

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

**ESTUDOS DE FLUORESCÊNCIA  
EM ORGANO-GEL**

**DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA  
CATARINA**

**PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM QUÍMICA**

**Donizete de Souza**

**FLORIANÓPOLIS  
SANTA CATARINA - BRASIL  
FEVEREIRO - 1997**

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

ESTUDOS DE FLUORESCÊNCIA EM ORGANO-GEL

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE SANTA CATARINA COMO PARTE DOS  
REQUISITOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE  
“MESTRE EM QUÍMICA”.

DONIZETE DE SOUZA

FLORIANÓPOLIS-SC

7 / FEVEREIRO /97

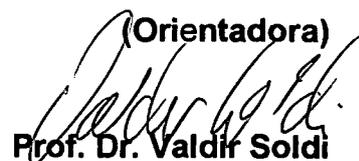
# ESTUDOS DE FLUORESCÊNCIA EM SISTEMA DE ORGANO-GEL

DONIZETE DE SOUZA

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do grau de mestre em Química, especialidade química orgânica, e aprovada em sua forma final pela orientadora e demais membros da banca examinadora .

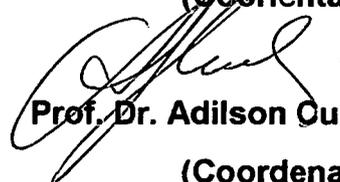
**Profa. Dra. Maria da Graça Nascimento**

(Orientadora)



**Prof. Dr. Valdir Soldi**

(Coorientador)



**Prof. Dr. Adilson Curtius**

(Coordenador)

Banca examinadora:



**Profa. Dra. Maria da Graça Nascimento**



**Profa. Dra. Maria Marta de Souza Sierra**



**Prof. Dr. Valdir Soldi**



**Prof. Dr. Nito Angelo Debacher**

Florianópolis, 7 de fevereiro de 1997.

## AGRADECIMENTOS

Aos amigos do laboratório.

Aos professores Valdir Soldi e Maria da Graça Nascimento.

Ao Professor Frank Quina (USP) por haver cedido as instalações do laboratório para execução dos experimentos de tempo de vida

A UFSC e CAPES

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Processo de gelatinização.....	1
<b>Figura 2.</b>	Exemplos de géis de acordo com a classificação de Flory.....	3
<b>Figura 3.</b>	Diagrama de fases triangular.....	5
<b>Figura 4.</b>	Micela reversa.....	6
<b>Figura 5.</b>	Modelo da percolação.....	8
<b>Figura 6.</b>	Modelo da rede de gelatina.....	10
<b>Figura 7.</b>	Modelos das estruturas do organo-gel.....	11
<b>Figura 8.</b>	Diagrama de fases do organo-gel de iso-octano.....	12
<b>Figura 9.</b>	Diagrama de fases do organo-gel de ciclo-hexano.....	14
<b>Figura 10.</b>	Diagrama de fases do organo-gel de n-hexano.....	14
<b>Figura 11.</b>	Diagrama de fases do organo-gel de n-heptano.....	15
<b>Figura 12.</b>	Diagrama de Jablonski.....	16
<b>Figura 13.</b>	Pireno e seus derivados.....	18
<b>Figura 14.</b>	Espectros de fluorescência do pireno.....	19
<b>Figura 15.</b>	Preparação do organo-gel.....	22
<b>Figura 16.</b>	Variação da razão III/I vs $W_o$ em organo-gel de ciclohexano.....	28
<b>Figura 17.</b>	Variação da razão III/I vs % de gelatina em organo gel de ciclohexano.....	28
<b>Figura 18.</b>	Variação da razão III/I vs $W_o$ em organo-gel de n-hexano.....	31
<b>Figura 19.</b>	Variação da razão III/I vs % de gelatina em organo gel de n-hexano.....	31
<b>Figura 20.</b>	Supressão de fluorescência do pireno em organo-gel de n-hexano.....	33
<b>Figura 21.</b>	Variação da razão III/I vs $W_o$ em organo-gel de n-heptano.....	37
<b>Figura 22.</b>	Variação da razão III/I vs % de gelatina em organo gel de n-heptano.....	37
<b>Figura 23.</b>	Tempo de vida do pireno em organo-gel de n-heptano.....	40

<b>3. - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	25
3.1- Variação da razão III/I em organo-gel de ciclo-hexano.....	26
3.2 - Variação da razão III/I em organo-gel de n-hexano.....	29
3.2.1- Medidas de supressão em organo-gel de n-hexano.....	32
3.3- Variação da razão III/I em organo-gel de n-heptano.....	35
3.4- Tempos de vida.....	38
3.5- Efeito de solvente.....	43
<b>4.- CONCLUSÃO</b> .....	45
<b>5.- BIBLIOGRAFIA</b> .....	46

# ÍNDICE GERAL

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1 Sistema de organo-gel.....	5
1.1.2 Diagrama de fases.....	12
1.2 Espectroscopia de fluorescência.....	16
1.2.1 Sondas fluorescentes.....	17
1.3 Objetivos.....	21
<b>2. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>22</b>
2.1 Reagentes utilizados.....	22
2.2 Preparação do organo-gel.....	22
2.3 Medidas de fluorescência.....	23
2.4 Medidas de tempo de vida.....	24
2.5 Medidas de supressão.....	24

## Abstract

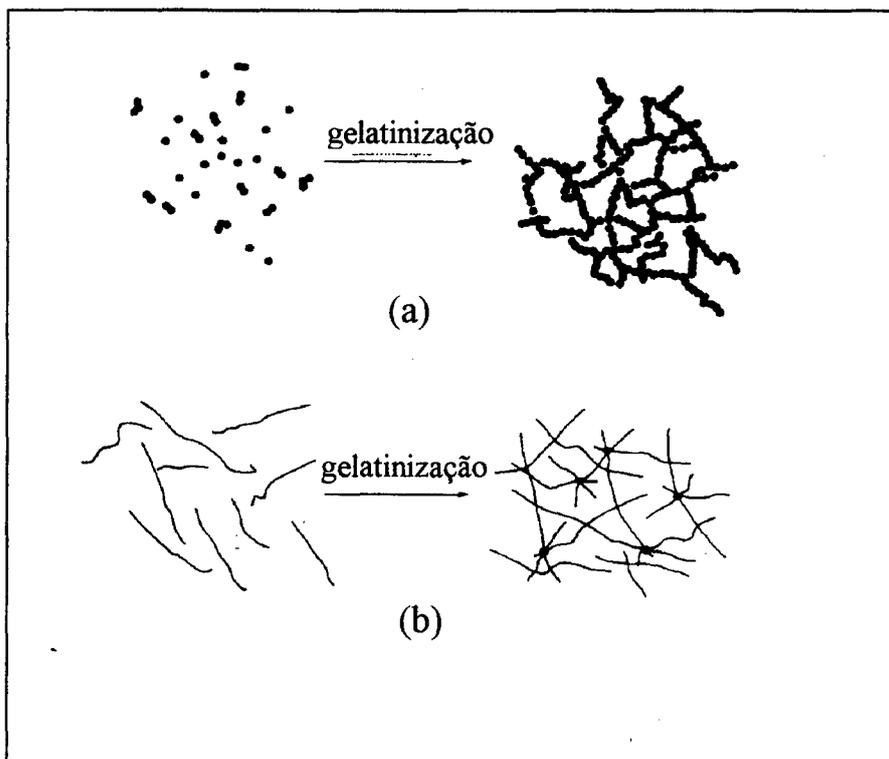
A new research area began when gelatin was solubilized in a water-in-oil microemulsion (MBG). This system has the advantage of forming transparent hydrophobic gels with the viscosity between a liquid and a hard consistent gel. So, MBG offers perspectives for the study of gelatinization mechanism, photochemical applications and some uses in biotechnology. In this work, it was studied the sol-gel transition through fluorescence measurements, lifetime and suppression of a hydrophobic fluorescence probe, pyrene. By the analysis of the fine vibrational structures (III/I ratio) of pyrene monomer, it was possible to obtain valuable information about the microenvironment in which it is located. The fluorescence data were obtained in systems with different water, gelatin and an organic solvent (n-hexane; n-heptane and cyclo-hexane) composition in a micellar phase and homogeneous transparent organo-gel, as well. The results obtained for III/I ratio as function of  $W_0$  ( $W_0 = [\text{H}_2\text{O}] / [\text{AOT}]$ ) and gelatin (in %), showed a sharp change in the region of the "sol-gel" transition. These results showed that there is a big polarity change in the system, due to the organization which occurs during the gelatinization process. No pyrene suppression was observed using different N-ethyl pyridinium bromide concentrations in the organo-gel of n-hexane, when 4,0% gelatin and  $W_0=60$  were used. By pyrene relaxation lifetime measurements, it was observed that the probe is preferentially located in the organic phase for the organo-gel of n-hexane and n-heptane, and that there is a higher partitioning in the cyclo-hexane system. In conclusion, by the use of these techniques it is possible to study the sol-gel transition, besides obtaining information about its microstructure.

## Resumo

Um novo campo de estudo tem sido aberto com a solubilização de gelatina em microemulsão água em óleo. O sistema MBG é formado por Aerosol-OT, água e solvente orgânico, e este possui a vantagem de se obter géis hidrofóbicos transparentes com a viscosidade variando de líquido a verdadeiros géis consistentes. O MBG oferece perspectivas para os estudos do mecanismo de gelatinização, aplicações fotoquímicas e em biotecnologia. Este trabalho teve o objetivo de estudar a transição sol-gel através de medidas de fluorescência, tempo de vida e medidas de supressão, usando uma sonda hidrofóbica (pireno). Através da análise das intensidades de fluorescência das várias estruturas finas vibracionais (razão III/I) do monômero do pireno, é possível obter informações sobre o microambiente no qual ele se encontra. As medidas de fluorescência foram realizadas em sistemas de organo-gel de n-hexano, n-heptano e ciclo-hexano, com composições diferentes de água, surfactante e gelatina, tanto em sistema micelar líquido, como em gel homogêneo e transparente. Os resultados obtidos para a razão III/I em função de  $W_0$  ( $W_0 = [H_2O]/[AOT]$ ) e percentagem de gelatina, mostraram uma mudança acentuada na transição sol-gel no sistema MBG. Este resultado indica que está ocorrendo uma mudança na polaridade do sistema como um todo, devido a organização que ocorre durante o processo de gelatinização. Nas medidas de supressão do pireno por brometo de N-etilpiridínio não foram observadas mudanças no espectro de fluorescência. Nas medidas de tempo de relaxação, observou-se que a sonda está localizada preferencialmente na fase orgânica para os sistemas de organo-gel de n-hexano e n-heptano, e que ocorre um particionamento maior em sistema de ciclo-hexano. Portanto, através destas técnicas, é possível estudar a transição sol-gel, além de obter novas informações sobre a sua microestrutura .

## CAPÍTULO 1- INTRODUÇÃO

O termo sol é geralmente empregado para definir uma dispersão de partículas coloidais (dimensão entre 1-100 nm) estável em fluido, enquanto que o termo gel é usado para sistemas formados por uma estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal) ou de cadeias poliméricas (gel polimérico) que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios.<sup>1</sup> Desse modo, os géis coloidais resultam de agregação linear de partículas primárias (**Figura 1a**) que ocorrem pela alteração apropriada das condições físico-químicas da suspensão. Por outro lado os géis poliméricos são geralmente, preparados a partir de soluções onde promove-se reações de polimerização. Nesse caso a gelatinização ocorre pela interação entre as longas cadeias poliméricas lineares (**Figura 1b**).



**Figura 1.** Esquema ilustrativo do processo de gelatinização para sistemas coloidais (a) e poliméricos (b).

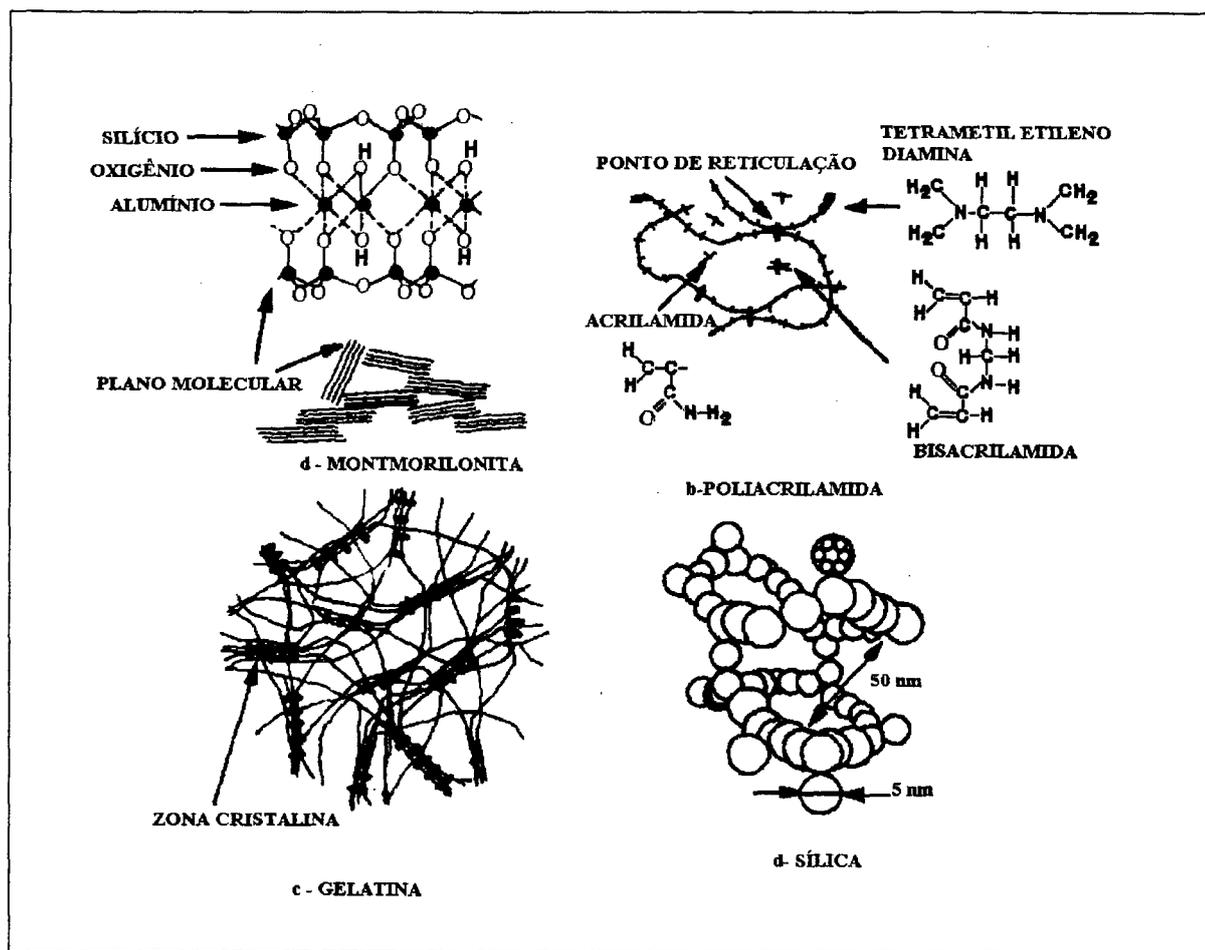
Em meio orgânico, tem-se o solvente preso numa rede formada por macromoléculas. Nestas redes, as cadeias poliméricas podem estar ligadas umas às outras por forças de Van der Waals, pontes de hidrogênio ou mesmo por ligações covalentes.<sup>2</sup>

De uma maneira geral "gel" é um sistema substancialmente diluído que não apresenta fluxo contínuo em estado estacionário, e é constituído de um agregado de moléculas que estão ligadas por forças químicas ou físicas, as quais formam as redes tridimensionais.<sup>3</sup>

Dependendo das características físico-químicas do sol pode-se obter géis com os mais diversos tipos de estruturas. Flory<sup>4</sup>, foi um dos pioneiros a classificar géis em critérios estruturais. Ele subdividiu os diferentes tipos de géis em quatro classes principais (**Figura 2**)<sup>5</sup>:

- 1- Estruturas lamelares ordenadas, incluindo géis mesofásicos;
- 2- Redes poliméricas covalentes de estrutura desordenada;
- 3- Redes poliméricas formadas através de agregação física, que são predominantemente desordenadas mas com regiões de ordem local;
- 4- Particulados (coloidais) com estruturas desordenadas.

