

ESTUDO DAS PROPRIEDADES DE POLIELETRÓLITOS DO TIPO  
[n,22]-IONENO EM SOLUÇÃO AQUOSA

ALDINA BARCELLOS AYRES

DISSERTAÇÃO

Submetida ao Curso de Pós-Graduação em Físico-Química  
da Universidade Federal de Santa Catarina  
para obtenção do grau de

MESTRE EM CIÊNCIAS

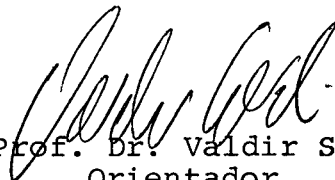
UFSC

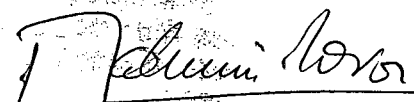
Florianópolis, agosto de 1991

ESTUDO DAS PROPRIEDADES DE POLIELETRÓLITOS DO TIPO  
[n,22]-IONENO EM SOLUÇÃO AQUOSA

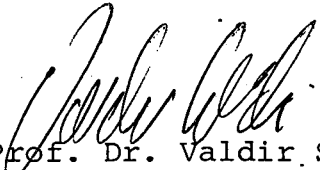
ALDINA BARCELLOS AYRES

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do grau de  
**MESTRE EM CIÊNCIAS**  
Especialização Físico-Química e aprovada em sua forma final pelo  
Curso de Pós-Graduação em Físico-Química da UFSC

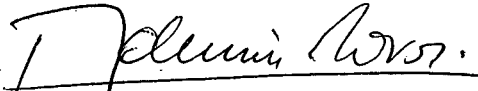
  
Prof. Dr. Valdir Soldi  
Orientador

  
Prof. Dr. Ademir Neves  
Coordenador

Banca Examinadora:

  
Prof. Dr. Valdir Soldi

M. Graça Nascimento.  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria da Graça Nascimento

  
Prof. Dr. Ademir Neves

Aos meus pais.

## AGRADECIMENTOS

- Especialmente ao Professor Valdir Soldi pela orientação , amizade e compreensão durante o transcorrer do trabalho.
- Aos Professores Ademir Neves e Maria da Graça Nascimento pela participação enriquecedora.
- Aos Professores Alfredo Tiburcio e Frank Quina pela valorosa colaboração.
- Aos Professores Dino Zanette e Faruk José Nome Aguilera pela colaboração e por possibilitar a utilização de equipamentos de seu laboratório.
- Aos Professores Mauro Laranjeira e Rosendo Yunes pelo apoio nos momentos difíceis.
- À Maria da Glória Mendes pelo auxílio prestado.
- Aos colegas e funcionários do Departamento de Química da UFSC.
- Aos colegas de grupo.
- À irrepreensível datilografia do Sr. Jadir Carminatti
- Aos meus amigos
- À minha família pelo apoio e incentivo.
- A CAPES, CNPq e FINEP pelo apoio financeiro.

## RESUMO

Neste trabalho estudou-se, as propriedades de quatro polieletrólitos catiônicos do tipo [n,22]-ioneno com  $n = 3,4,5$  e  $6$ , utilizando-se o pireno como sonda fluorescente.

A relação entre as bandas vibracionais III/I do espectro de fluorescência do pireno, situa-se na faixa de  $0,68 - 0,75$ , característica de um microambiente bastante hidrofóbico comparado com o valor em água ( $0.55$ ).

Não foi observado nenhum efeito de supressão pelo cátion N-etilpiridínio evidenciando uma incorporação total do pireno nestes ionenos. A adição de cloreto de sódio, no entanto, provoca um aumento significativo na intensidade de fluorescência devido a troca cloreto/brometo na superfície do ioneno.

Medidas condutimétricas foram usadas para avaliar o grau de dissociação iônica ( $\alpha$ ) dos ionenos, e medidas de anisotropia de fluorescência ( $r$ ) das sondas bis(carboxietil)fluoresceína (BCF) e diacetato de fluoresceína (FDA) fornecem informações adicionais à respeito da densidade de carga e conformação dos ionenos.

Os resultados obtidos demonstraram que nestes ionenos há uma incorporação total do pireno, ocorre troca iônica cloreto/brometo na superfície e que em solução aquosa estes ionenos adquirem uma conformação mais compacta (globular) e com densidade de carga na superfície relativamente alta.

## ABSTRACT

The properties of four cationic polyelectrolytes of  $[n,22]$ -ionene type with  $n = 3,4,5$  and  $6$  were studied, using pyrene as a fluorescent probe.

The relation between the vibrational bands III/I in the pyrene fluorescence spectra, was in the range of  $0.68 - 0.75$ , which are typical values of a more hydrophobic microenvironment when compared with pure water ( $0.55$ ).

It was not observed any suppression effect by using the hydrophilic, ionene - excluded N-ethylpyridinium (NEP) cation as a selective quencher of the fluorescence of pyrene in the aqueous phase, thus indicating a total incorporation of this probe in the ionenes. However, chloride addition shows a significant increase in the intensity of pyrene fluorescence due to the exchange chloride/bromide in the ionene surface.

Conductimetric measurements were used to evaluate the ionic dissociation degree ( $\alpha$ ); and fluorescence anisotropy ( $r$ ) of two adsorbed fluorescein derivatives, bis (carboxyethyl) fluorescein (BCF) and fluorescein diacetate (FDA) gave additional informations in relation to charge density and ionenes conformation.

Thus, the results show that in these ionenes there is a total pyrene incorporation; the exchange chloride/bromide was observed on the surface and that in aqueous solution the ionenes prefer a more compact conformation (globular) with a high charge density in their surface.

## ÍNDICE

<b>I</b>	<b>- Introdução</b>	<b>1</b>
I.1	- Polieletrólitos Anfifílicos do tipo $[n,m]$ -Ione <u>no</u> .....	1
I.2	- Efeitos Catalíticos de $[n,m]$ -ionenos.....	3
I.3	- Objetivos.....	8
<b>II</b>	<b>- Parte Experimental</b>	<b>14</b>
II.1	- Reagentes.....	14
II.2	- Obtenção e Purificação dos Ionenos.....	15
II.2.1	- Ácido Docosanodióico ( $C_{22}H_{42}O_4$ ).....	15
II.2.2	- 1.22-Bis(N,N-Dimetilamida) Docosano.	15
II.2.3	- 1.22-Bis(N,N-Dimetilamino) Docosano.	16
II.2.4	- Preparação dos $[n,22]$ -Ionenos.....	17
II.3	- Métodos.....	24
II.3.1	- Preparação das Soluções.....	24
II.3.2	- Espectro de Fluorescência do Pireno.	24
II.3.3	- Efeito da Adição de Sais na Fluorescência do Pireno.....	25
II.3.3.1	- Brometo de Sódio e Cloreto de Sódio.....	25
II.3.3.2	- Brometo de N-Etilpiridínio.	25
II.3.3.3	- Constantes de Seletividade para Troca Iônica.....	26
II.3.4	- Medidas de Condutividade.....	26
II.3.5	- Polarização de Fluorescência.....	27

III - Resultados e Discussão	29
III.1 - Obtenção dos Ionenos.....	29
III.2 - Razão III/I das Bandas Vibracionais do Espectro de Fluorescência do Pireno.....	32
III.2.1 - Supressão de Fluorescência do Pireno por Brometo de N-Etilpiridínio.	35
III.2.2 - Adição de Brometo e Cloreto de Sódio.....	38
III.3 - Grau de Dissociação Iônica dos Ionenos.....	43
III.4 - Anisotropia de Fluorescência.....	47
IV - Conclusões	51
Bibliografia	53

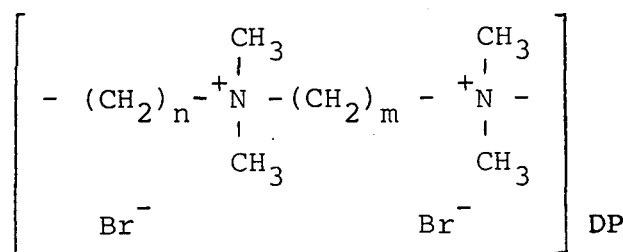


## I - INTRODUÇÃO

I.1 - POLIELETRÓLITOS ANFIFÍLICOS DO TIPO  $[n,m]$ -IONENO

Polieletrólitos anfifílicos do tipo  $[n,m]$ -ione no (I) são compostos que possuem grupos dimetilamônio carregados (catiônicos) interconectados alternadamente por segmentos contendo  $n$  e  $m$  grupos metilênicos. Pela nomenclatura de chemical abstracts<sup>1</sup>, os ionenos alifáticos não simétricos ( com dois segmentos metilênicos distintos) são chamados de: Poly[(dimethyliminio)-1-n-alkandyl(dimetilimínio)-1,m-alkandyl dibromide] e os ionenos alifáticos simétricos de: Poly[(dimethylmínio)-n,n-alkandioyl dibromide].

Ionenos de maneira geral tem aplicações na área médica (coagulantes), biológica (bactericidas), na indústria de plásticos (compósitos) , na formação de membranas, através da interação com polieletrólitos aniônicos, em flotação mineral e como floculantes.



[  $n,m$  -Ioneno ]

Os primeiros trabalhos desenvolvidos com ione nos lineares (ionenos com segmentos metilênicos de até 10 gru pos  $\text{CH}_2$ ) tinham como objetivo elucidar os possíveis mecanis mos de polimerização e determinar o peso molecular médio a partir da viscosidade intrínseca<sup>1,2,3</sup>, e em alguns casos, por sedimentação<sup>4</sup>. Ionenos com pequenas distâncias entre os gru pos amônio quaternários (p.ex.: [2,4]- e [3,3]-ionenos)<sup>2</sup> tem pesos moleculares elevados ( $\sim 60.000$ ), enquanto que para uma série de [6,m]-ionenos, com  $m = 5, 6, 8$  e  $10$ , o peso molecular médio determinado situa-se na faixa de  $10.000 - 15.000$ . Basica mente a diferença deve-se a fatores como a alta densidade linear de carga na superfície do ioneno, como evidenciado pela ligação de contraíons cloreto no [3,3]-ioneno que é signifi cativamente maior do que no [6,6]-ioneno<sup>5</sup>, efeitos de solven te e temperatura<sup>6</sup>. Segundo Yen e colaboradores<sup>6</sup> a velocida de de polimerização depende do solvente, ou seja, aumentando-se a constante dielétrica do meio ocorre uma maior estabiliza ção do intermediário formado. Para a mesma série de [6,m]-ionenos, com o aumento de  $m$  e em função do solvente utilizado ocorre também um aumento da viscosidade específica<sup>2</sup>.

Medidas viscosimétricas para uma série de ione nos com contraíons cloreto associados a contraíons orgânicos do ácido p-aminobenzóico ( $\text{PABA}^-$ ), demonstram que as interações eletrostáticas diminuem com o aumento do grau de substituição do íon cloreto pelo ânion  $\text{PABA}^-$  (aumento da fração de  $\text{PABA}^-$  associado), como resultado de um decréscimo no grau de dissol ção do ioneno<sup>7</sup>.

Um aumento no comprimento dos segmentos meti lênicos e, portanto, uma menor densidade de carga na superfi cie do ioneno, provava um aumento no grau de dissociação iôni

nica de contraíons brometo associados<sup>8</sup>. Este fator também é responsável pelo aumento da mobilidade de cadeia alquílica entre os grupos amônio quaternários de ionenos complexados com poli(estirenosulfonato)<sup>9</sup>. Uma maior mobilidade ocorre, também quando são agregadas pequenas moléculas (sondas), fato que possibilita a utilização destes materiais como membranas.

A partir de medidas de viscosidade, Knapick e colaboradores<sup>10</sup> estudaram a mudança de comportamento de polieletrólito normal para polisabão (sistemas com organização estrutural semelhante a micelas), para uma série de N,N-disubstituídos ionenos (simétricos), com  $n = 3-6$  onde para cada série um N-substituinte é metil, enquanto o outro é metil, etil, n-butyl, n-hexil ou n-octil. A mudança de comportamento é determinada por uma queda acentuada na viscosidade e isto ocorre quando a substituição é n-hexil para as séries [3,3]- e [4,4]-ionenos e n-octil para a série [6,6]-ioneno que possui uma menor densidade de carga na superfície. A diminuição da viscosidade está associada a uma mudança conformacional do ioneno provocada pelo aumento do caráter hidrofóbico da estrutura polimérica como num polisabão.

## I.2 - EFEITOS CATALÍTICOS DE [n,m]-IONENOS.

A oxidação catalítica de tióis na presença de tetrasódiosulfonato-ftalocianina de cobalto e [n,m]-ionenos foi estudada<sup>11,12,13</sup>. A eficiência da oxidação depende da concentração de íons tiolato [ $RS^-$ ] nas vizinhanças do cobalto (catalizador). O [2,4]-ioneno em função do seu alto potencial eletrostático aumenta a concentração local de íons tiolato e

consequentemente ocorre um aumento na velocidade de oxidação. Aparentemente um aumento na velocidade ocorre também com o aumento do grau de agregação do complexo de cobalto/ioneno e este depende da densidade linear de carga do ioneno. A velocidade de oxidação de diferentes tióis é menor na presença de [6,6]-ioneno que tem uma menor densidade linear de carga e, portanto, deve ocorrer uma menor agregação do complexo cobalto/ioneno<sup>14</sup>.

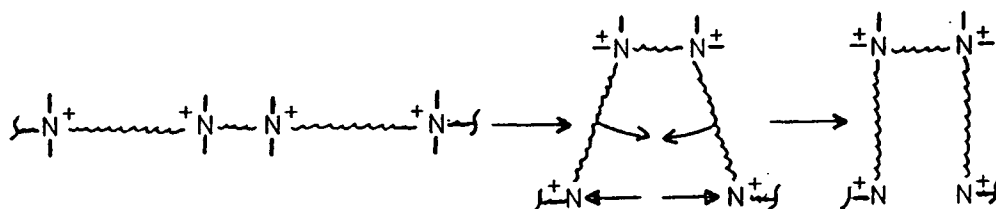
Um efeito contrário é observado na reação de transferência de elétrons do metilviologênio para ferricianeto ( $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ) na presença do [3,6]-ioneno ligado ao tris(2,2'-bipiridina)Ru(II)<sup>15</sup>. A velocidade de transferência de elétrons diminui em duas ordens de magnitude comparada com a reação em solução homogênea, devido a baixa difusão e a alta repulsão eletrostática entre o polieletrólito e as espécies associadas.

De maneira geral ionenos com segmentos curtos como o [3,6]-ioneno, adotam conformações estendidas em solução aquosa devido a alta densidade linear de carga na cadeia principal<sup>2,3</sup> e, portanto, não devem catalizar eficientemente uma reação química. De fato o [3,6]-ioneno exerce apenas um pequeno efeito catalítico na velocidade de reações tais como a hidrólise de complexos de cobalto<sup>16,17</sup>. Por outro lado um aumento do caráter hidrofóbico dos segmentos do ioneno, parece provocar uma mudança drástica na conformação dos ionenos, de modo que [n,n]-ionenos com  $n = 12, 16$  e  $20$  e estruturas como [20]-, [10-fenil-10]-ioneno, apresentam estruturas típicas de bicamadas quando examinados por microscopia eletrônica<sup>18</sup> e por calorimetria diferencial<sup>19</sup>.

Nieves e colaboradores<sup>20</sup> estudaram as propriedades catalíticas de quatro ionenos, demonstrando que os ionenos com segmentos mais curtos, como os [3,10] e [6,10]-ionenos, apresentam viscosidades intrínsecas altas e não provocam nenhuma alteração na velocidade de hidrólise alcalina do octa<sub>2</sub>noato de p-nitrofenila (NPO). Por outro lado os [3,22]- (que apresenta uma viscosidade extremamente baixa) e [3,16]-ionenos causam uma aceleração significativa na velocidade desta reação.

Estes autores postulam que as diferenças nas propriedades catalíticas dos ionenos devem-se a mudanças nas conformações preferenciais destes em solução aquosa. Os ionenos com segmentos curtos adotam uma conformação estendida, tipo bastão; ionenos com segmentos mais longos adotam, espontaneamente, conformações globulares através de agregação intrapolimérica dos segmentos longos (hidrofóbicos) tal como na micelização de um detergente iônico<sup>21</sup>.

