven⁵⁷ sobre agregação de PEG. Neste trabalho foi comprovado que a agregação entre moléculas de PEG é progressiva, depende da concentração e massa molecular dos polímeros.

Pôde ser verificado ainda que a intensidade com que estes efeitos ocorrem depende diretamente do número de unidades EO, em termos de concentração de unidades no espaço tridimensional (densidade de unidades). Esta dependência do efeito hidrofóbico com o número de unidades, concentração de polímero, pode ser entendida imaginando-se dois cilindros iguais e não expansíveis, em cada um deles é colocada uma quantidade de elásticos de maneira que um cilindro tem o dobro de número de elásticos que o outro. Se o espaço está mais preenchido em um dos cilindros, ao colocarmos quantidades iguais de clips em cada um dos cilindros o mais concentrado poderá reter mais facilmente um número maior de clips, assim a incorporação será mais eficiente e o efeito hidrofóbico mais pronunciado por que quanto maior o clips mais facilmente ele ficará agarrado em alguma parte do elástico. O cilindro é um espaço imaginário dentro das dimensões atômicas, o elástico os polímeros e os clips as moléculas de soluto.

O conjunto de resultados contidos nesta tese e aqui descritos, principalmente a determinação das estequiometrias de complexos de inclusão com a β -CD e as informações obtidas sobre a conformação, estado de agregação e efetividade de incorporação, comprovam a importância e o potencial de aplicação futuro da técnica de Taylor no estudo de interações entre solutos e macromoléculas em fase líquida.