Ácidos graxos, fosfolipídeos e algumas argilas são exemplos típicos de materiais que formam os géis da primeira classe. Neste caso, a estrutura lamelar paralela das camadas favorece a ordem a longa distância. As forças entre as lamelas podem ser de natureza eletrostática ou, como no caso de fosfolipídeos, pode ocorrer o predomínio das forças de Van der Waals. Géis da segunda classe possuem uma rede tridimensional formada por unidades interconectadas por ligações covalentes. Esta rede estende-se por todo o sistema, sendo geralmente feita de regiões ordenadas, tais como micelas ou agregados estruturados.



**Figura 2.** Exemplos dos quatro tipos de estruturas de géis de acordo com a classificação de Flory: a) Estruturas lamelares ordenadas da montmorilonita; b) Redes poliméricas covalentes com estrutura desordenada da poliacrilamida; c) Redes poliméricas com domínio cristalinos; d) Géis particulados de sílica.

Alguns exemplos são as borrachas vulcanizadas, a elastina e os poliacetatos de vinila. O terceiro grupo de géis compreendem aqueles cujas unidades primárias são polímeros lineares de tamanho finito e que se interligam através de pequenas regiões cristalinas, ou a partir de estruturas helicoidais. Em alguns casos, são formados arranjos do tipo hélice tríplice, como no colágeno, onde após novas agregações há a formação de pequenos domínios cristalinos. Para baixas concentrações, as hélices tríplices permanecem dispersas sem apresentar regiões

cristalinas. Este tipo de associação entre polímeros, tem a mesma função das ramificações polifuncionais das ligações cruzadas encontradas nos géis da segunda classe.

A quarta categoria de géis inclui os sistemas floculados, os quais são normalmente constituídos de partículas de geometria anisotrópica. Incluem-se também os géis cujas redes são reticulados de fibras, como as do  $V_2O_5$ . Em geral, as forças que regem a agregação das partículas nestes sistemas são de curto alcance, do tipo de van der Waals e/ou dipolo-dipolo. O grau de reticulação destes géis depende do balanceamento das interações repulsivas e atrativas entre as partículas ou agregados.

Durante a última década os estudos de géis têm apresentado um avanço notável, estando intimamente relacionados com nossa vida cotidiana. Fraldas descartáveis e absorventes higiênicos usam géis como super-absorventes de água. Para tais indústrias, é de fundamental importância o conhecimento dos princípios físico-químicos que governam o grau e velocidade de formação do gel nas condições fisiológicas. Um outro exemplo é a aplicação em filmes utilizados para embalar hermeticamente peixes e carnes. Tais filmes os mantêm úmidos, absorvendo o excesso de água e são úteis para o transporte e estocagem.

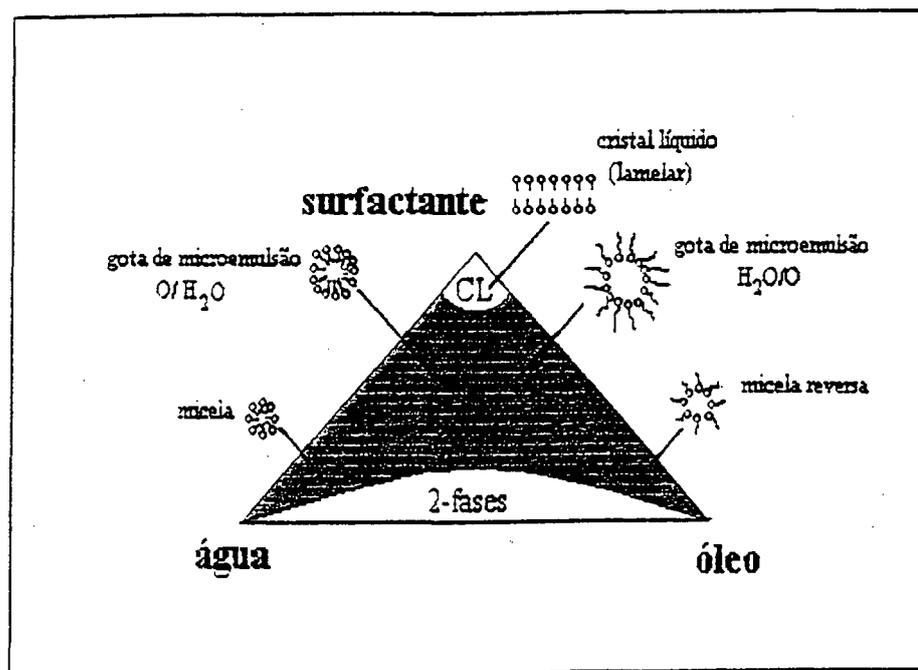
Os géis estão presentes em diversas partes do nosso organismo: como por exemplo na córnea, no cristalino e nos tecidos conectivos. As superfícies dos tratos internos tais como o estômago e o pulmão são recobertos por "géis", bem como as membranas dos vasos sanguíneos e rins. Acredita-se que estas membranas representam um papel fundamental no transporte de água e moléculas do soluto<sup>6</sup>.

O fato de alguns géis poderem solubilizar proteínas no seu interior, despertou grande interesse na área de síntese orgânica como suporte para imobilização de enzimas.<sup>7</sup> Neste aspecto destacam-se géis de polissacarídeos como a galactomanana, agar<sup>8</sup>, e também géis orgânicos de lecitina<sup>9</sup> e outros combinados com surfactante, gelatina e solvente orgânico, que é chamado de "organo-gel". Devido a sua complexidade e importância neste trabalho, este será discutido mais detalhadamente a seguir.

## 1.1 Sistema de Organo-Gel

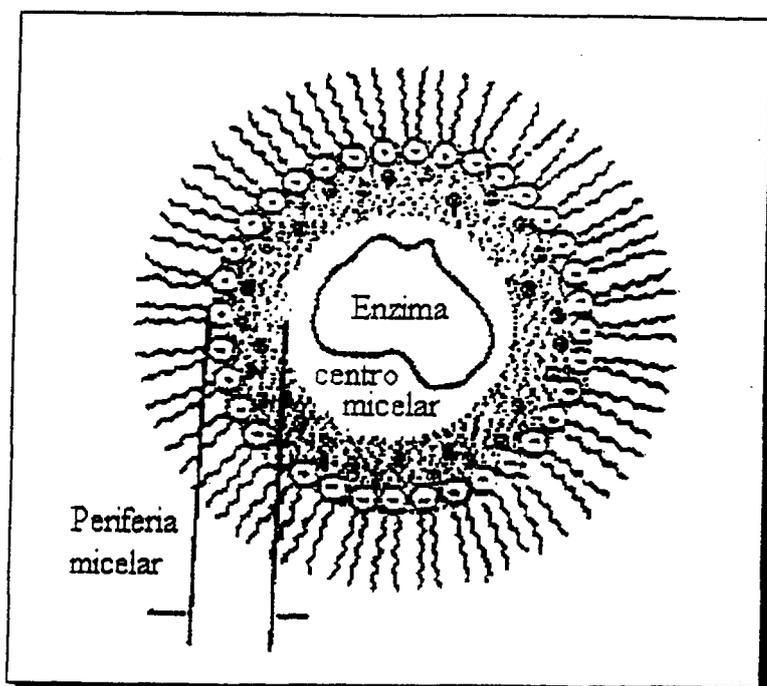
As microemulsões são misturas macroscopicamente homogêneas e isotrópicas de água, óleo e surfactante. Existem dois tipos de microemulsão: microemulsão óleo/água e microemulsão água/óleo.<sup>10</sup>

As microemulsões água/óleo são fluidos sob condições normais, consistem de gotas esféricas de água nanométricas polidispersas em um meio contendo óleo, estabilizado por uma monocamada de surfactante na interface água/óleo. Elas são termodinamicamente estáveis e podem ser formadas apenas com a mistura dos seus componentes. Para as microemulsões água/óleo os parâmetros de  $W_0$  ( $W_0 = [H_2O]/[surfactante]$ ) e a concentração do surfactante definem sua composição. Durante muitos anos as microemulsões têm sido amplamente utilizadas para solubilizar as proteínas e biopolímeros<sup>11</sup>. Em determinadas condições, formam as micelas reversas, que dependem da concentração de seus três componentes: água, óleo e surfactante. Na realidade, a micela reversa é uma das possibilidades que o sistema de microemulsão pode assumir (Figura 3).



**Figura 3**. Diagrama de fases triangular para o sistema água/óleo/surfactante. A região escura representa o domínio da microemulsão.

A estrutura da micela reversa é descrita como uma associação de moléculas do surfactante em um solvente apolar. A parte interna da micela reversa é formada pela parte polar do surfactante e é capaz de solubilizar substâncias polares como a água no seu interior. A parte exterior da micela reversa é formada pela parte hidrofóbica do surfactante (cadeia hidrocarbônica) que fica em contato com o solvente ao seu redor (Figura 4).<sup>12</sup>



**Figura 4.** Estrutura da micela reversa

Um novo campo de estudo foi aberto com a solubilização de gelatina, em uma microemulsão água-óleo. Este novo sistema foi chamado de "organo-gel" (ou MBG, o termo em inglês microemulsion-based gels). Dependendo da composição dos componentes, ocorre a formação de géis transparentes e hidrofóbicos.<sup>13-19</sup>

Haering e Luisi<sup>13</sup> investigaram a solubilização de gelatina em micelas reversas, formados por Aerosol O-T, AOT (di-2-etilhexil sulfosuccinato de sódio), água e solvente orgânico com o intuito de verificar como o meio micelar poderia alterar o comportamento gelificante da gelatina. A expectativa era de que a formação do gel ocorresse dentro das micelas, resultando numa solução micelar opaca e possivelmente numa separação de fase. Porém, toda solução micelar

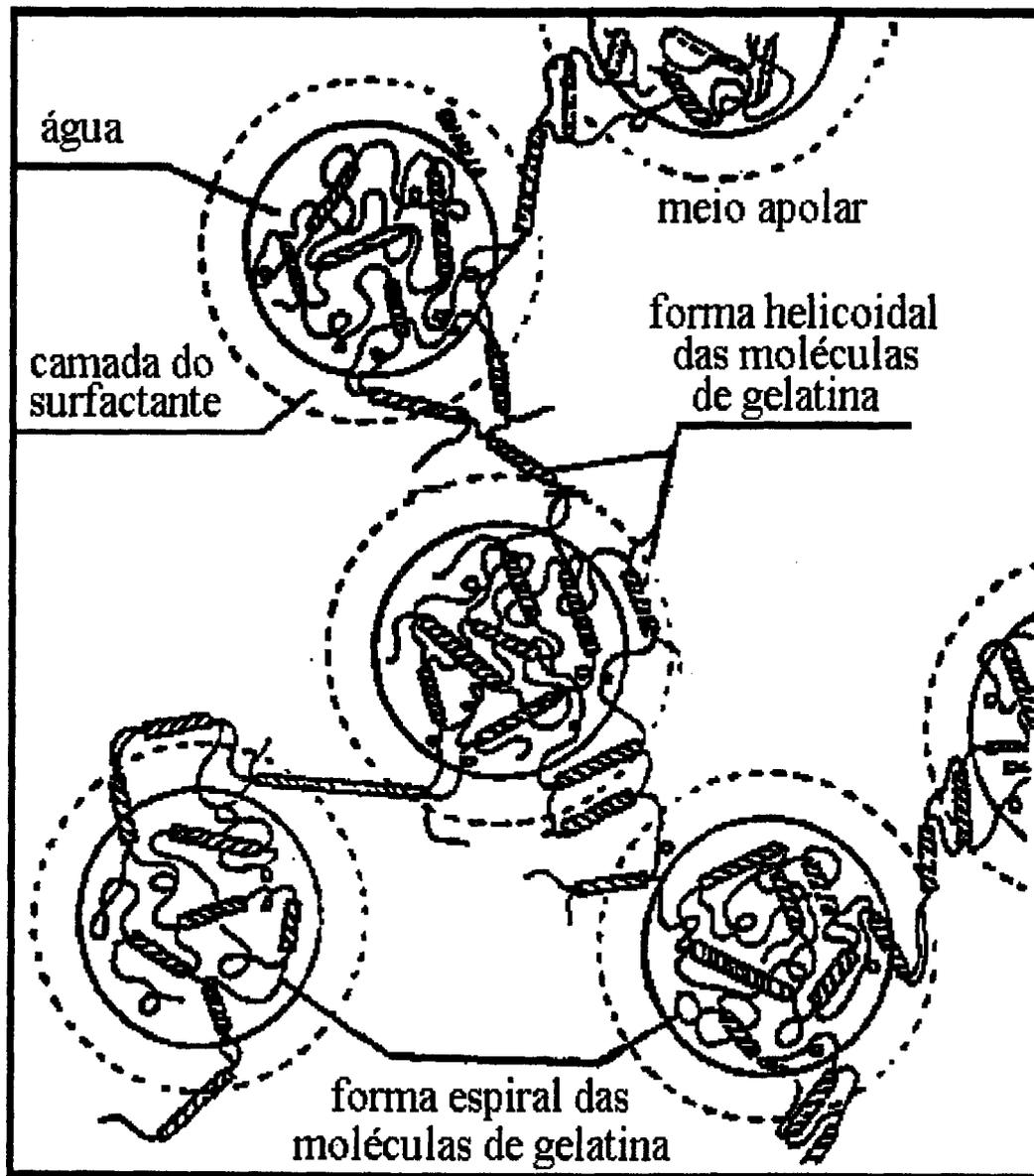
tornou-se "gel". Os autores justificaram tal fato assumindo que devido a gelatina ser hidrossolúvel, a mesma ficaria confinada no interior das micelas. Se a concentração de surfactante (AOT) for relativamente alta, a distância entre as micelas reversas é pequena, ocorrendo um contato intermicelar e conseqüentemente a percolação da gelatina. Portanto, as moléculas de gelatina interconectariam uma micela a outra ocorrendo inicialmente de maneira dinâmica e depois, com a gelificação na microfase aquosa, ocorreria um aumento na rigidez do sistema.

O mesmo sistema foi estudado por Quellet e Eicke<sup>14</sup>, sendo que os resultados indicam que o processo de gelificação ocorre em tres etapas. Inicialmente, a gelatina se dissolveria no interior do sistema aquoso e formaria o que denominaram de "nanogel". Este processo seria idêntico à gelificação da gelatina em água, com formação de ligações intra e intermolecular através da formação de segmentos helicoidais tipo colágeno. Numa segunda etapa, haveria a percolação e uma enorme aglomeração das nanofases. No final, ocorreria a transição "sol-gel", envolvendo as nanofases interconectadas por pontes da hélice tipo colágeno. Estes resultados foram obtidos por técnicas de condutividade elétrica, Dicroísmo Circular, espalhamento de luz e rotação óptica. A estrutura do organo-gel proposta por Quellet e colaboradores<sup>12-15</sup> está mostrada na **Figura 5**.

Luisi e colaboradores<sup>16</sup>, também estudaram as propriedades do organo-gel através de medidas de <sup>1</sup>H RMN. Apesar da viscosidade do gel ser alta (próximo de 1000p), a mobilidade do solvente (iso-octano) neste sistema foi muito próxima a do solvente puro. O tempo de relaxação do surfactante puro AOT foi próximo do valor do AOT em soluções micelares líquidas. Além de confirmar estes resultados, os mesmos autores<sup>17</sup> demonstraram que o deslocamento químico da água é muito semelhante ao do meio micelar com alta concentração de água. Baseados nesses resultados, os autores propuseram uma estrutura composta de uma rede muito rígida com cavidades muito grandes. Assumiram que a gelatina, que é insolúvel em solvente orgânico, forma uma estrutura rodeada por moléculas de AOT, e que a água fica localizada entre as moléculas de gelatina e AOT.

