

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICO-QUÍMICA

INTERAÇÃO DE PIGMENTOS BIOLÓGICOS  
COM AGENTES TENSO-ATIVOS

Tese submetida à Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do grau de MESTRE EM CIÊNCIAS.

MARLY PREVIATTI

FLORIANÓPOLIS  
SANTA CATARINA - BRASIL  
JANEIRO - 1983

## INTERAÇÃO DE PIGMENTOS BIOLÓGICOS COM AGENTES TENSO-ATIVOS

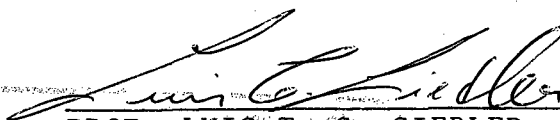
MARLY PREVIATTI

Esta dissertação foi julgada e aprovada em sua forma final pelo Orientador e membros da Banca Examinadora.



PROF. LAVINEL G. IONESCU, Ph.D.

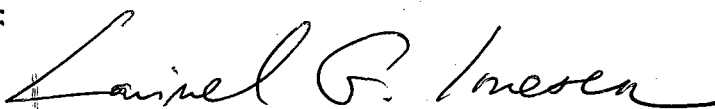
ORIENTADOR



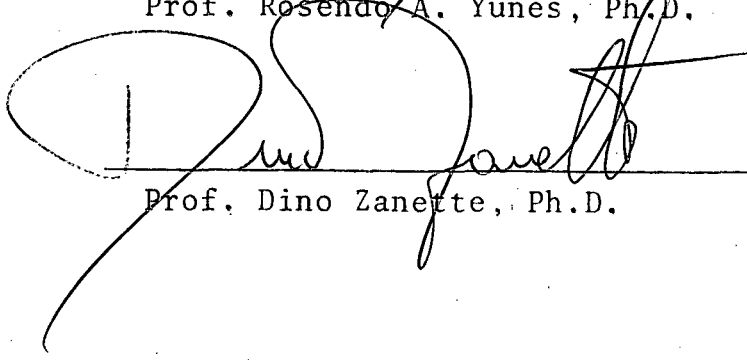
PROF. LUIS T. S. SIEDLER, Ph.D.

COORDENADOR

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Lavinel G. Ionescu, Ph.D.

  
Prof. Rosendo A. Yunes, Ph.D.  
Prof. Dino Zanette, Ph.D.

Aos meus pais  
e irmãos

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Lavinel G. Ionescu pela compreensão e pelo paciente trabalho de orientação.

Aos meus amigos do Laboratório de Química de Superfícies pelo companheirismo e estímulo.

Aos colegas e funcionários do Curso de Pós-Graduação em Físico-Química.

Ao CNPq, FINEP e a Sarmisegetuza Research Group, Las Cruces e Santa Fe, New Mexico, U.S.A., pelo auxílio financeiro.

B I O G R A F I A

## 1. DADOS PESSOAIS

Nome : Marly Previatti

Filiação : Luiz Previatti e Maria Margarida G. Previatti

Data de Nascimento : 06 de junho de 1955

Local de Nascimento: Aquidaban - Paraná

## 2. FORMAÇÃO ACADEMICA

Primário : Grupo Escolar "Itacilina Bittencourt"  
Cianorte - Paraná

Ginásio : Colégio Cianorte  
Cianorte - Paraná

Científico: Colégio Cianorte  
Cianorte - Paraná

Normal Colegial: Colégio "Cândido Portinari"  
Cianorte - Paraná

Superior : Universidade Estadual de Maringá  
Maringá - Paraná

RESUMO

As interações dos pigmentos biológicos porfirina, ftalocianinas e carotenos com surfactantes em água foram estudadas principalmente através de métodos de espectroscopia e tensoimetria.

O espectro da porfirina em água pura apresenta três bandas características: a banda intensa de Soret ou banda  $\gamma$ , a cerca de 400 nm, a banda  $\alpha$ , aproximadamente 10 vezes menos intensa que a banda  $\gamma$ , ocorrendo a cerca de 550 nm e a banda  $\beta$  aparecendo como uma saliência vibrônica a cerca de 510 nm.

Confirmou-se que para soluções aquosas de porfirina contendo brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) em concentrações acima da concentração crítica micelar (CMC) o espectro é muito diferente. Este, consiste de quatro bandas ( $Q_{x1}$ ,  $Q_{x2}$ ,  $Q_{y1}$  e  $Q_{y2}$ ) distintas a cerca de 500, 530, 570 e 620 nm, respectivamente, as quais resultam do desdobramento das bandas visíveis  $\alpha$  e  $\beta$ . Este fenômeno indica que existe uma interação específica entre o CTAB na forma de micelas e a porfirina.

Magnésio e manganês ftalocianina são insolúveis em água pura. Entretanto, são solúveis em vários solventes orgânicos como N,N-dimetilformamida (DMF); N,N-dimetilacetamida - (DMA); dimetilsulfóxido (DMSO); metanol; etanol; benzeno e soluções aquosas de etanol; piridina; 1,10-fenantrolina; ácido clorídrico e outros. Coeficientes de extinção determinados para alguns solventes são: DMF,  $\epsilon = 1,62 \times 10^4$ ; DMA,  $\epsilon = 1,81 \times 10^4$  e DMSO,  $\epsilon = 0,58 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . A partir de amostras

sólidas de ftalocianina foi demonstrado que micelas de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), cloreto de cetilpiridínio (CPCl), éter de lauril-23-polioxi-etileno (Brij-35) e éter p-tertoctil-fenilpolioxi-etileno (Triton X-100) são boas solubilizadoras deste pigmento respiratório. Por exemplo, para uma solução aquosa  $20,0 \times 10^{-4} \text{M}$  de CTAB foi atingida uma solubilidade de aproximadamente 0,080 g por litro. Por outro lado, surfactantes como lauril sulfato de sódio (NaLS) e cloreto de palmitil-carnitina (PCCl) são solubilizadores menos eficientes.

A interação da magnésio ftalocianina em soluções aquosas de surfactantes não é muito sensível à adição de sais. Com base nesta observação e nos resultados já descritos para porfirinas mostrando um efeito contrário, sugere-se que a solubilização das ftalocianinas acontece através da incorporação do pigmento biológico no interior da micela.

Os carotenos  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  foram extraídos a partir de cenouras, sendo  $\beta$ -caroteno o componente mais comum. O espectro dos carotenos apresenta três bandas distintas na região visível a cerca de 425, 450 e 475 nm, correspondendo a cada componente. Verificou-se que o extrato de carotenos é insolúvel em água e solúvel principalmente na presença de micelas dos surfactantes Triton X-100 e CTAB. Por exemplo, uma solução aquosa de 1,00% por volume de Triton X-100 a  $25^{\circ}\text{C}$  solubiliza eficientemente 1 g de carotenos por litro.

Os resultados do presente estudo são importantes porque, além de levar a um entendimento melhor das propriedades físico-químicas dos pigmentos biológicos estão relacionadas com processos de transferência e armazenagem de energia.

ABSTRACT

The interaction of biological pigments such as porphyrin, phthalocyanine and carotenes with surfactants in water has been studied mainly by means of spectroscopic and tensiometric techniques.

The porphyrin spectrum in pure water has three distinct bands: the intense Soret or  $\gamma$ -band at about 400 nm, the  $\alpha$ -band, about ten times less intense than the  $\gamma$ -band occurring at about 550 nm and the  $\beta$ -band appearing as a vibronic shoulder at about 510 nm.

It was confirmed that the spectrum of aqueous solution of porphyrin containing cetyltrimethylammonium bromide above the critical micellar concentration (CMC) is considerably different. It consists of four distinct bands ( $Q_{x1}$ ,  $Q_{x2}$ ,  $Q_{y1}$  and  $Q_{y2}$ ) at about 500, 530, 570 and 620 nm, respectively. These bands result from the splitting of the  $\alpha$  and  $\beta$ -bands in the visible. This phenomenon indicates that there is a specific interaction between CTAB in the form of micelles and the porphyrin.

Magnesium and manganese phthalocyanine are insoluble in pure water. Nevertheless, they are soluble in various organic solvents such as N,N-dimethylformamide (DMF); N,N-dimethylacetamide (DMA); dimethylsulfoxide (DMSO); methanol; ethanol; benzene and aqueous solution ethanol; pyridine, 1,10-phenanthroline; hydrochloric acid and others. Extinction coefficients determined for some solvents are: DMF,  $\epsilon = 1.62 \times$



$10^4$ ; DMA,  $\epsilon = 1.81 \times 10^4$  and DMSO,  $\epsilon = 0.58 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Using solid samples of phthalocyanine, it was shown that micelles of cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), cetylpyridinium chloride (CPCl), lauryl-23-polyoxyethylene ether (Brij-35) and p-tertoctylphenylpolyoxyethylene ether (Triton X-100) are good solubilizers of this biological pigment. For example, a solubility of about 0.080 g/l was obtained for an aqueous solution of  $20.0 \times 10^{-4} \text{ M}$  CTAB. On the other hand, surfactants such as sodium lauryl sulfate (NaLS) and palmityl carnitine chloride (PCCl) are less efficient solubilizers.

The interaction of magnesium phthalocyanine in aqueous solutions of surfactants is not very sensitive to the addition of salts. On the basis of this observation and the results already described in the literature for porphyrins showing the opposite effect, we suggest that the solubilization of phthalocyanine occurs through incorporation of this biologic pigment in the interior of the micelle.

The compounds  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ -carotene were extracted from carrots, being  $\beta$ -carotene the predominant component. The spectrum of the carotene extract contains three bands in the visible region at about 425, 450 and 475 nm, corresponding to each component. It was shown that the carotene extract is insoluble in water but it is soluble in mainly in the presence of micelles of Triton X-100, CTAB and Brij-35. For example, an aqueous solution of Triton X-100 (1% by volume) solubilizes effectively 1 g of carotene per liter.

The results of the present work are important

because, in addition to leading to a better understanding of the physical and chemical properties to biological pigments, they are related to processes of transfer and storage of energy.

ÍNDICE GERAL

	<u>PÁG.</u>
CAPÍTULO I - PROPÓSITO DO ESTUDO .....	1
CAPÍTULO II - INTRODUÇÃO .....	2
2.1 - Pigmentos Respiratórios .....	2
2.2 - Porfirinas .....	7
2.3 - Ftalocianinas .....	21
2.4 - Carotenóides .....	27
2.5 - Modelos de Membranas e Transferência de Energia .....	30
2.6 - Interações de Porfirinas com Surfactantes .....	36
CAPÍTULO III - PARTE EXPERIMENTAL .....	42
3.1 - Materiais Usados .....	42
3.2 - Preparação das Soluções de Porfirina em Água e CTAB .....	44
3.3 - Preparação das Soluções de Ftalocianina em Vários Solventes e em Água na Presença de Surfactantes .....	44
3.4 - Extração de Carotenos .....	45
3.5 - Determinação dos Espectros das Soluções de Porfirina, Ftalocianinas e Carotenos .....	47

CAPÍTULO IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
4.1 - Interação de Porfirina com Brometo de Cetiltri metilamônio em Soluções Aquosas .....	48
4.2 - Interação e Solubilização de Ftalocianinas em Vários Solventes e Soluções Aquosas de Surfac tantes .....	55
4.2.1 - Espectro de Ftalocianinas em Vários Solven tes .....	55
4.2.2 - Espectro de Ftalocianinas em Soluções Aquo sas na Presença de Outros Compostos .....	66
4.2.3 - Solubilização de Magnésio Ftalocianina na Presença de Micelas de Brometo de Cetiltrim etilamônio (CTAB) .....	70
4.2.4 - Solubilização de Magnésio Ftalocianina em So luções Aquosas de Vários Surfactantes .....	72
4.2.5 - Estudos dos Efeitos Salinos Sobre os Espec tros de Magnésio Ftalocianina em Soluções A quosas de Surfactantes .....	79
4.3 - Provável Mecanismo da Solubilização de Magné sio Ftalocianina em Soluções Aquosas de Surfac tantes .....	82
4.4 - Solubilização de Carotenos em Soluções Aquo sas de Agentes Tenso-Ativos .....	84
CAPÍTULO V - CONCLUSÕES .....	90
CAPÍTULO VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	92

ÍNDICE DE FIGURAS

	<u>PÁG.</u>
FIG. 1 - Estrutura geral de um amino ácido e uma ligação peptídica .....	5
FIG. 2 - Estrutura de uma metaloporfirina .....	5
FIG. 3 - Estrutura esqueleto da porfirina, a porfina..	9
FIG. 4 - Estrutura da protoporfirina IX, tipo 3 .....	10
FIG. 5 - Estruturas de porfirina ácida e metaloporfirina .....	12
FIG. 6 - Parâmetros da estrutura esqueleto da porfirina .....	13
FIG. 7 - Estrutura da ferroprotoporfirina IX .....	14
FIG. 8 - Diagrama dos níveis de energia do anel porfirínico .....	16
FIG. 9 - Estrutura da magnésio porfirina ou clorofila .....	18
FIG. 10 - Estrutura da vitamina B <sub>12</sub> .....	19
FIG. 11 - Estrutura molecular de uma porfirina, ftalocianina e metaloftalocianina .....	23
FIG. 12 - Estrutura eletrônica mostrando a posição aproximada e ordenando os orbitais da ftalocianina	

na e orbitais <u>d</u> no ligando metal central ....	24
FIG. 13 - Representação qualitativa dos orbitais moleculares para a ftalocianina .....	25
FIG. 14 - a) Fôrmla estrutural do $\alpha$ -caroteno .....	28
b) Fôrmla estrutural do $\beta$ -caroteno .....	28
FIG. 15 - Análise qualitativa do alcance de captação de energia na região visível (em parte, segundo Ref. 1) .....	29
FIG. 16 - Esquema de cristal líquido ou modelo de proteína cristal da membrana .....	32
FIG. 17 - Diagrama de um liposoma .....	33
FIG. 18 - Esquema do sistema de vesículas de surfactante usado para a produção catalítica fotosensibilizada de hidrogênio na presença de EDTA..	37
FIG. 19 - Estrutura dos surfactantes utilizados .....	43
FIG. 20 - Espectros de absorção de porfirina em soluções aquosas a 25°C .....	49
FIG. 21 - Espectros de absorção de porfirina em soluções aquosas de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), a 25°C .....	51
FIG. 22 - Gráficos da intensidade das bandas $Q_x$ e $Q_y$ da porfirina em função da concentração de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), em água a 25°C..	53

- FIG. 23 - Espectro de absorção de soluções de magnésio ftalocianina em N,N-dimetilformamida a 25°C.. 56
- FIG. 24 - Espectro de absorção de soluções de magnésio ftalocianina em N,N-dimetilacetamida a 25°C.. 57
- FIG. 25 - Espectro de absorção de soluções de magnésio ftalocianina em dimetilsulfóxido a 25°C ..... 58
- FIG. 26 - Gráfico de absorbância versus concentração para soluções de magnésio ftalocianina em N,N-dimetilformamida a 25°C ..... 60
- FIG. 27 - Gráfico de absorbância versus concentração para soluções de magnésio ftalocianina em N,N-dimetilacetamida a 25°C ..... 61
- FIG. 28 - Gráfico de absorbância versus concentração para soluções de magnésio ftalocianina em dimetilsulfóxido a 25°C ..... 62
- FIG. 29 - Espectros de absorção de magnésio ftalocianina ( $\sim 1,00 \times 10^{-4}M$ ) e manganês ftalocianina ( $\sim 9,30 \times 10^{-5}M$ ) em etanol absoluto a 25°C... 63
- FIG. 30 - Espectros de absorção de magnésio ftalocianina ( $\sim 2,70 \times 10^{-5}M$ ) em metanol e ( $\sim 3,00 \times 10^{-5}M$ ) em benzeno a 25°C ..... 65
- FIG. 31 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina ( $\sim 1,40 \times 10^{-5}M$ ) em soluções aquosas de ácido clorídrico (38% em peso) a 25°C ..... 67

- FIG. 32 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina (~  $1,60 \times 10^{-5}M$ ) em solução aquosa de etanol (20% vol.) a  $25^{\circ}C$  ..... 68
- FIG. 33 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina (~  $3,20 \times 10^{-5}M$ ) em soluções aquosas de piridina a diferentes concentrações a  $25^{\circ}C$  ..... 69
- FIG. 34 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina na presença de micelas de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) em diferentes concentrações a  $25^{\circ}C$  ..... 71
- FIG. 35 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina na presença de micelas de cloreto de cetilpiridínio (CPCl) em diferentes concentrações a  $25^{\circ}C$  ..... 73
- FIG. 36 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina na presença de micelas de éter de lauril-23-polioxi-etileno (Brij-35) em diferentes concentrações a  $25^{\circ}C$  ..... 74
- FIG. 37 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina na presença de micelas de éter p-tertoctilfenilpolioxi-etileno (Triton X-100) em diferentes concentrações a  $25^{\circ}C$  ..... 76
- FIG. 38 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina na presença de micelas de lauril sulfato de sódio (NaLS) em diferentes concentrações a  $25^{\circ}C$  ..... 77



- FIG. 39 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina na presença de micelas de cloreto de palmitil carnitina (PCCl) em diferentes concentrações a 25°C ..... 78
- FIG. 40 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina ( $\sim 5,00 \times 10^{-5} \text{M}$ ) na presença de CTAB (0,010M) e NaCl em diferentes concentrações a 25°C ... 80
- FIG. 41 - Espectro de absorção de magnésio ftalocianina ( $\sim 8,50 \times 10^{-5} \text{M}$ ) na presença de Brij-35 (0,50% em peso) e NaCl em diferentes concentrações a 25°C ..... 81
- FIG. 42 - Espectro de absorção de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -carotenos em solvente Skelly B (Ligroina (40° - 60°C) - Acetona) a 25°C ..... 85
- FIG. 43 - Espectro de absorção de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -carotenos a várias concentrações em benzeno a 25°C ..... 86
- FIG. 44 - Espectro de absorção de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -carotenos a várias concentrações em ciclohexano a 25°C... 87
- FIG. 45 - Espectros de absorção de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -carotenos em soluções aquosas contendo vários surfactantes a 25°C ..... 89

ÍNDICE DE TABELASPÁG.

TAB. I - Intensidade das bandas $Q_{x1}$ , $Q_{x2}$ , $Q_{y1}$ e $Q_{y2}$ da porfirina $5,00 \times 10^{-6}$ M em função da concentração de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) a $25^{\circ}\text{C}$ .....	52
--	----

C A P Í T U L O I

## PROPÓSITO DO ESTUDO

O presente trabalho foi desenvolvido tendo em vista os seguintes objetivos:

1 - Confirmação do desdobramento das bandas  $\alpha$  e  $\beta$  e estudo detalhado da interação entre porfirina e modelos simples de membranas fornecidos por micelas de brometo de cetil trimetilamônio (CTAB) em soluções aquosas.

2 - Estudo do processo de solubilização de ftalocianinas, mais especificamente manganês e magnésio ftalocianina em soluções aquosas na presença de micelas de vários tipos de surfactantes.

3 - Estudo da solubilização de carotenos em soluções aquosas na presença de micelas de diferentes surfactantes.

## C A P Í T U L O    I I

### INTRODUÇÃO

#### 2.1 - PIGMENTOS RESPIRATÓRIOS

A grande variedade de cores e de tonalidades da natureza é devida à presença de substâncias pigmentares nos tegumentos (BIOCROMOS) ou a estruturas especiais que modificam e decompõem as radiações luminosas que neles incidem (QUEMOCROMOS). A cor dos pigmentos se deve à sua propriedade de absorver, de modo eletivo, a energia do espectro visível em certos comprimentos de onda.

Os BIOCROMOS podem também ser designados QUIMIOCROMOS para indicar sua natureza química. São pigmentos naturais pertencentes aos carotenóides, flavinas, tetrapirróis, antraquinonas, naftoquinonas, pterinas, flavonóis, melaninas, purinas e derivados indólicos. Estão quase todos ligados a um suporte protéico, ainda que também possam ser encontrados livres nas células e em fluidos orgânicos.

Os pigmentos mais importantes para os seres vivos são derivados tetrapirrólicos, que compreendem a clorofila nos vegetais e as hemoproteínas e citocromos nos animais (1-10).

No nosso planeta a vida depende da presença dos pigmentos clorofilianos, os quais captam a energia luminosa do sol e a utilizam na síntese de carboidratos e demais compostos que vão servir de alimento aos animais.

Os processos de obtenção e transferência de energia dentro da célula são decorrentes da presença de compostos porfirínicos como os citocromos.

Os carotenóides, por sua vez, tem larga distribuição nos animais e vegetais e possuem em geral função de fotorreceptores, assim como as flavinas que se encontram conjugadas na natureza, constituindo as flavoproteínas ou proteínas amarelas. A maioria dos pigmentos carotenóides encontra-se sobretudo nos invertebrados. Os carotenóides e seus derivados são responsáveis pelas cores vivas que esses animais apresentam.

Os QUEMOCROMOS ou cores estruturais ocupam também um lugar importante no estudo da biocromatologia. É nos insetos e nas aves que se encontram os principais tipos de quemocromos. Em geral acham-se associados aos BIOCROMOS, contribuindo para produzir variadas tonalidades de rara beleza.

Os pigmentos respiratórios existentes em quase todos os organismos multicelulares do reino animal e em muitas plantas leguminosas são usados para o transporte e intercâmbio de gases como o oxigênio, dióxido de carbono e outros (1-16).

Os pigmentos respiratórios mais comuns são: mioglobina, hemoglobina, hemeritina, hemocianina e hemoglobina leguminosa; todos vermelhos e contendo ferro. A hemocianina, porém, é uma exceção, pois é azul, não possui um heme normal e contém cobre aos invés de ferro (11-16).

Em geral um pigmento respiratório consiste de dois componentes: uma proteína básica sem cor chamada globina e um grupo prostético chamado heme, o qual é responsável pela cor do pigmento. Quando ácidos ou bases são adicionados ao pigmen

to, estes dois componentes separam-se facilmente.

A globina é composta por uma série de amino ácidos ligados por ligações peptídicas e a sequência dos mesmos varia de espécie para espécie (Figura 1).

O grupo prostético é composto de um íon ferroso e uma protoporfirina, tipo 3, número IX. A ferroprotoporfirina IX é comumente conhecida por heme. No heme, o íon ferroso encontra-se envolto por quatro anéis pirrólicos (7-13). Dois átomos de nitrogênio de dois anéis pirrólicos ligam-se com o íon ferroso; as outras duas posições são ocupadas pela globina e uma molécula de gás interagindo com o pigmento ou pela água (Figura 2).

O número de oxidação comum do ferro no estado natural é +2 e os compostos geralmente são chamados de ferrohemo-proteínas. Uma vez extraída, ou em soluções aquosas, o íon ferroso é rapidamente oxidado para +3 e os compostos são chamados ferrihemoproteínas ou metemoproteínas.

A mioglobina é um dos pigmentos respiratórios mais simples e está relacionada com o transporte do oxigênio no músculo. É encontrada nas células musculares de vertebrados e tem um peso molecular de mais ou menos 17.000. Consiste de um grupo protéico básico chamado globina e um grupo prostético chamado heme. É uma molécula extremamente compacta e as dimensões máximas são mais ou menos  $45 \times 35 \times 25 \text{ \AA}$ . A globina está envolvida por uma configuração parcialmente  $\alpha$ -helical.

A hemoglobina é encontrada nos eritrócitos de muitos vertebrados e é considerada aproximadamente como um tetrâmero da mioglobina contendo quatro cadeias polipeptídicas, sendo

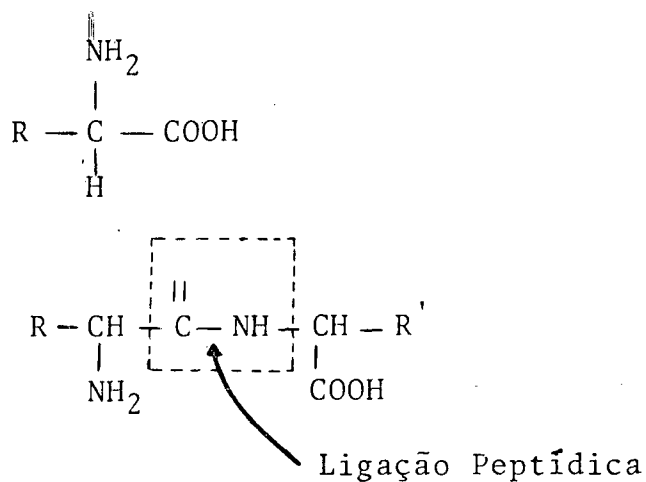


FIGURA 1 - ESTRUTURA GERAL DE UM AMINO ÁCIDO E UMA LIGAÇÃO PEPTÍDICA.

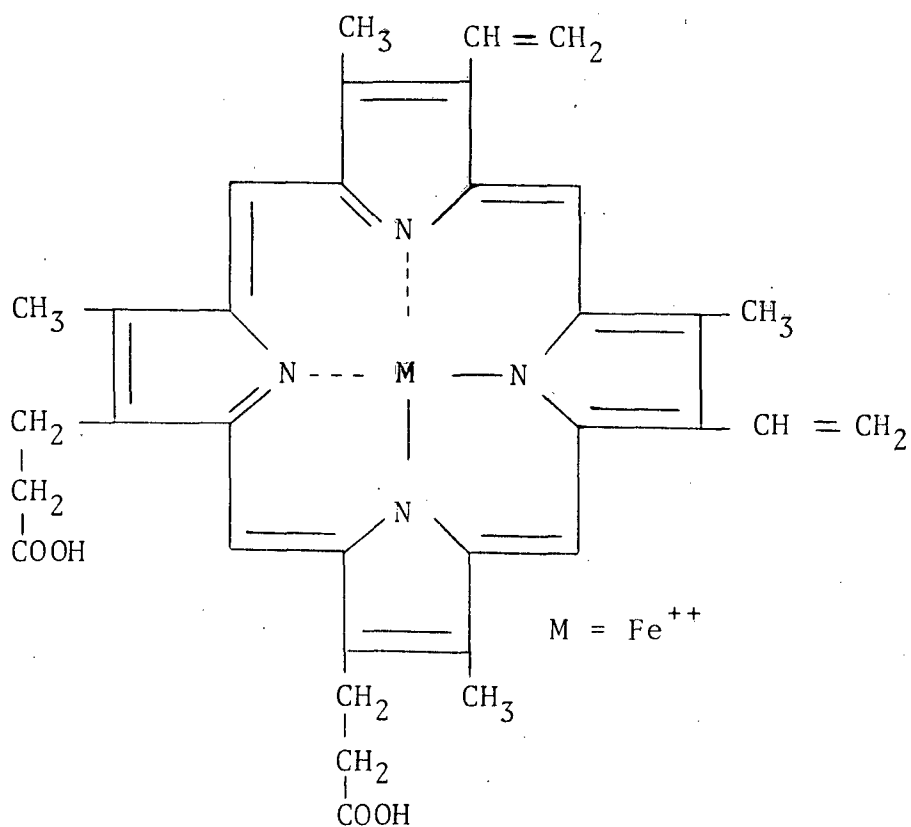


FIGURA 2 - ESTRUTURA DE UMA METALOPORFIRINA

duas  $\alpha$  e duas  $\beta$ , respectivamente, cada uma ligada a um grupo heme. Ela tem um peso molecular aproximado de cerca de 68.000 daltons. Os amino-ácidos das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  variam consideravelmente de espécie para espécie.

Hemeritricinas são pigmentos respiratórios encontrados em vermes sipunculídeos ou moluscos (11). A molécula de hemeritricina é um octâmero que não contém heme mas possui mais ferro do que a hemoglobina por unidade de monômero.

Hemocianinas são pigmentos respiratórios azuis, não possuem heme e contêm cobre ao invés de ferro como átomo de metal. Eles são encontrados no plasma de muitos crustáceos e moluscos (11,16).

Hemoglobina leguminosa é um pigmento respiratório encontrado nos nódulos das raízes de muitas plantas leguminosas. O pigmento vermelho da hemoglobina leguminosa, foi primeiramente descoberto por Kubo em 1939 e foi mais tarde confirmado pelo trabalho de Virtanen (17), Keilin e Wang (18). A hemoglobina leguminosa é constantemente encontrada no interior de nódulos crescendo nas raízes e em associação com bactérias, usualmente do gênero Rhizobium leguminosarum. A exata localização da legoglobina no nódulo foi determinada por autorradiografia de microscopia eletrônica. Os resultados dos estudos feitos por Dilworth e Kidby (19) com Fe radioativo indicaram que a leghemoglobina está localizada entre a parede do bacteróide e a membrana da planta localizada na vizinhança da bactéria.

A molécula deste pigmento consiste de um heme contendo um átomo de ferro e uma globina proteínácea. O valor do peso molecular comumente aceito é 16 - 17.000.



Ewing e Ionescu (20), em seus estudos sobre a interação da hemoglobina leguminosa com nitrogênio e xenônio, investigaram também algumas propriedades físicas e químicas desta hemoproteína (21). A taxa de troca do ferro em ferrileghemoglobina, ferrimioglobina e ferrihemoglobina com  $^{59}\text{Fe}$  foi medida em meio aquoso ácido. Os resultados experimentais, indicando trocas de 1 - 3% para ferrileghemoglobina, são comparáveis para as outras duas hemoproteínas e contribuem para a idéia substancial de que o átomo de ferro do grupo heme da hemoglobina leguminosa encontra-se em uma vizinhança similar aos átomos de ferro em mioglobina e hemoglobina.

## 2.2 - PORFIRINAS

O estudo dos sistemas porfirínicos tem avançado apreciavelmente nos últimos anos. A determinação detalhada da estrutura das porfirinas e metaloporfirinas por difração de raios X têm contribuído grandemente para a compreensão das propriedades físicas e químicas da molécula de porfirina. As porfirinas estão relacionadas com o transporte de elétrons até o oxigênio (pelos sistemas citocrômicos); com a atividade catalítica da catalase e peroxidase e estão relacionadas com a fotossíntese (1-12). O papel das porfirinas é muito importante na economia da célula e talvez seja a classe mais importante de compostos que possuem um ligante metal em sistemas biológicos.

A estrutura esqueleto das porfirinas é uma PORFINA. O nome porfina vem do grego porphyros, que significa vermelho, a cor característica destas substâncias. O núcleo porfina con

siste de quatro anéis pirrólicos, unidos por quatro pontes metínicas ( $-C=$ ), originando um macrociclo tetrapirrólico. As pontes metínicas são:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ .

O sistema de dupla ligação é altamente conjugado e as duplas ligações não são determinadas de forma definida, já que a estrutura é um sistema ressonante com várias estruturas possíveis (22-28). O sistema possui nominalmente 22 elétrons  $\pi$ , mas somente 18 desses são incluídos na ressonância, que por sua vez é uma ressonância interna. Isto está de acordo com a regra de Hückel  $4n + 2$  para que haja aromaticidade (Figura 3).

As diferentes porfirinas são derivadas da porfina pela substituição de algumas ou de todas as várias posições que possui. Na natureza a porfirina mais comum é a Protoporfirina IX e é um dos quinze isômeros possíveis. É encontrada em pigmentos respiratórios. Os anéis pirrólicos da porfina possuem substituintes metilas nas posições 1, 3, 5 e 8; grupos vinilas nas posições 2 e 4 e  $-CH_2-CH_2-COOH$  nas posições 6 e 7 (Figura 4). A meso-tetrafenilporfina é apenas uma porfirina sintética empregada como modelo para as porfirinas que ocorrem naturalmente.

As diferentes porfirinas derivam não apenas dos vários grupos e cadeias laterais ligadas nos anéis pirrólicos, mas também do tipo de metal central e nesse caso, são chamadas metaloporfirinas ou porfirinas metálicas.