6. BIBLIOGRAFIA:

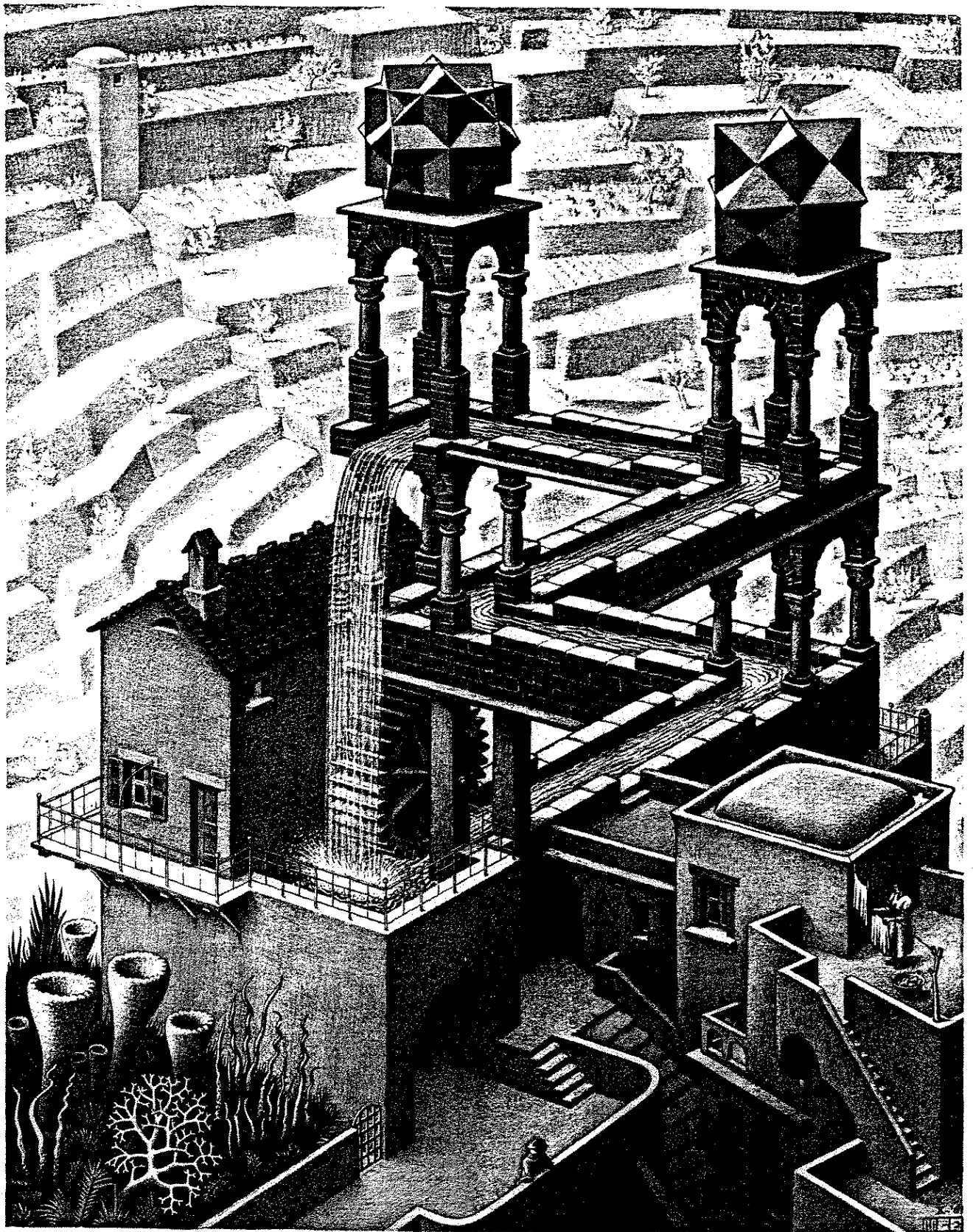
- 1 Lehn, J-M Supramolecular Chemistry, VCH, UK, 1995.
- 2 Cussler, E. L., Mass transfer in fluid systems Part I Fundamentals of Diffusion, Cambridge University press, Cambridge, UK, 1984.
- 3 Einstein, A, Dover Publ., Inc, New York, 1926.
- 4 Evans, D. F. e Tominaga, T., *J. Chem. Phys.* 1981, 15, 1295
- 5 Gierer, A. e Wirtz, K. *Naturf* , 1953, 8A, 532.
- 6 Leaist, D. G. e Hao, L. , *J. Phys. Chem.*, 1994, 98, 4702.
- 7 Chan, M. L. and Chan, T. C., *J. Phys. Chem.*, 1995, 99, 5765.
- 8 Chan, M. L. and Chan, T. C., *J.Chem.Soc. Faraday Trans.*, 1992, 88, 2371.
- 9 Tominaga, T.; Nishinaka, M., *J.Chem.Soc. Faraday Trans.*, 1993, 89, 3459.
- 10 Yonezawa, T. , Tominaga, T. e Toshima, N. , *Langmuir*, 1995, 11(12), 4601.
- 11 Mayzel, O.; Cohen, Y. *J.Chem.Soc., Chem. Commun.* , 1994, 1901
- 12 Mayzel, O.; Cohen, Y. *J.Chem.Soc., Chem. Commun.* , 1995, 1183.
- 13 Mayzel, O.; Cohen, Y, Gafni, A. . *J.Chem.Soc., Chem. Commun.* , 1996, 1901
- 14 Mayzel, O.; Cohen, Y., Gafni, A. *Chem. Commun.* , 1997, 911.
- 15 Loh, W. , Beezer, A. E. e Mitchell, J. C., *Langmuir*, 1994, 3431.
- 16 Beezer, A. E.; Gooch, C. A.; Hunter, W. H.; Volpe, P. L. O., *J. of Pharm. Pharmacol.*, 1987, 39, 774.
- 17 Tonegutti, C. Dissertação de mestrado, Claudio Universidade Estadual de Campinas, 1990.

- 18 Tyrell, M. J. V. e Harris, K. R., *Diffusion in Liquids* , Butterworths Monographs in Chemistry. London, 1984.
- 19 Paduano, L.; Sartorio,R.; Vitagliano, V. e Constantino, L., *J. Solution Chem.* 1990, 1, 31.
- 20 Paduano, L.; Sartorio,R.; Vitagliano, V. e Constantino, L., *J. Solution Chem.* 1995, 2,1143
- 21 Paduano, L.; Sartorio,R.; Vitagliano, V. e Constantino, L., e Albright, J. G.; Miller, D. G. e Mitchell, J., *J. Phys. Chem.* , 1990, 94 , 6885.
- 22 Paduano, L.; Sartorio,R.; Vitagliano, V. e Constantino, L., e Albright, J. G.; Miller, D. G. e Mitchell, J., *J. Phys. Chem.* , 1992, 96 , 7478.
- 23 Stilbs, P. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectroscopy* , 1987, 19 , 1.
- 24 Altieri, A. S.; Hinton, D. P. e Byrd, R. A., *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 7566.
- 25 Altieri, A. S.; e Byrd, R. A, *J. Magn. Reson., Ser. B*, 1995, 107, 260.
- 26 Taylor, G. I. *Proc. Royal Soc. London ser I*, 1953 , 219,185.
- 27 Aris, R. , *Proc. Royal Soc. London ser I*, 1956 , 235, 67.
- 28 Alizadeth, A. , Nieto de Castro, C. A. e Wakeham, W. A. *Intern. J. of Thermophys.*,1980, 3, 243.
- 29 Wisnudel, M. B. e Torkelson, J. M. , *AIChE J.* 1996, 4, (42), 1157.
- 30 Silva, R. C. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, em andamento.
- 31 Bello, M. S.; Rezzonico, R.; Righetti, P. G., *Science*, 1994, 266, 773.