Atkinson e colaboradores<sup>18</sup>, através de medidas de condutividade e espalhamento de neutrons, propuseram uma estrutura em que a gelatina, que possui propriedades tensoativas, tem um papel interfacial importante junto com o

AOT. Atkinson não acreditava que a gelatina entrasse em contato com a fase oleosa, como seria requerido para ligar as micelas no modelo de Quillet. Ele sugeriu que o excesso de água e surfactante podem coexistir na forma de micelas reversas em equilíbrio dinâmico com a rede hidratada de gelatina.



**Figura 5.** Modelo da proposto para a estrutura do organo-gel ( Modelo da percolação ).<sup>14</sup>

Posteriormente o mesmo grupo de pesquisadores publicou resultados adicionais na área, e concluiu que ocorre uma mudança na microestrutura da microemulsão no processo de gelificação.<sup>19</sup> A microestrutura é formada por uma extensa rede de canais de gelatina e água rodeadas por uma camada de surfactante, e portanto esta estrutura estará em equilíbrio com as gotas da solução micelar. Atkinson e colaboradores reafirmaram esta estrutura em publicações posteriores (**Figura 6**).<sup>20</sup>

Petit e colaboradores estudando a estrutura do organo-gel analisaram os tres modelos propostos (**Figura 7**), conforme descrito abaixo.<sup>21-22</sup>

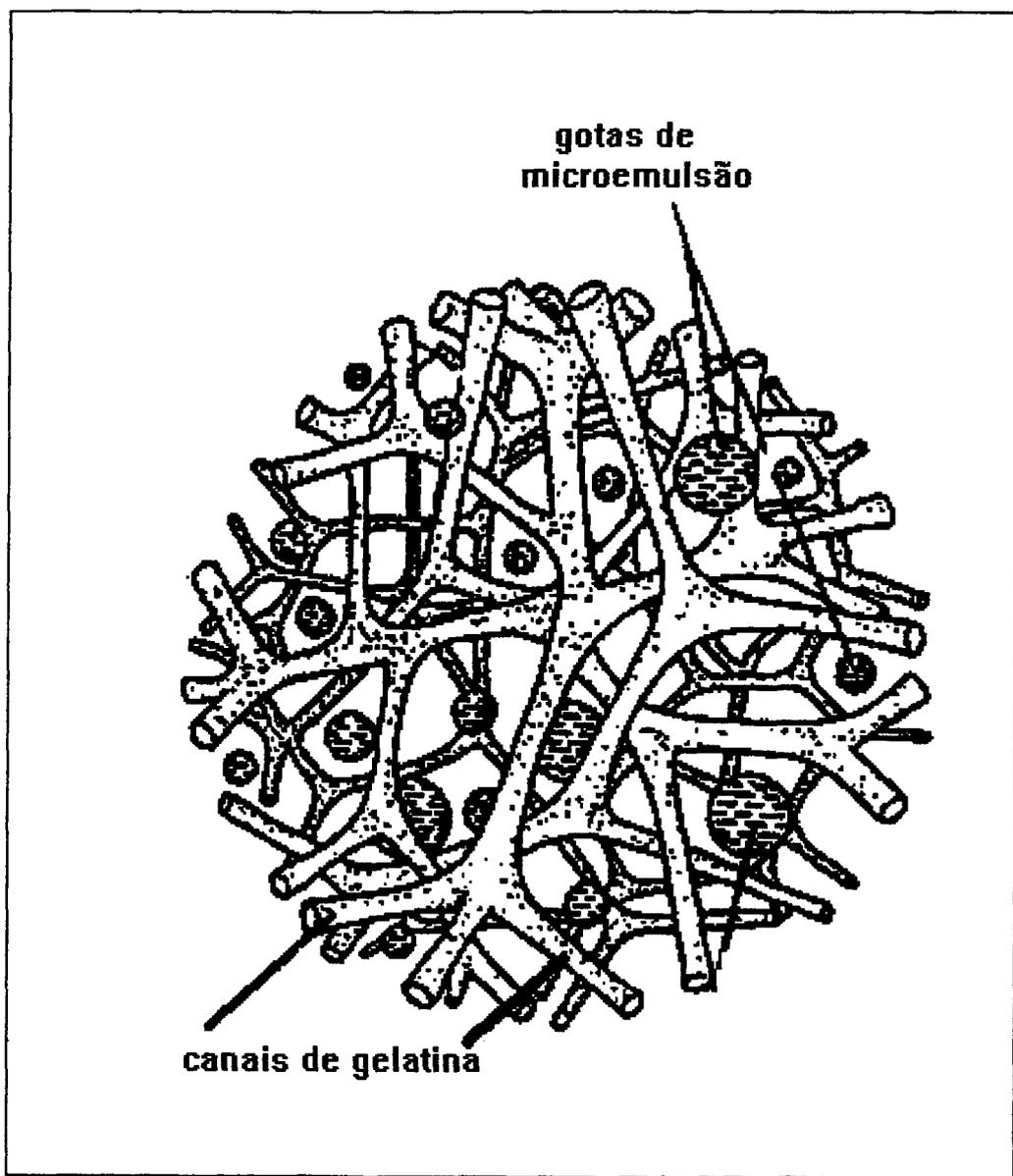
a) **Modelo da Estrutura Cilíndrica** (modelo de Luisi e colaboradores): este modelo é composto de uma microestrutura de moléculas de gelatina agregadas em uma rede rígida rodeada por água (**Figura 7a**). Para os idealizadores deste modelo, a estrutura da gelatina é essencialmente conservada em água, sendo que o papel da água é hidratar a gelatina. Os cilindros conectados de gelatina são subsequentemente, rodeados por uma monocamada de AOT e pelo solvente hidrofóbico. Este modelo é consistente com os valores de condutância elétrica, mas não consegue explicar a separação de fase observada no diagrama de fase.

b) **Modelo da Estrutura Cilíndrica e Micelas Reversas** (Modelo de Atkinson e colaboradores): neste modelo a rede de gelatina e as micelas reversas são independentes (**Figura 7b**). As micelas esféricas de AOT são fixadas pela rede de gelatina protegidas pelo surfactante, independentemente das suas posições, como se estas não fossem conectadas pelos centros que contém água. As partes hidrofílicas da gelatina são cobertas pelo AOT. Este modelo permite explicar a forma do diagrama de fases, mas não prediz a percolação elétrica.

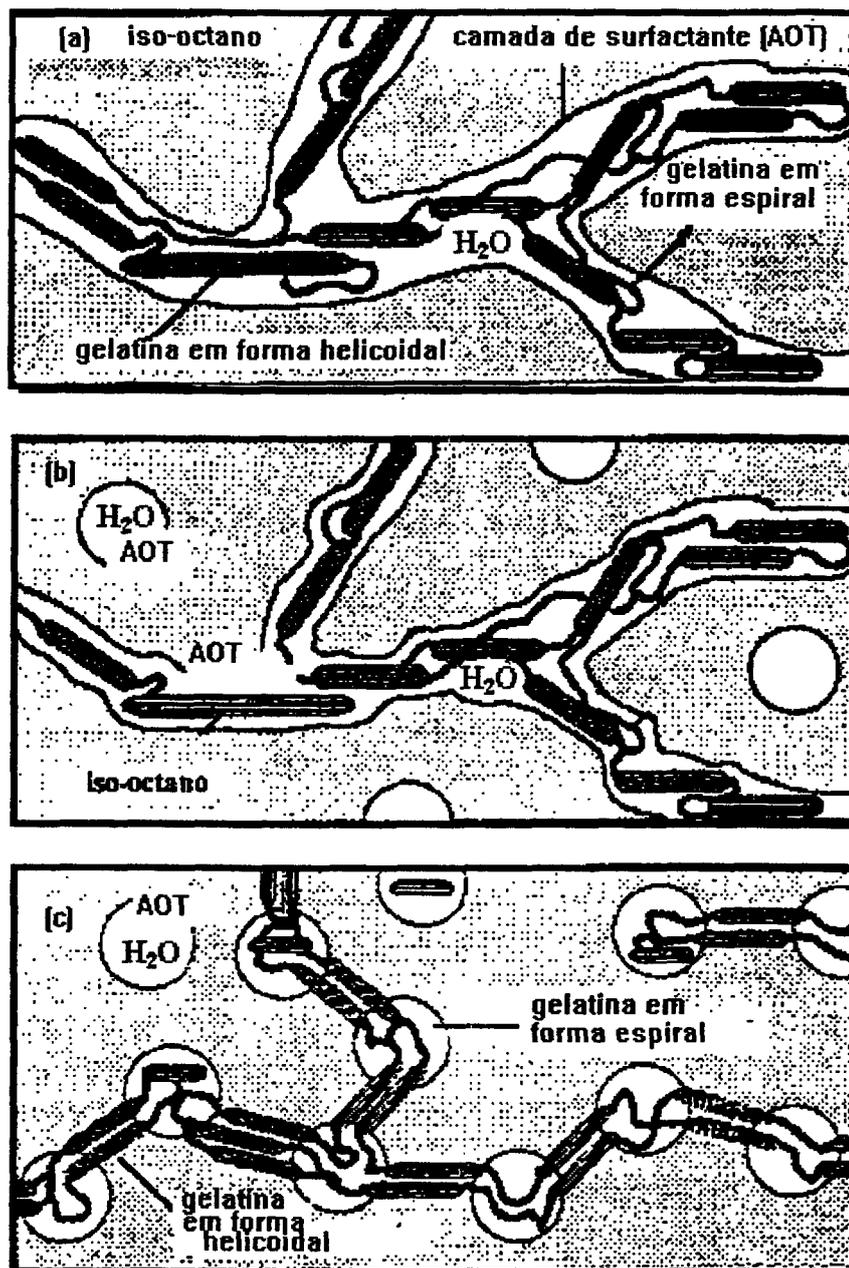
c) **Modelo das Micelas Reversas Interconectadas por Canais de Gelatina** (modelo de percolação de Quillet e colaboradores): este modelo é composto de micelas contendo água e parte de gelatina. As micelas reversas de AOT são conectados pela gelatina, sendo arranjadas em cordões helicoidais. Porém, elas não são cobertas pelo surfactante (**Figura 7c**). Para este sistema de micelas

interconectadas, as estruturas das micelas e as características do sistema água/AOT/iso-octano são mantidas durante todo o processo de gelificação.

Segundo Petit, estas tres estruturas podem a princípio existir em uma parte do diagrama de fase. Os espectros de espalhamento de raio X (sensíveis para a gelatina e água) e os espectros de neutrons (sensíveis somente ao centro aquoso da micela), obtidos pelos seus respectivos proponentes são consistentes com os tres modelos propostos. Entretanto, os espectros são quantitativamente diferentes, apesar de serem qualitativamente semelhantes.



**Figura 6.** Modelo da rede de gelatina



**Figura 7.** Modelos da estrutura do organogel<sup>20-21</sup>: (a) Modelo da estrutura cilíndrica; (b) Modelo da estrutura cilíndrica e micelas reversas; (c) Modelo das micelas reversas interconectadas por canais de gelatina.

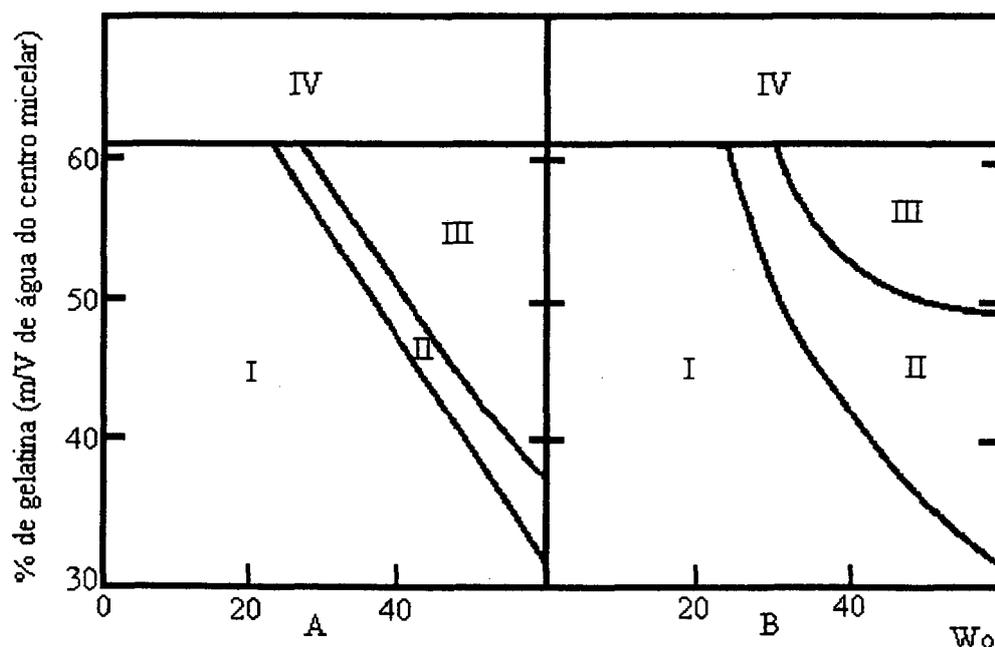
### 1.1.2 Diagrama de fase

O estudo de diagramas de fase para o sistema H<sub>2</sub>O-AOT-gelatina -solvente orgânico, é de grande importância para o entendimento de algumas propriedades físico-químicas do organo-gel. É possível determinar a quantidade mínima de gelatina necessária para gelificar o sistema, e avaliar a influência do solvente na sua formação. Assim, determinam-se as regiões transparentes, que poderão ser usadas para estudos espectroscópicos posteriores.

O diagrama de fase do organo-gel (MBG) varia de um solvente para outro.

Fazendo-se uma análise dos vários diagramas descritos na literatura, estes mostram consideráveis diferenças entre si.

Haering e Luisi <sup>13</sup> mostraram a existência de quatro regiões distintas nos seus experimentos (**Figura 8**). Estas regiões mostraram-se também dependentes da concentração de AOT e do valor de  $W_0$  ( $W_0 = [H_2O] / [surfactante]$ ).



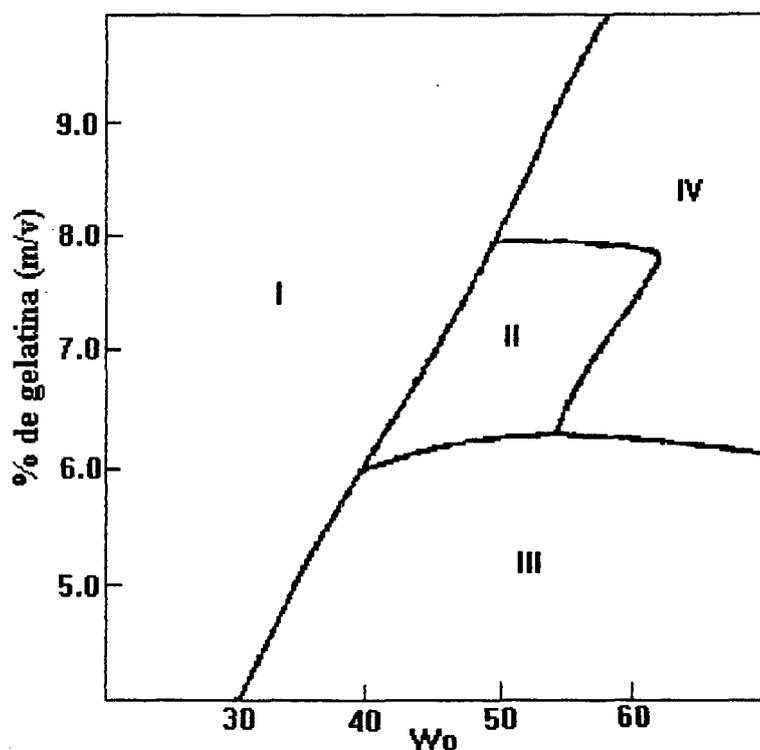
**Figura 8.** Diagrama de fase do sistema organo-gel em iso-octano, com (A) 0,10M e (B) 0,14M. (I) Solução micelar líquida; (II) gel transparente; (III) separação de fase (o solvente separa-se do gel); (IV) separação de fase (o solvente separa-se da gelatina).<sup>13</sup>

A distribuição das diversas regiões do organo-gel de iso-octano é muito diferente das regiões do organo-gel de ciclo-hexano, n-hexano e n-heptano (**Figuras 9-10**). Por exemplo, a formação de gel transparente no organo-gel de ciclo-hexano, inicia com de 6,2% de gelatina e  $W_0=55$  e o de iso-octano com 6,5% de gelatina e  $W_0=25$ ; ambos com  $AOT=0,10M$ . No sistema de n-hexano, a formação de gel ocorre em aproximadamente 3,2% de gelatina e  $W_0=70$ .