As porfirinas podem aceitar dois íons hidrogênicos formando um diácido +2 ou podem doar dois prótons para formarem um ânion -2. É na forma de ânion que as porfirinas complexam-se com íons metálicos, geralmente dipositivos, para formarem

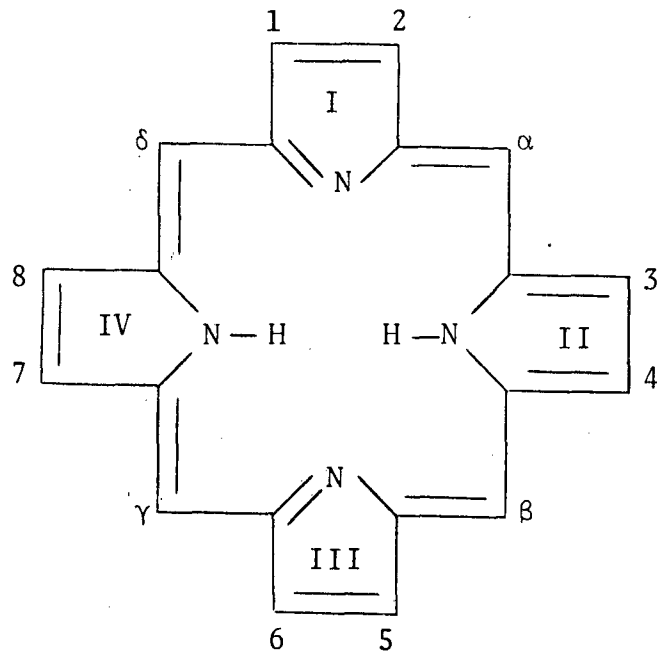


FIGURA 3 - ESTRUTURA ESQUELETO DA PORFIRINA,  
A PORFINA.

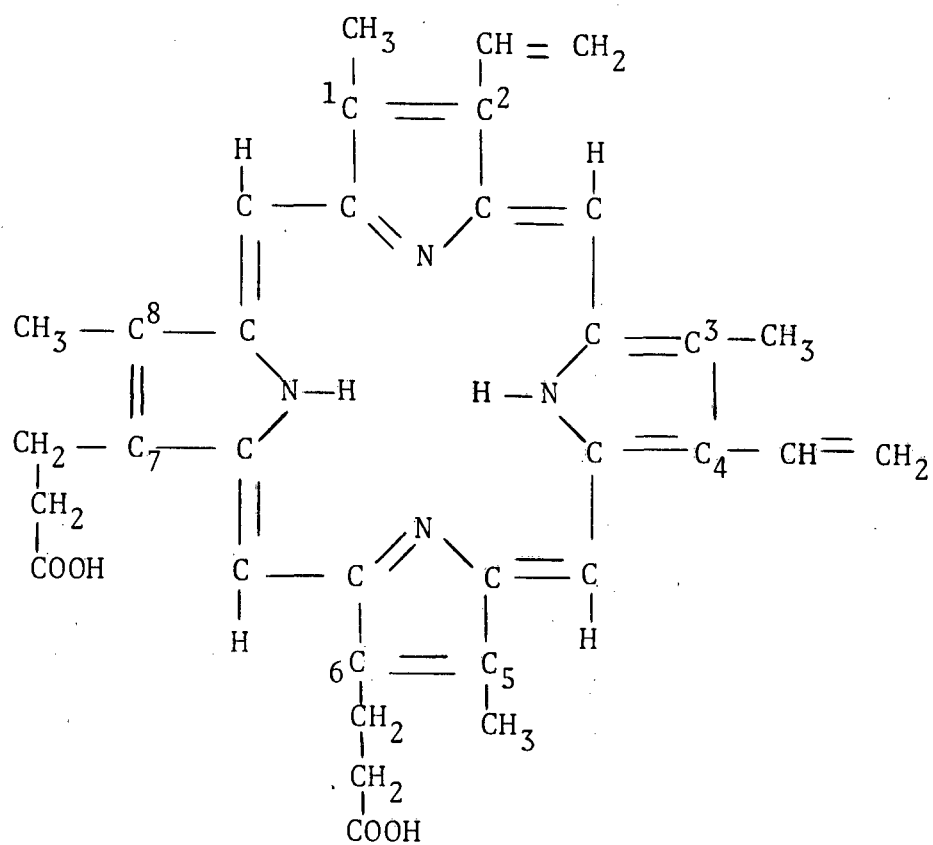


FIGURA 4 - ESTRUTURA DA PROTOPORFIRINA IX, TIPO 3.

os complexos porfirínicos metálicos (Figura 5).

Pode-se estimar a distância de uma ligação entre o nitrogênio e um átomo dos metais de transição de  $2,0 \text{ \AA}$ . Portanto, o tamanho do "buraco" do centro do anel porfirínico é ideal para acomodar metais da primeira série de transição. O sistema porfirínico é bastante rígido e a distância metal-nitrogênio varia de  $1,95 \text{ \AA}$  no Ni-porfirina para  $2,1 \text{ \AA}$  no Fe(III)-porfirina (Figura 6).

Os metais encontrados nos tetrapirrôis, bioquimicamente funcionais são: ferro (no hemo); magnésio (na clorofila) e cobalto (nas cobalaminas, tetrapirrôis modificados) (29-32).

O hemo é uma ferro-porfirina. Como vimos, a protoporfirina IX possui substituintes metilas nas posições 1, 3, 5 e 8, grupos vinilas em 2 e 4 e  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$  em 6 e 7. Caso os nitrogênios pirrólicos estejam coordenados com o ferro, então, a porfirina é denominada ferroprotoporfirina IX (22-28).

É encontrada na natureza como um grupo prostético de pigmentos respiratórios tais como: hemoglobina, mioglobina e leghemoglobina e é chamada de heme ou hematoporfirina. O átomo central é tetracoordenado e encontra-se sob o estado de oxidação +2 (Figura 7).

A porfirina do citocromo C é uma protoporfirina IX com os grupos vinilas ligados nos grupos SH da cisteína na proteína.

Em 1883, uma banda de intensa absorção, em torno de 400 nm, foi observada pela primeira vez na hemoglobina por Soret; esta mesma banda foi detectada em porfirinas por Gamgee. Verificou-se que a banda de Soret aparecia em todos os deriva-

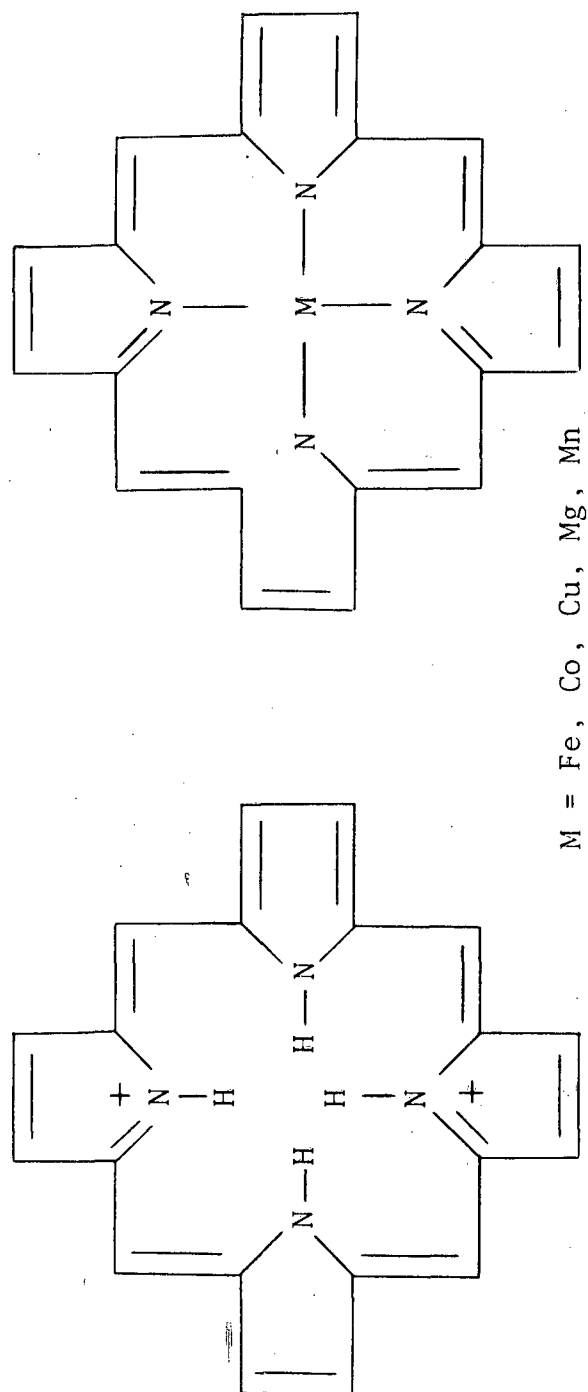


FIGURA 5 - ESTRUTURA DE PORFIRINA ÁCIDA E METALOPORFIRINA

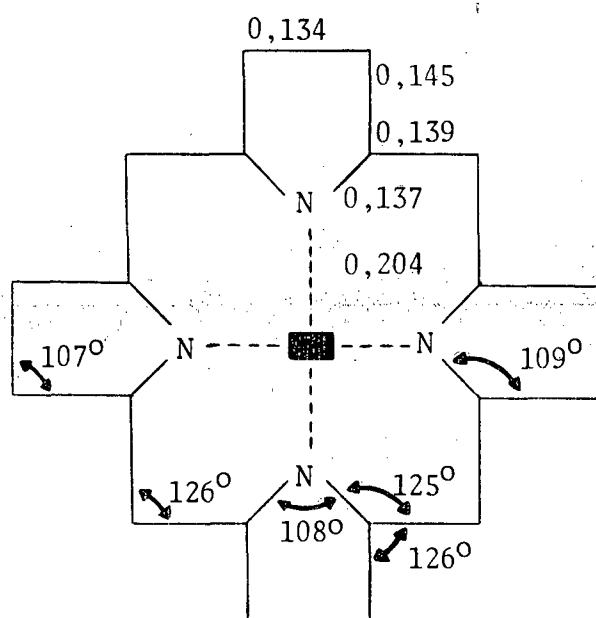


FIGURA 6 - PARÂMETROS DA ESTRUTURA ESQUELETO DA PORFIRINA.

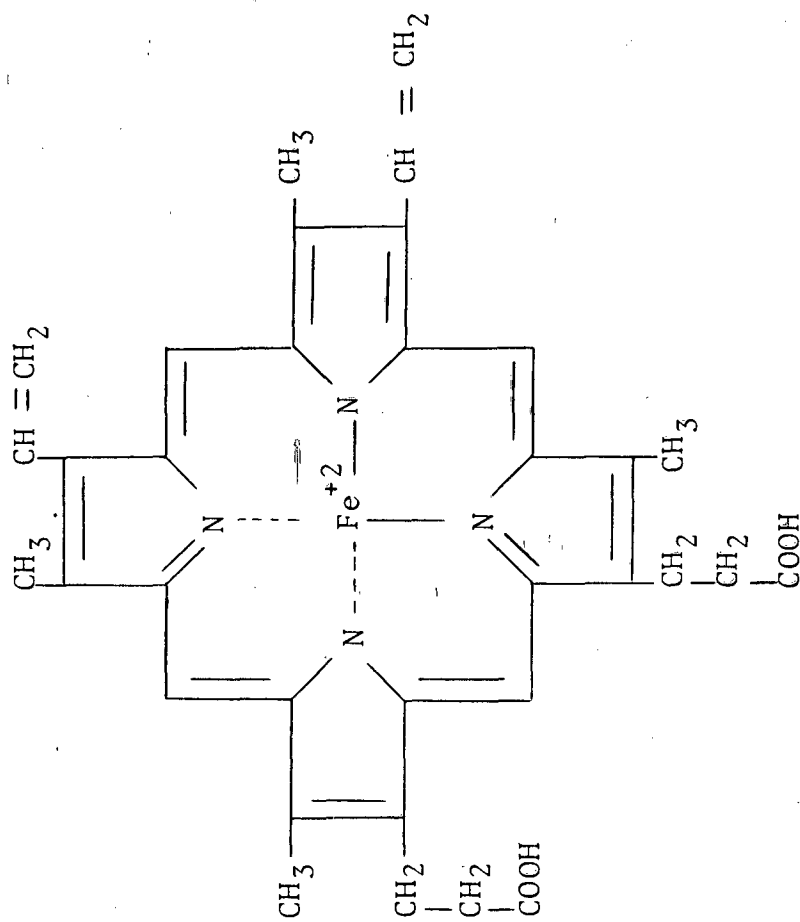


FIGURA 7 - ESTRUTURA DA FERROPROTOPORFIRINA IX.



dos da porfirina, sendo que os valores de absorvidade molar variavam numa faixa de  $2$  a  $5 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Esta banda é denominada também de banda  $\gamma$ . (22-28).

O anel porfirínico é enquadrado no grupo de simetria  $D_{4h}$  e as transições na região de  $350 - 620 \text{ nm}$  são essencialmente transições eletrônica  $\pi - \pi^*$ , sendo que as transições energéticas altas correspondem à banda de Soret ou  $\gamma$  ( $400 \text{ nm}$ ), e as transições energéticas baixas correspondem às bandas  $\alpha$  e  $\beta$ , as quais encontram-se ao redor de  $550 \text{ nm}$  e são cerca de 10 vezes menos intensas que a banda de Soret (22-28). Um diagrama dos níveis de energia do anel porfirínico é dado na Figura 8.

Além das funções já mencionadas, as porfirinas tem uma importância fundamental em problemas relacionados com a origem da vida (31), metabolismo, vastas aplicações em células solares ou fotovoltaicas. Existem muitos trabalhos tratando deste assunto (32-50).

A clorofila é uma magnésio-porfirina enquanto o hemo é uma ferro-porfirina. Os quatro átomos de nitrogênio das pirrolas estão coordenados a um átomo central de magnésio. As clorofilas são encontradas nos cloroplastos das plantas verdes. São moléculas fotorreceptoras e portanto responsáveis pela fotossíntese. O principal fotorreceptor nos cloroplastos é a clorofila a, uma tetrapirrola substituída (1-6,10,14). A estrutura do anel porfirínico da clorofila difere da do hemo em vários aspectos:

- uma das pirrolas encontra-se parcialmente reduzida.
- contém um anel ciclopentanona unido ao anel pirrólico III.

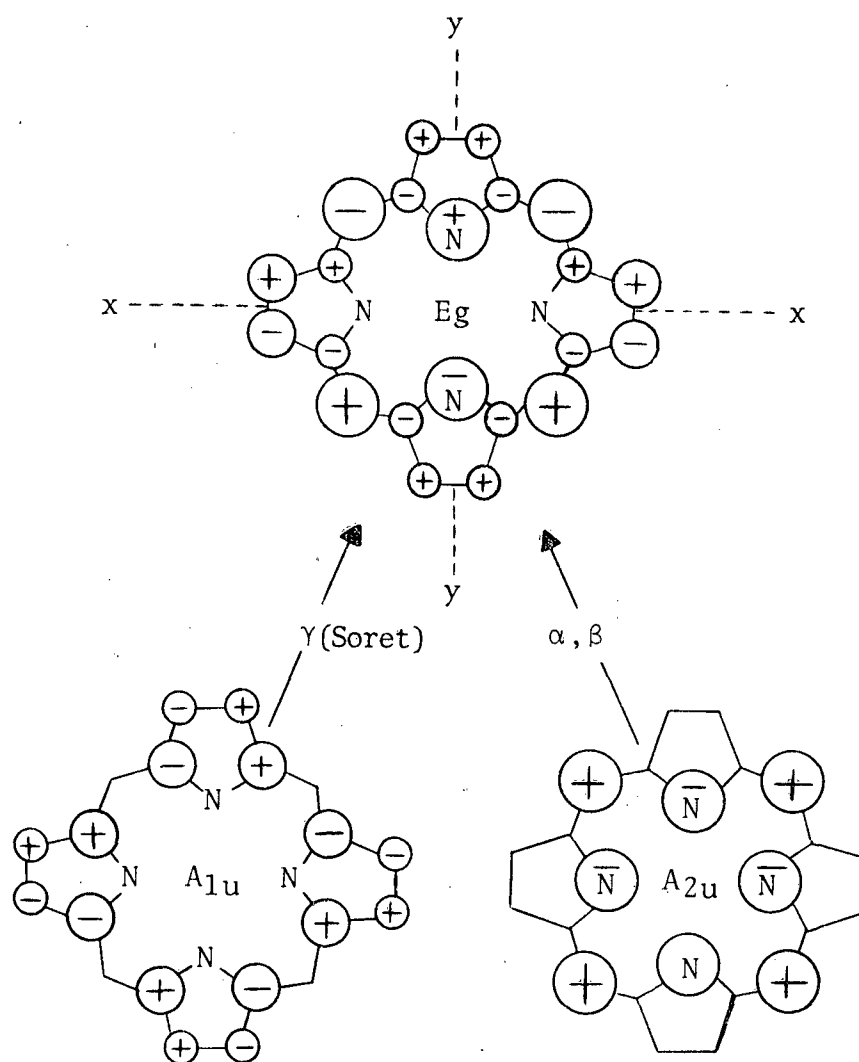


FIGURA 8 - DIAGRAMA DOS NÍVEIS DE ENERGIA DO ANEL PORFIRÍNICO. (22-24)

- ambas as cadeias laterais ácidas na clorofila estão esterificadas, enquanto no hemo estão livres. Uma das cadeias ácidas na clorofila é um éster metílico, enquanto a outra é um éster do fitol ( $C_{20}H_{39}OH$ ). Este álcool de cadeia longa consiste de quatro unidades isoprenóides que o torna altamente hidrofóbico.
- a clorofila a difere da clorofila b em um substituinte num dos pirróis. Na clorofila b, existe um grupo formila no lugar de um grupo metila (Figura 9).

As clorofilas são fotorreceptoras eficientes devido conterem uma rede de ligações simples e duplas alternadas. Possuem faixas de absorção muito fortes na região visível do espectro.

A clorofila a tem duas bandas bem definidas a aproximadamente 420 nm e 680 nm. A clorofila b também possui duas bandas bem definidas a comprimentos de onda um pouco diferentes, ou seja, 460 nm e 650 nm (1-6,10,14). Os coeficientes de extinção máximos das clorofilas a e b são superiores a  $10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ .

A luz que não é sensivelmente absorvida pela clorofila a, em 460 nm, é capturada pela clorofila b, que tem intensa absorção neste comprimento de onda. As duas espécies de clorofilas complementam-se na absorção da luz solar incidente. Existe uma região espectral, de 500 - 600 nm, onde a absorção da luz é relativamente fraca, porém a maioria das plantas não precisam captar luz nesta região, pois uma quantidade suficiente é absorvida nas partes azul e vermelha do espectro (1-6).

A vitamina  $B_{12}$  é uma porfirina modificada (Figura 10).

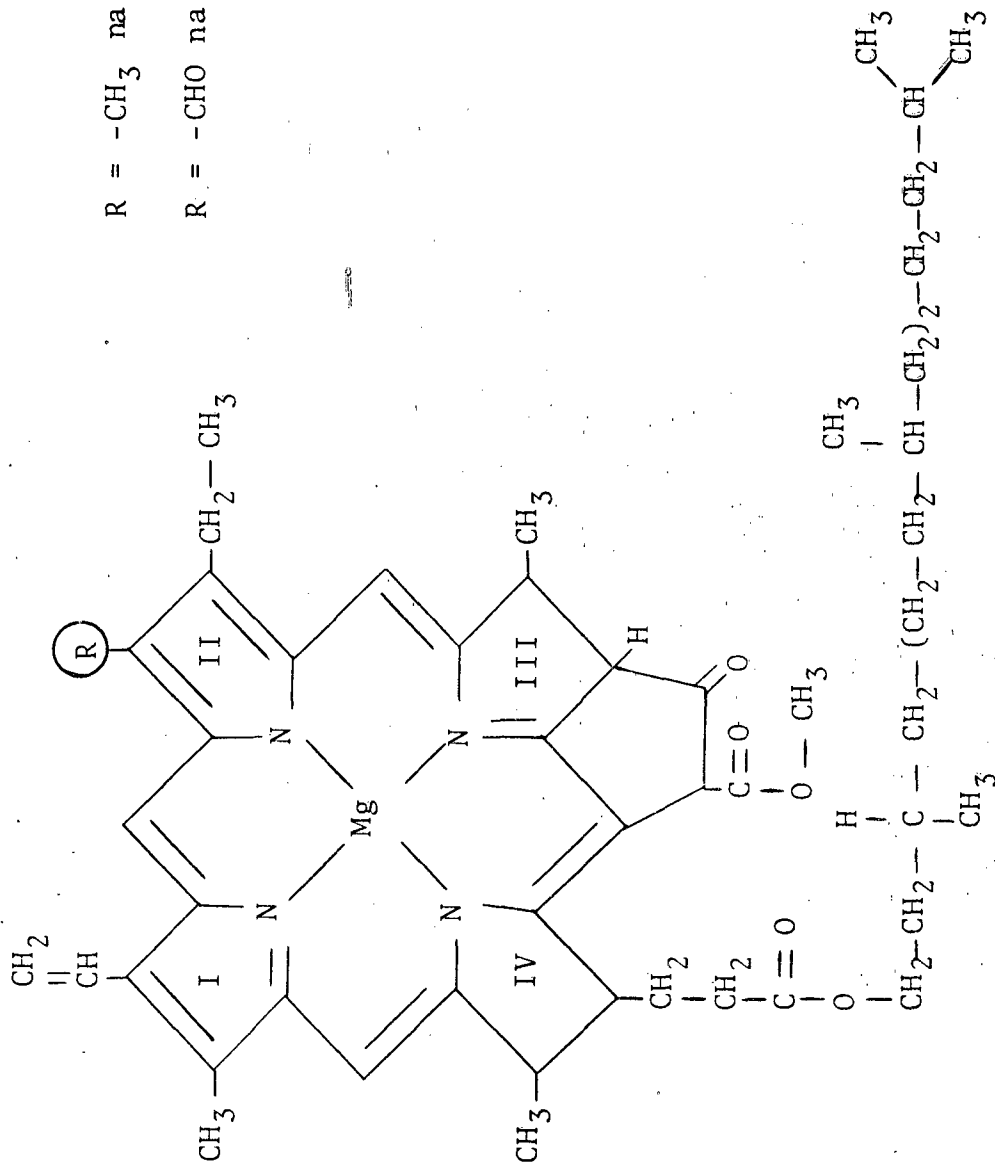
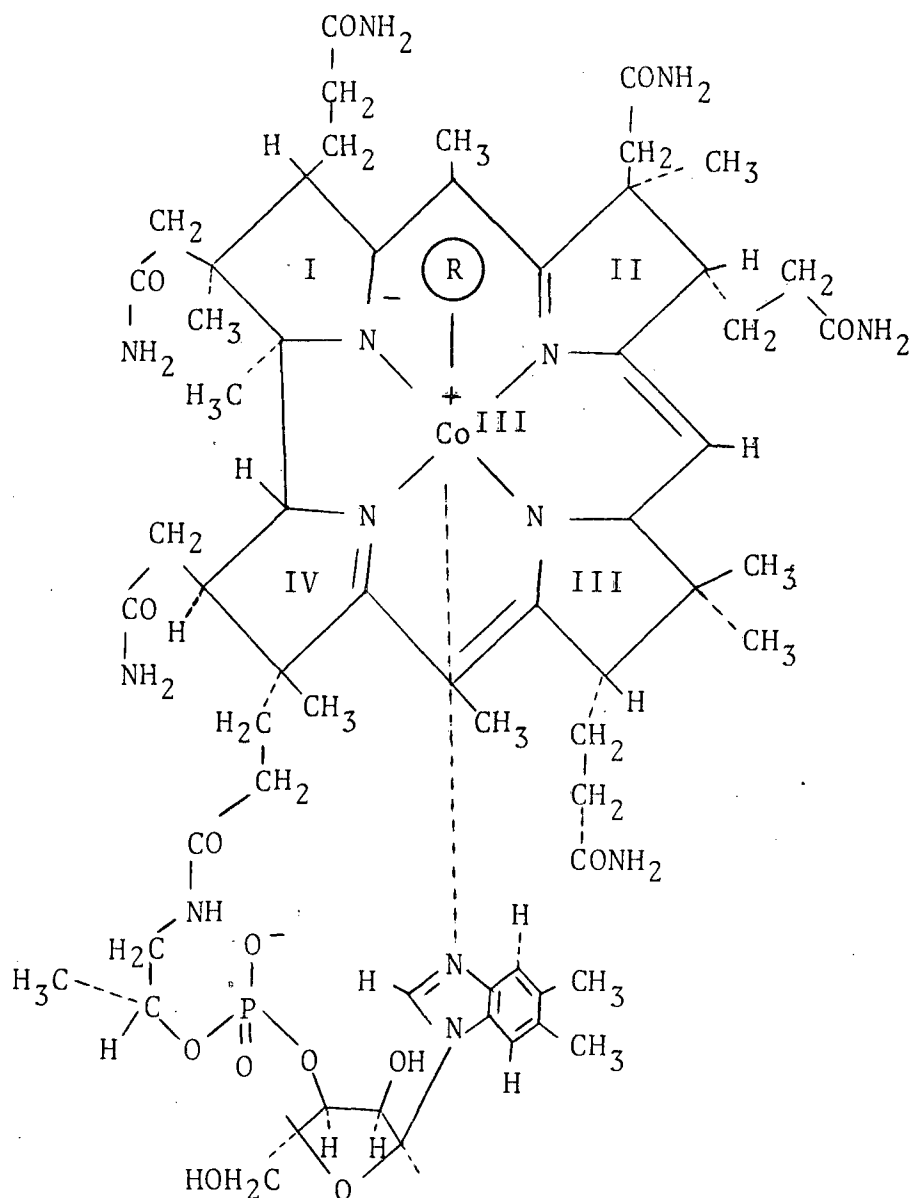


FIGURA 9 - ESTRUTURA DA MAGNÉSIO PORFIRINA OU CLOROFILA.



5ª Posição: R = CN<sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O, etc...

6ª Posição. α-5,6-dimetilbenzimidazol

FIGURA 10 - ESTRUTURA DA VITAMINA B<sub>12</sub>.

Sua estrutura tridimensional é conhecida com detalhes. Corresponde a um complexo cujo átomo central é o cobalto (III) ligado a quatro grupos pirrólicos, através dos nitrogênios destes anéis.

Os quatro anéis pirrólicos formam um ligante tetra-dentado macrocíclico denominado de anel corrínico. A difração de raios X revelou que o anel corrínico não é bem planar, sendo que sua planaridade depende dos grupos ligados na periferia do anel. Não é bem planar também devido a falta de conjugação, sendo portanto quase flexível, facilitando as trocas de confi-guração (1-6).

Uma análise entre o anel porfirínico e o corrínico, indica que o último possui deficiência de elétrons  $\pi$ , visto que o anel porfirínico possui 22 elétrons  $\pi$ , enquanto o corrí-nico tem apenas 14 elétrons  $\pi$ . E além disso, há interrupção parcial da conjugação entre os anéis pirrólicos I e IV, devido à modificação do anel intermediário (de 4 para 5 membros) e da redução da ponte metínica. O sistema apresenta conjugação, no entanto, tem menos ressonância do que as porfirinas e não parece ter aromaticidade, mesmo que tenha  $4n + 2$  elétrons  $\pi$ , pois a conjugação não se estende ao anel inteiro e sim ocorre inter-rupção de deslocamento de orbitais  $\pi$ , além da falta de planaridade (14).

Além dos quatro ligantes equatoriais, a vitamina B<sub>12</sub> tem dois outros ligantes axiais: a quinta posição de coordena-ção que está representada por R representa grupos como CN<sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O, etc., e a sexta posição é ocupada pelo ligante  $\alpha$ -5,6-dimetil-benzimidazol. Quando este último está presente, as molécu

las são denominadas cobalaminas.

Experimentalmente, existe a possibilidade de distinguir a vitamina B<sub>12</sub> nos seus três estados de oxidação através das cores exibidas em solução: B<sub>12a</sub> (Co III) é vermelha; B<sub>12r</sub> (Co II) é marrom e B<sub>12s</sub> (Co I) é verde-cinza. Estas diferenças de cores são reflexos das diferentes regiões de absorção em comprimentos de onda do visível (14).

O espectro da aquocobalamina é caracterizado pelas bandas abaixo de 300 nm, correspondentes às transições  $\pi-\pi^*$  do grupo benzimidazol.

O espectro das cobalaminas é bastante semelhante ao das porfirinas. Nos dois grupos aparecem as bandas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  e está descrito amplamente na literatura (14).

### 2.3 - FTALOCIANINAS

As ftalocianinas são encontradas comumente nas fo<sub>l</sub>has das plantas e atuam como captadores de energia. São de interesse não apenas como compostos modelos para as porfirinas biologicamente importantes, mas também porque os complexos metálicos de cor intensa são de grande uso comercial, como tin<sub>t</sub>as e pigmentos, e também tem propriedades elétricas e êticas muito importantes (51-58).

As ftalocianinas são moléculas obtidas deslocando-se os carbonos  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  das porfirinas por nitrogênios e fusão dos anéis benzênicos nos pirróis. O buraco no anel da ftalocianina é cerca de 10 Å maior que nas porfirinas, como um resultado do maior tamanho do átomo de nitrogênio comparado com

o carbono. São isoeletrônicas com as porfirinas. A fórmula estrutural das ftalocianinas é mostrada na Figura 11.

A estrutura eletrônica das ftalocianinas tem sido o objetivo de muitos tratamentos teóricos. O diagrama dos níveis de energia separados para o metal e a ftalocianina comumente aceito está ilustrado na Figura 12. (58).

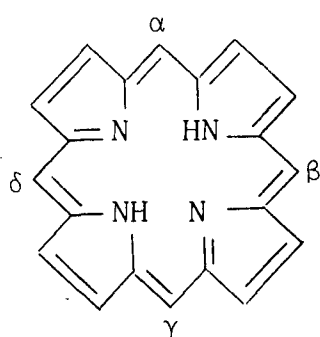
Uma representação qualitativa dos orbitais moleculares para a ftalocianina obtidos por Gouterman e colaboradores, é dada na Figura 13. (56).

As ftalocianinas apresentam duas bandas de absorção  $\alpha$  e  $\beta$  (10,51,56). A banda  $\alpha$  é melhor definida e ocorre a aproximadamente 675 nm, enquanto a banda  $\beta$  ocorre a um comprimento de onda de aproximadamente 610 nm.

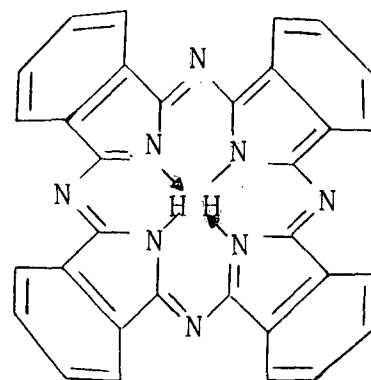
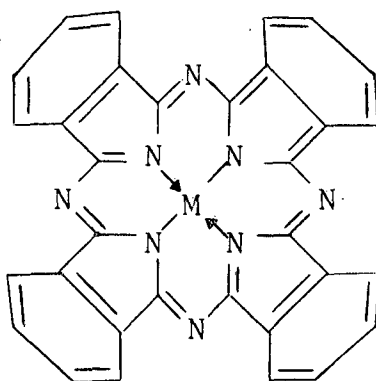
As ftalocianinas representam um sistema ideal de modelo de semicondutores orgânicos, uma vez que a constituição química e a estrutura do estado sólido podem ser influenciados pela troca do sistema porfirazina, do átomo central ou pela modificação do cristal. Existem em diversas formas polimórficas e a modificação do cristal influencia fortemente suas propriedades elétricas e óticas.

A  $H_2Pc$  tem pelo menos três formas polimórficas, das quais as formas  $\alpha$  e  $\beta$  são as mais importantes. A transformação da fase  $\alpha$  para a  $\beta$  em películas ou camadas finas foi investigada amplamente. Uma fase de transição ferroelétrica de primeira ordem foi reportada na forma  $\alpha$  e outra na forma  $\beta$  da  $H_2Pc$  (51-58). Existe também um grande interesse nas propriedades optoeletrônicas das ftalocianinas coloridas. Por exemplo, películas de ftalocianina livre de metal ( $H_2Pc$ ) são usadas para





PORFIRINA

FTALOCIANINA (H<sub>2</sub>Pc)

METALOFTALOCIANINA (MPc)

FIGURA 11 - ESTRUTURA MOLECULAR DE UMA PORFIRINA,  
FTALOCIANINA E METALOFTALOCIANINA.