Segundo Nieves para que um ioneno adote uma conformação globular em solução, a contribuição favorável à energia livre, proveniente da justaposição dos segmentos hidrofóbicos deve predominar sobre o aumento desfavorável da energia livre eletrostática, devido a aproximação simultânea dos grupos iônicos da cadeia principal conforme mostrado a seguir:



estendida

Globular

Para um ioneno com segmentos metilênicos alternados, curtos ( $n=3$ ) e longos, Nieves e colaboradores<sup>20</sup> estimaram que a contribuição eletrostática à energia livre deve ser da ordem de  $6 - 8 \text{ KT}$  por cada segmento longo. Ao mesmo tempo, a contribuição hidrofóbica à energia livre deve ser da ordem de  $-(m - 6)\text{KT}$ , isto é  $-\text{KT}$  por grupo metilênico do segmento longo, excluindo-se os três primeiros grupos metilênicos adjacentes aos centros iônicos. Baseado nestes valores Nieves e colaboradores<sup>20</sup> postularam que a conformação globular deve ser energeticamente acessível a partir de  $m \geq 14$ .

Recentemente Soldi e colaboradores<sup>22,23</sup> estudaram as propriedades catalíticas de uma série de  $[n,m]$ -ionenos:  $[6,10]$ ,  $[3,m]$  com ( $m = 6,10,14,18$  e  $22$ ) e o  $[3-10\text{-fenil-10}]$ -ionenos. Para estes ionenos as propriedades como, grau de dissociação, solubilização de substratos hidrofóbicos e outras mostraram-se fortemente dependentes de  $m$ .

Os valores do grau de dissociação para os  $[6,10]$ - e  $[3,m]$ -ionenos com  $m \leq 14$  situam-se na faixa esperada para polieletrólitos normais (conformações estendidas). Para os  $[3,m]$ -ionenos com  $m > 14$  e o  $[3,10\text{-fenil-10}]$ -ioneno, entretanto, os valores de  $\alpha$  são incompatíveis com uma conformação estendida.

O aumento de  $m$  provoca uma diminuição de  $\alpha$  como mostrado na figura 1. Sabe-se que  $\alpha$  de uma partícula coloidal é inversamente proporcional à densidade de carga na superfície da mesma, logo esta diminuição de  $\alpha$  com o aumento de  $m$  nos ionenos hidrofóbicos deve-se a uma justaposição dos grupos iônicos numa conformação mais compacta.

A anisotropia de fluorescência ( $r$ ) de uma

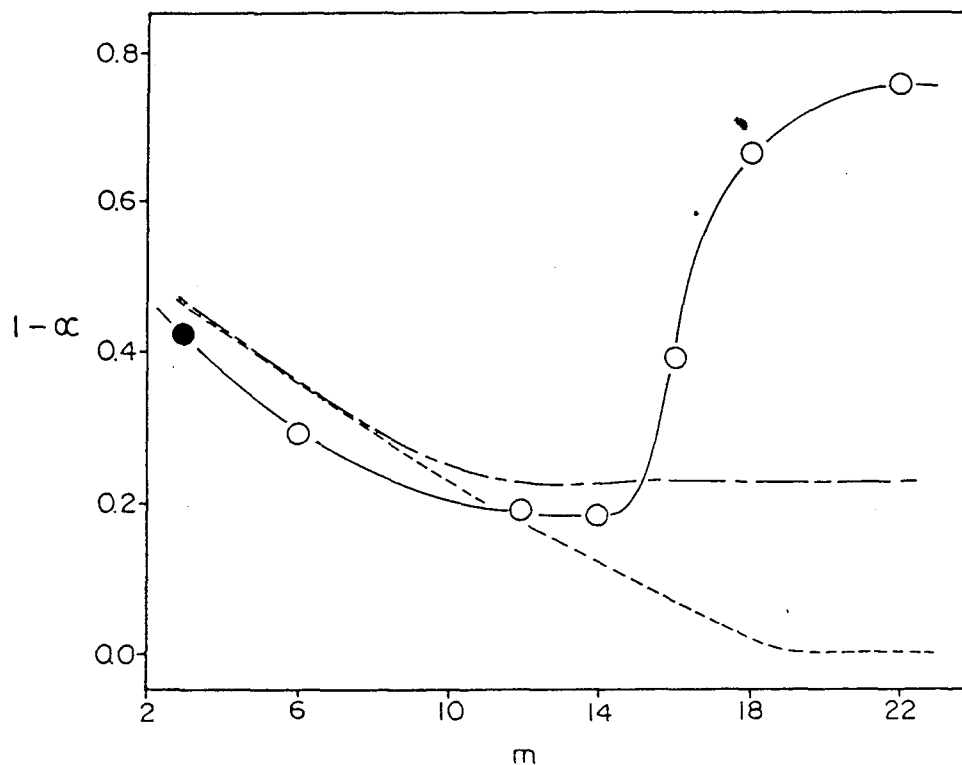


FIGURA 1 - Grau de associação de contraíons brometo aos  $[3,m]$ -ionenos em solução aquosa: (O) valores determinados por condutimetria<sup>22,23</sup>, (●) valor de Fujii (1986); (—) curva calculada supondo que  $\alpha_{n,m} = (\alpha_{n,m} + \alpha_{m,m})/2$ ; (---) curva calculada supondo que  $\alpha_{n,m}$  é igual ao de um ioneno simétrico com segmento de comprimento  $(n+m)/2$ .<sup>22,23</sup>

sonda (BCF) adsorvida à superfície dos ionenos também é fortemente afetada com o aumento de  $m$ . Para os ionenos com  $m < 14$ , os valores de  $r$  são baixos e pouco dependentes de  $m$ , enquanto que para ionenos com  $m > 14$  observa-se o contrário.

A incorporação de substratos hidrofóbicos como o pireno aumenta com o aumento de  $m$  reforçando a idéia de uma mudança de conformação a partir de  $m \approx 14$ . (Figura 2)

Todas as propriedades de  $[n,m]$ -ionenos estudadas por Soldi e colaboradores<sup>22,23</sup>, demonstraram que a transição de uma conformação estendida para globular aparentemente ocorre quando  $m \geq 14$ , o que está plenamente de acordo com a hipótese levantada por Nieves e colaboradores<sup>20</sup>, baseada em simples considerações de energia livre.

### I.3 - OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo estudar as propriedades de  $[n,22]$ -ionenos ( $n = 3,4,5$  e  $6$ ) em função de diferentes aspectos relacionados com hidrofobicidade (solubilização de substrato hidrofóbicos como pireno) e conformação adquirida em solução aquosa, efeitos de densidade de carga (associação e troca de contraíons) e adsorção de sondas fluorescentes aniônicas, na superfície do ioneno. Estas propriedades serão estudadas comparativamente ao  $[3,6]$ -ioneno que é um polieletrólito linear (conformação estendida).

Para este estudo utilizou-se o pireno como sonda fluorescente, já que além de ser uma molécula hidrofóbica o seu espectro de fluorescência é sensível a polaridade do mi



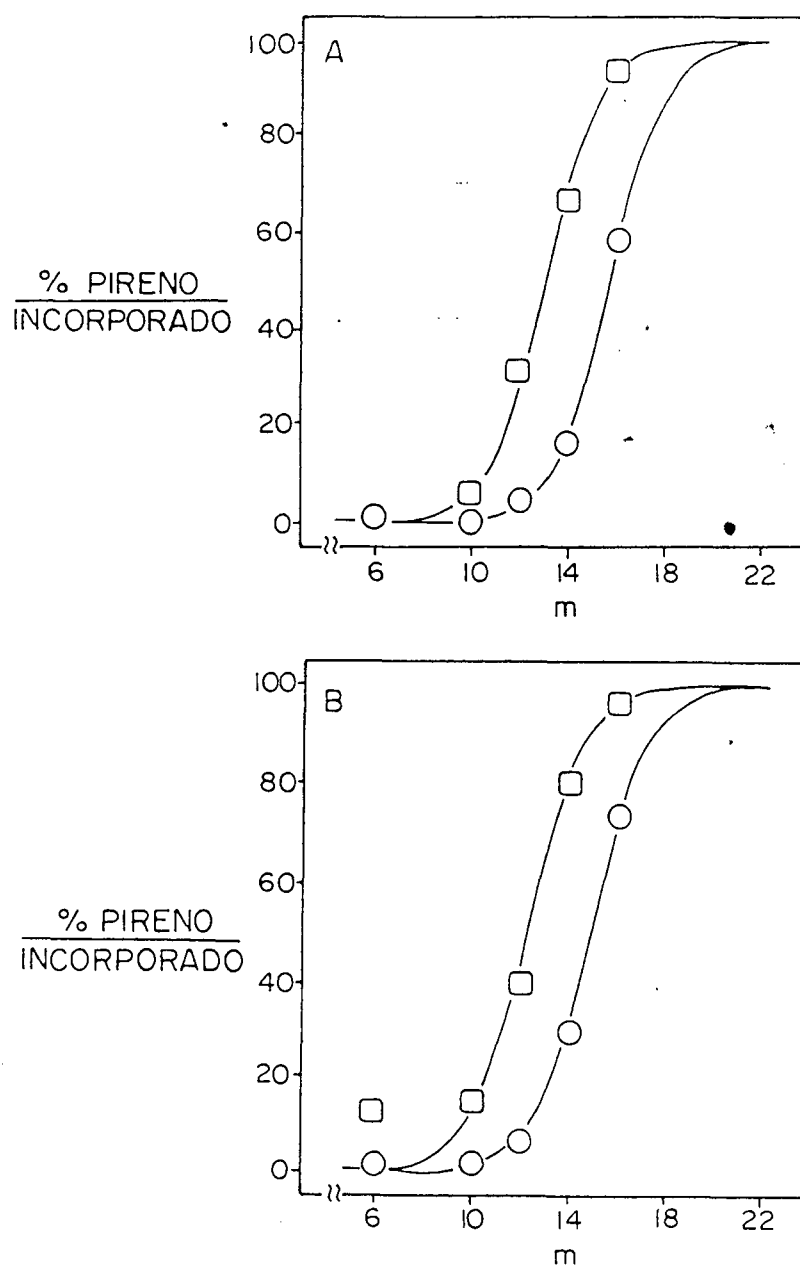
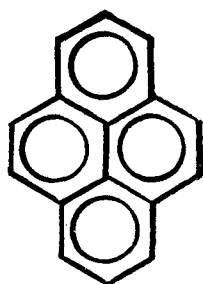
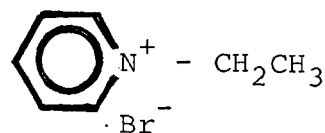


FIGURA 2 - Porcentagem de incorporação de pireno em função do comprimento do segmento  $m$  para a série de  $[3,m]$  - ionenos: 1 mM (  $\circ$  ) e 10 mM (  $\square$  ) de ioneno ( com concentração expressa como brometo iônico) em: ( A ) solução aquosa e ( B ) solução de NaBr 50 mM.<sup>22,23</sup>

croambiente de solubilização<sup>24,25</sup>. A incorporação ou a eficiência de solubilização de substratos hidrofóbicos, como o pireno pelos [n,22]-ionenos pode ser quantificada analisando - se o efeito da supressão de fluorescência do pireno por cátions hidrofílicos excluídos eletrostaticamente da vizinhança dos ionenos, tais como o cátion N-etilpiridínio. Este cátion além de ser pequeno, apresenta mesma carga que os ionenos sendo portanto facilmente excluído das vizinhanças destes, limitando-se a supressão da fluorescência do pireno presente na fase aquosa, ou seja, do pireno não incorporado ao ioneno. A fluores-



Pireno



Brometo de N-Etilpiridínio

cência do pireno é suprimida também por altas concentrações de íon brometo; mas não por íon cloreto<sup>26</sup>. Portanto, efeitos de cloreto e brometo adicionados, fornecem informações quanto a associação e troca de contraíons na superfície dos ionenos. A supressão de fluorescência do pireno pode ser relacionada com a concentração do supressor pela equação de Stern-Volmer<sup>27</sup> (equação 1) onde  $I^0$  e  $I$  representam as intensidades de fluorescência na ausência e na presença de supressor respectivamente,  $[Q]$  é a concentração do supressor, e  $K_{SV}$  é a constante de Stern-Volmer definida como a razão entre a constante de supressão bimolecular e a constante de decaimento unimolecular espontânea

$$I^0/I = 1 + K_{SV} [ Q ] \quad ( 1 )$$

As constantes de seletividade para troca iônica Cl/Br na superfície do ioneno podem ser calculadas utilizando-se o método descrito por Abuin e colaboradores<sup>26</sup> que relaciona a  $K_{Cl/Br}$  com os graus de cobertura da superfície catiônica e as concentrações de sal adicionado de acordo com a equação 2.

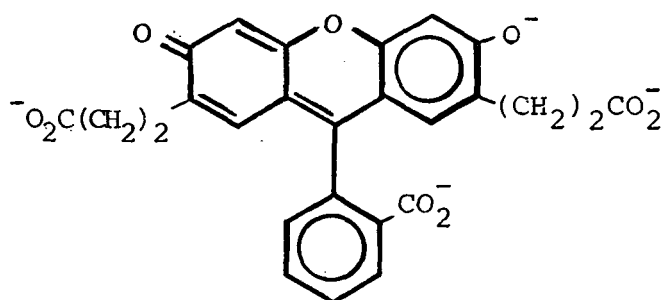
$$\ln (\theta_{Cl}/\theta_{Br}) = \ln K_{Cl/Br} + \ln ([Cl_{aq}]/[Br_{aq}]) \quad ( 2 )$$

$\theta_{Cl}/\theta_{Br}$  representa os graus de cobertura da superfície catiônica pelos contraíons cloreto ( $\theta_{Cl}$ ) e brometo ( $\theta_{Br}$ ), sendo que estes estão relacionados com as intensidades de fluorescência do pireno na presença de íons cloreto e brometo, mistura de íons cloreto e brometo ( $\phi = 0.65$ )<sup>26</sup> e o grau de dissociação ( $\alpha$ ) determinado experimentalmente (medidas de condutividade).  $[Cl_{aq}]$  e  $[Br_{aq}]$  representam as concentrações de NaCl e NaBr adicionados.

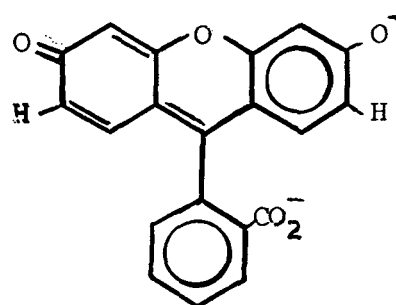
A densidade de carga na superfície do ioneno, pode ser analisada através de medidas do grau de dissociação iônica juntamente com dados de anisotropia de fluorescência.

A anisotropia de fluorescência também permite detectar mudanças de conformação nos ionenos, através da aná

lise da rigidez da cadeia catiônica, na qual a sonda adsorve eletrotasticamente. As sondas utilizadas foram a bis(carboxi-etil)fluoresceína (BCF) e o diacetato de fluoresceína (FDA), representados abaixo na sua forma aniônica.



BCF



FDA

Quando uma sonda fluorescente é excitada com luz polarizada no plano vertical, a anisotropia de fluorescência ( $r$ ) detectada a  $90^\circ$  segundo Lakowicz<sup>28</sup> é definida como:

$$r = \frac{I_{VV} - GI_{VH}}{I_{VV} + 2GI_{VH}} \quad (3)$$

onde  $I_{VV}$  e  $I_{VH}$  são as intensidades de emissão de fluorescência polarizada da sonda nos planos de detecção vertical e horizontal.  $G$  é um fator de correção (do aparelho) igual a  $I_{HV}/I_{HH}$ , ou seja, igual a relação das intensidades de emissão polarizada nos planos verticais e horizontais, com excitação a  $90^\circ$  polarizada no plano vertical. Vários fenômenos podem diminuir a

anisotropia de fluorescência, contudo o mais efetivo é a relaxação rotacional, que ocorre durante o tempo de meia vida do estado excitado e desloca o ângulo de emissão da sonda fluorescente.

Assumindo que a relaxação rotacional é o único fenômeno significativo que provoca um decréscimo de anisotropia,  $r$  é dado por:

$$r = \frac{r_0}{1+(\tau/\Phi)} \quad (4)$$

onde  $r_0$  é a anisotropia intrínseca da sonda, medida na ausência de relaxação rotacional, neste caso ( $\Phi \gg \tau$ );  $\Phi$  é o tempo de relaxação rotacional e  $\tau$  é o tempo de vida de fluorescência.