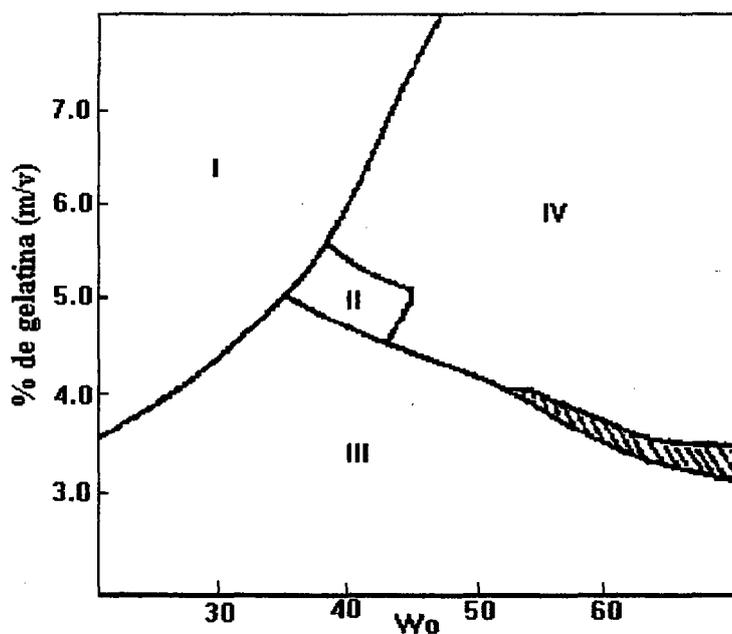
Como a concentração de gelatina não se apresenta muito diferente de um sistema para outro, há indicação de que a gelificação está mais relacionada com variações na composição em água e do solvente orgânico. Assim, para gelificar o sistema organo-gel de ciclo-hexano é necessário mais água e, conseqüentemente menos solvente orgânico do que o organo-gel de iso-octano, que é bastante diferente do sistema de n-hexano.

No diagrama de fases de n-heptano, é necessário uma concentração de surfactante maior (0,15M) para haver a formação de gel, e observam-se apenas três regiões distintas. A quantidade de gelatina necessária para formação de gel, assemelha-se ao sistema de n-hexano estando na faixa de 3,0-4,0% (**Figura 10**).<sup>24</sup>

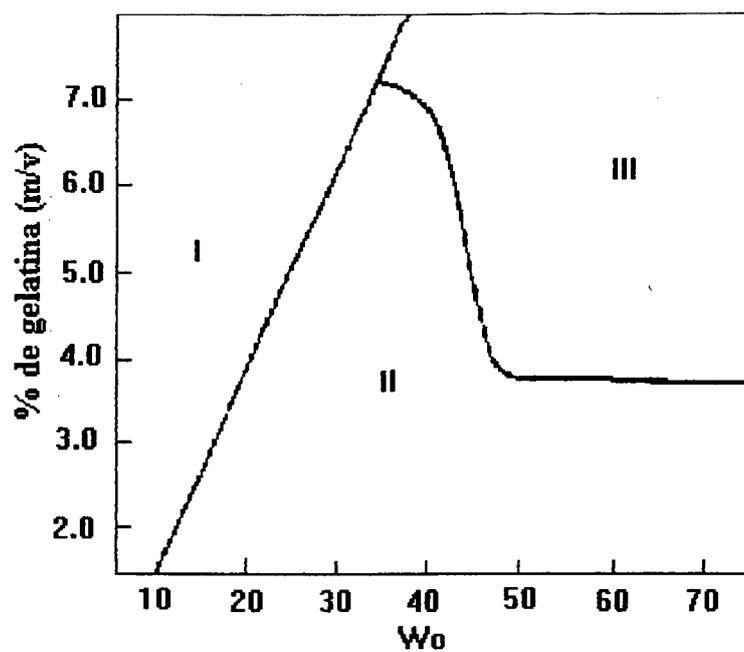
A principal observação, é que a formação do organo-gel é altamente dependente do ajuste das quantidades dos seus componentes: água, solvente orgânico (óleo), surfactante e gelatina. Segundo as condições de equilíbrio entre os componentes, as regiões observadas no diagrama de fase variam de um solvente para outro. Portanto, a partir destes estudos, é possível delimitar as regiões de transparência neste sistema, e assim efetuar estudos fotofísicos e fotoquímicos que ajudaram a compreender melhor o processo "sol-gel".



**Figura 9.** Diagrama de fases do sistema de organo-gel de ciclo-hexano/AOT[0,1M]. (I) Separação de fase (o solvente separa-se da gelatina sólida); (II) Separação de fase (o solvente separa-se do gel); (III) Solução micelar líquida e (IV) Formação de gel.<sup>23</sup>



**Figura 10.** Diagrama de fases do sistema de organo-gel de n-hexano/AOT[0,1M]. (I) Separação de fase (o solvente separa-se da gelatina sólida); (II) Separação de fase (o solvente separa-se do gel); (III) Solução micelar líquida e (IV) Formação de gel.<sup>23</sup>



**Figura 11.** Diagrama de fases do sistema de organo-gel de n-heptano/AOT[0,1M]. (I) Separação de fase (o solvente separa-se da gelatina sólida); (II) Solução micelar líquida e (III) Formação de gel.<sup>24</sup>

## 1.2 Espectroscopia de Fluorescência

Atualmente, o tipo de fotoluminescência mais utilizado, é a fluorescência que se distingue de outras formas pelo retorno da molécula excitada ao estado fundamental imediatamente após excitação.

A fluorescência é provocada pela absorção de energia radiante e reemissão de parte desta energia sob a forma de luz. Na fluorescência propriamente dita, a absorção e a emissão ocorrem dentro de um intervalo de tempo curto porém mensurável, da ordem de  $10^{-12}$ - $10^{-9}$  segundos. Se a luz for emitida em um tempo maior que  $10^{-8}$  segundos, este fenômeno é conhecido como fosforescência. A diferença entre estes dois fenômenos é melhor entendida com o auxílio do diagrama de Jablonski (Figura 10).<sup>25</sup>

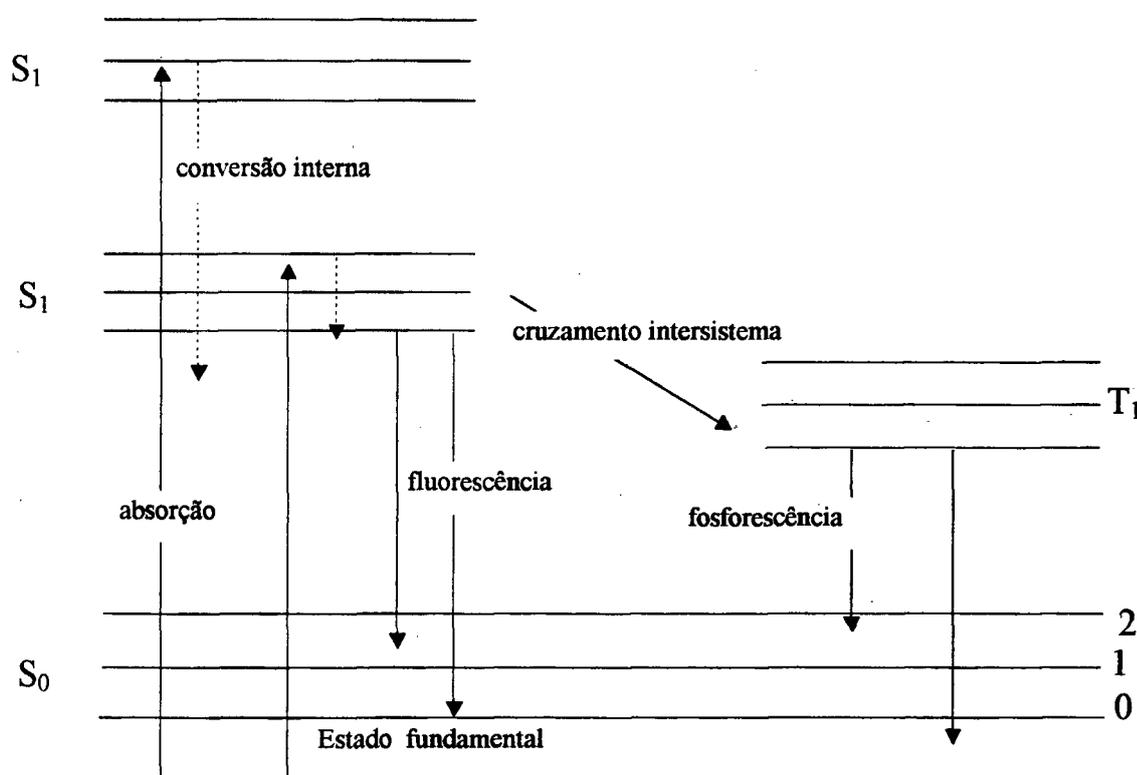


Figura 12. Diagrama de Jablonski

A absorção pode ser seguida por processos sem emissão de radiação, e isto é mostrado na Figura 12 com setas pontilhadas, representando a queda em

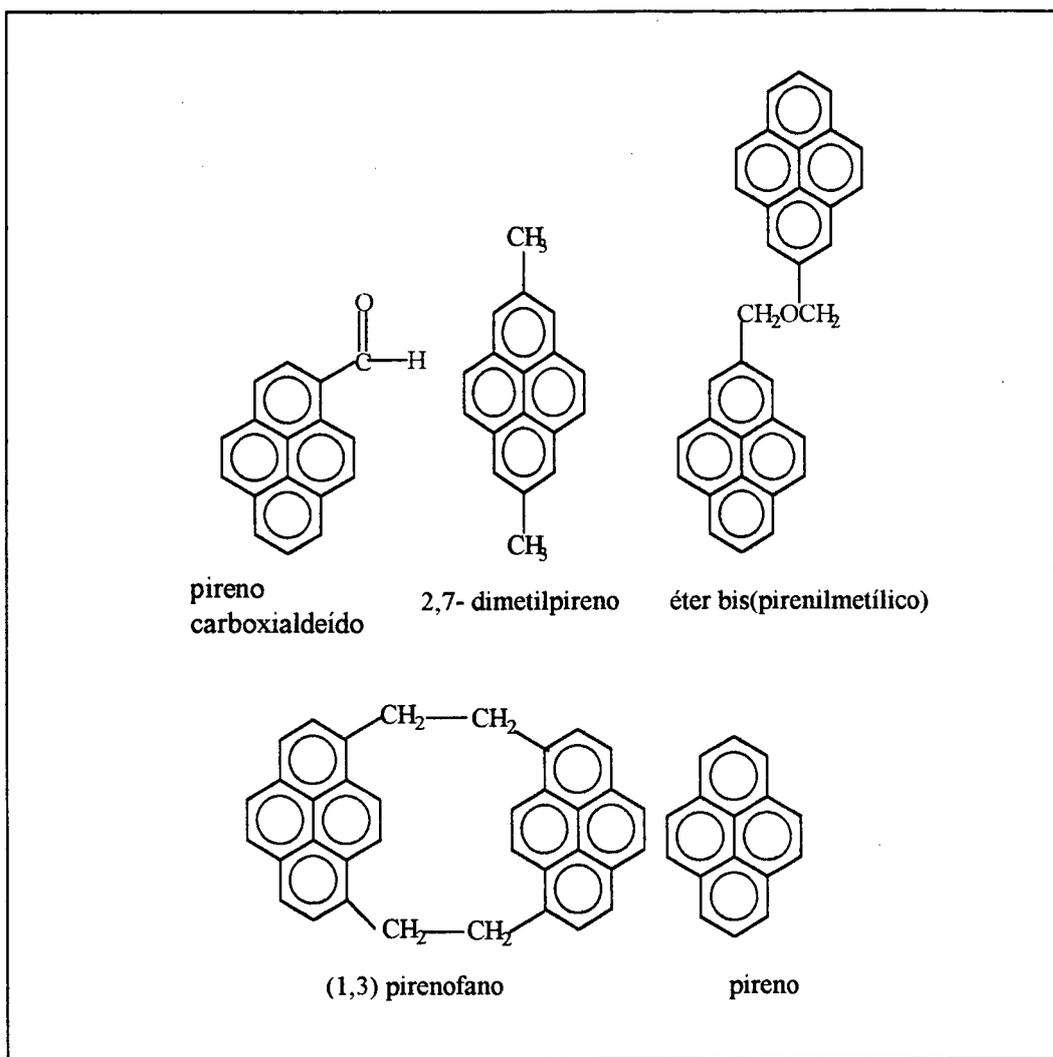
cascata de subníveis vibracionais e a conversão interna para níveis eletrônicos de singlete com menor energia. A energia perdida nesses processos é consumida por outras moléculas no sistema. A absorção, também pode ser seguida de uma transição que produz uma emissão de radiação. As transições irradiantes entre dois estados de mesma multiplicidade são chamados de fluorescência. Uma vez que o tempo de vida de espécies no estado excitado é muito curto, a *fluorescência* ocorre entre  $10^{-9}$ - $10^{-6}$  segundos depois da absorção.