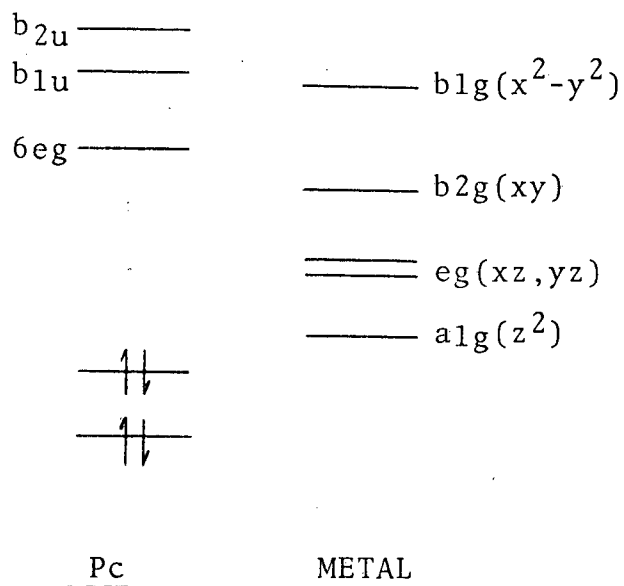


FIGURA 12 - ESTRUTURA ELETRÔNICA MOSTRANDO A POSIÇÃO APROXIMADA E ORDENANDO OS ORBITAIS DA FTALOCIANINA E ORBITAIS  $d$  NO LIGANDO METAL (58).



fotosensibilizar Se e SiO<sub>2</sub>, Se em aplicações xerográficas, e SiO<sub>2</sub> em fototransistores-MOS espectralmente sensitivos. Películas similares de ftalocianinas e porfirinas afetam a produção de energia das células solares ou fotovoltaicas, com uma variedade de substratos semicondutores.

Películas de CuPc sobre Si aumentam a modulação fotovoltaica e diminuem a transmissão de energia do elétron. As células solares feitas de películas de MgPc possuem uma eficiência fotovoltaica de 0,01% (53-58).

A fotovoltagem a uma alta intensidade de saturação e o tempo de relaxação associado com esta fotovoltagem foi medido para uma variedade de ftalocianinas em membranas e os resultados são: H<sub>2</sub>Pc (10.60 mV, 25.3 msec.); NiPc (10.99 mV, 43.2 msec.); CuPc (5.24 mV, 47.2 msec.) e ZnPc (0.01 mV, 18.4 msec). Porém, nenhum sinal de fotovoltagem observável foi obtido para FePc ou CoPc (58).

A dependência espectral dos sinais de fotovoltagem para estas ftalocianinas coloridas está relacionada com o espectro de absorção óptico. O tamanho da fotovoltagem é, contudo, fortemente correlacionado com o alinhamento das energias dos orbitais d sobre o ligando central do metal com o orbital valência de ligação molecular do outro anel da ftalocianina, como foi determinado a partir de medidas de fotoemissão (53-58).

## 2.4 - CAROTENÓIDES

Os carotenóides são encontrados largamente espalhados nas formas inferiores e superiores das plantas. Os mais saturados e oxigenados, são também encontrados mais comumente na natureza. Eles ocorrem em tecidos de animais vertebrados e invertebrados, particularmente em depósitos de gordura, leite e tecidos do olho. Os carotenóides são pigmentos acessórios e funcionam como receptores de alta energia (1-6,10,59-63).

Os carotenos são classificados com base na categoria pelas quais eles se movimentam através de alguma coluna. Carotenos alfa movimentam-se mais rapidamente, seguindo em ordem por beta e gama.

O caroteno originado de cenouras é predominantemente  $\beta$ ; esta banda é a mais evidente das três. Alguns traços de carotenóis aparecerão acima da banda do  $\gamma$ -caroteno (1-6). São longas moléculas poliisoprenóides contendo duplas ligações conjugadas; cada final da molécula contém um anel ciclohexano insaturado substituído. Existem duas grandes classes de carotenóides (59-65); os carotenos, os quais são hidrocarbonetos isoprenóides e não contêm oxigênio, e as xantofilas, as quais são muito similares em estrutura mas contêm átomos de oxigênio em seus anéis terminais. A Figura 14 mostra as estruturas  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno, respectivamente.

Uma análise qualitativa do alcance de captação de energia na região visível é dada na Figura 15 que inclui um espectro de ação do processo de fotossíntese e espectros de absorção individuais para clorofilas, carotenóides e ftalociani

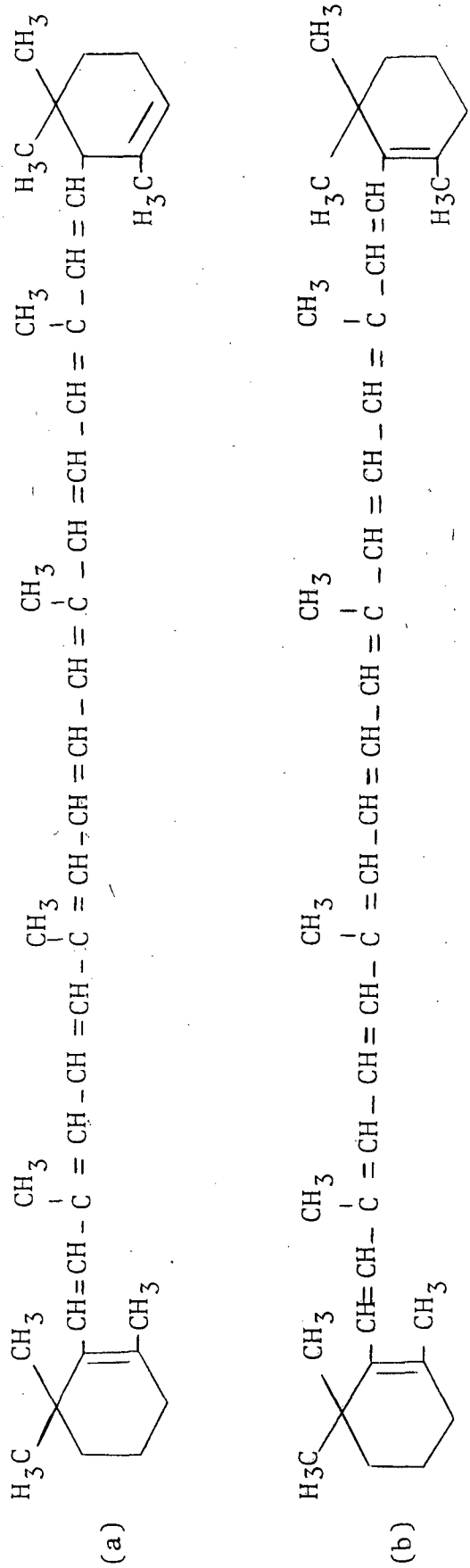


FIGURA 14 - (a) FÓRMULA ESTRUTURAL DO  $\alpha$ -CAROTENO; (b) FÓRMULA ESTRUTURAL DO  $\beta$ -CAROTENO.

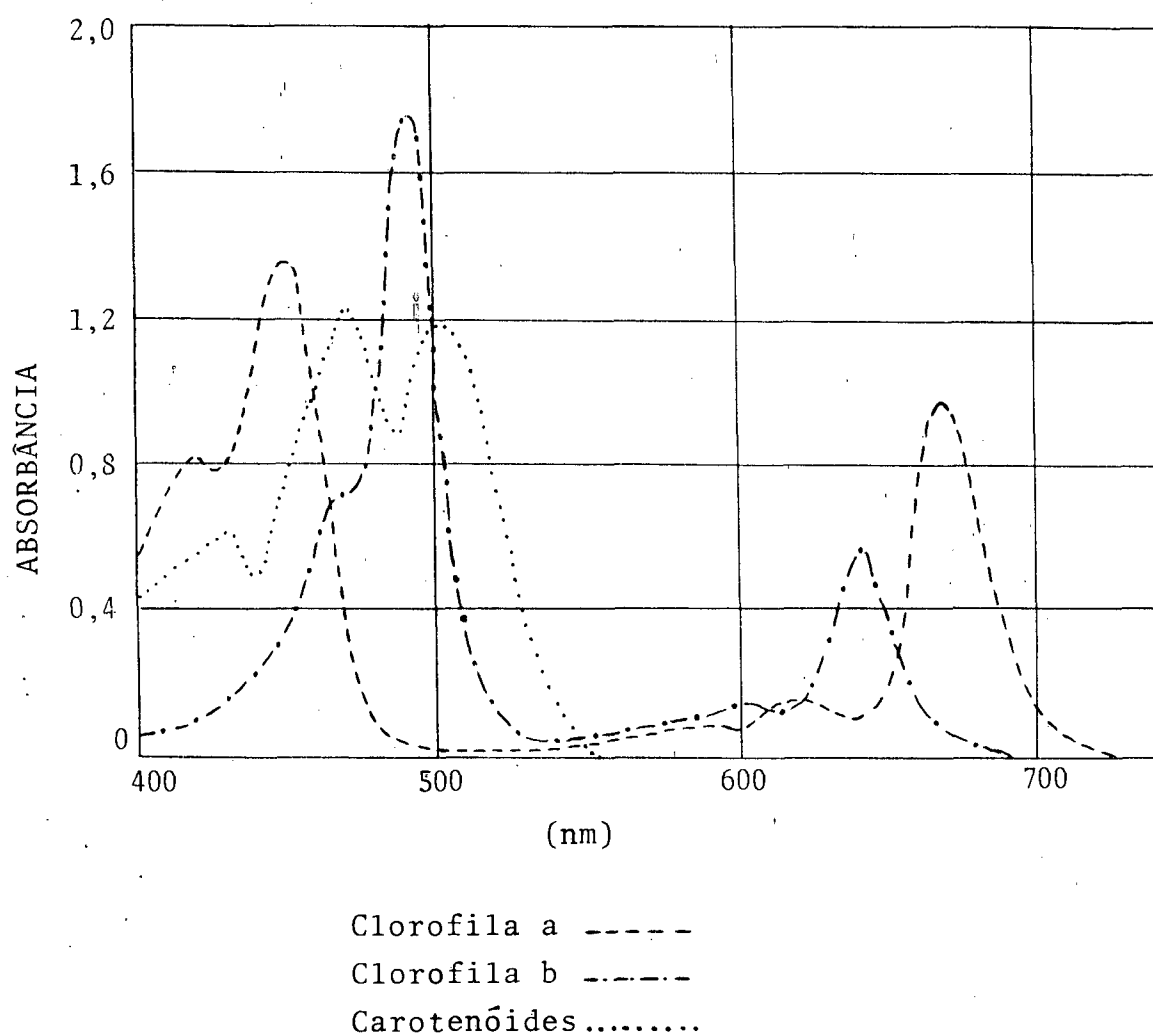


FIGURA 15 - ANÁLISE QUALITATIVA DO ALCANCE DE CAPTAÇÃO DE ENERGIA NA REGIÃO VISÍVEL (EM PARTE SEGUNDO A REF. 1).

nas. Como pode ser visto, os vários pigmentos exibem bandas de absorção máxima diferentes e complementares um ao outro no processo de captação de energia (1).

## 2.5 - MODELOS DE MEMBRANAS E TRANSFERÊNCIA DE ENERGIA

Membranas biológicas organizam moléculas em seus diferentes compartimentos, proporcionando suaves microvizinhanças e permitem o transporte controlado de solutos.

A complexidade das membranas naturais necessitam do uso de modelos de membranas para investigações a nível molecular. Sistemas simples e diferentes aproximações destes utilizados in vitro podem reproduzir processos químicos economicamente viáveis, guiados pelas membranas (12,66-69).

O primeiro modelo de membrana foi proposto por Gorter e Grendel em 1925 (70), e foi mais tarde modificado por Danielli e Davson (71). Essencialmente, o modelo consistia de duas camadas fosfolipídicas com as terminações hidrofóbicas em oposição umas às outras. Mais tarde, outras camadas de proteínas ou carboidratos foram superpostas nas duas camadas de lipídios originais.

Mais ou menos em 1966, a fim de explicar a permeabilidade e outras propriedades e funções das membranas, um modelo dinâmico foi proposto por A.A. Benson (72). Este modelo consistia de uma série de micelas fosfolipídicas, em equilíbrio dinâmico, e que continham proteínas e carboidratos envolvidos nelas mesmas.

Este modelo dinâmico mais tarde evoluiu para o model



lo mosaico de proteína lipídio - globular proposto por Singer e Nicholson (73), e para a proteína cristal ou modelo de cristal líquido de Vanderkooi e Green (74).

De acordo com este modelo a matriz da membrana, que é uma bicamada de lipídeos composta de fosfolipídeos e glicolipídeos, incorpora proteínas, tanto na superfície como no interior e atua como uma barreira permeável (Figura 16). As moléculas são livres para se difundirem lateralmente no plano da membrana. Ao contrário, a difusão transversa de moléculas grandes é lenta (66-70). Este comportamento pode ser racionalizado em termos da estrutura de lipídeos que constitui a membrana. Os lipídeos contêm uma parte hidrofóbica, geralmente uma cadeia dupla alifática, fosfato ou grupos de cabeça polar ester carboxilados e regiões intermediárias onde ligações de hidrogênio podem ocorrer (Figura 16). Permeabilidade passiva é uma função da fase de transição de ordenada para bicamadas de líquidos e ela depende do comprimento da cadeia hidrocarbônica, da posição e número das ligações duplas e da quantidade de colesterol presente (66-70).

Acredita-se que as vesículas sintéticas de surfactantes sejam os melhores e mais simples modelos existentes de membranas funcionais (75,76). Estas vesículas são definidas como mesofases esméticas de bicamadas de surfactantes completamente sintéticas contendo água em seu interior. A formação de vesículas compostas por materiais biológicos (por exemplo, fosfolipídeos), citadas na literatura como liposomas ou bangosomas, foram reconhecidas por algum tempo. A Figura 17 dá o diagrama de um liposoma. Ele é feito de fosfoglicerídeos, os quais con

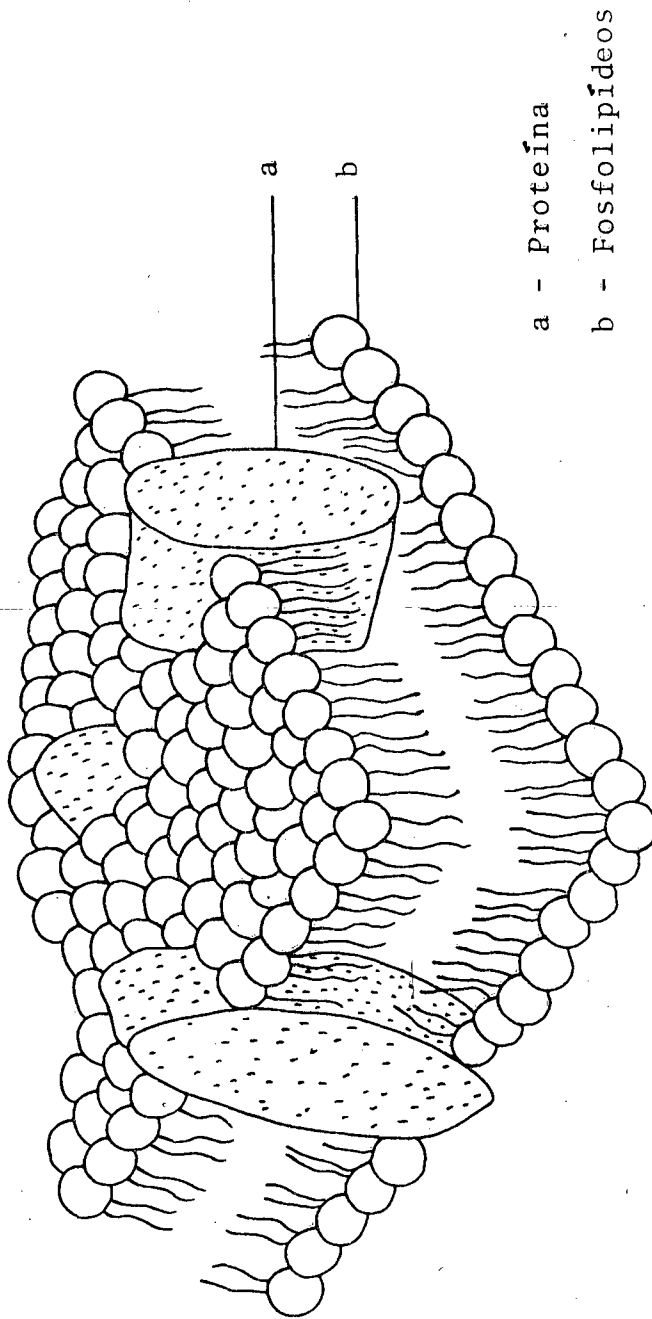


FIGURA 16 - ESQUEMA DE CRISTAL LÍQUIDO OU MODELO DE PROTEÍNA CRISTAL  
DA MEMBRANA. (12)

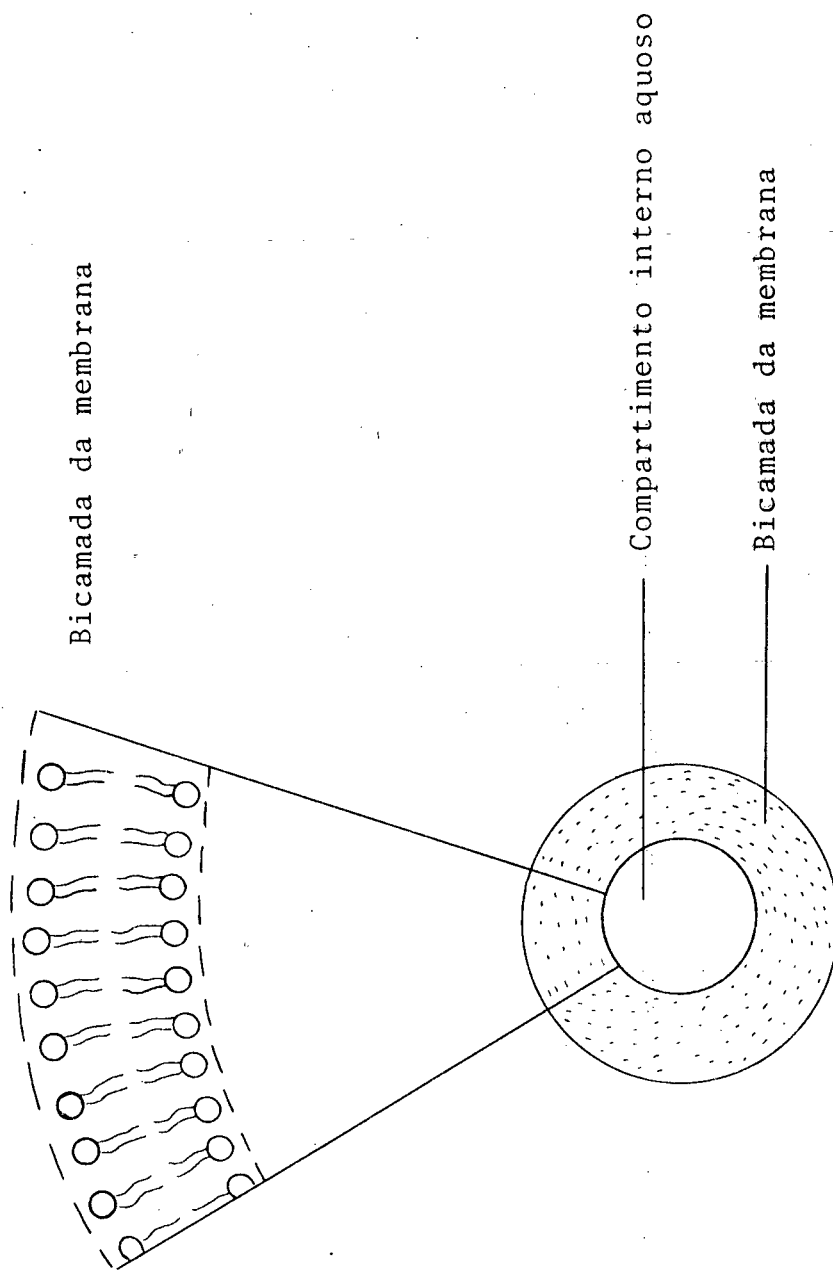


FIGURA 17 - DIAGRAMA DE UM LIPOSOMA (12).

têm um grupo de cabeça polar e duas caudas hidrofóbicas.

As vesículas melhores caracterizadas e mais investigadas são as dos surfactantes: cloreto de dioctadecildimetilamônio (DODAC) e dihexadecilfosfato (DHP). O método mais geral para formação de vesículas é a dispersão sônica de surfactantes, conduzida numa temperatura acima da fase de transição (76-81). Aumentando o tempo de sonicação, a uma energia estabelecida, ocorre um decréscimo exponencial na viscosidade e turbidez da solução, abaixo de um ponto além do qual outras sonicações não possuem efeito apreciável. Este ponto é considerado como o ponto que corresponde ao aparecimento de bicamadas de vesículas de comportamentos singulares. A formação de vesículas de DODAC requer menor energia sônica do que a necessária para a formação de vesículas de DHP.

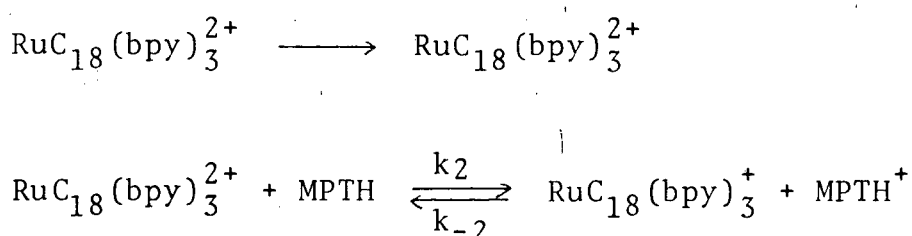
A fase de transição das vesículas de DODAC ocorre a 30 e 36°C. Abaixo de 30°C as vesículas de DODAC consistem de uma lamela uni-dimensional com a cadeia hidrocarbônica completamente estendida e um pouco inclinada. Transformações de uma para duas estruturas dimensionais ocorrem a 30°C, a temperatura de transição. Entre 30 e 36°C, as moléculas de surfactantes inteiramente estendidas são distorcidas por ondulações periódicas. Na temperatura da fase de transição, 36°C, as cadeias hidrocarbônicas fundem-se assumindo variáveis arranjos semelhantes aos líquidos e voltam para grades unidimensionais (76). A temperatura da fase de transição das vesículas de DODAC é idêntica à temperatura observada para liposomas de dipalmitoil-DL- $\alpha$ -fosfatidilcolina (36,4°C).

As vesículas de surfactantes catiônicas e aniônicas

são osmoticamente ativas. Em soluções hiperosmolares sofrem contração e quando em solução hipoosmolar elas dilatam-se. A extensão e a velocidade da contração osmótica das vesículas de DODAC depende da temperatura. Mudanças nestas dependências indicam fase de transição.

Fendler e seus colaboradores (76-82) utilizaram vesículas sintéticas de surfactantes para captar energia solar e usaram a mesma para decompor moléculas de água.

Primeiramente verificaram a transferência de elétrons por métodos fotosensitivos e a separação de carga em vesículas de DODAC. N-metilfenotiazina (MPTH) foi usada como doador de elétrons e um surfactante derivado do triperclorato de rutênio (2,2'-bi-piridina),  $\text{RuC}_{18}(\text{bpy})_3^{2+}$ , atuava como aceitador fotoativo de elétrons. Moléculas de  $\text{RuC}_{18}(\text{bpy})_3^{2+}$  ficavam ancoradas sobre a superfície, quando as moléculas de MPTH eram distribuídas entre as bicamadas hidrofóbicas das vesículas (76-82).



A transferência de elétrons sensitizada por luz foi também demonstrada em vesículas aniônicas de DHP. Ambas, duroquinona e difenilamina, foram intercaladas nas regiões hidrofóbicas das vesículas de surfactantes. A transferência de elétrons da difenilamina para a duroquinona triplete resulta na formação dos radicais correspondentes catiônicos e aniônicos.

A Figura 18 representa um esquema proposto por Fendler e colaboradores (78), para captação de energia solar e de composição de água com vesículas de surfactante na presença de ácido tetracético de etilenodiamina (EDTA).

Foi verificado que este sistema não é eficiente. O problema experimental é que após um certo tempo ocorre decomposição das vesículas. Existem estudos em progresso que tentam a preparação de vesículas contendo moléculas de surfactantes com características estruturais que são mais resistentes à irradiação (76-81).

## 2.6 - INTERAÇÕES DE PORFIRINAS COM SURFACTANTES

Tanford (83,84) e outros trataram da interação das proteínas com surfactantes e lipídeos biológicos e membranas ou modelos de membranas em um grande número de sistemas. Chegaram à conclusão de que as interações que ocorrem são de natureza hidrofóbica e que sofrem variações consideráveis, dependendo do tipo dos sítios de ligações da proteína e do tipo do grupo de cabeça do anfifílico. Em alguns casos existe uma interação direta entre proteínas e micelas; para outros, semelhantes associações diretas não ocorrem (83,84).

Niedick (85), a quem se deve a primeira reportagem da interação entre pigmentos respiratórios e surfactantes, notou a formação de um complexo verde entre ferri-mioglobina e cloreto de laurilpiridina e estudou o espectro de absorção em pH = 8,2 num tampão borato. Baseando-se em espectros e propriedades magnéticas, Gersonde, Netter e Seidel (86,87), con-

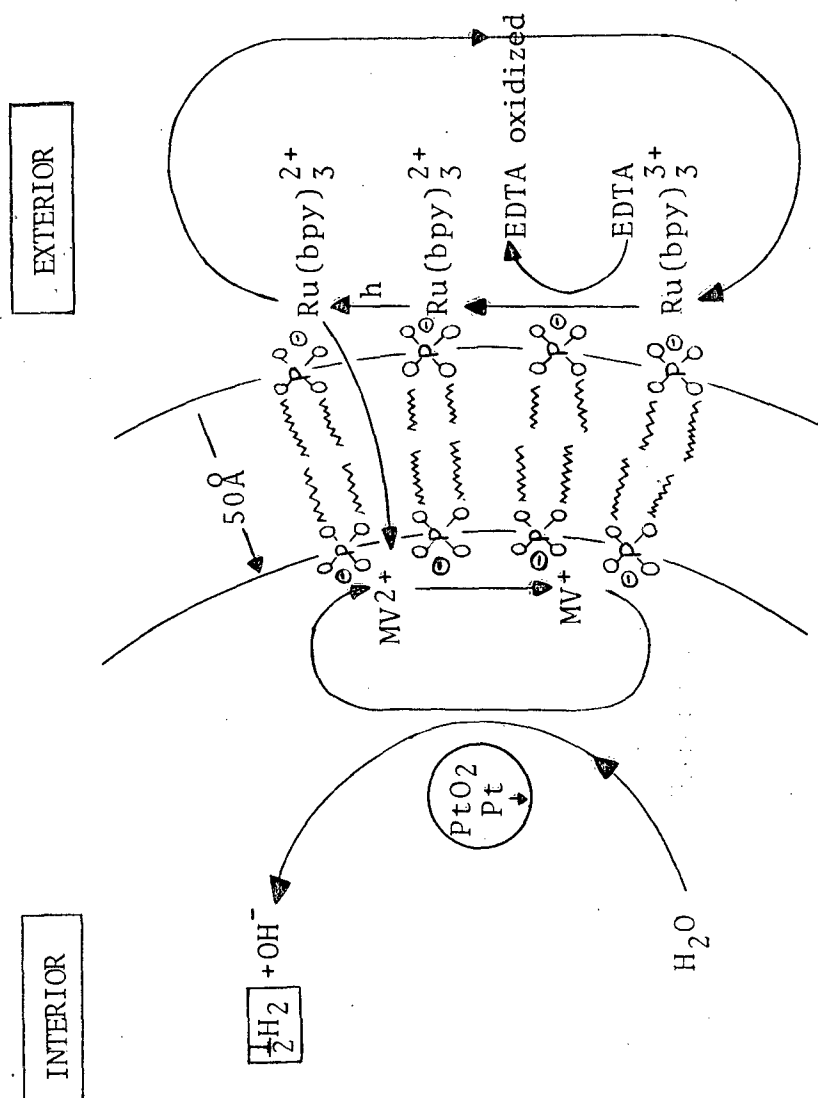


FIGURA 18 - ESQUEMA DO SISTEMA DE VESÍCULAS DE SURFATANTE USADO PARA A PRODUÇÃO CATALÍTICA FOTSENSIBILIZADA DE H<sub>2</sub> DROGÊNIO NA PRESENÇA DE EDTA (78).

cluíram que o cloreto de laurilpidina causa uma mudança radical e reversível na estrutura da ferrimioglobina e ferrihemoglobina. A associação de 25 ou 11 moléculas de detergentes catiônicos por cadeia peptídica de mioglobina e hemoglobina, respectivamente, segue o caso de tudo ou nada.

Nakaya, Yamada, Onazawa e Nakamura (88) estudaram a interação de diversos compostos piridínicos com a oximioglobina. Eles não observaram nenhum efeito quando a oximioglobina foi tratada com compostos piridínicos de cadeias com menos de 14 átomos de carbono, entretanto, um tratamento com cetil (C<sub>16</sub>), octadecil (C<sub>18</sub>) ou cloreto de araquidilpiridina (C<sub>20</sub>) causava uma mudança abrupta nas bandas de absorbância de Soret.

Ionescu e Tsang (12,89,90) estudaram a interação entre ferrimioglobina e vários surfactantes em soluções aquosas a 25°C por tensiometria superficial e técnicas espectroscópicas. Os surfactantes usados foram: CTAB, DHEDAB, CHEDAB, CPB, NaLS, DA, LA e LCC. Os resultados experimentais por eles observados indicaram que a presença da ferrimioglobina em soluções aquosas de surfactantes tem pouco efeito na concentração crítica micelar. Observaram um deslocamento espectral hipsocrômico para a banda de Soret da ferrimioglobina de 410 nm para mais ou menos 400 nm para soluções contendo micelas catiônicas. Para surfactantes polares e aniônicos, entretanto, observaram um deslocamento batocrômico de 410 para 420 nm, mas somente quando micelas estão presentes na solução ferrimioglobina-surfactante. Observaram ainda que existe uma interação direta entre o sistema de elétrons  $\pi$  do grupo heme e a nuvem de elétrons  $\pi$  da superfície carregada fornecida pelas micelas ou sur



factantes aniônicos e catiônicos (12,89,90).

Por outro lado, Blauer e seus colaboradores (91,92), sugeriram que as trocas espectrais podem ser devidas à interações diretas entre agregados de moléculas de ferriprotoporfirina IX e cloreto de laurilpiridina e obtiveram evidências para o afastamento do heme da hemoproteína por causa da ação do detergente. Subsequentemente, eles concluíram que os deslocamentos espectrais observados podem ser explicados em termos de agregados de ferriprotoporfirina ou produtos da associação ferriprotoporfirina-cloreto de laurilpiridina. A aparente proporção estequiométrica para a associação do cloreto de laurilpiridina varia de 15:1 para 30:1 para a ferriomioglobina em pH 7.1, com tampão fosfato e sem NaCl. Dados experimentais para a interação, assumindo falta de dissociação do heme e uma completa dissociação da hemoproteína pelo detergente fornecem o valor para  $\Delta G^{\circ}$  de cerca de -3 kcal/mol (91,92).

A existência de micelas heme-surfactante foi proposta para brometo de cetiltrimetilamônio, sódilauril sulfato e Triton X-100 e a ligação do íon cianeto do heme em surfactante solubilizado, em metanol e em benzeno foi estudada por Hinze e Fendler (93).

Ionescu e Avaria (94,95), utilizando tensão superficial e técnicas espectroscópicas, estudaram a interação da ferriomioglobina com brometo de cetiltrimetilamônio em soluções aquosas a 25°C. Verificaram um deslocamento hipsocrômico da ordem de 10 nm para a banda de Soret quando micelas do surfactante estão presentes na solução. A interação entre ferriomioglobina e o surfactante, que resulta no deslocamento do espectro

é estequiométrica e envolve um mol de micelas de CTAB por mol de ferrimioglobina. O  $\Delta G_{250C}^0$  para esta interação é aproximadamente  $-8,2$  kcal/mol e a formação do complexo ferrimioglobina - CTAB é favorecida por alto pH. A adição de sais, os quais provocam variações na estrutura das micelas inibe a formação do complexo (13,94,95).