Num sistema onde as rotações que despolarizam a sonda são simétricas ou isotrópicas, o tempo de relaxação rotacional é dado por:

$$\Phi = nV/RT \quad (5)$$

onde  $n$  é a viscosidade do meio (em Poise),  $T$  é a temperatura absoluta,  $R = 8,314 \times 10^7$  ergs/mol<sup>o</sup>K e  $V$  é o volume efetivo (em cm<sup>3</sup>/mol), da unidade que gira junto com a sonda. Sendo assim se a sonda estiver fortemente associada a macromolécula de interesse, a anisotropia depende da magnitude deste volume e portanto da forma, tamanho e flexibilidade da espécie macromolecular.

Medidas de anisotropia de fluorescência tem sido aplicadas em estudos bioquímicos, para determinar tamanho

## II - PARTE EXPERIMENTAL

### II.1 - REAGENTES

O [3,6]-ioneno (Polybrene, Aldrich), o pireno (Aldrich) e o detergente brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB) foram provenientes de estudos anteriores.<sup>22</sup>

O brometo de sódio (B.D.H. 99+%) e o cloreto de sódio (Merck), foram utilizados sem purificação.

O brometo de N-etilpiridínio (NEP) foi preparado pela reação (quatro dias a temperatura ambiente) de piridina seca com 1-bromoetano em excesso. O produto branco cristalino foi coletado por filtração, lavado várias vezes com acetato de etila e seco a vácuo.<sup>29</sup>

A bis(carboxietil) fluoresceína (BCF) e o diacetato de fluoresceína (FDA) foram gentilmente cedidos pelo Prof. Dr. Frank H. Quina da Universidade de São Paulo.

Os reagentes 1,3-dibromopropano; 1,4-dibromobutano; 1,5-dibromopentano e 1,6-dibromohexano fornecidos pela Aldrich foram percolados através de uma pequena coluna de alumina neutra, para retirar água e bromo livre, antes de serem utilizados.

Todos os demais reagentes orgânicos (geralmente de procedência Merck) eram de grau analítico ou superior, e todas as soluções foram preparadas com água milipore.

## II.2 - OBTENÇÃO E PURIFICAÇÃO DOS IONENOS

### II.2.1 - ÁCIDO DOCOSANODIÓICO ( $C_{22}H_{42}O_4$ )

Para obtenção do ácido docosanodióico seguiu-se o método descrito por Hunig e colaboradores<sup>30,31</sup>. O ácido bruto foi esterificado com metanol em meio ácido e o produto foi recristalizado sucessivas vezes em metanol. O éster dimetílico puro (p.f. 69-70°C) foi submetido a hidrólise alcalina (hidróxido de potássio/metanol) seguida de recristalização em metanol, chegando-se assim ao diácido puro (p.f.: 124-126°C ; p.f.<sup>31</sup> : 124-126°C).

### II.2.2 - 1.22 BIS(N,N-DIMETILAMIDA) DOCOSANO

A 1.22 bis (N,N-dimetilamida) docosano foi obtida a partir do ácido docosanodióico, seguindo-se o procedimento de Soldi<sup>22</sup>.

- Preparou-se primeiramente o dicloreto correspondente, refluxando-se 6 g (0.016 moles) de ácido docosanodióico com 30 ml de cloreto de tionila por 3 horas. Retirou-se o excesso de cloreto de tionila, com ajuda do benzeno, no evaporador rotatório. O resíduo (dicloreto do ácido) foi dissolvido em 70 ml de benzeno, num balão de três bocas (250 ml) munido de um dedo frio com mistura refrigerante. Num segundo balão de três bocas adaptado com condensador e funil de adição, colocou-se 50 ml (0.4 moles) de uma solução aquosa (40%) de dimetilamina. Os dois balões foram conectados com mangueira intercalada por um tubo de cloreto de cálcio anidro.

Reagiu-se então o dicloreto (primeiro balão) com dimetilamina gasosa (segundo balão). Para aumentar a produção de dimetilamina gasosa, adicionou-se lentamente 30 ml de solução de hidróxido de potássio 50%, mantendo-se um aquecimento brando. Ao final da adição, deixou-se a mistura reagente em contato com o excesso de dimetilamina por duas horas a temperatura ambiente. Dilui-se então a mistura com água, extraíndo-se a diamida com benzeno. Após a separação e sucessivas lavagens com água, secou-se o benzeno com sulfato de sódio anidro, filtrou-se, evaporou-se o solvente e o produto foi seco a vácuo.

Recristalizou-se a diamida em acetato de etila após tratamento com carvão ativo. Obteve-se 5 g do produto com ponto de fusão  $99,0-99,8^{\circ}\text{C}$  (p.f.<sup>22</sup>:  $99-100^{\circ}\text{C}$ ). Análise elementar: % (calculada; encontrada): C (73,60; 73,45) ; H (12,30; 12,45), N (6,60; 6,62).

### II.2.3 - 1.22 BIS (N,N-DIMETILAMINO) DOCOSANO

A 1.22 bis (N,N-dimetilamino) docosano foi obtida através da redução da 1,22 bis (N,N-dimetilamida) do cosano.

Para a redução, quantidades apropriadas (2,68 g de diamida/ 1 g de  $\text{LiAlH}_4$ ) foram refluxadas por 12 horas. Após esfriar a mistura, adicionou-se lentamente acetato de etila para destruir o excesso de  $\text{LiAlH}_4$ , seguida de filtração e posterior evaporação do solvente. O produto da reação foi recristalizado em acetonitrila, obtendo-se a diamina pura, um sólido branco com ponto de fusão  $48-49^{\circ}\text{C}$ , p.f.<sup>22</sup>  $48-48,5^{\circ}\text{C}$ ). A análise elementar (CHN) mostrou os seguintes



valores: (calculado; encontrado), % C (70-80; 79,55),  
% H (14,20; 14,61), % N (7,10; 9,15).

#### II.2.4 - PREPARAÇÃO DOS [n,22] - IONENOS

Para polimerização quantidades equimolares de 1.22 bis (N,N-dimetilamino)docosano e 1,n-dibromoalcano (n = 3,4,5 e 6), foram aquecidos a 70°C durante 30 horas em acetonitrila sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética<sup>20,32,33</sup>.

Os ionenos coletados após evaporação do solvente foram dissolvidos em água, filtrados em um filtro de membrana milipore (0.45 µm) e posteriormente dializados exaustivamente contra água (aproximadamente 40 horas). Foram utilizadas membranas de diálise para polímeros de alto peso molecular (~ 11.000) previamente tratadas. Para o tratamento das membranas ferveu-se as mesmas em um litro de solução aquosa de bicarbonato de sódio a 2% e EDTA 1 mM. Posteriormente, foram lavadas várias vezes com água destilada e fervidas por mais 10 minutos em água destilada.<sup>34</sup>

Após a diálise os ionenos foram recuperados por liofilização.

#### [3.22]-Ioneno

RMN(D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 1,38 (36 H); 1,80 (4H); 2,34 (2H);  
3,30 (12H); 3,58 (8H). (Figura 3).

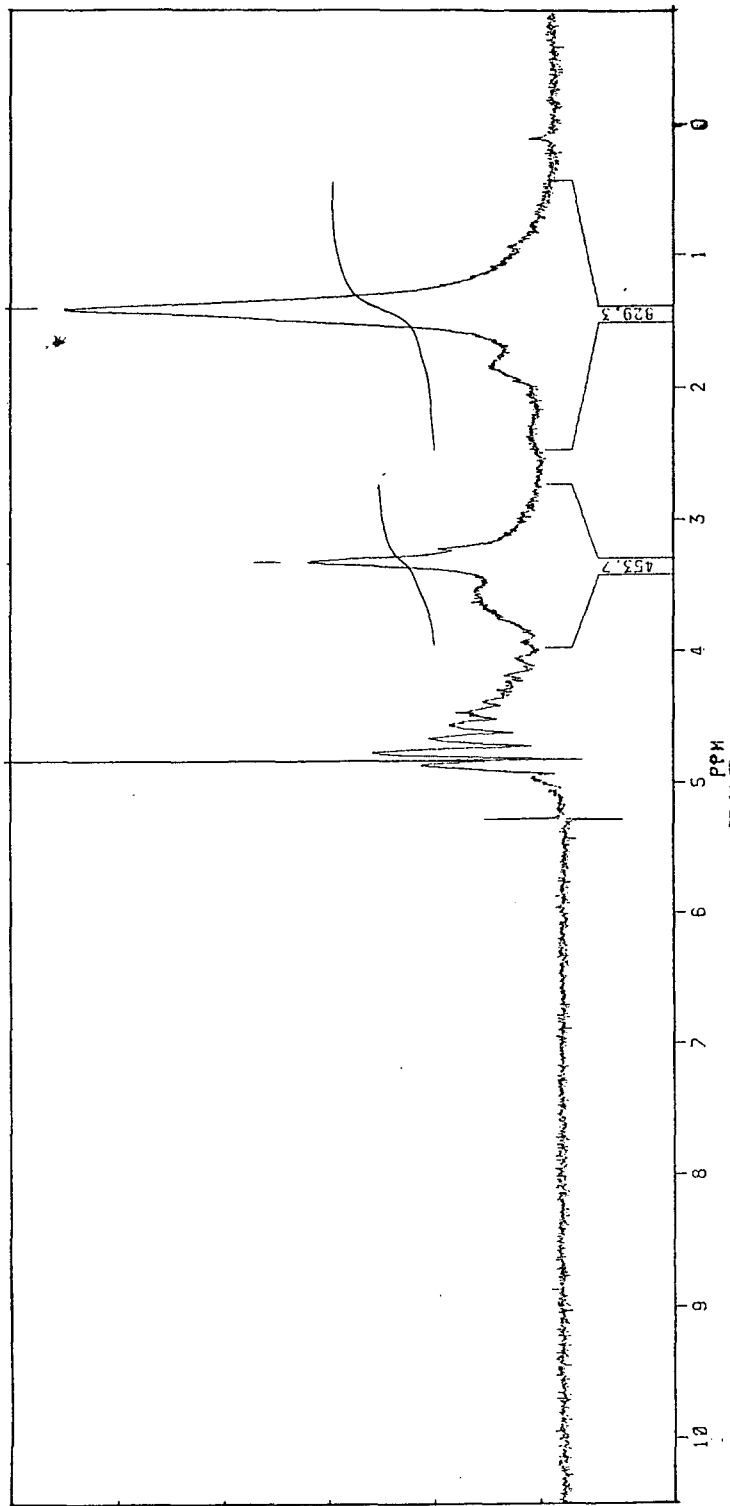


FIGURA 3 - Espectro de ressonância magnética nuclear ( $D_2O$ ) do [3,22]- ioneno.

Análise elementar: % (calculada; encontrada): C ( 53,83 ; 53,73); H (9,65; 10,6); N (4,32; 4,15)

[4.22]-Ioneno

RMN(D<sub>2</sub>O);  $\delta$  (ppm): 1,35 (36H); 1,80 (8H); 3,18 (12H); 3,48 (8H) (Figura 4).

Análise elementar: % (calculada; encontrada): C ( 54,5 ; 53,4); H (9,67; 10,7); N (4,20; 3,80)

[5.22]-Ioneno

RMN(D<sub>2</sub>O);  $\delta$  (ppm): 1,36 (36H); 1,84 (10H); 3,20 (12H); 3,44 (8H) (Figura 5).

Análise elementar: % (calculada; encontrada): C ( 55,85 ; 54,0); H (9,98; 10,7); N (4,20; 3,80)

I.V. (Filme ,  $\text{cm}^{-1}$ ): - (2851 e 2921) deformações axiais de (-CH<sub>3</sub> e -CH<sub>2</sub>-) -  
 - (1560) deformações angulares de CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>  
 - (3014) estiramento de (CH<sub>3</sub> -  $\overset{\dagger}{\text{N}}$ )  
 - (3421) deformação do grupo O-H (H<sub>2</sub>O)  
 (Figura 6).

[6.22]-Ioneno

RMN(D<sub>2</sub>O);  $\delta$  (ppm): 1,36 (36H); 1,80 (12H); 3,18 (12H); 3,40 (8H) (Figura 7).

Análise elementar: % (calculada; encontrada): C (54,9 ; 55,0); H (9,79; 10,8); N (4,0; 3,7)

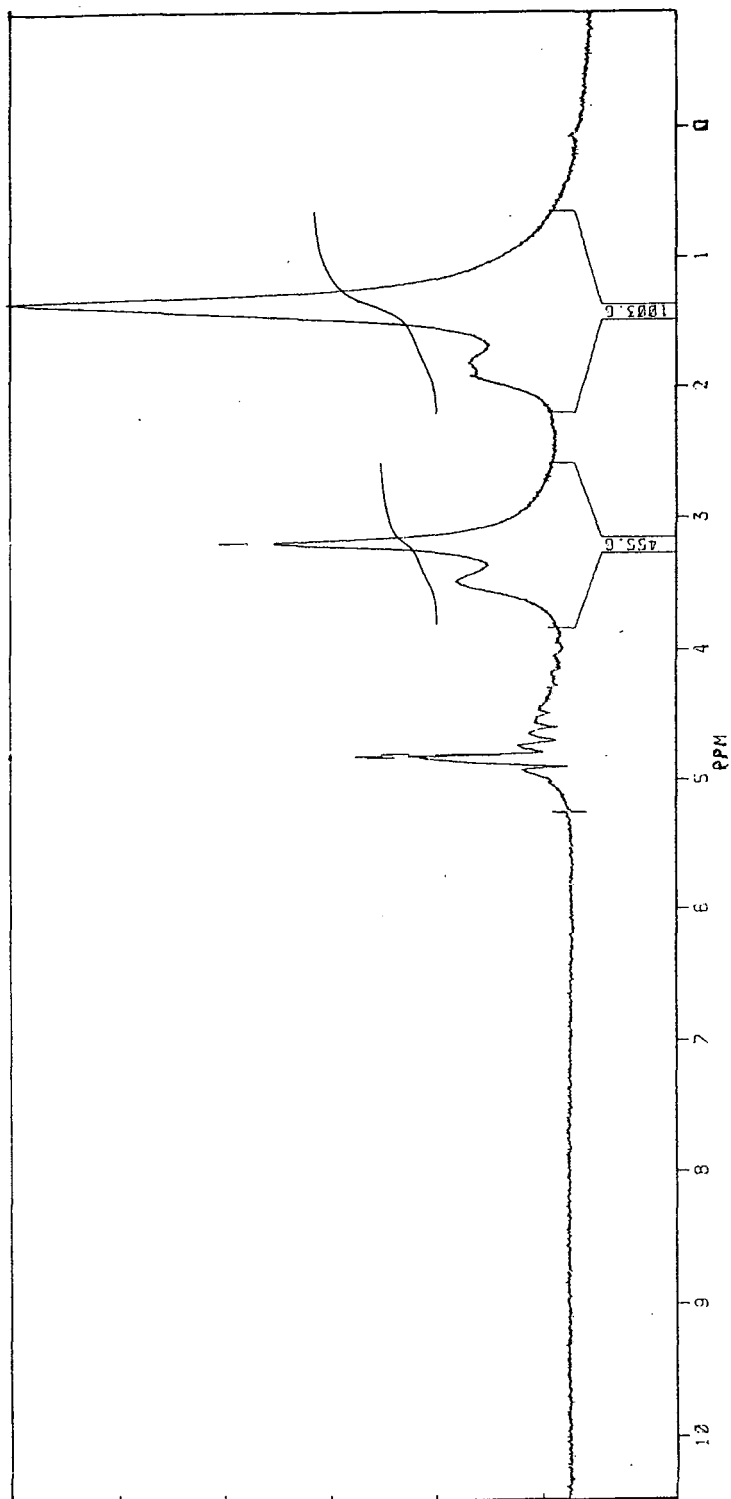


FIGURA 4 - Espectro de ressonância magnética nuclear (D<sub>2</sub>O) do [4,22]-ioneno.