A fluorescência de um composto depende de sua estrutura molecular e na maioria das vezes está associada ao sistema  $\pi$ . Os elétrons envolvidos numa ligação  $\sigma$  estão normalmente fortemente ligados à molécula, sendo necessário fornecer mais energia para que estes elétrons ocupem um orbital molecular vazio. Assim, os espectros eletrônicos produzidos por transições  $\sigma$ - $\sigma^*$  situam-se nas zonas de comprimento de ondas mais curtas do espectro eletromagnético. Os elétrons p, ao contrário, estão mais livres que os elétrons  $\sigma$ . O espectro de emissão correspondente, situa-se na região de maiores comprimento de onda.<sup>25</sup>

### 1.2.1 Sonda Fluorescente

A análise com sondas fluorescentes tem se tornado uma área importante no estudo de agregados multimoleculares como micelas e membranas. Estudos com a utilização do pireno e seus derivados como sonda fluorescente tem merecido especial consideração.<sup>26-32</sup>

Na **Figura 13** são mostrados, além do pireno, exemplos de outros derivados que tem sido bastante utilizados como sondas fluorescentes. O dipime (éter bis (1-pirenilmetilico)) é uma sonda que fornece informações sobre a polaridade do meio e da microviscosidade do ambiente onde reside.<sup>33</sup> O 1,3 pirenofano é utilizado em estudos de supressão, o 2,7 demetilpireno em estudos de visículas e agregados, e o pireno carboxiaideído na avaliação de interações polímero surfactante.<sup>34</sup>

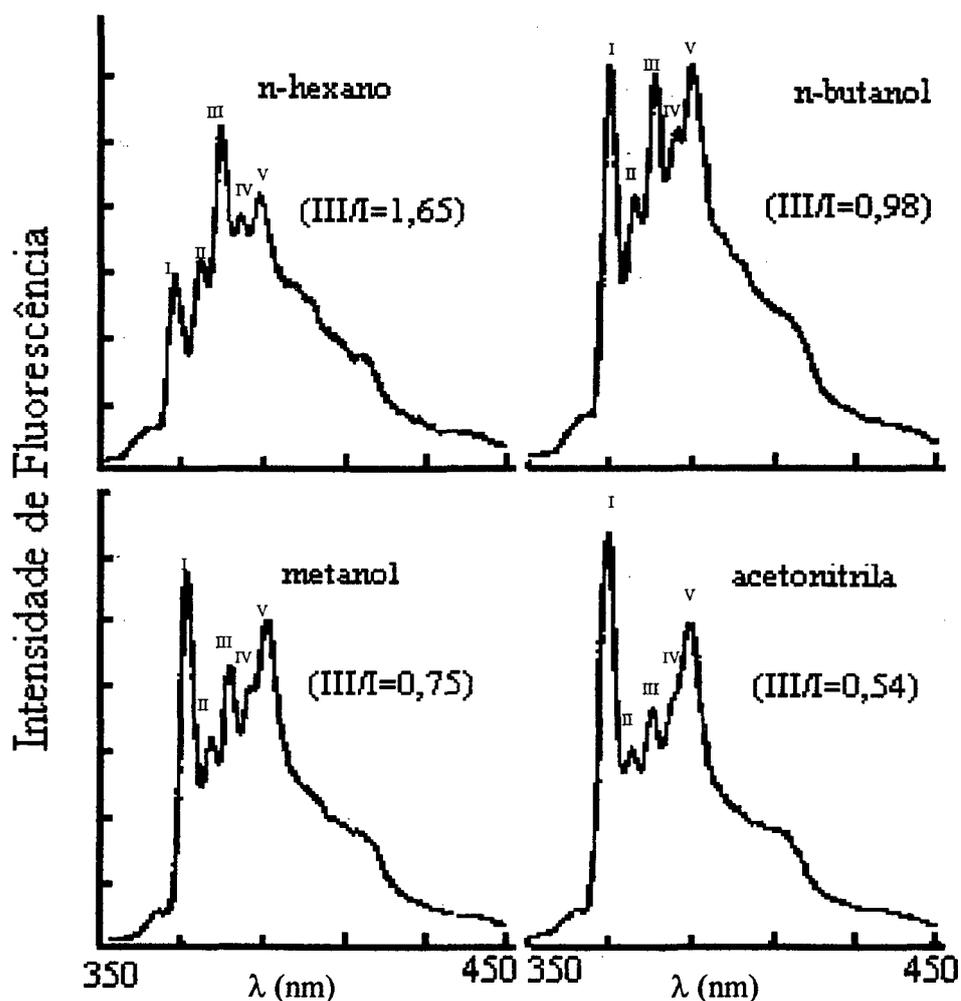


**Figura 13.** Pireno e seus derivados

O pireno apresenta várias propriedades fotofísicas interessantes para uso como sonda efetiva tal como considerável tempo de vida do monômero e a eficiente formação de exímeros. O seu espectro de fluorescência apresenta 5 bandas de absorção na região entre 350-450nm. A primeira e a terceira bandas em 273 e 284nm, são mais susceptíveis as mudanças do meio.

Sendo o pireno uma sonda altamente hidrofóbica, na presença de micelas ou outros sistemas macromoleculares, ele preferencialmente solubilizar-se-á no interior das regiões hidrofóbicas destes agregados. Assim, é possível avaliar as mudanças conformacionais do meio através da análise das bandas III/I no espectro de fluorescência. A intensidade relativa das bandas III/I do monômero do pireno, é

totalmente dependente do ambiente, e pode ser facilmente visualizado na **Figura 14**. Em sistemas apolares há um aumento na razão III/I e uma diminuição na direção de sistemas polares. Como visto nos espectros, a razão III/I para o pireno em n-hexano é 1,65, e em acetonitrila é de 0,54.<sup>32-33</sup>



**Figura 14.** Dependência das intensidades das bandas vibracionais do pireno monomérico em diferentes solventes: [pireno] 2 $\mu$ M;  $\lambda_{excit}$ =310 nm.<sup>32</sup>

No uso de sondas fluorescentes, é importante conhecer as medidas de tempo de vida, que consistem na soma da média da do tempo da molécula no primeiro estado excitado e a sua volta ao estado fundamental. Tais medidas, podem revelar a frequência de colisão entre os agentes supressores, a velocidade de

transferência de energia e a velocidade de reação nos estados excitados. Dados da natureza do decaimento de fluorescência, podem revelar detalhes sobre a interação da sonda no ambiente no qual ela se encontra. Por exemplo, constantes múltiplas de decaimento podem ser o resultado de que a sonda se encontra em vários ambientes diferentes.<sup>25</sup>

### **1.3 Objetivos e Relevância**

Um sistema formado por água-surfactante-gelatina e solvente orgânico (n-hexano, n-heptano, ou ciclo-hexano) é chamado de organo-gel ou MBG (do termo em inglês: microemulsion based gels, definido na página 5). Dependendo da quantidade dos componentes utilizados, obtém-se diferentes microdomínios que normalmente são visualizados através de diagramas de fase.

Este trabalho, tem por objetivo estudar a transição “solução micelar líquida-gel transparente”, regiões III e IV no diagrama de fase de n-hexano, ciclo-hexano e regiões II, III para o diagrama de fase do n-heptano (**Figuras 9-11**), através de medidas de fluorescência (variação da razão III/I) do pireno, do tempo de vida e de efeitos de supressão.

Como sonda fluorescente será utilizado o pireno. A escolha do pireno, deve-se ao fato de que esta sonda é muito sensível a polaridade do meio no qual ele se encontra. Nos estudos de supressão será utilizado o brometo de N-etilpiridínio, um composto de natureza hidrofílica e muito utilizado nestes estudos.

Através da técnica de fluorescência, será verificada a viabilidade de utilizar esta metodologia na delimitação das diferentes regiões nos diagramas de fase de organo-gel; além de obter informações adicionais sobre a sua microestrutura.

## CAPÍTULO 2 - PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1- REAGENTES UTILIZADOS

Di-2-etilhexil sulfosuccinato de Sódio(Aerosol OT) -Sigma Chemical CO

Gelatina tipo A (Bloom 300), da Sigma Chemical CO

Água destilada

N-hexano, ciclo-hexano e n-heptano da Merck previamente destilados de acordo com a literatura<sup>35</sup>.

Brometo de N-Etilpiridínio preparado conforme a literatura<sup>36</sup>.

Pireno da Merck (recristalizado em etanol), pf. <sub>exp.</sub>=148<sup>0</sup>C;pf. <sub>teor.</sub>=150.4 <sup>0</sup>C.<sup>37</sup>

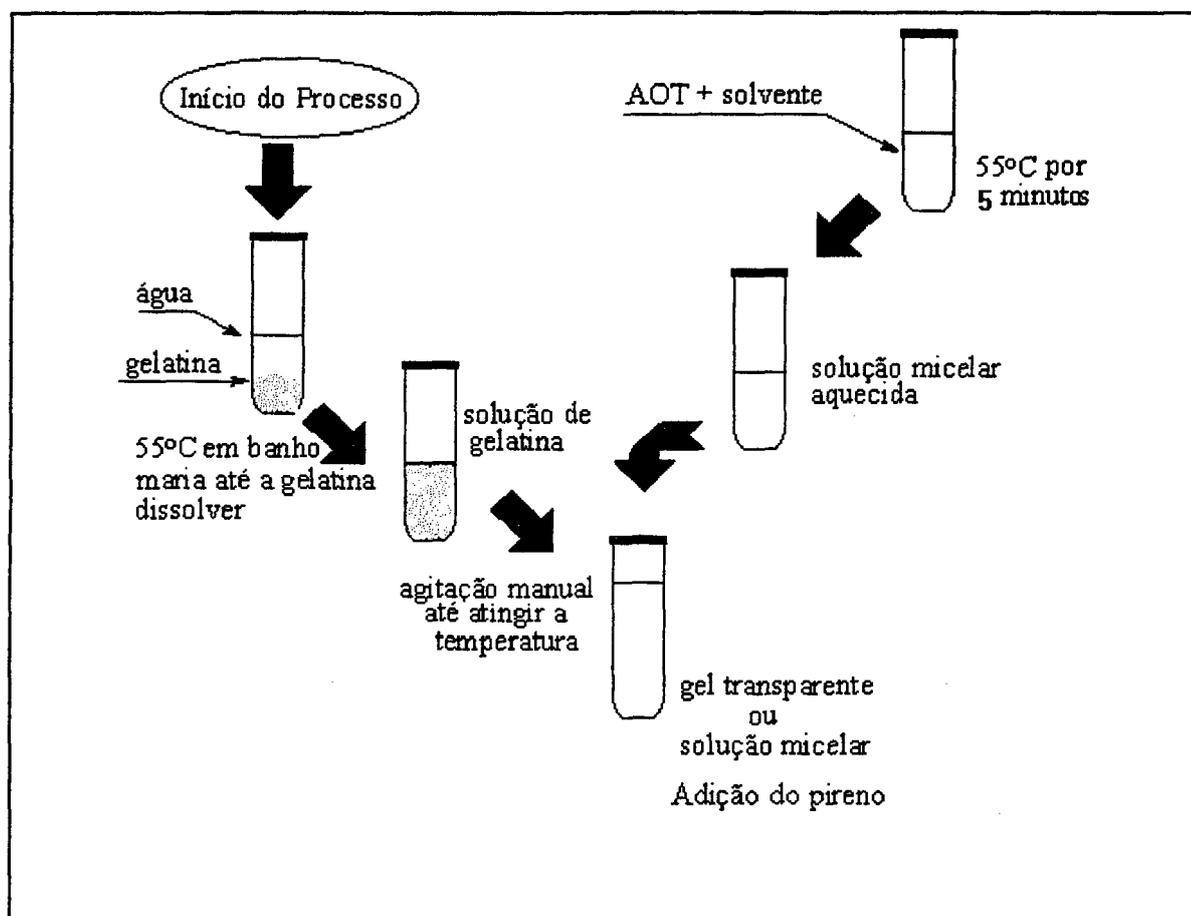
### 2.2- PREPARAÇÃO DO ORGANO-GEL

O procedimento geral para a preparação do organo-gel está apresentado esquematicamente na **Figura 16**.

A seguir será descrito, em detalhes a preparação típica de um organo-gel de n-hexano com 4% de gelatina e  $W_0=40$ . Para os demais, o procedimento foi análogo, mas as quantidades de água e gelatina variaram para se obter sistemas com diferentes composições em termos de quantidade de gelatina e valores de  $W_0$ .

Foi preparada uma solução de AOT 0,5M em n-hexano, e retirado uma alíquota de 2mL de solução de AOT da mesma e adicionada a um tubo de ensaio. Adicionou-se ao tubo contendo AOT 6,88mL de n-hexano. Em um segundo tubo foi adicionado 0,4 gramas de gelatina em 0,72mL de água destilada. A solução de gelatina foi termostatizada a 55<sup>0</sup>C até a completa dissolução da mesma. A solução de AOT foi aquecida no termostato a 55<sup>0</sup>C durante 5 minutos e misturada a solução de gelatina, também a 55<sup>0</sup>C. A mistura foi então agitada vigorosamente, e adicionou-se ao meio 10 $\mu$ L de pireno (concentração final de 10<sup>-7</sup>M). Deixou-se a

mistura em repouso até atingir a temperatura ambiente, formando assim o organo-gel. Foram então efetuadas as medidas de fluorescência na região de gel transparente e solução micelar líquida.



**Figura 15.**Preparação do organo-gel

### **2.3-Medidas de fluorescência**

As medidas de fluorescência foram feitas nos diversos sistemas estudados com composições variáveis de água, gelatina e solvente orgânico, tanto em fase micelar líquida, bem como na de gel homogêneo e transparente. As leituras foram realizadas em fluorímetro da Perkin Helmer LS-5B, com  $\lambda_{Exc}$  335nm, à 25°C e concentração final de pireno  $5 \times 10^{-7}M$ , registrando-se os espectros de

fluorescência na região entre 360-600 nm e os valores das intensidades das bandas I e III em 373 e 384 nm, respectivamente. A partir destes dados, obtêm-se os valores da razão III/I, para todos os sistemas de organo-gel.

## **2.4-Medidas de tempo de vida**

As medidas de tempo de vida ou de relaxação do pireno foram efetuadas em sistemas de solvente orgânico puro, solvente orgânico-AOT, microemulsão (solvente orgânico-água-AOT), gel (fase "micelar líquida"), e em gel homogêneo e transparente. A concentração de AOT sempre foi mantida constante 0,1M para os sistemas formados com n-hexano e ciclo-hexano; e 0,15M para o sistema formado com n-heptano. O volume final do organo-gel é de 10mL.

As medidas de tempo de relaxação do pireno foram realizadas em espectrômetro de tempo de vida Modelo FL-900 da Edinburgh Instruments no Instituto de Química da USP. As condições experimentais foram:  $\lambda_{Exc}=310nm$  e  $\lambda_{Em}=390nm$ , a 25°C. A concentração do pireno, foi mantida constante, sendo de  $5 \times 10^{-6}M$ .

## **2.5- Medidas de supressão**

As medidas de supressão do pireno foram efetuadas usando-se como supressor brometo de N-Etilpiridínio.

Os estudos de supressão foram realizados em sistemas de organo-gel de n-hexano nas regiões de solução micelar e gel transparente, mostradas na **Figura 9** página 14.

Alíquotas sucessivas (10  $\mu L$ ) do brometo de N-etilpiridínio (concentração inicial 0,26M ) foram adicionadas às soluções micelar líquida ou de gel transparente de n-hexano. Após cada adição, registrou-se o espectro de fluorescência do pireno para verificar se houve, ou não a supressão, sob estas condições.

### **CAPÍTULO 3- RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Neste capítulo, serão discutidas as variações que ocorrem no espectro de fluorescência do pireno nas diferentes regiões dos diagramas de fase do organo-gel. Serão também analisadas as medidas de tempo de vida ou de relaxação da sonda, bem como efeitos de supressão.

A variação da razão  $I_{III}/I_I$  do pireno em função de  $W_0$  e da % de gelatina, foi estudada para os sistemas de organo-gel em microemulsão água-óleo, formados por n-hexano, n-heptano e ciclo-hexano, como solventes orgânicos. O pireno sendo uma sonda hidrofóbica e muito sensível a polaridade do meio, estará solubilizada preferencialmente no interior das regiões hidrofóbicas do organo-gel (**Figuras 9-11**, respectivamente).

### **3.1- Variação da razão III/I para o organo-gel de ciclo-hexano**

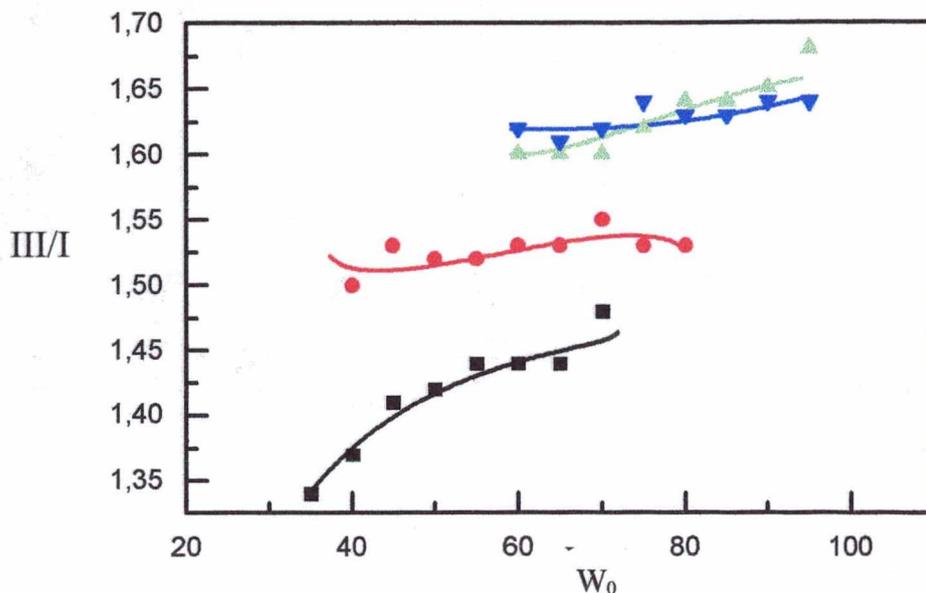
Inicialmente, será discutida a variação da razão III/I do pireno em organo-gel de ciclo-hexano, que corresponde as regiões III e IV do diagrama de fase mostrado na **Figura 9**, página 14.