Simplício propôs a existência de comicelas de porfirinas com CTAB, NaLS e Triton X-100 (96,97).

Ionescu e Czerniawski (22,23,98) estudaram a interação entre ferriprotoporfirina IX e o surfactante brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) por técnicas espectroscópicas e tensiométricas. O espectro de absorção da solução  $6,00 \times 10^{-4}$  M de hematoporfirina em água (pH = 6,5) na região de 350 - 650 nm apresenta três bandas, todas características das porfirinas, por exemplo, a intensa banda de Soret ou banda -  $\gamma$  e as visíveis bandas  $\alpha$  e  $\beta$ . A banda  $\alpha$  é em ordem de magnitude menor que a banda de Soret e ela ocorre a cerca de 550 nm. Aparecendo como uma saliência está a banda vibrônica ou banda  $\beta$ .

Eles observaram um espectro totalmente diferente do citado anteriormente quando o CTAB, em concentrações maiores que a CMC (concentração micelar crítica) foi adicionado na solução aquosa de hematoporfirina. Este espectro consiste de 4 bandas distintas a cerca de 500, 530, 570 e 620 nm, respectivamente. Estes quatro picos ou bandas são o resultado do desdobramento das bandas visíveis  $\alpha$  e  $\beta$ . Eles estudaram a dependência deste desdobramento em função da concentração de CTAB e da concentração de protoporfirina IX em soluções aquosas. A intensidade das quatro bandas é proporcional

ã concentração de micelas de CTAB e ã concentração de porfirinas (22,23,98).

As análises dos espectros experimentais indicaram que o desdobramento das bandas  $\alpha$  e  $\beta$  não ocorre abaixo da CMC e que a superfície micelar carregada é necessária para remover a degeneração. O desdobramento das bandas  $\alpha$  e  $\beta$  em pares  $Q_x$  e  $Q_y$  foi atribuído ã interação direta entre o sistema de elétrons  $\pi$  do anel porfirínico e os elétrons  $\pi$  de outros compostos aromáticos ou a superfície carregada das micelas.

Estes tipos de interações aparentemente não removem o átomo de ferro do anel porfirínico, mas somente modificam a sua vizinhança e eliminam a degeneração dos orbitais moleculares  $A_{2u}$  (22,23,98,99).

M.N. Jones, num trabalho recente, trata de forma de talhada das interações entre proteínas e substâncias anfifílicas (100).

C A P Í T U L O    I I I

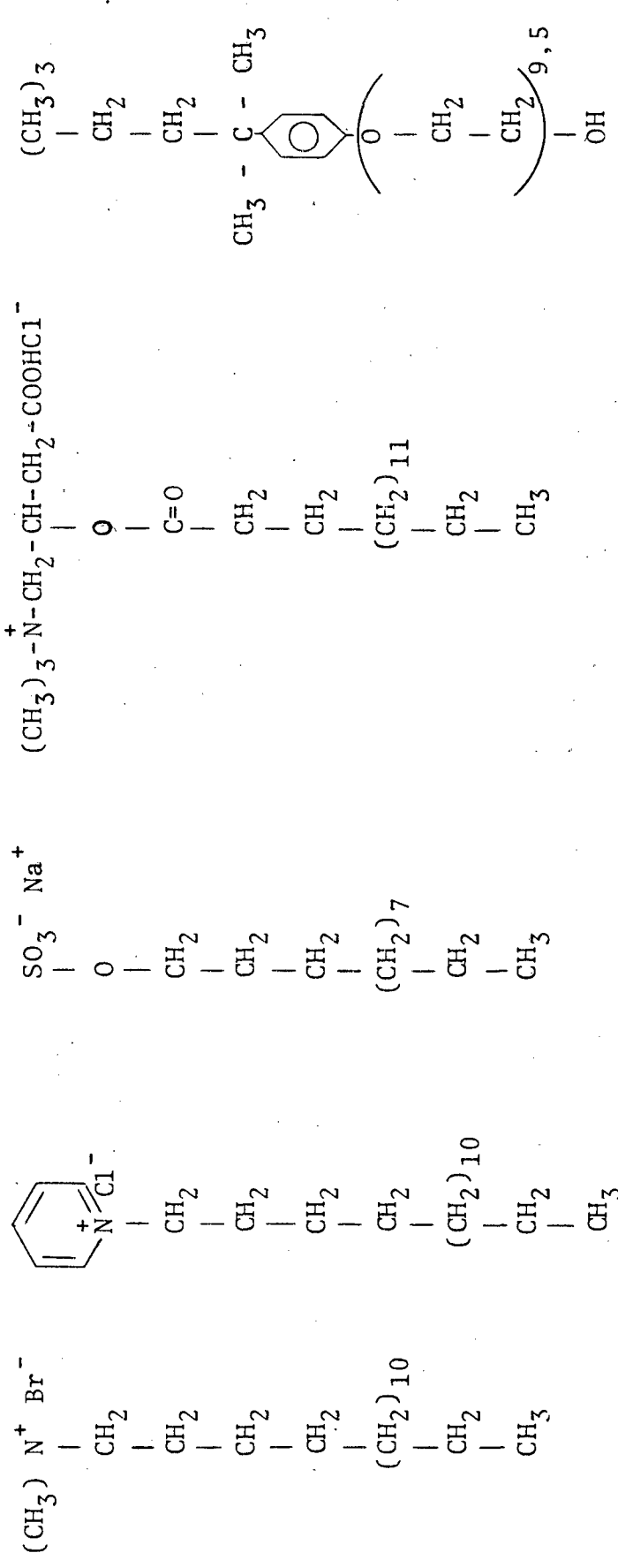
## PARTE EXPERIMENTAL

## 3.1 - MATERIAIS USADOS

A porfirina usada neste estudo foi obtida na forma de dihidrocloro de hematoporfirina da Calbiochem., La Jolla, California, USA. A magnésio ftalocianina e manganês ftalocianina foram fornecidas pela Eastman Kodak Co., Rochester, N.Y., USA. O caroteno foi extraído de cenouras segundo o procedimento descrito no item 3.4 .

Os surfactantes utilizados foram brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), cloreto de cetilpiridínio (CPCl), lauril sulfato de sódio (NaLS), cloreto de palmitilcarnitina (PCCl), Triton X-100 (éter de p-tertoctilfenilpolietileno) e Brij-35 (éter de lauril-23-polioxi-etileno). Algumas estruturas estão ilustradas na Figura 19. Os surfactantes CTAB e CPCl foram adquiridos da Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin, USA. Triton X-100 e Brij-35 foram fornecidos pela Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo., USA, e o PCCl foi obtido do Prof. L.G. Ionescu (101-103). A maioria dos surfactantes foram recristalizados em solventes apropriados.

Os outros reagentes e solventes foram obtidos de várias fontes, particularmente da Reagen e Merck do Brasil, Rio de Janeiro. A água foi deionizada e bidestilada.



BROMETO DE CÉ TILTRIMETILA- MÔNIO (CTAB)	CLORETO DE CETILPIRI- DÍNIO (CPCl)	LAURIL SULFA TO DE SÓDIO (NaLS)	CLORETO DE PALMITIL CARNITINA (PCCI)
--	--	---------------------------------------	---

TRITON X-100

FIGURA 19 - ESTRUTURA DOS SURFACTANTES UTILIZADOS.

### 3.2 - PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE PORFIRINA EM ÁGUA E CTAB.

As soluções Porfirina-H<sub>2</sub>O-CTAB foram obtidas, observando normas convencionais de preparação, a partir de soluções estoque de CTAB a várias concentrações e uma solução padrão de dihidroclorato de hematoporfirina ( $1,00 \times 10^{-5}$  M) em água pura. A concentração de CTAB variou de  $1,00 \times 10^{-6}$  M até  $5,00 \times 10^{-5}$  M e a concentração de porfirina foi de  $5,00 \times 10^{-6}$  M na maioria dos casos.

### 3.3 - PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE FTALOCIANINA EM VÁRIOS SOLVENTES E EM ÁGUA NA PRESENÇA DE SURFACTANTES.

Tanto a magnésio ftalocianina quanto a manganês ftalocianina são praticamente insolúveis em água, porém dissolvem-se com certa facilidade em solventes como metanol, etanol, ácido clorídrico concentrado, benzeno e outros. A magnésio ftalocianina foi o composto empregado na maioria dos casos neste trabalho. Todas as soluções foram preparadas a partir de amostras sólidas de ftalocianina de uma massa constante correspondente a 0,0363 g. As amostras foram colocadas em balões volumétricos de 10 ml e a elas foram agregados solvente puro, mistura de solventes, solventes e compostos complexantes como 1,10-fenantrolina ou soluções aquosas contendo várias concentrações de diferentes surfactantes. Subsequentemente as soluções eram agitadas, o volume era completado até 10 ml e as soluções eram filtradas por gravidade para remover o material sólido não dissolvido.

Como solventes foram utilizados: metanol, etanol,

benzeno, ácido clorídrico concentrado, soluções aquosas de etanol e piridina e água contendo 1,10-fenantrolina.

Os surfactantes usados e os intervalos respectivos das suas concentrações em água foram os seguintes:

- CTAB entre  $1,00 \times 10^{-6}$  M e  $5,00 \times 10^{-3}$  M
- CPCl entre  $2,50 \times 10^{-3}$  M e  $3,00 \times 10^{-2}$  M
- NaLS entre  $1,00 \times 10^{-2}$  M e  $1,00 \times 10^{-1}$  M
- PCCl entre  $1,00 \times 10^{-5}$  M e  $1,00 \times 10^{-2}$  M
- Triton X-100 entre 0,05% e 0,50% por volume
- Brij-35 entre 0,10% e 1,00% em peso.

Foram preparadas também soluções aquosas de magnésio ftalocianina em 0,10 M de CTAB e cloreto de sódio (NaCl) variando entre  $1,00 \times 10^{-6}$  M e  $1,00 \times 10^{-1}$  M. Soluções semelhantes de magnésio ftalocianina em 0,50% de Brij-35 foram preparadas com cloreto de sódio variando entre  $1,00 \times 10^{-5}$  e 1,00M.

#### 3.4 - EXTRAÇÃO DE CAROTENOS

A extração de carotenos foi feita a partir de cenouras frescas seguindo o procedimento já descrito na literatura (59,60,104,105). Amostras de 30 g de cenouras finamente lavadas foram colocadas em um balão Erlenmeyer de 100 ml e foram extraídas com 700 ml de etanol absoluto. Para melhorar o processo de extração as amostras foram aquecidas e agitadas por um período de 30 minutos.

A solução de etanol foi separada dos fragmentos de

cenoura sólida por decantação. Subsequentemente a solução foi diluída com água até aproximadamente 90% de etanol e foi deixada a esfriar para a temperatura ambiente.

A solução aquosa de etanol foi extraída cinco vezes com alíquotas de aproximadamente 100 ml de éter de petróleo (p.e., 40-60°C) usando um funil de separação.

Foram obtidas duas camadas: uma superior de éter de petróleo contendo carotenos e uma inferior de etanol contendo xantofilas.

A solução de éter de petróleo contendo carotenos foi concentrada a um volume de aproximadamente 5 ml com um evaporador rotatório. O produto concentrado era um óleo de coloração amarelo alaranjado. Este concentrado foi separado e purificado através de cromatografia de coluna.

A coluna de cromatografia tinha um tamanho de 1,4 cm por 30 cm e foi preparada da seguinte maneira: 10 g de MgO (óxido de magnésio) e 10 g de celite (silica, coadjuvante de filtração) foram misturadas uniformemente e foram colocadas cuidadosamente na coluna sobre o algodão (59,50,104,105). Após isto, a coluna foi molhada com solvente Skelly B (5% de acetona em éter de petróleo) ficando com uma altura de aproximadamente 15 cm. Subsequentemente uma camada de aproximadamente 1 cm de sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) foi colocado no topo da coluna de MgO-celite para protegê-la de traços de água e erosão mecânica. O concentrado de carotenos foi introduzido delicadamente na coluna e eluído com aproximadamente 30 ml de solvente Skelly B.

Três camadas distintas foram observadas na coluna ,



contendo, respectivamente,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -carotenos (59,60). O  $\alpha$ -caroteno flui mais rapidamente através da coluna e é seguido por  $\beta$  e  $\gamma$ -carotenos, respectivamente. O caroteno extraído de cenouras é principalmente  $\beta$  e esta banda em todos os casos foi a de maior espessura. Os três tipos de carotenos foram coletados juntos e normalmente o volume do extrato obtido era de aproximadamente 10 ml.

Os carotenos são sensíveis à fotodecomposição. Consequentemente, durante o processo de extração foi tomado o cuidado para evitar a presença de luz. O produto foi armazenado em balões escuros e sob refrigeração. Foram extraídos um total de aproximadamente 150 g de cenoura (cinco extrações separadas).

As soluções aquosas de carotenos na presença de vários surfactantes foram preparadas a partir de alíquotas de 1 ml do extrato combinado de caroteno concentrado a um óleo viscoso e pesando 10 mg.

### 3.5 - DETERMINAÇÃO DOS ESPECTROS DAS SOLUÇÕES DE PORFIRINAS, FTALOCIANINAS E CAROTENOS.

Os espectros das soluções de porfirina, ftalocianinas e carotenos na região visível foram determinados a 25°C usando um espectrofotômetro Varian, Série 634 e cubetas com caminho ótico de 1 cm.

A absorbância máxima medida variou normalmente de 0-2 dependendo da concentração do pigmento. O intervalo usado para as medidas espectrais com porfirina e carotenos foi na maioria dos casos de 350-650 nm e para as ftalocianinas de 350-850 nm. A referência usada nos vários casos foi o solvente sem pigmento biológico e surfactante.

## C A P Í T U L O    I V

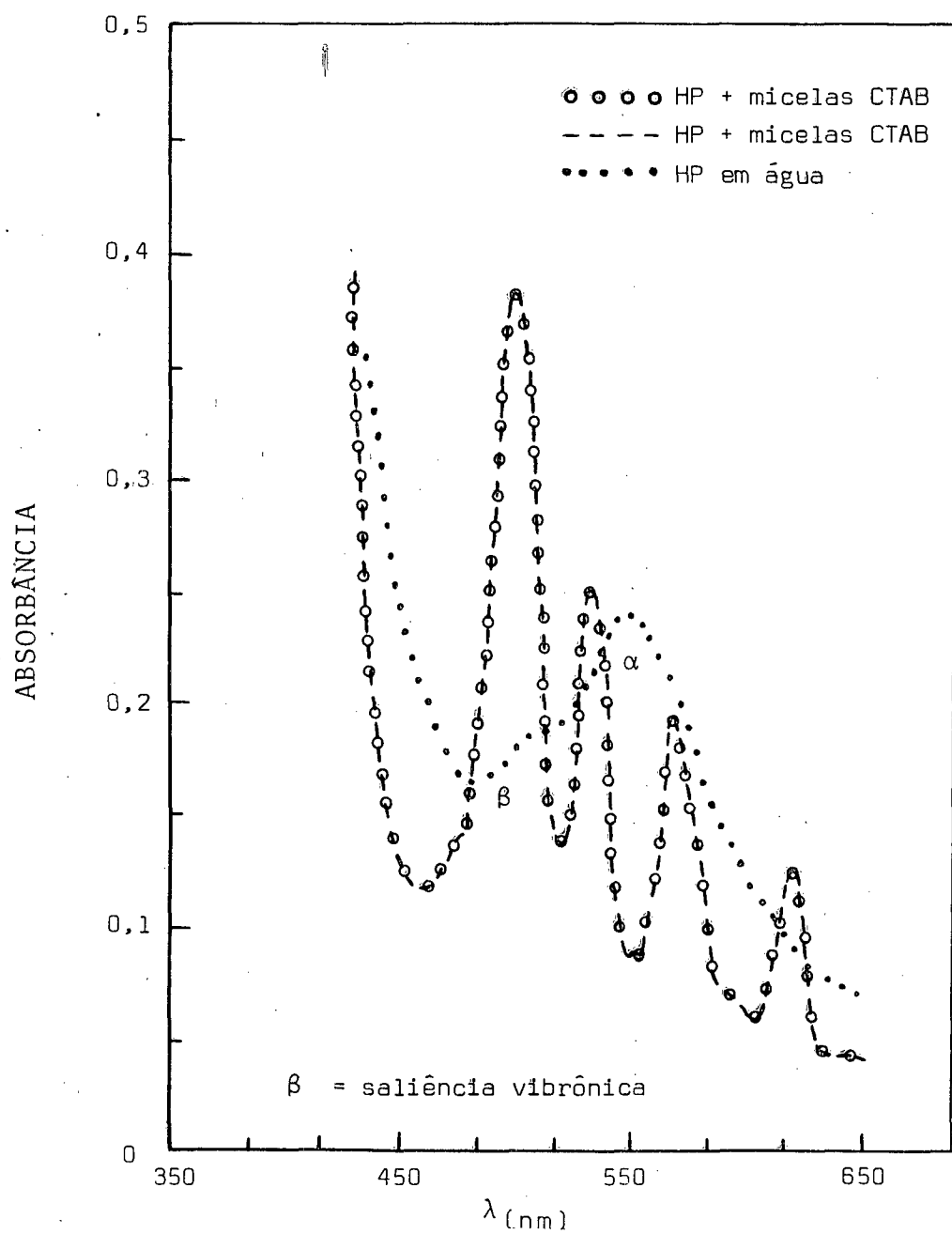
### RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1 - INTERAÇÃO DE PORFIRINA COM BROMETO DE CETILTRIMETILAMÔNIO EM SOLUÇÕES AQUOSAS.

As propriedades espectroscópicas de soluções aquosas de dihidroclorato de hematoporfirina foram estudadas em detalhe a 25°C na região visível, na presença de várias concentrações de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB).

A Figura 20 mostra o espectro de absorção de uma solução de porfirina a uma concentração de  $1,00 \times 10^{-6}$  M em água pura na região de 350 a 650 nm. A figura inclui também o espectro da hematoporfirina em solução aquosa contendo micelas de CTAB. Como pode ser visto a porfirina em água pura apresenta as três bandas características (9-15), a intensa banda de Soret ou banda  $\gamma$  e as bandas visíveis  $\alpha$  e  $\beta$ . A banda  $\alpha$  é mais débil em ordem de magnitude que a banda de Soret e ocorre acerca de 550 nm. Aparecendo como uma saliência acerca de 510 nm está situada uma banda vibrônica ou banda  $\beta$ .

Um espectro totalmente diferente resulta quando o CTAB, em concentrações maiores que a CMC (concentração crítica micelar), é adicionado na solução aquosa de hematoporfirina. Este espectro (Figura 20), consiste de quatro bandas distintas a cerca de 500, 530, 570 e 620 nm, respectivamente, as quais resultam do desdobramento das bandas  $\alpha$  e  $\beta$ . Os dois pares forma



○ ○ ○ ○ ○ Resultados obtidos por L.G. Ionescu et al (22,23)  
- - - - - Resultados do presente estudo

FIGURA 20 - ESPECTROS DE ABSORÇÃO DE PORFIRINA EM SOLUÇÕES AQUOSAS A 25°C.

dos são denominados  $Q_x$  e  $Q_y$ . Os resultados do presente estudo confirmam este tipo de desdobramento já descrito na literatura por L.G. Ionescu e colaboradores (13,22,23).

O fenômeno de desdobramento das bandas  $\alpha$  e  $\beta$  foi estudado neste trabalho com aproximadamente trinta concentrações diferentes de CTAB acima e abaixo da concentração crítica micelar ( $1,00 \times 10^{-6}$  até  $5,00 \times 10^{-3}$  M) para uma concentração constante de hematoporfirina, ou seja,  $1,00 \times 10^{-5}$  M. Alguns espectros representativos estão ilustrados na Figura 21. A análise dos resultados indica que o desdobramento acontece somente quando o CTAB está presente na forma de micelas e que a intensidade dos quatro picos  $Q_{x1}$ ,  $Q_{x2}$ ,  $Q_{y1}$  e  $Q_{y2}$  depende da concentração de surfactante.

Valores numéricos para a variação da intensidade das quatro bandas com respeito ao zero da escala de absorvância para soluções contendo  $5,00 \times 10^{-6}$  M de porfirina a  $25^\circ\text{C}$  e concentrações representativas de CTAB estão resumidos na Tabela I. A representação gráfica dos mesmos resultados é dado na Figura 22. O pico  $Q_{y2}$  apresenta o máximo de intensidade em todos os casos e as outras três bandas apresentam sempre a ordem  $Q_{y1} > Q_{x2} > Q_{x1}$ . O comportamento apresentado na Figura 22 demonstra um caso típico de efeito tudo ou nada, ou seja, uma interação específica entre CTAB na forma de micelas e a porfirina. Esta interação atinge o máximo ou tem um ponto de saturação quando todos os sítios que interagem estão ocupados e a análise teórica deste fenômeno é comumente feita através de isotermas de Langmuir.

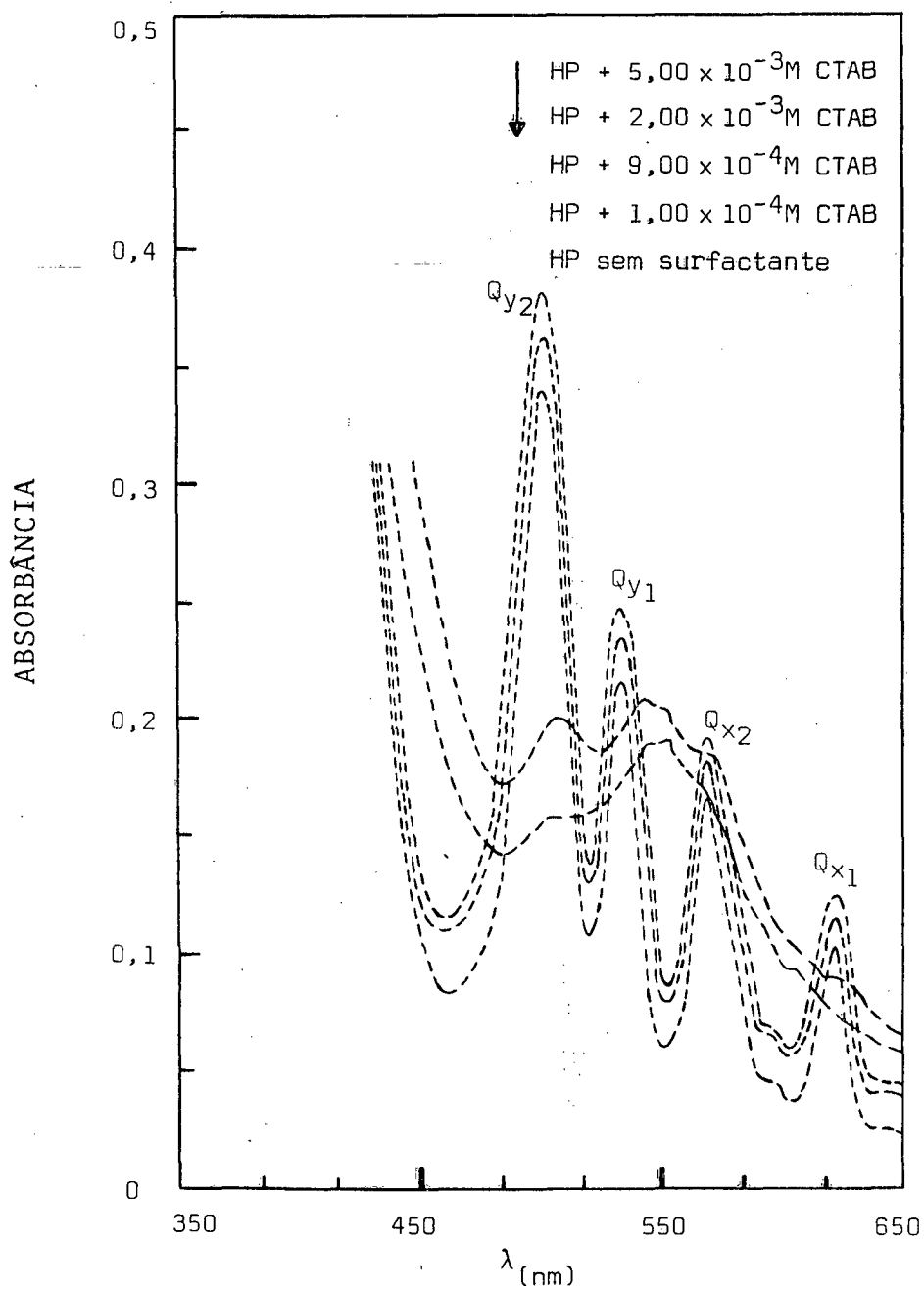


FIGURA 21 - ESPECTROS DE ABSORÇÃO DE PORFIRINA EM SOLUÇÕES AQUOSAS DE BROMETO DE CETIL-TRIMETILAMÔNIO (CTAB), A 25°C.

CONC. (CTAB) (M x 10 <sup>5</sup> )	INTENSIDADE EM UNIDADE DE ABSORBÂNCIA			
	Q <sub>x1</sub>	Q <sub>x2</sub>	Q <sub>y1</sub>	Q <sub>y2</sub>
1,00	-	-	-	-
10,0	-	-	-	-
90,0	0,105	0,168	0,217	0,342
100	0,103	0,165	0,216	0,340
120	0,100	0,160	0,217	0,338
150	0,123	0,190	0,244	0,372
170	0,128	0,195	0,252	0,382
200	0,125	0,195	0,251	0,382
250	0,116	0,182	0,238	0,369
500	0,119	0,185	0,240	0,372

TABELA I - INTENSIDADE DAS BANDAS Q<sub>x1</sub>, Q<sub>x2</sub>, Q<sub>y1</sub> E Q<sub>y2</sub> DA PORFIRINA (5,00 x 10<sup>-6</sup>M) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BROMETO DE CETILTRIMETILAMÔNIO (CTAB) A 25°C.

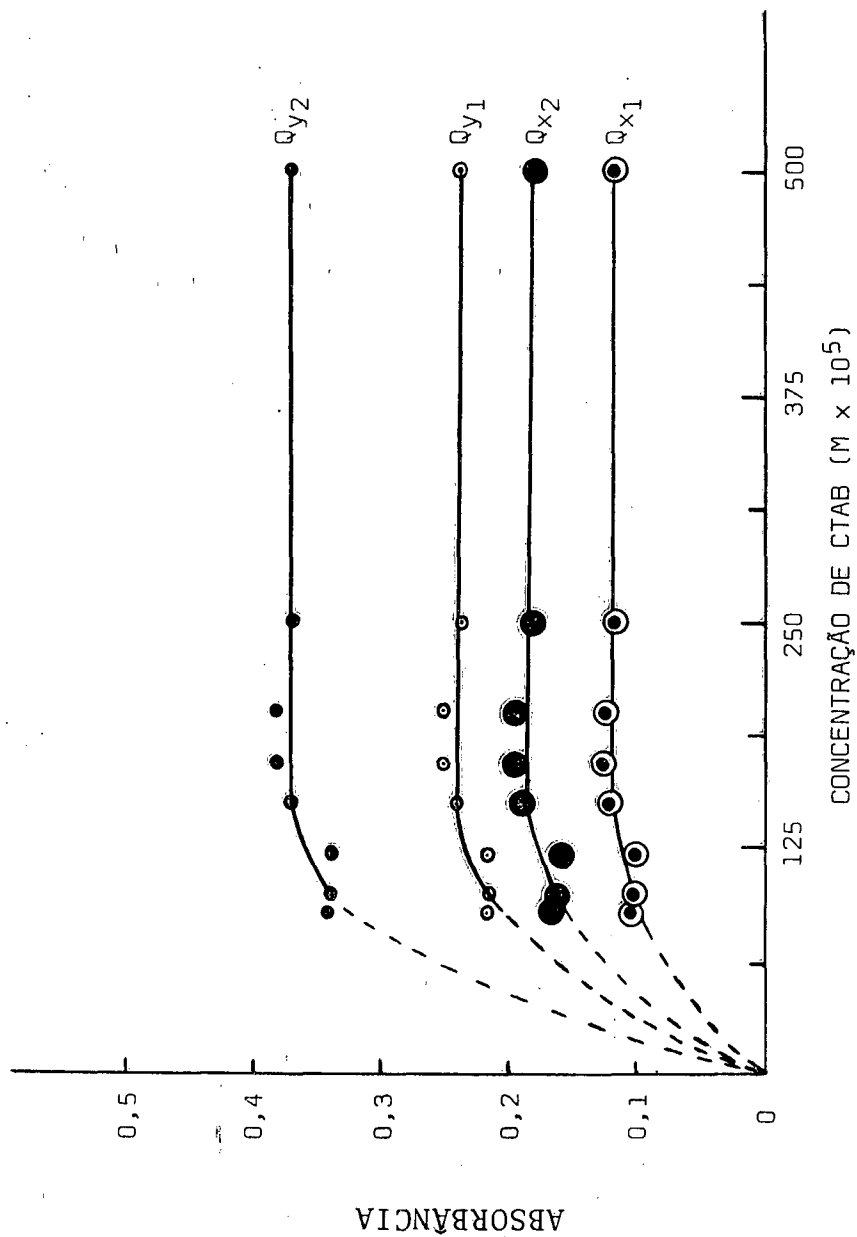


FIGURA 22 - GRÁFICOS DA INTENSIDADE DAS BANDAS  $Q_x$  E  $Q_y$  DA PORFIRINA EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BROMETO DE CETILTRIMETILAMÔNIO (CTAB) EM ÁGUA, A 25°C.

Em estudos anteriores (13,22,23) , foi demonstrado que a adição de vários sais diminui a intensidade das quatro bandas e que a concentração mais altas o desdobramento é totalmente inibido e o espectro passa a ser o espectro comum apresentado pela porfirina em água, contendo somente as bandas  $\alpha$  e  $\beta$  .

Também em estudos anteriores foi analisado em detalhe o espectro de absorção de soluções aquosas de porfirina contendo outros tipos de compostos, como por exemplo: metanol, etanol, benzeno, clorofórmio, piridina, sódio tosilato, 1,10-o-fenantrolina e outros. Em geral os resultados indicaram que a presença de uma substância contendo um sistema planar de elétrons  $\pi$  também induz o desdobramento das bandas  $\alpha$  e  $\beta$  . Este é o caso do benzeno, piridina e 1,10-o-fenantrolina, quando adicionados nas soluções de porfirina. Nenhum desdobramento foi observado com metanol, etanol e outros compostos não aromáticos.

A formação dos pares  $Q_x$  e  $Q_y$  foi explicada em termos de uma interação direta entre a superfície carregada da micela ou os sistemas de elétrons das substâncias aromáticas e o conjunto de elétrons  $\pi$  do anel porfirínico (13,22,23,94,95) .



## 4.2 - INTERAÇÃO E SOLUBILIZAÇÃO DE FTALOCIANINAS EM VÁRIOS SOLVENTES E SOLUÇÕES AQUOSAS DE SURFACTANTES.

### 4.2.1 - Espectro de Ftalocianinas em Vários Solventes

As ftalocianinas são insolúveis em água. Entretanto, são solúveis em vários solventes como N,N-dimetilformamida (DMF); N,N-dimetilacetamida (DMA); dimetilsulfóxido (DMSO); etanol; metanol; benzeno e outros. Os espectros da manganês ftalocianina e magnésio ftalocianina em vários solventes foram determinados na região visível a 25°C. As soluções de ftalocianinas nos vários solventes foram feitas a partir de amostras sólidas e solventes puros como já foi descrito no Capítulo III.