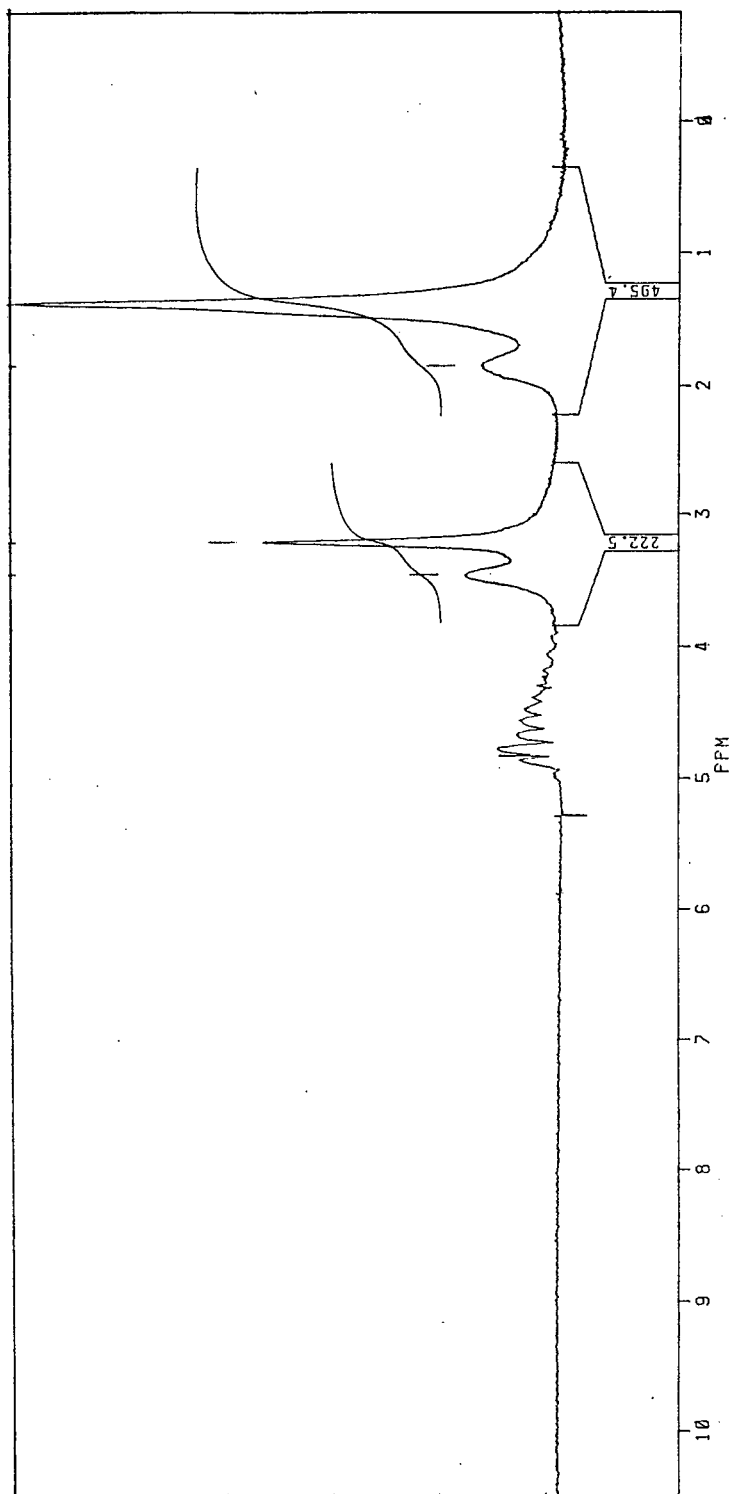


FIGURA 5 - Espectro de ressonância magnética nuclear do [5,22]- ioneno.

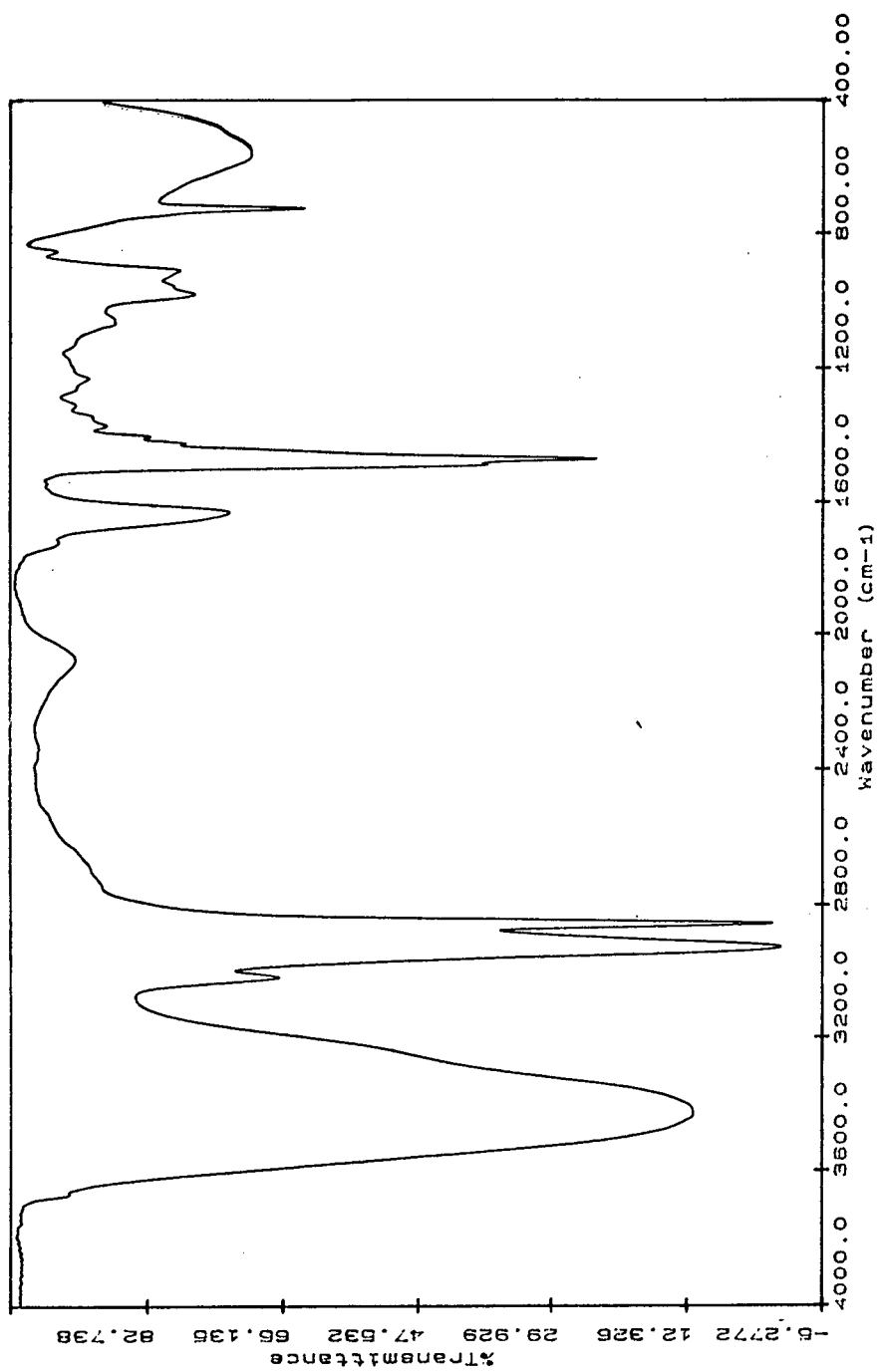


FIGURA 6 - Espectro de absorção no infra-vermelho (filme) do [5,22]- ioneno.

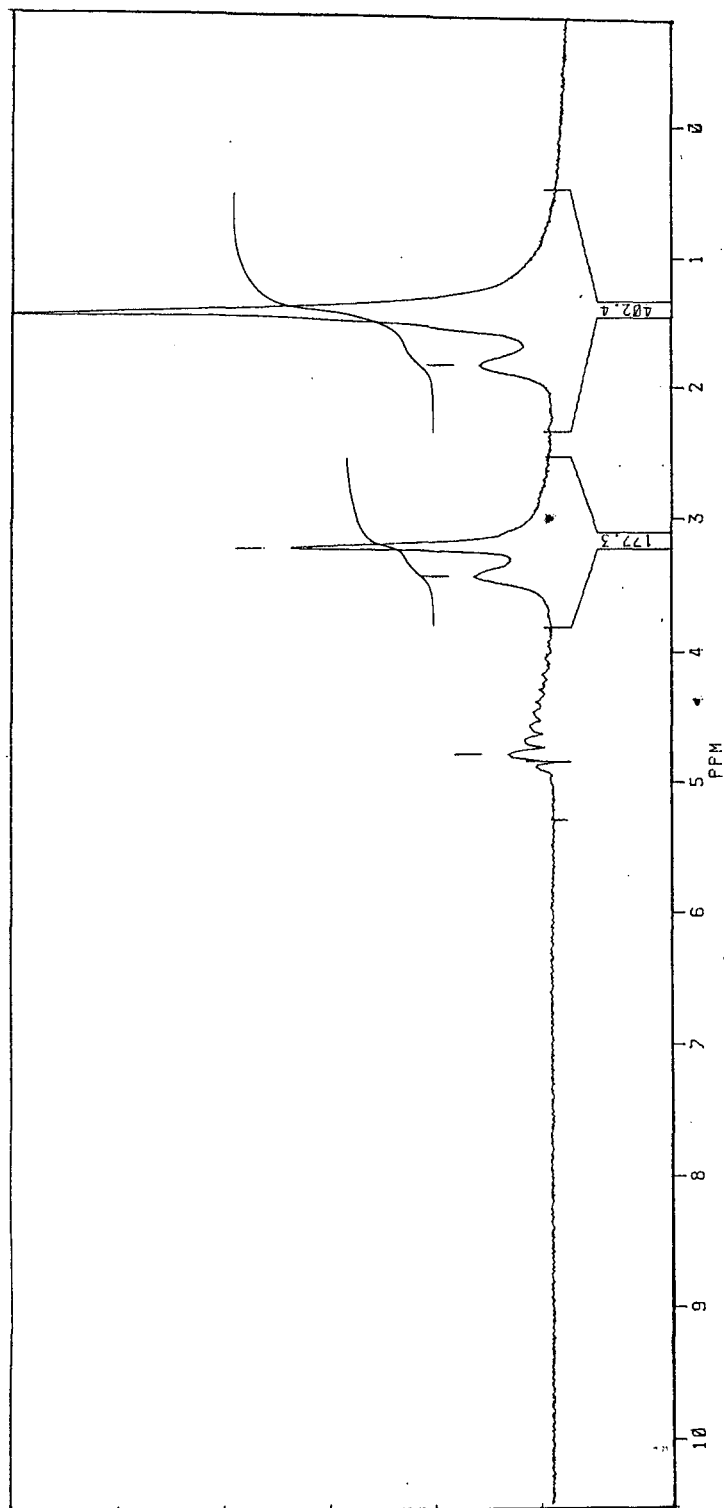


FIGURA 7 - Espectro de ressonância magnética nuclear do [6,22]<sup>-</sup> ioneno.

## II.3 - MÉTODOS

### II.3.1 - PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES

Para os ionenos e o CTAB, a concentração (expressa como brometo iônico) foi determinada por titulação do íon brometo<sup>35</sup> com nitrato de mercúrio (10 mM), padronizado com brometo de sódio (15 mM), utilizando-se como indicador a difenil carbazona (0,2% em etanol).

As soluções estoque de cloreto de sódio e brometo de sódio em água e a solução de pireno ( $10^{-4}$ M) em etanol foram preparadas por peso.

A concentração da solução estoque de brometo N-etilpiridínio foi determinada por titulação do íon brometo.

### II.3.2 - ESPECTRO DE FLUORESCÊNCIA DO PIRENO

Em todas as medidas com pireno, utilizou-se um comprimento de onda de excitação de 310 nm e concentrações finais deste da ordem de  $2 \times 10^{-7}$  -  $5 \times 10^{-7}$  M. As intensidades relativas das bandas vibracionais da fluorescência do pireno foram determinadas a partir do espectro de emissão (360 - 460 nm, fendas ex/em: 2,5/10 nm) num espectrofotômetro de fluorescência da Aminco Mod. SL.



### II.3.3 - EFEITO DA ADIÇÃO DE SAIS NA FLUORESCÊNCIA DO PIRENO

#### II.3.3.1 - BROMETO DE SÓDIO E CLORETO DE SÓDIO

Em uma cubeta de quartzo contendo 2 ml de solução aquosa de ioneno e 5 µl de solução estoque de pireno (conc. final  $10^{-7}$  -  $5 \times 10^{-7}$  M), adicionou-se sucessivas alíquotas (10 - 100 µl via micro seringa de Hamilton) de solução estoque de NaBr (3M) ou NaCl (3M), registrando-se os espectros de fluorescência para determinar as intensidades de fluorescência após cada adição.

As intensidades de fluorescência foram corrigidas para diluição em todos os casos.

Os espectros de emissão ( $\lambda_{EX} = 310$  nm), foram registrados na faixa de 360 - 460 nm (fendas de excitação emissão de 2,5/2,5) num espectrofluorímetro LS-5B da Perkin Elmer.

#### II.3.3.2 - BROMETO DE N-ETILPIRIDÍNIO

Utilizou-se o mesmo método descrito anteriormente. Neste caso adicionou-se alíquotas (0-60 µl) de solução estoque do supressor N-etilpiridínio (0.18 M). A supressão foi verificada em soluções aquosas de ionenos na ausência e na presença de 50 mM de NaBr.

### II.3.3.3 - CONSTANTES DE SELETIVIDADE PARA TROCA IÔNICA (Cl/Br)

Para estudar a seletividade na troca de contra íons cloreto/brometo, seguiu-se a supressão da fluorescência do pireno concentração final ( $5 \times 10^{-7}$  M) em função da adição de alíquotas apropriadas (0 - 100 ml) de solução estoque (3M) de cloreto de sódio (0 - 0,14 M final) a 2 ml de solução aquosa de ionenos. Foram estudados os [4,22]-, [5,22]- e [6,22]-ionenos, contendo diferentes concentrações fixas de brometo de sódio (0,5,10 e 20 mM).

Todas as medidas foram feitas a 30°C.

### II.3.4 - MEDIDAS DE CONDUTIVIDADE

Para as medidas de condutividade utilizou - se um condutivímetro Modelo CD 20 da Digimed com uma célula de condutividade com constante de  $1 \text{ cm}^{-1}$ .

Mediu-se a condutividade de 10 ml de solução de cada ioneno, de concentração conhecida, preparada em água deionizada. Em seguida, adicionou-se alíquotas de água, sob agitação magnética, medindo-se a condutividade após cada diluição. As medidas de condutividade foram feitas a 25°C e extrapoladas para 30°C.

### II.3.5 - POLARIZAÇÃO DE FLUORESCÊNCIA

Para as medidas de polarização de fluorescência, utilizou-se como sondas fluorescentes a bis(carboxietil) fluoresceína (BCF), um derivado tetraaniônico da fluoresceína, e o diacetato de fluoresceína (FDA). A cada 2 ml de água ou de uma solução aquosa de ionenos foram adicionados 10  $\mu$ l de uma solução estoque ( $2 \times 10^{-4}$  M) de BCF e/ou FDA (conc. final  $\sim 1 \times 10^{-7}$  M). O pH de todas as soluções foi ajustado para 8 - 9 pela adição de NaOH.

A anisotropia de fluorescência ( $r$ ) foi determinada, excitando-se as soluções em 490nm com luz polarizada verticalmente, e medindo-se as intensidades de emissão (520 nm) polarizadas paralela ( $I_{VV}$ ) e perpendicularmente ( $I_{HV}$ )<sup>28,36,37</sup>. O fator de correção ( $G$ ) para polarização do próprio aparelho<sup>38</sup> foi determinado excitando-se cada solução com luz polarizada horizontalmente e medindo-se, então, as intensidades de emissão polarizada vertical ( $I_{HV}$ ) e horizontalmente ( $I_{HH}$ ). Sob estas condições, o fator de correção  $G$  é dado por:

$$G = \frac{I_{HV}}{I_{HH}} \quad (6)$$

e a anisotropia ( $r$ ) pela equação 3.

A anisotropia intrínseca ( $r_0$ ) da fluorescência da BCF, foi obtida de estudos anteriores.<sup>22</sup>

Todas as medidas foram feitas num espectrofotômetro de fluorescência da Perkin-Elmer modelo LS-5B, equipado com polarizadores apropriados, com fenda de emissão e excitação 5.0/5.0 e, comprimento de onda de excitação 490 nm e emissão 520 nm respectivamente.