Analisando os resultados obtidos observa-se que a razão III/I para o sistema de organo-gel em ciclo-hexano em função de  $W_o$  (**Figura 16**), depende significativamente da concentração de gelatina.

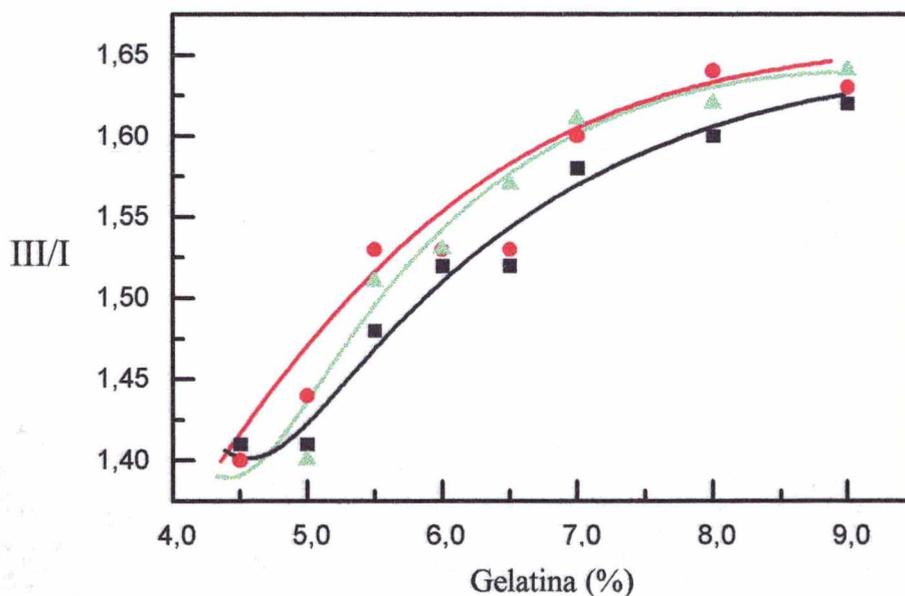
Com 4,5% de gelatina a razão III/I aumenta linearmente na faixa de  $W_o$  entre 30 (III/I=1,30) e 55(III/I=1,45), mantendo-se praticamente constante a partir deste valor (1,45). Aumentando-se a percentagem de gelatina para 6,0%, a razão III/I aumenta para 1,53 mantendo-se constante na faixa de  $W_o$  entre 40 e 80. Com percentagens maiores de gelatina (8,0-9,0%), os valores da razão III/I aumentam para aproximadamente 1,65. A dependência da razão III/I relativamente à concentração de gelatina está diretamente associada com as características do sistema em estudo, ou seja, com o microambiente formado pela adição de diferentes quantidades de seus componentes. Valores da razão III/I na faixa de 1,30 estão relacionados com sistemas aquosos com formação de pré-agregados. Portanto, com 4,5% de gelatina e  $W_o=55$ , o valor da razão III/I próximo a 1,45 evidencia uma mudança no microambiente do sistema. Este resultado está de acordo com o diagrama de fase (**Figura 9**, página 14) ,onde esta região corresponde a fase "micelar líquida" ; evidenciando que o microambiente é formado por agregados tipo "micelas reversas". Com 6,0% de gelatina os valores da razão III/I são constantes, na faixa de 1,53, indicando a presença de um

microambiente mais hidrofóbico. De acordo com o diagrama de fase do ciclo-hexano esta quantidade de gelatina é quase suficiente para gelificar todo o sistema e ocorrer a transição sol-gel. Valores próximos a 1,65 foram observados com percentagem de gelatina entre 8,0 e 9,0%, sendo que esta região corresponde ao sistema gelificado e transparente, ou seja, um sistema mais rígido e com características próximas às observadas para o pireno em ciclo-hexano puro cujo valor da razão  $III/I$  é 1,68, de acordo com os dados da literatura.<sup>32</sup> A variação nos valores da razão  $III/I$  identifica de forma bastante clara as transições que ocorrem no sistema, e que foram também definidas visualmente no diagrama de fase para o ciclo-hexano.

Analisando a variação da razão  $III/I$  vs % de gelatina (**Figura 17** página 28), observa-se que esta é altamente dependente da concentração do agente gelificante. A razão  $III/I$  aumenta com a concentração de gelatina independente do valor de  $W_0$ . O valor da razão  $III/I$  aumenta de 1,40 (4,5% de gelatina) para 1,65 (9,0% de gelatina), para os diferentes valores de  $W_0$ , ou seja de 50, 60 e 75. Os maiores valores obtidos para a razão  $III/I$ , coincidem com as regiões de formação de géis mais rígidos, onde as microregiões do organo-gel encontram-se bem mais definidas.



**FIGURA 16.** Variação da razão III/I das intensidades das bandas vibracionais do pireno monomérico em função de  $W_0$  no sistema; gelatina-água-AOT-ciclo-hexano, para diferentes concentrações de gelatina: (■) 4,5%, (●) 6,0%, (▲) 8,0% e (▼) 9,0.  $[\text{Pireno}] = 10^{-7}$  M,  $W_0 = [\text{H}_2\text{O}]/[\text{AOT}]$ ;  $\lambda_{\text{Excitação}} = 335$  nm;  $[\text{AOT}] = 0,10$  M.



**FIGURA 17.** Variação da razão III/I das intensidades das bandas vibracionais do pireno monomérico em função da % de gelatina no sistema; gelatina-água-AOT-ciclo-hexano, para diferentes valores de  $W_0$ : (■) 50, (●) 60 e (▲) 75.  $[\text{Pireno}] = 10^{-7}$  M,  $W_0 = [\text{H}_2\text{O}]/[\text{AOT}]$ ,  $\lambda_{\text{Excitação}} = 335$  nm;  $[\text{AOT}] = 0,10$  M.

### 3.2 Variação da razão III/I para o organo-gel de n-hexano

A seguir, será discutido a variação da razão III/I do pireno, em sistema de organo-gel de n-hexano. Estes estudos foram realizados baseando-se nas regiões de transparência do sistema de organo-gel de n-hexano, que correspondem às regiões III e IV do diagrama de fases, mostrado na **Figura 10**, página 14.

A razão III/I foi analisada em função de  $W_0$  para o sistema de organo-gel formado por n-hexano-AOT-gelatina-água (**Figuras 18-19**). Foi observado que os valores da razão III/I dependem tanto da percentagem de gelatina utilizada no sistema bem como do  $W_0$ .

Com concentração fixa de gelatina em 2,5%, os valores da razão III/I mantêm-se praticamente constante ao redor de 1,22 até  $W_0=80$ . De acordo com a **Figura 10**, esta região (III), corresponde a “região micelar líquida”, onde a quantidade de gelatina é insuficiente para gelificar o sistema como um todo. A partir de  $W_0 =80$ , ocorre um aumento na razão III/I, passando de 1,22 para 1,38. É importante notar, que este ponto de inflexão coincide com a transição “sol-gel” observada no diagrama de fase do n-hexano (**Figura 10**, página 14).

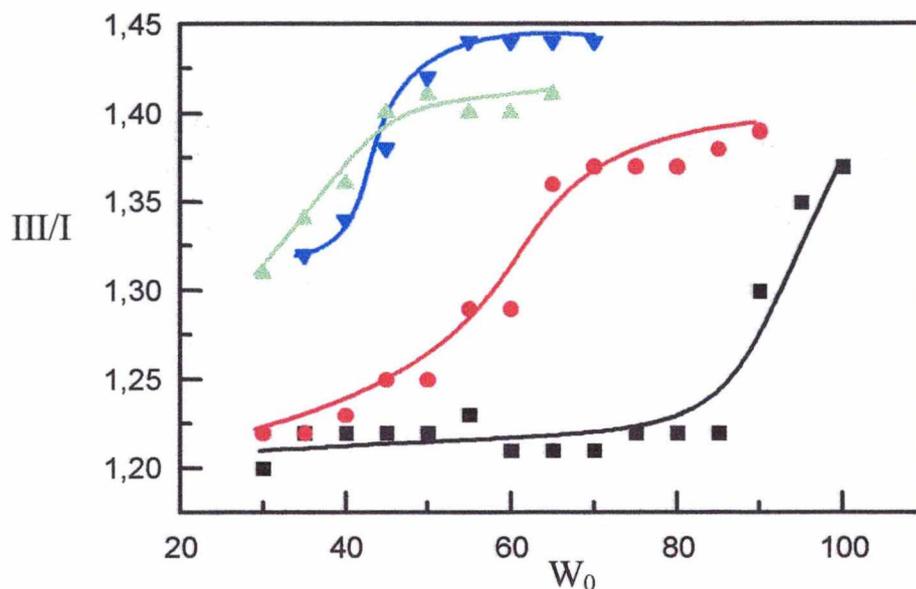
Com a concentração de gelatina fixa em 3,5%, observa-se que os valores da razão III/I ficam ao redor de 1,22, para valores de  $W_0$  abaixo de 40 (“região micelar líquida”), e sobem a partir de  $W_0 =50$ . Estes valores chegam à 1,38 com  $W_0 =80$ , onde ocorre a formação de gel estável e transparente. Com concentrações fixas de gelatina em 4,0 e 4,5%, ocorre um comportamento semelhante. Os valores da razão III/I com  $W_0 = 40$  são de 1,32, e sobem rapidamente na direção de formação de gel, apresentando valores na faixa de 1,40-1,45 respectivamente a partir de

$W_0=60$ . Deve-se salientar que agora o sistema encontra-se totalmente gelificado e mais rígido, e portanto definindo melhor os microdomínios do sistema.

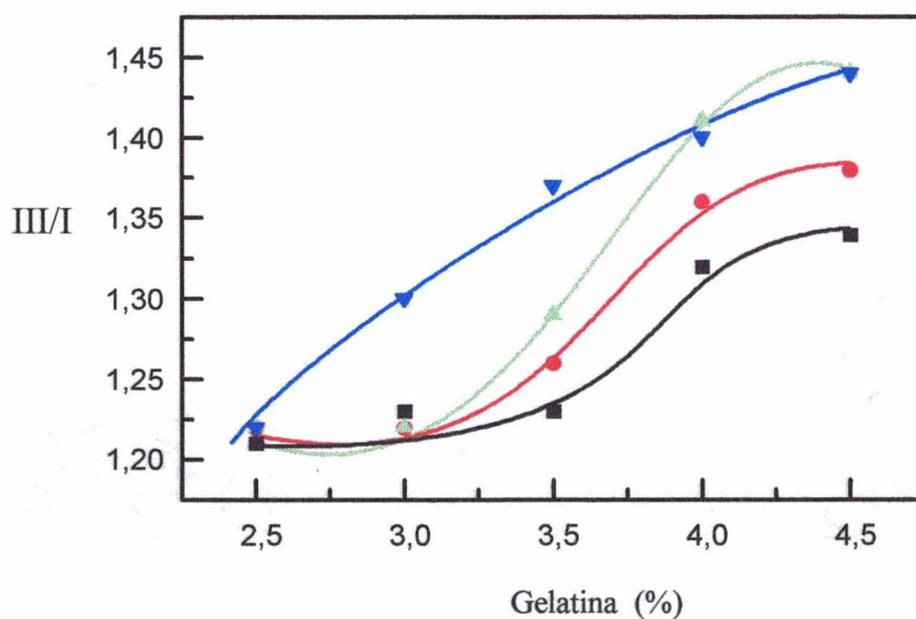
A medida que aumenta a concentração de gelatina; observa-se a formação do organo-gel com valores menores de  $W_0$ . Este resultado também é coerente com as regiões observadas no diagrama de fase de n-hexano, onde para formar géis mais rígidos e consistentes são necessárias maiores quantidades de gelatina.<sup>24</sup>

Outra maneira de apresentar os resultados, é graficar a razão III/I em função da concentração de gelatina, fixando os valores de  $W_0$ , (**Figura 19**). São obtidos valores da razão III/I de 1,23 com 2,5% de gelatina independente do valor de  $W_0$ , e esta região corresponde a "micelar líquida". A partir desta quantidade de gelatina observa-se um comportamento diferenciado, onde ocorre um aumento na razão III/I com aumento da percentagem de gelatina e  $W_0$ , também em concordância com a transição "sol-gel" delimitada no diagrama de fase do n-hexano.

Para  $W_0 = 35$  e  $45$ , os valores da razão III/I são de 1,33 e 1,35 respectivamente com concentração de gelatina em 4,5%, e esta região também corresponde à "micelar líquida" do sistema. Para  $W_0 = 55$  e  $65$ , os valores da razão III/I com 4,5% de gelatina são de 1,45, e nestas condições experimentais o sistema já se encontra totalmente gelificado. Com esta quantidade de gelatina e água (determinada pelo valor de  $W_0$ ), ocorre uma melhor definição da estrutura do sistema de organo-gel, mas ainda obtem-se valores para a razão III/I abaixo do n-hexano puro, que é 1,65 de acordo com dados da literatura.<sup>32</sup>



**FIGURA 18.** Variação da razão III/I das intensidades das bandas vibracionais do pireno monomérico em função de  $W_0$  no sistema; gelatina-água-AOT-n-hexano, para diferentes concentrações de gelatina: (■) 2,5%, (●) 3,5%, (▲) 4,0% e (▼) 4,5%.  $[Pireno]=10^{-7}$  M,  $W_0 = [H_2O]/[AOT]$ ;  $\lambda_{Excitação} = 335$  nm;  $[AOT] = 0,10$  M.



**FIGURA 19.** Variação da razão III/I das intensidades das bandas vibracionais do pireno monomérico em função da % de gelatina no sistema; gelatina-água-AOT-n-hexano, para diferentes valores de  $W_0$ : (■) 35, (●) 45, (▲) 55 e (▼) 65.  $[Pireno]=10^{-7}$  M,  $W_0 = [H_2O]/[AOT]$ ,  $\lambda_{Excitação} = 335$  nm;  $[AOT] = 0,10$  M.

### 3.2.1 - Medidas de Supressão do pireno

Como complemento aos resultados obtidos da variação da razão  $I/I_0$  das bandas monoméricas do pireno para o sistema de organo-gel de n-hexano, foi avaliado o efeito de adição de quantidade crescente de um supressor na fluorescência do pireno. Espera-se obter informações adicionais sobre a localização da sonda neste sistema.

Portanto foram realizadas medidas de supressão do pireno pelo brometo de N-etilpiridínio (um supressor altamente hidrofílico) em sistema formado por gelatina-AOT-n-hexano.