As Figuras 23, 24 e 25 mostram, respectivamente, os espectros de absorção de soluções de magnésio ftalocianina em N,N-dimetilformamida; N,N-dimetilacetamida e dimetilsulfóxido, em concentrações variando de  $1,00 \times 10^{-5} \text{M}$  até  $1,00 \times 10^{-4} \text{M}$  e  $1,00 \times 10^{-5} \text{M}$  até  $2,5 \times 10^{-4} \text{M}$ , respectivamente. Como pode ser visto, nos três casos os espectros apresentam duas bandas características na região visível, a banda intensa  $\alpha$  e a banda  $\beta$ . A banda  $\alpha$  ocorre a aproximadamente 670 nm, enquanto a banda  $\beta$ , uma ordem de magnitude mais fraca, ocorre a aproximadamente 605 nm. Os espectros obtidos no presente trabalho estão de acordo com resultados já descritos na literatura<sup>(52,58)</sup>.

O coeficiente de extinção ( $\epsilon$ ) da magnésio ftalocianina para os três solventes foi determinado a partir de gráficos de absorvância versus concentração para uma série de concentrações padrão. Os respectivos plots estão ilustrados nas Figuras

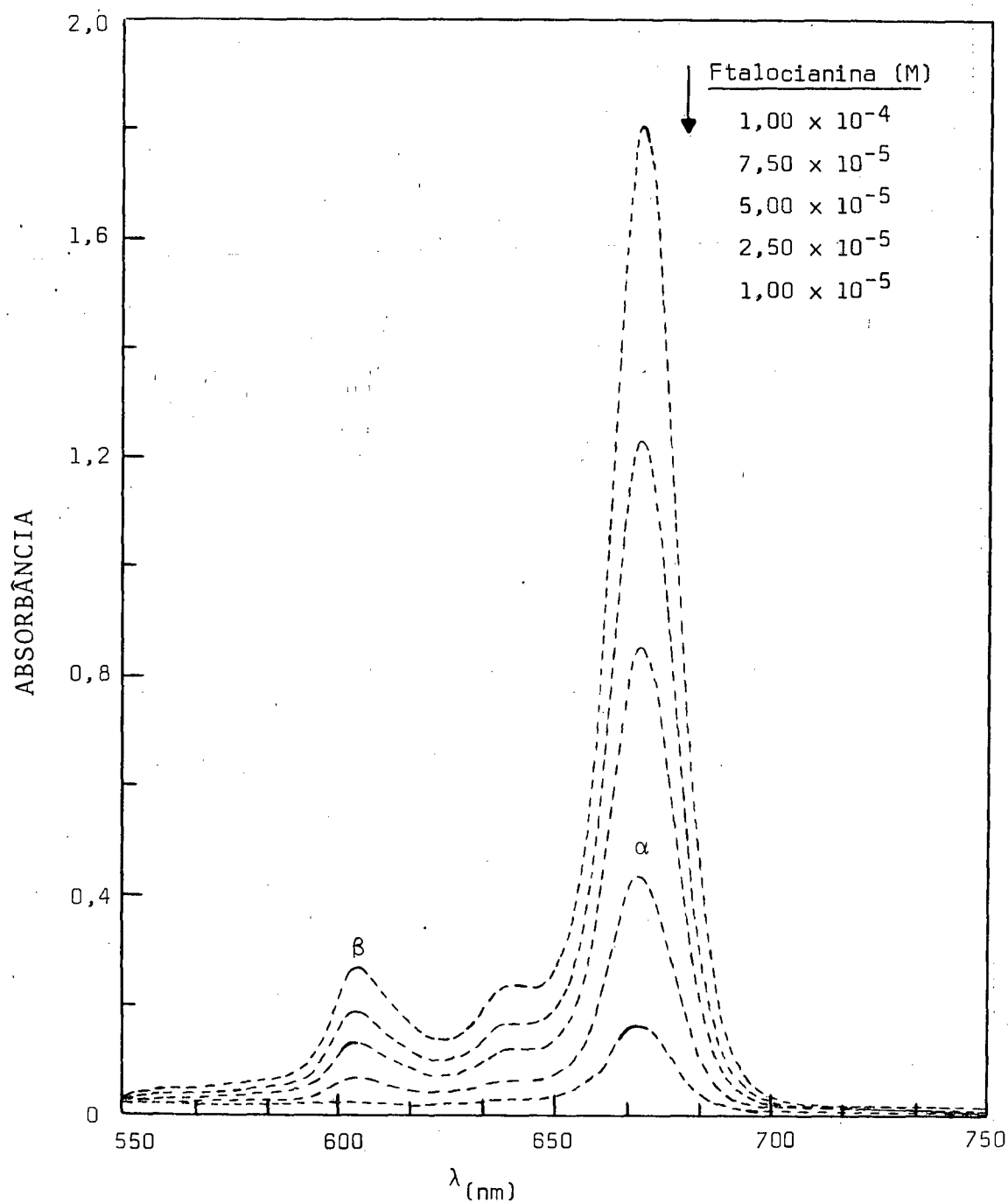


FIGURA 23 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE SOLUÇÕES DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA EM N,N-DIMETILFORMAMIDA A 25°C.

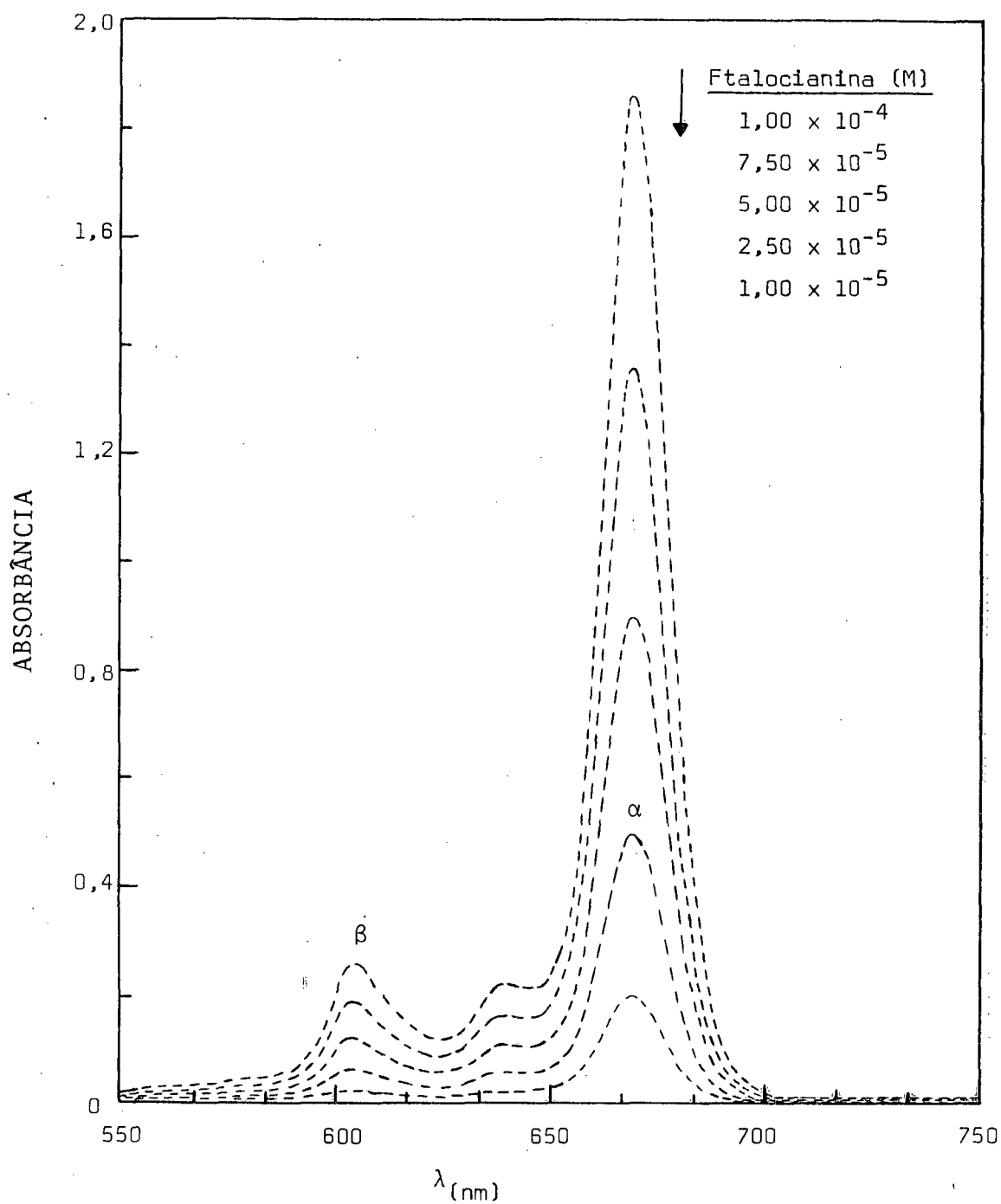


FIGURA 24 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE SOLUÇÕES DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA EM N,N-DIMETILACETAMIDA A 25°C.

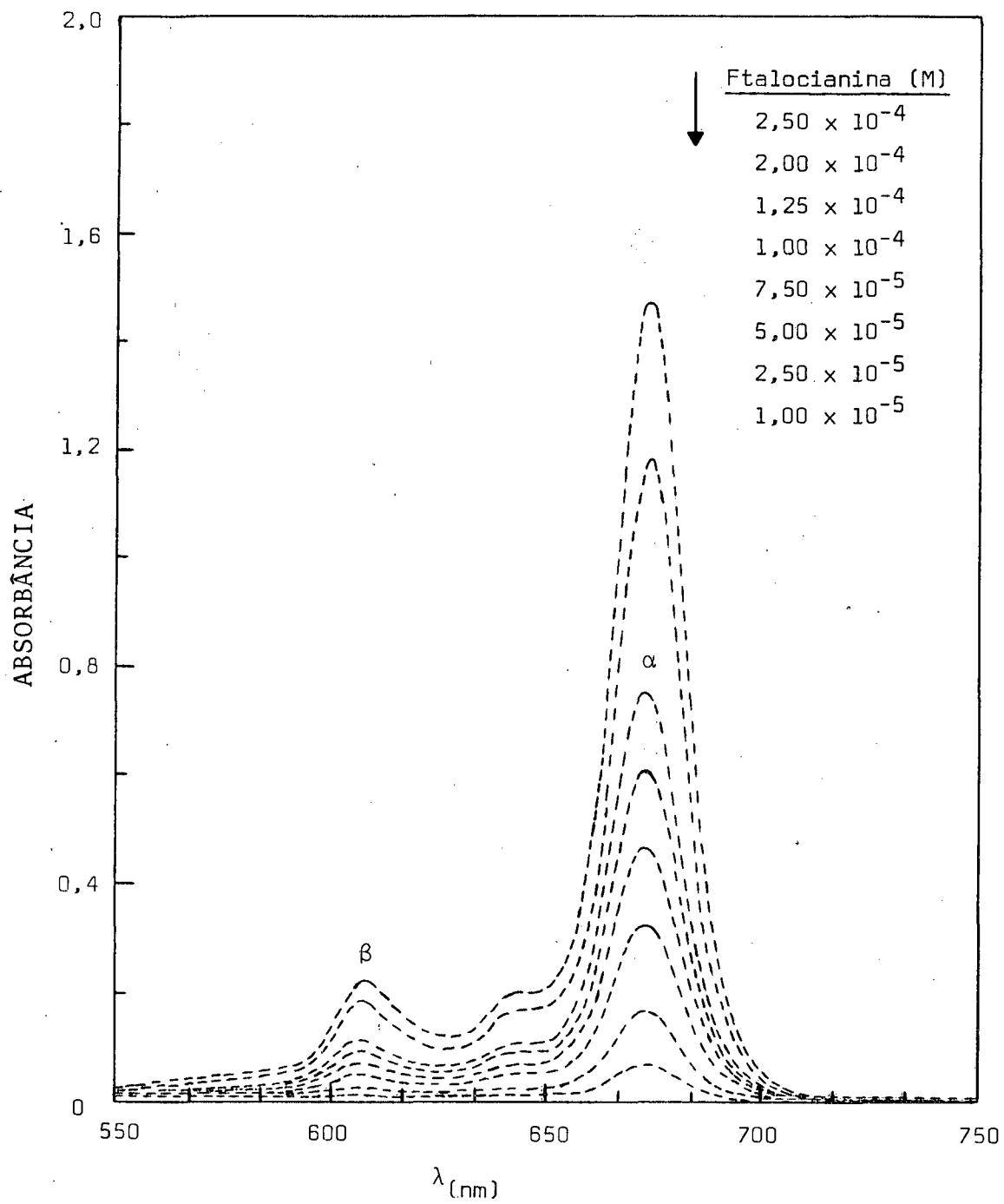


FIGURA 25 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE SOLUÇÕES DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA EM DIMETILSULFÓXIDO A 25°C.

ras 26, 27 e 28. Nos casos de DMF e DMA os gráficos apresentam um desvio positivo da Lei de Beer-Lambert a teores altos de ftalocianina. Para o DMSO, o comportamento é linear na faixa de concentração de ftalocianina estudada (Figura 28).

Os valores médios correspondentes ao coeficiente de extinção ou absorvidade molar ( $\epsilon$ ) foram os seguintes: DMF,  $\epsilon = 1,62 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ; DMA,  $\epsilon = 1,81 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  e DMSO,  $\epsilon = 0,58 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Os resultados experimentais de  $\epsilon$  obtidos para soluções de ftalocianina em DMA e DMSO são comparáveis com dados descritos na literatura (52,107). A diferença na intensidade das bandas de absorção  $\alpha$  e  $\beta$  da magnésio ftalocianina em DMSO em comparação com os outros solventes pode ser atribuída a uma constante dielétrica um pouco diferente (DMF = 36,7; DMA = 37,8; DMSO = 48,9) (108). Valores experimentais obtidos no presente estudo para o coeficiente de extinção da ftalocianina em metanol e etanol foram  $\epsilon = 1,65 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  e  $\epsilon = 1,78 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , respectivamente.

Para a determinação de concentrações aproximadas de ftalocianina em outros solventes e em soluções aquosas de surfactantes foi usado o valor médio de  $\epsilon = 1,71 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  ( $\log \epsilon = 4,23$ ). Este valor médio foi obtido considerando os dados para soluções em DMF, DMA, metanol e etanol.

A Figura 29 mostra os espectros de absorção de soluções de magnésio ftalocianina e manganês ftalocianina em etanol absoluto nas concentrações  $1,00 \times 10^{-4} \text{ M}$  e  $9,30 \times 10^{-5} \text{ M}$ , respectivamente, a  $25^\circ\text{C}$ . Verifica-se que as bandas  $\alpha$  e  $\beta$  da solução de manganês ftalocianina sofrem um deslocamento com respeito a magnésio ftalocianina, ocorrendo a aproximadamente

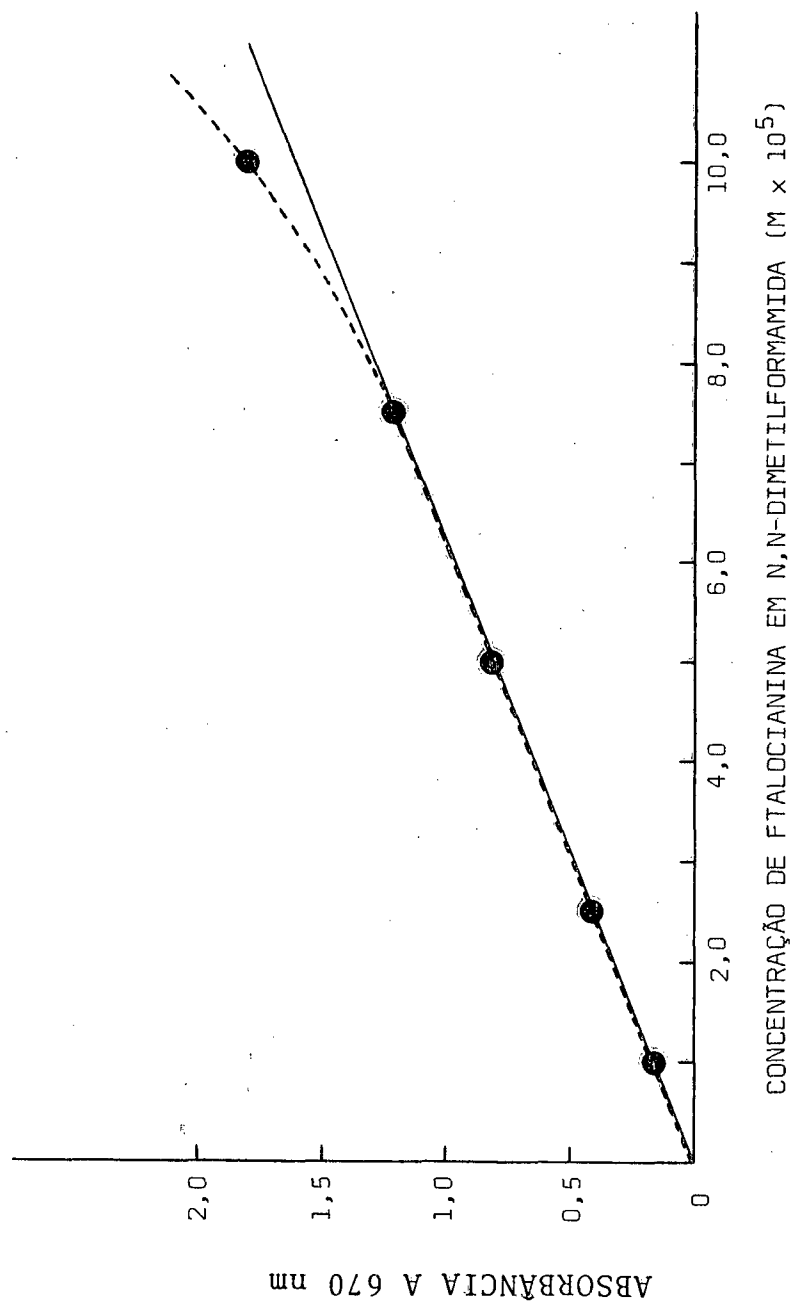


FIGURA 26 - GRÁFICO DE ABSORBÂNCIA VERSUS CONCENTRAÇÃO PARA SOLUÇÕES DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA EM N,N-DIMETILFORMAMIDA A 25°C.

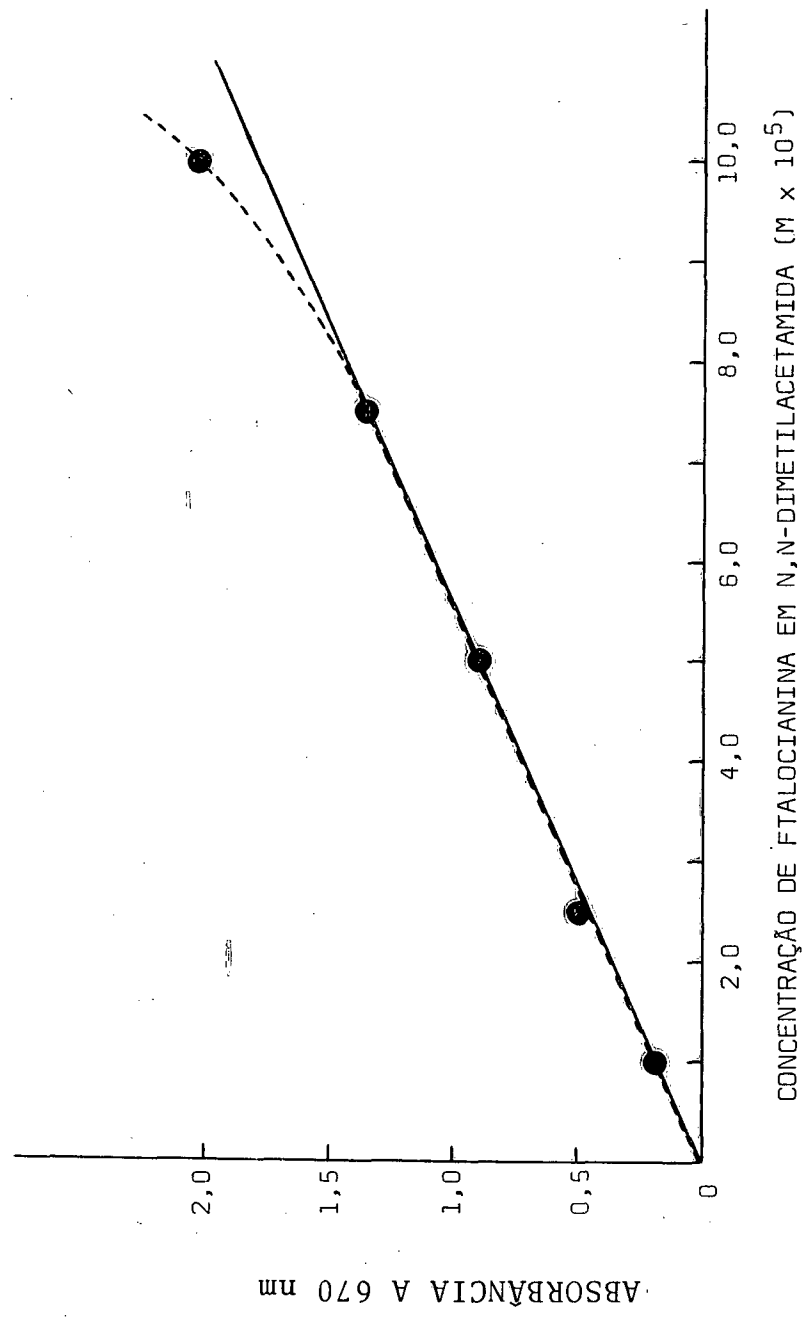


FIGURA 27 - GRÁFICO DE ABSORBÂNCIA VERSUS CONCENTRAÇÃO PARA SOLUÇÕES DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA EM N,N-DIMETILACETAMIDA A 25°C.

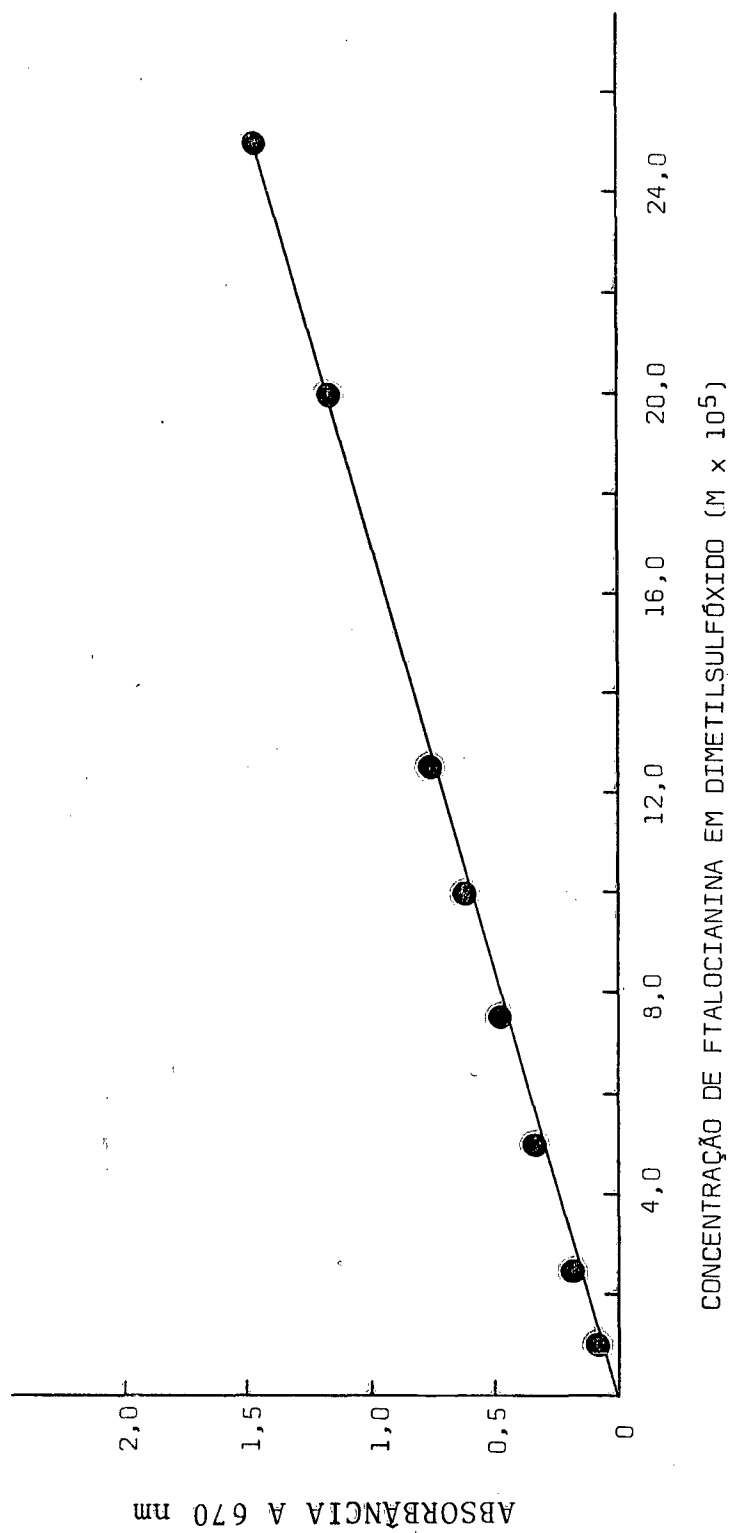


FIGURA 28 - GRÁFICO DE ABSORBÂNCIA VERSUS CONCENTRAÇÃO PARA SOLUÇÕES DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA EM DIMETILSULFÓXIDO A 25°C.



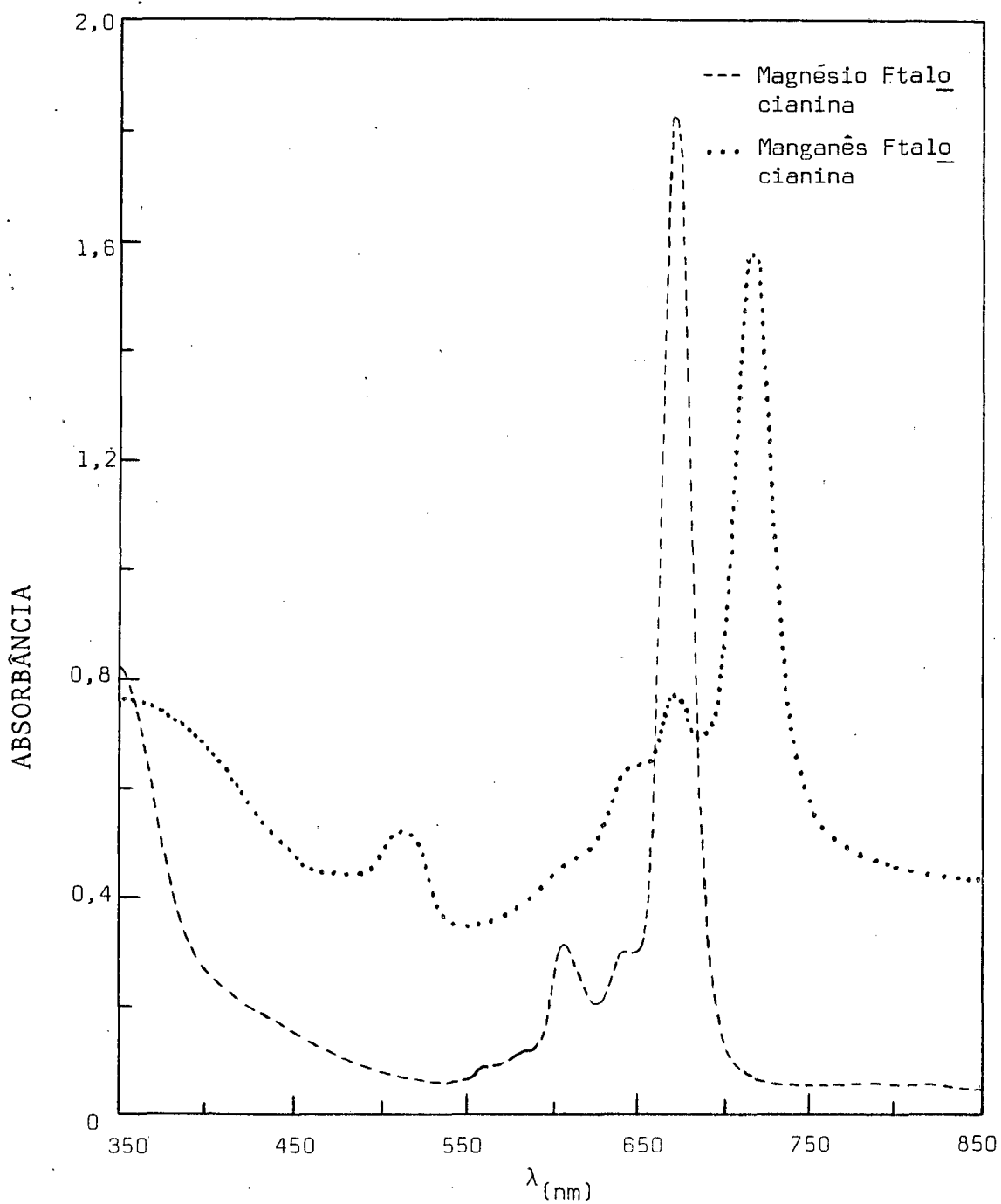


FIGURA 29 - ESPECTROS DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA ( $\sim 1,00 \times 10^{-4} \text{M}$ ) E MANGANÊS FTALOCIANINA ( $\sim 9,30 \times 10^{-5} \text{M}$ ) EM ETANOL ABSOLUTO A  $25^{\circ}\text{C}$ .

715 nm e 670 nm.

As bandas  $\alpha$  e  $\beta$  da magnésio ftalocianina ocorrem a aproximadamente 670 nm e 605 nm, e não apresentam nenhum deslocamento com respeito às soluções em DMF, DMA e DMSO.

A adição de 1,10-fenantrolina à solução de magnésio ftalocianina em etanol absoluto desloca as bandas  $\alpha$  e  $\beta$  para 685 nm e 620 nm, respectivamente.

A Figura 30 mostra os espectros de absorção de soluções de ftalocianina em metanol e em benzeno nas concentrações  $2,70 \times 10^{-5}M$  e  $3,00 \times 10^{-5}M$ , respectivamente.

Os espectros são semelhantes, porém, verifica-se que em metanol as bandas  $\alpha$  e  $\beta$  ocorrem a cerca de 670 nm e 605 nm, enquanto que em benzeno, elas ocorrem deslocadas a cerca de 675 nm e 610 nm.