### III - RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### III.1 - OBTENÇÃO DOS IONENOS

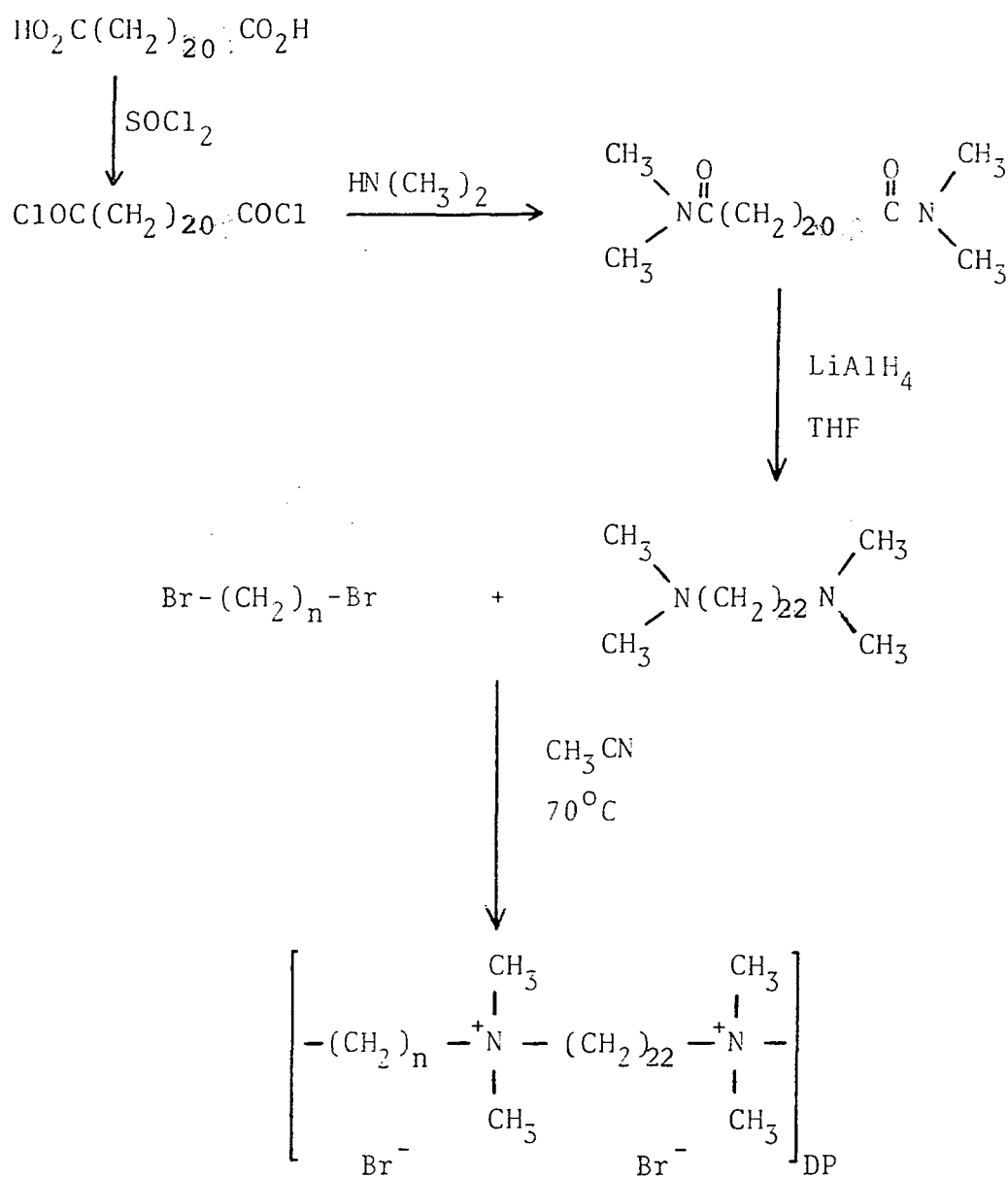
Os polieletrólitos anfifílicos [n,22]- ionenos foram obtidos da reação de quantidades equimolares de um 1,n-dibromoalcano ( n = 3,4,5 e 6 ) com 1,22-bis (dimetilamino ) alcano preparado a partir do ácido docosanodióico, conforme Esquema 1.

A massa molecular da unidade monomérica de cada um destes polieletrólitos, associada a dados do volume efetivo (ver item III.4) ocupado por estes em solução aquosa, nos permitiu um cálculo teórico para o peso molecular médio ( $\bar{P}_M$ ) dos [n,22]- ionenos em estudo. Para o [3,22] - ioneno foi encontrado um peso molecular médio de aproximadamente 11.000 concordante com o valor determinado, pelo método de Geiger e Turro<sup>39</sup>, por Soldi e Colaboradores.<sup>23</sup> Para os [4,22]-, [5,22]- e [6,22] - ionenos, foi estimado um peso molecular médio entre 7.000 e 9000.

Os valores encontrados através de cálculos teóricos, são consistentes com dados da análise elementar destes ionenos, assumindo uma molécula de água de hidratação residual por grupo amônio quaternário.<sup>40</sup>

Os espectros  $^1\text{H}$  NMR (200 MZ,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $25^\circ\text{C}$ ) dos [n,22]- ionenos (Figuras 3, 4, 5 e 7) estão de acordo com a estrutura molecular do ioneno, proposta tanto por Rembaum e Noguchi<sup>3</sup> bem como por Kunitake e Colaboradores.<sup>18,19</sup>

ESQUEMA 1. Rota sintética para a obtenção dos  
[n,22]-Ionenos



[n,22]-Ionenos

[3,22]- Ioneno:  $\delta$  1,38 (36H, grupos metilênicos internos.  $-(\text{CH}_2)_{18}$ - do segmento longo),  $\delta$  1,88 (4H, grupos  $\text{CH}_2$  nas posições  $\beta$  do segmento longo),  $\delta$  2,36 (2H, grupo  $\text{CH}_2$  central do segmento trimetilênico),  $\delta$  3,30 (12H,  $\text{CH}_3$ ),  $\delta$  3,60 (8H,  $\text{CH}_2-\overset{\dagger}{\text{N}}$ ).

[4,22]- Ioneno:  $\delta$  1,35 - 1,92 (36H,  $-(\text{CH}_2)_{18}$ -; 8H,  $\text{CH}_2$  na posição  $\beta$ ),  $\delta$  3,19 (12H,  $\text{CH}_3$ ),  $\delta$  3,48 (8H,  $\text{CH}_2-\overset{\dagger}{\text{N}}$ ).

[5,22]- Ioneno:  $\delta$  1,36 - 1,84 (46H,  $-(\text{CH}_2)_{18}$ ; grupos  $\text{CH}_2$  na posição  $\beta$  (segmento longo) e  $-\overset{\dagger}{\text{N}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\dagger}{\text{N}}$ ),  $\delta$  3,20 (12H,  $\text{CH}_3$ ),  $\delta$  3,44 (8H,  $\text{CH}_2-\overset{\dagger}{\text{N}}$ ).

[6,22]- Ioneno:  $\delta$  1,37 - 1,80 (48H,  $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{18}-\text{CH}_2-$ ;  $-\overset{\dagger}{\text{N}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\dagger}{\text{N}}$ ),  $\delta$  3,19 (12H,  $\text{CH}_3$ );  $\delta$  3,41 (8H,  $\text{CH}_2-\overset{\dagger}{\text{N}}$ ).

[5,22]- Ioneno - (IV) - O espectro de infra-vermelho obtido para o 5,22 - ioneno (Figura 6) mostra na região de 2800 a 3000  $\text{cm}^{-1}$  (2851  $\text{cm}^{-1}$  e 2921  $\text{cm}^{-1}$ ) uma intensa banda de absorção, devido as deformações axiais de grupos parafínicos ( $-\text{CH}_3$  e  $-\text{CH}_2-$ ) e, em 1485  $\text{cm}^{-1}$  a banda devido às deformações angulares dos mesmos grupos. A banda em 3014  $\text{cm}^{-1}$  provavelmente refere-se ao grupo metilênico ligado ao amônio quaternário. Em 3420  $\text{cm}^{-1}$  observa-se uma banda larga e intensa, relativa a deformação O-H da água, presença esta reforçada pelas bandas menos intensas em 1628  $\text{cm}^{-1}$  e 560  $\text{cm}^{-1}$ . A ligação  $\text{C}-\overset{\dagger}{\text{N}}$  não causa vibrações intensas, porém a banda observada em 722  $\text{cm}^{-1}$  pode representar esta deformação. O espectro de infra-vermelho mostra claramente que além da água (inclusive de hidratação) tem-se apenas regiões de absorção causadas por grupos parafínicos.

### III.2 - RAZÃO III/I DAS BANDAS VIBRACIONAIS DO ESPECTRO DE FLUORESCÊNCIA DO PIRENO

A relação entre as bandas vibracionais III e I do espectro de fluorescência do pireno (Figura 8) em água e em solução aquosa de ionenos são mostrados na Tabela 1.

Kalyanasundaram e Thomas<sup>24</sup> mostraram que as intensidades relativas destas bandas são sensíveis à natureza do microambiente de solubilização, ou seja, a relação entre as bandas vibracionais III/I aumenta a medida que o meio se torna menos polar.

Para o [3,6]-ioneno a relação de intensidades das bandas vibracionais é muito próxima à do espectro de fluorescência do pireno em água. Para os [n,22]-ionenos estudados a razão III/I aumenta significativamente aproximando-se dos valores encontrados em metanol e em solução micelar de CTAB.

Em solução aquosa do [3,6]-ioneno, o pireno encontra-se principalmente na fase aquosa e, portanto o seu espectro de fluorescência não fornece nenhuma informação sobre o microambiente de solubilização. A porcentagem de pireno incorporado em solução aquosa de [3,6]-ioneno é menor que 5%.<sup>22</sup>

Para os [n,22]-ionenos onde a incorporação do pireno é total, (ver ítem III.3.1) os valores das relações III/I determinam um microambiente mais hidrofóbico. Porém, este é ainda mais polar do que o do pireno em metanol e em micela de CTAB. O fato do pireno localizar-se num microambiente menos polar, está associado a uma conformação mais globular dos [n,22]-ionenos relativamente ao [3,6]-ioneno que é um polieletrólito com estrutura linear<sup>1,2</sup>.



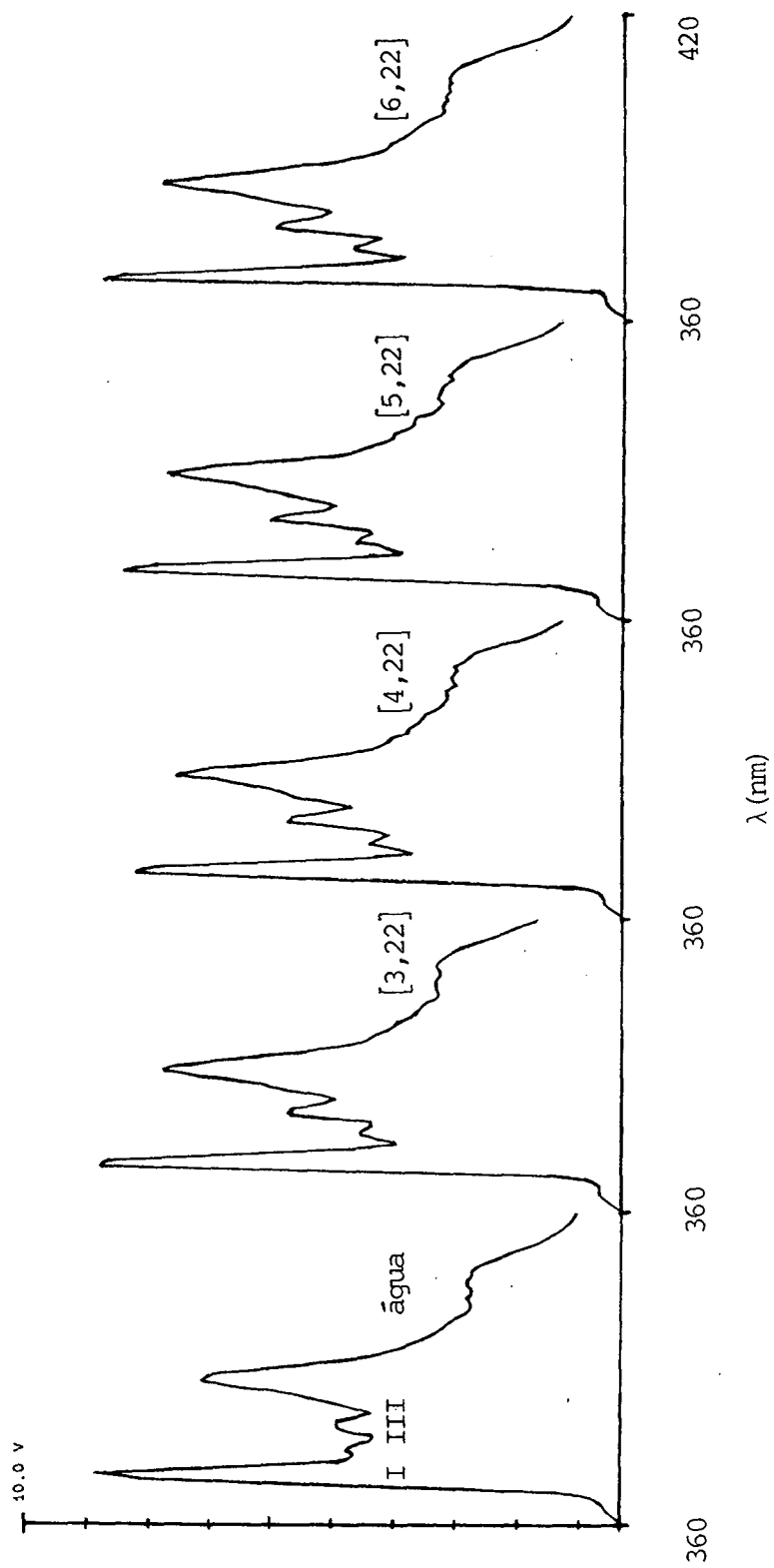


FIGURA 8 - Espectro de fluorescência do pireno ( $1 \times 10^{-7}$  M em água e em solução aquosa dos [n,22]- ionenos ( $\sim 10$  mM).

TABELA 1 - Intensidades relativas das bandas vibracionais do espectro de fluorescência do pireno em solução aquosa de ionenos, água, metanol e CTAB. Concentrações, dos ionenos expressas como brometo iônico.

Ioneno	Concentração [mM]	Razão III/I	
H <sub>2</sub> O	-	0.55	0.54 <sup>a</sup>
MeOH	-	0.72	0.75 <sup>a</sup>
CTAB	20	0.74	0.76 <sup>a</sup>
[3.6]	10	0.57	-
[3.22]	8.4	0.65	-
[4.22]	9.2	0.70	-
[5.22]	9.5	0.73	-
[6.22]	8.5	0.69	-

(a) Referência 24.

### III.2.1 - SUPRESSÃO DE FLUORESCÊNCIA DO PIRENO POR BROMETO DE N-ETILPIRIDÍNIO

Na Figura 9 estão representados os gráficos de Stern-Volmer para supressão de fluorescência do pireno, em água e soluções aquosas dos [3,6]- e [n,22]-ionenos, pelo cátion brometo de N-etilpiridínio (NEP).

Para o [3,6]-ioneno, observa-se um efeito de supressão do pireno pelo cátion NEP comparável ao pireno em água. Nos [n,22]-ionenos não se observa nenhum efeito de supressão de fluorescência por este íon.

Em solução homogênea o cátion NEP suprime o estado singlete excitado do pireno a uma velocidade aproximadamente igual a limitada por difusão (const. de velocidade para supressão bimolecular,  $K_q = 1,4 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ).<sup>41</sup>

O cátion etilpiridínio é um íon hidrofílico e de mesma carga que os ionenos, portanto deve ser eletrostaticamente excluído das vizinhanças do ioneno, e desta forma somente suprimir os pirenos excitados que se encontram na fase aquosa. Esta hipótese é confirmada pelo fato de que não há nenhuma supressão de fluorescência do pireno por este íon em solução micelar de CTAB, onde o pireno encontra-se totalmente incorporado à fase micelar.<sup>25,42</sup>

No [3,6]-ioneno deve ocorrer um equilíbrio rápido do pireno excitado<sup>43</sup> ou seja, a entrada e saída do pireno do polímero ocorrem na mesma escala de tempo do decaimento do pireno singlete excitado ao estado fundamental ( $S^1 \rightarrow S^0 + hv$ ).