A supressão de fluorescência pode ser descrita pela equação de Stern-Volmer (Equação 1).<sup>25,38</sup>

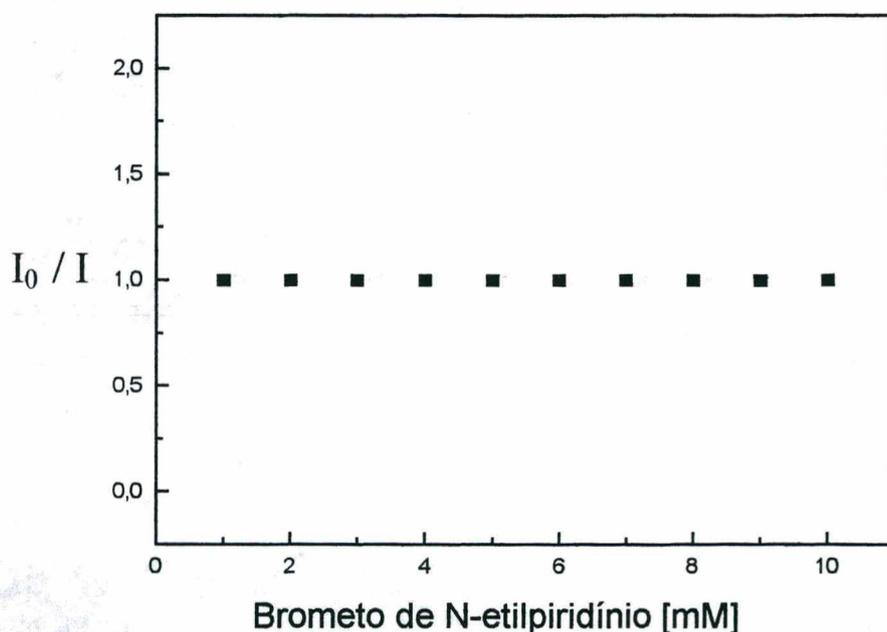
$$I_0 / I = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_D [D] \quad \text{Eq. 1}$$

Nesta equação  $I_0$  e  $I$  são as intensidades de fluorescência na ausência e presença do supressor, respectivamente,  $k_q$  é a constante de supressão bimolecular,  $\tau_0$  é o tempo de vida da espécie fluorescente na ausência do supressor,  $[Q]$  é a concentração do supressor e  $K_D = k_q \tau_0$  é a constante de supressão de Stern-Volmer. Os dados de supressão são frequentemente apresentados na forma de um gráfico de  $I_0 / I$  versus  $[Q]$ , porque espera-se que  $I_0 / I$  seja linearmente dependente da concentração do supressor. Um gráfico linear de Stern-Volmer geralmente indica uma única população fluorescente, e acessível ao supressor. Se duas populações fluorescentes estão presentes, e uma não é acessível ao supressor, então o gráfico de Stern-Volmer desvia-se da linearidade

em direção ao eixo x, se não houver acesso da sonda ao supressor não há variação na constante de Stern-Volmer.<sup>25, 38</sup>

Os experimentos foram realizados medindo-se a fluorescência do pireno [ $c_f = 5 \times 10^{-7}$  M], em sistemas contendo 3 e 4% de gelatina,  $W_0 = 60$  e  $[AOT] = 0,10$ M, em n-hexano na ausência e presença de quantidades crescentes de brometo de N-etilpiridínio (concentração inicial de 2mM). As medidas foram efetuadas a 25°C.

Através das medidas de fluorescência do pireno na presença de diferentes quantidades de supressor, e utilizando-se da equação de Stern-Volmer (equação1); obtem-se o gráfico mostrado na **Figura 20** ( $I_0 / I$  vs. [supressor]).



**Figura 20.** Gráfico de Stern-Volmer para a supressão de fluorescência do pireno [ $5 \times 10^{-7}$ M] pelo brometo de N-etilpiridínio, em sistema formado com 4,0% de gelatina,  $W_0 = 60$  e n-hexano como solvente.  $[AOT] = 0,10$ M.

Analisando a **Figura 20**, verifica-se que não há efeito de supressão para o pireno no sistema de organo-gel em estudo, ou seja com 4% de gelatina,  $W_0 = 60$  e

n-hexano como solvente. Resultados análogos foram obtidos quando se utilizou 3% de gelatina e  $W_0 = 60$ .

Estes resultados indicam que a sonda (pireno), encontra-se preferencialmente localizada nos ambientes mais hidrofóbicos do sistema de organo-gel ou seja em n-hexano ou na interface surfactante-n-hexano; e portanto a sua fluorescência não pode ser suprimida pelo brometo de N-etilpiridínio.

As regiões estudadas correspondem as denominadas "micelar-líquida", onde a quantidade de gelatina ainda é insuficiente para gelificar todo o sistema. As micelas reversas formadas estão em equilíbrio com as moléculas de gelatina, formando uma única fase fluída e transparente.

Experimentos utilizando sondas mais hidrofílicas (por ex: pireno carboxialdeído ou pireno tetrasulfônico) ou supressores mais hidrofóbicos (por ex: benzofenona, dimetilbenzofenona), serão importantes para esclarecer melhor estes resultados preliminares.<sup>34</sup>

### 3.3 Variação da razão III/I para o organo-gel de n-heptano

Finalmente, será discutido a variação da razão III/I da banda monomérica do pireno, em sistema de organo-gel de n-heptano. Estes estudos foram realizados baseando-se na regiões de transparência do sistema de organo-gel de n-heptano, que correspondem às regiões II e III do diagrama de fases, mostrado na **Figura 11**, página 15.

Analisando a razão III/I em função de  $W_0$  para o sistema de organo-gel formado por n-heptano-AOT-água e gelatina, foi observado que os valores da razão III/I dependem da % de gelatina e de  $W_0$  (**Figuras 21-22**).

Com a concentração fixa de gelatina em 2,0%, os valores da razão III/I aumentam gradativamente com o aumento de  $W_0$ . Este aumento é observado até  $W_0=50$ , estabilizando-se em aproximadamente 1,24. Esta região corresponde a região “micelar líquida” do diagrama de fases de n-heptano.

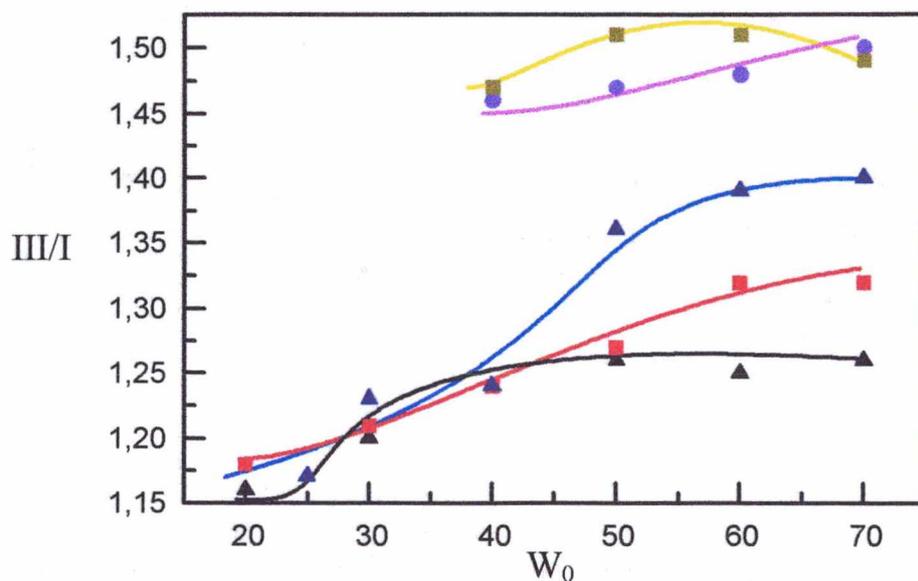
Com concentração fixa de gelatina em 3,0 e 5,0% respectivamente, verifica-se um comportamento análogo até  $W_0 = 40$  (III/I=1,25). A partir de  $W_0= 40$ , observa-se um aumento mais acentuado na razão III/I. Com a concentração fixa de gelatina em 3,0% e  $W_0=70$ , o valor da razão III/I é de 1,30. Embora esta região corresponda a “micelar líquida”, já se aproxima da região de transição “sol-gel” no diagrama de fase de n-heptano. Com concentração de gelatina em 5,0% e  $W_0=70$ , os valores da razão III/I são de 1.40. Sob estas condições todo o sistema já está gelificado.

Com concentrações fixas de gelatina em 7,0 e 8,0% , observa-se um comportamento semelhante, e os valores para razão III/I estão na faixa de 1,48-1,50 , independente do valor de  $W_0$  . Nestas condições, o sistema encontra-se

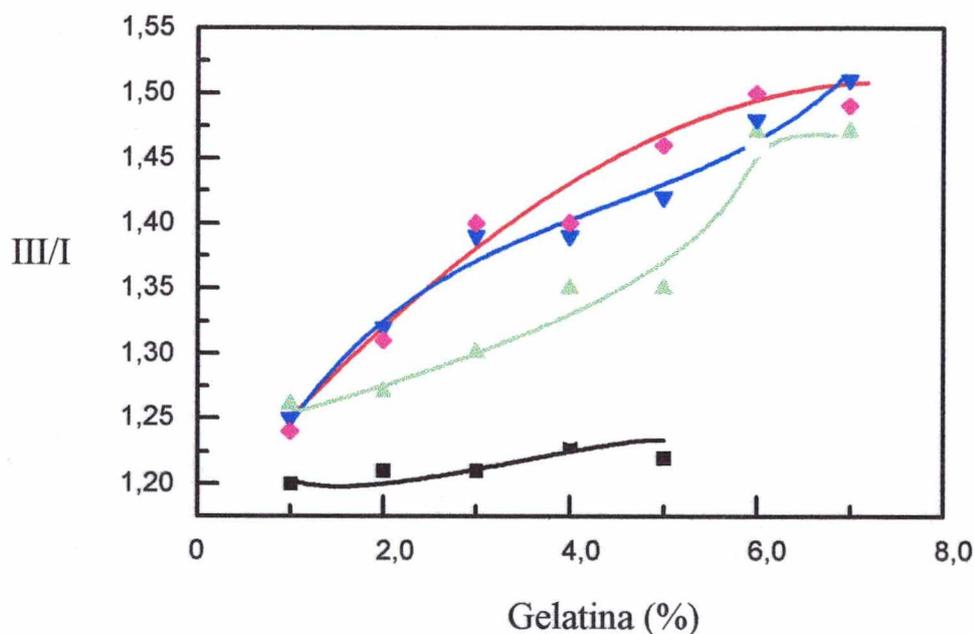
totalmente gelificado e mais rígido de acordo com diagrama de fase do n-heptano (Figura 11, página 15).

Analisando a variação da razão III/I vs percentagem de gelatina (Figura 22) observa-se que a razão III/I aumenta com a concentração de gelatina. Com  $W_0=30$  os valores da razão III/I mantêm-se constantes na faixa de 1,22, sendo que esta região corresponde a região micelar (região III) do diagrama de fases de n-heptano. Com  $W_0= 50, 60 70$ , observa-se um comportamento semelhante obtendo-se valores para a razão III/I iniciando-se na faixa de 1,22 e aumentando gradativamente com o aumento da percentagem de gelatina, chegando a valores próximos a 1,50. Este valor ainda é menor do que o n-heptano puro (1,62).<sup>32</sup>

O aumento observado para a razão III/I em função da percentagem de gelatina e  $W_0$  fixo; é coincidente com a região de transição "sol-gel" observada no diagrama de fase (página). Assim, valores maiores para razão III/I são observados quando todo sistema está gelificado indicando que a sonda está localizada preferencialmente nas regiões mais hidrofóbicas do organo-gel.



**FIGURA 21.** Variação da razão III/I das intensidades das bandas vibracionais do pireno monomérico em função de  $W_0$  no sistema; gelatina-água-AOT-n-heptano, para diferentes concentrações de gelatina: (▲) 2,0%, (■) 3,0%, (▲) 5,0%, (●) 7,0% e (■) 8,0%.  $[Pireno]=10^{-7}$  M,  $W_0 = [H_2O]/[AOT]$ ;  $\lambda_{Excitação} = 335$  nm;  $[AOT] = 0,15$  M.



**FIGURA 22.** Variação da razão III/I das intensidades das bandas vibracionais do pireno monomérico em função da % de gelatina no sistema; gelatina-água-AOT-n-heptano, para diferentes valores de  $W_0$ : (■) 30, (▲) 50, (▼) 60 e (◆) 70.  $[Pireno]=10^{-7}$  M,  $W_0 = [H_2O]/[AOT]$ ,  $\lambda_{Excitação} = 335$  nm;  $[AOT] = 0,15$  M.

### **3.4 Medidas de tempos de vida**

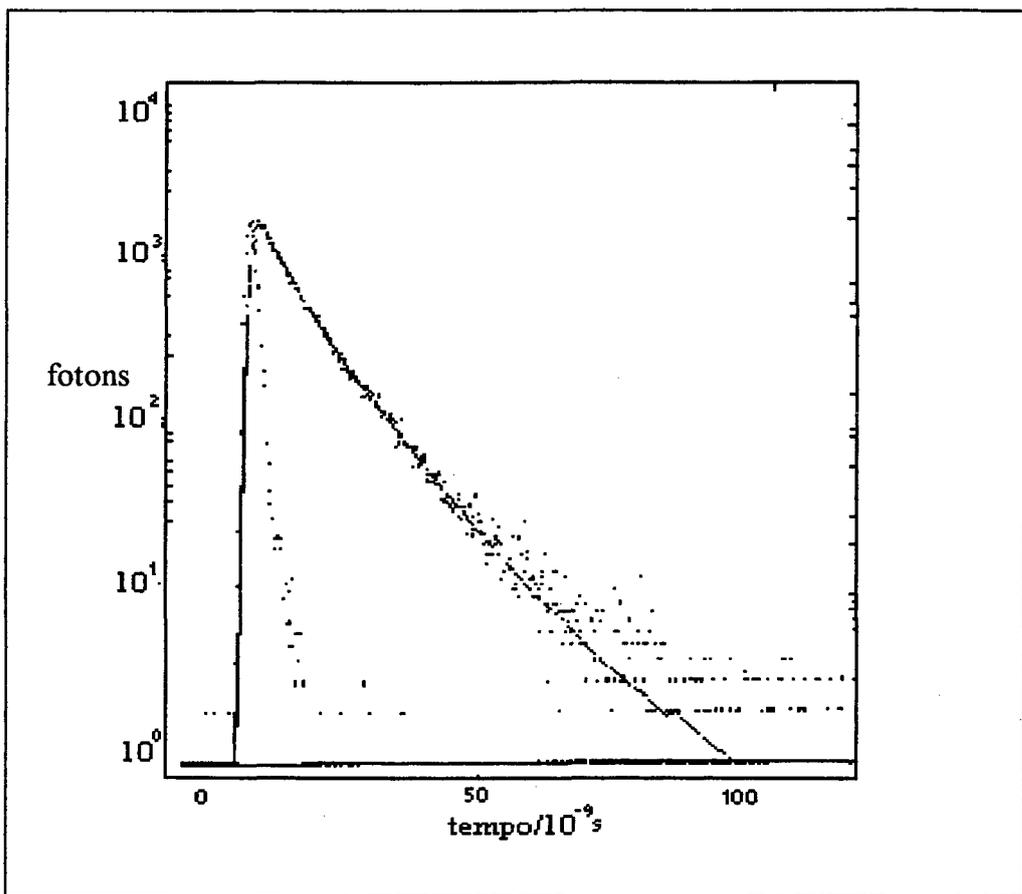
Foram realizadas medidas de tempo de vida ou de relaxação com o intuito de estimar a localização da sonda (pireno) nos diversos sistemas estudados. Foram medidos os tempos de vida nos solventes puros (n-hexano, ciclohexano e n-heptano), em sistemas de microemulsões (ou micelas reversas) e em organo-gel com diferentes composições. Estas medidas foram feitas no Instituto de Química da USP, e são mostradas na **Tabela 1**. Os valores de tempo de vida apresentados (em ns) foram fornecidos pelo Espectrômetro de tempo de vida Modelo FL-900, determinados através das tangentes das curvas experimentais.

**Tabela 1:** Tempos de vida do Pireno, em diferentes sistemas à 25°C,  
 $\lambda_{EX}=310\text{nm}$ ;  $\lambda_{EM}=390\text{nm}$ .

	n-HEXANO		n-HEPTANO		CICLOHEXANO	
	tempo (ns)	% relativa	tempo (ns)	% relativa	tempo (ns)	% relativa
óleo	9,58	100	10,01	100	19,60	100
óleo-AOT	9,01	67	10,20	59,63	20,9	
	3,03	33	3,27	29,22	90,47	
					9,59	9,53
óleo-AOT-H <sub>2</sub> O	10,8	95	11,10	91,23	—	—
	1,50	4,0	4,02	8,77	—	—
Gel (1)	3,04 <sup>a</sup>	33	9,77 <sup>b</sup>	67,67	20,6 <sup>c</sup>	
	8,92 <sup>a</sup>	67	3,72 <sup>b</sup>	32,33	46,02	
					5,43 <sup>c</sup>	
					53,98	
Gel (2)	10,30 <sup>d</sup>	63	9,75 <sup>e</sup>	66,70	19,60 <sup>f</sup>	
	3,19 <sup>d</sup>	37	3,68 <sup>e</sup>	33,24	44,88	5,24 <sup>f</sup>
					55,12	

[pireno]=  $2 \times 10^{-5}\text{M}$ , a) Gelatina (3,5%),  $W_0 = 40$ ; b) Gelatina (3,0%),  $W_0 = 60$ ; c) Gelatina (5,0%),  $W_0 = 70$ ; d) Gelatina (3,5%),  $W_0 = 80$ ; e) Gelatina (5,0%),  $W_0 = 60$ ; f) Gelatina (7,0%),  $W_0 = 70$ .