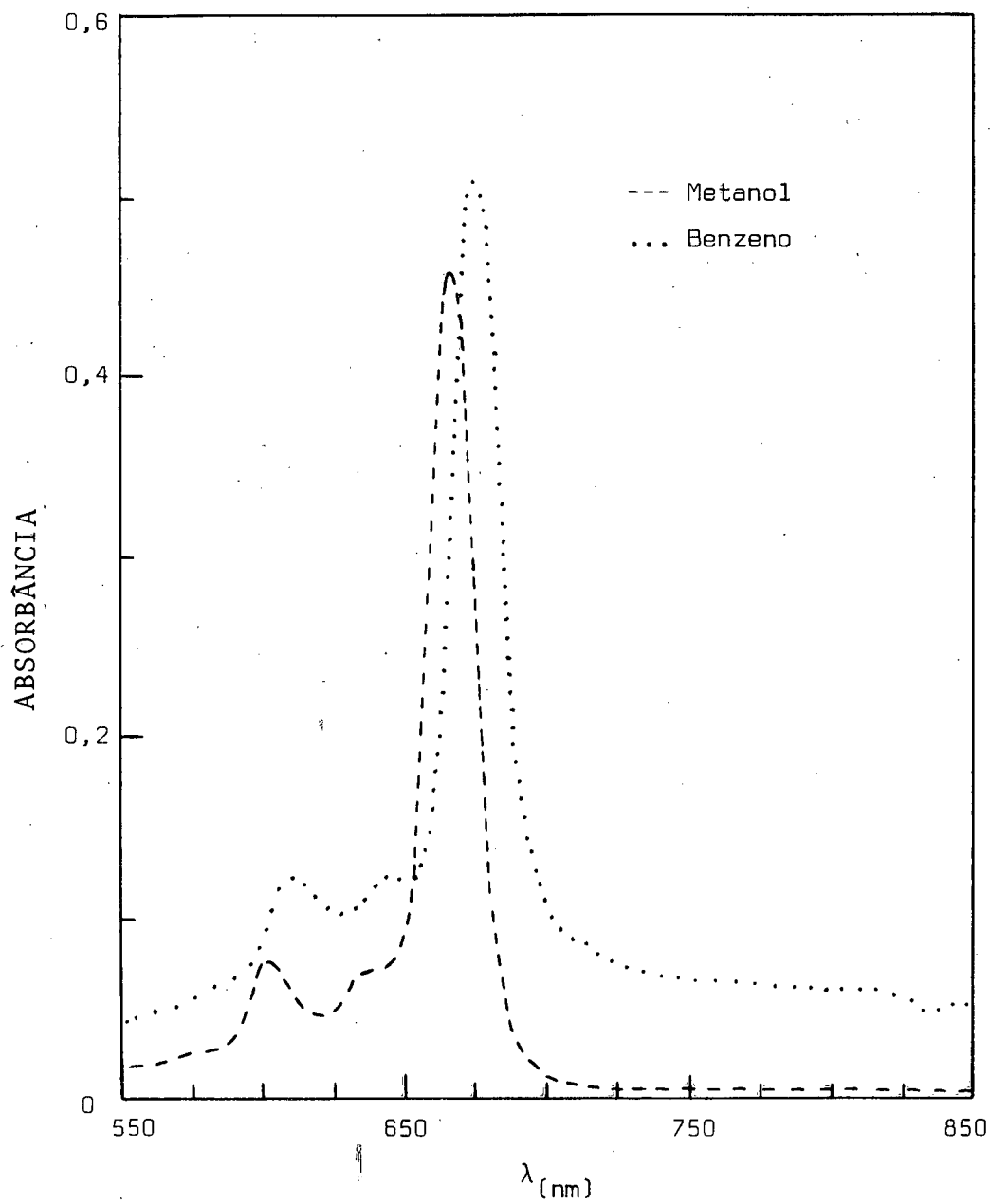


FIGURA 30 - ESPECTROS DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA ( $-2,70 \times 10^{-5}M$ ) EM METANOL E ( $-3,00 \times 10^{-5}M$ ) EM BENZENO A  $25^{\circ}C$ .

#### 4.2.2 - Espectro de Ftalocianinas em Soluções Aquosas na Presença de Outros Compostos.

A Figura 31 mostra o espectro de absorção da ftalocianina ( $\sim 1,40 \times 10^{-5}$  M) em solução aquosa na presença de ácido clorídrico a 38%. Observou-se que neste caso a ftalocianina é menos solúvel que nos casos anteriores. As bandas  $\alpha$  e  $\beta$  são largas e não muito bem definidas. A solução apresenta um pouco de turbidez.

Ocorrendo a cerca de 690 nm e 650 nm, as bandas  $\alpha$  e  $\beta$  são bem definidas para a ftalocianina ( $\sim 1,60 \times 10^{-5}$  M) em solução aquosa na presença de etanol (20% vol.) e apresentam um deslocamento de aproximadamente 20 nm com respeito à solução em etanol puro (Figura 32).

A Figura 33 mostra o espectro de absorção da ftalocianina ( $\sim 3,20 \times 10^{-5}$  M) em solução aquosa na presença de piridina em concentrações variando entre 0,60% a 2,40% por volume. Observa-se que as bandas  $\alpha$  e  $\beta$  não são muito bem definidas e sua intensidade depende da concentração de piridina.

As soluções de magnésio ftalocianina em água e piridina têm uma cor azul anil característica e exibem fosforescência por muito tempo (um ano). Este fenômeno é provavelmente o resultado de transições eletrônicas entre os anéis aromáticos da ftalocianina e piridina e o metal (10,22).

Em geral, pode-se concluir que nos três casos de soluções aquosas descritas acima a solubilidade da magnésio ftalocianina é ainda relativamente baixa.

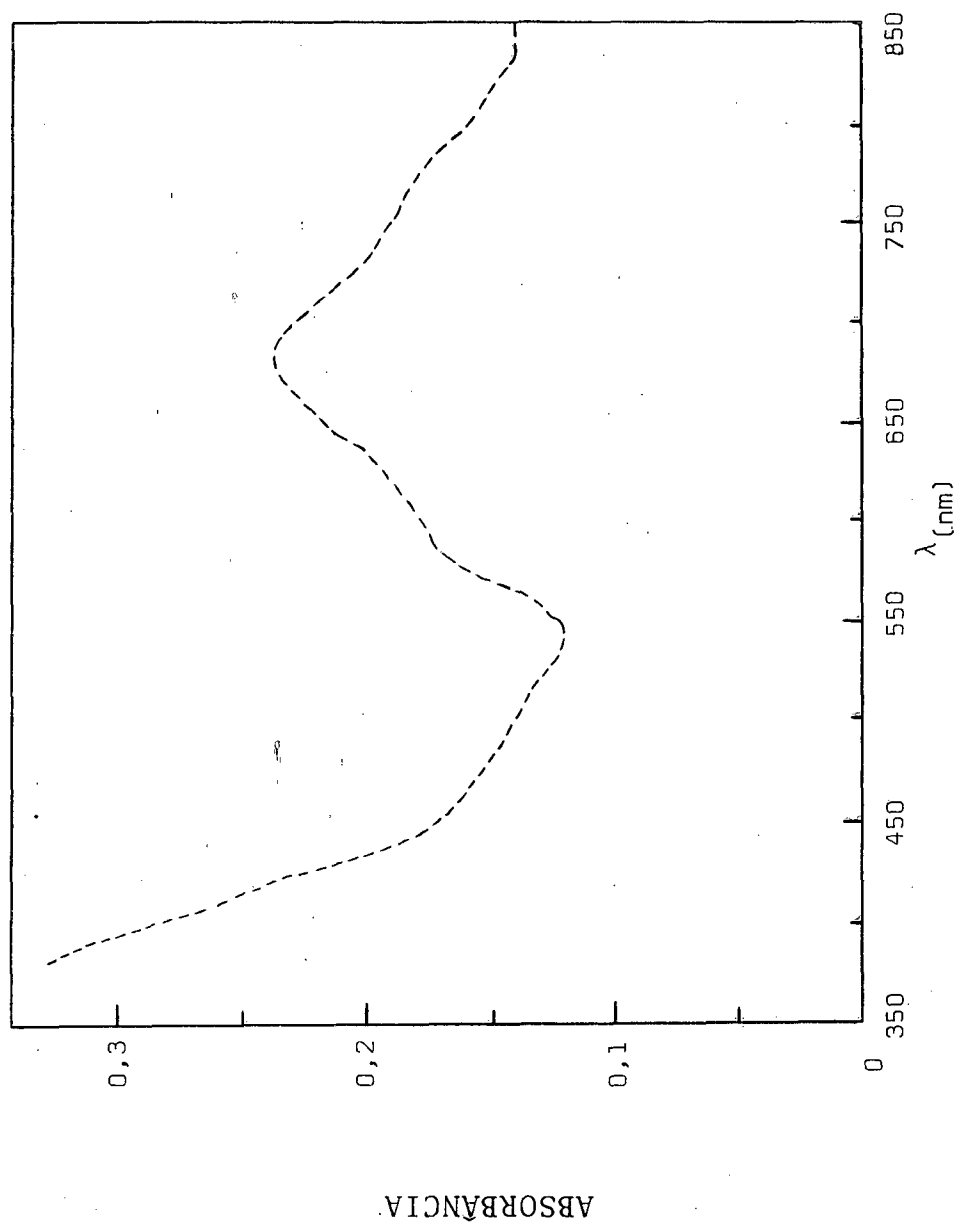


FIGURA 31 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA ( $\sim 1,40 \times 10^{-5}M$ ) EM SOLUÇÃO AQUOSA DE ÁCIDO CLORÍDRICO (38% em peso) A  $25^{\circ}C$ .

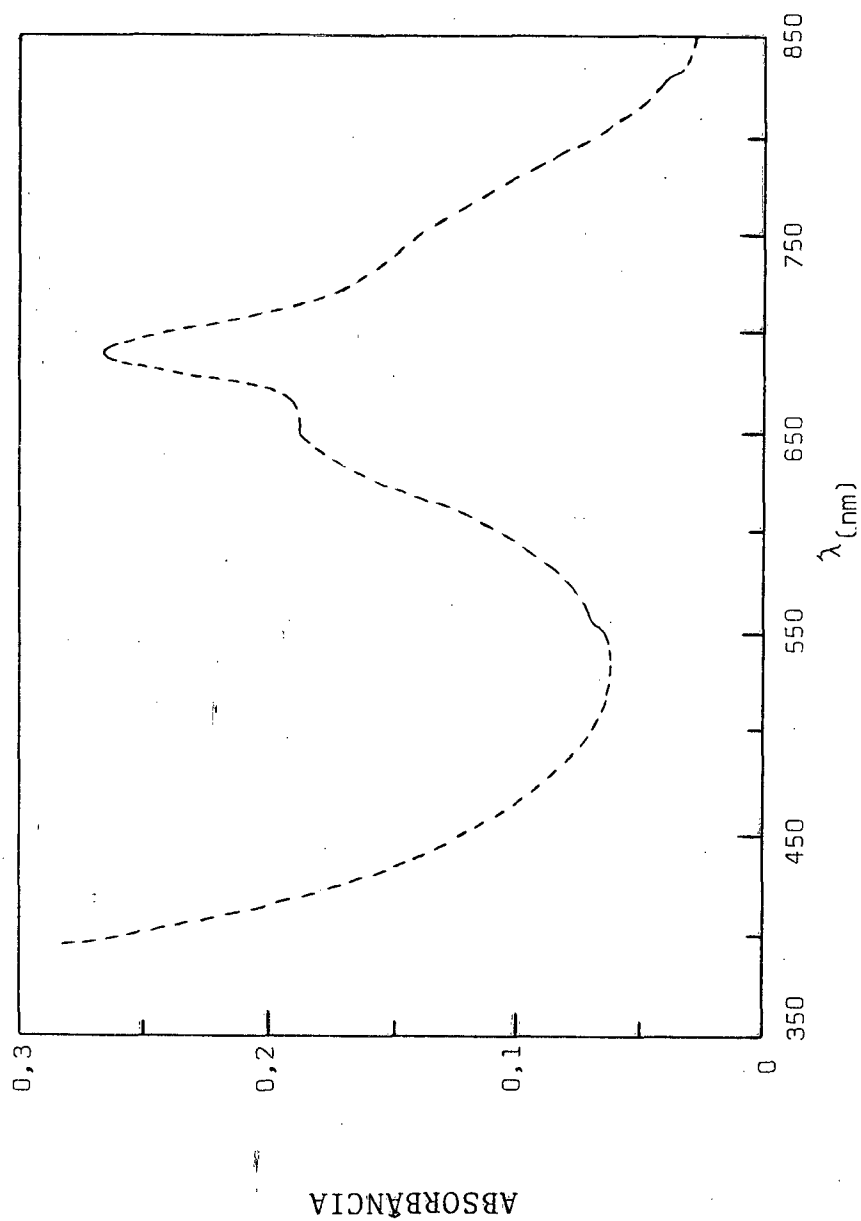


FIGURA 32 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA ( $\sim 1,60 \times 10^{-5} \text{M}$ ) EM SOLUÇÃO AQUOSA DE ETANOL (20% vol.) A  $25^{\circ}\text{C}$ .

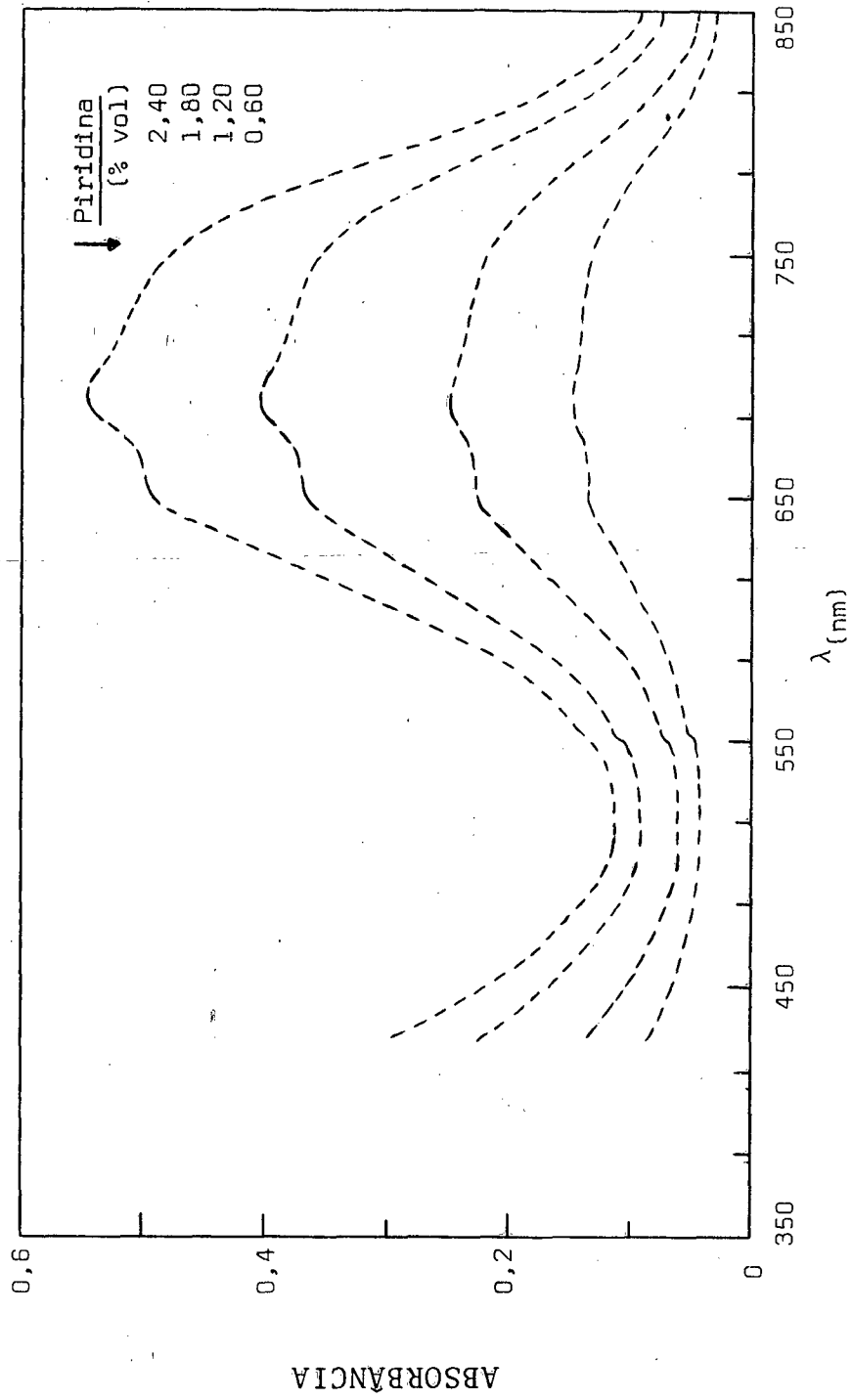


FIGURA 33 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA ( $\sim 3,20 \times 10^{-5}M$ ) EM SOLUÇÕES AQUOSAS DE PIRIDINA A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES A 25°C.

#### 4.2.3 - Solubilização de Magnésio Ftalocianina na Presença de Micelas de Brometo de Cetiltrimetilamônio (CTAB)

Os estudos da solubilização de magnésio ftalocianina em soluções aquosas de CTAB, a 25°C, foram feitos a partir de amostras sólidas de 0,0363 g. seguindo o procedimento já descrito no Capítulo III e usando soluções aquosas de CTAB na faixa de  $1,00 \times 10^{-4}$  M até  $20,0 \times 10^{-4}$  M.

A Figura 34 mostra os espectros de absorção de várias concentrações de ftalocianina em soluções aquosas do agente tenso-ativo CTAB. Como pode ser observado, os valores de  $\lambda_{\max}$  das bandas  $\alpha$  e  $\beta$  são praticamente idênticos aos resultados obtidos para soluções de magnésio ftalocianina em vários compostos orgânicos (etanol, DMF, DMA, DMSO, etc.) e os dois picos não apresentam deslocamento. Pode-se concluir também, a partir dos dados da Figura 34, que a magnésio ftalocianina é solúvel em água somente na presença de micelas de CTAB. Em soluções aquosas do surfactante, abaixo da concentração crítica micelar a magnésio ftalocianina não é solúvel.

Por outro lado, micelas de CTAB solubilizam bem este pigmento biológico. Por exemplo, em soluções aquosas de  $20,0 \times 10^{-4}$  M de CTAB a solubilidade da magnésio ftalocianina é de aproximadamente  $1,50 \times 10^{-4}$  moles/l.



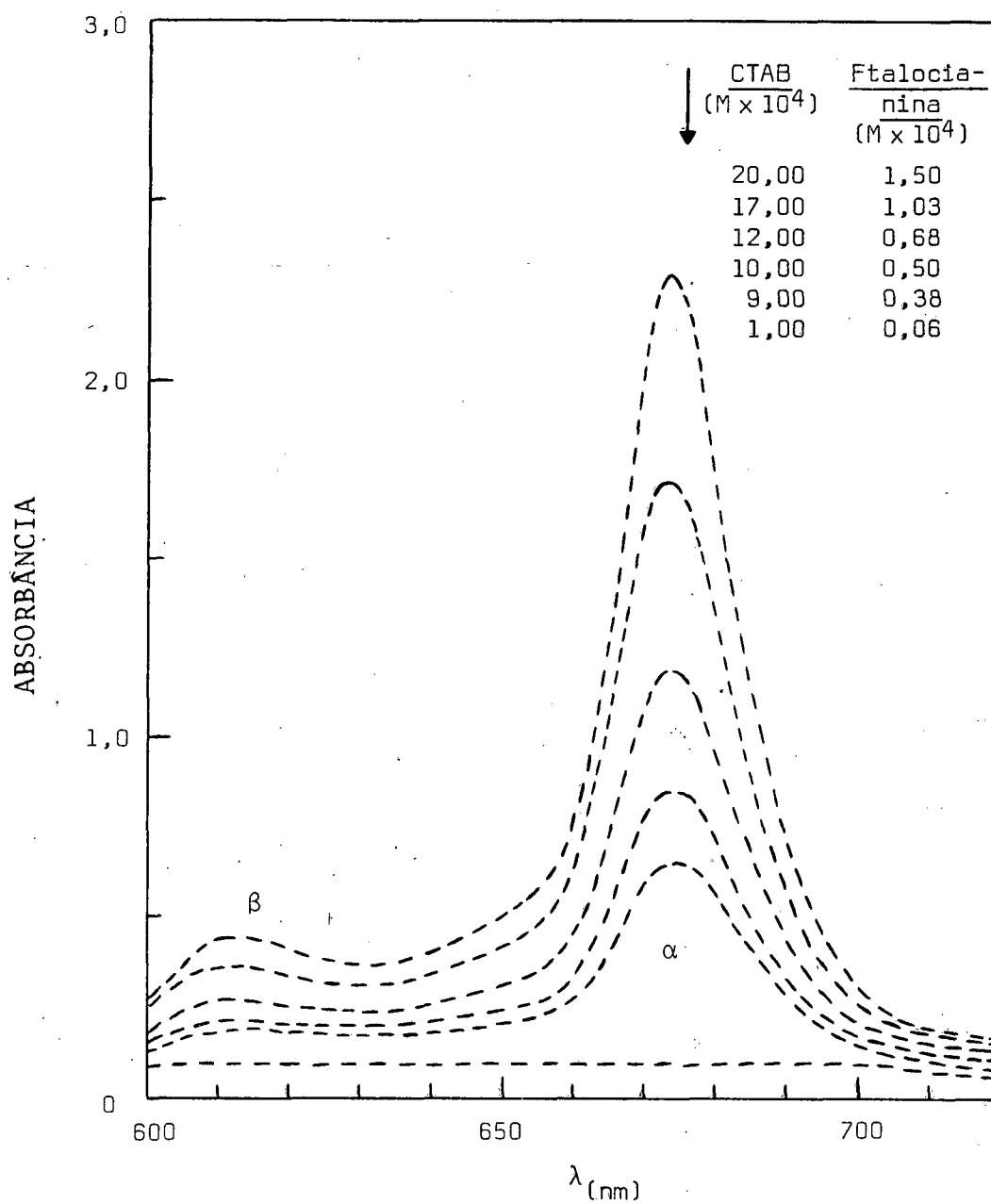


FIGURA 34 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA NA PRESENÇA DE MICELAS DE BROMETO DE CETILTRIMETILAMÔNIO (CTAB) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES A 25°C.

#### 4.2.4 - Solubilização de Magnésio Ftalocianina em Soluções Aquosas de Vários Surfactantes.

Os estudos da solubilização do pigmento biológico em água, a 25°C, na presença de vários surfactantes, foram feitos a partir de amostras sólidas de ftalocianina de acordo com o procedimento dado na parte experimental (Capítulo III).

Os surfactantes utilizados foram: cloreto de cetilpiridínio (CPCl); éter de lauril-23-polioxietileno (Brij-35); éter p-tertoctilfenilpolioxietileno (Triton X-100); lauril sulfato de sódio (NaLS) e cloreto de palmitilcarnitina (PCCl), a diferentes concentrações.

A Figura 35 mostra os espectros de absorção de magnésio ftalocianina em água na presença de CPCl em concentrações variando entre  $2,50 \times 10^{-3}$  M até  $3,00 \times 10^{-2}$  M. Analisando os espectros, verifica-se que a banda intensa  $\alpha$  ocorre a cerca de 670 nm e a banda  $\beta$ , de menor intensidade, a cerca de 605 nm, não apresentando nenhum deslocamento significativo. Verifica-se ainda que é necessária a presença de micelas de CPCl para solubilizar a ftalocianina e que estas, são boas solubilizadoras deste pigmento. Por exemplo, soluções aquosas  $3,00 \times 10^{-2}$  M de CPCl solubilizam, a 25°C, até  $9,00 \times 10^{-5}$  moles/l de ftalocianina.

Um comportamento semelhante foi observado para a magnésio ftalocianina em soluções aquosas contendo micelas de Brij-35 (Figura 36).

A Figura 37 ilustra uma série de espectros de absorção para a magnésio ftalocianina em água na presença de miche-

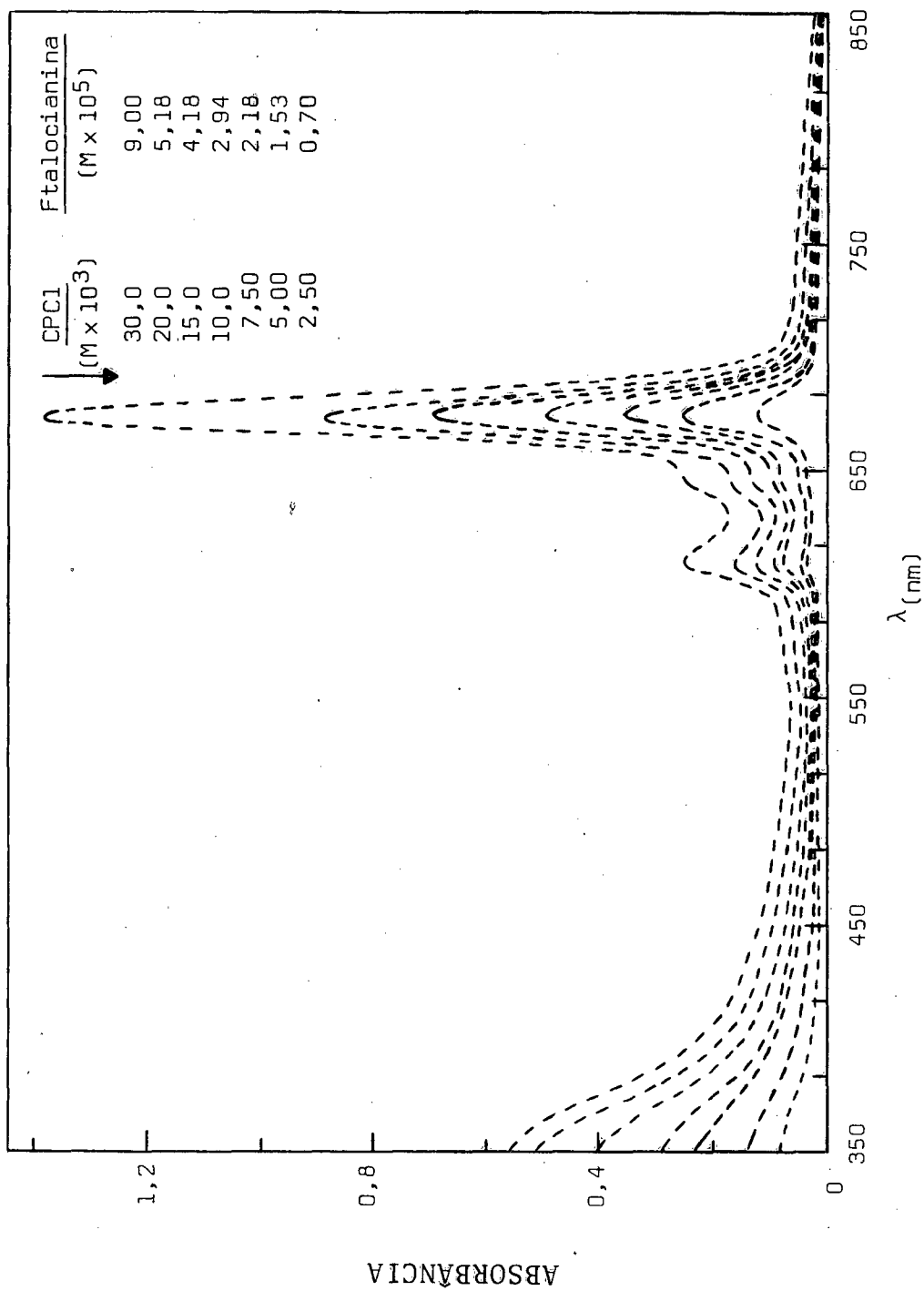


FIGURA 35 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA NA PRESENÇA DE MICELAS DE CLORETO DE CETILPIRIDÍNIO (CPCl) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES A 25°C.

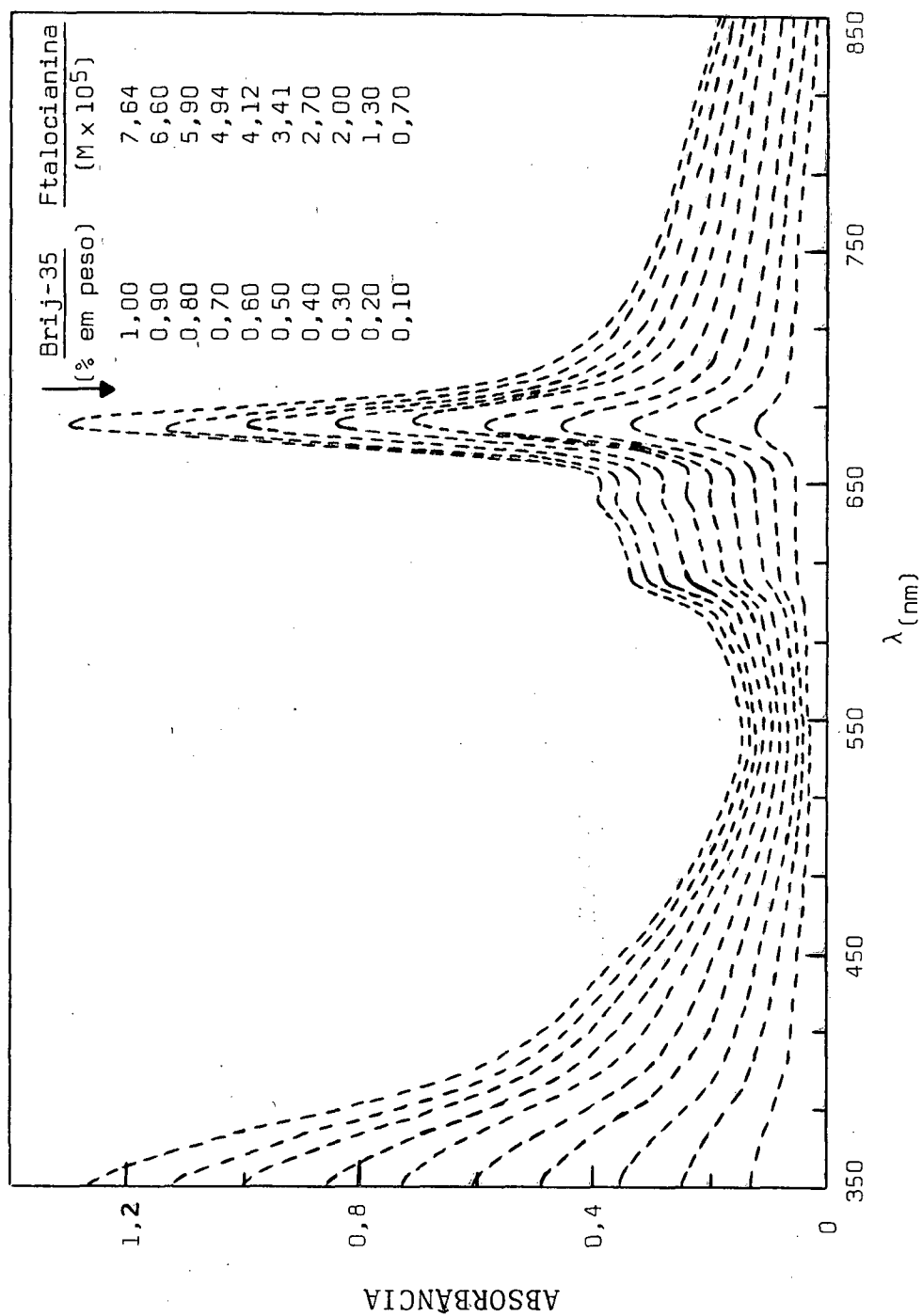


FIGURA 36 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA NA PRESENÇA DE MICELAS DE ÉTER DE LAURIL-23-POLIOXIETILENO (Brij-35) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES A 25°C.

las de Triton X-100. As bandas  $\alpha$  e  $\beta$  ocorrendo a cerca de 670 nm e 605 nm, respectivamente, aumentam de intensidade em função da concentração de Triton X-100.

Além disso, estas soluções apresentam uma variação na intensidade das bandas  $\alpha$  e  $\beta$  em função do tempo; a intensidade diminui com o tempo. Verifica-se também que estas soluções exibem fosforescência e esta aumenta em função do acréscimo da concentração de surfactante.

A Figura 38 ilustra os espectros de absorção de soluções aquosas de magnésio ftalocianina na presença de NaLS. Este surfactante também solubiliza o pigmento biológico, porém, é necessário que a sua concentração esteja bem acima da concentração crítica micelar para que isto aconteça (0,10 M NaLS). Estas soluções são um pouco turbidas, de coloração verde e também exibem fosforescência. Neste caso, porém, acontece algum processo de degradação química, pois a cor verde desaparece em pouco tempo (de 20 a 30 minutos) e a solução torna-se incolor.

Micelas de NaLS solubilizam bem a magnésio ftalocianina, porém esse surfactante não é tão efetivo como CTAB, CPCl, Brij-35 e Triton X-100.

A Figura 39 mostra uma série de espectros de absorção diferentes, apresentados pela magnésio ftalocianina em água na presença de PCCl. As bandas  $\alpha$  e  $\beta$  não são muito bem definidas e as micelas de PCCl são solubilizadores menos efetivas da ftalocianina comparadas com as micelas de NaLS. Por exemplo, soluções aquosas de  $1,00 \times 10^{-2}$  M de PCCl solubilizam, a  $25^{\circ}\text{C}$ , aproximadamente  $2,80 \times 10^{-5}$  moles/l de ftalocianina. A maioria das soluções apresenta um pouco de turbidez.