Para os [n,22]-ionenos a ausência de efeito de supressão (Figura 10) indica uma incorporação total do pireno

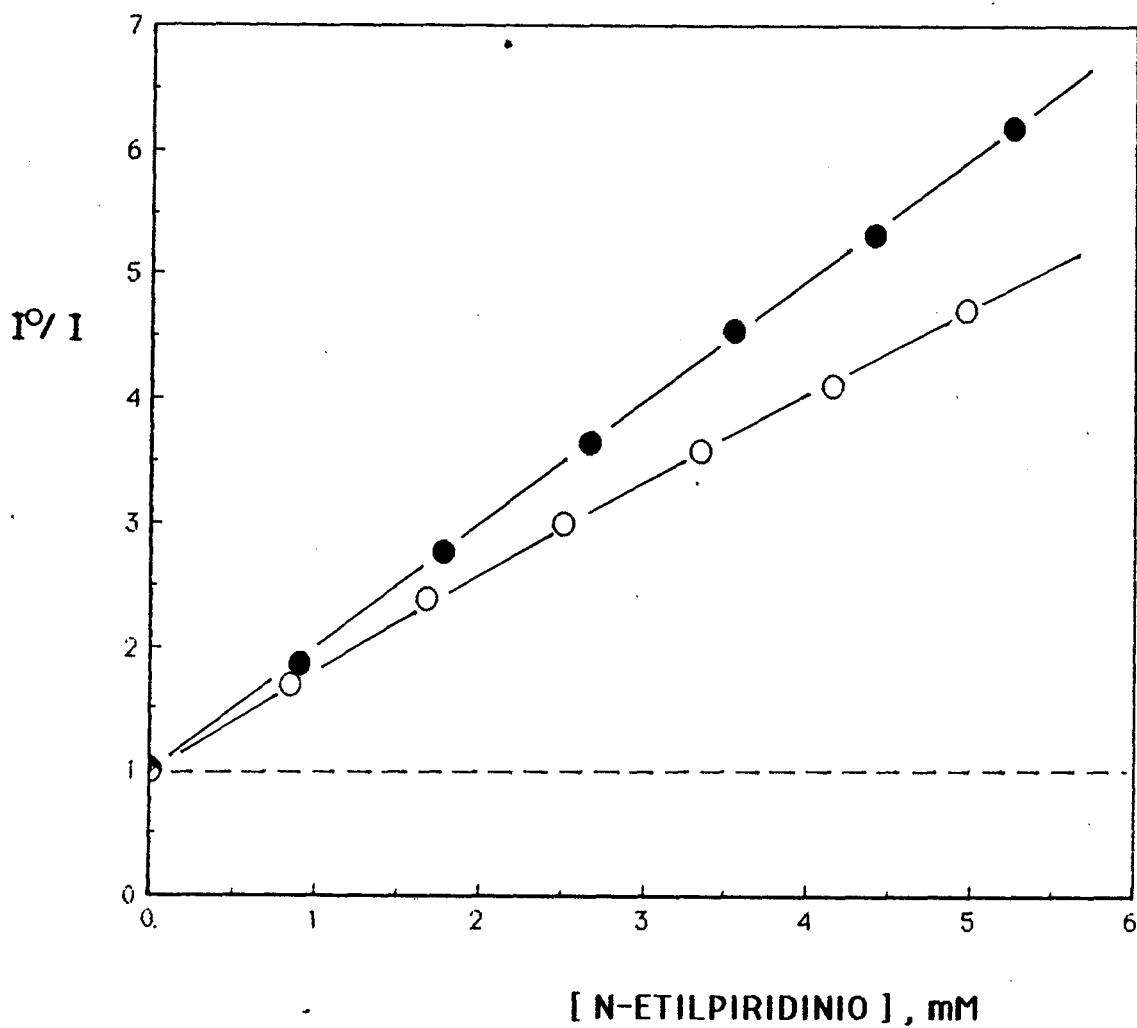


FIGURA 9 - Gráficos de Stern-Volmer para a supressão da fluorescência do pireno ( $1 \times 10^{-7}$  M final) por NEP adicionado, em água (●) e em soluções aquosas das [3,6]- (○; 15,0 mM) e [n,22]-ionenos (-----).

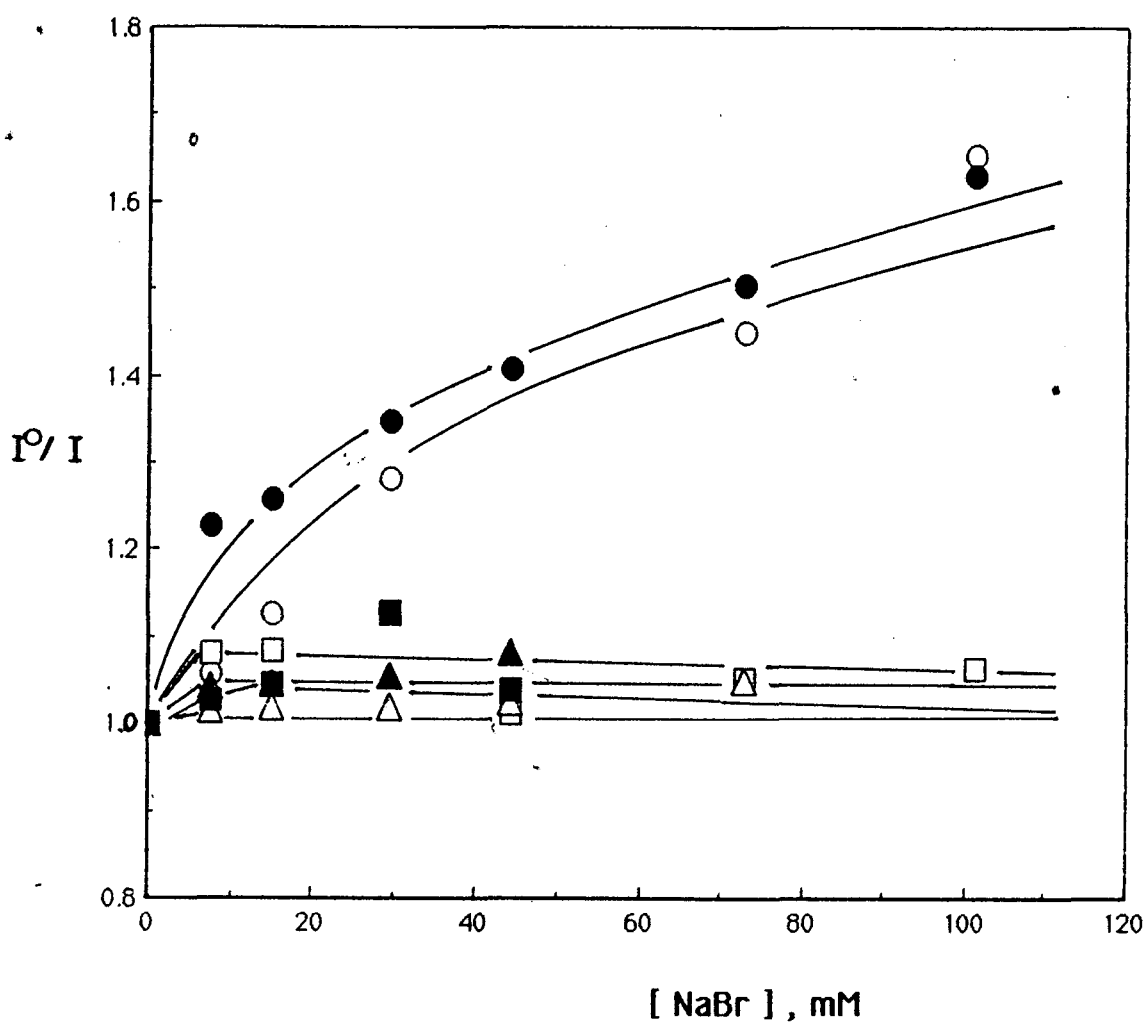


FIGURA 10 - Gráficos de Stern-Volmer para a supressão da fluorescência de pireno ( $1 \times 10^{-7}$  M final) por NaBr adicionado; em água (●) e em soluções aquosas dos [3,6]- (○\* ; 15,0 mM); [3,22]- (□ ; 10,30 mM); [4,22]- (△ ; 8,46 mM); [5,22]- (○ ; 10,40 mM) e [6,22]-ionenos (▲ ; 9,56 mM).

no nos ionenos. A constante de incorporação ( $K_S$ ) pode para este caso ser definida como:

$$K_S = \frac{f_p}{f_{aq} \cdot [P]} \quad (7)$$

onde  $f_p$  e  $f_{aq}$  representam as frações de pireno incorporado no polímero e na fase aquosa respectivamente,  $[P]$  é a concentração do polímero na solução.

Considerando que para incorporação total menos do que 1% do pireno esteja na fase aquosa, o valor mínimo de  $K_S$  seria  $K_S > 100/[P]$ . No caso dos  $[n,22]$ -ionenos (onde a incorporação é total) a uma concentração 10 mM (média das concentrações das soluções utilizadas) estima-se um valor de  $K_S > 10^4 \text{ M}^{-1}$ . Este valor de  $K_S$  é análogo a constante de incorporação do pireno em micelas de CTAB ( $K_S = 1,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ).<sup>44</sup>

### III.2.2 - ADIÇÃO DE BROMETO E CLORETO DE SÓDIO

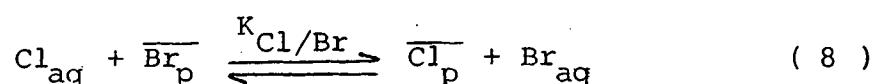
Estudos sobre o efeito da adição de brometo de sódio em solução aquosa de  $[n,22]$ -ionenos contendo pireno ( $10^{-7} \text{ M}$ ), estão representados na Figura 10. Observa-se que inicialmente, isto é, até uma concentração de ~ 10 mM de NaBr, ocorre uma supressão significativa da fluorescência do pireno. Para concentração de NaBr > 10 mM, nenhum efeito é observado.

Sabe-se que a adição de NaBr a ionenos provoca um aumento da constante de incorporação ( $K_S$ ) do pireno.<sup>22</sup> Num estágio inicial ( $[NaBr] < 10 \text{ mM}$ ) o pireno é levado a aproximar-se dos contraíons brometo associados ao ioneno, aumen

tando desta forma a supressão. Para concentrações acima de 10 mM, no entanto, o pireno está totalmente incorporado devido a um efeito de NaBr adicionado e da própria conformação globular adquirida pelo ioneno em solução. Um efeito de supressão, por NaBr, semelhante é observado para o pireno em solução de CTAB abaixo da CMC.<sup>45</sup> Na fase micelar a fluorescência do pireno incorporado é independente da concentração do supressor, isto é, as moléculas do pireno são inacessíveis ao supressor.<sup>24,46</sup>

A adição de NaCl a soluções aquosas dos [n,22]-ionenos, provoca um aumento significativo na intensidade de fluorescência do pireno (Figura 11). Este efeito diminui em presença de NaBr (Figura 12.) e é inversamente dependente da concentração dos ionenos, como mostrado na Figura 13 para o [4,22]-ioneno.

O aumento da fluorescência do pireno pela adição de NaCl e a sua dependência com a concentração do ioneno, comprova a existência de supressão da fluorescência do pireno por íons brometo associados ao ioneno e, evidencia a existência de uma troca iônica Cl/Br na superfície deste de acordo com a expressão abaixo:



De acordo com o método de Abuin e Colaboradores<sup>26</sup>, utilizando-se o grau de dissociação iônica ( $\alpha$ ), experimental e dados para o efeito de NaCl adicionado na fluorescência do pireno a concentrações fixas de NaBr (5,10 e 20 mM) Figura 12

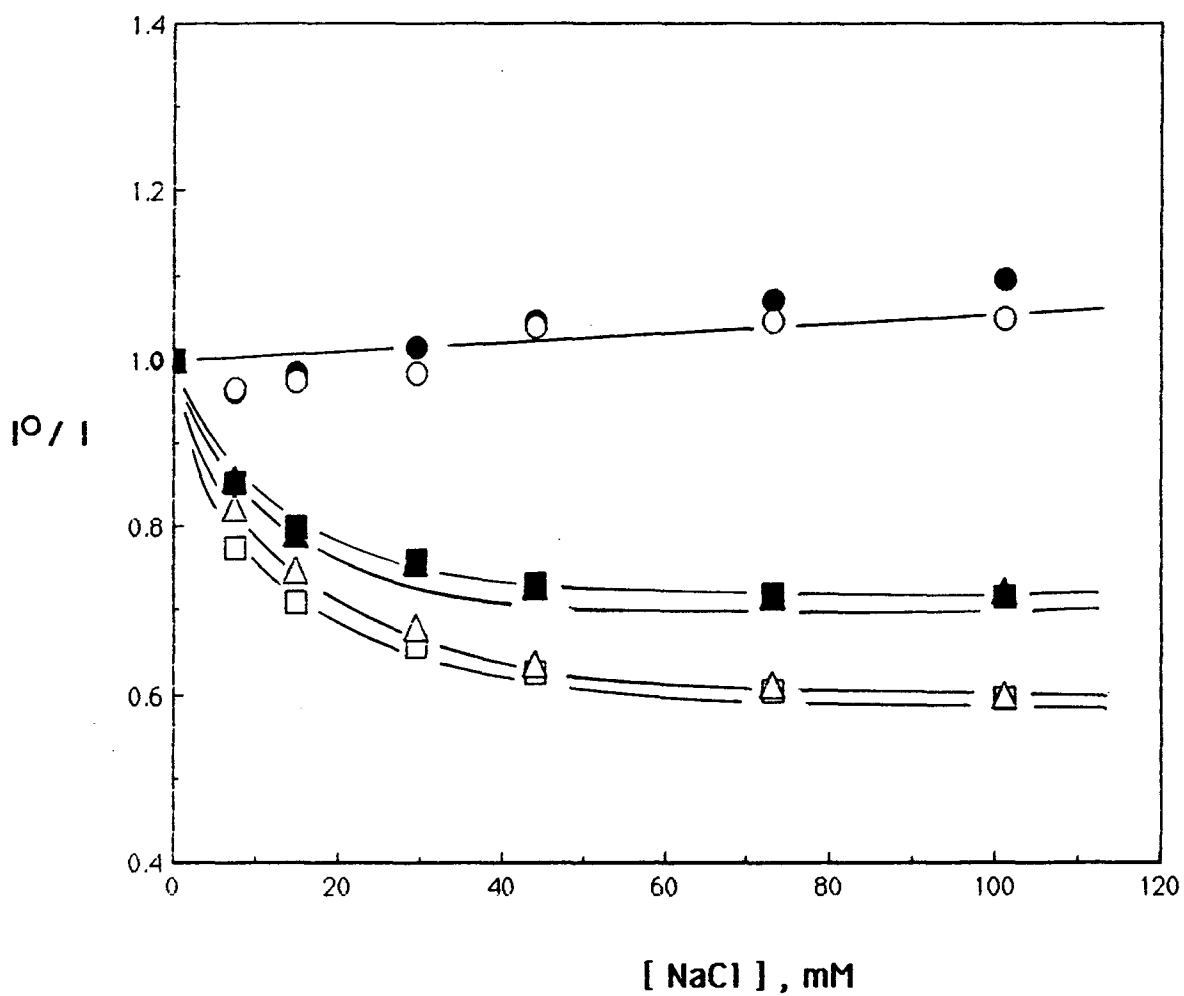


FIGURA 11 - Gráficos de Stern-Volmer para o efeito de NaCl adicionado na fluorescência do pireno ( $1 \times 10^{-7}$  M final) em água (●) e em soluções aquosas dos ionenos (contraíons brometo):

[3,6]- (○ ; 15,0 mM); [3,22]- (□ ; 10,30 mM) ;  
 [4,22]- (Δ ; 8,46 mM); [5,22]- (◻ ; 10,40 mM) e  
 [6,22]-ionenos (▲ ; 9,56 mM).