Na **Figura 23**, tem-se um gráfico típico de tempo de vida, que relaciona o números de fótons versus tempo (ns) para o pireno em sistema formado por solvente orgânico-AOT-gelatina-água. Através deste gráfico, obtém-se os tempos de vida da sonda. A curva mostrada na **Figura 23**, foi obtida para o sistema de organo-gel formado com 3% de gelatina  $W_0 = 70$ , e n-heptano correspondendo a “região micelar líquida” no diagrama de fases (**Figura 11**, página 15).



**Figura 23.** Tempo de relaxação do pireno em sistema de organo-gel n-heptano. [gelatina]=3,0%,  $W_o=70$  e  $[W_o]= 0,15M$ ;  $\lambda_{exc.}= 310nm$ ;  $\lambda_{em.}=390 nm$ ; [pireno]= $5 \times 10^{-6}M$ , a  $25^\circ C$ .

Analisando o tempo de vida do pireno em n-hexano, observou-se apenas um tempo de decaimento de 9,58 ns. No sistema AOT-hexano foram observados dois tempos de decaimento de 9,01ns e 3,03ns com percentagens relativas 67 e 33% respectivamente, sendo que o maior percentual corresponde a parte hidrofóbica (n-hexano). No sistema de microemulsão (ou micela reversa), formado por AOT-água-n-hexano, a sonda fica praticamente no ambiente mais hidrofóbico com tempo de decaimento de 10,8ns e percentagem relativa de 95%. No sistema de gelatina-água-surfactante-n-hexano, na fase micelar e em gel, de acordo com o diagrama de fases (Figura 10, página 14), observou-se um comportamento

semelhante. Analisando os resultados obtidos, verificou-se para o sistema micelar dois tempos de vida de 8,92 e 3,04ns, com percentagens relativas 67 e 33% respectivamente. No sistema de organo-gel de n-hexano na fase de gel transparente; os resultados mostraram tempos de relaxação de 10,30ns (região hidrofóbica) e 3,19ns (interface solvente-surfactante) com percentagens relativas de 63 e 37% respectivamente.

O tempo de vida do pireno em n-heptano puro foi de 10,01ns. No sistema AOT-n-heptano, observou-se também dois tempos de decaimento, de 10,20 e 3,27ns com percentagens relativas 66 e 34%, respectivamente. Na microemulsão (ou micela reversa) formado por AOT-água-heptano, observou-se dois tempos de relaxação, sendo que a sonda se localizou preferencialmente em ambiente mais hidrofóbico, com tempo de decaimento de 11,10ns e % relativa de 91,23%. Nos sistemas de organo-gel de n-heptano tanto na fase micelar bem como na de gel, foi observado um comportamento semelhante e obteve-se dois valores de tempo vida, sendo de 9,7ns (ambiente mais hidrofóbico) e 3,7ns (interface solvente-surfactante), com percentagens relativas de 67,7 e 33% respectivamente.

Em sistema de ciclo-hexano, observou-se tempos de vida do pireno maiores quando comparados com os solventes n-hexano e n-heptano, sendo que o tempo de vida foi de 19,6ns. No sistema de AOT-ciclo-hexano, obteve-se dois tempos de vida, com 20,9ns (ambiente mais hidrofóbico) e 9,59ns (interface solvente-surfactante). Não foi possível realizar medidas de tempo de vida no sistema AOT-água-ciclo-hexano, devido a não transparência do mesmo, sob estas condições experimentais. Os sistemas de organo-gel tanto na fase "micelar líquida" e "gel transparente", tiveram um comportamento análogo, com tempos de decaimento na faixa de 20,6ns e 5,43ns e percentagens relativas de 46 e 54%, respectivamente.

Neste caso ocorreu um particionamento maior da sonda em comparação com os sistemas de organo-gel de n-hexano e n-heptano e esta ficou distribuída de forma equalitária entre os ambientes hidrofóbicos e hidrofílicos. Os tempos de decaimento foram maiores para o ciclo-hexano por este ser um solvente mais viscoso, e portanto menos suprimido pelo oxigênio.<sup>39</sup>

### 3.5 Efeito de solvente

A partir do diagrama de fases do organo-gel, pode-se concluir que a formação do mesmo, com uma determinada concentração de surfactante, depende do ajustamento das quantidades de seus componentes: água, solvente orgânico, surfactante e gelatina. As condições de equilíbrio para o sistema de organo-gel variam de um solvente para outro. Estas variações são determinadas pela interação de cada solvente com a gelatina, água e o surfactante que compõem o sistema de organo-gel.

Com relação aos diagramas de fase do organo-gel de ciclo-hexano, nota-se que este solvente requer 6,5%<sup>23</sup> de gelatina para que ocorra a gelificação, e aproximadamente a mesma quantidade é necessária para a formação do organo-gel de isooctano (6,2%).<sup>13</sup> Estas quantidades de gelatina são maiores quando comparadas às necessárias para formar os sistemas de organo-gel de n-heptano (3,8%)<sup>24</sup> e de n-hexano (3,2%),<sup>23</sup> para concentrações de AOT de 0,1M.

Estas diferenças refletem-se diretamente nas medidas da razão III/I do espectro de fluorescência do pireno. Observam-se valores maiores para o sistema de organo-gel de ciclo-hexano (III/I=1,65), quando comparados aos sistemas de organo-gel de n-heptano (III/I=1,50) e de n-hexano(III/I=1,45), na fase de gel homogêneo e transparente. Sugere-se que a presença de ciclo-hexano como solvente leva à formação de géis mais rígidos e que as interações deste solvente, que é de estrutura cíclica, com as moléculas de surfactante no sistema de organo-gel não são exatamente iguais as observadas quando n-heptano e n-hexano são usados.

Os resultados obtidos em termos da razão  $I_{III}/I$  da banda monomérica do pireno, para os sistemas de organo-gel de n-hexano e n-heptano são muito semelhantes, conforme discutidos anteriormente.

A partir destes resultados, propõe-se que o pireno sendo uma sonda altamente hidrofóbica, estará solúvel preferencialmente nos microdomínios mais hidrofóbicos do organo-gel.

#### 4. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi estudado a transição solução micelar líquida-gel transparente para sistema de organo-gel de n-hexano, ciclo-hexano e n-heptano.

Este estudo, foi realizado através de medidas de fluorescência, utilizando-se valores da razão  $I_{III}/I$  das bandas vibracionais do espectro do monômero do pireno (sonda fluorescente), que é sensível a natureza do microambiente de solubilização deste. De maneira geral, a medida que o microambiente de solubilização da sonda se torna mais hidrofóbico, a razão  $I_{III}/I$  aumenta.

A partir dos resultados obtidos das medidas da razão  $I_{III}/I$  das bandas vibracionais do monômero pireno, foi possível verificar a transição "sol-gel" nos sistemas formados por ciclo-hexano, n-hexano e n-heptano. Esta transição foi evidenciada através de um aumento mais acentuado da razão  $I_{III}/I$  nas regiões de transição "solução micelar líquida-gel transparente", em confirmação com as regiões delimitadas visualmente nos diagramas de fase.

Através das medidas de tempo de vida, verificou-se que o pireno está preferencialmente localizado em ambiente mais hidrofóbico. Este resultado, também foi confirmado pela ausência de supressão do pireno pelo brometo de N-etilperidínio, no sistema formado por gelatina, água, surfactante e n-hexano.

Os valores da razão  $I_{III}/I$  são concordantes com os modelos propostos para a estrutura do organo-gel, que apresentam regiões hidrofílicas e hidrofóbicas distintas. Observam-se valores maiores para a razão  $I_{III}/I$  no sistema de organo-gel gelificado e com maior percentagem de gelatina, onde se define melhor a conformação e os microambientes do sistema em estudo.

Deve-se mencionar, também, que o método é viável e que pode ser utilizado para delimitar as diferentes regiões formadas por AOT-gelatina-solvente orgânico. Este método poderá, também, ser futuramente aplicado em estudos com diferentes géis, formados com outros agentes gelificantes (por ex; ágar, galactomanana) ou surfactantes (por ex; cloreto dioctadecildimetilamônio DODAC).

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ILLER, R.K. "The Chemistry of Silica", Wiley & Sons , New York, p.63, 1979.
2. LEVINE, I.R. "Physical Chemistry". Mc. Graw Hill-Book Company, 5ª edição c.13, p. 379, 1988.
3. TAKESAWA, S.; OHASHI, H.; SAKAI, K. Effects of membrans structure on removal of low molecular weight proteins. *Artif. Organs*, v.11, p.495-497, 1987..
4. FLORY, P.J. Gels and gelling process. *Faraday Chem.Soc.*, v.57, p.7-10, 1974.
5. PIERRE, A.C. Gelation of colloidal platelike particles. *Can. Ceram. Q.*, v.61, p.135-138, 1992.
6. HARLAND, R.S.; PRUD, K. Polyelectrolyte Gels, Properties, Preparation and Aplication. Acs. Simposium Séries, p.480, Chicago, Illinois, 1992.
7. NASCIMENTO, M.G.; REZENDE, M.C.; VECCHIA, R.D.; JESUS, P.C.; AGUIAR, L.M.Z. Enzymatic Resolution of alcohols via lipases immobilized in microemulsion-based gels. *Tetrahedron Lett.*, v.33, p.5891, 1992.
8. BURLIN, G.; JESUS, P.PC.; JOÃO, J.J.; NASCIMENTO, M.G. Síntese de diésteres com lipases imobilizadas em gel de ágar. *Livro de Resumos 19º Reunião Anual do SBQ*, QO-044, 1996.
9. SCARTAZZINI, R., LUISI, P.L. Organo-gels from Lecithins. *J. Phys. Chem.*, v.92, p.8290-8293, 1988..

10. ROBINSON, B. H. Microemulsions-properties and novel chemistry. *Chemistry in Britain*, v.4, n.26, p.342-348, 1990.
11. PILENI, M.P. Structure and reactivity in reverse micelles. *Elsevier Science Publisher*, Ed. 1985, Amsterdam 1989.
12. REES, G.; ROBINSON, B. H. Microemulsions and organo gels: properties and novel applications. *Advanced Material*, p. 609-618, 1993.
13. HAERING, G.; LUISI, P.L. Hydrocarbon gels from water-in-oil microemulsion. *J. Phys. Chem.*, v.90, p. 5892-5895, 1986.
14. QUELLET, C.; EICKE, H. F. Mutual gelation of gelatin and water-in-oil microemulsions. *Chimia*, v.40, p. 233-237, 1986.
15. QUELLET, C.; EICKE, H. F.; SAGER, W. Formation of microemulsion-based gels. *J. Phys. Chem.*, v.95, p.5642-5655, 1991.
16. LESER, J.E; WEI, G.; LUTHI, P.; HAERING, G.; LUISI, P.L. Applications of enzyme containing reverse micelles. *J. Chem. Phys.*, v.84, p.1113-1118, 1987.
17. CAPITANI, D.; SEGRE, A.L.; HAREING, G.; LUISI, P.L. Mobility measurements in microemulsions gels. *J. Phys. Chem.*, v.92, p.3500-3505, 1992
18. ATKINSON, P. J.; GRIMSON, M.J.; HEENAN, R.K. et al. Microemulsion based gels: a small-angle neutron scattering study. *Chem. Phys. Lett.*, v.151, p.494-498, 1988.
19. ATKINSON, P. J.; GRIMSON, M.J.; HEENAN, R.K. et al. Structure of microemulsion-based organo-gels. *J. Chem. Soc.*, p. 1807-1809, 1989.

20. ATKINSON, P.J. et al. Characterization of microemulsion-based organogels. *Prog. Colloid. Sci.*, v.82, pg.129-132, 1991.
21. PETIT, C.; ZEMB, TH.; PILENI, M. P. Structural study of microemulsion-based gels at the saturation point. *Langmuir*, v.7, p.223-231, 1991.
22. PETIT, C.; ZEMB, TH.; PILLENI, M. P. Gelation of reverse micelles. *AIP Conf. proc.*, v.226, p.509-517, 1991.
23. AGUIAR, L. M. Z.; NASCIMENTO, M. G.; PRUDENCIO, G. E.; REZENDE, M. C.; VECCHIA, R. D. The preparation of microemulsion-based gels of n-hexane or cyclohexane for enzyme immobilization. *Química. Nova*, 16, 414, 1993.
24. QUEIROZ, N. Aplicações sintéticas de enzimas imobilizadas em organo-gel e gel de ágar. *Dissertação de mestrado*, UFSC, Florianópolis, 1997.
25. LAKOWICZ, J.R. "Principles of Fluorescence Spectroscopy", Plenum Press, Second Edition, New York, p.1-6, 260-268, 1984.
26. GRÄTZEL, M.; THOMAS, K. On the dynamics of pyrene fluorescence quenching in aqueous ionic micellar systems. Factors affecting the permeability of micelles. *J. Am. Chem. Soc.*, v.95, p. 6885-6889, 1973.
27. LEMMETYINEN, H.; YLIPERTTULA, M. Kinetic study of monomer and excimer fluorescence of pyrene-substituted phosphatidylcholine in phosphatidylcholine bilayers. *J. Phys. Chem.*, v. 93, p. 7170-7176, 1989.
28. DEDEREN, J.C.; VAN DER AUWERAER, M., SHERYVER, F.C. Fluorescence quenching of solubilized pyrene derivatives by metal ions in SDS micelles. *J. Phys. Chem.*, v.85, p.1198-1202, 1981.

29. KUNJAPPU, J.T.; SOMASUNDARAN, P.; TURRO, T. A luminescence quenching study on the localization probe of Ru (bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> in micelles and hemimicelles. *J. Phys. Chem.*, v.94, p.8464-8468, 1990.
30. WINNIK, M.F. Photophysics of preassociated pyrenes in aqueous polymer solutions and in other organized media. *J. Am. Chem. Soc.*, v.93, p.587-614, 1993.
31. RODGERS, M.A.J. Fluorescence from pyrene solubilized in aqueous micelles. A model for quenching by inorganic ions. *Chemical Phys. Letters*, v.43, p.587-591, 1976.
32. KALYANASUNDARAM, K.; THOMAS, J.K. Environmental effects on vibronic band in pyrene monomer fluorescence and their application in studies of micellar systems. *J. Am. Chem. Soc.*, v.99, p.2039-2044, 1977.
33. ALMGREN, M. GRIESER, F. THOMAS, J.K. Photochemical and photophysical studies of organized assemblies. Interaction of oils, long-chain alcohols, and surfactants forming micromulsions. *J. Am. Chem. Soc.*, v.102, p.3188-3193, 1980.
34. WINNIK, M.F., in Goddard, E.D.; Ananthapadmnabhan, K., (Eds.), "Interactions of Surfactants with Polymers and Proteins." CRC Press, Boca Raton, c.9, 1993.
35. VOGEL, A. Textbook of practical organic chemistry. Fourth edition, *Longman Inc.*, New York, EUA, 1978.
36. SOLDI, V., ERISMANN, N. M., QUINQ, F.H. Fluorescent probe studies of amphiphilic ionene polyelectrolyte. *Atual. De Físico-química Orgânica* 118, p.118-129, 1986.
37. WHITE, C.M. Environmental Carcinogens, polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Chem. Eng. Data*, v.31, p.198, 1986.

38. GREEN, J.B.N.; PIMBLOTT, S.M.; TACHIYA, M.. Generalizations of Stern-Volmer relation. *J. Phys. Chem.*, v.93, p.196-202, 1993.
39. CRAIG, B.B.; KIRK, J.; RODGERS, M.A.J. Florescence decay parameters for pyrene in micellar and homogeneous liquid dispersions. *Chemical Phys. Letters*, v.49, p.437-440, 1977