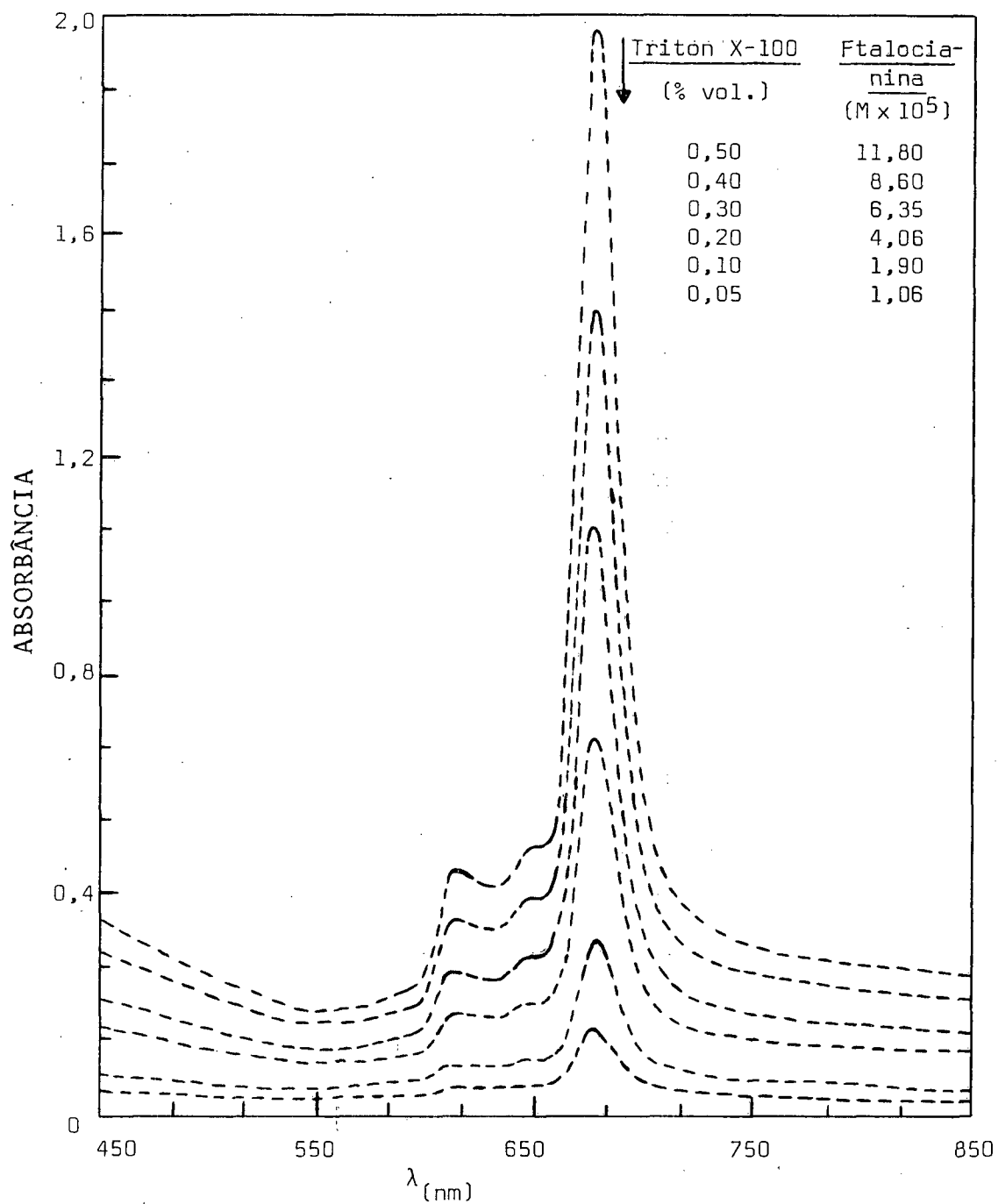


FIGURA 37 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA NA PRESENÇA DE MICELAS DE ÉTER p-TERTOCTILFENILPOLIOXIETILENO (Triton X-100) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES A 25°C.

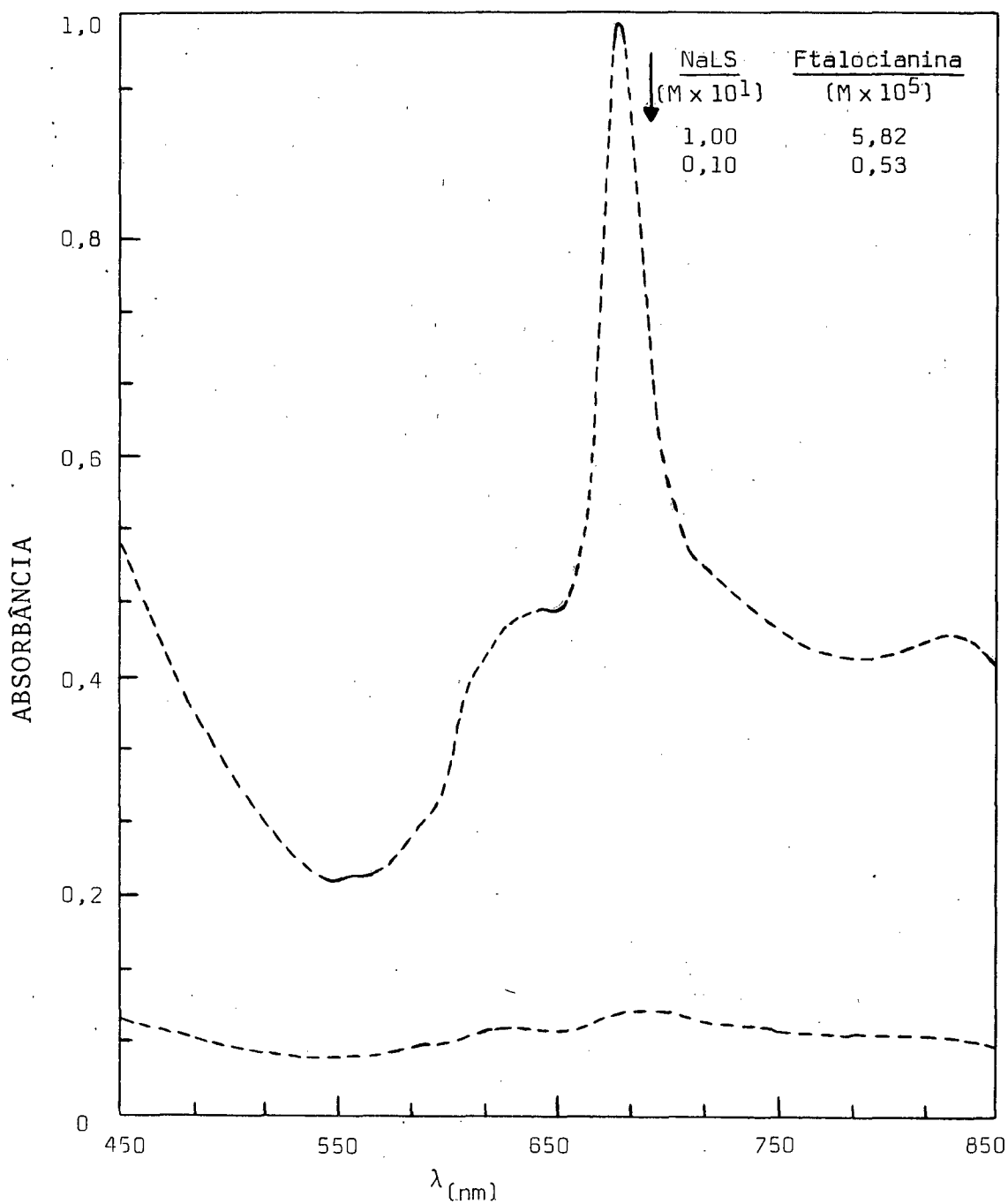


FIGURA 38 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA NA PRESENÇA DE MICELAS DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO (NaLS) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES A 25°C.

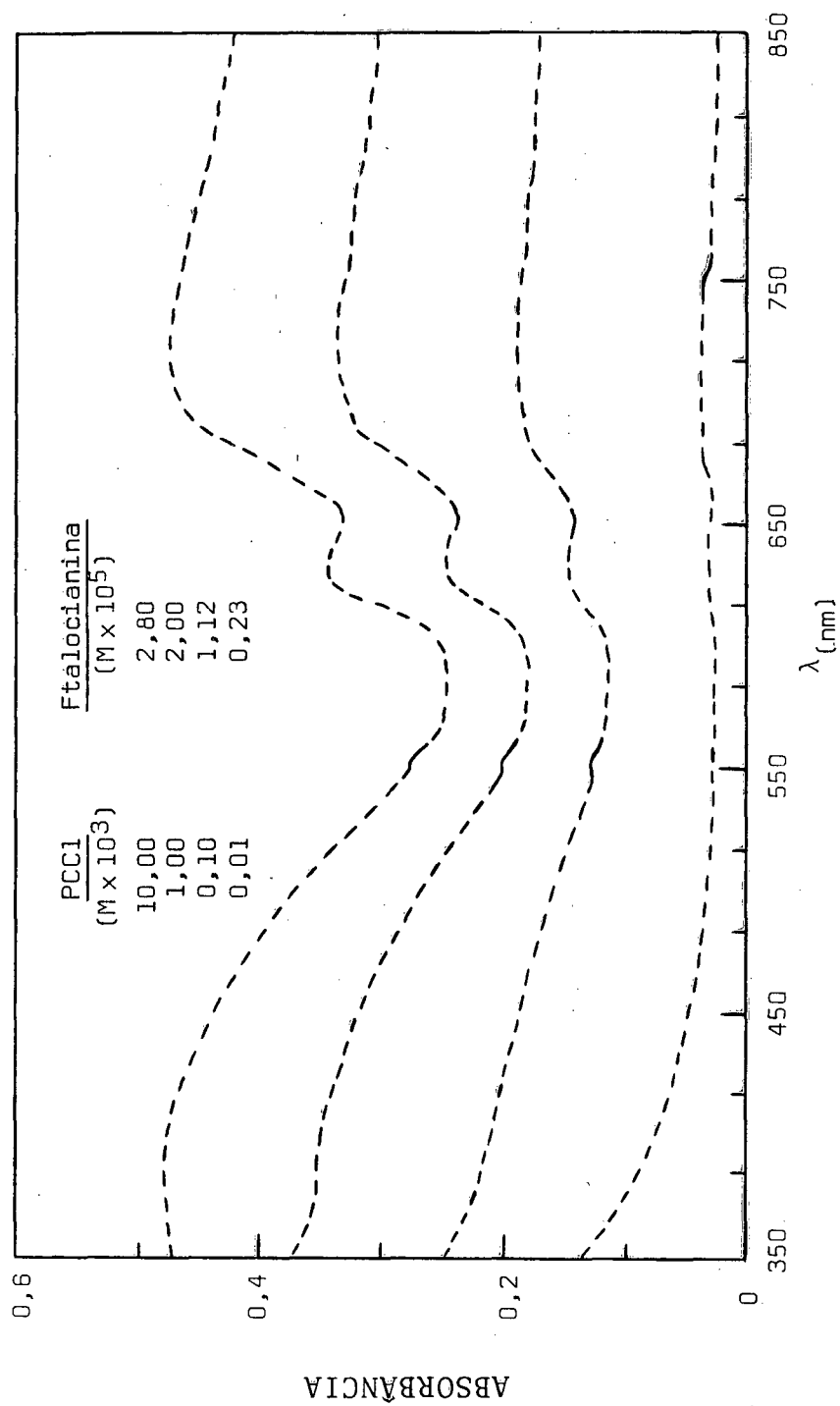


FIGURA 39 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA NA PRESENÇA DE MICELAS DE CLORETO DE PALMITILCARNITINA (PCCl) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES A 25°C.



#### 4.2.5 - Estudos dos Efeitos Salinos Sobre os Espectros de Magnésio Ftalocianina em Soluções Aquosas de Surfactantes.

Para verificar o efeito salino foram determinados espectros de soluções contendo magnésio ftalocianina, CTAB ou Brij-35 e várias concentrações de NaCl, a 25°C, na região visível entre 350 nm a 850 nm.

A Figura 40 mostra espectros de absorção de ftalocianina ( $\sim 5,00 \times 10^{-5} \text{M}$ ) na presença de CTAB (0,010 M) e NaCl em concentrações variando de  $1,00 \times 10^{-6} \text{M}$  a  $1,00 \times 10^{-1} \text{M}$ .

Observa-se que o efeito do NaCl sobre a intensidade das bandas  $\alpha$  e  $\beta$  é relativamente pequeno, mesmo quando a concentração de NaCl atinge 0,010 M.

Um comportamento semelhante é exibido por soluções de ftalocianina ( $\sim 8,50 \times 10^{-5} \text{M}$ ) na presença de micelas de Brij-35 (0,50% em peso) e NaCl em concentrações variando de  $1,00 \times 10^{-5} \text{M}$  a 1,00M (Figura 41).

O efeito salino sobre a intensidade das bandas espectrais da ftalocianina é consideravelmente diferente do efeito salino observado para porfirinas em soluções aquosas de surfactantes. No caso das porfirinas, a adição de sais como NaCl, KBr,  $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+\text{Cl}^-$  e outros provoca uma diminuição na intensidade das quatro bandas  $Q_{x1}$ ,  $Q_{x2}$ ,  $Q_{y1}$  e  $Q_{y2}$  muito mais pronunciada que no caso das ftalocianinas (13,22,23). Isto sugere que as porfirinas ficam localizadas muito mais perto da superfície da micela. spe

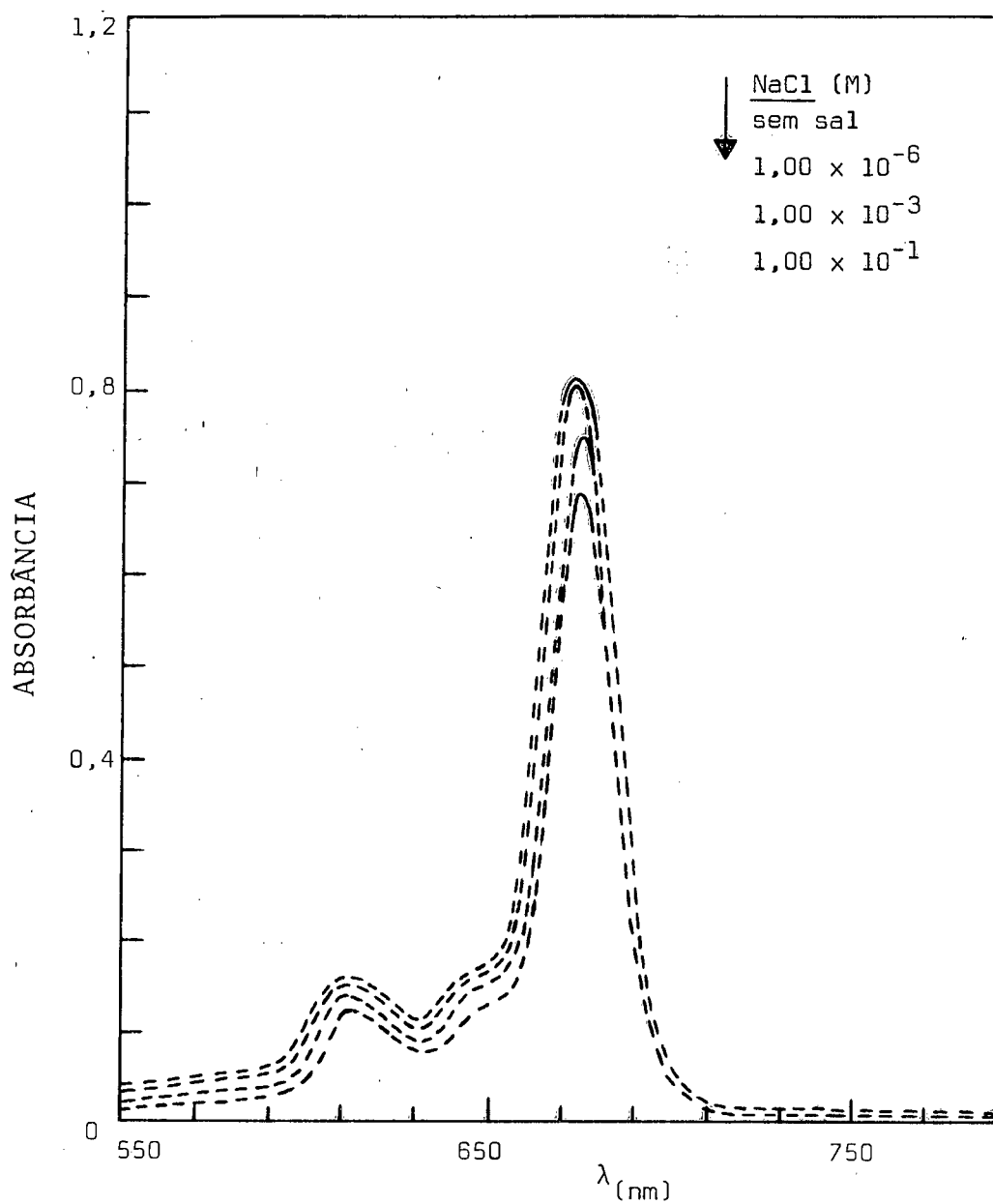


FIGURA 40 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA ( $\sim 5,00 \times 10^{-5}$  M) NA PRESENÇA DE CTAB (0,010 M) E NaCl EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES A 25°C.

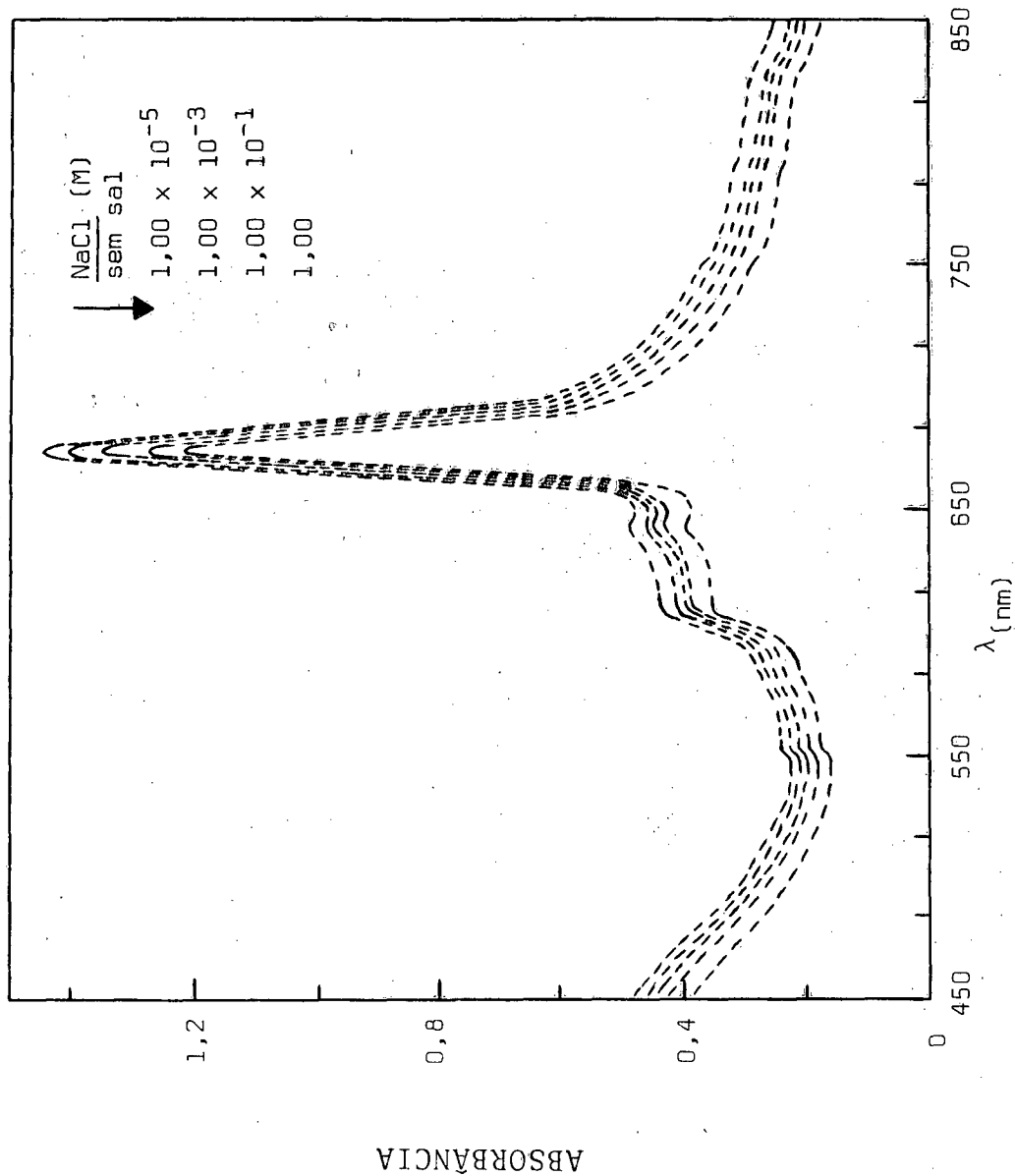


FIGURA 41 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA ( $\sim 8,50 \times 10^{-5} \text{M}$ ) NA PRESENÇA DE Brij-35 (0,50% em peso) E NaCl EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES A 25°C.

#### 4.3 - PROVÁVEL MECANISMO DA SOLUBILIZAÇÃO DE MAGNÉSIO FTALOCIANINA EM SOLUÇÕES AQUOSAS DE SURFACTANTES.

A solubilização de compostos insolúveis em meio aquoso, ou seja, a dissolução espontânea de uma substância geralmente pode ser explicada por três mecanismos diferentes<sup>(109,110)</sup>, dependendo da natureza das substâncias a serem solubilizadas. Em geral, as substâncias podem ser: 1) anfifílicas, contendo uma parte hidrofílica e outra hidrofóbica; 2) apolares ou lipofílicas e 3) altamente polares e relativamente curtas em comprimento<sup>(109)</sup>.

Conseqüentemente, os três mecanismos<sup>(109)</sup> propostos para a solubilização, na base de vários resultados experimentais, são os seguintes:

- 1) Os compostos anfifílicos são incorporados na micela e orientam-se de tal forma que a parte hidrofílica fica na superfície e a parte hidrofóbica no interior da micela.
- 2) As substâncias lipofílicas e não-polares são incorporadas no interior das micelas entre as caudas das moléculas dos agentes tenso-ativos.
- 3) Os compostos altamente polares e insolúveis tanto na água quanto nas cadeias hidrocarbônicas são solubilizados através de um processo de adsorção na superfície carregada das micelas<sup>(109)</sup>.

As ftalocianinas de forma geral podem ser consideradas como compostos lipofílicos, pouco polares. Tendo em vista esta observação e os resultados obtidos para os espectros de ftalocianinas em soluções aquosas na presença de sais, pode-se

sugerir que a solubilização de ftalocianinas ocorre através da incorporação deste pigmento biológico no interior da micela.

#### 4.4 - SOLUBILIZAÇÃO DE CAROTENOS EM SOLUÇÕES AQUOSAS DE AGENTES TENSO-ATIVOS.

As amostras de carotenos usadas foram extraídas a partir de cenouras segundo o procedimento descrito no Capítulo III. O produto obtido continha  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -carotenos, sendo  $\beta$ -caroteno o composto predominante.

A Figura 42 mostra o espectro de uma solução contendo os três carotenos em solvente Skelly B. Observam-se três bandas de absorção distintas, ocorrendo a cerca de 425, 450 e 475 nm, correspondendo a cada componente.

Os estudos de solubilização foram feitos a partir de amostras de aproximadamente 10 mg de carotenos, obtidas pela evaporação de alíquotas de 1 ml de extrato em solvente Skelly B, adicionadas a vários solventes ou a soluções aquosas de surfactantes.

A Figura 43 ilustra o espectro de absorção de soluções de carotenos (0,05 g/l até 0,50 g/l) em benzeno puro a 25°C. As três bandas de absorção sofrem um deslocamento de cerca de 10 nm e ocorrem a aproximadamente 435, 460 e 485 nm.

A Figura 44 mostra o espectro de absorção de soluções de carotenos (0,05 g/l até 0,50 g/l) em ciclohexano puro. As três bandas de absorção características dos carotenos ocorrem em comprimentos de onda iguais aos apresentados na Figura 42 para soluções com o solvente Skelly B.

É conhecido que o benzeno e o ciclohexano são bons solubilizadores do  $\beta$ -caroteno, um composto altamente insolúvel em água. Os valores dos  $\lambda_{\max}$  dados na literatura <sup>(105)</sup> para o

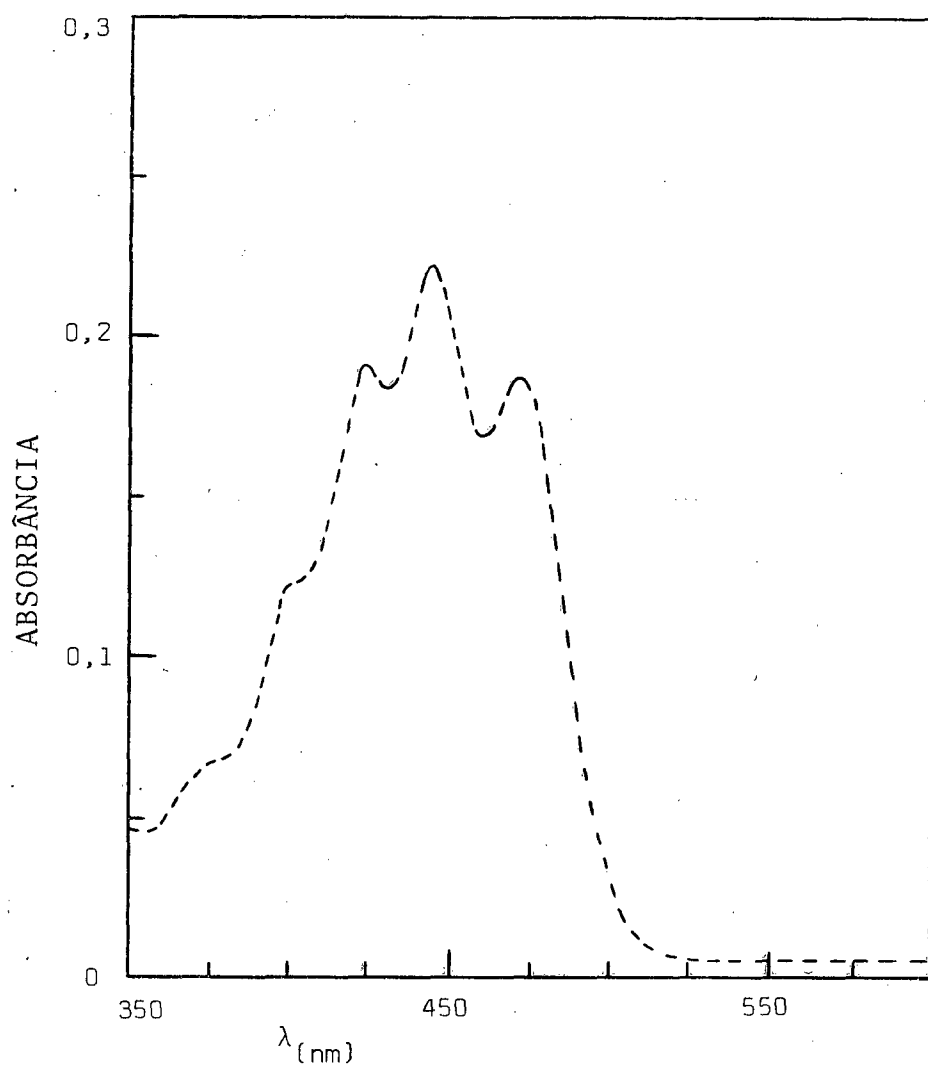


FIGURA 42 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE  $\alpha$ ,  $\beta$  E  $\gamma$ -CAROTENOS EM SOLVENTE Skelly B [Ligroina (40° - 60°C)-Acetona] A 25°C.

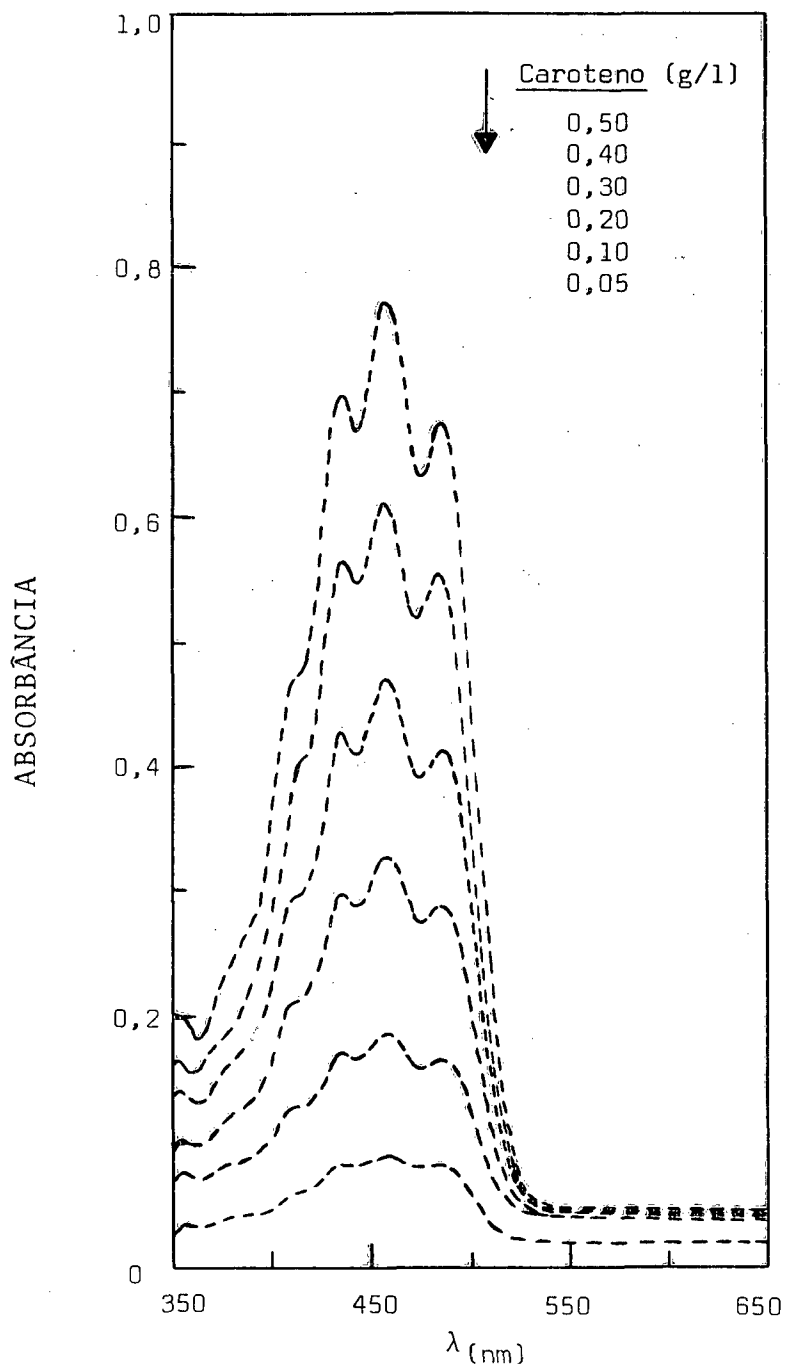


FIGURA 43 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE  $\alpha$ ,  $\beta$  E  $\gamma$ -CAROTENOS A VÁRIAS CONCENTRAÇÕES EM BENZENO A 25°C.