32. Loh, W., Tonegutti, C. A. e Volpe, P. L. O., *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 1993, **89**(1), 113.
33. Robach, M. C. e Pierson, J. *Food Sci.*, 1978, **43**, 787. Citado em Dymicky, M. e Huhtanen, C. N., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1979, 798.
34. Hirai, K., *Yakugaku Zasshi*, 1957, 1276, 1279, 1282. idem ao 33.
35. Macias, C. Hope, M. P. e deLeon S. H., *An. Esc. Nac. Cienc. Biol. Mexico City*, 1963, **12**, 1.
36. Loh, W. e Volpe, P. L. O., *J. Colloid and Interface Science*, 1992, **154**(2), 369.
37. Madras, G., Hamilton e Matthews, M. A., *Int. J. Therm.*, 1996, **17**(2), 373.
38. Wood, D. J., Hruska, F. E. e Saenger, W., *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, **99**(6), 1735.
39. Inclusion Compounds, Acad. Press, London, 1994.
40. Saenger, W., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1980, **19**, 344.
41. J. Szejtli, Inclusion Compounds, Acad. Press, London, 1994, Cap. 11, 331.
42. Bergeron, R. J., *J. Chem. Educ.*, 1977, **54**(4), 204.
43. Connors, K. *Chem. Reviews*, 1997, **97**, 1325

44. Salvatierra, D. , Jaime, C., Virgili, A. e Sánchez-Ferrando, F. , *J. Org. Chem.*, 1996, 61, 9578.
45. Botsi, A. , Perly, B. e Hadjoudis, E., *J. Chem. Soc. Perkin Tans. 2*, 1997, 89.
46. Ivanov, P. M. , Salvatierra, D. e Jaime, C. , *J. Org. Chem.* , 1996, 61, 7012.
47. Lee, C., Moon, M. S. e Park, J. W., *J. Eletroanal. Chem.* , 1996, 407, 161.
48. Grabner, G., Monti, S., Marconi, G., Meyer, B., Klein, C. e Kohler, G., *J. Phys. Chem.*, 1996, 100, 20068.
49. Stam, J. van, Feyter, S. De, Schryver, F. C. De e Evans, C. H., *J. Phys. Chem.*, 1996, 100, 19959.
50. Pistolis, G. , Gegiou, D. e Hadjoudis, E., *J. Photochem. and Photobio. A: Chemistry* 93, 1996, 179.
51. Li, M-X, Li, N-Q, Gu, Z-N, Zhou, X-H, Sun, Y-L e Wu, Y-Q, *Electrochim. Acta*, 1996, 18, 2897.
52. Hallen, D. , Schon, A. , Schehatta, I. e Wadso, I. , *J. Chem. Soc. Faraday Trans* 1992, **88**(19), 2859. e Bastos, M. , Briggner, L.-E., Shehatta, I. e Wadso, I. , *J. Chem. Thermody* , 1990, 22, 1181. entre outros.

53. Oguchi, T. , Tereda, K. Yamamoto, K. e Nakai, Y. , *Chem. Pharm. Bull.*, 1989, 37(7), 1881, Nakai, Y. , *drug Development and Industrial Pharmacy*, 1986, **12**(7), 1017. entre outros.
54. Manzanares, M. I. , V. Solís e Rossi, R. H. , *J. Eletroanal. Chem.* 407, 1996, 141.
55. Benzamimm, S. *Langmuir*, 1995, **11**, 414
56. Lopes, J. R., Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de campinas, em andamento.
57. Polvieri, M. e van der Ven, T. G. M. , *J. Phys. Chem.* , 1996, **100**, 13687.



76.
Waterval
Waterfall