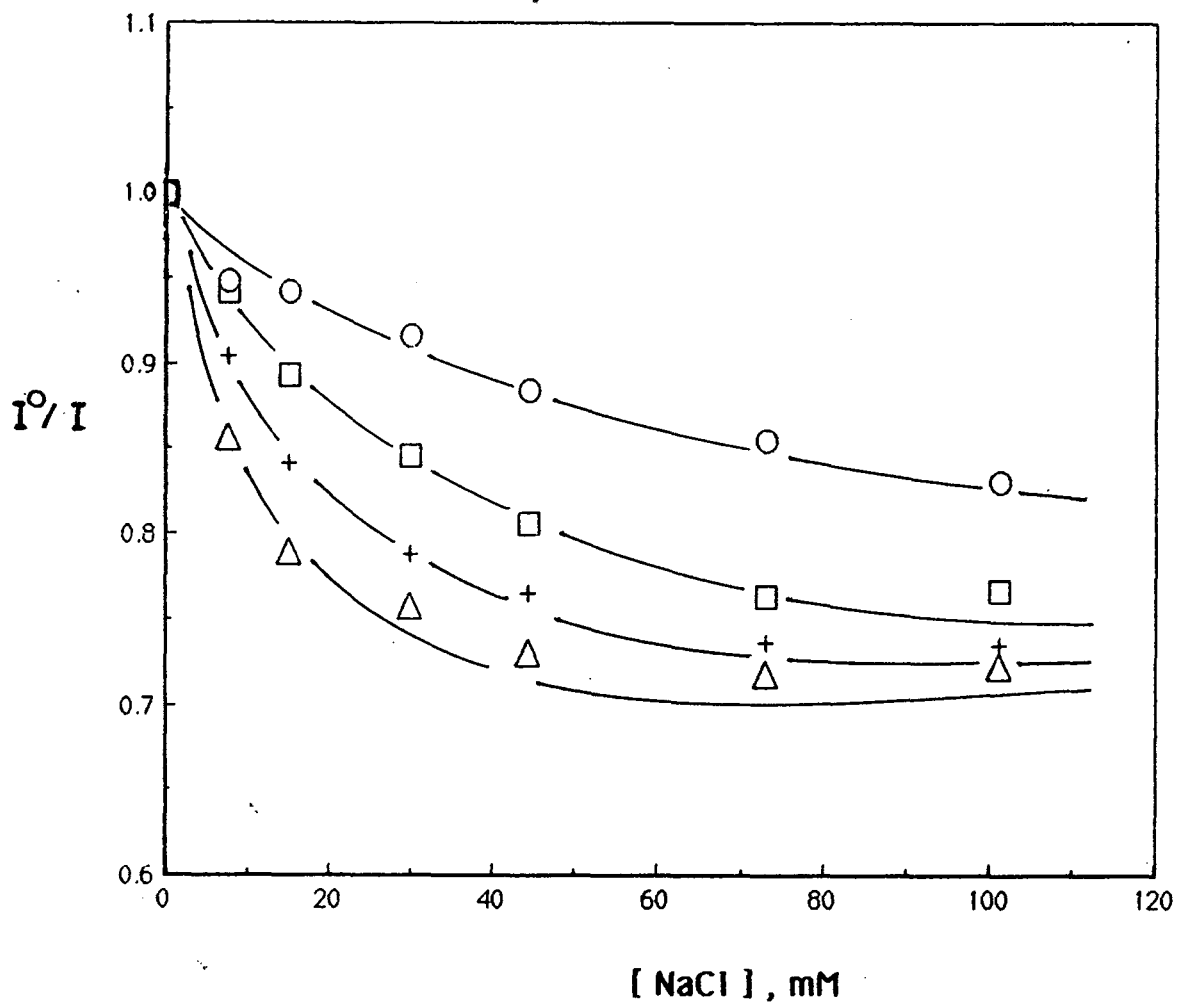


FIGURA 12 - Gráficos de Stern-Volmer para o efeito de NaCl adicionado na fluorescência do pireno ( $1 \times 10^{-7}$  M final) em soluções aquosas do [6,22]-ioneno (contraíon brometo, 9,56 mM) na ausência ( $\Delta$ ) e na presença de NaBr: + (5 mM);  $\square$  (10 mM) e  $\circ$  (20 mM).

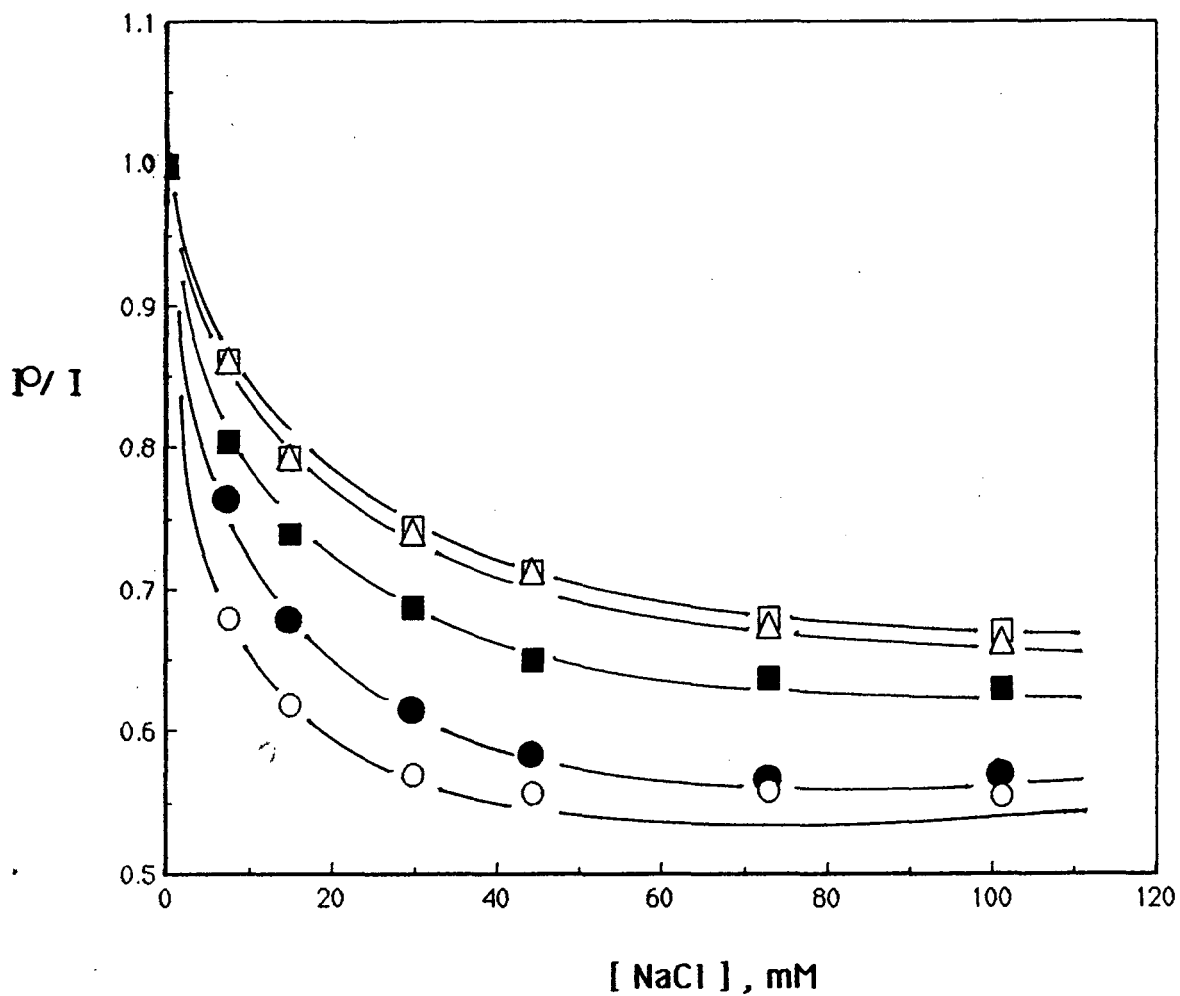


FIGURA 13 - Gráficos de Stern-Volmer para o efeito de NaCl adicionado na fluorescência de pireno ( $1 \times 10^{-7}$  M final) em soluções aquosas do [4,22]-ioneno (contraíon brometo):  $\square$  (8,46 mM);  $\triangle$  (6,34 mM) ;  $\blacksquare$  (4,23 mM);  $\bullet$  (2,12 mM) e  $\circ$  (0,85 mM).

determinou-se os coeficientes de seletividade para a troca iônica cloreto/brometo ( $K_{Cl/Br}$ ) para os [4,22], [5,22] e [6,22]-ionenos. As constantes ( $K_{Cl/Br}$ ) assim determinadas foram 0,56; 0,30 e 0,54 respectivamente. O valor da constante de troca iônica cloreto/brometo para [3,22]-ioneno determinada em estudos anteriores<sup>22</sup> é igual 0,23.

### III.3 - GRAU DE DISSOCIAÇÃO IÔNICA DOS IONENOS

Recentemente Soldi e colaboradores<sup>23</sup> admitindo que as mobilidades dos ionenos e da micela de CTAB sejam semelhantes, estimou o grau de dissociação iônica ( $\alpha$ ) para nove ionenos anfifílicos a partir da seguinte expressão:

$$\alpha = 0.2 \frac{\beta_{\text{Ioneno}}}{\beta_{\text{CTAB}}} \quad (9)$$

onde,  $\beta_{\text{Ioneno}}$  corresponde à inclinação de um gráfico da condutividade específica VERSUS a concentração do ioneno como exemplificado na figura 14, para o [4,22]-ioneno.  $\beta_{\text{CTAB}}$  é a inclinação da reta de condutividade específica VERSUS a concentração de CTAB acima da CMC cujo valor determinado é 0.022.

Os valores do grau de dissociação iônica ( $\alpha$ ) determinados a partir da equação (9), para os ionenos estudados no presente trabalho estão na tabela 2.

Observa-se que com o aumento de  $n$ , há um aumento nos valores de  $\alpha$ , indicando uma maior mobilidade dos íons brometo em solução, devido a um maior afastamento entre os

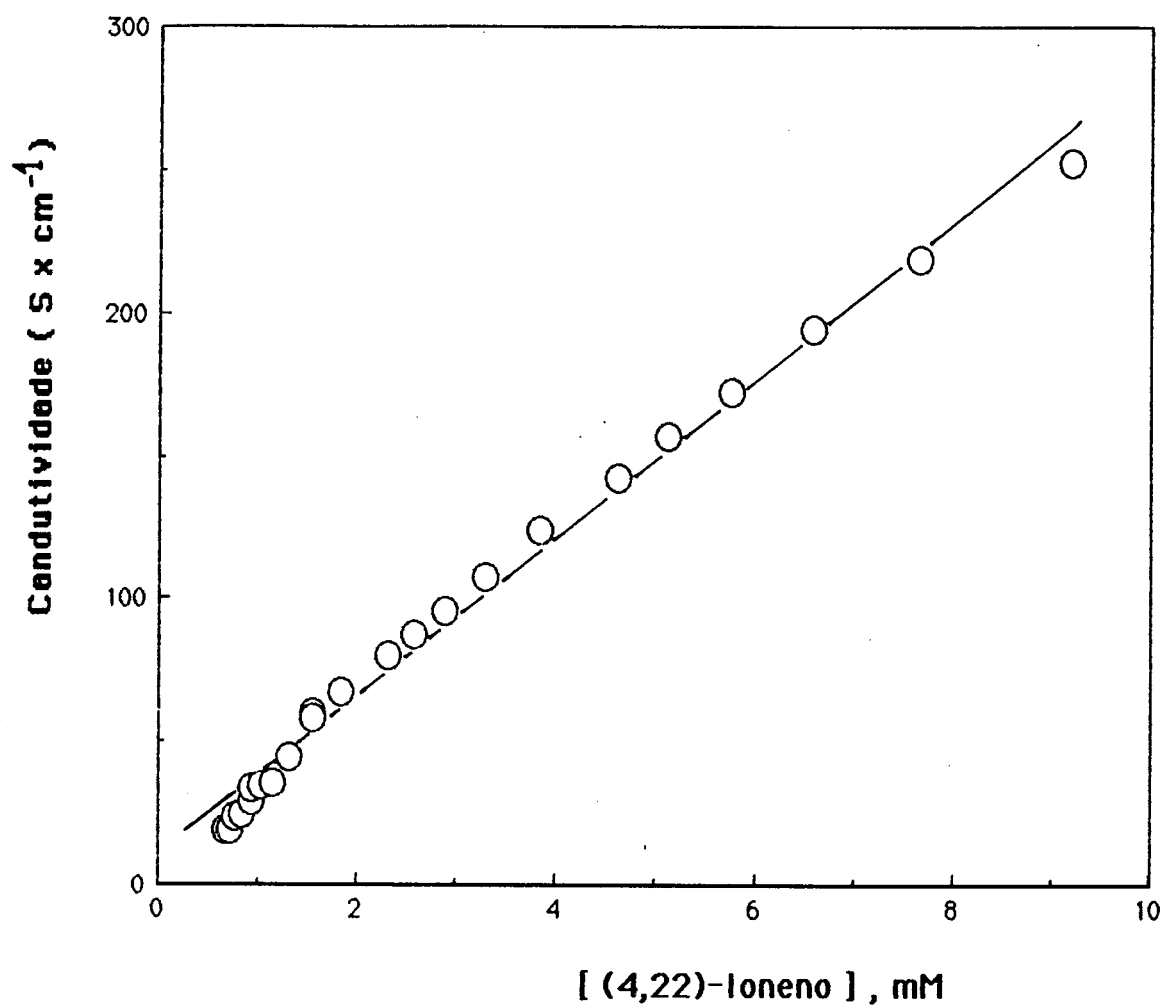


FIGURA 14 - Gráfico de condutividade versus a concentração de ioneno (expressa como brometo iônico) para [4,22]-ioneno.

TABELA 2 - Valores de  $\beta_{\text{Ioneno}}$  determinados a partir de gráficos de condutividade específica versus [ P ] (Figura 14) e de  $\alpha$  calculados com base na equação 9.

Ionenos	$\beta_{\text{Ioneno}}$	$\alpha$
[3,6]-	0.078 <sup>a</sup>	0.71 <sup>a</sup>
[3,10]-	0.105 <sup>a</sup>	0.95 <sup>a</sup>
[3,16]-	0.067 <sup>a</sup>	0.61 <sup>a</sup>
[3,22]-	0.028	0.26
[4,22]-	0.029	0.27
[5,22]-	0.055	0.50
[6,22]-	0.061	0.55

(a) Referência 23.

centros de carga ( $\ddot{N}$ ), diminuindo a interação destes com os íons brometos associados, na superfície do ioneno.

Para os [3,22] e [4,22]-ionenos os valores de  $\alpha$  são muito próximos do valor de  $\alpha$  (0.2) da micela de CTAB, que possui uma forma esférica.<sup>47</sup>

Os [5,22] e [6,22]-ionenos apresentam valores de  $\alpha$  maiores mas, abaixo dos valores encontrados para ionenos com conformação comprovadamente estendida<sup>1,2</sup>, como é o caso do (3.6)-ioneno ( $\alpha = 0.71$ ) e (3.10)-ioneno ( $\alpha = 0.95$ ). Convém notar ainda que para estes ionenos os valores de  $\alpha$  estão próximos ao valor encontrado para o (3.16)-ioneno ( $\alpha = 0.61$ ), cuja conformação é não estendida conforme mostrado na literatura.<sup>20</sup>

Para polieletrólitos lineares é possível determinar com boa precisão, o espaçamento efetivo entre os centros iônicos ( $b_{\text{efetivo}}$ ), de acordo com a equação proposta por Fujii.<sup>8</sup>

$$b_{\text{(efetivo)}} = l_B \cdot \alpha_{\text{(exp)}} \quad (10)$$

onde  $l_B$  (= 0.7153) é a constante de Bjerrum e  $\alpha$  é o grau de dissociação iônica. Para os [n,22]-ionenos estudados os valores de  $b_{\text{(efetivo)}}$  calculados a partir da equação acima, situam-se na faixa de 0.18 - 0.39 nm. Uma vez que o comprimento da ligação C - C é da ordem de 0.15 nm<sup>21</sup> os valores acima seriam equivalentes a 1-3 ligações carbono-carbono, que são incompatíveis com uma conformação estendida para estes ionenos.

Os valores do grau de dissociação iônica para

os ionenos estudados estão relacionados com o maior espaçamento entre os centros iônicos ( $\bar{N}^+$ ) e aparentemente uma menor densidade de carga na superfície do ioneno.

### III.4 - ANISOTROPIA DE FLUORESCÊNCIA

Os valores da anisotropia de fluorescência ( $r$ ), para as sondas BCF e FDA, em solução aquosa de ionenos, são mostradas na tabela 3.