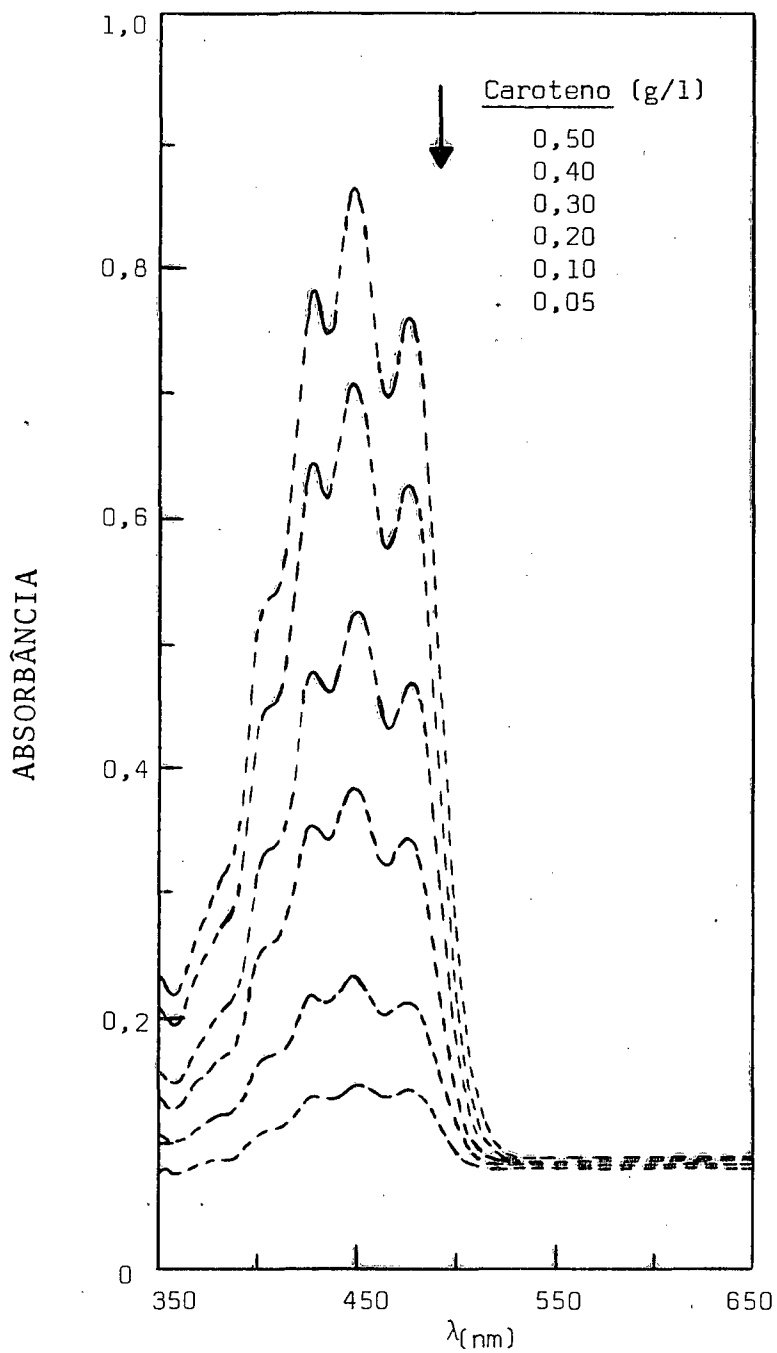


FIGURA 44 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE  $\alpha$ ,  $\beta$  E  $\gamma$ -CAROTENOS A VÁRIAS CONCENTRAÇÕES EM CICLOHEXANO A 25°C.

$\beta$ -caroteno são: 464, 465 nm (benzeno) e 455, 456 nm (ciclohexano). As outras bandas de absorção (que aparecem nas Figuras 42, 43 e 44) são devidas aos componentes menores e aos  $\alpha$  e  $\gamma$ -carotenos presentes no extrato.

A Figura 45 ilustra o espectro de absorção de carotenos em soluções aquosas dos surfactantes: brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) -  $1,00 \times 10^{-1}$  M; cloreto de cetilpiridínio (CPC1) -  $1,00 \times 10^{-1}$  M; lauril sulfato de sódio (NaLS) -  $1,00 \times 10^{-1}$  M; éter de lauril-23-polioxiétileno (Brij-35) - 1,00% em peso e éter p-tertoctilfenilpolioxiétileno (Triton X-100) - 1,00% em volume. As soluções foram preparadas a partir de 10 mg de extrato de carotenos e as concentrações de surfactantes acima citadas em água. Algumas das soluções apresentaram um certo grau de turbidez.

Micelas de Triton X-100 são ótimas solubilizadoras de carotenos. Por exemplo, uma solução aquosa contendo 1,00% de Triton X-100 dissolve aproximadamente 1 g de carotenos por litro. Por outro lado, micelas de CTAB, são sistemas menos eficientes para a solubilização e micelas de Brij-35, NaLS e CPC1 não solubilizam carotenos. Levando em consideração a estrutura do  $\beta$ -caroteno pode-se sugerir que o processo de solubilização acontece através da incorporação do pigmento biológico no interior da micela.

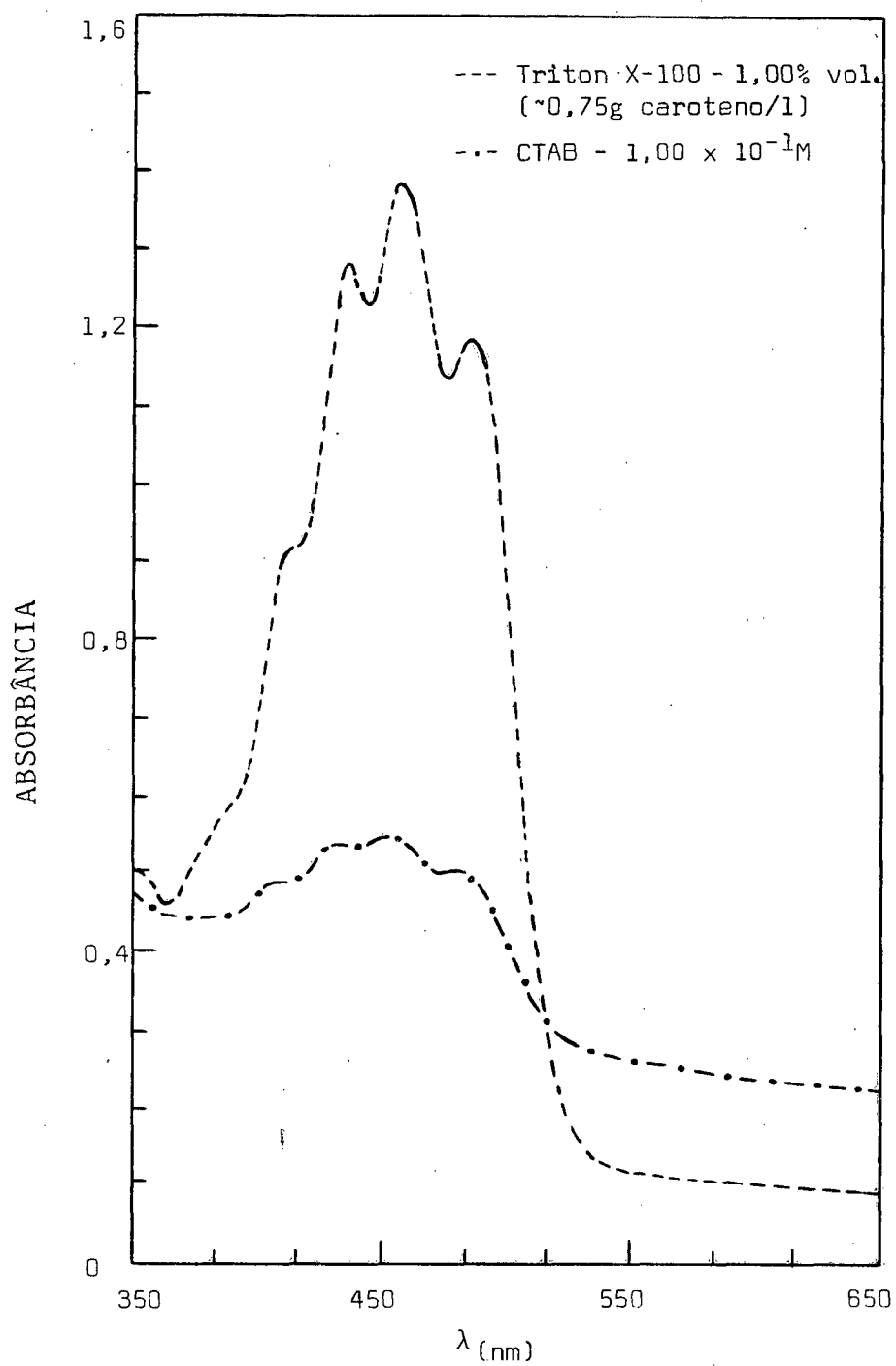


FIGURA 45 - ESPECTROS DE ABSORÇÃO DE  $\alpha$ ,  $\beta$  E  $\gamma$ -CAROTENOS EM SOLUÇÕES AQUOSAS CONTENDO VÁRIOS SURFACTANTES A 25°C.

C A P Í T U L O V

## CONCLUSÕES

Os objetivos do presente estudo foram de investigar algumas propriedades dos pigmentos biológicos porfirina, ftalocianina e caroteno em soluções aquosas de agentes tenso-ativos. A análise dos resultados experimentais nos permite chegar às seguintes conclusões:

O desdobramento descrito por L.G. Ionescu et al<sup>(22,23)</sup> para as bandas  $\alpha$  e  $\beta$  da porfirina em soluções aquosas contendo micelas de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) foi confirmado. A intensidade das quatro bandas na região visível ( $Q_{x1}$ ,  $Q_{x2}$ ,  $Q_{y1}$  e  $Q_{y2}$ ) aumenta em função da concentração de CTAB e atinge um patamar. Abaixo da CMC, não se verifica nenhum desdobramento das bandas  $\alpha$  e  $\beta$ .

Tanto a manganês ftalocianina quanto a magnésio ftalocianina são insolúveis em água. A magnésio ftalocianina é bastante solúvel em vários solventes orgânicos como: metanol, etanol, benzeno; N,N-dimetilformamida; N,N-dimetilacetamida e dimetilsulfóxido. Magnésio ftalocianina é também solúvel em soluções aquosas de ácido clorídrico, etanol e piridina. A magnésio ftalocianina é muito solúvel em soluções aquosas na presença de micelas de vários surfactantes como brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), cloreto de cetilpiridínio (CPCl), éter de lauril-23-polioxi-etileno (Brij-35), éter p-tertoctilfenilpolioxi-etileno (Triton X-100) e pouco solúvel na presença de mi-

celas dos surfactantes lauril sulfato de sódio (NaLS) e cloreto de palmitilcarnitina (PCCl). Sugere-se que o processo de solubilização da ftalocianina ocorre através da incorporação do pigmento biológico no interior da micela.

Os carotenos obtidos por processo de extração a partir de cenouras são  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -carotenos, sendo  $\beta$ -caroteno o composto obtido em maior quantidade. Estes pigmentos biológicos são insolúveis em água. Entretanto,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -carotenos podem ser solubilizados em água na presença de micelas de Triton X-100.

Os resultados experimentais obtidos neste trabalho são importantes porque além de contribuir para um entendimento melhor das propriedades dos três pigmentos biológicos poderiam ter aplicações práticas em processos de transferência e armazenagem de energia.

C A P Í T U L O VI

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) LEHNINGER, A.L. Biochemistry, Worth Publishers, Inc., 1975.
- (2) STRYER, L. Biochemistry. W.H. Freeman and Company, San Francisco, 1975.
- (3) WOLD, F. Macromolecules: Structure and Function, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1971.
- (4) VILLELA, G.G.; BACILA, M. & TASTALDI, H. Bioquímica, Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 4a. ed., 1978.
- (5) CONN, E.E. & STUMPF, P.K. Introdução à Bioquímica, Edgard Blücher, São Paulo, 1975.
- (6) METZLER, D.E. Biochemistry, Academic Press, Inc., New York, 1977.
- (7) FALK, J.E. Porphyrins and Metalloporphyrins. Elsevier Publishing Company, New York and Amsterdam, 1964.
- (8) OCHIAI, E.I. Bioinorganic Chemistry - An Introduction. Allyn and Bacon, Inc., Boston, 1977.
- (9) YONETANI, T. in: "Hemes and Hemoproteins", Academic Press, New York, 1966.

- (10) HUHEEY, J.R. Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity. New York, Harper & Row, 1972. Cap. 16.
- (11) IONESCU, L.G. Attempts to Study the Interaction of Leguminous Hemoglobin with Nitrogen and Xenon. Doctoral Dissertation, New Mexico State University, Las Cruces, 1970.
- (12) TSANG, J.K. Interaction of Respiratory Pigments with Surfactants, Master's Thesis, New Mexico Highlands University, Las Vegas, N. Mexico, 1975.
- (13) AVARIA, G.E. Interaction of Ferrimyoglobin and Ferriprotoporphyrin IX with Cetyltrimethylammonium Bromide, Master's Thesis, University of Detroit, Detroit, 1978.
- (14) ZANETTE, D. Estudo da Reação da Vitamina B<sub>12</sub>s com DDD. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 1978.
- (15) ANTONINI, E. Interrelationship Between Structure and Function in Hemoglobin and Myoglobin. Physical Rev., 45: 123, 1965.
- (16) SENOZAN, N.M. Hemocyanin: The Copper Blood. J. Chem. Educ., 53: 684, 1976.
- (17) VIRTANEN, A.I.; JORMA, J.; LINKOLA, H. & LINNASALMI, A. On the Relation between Nitrogen Fixation and Leghaemoglobin Content of Leguminous Root Nodules. Acta

Chem. Scand. , 1: 90-111, 1947.

- (18) KEILIN, D.; & WANG, Y.L. Hemoglobin in the Root Nodules of Leguminous Plants. Nature, 155: 227-229, 1945.
- (19) DILWORTH, M.J. & KIDBY, D.K. Localization of Iron and Leghaemoglobin in the Legume Root Nodule by Electron Microscope Autoradiography. Exp. Cell. Res., 49 : 148-159, 1968.
- (20) EWING, G.J. & IONESCU, L.G. The Interaction of Leghaemoglobin with Nitrogen and with Xenon. J. Phys. Chem., 76: 591-596, 1972.
- (21) EWING, G.J. & IONESCU, L.G. Exchange of Leguminous Hemoglobin with Radioactive Iron. Rev. Roum. Biochim. , 13: 193-195, 1976.
- (22) IONESCU, L.G. & CZERNIAWSKI, B.J. Interaction of Ferriprotoporphyrin IX with Cetyltrimethylammonium Bromide. Rev. Roum. Biochim., 18: 103-111, 1981.
- (23) IONESCU, L.G.; CZERNIAWSKI, B.J.; CICCONE, R.P. & SMITH, E.S. Interaction of Ferriprotoporphyrin IX with Surfactans. Research Report, University of Detroit, Detroit, Michigan, 1978.
- (24) GOUTERMAN, M. Spectra of Porphyrins. J. Mol. Spectrosc., 6: 138, 1961.
- (25) GOUTERMAN, M. Study of the Effects of Substitution on the Absorption Spectra of Porphyrin. J. Chem. Phys., 30: 1139, 1959.



- (26) WEISSBLUTH, M. The Physics of Hemoglobin in Structure and Bonding. Berlin, Springer-Verlag, 1967. Vol. 2.
- (27) NAFIE, L.A.; PEZOLET, M. & PETICOLAS, W.L. On the Origin of the Intensity of the Resonant Raman Bonds of Differing Polarization in Heme Proteins. Chem. Phys. Lett., 20: 563, 1973.
- (28) SPIRO, T.G. & STREKAS, T.C. Resonance Raman Spectra of Heme Proteins. Effects of Oxidation and Spin State. J. Amer. Chem. Soc., 96: 338, 1974.
- (29) KAMPAS, F.J. & GOUTERMAN, M. Porphyrin Films-5. Strong Fluorescence. J. Lum., 17: 439-447, 1978.
- (30) LOURO, S.R.W. & BEMSKI, G. Interpretation of Copper(II): Hemoglobin EPR Spectra. J. Mag. Res., 28: 427-431, 1977.
- (31) BATTERSBY, A.R. & McDONALD, E. Origin of the Pigments of Life: The Type III Problem in Porphyrin Biosynthesis. J. Amer. Chem. Soc., 101: 14, 1979.
- (32) COTTON, F.A.; WILKINSON, G. Advanced Inorganic Chemistry Interscience Publishers, New York, 1972.
- (33) HASINOFF, B.B.; DUNFORD, H.B. & HORNE, D.G. Temperature Jump Kinetics of the Binding of Imidazole to Ferriproporphyrin IX. Can. J. Chem., 47: 3225, 1969.
- (34) DAY, P. & SANDERS, N. The Spectra of Complexes of Conjugated Ligands. Part I. Charge-transfer in Phenanthro

- line Complexes: Energy Shifts on Substitution. J. Chem. Soc. (A), 1530, 1967.
- (35) ANGERMAN, N.S.; HASINOFF, B.B.; DUNFORD, H.B. & JORDAN, R.B. Study of the Exchange Rates of Ethanol and Water on Ferriprotoporphyrin IX by n.m.r. Line Broadening. Can. J. Chem., 47: 3217, 1969.
- (36) TSUCHIDA, E.; HONDA, K. & SATA, H. Formation and Decomposition of the Oxygen Complex of Ferrotoporphyrin Bound to the Water-Soluble Polymer Ligand in Aqueous Solution. Inorg. Chem., 15: 352, 1976.
- (37) CONNOR, W.M. & STRAUB, D.K. Hemochromes with Phosphorus Ligands. Inorg. Chem., 16: 491, 1977.
- (38) GOFF, H. & MORGAN, L.O. Amino Acid Substituted Iron Porphyrins. 2. Thermodynamic Studies of Ligand Binding. Inorg. Chem., 15: 2069, 1976.
- (39) GOFF, H. & MORGAN, L.O. Amino acid Substituted Iron Porphyrins. 1. Preparation and Aqueous Solution Properties. Inorg. Chem., 15: 2062, 1976.
- (40) SHELNUTT, J.A.; O'SHEA, D.C.; YU, NAI-TENG; CHEUNG, L.D. & FELTON, R.H. Resonance Raman Spectra of Manganese (III) Etioporphyrin I. J. Chem. Phys., 64: 1156, 1976.
- (41) JOPE, E.M. & O'BRIEN, J.R.P. Spectral Absorption and Fluorescence of Coproporphyrin Isomers I and III and the Meeting-points of their Methyl Esters. Biochem. J., 39: 239, 1945.

- (42) WOODRUFF, W.H.; ADAMS, D.H.; SPIRO, T.G. & YONETANI, T. Resonance Raman Spectra of Cobalt Myoglobins and Cobalt Porphyrins. Evaluation of Protein Effects on Porphyrin Structure. J. Amer. Chem. Soc., 97: 1695, 1975.
- (43) COLLINS, D.W.; FITCHEN, D.B. & LEWIS, A. Resonant Raman Scattering from Cytochrome C: Frequency Dependence of the Depolarization Ratio. J. Chem. Phys., 59: 5714, 1973.
- (44) GRINSTEIN, M. & WINTROBE, M.M. Spectrophotometric Micro method for the Quantitative Determination of the Free Erythrocyte Protoporphyrin. J. Biol. Chem., 172: 459, 1948.
- (45) SPIRO, T.G. & STREKAS, T.C. Resonance Raman Spectra of Hemoglobin and Cytochrome C: Inverse Polarization and Vibronic Scattering. Proc. Nat. Acad. Sci., 69: 2622-2626, 1972.
- (46) PERRIN, M.H.; GOUTERMAN, M. & PERRIN, C.L. Vibronic Coupling. VI. Vibronic Borrowing in Cyclic Polyenes and Porphyrin. J. Chem. Phys., 50: 4137, 1969.
- (47) KAMPAS, F.J. & GOUTERMAN, M. Porphyrin Films. Electroluminescence of Octaethylporphin. Chem. Phys. Lett., 48: 233-236, 1977.
- (48) KAMPAS, F.J. & GOUTERMAN, M. Octaethylporphin Films. II. Absorption and Emission of Amorphous Films. J. Lum., 14: 121-129, 1976.

- (49) BONHAM, J.S.; GOUTERMAN, M. & HOWELL, D.B. Absorption and Emission of Thin Solid Films of Octaethylporphin. J. Lum., 10: 295-304, 1975.
- (50) KAMPAS, F.J. & GOUTERMAN, M. Porphyrin Films. 3. Photovoltaic Properties of Octaethylporphine and Tetraphenylporphine. J. Phys. Chem., 81: 690, 1977.
- (51) DOUGLAS, B.E. & McDANIEL, D.H. Concepts and Models of Inorganic Chemistry, Blaisdell Publishing Company, Waltham, Massachusetts, 1972.
- (52) JONES, J.G. & TWIGG, M.V. Axial Ligand Exchange Reactions of Ferrous Phthalocyanine. Exchange of Imidazole for Dimethyl Sulfoxide. J. Inorg. Nucl. Chem., 5: 333, 1969.
- (53) LOUFTHY, R.O. & SHARP, J.H. Photovoltaic properties of Metal-Free Phthalocyanines. I. Al/H<sub>2</sub>Pc Schottky Barriers Solar Cells. J. Chem. Phys., 71: 1211-1217, 1979.
- (54) STAFF, C.E.N. Conducting Polymers R & D Continues to Grow. Chem. Eng. News, 60(16): 29, 1982.
- (55) MAROIE, S.; SAVY, M. & VERBIST, J.J. ESCA and EPR Studies of Monomer, Dimer, and Polymer Iron Phthalocyanines: Involvements for the Electrocatalysis of O<sub>2</sub> Reduction. Inorg. Chem., 18: 2560-2567, 1979.
- (56) MAROIE, S.; SAVY, M. & VERBIST, J.J. ESCA and EPR Studies of Monomer, Dimer, and Polymer Iron Phthalocyanine

- nes: Involvements for the Electrocatalysis of O<sub>2</sub> Reduction. Inorg. Chem., 18: 2560, 1979.
- (57) FÜSTÖSS-WÉGNER, M. A Study of the Phase Behaviour of Metal-Free Phthalocyanine in a Differential Scanning Calorimeter. Thermochim. Acta, 23: 93-102, 1978.
- (58) DAHLBERG, S.C. & MUSSER, M.E. The effect of the Central Ligand on the Surface photovoltage of Phthalocyanine Films. J. Chem. Phys., 70: 5021-5025, 1979.
- (59) FISHEL, D.L. & FORT, R.C. Modern Exptl. Organic Chem., Colier-MacMillan LTD, London, 1968.
- (60) RENDINA, G. Experimental Methods in Modern Biochemistry. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1971.
- (61) SUGIMOTO, T.; NAKANO, K.; KITAJIMA, H. & SUZUKI, H. Theory of the Optical Absorption of  $\beta$ -Carotene. J. Phys. Soc. Japan, 46: 1307, 1979.
- (62) MIRALLES, M.O.; VERA, J. & SERNA, A. Polarografia del  $\beta$ -Caroteno en Medios Alcoholicos. An. Quim. R. Soc. Espan. Fis. Quim., 73: 478, 1977.
- (63) LEBEDA, M. & PRIKRYLOCA, J. Beta-Karotén Krevni Plazmy Dojnic V Ruzných Fázich Laktace a Reprodukčního Cyklu. Veterinární Medicina, 24: 225-232, 1979.
- (64) CSORBA, I.; BUZÁS, Z.; POLYÁK, B. & BOROSS, L. High-Speed Video-Densitometric Determination of Chlorophylls and Carotenes Separated by Thin-Layer Chromatography. J. Chromatography, 172: 287-293, 1979.

- (65) FEICHTMAYER, F.; HEILBRONNER, E.; NÜRRENBACH, A. ; POMMER, H. & SCHLAG, J. The Dispersive Interaction of Non-Polar Solutes with Non-Polar Solvents: Solvent Effects on Electronic Spectra of Carotenoids. Tetrahedron, 25: 5383-5408, 1969.
- (66) WALLACH, D.F.H. & WINZLER, R.J. Envolving Strategies and Tactics in Membrane Research, Springer-Verlag, New York, 1974.
- (67) AVARIA, G.E. The Physical Properties of Cell Membranes. Seminar, University of Detroit, Detroit, 1977.
- (68) PARSONS, D.S. Biological Membranes, Clarendon Press, Oxford, 1975.
- (69) VILLANUEVA, J.R. & PONZ, F. Membranes: Structure and Function. Academic Press, London, 1970.
- (70) GORTER, E. & GRENDL, F. On Bimolecular Layers of Lipoids on the Chromocytes of the Blood. J. Exp. Med., 41: 439, 1925.
- (71) DANIELLI, J.F. & DAVSON, H. The Permeability of thin Films. J. Cellular Comp. Physiol., 5: 495-508, 1935.
- (72) BENSON, A.A. A Dynamic Model for Biological Membranes. J. Am. Oil Chem. Soc., 43: 265, 1966.
- (73) SINGER, S.J. & NICOLSON, G.L. Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes. Science, 175: 720-731, 1972.

- (74) VANDERKOOI, G. & GREEN, D.E. Biological Membrane Structure. I. The Protein Crystal Model for Membranes. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 66: 615-621, 1970.
- (75) BARENHOLZ, Y.; GIBBES, D.; LITMAN, B.J.; GOLL, J.; THOMPSON, T.E. & CARLSON, F.D. A Simple Method for the Preparation of Homogeneous Phospholipid Vesicles. Biochemistry, 16: 2806, 1977.
- (76) FENDLER, J.H. Surfactant Vesicles as Membrane Mimetic Agents: Characterization and Utilization. Acc. Chem. Res., 13: 7-13, 1980.
- (77) FENDLER, J.H. Microemulsions, Micelles, and Vesicles as Media for Membrane Mimetic Photochemistry. J. Phys. Chem., 84: 1485, 1980.
- (78) TUNULI, M.S. & FENDLER, J.H. in: Inorganic Reactions in Organized Media, S.L. Holt, Ed., ACS Symposium Series, No. 177, American Chemical Society, Washington, D.C., 1982.
- (79) TUNULI, M.S. & FENDLER, J.H. Aspects of Artificial Photosynthesis. Photosensitized Electron Transfer Across Bilayers, Charge Separation and Hydrogen Production in Anionic Surfactant Vesicles. J. Am. Chem. Soc., 103: 2507, 1981.
- (80) TUNDO, P.; KURIHARA, K.; KIPPENBERGER, D.J.; POLITI, M. & FENDLER, J.H. Chemically Dissymmetrical, Polymerized Surfactant Vesicles: Synthesis and Possible Utilization in Artificial Photosynthesis. Angew. Chem. Int.

Ed. Engl., 21: 81-82, 1982.

- (81) TUNDO, P.; KIPPENBERGER, D.J.; KLAHN, P.L.; PRIETO, N.E.; JAO, T.C. & FENDLER, J.H. Functionally Polymerized Surfactant Vesicles. Synthesis and Characterization. J. Am. Chem. Soc., 104: 456-461, 1982.
- (82) FENDLER, J.H. & FENDLER, E.J. Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems. Academic Press, New York, 1975.
- (83) TANFORD, C. The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes. John Wiley & Son, New York, 1973.
- (84) TANFORD, C. Hydrophobic Free Energy, Micelle Formation and the Association of Proteins with Amphiphiles. J. Mol. Biol., 67: 59-74, 1972.
- (85) NIEDICK, B. Über Grüne Invertseifen-Chromoproteid-Komplexe. Naturwiss., 45: 163, 1958.
- (86) GERSONDE, K.; SEIDEL, A. & NETTER, H. Elektronenstruktur der Prosthetischen Gruppe und Tertiärstruktur in Hämoproteiden. II. Magnetische und Spektrale Eigenschaften des 3-Wertigen Pferdehämoglobins und-Myoglobins unter dem Einfluss von Laurylpyridiniumchlorid. J. Mol. Biol., 14: 37-47, 1965.
- (87) GERSONDE, K. & NETTER, H. Elektronenstruktur der Prosthetischen Gruppe und Tertiärstruktur in Hämoproteiden. I. Magnetische und Optische Eigenschaften des 2-



Wertigen Pferdehämoglobins und-Myoglobins unter reversibler Detergenswirkung. J. Mol. Biol., 10: 475-487, 1964.

- (88) NAKAYA, K.; YAMADA, K.; ONOZAWA, M. & NAKAMURA, Y. Interaction of Cetylpyridinium Chloride with Oxymyoglobin. Biochim. Biophys. Acta, 251: 7-13, 1971.
- (89) IONESCU, L.G. & TSANG, J.K. Interaction of Ferrimyoglobin with Surfactants. Rev. Roum. Biochim., 15: 211-218, 1978.
- (90) IONESCU, L.G. & TSANG, J.K. Interaction of Surfactants with Myoglobin. Bull., N. Mex. Acad. Sci., 16(2): 27, 1975.
- (91) BLAUER, G.; HARMATZ, D. & ZVILICHOVSKY, B. Effect of Cationic Detergents on Ferrimyoglobin. F.E.B.S. Lett., 34: 344, 1973.
- (92) YONATH, J. & BLAUER, G. Protein-Detergent Interactions. Properties and Thermodynamic Analysis of the System Ferrimyoglobin-Laurylpyridinium Chloride. Eur. J. Biochem., 41: 163-170, 1974.
- (93) HINZE, W. & FENDLER, J.H. Interactions and Reactions in Restricted Polar Media. Binding of Cyanide Ion to Hemin in Surfactant-Solubilized Methanol in Benzene. J. Chem. Soc., Dalton Trans., 238, 1975.
- (94) AVARIA, G.E. & IONESCU, L.G. Interacción de Ferrimioglobina con Agents Tensoactivos. Paper presented

at the "XII Congreso Latinoamericano de Química",  
Quito, Ecuador, 19-24 September, 1976, Resumos.

- (95) IONESCU, L.G. & AVARIA, G.E. Interaction of Ferrimyoglobin with Cetyltrimethylammonium Bromide. Paper presented at 174 National Meeting of the American Chemical Society, Chicago, Illinois, Aug. 28 - Sept. 2, 1977, Abstr. Biol. 82.
- (96) SIMPLICIO, J. & SCHWENZER, K. Hemin Intercalated in Micellar Cetyltrimethylammonium Bromide and Triton X-100. A Kinetic, Spectral, and Equilibrium Study with Cyanide. Biochem., 12: 1923, 1973.
- (97) SIMPLICIO, J. Hemin Monomers in Micellar Sodium Lauryl Sulfate. A Spectral and Equilibrium Study with Cyanide. Biochem., 11: 2525, 1972.
- (98) CZERNIAWSKI, B.J. & IONESCU, L.G. Interaction of Ferriprotoporphyrin IX with Surfactants. Michigan Academy of Science, Arts and Letters, 82nd Annual Meeting, March 17-18, Ypsilanti, Michigan, 1978, Abstract.
- (99) IONESCU, L.G. Interação da Ferriprotoporfirina IX com Brometo de Hexadeciltrimetilamônio. Supl. Ciência e Cultura, 31: 338, 1979.
- (100) JONES, M.N. Biological Interfaces. Elsevier, Amsterdam, 1975.

- (101) FUNG, D.S. Molecular Interactions in Solutions of Surfactants and Micelles, Doctoral Dissertation, University of Detroit, 1978.
- (102) IONESCU, L.G. & FUNG, D.S. Formation of Micelles of Acylcarnitines in Glycerol, Bull. Chem. Soc. Japan, 54: 2503-2506, 1981.
- (103) IONESCU, L.G. & FUNG, D.S. Formation of Micelles of Acylcarnitine Chlorides in Ethylene Glycol. J. Chem. Soc., Faraday Trans. I, 2907-2912, 1981.
- (104) STRONG, F.M. & KOCH, G.H. Biochemistry Laboratory Manual, Second Edition, W.M. C. Brown Company Publishers, Dubuque, Iowa, 1974.
- (105) DIEM, K., Ed., Documenta Geigy - Scientific Tables, Sixth Edition, J.R. Geigy S.A., Basle, 1962.
- (106) VEVERA, V. Fiziopatologia și Clinica Fierului, Editura Medicală, Bucuresti, 1978.
- (107) LEVER, A.B.P.; WILSHIRE, J.P. & QUAN, S.K. A Manganese Phthalocyanine - Dioxygen Molecular Adduct. J. Am. Chem. Soc., 101: 3668, 1979.
- (108) VERANI, L.H. Formação de Micelas de Lauril Sulfato de Sódio em Soluções Aquosas de Dimetilsulfóxido; N,N-Dimetilformamida e N,N-Dimetilacetamida. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 1982.

(109) GILLES, P. Instant. Chim., 5: 27-31, 1970.

(110) GONZALEZ MALDONADO, G. Química de Superfícies e Colóides. Indústrias Gessy-Lever Ltda, São Paulo, 1982.