Na faixa de pH das medidas relatadas (pH 8-9) a BCF encontra-se na forma tetraaniônica, enquanto que o FDA apresenta apenas dois sítios de carga aniônicos.

Os valores de  $r$  para a BCF em água, [3,6]-ioneno e [3,22]-ioneno são próximos aos valores encontrados em trabalhos anteriores<sup>23</sup>. Em solução dos [n,22]-ionenos os valores de  $r$  para ambas as sondas, (BCF) e (FDA), são aproximadamente 10 vezes maiores que os valores de  $r$  para as mesmas em água. Estes valores já eram esperados uma vez que os ionenos que tem segmentos hidrofóbicos ( $\bar{m}$ ) longos, devem apresentar uma conformação globular e, portanto, uma alta densidade de carga em sua superfície. A densidade de carga permite uma maior adsorção eletrostática da sonda na superfície do ioneno.

A forte adsorção da BCF, na superfície de ionenos "globulares" deve-se não somente a atração de natureza eletrostática mas, também a uma contribuição adicional hidrofóbica, resultando numa menor relaxação rotacional da BCF adsorvida. O fato da FDA apresentar valores de  $r$  muito próximos aos encontrados para a BCF, confirma que a adsorção entre a

TABELA 3 - Anisotropia de fluorescência de BCF ( $1 \times 10^{-7} \text{M}$ ) e FDA ( $1 \times 10^{-7} \text{M}$ ) e máximo de emissão ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) da BCF em solução aquosa dos [n,22]-ionenos.

Ionenos	r		$\lambda_{\text{máx.}} \text{ (BCF)}$
	(BCF)	(FDA)	
H <sub>2</sub> O	0.022	0.011	517
[3.6]-	0.059	0.047	522
[CTAB]-	0.123	0.084	529
[3.22]-	0.214	0.170	532
[4.22]-	0.200	0.161	532
[5.22]-	0.190	0.158	532
[6.22]-	0.180	0.144	532



sonda (FDA) e o ioneno não é puramente de natureza eletrostática, pois se assim fosse os valores de  $r$  para FDA deveriam ser ainda menores.

Para os  $[n,22]$ -ionenos estudados observa-se um decréscimo nos valores de anisotropia, tanto para a BCF como para a FDA, à medida que aumenta o comprimento dos segmentos  $n$ . Este decréscimo nos valores de  $r$  é condizente com a menor densidade de carga na superfície do ioneno, provocada pelo maior espaçamento entre os centros de carga catiônicos ( $\bar{N}^+$ ) e, como consequência, ocorre uma menor adsorção da sonda na superfície deste, resultando numa relaxação rotacional um pouco maior ( $r$  menor).

A anisotropia moderadamente pequena observada para o  $[3,6]$ -ioneno, ( $r = 0.059 \pm 0.005$ ), um ioneno hidrofílico com conformação estendida, deve-se a disposição linear dos centros de carga catiônicos e a grande flexibilidade dos segmentos da cadeia que permitem uma rápida relaxação da sonda adsorvida. Contrariamente os valores de  $r$  observados para os  $[n,22]$ -ionenos, mostram que a anisotropia é governada pela velocidade de rotação isotrópica do ioneno como um todo. De fato para estes ionenos, além da anisotropia aumentar significativamente, é acompanhada por um grande deslocamento espectral (tabela 3).

Sob estas condições a anisotropia observada pode ser relacionada com o volume molar hidratado ( $V_h$ ) do ioneno conforme equação 11, obtida combinando-se as equações 4 e 5,

$$V_h = \frac{RT}{n} [r/(r_0 - r)] \quad (11)$$

onde  $\eta$  é a viscosidade do solvente ( $\eta_{\text{H}_2\text{O}} = 0,7995 \text{ cP}$ )  $r_0$  é a anisotropia intrínseca da BCF ( $r_0 = 0,35$ )<sup>22</sup>,  $\tau$  é o tempo de meia vida de fluorescência da BCF ( $\tau = 4,4 \text{ ns}$ )  $R$  é a constante geral dos gases e  $T$  é a temperatura absoluta.

De acordo com a equação acima e os valores de  $r$  para a BCF (tabela 3) o volume molar hidratado para o [3,22]-ioneno é aproximadamente 20.000 enquanto que para os demais [n,22]-ionenos situa-se na faixa de 15.000 a 18.000. Assumindo uma densidade  $\sim 1$ , estes volumes correspondem a duas vezes o peso molecular médio do ioneno não hidratado. Desta forma estima-se que os pesos moleculares médios destes ionenos situam-se na faixa de 8.000 - 10.000, valores concordantes com o determinado por outro método<sup>39</sup> para o [3,22]-ioneno.<sup>23</sup>

## IV - CONCLUSÕES

Em função dos objetivos inicialmente propostos, de acordo com a metodologia utilizada e os resultados obtidos conclui-se que:

1) O microambiente de solubilização do pireno em solução aquosa dos ionenos estudados é menos polar que o [3,6]-ioneno, aproximando-se ao microambiente do pireno em micelas de CTAB.

2) O grau de associação  $(1-\alpha)$  de contraíons brometo na superfície do ioneno aparentemente diminui com o aumento de  $n$  condizente com um pequeno decréscimo na densidade de carga na superfície dos ionenos devido ao distanciamento entre os centros catiônicos ( $N^+$ ).

3) A ausência de supressão de fluorescência do pireno pelo brometo de N-etilpiridínio e brometo de sódio (acima de 10 mM) demonstram que o pireno está totalmente incorporado ao ioneno.

4) Ocorre troca iônica cloreto/brometo na superfície dos ionenos como mostrado pelo aumento de fluorescência do pireno com a adição de NaCl.

5) Os valores de  $r$  para as sondas BCF e FDA mostram que os [n,22]-ionenos adquirem uma conformação mais compacta e com maior densidade de carga na superfície.

Para estes ionenos, a incorporação total do pireno, o grau de associação de contraíons brometo na superfície e a anisotropia de fluorescência de BCF e FDA demonstram que os [n,22]-ionenos com  $n = 3, 4, 5$  e  $6$  adquirem em solução

aquosa uma conformação mais compacta (globular), com características semelhantes a micela de CTAB e aos ionenos estudados anteriormente<sup>22,23</sup>.

## BIBLIOGRAFIA

1. REMBAUM, A., - Polyelectrolyte Complexes. J. Macromol. Sci.-Chem., A3(1), 87, 1969.
2. REMBAUM, A., BAUMGARTNER, W., EISENBERG, A., - Aliphatic Ionenes. J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed., 6, 159, 1968.
3. REMBAUM, A., NOGUCHI, H., - Reactions of N,N,N',N'- Tetramethyl- $\alpha$ - $\omega$ -diaminoalkanes with  $\alpha$ , $\omega$ -Dihaloalkanes. II. x-y Reactions. Macromolecules, 5, 261, 1972.
4. SCHMIR, M., REMBAUM, A., - Sedimentation Equilibrium of High Charge Density Cationic Polyelectrolytes. Polym. Sci. Technol, 2, 327, 1973.
5. KODA, S., HASHITANI, R., NOMURA, H., - Counterion Binding of Ionene Polymers in Water-Acetone Mixtures by Means of Activity Measurement. Polymer Journal, 20(4), 357, 1988.
6. YEN, S. P. S., CLASSON, D., REMBAUM, A., - Polymerization of 3-Dimethylamino-n-Propyl Chloride and Formation of Star-Shaped and Branched Polyelectrolytes. Polym. Sci. Technol., 2, 291, 1973.
7. SVETKIN, Y.V., VARLAN, K.E., EYABENKO, V.V., AKHLANOVA, G. A., - Electrostatic Interactions in Ionene Solutions. Ukrainskii Khimicheskii Zhurnal, 53(10), 1109, 1987.
8. FUJII, M., - Ionic Dissociation of Ionene Polymers in Aqueous Solutions. J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed., 24, 39, 1986.

9. WESTERMARK, B., SPIESS, H. W., - Chain Mobility in Solid Polyelectrolyte Complexes. Makromol. Chem., 189 , 2367, 1988.
10. KNAPICK, E. G., HIRSCH, J. A., ANDER, P., - Synthesis and Viscosity Studies of Some Novel Ionene Polymers. Macromolecules, 18, 1015, 1985.
11. VAN HERK, A. M. V., TULLEMANS, A. H. J., VANWELZEN, J. , GERMAN, A. L., - Effects of Ionenes on Catalytic Activity and Structure of Cobalt Phthalocyanine. Part 2. Kinetics as a Function of Thiol and Oxygen Concentrations. Journal of Molecular Catalysis., 44(2), 269 , 1988.
12. WELZEN, J. V., VAN HERK, A. M. V., KRAMER, H., GERMAN, A. L., - Effects of Ionenes on Structure and Catalytic Activity of Cobalt Phthalocyanine. Part 6. Hydrogen Peroxide Accumulation. Journal of Molecular Catalysis, 59, (3), 291, 1990.
13. WELZEN, J. V. HERK, A. M. V., KRAMER, H., THIJSSSEN, T. G. L., GERMAN, A. L., - Effects of Ionenes on Structure and Catalytic Activity of Cobalt Phthalocyanine. Part. 7. Dependence of Reaction Kinetics on pH, Type of Polymer and Type of Thiol. Journal of Molecular Catalysis, 59, 311, 1990.
14. WELZEEN, J. V., HERK, A. M. V., GERMAN, A. L., - Effects of Ionenes on Structure and Catalytic Activity of Cobalt-Phthalocyanine. 3<sup>a</sup>) Interaction of 2,4-Ionene with Cobaltphthalocyanine and Model Compounds. Makromol. Chem., 187, 587, 1988.

15. SASSOON, R. E., RABANI, J., - A Study of the Effects of Polyelectrolytes on the Photochemical System containing a  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  Derivative, Methylviologen, and Ferricyanide. J. Phys. Chem., 89, 5500, 1985.
16. OKUBO, T., MARUNO, T., ISE, N., - Role of Solvation and Desolvation in Polymer Catalysis II. The Influence of High Pressures on the Alkaline Hydrolyses of  $\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{BF}_4^{2+}$  Catalyzed by Macro-ions. Proc. R. Soc. London, Ser. A, 370, 501, 1980.
17. SUGMURA, M., OKUBO, T., ISE, N., - Role of Solvent in Polymer "Catalysis". Polyelectrolyte Catalysis in the Reaction of Tris(oxalato) Cobaltate in Binary Mixtures of Water with Dimethylformamide or Dimethyl Sulfoxide. Macromolecules, 14, 124, 1981.
18. KUNITAKE, T., NAKASHIMA, N., TAKARABE, K., NAGAI, N., TSUGE, A., YANAGI, H., - Vesicles of Polymeric Bilayer and Monolayer Membranes. J. Am. Chem. Soc., 103, 5945, 1981.
19. KUNITAKE, T., TSUGE, A., TAKARABE, K., - Formation of Molecular Membranes in Water from Ionene Oligomers and Related Amphiphiles. Polymer Journal, 17(4), 633, 1985.
20. NIEVES, V. E. R., RIBALDO, E. J., BAROUD, R., QUINA, F. H., - Acceleration of the Rate of Alkaline Ester Hydrolysis by Linear Amphiphilic Ionenes. J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed., 20, 433, 1982.
21. TANFORD, C., - The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes, 2<sup>nd</sup> ed. Wiley, New York, 1980.

22. SOLDI, V., - Correlação Entre Estrutura e Propriedades Catalíticas de Polieletrólitos Anfifílicos do Tipo Ione no, Tese Doutorado, São Paulo, 1987.
23. SOLDI, V., ERISMANN, N. M., QUINA, F. H., - Micelle - N<sub>i</sub>metic Ionene Polyelectrolytes. J. Am. Chem. Soc., 110, 5137, 1988.
24. KALYANASUNOARAM, K., THOMAS, J. K., - Environmental Effects ou Vibronic Band Intensities in Pyrene Monomer Fluorescence and Their Application in Studies of Micellar Systems. J. Am. Chem. Soc., 99(7), 2039, 1977.
25. LIANOS, P., ZANA, R., - Fluorescence Probe Studies of the Effect of Concentration on the State of Aggregation of Surfactants in Aqueous Solution. J. Colloid Interface Sci., 84(1), 100, 1981.
26. ABUIN, E., LISSI, E., BIANCHI, N., MIOLA, L., QUINA, F. H., - Quenching of Aromatic Hydrocarbon Fluorescence by Counterions in Aqueous Micellar Solution. Relationship to Ion Exchange. J. Phys. Chem., 87, 5166, 1983.
27. MUKHERJEE, K. K. R., - Fundamentals of Photochemistry., Wiley, New Delhi, 1978.
28. LAKOWICZ, J. R., - Principles of Fluorescence Spectroscopy. Plenum: New York, cap. 5, 1983.
29. SOLDI, V., ERISMANN, N. M., QUINA, F. H., - Fluorescent Probe Studies of Amphiphilic Ionene Polyelectrolytes. Atual. de Físico-Química Orgânica. 118, 1986.
30. HÜNIG, S., LÜCKE, E., - Synthesen mit Enaminen (III)., Ber., 92(1), 652, 1959.



31. HÜNIG, S., LÜCKE, E., BRENNINGER, W., - 1-Mompholimo-1-cyclohexene. Org. Synt. 5, 808, 1960.
32. ANES, D. E., BOWMAN, R. E., BUTTLE, G. A. H., SQUIRES, S. - Synthetic Long-Chain Aliphatic Compounds. J. Chem. Soc., 1057, 1952.
33. CAVALLITO, C. J., GRAY, A. P., SPINNER, E. E., - Bis-ammonium Salts. Derivatives of Fluorence, Carbazole and Phenothiazine. J. Am. Chem. Soc., 76, 1862, 1954.
34. MANIATIS, T., FRITSCH, E. F., SAMBROOK, J., - Molecular Cloning - A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory., USA, 1982.
35. SCHALES, O., SCHALES, S. S., - A Simple and Accurate Method for the Determination of Chloride in Biological Fluids. J. Biol. Chem., 140, 879, 1941.
36. PARKER, C.A., - Photoluminescence of Solutions. Elsvier Publishing Company, London, 1968.
37. SHINITZKY, M., BARENHOLZ, Y., - Fluidity Parameters of Lipid Regions Determined by Fluorescence Polarization. Biochim. Biophysica Acta., 515, 367, 1978.
38. DEKKERS, J. J., HOORNWEG, G. Ph., MACLEAN, C., VELTHORST, N. H., - Fluorescence and Phosphorescence. Polarization of Molecules Oriented in Stretched Polymers. General Description. Chem. Phys. Lett., 19, 517, 1973.
39. TURRO, N. J., YEKTA, A., - Luminescent Probes for Detergent Solutions. A Simple Procedure for Determination of the Mean Aggregation Number of Micelles. J. Am. Chem. Soc., 100(18), 59, 1978.

40. YGUERABIDE, J., ESPSTEIN, H., STRYER, L., - Segmental Flexibility of an Antibody Molecule. J. Mol. Biol., 51 573, 1970.
41. GEIGER, M., TURRO, N.J., - Pyrene Fluorescence Lifetime as a Probe for Oxygen Penetration of Micelles. Photochem. Photobiol., 22, 273, 1975.
42. KALYANASUNDARAM, K., - Photochemistry in Microheterogeneous Systems. Academic: Orlando, FL. p. 39-41, 1987.
43. SHETLAR, M., - A Generalized Form of the Ster-Volmer Equation and Its Application. Mol. Photochem., 6(2), 191, 1974.
44. ALMGREN, M., GRIESER, F., THOMAS, J. K., - Dynamic and Static Aspects of Solubilization of Neutral Arenes in Ionic Micellar Solutions. J. Am. Chem. Soc., 101(2), 279, 1979.
45. NDOU, T., WANDRUSZKA, R. V., - Quenching of Pyrene Fluorescence in Premicellar Solutions. Analytical Letters, 21(11), 2091, 1988.
46. SAVVIN, S. B., MARKOV, I. N., CHERNOVA, R. K., SHTYKOV, S. N., SOKOLOV, A. B., - Electrostatic and Hydrophobic Effects in the Formation of Associates of Organic Reagents with Cationic Surfactants. Zh. Anal. Khim. 36(5), 850, 1981.
47. FENDLER, J. H., - Membrane Mimetic Chemistry. Wiley Sons, New York, 1982.